

# IMMUNOLOGIE

## Cancer et système immunitaire

- **Introduction à la notion de pression de sélection**

Darwin envisageait la sélection opérant sur des millénaires, dictée par des luttes sans pitié dans un monde brutal et très compétitif. Ces mécanismes sont également à l'œuvre quand un organisme complexe (comme l'homme par exemple) est "attaqué" de l'extérieur par des micro-organismes bactériens ou parasites ou de l'intérieur par des cellules cancéreuses :

- ✓ Prolifération extrêmement rapide (jours)
- ✓ Grande capacité de mutation

→ Le système immunitaire constitue une force de sélection.

### **I. L'immunologie de Darwin**

Les cellules cancéreuses comme les micro organismes doivent s'adapter pour échapper au système immunitaire. Les mécanismes utilisés sont nombreux et souvent similaires :

- **Quiescence** : càd minimiser l'expression d'antigène
- **Séquestration** : occuper des niches (où le système immunitaire ne va pas)
- **Perturber** la présentation antigénique
- **Favoriser** les variations antigéniques

#### **1. Une façon d'échapper au SI : la séquestration**

Certaines micro organismes évoluent en occupant des niches où le SI ne va pas (ou difficilement), par exemple :

- Malaria : phase asexuée dans les érythrocytes (dépourvues de CMH I) pour ne pas être reconnu par les Ly T cytotoxiques
- Mycobactéries : vivent à l'intérieur des C avec un métabolisme ralenti

#### **2. La quiescence**

Le meilleur moyen d'échapper au système immunitaire est d'éviter de produire des antigènes.

- Rétrovirus qui s'intègre dans le DNA → indétectables par le SI
- M. leprae par exemple a éliminé ou inactivé de nombreux gènes codant pour des voies d'activation : doublement très lent (14 j) conduisant à une espèce de "mode de vie très indolent".
- Herpes virus intégrés dans les C nerveuses

Cette stratégie a cependant des limites, par exemple l'activation cellulaire déclenche la production de rétrovirus type HIV détectables. La perte ou l'inactivation progressive du génome peut conduire à des impasses évolutives.

#### **3. Ne pas présenter l'Ag**

La vaste majorité des molécules de classe I présentent des peptides du soi (dérivés des protéines normales de la cellule). Les protéines du soi intracellulaires sont en permanence dégradées ( puis resynthétisées) et exprimées avec le CMH. Le complexe peptide + CMH est reconnu par le Ly T cytotoxique :

- Si bon peptide ( issu d'une protéine du soi) → il ne se passe rien
- Si mauvais peptide (issu d'une protéine virale...) → activation du Ly

En cas d'infection virale, une partie des protéines virales est détournée et est utilisée pour fabriquer des peptides qui vont se fixer dans la poche à peptide.

Les virus ont développé de nombreux mécanismes pour échapper aux voies de synthèse des classes I :

- rendre la séquence protéique non clivable par le protéasome (EBV)
- Fabriquer des protéines qui interfèrent avec le processing de l'antigène (CMV)

#### 4. La variation AG

Les agents pathogènes présentent des variations génétiques considérables. Elles permettent par exemple à des bactéries d'être commensale à hautement pathogènes (par exemple S. aureus). Ces variations antigéniques entraînent des difficultés en vaccination (grippe) car le SI ne reconnaît pas la souche virale.

## II. Cancer et système immunitaire

### 1°) introduction et modèle chez l'animal

Prévention par le SI de l'apparition des cellules cancéreuses = Concept d'immunosurveillance : il y a environ 100 ans (Paul Ehrlich, 1909), puis modifié dans les années 50 par Burnet et Thomas.

L'idée est que le système immunitaire joue un rôle protecteur en éliminant les cellules pré-cancéreuses ou cancéreuses :

- A la fin des années 50-60 : les souris syngéniques (de même génotype) ont permis de tester l'hypothèse selon laquelle les cellules cancéreuses sont immunologiquement distinctes des cellules normales.
- L'immunisation préalable par des tumeurs (induites par des carcinogènes chimiques, des virus...) de souches de souris syngéniques prévient ultérieurement la croissance de tumeurs implantées, car le SI sera capable de reconnaître ces cellules néoplasiques.

Ces expériences conduisaient à admettre l'existence d'antigènes associés aux tumeurs et de surveillance. le concept a été mis de côté car on observait une augmentation de la fréquence des tumeurs chez les souris sans SI.

Si le SI est défaillant, il doit y avoir une incidence plus grande de tumeurs spontanées ou induites. Les premières approches (souris thymectomisées à la naissance, rendues immuno-incompétentes par des agents pharmacologiques ou du sérum anti-lymphocytaires ou de souris athymiques nues) n'ont pas permis d'obtenir de résultats consensuels :

- plus grande fréquence de tumeurs viro-induites (qui reflètent la plus grande susceptibilité aux infections et en particulier aux virus transformants) et de lymphomes (pouvant refléter une prolifération chronique lymphocytaire, une augmentation des mutations et donc une augmentation du risque de transformation) → c'est-à-dire que le SI jouait un rôle en éliminant le virus mais pas la tumeur.

- Par contre ni la fréquence ni la latence d'apparition ni la vitesse de développement des tumeurs carcino-induites ne sont différentes entre souris nues (sans SI) et souches sauvages.

→ Doutes sur l'existence d'antigènes tumoraux

Dans les années 90, des études sur différents modèles de souris ID (immuno-déficientes) ont montré une augmentation du risque de tumeurs spontanées.

Entre 1994 et 1998 deux découvertes clefs ont réactualisé le concept d'immunosurveillance :

- l'interféron gamma endogène protège l'hôte contre la croissance de tumeurs implantées et contre la formation de tumeurs spontanées et carcino-induites.
- les souris déficientes en perforine (un composant des granules cytolytiques des lymphocytes cytotoxiques et des cellules NK) sont plus sensibles aux tumeurs carcino-induites que les souris normales, car la perforine, par une réaction de lyse, est capable de détruire les C tumorales.

Finalement, les études portant sur les souris RAG-1 et RAG-2 déficientes (qui ont une absence totale de cellules T, B, NKT) ou l'ablation spécifique des cellules T $\alpha\beta$ , T $\gamma\delta$ , NK, NKT, de l'IFN- $\gamma$ , de l'IL-12 conduit à une augmentation de susceptibilité aux tumeurs.

DONC :

L'immunosurveillance est un mécanisme complexe et hétérogène qui requiert l'action combinée des différents acteurs immunitaires et qui dépend du type cellulaire tumoral, du mécanisme de transformation, de la localisation anatomique de la tumeur.

**RETENIR QUE :** le SI prévient la formation de tumeurs et favorise l'émergence ou sélectionne des variants tumoraux d'immunogénicité réduite, en exerçant une pression de sélection (Il s'agit donc d'une vue plus large des interactions système immunitaire-tumeur prenant en compte à la fois les effets protecteurs pour l'hôte et les effets modifiant la tumeur).

## 2°) chez l'Homme

Principales questions que l'on se pose :

- Les patients immunodéficients ou traités par des immunosuppresseurs présentent-ils plus de cancers que les sujets sains ?
  - Existe-t-il une corrélation entre l'infiltration lymphocytaire tumorale et la survie des patients?
  - Les patients cancéreux peuvent-ils développer des réponses immunes contre la tumeur ?
- ➔ **Les patients ID ont un risque > aux sujets immuno-compétents de développer un cancer. En présence d'une tumeur, il y a une corrélation entre le risque de métastases et la quantité de Ly qui infiltre cette tumeur.**

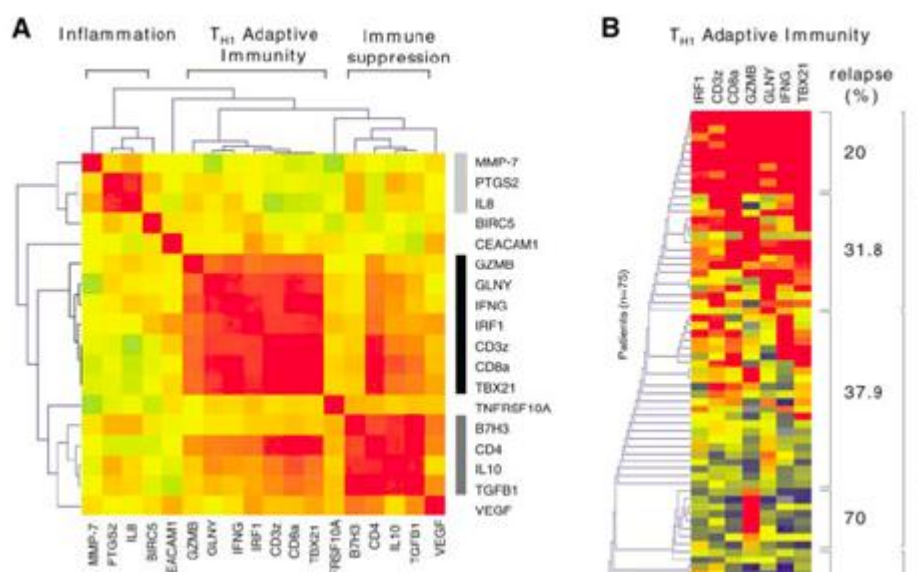
- Le suivi épidémiologique

Le suivi à long terme de ces patients a montré effectivement une augmentation importante de la fréquence des cancers. Il ne faut pas retenir l'ensemble des cancers mais savoir que la plupart sont d'origine virale (EBV, Herpes...) et d'autres liés par exemple à une transplantation.

- Les corrélations entre l'infiltration lymphocytaire et la survie

L'infiltration lymphocytaire dans les tumeurs est corrélée positivement avec la survie, c'est-à-dire que plus l'infiltrat Lymphocytaire est important, plus le pronostic sera bon et plus le pourcentage de rechute après récidive chirurgicale sera bas.

**Attention : il faut également regarder le type de Ly qui infiltre la tumeur !!!**



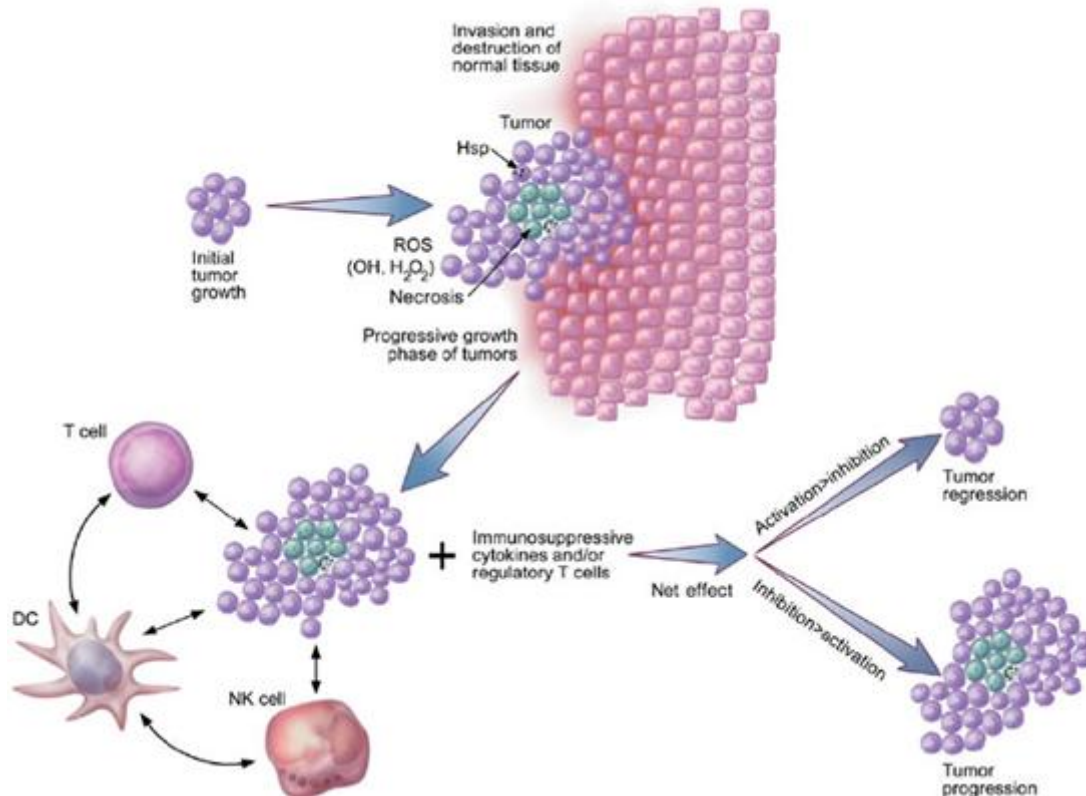
On a regardé l'infiltrat lymphocytaire chez des personnes ayant un K du colon et on regarde les gènes liés à un processus inflammatoire, les gènes exprimés par les Ly (par exemple ici expression du gène induisant la réponse Th1) → Le pourcentage de rechute après résection du cancer colique dépend bien du type de Ly et des gènes

qu'il exprime : Si on a beaucoup de réponse TH1, le pourcentage de rechute est faible. Si on a peu → risque de rechute +++.

- Le développement d'une réponse immune contre la tumeur

Il existe de très nombreux antigènes tumoraux qui ont des propriétés immunogéniques → Ils doivent donc être reconnus par les Ly CD4 et CD8 mais également par les Ac.

### 3°) immunocompétence et cancer



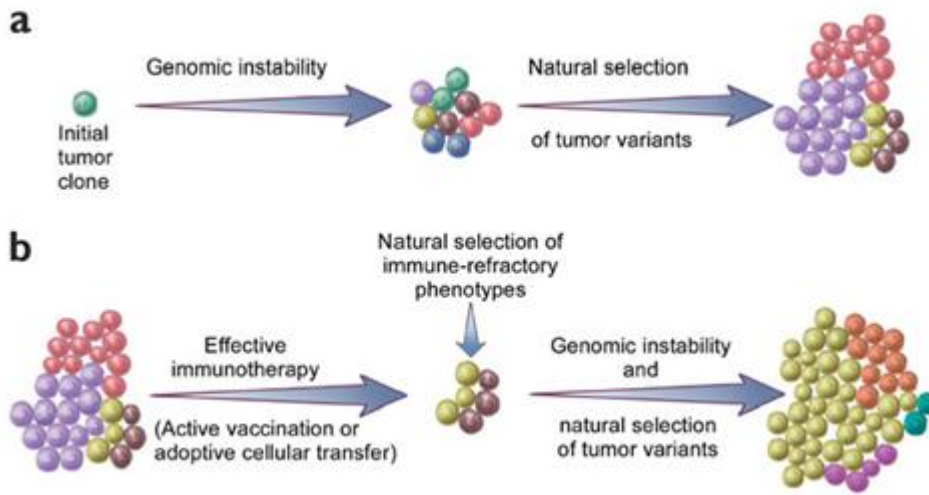
Il y a une tumeur initiale qui prolifère et qui commence à envahir les tissus. Une tumeur n'est pas isolée, elle fabrique elle-même son propre micro environnement, leur propre matrice, elle a ses propres fibroblastes... Quand elle devient supérieure à 1mm, on aura le phénomène de néoangiogénèse pour permettre à cette tumeur de disposer des nutriments nécessaires à sa croissance.

Les C du SI sont recrutées puis on a :

- Soit le SI parvient à contrôler la situation → régression
- Soit ce sont les cellules cancéreuses qui prennent le dessus sur le SI → progression tumorale

Le système immunitaire exerce une pression de sélection sur les tumeurs et favorise la sélection de variants qui ont une meilleure chance de survie dans un environnement immunitaire intact :

- Les tumeurs qui surviennent dans un environnement immunitaire intact sont globalement moins immunogéniques que les tumeurs survenant en l'absence de système immunitaire.
- Le système immunitaire "sculte" les tumeurs en éliminant les cellules tumorales fortement immunogènes mais en laissant les cellules tumorales variantes (moins immunogènes ou ayant acquis des mécanismes de résistance à l'attaque immune).
- très probablement favorisé par l'instabilité génétique des tumeurs (présentation antigénique déficiente par perte du processing ou anomalies du CMH, anomalies du IFN $\gamma$ R et de la voie de signalisation)
- survient vraisemblablement tôt au cours de l'histoire naturelle des cancers de sorte que les tumeurs devenues apparentes cliniquement ont (probablement) déjà été façonnées par le système immunitaire.



On a une tumeur initiale avec des clones qui émergent (variations génétiques des C tumorales).

Quand on réalise une immunothérapie, donc en présence d'un SI → sélection des variants les moins reconnus par ce système immunitaire.

### III. le concept de cancer immunoediting

Le système immunitaire a donc une double fonction : immunosurveillance pour protéger l'hôte, et à son insu "façonner les tumeurs". L'immunosurveillance implique seulement une fonction de protection du système immunitaire et le terme plus général de "cancer immunoediting" est actuellement proposé.

3 étapes : élimination – équilibre - échappement

#### 1°) l'élimination

Photo A : Quand la tumeur grossit, elle envahit les tissus environnants. Cela nécessite un apport sanguin obtenu par la fabrication de néo vaisseaux grâce à la sécrétion de molécules angiogéniques.

- o L'envahissement tissulaire entraîne des signaux inflammatoires qui attirent les cellules du système immunitaire non spécifique (macrophages, NK, NKT,  $\gamma\delta$ T, cellules dendritiques).
- o Ces cellules reconnaissent des structures à la surface des cellules cancéreuses et sont activées pour produire de l'IFN- $\gamma$ .

Photo B : L'IFN- $\gamma$  a plusieurs effets :

- anti-prolifératif et apoptotique sur les cellules tumorales
- induction de chimiokines par les cellules tumorales et le tissu environnant sain (MIG IP-10, I-TAC) qui recrutent encore plus de cellules NK et de macrophages

NK et macrophages s'activent réciproquement par la production d'IFN- $\gamma$  et d'IL-12. Cette activation leur permet de tuer les cellules tumorales (TNF, perforine, dérivés oxygénés).

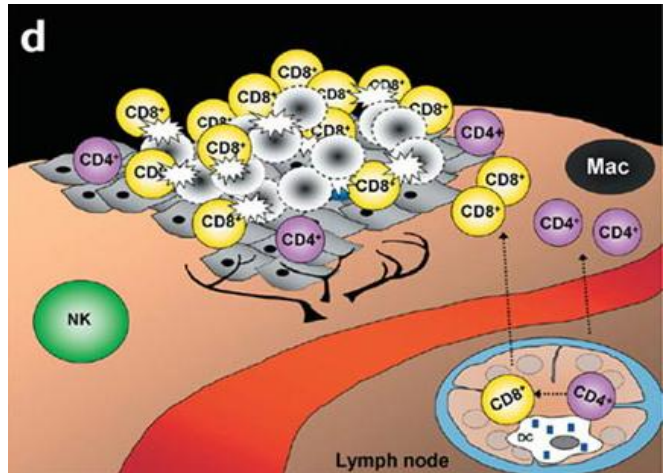
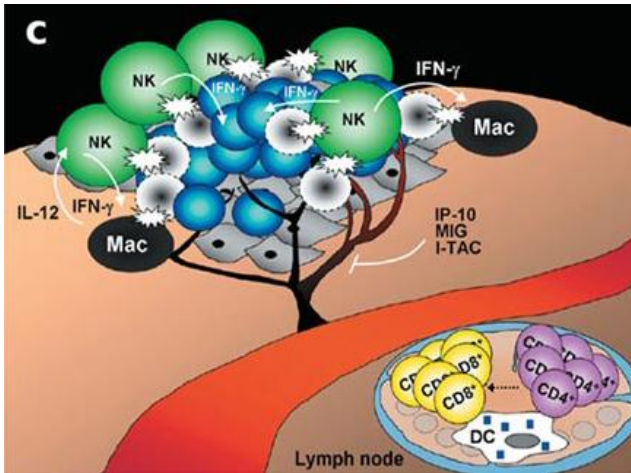
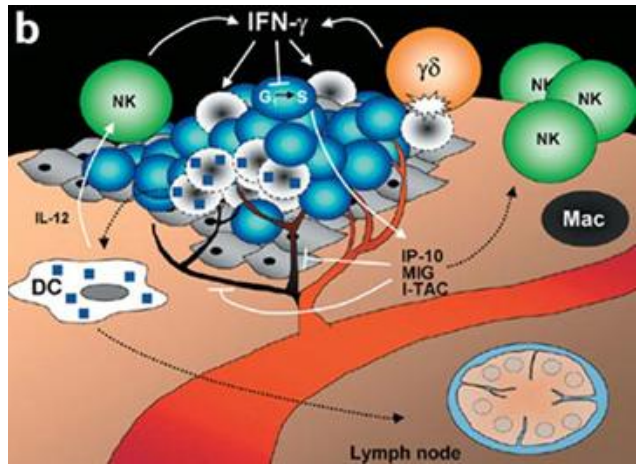
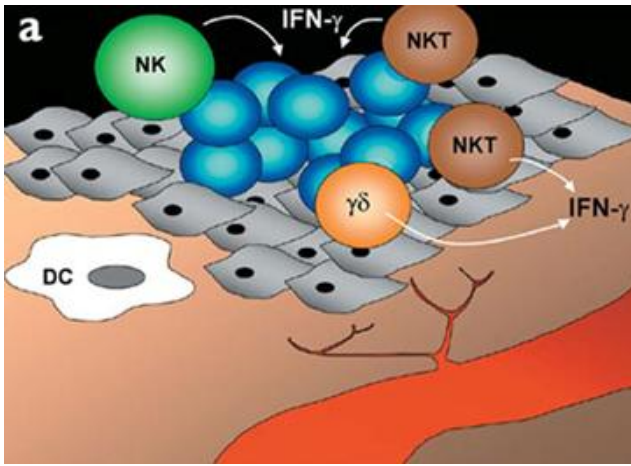
Les chimiokines ont aussi une action angiostatique et bloquent la formation de nouveaux vaisseaux ce qui amplifie la mort des cellules tumorales.

Photo C : Les débris cellulaires sont ingérés par les cellules dendritiques présentes localement qui vont ensuite migrer vers les ganglions.

Dans le ganglion, les cellules dendritiques activent les cellules CD4 Th1 (sécrétrices d'IFN) spécifiques qui facilitent le développement des cellules CD8 cytotoxiques tumeurs-spécifiques.

Photo D : Ces lymphocytes spécifiques CD4 et CD8 migrent vers la tumeur et les lymphocytes CD8 détruisent les cellules tumorales exprimant les antigènes tumoraux.

Les Ly CD4 sont capables de réguler la réponse immunitaire et de l'amplifier.



## 2°) la phase d'équilibre

Les cellules tumorales qui ont échappé au système immunitaire et le système immunitaire entrent dans une phase d'équilibre → pression suffisante sur la tumeur pour la contenir, mais pas assez pour l'éliminer.

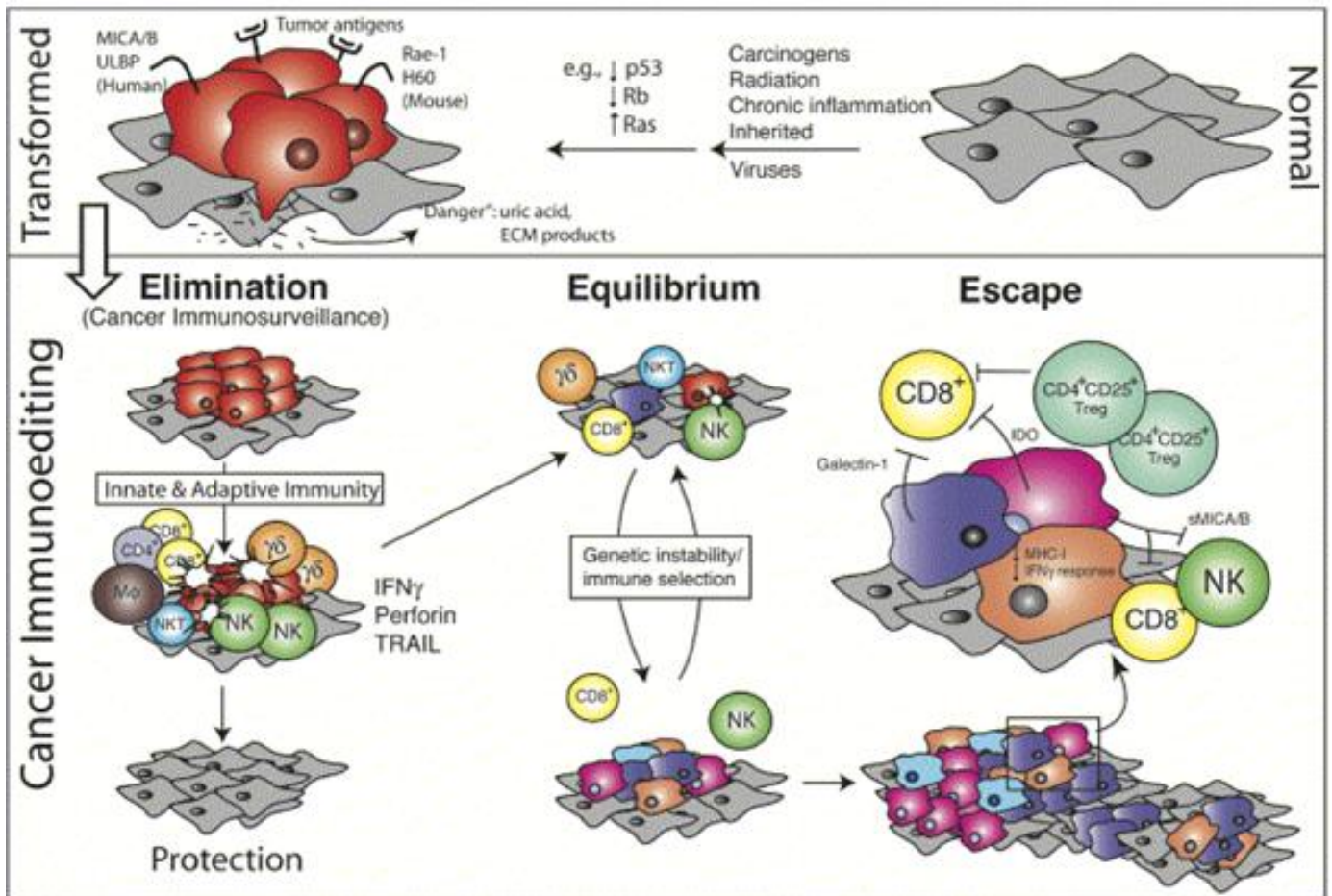
Durant cette phase de sélection "Darwinienne", la plupart des variants initiaux sont probablement détruits mais de nouveaux variants émergent continuellement pour ne pas être détecté par le SI

→ Cette phase pourrait durer des années.

## 3°) phase d'échappement

Les variants qui ont réussi à échapper au système immunitaire soit en échappant à sa détection soit en devenant résistants finissent par proliférer de manière incontrôlée et aboutissent à une tumeur cliniquement observable.

S'il y a une diapo a retenir c'est celle-ci, elle résume tout ce que l'on vient de dire :



#### IV. Mécanismes d'échappements

Les tumeurs utilisent plusieurs mécanismes pour échapper au système immunitaire. Leur connaissance est importante en matière d'immunothérapie : l'analyse de différents échantillons tumoraux au début et durant l'évolution pourrait permettre d'analyser les raisons du succès ou de l'échec de cette approche thérapeutique.

##### ❖ Les protéines associées aux tumeurs peuvent être faiblement immunogènes :

beaucoup de molécules qui sont exprimées par les tumeurs sont vues par le système immunitaire comme des molécules du soi :

- expression d'antigènes embryonnaires (comme AFP, ACE) ou de molécules exprimées normalement sur d'autres types cellulaires (PSA ou CD20) ou simplement surexprimés (Tyrosinase, MART1, GP100 présents sur les mélanocytes et surexprimés sur les mélanomes malins).
- épitopes masqués par des polysaccharides
- tumeur isolée anatomiquement ( au niveau de l'œil par exemple)

##### ❖ La présentation antigénique peut être déficiente :

- l'expression des antigènes reconnus (peptides immunodominants) par le système immunitaire est inhibée par la tumeur au profit de peptides immunorécessifs (ou élimination par le système immunitaire des cellules tumorales exprimant ces peptides immunodominants au profit des cellules exprimant les peptides immunorécessifs)
  - anomalie du processing de l'antigène (protéasome) et du transport (TAP) aboutissant à une anomalie d'expression du CMH et de la  $\beta$ 2microglobuline par les cellule tumorales
- ➔ toute la voie de présentation de l'Ag peut être perturbée.

❖ **Inhibition de l'activation des cellules cytotoxiques dans l'environnement tumoral :**

il y a une phase pendant laquelle tous les Ly cytotoxiques arrivent et entraînent une destruction en passant par plusieurs étapes. Les cellules cancéreuses perturbent ces étapes en fabriquant des substances immunosuppressives parfois produites par le SI pour sa propre régulation.

Par exemple :

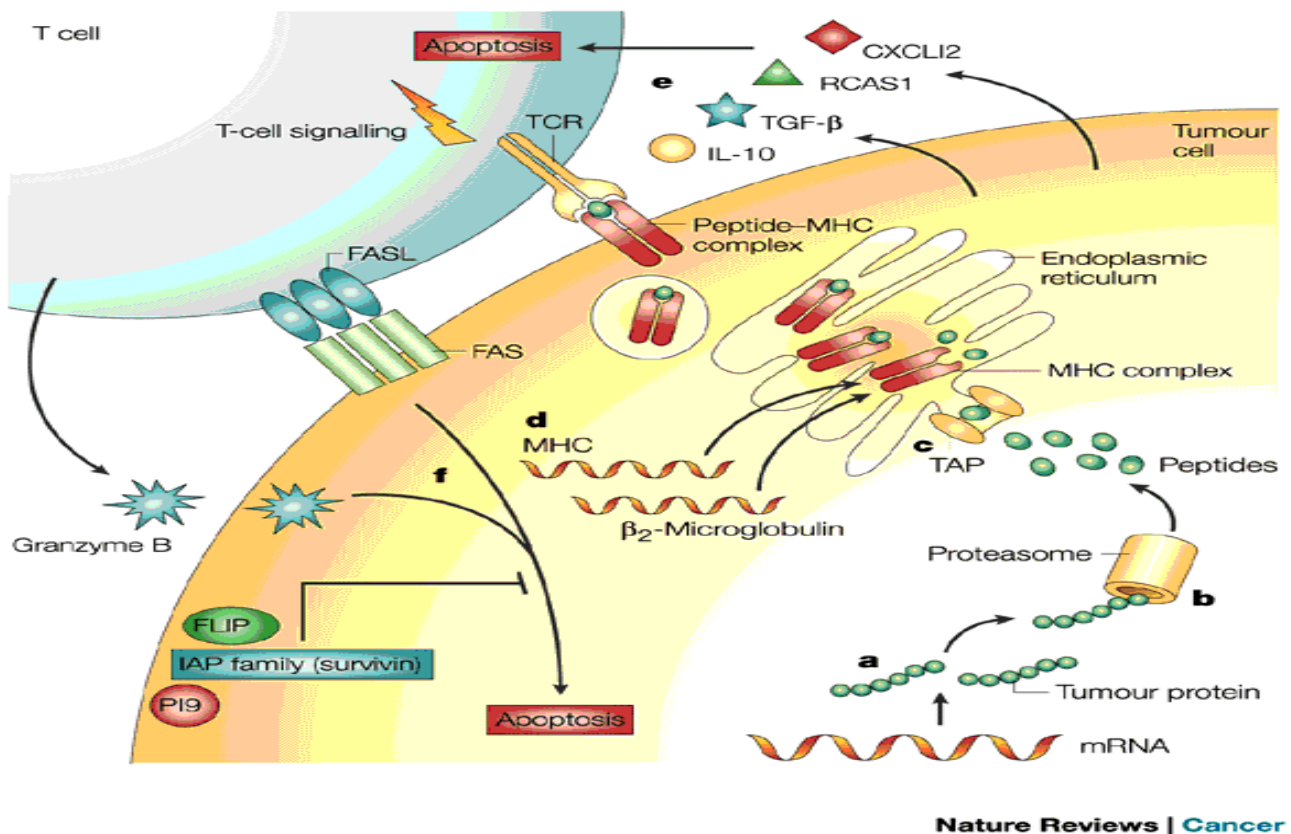
- VEGF qui agit sur les C dendritiques
- IDO qui 'bouffe' le tryptophane → sans tryptophane les Ly ne sont pas activés ( NB : c'est le mécanisme utilisé lors de la grossesse, l'IDO détruit le tryptophane donc les Ly de la mère ne sont pas activés et ne détruisent pas les C de l'embryon/fœtus)

❖ **Production par la tumeur de molécules inhibant l'apoptose induite par les cellules T ou défauts des voies d'apoptose.**

❖ **Génération ou activation par la tumeur de cellules T suppressives.**

- Les tumeurs pourraient favoriser le développement de cellules T régulatrices CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>
- Elles inhiberaient la réponse immunitaire anti-tumorale
- Sont détectées dans certains cancers (poumon, ovaire, sein, pancréas).

Shéma récapitulatif des mécanismes d'échappement :



Notez que sur les C tumorales il y a très peu de CMH de classe I.

## V. Applications cliniques

- L'existence d'une réponse immunitaire contre les tumeurs permet elle d'envisager la manipulation du système immunitaire pour augmenter ses effets anti-tumoraux ?
- Il faut à partir de la phase d'échappement retourner à la phase d'équilibre

On peut séparer une immunothérapie anti-cancéreuse active et une immunothérapie anti-cancéreuse passive :

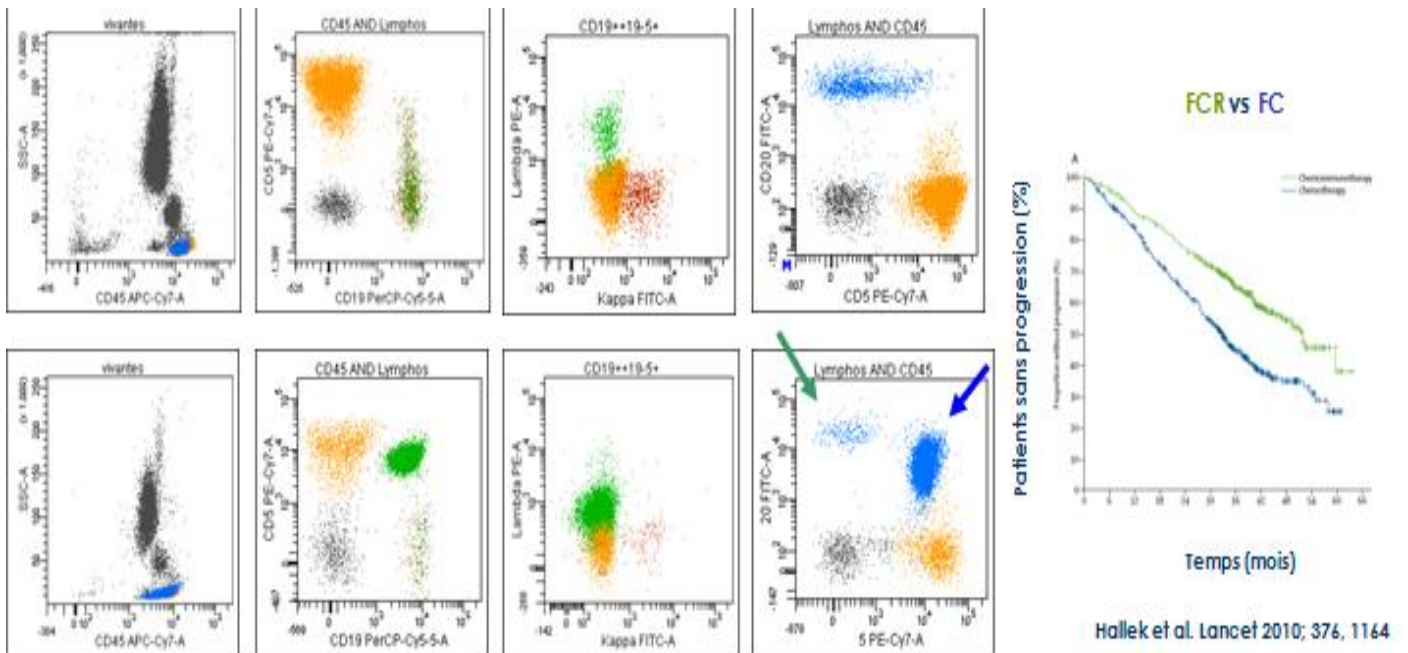
- L'immunothérapie active a pour but d'induire une réponse immunitaire spécifique contre un ou plusieurs antigènes tumoraux → Cette réponse est supposée durer longtemps
- L'immunothérapie passive consiste à fournir une quantité importante d'effecteurs (molécules effectrices comme les anticorps ou cellules effectrices comme les lymphocytes cytotoxiques) → Cette réponse est brève et dépend d'injections répétées

### 1° immunothérapie passive par injection d'Ac

Les effets des anticorps sont multiples (bloquer un site fonctionnel, induire une lyse anticorps dépendante via le complément, induire de la cytotoxicité ADCC, induire de l'apoptose...)

- o Application efficace et validée dans de nombreux cancers hématologiques ou solides
- o En général en association avec la chimiothérapie → augmentent l'efficacité
- o Ils peuvent être couplés à des isotopes radioactifs ou des toxines
- o Citons les anticorps anti-CD20, CD52, CD33, antiHER/neu, anti-VEGF (ne cible pas directement la tumeur mais les vaisseaux tumoraux), anti-EGFR

### 2° leucémie lymphoïde chronique : expression du CD20 et action du rituximab



On fait une cytométrie de flux où on mesure l'expression des marqueurs sur les Ly. Le CD20 est sur tous les Ly B matures. En haut on a les profils d'un sujet normal, et en bas, ceux d'un sujet malade avec des Ly B leucémique ( flèches).

Sur le graphique à droite, on voit que selon l'immunothérapie utilisée (FC / FCR) le pronostic du patient n'est pas le même → si on met un Ac anti-CD20 on améliore le pronostic du patient ( grâce à une molécule qui existe à l'état normal).

### 3° les cytokines

De nombreuses cytokines sont produites dans le microenvironnement tumoral et agissent sur les tumeurs. La manipulation de cet environnement constitue une stratégie pour stimuler des réponses protectrices contre la tumeur.

Après les travaux pionniers de William Coley à la fin du 19° siècle, de nombreux travaux ont exploré les effets de l'administration systémique de cytokines. La première indication claire que la manipulation du système immunitaire pouvait entraîner la régression de tumeurs humaines invasives est venue au milieu des années 80 de protocoles d'administration d'IL-2 chez des patients porteurs de cancers métastatiques rénaux et cutanés (mélanomes malins).

- o Souvent effets secondaires importants et effets spécifiques modestes
- o Certaines (L'IL-2 et l'IFN $\alpha$ 2b) ont l'agrément de la FDA
- o Nombreuses cytokines dans des essais
- o Utilisation en combinaisons de cytokines ou associées à d'autres stratégies comme la vaccination

En gros : quand patient infecté → régression de la tumeur car environnement cytokinique modifié par l'infection → facilite l'action et l'amplification du SI ( théorie très intéressante mais beaucoup d'inconvénients car on provoque une infection chez le patient qui peut parfois entraîner des chocs septiques etc...)

#### ❖ Les vaccins combinés aux cytokines

Dans de nombreux modèles animaux l'injection de tumeurs productrices de cytokines se comporte comme un vaccin qui augmente l'immunité contre la tumeur sauvage.

Le principe consiste à exciser la tumeur, isoler les cellules, les transfecter avec un gène codant pour une cytokine, les irradier puis les utiliser pour vacciner les patients. Cette approche entraîne une réponse immune contre la tumeur ou ses métastases (infiltration par des lymphocytes T CD4 et CD8, nécrose, parfois destruction des vaisseaux tumoraux).

→ Ces approches sont extrêmement lourdes et restent très largement du domaine de la recherche clinique.

#### 4°) l'immunothérapie (+/-) passive par transfert de cellules immunes possédant une réactivité anti-tumorale

**Principe : isoler chez les patients des lymphocytes (circulants ou infiltrant les tumeurs), les cloner, expandre ceux qui possèdent une forte avidité pour les antigènes tumoraux avant de les réinjecter.**

- o L'administration de cellules LAK (pour lymphokine-activated killer cells) ou de TIL (pour tumor-infiltrating lymphocytes après les avoir fait proliférer in vitro) : encourageant chez la souris mais souvent décevant chez l'homme.
- o Réalisé initialement pour les lymphocytes T CD8+ (cytotoxique mais courte demi-vie) et plus récemment pour les cellules T CD4+ (plus difficile à expandre mais fonction co-stimulatrice et durée de vie plus longue)
- o Ces lymphocytes peuvent également être modifiés génétiquement pour amplifier leur pouvoir anti-tumoral (transfection de gènes codant pour des cytokines anti-tumorales, pour des récepteurs de chimiokines...).

#### 5°) immunothérapie active

L'immunothérapie active ou immunisation a pour but d'immuniser les patients contre leur propre cancer. Une des approches actuellement suivie consiste à utiliser des cellules dendritiques pulsées :

- avec des antigènes tumoraux recombinants,
- des extraits de tumeurs,
- des peptides immunodominants dérivés de tumeurs,
- infectées avec des virus recombinants,
- ou même fusionnées avec des cellules tumorales.

→ **Le but étant d'élargir la réponse immunitaire à d'autres antigènes tumoraux qui n'étaient pas détectés par les Ly.**

Une autre approche consiste à utiliser des anticorps qui vont moduler la réponse immune :

- Bloquer les récepteurs négatifs de la réponse immune comme CTLA-4(= CD152) = molécule co-inhibitrice qui se fixe à la place de CD28 ( molécule co-stimulatrice) pour ne pas que la réponse immunitaire « s'emballe » → semble très prometteur dans les mélanomes malins mais effets secondaires +++ (rashes, colites, atteintes hypophysaires car dérégulation du SI)

- Bloquer d'autres voies inhibitrices (comme PD-1) ou des cytokines inhibitrices (Ac anti IL-10 ou anti TGFb) ou activer des voies stimulatrices (CD40, CD137)

*Quand on fait une immunothérapie et qu'on remarque que la tumeur augmente de taille → pas forcément mauvais car c'est dû à l'infiltration lymphocytaire et la réaction inflammatoire induite → effet de grossissement.*

### **CONCLUSION :**

- o **De nombreux progrès en matière d'immunobiologie des tumeurs et du fonctionnement du système immunitaire ont été réalisés au cours des dernières années. La démonstration que des tumeurs peuvent régresser parfois complètement sous stimulation immunitaire appropriée confirme qu'il est possible de traiter les cancers par la manipulation du système immunitaire.**
- o **Néanmoins, ces résultats restent rares et les échecs peuvent être dus à l'inadéquation des méthodes utilisées (nombre insuffisant de lymphocytes dans les tumeurs, nécessité de générer à la fois des lymphocytes CD4 et CD8, la survie et l'efficacité de ces derniers nécessitant des facteurs sécrétés par les CD4) mais aussi aux capacités d'échappement des cellules cancéreuses.**
- o **Un des challenges actuels est de mieux comprendre les mécanismes par lesquels les cellules tumorales deviennent réfractaires au système immunitaire.**