

# Immunité anti-tumorale: Les avancées récentes en recherche

Nadège Bercovici

nadege.bercovici@inserm.fr

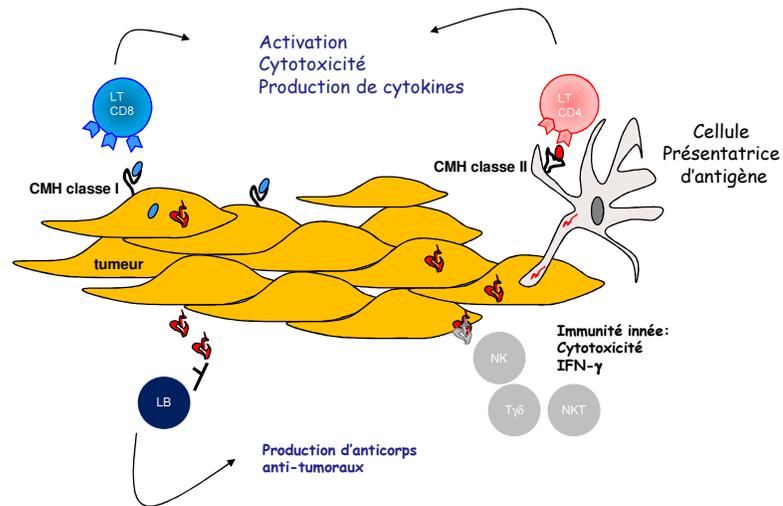


1

- Réponse immunitaire et cancer : un paradoxe?
- Tolérance des lymphocytes dans les tumeurs
- Activer le système immunitaire, est-ce suffisant?
- Vers de nouvelles combinaisons thérapeutiques

2

## Reconnaissance d'antigènes tumoraux par les lymphocytes

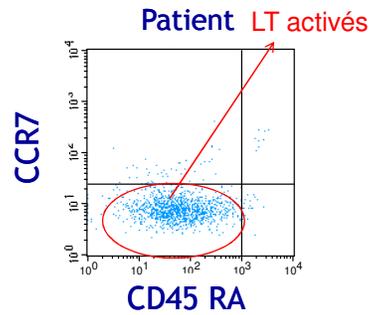
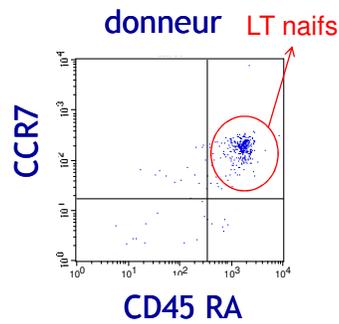
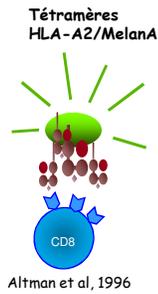


## Reconnaissance des tumeurs par le système immunitaire

- Augmentation de la fréquence de certains cancers chez des patients immunodéprimés
- Régression spontanée associée à un infiltrat lymphocytaire
- Régressions tumorales après administration des toxines de Coley (1890!)
- Anticorps dirigés contre des antigènes tumoraux dans le sang circulant de patients atteints de cancer
- Activation de lymphocytes T anti-tumoraux

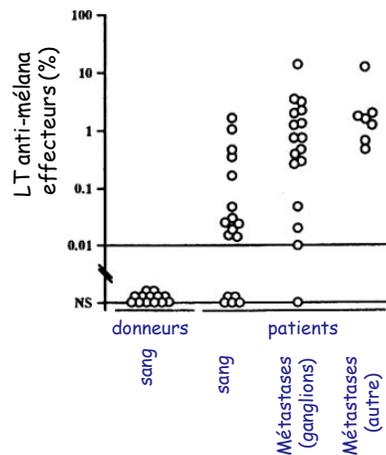
4

## Détection de lymphocytes T anti-tumoraux "activés" chez des patients atteints de cancer



Mallard E., Bercovici N., 2004

## Détection de lymphocytes T anti-tumoraux activés dans le sang circulant de patients atteints de mélanome

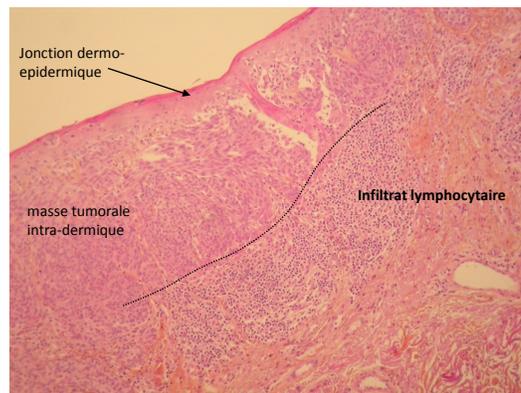


Zippellius et al., Cancer Res, 2004

6

## Des Lymphocytes peuvent infiltrer les tumeurs

- Localisation péri-tumorale *versus* intra-tumorale: une 1<sup>ère</sup> barrière?



Coupe histologique d'un mélanome E. Marinho & E. Maubec, 2008

7

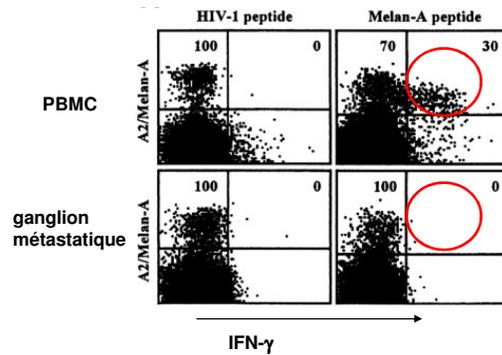
Réponse immunitaire et cancer:  
un paradoxe?

Tolérance dans les tumeurs

8

## Les lymphocytes infiltrant les tumeurs (TILs) présentent des défauts fonctionnels

- Faible production d'IFN- $\gamma$ , une cytokine essentielle dans la protection anti-tumorale

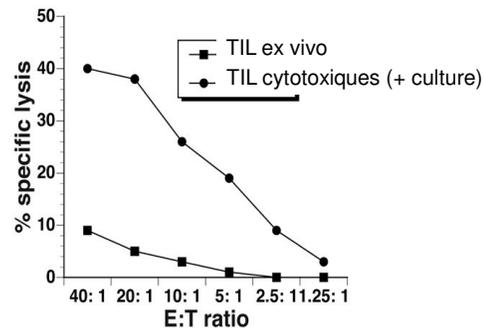


Zippellius et al., 2004

9

## Faible activité lytique des TILs

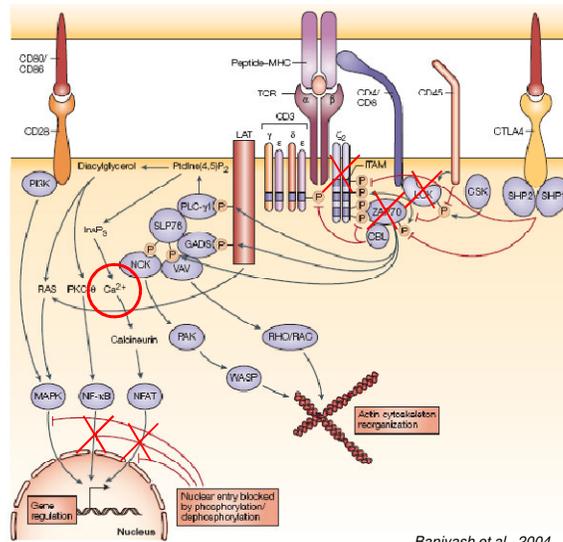
- Les TILs ont une faible activité lytique, un défaut d'expression de perforine, granzyme
- Défaut de polarisation des granules cytotoxiques à la synapse LT/ tumeur



Koneru et al., 2006

10

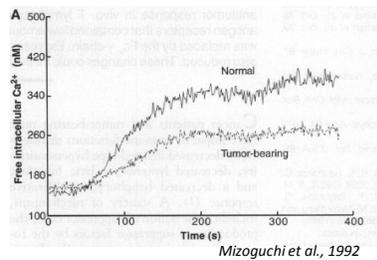
## Défauts dans les voies d'activation derrière le TCR



11

## Faible mobilisation de calcium intra-cellulaire

modèle de tumeur transplantée (MCA-38)



Mesure de réponse calcique en imagerie dynamique sur TILs fraîchement isolés de tumeurs humaines (C. Randriamampita, A. Trautmann)



12

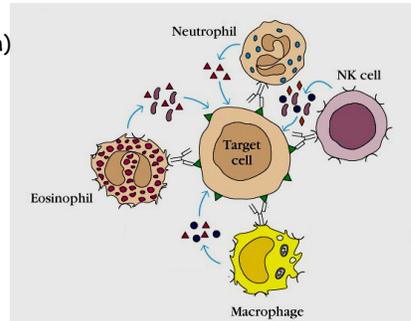


## Stratégies d'immunothérapie anti-tumorale

- Administration d'anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes de tumeurs :

Ex:

- anti-Her2/neu ou *Herceptin* (cancer du sein)
- anti-CD20 (lymphomes B)



- Greffe de cellules souches CD34+ (hémopathies malignes)

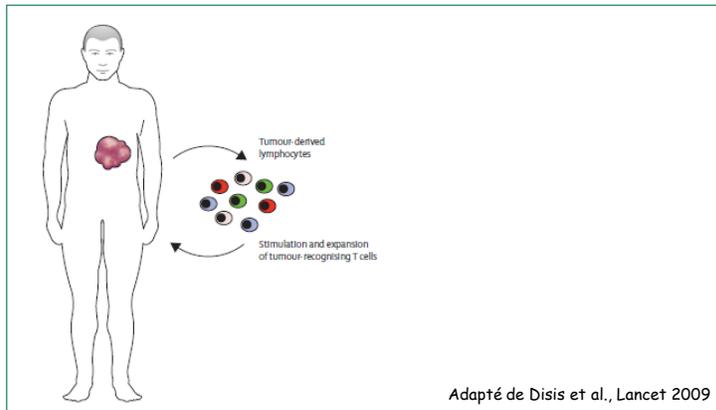
## Stratégies d'immunothérapie anti-tumorale

- Administration de cytokines (IL-2, IFN $\alpha$ , ...)

*En développement:*

- Transfert adoptif de lymphocytes T
- « vaccins » composés de protéines ou des peptides dérivés d'antigènes tumoraux + adjuvant
- *Combinaisons thérapeutiques...*

## Transfert adoptif de lymphocytes T

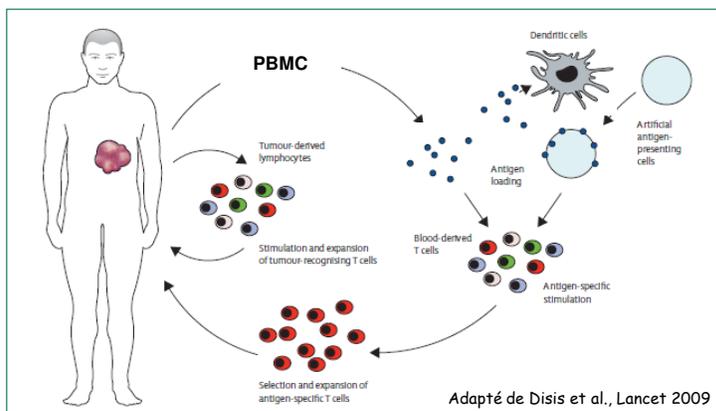


Études de S. Rosenberg et M. Dudley:

- déplétion lymphocytaire + IL-2 + TIL
- fréquence élevée de TIL circulants
- Réponses cliniques: 30-50% des patients
- Production difficile à grande échelle

17

## Transfert adoptif de lymphocytes T



Études de S. Rosenberg et M. Dudley:

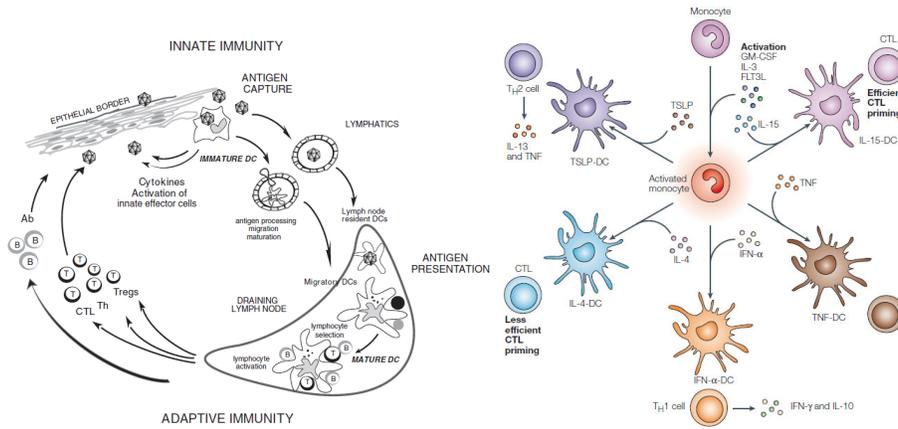
- déplétion lymphocytaire + IL-2 + TIL
- fréquence élevée de TIL circulants
- Réponses cliniques: 30-50% des patients
- Difficile à produire à grande échelle

Approche de N. Labarrière, B. Dreno, F. Jotereau et d'autres groupes:

- amplification de LT anti-tumoraux à partir de PBMC du sang
- Utilisation de peptides, et/ou de cellules dendritiques comme source d'antigène et d'adjuvant

## Utilisation des cellules dendritiques en thérapie anti-tumorale

- Capture d'antigènes, présentation et plasticité des cellules dendritiques (DC)



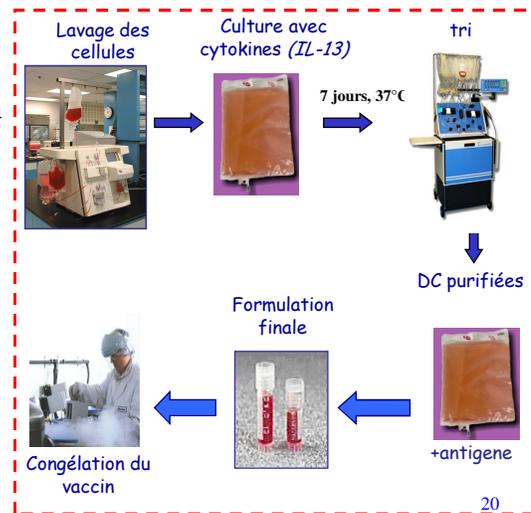
Banchereau J., Palucka K, cf revues en 2007 et 2009

## Production de cellules dendritiques à partir de monocytes pour "vacciner" contre le cancer

Cytaphérèse  
(isolement des PBMC)



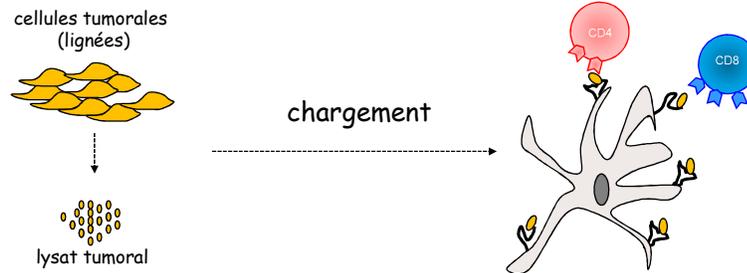
traitement



Proprietary IDM Process

20

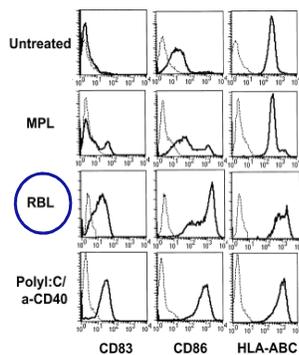
## Un « vaccin » à base de cellules dendritiques



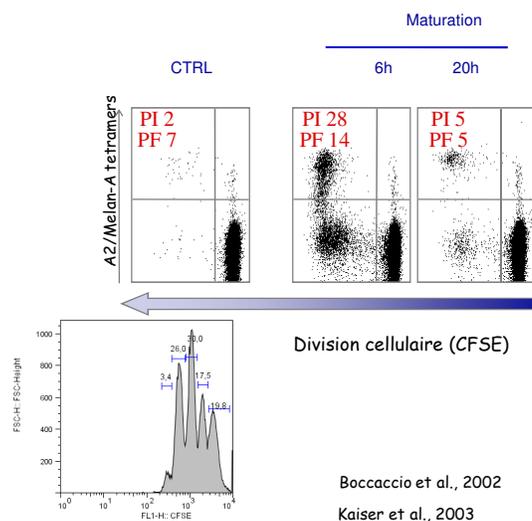
- activation de LT CD4+ et LT CD8+
- Présentations d'antigènes T connus et non connus
- potentiellement applicable à des patients de tous les haplotypes HLA
- production standardisée et à grande échelle possible
- Preuve de concept chez l'animal et quelques cas de vaccinations rapportés chez l'homme

## Études pré-cliniques

### Choix de l'agent de maturation

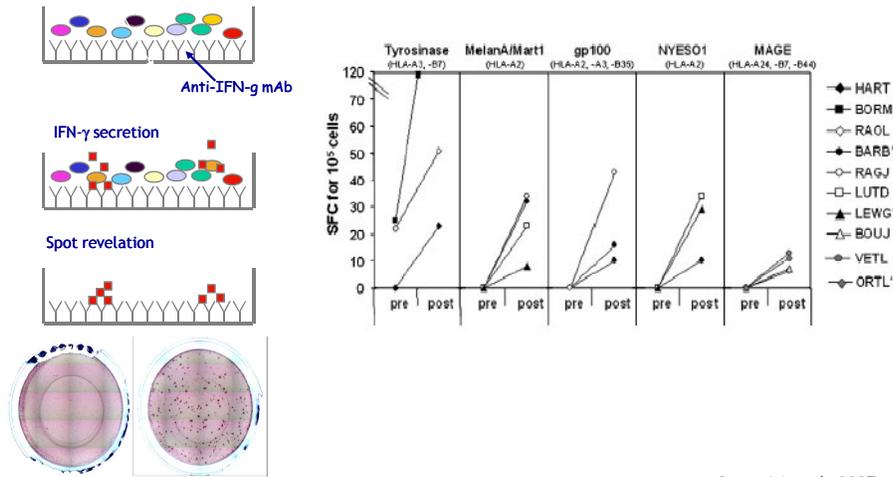


### Capacité de stimulation de LT



## Études cliniques de phase I/II: induction de LT anti-tumoraux chez les patients atteints de mélanome

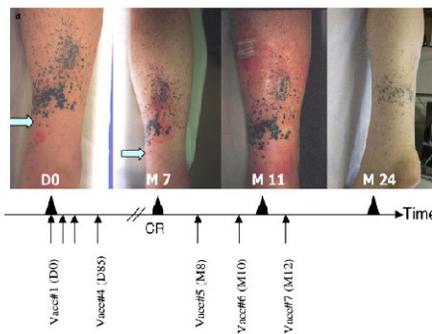
### ELispot IFN- $\gamma$



Bercovici et al., 2007

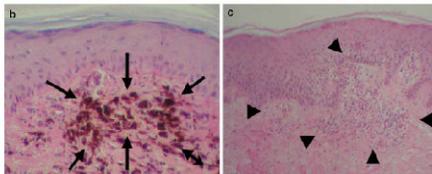
## Des réponses cliniques...encore trop rares

Exemple d'un patient mélanome en réponse complète après vaccination DC



Mais, globalement, 5 à 7 % de réponses cliniques (régression tumorale) observées sur l'ensemble des essais de vaccination thérapeutiques contre le cancer (Rosenberg et al., nature med 2004)

Cependant, effets potentiels sur le temps avant rechute et la survie



Salcedo et al., 2006

Stratégies d'immunothérapie anti-tumorale

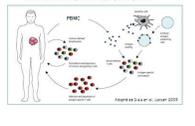
- Administration d'anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes de tumeur



- Greffe de cellules souches CD34+ (hématopathies malignes)

Anticorps monoclonaux, greffes  
Efficacité clinique

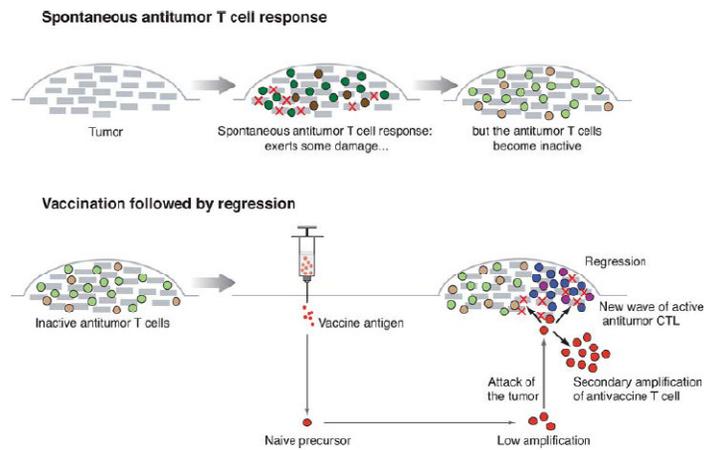
Transfert adoptif de lymphocytes T



Immunothérapies en développement (*actives*)  
Réponses immunitaires

Pourquoi les réponses immunes  
ne se traduisent pas *systematiquement*  
en réponse clinique ?

## Vaccination anti-tumorale et régression tumorale: hypothèse...

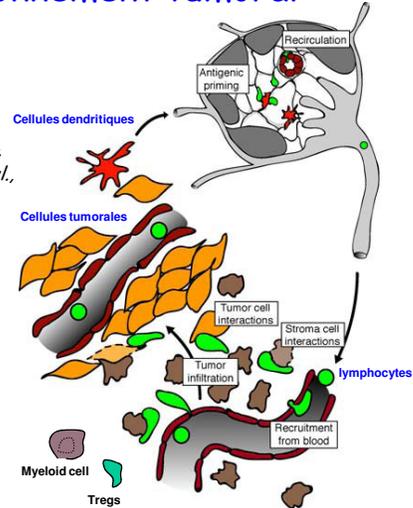


Boon T et al., *Annu. Rev. Immunol.* 2006 27

Dépasser la tolérance dans le  
microenvironnement tumoral

## Interactions des cellules du système immunitaire dans l'environnement tumoral

- **Plusieurs niveaux:**
  - les ganglions  
ex: la maturation des cellules dendritiques semble altérée : défauts de priming? (ex: Movassagh et al., 2004; Elliott et al., 2007)
  - migration et recrutement
  - la tumeur
- **plusieurs types cellulaires**, dans la tumeur, interagissent avec les effecteurs immuns
  - Les cellules tumorales
  - cellules non hématopoïétiques (endothéliales, fibroblastes, ...)
  - Cellules hématopoïétiques (myéloïdes, Tregs)



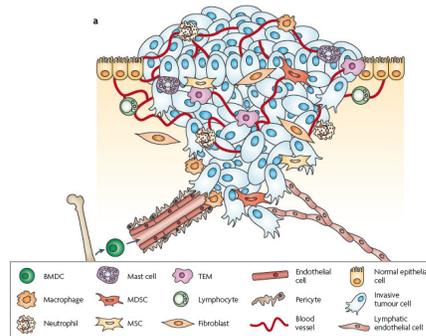
Adapté de Mempel et al., 2008 29

## Plusieurs mécanismes d'immuno-suppression dans l'environnement tumoral

Plusieurs mécanismes de suppression sont impliqués:

- Facteurs solubles (TGF- $\beta$ , IL10, ...)
- Modification du métabolisme des acides aminés (arginase, NO, IDO, ...)
- Expression de récepteurs inhibiteurs sur les lymphocytes T (dont PD-1), formation de pentamères de galectine

D'où, une altération des fonctions lymphocytaires (transduction du signal, activité cytotoxique, ...)



from Joyce and Pollard, 2009

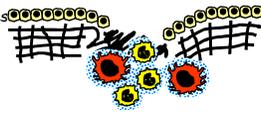
## Les macrophages et cellules myéloïdes suppressives

- Évolution du profil des macrophages lors d'un dommage tissulaire

1. Lésion tissulaire



2. Élimination débris cellulaires (phagocytose par macrophages de "type 1")

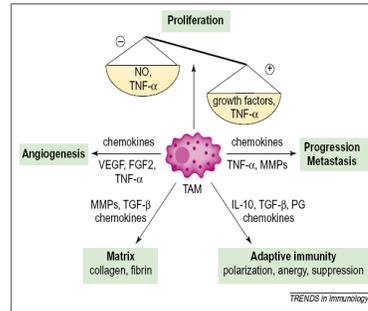


3. Réparation - environnement immuno-supresseur (TGF-β, produit par les macrophages de "type 2")



A. Trautmann, 2008

- Profil pro-tumoral des macrophages



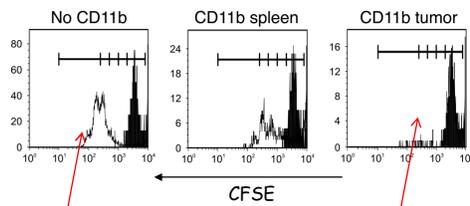
Mantovani et al., 2002

Voir aussi neutrophiles (TAN) de type « N1 » et « N2 » (Fridlender et al., 2009)

31

## Régulation par les cellules myéloïdes suppressives

- inhibition par des cellules myéloïdes (CD11b+) isolées de tumeurs (Bronte)

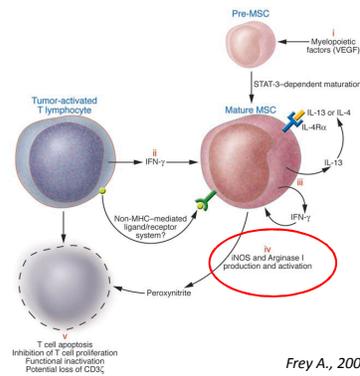


prolifération

inhibition

Gallina et al., 2006

- modification du métabolisme des acides aminés au site tumoral



Frey A., 2006

32

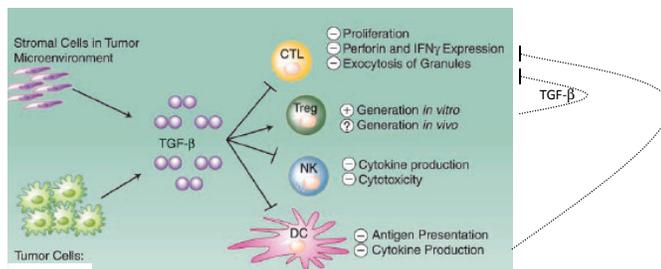
## Rôle des lymphocytes T régulateurs

- Essentiels dans la tolérance aux antigènes du soi (les antigènes de tumeur sont en partie des antigènes du soi...)
- Augmentation chez des individus porteurs de tumeurs (sang , tumeurs)
- Des pré-traitements qui déplètent les Tregs (ex: anti-CD25, anti-GITR, chimio, ..), favorisent l'éradication de tumeurs dans les modèles murins
- Mécanismes d'action (TGF- $\beta$ , IL-10, compétition, ..):
- Dans les ganglions (priming) et/ou au site tumoral (phase effectrice)?
- Essais cliniques en cours chez l'homme pour éliminer les LT regs avant vaccination (anti-CD25, faible dose de cyclophosphamide, ...)

33

## Inhibition des TILs par le TGF- $\beta$

- De nombreuses tumeurs produisent du TGF- $\beta$  (mélanome, colon, poumon, ...)
- Elles induisent d'autres type cellulaires à produire du TGF- $\beta$  (Tregs, cellules du stroma)
- Le TGF- $\beta$  inhibe le système immunitaire et favorise la croissance tumorale
- le TGF- $\beta$  module l'activité de plusieurs facteurs de transcription :

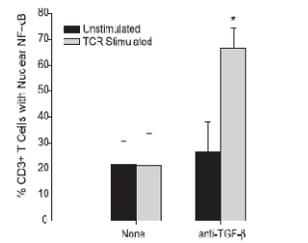
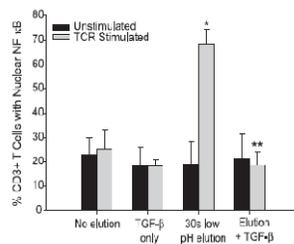
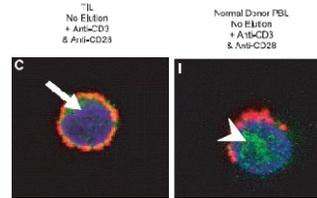


Wrzesinski et al., 2007

34

## Inhibition de TILs par le TGF- $\beta$ dans des tumeurs de poumon

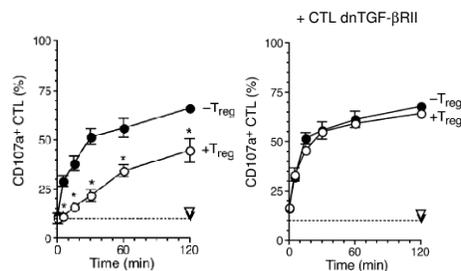
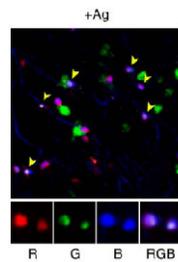
- TIL fraîchement isolés de tumeurs de poumon
- Défaut de translocation de NF- $\kappa$ B après activation *in vitro*
- Translocation observée après traitement de 30s à PH 4.0 : TGF- $\beta$  membranaire?
- Blocage mimé après traitement TGF- $\beta$  ou réversé avec anti-TGF- $\beta$



Broderick and Bankert, 2006 35

## Inhibition de lymphocytes par des T régulateurs *via* le TGF- $\beta$ récepteur

- Imagerie intra-vitale dans un ganglion drainant une tumeur
- Interaction de lymphocytes T CD8 anti-HA et LB-HA +/- Tregs
- Pas d'influence des Tregs sur la mobilité des T, la formation de conjugués T/APC
- Inhibition de l'activité cytotoxique qui implique le TGF- $\beta$



Mempel et al., 2006 36

## Thérapies bloquant l'immunosuppression induite par le TGF- $\beta$

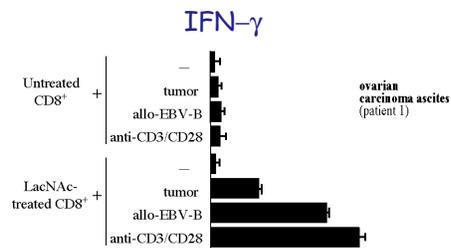
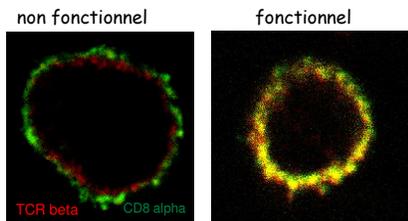
- Dans des modèles murins de tumeur transplantée, bloquer le TGF $\beta$  en plus d'une vaccination peut augmenter l'immunité anti-tumorale par différents mécanismes :
  - prévenir la génération de T régulateurs (Petrausch et al., 2009)
  - augmenter l'activité de CD8 anti-tumoraux (Terabe, Berzofsky, 2009)
- Essais cliniques en cours chez l'homme avec anticorps bloquant le TGF- $\beta$  ou des inhibiteurs de la signalisation du TGF $\beta$ -R (voir Wrzesinski *et al.*, 2007) :

37

## Inhibition des TILs par la galectine-3

- La lectine galectine-3, produit en partie par les cellules tumorales, s'accumule à la membrane (extracellulaire)
  - Elle forme un « réseau » (pentamers) qui ancre les TCR glycosylés à la membrane
  - Empêche la relocalisation du TCR et du co-récepteur CD8 lors d'activation de TILs
- => Défauts d'activation comme absence de sécrétion d'IFN- $\gamma$

absence de co-localisation du TCR et du CD8

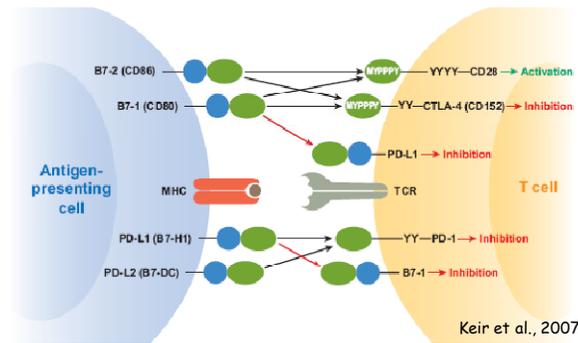


LacNac: sucre -> liaison aux motifs N-glycosylés

Demotte N, P. van der Bruggen et al, 2007

38

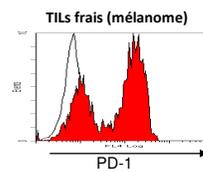
## Combiner vaccins et « immuno modulateurs »



39

## Combinaison vaccins et immunomodulateurs

- Administration d'anticorps bloquant la molécule CTLA-4:
  - Réponses cliniques mais associées à des effets secondaires importants liés à la réponse immune
  - Empêche l'inactivation de lymphocytes activés
  - Essais cliniques en cours
- Administration d'anticorps bloquant le récepteur PD-1:
  - Expression lors de stimulation antigénique chronique (patients HIV, ...)
  - expression sur les Tils

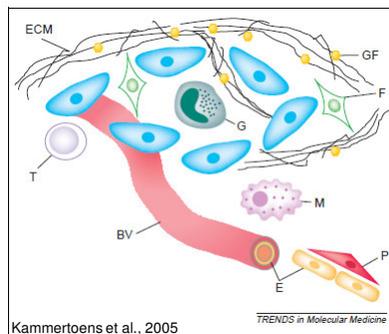


- Expression du ligand (PD-L1) associé à une moindre survie dans certains cancers
- Bloquer le ligand de PDL1 prévient l'induction de tolérance au soi (anergie) et augmente l'activité anti-tumorale dans des modèles murins
- Évaluation clinique en cours

40

## Le stroma: une cible essentielle dans le rejet de tumeur par les lymphocytes T

- Le stroma supporte la croissance tumorale (facteurs de croissances, formation de nouveaux vaisseaux, suppression des effecteurs de la réponse immune)

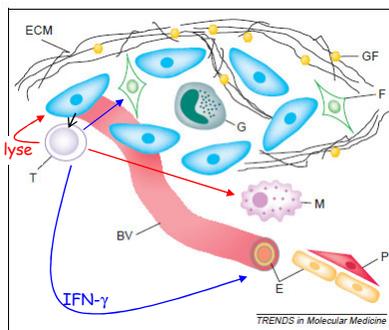


GF: facteurs de croissance  
ECM: matrice extra-cellulaire  
T: lymphocyte T  
F: fibroblaste  
BV: vaisseau sanguin  
E: cellule endothéliale  
P: péricytes  
M: macrophages  
G: granulocytes

41

## Le stroma: une cible essentielle dans le rejet de tumeur

- lors du rejet de tumeur, l'IFN- $\gamma$  produit par les LT inhibe l'angiogénèse;
- Les cellules du stroma peuvent aussi être la cible des LT (perforin)
- La reconnaissance de l'antigène par les LT est essentielle pour induire la sécrétion l'IFN- $\gamma$  localement



42

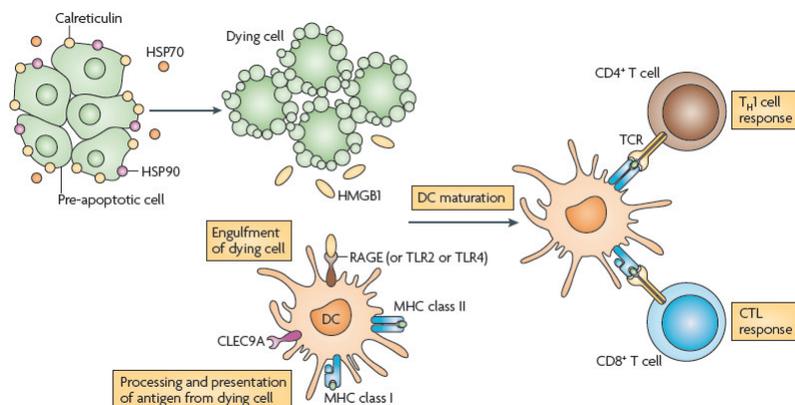
## Cibler le stroma et mobiliser le système immunitaire

- Cibler ce stroma peut donc faciliter la mise en place d'une réponse anti-tumorale et le rejet de tumeur
- de nouvelles combinaisons thérapeutiques sont envisagées:
  - anti-angiogénique (ex: anti-VEGF, ...)
  - Ac agoniste anti-CD40
    - augmenter la maturation des cellules dendritiques, la présentation antigénique et l'activation des LT CD8 cytotoxiques
    - Chez la souris, une combinaison anti-CD40 et IL-2 au site tumoral (peptide RGR) permet d'induire un rejet efficace d'une tumeur après transfert adoptif de lymphocytes spécifiques (Hamzah J., 2008)

43

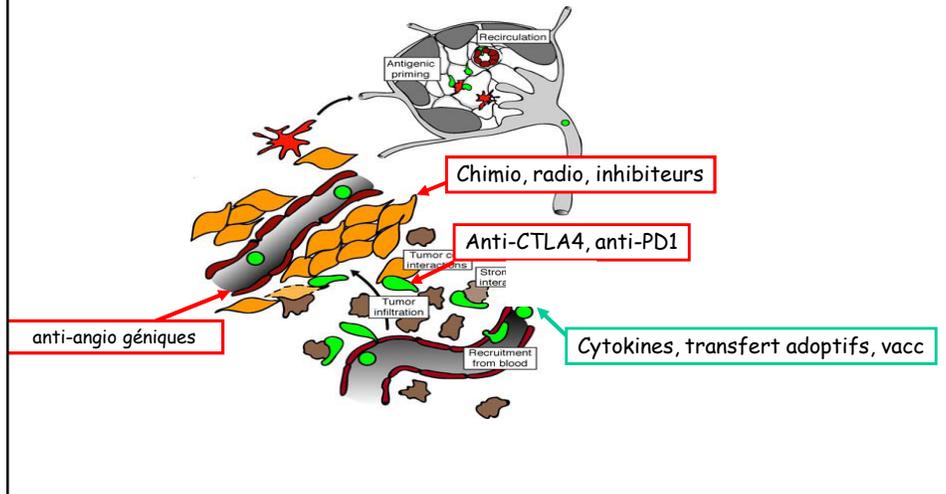
## Synergie possible entre chimiothérapie et immunothérapie

- La chimiothérapie peut:
  - suppression de LTregs ou de cellules myéloïdes suppressives
  - mort « immunogénique » de cellules tumorales qui peut faciliter la présentation de nouveaux antigènes
  - modifier le stroma et favoriser l'élimination de tumeurs



Revue de Green, ...L. Zitvogel...G. Kroemer, 2009

## Combinaisons de thérapies pour induire le rejet d'une tumeur



Merci!

Des questions?