

ANTICORPS MONOCLONAUX À USAGE THÉRAPEUTIQUE EN HÉMATO-ONCOLOGIE

Généralités

C. GENNIGENS (1), J. COLLIGNON (1), G. JERUSALEM (1), A. RORIVE (1), B. SAUTOIS (1)

RÉSUMÉ : Jusqu'à ces dix dernières années, les traitements médicaux du cancer reposaient essentiellement sur la chimiothérapie, l'hormonothérapie et l'immunothérapie. Récemment, les avancées dans la compréhension des mécanismes de la transformation, de la croissance et de la dissémination des cellules tumorales ont été à l'origine des thérapeutiques dites «ciblées», désignant des traitements dirigés contre des cibles moléculaires supposées jouer un rôle dans l'acquisition du phénotype tumoral. Deux types de traitement ciblé sont actuellement disponibles : les petites molécules (suffixe -nib), agissant en occupant le site de liaison à l'ATP d'une protéine kinase, et les anticorps (Ac) monoclonaux (suffixe -mab), bloquant les propriétés fonctionnelles d'un ligand et/ou de son récepteur extra-membranaire. Cet article sera entièrement consacré à ces derniers. Trente ans après leur découverte, les Ac monoclonaux sont devenus de réels outils thérapeutiques, grâce au développement des techniques d'ingénierie moléculaire, à une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires tumoraux ainsi qu'à une meilleure définition des molécules cibles. A ce jour, plusieurs Ac monoclonaux ont obtenu une autorisation de mise sur le marché en hématologie et de très nombreux autres sont en cours de développement dans diverses indications.

MOTS-CLÉS : *Thérapies ciblées - Anticorps monoclonaux - Hématologie - Oncologie - Cancer*

THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES IN HEMATO-ONCOLOGY

SUMMARY : For many years, chemotherapy, hormonal therapy and immunotherapy were the mainstay of cancer treatment. Recent advances in our knowledge of cell biology and particularly of cancer cell transformation, growth and metastasis have led to the identification of specific pathways playing a role in the pathophysiology of cancer. New drugs specifically developed to control these targets are collectively named «targeted therapies». Two types of targeted therapies are available : kinase (mainly tyrosine kinase) inhibitors (suffix -nib) are small molecules binding directly to the intracellular kinase domain and acting as competitive inhibitor of ATP binding and monoclonal antibodies (suffix -mab) directed towards specific cell surface receptors or their ligands to prevent receptor activation. This paper will only review monoclonal antibodies (mAbs). Thirty years after their discovery mAbs have become efficient therapeutic tools. Progress in molecular engineering as well as improved knowledge of cell signalling pathways together with a better selection of the targets turned them into valuable treatments. Several mAbs are currently licensed for the treatment of hematological or solid malignancies and many others are expected in the near future.

KEYWORDS : *Targeted therapies - Monoclonal antibodies - Hematology - Oncology - Cancer*

INTRODUCTION

Jusqu'il y a quelques années, les traitements médicaux du cancer reposaient essentiellement sur la chimiothérapie, l'hormonothérapie et l'immunothérapie. Récemment, les avancées dans la compréhension des mécanismes de la transformation, de la croissance et de la dissémination des cellules tumorales ont été à l'origine d'une révolution, permettant le développement de nouvelles thérapeutiques dites «thérapeutiques ciblées»; celles-ci désignent des traitements dirigés contre des cibles moléculaires supposées jouer un rôle dans l'acquisition du phénotype tumoral. Elles se caractérisent donc par une activité ciblée sur les cellules cancéreuses et, plus spécifiquement, sur les voies complexes de signalisation gouvernant la multiplication cellulaire, l'invasion, l'apoptose et l'angiogénèse, lesquelles sont altérées dans les processus néoplasiques. Ce concept n'est pas nouveau en oncologie. Les traitements hormonaux des cancers du sein et de la prostate correspondent à des

thérapeutiques ciblées selon cette définition, et sont utilisés depuis plusieurs dizaines d'années.

La recherche s'oriente dans plusieurs directions : elle s'intéresse, notamment, au ciblage de protéines membranaires à activité tyrosine kinase, particulièrement (sur)exprimées dans les cellules cancéreuses, à la signalisation intracellulaire ainsi qu'à l'environnement tumoral. En effet, la tumeur ne pourrait pas se développer sans un environnement péri-tumoral favorable, suggérant l'existence de signaux liant la tumeur à son environnement.

Deux types de traitement ciblé sont actuellement disponibles : 1) les petites molécules (suffixe -nib), administrées par voie orale, qui agissent en occupant le site de liaison à l'ATP d'une protéine kinase, privant cette enzyme de sa source de phosphate et empêchant la phosphorylation et l'activation de la voie de signalisation en aval; 2) les anticorps (Ac) monoclonaux (suffixe -mab), administrés par voie intraveineuse, caractérisés par leur capacité à bloquer les propriétés fonctionnelles d'un ligand et/ou de son récepteur extra-membranaire (1). C'est sur ces Ac monoclonaux que sera «ciblé» l'ensemble de cet article.

(1) Chef de clinique, Service d'Oncologie Médicale, CHU de Liège.

HISTORIQUE

C'est en 1895 qu'ont été tentés les premiers essais au cours desquels des cellules tumorales provenant de sujets malades étaient injectées à des souris afin d'obtenir des anti-sérums à visée thérapeutique. Leur administration chez l'humain n'a permis aucune guérison. Le frein majeur à leur développement était leur manque de spécificité (ceux-ci étant constitués d'un mélange d'Ac polyclonaux dirigés contre des antigènes différents) et leurs importants effets secondaires liés à la présence de ces antigènes dans les tissus normaux (2).

En 1975, César Milstein et Georges Köhler ont publié, dans le journal *Nature*, un article démontrant qu'il était possible d'obtenir des cellules hybrides (ou hybridomes) produisant des anticorps de spécificité prédéfinie, cellules pouvant se cloner et se cultiver *in vitro* : les Ac monoclonaux étaient nés ! Ils ont appliqué, aux lymphocytes B, la technique de fusion cellulaire et de sélection des cellules hybrides : la fusion de lymphocytes B normaux provenant d'une souris immunisée contre les globules rouges de mouton avec des cellules de myélome leur a permis d'obtenir des cellules hybrides produisant un Ac monoclonal dirigé contre les globules rouges de mouton. Ces hybridomes se multiplient à l'infini et donnent naissance à des cellules filles identiques entre elles; ces cellules hybrides produisent des Ac fabriqués par les lymphocytes B de souris (3, 4). Les hybridomes peuvent être aussi congelés et gardés pendant des années en culture *in vitro* sans modification de l'Ac qu'ils produisent. Signalons que ces deux éminents chercheurs ont reçu le prix Nobel pour cette découverte, en 1984. Ces avancées étaient directement issues des travaux portant sur les premières cellules hybrides obtenues par Georges Barski et ses collaborateurs, en 1960. Ces généticiens avaient croisé des cellules provenant d'espèces différentes pour former des cellules «hybrides» (5).

Un tournant s'est produit dans les années 1980. En effet, l'apparition des techniques d'ingénierie moléculaire a permis la production d'Ac thérapeutiques chimériques, puis humanisés et, enfin, totalement humains par clonage des séquences hypervariables d'Ac murins dans des vecteurs d'expression contenant des domaines constants humains (6, 7).

En 1986, le premier Ac monoclonal murin, l'Orthoclone OKT3 (muromonab-CD3) a reçu l'autorisation d'utilisation clinique, dans le traitement du rejet aigu d'allogreffes rénales, d'abord (8), puis hépatiques ou cardiaques. En

hématologie, les premiers Ac monoclonaux approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) furent respectivement le rituximab (MabThera®) (en 1997) (9) pour le traitement des lymphomes non-hodgkiniens et le trastuzumab (Herceptin®) (en 1998) pour le traitement du cancer du sein (10, 11).

PROPRIÉTÉS PHARMACOLOGIQUES

Les Ac monoclonaux présentent une double fonctionnalité: la partie constante ou région Fc, responsable des fonctions effectrices, est dérivée d'une IgG1 humaine, qui possède des propriétés fonctionnelles d'ADCC (Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity), d'endocytose, de phagocytose et d'activation de la voie classique du complément. La portion CDR (Complementarity-Determining Regions) des régions variables des chaînes légères et lourdes (VL et VH) assure la spécificité de la liaison à l'antigène cible (12, 13).

En oncologie, les antigènes cibles des Ac monoclonaux sont habituellement soit des récepteurs portés par la cellule cible (EGFR) (Epidermal Growth Factor Receptor), soit des messagers stimulant la prolifération de néovaisseaux (VEGF) (Vascular Endothelial Growth Factor). En hématologie, ce sont principalement des structures membranaires appelées CD (Cluster of Differentiation), portées par les cellules hématopoïétiques (CD52, CD20) (9).

L'efficacité des Ac monoclonaux dépendra des réactions déclenchées par leur fixation sur la cible (induction de l'apoptose, inhibition de la prolifération, activation des effecteurs cellulaires (ADCC) ou sériques (CDC)), mais également de la cible, qu'elle soit naturellement exprimée dans l'organisme (CD, EGFR, VEGF), ou surexprimée spécifiquement par les cellules tumorales (HER2 des cellules tumorales mammaires). Dans ce dernier cas, seuls les patients dont la tumeur surexprime l'antigène (20-25% des cas) sont susceptibles de répondre au traitement, comme on l'observe avec le trastuzumab (Herceptin®). HER2 est donc un facteur prédictif de réponse à la thérapeutique (11). Le niveau d'expression de la cible n'est cependant pas un pré-requis pour autoriser l'utilisation de certains anticorps. Ainsi, pour le cétuximab (Erbix®) et le panitumumab (Vectibix®), deux Ac anti-EGFR, on n'observe pas de lien entre le niveau d'expression du récepteur et le taux de réponse.

FORMES D'ANTICORPS

Les premiers essais cliniques ont utilisé des Ac murins, potentiellement efficaces, mais induisant constamment la formation d'Ac

humains dirigés contre les Ac murins-HAMA (Human Anti-Mouse Antibody). Ces Ac ont une demi-vie courte dans le sérum, ainsi qu'une capacité limitée pour recruter des effecteurs cellulaires. Ensuite, ont été produits des Ac chimériques dans lesquels les régions constantes des chaînes lourdes et légères des IgG murins sont remplacées par des régions constantes humaines. Une humanisation des Ac a été décrite pour la première fois par l'équipe de Greg Winter en 1986. Initialement, elle consiste à remplacer les régions CDR d'un Ac humain par des régions CDR d'origine murine : l'Ac ainsi construit est dit «humanisé» (moins de 10% de ses séquences peptidiques sont d'origine murine). Ces Ac ont l'avantage de présenter une demi-vie plus longue pouvant activer de façon plus importante le système du complément et l'immunité à médiation cellulaire (14).

La nomenclature a suivi ces évolutions avec l'adoption, dans les dénominations communes internationales, des suffixes «momab» pour les Ac murins, «ximab» pour les Ac chimériques, «zumab» pour les Ac humanisés et «mumab» pour les Ac totalement humains, ainsi que commenté en détail dans un autre article de ce numéro (7).

PROPRIÉTÉS PHARMACOCINÉTIQUES

Les Ac monoclonaux sont administrés par voie intraveineuse et subissent une dégradation assimilable au catabolisme protéique. Ils interagissent avec un récepteur endothélial particulier appelé FcRN. Après fixation de ce récepteur, les Ac sont internalisés dans la cellule endothéliale et ainsi protégés de la dégradation lysosomiale jusqu'à leur recyclage à la surface de la cellule qui permet leur relargage dans la circulation sanguine. La différence de demi-vie observée à la suite de l'administration à l'homme d'Ac murins (≤ 7 jours) ou humains (environ 20 jours) est liée probablement à une réactivité différente des IgG1 murines avec le FcRN humain associé à la formation d'HAMA. La fixation de certains Ac sur leur cible cellulaire s'accompagne d'une internalisation du complexe, suivie d'une dégradation lysosomiale de l'anticorps ou encore une «down-regulation» du récepteur, réduisant progressivement les possibilités de fixation de l'Ac (15). Une variabilité pharmacocinétique interindividuelle existe pour les Ac monoclonaux comme pour les médicaments classiques. Les facteurs en cause pourraient être liés à la masse tumorale ou à l'apparition d'Ac neutralisants.

Des propriétés additionnelles peuvent être conférées aux Ac monoclonaux thérapeutiques

par couplage à des molécules cytotoxiques, comme décrit plus amplement dans un autre article de ce numéro de la revue (16). L'efficacité thérapeutique repose alors principalement sur l'agent couplé, l'Ac jouant le rôle de vecteur pour guider l'agent vers la cible. On distingue ainsi trois types d'Ac :

- les Ac monoclonaux non conjugués; l'Ac monoclonal agit directement en induisant l'apoptose ou l'inhibition de croissance;
- les Ac monoclonaux conjugués à des éléments radioactifs permettant la délivrance ciblée de radiation ionisante (radio-immunothérapie);
- les Ac monoclonaux conjugués à une drogue; l'Ac monoclonal permettant la distribution sélective de la drogue dans les cellules tumorales. Dans certains cas, il est possible de coupler l'Ac à une enzyme qui activera, *in situ*, une prodrogue pour la transformer en un agent cytotoxique localement efficace (ADEPT = Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy). Ce procédé diminue ainsi la toxicité générale de la drogue (17).

EFFETS INDÉSIRABLES

Les Ac monoclonaux ont une réactivité croisée avec des antigènes ubiquitaires ou des protéines structurellement proches, ce qui rend compte de leurs principaux effets secondaires.

Pour ne citer que quelques exemples :

- l'activation du système immunitaire dont les réactions immédiates se traduisent par des frissons, des nausées, une dyspnée, des céphalées et de la fièvre; elles s'observent chez 3 à 5% des patients traités par un Ac chimérique et peuvent être atténuées par la réduction de la vitesse de perfusion. Des réactions tardives peuvent aussi apparaître. Le développement d'HAMA est alors de loin le mécanisme le plus fréquent. Ces réactions sont moindres avec les Ac humanisés, voire humains; ces derniers ne nécessitent même pas de prémédication de type antihistaminique;
- les toxicités vasculaires, notamment observées avec le bévacizumab : hypertension artérielle; hémorragies, perforations digestives ou accidents thromboemboliques artériels;
- les toxicités cardiaques : cardiomyopathies observées avec le trastuzumab; HER2 est, en effet, un récepteur de facteurs de croissance, exprimé dans de nombreux tissus, incluant le cœur;
- les toxicités cutanées : rashes acnéiformes affectant un grand nombre de patients traités par cétuximab (18, 19).

CONCLUSION

Les Ac monoclonaux constituent une avancée thérapeutique majeure dont peuvent aujourd'hui bénéficier les patients atteints de diverses pathologies cancéreuses. En effet, trente ans après leur découverte, les Ac monoclonaux sont devenus de réels outils thérapeutiques; ceci a été possible grâce au développement des techniques d'ingénierie moléculaire, mais également à une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires tumoraux, ainsi qu'à une meilleure définition des molécules cibles. Les principales voies de signalisation faisant l'objet de thérapies ciblées sont la voie des facteurs de croissance épithéliaux et endothéliaux, mais ne sont pas les seules existantes.

Ces nouvelles thérapies «ciblées, intelligentes» font partie intégrante du traitement de nombreux cancers. Même si elles se sont établies comme standards dans de multiples affections, elles n'ont pas, actuellement, remplacé les thérapies conventionnelles (chimiothérapie, radiothérapie et chirurgie), mais sont plutôt utilisées en association avec elles. De nombreuses études cliniques sont en cours pour évaluer leur place au sein de nos thérapies standards. Les modalités optimales d'utilisation des Ac monoclonaux sont finalement assez mal précisées d'autant que de très nombreux schémas ont été testés au cours de leur développement clinique.

Le développement clinique de ces Ac monoclonaux ne peut pas se concevoir sans l'intégration de nouveaux outils d'évaluation comme l'imagerie fonctionnelle (DCE-MRI, PET-scan, écho-doppler) ou les biomarqueurs d'activité qui viendront compléter les critères classiques de jugement (réponse objective, temps jusqu'à progression et survie). En effet, les critères RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) doivent être remis en question avec l'arrivée des nouvelles drogues ciblées qui induisent souvent une nécrose des lésions sans modification de la taille tumorale initiale. L'élaboration de critères de sélection moléculaire, permettant de mieux identifier les patients susceptibles de tirer le plus grand profit de ces traitements coûteux, est indispensable à la fois pour accroître l'index thérapeutique et contenir l'explosion budgétaire. Cette meilleure connaissance donne l'espoir d'associer à la prise en charge actuelle, qui se fait par groupe de malades «identiques», une prise en charge personnalisée (1).

Les Ac monoclonaux représentent un outil supplémentaire dans la lutte contre le cancer. Si le bénéfice qu'ils apportent en taux de guérison est limité, ils contribuent significativement à prolonger la survie sans progression...

BIBLIOGRAPHIE

- Gennigens C, Sautois B, Rorive A, et al.— Actualités thérapeutiques en oncologie : l'essor des thérapies ciblées. *Rev Med Liège*, 2007, **62**, 391-398.
- Ehrlich P.— On immunity : with special reference to cell life. *Proc R Soc*, 1900, **66**, 424-448.
- Kohler G, Milstein C.— Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975, **256**, 495-497.
- Mistretta V, Cavalier E, Collette J, et al.— Production des anticorps monoclonaux. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 248-252.
- Barski G, Sorieul S, Cornefert F.— Production of cells of a «hybrid» nature in culture in vitro of 2 cellular strains in combination. *C R Hebd Seances Acad Sci*, 1960, **251**, 1825-1827.
- Oldham RK, Dillman RO.— Monoclonal antibodies in cancer therapy : 25 years of progress. *J Clin Oncol*, 2008, **26**, 1774-1777.
- Scheen AJ.— Nomenclature internationale des différents types d'anticorps monoclonaux. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 244-247.
- Bonvoisin C, Weekers L, Grosch S, Krzesinski JM.— Les anticorps monoclonaux en transplantation rénale. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 287-292.
- Bonnet C, Beguin Y, De Prijck B, et al.— Anticorps monoclonaux en hématologie en 2009. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 268-273.
- Stern M, Herrmann R.— Overview of monoclonal antibodies in cancer therapy : present and promise. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2005, **54**, 11-29.
- Collignon J, Gennigens Ch, Rorive A, et al.— Anticorps monoclonaux et cancer du sein. Actualités thérapeutiques. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 279-283.
- Desgranges C.— Monoclonal antibodies and therapeutics. *Pathol Biol (Paris)*, 2004, **52**, 351-364.
- Moutschen M.— Bases immunologiques à la compréhension du concept d'anticorps monoclonal. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 237-243.
- Le Guellec C.— Anticorps monoclonaux en onco-hématologie. *La lettre du cancérologue*, 2008, 1-7.
- Bellet D, Dangles-Marie V.— Anticorps humanisés en thérapeutique. *Med Sci. (Paris)*, 2005, **21**, 1054-1062.
- Scheen AJ.— Nouvelles avancées dans l'utilisation des anticorps monoclonaux en thérapeutique. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 253-256.
- Coiffier B.— L'apport thérapeutique des anticorps monoclonaux en hématologie. *Bull. Cancer*, 2000, **87**, 839-845.
- Klastersky J.— Adverse effects of the humanized antibodies used as cancer therapeutics. *Curr Opin Oncol*, 2006, **18**, 316-320.
- Piérard-Franchimont C, Piérard GE.— Réactions cutanées indésirables des traitements par anticorps monoclonaux. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 339-346.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr C. Gennigens, Service d'Oncologie médicale, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique.