

IMMUNITE ANTI-TUMORALE

Dr. Olivier ADOTEVI

Médecin Immunologiste

Hôpital Européen G. Pompidou

Département d'Immunologie (Pr. W.H FRIDMAN)

INSERM U 255

Olivier.adotevi@hop.egp.ap-hop-paris.fr

1 ARGUMENTS EN FAVEUR D 'UN ROLE DU SYSTEME IMMUNITAIRE DANS L'IMMUNOSURVEILLANCE DES CANCERS

- Arguments expérimentaux (modèles murins)
- Arguments épidémiologiques.

2 BASES MOLECULAIRES DE LA RECONNAISSANCE DES CELLULES TUMORALES PAR LE SYSTEME IMMUNITAIRE

- Existence d 'une réponse immunitaire naturelle dirigée contre des antigènes tumoraux.
- Antigènes tumoraux

3 EFFECTEURS IMMUNOLOGIQUES IMPLIQUES DANS LA REPOSE ANTI-TUMORALE.

- Immunité Adaptative
- Immunité Innée

4 POURQUOI LA REPOSE IMMUNE ANTI-TUMORALE EST LE PLUS SOUVENT INEFFICACE ?

- Différents Mécanismes d 'échappement de la tumeur
- « Immuno-sélection » des tumeurs

ARGUMENTS EN FAVEUR D'UN ROLE DE L' IMMUNITE DANS LA SURVEILLANCE DES CANCERS

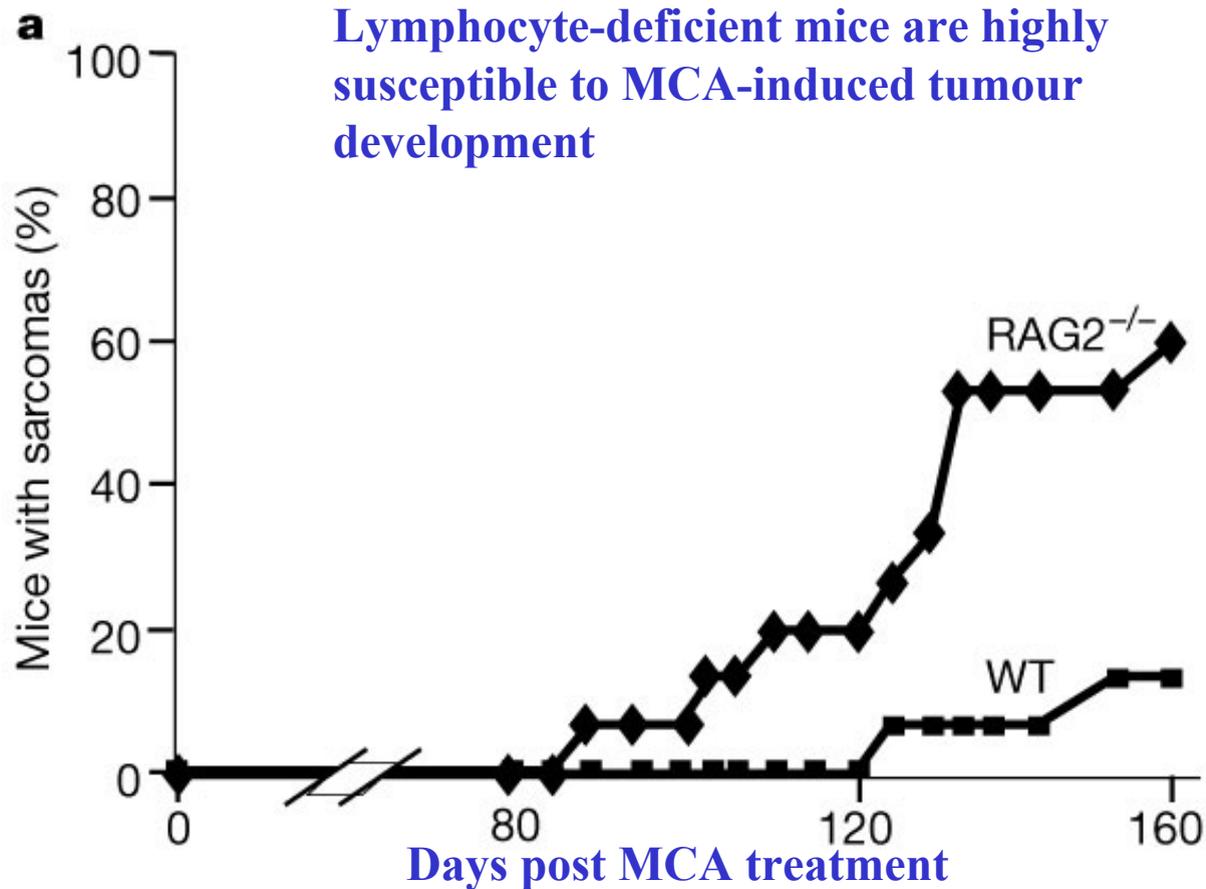
Historique: Le concept de « **l'Immunosurveillance des cancers** »

Paul Ehrlich (1909)

L. Thomas et **F.M Burnet** (1970)

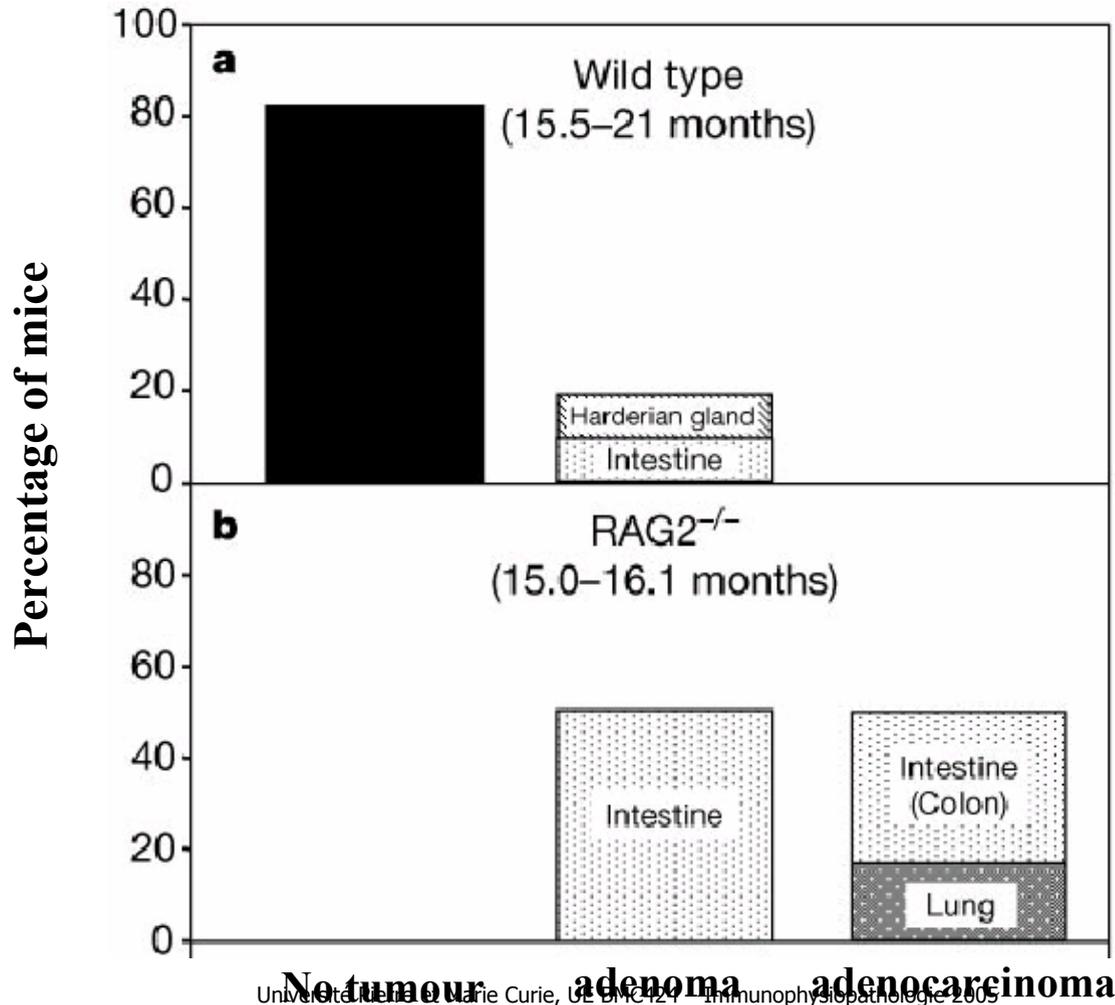
➤ hypothèse renforcée par la découverte **d'Ag spécifique de tumeurs** chez la souris (1964) puis chez l'homme (1996 T. Boon et al)

Modèles de souris immunodéficientes : souris RAG^{-/-}



Shankaran et al. Nature 2001

Increased development of **spontaneous neoplastic disease** in immunodeficient mice.



Autres modèles de souris mutantes :

- Souris déficientes récepteurs de IFN- γ , STAT-1

- et Souris déficientes en Perforine, IL-12,

(sensibilité accrue aux sarcomes induits par le MCA)

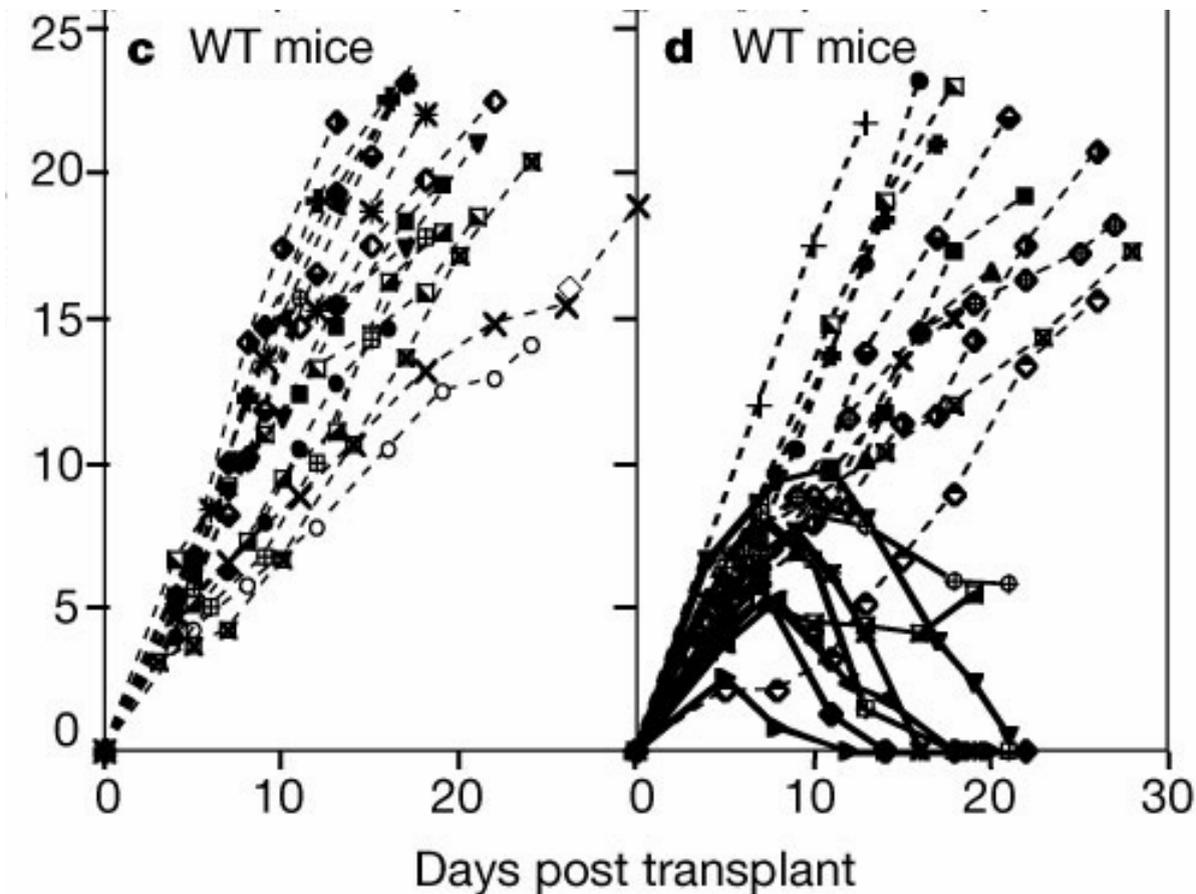
- Souris double KO RAG et STAT-1 : (Fréquence accrue de tumeurs)

Pour revue : Smyth, Trapani, Trends immunol (2001) 22, p408

Immunosurveillance et Cancer : Arguments épidémiologiques

- **Augmentation de la fréquence de certains cancers (Sarcome de Kaposi, Lymphome B-EBV, Cancers du col de l'utérus..) chez des patients immunodéprimés :**
 - . **Déficits immunitaires congénitaux**
 - . **Acquis (SIDA, Traitements immunosuppresseurs..)**
- **Reaction Graft Versus Leukemia (GVL) lors de greffes de moelles allogéniques.**

Increased immunogenicity of tumours derived from MCA-treated RAG2^{-/-} mice.



**BASES MOLECULAIRES DE LA RECONNAISSANCE
DES TUMEURS PAR LE SYSTEME IMMUNITAIRE:
LES ANTIGENES TUMORAUX**

Existence d'une réponse immunitaire naturelle dirigée contre les tumeurs

1 Réponse humorale

- Présence d'anticorps dirigés contre de nombreux antigènes tumoraux (p53, HER2/neu, Muc 1, GD2, NY-ESO1, HU...) dans le sérum de patients atteints de cancers.

2 Présence de lymphocytes T-CD4 et CD8 dirigés contre des peptides tumoraux.

Historique : **Antigène du groupe Cancer-testis** (Mage. (T Boon))

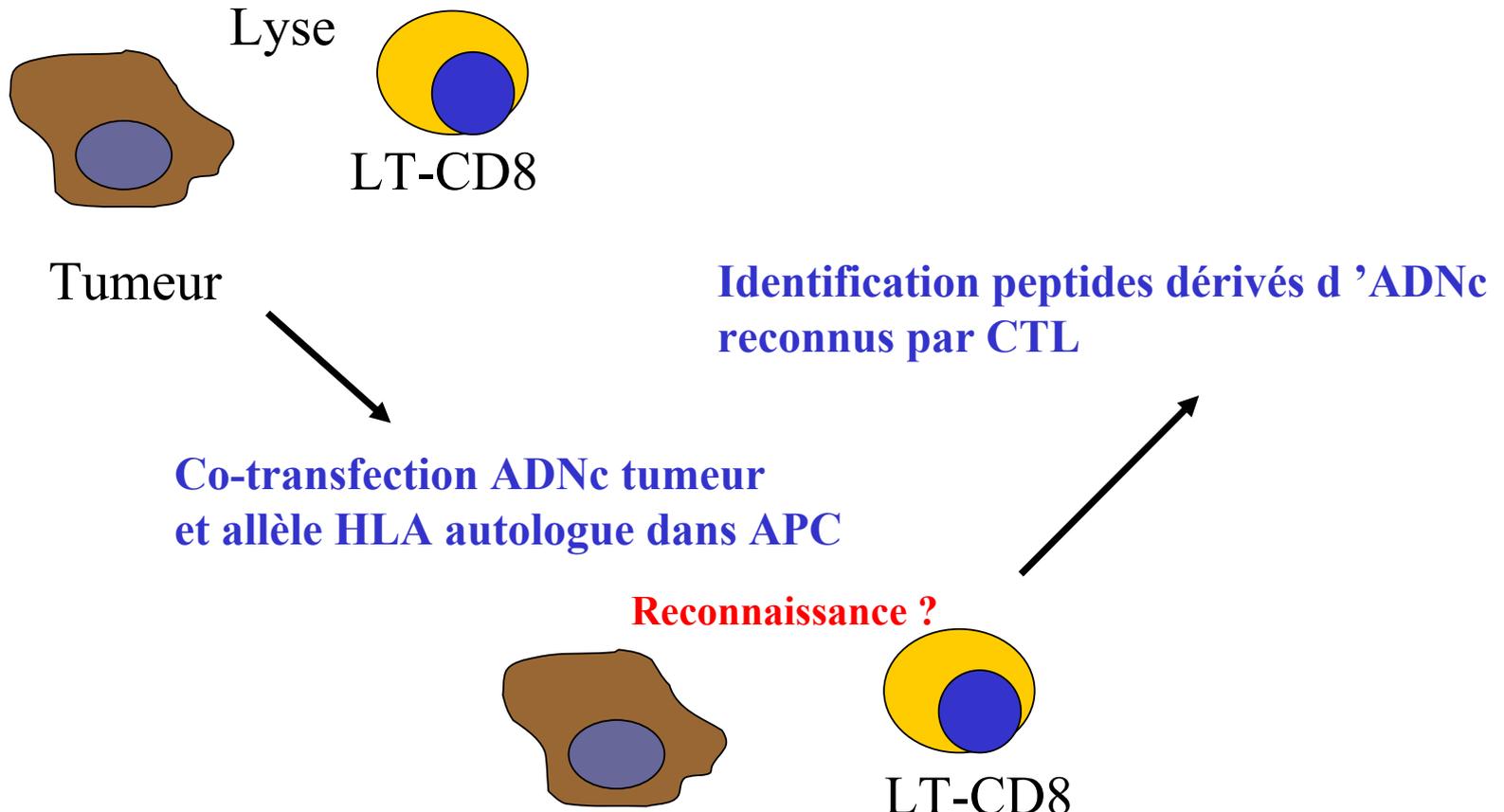
Protéines mutées

Protéines du soi

Virus.

METHODES D'IDENTIFICATION DES ANTIGENES TUMORAUX

1) Librairies de cADN de tumeurs



2) Technique SEREX

(Serological identification of recombinantly expressed genes)

Screening phages ou bactéries transfectées avec banques d'ADNc de tumeurs avec sérums de patients atteints de cancers

- Sérums plus faciles à obtenir que lymphocytes T-CD8 spécifiques de tumeurs
- Nombreux antigènes isolés ces dernières années par cette technique

Ex : NY-ESO

DIFFERENTS TYPES ANTIGENES TUMORAUX

1. Antigènes de différenciation

Mélanocytaire: Mart-1 (Melan A), Gp100 (pmel-17), Tyrosinase, TRP1 (gp75), TRP2

Prostatique: PSA, PAP, PSMA, PSCA

2. Cancer-Testis antigen

- Mage 1, Mage 2, Mage 3, Mage 12

- Bage, Gage, Rage

- NY-ESO-1

- N-acetylglucosaminyltransferase V (peptide intronique).

3. Antigènes mutés

- p53
- β catenine
- CDK-4
- Caspase-8

4. Antigènes surexprimés dans les tumeurs

- Her-2/neu
- Telomerase catalytic protein
- ACE
- α foeto-proteine (α FP)

5. Antigènes Viraux

VIRUS

TUMEURS

AUTRES FORMES CLINIQUES DE L'INFECTION VIRALE

EBV

- Lymphomes de Burkitt
- Cancer du rhinopharynx
- lymphome de Hodgkin

Mononucléose Infectieuse
Syndrome d'hémophagocytose
Déficits immunitaires (f.familiales S. de purtillo)

HTLV1

- Leucémies à cellules T

S. de parésie spasmodique

HPV16,18

- Cancer du col utérin

Dysplasie épithéliale
Papillomatose laryngée

HPV1-45

- Maladie de Bowen (Cancer in situ)
- Epithélioma spinocellulaire
(immunodéprimés)

Dyskératose, Verrues

HBV / HCV

- Hépatocarcinome

Hépatite, Cirrhose

KSHV (HHV8)

- Sarcome de Kaposi

Maladie de Castleman

REPONSE IMMUNITAIRE ADAPTATIVE

CONTRE LES TUMEURS

- **Lymphocytes T-CD8+/CTL**
- **Lymphocytes T-CD4+**
- **Lymphocytes B/ Anticorps**

DEUX TYPES DE RÉPONSES IMMUNES ADAPTATIVES

CD4-TH1

IL-2, IFN γ , TNF β



- Stimulation des Lymphocytes T

(Cellular immunity, CTL, etc.)

- Activation of macrophages cytotoxicity
- Favors IgG2a antibody switch.

CD4-TH2

IL-4, IL-5, IL-6, IL-10



- Stimulation des Lymphocytes B

(humoral immunity)

Favor IgE and IgG1 antibody switch
(IgG 4 in human)

- Activation of mastocytes and differentiation of eosinophils (Allergy).

LYMPHOCYTES T CYTOTOXIQUES (CTL)

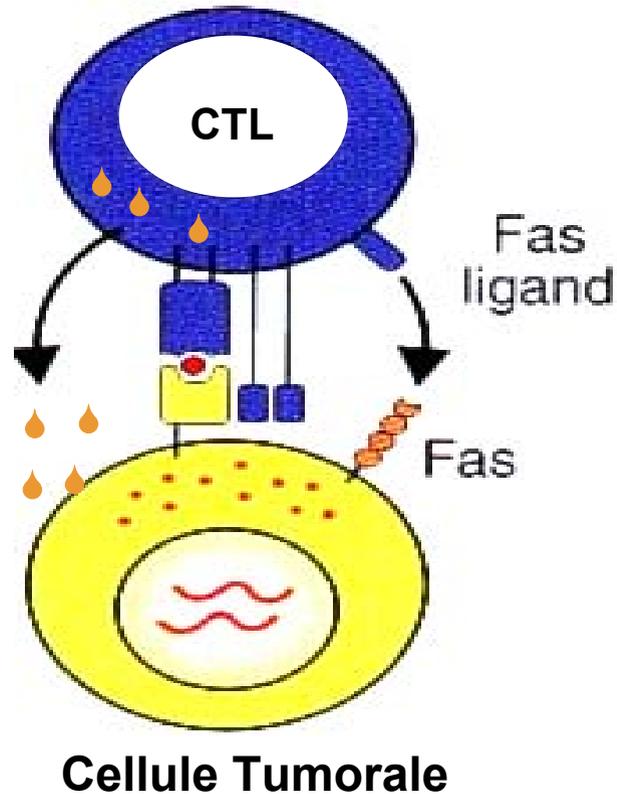
✓ Un des effecteurs majeurs dans la réponse anti-tumorale

Molécules effectrices:

Perforine

Granzymes

Cytokines (IFN- γ , TNF- α/β)



LYMPHOCYTES T CYTOTOXIQUES (CTL)

- **Corrélation dans des modèles murins entre la capacité d'induire des CTL *in vivo* et la réponse anti-tumorale.**
- **Mise en évidence de CTL anti-tumoraux dans des modèles de tumeurs humaines spontanément régressives**
- **Efficacité anti-tumorale en immunothérapie adoptive**

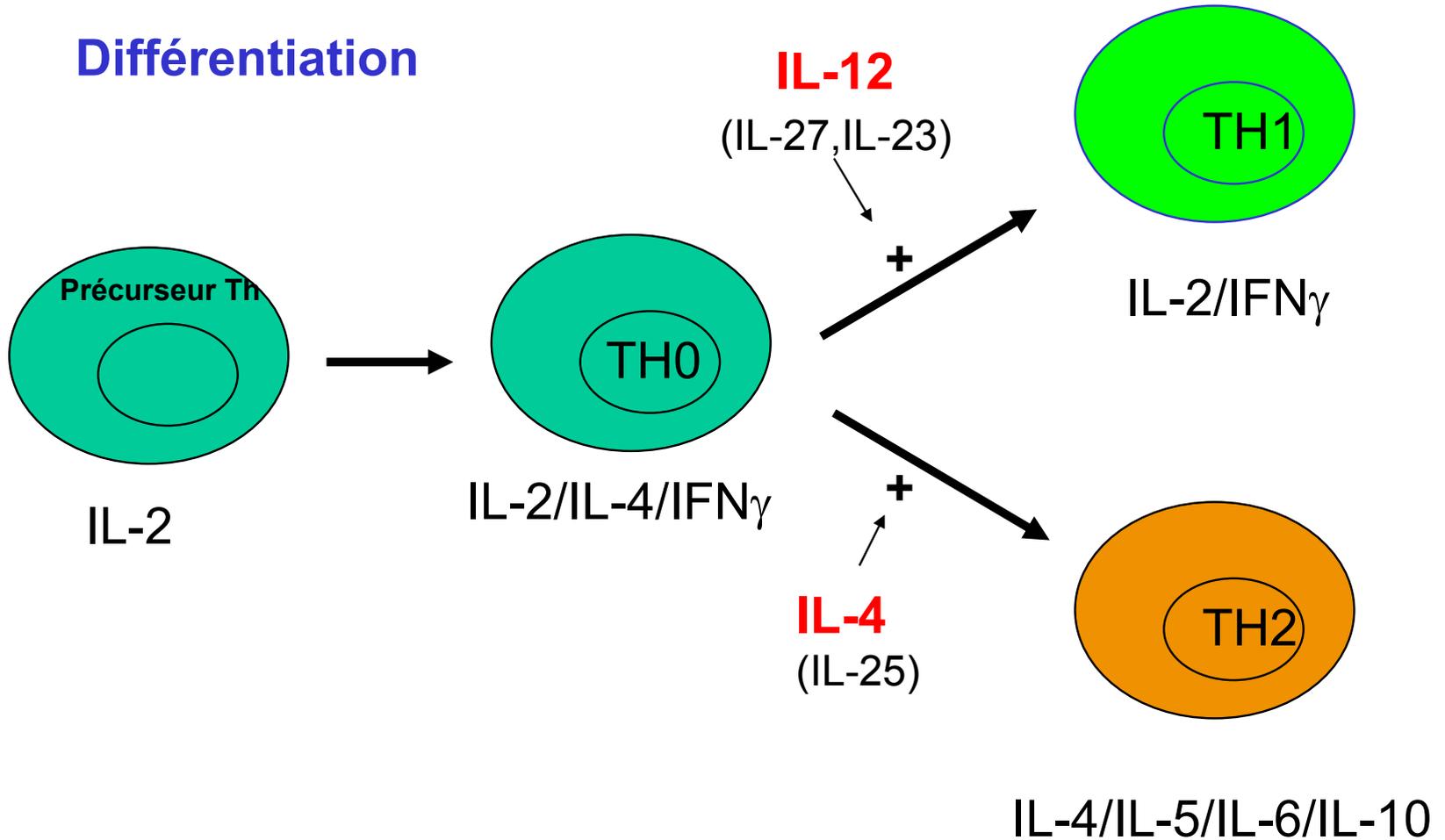
Patients	Sites of evaluable metastases	response (duration months)	Autoimmunity
1	Lymph nodes (axillary, mesenteric, pelvic)	PR [‡] (24+)	None
2	Cutaneous, subcutaneous	PR (8)	Vitiligo
3	Brain, cutaneous, liver, lung	NR	None
4	Cutaneous, subcutaneous	PR (2)	None
5	Brain, lung, lymph nodes	NR-mixed	None
6	Intraperitoneal, subcutaneous	PR (15+)	None
7	Lymph nodes, subcutaneous	NR-mixed	Vitiligo
8	Subcutaneous	NR	None
9	Cutaneous, subcutaneous	PR (10+)	Vitiligo
10	Lymph nodes, cutaneous, subcutaneous	PR [‡] (9+)	Uveitis
11	Liver, pericardial, subcutaneous	NR-mixed	Vitiligo
12	Liver, lung, gallbladder, lymph nodes	NR mixed	None
13	Subcutaneous	NR	None

Administration of TIL + IL-2 in patients pretreated with chemotherapy

Dudley Science 2002

LYMPHOCYTES T-CD4

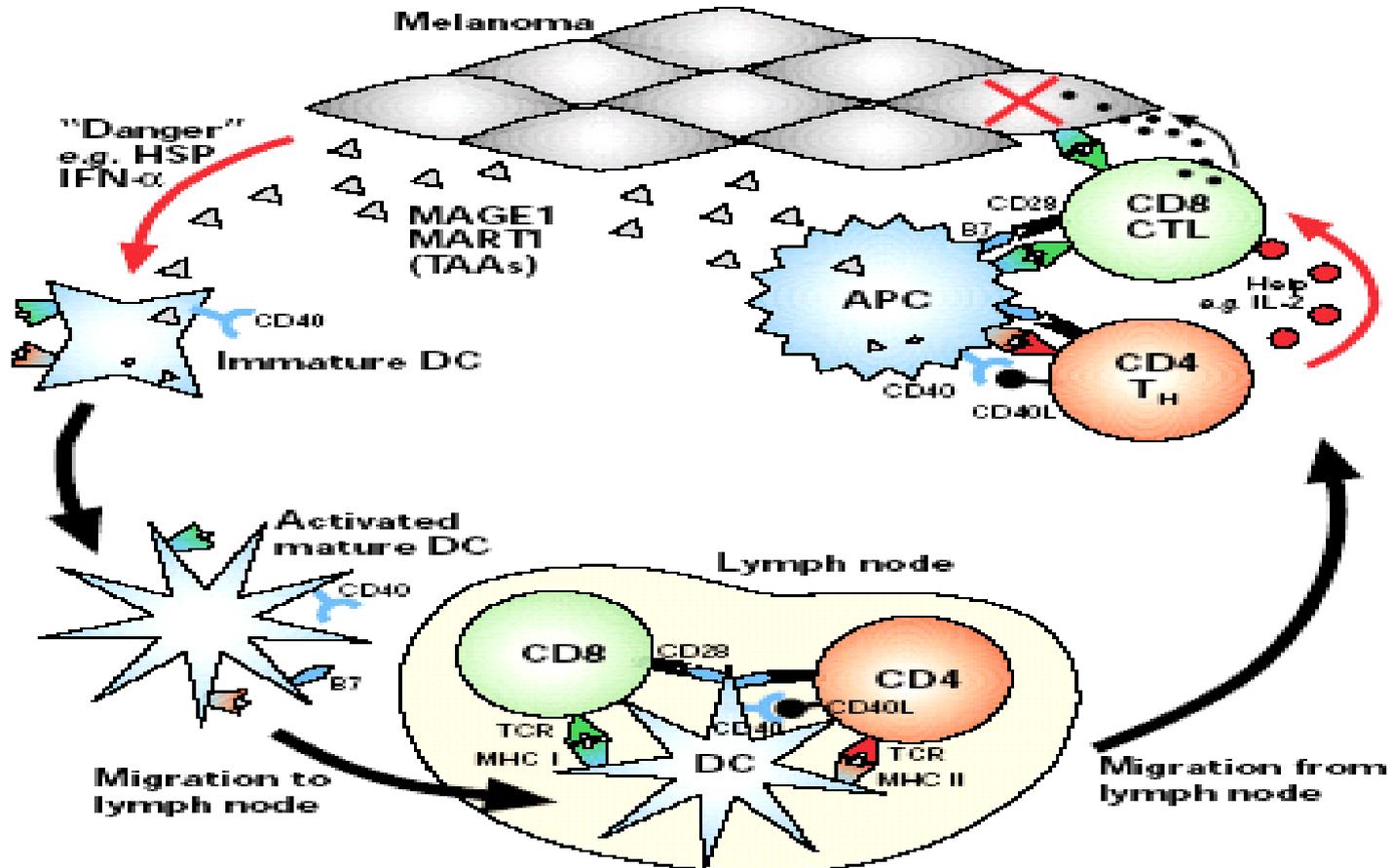
Différentiation



LYMPHOCYTES T-CD4

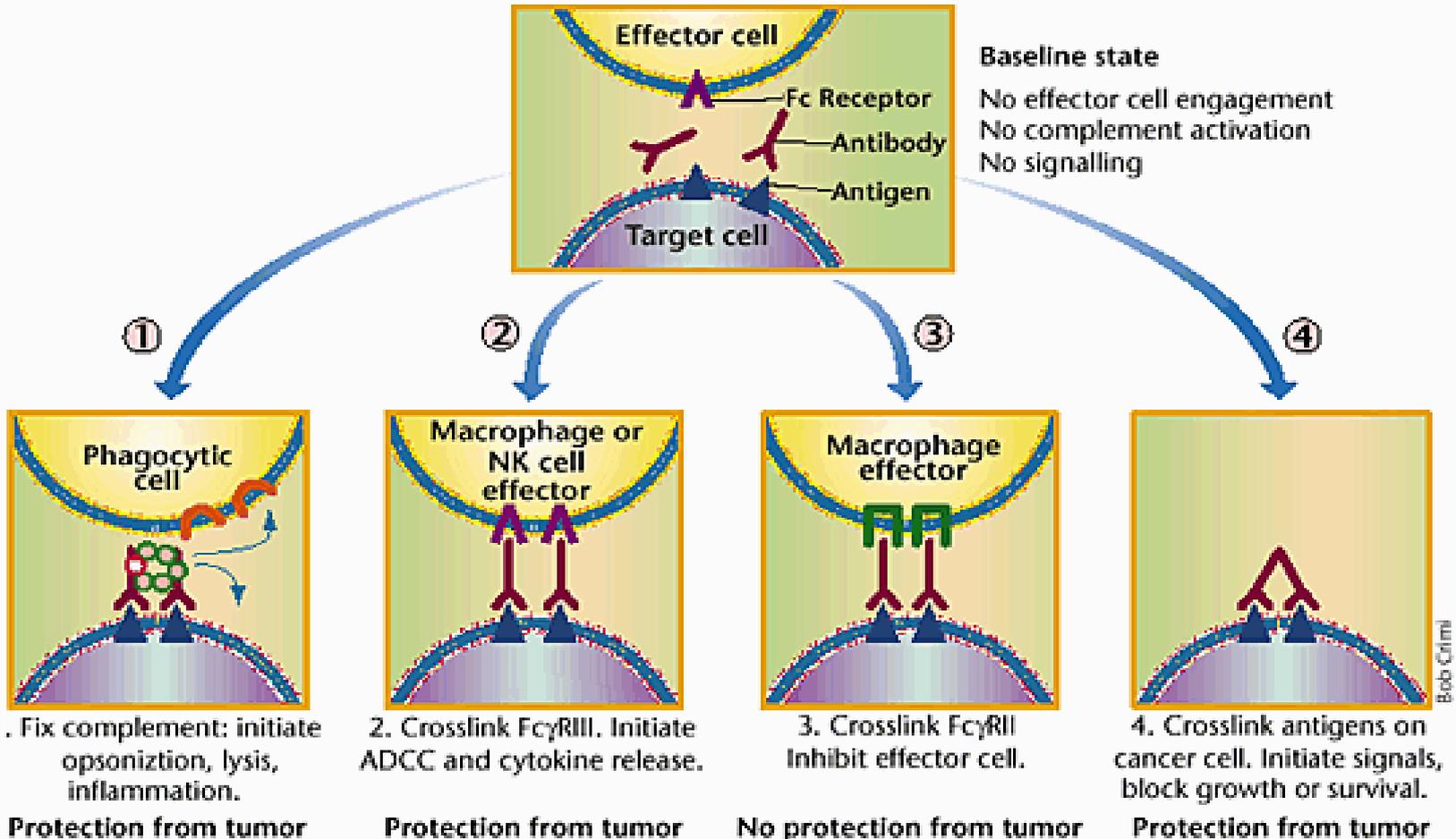
- Effet anti-tumoral direct (production de cytokines, cytotoxicité Fas-Fas L)
- Effet indirect via l'induction et le maintien des lymphocytes T-CD8 anti-tumoraux ou en favorisant le recrutement d'autres effecteurs (éosinophiles, macrophages...)
- Dans certains modèles ces lymphocytes T-CD4 peuvent jouer un rôle pro-tumoral.

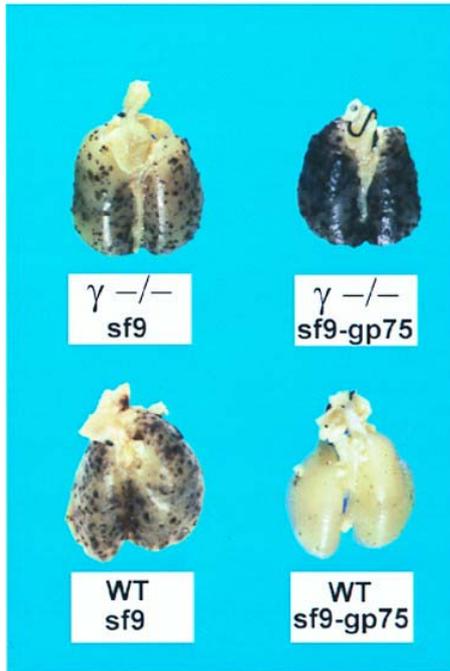
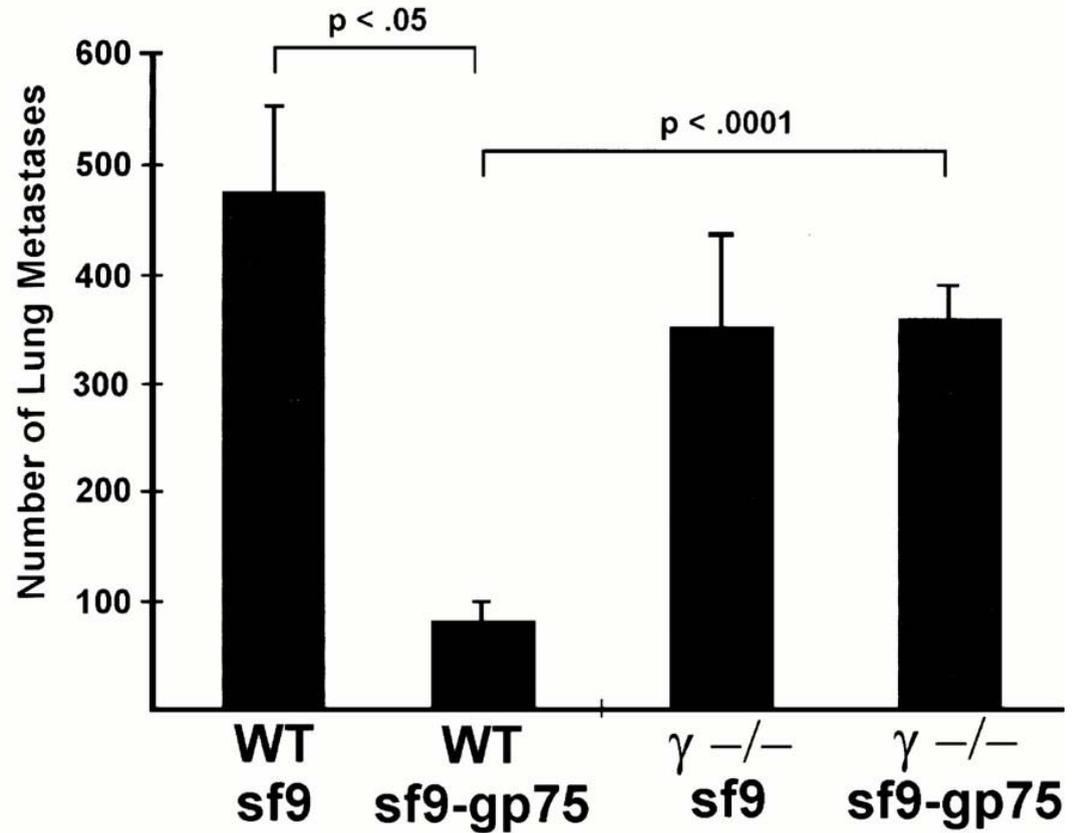
Réponse immunitaire cellulaire T dirigée contre des antigènes du mélanome



Smyth MJ et al Nat immunol 2001

Anticorps et Réponse anti-tumorale



A**B**

Immunité anti-tumorale nécessite la présence de RFcy.

Clynes R P.N.A.S 1998

Anticorps monoclonaux dans le traitement des cancers chez l'homme

	Target	Indications
Trastuzumab* Herceptin	HER2/neu	Cancer du sein
Rituximab* (Ac chimérique)	CD20	Lymphomes folliculaires LLC
Alemtuzumab* (Campath-1H) Ac humanisé	CD52 (Malignant B and T cells)	LLC Syndrome de Sezary

REPONSE IMMUNITAIRE INNEE

CONTRE LES TUMEURS

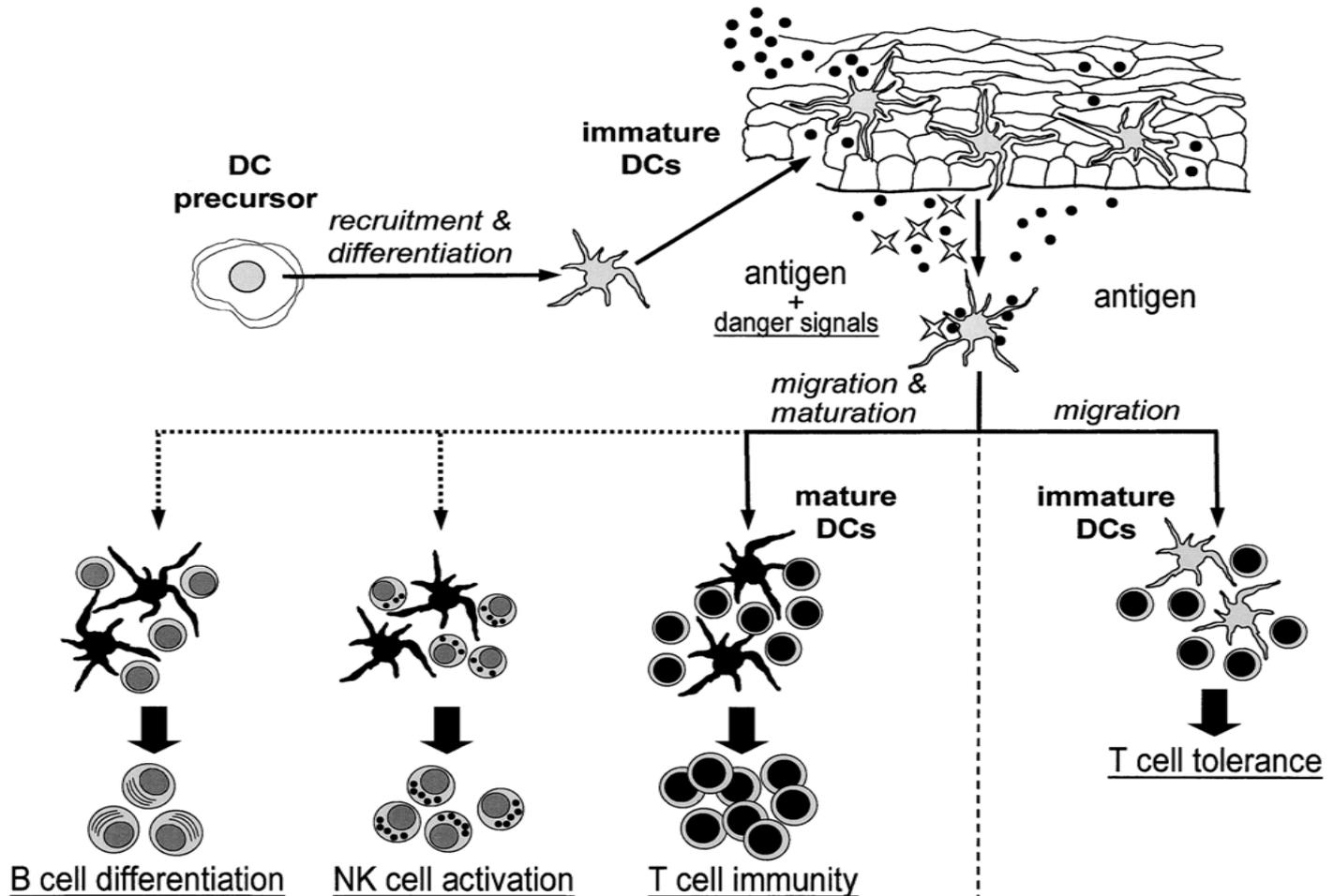
- Rôle de l'immunité innée dans la surveillance immunitaire

Ex : des souris « nudes »...

-les Acteurs de l'immunité innée :

Cellules dendritiques, macrophages, cellules NK, NKT, $T\gamma\delta$, cytokines et chemokines etc...

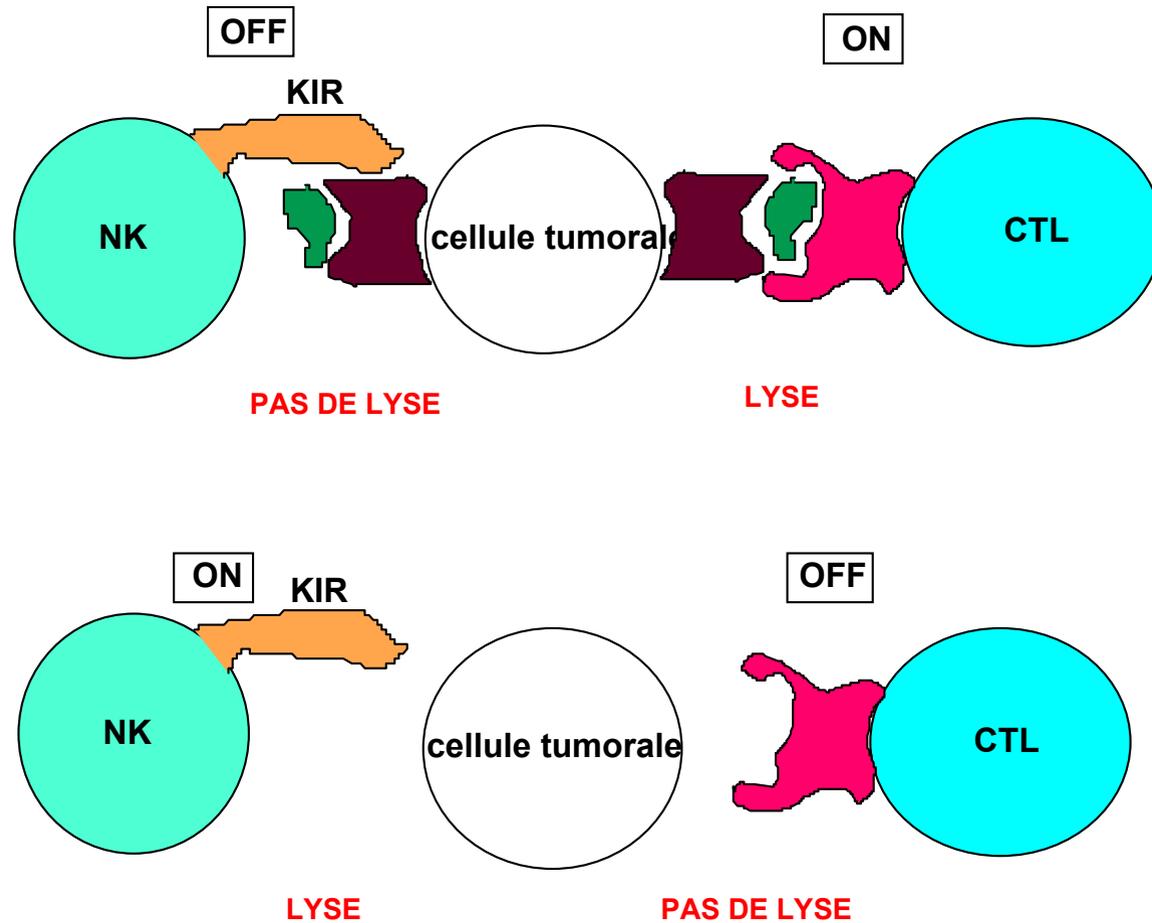
Les Cellules Dendritiques (DC)



Les Cellules Dendritiques (DC)

- Seules cellules capables d'enclencher une **réponse adaptative**.
- Divers types de réponses peuvent être enclenchés par les DC en particulier **TH1/TH2**.
- Les DC peuvent présenter des antigènes après capture de cellules mortes (corps apoptotiques), **phénomène de présentation croisée**.
- Les DC expriment des groupes distincts de **TLR**, dont certains peuvent reconnaître des ligands endogènes induits pendant les réponses inflammatoires.
 - En particulier:
 - Activation des fragments de fibronectine cellulaire par TLR-4**
 - Protéines de choc thermique (HSP) peuvent impliquées TLR-2 et TLR-4.**

Cellules NK



Cellules NK

- Le rôle de ces cellules NK dans le contrôle du rejet des tumeurs a également été démontrée chez des **souris déficientes en cellules NK (souris beige...)** qui présentent une vitesse de croissance tumorale et une dissémination métastatique accélérée.

- **NKG-2D et cellules NK** : D'autres types de récepteurs de type « **activateurs** » ont été identifiés sur ces cellules Natural Killer et jouent un rôle dans l'activation de ces cellules pour la lyse des tumeurs.

La **transfection de ces tumeurs avec les ligands naturels de NKG2D (H60, Rae, MICA et MICB...)** entraîne un **rejet de ces tumeurs par un mécanisme dépendant des cellules NK.**

Lymphocytes NK-T

Ces lymphocytes T se caractérisent par une **reconnaissance** antigénique de façon **restreinte** par la **molécule CD1d** chez l'homme. Ces molécules CD1d lient des **glycolipides**.

Le répertoire du récepteur T des lymphocytes NKT est **oligoclonal**.

-Des souris déficientes en cellules NK-T (ex J α 281 KO) sont plus sensibles à la carcinogénèse chimique; et sont plus susceptibles au développement des sarcomes. Le transfert adoptif de NK-T corrige le défaut.

- Un ligand artificiel de ces cellules NKT (l' α -GalCer) stimule ces cellules et permet la régression de tumeur.

Les lymphocytes $T\gamma\delta$

- Rôle des cellules $T\gamma\delta$ dans le défense contre les carcinomes cutanés induits chez la souris (souris TCR δ KO...)
- Elles répondent à des molécules de petit PM non peptidiques, généralement phosphatées ($V\delta 2$), dérivées de la thymidine (signaux de stress cellulaire), reconnaissent aussi des protéines de choc thermique (HSP) et MIC-A/B.
- Elles expriment **NKG-2D**, sécrètent **IFN- γ** , et contiennent de la **Perforine**

**POURQUOI LA REPONSE IMMUNE ANTI-TUMORALE EST
LE PLUS SOUVENT INEFFICACE ?**

Les Mécanismes d 'échappement de la tumeur

Mécanismes d'échappement des tumeurs

- Perte ou modulation antigénique par la tumeur
- Défaut d'expression partielle ou totale des molécules du CMH de classe I sur la tumeur.
- Anomalies dans la présentation d'antigène: Défaut d'expression par les cellules tumorales de TAP1 et des sous-unités LMP-2 et LMP7 de l'immunoprotéasome
- Résistance des cellules tumorales à l'Action de l'IFN- γ , due à l'absence ou fonction anormale du récepteur à l'IFN- γ

Mécanismes d'échappement des tumeurs

- Sur-expression de molécules de résistance à l'apoptose (**cFlip, bcl2**)

Sécrétion de molécules comme **DC3** qui neutralise l'activité de **Fas-L**

- Sécrétion par la tumeur de molécules immunosuppressives dans le micro-environnement tumoral Immunosuppressive factors (**IL-10, TGF β , PGE2...**)

- Expression de **Fas ligand** ou **B7H1** induisant l'apoptose des lymphocytes T au contact de la tumeur.

- Sécrétion par la tumeur de **forme soluble de MIC ligand** de **NKG-2D** ou **diminution de l'expression de NKG-2D** sur les cellules effectrices.

- Anomalies moléculaires des Lymphocytes T dans différentes situations tumorales

- Déficit d'expression de la **chaîne ζ -CD3**
- Déficit d'expression de facteurs de transcription appartenant à la famille NF-Kappa B
 - . p65-Rel A, c-Rel, p50
- Déficit d'expression Jak 3
- Diminution d'expression **perforine**
- **Expression de KIR** par les lymphocytes T cytotoxiques infiltrant les tumeurs

- Biais in TH1 polarization in cancer

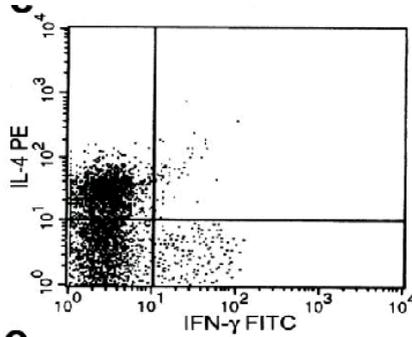
Low TH1 cytokine concentrations in cancer

Source of Splenic T cells	INTERFERON γ (U/ml)	INTERLEUKIN 2 (Pg/ml)	INTERLEUKINE 4 (Pg/ml)
Normal Mice	3.4	965	< 5
Tumor-Bearing mice	< 1	460	40

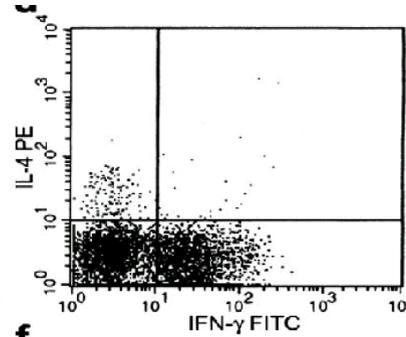
Ghosch J. Natl Cancer Inst. 1995

Predominant Th2/Tc2 Polarity of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Human Cervical Cancer

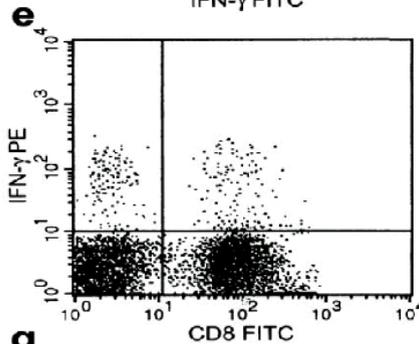
T.I.L
(gated CD3+)



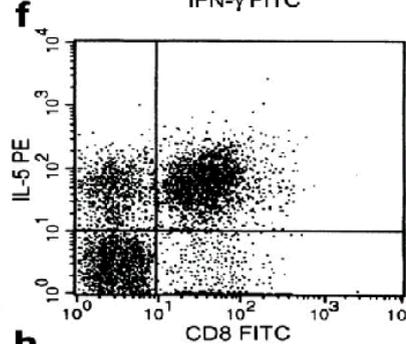
PBMC
(gated CD3+)



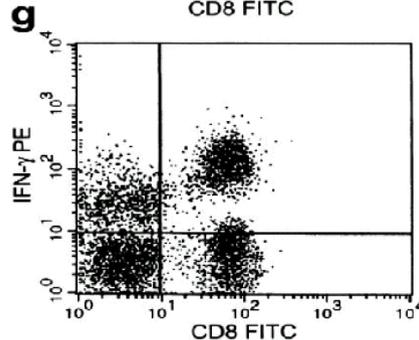
T.I.L
(gated CD3+CD8+)



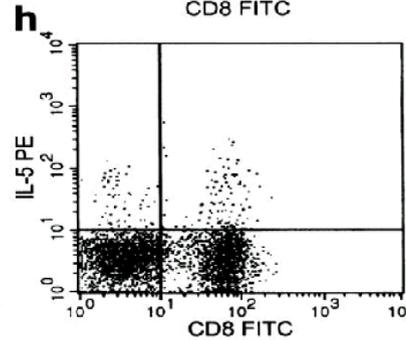
T.I.L
(gated CD3+CD8+)



PBMC
(gated CD3+CD8+)



PBMC
(gated CD3+CD8+)



Sheu BC J. Immunol 2001

Mécanismes d'échappement des tumeurs

- Lymphocytes T « suppresseurs » ou T régulateurs et cancer

La présence au cours de développement de certains cancers de lymphocytes T suppresseurs de type CD4+CD25+, ou Tr1 producteurs d'IL-10 et de TGFβ ou NKT sécréteurs d'IL-13, capables d'inhiber l'activation de lymphocytes à activité anti-tumorale a été décrite.

- Augmentation des LT CD4+CD25+ chez des patients atteints de cancers.

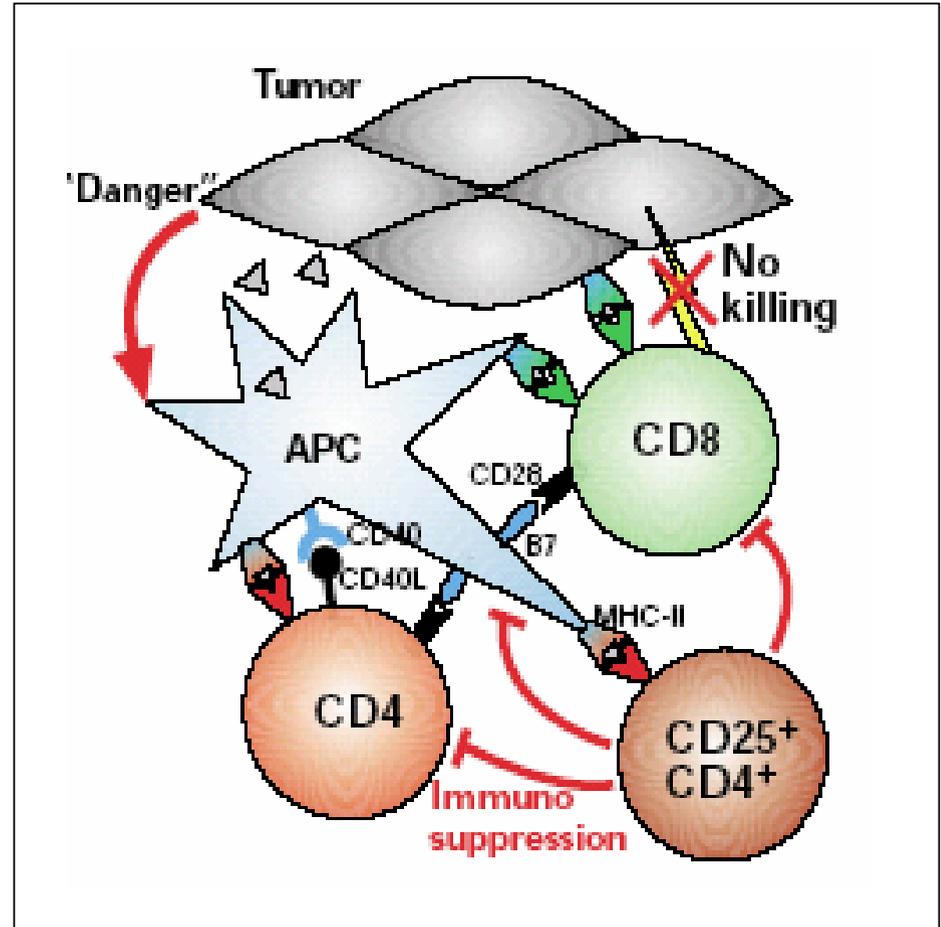
- Dans des **modèles murins**, la déplétion de populations de **lymphocytes T-CD4+CD25+** augmente l'induction de réponses immunes anti-tumorales associée à une meilleure efficacité anti-tumorale.

Rôle inhibiteur des LT régulateurs CD4+CD25+

a) - CD62L⁺ = L-selectin -
CD45RB^{low} (mice) - CTLA4⁺,
GITR⁺, Foxp3⁺, CD44⁺, - CD69-

b) Dans les organes lymphoïdes
représente 5-10% des LT-CD4
présents
de façon naturelle.

c) Prévention maladies auto-
immunes



Mécanismes d'action LT-régulateurs CD4+CD25+

- L'action suppressive des LT-reg n'est déclenchée qu'après activation consécutive à l'engagement de leur récepteur à l'antigène.

(Ex d'Ag tumoral reconnu par les Treg, **LAGE-1** Ag du groupe CT)

- Une fois activée, ces cellules bloquent la prolifération de tous les LT présents dans la culture de façon non spécifique (**effet bystander**).

Le phénomène de suppression semble dépendre de contacts cellulaires (**Rôle TGF β membranaire, CTLA4, GITR...**).

- Les LT reg sont capables d'inhiber l'activation des LT conventionnels CD4 et CD8 en bloquant leur prolifération, leur sécrétion d'IL-2 et leur différenciation.

Wild Type Mice

DN TGFRII Mice



2×10^5
B16-F10 i.v.

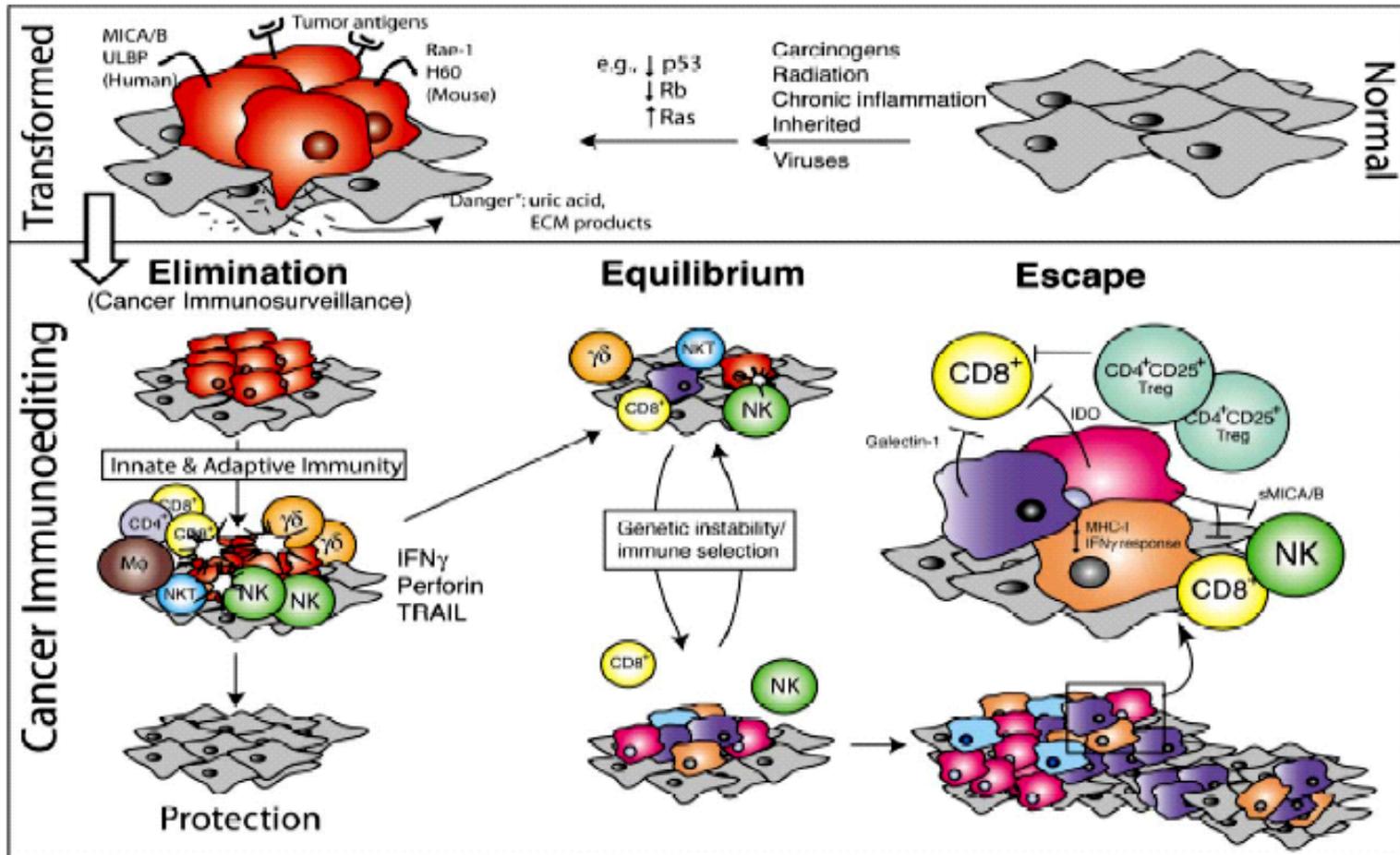
Blockade of TGF- signaling in T cells renders mice resistant to tumor challenge.

Gorelik L, Nature Med 2001

Le tableau général émerge (très certainement incomplet) est le suivant :

- a) Les défenses primordiales de l'organisme contre les tumeurs résident dans **les propriétés fondamentales** des cellules (apoptose, etc.) et des organes.
- b) L'émergence de tumeurs par échappement à ces mécanismes déclenche des **réponses immunitaires innées d'un type particulier** ex : cellules NK, cellules T non conventionnelles de type $\gamma\delta$...
- c) **L'immunité adaptative n'intervient qu'in fine** dans un contexte contraint par les problèmes de tolérance au soi et l'action des cellules T régulatrices
- d) **La tumeur se « défend » contre le système immunitaire à tous ces niveaux**, par émergence de mécanismes d'échappements (instabilité génétique, sécrétion de facteurs suppresseurs, etc.)

Théorie de « l'immuno-édition » des tumeurs



Schreiber RD et al Immunity 2004

Conclusion

Il existe une réponse naturelle du système immunitaire contre les cellules tumorales

Cette réponse semble plus importante au stade précoce du processus tumoral.

Les cellules tumorales développent de nombreux mécanismes d'échappement au système immunitaire.

Au cours du temps, les tumeurs les plus résistantes à l'attaque immunologique sont sélectionnées (**Immunoediting**).

Quelques revues:

Smyth et al Nature Immunol (2001); 2; 293-299

Dunn GP, Schreiber et al (Immunity 2004); 21; 137-148

Dunn GP et al Annu.Rev.Immunol. (2004) 22; 229-260

Dranoff et al cytokines in cancer pathogenesis...Nat. Rev. Cancer.(2004) 4, 11-22

Pardoll, D. Does immune system see tumors as foreign or self ?

Annu.Rev.Immunol 2003, 21, 807-839