

## Modulation de l'immunité antitumorale par des anticorps *in vivo*

Un travail publié récemment dans la revue *Nature Medicine* par le groupe de Jeffrey V. Ravetch [1] met en évidence un rôle modulateur des anticorps anti-cellules tumorales sur l'immunité antitumorale *in vivo*. On attribue aux cellules cytotoxiques un rôle essentiel dans l'immunité antitumorale, et deux observations publiées au cours des dix dernières années ont fourni les bases moléculaires aux mécanismes par lesquels deux grandes catégories de lymphocytes, les cellules T cytotoxiques (CTL) et les cellules NK (*natural killer*), contribuent à la surveillance immunitaire en éliminant les cellules transformées [2]. L'identification de l'antigène MAGE sur des cellules de mélanome humain et la description de CTL reconnaissant les peptides dérivés de cet antigène, associés aux molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) [3], ont démontré que des CTL anti-tumeurs existent chez des malades porteurs d'un mélanome. La description, sur les cellules NK, de récepteurs inhibiteurs appartenant à la famille des KIR (*killer cell immunoglobulin-like receptors*) qui, lorsqu'ils reconnaissent les molécules de classe I du CMH sur les cellules cibles, inhibent la cytotoxicité exercée par ces cellules [4], a permis de comprendre la physiologie des cellules NK. Celles-ci épargnent en effet les cellules normales, qui expriment des molécules de classe I du CMH mais tuent des cellules tumorales ou des cellules infectées par un virus qui, parce qu'elles expriment moins de molécules de classe I du CMH, échappent aux CTL. Le rôle des anticorps dans l'immunité antitumorale est moins clair. Des anticorps sont produits

contre des tumeurs expérimentales, et des anticorps spécifiques peuvent être trouvés dans le sérum de malades porteurs de différentes tumeurs. Très étudiés dans les années 1950-1970, ces anticorps s'étaient révélés capables soit d'induire [5] soit, au contraire, de prévenir le rejet de tumeurs expérimentales [6]. L'effet protecteur des anticorps peut être, aujourd'hui, attribué à une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendant d'anticorps (ADCC). On sait en effet que les cellules NK, mais également des cellules myéloïdes comme les macrophages et les monocytes, sont capables de tuer des cellules recouvertes d'IgG dirigés contre des antigènes portés par ces cellules. Des anticorps contre des antigènes exprimés par des cellules tumorales commencent à être utilisés en thérapeutique anticancéreuse. Les mécanismes par lesquels les anticorps facilitent la croissance tumorale sont en revanche restés sans explication satisfaisante. Le travail de Jeffrey Ravetch apporte un élément de compréhension à ces effets paradoxaux des anticorps. L'explication réside dans la coexpression, par des cellules responsables de l'ADCC, de deux classes de récepteurs pour la portion Fc des IgG (RFc $\gamma$ ) doués de propriétés antagonistes.

Les activités biologiques des anticorps dépendent en effet, pour une grande part, de récepteurs exprimés par un très grand nombre de cellules d'origine hématopoïétique qui fixent la portion Fc des différentes classes d'immunoglobulines avec des affinités variables [7]. Il existe deux grandes catégories de RFc $\gamma$  dont les RFc $\gamma$ IIIa et les RFc $\gamma$ IIB sont les pro-

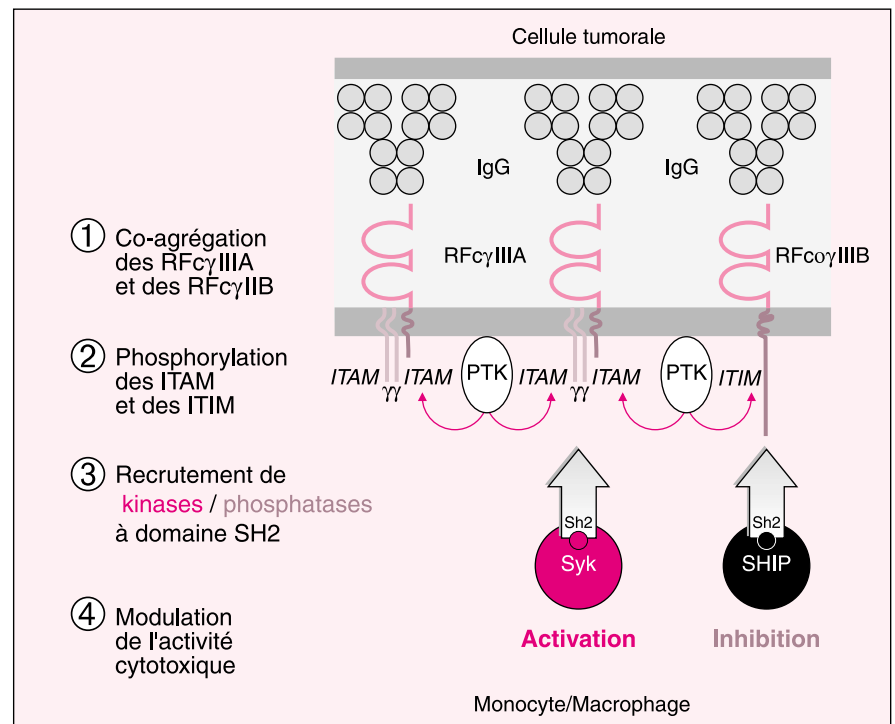
totypes. Les RFc $\gamma$ IIIa sont capables d'activer les cellules qui les expriment: ils stimulent, par exemple, l'ADCC exercée par les cellules NK, les monocytes et les macrophages. Les RFc $\gamma$ IIB, non seulement en sont incapables, mais peuvent au contraire inhiber l'activation cellulaire induite par les premiers. Les propriétés activatrices des RFc $\gamma$ IIIa sont dues à la présence, dans le domaine intracytoplasmique de la sous-unité  $\gamma$  qui leur est associée, de motifs d'activation appelés ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*). Des ITAM sont également portés par les autres RFc activateurs, qui sont associés à la même sous-unité  $\gamma$ , mais aussi par les récepteurs pour l'antigène exprimés par les lymphocytes B (BCR) et les lymphocytes T (TCR) [8]. Les propriétés inhibitrices des RFc $\gamma$ IIB sont dues à la présence, dans leur domaine intracytoplasmique, d'un motif d'inhibition appelé ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*). Des ITIM sont également portés par de nombreux récepteurs qui, comme les KIR inhibiteurs, inhibent l'activation cellulaire [9]. L'agrégation des récepteurs à ITAM par un ligand extracellulaire multivalent (des complexes immuns dans le cas des RFc $\gamma$ IIIa) induit la phosphorylation des résidus tyrosine des ITAM par une protéine tyrosine kinase de la famille *src*. La coagrégation des récepteurs à ITAM et des récepteurs à ITIM coexprimés par une même cellule, par un ligand commun (les complexes immuns se fixent aux RFc $\gamma$ IIIa et aux RFc $\gamma$ IIB) permet la phosphorylation simultanée des résidus tyrosine des ITAM et des ITIM, par la même kinase. Les ITAM et les ITIM phosphorylés recrutent alors des molécules cytoplasmiques possédant des domaines

SH2\* (*m/s* 1994, n° 6/7, p. 709). Les propriétés antagonistes des récepteurs à ITAM et des récepteurs à ITIM s'expliquent par la spécificité des ITAM et des ITIM phosphorylés. Les ITAM phosphorylés recrutent essentiellement des protéines tyrosine kinases qui stimulent les voies métaboliques conduisant à une élévation de la concentration intracellulaire de Ca<sup>2+</sup>, et des molécules adaptatrices qui couplent les récepteurs activés aux voies métaboliques conduisant à la transcription de gènes. Les ITIM phosphorylés recrutent uniquement des phosphatases. Les RFcγIIB recrutent des inositol phosphatases qui, en déphosphorylant des phospholipides nécessaires à la propagation intracellulaire des signaux délivrés par les récepteurs à ITAM, arrêtent les processus d'activation. En conséquence, ils inhibent l'activation induite par tous les récepteurs à ITAM [10] de même que la prolifération induite par les récepteurs pour des facteurs de croissance à activité protéine tyrosine kinase comme *c-kit* [11].

Jeffrey Ravetch *et al.* ont mis en évidence que les RFcγIIIA et les RFcγIIB exercent des effets antagonistes dans l'ADCC anti-tumorale exercée par les cellules myéloïdes *in vivo*. Ils ont étudié trois modèles expérimentaux. Le premier est un mélanome murin qui, lorsqu'il est injecté à des souris, métastase dans les poumons. La même équipe avait précédemment montré que des anticorps spécifiques d'un antigène de cette tumeur, administrés passivement ou activement synthétisés par le receveur, prévenaient le développement des métastases [12]. Le deuxième modèle est une lignée humaine de carcinome du sein transplantée chez des souris athymiques *nu/nu*. Les cellules de ce carcinome expriment le récepteur pour un facteur de croissance, HER-2/neu, et des anticorps dirigés contre ce récepteur, qui inhibent la croissance tumorale *in vitro* et *in vivo*, sont utilisés en thérapeutique sous l'appellation Trastuzumab (Herceptin®). Le troisième modèle est un lymphome B humain, lui aussi injecté à des souris *nu/nu*. Des anticorps anti-CD20, un marqueur des

cellules B, sont également utilisés en clinique chez des malades porteurs de lymphomes B sous le nom Rituximab (Rituxan®). Le travail de l'équipe américaine a consisté à transposer ces trois modèles dans des lignées de souris dont le gène codant la sous-unité γ des RFcγIIIA ou le gène codant les RFcγIIB avait été inactivé par recombinaison homologe et à évaluer l'effet thérapeutique des anticorps chez ces souris. Il montre que, dans les trois modèles, les anticorps ne protègent plus ou mal les souris γ<sup>-</sup> et qu'au contraire, les anticorps anti-mélanome ou anti-HER-2/neu protè-

gent mieux les souris RFcγIIB<sup>-</sup> portant les tumeurs correspondantes. Ces résultats mettent en lumière l'effet antagoniste des mêmes anticorps sur l'ADCC antitumorale selon qu'ils interagissent avec les RFcγIIIA et/ou les RFcγIIB sur les cellules effectrices (*figure 1*), et la régulation réciproque du fonctionnement de ces récepteurs *in vivo*. La régulation négative exercée par les RFcγIIB nécessite que ces récepteurs soient coagrégés avec les RFcγIIIA. Or, si les cellules NK, les monocytes et les macrophages expriment des RFcγIIIA, les monocytes et les macrophages expriment des RFcγIIB,



**Figure 1. Régulation de l'activité cytotoxique des macrophages et des monocytes par les récepteurs pour la portion Fc des IgG.** Les macrophages et les monocytes coexpriment des RFcγIIIA (activateurs) dont la sous-unité γ possède des ITAM, et des RFcγIIB (inhibiteurs) qui possèdent un ITIM. Lors de l'interaction de ces cellules avec une cellule tumorale recouverte d'anticorps, les RFcγIIIA et les RFcγIIB sont coagrégés dans un même complexe sur la membrane cellulaire. Cette coagrégation permet à une protéine tyrosine kinase (PTK) de la famille src de phosphoryler à la fois les tyrosines des ITAM et la tyrosine de l'ITIM. Les ITAM phosphorylés des RFcγIIIA recrutent, entre autres molécules, une protéine tyrosine kinase cytoplasmique à deux domaines SH2 (*syk*) qui stimule les voies conduisant à l'activation cellulaire, tandis que l'ITIM phosphorylé des RFcγIIB recrute une phosphatidylinositol phosphatase à domaine SH2 (SHIP) qui bloque la propagation du signal d'activation. L'activité cytotoxique des macrophages et des monocytes sur les cellules cibles recouvertes d'anticorps est la résultante d'un équilibre dynamique entre les processus d'activation et d'inhibition mis en route par les interactions entre RFcγIIIA et RFcγIIB.

\* Les domaines Sec homology 2 (SH2) ont une spécificité pour des résidus tyrosine phosphorylés, dans un contexte particulier. Ils sont portés par de nombreuses intracellulaires.

mais pas les cellules NK. Au moins dans ce modèle de mélanome et dans ce modèle de cancer du sein, les cellules responsables de l'ADCC antitumorale sont donc les cellules myéloïdes plus que les cellules NK. Ce travail souligne l'importance *in vivo* de ces cellules et de l'ADCC dans l'immunité antitumorale et en fait des cibles thérapeutiques potentielles pour des anticorps qui, idéalement, auraient une meilleure affinité pour les RFcγIIIA que pour les RFcγIIB.

1. Clynes RA, Towers LT, Presta LG, Ravetch JV. Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nat Med* 2000; 6: 443-6.
2. Zitgovel L, Faure F. L'immunité antitumorale: des concepts à l'immunothérapie active spécifique. *Med Sci* 1999; 15: 939-49.
3. Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. A gene encoding an antigen recognized by

cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991; 254: 1643-7.

4. Moretta A, Vitale M, Bottino C, et al. P58 molecules as putative receptors for major histocompatibility complex (MHC) class I molecules in human natural killer (NK) cells. Anti-p58 antibodies reconstitute lysis of MHC class I-protected cells in NK clones displaying different specificities. *J Exp Med* 1993; 178: 597-604.
5. Kinsky R, Chouroulinkov I, Voisin GA. Complete *in vivo* destruction of allografted sarcoma 1 cells by circulating antibodies. *Transplantation* 1970; 10: 450-7.
6. Voisin GA, Kinsky RG, Jansen F. Transplantation immunity: localization in mouse serum of antibodies responsible for hemagglutination, cytotoxicity and enhancement. *Nature* 1966; 210: 138-40.
7. Daëron M. Fc receptor biology. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 203-34.
8. Reth MG. Antigen receptor tail clue. *Nature* 1989; 338: 383-4.
9. Vivier E, Daëron M. Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs. *Immunol Today* 1997; 18: 286-91.

10. Daëron M, Latour S, Malbec O, et al. The same tyrosine-based inhibition motif, in the intracytoplasmic domain of FcγRIIB, regulates negatively BCR-, TCR-, and FcR-dependent cell activation. *Immunity* 1995; 3: 635-46.

11. Malbec O, Fridman WH, Daëron M. Negative regulation of c-kit-mediated cell proliferation by FcγRIIB. *J Immunol* 1999; 162: 4424-9.
12. Clynes R, Takechi Y, Moroi Y, Houghton A, Ravetch JV. Fc Receptors are required in passive and active immunity to melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 652-6.

**Marc Daëron**

Laboratoire d'immunologie cellulaire et clinique, Inserm U. 255, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75005 Paris, France.

## ■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Le gène *p53* est une cible de la fumée de tabac.** Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) comme le benzopyrène sont des produits de combustion particulièrement abondants dans la fumée de tabac. Leurs propriétés cancérigènes sont liées à leur capacité à se lier à l'ADN formant ainsi des adduits qui sont à l'origine de mutations. Une étape clé de ce mécanisme vient d'être démontrée par l'équipe de Gerd Pfeifer du *Beckman Research Institute* [1]. Ces auteurs ont mis au point une méthode fondée sur la LM-PCR (*ligation mediated-PCR*) qui leur permet de détecter les adduits à l'ADN dans une séquence précise. Ils ont

ainsi étudié le gène suppresseur de tumeur *p53* dans des cellules bronchiques exposées à différents HAP. Ils ont noté la formation d'adduits au niveau de plusieurs guanines comprises dans des séquences CpG. Le taux relatif d'adduits dans chaque séquence dépend du composé utilisé. Ces observations sont d'autant plus intéressantes que ces guanines cibles des HAP correspondent pour la plupart aux bases les plus fréquemment mutées dans le gène *p53* des cancers broncho-pulmonaires. Or le profil de mutations du gène *p53* est relativement caractéristique du type de cancer. Ainsi, grâce à la technologie précise employée, les auteurs confortent le

lien entre les altérations de l'ADN par des composés présents dans la fumée de tabac, et les mutations du gène *p53* dont on connaît le rôle important dans la cancérogenèse. Ce travail renforce et généralise les travaux précédents des mêmes auteurs sur le benzopyrène [2], même si les conditions expérimentales utilisées sont bien différentes des conditions d'exposition habituelles chez l'homme.

[1. Smith LE, et al. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 803-11.]

[2. Denissenko MF, et al. *Science* 1996; 274: 430-2.]