

Approches thérapeutiques innovantes dans le mélanome

New therapeutic approaches in melanoma

L. Mortier^{1,3,4}, P. Marchetti³, L. Gordower¹, A.S. Charbonnier-Hatzfeld³, M. Tounouz² et T. Velu¹

Services ¹d'Oncologie médicale et ²d'Immunologie-Hématologie-Transfusion, Hôpital Erasme, U.L.B., ³Unité INSERM U459, Faculté de Médecine, Pôle Recherche, Lille, France, ⁴Clinique de Dermatologie, CHRU Lille, France

RESUME

Grâce aux avancées de l'immunologie fondamentale et de la biologie moléculaire, l'immunothérapie à visée anti-tumorale, notamment dans le domaine du mélanome, a bénéficié ces dernières années d'un développement remarquable. Deux axes thérapeutiques se sont parallèlement développés, un premier basé sur une immunothérapie adoptive utilisant des cellules effectrices de la réponse immunitaire, amplifiées in vitro puis réinjectées au malade, un second basé sur l'immunothérapie active ou vaccination. L'élan initial dans ce deuxième domaine correspond à la mise en évidence d'antigènes tumoraux reconnus par les lymphocytes T. A partir de ces antigènes, des vaccins peptidiques ont pu être synthétisés et utilisés dans des protocoles de vaccination anti-tumorale. Parallèlement à ces vaccinations peptidiques, l'utilisation des cellules dendritiques dans l'induction d'une réponse anti-tumorale s'est imposée comme une stratégie d'avenir pour l'immunothérapie du cancer. Plusieurs essais utilisant des cellules dendritiques autologues ont déjà été conduits, ceux-ci ont permis de montrer que cette approche était non toxique et qu'elle permettait un accroissement de la fréquence des lymphocytes T producteurs d'INF- γ parfois associé à une réponse clinique.

Rev Med Brux 2004 ; 25 : 153-9

ABSTRACT

During the last decade, new insights in cellular and molecular biology have opened new avenues in cancer immunotherapy. Two distinct modalities have been developed : adoptive immunotherapy and anti-tumoral vaccination (active immunotherapy). We will first describe the main strategies of adoptive immunotherapy and then elaborate on the protocols of anti-tumoral vaccination against tumor associated antigens (TAA). In that context, we will pay peculiar attention on the pivotal role of dendritic cells (DC) as natural adjuvant.

Rev Med Brux 2004 ; 25 : 153-9

Key words : melanoma, cellular therapy, antitumor vaccination, review

INTRODUCTION

Le mélanome représente un problème de santé publique majeur en raison de son incidence qui double environ tous les dix ans dans les pays qui la mesurent. En France et en Belgique, celle-ci est estimée entre cinq à huit nouveaux cas par an pour 100.000 habitants, ce qui est proche de l'incidence observée dans

la plupart des pays d'Europe¹.

Cette tumeur, facilement curable lorsqu'elle est prise en charge à un stade précoce de la maladie, devient particulièrement redoutable au stade métastatique. A ce stade, la médiane de survie est actuellement de 6 à 7,5 mois avec une survie à 5 ans d'environ 6 % en raison d'une faible efficacité des trai-

tements standards (chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie). En effet, les monochimiothérapies donnent des taux de réponse de l'ordre de 15 %. Les polychimiothérapies permettent d'augmenter ce taux de réponse mais sans améliorer la survie globale des patients¹.

Du fait de la description d'antigènes tumoraux pouvant être reconnus par le système immunitaire, de nombreux travaux ont porté sur l'amplification de la réponse immunitaire anti-tumorale que ce soit à l'aide d'injection de protéines ou de peptides antigéniques, de cellules impliquées directement dans la réponse immunitaire ou plus récemment de stratégies de thérapie génique. Afin de classer ces différentes approches, il est classique de distinguer d'un côté l'immunothérapie adoptive utilisant des cellules effectrices, isolées, amplifiées puis injectées au malade, de l'autre l'immunothérapie active représentée par la vaccination. Le but de cet article est de résumer les différentes stratégies utilisées à visée thérapeutique dans le domaine du mélanome afin de stimuler la réponse immunitaire.

IMMUNOTHERAPIE ADOPTIVE

L'immunothérapie adoptive consiste à manipuler des cellules effectrices du système immunitaire en dehors de l'organisme puis à les injecter au patient.

Plusieurs types de cellules immunitaires ont ainsi été testés chez l'homme, parmi lesquels les lymphocytes activés, les lymphocytes isolés à partir de tumeur de patient, les monocytes/macrophages activés.

Les lymphocytes activés

Les cellules naturellement tueuses (*natural killer*, NK) sont des cellules effectrices de l'immunité innée. Elles jouent un rôle essentiel dans la défense de l'hôte contre les micro-organismes. Par ailleurs, elles sont capables de lyser des cellules du soi, telles les cellules tumorales. Cette cytotoxicité s'exerce sans reconnaissance spécifique d'antigène par des mécanismes très variés : sécrétion d'interféron gamma, libération de perforine et de granzyme B, transmission d'un signal pro-apoptotique par les voies Fas/FasL ou TRAIL. Ces différentes propriétés font des cellules NK d'excellentes candidates pour des stratégies d'immunothérapie anti-tumorale. L'action de ces cellules peut être mimée par les LAK (*lymphokine activated killer*), cellules obtenues *in vitro* à partir de lymphocytes activés par de fortes doses de cytokines qui sont ensuite réinjectées au patient. Ces mêmes cellules peuvent également être obtenues *in vivo* par l'administration systémique d'interleukine 2 et/ou d'interféron alpha.

Les premiers résultats expérimentaux ont été obtenus à la fin des années 1980 par Rosenberg *et al* sur des modèles animaux^{2,3}. Par la suite, des lymphocytes activés *ex vivo* ont été réinjectés à des patients atteints de cancer du rein ou de mélanome, en association avec l'IL-2 afin de prolonger leur état d'activation et d'augmenter leur cytotoxicité à l'égard des cellules tumorales⁴.

Des taux de réponse significatifs ont permis de faire la preuve de l'effet anti-tumoral de l'administration de cellules effectrices du système immunitaire inné au patient. Cependant, les résultats ne sont restés que partiellement convaincants, car aucune étude n'a pu clairement établir le bénéfice thérapeutique des LAK. A cette faible reproductibilité doit s'ajouter la toxicité limitante de l'IL-2 à forte dose, rendant difficile une utilisation thérapeutique plus systématique de cette association LAK plus IL-2.

Les lymphocytes T isolés à partir de tumeur

Les lymphocytes T isolés à partir de tumeurs (*tumor infiltrating lymphocytes*, TIL) présentent à leur surface des récepteurs à l'IL-2, qui facilitent leur multiplication *in vitro* en présence de cette cytokine. Ces lymphocytes isolés des tumeurs et amplifiés par culture *ex vivo*, peuvent être réinjectés et présentent alors une activité cytotoxique spécifique de la tumeur dont ils dérivent. Un certain nombre d'études ont souligné l'intérêt de ces TIL en immunothérapie adoptive anticancéreuse^{5,6}.

Les travaux de Rosenberg *et al*⁶, par exemple, ont montré que 34 % de patients atteints de mélanomes métastatiques et traités par de l'IL-2 et des TIL autologues présentaient une réponse clinique partielle ou totale, alors que 17 % des patients répondaient à un traitement par l'interleukine seule. Cependant, en raison de rechutes rapides, lorsque ce traitement est administré au stade métastatique, son indication s'est déplacée vers le stade adjuvant. De ce fait, une étude randomisée (TIL + IL-2 *versus* IL-2 seul) a été mise en place afin d'évaluer l'efficacité de ce traitement après un curage ganglionnaire loco-régional positif pour prévenir l'évolution vers le stade métastatique. Cette étude a montré une interaction entre le nombre de ganglions envahis et l'efficacité des TIL avec une augmentation significative de la survie globale en faveur des TIL dans la sous-population de malades n'ayant qu'un seul ganglion envahi⁷.

Les macrophages activés

L'activité cytotoxique des monocytes/macrophages à l'égard des cellules tumorales a été démontrée *in vitro*, après activation des macrophages par l'IFN- γ ou par des endotoxines bactériennes, telles que les lipopolysaccharides^{8,9}. L'idée d'utiliser des macrophages à des fins thérapeutiques, en particulier dans le cancer, a été suggérée par les résultats obtenus dans des modèles murins¹⁰. La mise en place des premiers essais d'immunothérapie adoptive chez l'homme, a nécessité de développer et d'optimiser la production de macrophages humains activés. Les monocytes humains, disponibles en large quantité dans le sang circulant, ont été les premiers précurseurs immatures utilisés en clinique, en thérapie anticancéreuse. Ces monocytes ont la capacité de se différencier en macrophages en présence de GM-CSF, et peuvent être activés *in vitro* par l'IFN- γ ou les lipopolysaccharides. Toutes les injections systémiques ou locales réalisées chez l'animal,

puis chez l'homme, ont été remarquablement bien tolérées. Après traitement, un certain nombre de malades dont certains atteints de mélanome ont vu leur maladie se stabiliser, et un certain nombre de réponses cliniques partielles ont pu être observées¹¹.

IMMUNOTHERAPIE ACTIVE

La vaccination peptidique (Tableau 1)

Tableau 1 : Expression de l'antigène tumoral MAGE-A3.

Mélanome	76 %
C. œsophagien	57 %
Cancer tête et cou	49 %
Cancer bronchique NSCLC	47 %
Cancer de la vessie	36 %
Myélome multiple	32 %
Sarcome	24 %
Cancer colorectal	17 %
Cancer de la prostate	15 %
Cancer du sein	11 %
Carcinome rénal	0 %
Leucémie / lymphome	0 %
Tissu normal	0 % (excepté testicule)

Dans de nombreux cancers, les cellules tumorales portent à leur surface des antigènes reconnus par des lymphocytes T cytotoxiques (CTL).

La nature de ces antigènes a été établie par une approche génétique permettant l'identification des gènes codant pour ces antigènes. Comme dans le cas des protéines virales, les antigènes tumoraux peuvent être reconnus par les CTL. En effet, ces protéines sont fragmentées en petits peptides qui sont transportés dans le réticulum endoplasmique où ils se lient à des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I. Les complexes sont alors transportés à la surface de la cellule et reconnus par le récepteur du lymphocyte T. Ces lymphocytes T sont ainsi capables de reconnaître des peptides anormaux et de répondre par l'élimination de la cellule.

Le premier gène codant pour un antigène tumoral identifié a été appelé MAGE-A1^{12,13}. L'antigène pour lequel il code n'est pas le résultat d'une mutation mais d'une activation sélective d'un gène qui, normalement, reste silencieux hormis au niveau du tissu testiculaire. Le profil d'expression très particulier de ce gène est lié à la méthylation du site promoteur dans les cellules qui n'expriment pas MAGE-A1. L'expression de cette protéine dans les mélanomes est liée à la déméthylation globale du génome des cellules tumorales. L'expression dans le tissu testiculaire est quant à elle liée au faible niveau de méthylation dans les cellules germinales. Cependant, les cellules germinales mâles n'exprimant pas de molécules HLA de classe I, l'antigène MAGE-A1 ne peut pas être présenté, sa présentation est donc spécifique du tissu tumoral.

Par la suite, douze autres gènes de la famille MAGE-A ont été découverts ainsi que d'autres familles de gènes MAGE successivement dénommées MAGE-B, C et D¹⁴⁻¹⁶. L'ensemble de ces familles est localisé

sur le chromosome X. La dernière famille (MAGE-D) se différencie des autres membres de la famille MAGE par une expression ubiquitaire dans tous les tissus normaux¹⁵. Les membres de cette famille ne peuvent donc pas coder pour des antigènes spécifiques de tumeur.

La mise en évidence de ces antigènes a permis d'identifier une large panoplie d'épitopes dont la majorité est présentée par des molécules HLA de classe I, d'autres peuvent être cependant présentées dans un contexte HLA de classe II, ceci ouvrant la possibilité d'immuniser les patients contre de nombreux antigènes et, grâce à la présentation par des molécules HLA de classe II, de recruter les lymphocytes CD4+ indispensables à l'activation et au maintien de la réponse CTL.

En plus de ces antigènes spécifiques de tumeur, il a été démontré que les CTL de certains patients étaient capables de reconnaître des antigènes de différenciation portés non seulement par les cellules tumorales des mélanomes mais également par les mélanocytes normaux. Le gène codant pour la tyrosinase, enzyme intervenant dans la synthèse de la mélanine, produit au moins quatre peptides antigéniques différents^{17,18}. D'autres gènes codent pour des antigènes de différenciation tels gp100 et Melan-A/MART1 également capables d'induire une réponse CTL spécifique¹⁹ (Tableau 2).

Tableau 2 : Classification des antigènes tumoraux.

Ag tumoraux spécifiques = Ag de type <i>tumor-testis</i> <i>Mage, Bage, Gage, NY-ESO-1, Rage, TRP2-int-2, ...</i>
Mutations de gène <i>CDK4, K-ras, Casp-8, bcr-abl, ...</i>
Ag de différenciation <i>Tyrosinase, Melan-A, gp100, CEA, CA 19-9, ...</i>
Ag surexprimés <i>p53, HER-2-neu, EGFR, Prame, MCIR, alt. ICE, RU2AS, alt. M-CSF, ...</i>
Ag viraux <i>HPV16-E7, EBV, ...</i>
Mucine <i>MUC-1</i>

La caractérisation des peptides antigéniques reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques permet de déterminer des stratégies vaccinales et de tenter de comprendre *in vivo* les mécanismes aboutissant à la régression tumorale ou au contraire à un échec de la vaccination.

Les patients susceptibles d'être immunisés contre un antigène donné sont identifiés sur la base d'un typage HLA réalisé sur le sang et l'analyse par RT-PCR d'un échantillon tumoral prélevé par biopsie, afin de déterminer l'expression du gène candidat.

L'antigène peut être administré sous plusieurs formes. Une première approche consiste à synthétiser le peptide antigénique et à l'utiliser directement comme vaccin. Ce procédé, simple et peu onéreux, a déjà fait l'objet de plusieurs études dont les résultats sont parfois contradictoires même au sein d'un même groupe d'investigateurs. Par exemple, la vaccination de patients

atteints d'un mélanome métastatique avec le peptide MAGE-A3 restreint par le groupe HLA-A1 a abouti à 28 % de réponse clinique alors qu'un épitope différent de la même protéine MAGE-A3, présenté dans un contexte HLA différent (HLA-A2) ou un peptide MAGE-A1 présenté dans un contexte HLA-A1 n'ont donné que très peu de réponse clinique (2 sur 17 malades)²⁰.

Afin de potentialiser la réponse immunitaire générée après injection de peptides ou de protéines recombinantes, l'adjonction d'un adjuvant a été proposée. Parmi les adjuvants utilisés, c'est l'adjuvant incomplet de Freund (AIF) qui a le plus souvent été évalué^{21,22}. D'autres adjuvants tels le QS-21 ont également été étudiés avec des résultats variables²³. Un autre adjuvant, le GM-CSF, molécule jouant un rôle essentiel dans la croissance et la maturation des cellules dendritiques a initialement été utilisé par Jaeger *et al* avec des résultats très encourageants (3 réponses objectives chez trois patients)²⁴, ces résultats n'ont cependant pas pu être confirmés par la suite par Rosenberg *et al*²⁵. Afin d'essayer de déterminer le meilleur type d'adjuvant à utiliser dans le cadre de protocole de vaccination peptidique, Schaed *et al* ont comparé le taux de lymphocytes CD8+ sécrétant de l'INF- γ lors d'une vaccination par gp100 et tyrosinase en fonction du type d'adjuvant utilisé (QS-21, AIF, GM-CSF)¹⁶. Les meilleurs résultats ont été obtenus lors de l'utilisation de QS-21 et de GM-CSF²⁶. Plus récemment, l'adjonction d'IL-12 aux vaccins peptidiques a été proposée avec des résultats très prometteurs pour cette cytokine capable de provoquer la régression de mélanome sur des modèles murins²⁷.

Une autre façon d'administrer l'antigène tumoral consiste à produire la protéine recombinante correspondant au gène codant pour l'antigène tumoral ; la protéine contient un grand nombre d'épitopes, virtuellement présentés par toutes les molécules HLA de classe II, et permet donc de passer outre la restriction HLA imposée par l'approche peptidique (la présentation au sein des molécules HLA de classe I d'un antigène exogène-protéine- est restreinte à certains types cellulaires comme les DC et s'appelle "cross-priming"). De plus, la protéine possède des épitopes présentés par les molécules HLA classe II, ce qui permet la stimulation des lymphocytes CD4+, cellules indispensables à l'instauration et au maintien de la réponse immunitaire. Cette approche sera notamment évaluée au cours d'un vaste essai multicentrique mené par l'EORTC.

La vaccination par cellules dendritiques

Une autre approche consiste à utiliser des cellules présentatrices d'antigènes, en l'occurrence les cellules dendritiques (CD). Ces cellules sont en effet actuellement considérées comme le meilleur adjuvant dans l'induction d'une réponse immunitaire anti-tumorale. Naturellement présentes en regard des zones de contact du système immunitaire avec l'environnement (peau et muqueuses), elles jouent un rôle fondamental dans la capture et la présentation des antigènes exogènes²⁸. Les CD se caractérisent entre autres par leur

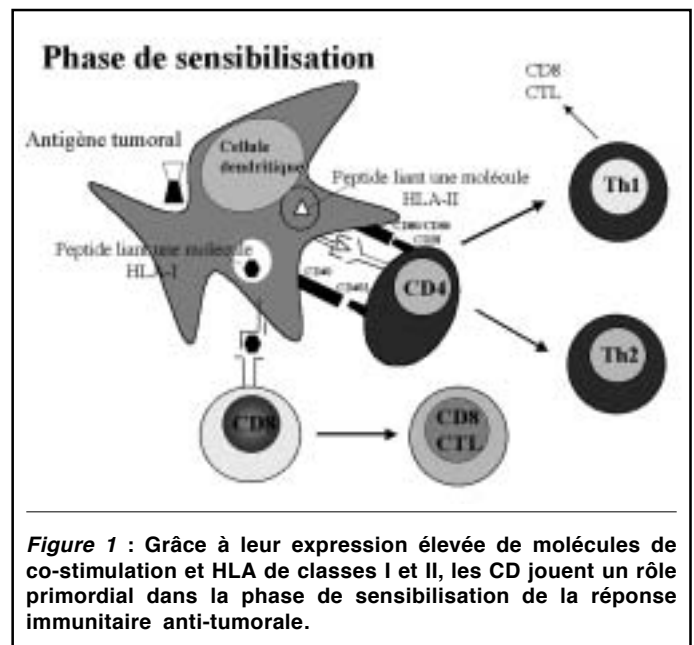


Figure 1 : Grâce à leur expression élevée de molécules de co-stimulation et HLA de classes I et II, les CD jouent un rôle primordial dans la phase de sensibilisation de la réponse immunitaire anti-tumorale.

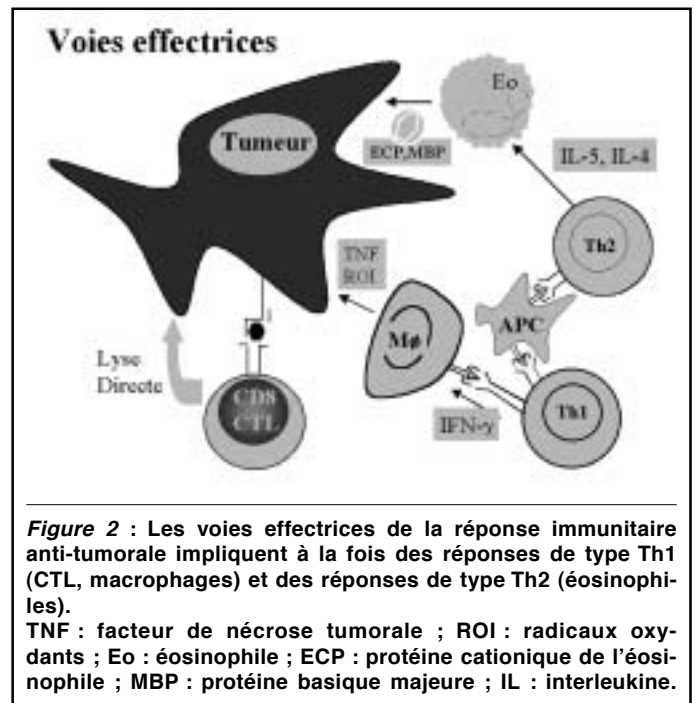


Figure 2 : Les voies effectrices de la réponse immunitaire anti-tumorale impliquent à la fois des réponses de type Th1 (CTL, macrophages) et des réponses de type Th2 (éosinophiles).
TNF : facteur de nécrose tumorale ; ROI : radicaux oxydants ; Eo : éosinophile ; ECP : protéine cationique de l'éosinophile ; MBP : protéine basique majeure ; IL : interleukine.

capacité à activer des lymphocytes T naïfs, elles jouent donc un rôle central dans l'induction d'une réponse immunitaire primaire (Figure 1). De plus, les CD ont la possibilité d'induire à la fois une réponse humorale caractérisée par la production d'anticorps mais aussi cellulaire caractérisée par la différenciation de CTL.

L'identification des antigènes associés aux tumeurs ayant été réalisée grâce à leur reconnaissance par les CTL, c'est la réponse CD4+ à polarité Th1 qui a longtemps été pressentie comme la plus susceptible d'induire une réponse anti-tumorale. Des données de la littérature tempèrent cette version ; il semblerait que les deux types de réponses Th1 et Th2 puissent coopérer²⁹ (Figures 1, 2). Enfin, si les CD interviennent au niveau de l'immunité acquise, elles jouent également un rôle important sur le versant inné de la réponse immuni-

taire. Les CD sont en effet des activateurs puissants des cellules naturellement tueuses (NK) et elles produisent des molécules douées d'activité anti-tumorale telles que le $TNF\alpha$, l' $IFN\alpha$ et l'IL-12. De plus, les CD possèdent elles-mêmes des propriétés cytotoxiques intrinsèques qui ont pu être mises en évidence *in vitro* dans plusieurs modèles tumoraux (sein, côlon, glioblastome, lymphome)³⁰.

Originaires de la moelle osseuse, les CD ont initialement un phénotype immature défini par une faible capacité d'expression des molécules du CMH de classe II et des molécules de costimulation. Ce phénotype se caractérise également par une forte capacité d'internalisation de l'antigène. Après capture de l'antigène, les CD acquièrent un phénotype mature et migrent vers le ganglion de drainage le plus proche où elles présentent l'antigène aux lymphocytes T. Parallèlement, elles perdent leur capacité de capture des antigènes. Contrairement aux CD immatures, les CD matures se définissent par une expression élevée des molécules de co-stimulation et des molécules du CMH à la fois de classe I et de classe II. Ce phénotype leur permet de stimuler des lymphocytes T naïfs et de présenter des antigènes exogènes par la voie du CMH de classe I et de classe II donc potentiellement aux lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ cytotoxiques. De par ces caractéristiques, ce type de CD semble donc plus prometteur dans le développement d'une immunité à visée anti-tumorale, ce d'autant plus que les caractéristiques des CD immatures semblent plutôt en faveur de l'induction d'une immuno-tolérance que d'une réponse immunitaire³¹.

Le développement d'essais cliniques utilisant les CD a longtemps été compromis par les faibles quantités de CD que l'on pouvait isoler dans le sang circulant. La mise au point par les équipes de Romani et Sallusto^{32,33} d'une technique de différenciation des CD à partir de monocytes du sang périphérique du patient après culture *in vitro* avec des facteurs comme l'interleukine-4 et le GM-CSF a permis le développement de protocoles d'immunothérapie à visée anti-tumorale utilisant cette cellule. Depuis, d'autres méthodes d'obtention ont été décrites : les CD peuvent ainsi être obtenues à partir de la moelle osseuse³⁴, de sang du cordon et à partir de cellules souches hématopoïétiques CD 34⁺^{35,36}.

Ces cellules peuvent ensuite être incubées avec des peptides qui se lient sur leurs molécules HLA de classes I et II ; elles peuvent aussi être incubées avec la protéine qui sera dégradée en petits peptides. Elles peuvent enfin être infectées par un virus recombinant déficient porteur de la séquence codant pour l'antigène.

Sur le plan thérapeutique, les CD se sont avérées capables d'induire la régression de tumeurs métastatiques à la fois chez la souris et dans le cadre d'essais thérapeutiques de phases I et II. Ces essais concernaient le lymphome³⁷, le mélanome^{38,39}, le cancer de la prostate⁴⁰ mais également de façon plus anecdotique d'autres tumeurs solides tel le cancer médul-

laire de la thyroïde⁴¹. Tous ces essais thérapeutiques ont permis de montrer (1) que la vaccination par cellules dendritiques était non toxique à court et moyen terme ; (2) que cette vaccination permettait d'induire une activation lymphocytaire TCD8⁺ caractérisée par la production d'interféron γ et (3) qu'une réponse clinique sous la forme le plus souvent d'une stabilisation de la masse tumorale était parfois observée. Dans l'essai thérapeutique mené à l'Hôpital Erasme, sur les 17 patients présentant des lésions mesurables, 5 n'ont pas présenté de progression de la maladie et 2 ont présenté des régressions tumorales³⁹.

Afin de potentialiser l'efficacité de cette approche vaccinale par cellules dendritiques, plusieurs voies de recherche sont actuellement en cours d'évaluation dans le cadre d'essais cliniques de phase I/II.

L'une de ces nouvelles approches concerne la mise au point d'un nouveau type de cellules dendritiques, mise au point effectuée dans notre unité de recherche. En effet, la plupart des essais réalisés à ce jour ont utilisé des CD de type myéloïde matures ou immatures générées à partir de monocytes du sang périphérique du patient après culture *in vitro* avec de l'interleukine-4 et du GM-CSF. Le nouveau type de CD obtenu après mise en culture de monocytes en présence d'IL-3 et d' $INF-\beta$ ⁴² se distingue des 2 autres sous-types de CD que sont les CD myéloïdes (CD11c⁺ et CD123⁻) et lymphoïdes (CD11c⁻ et CD 123⁺)⁴³ par la coexpression des marqueurs CD11c et CD123 ainsi que par un état de maturation plus élevé à l'état de base (expression plus importante des molécules HLA et de co-stimulation). Une autre caractéristique de ces CD IL-3/ $INF-\beta$ est leur capacité d'induire à la fois une réponse Th1 et Th2. En raison de la mise en évidence d'une collaboration Th1 et Th2 dans l'établissement d'une réponse immunitaire anti-tumorale efficace, cette caractéristique pourrait être un atout majeur pour ce nouveau type de cellules dendritiques²⁹. Actuellement, nous menons à l'Hôpital Erasme, un essai clinique de phase I/II dans le mélanome qui permettra d'évaluer ce nouveau type de CD.

Une autre approche également très prometteuse est représentée par les cellules hybrides, fusion d'une cellule tumorale avec une cellule présentatrice d'antigènes. Cependant, ces cellules sont obtenues par des méthodes physiques ou chimiques telles l'électrofusion ou le polyéthylène glycol qui demeurent très difficiles à standardiser. Récemment d'autres méthodes d'obtention ont été décrites comme la possibilité de générer des hybrides après avoir transféré un gène codant une glycoprotéine de fusion dans les cellules tumorales⁴⁴. Cette nouvelle approche très prometteuse demande maintenant une confirmation de son intérêt dans le cadre d'un essai thérapeutique.

CONCLUSION

La caractérisation de gènes codant pour des antigènes de rejet des tumeurs a modifié le concept d'immunothérapie qui devient très spécifique. D'une

part, les patients qui peuvent bénéficier de cette approche sont désormais identifiés ; d'autre part, une meilleure compréhension des mécanismes fins *in vivo* devrait permettre d'améliorer fortement ce traitement qui, de perspective, devient progressivement une réalité. En effet, l'immunothérapie cellulaire est jusqu'à présent restée dans le domaine de la recherche clinique prospective sans franchir le cap d'une indication validée. Dans les mois à venir, cette étape sera cependant peut-être franchie ; plusieurs essais multicentriques vont en effet être activés afin d'évaluer sur des populations de patients plus importantes l'intérêt de cette approche thérapeutique. Par ailleurs, cette approche initialement développée dans le domaine du mélanome concerne aujourd'hui d'autres tumeurs telles les tumeurs de la sphère ORL, du rein, de la vessie, de l'œsophage et du poumon.

Aides

Aides reçues du Comité du Nord de la France - Ligue Nationale contre le Cancer (P. Marchetti), de la Société Française de Dermatologie (P. Marchetti), de la Cancéropole Nord Ouest (T. Velu, M. Toungouz, A.S. Charbonnier-Hatzfeld, L. Mortier, P. Marchetti).

BIBLIOGRAPHIE

- Bajetta E, Del Vecchio M, Bernard-Marty C et al : Metastatic melanoma : chemotherapy. *Semin Oncol* 2002 ; 29 : 427-45
- Lafreniere R, Rosenberg SA : Successful immunotherapy of murine experimental hepatic metastases with lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin 2. *Cancer Res* 1985 ; 45 : 3735-41
- Lafreniere R, Rosenberg SA : Adoptive immunotherapy of murine hepatic metastases with lymphokine activated killer (LAK) cells and recombinant interleukin 2 (RIL-2) can mediate the regression of both immunogenic and nonimmunogenic sarcomas and an adenocarcinoma. *J Immunol* 1985 ; 135 : 4273-80
- Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM et al : A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N Engl J Med* 1987 ; 316 : 889-97
- Topalian SL, Solomon D, Avis FP et al : Immunotherapy of patients with advanced cancer using tumor-infiltrating lymphocytes and recombinant interleukin-2 : a pilot study. *J Clin Oncol* 1988 ; 6 : 839-53
- Rosenberg SA, Yannelli JR, Yang JC et al : Treatment of patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin 2. *J Natl Cancer Inst* 1994 ; 86 : 1159-66
- Dreno B, Nguyen JM, Khammari A et al : Randomized trial of adoptive transfer of melanoma tumor-infiltrating lymphocytes as adjuvant therapy for stage III melanoma. *Cancer Immunol Immunother* 2002 ; 51 : 539-46
- Fidler IJ : Macrophages and metastasis - a biological approach to cancer therapy. *Cancer Res* 1985 ; 45 : 4714-26
- Chokri M, Freudenberg M, Galanos C et al : Antitumoral effects of lipopolysaccharides, tumor necrosis factor, interferon and activated macrophages : synergism and tissue distribution. *Anticancer Res* 1989 ; 9 : 1185-90
- Bartholeyns J, Lombard Y, Poindron P et al : Immunotherapy of murine sarcoma by adoptive transfer of resident peritoneal macrophages proliferating in culture. *Anticancer Res* 1988 ; 8 : 145-51
- Lopez M, Fechtenbaum J, David B et al : Adoptive immunotherapy with activated macrophages grown *in vitro* from blood monocytes in cancer patients : a pilot study. *J Immunother* 1992 ; 11 : 209-17
- Brasseur F, Rimoldi D, Lienard D et al : Expression of MAGE genes in primary and metastatic cutaneous melanoma. *Int J Cancer* 1995 ; 63 : 375-80
- Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P et al : A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991 ; 254 : 1643-7
- De Plaen E, Arden K, Traversari C et al : Structure, chromosomal localization, and expression of 12 genes of the MAGE family. *Immunogenetics* 1994 ; 40 : 360-9
- Lucas S, Brasseur F, Boon T : A new MAGE gene with ubiquitous expression does not code for known MAGE antigens recognized by T cells. *Cancer Res* 1999 ; 59 : 4100-3
- Lucas S, De Plaen E, Boon T : MAGE-B5, MAGE-B6, MAGE-C2, and MAGE-C3 : four new members of the MAGE family with tumor-specific expression. *Int J Cancer* 2000 ; 87 : 55-60
- Brichard V, Van Pel A, Wolfel T et al : The tyrosinase gene codes for an antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. *J Exp Med* 1993 ; 178 : 489-95
- Topalian SL, Gonzales MI, Parkhurst M et al : Melanoma-specific CD4+ T cells recognize nonmutated HLA-DR-restricted tyrosinase epitopes. *J Exp Med* 1996 ; 183 : 1965-71
- Zarour H, De Smet C, Lehmann F et al : The majority of autologous cytolytic T-lymphocyte clones derived from peripheral blood lymphocytes of a melanoma patient recognize an antigenic peptide derived from gene Pmel17/gp100. *J Invest Dermatol* 1996 ; 107 : 63-7
- Marchand M, van Baren N, Weynants P et al : Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene MAGE-3 and presented by HLA-A1. *Int J Cancer* 1999 ; 80 : 219-30
- Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ et al : Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nat Med* 1998 ; 4 : 321-7
- Weber JS, Hua FL, Spears L et al : A phase I trial of an HLA-A1 restricted MAGE-3 epitope peptide with incomplete Freund's adjuvant in patients with resected high-risk melanoma. *J Immunother* 1999 ; 22 : 431-40
- Newman MJ, Wu JY, Gardner BH et al : Saponin adjuvant induction of ovalbumin-specific CD8+ cytotoxic T lymphocyte responses. *J Immunol* 1992 ; 148 : 2357-62
- Jaeger E, Bernhard H, Romero P et al : Generation of cytotoxic T-cell responses with synthetic melanoma-associated peptides *in vivo* : implications for tumor vaccines with melanoma-associated antigens. *Int J Cancer* 1996 ; 66 : 162-9
- Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ et al : Impact of cytokine administration on the generation of antitumor reactivity in patients with metastatic melanoma receiving a peptide vaccine. *J Immunol* 1999 ; 163 : 1690-5
- Schaed SG, Klimek VM, Panageas KS et al : T-cell responses against tyrosinase 368-376(370D) peptide in HLA*A0201+ melanoma patients : randomized trial comparing incomplete Freund's adjuvant, granulocyte macrophage colony-stimulating factor, and QS-21 as immunological adjuvants. *Clin Cancer Res* 2002 ; 8 : 967-72

27. Lee P, Wang F, Kuniyoshi J et al : Effects of interleukin-12 on the immune response to a multi-peptide vaccine for resected metastatic melanoma. J Clin Oncol 2001 ; 19 : 3836-47
28. Steinman RM, Adams JC, Cohn ZA : Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. IV. Identification and distribution in mouse spleen. J Exp Med 1975 ; 141 : 804-20
29. Hung K, Hayashi R, Lafond-Walker A et al : The central role of CD4+ T cells in the antitumor immune response. J Exp Med 1998 ; 188 : 2357-68
30. Vanderheyde N, Aksoy E, Amraoui Z et al : Tumoricidal activity of monocyte-derived dendritic cells : evidence for a caspase-8-dependent, Fas-associated death domain-independent mechanism. J Immunol 2001 ; 167 : 3565-9
31. Dhodapkar MV, Steinman RM, Krasovsky J et al : Antigen-specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells. J Exp Med 2001 ; 193 : 233-8
32. Romani N, Gruner S, Brang D et al : Proliferating dendritic cell progenitors in human blood. J Exp Med 1994 ; 180 : 83-93.
33. Sallusto F, Lanzavecchia A : Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. J Exp Med 1994 ; 179 : 1109-18
34. Coulon V, Ravaud A, Huet S et al : *In vitro* production of human antigen presenting cells issued from bone marrow of patients with cancer. Hematol Cell Ther 1997 ; 39 : 237-44
35. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C et al : CD34+ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF+TNF alpha. Blood 1997 ; 90 : 1458-70
36. Caux C, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D et al : GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells. Nature 1992 ; 360 : 258-61
37. Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F et al : Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen- pulsed dendritic cells. Nat Med 1996 ; 2 : 52-8
38. Nestle FO, Alijagic S, Gilliet M et al : Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. Nat Med 1998 ; 4 : 328-32
39. Tounghouz M, Libin M, Bulte F et al : Transient expansion of peptide-specific pulsed with MAGE peptides in patients with mage-A1/A3-positive tumors. J Leuk Biol 2001 ; 69 : 937-43
40. Murphy G, Tjoa B, Ragde H et al : Phase I clinical trial : T-cell therapy for prostate cancer using autologous dendritic cells pulsed with HLA-A0201-specific peptides from prostate-specific membrane antigen. Prostate 1996 ; 29 : 371-8
41. Stift A, Friedl J, Dubsky P et al : Dendritic cell-based vaccination in solid cancer. J Clin Oncol 2003 ; 21 : 135-42
42. Buelens C, Bartholome EJ, Amraoui Z et al : Interleukin-3 and interferon beta cooperate to induce differentiation of monocytes into dendritic cells with potent helper T-cell stimulatory properties. Blood 2002 ; 99 : 993-8
43. Caux C : Pathways of development of human dendritic cells. Eur J Dermatol 1998 ; 8 : 375-84
44. Phan V, Errington F, Cheong SC et al : A new genetic method to generate and isolate small, short-lived but highly potent dendritic cell-tumor cell hybrid vaccines. Nat Med 2003 ; 9 : 1215-9

Correspondance et tirés à part :

L. MORTIER
Unité INSERM U459
Faculté de Médecine/ Pôle recherche
1, Place de Verdun
59045 Lille Cedex, France

Travail reçu le 8 août 2003 ; accepté dans sa version définitive le 20 avril 2004.