

L'immunité antitumorale : des concepts à l'immunothérapie active spécifique

**Laurence Zitvogel
Florence Faure**

Le développement d'une réponse immunitaire naturelle dirigée contre les tumeurs *in vivo* ou induite à des fins thérapeutiques repose sur le postulat qu'il existe des structures spécifiques à la surface des cellules tumorales (l'antigène tumoral) capables d'être présentées de manière efficace aux effecteurs du système immunitaire (lymphocytes T CD4, CD8 ou *natural killer*). Les progrès réalisés ces dernières années ont montré que les antigènes associés aux tumeurs étaient des variations de différentes protéines du soi. Les cellules dendritiques de l'environnement tumoral jouent un rôle fondamental dans la présentation de ces antigènes associés aux tumeurs qui met en jeu une panoplie de cytokines immunostimulantes et de molécules de co-stimulation nécessaires à la mise en route et au maintien des effecteurs lymphocytaires. Plus récemment, un compartiment vésiculaire sécrété par les cellules dendritiques, les exosomes, a été mis en évidence. Il contient les différentes molécules nécessaires à la présentation de l'antigène et peut interagir à distance du site tumoral avec le système immunitaire. La compréhension de l'ensemble des mécanismes de l'immunité antitumorale devrait permettre le développement de stratégies thérapeutiques efficaces et de comprendre les mécanismes variés développés par les tumeurs pour échapper au système immunitaire.

ADRESSES

L. Zitvogel : docteur en médecine, docteur ès sciences, assistante des CLCC (Centre de lutte contre le cancer), chef d'unité d'immunologie, Département de biologie clinique, Institut Gustave-Roussy, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France.
F. Faure : docteur ès sciences (doctorat en immunologie), chargée de recherche à l'Inserm, Inserm U. 520, Institut Curie, Pavillon Trouillet-Rossignol, 26, rue d'Ulm, 75005 Paris, France.

Les espoirs de l'immunothérapie spécifique reposent sur l'existence potentielle d'effecteurs d'une réponse antitumorale. Nous développe-

rons dans cet article les voies de recherche permettant d'induire cette réponse immunitaire et les éventuelles applications précliniques et thérapeutiques qui en découlent.

Les effecteurs cellulaires de l'immunité antitumorale

Lymphocytes T spécifiques de tumeur et antigènes associés aux tumeurs

La théorie de l'immunosurveillance postule que les cellules tumorales suscitent une réponse immunitaire susceptible de s'opposer au développement des lésions cancéreuses (figure 1). Cette théorie se trouve aujourd'hui confortée par la découverte d'antigènes associés aux tumeurs (TAA, *tumor associated antigens*). Certains d'entre eux sont définis comme des « épitopes T », c'est-à-dire reconnus par des lymphocytes T sous forme de peptides associés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) [1, 2]. L'identification des peptides cibles de la réponse antitumorale de lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques (CTL) a

montré qu'ils sont issus de plusieurs types d'antigènes plus ou moins différents de protéines du soi. Il peut s'agir : (1) dans certains types de cancers, d'antigènes viraux comme des protéines du papillomavirus pour les cancers du col de l'utérus ; (2) de néoantigènes produits par mutation génique ou par transcription illicite dans la cellule tumorale ; (3) d'antigènes de type « oncofœtal » ou CT (*cancer-testis*) qui ne s'expriment pas dans le tissu sain correspondant ; (4) d'antigènes spécifiques de tissu pour lesquels il pourrait exister une rupture de tolérance dans une situation pathologique comme cela a été montré récemment pour des antigènes de mélanocyte ; et enfin (5) de peptides non mutés issus de protéines ubiquitaires surexprimées dans des cellules tumorales.

En dehors de leur fonction auxiliaire dans l'induction et le maintien

d'une réponse CTL, le rôle des lymphocytes T CD4⁺ dans la réponse antitumorale est, en pratique, difficile à évaluer. L'identification des antigènes (et des peptides) reconnus est moins avancée pour les lymphocytes CD4⁺ que pour les lymphocytes CD8⁺. Elle est techniquement plus complexe, en particulier parce que, souvent, ces antigènes ne sont pas présentés par les cellules tumorales elles-mêmes mais par des cellules présentatrices comme les cellules dendritiques (*cross presentation*) (voir l'article de S. Amigorena, p. 931 de ce numéro). Le mécanisme par lequel les lymphocytes CD4 participent à la réponse antitumorale est moins bien caractérisé que l'activité lytique des CTL. Un élément important de l'activité des lymphocytes CD4 est la production de cytokines agissant soit sur d'autres effecteurs cellulaires, soit directement sur les cellules tumorales. Les différents profils (Th1, Th2, Th3, Tr1, etc.) peuvent être trouvés aux sites tumoraux et s'il est conventionnellement admis qu'un profil Th1 est favorable à un rejet tumoral, des contre-exemples existent. Cette polarisation Th1 ou Th2 des effecteurs dépend elle-même du milieu cytokinique (présence d'interféron – IFN – et d'interleukine-12 – IL-12 – en l'absence d'IL-4 – IL-4 – pour les Th1 et présence d'IL-4 d'IFN pour les Th2). Une autre fonction essentielle des lymphocytes CD4 est la communication croisée (*cross-talk*) avec les cellules présentatrices d'antigène (CPA) qui est essentielle au développement d'une réponse CTL efficace, en particulier *via* des interactions CD40-CD40L [3].

Cellules NK et NKT

La fonction *natural killer* (NK) a été définie il y a plus de vingt ans comme une activité antitumorale (et antivirale) innée. Elle a été attribuée à de grands lymphocytes granuleux ne réarrangeant ni les gènes des immunoglobulines, ni ceux du récepteur de l'antigène des lymphocytes T. A l'heure actuelle, la régulation de ces cellules apparaît plus complexe et faisant intervenir des interactions de récepteurs très spécifiques. En particulier, l'identification et la caractérisation des récep-

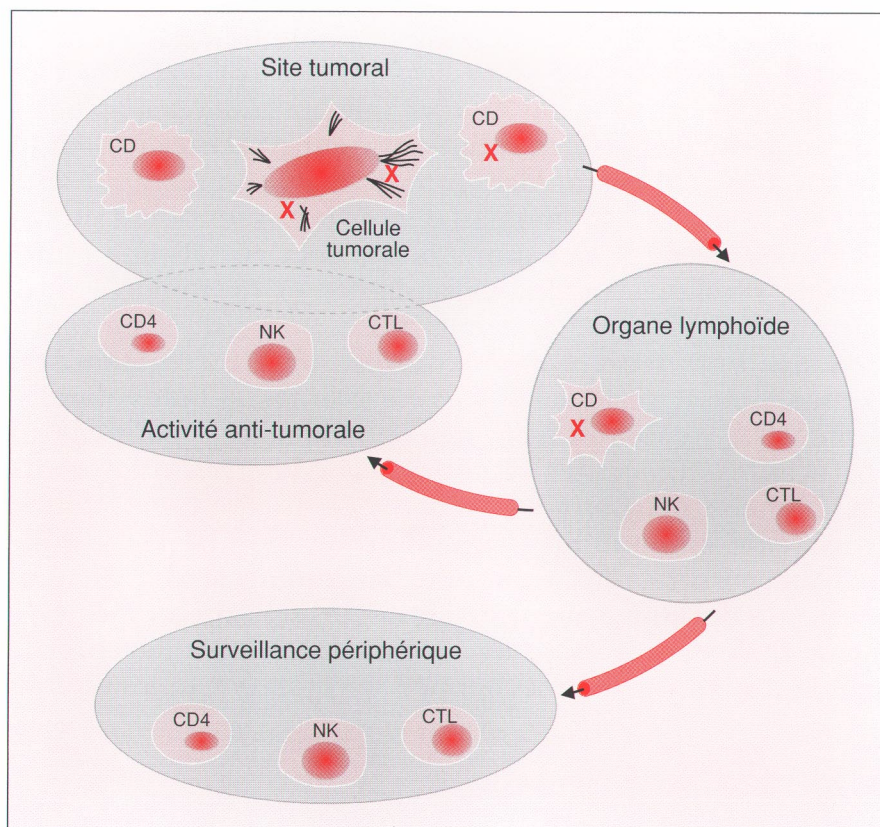


Figure 1. **Schéma d'une induction « idéale » de réponse antitumorale.** L'objectif des stratégies vaccinales est l'induction d'une réponse antitumorale telle qu'une cellule dendritique (en bistre, CD) présente des antigènes (X) issus de la cellule tumorale (en gris) pour migrer vers les organes lymphoïdes secondaires et y induire une réponse antitumorale ; les lymphocytes ainsi induits et stimulés peuvent circuler (flèches) en périphérie et exercer leur activité antitumorale aux sites primaires et métastatiques.

teurs de types inhibiteurs spécifiques des allèles du CMH de classe I (KIR, *killer cell inhibitory receptor*) ont permis de comprendre les mécanismes de reconnaissance spécifique et de lyse de cellules tumorales ayant perdu l'expression de certaines molécules de classe I [4]. Certains lymphocytes T, les cellules NKT ou NT, partagent des marqueurs de surface avec les cellules NK et expriment un TCR (*T cell receptor*) incluant une chaîne α invariante. Des expériences sur des souris ne possédant pas cette sous-population lymphocytaire ont suggéré un rôle des cellules NKT dans le rejet tumoral dépendant de l'IL-12 [5], probablement par le potentiel sécréteur d'IFN γ et/ou d'IL-4 de ces NKT. Ces lymphocytes seraient, dans une première étape, spécifiquement activés par le ligand de leur TCR (des molécules CD1 associées au galactosyl-céramide) et, dans une seconde étape, seraient alors capables de détruire les cellules tumorales. Cependant, les mécanismes utilisés par ces lymphocytes pour reconnaître les cellules tumorales afin de les éliminer restent encore à déterminer.

Les progrès de l'immunologie antitumorale des 15 dernières années montrent donc indubitablement que les acteurs d'une réponse antitumorale existent et sont divers. Ces progrès permettent par conséquent de mieux évaluer les mécanismes qu'utilisent les cellules tumorales pour échapper au système immunitaire. Brièvement, ces mécanismes incluent la panoplie guerrière classique, le camouflage, les gaz anesthésiants, jusqu'aux armes meurtrières et probablement d'autres stratégies qui nous sont encore inconnues. Des déficiences dans les mécanismes d'apprêtement et de transport ainsi que des diminutions d'expression de l'antigène ou de l'allèle « présentateur » du CMH permettent aux cellules malignes de se camoufler en diminuant le nombre de complexes CMH-peptides membranaires. Des signaux de co-stimulation insuffisants peuvent induire un état d'anergie des lymphocytes T spécifiques. Cette « anesthésie » ou anergie de la réponse immunitaire peut aussi être induite par des cytokines produites localement par le

stroma, les cellules tumorales et éventuellement par des lymphocytes régulateurs spécifiques de la tumeur [6]. Plus récemment, un mécanisme d'élimination active des lymphocytes par les cellules tumorales a été proposé *via* l'expression de FasL à la surface des cellules tumorales. L'existence de cet échappement tumoral au système immunitaire doit donc être intégré dans l'élaboration de protocoles d'immunothérapie visant à stimuler la réponse immunitaire antitumorale.

Induction d'une réponse antitumorale efficace : apports potentiels de l'immunothérapie

Antigène cible et agent vaccinal

Pour stimuler une réponse antitumorale, la pertinence immunologique de la cible repose à la fois sur un spectre d'expression large (exprimé par les tumeurs d'un grand nombre de patients et aux différents stades de la maladie) et sur une expression spécifique aux cellules tumorales.

• Nature de l'antigène cible

Les antigènes potentiellement utilisables dans des stimulations de type « vaccinal » sont ceux identifiés comme cibles de lymphocytes T, soit dérivés de lymphocytes de patients, soit obtenus après stimulation *in vitro* en criblant des antigènes candidats. L'antigène optimal est la protéine étrangère de type viral ou muté (*voir plus haut*), mais il s'est avéré qu'une grande proportion des épitopes cibles de CTL antitumoraux sont issus de protéines du soi. Leur détection par le système immunitaire implique donc une levée de tolérance qui devrait théoriquement engendrer des réactions auto-immunes. En pratique, les réactions antitumorales contre les antigènes du soi (suivant ou non un traitement immunothérapeutique) sont parfois concomitantes à des syndromes auto-immuns localisés, mais n'engendrent pas de manifestations chroniques et incontrôlées. Au cours d'une réaction antitumorale, les processus de protection contre les phénomènes auto-immuns sont multiples. En premier lieu, le niveau d'expression anti-

génique peut expliquer la sélectivité antitumorale de lymphocytes spécifiques d'une protéine ubiquitaire comme Her-2/neu mais ne peut probablement pas expliquer la sélectivité de la reconnaissance tumorale de tous les antigènes de différenciation. Récemment, le rôle de lymphocytes régulateurs de type Th3 ou Tr1 a été proposé pour expliquer comment pourrait être « levée » la tolérance à des protéines du soi dans des maladies auto-immunes [7]. L'existence d'un contrôle similaire des réponses contre des antigènes du soi dans des affections tumorales devra être évaluée. Enfin, les mécanismes mêmes de reconnaissance lymphocytaire *via* des récepteurs spécifiques peuvent permettre la protection du soi. Par exemple, un clone CTL spécifique d'un antigène du soi pourrait discriminer les cellules CMH-I négatives (y compris des cellules tumorales) en exprimant un récepteur inhibiteur (KIR) spécifique d'un allèle de CMH de classe I [8]. L'importance d'une réactivité antitumorale faisant intervenir des antigènes du soi et le poids respectif de chacun de ces phénomènes de levée de tolérance restent difficiles à évaluer et sont probablement propres à chaque maladie si ce n'est à chaque patient.

• Nature d'un agent vaccinal

L'antigène tumoral tel qu'il est apporté par la cellule tumorale n'est en principe pas ou peu immunogène et le rationnel d'une « vaccination » repose sur le fait que l'antigène, pour induire une réponse antitumorale, doit être administré de façon plus « immunogénique ». Dans les préparations vaccinales, l'antigène peut être délivré sous différentes formes, des données précliniques existent pour une grande part d'entre elles et des données cliniques sont en cours d'évaluation pour certaines préparations.

– Antigène sous forme peptidique

L'objectif est, par une administration systémique de peptides, de déclencher l'expansion *in vivo* de précurseurs de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques de TAA (*tumor associated antigen*) qui pourront être mobilisés aux sites tumoraux pour

détruire les cellules tumorales. Le rationnel pour l'utilisation de peptides en vaccination antitumorale repose sur les données d'immunologie conventionnelle. Un antigène étant reconnu à la surface des cellules sous la forme d'un complexe CMH-peptide, le peptide doit pouvoir se lier à un allèle du CMH fréquent dans la population de patients, et le complexe CMH-peptide correspondant doit être exprimé à la surface des cellules tumorales (ce qui implique des sites de clivage préférentiels de l'antigène par le protéasome, un transport préférentiel au niveau du réticulum endoplasmique, et une meilleure affinité de fixation à la molécule de classe I). Le peptide peut alors être retrouvé à partir d'un éluat de cellules tumorales et le complexe peut être reconnu spécifiquement par des lymphocytes T, cette reconnaissance induisant la lyse tumorale. Le choix du peptide repose aussi sur le fait que le répertoire de lymphocytes T capables de reconnaître le complexe existe. En pratique, un recul important permet maintenant de montrer que pour de nombreux antigènes de différenciation, des peptides de TAA liant les allèles HLA-A1, A2, A3, B44 ont été utilisés *in vitro* dans des expériences de stimulation répétées de PBMC (lymphocytes circulants) ou

de TIL (lymphocytes infiltrants) issus de patients atteints de mélanome malin. Ces stimulations engendrent des activités spécifiques du complexe CMH-peptide qui permettent une reconnaissance et une lyse de cellules tumorales. Il faut noter que des analogues de structure [9] permettant une meilleure fixation à la poche du CMH de classe I ou des analogues conformationnels [10] peuvent être plus immunogènes *in vitro* et *in vivo* que le peptide naturel. Des études précliniques ont effectivement montré que des peptides utilisés en vaccination peuvent déclencher ou augmenter des réponses de lymphocytes T spécifiques de TAA et entraîner le rejet de la tumeur. En revanche, certains peptides peuvent induire une réponse CTL détectable dans le sang des patients sans impliquer de signe clinique de régression, cela pouvant entre autre s'expliquer par une insensibilité des cellules tumorales *in vivo* à l'activité lytique des lymphocytes [11] ou par l'existence de peptides homologues non issus de TAA [12]. Par conséquent, lorsqu'elles sont disponibles, des données suggérant une association entre réponse CTL et réponse clinique (comme par exemple, l'antigène gp100 dans le mélanome) devraient être l'ultime critère de sélection d'un peptide antigénique.

– Antigène sous forme protéique

Les antigènes utilisés sous forme soluble pourraient offrir l'avantage, en association avec un adjuvant, de déclencher des réponses lymphocytaires T CD4⁺ et CD8⁺ pluri-épito-piques (c'est-à-dire non sélectives d'haplotype du CMH) ainsi que des réponses lymphocytaires B. Cependant, pour MART-1, il a été démontré *in vitro* que l'apprêtement et la présentation efficaces étaient restreintes à une unique combinaison ligand-allèle et excluaient les changements minimes de structure HLA [13]. De plus, les vaccins antigéniques protéiques déclenchent plutôt des réactivités Th2 dans des modèles précliniques murins, favorisant les réponses humorales IgG1, IgG2a et IgE. Dans certains exemples (antigènes du soi), des réponses immunitaires cellulaires ont été obtenues uniquement avec les peptides et non des protéines [14].

– Antigène sous forme d'acides nucléiques

Les inconvénients des immunisations peptidiques sont multiples: (1) sélection de patients exprimant l'haplotype HLA adéquat; (2) éventuelle instabilité *in vitro* et *in vivo* du peptide; (3) éventuelles inductions de tolérance [15] pouvant entraîner une flambée tumorale; (4) potentiellement après immunisation par de fortes doses de peptides, le recrutement de CTL de basse affinité et l'apoptose des CTL de haute affinité. Les immunisations par protéines solubles ou particulières, par ADN ou ARN codant pour des peptides en série (*string bead approach*) ou codant pour des antigènes complets permettent un apprêtement endogène par les cellules présentatrices de l'hôte, ce qui élimine la nécessité d'identification d'un peptide immunogène et les contraintes de restrictions HLA. Cette présentation croisée offre l'avantage de présenter un faible nombre de copies de chaque déterminant antigénique pour une plus longue durée, ce qui, théoriquement, induit des CTL de haute affinité et permet leur maintien à plus long terme. Des stratégies impliquant des séquences signal d'insertion membranaire dans le réticulum endoplasmique en plus des antigènes tumo-

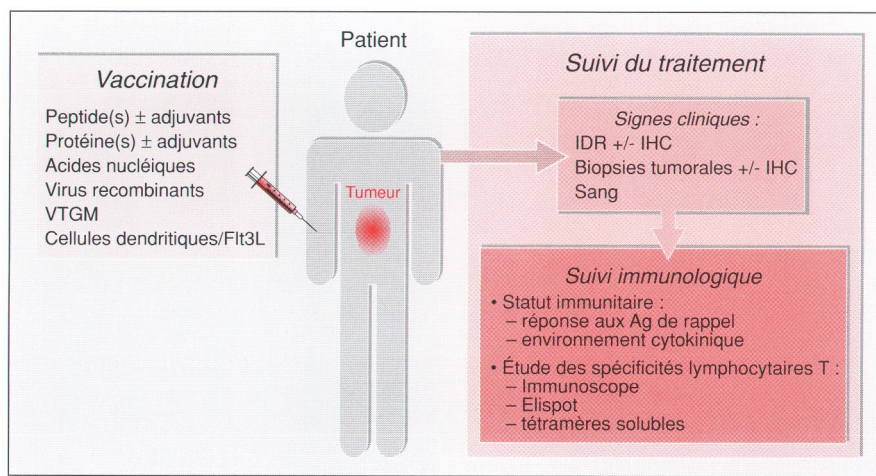


Figure 2. **Stratégies vaccinales et suivi immunologique.** Les différentes approches d'immunothérapie spécifique qui sont développées requièrent une évaluation à la fois clinique et biologique. L'appréciation des réponses immunitaires antitumorales induites chez le patient traité reposent sur des techniques fines d'analyse de la spécificité antigénique des lymphocytes circulants et infiltrant la tumeur. VTGM: vaccins tumoraux génétiquement modifiés; IDR: intradermoréaction; IHC: immuno-histochimie; Ag: antigène.

raux ont permis d'augmenter significativement la présentation de l'antigène. Les vaccins à ADN nu plasmidique utilisent un promoteur, le plus souvent viral, permettant la transcription et la traduction d'une protéine exogène dont les caractéristiques post-traductionnelles (conformation, oligomérisation...) seront natives, et pourront induire des anticorps fonctionnels pour l'ADCC (cytotoxicité dépendante de la présence d'anticorps) ou la fixation du complément. L'efficacité des vaccins à ADN plasmidique [16] est aussi due à l'effet adjuvant et mitogène des lymphocytes Th1, qui serait lié aux motifs hexamériques palindromiques CpG bactériens. Les inconvénients théoriques mais non prouvés des vaccins à ADN sont: (1) les risques de mutagenèse insertionnelle; (2) la montée du titre d'anticorps anti-ADN et donc d'auto-immunité; (3) la tolérance induite par la durée prolongée de l'expression et la persistance antigénique. Les séquences d'ADNc ou d'ARN codant pour un ou plusieurs antigènes tumoraux peuvent être chargées/pulsées sur les cellules dendritiques, permettant la présentation croisée d'antigènes devenus endogènes (ayant accès au cytosol et à l'apprêtement dans un contexte de CMH de classe I restreint) [17]. Des vaccins viraux non réplcatifs (adénovirus, poxvirus ALVAC-NYVAC) recombinants des antigènes tumoraux sont en cours d'évaluation en phases I ou II dans les cancers [18]. Ces virus, surtout les adénovirus, ont une immunogénicité endogène due aux protéines des particules virales infectieuses recombinantes utilisées pour la transfection cellulaire, qui limitent leurs injections répétées par les *boosts*. Les vaccins bactériens vivants atténués, en particulier les salmonelles recombinantes [19], offrent des avantages importants: (1) stimulation antigénique de longue durée au niveau des muqueuses et pouvoir adjuvant mucosique; (2) expression simultanée de plusieurs antigènes et auto-assemblage de particules pseudovirales; (3) co-localisation au niveau des cellules dendritiques des organes lymphoïdes secondaires; (4) déclenchement de réponses immunitaires humorales et cellulaires puissantes pouvant être encore amplifiées.

– Antigène sous forme « cellulaire »

Les formulations vaccinales mentionnées ci-dessus restent beaucoup plus applicables à large échelle que les essais pionniers de thérapie cellulaire et génique consistant à immuniser avec des cellules entières, c'est-à-dire à transférer de manière stable, dans des lignées autologues ou allogéniques de cellules tumorales ou fibroblastiques, des gènes codant pour des immunogènes (cytokines, molécules de co-stimulation, molécules d'adhérence, chimiokines, molécules du CMH de classe I ou II, TAP...). Ces vaccins cellulaires tumoraux génétiquement modifiés (VTGM) ont été efficaces dans les nombreux modèles précliniques murins par des mécanismes d'action immunologique variés selon la nature du transgène [20]. Ces VTGM permettent le recrutement, au site du vaccin, de cellules présentatrices d'antigène (macrophages, cellules dendritiques), d'effecteurs non spécifiques (éosinophiles, granuleux, NK), puis de lymphocytes CD4 et CD8 qui provoquent non seulement une réaction de type « hypersensibilité retardée » au niveau du site vaccinal, mais aussi des infiltrations de cellules mononucléées aux sites tumoraux et des régressions tumorales à distance chez la souris. L'utilisation de lysats ou de sonicats provenant de ces mêmes cellules pour charger les cellules dendritiques en immunogènes s'est avérée efficace dans de très rares études précliniques [21].

• Localisation/dose/durée d'exposition

Dans différents systèmes, R. Zinkernagel *et al.* ont montré que les conditions de présentation de l'antigène (c'est-à-dire sa localisation, sa dose et la durée de la stimulation) ont un rôle majeur dans l'induction et la régulation du devenir de la réponse immunitaire [22]. Pour le déclenchement d'une réponse CTL efficace, l'antigène doit être présenté aux lymphocytes T naïfs au niveau des organes lymphoïdes secondaires et donc y être véhiculé en quantité suffisante à un moment approprié par rapport à l'évolution du danger situé en périphérie. La dose d'antigène [23] et la co-stimulation sont interdépendantes pour le devenir de la

réponse immunitaire. De plus, les travaux récents de quantification de l'équipe de Lanzavecchia ont démontré que la durée de la stimulation antigénique était un facteur déterminant l'activation ou la délétion d'un lymphocyte T naïf ou effecteur. La co-stimulation facilite et accélère l'activation et réduit le taux d'apoptose ou d'épuisement lymphocytaire [24]. La technique d'immunisation devra tenir compte de ces paramètres. Ainsi, les cellules dendritiques pulsées, ou l'ADN nu et les vecteurs viraux recombinants, les antigènes tumoraux et vaccins tumoraux génétiquement modifiés font intervenir par présentation croisée les cellules présentatrices de l'hôte. Celles-ci sont électivement capables de macropinocytose (favorisant le passage endosol-cytosol et la translocation des peptides sur les complexes CMH de classe I nouvellement synthétisés) et de migration vers les zones riches en lymphocytes T des organes lymphoïdes secondaires. La distribution spatiale des sites vaccinaux (un contre plusieurs territoires ganglionnaires lymphatiques) et la voie d'administration (sous-cutanée contre intradermique) sont aussi des paramètres importants, comme cela a été démontré dans des études précliniques [23]. En effet, plusieurs injections intradermiques à des sites variés semblent optimales pour la mise en route des réponses immunitaires cellulaires engendrées par les VTGM.

• Formulation vaccinale et adjuvants

Sans détailler les caractéristiques des différents adjuvants en cours de développement, il est important de noter que, quel que soit l'agent vaccinal, un traitement immunothérapeutique antitumoral cherche à induire conjointement une réponse CTL et une polarisation Th1 de la réponse immunitaire. La formulation vaccinale en elle-même influence la polarisation de la réponse CD4. L'immunisation par ADN plasmidique [16] favorise des réponses CD4 polarisées alors que l'injection d'ADN couplé à des billes d'or par le canon à particules favorise une réponse de type Th2 avec production d'IgG1 et d'IgE. De même, l'injection de protéines

déclencherait davantage des réactions CD4 de polarité Th2.

Afin d'induire une réponse auxiliaire, les vaccins optimaux doivent non seulement contenir des épitopes CTL spécifiques de tumeurs mais aussi des peptides *helper* (auxiliaires). L'utilisation de certaines cytokines (IL-2, IL-12), d'anticorps monoclonaux ou d'adjuvants synthétiques influencent la différenciation des précurseurs CTL pendant l'immunisation. L'adjuvant MF59, une émulsion huile dans eau dénuée d'effets secondaires, est capable d'augmenter très significativement les titres d'anticorps neutralisants contre des antigènes recombinants. Les dérivés QS21 et SBAS2-4, composés de sels d'aluminium, de lipides monophosphorylés A et d'une fraction purifiée de saponine, sont capables de déclencher des hypersensibilités retardées ainsi que d'augmenter les niveaux d'anticorps neutralisants et d'induire des réponses CTL spécifiques d'antigènes. Ces adjuvants qui permettent donc une puissante réaction d'hypersensibilité retardée de type Th1 et la montée d'anticorps neutralisants sont en phase III pour les maladies infectieuses. L'IL-12 est un adjuvant vaccinal intéressant: (1) elle induit des réponses Th1 spécifiques d'antigène; (2) elle module (augmentation des taux et commutation isotypique) les réponses humorales avec production, par les lymphocytes B en situation d'IFN γ , d'IgG2 α , IgG2 β , IgG3; (3) à des doses calibrées, elle induit des réponses CTL spécifiques d'antigène tumoral chez l'hôte porteur de tumeurs [25].

Cellule présentatrice d'antigène

• Les cellules dendritiques

La présentation de l'antigène par la cellule tumorale est le plus souvent inefficace et la qualité de la cellule présentatrice d'antigène professionnelle recrutée va conditionner le devenir de la réponse immunitaire. Dans les réponses antitumorales, les lymphocytes B n'exercent que rarement un rôle favorable sur l'activité des lymphocytes T CD4 et/ou CD8 et Qin *et al.* ont même récemment évoqué leur contribution délétère [26]. Contrairement aux lymphocytes B et

aux macrophages, les cellules dendritiques [27] sont capables: (1) de stimuler, au stade mûr, des lymphocytes T naïfs *in vitro* et *in vivo* avec une grande efficacité; (2) par leur pouvoir de macropinocytose caractéristique du stade immature, d'apprêter des antigènes exogènes, favorisant la présentation croisée restreinte par les molécules du CMH de classe I et/ou II [28]; (3) par leur pouvoir migratoire exceptionnel vers les organes lymphoïdes secondaires, de régler l'activation des lymphocytes T ([29] et voir l'article de S. Amigorena, p. 931 de ce numéro). L'ensemble de ces caractéristiques font des cellules dendritiques des effecteurs clés de l'induction d'une réponse antitumorale.

Le groupe d'O'Garra [30] a montré que les cellules dendritiques permettaient la différenciation des lymphocytes T vers un profil Th1 sécréteur d'IFN γ *in vitro* de façon dépendante de l'IL-12. Mais la présence d'IFN α (par exemple suivant l'infection virale des cellules dendritiques) dans le milieu empêche la réponse auxiliaire de dévier, favorise la sécrétion d'IL-10 et entraîne un profil Th2 par blocage de la production d'IL-12 [31]. *In vivo*, l'administration de cellules dendritiques pulsées par des peptides tumoraux est associée à des effets antitumoraux dépendants des lymphocytes CD4 et CD8 et à un profil de cytokines de type Th1 dans la rate et les ganglions drainants [30, 32]. De façon intéressante, l'administration de Flt3L permet la production de nombres importants de cellules dendritiques immatures myéloïdes et lymphoïdes [33], et la différenciation de réponses lymphocytaires T spécifiques d'antigène de type Th1. En revanche, l'administration de GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) autorisant l'amplification modérée des cellules dendritiques myéloïdes, favorise le développement de réponses immunitaires Th2. *In vitro*, les cellules utilisées comme cellule présentatrice d'antigène pour produire de grands nombres de CTL spécifiques de peptides à partir de très faibles nombres de précurseurs (comme ceux spécifiques de MAGE) sont significativement plus efficaces que les lymphocytes B ou les monocytes [34]. Les CTL ainsi mis en expansion

lysent des cibles présentant le peptide naturellement apprêté.

De nombreuses études précliniques chez les rongeurs porteurs de tumeurs suggèrent la capacité des cellules dendritiques de mettre en route et d'amplifier des réponses immunitaires antitumorales dans les tumeurs solides et dans les lymphomes. Cependant, il faut préciser que les outils de déplétion spécifique des différentes sous-populations de cellules dendritiques n'existent pas, hormis les déplétions induites par le ganciclovir [35]. Les études reposent donc sur des injections ou des amplifications de cellules dendritiques et leurs conséquences sur la réponse antitumorale de l'animal; elles sont réalisées avec des visées prophylactiques ou curatives de faibles volumes tumoraux. Avant leur administration, les cellules dendritiques sont pulsées par des peptides tumoraux ou par des antigènes solubles, chargées par des lysats ou des sonicats de cellules, voire co-cultivées en présence de cellules tumorales éventuellement génétiquement modifiées par des ARN ou des ADNc codant pour des TAA ou des cytokines. L'administration de Flt3L qui amplifie les cellules dendritiques *in vivo* permet l'arrêt de la croissance tumorale jusqu'à élimination complète de tumeurs préétablies très immunogéniques. Ces effets antitumoraux sont en grande partie induits par les lymphocytes T CD8⁺ [36]. Les tumeurs d'hôtes traités par Flt3L sont fortement infiltrées par les cellules dendritiques (CD11c⁺, CMH de classe II⁺, DEC205⁺) de façon transitoire, mais aussi par des cellules mononucléées (CD4, CD8). Nous avons mis en évidence, de façon surprenante, que Flt3L permettait la régression de tumeurs n'exprimant pas les molécules du CMH de classes I/II par une stimulation de l'activité NK. En réalité, Flt3L développe non seulement majoritairement les cellules dendritiques (lymphoïdes) mais aussi les cellules NK qui infiltrent alors surtout le foie. Les effets antitumoraux du Flt3L dépendants des cellules NK sont liés à l'activité stimulatrice des cellules dendritiques sur les NK. Nous avons montré que les cellules dendritiques « déclenchées » dans certaines conditions de culture, induisent la sécrétion d'IFN γ et la cytotoxicité contre différentes lignées

tumorales *in vitro*. De plus, chez le rat et chez l'homme, certaines conditions de culture des cellules dendritiques règlent positivement l'expression de NKRP1a qui entraîne *in vitro* la lyse des cellules cibles par une activité NK directement exercée par les cellules dendritiques [37]. L'inefficacité des cellules dendritiques chez les hôtes ayant développé des tumeurs peut s'expliquer par : (1) l'altération de leur différenciation endogène (rôle néfaste du VEGF, M-CSF, IL-6, p40-LAIR) ; (2) par un phénotype mûr anormal (absence du CD80, CD86, présence d'IL-10). Chez l'homme, des essais cliniques utilisant des cellules dendritiques provenant du sang circulant ou différenciées *ex vivo* en présence de cytokines se sont avérés très prometteurs et de nombreuses études de phase II sont en cours [38-40].

• **Les exosomes de cellules dendritiques : un compartiment cellulaire libéré et immunogène**

Les cellules dendritiques sont incontestablement des cellules présentatrices d'antigène très puissantes pour la sensibilisation de lymphocytes T naïfs *in vitro* et *in vivo*. Ces propriétés sont attribuées à la forte expression membranaire des molécules du CMH de classe I et II, des molécules d'adhérence, de co-stimulation, et à la sécrétion de chimiokines et de cytokines Th1. Par ailleurs, des études ultrastructurales ont montré que les cellules dendritiques peuvent sécréter des vésicules de 60 à 80 nm de diamètre par processus de fusion de la membrane externe des corps multivésiculaires – compartiments enrichis en molécules du CMH de classe II – avec la membrane plasmique. Des immunomarquages ont révélé la présence de marqueurs endosomiques tels que les tétraspanines CD63 et CD82, les molécules du CMH de classe II, le CD86 et, de façon surprenante, des molécules de classe I du CMH. Ces vésicules appelées « exosomes » sont, de fait, très efficaces pour stimuler des lymphocytes T spécifiques d'antigènes de façon restreinte au CMH de classe II [41], mais aussi des clones CTL spécifiques d'épitopes restreints au CMH de classe I. Nous avons montré que seules les cellules dendritiques

immatures, douées d'un haut potentiel de renouvellement membranaire et de macropinocytose, par opposition aux cellules dendritiques mûres, sécrètent fortement ce type de vésicules présentatrices d'antigènes et que ces exosomes sont, par eux-mêmes, capables de promouvoir une réponse lymphocytaire T cytotoxique spécifique d'antigène tumoral chez la souris [42]. En effet, les exosomes provenant de cellules dendritiques pulsées par des peptides tumoraux induisent la sensibilisation de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques de tumeurs *in vivo* pouvant conduire à l'éradication de tumeurs murines préétablies (modèles P815 et TS/A) et représentent une alternative séduisante à la thérapie cellulaire. L'injection intradermique de 2-5 µg de protéines exosomales correspondant à un million de cellules dendritiques immatures cultivées en GM-CSF+IL-4 arrête la croissance tumorale chez la souris [43]. Les cellules dendritiques immatures pourraient donc interagir à distance avec d'autres cellules du système immunitaire et les exosomes pourraient constituer une nouvelle forme d'immunothérapie active spécifique antitumorale.

Co-stimulation lors de la mise en route et du maintien des lymphocytes T

L'absence d'immunogénicité de la plupart des tumeurs est notamment due à l'absence à leur surface de molécules dites de « co-stimulation ». En effet, pour qu'il y ait transduction du signal d'activation d'un lymphocyte T lors de l'induction de la réponse immunitaire, et non anergie ou ignorance, l'antigène doit être présenté avec des molécules dites de « co-stimulation » (CD28/B7, famille du récepteur du TNFα incluant CD27, CD40, OX-40, 4-1BB...). Par exemple, la transfection d'une cellule tumorale par B7 (agissant en synergie avec la co-transfection des gènes de l'IL-12 ou des molécules de classe II) la rend immunogène. Elle perd son pouvoir tumorigène et rend l'hôte immun contre la même tumeur non transfectée. Les cellules dendritiques représentent des adjuvants naturels idéaux de par la gigantesque panoplie de molécules de co-stimulation à leur membrane qu'elles présentent au stade mûr (voir ci-dessus).

Les travaux de S. Swain [44] étudiant les exigences différentielles de signaux de co-stimulation pour les lymphocytes CD4 naïfs, les CD4 Th1 ou Th2 effecteurs, les Th1 ou Th2 mémoires et les Th1 ou Th2 mémoires, effecteurs ont permis d'éclaircir certains points : (1) la réponse naïve est réglée très étroitement par la présence de multiples signaux de co-stimulation sur la cellule présentatrice d'antigène ; (2) la prolifération et la sécrétion de cytokines par les effecteurs est indépendante de la co-stimulation ; (3) en l'absence d'IL-2 et de TGFβ, les effecteurs polarisés Th1 meurent rapidement d'apoptose induite par Fas/FasL, alors que (4) les effecteurs polarisés Th2 ne subissent pas cette apoptose rapide, ont une longue prédominance *in vitro* dans les cultures mixtes Th1-Th2 et dictent le devenir de la réponse immunitaire ; (5) les effecteurs primaires et mémoires se conduisent de façon identique ; (6) certains lymphocytes effecteurs échappent à l'apoptose et deviennent des lymphocytes mémoires indépendamment de toute restimulation avec l'antigène.

Recrutement des cellules présentatrices d'antigène et des lymphocytes au cours de la réponse antitumorale

En particulier pour les tumeurs solides, le recrutement des effecteurs antitumoraux aux sites primaires et métastatiques est capital pour la mise en place et l'efficacité d'une réponse immunitaire antitumorale. En cela, les cellules dendritiques sont optimales pour leur capacité, sous forme immatures, à capturer les antigènes aux sites et à migrer à travers les tissus de la périphérie jusqu'aux aires riches en lymphocytes T de la rate et des ganglions. Les chimiokines sont les agents-clés de ces migrations. Il s'agit d'une superfamille de facteurs chimio-attracteurs agissant sur les leucocytes, distinguant plusieurs sous-familles [45]. La spécificité de leur activité cellulaire repose sur leur structure, en particulier les C, CC, CX3C et les CXC (voir l'article de M. Samson *et al.*, p. 966 de ce numéro) agissent préférentiellement sur les lymphocytes, sur les lymphocytes et monocytes ou sur les neutrophiles. Leurs récepteurs à 7 domaines trans-

Tableau I							
PRINCIPAUX ESSAIS CLINIQUES D'IMMUNOTHÉRAPIE							
Vaccin	Cancer	Référence	Réponses cliniques	HSR/IDR	Fréquence CTLp	Réponse humorale	IHC-Biopsies
Peptides							
Mage 3 (A1)	MM	[49]	3 RP/6	+	–	ND	ND
MelanA/MART-1 (A2) tyrosinase (A2) gp 100 (A2) ± GM-CSF	MM	[50]	3 RP/3	+(avec GM-CSF)	/	ND	CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , Th1
gp 100 (A2)	MM	[51]	–	ND	/ 3/6	ND	ND
MelanA/MART 1-(A2) + IFA	MM	[52]	0/18	±	/ 15/18	ND	ND
g209-217 (natif) + IFA (A2)	MM	[9]	0/9	ND	/ 2/8	ND	ND
g 209-2M (muté) + IFA (A2)	(A2)	[9]	0/11		/ 10/11	ND	ND
g 209-2M (muté) + IFA+IL-2 (A2)		[9]	13/31 RP		/ 0/31		
MUC-1 (105 aa) + BCG	Sein	[53]	0	+	/ 7/22	ND	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 55/55
MUC-1 (16aa) + KLH+DETOX	Sein	[54]	en cours	ND	/ 7/11	3/16 anti-MUC IgG 16/16 anti-KLH IgG	ND
K-ras mutés + PBL ou GM-CSF	Côlon/ Pancréas	[55]	stable / du poids 50 %	+	/ 20/34 avec GM-CSF	ND	CD4 ⁺ /infiltrats
Cellules dendritiques							
DC- du sang (idiotype spécifique + KLH)	Lymphomes B	[38]	1/4 RC 2/4 RP	ND	/ CD8 ⁺ : 1/4 / CD4 ⁺ : 4/4	IgG anti-KLH mais pas anti- idiotype	ND
MD-DC + PSMA (GM-CSF, IL-4) (A2) (randomisé)	Prostate	[40]	7/51 RP	ND	ND	ND	ND
MD-DC + tyrosinase, gp 100, MART-1, Lysats (GM-CSF, IL-4) A1, (A2)	MM	[39]	2/6 RC-RP Tyr, gp 100, MART-1 1/6 RP Mage 3/6 RC-RP lysats	/ 8/16 / 2/16	/ CD8 ⁺ anti- MART: 2/8 –	Anticorps anti- thyroglobuline et antinucléaire	CD4 ⁺ , CD8 ⁺
Thérapie génique							
Adénoβgal + chimio	Poumon non à petites cellules	[18]	8/12 RP	ND	/ 3/3 anti-adéno et anti-βgal	/ 6/6 IgG anti- adéno et 5/6 anti-βgal	ND
Cellules tumorales autologues recombinant GM-CSF (randomisé)	Rein	[56]	1/9 RP GM-CSF 0/10 sans GM-CSF	4/9 GM-CSF 4/10 sans GMCSF	ND	ND	Éosinophiles +++ avec GM-CSF
Fibroblastes allogéniques recombinant IL-2 + Cellules autologues tumorales	Toutes tumeurs	[57]	0/15	Pas de différence entre le site d'IDR tumeur seule contre tumeurs + fibroblaste IL-2	1/2 RCC 2/7 MM	ND	CD3+++ CD4++
Mélanome allogénique irradié recombinant IL-2	MM	[58]	3/12 RM	ND	/ 3/12 CD4 ⁺ CD8 ⁺	ND	ND
Virus de la vaccine recombinant E6-E7	Col utérin	[59]	0/8	ND	1/3 HPV CTL spécifique d'HPV	3/8 spécifique de HPV 8/8 spécifique de vaccinia	ND

MM: mélanome; RCC: cancer du rein; MD-DC: cellules dendritiques dérivées de monocytes; ND: non déterminé; (A1), (A2): HLA-A1, HLA-A2; IFA: adjuvant incomplet de Freund; PBL: lymphocytes périphériques; HSR/IDR: hypersensibilité retardée-intradermoréaction; CTLp: précurseur de lymphocyte T cytotoxique; IHC: immuno-histochimie.

membranaires sont sélectivement exprimés sur ces différentes sous-populations hématopoïétiques, conférant ainsi une sensibilité aux différentes chimiokines. L'expression différentielle de ces récepteurs sur les cellules dendritiques au cours de leur maturation pourrait expliquer le potentiel migratoire des cellules dendritiques, d'une part, pour être recrutées dans les tissus aux sites lésionnels et, d'autre part, pour quitter ces tissus et aller vers les organes lymphoïdes [46]. Les chimiokines agissent également sur le recrutement des lymphocytes et il est intéressant de noter que certaines chimiokines sont produites sélectivement par les cellules dendritiques comme, en particulier la DC-CK1 qui est responsable du recrutement de lymphocytes T naïfs [47]. Le recrutement des effecteurs aux sites tumoraux, d'une part, et la migration des cellules présentatrices d'antigène vers les organes lymphoïdes secondaires, d'autre part, constituent donc des cibles prometteuses d'une immunomanipulation visant à induire et à maintenir une réponse immunitaire antitumorale efficace.

Leçons tirées des essais thérapeutiques chez l'homme

Des essais pilotes, de phase I et II, ont été réalisés et sont résumés dans le *Tableau I*. Si le principe de l'efficacité biologique a pu être validé (sécrétion d'une protéine bioactive dans le cadre du transfert de gènes, augmentation de la fréquence de précurseurs lymphocytaires spécifiques dans certains cas) sans réelle toxicité dépendante de la dose, le principe de l'efficacité clinique reste à démontrer sur de plus grands effectifs. Mais, a-t-on réellement démontré que ces vaccins entraînent l'induction de lymphocytes effecteurs ou mémoires spécifiques de tumeurs ? Et si oui, l'augmentation du nombre de lymphocytes spécifiques d'antigène engendrée par ces vaccins est-elle corrélée à un bénéfice clinique ? Ces essais (peptidiques, protéiques, de thérapie génique) ont permis d'observer dans le mélanome métastatique : (1) des réactions d'hyper-sensibilité retardée (IDR-HSR) accentuée au fil des injections vaccinales ; (2) des réponses CTL contre

MART-1, gp100, tyrosinase ; (3) une nette augmentation des réponses CTL et des IDR-HSR avec l'utilisation concomitante de GM-CSF ; (4) la présence d'infiltrats inflammatoires CD4, CD8 (et éosinophiles si le GM-CSF est utilisé) et la présence d'IL-2 et d'IFN γ (Th1) par immuno-histologie de sites vaccinaux d'IDR-HSR. Bien que quelques réponses cliniques objectives et des stabilisations aient été notées chez quelques individus HLA-A2, la grande majorité de ces patients porteurs de mélanomes n'ont pas, après traitement, une survie prolongée. En revanche, un petit tiers des patients HLA-A1 vaccinés avec MAGE ont eu des réponses cliniques objectives, très retardées (au-delà du troisième mois), au niveau des sites cutanés mais aussi viscéraux. Dans une étude récente de Rosenberg, il est montré pour la première fois une réactivité CTL anti-auto-antigène avec : (1) une augmentation nette de la fréquence des précurseurs anti-gp100 (antigènes du soi) passant de 1/30 000 ou indétectable avant immunisation à 1/5 900-1/2 800 après immunisation ; (2) des réponses cliniques objectives chez 42 % des mélanomes métastatiques avec forte masse tumorale dans des sites réputés réfractaires (cerveau, foie, muscles) dans les combinaisons associant IL-2 et g209-2M (analogue de gp100 plus immunogène). Cependant, MART-1 reste un exemple paradoxal de co-existence d'une réactivité CTL spécifique de tumeur et de la progression de cette tumeur *in vivo*. En effet, malgré des essais de vaccinations variés avec un peptide immunodominant issu de l'antigène MART-1, aucune réponse clinique objective n'a été enregistrée alors que la fréquence des précurseurs spécifiques cytolytiques a augmenté. Des mécanismes impliqués dans le contrôle des lymphocytes T autoréactifs *in vivo* pourraient jouer un rôle dans la régulation de l'activité antitumorale chez les patients vaccinés avec un antigène tumoral du soi. De plus, des analogues naturels de MART-1 jouant le rôle d'agonistes partiels voire d'antagonistes ont été trouvés (séquences peptidiques de hCD9, HSV-1 et 2, de *E. coli*, B. polymyxa, adénovirus 9Kgp, levure...) et pourraient régler négativement la réactivité cytolytique antitumorale de ces

précurseurs spécifiques de MART-1 [12]. Les nouveaux outils très performants de suivi immunologique (tétramères solubles, Elispot) permettant la quantification des précurseurs de CTL à des cinétiques et à des localisations variées, apporteront des éléments de réponse à ce paradoxe [48].

Conclusions

L'immunisation permet actuellement de déclencher ou d'augmenter des réponses immunitaires cytotoxiques qui deviendront facilement mesurables. Des exemples d'immunosélection (perte de l'antigène tumoral ou des motifs CMH classe I) *in vivo*, spontanée ou secondaire à une immunothérapie spécifique ont été rapportés, rassurant sur la signification immunologique des antigènes identifiés mais aussi soulignant la nécessité d'expansion, d'activation et de recrutement non seulement de CTL mais aussi d'effecteurs lymphocytaires CD4⁺, de NKT et NK, voire d'éosinophiles ■

Remerciements

Nous remercions V. Lacabanne pour ses conseils avisés. Les travaux dans les laboratoires des auteurs ont été partiellement subventionnés par le contrat ARC 1280 et par une subvention de la Ligue Nationale pour la Recherche contre le Cancer.

RÉFÉRENCES

1. Boon T, Coulie PG, Van den Eynde B. Tumor antigens recognized by T cells. *Immunol Today* 1997; 18: 267-8.
2. Rosenberg SA. Cancer vaccines based on the identification of genes encoding cancer regression antigens. *Immunol Today* 1997; 18: 175-82.
3. Lanzavecchia A. Licence to kill. *Nature* 1998; 393: 413-4.
4. Moretta A, Biassoni R, Bottino C, et al. Major histocompatibility complex class I-specific receptors on human natural killer and T lymphocytes. *Immunol Rev* 1997; 155: 105-17.
5. Cui J, Shin T, Kawano T, et al. Requirement for Val4 NKT cells in IL-12 mediated rejection of tumors. *Science* 1997; 278: 1623-6.
6. Chouaib S, Asselin-Paturel C, Mami-Chouaib F, Caignard A, Blay JY. The host-tumor immune conflict: from immunosuppression to resistance and destruction. *Immunol Today* 1997; 18: 493-7.

RÉFÉRENCES

7. Groux H, Ogarra A, Bigler M, *et al.* A CD4(+) T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997; 389: 737-42.
8. Ikeda H, Lethe B, Lehmann F, *et al.* Characterization of an antigen that is recognized on a melanoma showing partial HLA loss by CTL expressing an NK inhibitory receptor. *Immunity* 1997; 6: 199-208.
9. Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ, *et al.* Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nat Med* 1998; 4: 321-7.
10. Apostolopoulos V, Lofthouse SA, Popovski V, Chelvanayagam G, Sandrin MS, McKenzie IF. Peptide mimics of a tumor antigen induce functional cytotoxic T cells. *Nat Biotechnol* 1998; 16: 276-80.
11. Faure F, Even J, Kourilsky P. Tumor-specific immune response: current *in vitro* analyses may not reflect the *in vivo* immune status. *Crit Rev Immunol* 1998; 18: 77-86.
12. Rivoltini L, Loftus DJ, Squarcina P, *et al.* Recognition of melanoma-derived antigens by CTL: possible mechanisms involved in downregulating antitumor T cell reactivity. *Crit Rev Immunol* 1998; 18: 55-63.
13. Bettinotti MP, Kim CJ, Lee KH, *et al.* Stringent allele/epitope requirements for MART-1/MelanA immunodominance: implications for peptide-based immunotherapy. *J Immunol* 1998; 161: 877-89.
14. Disis ML, Gralow JR, Bernhard H, Hand SL, Rubin, WD, Cheever, MA. Peptide based, but not whole protein, vaccines elicit immunity to HER2/neuoncogenic self protein. *J Immunol* 1996; 156: 3151-8.
15. Toes RE, Offringa R, Blom RJ, Melief CJ, Kast WM. Peptide vaccination can lead to enhance tumor growth through specific T cell tolerance induction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7855-60.
16. Donnelly JJ, Liu MA. DNA vaccines: immunogenicity, mechanisms, and preclinical efficacy. *Res Immunol* 1998; 149: 59-62.
17. Boczkowski D, Nair SK, Snyder D, Gilboa E. Dendritic cells pulsed with RNA are potent antigen-presenting cells *in vitro* and *in vivo*. *J Exp Med* 1996; 184: 465-72.
18. Tursz T, Cesne AL, Baldeyrou P, *et al.* Phase I study of a recombinant adenovirus-mediated gene transfer in lung cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1857-63.
19. Kraehenbuhl JP, Hopkins S, Cortesys-Theulaz I, Nardelli-Haeffliger D. Recombinant Salmonella as vaccine carriers. *Res Immunol* 1998; 149: 87-90.
20. Forni G, Cavallo F, Consalvo M, *et al.* Molecular approaches to cancer immunotherapy. *Cytokines Mol Ther* 1995; 1: 225-48.
21. Fields RC, Shimizu K, Mulé JJ. Murine dendritic cells pulsed with whole tumor lysates mediate potent antitumor immune responses *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9482-7.
22. Zinkernagel RM, Ehl S, Aichele P, Oehen S, Kündig T, Hengartner H. Antigen localisation regulates immune responses in a dose- and time-dependent fashion: a geographical view of immune reactivity. *Immunol Rev* 1997; 156: 199-209.
23. Jaffee EM, Thomas MC, Huang AY, Hauda KM, Levitsky HI, Pardoll DM. Enhanced immune priming with partial distribution of paracrine cytokine vaccines. *J Immunother* 1996; 19: 176-83.
24. Lezzi G, Karjalainen K, Lanzavecchia A. The duration of antigenic stimulation determines the fate of naive and effector T cells. *Immunity* 1998; 8: 89-95.
25. Sturmhoefel K, Lee K, Toole MO, Swiniarski HM, Dörner AJ, Wolf SF. IL-12 as vaccine adjuvant. *Res Immunol* 1998; 149: 37-9.
26. Qin Z, Richter G, Schüller T, Ibe S, Cao X, Blankenstein T. B cells inhibit induction of T cell-dependent tumor immunity. *Nat Med* 1998; 4: 627-30.
27. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-52.
28. Heath WR, Kurts C, Miller JF, Carbone FR. Cross-tolerance: a pathway for inducing tolerance to peripheral tissue antigens. *J Exp Med* 1998; 187: 1549-53.
29. Steinman RM, Pack M, Inaba K. Dendritic cells in the T-cell areas of lymphoid organs. *Immunol Rev* 1997; 156: 25-37.
30. Macatonia S, Hosken NA, Litton M, *et al.* Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4⁺ T cells. *J Immunol* 1995; 154: 5071-9.
31. Ria F, Penna G, Adorini L. Th1 cells induce and Th2 inhibit antigen-dependent IL-12 secretion by dendritic cells. *Eur J Immunol* 1998; 28: 2003-16.
32. Zitvogel L, Mayordomo JI, Tjandrawan T, *et al.* Therapy of murine tumors with tumor peptide-pulsed dendritic cells: dependence on T cells, B7 costimulation, and T helper cell 1-associated cytokines. *J Exp Med* 1996; 183: 87-97.
33. Maraskovsky E, Brasel K, Teepe M, *et al.* Dramatic increase in the number of functionally mature dendritic cells in Flt3 ligand-treated mice: multiple dendritic cell subpopulations identified. *J Exp Med* 1996; 184: 1953-62.
34. Tsai V, Kawashima I, Keogh E, Daly K, Sette A, Celis E. *In vitro* immunization and expansion of antigen-specific CTLs for adoptive immunotherapy using peptide-pulsed dendritic cells. *Crit Rev Immunol* 1998; 18: 65-75.
35. Salomon B, Lorès P, Pioche C, Racz, P, Jami, J, Klatzmann D. Conditional ablation of dendritic cells in transgenic mice. *J Immunol* 1994; 152: 537.
36. Lynch DH. Induction of dendritic cells by Flt3L promotes the generation of tumor-specific immune responses *in vivo*. *Crit Rev Immunol* 1998; 18: 99-107.
37. Josien R, Heslan M, Soulillou JP, Cuturi MC. Rat spleen dendritic cells express natural killer receptor protein 1 and have cytotoxic activity to select targets *via* Ca²⁺-dependent mechanism. *J Exp Med* 1997; 186: 467-72.
38. Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, *et al.* Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1996; 2: 52-8.
39. Nestle FO, Alijagic S, Gilliet M, *et al.* Vaccination of melanoma patients with peptide or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1998; 4: 328-32.
40. Tjoa BA, Erickson SJ, Bowes VA, *et al.* Follow-up evaluation of prostate cancer patients infused with autologous dendritic cells pulsed with PSMA peptides. *Prostate* 1997; 32: 272-8.
41. Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, *et al.* B lymphocytes secrete antigen presenting vesicles. *J Exp Med* 1996; 183: 1161-72.
42. Regnault A, Raposo G, Amigorena S, Zitvogel L. Immunothérapie antitumorale par les exosomes de cellules dendritiques. *Med Sci* 1998; 14: 826-7.
43. Zitvogel L, Regnault A, Lozier A, *et al.* Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med* 1998; 4: 594-600.
44. Carter LL, Zhang X, Dubey C, Rogers P, Tsui L, Swain SL. Regulation of T cell subsets from naive to memory. *J Immunother* 1998; 21: 181-7.
45. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 675-705.
46. Sozzani S, Allavena P, D'Amico G, *et al.* Differential regulation of chemokine receptors during dendritic cell maturation: a model for their trafficking properties. *J Immunol* 1998; 161: 1083.
47. Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R, *et al.* A dendritic cell-derived C-C chemokine that preferentially attracts naïve T cells. *Nature* 1997; 387: 713-7.
48. Romero P, Rod Dunbar P, Valmori D, *et al.* *Ex vivo* staining of metastatic lymph nodes by class I MHC tetramers reveals high numbers of antigen-experienced tumor-specific cytolytic T lymphocytes. *J Exp Med* 1998; 188: 1641-50.
49. Marchand M, *et al.* Tumor regression responses in melanoma patients treated with a peptide encoded by gene MAGE-3. *Int J Cancer* 1995; 63: 883-5.
50. Jager E, *et al.* Granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor enhances immune responses to melanoma-associated peptides *in vivo*. *Int J Cancer* 1996; 67: 54-62.
51. Salgaller ML, *et al.* Immunization against epitopes in the human melanoma antigen gp100 following patient immunization with synthetic peptides. *Cancer Res* 1996; 56: 4749-57.

ADCC: antibody-dependent cell toxicity, cytotoxicité dépendante de la présence d'anticorps.

ALVAC/NYVAC: générations successives de canarypoxvirus recombinants défectueux pour la réplication induisant plus ou moins l'apoptose des cellules transduites.

CMH: complexe majeur d'histocompatibilité.

CPA: cellule présentatrice d'antigène

CTL: lymphocyte T cytotoxique.

CTLp: précurseur de lymphocyte T cytotoxique.

KIR: killer cell inhibitory receptor, récepteur inhibiteur de la lyse NK.

NK: natural killer.

IDR-HSR: intradermoréaction-hypersensibilité retardée.

IFN: interféron.

PBMC: peripheral blood mononuclear cell, cellules mononucléées du sang périphérique.

TAA: tumor associated antigen, antigène associé aux tumeurs.

TAP: transporter associated with antigen processing, protéine associée au transport de peptides.

TCR: T cell receptor, récepteur de l'antigène des lymphocytes T.

Th: lymphocyte T CD4⁺ auxiliaire

TIL: lymphocyte T infiltrant les tumeurs.

VEGF: vascular endothelial growth factor, facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

VTGM: vaccins tumoraux génétiquement modifiés.

RÉFÉRENCES

52. Cormier JN, *et al.* Enhancement of cellular immunity in melanoma patients immunized with a peptide from MART-1/Melan A. *Cancer J Sci Am* 1997; 3: 37-44.

53. Goydos JS, *et al.* A phase I trial of a synthetic mucin peptide vaccine. Induction of specific immune reactivity in patients with adenocarcinoma. *J Surg Res* 1996; 63: 298-304.

54. Reddish M, *et al.* Anti-MUC1 class I restricted CTLs in metastatic breast cancer patients immunized with a synthetic MUC1 peptide. *Int J Cancer* 1998; 76: 817-23.

55. Gjertsen MK, *et al.* *Ex vivo* ras peptide vaccination in patients with advanced pancreatic cancer: results of a phase I/II study. *Int J Cancer* 1996; 65: 450-3.

56. Simons JW, *et al.* Bioactivity of autologous irradiated renal cell carcavaccines generated by *ex vivo* granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene transfer. *Cancer Res* 1997; 57: 1537-46.

57. Veelken H, *et al.* A phase-I clinical study of autologous tumor cells plus interleukin-2-gene-transfected allogeneic fibroblasts as a vaccine in patients with cancer. *Int J Cancer* 1997; 27: 70: 269-77.

58. Arienti F, *et al.* Limited antitumor T cell response in melanoma patients vaccinated with interleukin-2 gene-transduced allogeneic melanoma cells. *Hum Gene Ther* 1996; 7: 1955-63.

59. Borysiewicz LK, *et al.* A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. *Lancet* 1996; 347: 1523-7.

Summary

Cancer immunotherapy

The field of immunotherapy moved forward with the recent advances in the cell biology of antigen presentation and molecular approaches to tumor antigen characterization. Whereas tumor cells were believed to be poor immunogens, a variety of tumor antigens have been recently characterized that are mostly self-Ag and the question comes: how to overcome self tolerance in cancer bearing patients? Single or string beads CTL defined epitope-based strategies proved useful for immunization in a variety of mouse tumor models and in human melanoma, along with adjuvants such as cytokines or dendritic cells. While the ultimate aim of immunotherapy is to induce lytic effector cells, optimal approaches should not only promote CTL priming but also potent auxiliary response. Recombinant tumor cells or dendritic cells and their exosomes as well as engineered viruses have been demonstrated to elicit specific antitumor immune responses leading to tumor growth suppression and long lasting immunity. Flt3L is an *in vivo* DC growth factor that offers novel options in the field of immunization. These immunotherapeutic approaches are being tested in clinical trials, evaluated with novel tools of immunomonitoring and open up novel avenues for disease free patients with poor prognosis factors. Innate immunity might modulate cognate immune responses allowing significant clinical regressions.

TIRÉS À PART

L. Zitvogel.