

# THERAPEUTIQUES IMMUNOLOGIQUES





## I. INTRODUCTION

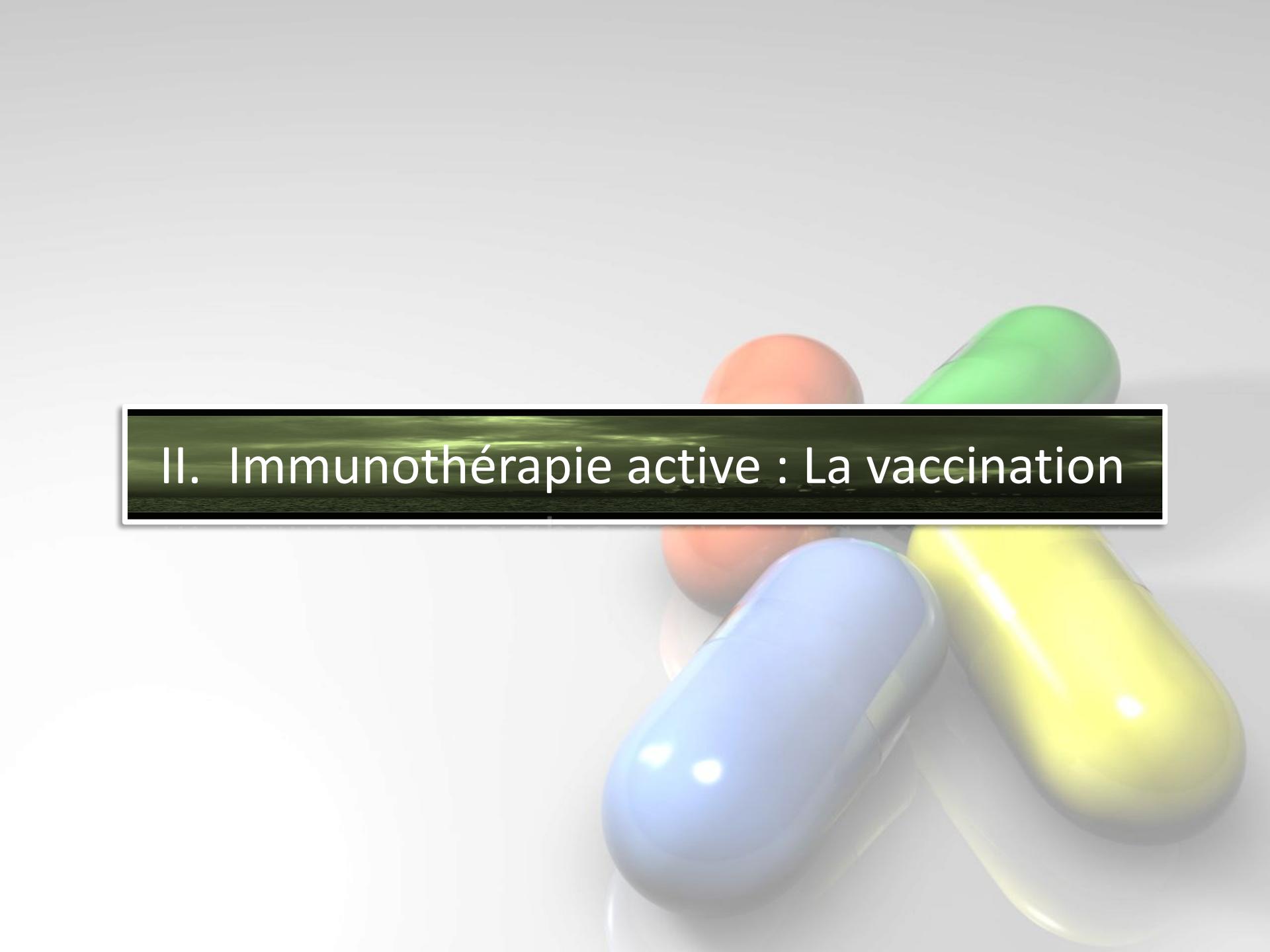
 **Les thérapeutiques immunologiques**, regroupées sous le vocable général d'**immuno-intervention**, font appel à des substances essentiellement d'origine biologique visant à **manipuler** le système immunitaire d'un patient dans le but d'obtenir un bénéfice thérapeutique.

 Ces substances sont utilisées :

- **Soit pour obtenir une protection vis-à-vis d'une maladie déterminée** par l'instauration, d'une immunité spécifique de façon :
  - active → vaccination
  - passive → sérothérapie, séroprophylaxie, immunothérapie cellulaire.
- **Soit pour moduler de façon positive ou négative la réponse immunitaire** en cas de dysfonctionnement (inefficacité dans certaines maladies chroniques ou les processus tumoraux, exagération de la réponse immune comme dans les états d'hypersensibilité, réponse inappropriée contre les antigènes du soi).

 Les therapeutics utilisées en immuno-intervention comprennent :

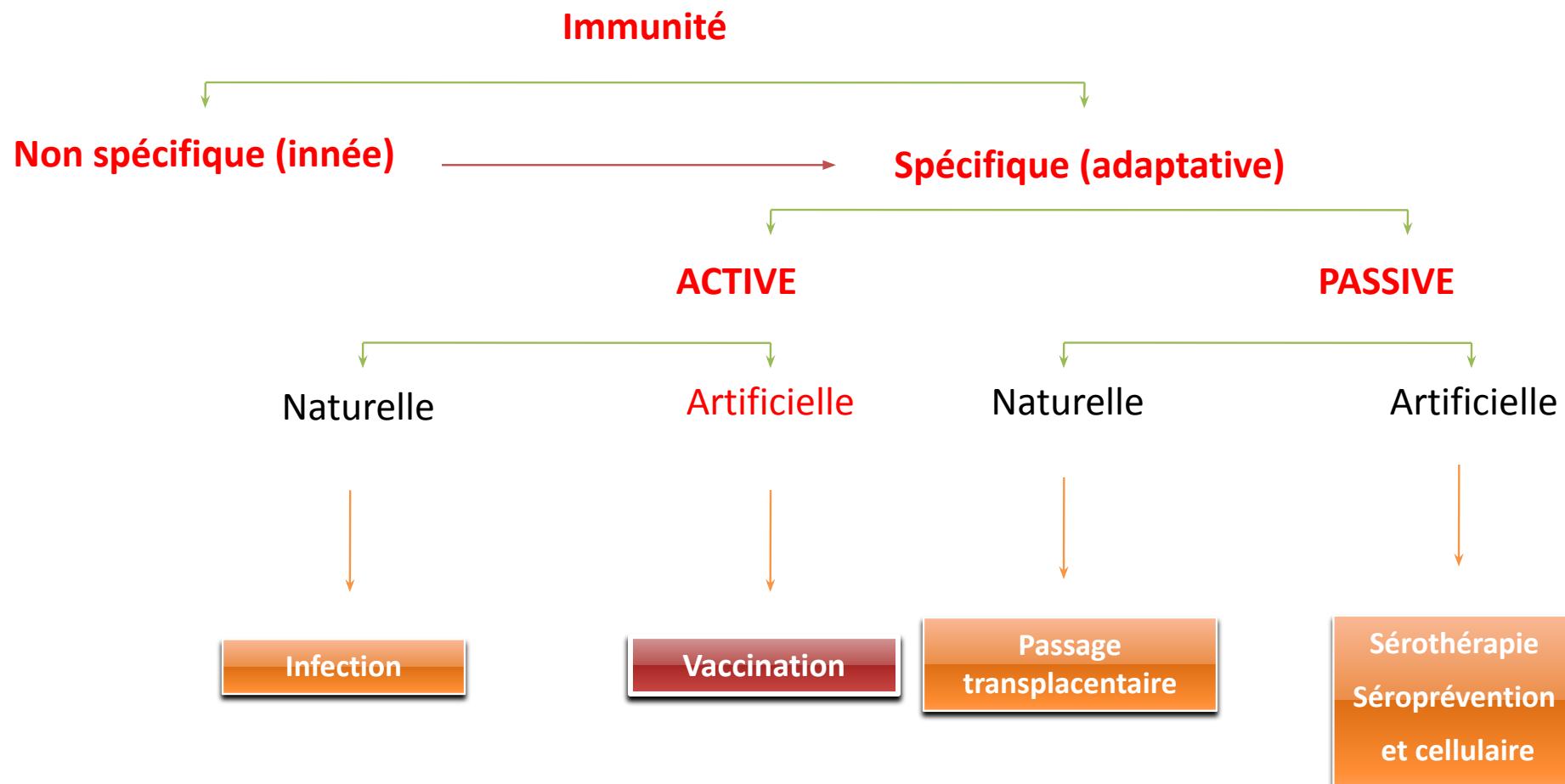
- Les antigènes vaccinaux,
- Les anticorps,
- Les cellules immunitaires (CDs, LT)
- Les adjuvants et immunostimulants,
- Les immunosupresseurs,
- Les thérapeutiques ciblant les cytokines,
- Les extraits allergéniques.

A background image showing several colorful capsules (orange, green, blue, yellow) scattered across a light surface.

## II. Immunothérapie active : La vaccination

# 1. Vaccins et Immunité

## Vaccins et immunité



## 2. Eléments d'une protection vaccinale

---

→ nouveaux gênes humains et accès



### VACCINS :

- Bonne immunogénicité
- Innocuité



### VACCINATION :

- Génération d'**EFFECTEURS** ( CTL, Ac )

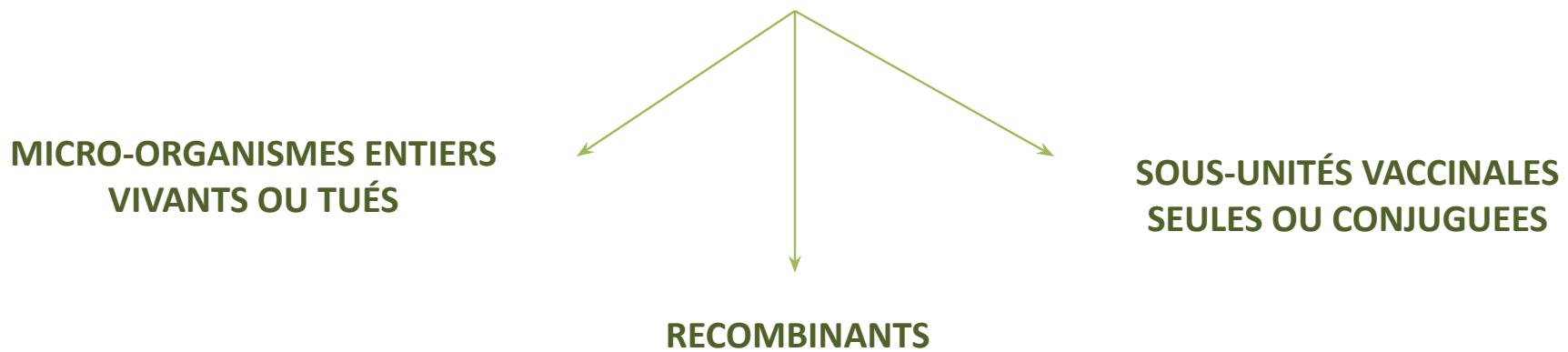


### PROTECTION :

- Pérennisation de la **MÉMOIRE IMMUNOLOGIQUE**
- Augmentation de l'affinité des Ac protecteurs

### 3. Facteurs influençant la vaccination

#### ➔ a) L' ANTIGENE VACCINAL :



#### ➔ b) LA VOIE D'IMMUNISATION

#### ➔ c) L'ADJUV ANT

## a. Rôle de l'antigène vaccinal → les différents vaccins



### MICRO-ORGANISMES ENTIERS :

- VACCINS UTILISANTS DES GERMES VIVANTS ATTÉNUÉS;
- VACCINS UTILISANT DES GERMES TUÉS (INACTIVÉS)



### SOUS-UNITÉS VACCINALES SEULES OU CONJUGUÉES

- ANTIGÈNES PURIFIÉS
  - TOXINES BACTÉRIENNES
  - Ag POLYSACCHARIDIQUES)
- FRACTION ANTIGÉNIQUE PEU IMMUNOGÈNE + CARRIER
- ANTIGÈNES DE SURFACE RECOMBINANTS



### VACCINS UTILISANT UN VECTEUR

- VACCINS RECOMBINANTS UTILISANT DES VECTEURS
- VACCINS À ADN

## a.1- Vaccins utilisant des germes vivants atténués



### CARACTERISTIQUES :

- Atténuation :
  - Obtenue en faisant croître l'agent pathogène (bactérie ou virus) pendant des périodes prolongées dans des conditions de culture non favorables;
  - Perte de pathogénicité;
  - Conservation de la capacité de croissance du pathogène après inoculation à l'hôte.
- Vaccins utilisés contre les germes nécessitant une réponse de type cellulaire (bactéries et parasites à multiplication intra-cellulaire et virus),  
*Exemples* : rougeole, rubéole, poliomyélite par voie orale (vaccin Sabin), vaccine, fièvre jaune, oreillons, varicelle, BCG (bacille de Calmette et Gerin contre la tuberculose).....



### AVANTAGES :

- Très bonne immunogénicité, du fait de la persistance plus ou moins prolongée du germe atténué dans l'organisme → **Ne nécessitent donc pas d'adjuvants**;
- Induisent de fortes réponses aussi bien humorales que cellulaires ainsi qu'une mémoire immunologique;
- Ne nécessitent généralement qu'une seule immunisation → **rappels superflus**.



### INCONVENIENTS :

- Risque de réversion de la souche vaccinale atténuée vers son état de virulence;
- risque de neutralisation (dans le cas des virus) si taux élevés d'Ac préformés;
- Risque de virulence chez les femmes enceintes et les sujets immunodéprimés  
(→ **contre-indication**).

## a.2- Vaccins utilisant des germes inactivés (tués)



### CARACTERISTIQUES :

- Inactivation :
  - Obtenue par méthode physique (chaleur) ou chimique (formaldéhyde, agents alkylants) → perte de capacité de multiplication chez l'hôte;
  - Conservation de l'immunogénicité (éviter la dénaturation en maintenant la structure des épitopes des antigènes de surface).
- Vaccins utilisés contre les germes nécessitant une réponse de type humorale (bactéries à multiplication extra-cellulaire et virus avec une phase de virémie).  
*Exemples* : coqueluche, typhoïde, choléra, poliomyélite par voie injectable (vaccin Salk), Hépatite A, Influenza (grippe), rage.....



### AVANTAGES :

- Bon pouvoir immunogène → **Ne nécessitent donc pas d'adjuvants.**
- Induisent de fortes réponses humorales, de très faibles réponses cellulaires , et une mémoire immunologique.



### INCONVENIENTS :

- Nécessité de multiples rappels pour obtenir une protection optimale.
- Risque de virulence, si le micro-organisme n'est pas totalement inactivé.

## a.3- Vaccins sous-unitaires (Antigènes purifiés)

Certains risques associés aux vaccins à base d'organismes pathogènes entiers peuvent être évités en utilisant des Antigènes purifiés.

### 1. POLYSACCHARIDES CAPSULAIRES BACTERIENS

- La virulence de certaines bactéries pathogènes à multiplication extracellulaire dépend surtout des propriétés anti-phagocytaires des polysaccharides de leur capsule. Le recouvrement de leur capsule par des anticorps et/ou des composants du complément augmente la capacité des macrophages et neutrophiles à phagocytter de telles bactéries.
- Les vaccins de type polysaccharidique sont utilisés afin d'induire une réponse en anticorps dirigés contre les polysaccharides capsulaires des germes à multiplication extra-cellulaire (*S.pneumoniae*, *N. meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella typhi*) :
  - Ils induisent une réponse humorale, sans réponse cellulaire.
  - Du fait que ces antigènes sont **thymo-indépendants**, ils induisent une réponse humorale de type IgM seulement, sans génération de mémoire.
- L'adjonction d'un Carrier favorise la production des IgG anti-polysaccharides, ainsi que la génération de mémoire.  
Exemple : vaccin anti-*Haemophilus influenzae* qui est constitué de polysaccharide capsulaire de type B uni par covalence à l'anatoxine tétanique (protéine porteuse).

## a.3- vaccins sous-unitaires (Ag purifiés)

ex : vaccin contre la diphtherie (vaccin de Léger)

### 2. ANATOXINES

La virulence de certaines bactéries pathogènes à multiplication extra-cellulaire dépend essentiellement des exotoxines qu'elles libèrent.

- Il s'agit de puissants immunogènes qui peuvent être détoxifiées par action conjuguée de la chaleur et le formol → anatoxines : substances non toxiques mais immunogéniques.  
Exemples : anatoxine tétanique, diphtérique et botulique.
- Caractéristiques :
  - Ils induisent une réponse humorale sans réponse cellulaire.
  - La réponse est faible d'où la nécessité d'adjonction d'adjuvants :
    - minéraux,
    - corps bactériens ( DTCoq)

## a.3- Les vaccins sous unitaires (Ag recombinants)

### 3. ANTIGENES DE SURFACE RECOMBINANTS

- Un des problèmes posés par les vaccins à base d'Ag purifiés est la difficulté d'obtenir des quantités importantes de matériels antigénique, d'où → vaccins recombinants.
- Théoriquement, le gène codant pour une protéine immunogène peut être cloné et exprimé dans des bactéries, des levures et des cellules de mammifères, permettant d'obtenir de grandes quantités d'Ag libres pouvant être utilisés pour la production de vaccins.
- Le premier vaccin utilisant un antigène recombinant, et approuvé pour son utilisation chez l'Homme, est le vaccin contre l'hépatite B, utilisant l'antigène de surface du virus (HBsAg).
- Caractéristiques :
  - Ces vaccins, comme les vaccins à base d'Antigènes purifiés , induisent une réponse humorale,
  - La réponse n'est pas importante, d'où nécessité d'adjuvants.
  - Les réponses cellulaires ne sont pas induites.
- Avantages :
  - Antigénicité bien définie
  - Bonne immunogénicité
  - Très grande innocuité (pas de risque de toxicité)
- Inconvénient :
  - Coût de production élevé

**NB : Ce type de vaccins, ne s'applique que pour des antigènes protéiques, les polysaccharides ne pouvant pas être exprimés dans les systèmes de clonage.**

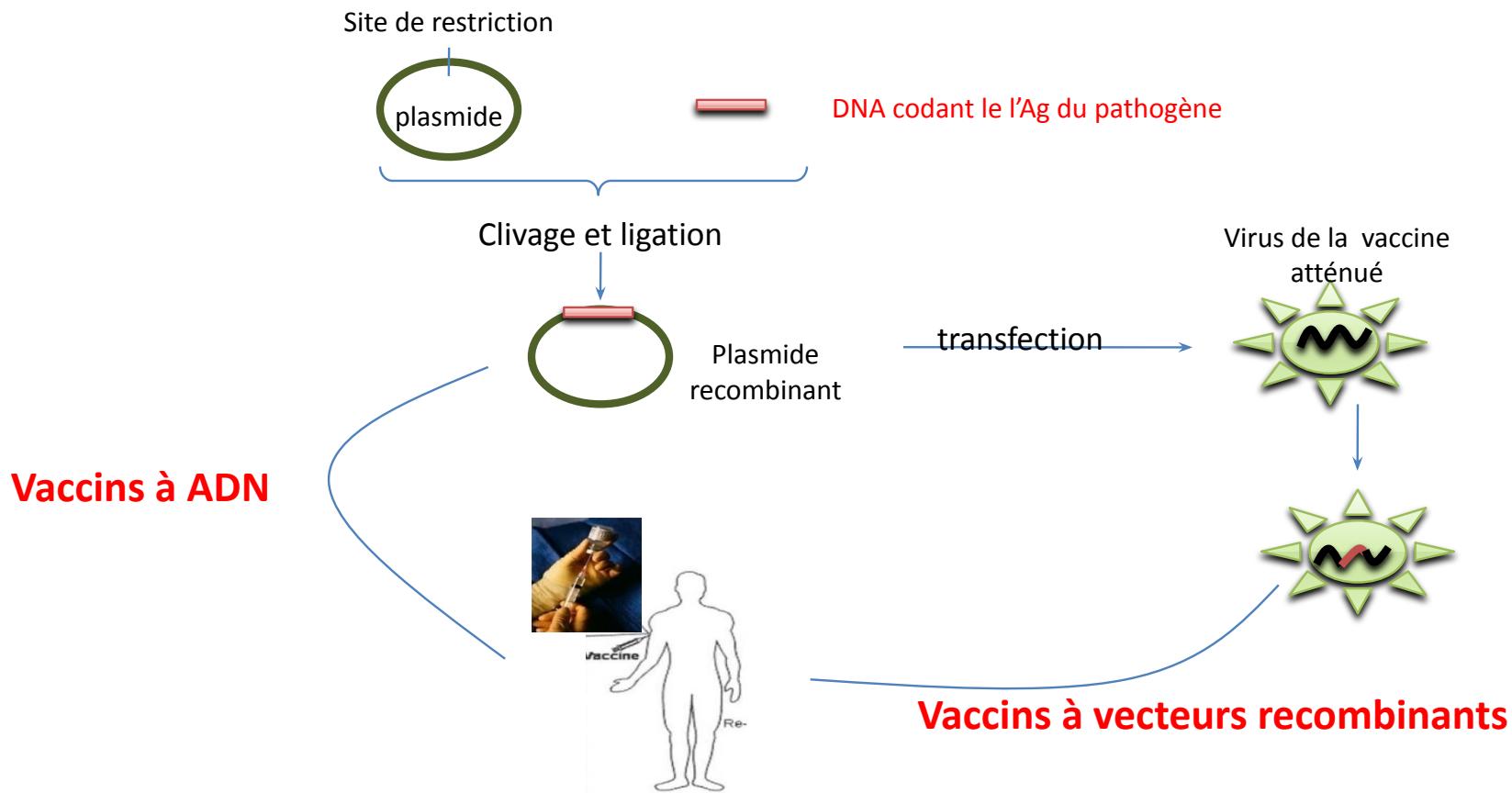
## a.4- Les vaccins utilisant un vecteur

→ Deux inconvénients majeurs dans l'utilisation des vaccins à base d'antigènes purifiés :

- Induction d'une faible réponse,
- Incapacité d'induire des réponses cellulaires, surtout dans le cas des Ag viraux).

→ Deux palliatifs sont préconisés :

- Vaccins recombinants utilisant des vecteurs,
- Vaccins à ADN.



## a.4- Les vaccins utilisant un vecteur

### VACCINS UTILISANT DES VECTEURS RECOMBINANTS

- Ces vaccins utilisent des souches atténuées :
  - Virus : vaccine, canarypox, poliovirus, adénovirus...
  - Bactéries : *Salmonella typhi murium*, souche BCG de *Mycobactérium bovis*.
- Avantages de ce type de vaccins :
  - Induisent de fortes réponses (humorales et cellulaires) contre le vecteur et contre l'Ag vaccinal.
  - L'activité adjuvante vis-à-vis de l'Ag vaccinal est assurée par le vecteur lui-même.
  - Le vaccin utilisant le virus de canarypox présente un intérêt particulier en raison de la non virulence de ce virus même chez les sujets ayant une immunsuppression.
  - *S. Typhi murium* et le virus de la polio atténué prennent aussi un intérêt particulier comme vecteurs dans les vaccins quand on veut obtenir une réponse en IgAs vis-à-vis d'Ag vaccinaux vaccination (ces germes stimulant l'immunité dans le GALT).
- Inconvénients :
  - Ceux des vaccins utilisant des germes vivants atténués (risque de réversion).

## a.4- Les vaccins utilisant un vecteur

### 1) Les vaccins utilisant un vecteur

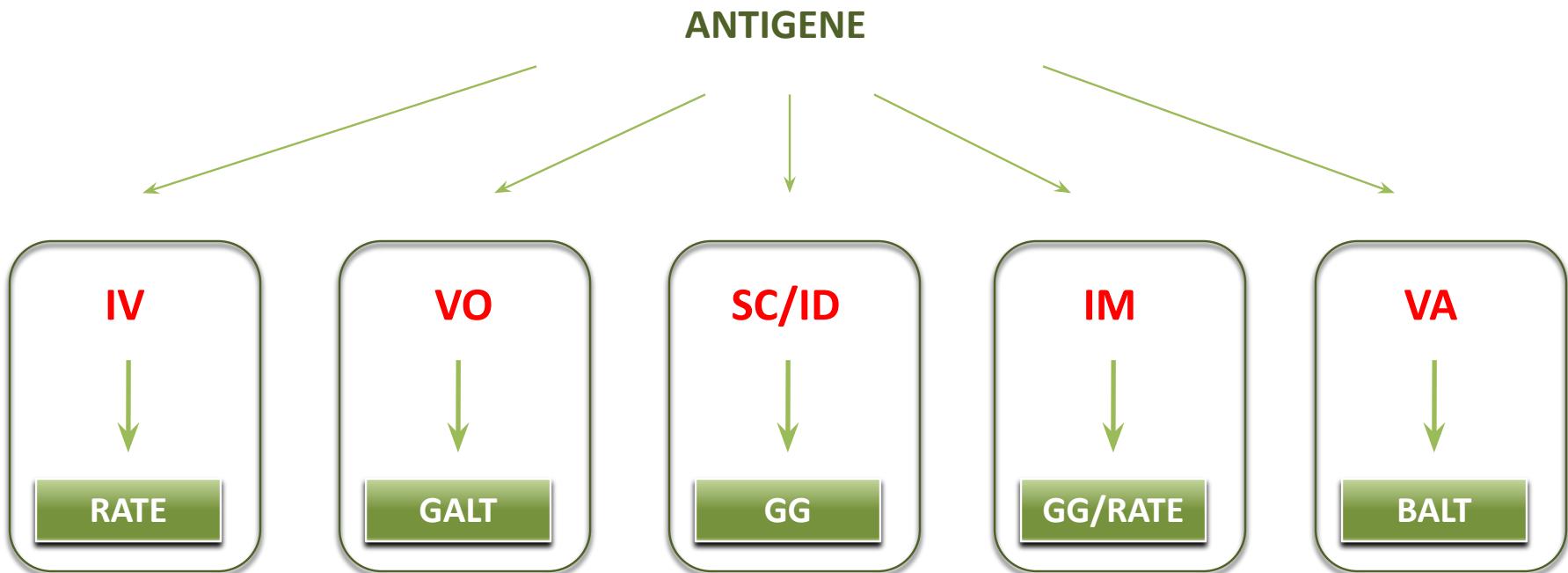
#### VACCINS A ADN

- Les vaccins à ADN = ADN plasmidique dans lequel on a incorporé le gène de l'Ag d'intérêt et que l'on injecte directement dans le muscle du receveur. Les plasmides sont incorporés dans les cellules musculaires et les cellules dendritiques résidentes qui vont exprimer l'Ag vaccinal. L'ADN est soit intégré dans l'ADN chromosomique, soit maintenu pendant une longue période sous la forme d'un épisome.
- Avantages de ce type de vaccins :
  - Induisent de fortes réponses (humorales et cellulaires) contre l'Ag vaccinal.
  - L'activité adjuvante vis-à-vis de l'Ag vaccinal est assurée par les plasmides bactériens qui contiennent les motifs CpG, qui sont de puissants immunostimulants.
  - La protéine codée est exprimée par l'hôte sous sa forme naturelle, sans dénaturation, ni modification.
  - L'Ag se trouve, après expression, à l'intérieur de la cellule d'où → stimulation de la réponse cellulaire (par voie endogène). L'Ag mime la réponse naturelle aux pathogènes (surtout ceux à multiplication intracellulaire).
  - L'Ag est exprimé pendant une période plus ou moins longue → stimulation efficace de la réponse immunitaire, et induction d'une bonne mémoire (supérieure aux vaccins à germes vivants atténués)

## b. Rôle de la voie d'immunisation

### PRINCIPES DE LA VOIE D'IMMUNISATION

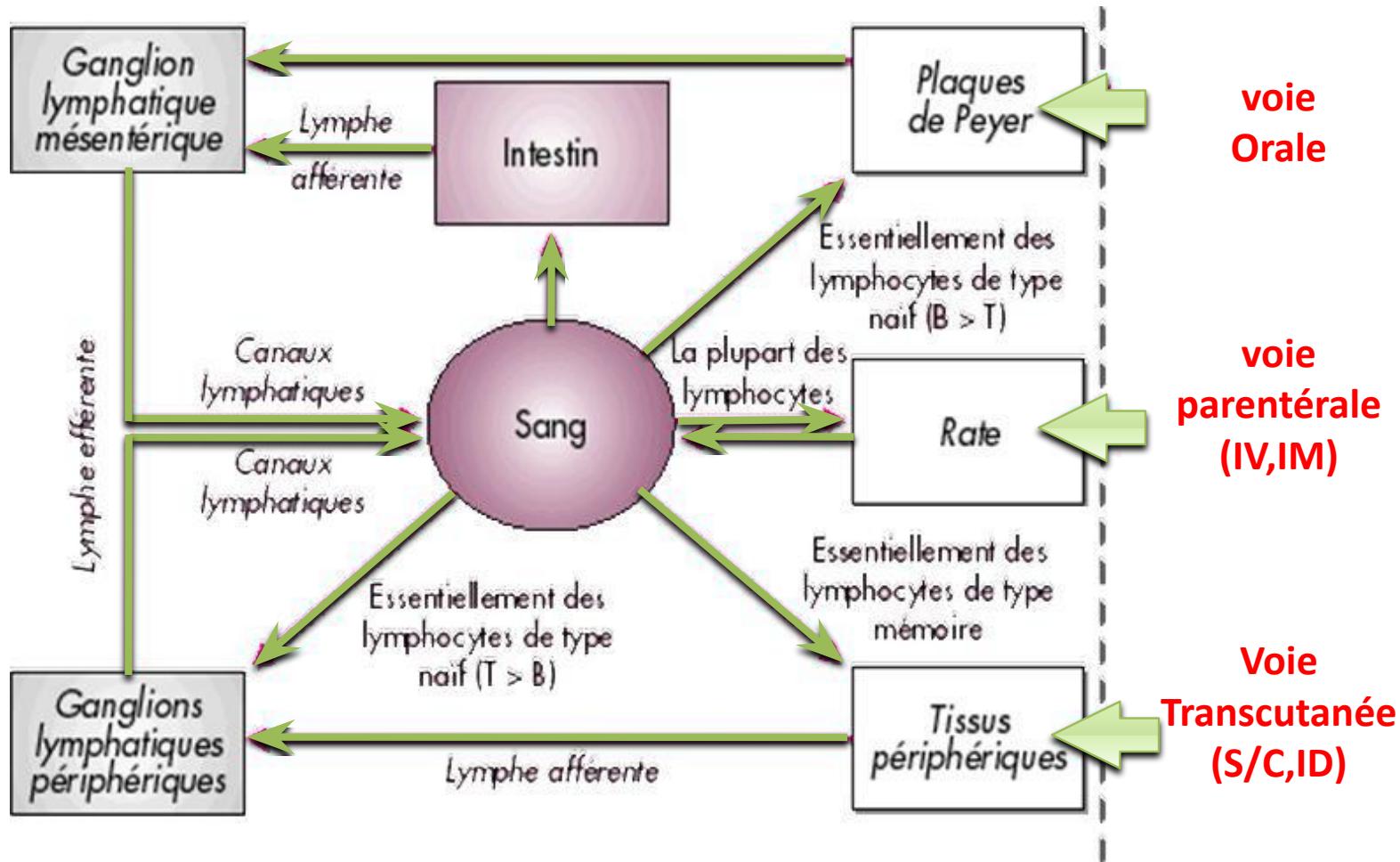
## LES DIFFÉRENTES VOIES POSSIBLES



## b. Rôle de la voie d'immunisation

### PRINCIPES DE LA VOIE D'IMMUNISATION

#### b.2- MODALITÉS DE PRISE EN CHARGE DE L'Ag



## c. Les adjuvants

ce que sont les adjuvants

- Du latin Adjuvare = aider , assister.
- Substances qui mélangées ou combinées à un antigène **potentialisent la réponse immunitaire spécifique vis-à-vis de cet antigène par le développement d'une réaction inflammatoire.**

### → Mécanisme d'action :

- Réaction inflammatoire par mécanisme Ag-indépendant.
- Libération prolongée de l'Ag.
- Afflux de cellules inflammatoires.
- Initialisation d'une bonne réponse immunitaire spécifique.

### → Différents types :

- Adjuvants minéraux :  $\text{Al(OH)}_3$ , Phosphate de calcium.
- Adjuvants microbiens : LPS.

## 4. Les vaccins : incidents et aspects éthiques



### Incidents :

- Réactions non spécifiques : fièvre ou réaction locale au point d'inoculation.
- Réactions spécifiques de certaines vaccinations :
  - Arthralgies après vaccination contre la rubéole.
  - Convulsions après vaccination contre la coqueluche.
  - Encéphalites auto-immunes après vaccination antirabique, liée à l'auto-immunisation contre les antigènes cérébraux injectés avec le virus rabique.
  - Réactions allergiques aux protéines d'œuf ou aux antibiotiques contenues dans les cultures utilisées pour la préparation des vaccins viraux.
  - Risque majeur → vaccins vivants pouvant donner lieu à une véritable infection sur un terrain immunitaire déficient (Ex: bécigite, encéphalite variolique), ou chez la femme enceinte (rubéole fœtale).



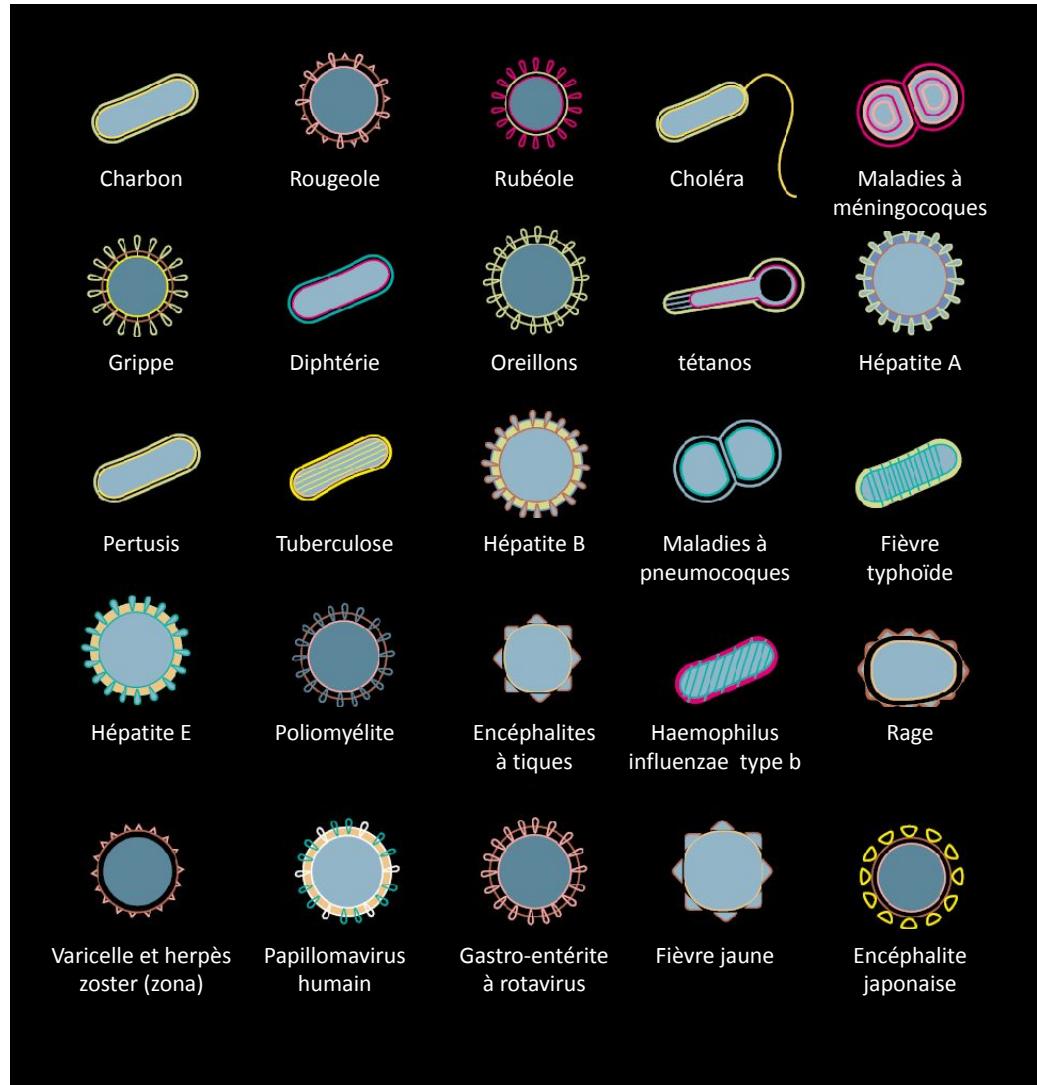
### Aspects éthiques :

- Le risque vaccinal soulève plus de problèmes éthiques que le risque thérapeutique dans la mesure où la vaccination est proposée ou imposée à un sujet sain :
  - Un traitement entraînant 1% d'accidents graves est jugé acceptable dans une maladie sévère.
  - Un décès ou un handicap définitif chez un vacciné sur  $10^4$  ou  $10^5$  n'est pas accepté.
- En raison de son caractère systématique et obligatoire, le vaccin est astreint à un niveau de sécurité beaucoup plus élevé que le médicament.

## 5. Objectifs de la vaccination

- Protection individuelle : La vaccination permet d'éviter la morbidité, les incapacités et la mortalité dues aux maladies à prévention vaccinale
  - La vaccination permet d'éviter chaque année 2 à 3 millions de décès dus à la diphtérie, au tétanos, à la coqueluche et à la rougeole dans le monde.
- Immunité de groupe ou immunité collective: l'effet protecteur s'étend même aux individus non vaccinés
- Eradication du pathogène : lorsque le microorganisme ne peut pas se développer en dehors de l'hôte humain (ex: variole, poliomyélite, hépatite A et B, rougeole, rubéole, VIH)
- Induire une immunité stérilisante : empêchant le développement du pathogène (c'est le cas générale)
- Induire une immunité protectrice seulement (ne confèrent pas une immunité absolue): destinés à éviter les formes graves de la maladie (ex : BCG)
- la vaccination thérapeutique (imposée quand la maladie est déjà installée) : les vaccins anti-tumoraux ou certaines infections virales chroniques et récurrentes.

## 6. La situation de la vaccination dans le monde



Agents infectieux ou maladies pour lesquels il existe un vaccin homologué

## 6. Limites de la vaccination

---

- Réactivité individuelle variable :
  - Bons répondeurs
  - Mauvais répondeurs
- Variabilité ethnique.
- Risque de mauvaise tolérance.
- Différentes contre-indications ( immunodéprimés etc... ).
- Risque de mauvaise compliance ( Doses vaccinales multiples ).
- Mécanismes d'échappement des pathogènes au système immunitaire

Vaccins faisant l'objet de recherche : VIH, Epstein-Barr, hépatite C, tuberculose, malaria.

## 7. Nouvelles approches vaccinales

---

- Vaccins conjugués ( Carrier - Haptène ).
- Extension de la gamme des Ag vaccinaux recombinants.
- Vaccins à ADN ou à ARN :
  - ADN nu,
  - Gene gun,
  - ARN nu → absence de risque d'intégration de matériel génétique.
- Nouveaux adjuvants :
  - Réponse Th1 → ISCOMS, Liposomes, QS21.
  - Réponse Th2 → Lipopeptides.
- Utilisation de cytokines immunomodulatrices ( IL12, IL2, IFN $\gamma$  )

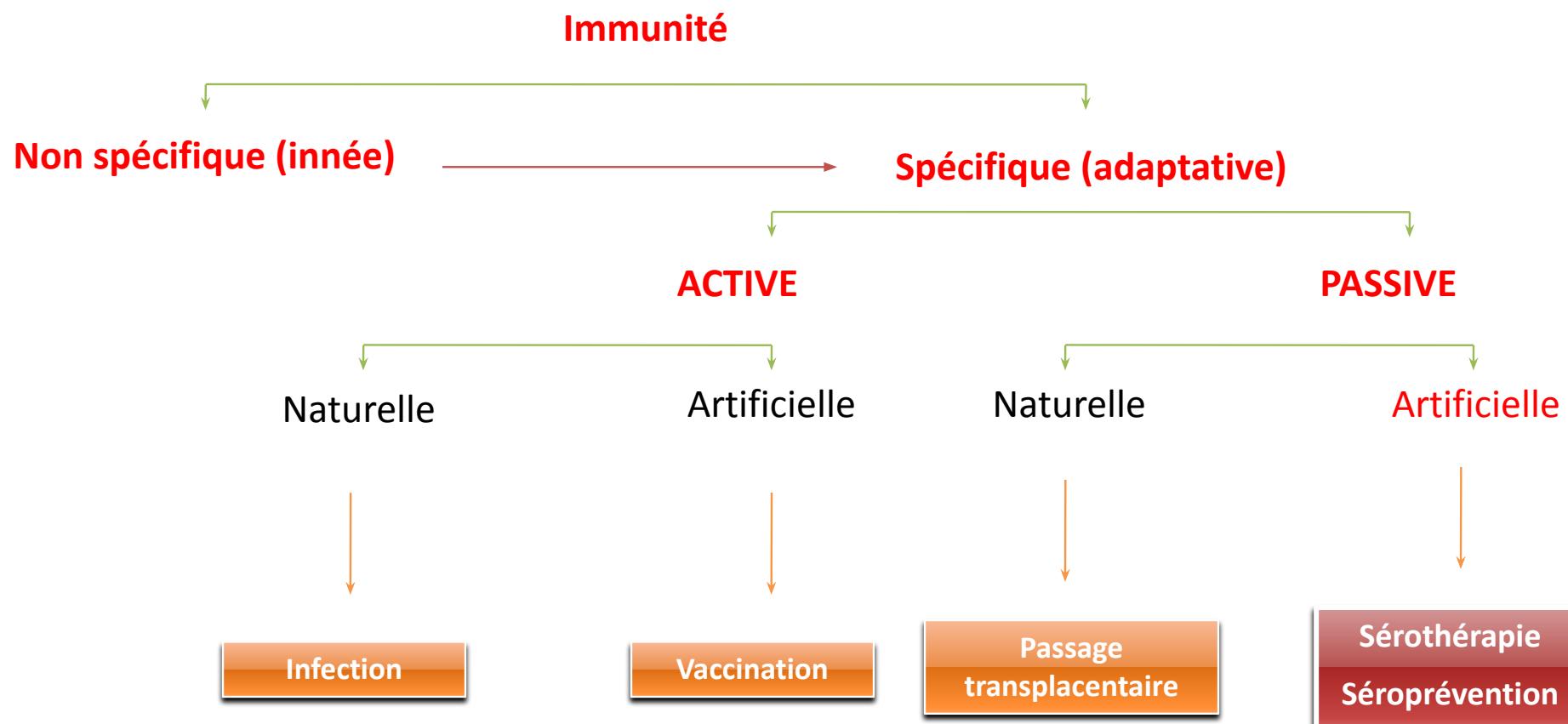


### III. Immunothérapie adoptive (passive) : Les Anticorps

## L'immunothérapie adoptive ou passive

L'immunothérapie adoptive (ou passive) repose sur le principe d'injecter des entités **immunocompétentes**, telles que **des cellules** (cellules dendritiques matures, lymphocytes T etc.) ou **des anticorps**, dans le but d'aider le système immunitaire pour lutter contre un état pathologique particulier (d'une façon spécifique) ex : les cancers etc.

## 1. Anticorps et Immunité



## 2. Les anticorps : généralités

### • Les anticorps : Sources

- Découverte des propriétés anti-toxiques des anticorps antidiptériques par Von Behring en 1890 → utilisation thérapeutique extensive d'immuns sérum animaux en pathologie infectieuse.
- L'administration des anticorps → **immunité passive immédiate**.
- Les anticorps peuvent être utilisés dans un double but :
  - thérapeutique : pour traiter une état pathologique (sérothérapie);
  - prophylactique : pour prévenir un état pathologique (séroprophylaxie).
- Deux sources d'anticorps peuvent être utilisées :
  - les anticorps polyclonaux (homologues ou hétérologues);
  - les anticorps monoclonaux.
- Avec les progrès de la vaccination et la découverte des antibiotiques, l'utilisation d'Ac hétérologues est de plus en plus délaissée à l'exception de la sérothérapie anti-venimeuse.
- Avec les progrès en immunologie, les anticorps trouvent aujourd'hui de nouvelles applications dans les domaines de l'immunité anti-tumorale, en auto-immunité, et en immunotoxicologie).

### 3. Sources d'anticorps

#### Sources d'anticorps

## Anticorps

### Polyclonaux

Gammaglobulines purifiées  
(IgG surtout)

#### Hétérologues

sérum d'animaux  
(cheval, lapin)  
hyperimmunisés



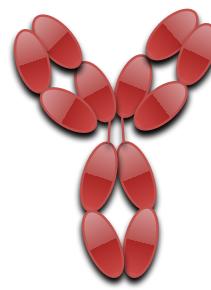
#### Humaines

Sérum de sujets sains  
(plus rarement sujets  
immunisés volontaires)



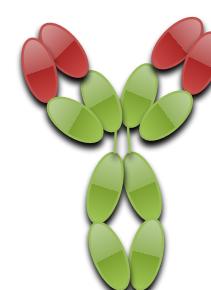
#### Murins

Mab produits à  
partir de  
lymphocytes B  
murins



#### Chimériques

Régions constantes  
d'origine humaine et  
régions variables  
d'origine murine



#### Humanisés

Seuls les CDRs  
sont d'origine  
humaine



#### Humains



#### Très Immunogènes.

Provoquent des Ac :

- Anti-isotypes
- Anti-allotypes
- Anti-idiotypes

#### Peu immunogènes.

Provoquent des Ac :

- Anti-allotypes
- Anti-idiotypes

#### Très Immunogènes.

Provoquent des Ac :

- Anti-isotypes
- Anti-allotypes
- Anti-idiotypes

#### Peu immunogènes.

Provoquent des Ac :

- Anti-allotypes
- Anti-idiotypes

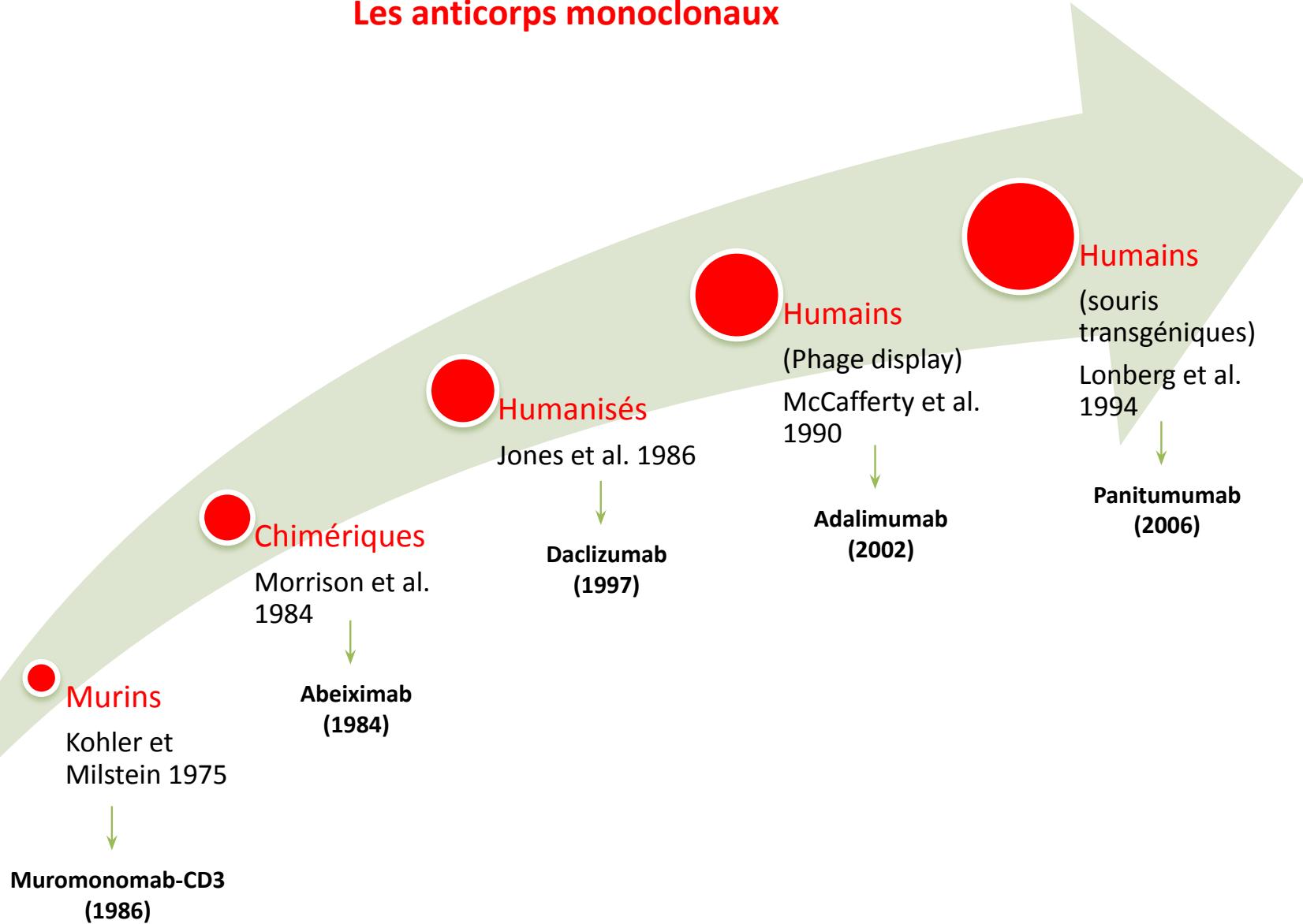
#### Très Peu Immunogènes

provoquent seulement  
des Ac anti-idiotypes

### 3. Sources d'anticorps

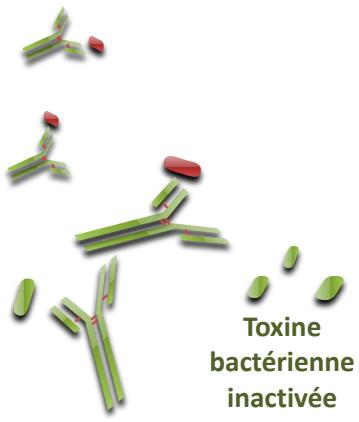
#### Sources d'anticorps

## Les anticorps monoclonaux



## 4. Fonctions effectrices des anticorps

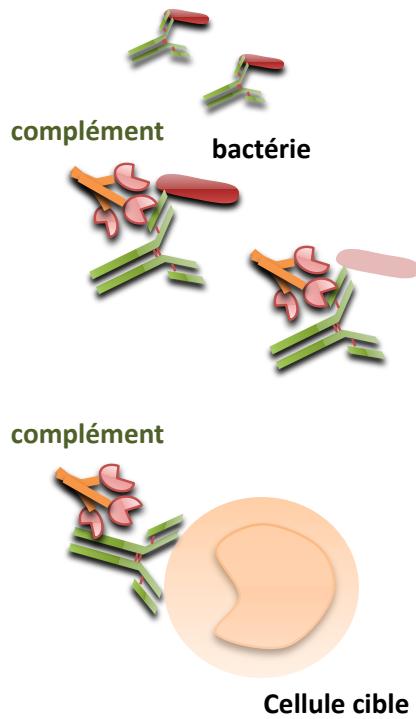
### Neutralisation des toxines et des virus



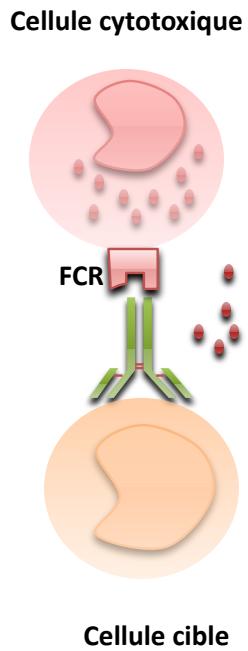
- Toxine :
  - tétanique
  - diptérique
  - botulique

- Virus :  
Les Ac empêchent l'interaction des virus avec la cellule cible

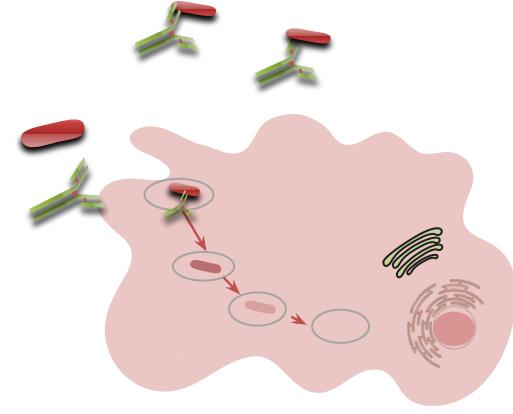
### Lyse complément dépendante



### ADCC



### Opsonisation et phagocytose

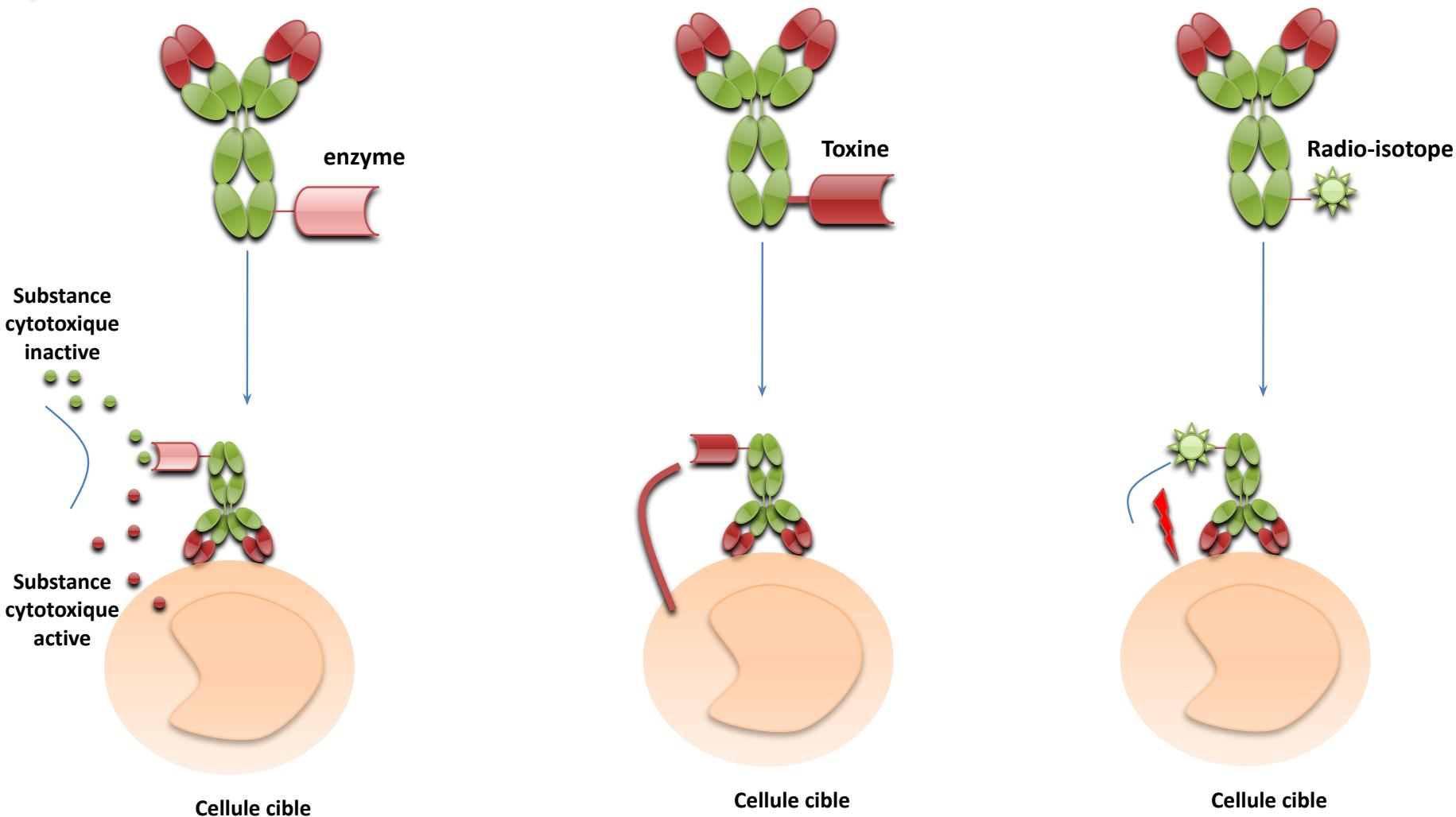


- Ex : germes encapsulés
  - *Pneumocoque*
  - *streptocoque*
  - *staphylocoque*

## 5. Modifications des anticorps

### a. Anticorps conjugués

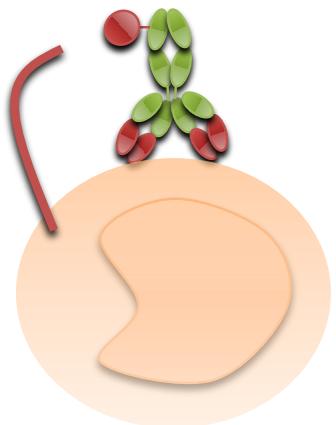
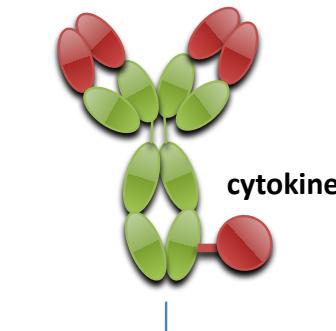
Permettent une action plus ciblée des substances cytotoxiques, épargnant les cellules saines.



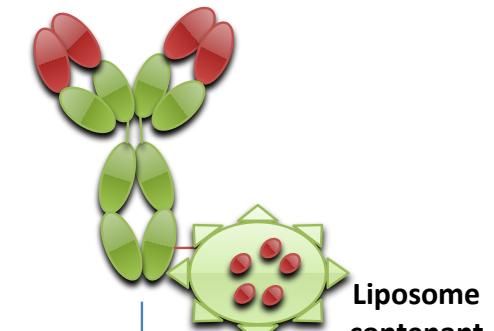
## 5. Modifications des anticorps

### a. Anticorps conjugués (2)

Permettent une action plus ciblée des substances cytotoxiques, épargnant les cellules saines.



Immunocytokine



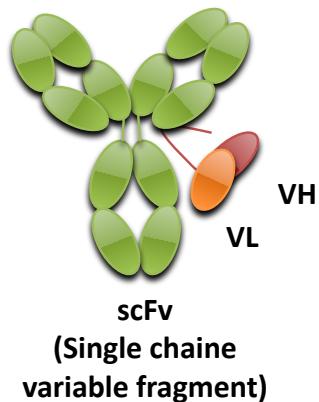
immunoliposome

## 5. Modifications des anticorps

### b. Anticorps bi-spécifiques

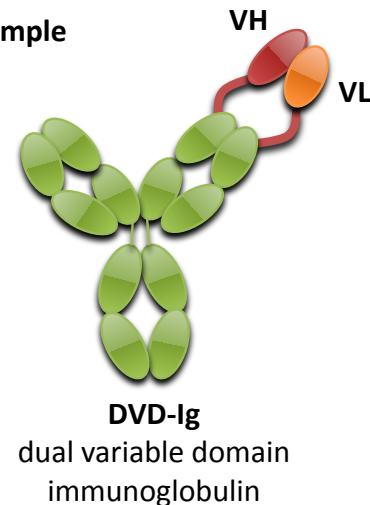
Permettent le rapprochement entre effecteurs et cellules cibles.

Exemple

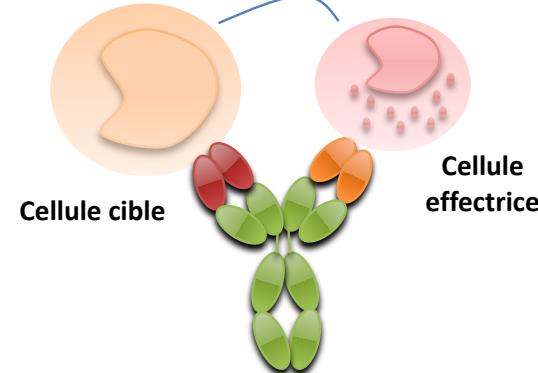
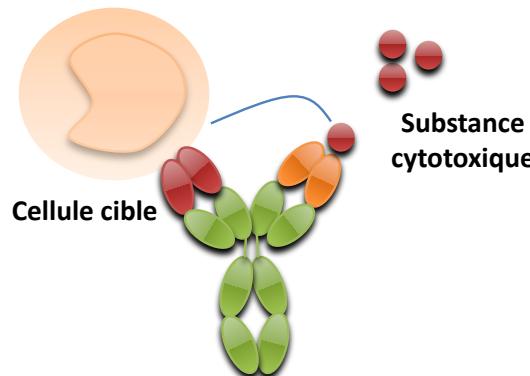


Anticorps bi-spécifique (reconnait 2 antigènes)

Exemple



DVD-Ig  
dual variable domain immunoglobulin



## 6. Indications thérapeutiques



### Séroprophylaxie :

- Infections à période d'incubation trop courte : tétanos, diphtérie, rubéole,
- Absence de vaccin.
- Prématurés (réduire la mortalité par septicémie, le transfert placentaire est pratiquement négligeable jusqu'à la 32ème semaine de gestation)
- Malades atteints de SIDA (diminuer la fréquence de certaines infections opportunistes).
- Rage en cas de morsures faciales
- Sujets contacts à haut risque (varicelle, hépatite B, CMV)



### Sérothérapie :

- Eviter les chocs septiques (infections bactériennes)
- Alloimmunisation anti-D (anti-rhésus)
- Traitement des MAI (IgG i.v.)

## 7. Indications thérapeutiques des anticorps

Nature	Source	Préparation	Utilisation
Ig d'origine animale	Sérum d'animaux hyperimmunisés (Équins, ovins, lapins)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Relargage au sulfate d'ammonium</li><li>• Pepsination → (Fab')2</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>→ Inhibition d'un processus infectieux</li><li>→ Neutralisation de venins</li><li>→ Prévention du rejet de greffes (SAT)</li></ul>
Ig d'origine humaine	<ul style="list-style-type: none"><li>• Plasmas de donneurs (Ig polyvalentes)</li><li>• Plasmas de sujets hyperimmunisés (Ig spécifiques)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Méthode de Cohn (à l'alcool)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>→ Inhibition d'un processus infectieux (Ig spécifiques)</li><li>→ Traitement de maladies à composante immunitaire (IGIM)</li><li>→ Modulation de la réponse immunitaire (IGIV : MAI)</li></ul>
Mab	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hybridomes B</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Surnageant de culture d'hybridomes</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>→ Destruction de cellules : Mab anti-D, Mab anti-LB (lymphomes)</li><li>→ Inhibition d'un processus infectieux (Mab anti-F du VRS)</li><li>→ Prévention du rejet de greffes (Mab anti-CD3, anti-IL2-R, antiLFA-1)</li><li>→ Immunité anti-tumorale (immunotoxines)</li><li>→ Traitement de l'asthme (anti-IgE)</li><li>→ Neutralisation d'un oncogène : cancer du sein (Mab anti-HER2)</li></ul>

## 8. Indications thérapeutiques des anticorps monoclonaux

### a. Anticorps neutralisants

Sont dirigés contre des cibles antigéniques solubles, comme des toxines, des cytokines, des virus ou des récepteurs de virus.

Nom	Origine	Cible moléculaire	Indication
Raxibacumab	humain	Antigène PA (protective antigen)	Contre la toxine du bacille du charbon (anthrax)
Palivizumab	Humanisé	RSVb	Maladies infectieuses (virus respiratoire syncytial)
Bevacizumab	Humanisé (IgG)	VEGF	Oncologie
Ranibizumab	Humanisé (FAb)	VEGF	dégénérescence maculaire liée à l'âge
Infliximab	Chimérique	TNFa	Inflammation, SPA, PR
Adalimumab	Humain	TNFa	Inflammation, SPA, PR
golimumab	Humain	TNFa	Inflammation, SPA, PR
Canakinumab	Human	IL-1 $\beta$	Syndrome périodique (CAPS)
Eculizumab	Humanisé	C5 du complément	Hémoglobinurie paroxystique nocturne
Omalizumab	Humanisé	IgE	Asthme allergique
Ustekinumab	humain	IL12/23	Psoriasis et maladies inflammatoires

## 8. Indications thérapeutiques des anticorps monoclonaux

### b. Anticorps antagonistes

Ciblent spécifiquement un récepteur membranaire, et bloquent la liaison de son ou de ses ligands ou son fonctionnement.

Nom	Origine	Cible moléculaire	Indication
Basiliximab	Chimérique	CD25	Transplantation
Daclizumab	humanisé	CD25	Transplantation
Tocilizumab	Humanisé	Chaine $\alpha$ de IL-6-R	Inflammation (PR)
Cetuximab	Chimérique	epidermal growth factor receptor (EGFR)	Oncologie
Panitumumab	Humain	epidermal growth factor receptor (EGFR)	Oncologie
Abciximab	Chimérique (Fab)	gpIIb/IIIa (CD41) (intégrine plaquettaire)	Maladies cardio-vasculaires
Efalizumab	Humanisé	LFA (CD11a)	Immunosuppresseur (psoriasis)
Natalizumab	Humanisé	VLA-4 (CD49d)	sclérose en plaques
Ipilimumab	Humain	CTLA-4	Mélanome (comme adjuvant)
Bélimumab	Humain	BAFF	LES (bloque le Ly B)
Infliximab	Chimérique	TNF $\alpha$	Inflammation, SPA, PR
Adalimumab	Humain	TNF $\alpha$	Inflammation, SPA, PR
golimumab	Humain	TNF $\alpha$	Inflammation, SPA, PR

## 8. Indications thérapeutiques des anticorps monoclonaux

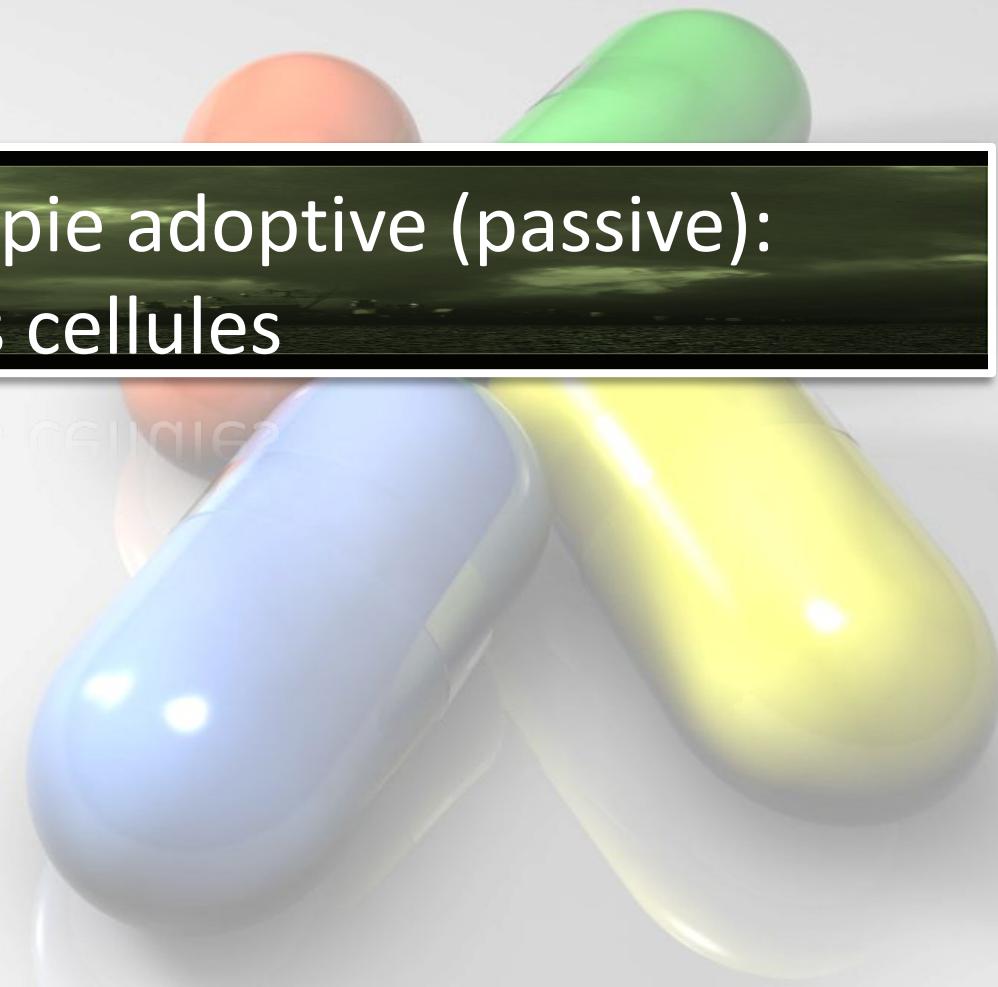
### c. Anticorps cytolytiques

L'anticorps en se fixant sur sa cible membranaire, entraîne la cytotoxicité de la cellule cible.

Nom	Origine	Cible moléculaire	Indication
Muromonab	Souris	CD3	immunosupresseur
Alemtuzumab	Humanisé	CD52	Oncologie
Rituximab	Chimérique	CD20	Oncologie et PR
Ofatumumab	Humain	CD20	Oncologie et PR (il active le complément)
Ibritumomab-yttrium-90 ou indium-111 (radio-éléments)	Souris	CD20	Oncologie
Tositumomab - 131I	Souris	CD20	Oncologie
Infliximab	Chimérique	TNF $\alpha$	Inflammation, SPA, PR
Adalimumab	Humain	TNF $\alpha$	Inflammation, SPA, PR
golimumab	Humain	TNF $\alpha$	Inflammation, SPA, PR
Gemtuzumab (Ozogamicin : toxine)	Humanisé	CD33	Oncologie



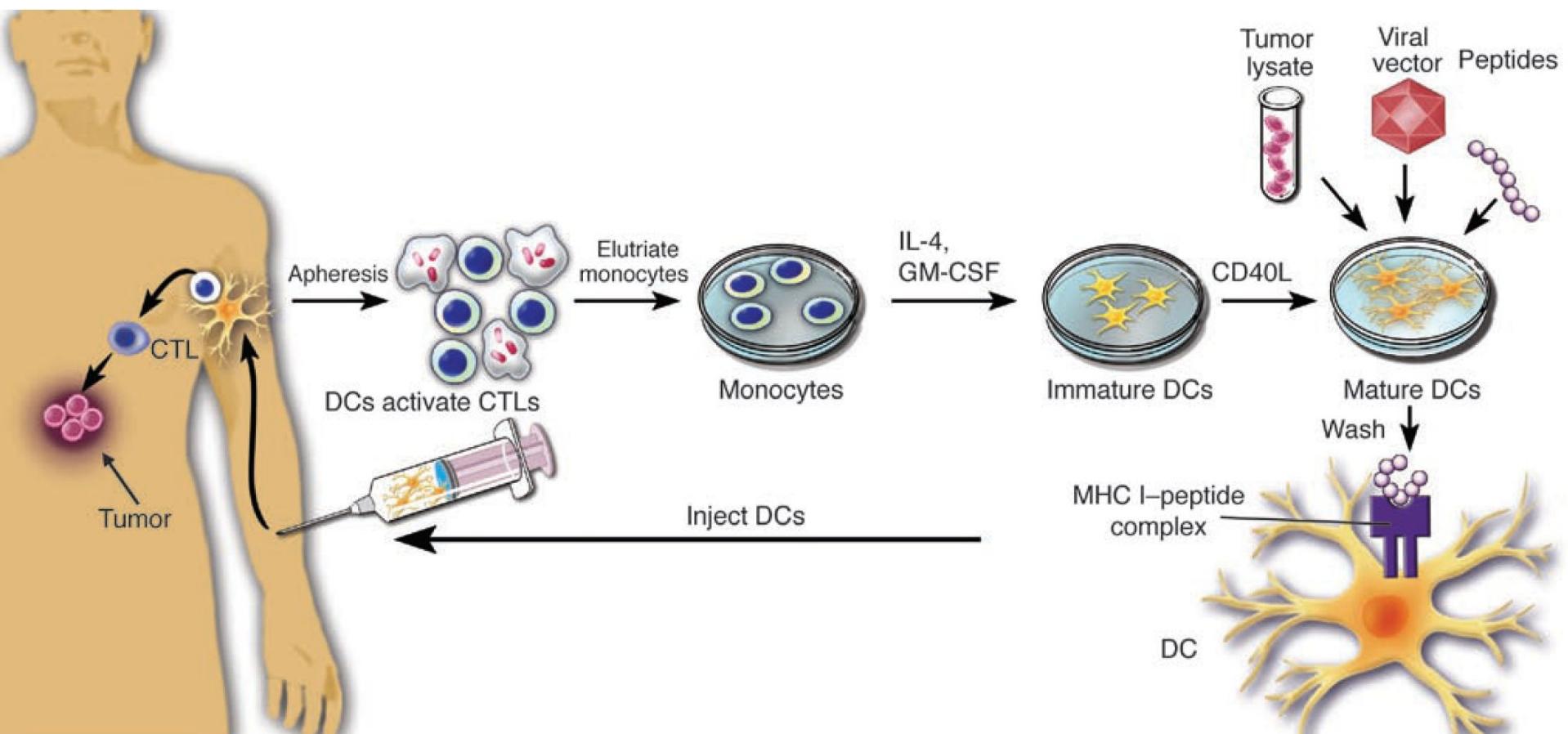
## IV. Immunothérapie adoptive (passive): Les cellules



# Introduction

- La thérapie cellulaire a pour objectif la réinjection de cellules humaines manipulées ex-vivo (ingénierie cellulaire) et correspondant à un ensemble de techniques qui permettent de manipuler ou de transformer une cellule ou un tissu, afin de leur conférer des fonctions nouvelles, voire des vertus thérapeutiques.
- Les premières thérapies cellulaires sont représentées par la greffe des cellules souches hématopoïétiques.
- Le premier effet de l'immunothérapie adoptive cellulaire a été constaté lors de l'effet GVL (graft versus leukemia) apporté par les lymphocytes du donneurs présentes dans le greffon.
- Les principales cellules utilisées dans l'immunothérapie adoptives sont:
  - Les cellules dendritiques (DCs)
  - Les lymphocytes T (CD8 principalement).
- D'autres cellules peuvent être utilisées :
  - Les cellules NK
  - Les lymphocytes T $\gamma\delta$
  - Les lymphocytes T régulateurs

# 1. Les cellules dendritiques



# 1. Les cellules dendritiques

- Actuellement, trois approches générales dans les protocoles cliniques pour l'obtention des DC sont utilisées:
  - Purification des **DC immatures à partir du sang périphérique**.
  - Différenciation ex-vivo des DC à partir de **progéniteurs CD34+** (la plus efficace)
  - Différenciation ex-vivo des DC à partir de **monocytes sanguins sous l'effet de GM-CSF et IL4** (la plus utilisée)
- Les DC immatures peuvent être maturées in vitro avec
  - CD40L,
  - LPS,
  - TNF- $\alpha$ ,
  - Des cocktails de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , TNF, IL-6)
  - Prostaglandines E2,
  - Ou bien des adjuvants et immunostimulants (ligands des TLRs ex : motifs CpG)

# 1. Les cellules dendritiques

□ Le chargement des antigènes sur les DC se fait par :

- Voie exogène :
  - Peptides synthétiques.
  - Complexes immuns
  - Extraits protéiques.
  - Lysats cellulaires.
  - Cellules entières (cellules tumorales)
  - Cellules apoptotiques
  - Exosomes (petites viséculles libérés par plusieurs types cellulaires et qui contiennent des complexes HLA/peptides et d'autres molécules de surface).
- Voie endogène :
  - Incorporation directe des acides nucléiques (ADN et ARN) par électroporation.
  - Vecteurs rétroviraux
  - Virus recombinants.

# 1. Les cellules dendritiques

## Critères de qualité des DC utilisées dans les essais cliniques

Contrôle microbiologique	Absence des contaminations bactériennes et fongiques
Viabilité	>50% (déterminée par un colorant vital : bleu trypan.
pureté	>70% (déterminée par cytométrie en flux en utilisant des marqueurs non spécifiques des DC
Phénotype	<ul style="list-style-type: none"><li>• Immature: CD14<sup>neg/low</sup>, CD83<sup>neg</sup>, CD80<sup>neg/low</sup>, CD86<sup>low</sup>, MHC class I<sup>pos</sup>, MHC class II<sup>pos</sup>, DC-SIGN<sup>pos</sup>, CCR5<sup>pos</sup></li><li>• Mature: CD83<sup>pos</sup>, CD80<sup>pos</sup>, CD86<sup>pos</sup>, MHC class I<sup>pos</sup>, MHC class II<sup>pos</sup>, DC-SIGN<sup>pos</sup>, CCR7<sup>pos</sup></li></ul>
Induction des réponses immunitaires	<ul style="list-style-type: none"><li>• MLR : prolifération T à un ratio DC:PBMC à 1:20</li><li>• Reconnaissance des antigènes chargés par les LyT: essais de cytotoxicité ou production de cytokine.</li></ul>

- La voie d'administration des DC pulsées est primordiale. Il semble que la qualité des réponses soit affectée par la localisation des DC :
  - Voie sous-cutanée (intradermique) : les DC vont se localiser dans les ganglions, induisant des réponses cytotoxiques et de type Th1, et entraînant la migration des effecteurs dans les compartiments cutanés.
  - Voie intraveineuse : les DC vont se localiser dans la rate et le foie, induisant surtout des réponses de type humorales.

# 1. Les cellules dendritiques

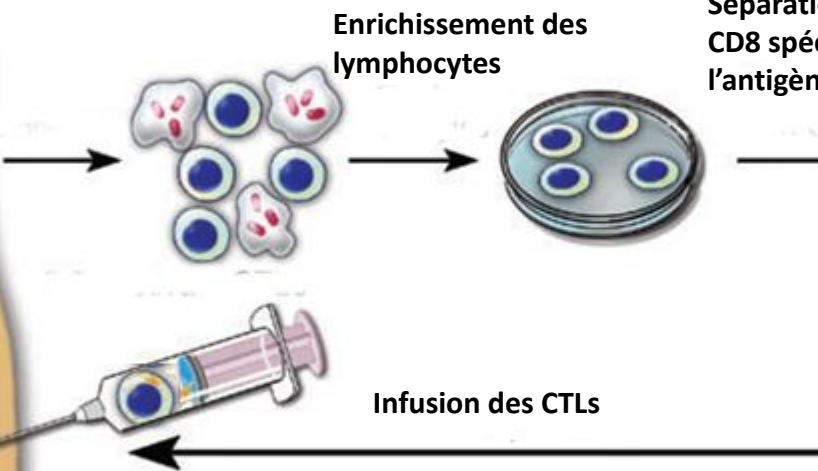
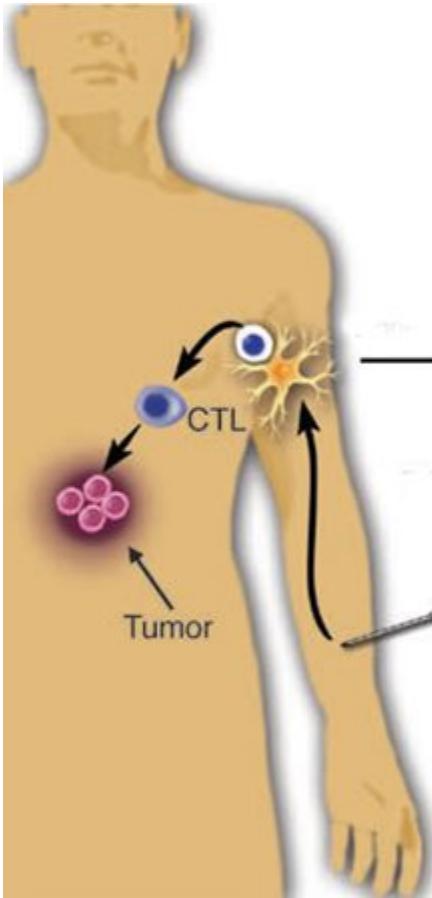
Type de cancer	Antigènes	Type de DCs	Voie d'administration	Nombre de patients	Référence
Mélanome (stade IV)	Peptide MAGE 3A1 (HLA-A1)	MaMo	s.c., i.d. puis i.v.	11	(Turner, Haendle et coll. 1999)
Mélanome (stade IV)	Peptide MAGE-1, MAGE-3 (HLA-A1), Melan A, gp100,Tyrosinase (HLAA2)	CD34+	i.v.	14	(Mackensen, Herbst et coll. 2000)
Carcinome rénal métastatique	Lysat cellulaire	MaMo	i.d.	5	(Pandha, John et coll. 2004)
Leucémie	Corps apoptotiques	MaMo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• i.v</li> <li>• i.d</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4</li> <li>• 9</li> </ul>	(Fujii, Shimizu et coll. 2001)
Prostate (métastatique)	ARNm PSA	-	-	-	(Heiser, Coleman et coll. 2002)
Colon (metastatique)	ARN tumoral total autologue	-	-	-	(Nair, Morse et coll. 2002)
Melanome	ARNm tumoral total autologue	-	i.d.	-	(Kyte, Mu et coll. 2006)
Cancer colorectal	fowlpox-CEA-MUC-1-TRICOM +/- GMCSF	MaMo	s.c. et i.d.	72	Michael A. Morse, MD Duke University

## 1. Les cellules dendritiques

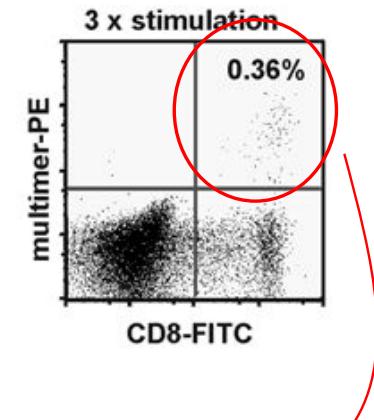
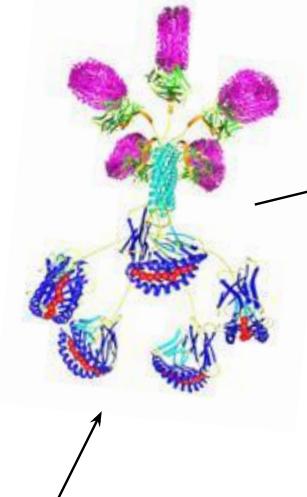
Provenge® (sipuleucel-T), est le premier vaccin thérapeutique pour le traitement du **cancer de la prostate**, dont la mise sur le marché a été approuvée le 29 avril 2010 par la FDA.

- DC : cellules dendritiques cultivés à partir des cellules souches CD34+
- Antigène : fusion entre GMCSF et phosphatase acide prostatique (PAP)
- Le traitement se fait en trois injections espacées de deux semaines
- Indication : Adénocarcinome prostatique métastasique après échec de la thérapie hormonale.
- Une meilleur survie (chez 38% des sujets traités)
- Ce vaccin coûte très cher, environ \$100 000 par personne, car il sera spécifiquement réalisé pour chaque patient.

## 2. Les lymphocytes T



Tétramères  
HLA/peptide  
spécifique -  
phycoérythrine



**Culture des TCD8+ spécifiques avec :**

- PBMC irradiés allogéniques
- Anti-CD3
- IL2

CTLs

## 2. Les lymphocytes T

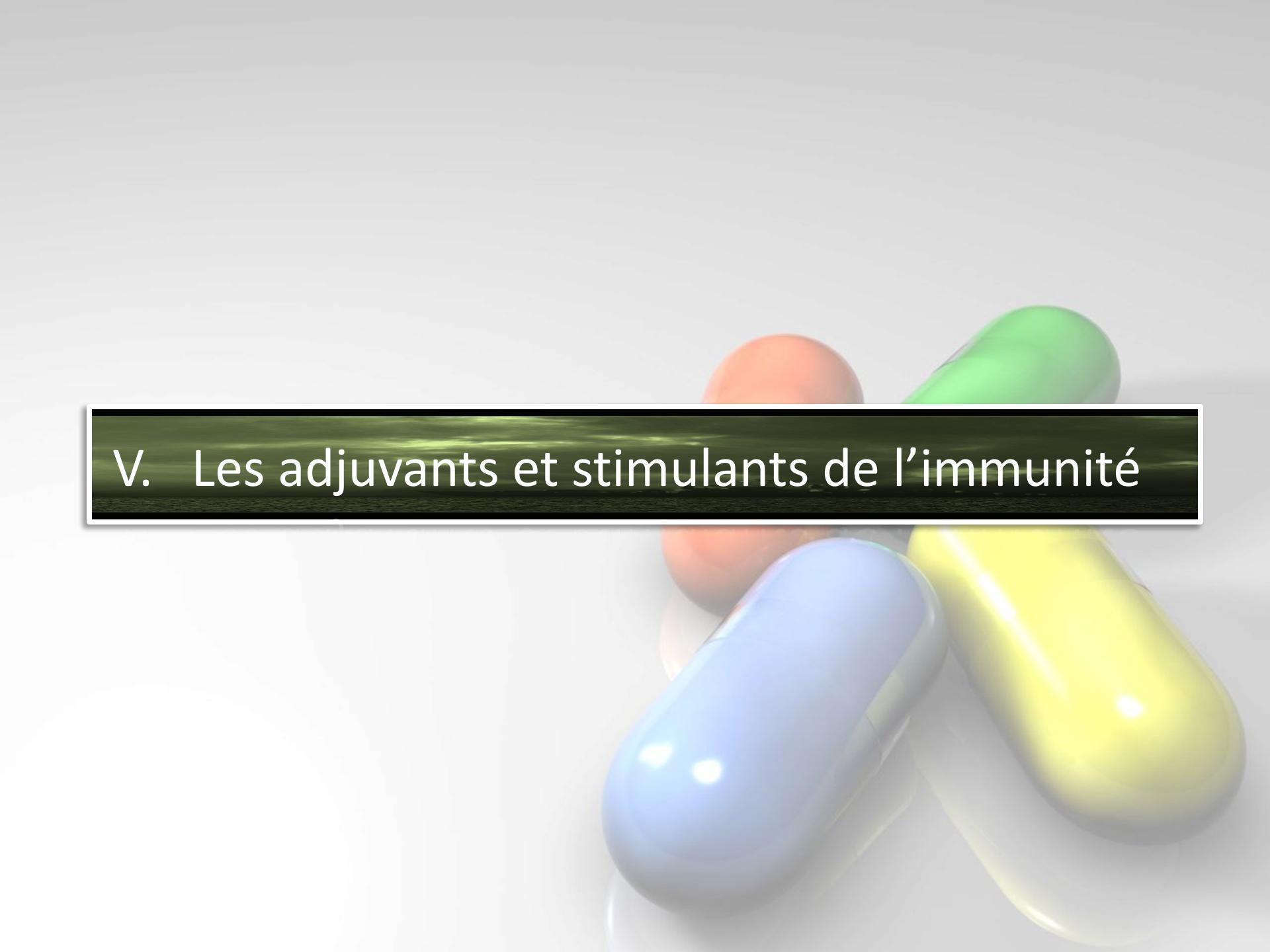
□ Les lymphocytes peuvent être modifiés génétiquement avant infusion pour augmenter leur efficacité :

- Pour augmenter la spécificité :
  - Expression d'un TcR spécifique de forte affinité pour l'antigène cible.
  - Insertion de récepteurs d'antigènes chimériques (CARs) : constitué dans la partie extracellulaire par la région Fv des anticorps anti-antigène cible et la partie intracellulaire par une molécule pour la transduction du signal (ex chaîne  $\zeta$  du CD3)
- Pour augmenter la survie et la prolifération :
  - Expression de molécules anti-apoptotiques : ex BCL-2 et BCL-XL
  - Expression de cytokines de prolifération (IL2, IL15)
- Résistance aux molécules inhibitrices :
  - Diminution de l'expression de la molécule proapoptotique : Fas

## 2. Les lymphocytes T

→ les lymphocytes T

Pathologie	Protocol	Phase
Infection HIV	TCD8+ autologues spécifiques des antigènes du HIV + IL2	Phase I
Cancers du tube digestif	TCD8+ autologues (TIL:Tumor infiltrating lymphocytes) +IL2	Phase II
Réactivation CMV en Post-greffe	T CD8+ spécifiques du CMV	Phase II
Cancers métastasiques	TCD8+ autologues modifiés génétiquement exprimant un récepteur chimérique (CAR) anti-VEGFR2	Phase II
Lymphomes B non hodjkiniens	TCD8+ autologues modifiés génétiquement exprimant un récepteur chimérique (CAR) anti-CD19	Phase II
Melanome métastasique	TIL (Tumor infiltrating lymphocyte) modifiés génétiquement exprimant l'IL12	Phase II

A background image showing several colorful capsules (orange, green, blue, yellow) arranged in a cluster, suggesting medical or pharmaceutical themes.

## V. Les adjuvants et stimulants de l'immunité

# 1. Classification

---

Deux classifications proposées :

□ Classification basée sur leur nature chimique et leur origine :

- Adjuvants huileux,
- Sels minéraux,
- Acides nucléiques,
- Constituants et toxines bactériennes,
- Cytokines,
- Substances chimiques (les imidazoquinolones).

□ Classification basée sur leur mode d'action et leurs effets sur la réponse immunitaire :

- Véhicules (delivery systems) : véhiculent l'Ag, le protègent de la dégradation et le présentent aux CPA (action passive).
- Immunopotentiateurs et immunomodulateurs : qui activent les cellules de l'immunité.

## 2. Les véhicules (delivery systems)

- La majorité d'entre eux, sont uniquement des adjuvants sans activité immunostimulante.
- Ce sont des systèmes qui véhiculent un antigène en le protégeant de la dégradation et en préservant son intégrité conformationnelle. Cette protection induit sa persistance et son accessibilité, pendant une longue durée, aux CPA.
- Les véhicules agissent par deux mécanismes:
  - **Effet dépôt** : libération progressive et prolongée d'un antigène à partir du site d'introduction, prolongeant ainsi son contact avec les CPA.  
*Exemples* : sels minéraux,  
émulsions.
  - **Présentation d'antigènes sous forme macromoléculaire** : capacité d'un adjuvant de véhiculer un antigène et de le présenter sous une forme macromoléculaire reconnue et phagocytée par les CPA .  
*Exemples* : adjuvants vésiculaires (liposomes et virosomes),  
ISComs.

## 2. Les véhicules (delivery systems)

### a. Les sels minéraux :

- Introduits comme adjuvants par Glenny en 1926.
- Cette catégorie compte :
  - **L'hydroxyde d'aluminium (alun d'ammonium),**
  - **Le phosphate de calcium,**
  - Le phosphate d'aluminium,
  - Le phosphate de potassium;
- Présentation :

Précipité insoluble de type gel, sur lequel sont absorbées les protéines antigéniques par interaction avec les ions du gel, grâce aux liaisons électrostatiques.
- Mode d'action :

À côté de l'effet dépôt, ce type d'adjuvant permet de concentrer localement l'antigène et le présenter sous forme d'agrégats moléculaires, ce qui favorise le captage par les CPA.
- Type de réponse obtenue :

Ils induisent uniquement des réponses humorales avec des titres élevés d'anticorps.

## 2. Les véhicules (delivery systems)

### a. Les sels minéraux :

#### □ Applications :

Utilisés en médecine humaine comme adjuvants dans les vaccins tel que le DTC, le vaccin de l'hépatite B.

#### □ Inconvénients :

- Les antigènes ne peuvent pas être tous absorbés sur le gel,
- Risque de la perte de la conformation de la protéine après absorption,
- Les sels d'aluminium induisent, en plus de la génération de titres élevés d'IgG, la production de titres plus ou moins élevés d'IgE pouvant être responsables d'accidents allergiques chez certains sujets (due à l'induction de la libération de l'IL4 par les monocytes).
- Quelques réactions locales (surtout pour les sels d'aluminium) parce qu'ils constituent des corps étrangers.

#### □ Le phosphate de calcium suscite un intérêt croissant :

- Ne constitue pas un corps étranger.
- N'induit pas la production d'IgE.

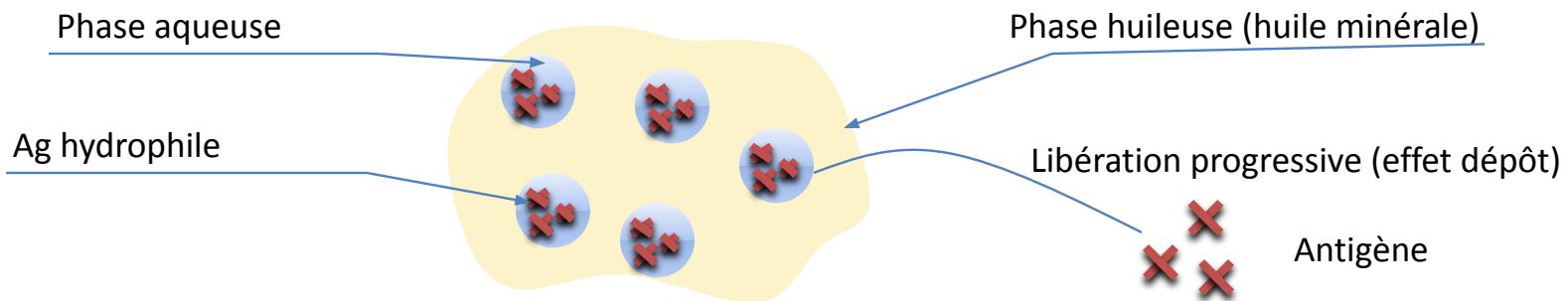
## 2. Les véhicules (delivery systems)

### b. Les émulsions :

Une émulsion est un système où deux phases normalement non miscibles sont dispersées l'une dans l'autre et stabilisées par adjonction d'agents tensioactifs (agents de surface).

#### Emulsion d'eau dans l'huile(adjuvant incomplet de Freund) :

- En 1945, Freund, a mis en évidence le rôle adjuvant des émulsions (émulsion eau dans l'huile).
- Présentation : gouttes de solution aqueuse contenant un antigène hydrophile (diamètre de l'ordre du nanomètre au millimètre, englobées dans une phase lipophile continu (une huile minérale).



- Mode d'action :
  - Libération progressive de l'antigène à partir de multiple micro foyers (effet dépôt).
  - Induction d'une bonne production d'anticorps.
- Inconvénients :
  - Réaction inflammatoire locale intense : formation de granulomes inflammatoires autour d'une masse huileuse persistante (l'huile minérale n'est pas métabolisable);
  - Les huiles minérales sont cancérogènes.

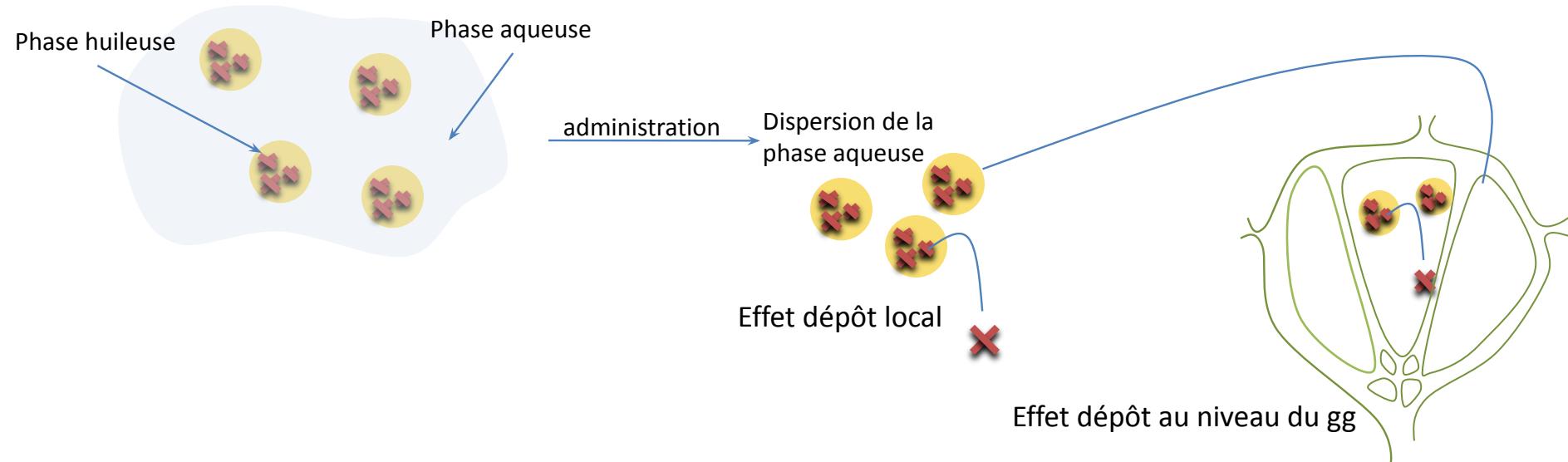
**De ce fait, utilisable uniquement en expérimentation animale.**

## 2. Les véhicules (delivery systems)

### b. Les émulsions :

#### → Emulsion d'huile dans l'eau ( MF59):

- Présentation : émulsion huile dans l'eau , l'huile étant le squalane ou le squalène ( précurseurs du cholestérol biodégradables et métabolisables).
- Lors de l'administration, la phase aqueuse continue se disperse rapidement, les sphérules d'huile libérées transportent l'antigène directement vers les ganglions via le liquide lymphatique,



## 2. Les véhicules (delivery systems)

### b. Les émulsions :

#### → Emulsion d'huile dans l'eau ( MF59):

##### □ Mode d'action :

- L'effet dépôt ne s'exerce pas seulement au site d'injection mais au sein même du tissu lymphatique.
- MF59 induit une forte production d'anticorps (réponse humorale augmentée).

##### □ Avantages :

- L'utilisation d'une huile métabolisable et la bonne dispersion au site d'injection, évite les réactions locales (bonne innocuité),
- Un effet dépôt au sein du tissu lymphatique.

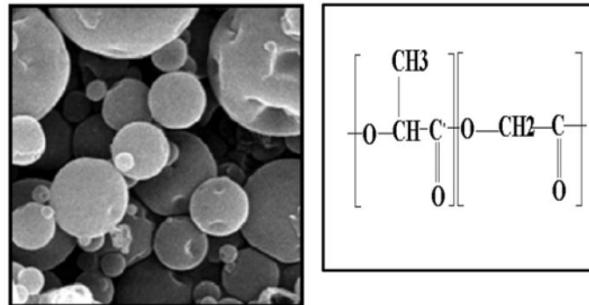
##### □ Application :

- MF59 est adapté à l'utilisation chez l'homme. Il est utilisé dans un vaccin antigrippal en Europe.

## 2. Les véhicules (delivery systems)

### c. Les microparticules (polyesters : PLGs (poly(lactide-co-glycolides)))

- Polyesters biocompatibles et biodégradables de poly (lactate-co-glycolates) (PLGs)



- L'activité adjuvante (découverte dans le début des années 90s) est due à :

L'encapsulation des antigènes avec les particules PLGs



La phagocytose par les macrophages et cellules dendritiques (diamètre < 5µm)

- Alternative des PLGs :

PLGs avec surface **chargés**



Adsorption des antigènes



Meilleur chargement des antigènes par rapport à l'encapsulation (ex ADN plasmidique)

- Les PLGs chargés agissent aussi par effet dépôt.

- Principale application : vaccin à ADN (meilleur réponse que les plasmides nus) mais aussi en essais avec Vaccin anti-HIV (gag DNA/**PLG**, env DNA/**PLG** Microparticles et rec gp120/CpG/**PLG** Microparticles)

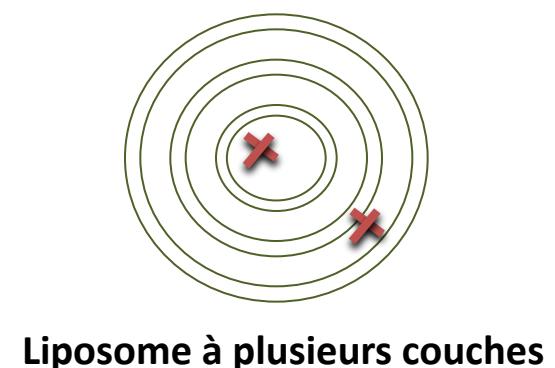
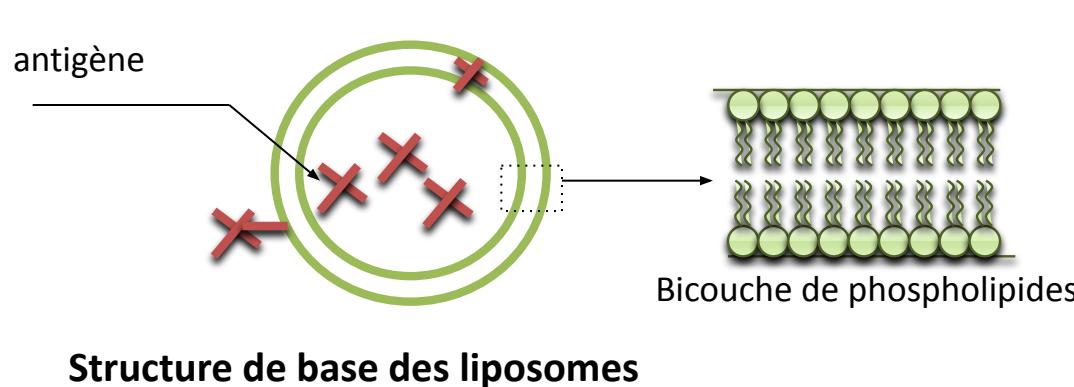
## 2. Les véhicules (delivery systems)

### d. Les particules lipidiques (liposomes et autres ....) :

- Le pouvoir adjuvant des particules lipidiques décrit par Allison et Gregoriadis en 1974.
- Ce sont des structures qui miment la structure d'un pathogène (surtout la membrane) et l'incorporation d'un antigène dans ce système augmente considérablement la réponse.  
On évite ainsi le risque que peut apporter un pathogène entier.
- Structure de base :

Elles sont formées d'une ou plusieurs sphère(s) en bicouche lipidique, d'un diamètre de 50 nm à quelques micromètres, constituée de phospholipides délimitant un compartiment aqueux.

- L'antigène est :
  - Soit à l'intérieur s'il est hydrophile,
  - Soit inséré dans la bicouche lipidique s'il est hydrophobe,
  - Soit exposé vers l'extérieur.



## 2. Les véhicules (delivery systems)

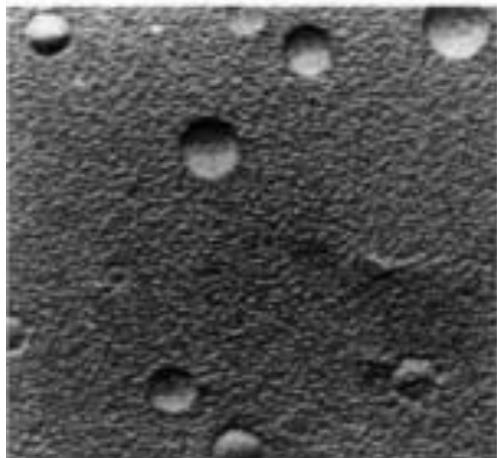
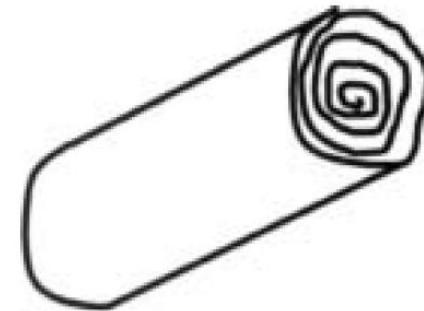
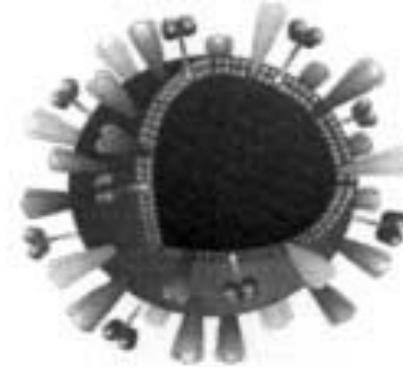
### d. Les particules lipidiques (liposomes et autres ....) :

Selon la constitution chimique des particules lipidiques, on distingue :

	<b>Composition chimique</b>	<b>structure</b>	<b>Caractéristiques</b>
<b>Liposome</b>	Phospholipides, cholestérol	Vésicules en bicouches lipidiques (50 nm à 10µm)	Structure de base, relativement rigide
<b>Niosome</b>	Surfactants non ioniques, cholestérol	Liposomes non phospholipidiques	Très grande stabilité chimique, Faible stabilité physique
<b>Transfersome</b>	Phospholipides, cholates	Vésicules en bicouches lipidiques Très déformables	Optimales pour l'immunisation par voie cutanée
<b>Virosome</b>	Phospholipides et protéines virales membranaires (HA)	Vésicules en bicouches lipidiques (150nm), rappelant celle des virus	Très bonne interaction avec les cellules de l'hôte grâce aux protéines virales.
<b>Protéasome</b>	Phospholipides, protéines membranaires et LPS	Vésicules en bicouches lipidiques (60 à 100nm)	Ratio protéines/lipides élevé Meilleure capture par les cellules de l'hôte
<b>Archeosome</b>	Lipides dérivant des archaeobactéries	Vésicules en bicouches lipidiques	Très grandes stabilité physique et chimique : à la T° élevé, au pH alcalin, aux phospholipases et sels biliaires
<b>Cochleate</b>	Phospholipides, cholestérol, calcium	Bicouche lipidique en feuillet enroulé	Absence d'espace interne aqueux, Sont très stables et rigides.

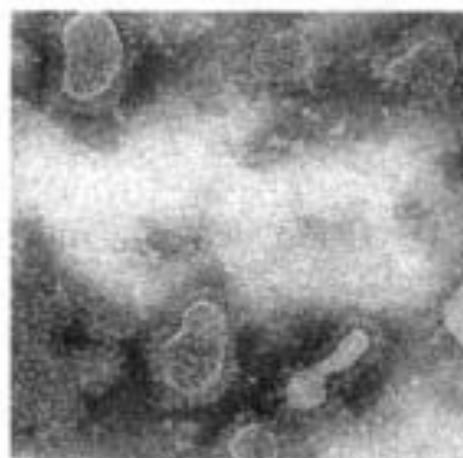
## 2. Les véhicules (delivery systems)

### d. Les particules lipidiques (liposomes et autres ....) :



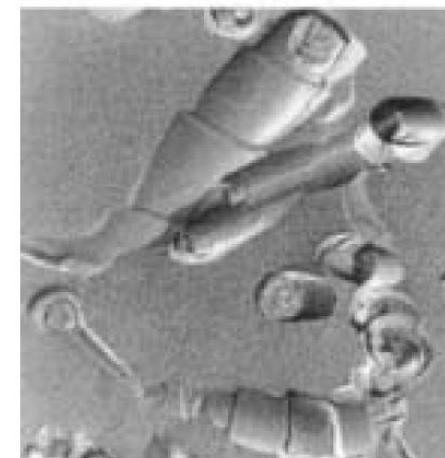
**A**

Liposome



**B**

Virosome



**C**

Cochleate

## 2. Les véhicules (delivery systems)

### d. Les particules lipidiques (liposomes et autres ....) :

#### □ Mode d'action :

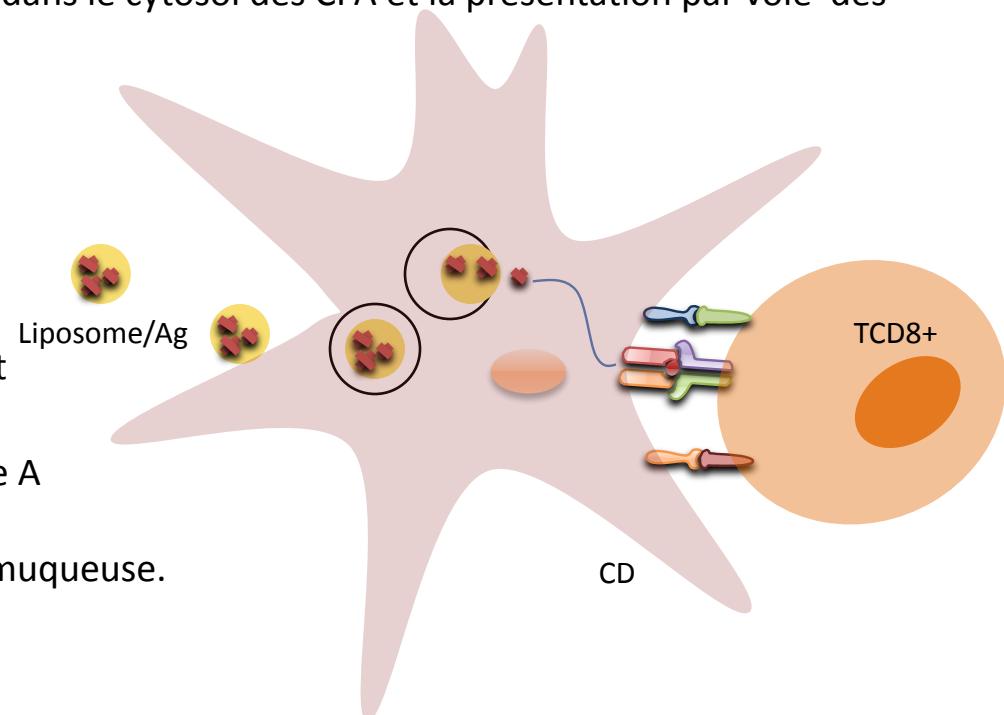
- Libération progressive de l'antigène (effet dépôt),
- Phagocytées par les CPA (macrophages et cellules dendritiques) → elles facilitent la rencontre antigène/CPA.
- Après phagocytose, les membranes des liposomes fusionnent avec celles des endosomes → favorisant la localisation des antigènes dans le cytosol des CPA et la présentation par voie des peptides endogènes aux TCD8+)

#### □ Ils induisent de fortes réponses humorales mais ont donc la capacité d'induire des réponses cellulaires.

#### □ Applications :

Les liposomes ont une bonne innocuité et sont appliqués chez l'Homme :

- Comme adjuvants dans un vaccin anti-hépatite A (virus inactivé) et dans un vaccin anti-grippal.
- En cours d'essais pour la vaccination par voie muqueuse.



## 2. Les véhicules (delivery systems)

### e. Les ISCOMs (Immuno-Stimulating COMplexes):

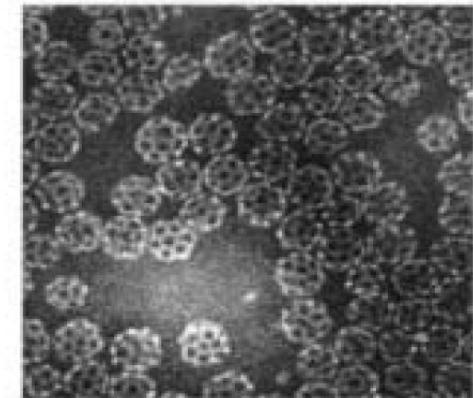
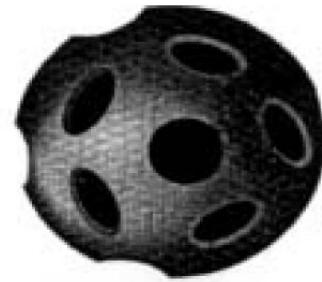
□ Décris pour la première fois en 1984 par Morein.

□ Structure et présentation :

- Particules sphériques rigides (diamètre de 40 nm environ) ne contenant pas d'espace aqueux interne (structure en cage).
- Constituées d'antigène, de la **saponine (Quil-A)**, de cholestérol, et de phospholipides.
- Ces constituants sont rassemblés à l'aide d'interactions hydrophobes en petites micelles de 10 à 12 µm, liées entre elles par des phospholipides, pour former la structure sphérique caractéristique.

□ Quil-A (saponine) :

- Puissant immunostimulant utilisé dans des vaccins vétérinaires dès les années 1970.
- Glycoside triterpénique extrait de l'écorce de l'arbre *Quillaia Saponaria*.
- Utilisé seul, il est toxique: il interagit avec le cholestérol de la membrane des cellules, provoquant la formation des pores puis hémolyse.
- Plus tard (1984), cette affinité de la saponine pour le cholestérol a été à la base du développement des ISComs. **Sous cette forme le Quil-A n'est pas toxique et conserve ses propriétés immunostimulantes.**



## 2. Les véhicules (delivery systems)

### d. Les ISCOMs (Immuno-Stimulating COMplexes):

#### □ Mode d'action :

- N'ont pas d'effet dépôt.
- Les ISComs donc délivrent l'antigène aux CPA tout en les activant (propriété absente chez les liposomes). → l'activité immuno-adjuvante des ISComs 10 à 100 fois plus importante à celle des liposomes à cause du pouvoir immunostimulant et immunopotentiateur de la saponine, d'où l'appellation « **immunostimulating complexes** ». Quil-A :
  - induit l'activation des CPA avec augmentation des molécules du CMH et des molécules de co-stimulation,
  - induit l'augmentation de la production de cytokines nécessaires à la réponse immunitaire (IL6, IL12, etc.).

#### □ Applications :

Les ISComs font l'objet d'essais thérapeutiques pour évaluer leur efficacité et leur innocuité chez l'Homme en association :

- avec un vaccin utilisant des protéines du virus influenza,
- et avec l'antigène recombinant NY-ESO-1 (antigène tumoral).

## 2. Les véhicules (delivery systems)

### e. Comparaison entre les différents véhicules

	Sels minéraux	Émulsions	Particules lipidiques	ISCOMS
<b>Exemples</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hydroxyde d'Al</li> <li>• Phosphate d'Al</li> <li>• Phosphate de Ca</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MF59</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Liposomes</li> <li>• Virosomes</li> <li>• Archaeosomes</li> </ul>	ISCOMs ISCOMatrix®
<b>Mode d'action</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Effet dépôt,</li> <li>• Agrégation des Ag</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Effet dépôt</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Effet dépôt</li> <li>• Véhiculer l'Ag au CPA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Véhiculer l'Ag au CPA,</li> <li>• Activation des CPA</li> </ul>
<b>Effets sur la RI</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↗ de la production d'Ac (IgG++, IgE+/-)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↗ de la production d'Ac</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↗ production d'Ac</li> <li>• Génération de CTL</li> <li>• IgAs (voie des muqueuses)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↗ production d'Ac</li> <li>• Génération de CTLs.</li> <li>• IgAs (voie des muqueuses)</li> </ul>
<b>Effets indésirables</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réactions locales</li> <li>• Accidents allergiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Réactions locales minimes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Absents</li> </ul>	Hémolyse +/-
<b>Application chez l'Homme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vaccins</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vaccins</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vaccins</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vaccins</li> <li>• Immunothérapie anti-tumorale</li> </ul>

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### → CARACTERISTIQUES :

- Ils stimulent toute la réactivité immunitaire, d'une façon non spécifique et transitoire, par activation des cellules immunitaires (l'activation touche un ou plusieurs types cellulaires).
- Quand ils sont injectés avec un antigène, ils jouent le rôle d'adjuvants (augmenter la réponse spécifique vis-à-vis de cet antigène).

#### → DIFFERENTS TYPES :

- Immunostimulants activant l'immunité innée via les TLRs (ligands des TLRs) :  
Exemples : motifs CpG, MPL, etc.
- Les cytokines:  
Exemples : IL1, IL2, IL12, IFN, GMCSF, etc.
- Toxines bactériennes :  
Exemples : toxine cholérique, toxine thermolabile de E.coli etc.

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

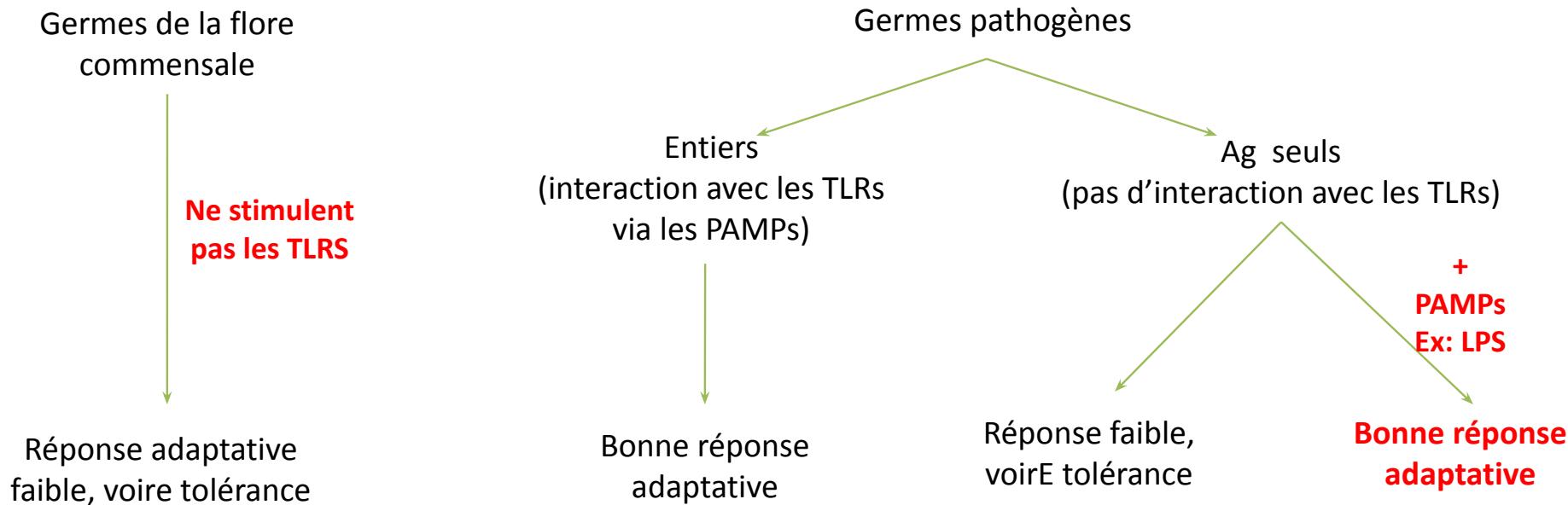
#### a. Les ligands des TLRs :

□ Les TLRs reconnaissent des structures conservées propres aux agents pathogènes (PAMPS).

Cette reconnaissance est suivie :

- D'une activation des CPA;
- Et d'une augmentation de leur fonction de présentation :
  - ↗ des molécules HLAII,
  - ↗ des molécules de costimulation,
  - libération de cytokines (IL1, IL6, IL12 etc.)).

□ Une bonne stimulation de l'immunité innée favorise une importante réponse immunitaire adaptative.



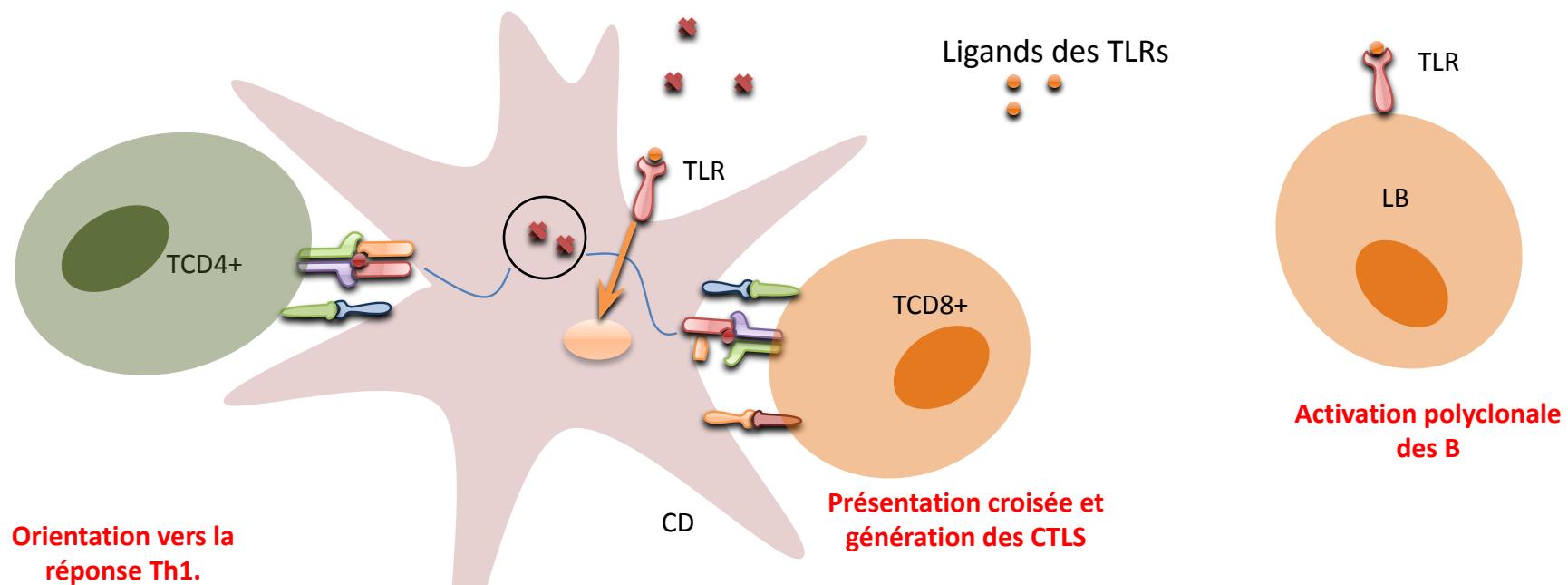
### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### A. Les ligands des TLRs :



Trois caractéristiques importantes :

- Induisent de fortes réponses humorales :
  - Spécifique de l'Ag, quand il est administré avec eux;
  - Non spécifique par activation polyclonale des LB par les TLRs.
- Induisent de fortes réponses cellulaires, par induction du phénomène de présentation croisée dans les CPA (présentation d'Ag exogènes en association avec les molécules HLA).
- Orientent les réponses immunitaires vers un profil Th1, grâce à l'IL12 libéré par les CPA après leur activation. De ce fait, ces substances sont appelées « **immunomodulateurs** »
- Trois classes suscitent beaucoup d'intérêt pour une utilisation chez l'Homme et font l'objet de plusieurs essais cliniques: Ligands du TLR4; Ligands des TLR7,8; Ligands du TLR9.



### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### a. Ligands du TLR4:

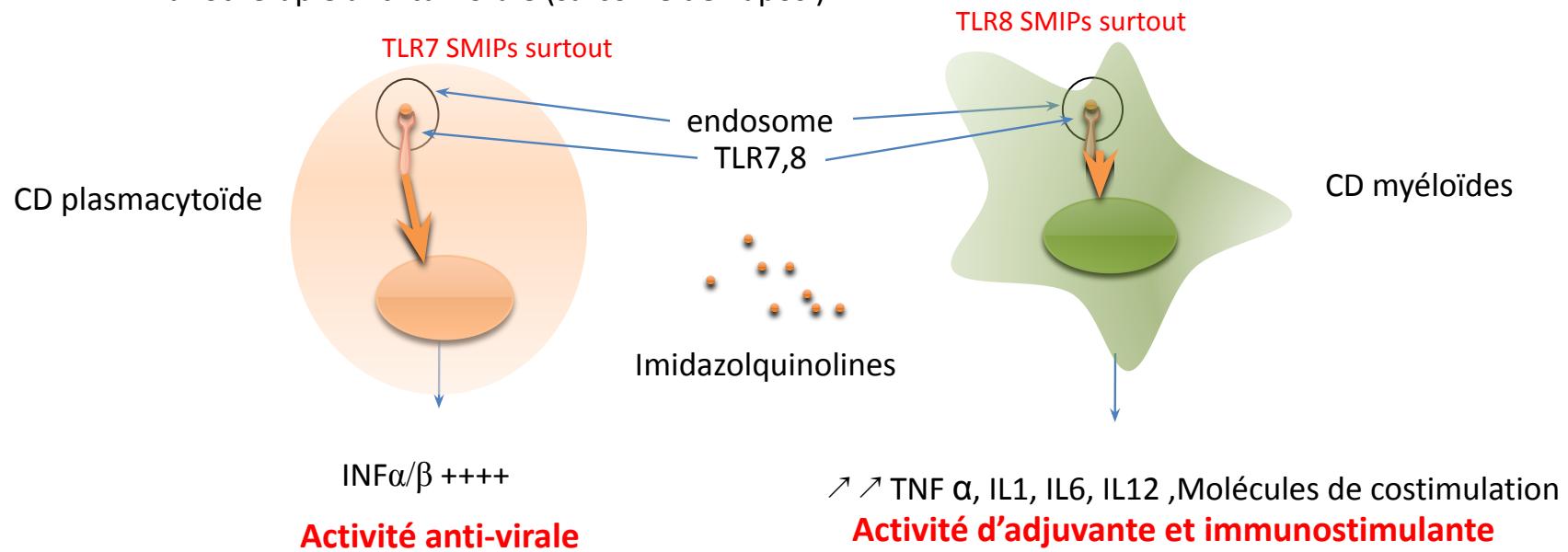
- La découverte du TLR4, a permis d'expliquer l'activité adjuvante de certaines bactéries Gram négatif telle que *Bordetella pertussis* (responsable de la coqueluche et utilisée dans le vaccin Dtoq), E.coli, Salmonella.
- Le ligand naturel du TLR4 est le lipopolysaccharide (LPS) qui ne peut être utilisé comme adjuvant à cause de sa forte toxicité (fièvre, collapsus, coagulation intra vasculaire);
- Des produits dérivant du LPS et surtout du lipide A (fraction active du LPS) sont doués d'un pouvoir adjuvant et immunostimulant via l'interaction avec le TLR4 mais qui beaucoup moins toxiques→ **les Lipide A mimétiques :**
  - Obtenus par modification chimique du lipide A :
    - Déphosphorylation : monophosphoryl lipide A (**MPL**),
    - Enlèvement de chaînes acyles : OM-174.
  - Dérivés de synthèse : aminoalkyl glucosamides phosphates (AGPs): **RC-529**; OM-294, OM-197

TLR4 ligands	Produit/candidat	Maladie	Phase de développement
MPL	Vaccin Fendrix®	Hépatite B	Commercialisé (UE)
RC-529	Vaccin Supervax®	Hépatite B	Commercialisé (argentine)
MPL	Vaccin Cervarix	Papillomavirus (cancer du col utérin)	Phase III
MPL	Vaccin Simplirix	Virus herpes simplex	Phase III
MPL	Vaccin polinex	Allergie au pollen	Phase III
MPL	Vaccin Mosquirix	Malaria	Phase II
MPL	Vaccin PLB25	Cancer du poumon	Phase I
MPL	Vaccin antituberculeux	Tuberculose	Phase I

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### b. Ligands du TLR7,8: SMIP (Small Molecules Immuno-Potentiators)

- Le ligand naturel des TLR 7,8 est l'ARN monocaténaire des virus.
- Des molécules de synthèse de la famille des imidazoquinolines (analogues de l'adénine) (**Imiquimod et Resquimod**) sont capables d'interagir avec le TLR7,8.
- Le TLR7 est exprimé sur les cellules dendritiques plasmacytoides qui synthétisent de grandes quantités d'IFN de type I (IFN $\alpha/\beta$ ).
- L'interaction Imiquimod et surtout Resquimod avec le TLR7, induit une forte synthèse d'IFN de type I → à la base de leur désignation comme agents antiviraux : traitement de certaines infections virales de la peau et des muqueuses (papillomes ano-génitaux et l'herpes génital).
- Ils orientent les réponses immunitaires vers le profil Th1 : utilisés comme immunostimulants en immunothérapie anti-tumorale (sarcome de Kaposi).



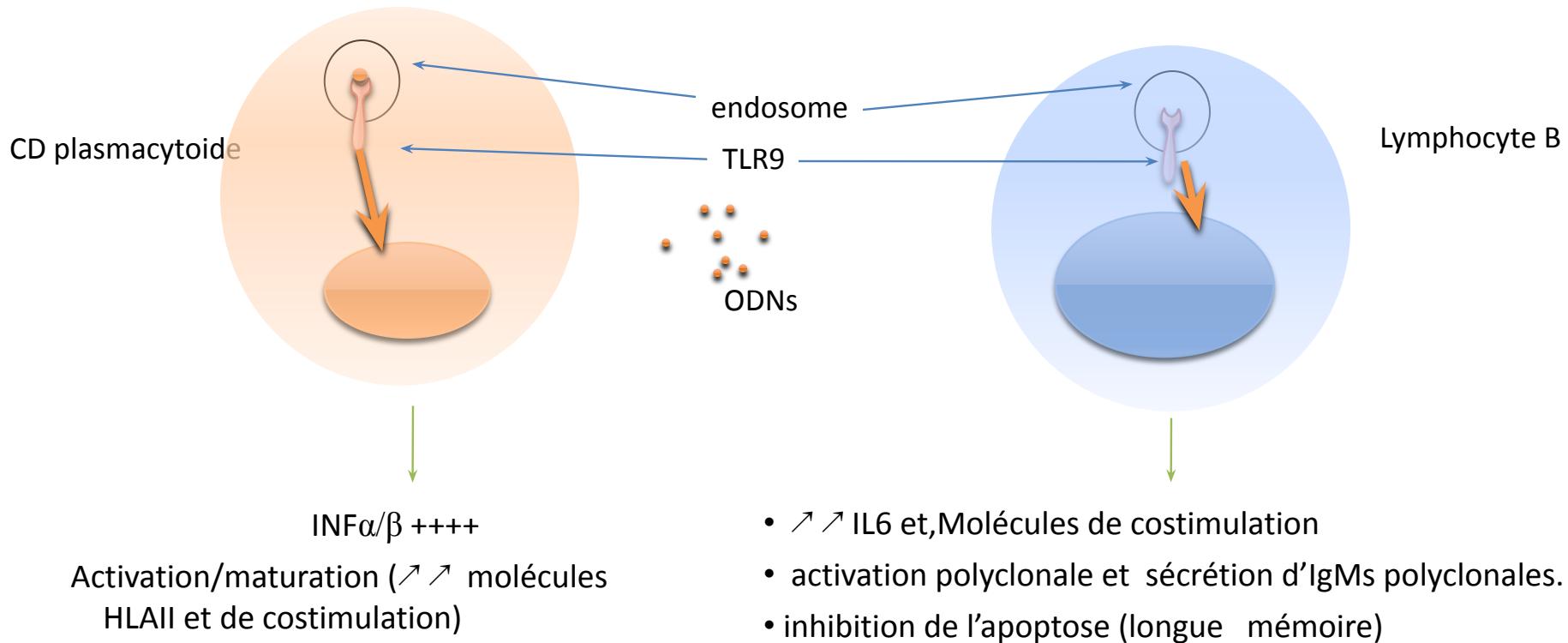
Imiquimod : R837, S-26308, 1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolines  
c]quinolin-1-ethanol)

resiquimod : (R848, S-28463, 4-amino-2-ethoxymethyl- $\alpha,\alpha$ -dimethyl-1*H*-imidazo[4,5-

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### c. Ligands du TLR9 (motifs CpG):

- Le ligand naturel du TLR9 est l'ADN des procaryotes (bactéries/virus), riche en motifs CpG déméthylés qui sont absents dans le génome des eucaryotes.
- Les motifs CpG comportent les dinucléotides CG et un petit nombre de bases de part et d'autre :
  - Le TLR9 de la souris reconnaît des motifs CpG comportant : des dinucléotides CG délimités par deux bases purines en 5', et 2 bases pyrimidines en 3', la meilleure séquence étant : 5'**GACGTT**3'
  - Le TLR9 de l'homme, reconnaît des motifs CpG ayant la séquence optimale : 5' **TCGTT**3' et/ou 5' **TCGTA**3'
- Chez l'Homme, la cellule dendritique plasmacytoides et les lymphocytes B sont les seules cellules qui expriment le TLR9, et comportent de ce fait une cible des ODNs de synthèse :



### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### c. Ligands du TLR9 (motifs CpG):

Des oligodéoxynucléotides de synthèse (**ODNs**) contenant les motifs CpG peuvent activer les cellules immunitaires via TLR9. De ce fait, ils sont utilisés comme immunostimulants → 3 classes :

##### □ ODNs de type K (appelés CpG-B) :

- Séquence → **TCCATGGACGTTCCTGAGCGTT**.
- Ils induisent :
  - Sur les lymphocytes B : prolifération et synthèse d'IgM polyclonales, d'IL6 et augmentation des molécules de costimulation.
  - Sur les CDp : activation et maturation, augmentation des molécules de co-stimulation, et synthèse de cytokines (TNFα; IL12 mais pas d'IFNα).

##### □ ODNs de type D (appelés CpG-A) :

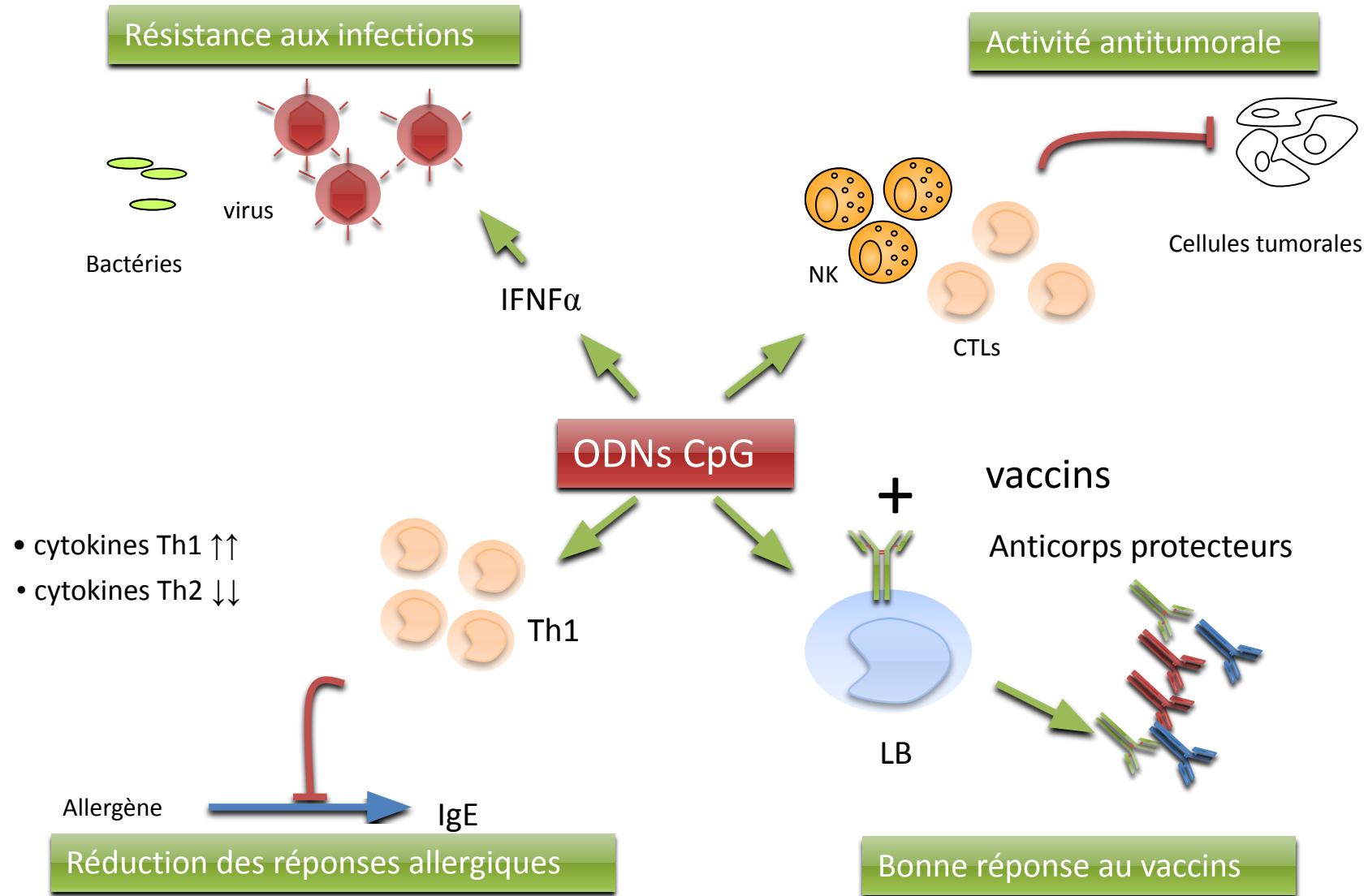
- Séquence : **GGTGCATCGATGCAGGGGGG**.
- Ils induisent :
  - Une grande synthèse d'IFNα/β par les cellules dendritiques plasmacytoides.
  - Pas d'effet sur les lymphocytes B.

##### □ ODNs de type C :

- Séquence : **TCGTCGTTCGAACGACGTTGAT**.
- Associent les propriétés des deux classes d'ODNs (type K et type D).

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### c. Ligands du TLR9 (motifs CpG):



### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### c. Ligands du TLR9 (motifs CpG):

Les ODNs font l'objet d'un nombre d'essais cliniques pour évaluer leur efficacité et innocuité, dans :

- Vaccins contre l'hépatite B, HSV.
- Vaccins contre la tuberculose.
- Vaccins contre le paludisme et la leishmaniose.
- Vaccins anti-tumoraux : dans les mélanomes par exemple
- En allergologie, comme thérapeutique utilisant des vaccins dans l'allergie au latex par exemple.

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### B. Les cytokines:

##### → UTILISATION :

De très nombreuses cytokines, dont une grande partie est disponible commercialement sous forme recombinante, ont été expérimentées en tant qu'adjuvants :

- **Les interférons de type I** et surtout l'IFN $\alpha$ , activent les cellules dendritiques et leurs permettent d'activer à leur tour les lymphocytes T, ils induisent à la fois des réponses de type CTL et des réponses humorales. Ils constituent des adjuvants potentiellement efficaces dans la résistance aux infections virales.
- **Le GMCSF** active les cellules dendritiques et induit des réponses cellulaires : des CTL dirigés contre des peptides isolés de mélanomes ont été générés après leur administration en association avec le GMCSF.
- **L'IL2** active les lymphocytes T, les cellules NK, et les pré-CTL pour devenir des CTL.
- **L'IL12** : utilisé dans certains cancers et maladies infectieuses (de préférence en administration locale: toxicité systémique).

→ Les résultats les plus prometteurs sont obtenus avec des mélanges de cytokines tels GMCSF/IL12/IFN $\alpha$  utilisé dans le cadre de la vaccination anti-HIV et anti-tumorale.

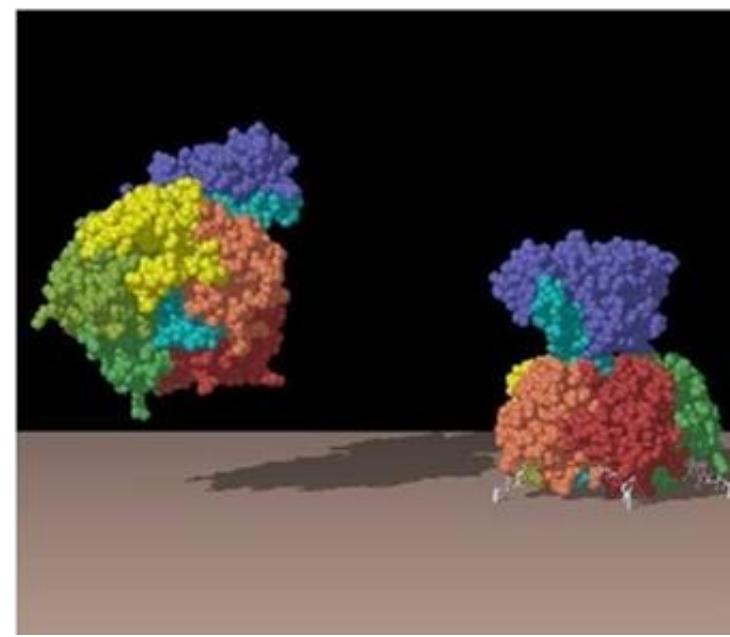
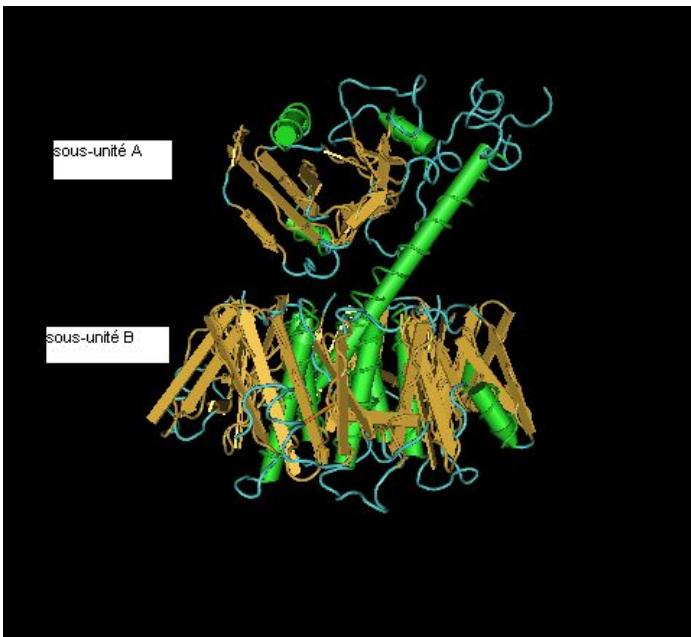
##### INCONVÉNIENTS :

- Certaines cytokines immunostimulantes ont des effets immunsupresseurs selon la dose utilisée et l'antigène employé.
- Petite fenêtre de la dose efficace.
- Toxicité : l'IL2 et l'IL12 peuvent avoir des effets secondaires dangereux sur la fonction circulatoire.
- Demie vie courte : inactivation par des inhibiteurs sériques.
- Coût cher de la production.

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### C. Les toxines bactériennes :

- L'entérotoxine thermolabile de *E.coli* et la toxine cholérique de *Vibrio Cholerae* sont connues pour être de puissants inducteurs des réponses immunitaires aux niveau des muqueuses.
- Ces toxines sont constituées:
  - D'une sous unité A qui provoque l'ADP (Adenosine 5'diphosphate) ribosylation après translocation intracellulaire, cette activité enzymatique est responsable de l'accumulation intracellulaires de l'AMPc (cyclique) et l'activation cellulaire.
  - D'une sous unité B pentamérique qui se lie avec une très grande avidité au ganglioside GM1 de surface des cellules épithéliales.



### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### C. Les toxines bactériennes :

□ Sous leur forme native, ces toxines sont très toxiques. Des mutants avec activité adjuvante et sans toxicité ont été générés par mutagénèse :

- **LTK63 (labile toxin K(lysine) 63)** : substitution d'une sérine en position 63 de la sous unité A par une lysine. Cette substitution rend l'enzyme inactive.
- **LTR72 (labil toxin R (arginine) 72)**: substitution d'une alanine par une arginine à la position 72 de la sous unité A. cette substitution conserve environ 0,6% de l'activité enzymatique.
- L'addition d'un petit peptide à la partie N terminale de la sous unité A de la toxine cholérique, inhibe son activité enzymatique par encombrement stérique.
- D'autres moyens sont utilisés : remplacement de la sous unité B par la protéine A de *S.aureus*.

□ Administré avec un antigène (le plus souvent une ligation est nécessaire), ces toxines induisent :

- De fortes réponses en IgA sécrétoires et d'IgG sériques,
- Des réponses CTL contre l'antigène administré avec eux.

□ Le mécanisme d'action n'est pas encore connu Néanmoins, il ne semble pas dépendre de l'activité enzymatique de la sous unité A.

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### Adjuvants de la voie muqueuse :

Les muqueuses sont les voies d'entrée de la plupart des agents infectieux



L'idéal : induire et générer des effecteurs au niveau de ce site (vaccination via le tissu muqueux)

Mais !!!!!!

La voie orale est tolérogénique :  
(dégradation des antigènes,  
présence de Treg etc.)



Nécessité d'adjuvants pour :

- Rompre la tolérogénicité de la voie;
- Générer des effecteurs adéquats (CTLs, IgAs etc)

#### Adjuvants de la voie muqueuse



##### Immunostimulant :

- Motifs CpG
- LTK63, LTR72
- Imiquimod, resquimod



##### Véhicule :

- Microparticules PLGs
- Liposomes, Virosomes et archéosomes
- ISCOMs



##### Bioadhésifs et lectines :

- Chitosan (polysaccharide )
- carbopol
- Acide hyaluronic et polyacrylic
- carboxymethyl cellulose et hydroxypropyl cellulose

Rompre la tolérogénicité

Rprotection de l'antigène et l'immunostimulant

Adhésion à la muqueuse

### 3. Les immunostimulants ou immunopotentiateurs

#### Innocuité et effets indésirables :

□ Effets indésirables locaux : liés principalement à la voie d'administration (sous-cutanée Vs IM)

- Douleur au point de l'injection
- Abcès, nécrose et réactions d'hypersensibilité retardée (persistance de l'antigène ou l'adjuvant au niveau de site d'injection).

□ Effets systémiques :

- Fièvre.
- Phénomène d'Arthus (en cas de développement des Ac anti-adjuvant ex squalène)
- Atteinte de la fonction circulatoire (cytokines surtout)
- Syndrome pseudo grippale
- Maladies autoimmunes.

Le risque augmente si l'adjuvant est hydrosoluble ou de petite taille (diffusion dans tout l'organisme)



L'utilisation des véhicules limite les effets indésirables en ciblant directement les cellules cible et limitant la diffusion dans l'organisme.



## VI. Les immunosuppresseurs

## 1. Généralités

- Les immunosuppresseurs sont des substances déprimant les réponses immunitaires et qui sont utilisés notamment dans :
  - Le traitement des maladies auto-immunes.
  - La prévention et le traitement du rejets d'allogreffe.
- Les premiers médicaments immunosuppresseurs étaient des antimitotiques et des corticoides.
- La découverte fortuite des propriétés immunosuppressives de la Cyclosporine (CsA) par J.F.Borel, a conduit à la découvertes d'autres molécules immunosuppressives à action sélective :
  - FK506;
  - Rapamycine (RPM);
  - L'acide mycophénolique (MPA);
- Les anticorps anti-lymphocytes, les immunotoxines, certains anticorps et des molécules de fusion bloquant certaines interactions cellulaires (CTLA4-Ig) sont venus diversifier la panoplie des traitements immunosuppresseurs.

## 2. Cellules cibles

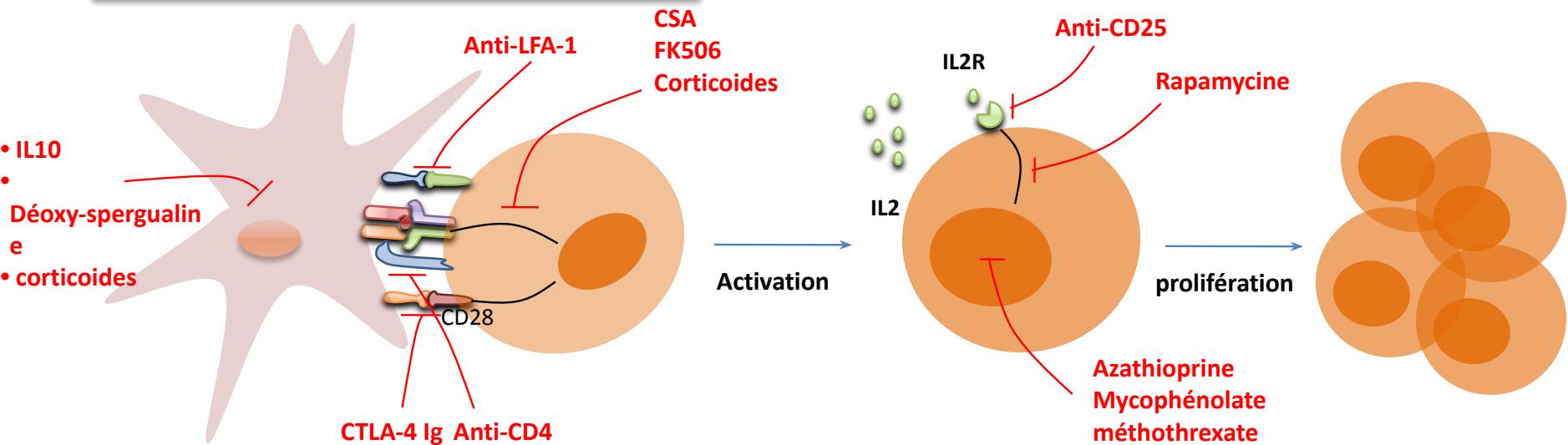
→ cellules cibles

	Lymphocytes T CD4+	Lymphocytes T CD8+	Lymphocytes B	Monocytes /macrophages
Azathioprine	++	-	±	-
Cyclophosphamide	+	-	++	-
Cyclosporine	+++	±	-	-
FK506	+++	±	-	-
Rapamycine	+++	++	+	+
Corticoides	+	+	+	+
Ac anti-lymphocytaires	+++	+++	+	-

**Les Lymphocytes T CD4+ (cellules pivots dans la réponse immunitaires) sont les principales cibles des immunosuppresseurs.**

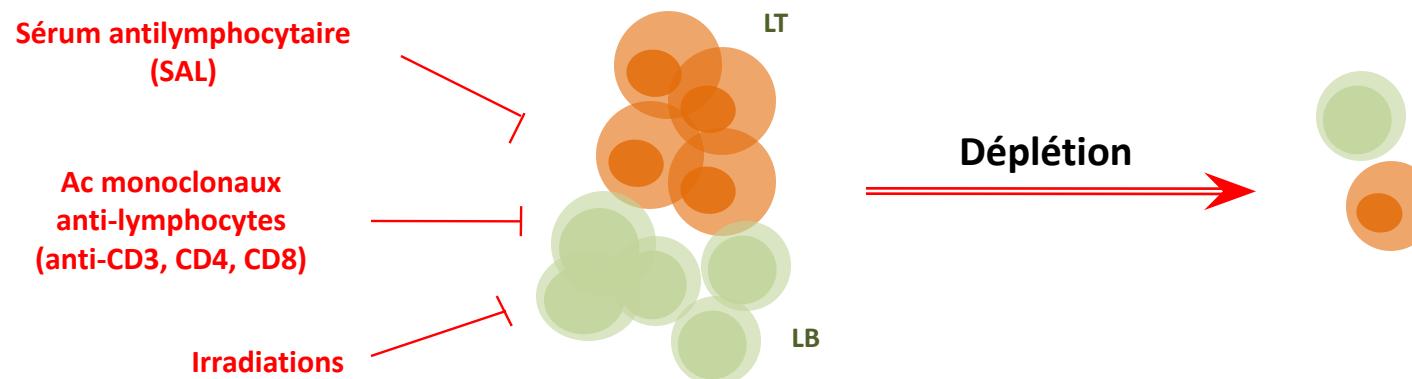
### 3. Mécanismes d'action

#### A- Mécanisme d'action spécifique



Cibles : lymphocytes en phase d'activation / prolifération (NB : les lymphocytes naïfs et mémoires ne sont pas touchés)

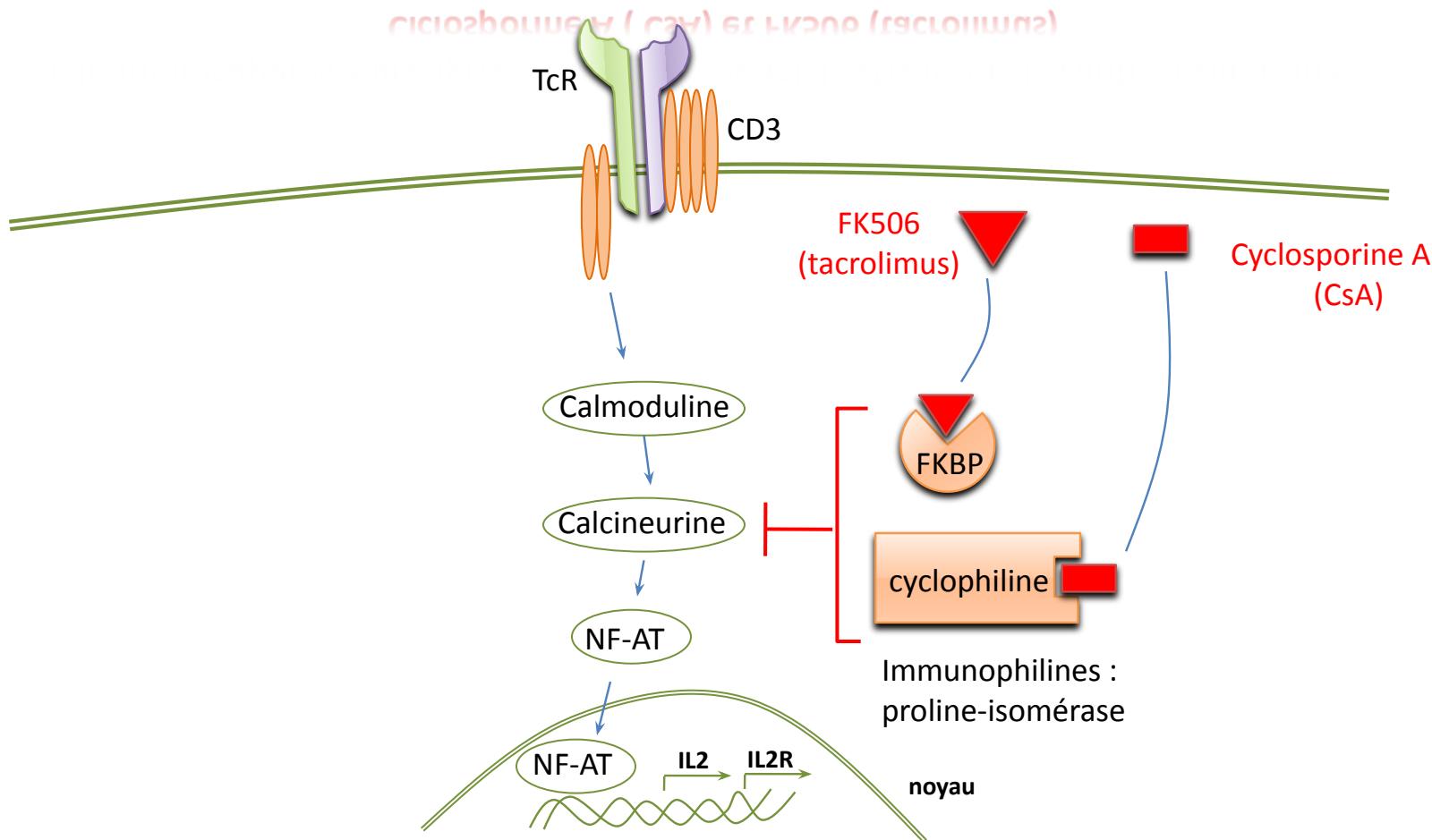
#### B- Mécanisme d'action non spécifique



Cibles : tous les lymphocytes (naïfs, activés, effecteurs et mémoires)

## 4. Immunosupresseurs à action spécifique

### a. Immunosupresseurs agissant sur le 1<sup>er</sup> signal d'activation : les anti-calcineurine. Ciclosporine A (CsA) et FK506 (tacrolimus)



La ciclosporine A (CsA) et le FK506 ou tacrolimus se fixent à des protéines cytoplasmiques de la famille des immunophilines ,la cyclophiline (Cyp) pour la CsA et le FKBP pour le FK506. Les complexes CSA-Cyp et FK506-FKBP lient la calcineurine et inhibent son activité phosphatasique sur le NF- AT, bloquant ainsi les promoteurs de la transcription du gène de l'IL-2 et de son récepteur .

## 4. Immunosuppresseurs à action spécifique

### a. Immunosuppresseurs agissant sur le 1<sup>er</sup> signal d'activation : les anti-calcineurine. Ciclosporine A (CsA) et FK506 (tacrolimus)

(Cyclosporine A / CsA) et (FK506 / tacrolimus)

#### □ Cyclosporine A (Sandimmun®, Néoral®)

Cyclosporine est le nom générique d'une famille de peptides cycliques hydrophobes d'origine fongique, dont le prototype est la cyclosporine A (Sandimmun®, Néoral®).

Son action est :

- Sélective sur les lymphocytes T CD4+ activés (n'affecte pas les lymphocytes mémoires)
- Synergique avec les corticoïdes.
- Totalement et rapidement réversible à l'arrêt du traitement.

Effets secondaires : néphrotoxicité, lésions artériolaires, HTA.

#### □ FK506 (tacrolimus, prograf®)

FK506 est un macrolide fongique dont les propriétés et le mécanisme d'action sont proches de la cyclosporine A, mais qui agit à des doses beaucoup plus faibles.

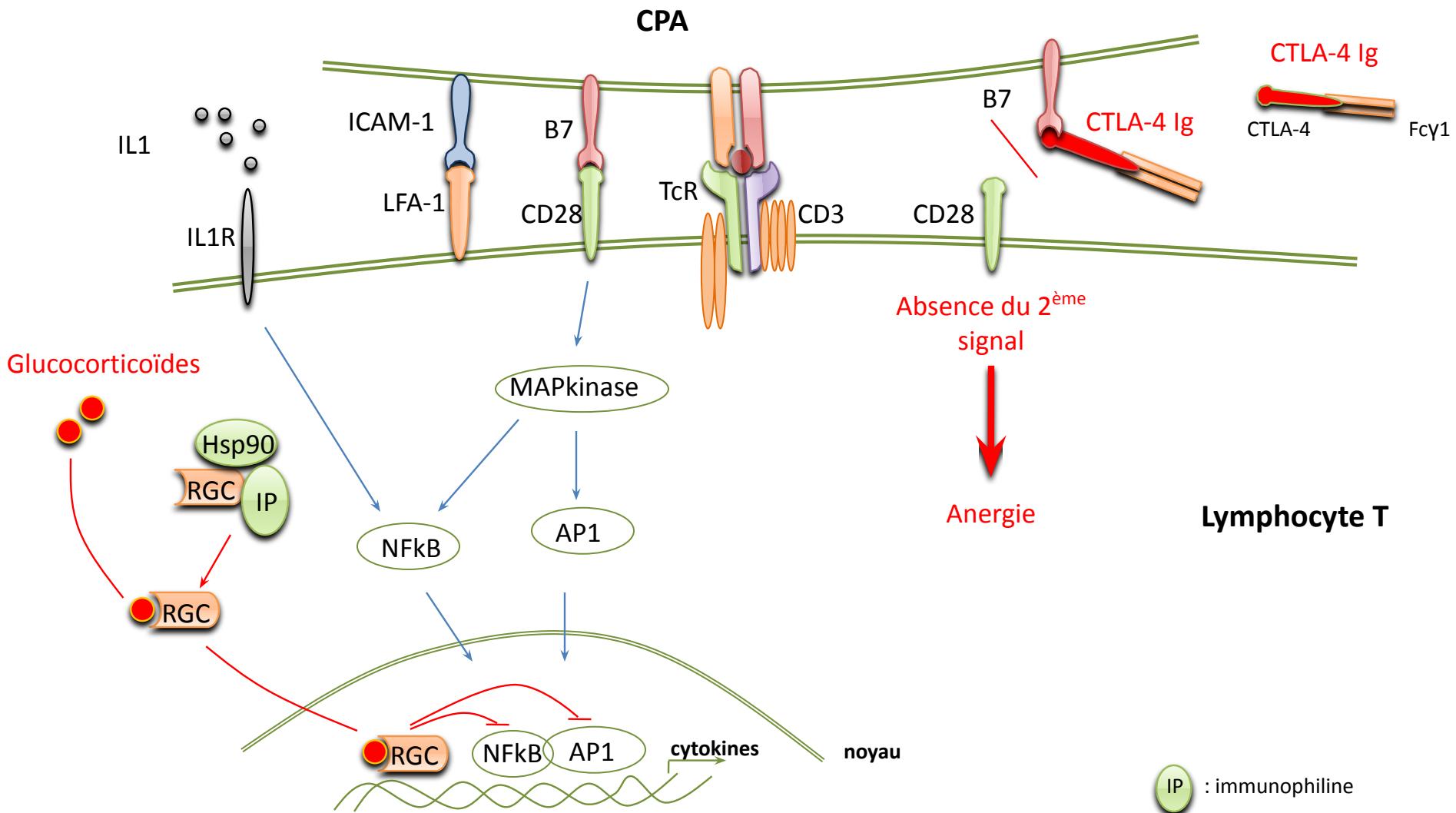
Action sélective sur les lymphocytes T CD4+ activés.

Effets secondaires : insuffisance rénale, diabète.

## 4. Immunosupresseurs à action spécifique

### b. Immunosupresseurs agissant sur le 2<sup>ème</sup> signal d'activation (signal de costimulation) : CTLA-4 Ig et glucocorticoïdes.

La résultante de ce 2<sup>ème</sup> signal est la fixation des facteurs de transcription AP1 et NF-KB sur les promoteurs des gènes des cytokines :



## 4. Immunosuppresseurs à action spécifique

### b. Immunosuppresseurs agissant sur le 2<sup>ème</sup> signal d'activation (signal de costimulation) : CTLA-4 Ig et glucocorticoïdes.

CTLA-4 Ig et Glucocorticoïdes

#### □ Molécules hybrides CTLA-4 Ig:

- Obtenues en associant les exons CH1, CH2, et CH3 d'une chaîne γ1 des IgG humaines avec les exons codant pour la région extracellulaire de la molécule CTLA-4. Les chaînes γ1 se dimérisent spontanément, formant une molécule bivalente de forte avidité.
- L'augmentation du PM par l'ajout de chaînes γ1 empêche le catabolisme rénal par filtration glomérulaire → ½ vie plus longue.
- Agissent en empêchant par compétition l'interaction de CD28 avec ses ligands CD80/86.
- L'absence du 2<sup>ème</sup> signal via la molécule CD28 entraîne un état d'anergie des lymphocytes T activés .

#### □ Les glucocorticoïdes (GC) (Prédnisone, Méthylprédnisolone):

- Immunosuppresseurs exerçant la majorité de leurs effets par le biais de leur récepteur intracellulaire (GCR). Dans les lymphocytes T, le complexe GC-GCR est un facteur de transcription qui, après translocation dans le noyau, module de façon négative la transcription de gènes de cytokines (IL2) par compétition avec les facteurs de transcription AP-1 et NFkB.
- Les thymocytes et lymphocytes T activés sont détruits par GC par apoptose.
- **L'action des GC n'est pas sélective sur les lymphocytes T.** Les GC exercent un effet très puissant sur les macrophages/ cellules dendritiques et PNN en inhibant la voie NFkB, voie importante dans leur activation :
  - En inhibant la synthèse de l'IL1, l'IL6 et à un degré moindre, le TNFα.
  - En déprimant la production de prostaglandines et leucotriènes par inhibition de l'activité phospholipase A2.
  - En inhibant les protéases et la NO synthase.
  - En agissant sur les cellules endothéliales et en inhibant la perméabilité vasculaire des leucocytes (inhibition d'expression des molécules d'adhésion).

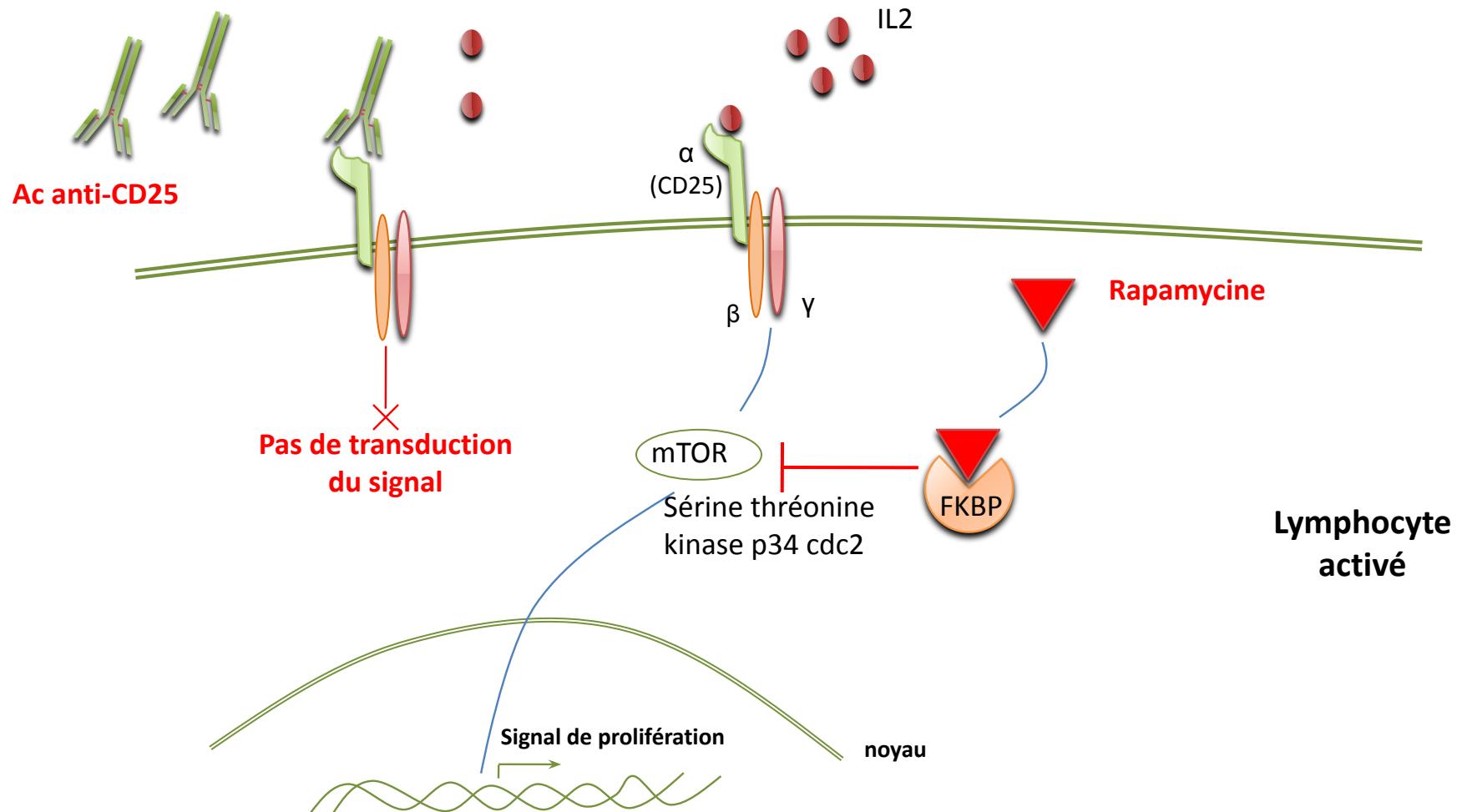
Ces actions sont à l'origine de l'activité anti-inflammatoire des GC.

## 4. Immunosupresseurs à action spécifique

### C. Immunosupresseurs agissant sur le 3<sup>ème</sup> signal d'activation (signal de prolifération) : Anticorps anti-CD25 et Rapamycine.

Anticorps anti-CD25 et Rapamycine

Ce signal est induit par la fixation paracrine et autocrine de l'IL2 sur son récepteur de haute affinité. Les cellules passent de la phase G1 du cycle cellulaire à la phase S et vont pouvoir proliférer.



mTOR : mammalian target of Rapamycine (serine thréonine kinase P34 cdc2)

## 4. Immunosuppresseurs à action spécifique

### C. Immunosuppresseurs agissant sur le 3<sup>ème</sup> signal d'activation (signal de prolifération) : Anticorps anti-CD25 et Rapamycine.

Антикоагулянт и рапамycin.

#### □ Anticorps anti-CD25 :

- Mab chimériques (Simulect®) ou humanisés (Zenapax®) agissant comme antagonistes compétitifs en bloquant la liaison de l'IL2 à son récepteur.
- Ne provoquent pas la lyse des lymphocytes activés (la densité de la molécule CD25 sur les lymphocytes activés n'est pas suffisante pour permettre la liaison de C1q).
- Ont un effet additif avec les inhibiteurs de la calcineurine.

#### □ Rapamycine (Rapamycine®, Sirolimus) :

- Macrolide fongique, qui se lie au même récepteur FKBP que la FK506, mais dont les effets sont différents.
- Le complexe Rapamycine/FKBP n'inhibe pas la calcineurine mais une autre protéine kinase qui est mTOR (mamalian target of Rapamycine). De ce fait, la Rapamycine n'inhibe pas l'expression des gènes des cytokines (IL2), mais empêche l'expansion clonale des lymphocytes activés par l'Ag.

## 4. Immunosuppresseurs à action spécifique

### d. Immunosuppresseurs agissant sur les cellules en division

Ils comprennent les agents alkylants et inhibiteurs des purines et des pyrimidines. Ces produits ont un mécanisme d'action non spécifique qui s'exerce envers toutes les cellules en division dans l'organisme, d'où le risque de toxicité médullaire par interférence sur l'hématopoïèse.

#### □ Les agents alkylants :

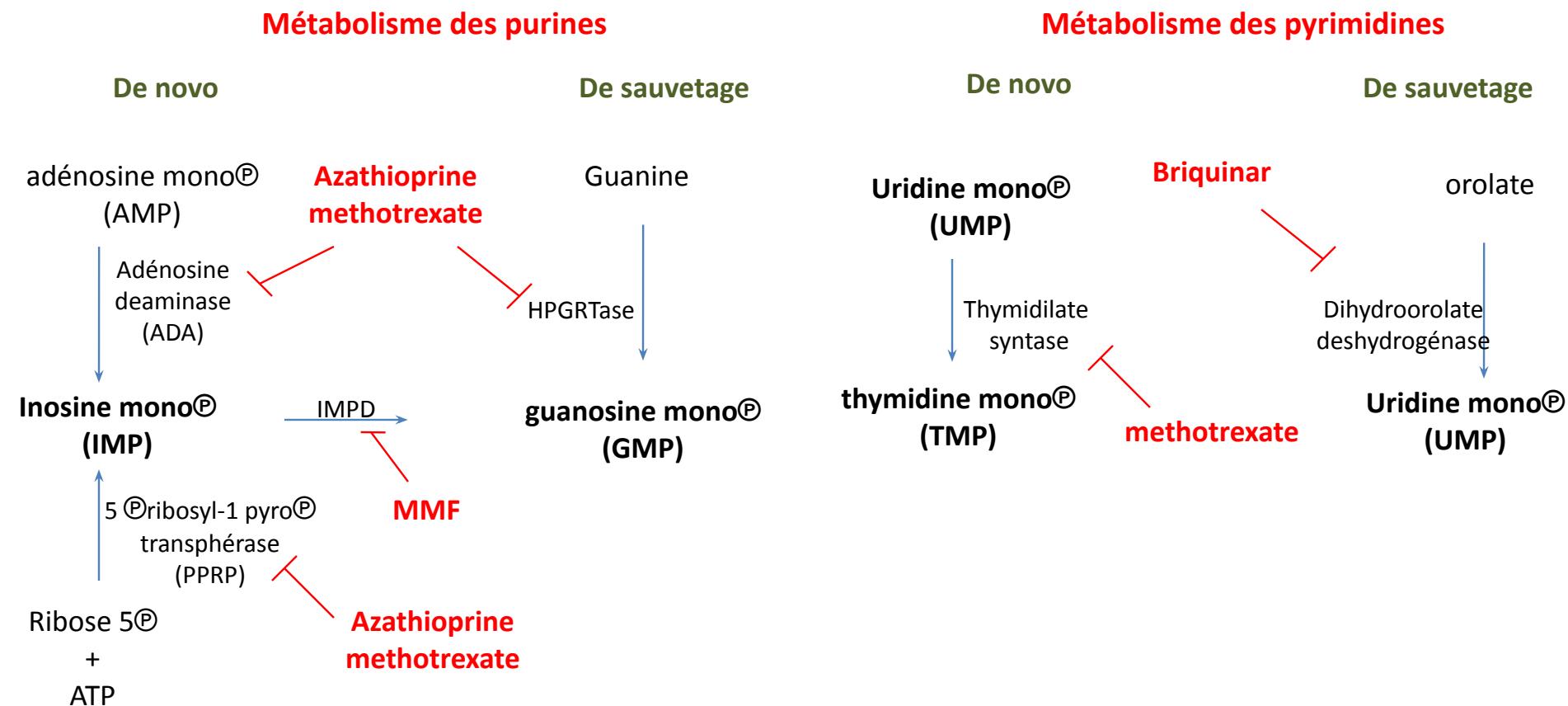
- Agissent en substituant des groupements chimiques au niveau des acides nucléiques et protéines.
- Semblent exercer leur action par la destruction des cellules prolifératives, en particulier à forte dose.
- Sur les cellules immunitaires, leur action s'exerce sur:
  - Les Lymphocytes B principalement (suppression de la production d'anticorps),
  - Les lymphocytes T CD8+ à faible dose,
  - Les lymphocytes T CD4+ à forte dose.
- Cyclophosphamide (Endoxan®) :
  - Un des puissants immunosuppresseurs chimiques actuellement connus.
  - Action spectaculaire sur l'immunité humorale → supprime la production des anticorps et induit la tolérance vis-à-vis de plusieurs antigènes.
  - Sa toxicité limite son utilisation : aplasie médullaire, cystite hémorragique, alopecie et stérilité.
- Chlorambucil :
  - Même mécanisme d'action que le cyclophosphamide.
  - Aux doses utilisées chez l'homme, il est beaucoup moins toxique, mais a une activité thérapeutique moindre.

## 4. Immunosuppresseurs à action spécifique

### d. Immunosuppresseurs agissant sur les cellules en division

#### □ Inhibiteurs des purines et pyrimidines :

- Bloquent la division cellulaire, sans entraîner une destruction des cellules.
- Interfèrent avec les voies du métabolisme des purines et pyrimidines qui fait intervenir deux voies :
  - Une voie de novo prédominante dans les lymphocytes.
  - Une voie dite d'épargne (de sauvetage : 'salvage pathway').



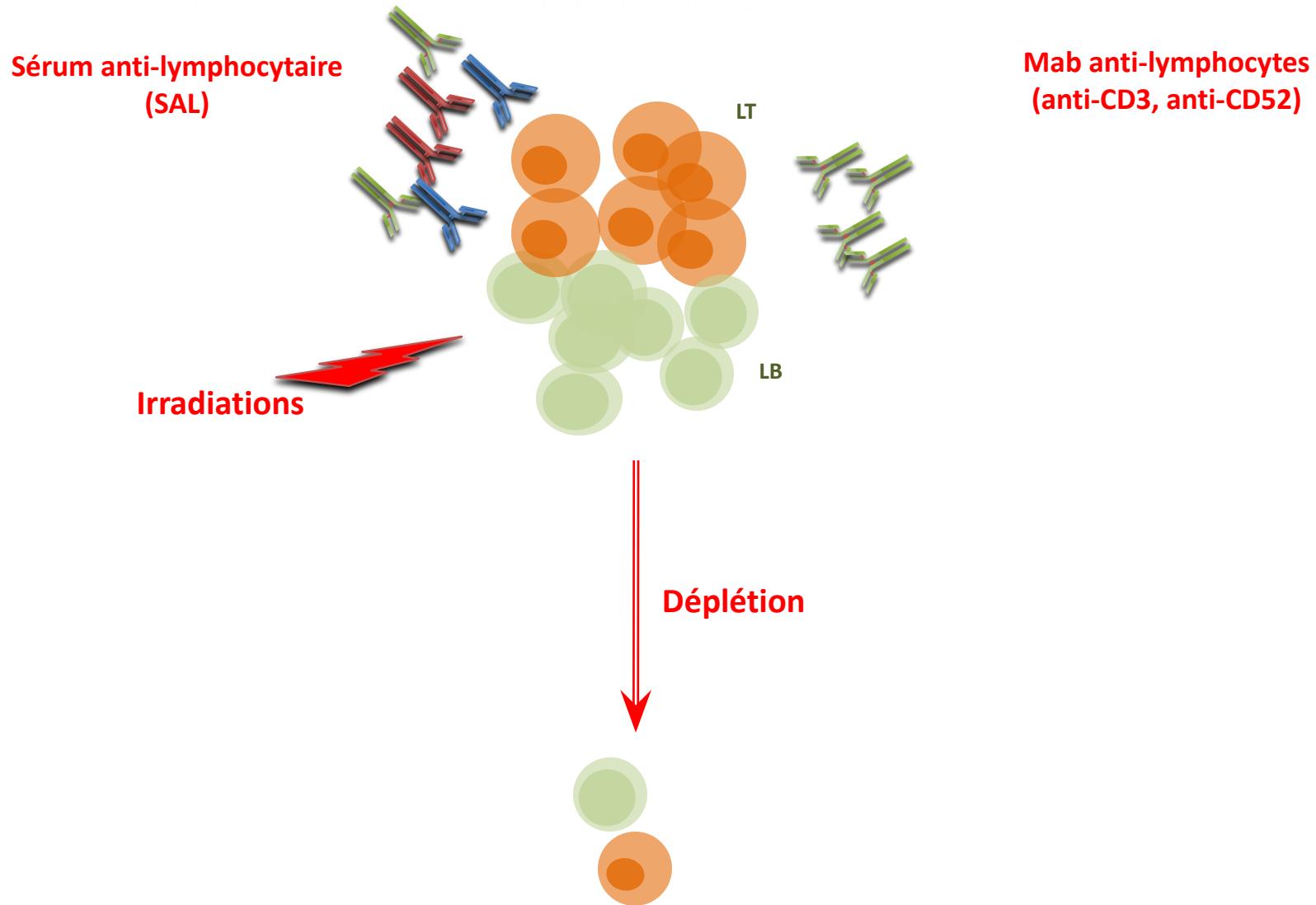
## 4. Immunosuppresseurs à action spécifique

### d. Immunosuppresseurs agissant sur les cellules en division

#### □ Inhibiteurs des purines et pyrimidines :

- Méthotrexate (Méthotrexate®) :
  - Bloque la synthèse de novo des purines et pyrimidines.
  - A forte dose, les risques d'une toxicité hématopoïétique et digestive sont élevés.
  - A long terme, le méthotrexate peut entraîner une déletion des clones T activés par l'antigène au moment de son administration.
- Azathioprine (Imurel®) :
  - Est un analogue de l'hypoxanthine, dérivée de la 6-mercaptopurine.
  - L'activité immunosuppressive est due à ses métabolites (surtout la 6- mercaptourine).
  - La thiourée dérivée du métabolisme de l'Azathioprine est néphrotoxique.
  - Agit principalement sur les lymphocytes T CD4+, CD8+ et les cellules NK.
  - Ses effets sur la production d'Ac sont moins nets.
  - Son action est rapidement réversible (les lymphocytes sont plus inactivés qu'éliminés).
- Mycophénolate Mofetyl (cell-cept®) :
  - L'acide mycophénolique, métabolite actif du mycophénolate mofétyl (MMF), inhibe de façon réversible l'IMP déshydrogénase (IMPD) et donc la synthèse d'ADN.
  - La spécificité relative du MMF sur les lymphocytes est liée à l'absence de synthèse de novo du GMP, comme elle existe dans les autres cellules à prolifération rapide.
  - Sa toxicité est minime (pas de néphrotoxicité ni d'hépatotoxicité ; toxicité médullaire minime).
- Bréquinar :
  - Inhibiteur de la dihydroorotate deshydrogénase → inhibition du métabolisme des pyrimidines dans les lymphocytes.
  - Ces activités immunsuppressives concernent la prolifération B et T.

## 5. Immunosupresseurs à action non spécifique



Cibles : tous les lymphocytes (naïfs, activés, effecteurs et mémoires)

## 5. Immunosuppresseurs à action non spécifique

### □ Sérum anti-lymphocytes (SAL) : Lymphoglobuline®, Thymoglobuline®, ATGAM®, Fresenius®:

- Préparés par hyper-immunisation d'animaux (chevaux, lapins) de préparations purifiées de lymphocytes humains de préférence des thymocytes ou des lymphocytes du canal thoracique.
- Entrainent une lymphopénie dès les premières perfusions avec souvent disparition des lymphocytes T.
- La production d'anticorps contre les protéines hétérologues peut aboutir à une maladie sérique chez 10 à 15% des sujets traités, imposant l'arrêt du traitement par SAL et sa substitution par les Mab anti-lymphocytaires.

### □ Mab anti-lymphocytes

- anti-CD3 (ex : Muromonab)
- anti-CD20 (ex : Rituximab)
- anti-CD52 (Alemtuzumab)

- Dirigés contre la majorité, voire la quasi-totalité des cellules T ou B du sang périphérique.
- Leur mode d'action est complexe et varie d'un anticorps à l'autre :
  - Lympholyse complément dépendante.
  - Opsonisation des lymphocytes.
  - Inhibition fonctionnelle par blocage stérique.
  - Modulation antigénique (redistribution puis internalisation du complexe anticorps/récepteur cible).
- Une réaction sérique peut être observée si le Mab est chimérique ainsi qu'une inefficacité par le développement des anticorps anti-idiotypes, dirigés contre le Mab chez le sujet traité.

### □ Irradiation :

- Entraîne une immunosuppression profonde. Demeure cependant une méthode de manipulation délicate (risque d'hypoplasie).
- L'irradiation locale d'une chaîne ganglionnaire, entraîne si elle est répétée, une lymphopénie durable et un déficit de l'immunité cellulaire du fait de la circulation des lymphocytes.

## 6. Indications des Immunosuppresseurs

La connaissance des principaux sites d'action des immunosuppresseurs permet d'orienter le choix des associations thérapeutiques selon l'indication en privilégiant des combinaisons de médicaments ayant des points d'impact différents.

### □ Maladies auto-immunes :

- LED : corticothérapie à forte dose, associée à l'azathioprine ou, en cas d'échec, au cyclophosphamide.
- PR : corticothérapie, ou le méthotrexate dans les formes sévères.
- Psoriasis, uvéites : cyclosporines à faibles doses.

### □ Prévention et traitement du rejet d'une greffe allogénique :

- Prévention du rejet : association de corticoides, inhibiteurs de calcineurine (cyclosporine A et FK506) et des Mab anti-CD25.
- En cas de crise de rejet : le traitement comporte, en plus du précédent, l'augmentation de la dose des corticoïdes et l'utilisation d'un SAL ou d'un Mab anti-CD3.

### Remarque :

L'immunosuppression chronique entraîne des risques :

- Infections opportunistes et plus particulièrement virales (HSV, EBV, HBV, HCV).
- Cancers : lymphomes, hépato-carcinomes, maladie de Kaposi, cancer du col utérin.
- Aplasies médullaires avec certains immunosuppresseurs (anti-prolifératifs).



## VII. Thérapeutiques ciblant les cytokines

## 1. Généralités

---

- Les cytokines sont des molécules de communication intercellulaire qui régulent les réponses immunitaires.
- Elles peuvent jouer :
  - Soit un rôle extrêmement bénéfique au cours de la mise en place de la réponse immunitaire dans la lutte contre les agents infectieux et dans l'immunité anti-tumorale.
  - Soit un rôle néfaste dans la mesure où elles peuvent contribuer à des pathologies inflammatoires.
- En thérapeutique, on est amené à utiliser :
  - Soit à rechercher l'effet de la cytokine,
  - Soit à la contrecarrer par le biais d'antagonistes. sont de trois types :
    - Des Mab anti-cytokines
    - Leurs récepteurs solubles
    - Les antagonistes de récepteurs.

## 2. Utilisation des cytokines

Les cytokines les plus utilisées sont :

### □ L'interféron $\beta$ :

Cytokine la plus utilisée dans la SEP, maladie inflammatoire démyélinisante du SNC :

- Exerçant une activité anti-inflammatoire
- Provoquant une diminution des taux d'IL12 et d'IFN  $\gamma$
- Diminuant l'expression des molécules HLA de classe II,
- Augmentant le taux d'IL10.

### □ Le GM CSF :

Excellent facteur de croissance utilisé pour diminuer la période de neutropénie consécutive à la chimiothérapie

### □ L'IL2 :

Cytokine trouvant toute son indication dans les déficits immunitaire et en cancérologie à cause de ses propriétés immunostimulantes.

### □ L'interféron $\alpha$ :

Puissant anti-viral utilisé dans les hépatites virales.

### 3. Les inhibiteurs des cytokines

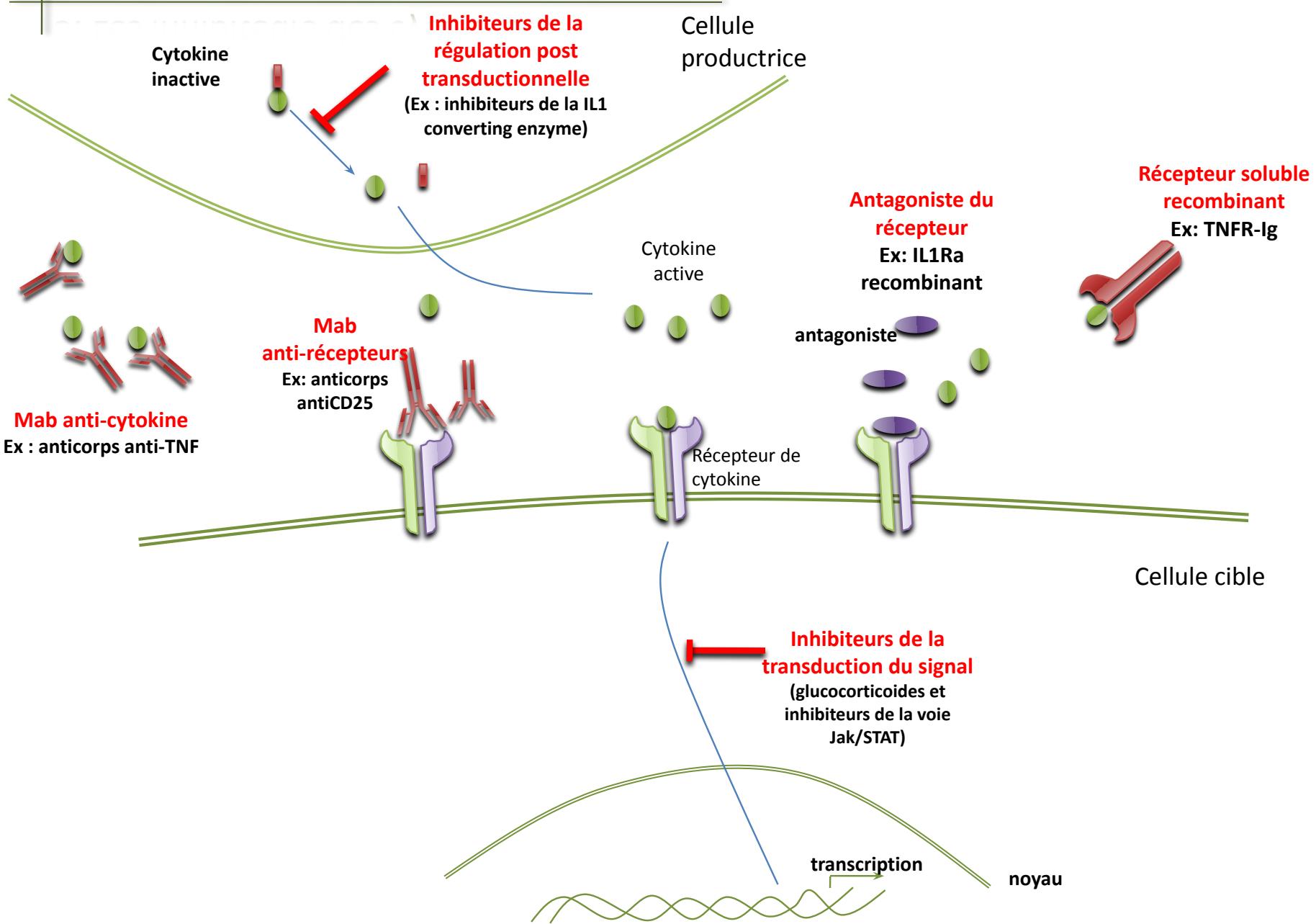
□ L'inhibition des cytokines se fait par manipulation du réseau des cytokines qui peut se faire en utilisant :

- Des Mab anti-cytokines;
- Des Mab anti-récepteurs de cytokines;
- Des Récepteurs recombinants solubles;
- Des antagonistes des récepteurs (naturels ou synthétiques);
- Des molécules susceptibles de contrôler la signalisation induite par les récepteurs de cytokines;
- Des molécules intervenant au niveau de la régulation post-transcriptionnelle de certaines cytokines (protéolyse nécessaire à la production de la forme mature de la cytokine).

□ Les antagonistes.les plus utilisés sont :

- Les Mab anti-cytokines
- Les récepteurs solubles
- Les antagonistes de récepteurs.

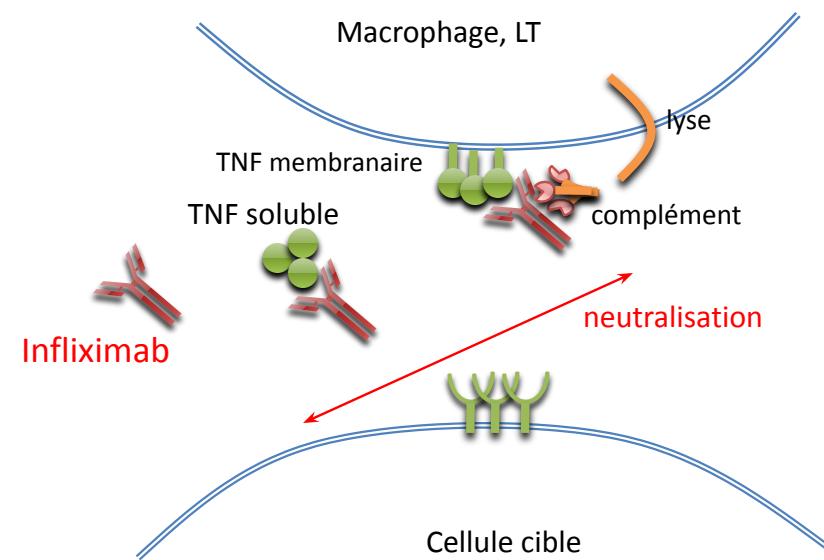
### 3. Les inhibiteurs des cytokines



### 3. Les inhibiteurs des cytokines

#### a. Mab anti-cytokines. Exemple de l'anti-TNF : Infliximab, Remicade® :

- Il s'agit d'anticorps monoclonaux murins ou chimériques.
- Ils neutralisent l'effet de la cytokine, en empêchant son interaction avec son récepteur.
- En clinique humaine, les anticorps anti-TNF (Infliximab), qui sont des anticorps chimériques, sont utilisés dans le traitement de la maladie de Crohn et la polyarthrite rhumatoïde (maladies auto-immunes dont la majorité des symptômes est due au TNF).
- Infliximab ( Remicade® ) :
  - Neutralise l'effet du TNF soluble ou membranaire
  - A une action sélective sur le TNF $\alpha$  (il neutralise pas l'effet du TNF $\beta$  (lymphotoxine  $\alpha$  )
  - A une action cytotoxique (lyse) sur les cellules qui expriment un TNF membranaire.



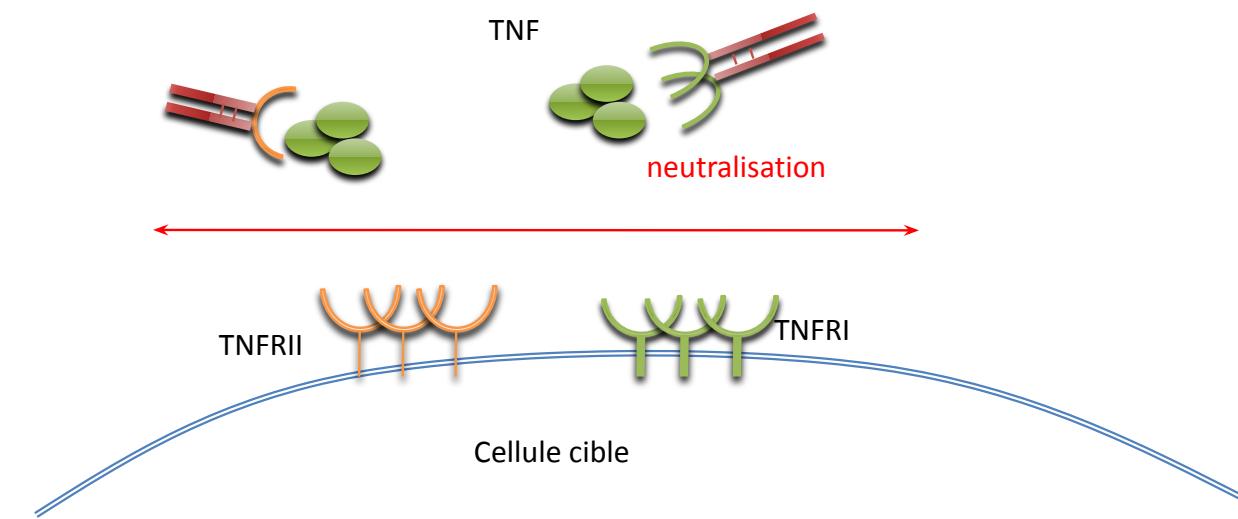
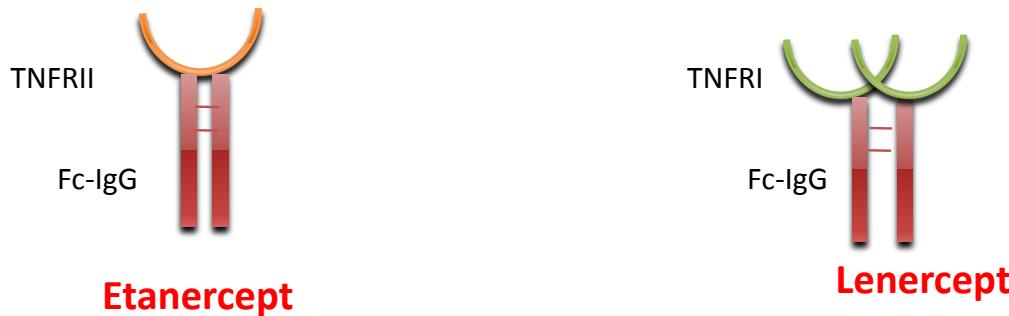
### 3. Les inhibiteurs des cytokines

#### b. Récepteurs recombinants solubles. Exemple : TNFR recombinant (Lenercept, Etanercept)

- Des récepteurs solubles peuvent être détectés à l'état physiologique dans la circulation. Ces récepteurs peuvent jouer :
    - Un rôle antagoniste en neutralisant la cytokine libre dans la circulation),
    - Una rôle agoniste en augmentant la demi-vie de la cytokine et en la présentant au récepteur.
  - Des récepteurs solubles recombinants peuvent être utilisés en thérapeutique, particulièrement ceux ayant une action antagoniste .
  - Exemples des récepteurs du TNF (TNFR) qui sont de 2 types : TNFR I (p55) et TNFRII (p75) :
    - **Lenercept** : formé de deux récepteurs TNFRI (partie extracellulaire) liés au fragment Fc d'une IgG1 humaine.
    - **Etanercept** : comprenant la partie extracellulaire du TNFRII liée au fragment Fc d'une IgG1 humaine.
- NB: le fragment Fc des IgG permet la clearance du complexe TNF/TNFR via les Fc $\gamma$ R sur les macrophages.

### 3. Les inhibiteurs des cytokines

#### b. Récepteurs recombinants solubles. Exemple : TNFR recombinant (Lenercept, Etanercept)

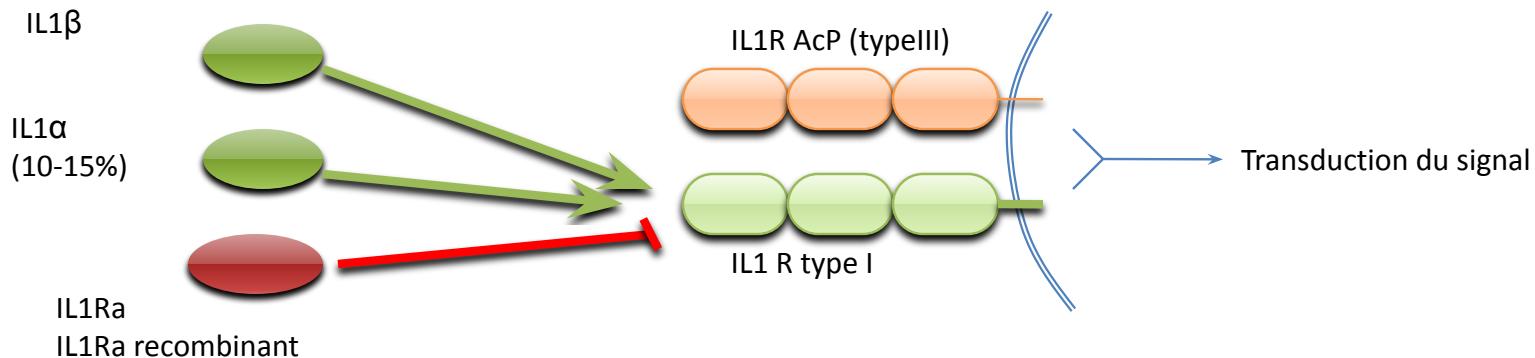


NB: les thérapeutiques ciblant le TNF ou son récepteur (infliximab, etanercept, lenercept) prédisposent à la tuberculose (réactivation d'une infection latente), du fait de son rôle important dans l'immunité anti-Mycobactérum tuberculosis.

### 3. Les inhibiteurs des cytokines

#### c. Antagonistes de Récepteurs de cytokines recombinants. Exemple : IL1Ra humain recombinant.

- L'IL1 est une cytokine pro-inflammatoire impliquée dans plusieurs états pathologiques inflammatoires et auto-immuns (polyarthrite rhumatoïde etc...)
- L'IL1 possède un antagoniste naturel qui est l'IL1Ra (IL1 receptor antagonist), produit par les mêmes cellules que l'IL1, avec un décalage de quelques heures.
- L'IL1Ra se fixe aux mêmes récepteurs que l'IL1, et bloque par compétition les actions de l'IL1.
- L'IL1Ra humain recombinant a été utilisé dans des essais cliniques dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et la GVHD.
- Dans la PR, l'IL1Ra recombinant est moins efficace que les anti-TNF.

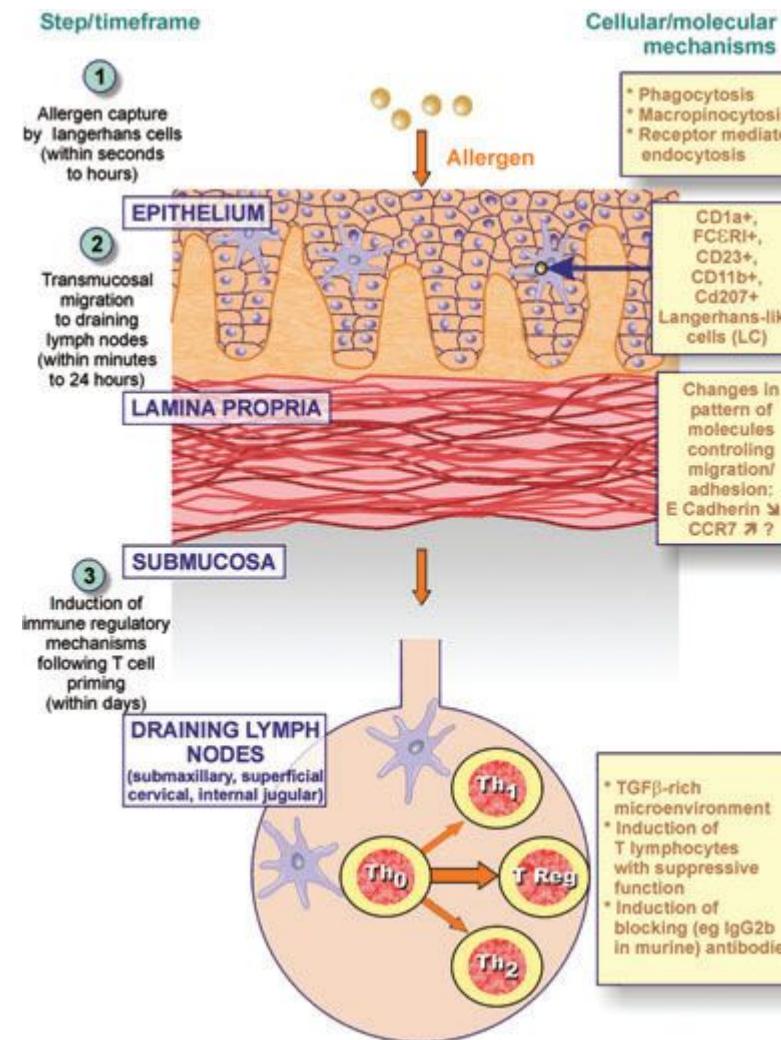




## VIII- Immunothérapie antiallergique (les extraits allergéniques et les allergènes recombinants)

# 1. La désensibilisation allergique

- La désensibilisation allergique est une méthode d'immunothérapie spécifique qui consiste à administrer un antigène (allergène) sous une forme qui permet d'inhiber la réponse Th2 et la production d'IgE contre cet allergène.



# 1. La désensibilisation allergique

- L'administration de l'allergène se fait en augmentant progressivement la dose de l'allergène.
- Voies d'administration existantes :
  - Peau : injection sous cutanée.
  - Muqueuse orale :
    - Comprimés voie orale
    - Solution (gouttes) voie sublinguale
    - Comprimés voie sublinguale :
    - Forme lyo à dissolution flash
    - Forme comprimés à dissolution progressive
  - Muqueuse nasale : Spray nasal
  - Autre voie : intralymphatique (pas utilisée)

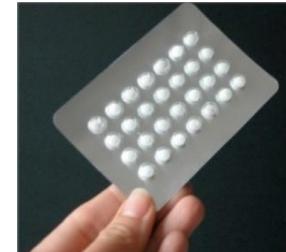
## Voie sous cutanée (VSC):

- Référence historique
- Efficacité reconnue mais :
  - Tolérance insuffisante
  - Contraintes (piques etc.)
- Risque du choc anaphylactique



## Voie sublinguale et intra-nasale (depuis 1992):

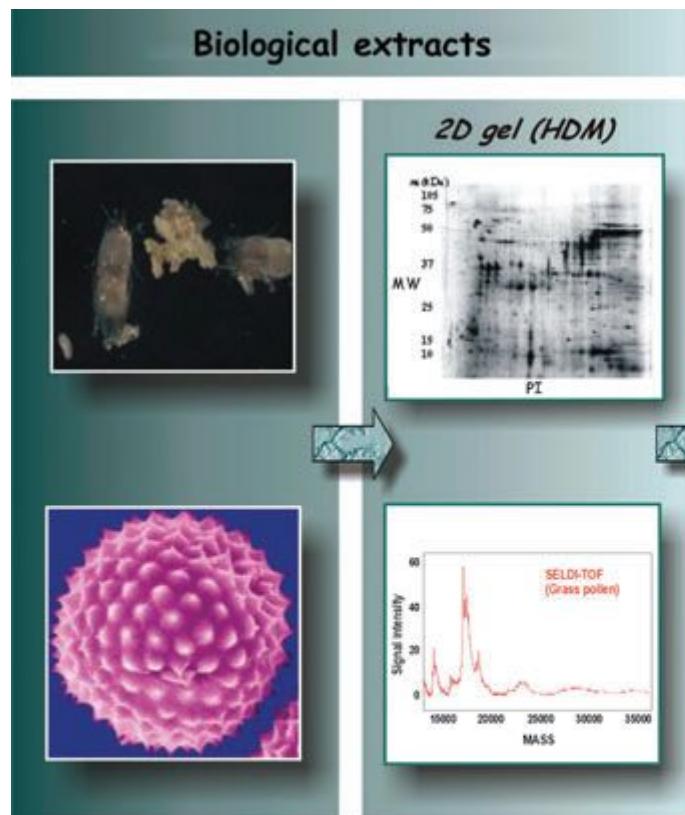
- Efficacité clinique confirmée
- Tolérance excellente
- Contraintes équivalentes à celle d'un traitement symptomatique
- Amélioration rapport bénéfice/risque



# 1. La désensibilisation allergique

- L'allergène peut être administré sous forme :

D'extract allergénique



D'allergènes recombinants



## 2. Mécanismes impliqués dans la désensibilisation allergique

- Au cours de la désensibilisation, on constate une augmentation de production des IgG, et en particulier des IgG4 spécifiques d'allergènes, avec baisse progressive du titre des IgE spécifiques.
- L'effet bloquant des anticorps de classe IgG demeure une explication mais certainement très partielle des phénomènes observés.
- Le Switch IgE/IgG4 interprété comme favorable est cependant très lent à apparaître et l'amélioration clinique est obtenue indépendamment du taux des IgG4.
- Avec les dernières découvertes portant sur la régulation immunitaire avec les cellules régulatrices Th3, Tr1 et les cellules CD4 + CD25 + des explications plausibles apparaissent :
  - Le rythme et l'augmentation progressive de la concentration d'allergène, administré lors de la désensibilisation, génèrent des cellules Tr1 régulatrices, spécifiques de l'allergène et productrices d'IL10.
  - L'IL10 produite est à la fois un facteur de régulation mais aussi une cytokine responsable de la production d'IgG4 (ce qui explique l'observation concernant le Switch IgE/IgG4).
  - Les cellules Tr1 pourraient être des inhibiteurs des Th2 spécifiques de l'allergène.

### 3. Les extraits allergéniques :

• pollen, virus, bactéries, champignons, ...



culture



Récolte

Matière première d'origine naturelle

Extraction aqueuse

**Extraits allergéniques**

- Dosage, caractérisation des allergènes majeurs
- Activité biologique (immunoréactivité avec les sérum de patients allergiques)
- Tests cutanés / traitement anti-allergique

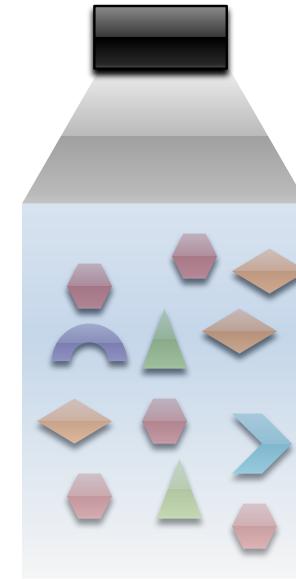
### 3. Les extraits allergéniques :

Extrait allergique = mélange d'allergènes et de molécules non allergéniques

□ Un extrait allergique comporte :

- Des allergènes
- Des produits non allergéniques

□ La composition moléculaire, et les concentrations des différents constituants sont variables selon les lots (lieu ou année de récolte du pollen, méthode d'extraction etc.)  
→ nécessité d'extraits calibrés (standardisation).



Extrait allergénique

□ La standardisation : méthode permettant d'assurer la reproductibilité, lot après lot, de l'activité biologique des extraits allergéniques en les ajustant par rapport à un extrait de référence.



Allergène majeur: allergène reconnu par plus de 50% des patients allergiques.



Allergène 2



Allergène 3



Molécules non allergéniques

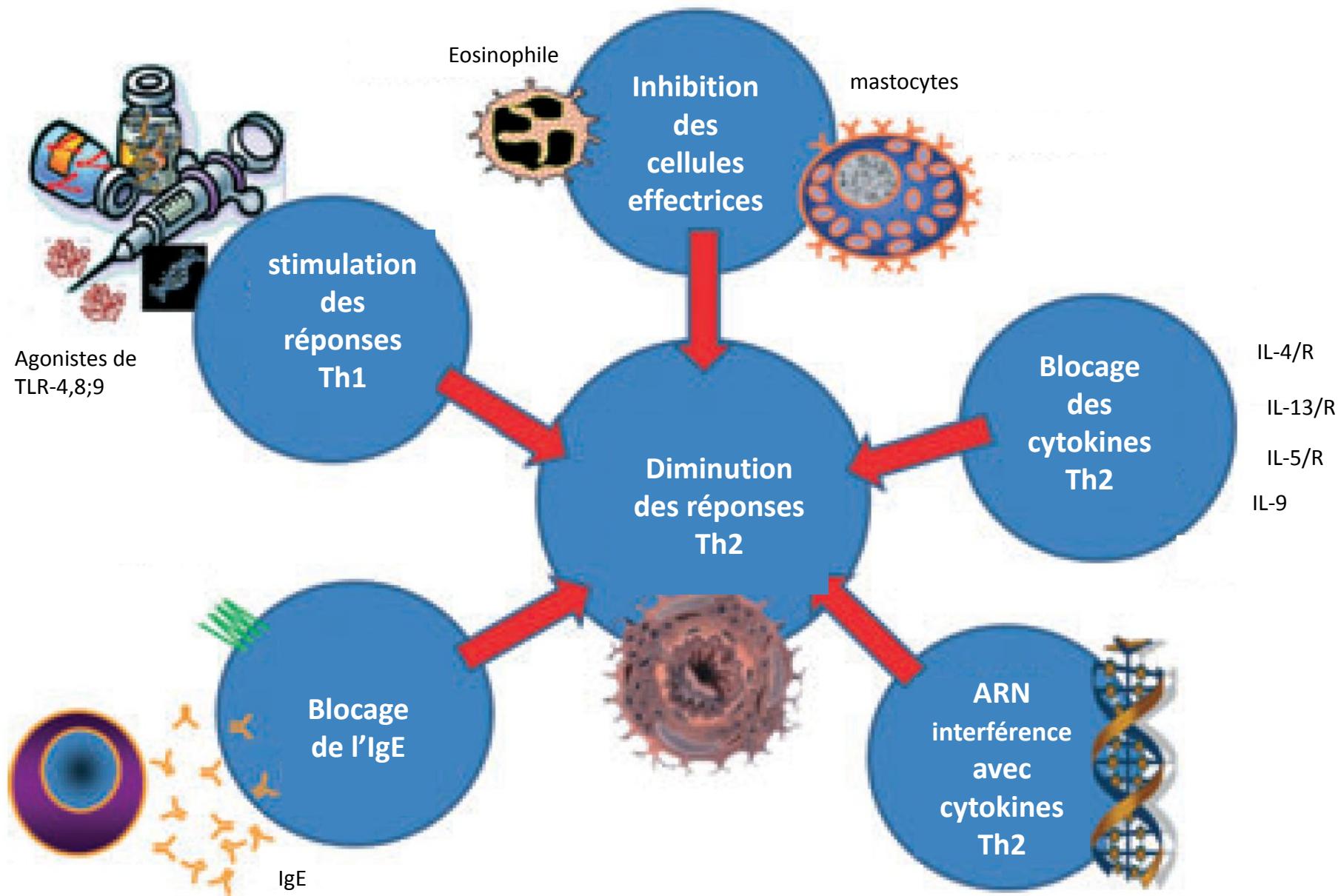
## 4. Allergènes recombinants :

- Les problèmes liés aux extraits allergéniques (standardisation, différence de composition) peuvent être résolus par la préparation d'allergènes recombinants grâce à la caractérisation des épitopes T et B des fraction allergéniques.
- La production des allergènes recombinants se fait par un système de production :
  - Bactéries (E. coli)
  - Levures (Pichia, saccharomyces)
  - Cellules d'insectes (drosophile)
  - Plantes (tabac)
- Avantages des allergènes recombinants par rapport aux extraits allergéniques :
  - Plus homogènes
  - Mieux caractérisés
  - Dépourvues de molécules non allergéniques
  - Plus facilement standardisables
  - Plus spécifiques
  - Modifiables en molécules hypoallergéniques
  - Disponibles en très grandes quantités
  - Plus reproductibles
  - Couplés facilement à d'autres molécules (adjuvants).

## 5. Adjuvants utilisés en désensibilisation allergique:

- Les extraits allergéniques utilisables par voie injectable contiennent les adjuvants minéraux classiques .
- D'autres adjuvants et plus précisément des immunostimulants et immunomodulateurs sont utilisés dans des essais cliniques de désensibilisation, parmi lesquels on retrouve :
  - Les ligands du TLR4, ex : MPL (monophosphate lipide A)
  - Les ligands du TLR9 (motifs CpG): ODNs (oligodéoxynucleotides) de synthèse.
- Ces immunomodulateurs ont la capacité d'orienter la réponse immunitaire vers le profil Th1 vis-à-vis de l'antigène administré avec eux (même si une réponse Th2 anti-antigène est présente)
- Avantages des adjuvant en désensibilisation allergique :
  - Diminuer la quantité d'allergène recombinant, ou d'extrait allergénique utilisés (éviter des réactions allergiques).
  - Diminuer la fréquence d'administration d'allergène (quelques injections suffisent)
  - Diminuer la sensibilisation allergique contre les autres constituants présent avec l'allergène (puisque les adjuvants orientent toutes les réponses vers le profil Th1).

## 6. Stratégie de l'utilisation de la biothérapie dans l'allergie:



## 7. Les biothérapies en cours d'essais dans l'allergie:

biothérapie	Cible/mecanisme	Phase de développement
Pascolizumab	Anti-IL-4 mAb	Phase II
Altrakincept	IL-4 récepteur antagoniste	Phase II
QAX576	AcMo Anti-IL-13	Phase II
Anrukinzumab	AcMo Anti-IL-13	Phase II
IMA-026	AcMo Anti-IL-13	Phase I
Tralokinumab	AcMo Anti-IL-13	Phase I/II
Lebrikizumab	AcMo Anti-IL-13	Phase II
AMG 317	AcMo Anti-IL-4Ra	Phase II
AIR 645	OGN antisense Anti-IL-4Ra	Phase I/II
Pitrakinra	IL-4 mutein	Phase II
MEDI-528	AcMo Anti-IL-9	Phase II
AVP-13358	Inhibiteur de la synthèse des cytokines Th2	Phase I
Suplatast	Inhibiteur de la synthèse des cytokines Th2	Approuvé
R0498991	AcMo Anti-OX40L	Phase I/II
Omalizumab	AcMo Anti-IgE	Approuvé
Lumiliximab	AcMo Anti-CD23	Phase I
TPI-ASM8	OGN antisense Anti-CCR3	Phase II
Mepolizumab	AcMo Anti-IL-5	Phase II
Reslizumab	AcMo Anti-IL-5	Phase II
Benralizumab	AcMo Anti-IL-5	Phase I/II