



Les traitements par anticorps monoclonaux

Objectifs

- Vous pouvez communiquer ce que sont les anticorps monoclonaux.
- Vous pouvez expliquer les différences entre les différents fragments des anticorps et des molécules dérivées.
- Vous pouvez décrire la manière de produire les anticorps monoclonaux thérapeutiques.
- Vous pouvez indiquer les différentes utilisations possibles des anticorps monoclonaux thérapeutiques.
- Vous pouvez classer les anticorps monoclonaux thérapeutiques sur la base de leur dénomination et vous savez dans quelles affections ils sont utilisés.
- Vous pouvez estimer dans quelles affections l'utilisation d'anticorps monoclonaux thérapeutiques est judicieuse.

Résumé

Actuellement, environ 60 anticorps monoclonaux et fragments d'anticorps sont autorisés en Suisse pour diverses indications et environ 400 autres se trouvent à différents stades de développement clinique pour des indications très diverses. Cela montre l'énorme potentiel de ces principes actifs, très similaires dans leurs propriétés physicochimiques mais très différents dans leur spécificité. La préparation des anticorps monoclonaux a maintenant été optimisée, de sorte que ce ne sont plus seulement des protéines d'origine murine mais toujours plus des molécules d'origine humaine qui sont utilisées. Ce qui est notamment important lors de traitements de longue durée, afin d'éviter des réactions d'intolérance.

Introduction

Que serions-nous sans nos anticorps ? Vraisemblablement plus en vie du tout ! Aujourd'hui, nous savons que les immunoglobulines, une autre appellation des anticorps, forment la partie humorale de notre système immunitaire et sont produites par les lymphocytes B. Toutefois, Paul Ehrlich et Emil Behring en savaient bien moins à la fin du XIX^e siècle. Ils réussirent à préparer, par immunisation d'animaux, des antitoxines qui pouvaient neutraliser des toxines dans le corps selon le principe clé-serrure. Le premier traitement par anticorps était devenu possible [1, 2].

Selon des estimations, notre système immunitaire adaptatif reconnaît, via le répertoire des anticorps, au moins 10⁹ surfaces différentes, les épitopes. Toutefois, chaque anticorps ne reconnaît qu'une seule surface spécifique, raison pour laquelle nous devrions effectivement avoir 10⁹ gènes différents, un pour chaque anticorps, et chaque fois avec une chaîne lourde et une légère. Mais nous n'avons qu'environ 20 000 gènes au total. Cela fonctionne donc uniquement parce que les gènes codant les chaînes légères et lourdes des anticorps comportent un grand nombre de modules génétiques, parmi lesquels des modules isolés sont choisis et combinés de manière fortuite et aléatoire pour l'expression de l'anticorps. Une nouvelle combinaison de modules est donc générée pour chaque cellule B, et donc aussi une nouvelle spécificité pour un antigène [3].

Structure et fonction des anticorps

Structure de l'anticorps

Bien que les nombreuses molécules d'anticorps présentes dans notre organisme reconnaissent des antigènes très divers, elles sont construites de manière très uniforme et possèdent des propriétés physicochimiques très similaires. Chaque anticorps est constitué de deux chaînes protéiques identiques

légères (L ; *light*) et lourdes (H ; *heavy*), liées entre elles par des ponts disulfures covalents (illustration 1). On distingue à l'intérieur de ces chaînes protéiques des régions constantes (C) et variables (V), dans lesquelles les ponts disulfures permettant la stabilisation de la structure moléculaire se trouvent dans les domaines globulaires C_{H1}, C_{H2} et C_{H3} des chaînes lourdes, respectivement C_L des chaînes légères. Les régions variables de l'extrémité N-terminale des chaînes d'anticorps sont constituées de quatre brefs segments de séquence, les régions charpentes (*framework regions*, FR1 à FR4). Entre elles se trouvent les trois régions déterminant la complémentarité (*complementarity determining regions*, CDR1 à CDR3), dans lesquelles les séquences d'acides aminés varient le plus entre les différentes molécules d'anticorps et qui constituent le site effectif de reconnaissance de l'antigène, appelé paratope. À l'aide des zones constantes des chaînes d'anticorps, il est possible de distinguer cinq classes de chaînes lourdes (μ , δ , γ , ϵ et α) ainsi que deux classes de chaînes légères (κ et λ). La séquence des acides aminés dans la région Fc (*fragment crystallizable region*) de la chaîne lourde d'un anticorps détermine la classe d'anticorps, dite « isotype », qui sont également au nombre de cinq : IgM, IgD, IgG, IgE et IgA. Les immunoglobulines de l'isotype IgG constituent la plus grande partie des molécules d'anticorps dans le sang, elles sont elles-mêmes subdivisées en quatre sous-types, d'IgG₁ à IgG₄. Dans la plupart des cas, lorsque l'on parle d'anticorps, il s'agit de molécules IgG.

Les anticorps IgG peuvent être clivés par voie enzymatique dans la région charnière (H ; *hinge region*). Lorsqu'un anticorps est clivé par la papaïne, une protéase, les chaînes lourdes sont scindées dans les régions charnières, il en résulte deux fragments Fab (*fragment antigen binding*) séparés et un fragment Fc (illustration 1). La pepsine clive en revanche les anticorps entre la région charnière et la région C_{H2} et les

deux fragments Fab restent alors liés entre eux par deux ponts disulfures. De tels fragments, dits $F(ab')_2$, ont deux domaines de liaison aux antigènes comme les anticorps complets, et sont donc bivalents. Après le clivage par la pepsine, il reste une variante raccourcie du fragment Fc, dite pFc' [3].

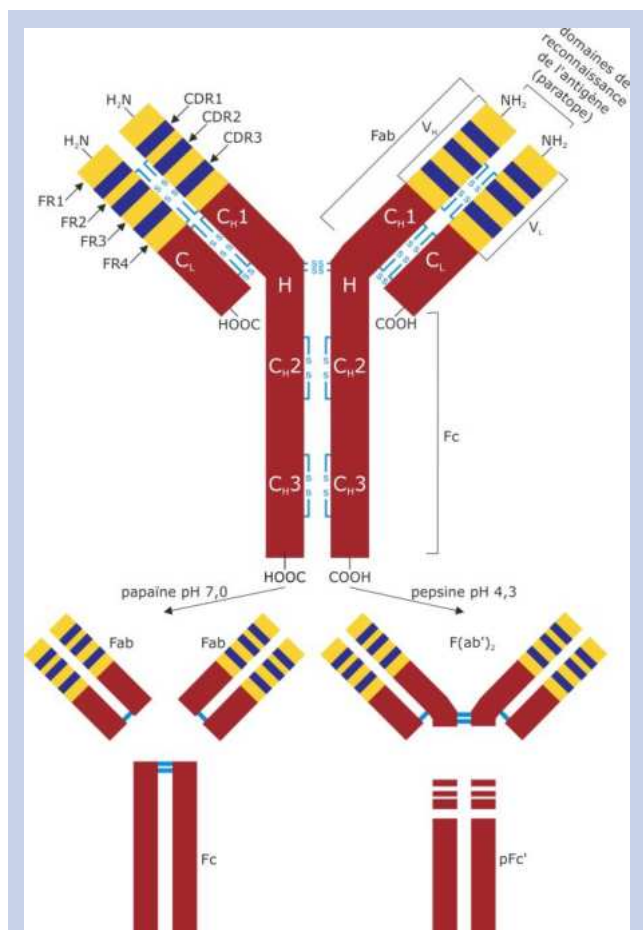


Illustration 1 : Représentation schématique d'une molécule d'IgG.

Une molécule complète d'IgG est constituée de quatre chaînes protéiques. Aussi bien les chaînes longues, lourdes, que les chaînes courtes, légères, comportent des domaines variables (jaune) et des régions constantes (rouge foncé). Les différentes chaînes protéiques sont reliées entre elles par des ponts disulfure (bleu clair). Le domaine effectif de reconnaissance des antigènes est formé des *complementarity determining regions* (CDR1-CDR3) encadrées par les régions charpentes (*framework regions*) (FR1-FR4). Lorsque des anticorps sont traités par la papaine ou la pepsine, différents fragments d'anticorps qui peuvent également se fixer à l'antigène sont formés.

Légende : CDR – *complementary determining region* ; C_H – région constante de la chaîne lourde ; C_L – région constante de la chaîne légère ; Fab – *fragment antigen binding* ; Fc – *fragment crystallizable region* ; FR – région charpente (*framework region*) ; H – région charnière (*hinge region*) ; V_H – région variable de la chaîne lourde ; V_L – région variable de la chaîne légère

Fonction de l'anticorps

Dans notre corps, les anticorps doivent reconnaître et se fixer à des antigènes très spécifiques, afin que ceux-ci soient ensuite éliminés. La reconnaissance et la liaison aux antigènes intervient via les zones variables de la molécule d'anticorps.

Toutes les autres réactions du système immunitaire visant à l'élimination de l'antigène sont médiées par la partie Fc de l'anticorps, qui se lie à son tour à un récepteur correspondant sur les cellules immunitaires.

Les premiers isotypes d'anticorps qui entrent en action lors d'une réponse immunitaire sont des molécules IgM qui se trouvent à la surface des lymphocytes B en tant que récepteurs de ces cellules. Ce n'est qu'après la liaison de l'antigène puis l'activation du lymphocyte B que survient le phénomène appelé changement de classe, et que des molécules d'IgG avec une haute affinité pour le même antigène sont produites. Les immunoglobulines de l'isotype IgD se trouvent aussi sur des cellules B naïves et constituent, comme les IgM, des récepteurs des lymphocytes B. Les immunoglobulines de l'isotype A sont présentes sous deux formes, les IgA₁ étant essentiellement présentes dans le sérum alors que les IgA₂ sont avant tout un constituant des sécrétions des muqueuses. Ce sont cependant les anticorps IgE qui sont responsables des réactions allergiques, en mobilisant les mastocytes qui vont libérer des médiateurs (tableau 1 en annexe). Les fonctions effectrices des autres isotypes se recoupent partiellement et comprennent la neutralisation, l'opsonisation et l'activation des cellules tueuses naturelles et des facteurs du complément. Lors de la neutralisation, les anticorps se fixent spécifiquement à leurs antigènes respectifs et empêchent l'interaction de l'antigène avec un récepteur possible. Ce phénomène est notamment souhaitable en présence de substances toxiques et doit être obtenu lors d'une vaccination avec des vaccins toxoïdes, tels que par exemple lors de l'immunisation contre la diphtérie et le tétanos.

Lors de l'opsonisation, les anticorps se lient avec le domaine de reconnaissance de l'antigène à la surface des microbes, pendant que la partie Fc active les récepteurs Fc correspondants sur les macrophages et induit la phagocytose du microbe (*antibody-dependent cellular phagocytosis*, ADCP). L'activation des cellules tueuses naturelles passe également par l'interaction de la partie Fc de l'anticorps avec un récepteur et conduit à la lyse des cellules marquées par les anticorps, un processus appelé cytotoxicité à médiation cellulaire dépendant des anticorps (*antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*, ADCC). Un élément essentiel de la défense immunitaire normale consiste en l'activation du système du complément via un complexe antigène/anticorps, qui induit également la lyse de la cellule liée, phénomène appelé cytotoxicité dépendant du complément (*complement-dependent cytotoxicity*, CDC).

L'une ou l'autre des fonctions effectrices est préférée, en fonction de l'isotype de l'anticorps (tableau 1 en annexe). Les macrophages et les granulocytes neutrophiles ont par exemple une forte affinité pour les anticorps des sous classes IgG₁ et IgG₃, qui sont principalement reconnus par les récepteurs des types FcγRI et FcγRII, situés dans la membrane. Et d'autre part, des cellules tueuses naturelles peuvent lyser via leurs récepteurs FcγRIII des cellules marquées par des anticorps IgG₁ et IgG₃. Les anticorps IgG₁ et IgG₃, mais pas les

anticorps IgG₁, sont de plus en mesure d'activer le système du complément. Il peut donc être important de générer un type d'anticorps donné, en fonction de l'effet thérapeutique recherché [3].

Technologie des hybridomes

Le potentiel particulier des molécules d'anticorps a été rapidement identifié, aussi bien pour les diagnostics que les traitements. Toutefois, le problème était de produire la protéine en quantité et pureté suffisantes. En principe, chaque lymphocyte B produit un type spécifique d'anticorps, Toutefois, la durée de vie des lymphocytes B est trop courte et ils ne peuvent pas être mis en culture. Au milieu des années 1970, César Milstein et George Köhler parvinrent à résoudre ce problème grâce à une astuce particulière [4] : Ils fusionnèrent des lymphocytes B avec des cellules tumorales immortelles et combinèrent, dans les cellules hybridomes résultantes, les propriétés de production d'anticorps et d'immortalité, et donc d'aptitude à la culture.

Le procédé établi par Köhler et Milstein comprend les étapes suivantes :

- Immunisation d'une souris avec l'antigène désiré
- Isolation des cellules de la rate de la souris immunisée
- Culture d'une lignée cellulaire d'un myélome de souris
- Fusion des cellules de rate et des cellules de myélome
- Sélection des cellules hybrides, les hybridomes.
- Identification des hybridomes produisant l'anticorps
- Isolement clonal des hybridomes présélectionnés
- Identification du clone d'hybridomes produisant l'anticorps
- Caractérisation des anticorps produits par les hybridomes

Immunisation de souris

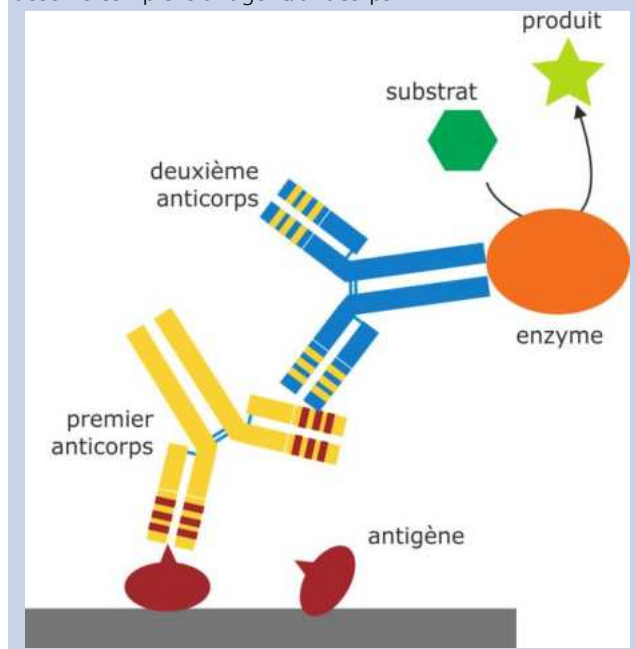
L'immunisation des souris est l'une des étapes les plus importantes de la préparation des anticorps monoclonaux. Il est important qu'au moment de l'isolation des lymphocytes B pour la fusion avec les cellules de myélome, un titre si possible élevé de molécules IgG contre l'antigène soit présent dans la souris immunisée. Usuellement, on applique plusieurs fois environ 5 à 100 µg d'antigène par immunisation et par souris, à intervalles de 2 semaines [5].

Les antigènes avec un poids moléculaire inférieur à 10 kDa ont généralement un effet immunogène faible. Des molécules encore plus petites ne sont même plus immunogènes du tout et doivent être couplées à un porteur de poids moléculaire élevé pour former un « haptène », afin d'être en mesure d'induire la formation d'anticorps spécifiques. Des molécules telles que l'albumine sérique, la transferrine ou d'autres protéines facilement accessibles ont fait leurs preuves en tant que molécules porteuses. Il est aussi possible de recourir pour le couplage à des protéines synthétiques, comme par exemple la polylysine. Le titre d'anticorps d'une souris pour l'antigène utilisé est dosable à partir d'une petite quantité de sang au moyen d'un *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (encadré 1). Plus le titre

d'anticorps est élevé, plus les chances d'isoler un ou plusieurs bons anticorps monoclonaux sont grandes. Lors d'une immunisation avec un haptène, il faut veiller à ce que l'ELISA soit réalisé avec un autre conjugué, afin de ne pas tester les anticorps contre la protéine porteuse [5].

Encadré 1 : Principe du procédé ELISA

Le titre d'une solution d'anticorps, provenant par exemple du sérum d'une souris immunisée ou du surnageant d'une lignée d'hybridomes, peut être déterminé relativement simplement et rapidement au moyen d'un test ELISA. Pour ce faire, l'antigène est pipeté dans des puits d'une plaque d'immunotitration, la protéine de l'antigène se fixant solidement à la surface du plastique. Après saturation de tous les sites de liaison des protéines non occupés par l'antigène avec, par exemple, de l'albumine de sérum bovin, une dilution de la solution d'anticorps à doser est introduite dans chaque puits de manière à former un complexe antigène-anticorps stable. Ce complexe peut lui-même être détecté par addition d'un deuxième anticorps qui se fixe d'une part à la partie constante du premier anticorps, et qui est d'autre part couplé de manière covalente à une enzyme. Les molécules d'anticorps non fixées étant retirées par lavage entre les différentes étapes d'incubation, une réaction colorée de l'enzyme avec un substrat adéquat permet finalement de doser le complexe antigène/anticorps.



Préparation et sélection des hybridomes produisant des anticorps

Lorsque la souris a développé un titre d'anticorps suffisamment élevé contre l'antigène, il est temps de procéder à la fusion. De grandes quantités de lymphocytes qui produisent les anticorps sont isolés depuis la rate. Des cellules myélomateuses provenant de lymphocytes B naïfs, malins et qui ne produisent eux-mêmes pas d'anticorps, sont

utilisées comme partenaire de fusion. De plus, les cellules myélomateuses doivent être choisies de telle sorte qu'il leur manque soit une **thymidine-kinase** (TK), soit une **hypoxanthine-guanine-phosphoribosyltransférase** (HGPRT), ou même que les deux enzymes soient défectueuses. Pour réaliser la fusion cellulaire effective, les cellules de myélome et de rate sont mélangées dans un rapport de 1:1 à 1:10 et incubées durant quelques minutes avec du polyéthylène-glycol, un tensio-actif. Durant cette période, la fusion des membranes entre les cellules se produit totalement aléatoirement. Lorsqu'une cellule de rate fusionne alors avec une cellule de myélome, on obtient la cellule hybride souhaitée (hybridome). Des cellules de rate ou des cellules myélomateuses peuvent toutefois aussi fusionner entre elles. D'un point de vue génétique, la cellule résultant d'une fusion de deux cellules diploïdes se trouve alors toujours dans un état très instable, en raison de la présence de deux noyaux cellulaires et de quatre exemplaires de chaque chromosome. Afin de revenir à un état stable, les noyaux fusionnent. Puis la cellule perd des chromosomes isolés les uns après les autres, jusqu'à atteindre un état diploïde ou presque diploïde, stable. Il faut alors trouver, parmi les nombreuses fusions qui ont eu lieu entre cellules similaires, les hybridomes souhaités. Pour ce faire, les cellules fraîchement fusionnées sont sélectionnées en milieu « HAT ». L'abréviation HAT provient des substances **hypoxanthine**, **aminoptérine** et **thymidine**. Dans les cellules, l'aminoptérine inhibe la synthèse des nucléotides purine et pyrimidine et empêche par conséquent la synthèse de l'ADN. Mais, si les cellules disposent des enzymes **thymidine-kinase** et **hypoxanthine-guanine-phosphoribosyltransférase**, elles peuvent alors synthétiser les nucléotides manquants à partir de l'hypoxanthine et de la thymidine. Bien que les lymphocytes B restent en vie dans un milieu HAT, ils ne peuvent toutefois pas y être cultivés durablement. Comme il manque aux cellules myélomateuses utilisées pour la fusion au moins l'une des enzymes nécessaires à la synthèse des nucléotides, elles meurent dans le milieu HAT. Les seules cellules qui survivent à cette sélection et qui peuvent se diviser sont par conséquent les hybridomes résultant de la fusion entre lymphocytes B et cellules myélomateuses. Après quelques jours dans le milieu HAT, les hybridomes sont identifiés sous la forme de petites colonies au milieu de nombreuses cellules mortes. Ces colonies sont des clones, à savoir des cellules identiques nées à partir d'un seul hybridome. Pour savoir si les cellules obtenues produisent effectivement l'anticorps désiré, le surnageant de culture des clones est testé via un ELISA (encadré 1). Les clones cellulaires positifs sont ensuite usuellement isolés encore une fois afin d'obtenir finalement une lignée cellulaire génomiquement stable, qui sécrète en permanence dans le milieu de culture un anticorps avec une spécificité donnée, dit anticorps monoclonal [5].

Modification des anticorps monoclonaux par génie génétique

Le premier anticorps monoclonal développé en 1986 pour le traitement d'une maladie était le muromonab-CD3 (Orthoclone OKT® 3), dirigé contre la protéine CD3, une partie du complexe récepteur des lymphocytes T [6]. Lors de son utilisation thérapeutique, tous les lymphocytes T d'un patient sont éliminés par la liaison du muromonab-CD3 à sa molécule-cible, raison pour laquelle Orthoclone OKT® 3 a été autorisé pour le traitement de réactions aiguës de rejet d'allogreffe résistantes aux stéroïdes chez des patients avec transplantations de rein, de cœur et de foie. Même à la posologie prescrite, de graves réactions d'intolérance peuvent survenir car le système immunitaire du patient réagit à la protéine murine par la formation d'**anticorps humains anti-anticorps murins** (AHAM) [7].

Les molécules des anticorps murins (c'est à dire produites à partir de souris) ne sont par conséquent adaptées que de manière réduite à un usage thérapeutique. Des anticorps humains seraient meilleurs et mieux tolérés. Toutefois, la technologie des hybridomes ne peut pas être transférée à l'homme. Au lieu de cela, c'est la technique génétique qui a offert une solution à ce problème. Il est possible, à partir des hybridomes, d'isoler suffisamment d'ARNm afin de synthétiser sur cette base un ADNc puis d'amplifier le gène pour la zone variable de l'anticorps par une réaction de polymérisation en chaîne (*polymerase chain reaction*, PCR). Ces zones de gènes peuvent être ensuite combinées avec des séquences génétiques humaines correspondantes, de manière à former des anticorps chimériques ou humanisés. Dans les anticorps chimériques, l'ensemble des zones variables provenant des anticorps monoclonaux murins est combiné avec les domaines constants humains, de sorte que finalement 33 % de la molécule provient encore de la souris. Les anticorps humanisés ne possèdent plus qu'une part murine de 5 à 10 %, correspondant aux régions CDR de l'anticorps d'origine, alors que les régions charpentes et les zones constantes proviennent de l'homme [8]. Le nom des anticorps chimériques se termine par «-ximab» (p. ex. infliximab), alors que le nom des anticorps humanisés comprend la terminaison «-zumab» (p. ex. trastuzumab). Plus la part murine restante des anticorps thérapeutiques est réduite, mieux ceux-ci semblent être tolérés. Toutefois, ces molécules sont naturellement hétérogènes en ce qui concerne la séquence d'acides aminés de leurs zones variables, de sorte que le système immunitaire devrait être généralement relativement tolérant envers les anticorps.

Anticorps humains

Malgré tous les progrès réalisés dans l'humanisation des anticorps de souris pour leur usage thérapeutique chez l'homme, ces structures présentent encore, dans de petites zones, des structures étrangères, ce qui pourrait éventuellement causer des problèmes lors des traitements de longue durée. La meilleure solution serait naturellement d'utiliser d'authentiques anticorps humains, ne contenant

plus aucune séquence provenant de la souris. Il est toutefois interdit d'immuniser des hommes avec des antigènes quelconques, afin d'obtenir à partir d'eux des anticorps monoclonaux. De plus, ce sont justement aussi des protéines humaines qui sont intéressantes comme structures cibles d'anticorps thérapeutiques. De telles protéines, comme par exemple le facteur de nécrose tumorale humain α (*tumor necrosis factor*, TNF- α), ne seraient pas immunogènes dans une approche humaine et n'induirait pas la formation d'anticorps. Il a donc fallu recourir à d'autres astuces pour produire des anticorps humains tels que l'adalimumab (Humira®) ou le panitumumab (Vectibix®).

Phage display pour la sélection de fragments d'anticorps donnés

Un bref article de George P. Smith, dans lequel il décrit une nouvelle méthode, est paru en 1985 dans le célèbre magazine « Science » : Des phages filamenteux, comme par exemple M13, peuvent exposer des protéines étrangères à leur surface, qui vont alors être sélectionnées en fonction de propriétés données de fixation [9]. Après l'étape de sélection, les phages peuvent à nouveau être multipliés dans des cellules procaryotes, car ils sont comme précédemment infectieux pour les bactéries. Quelques années plus tard déjà, le système a été transféré à l'expression des régions variables des anticorps. De ce fait, des fragments d'anticorps pouvant être multipliés sont apparus dans des bactéries [10]. L'idée sous-jacente était d'établir une banque de phages à anticorps aussi large que possible, qui exprime les nombreux domaines différents de fixation des antigènes. Pour ce faire, des lymphocytes B de donneurs volontaires ont été récoltés et l'ARNm des cellules isolé. Les ARNm spécifiques des anticorps ont été copiés en ADNc, via des amorces oligonucléotidiques adaptées, et amplifiés par PCR (illustration 2). Pour l'établissement de la banque de phages, la réunion entre eux des fragments variables séparés des chaînes légères (V_L) et lourdes (V_H) des anticorps via une séquence peptidique synthétique à base de glycine et de sérine (Gly_4Ser_3) a fait ses preuves. Elle permet d'obtenir un *single-chain variable fragment* (scFv). Comme un anticorps complet, ce fragment peut fixer l'antigène mais il est toutefois suffisamment petit pour ne pas trop limiter l'infectiosité du phage. Les phages à anticorps peuvent maintenant être incubés avec l'antigène souhaité. De manière similaire à un ELISA, le fragment d'anticorps convenable se fixe à l'antigène alors que tous les autres fragments de la banque de phages à anticorps sont à nouveau retirés. Une étape d'élution permet finalement de détacher à nouveau le phage fixé, qui peut alors être utilisé pour réinfecter des bactéries de sorte à le multiplier à volonté. Il est de plus possible, durant cette étape, de procéder à une mutagenèse in vitro du génome du phage, et spécialement ici du gène scFv. Il en résulte à nouveau une multitude d'anticorps de phages légèrement différents qui sont testés contre l'antigène, un procédé aussi dénommé « panning ». Cela permet de successivement améliorer l'affinité du fragment d'anticorps pour l'antigène [10].

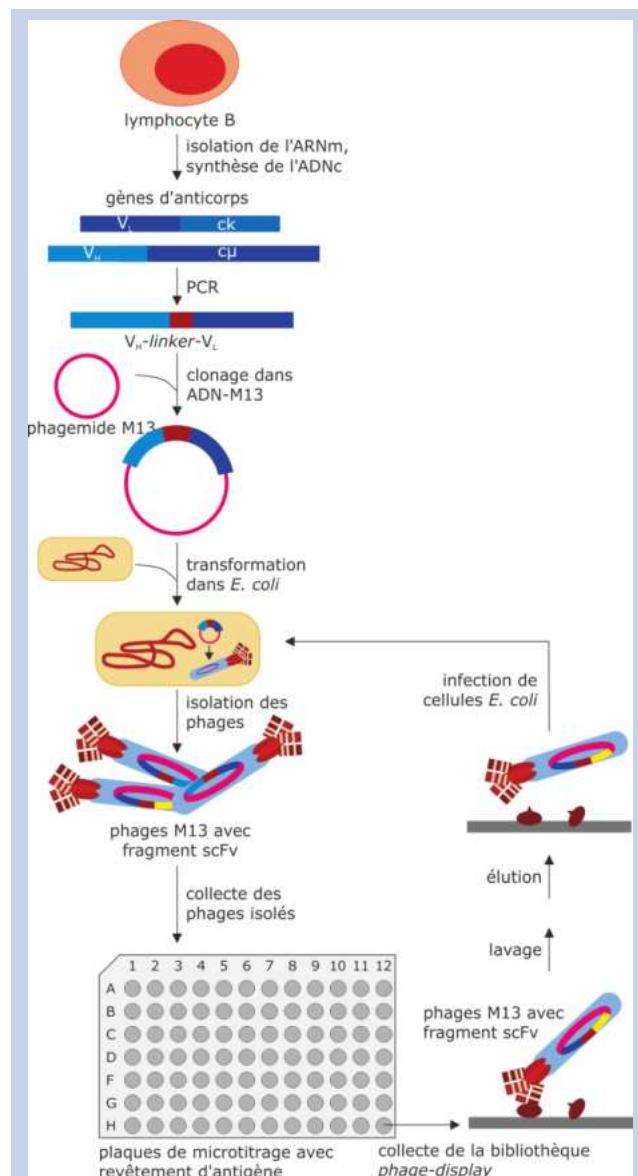


Illustration 2 : Phage display de fragments scFv.

On obtient, à partir de lymphocytes B de donneurs, les gènes des anticorps formés via synthèse d'ADNc à partir de l'ARNm isolé. Les séquences d'ADN qui codent pour les régions variables des anticorps sont spécifiquement amplifiées par PCR et liées. Le gène synthétique obtenu pour les fragments V_H -(Gly_4Ser_3)- V_L (scFv) est ensuite cloné dans un vecteur phagémique. Il est possible de préparer dans des cellules bactériennes comme p.ex. *Escherichia coli* (*E. coli*) des phages recombinants qui exposent scFv à leur surface. Il s'agit d'une banque de phages, qui exprime de nombreux fragments différents d'anticorps dans laquelle le phage à anticorps adéquat peut être sélectionné par fixation à l'antigène souhaité, puis multiplié dans des bactéries après infection.

Légende : scFv – *single-chain variable fragment* ; PCR – *polymerase chain reaction* ; V_H – région variable de la chaîne lourde ; V_L – région variable de la chaîne légère

C'est de cette manière qu'a par exemple été isolé l'anticorps adalimumab (Humira®) contre le TNF- α à partir d'une banque de phages de $1,4 \times 10^{10}$ clones différents.

Le golimumab (Simponi®), un autre anticorps contre le TNF- α , a également été découvert via une banque de phages, avec toutefois une stratégie de clonage développée pour les fragments d'anticorps. La société MorphoSys a publié en 2000 sa *Human Combinatorial Antibody Library* (HuCAL®), basée sur l'observation, dans laquelle finalement seules sept familles de gènes V_H ainsi que sept de gènes V_L représentent plus de 95 % de la diversité des anticorps humains [11]. Cela a permis d'en déduire les séquences de consensus pour 14 gènes maîtres qui, fusionnés dans toutes les combinaisons possibles, ont formé une bibliothèque de 49 gènes maîtres scFv. Il été fait en sorte que zones respectives des trois CDR puissent être relativement facilement échangées par des mesures de génie génétique. Les fragments d'anticorps sélectionnés ont été successivement optimisés par *phage display* et incubation avec l'antigène. La technologie de *phage display* présente certains avantages par rapport à la technologie des hybridomes :

- Elle ne nécessite aucun animal.
- Le principe fonctionne aussi avec des antigènes humains qui sont si fortement conservés entre l'homme et la souris qu'ils n'étaient pas identifiés comme étrangers dans la souris.
- La méthode fonctionne aussi avec des antigènes toxiques, que l'on ne peut pas utiliser pour immuniser des souris.

Souris transgéniques pour la préparation d'anticorps humains

Une approche entièrement différente de préparation d'anticorps humains a été poursuivie en 1994 par les entreprises Cell-Genesys et GenPharm : Avec leurs lignées de souris XenoMouse®, respectivement HuMAB-Mouse®, elles ont mis à disposition des animaux chez qui, par un procédé assez complexe, les loci des gènes murins pour la production d'anticorps ont été tout d'abord détruits dans les cellules souches embryonnaires de la souris. Ensuite, les séquences génétiques de l'immunoglobuline humaine γ ont été introduites. En pratique, les deux systèmes ne diffèrent que par la manière dont les nouvelles séquences d'ADN ont été intégrées dans les cellules murines.

Ce procédé a généré des souris transgéniques qui, lors du contact avec un antigène, ne produisent pas d'anticorps murins mais des anticorps entièrement humains, qui peuvent être utilisés via la technique tout à fait normale d'hybridomes pour la production d'anticorps monoclonaux [12, 13].

Depuis lors, six différentes souches de souris transgéniques ont été établies à partir de XenoMouse®, qui peuvent produire des anticorps humains des classes IgG₁, IgG₂ et IgG₄, à chaque fois en association avec des chaînes légères κ ou λ . Après immunisation avec un antigène, la HuMAB-Mouse® peut elle aussi former des anticorps humains et les lymphocytes B peuvent aussi bien réaliser un changement d'isotype d'IgM en IgG que produire des anticorps à haute

affinité après recombinaison somatique. La poursuite du développement de la HuMAB-Mouse® a vu l'apparition de l'UltiMAB-Mouse®, avec laquelle il est possible de produire des anticorps humains à haute affinité contre différents épitopes de l'antigène. Entre temps, la société Medarex a encore affiné la technologie des souris et offre, avec la KM-Mouse®, une souche de souris « trans-chromosomique », à savoir qui a perdu les gènes des anticorps murins et qui a reçu les séquences d'ADN complètes sur des fragments de chromosome pour les anticorps humains. Cette souris est en mesure de synthétiser tous les isotypes d'immunoglobulines humaines.

Celle-ci, ainsi que d'autres encore, sont maintenant des souches de souris transgéniques établies qui conviennent très bien à la préparation d'anticorps humains. Toutefois, les souris ont elles-mêmes un problème. Pour leur réponse immunitaire humorale, elles n'ont plus à disposition que des anticorps humains, avec une partie Fc humaine, et ces anticorps ne fonctionnent pas de manière optimale avec les récepteurs Fc murins. C'est pourquoi la souris VelocImmune® a été établie en tant qu'alternative aux souris transgéniques dont les gènes de l'immunoglobuline murine ont été complètement désactivés [14]. Cette lignée de souris possède encore ses propres gènes pour les régions constantes de la chaîne lourde, alors que les gènes pour les zones variables ont été échangés, de sorte que des anticorps chimériques se forment, avec des régions variables humaines et des régions constantes murines. La réponse immunitaire de la souris VelocImmune® semble ainsi être généralement meilleure que celle des souris knockout complètes. L'échange des régions constantes des anticorps se réalise alors ultérieurement relativement facilement, via des méthodes de génie génétique.

Le premier anticorps entièrement humain développé avec la technologie XenoMouse® est le panitumumab (Vectibix®), qui est dirigé contre le récepteur du facteur de croissance épidermique (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) et qui a été autorisé en 2007 pour le traitement du cancer du côlon. Un anticorps développé avec la technologie HuMAB-Mouse® est l'ipilimumab (Yervoy®). Cet anticorps est dirigé contre le marqueur de surface CTLA-4 et est utilisé dans le traitement du mélanome malin. L'ofatumumab (Arzerra®) provient de l'UltiMAB-Mouse® et est dirigé contre l'antigène CD20 sur les lymphocytes B, il est autorisé pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique. Et la souris VelocImmune® a permis la production, par exemple, de l'alirocumab (Praluent®), qui se fixe à la PCSK9 (*proprotein convertase subtilisin/kexin* de type 9) et qui est utilisé en cas d'hyperlipidémie familiale.

La question est : le développement des anticorps thérapeutiques « entièrement humains » a-t-il résolu le problème discuté des réactions d'intolérance aux anticorps (partiellement) murins. Jusqu'ici, les données cliniques sont encore limitées mais les résultats actuels sont encourageants. Il a ainsi été montré que la tolérance du panitumumab (Vectibix®), un anticorps anti-EGFR humain, est meilleure que

celle de l'anticorps anti-EGFR chimérique cétuximab (Erbix[®]). Au contraire du cétuximab, aucune formation d'anticorps contre le principe actif panitumumab n'a été observée chez les patients. Mais il faudra collecter plus d'expériences avec cette classe d'anticorps pour savoir si les nouveaux anticorps humains sont vraiment supérieurs aux anticorps humanisés en termes d'efficacité et de tolérance dans le traitement à long terme. La génération d'anticorps entièrement humains est en tout cas le nouveau standard dans le développement de nouveaux principes actifs.

Dérivés spéciaux d'anticorps

Comme leurs modèles naturels, les anticorps monoclonaux peuvent déclencher les fonctions effectrices déjà mentionnées dans le système immunitaire, c'est à dire qu'ils peuvent neutraliser ou opsoniser l'antigène et faire détruire des cellules marquées soit par cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), soit par cytotoxicité dépendant du complément (CDC), soit encore par phagocytose dépendante des anticorps (ADCP).

Les anticorps thérapeutiques appartiennent toujours aux immunoglobulines IgG, leur sous-type est cependant variable, selon la force souhaitée d'une ADCC ou d'une CDC dans le cadre de leur utilisation (tableau 1 en annexe) [3]. L'anticorps rituximab (Mabthera[®]) est par exemple une molécule IgG₁ anti-CD20, qui vise l'élimination des lymphocytes B dégénérés en cas de lymphome non hodgkinien. Il en va tout autrement du natalizumab (Tysabri[®]). Cet anticorps se fixe à la sous-unité $\alpha 4$ des intégrines, qui sont présentes sur tous les leucocytes à l'exception des neutrophiles, et empêche la migration des cellules immunitaires hors des vaisseaux sanguins dans le tissu enflammé. Le natalizumab est une molécule IgG₄ et peut avant tout neutraliser mais n'induit pas la destruction des cellules marquées. Il faut donc considérer quel type d'anticorps est nécessaire et utile pour une indication donnée. Mais il faut aussi savoir si l'anticorps doit ou peut être utilisé dans sa forme d'origine, complète, ou de préférence dans une version modifiée. Les variantes moléculaires les plus diverses ont maintenant été développées, sont pour certaines autorisées et parfois ont déjà aussi été retirées du marché.

Fragments Fab

Dans beaucoup de stratégies thérapeutiques avec des anticorps monoclonaux, la haute avidité et la multivalence de l'anticorps contre l'antigène sont sûrement souhaitables. Mais il existe aussi des utilisations, p. ex. l'inactivation des cytokines ou le blocage d'un récepteur, dans lesquelles une neutralisation de l'antigène suffit. Dans ce cas, il pourrait être avantageux d'utiliser des fragments Fab, par exemple parce que leur biodisponibilité est meilleure que celle de l'anticorps complet après administration sous-cutanée. Un exemple de principe actif Fab est l'abciximab (ReoPro[®]), un fragment d'anticorps chimérique contre les récepteurs de la glycoprotéine-IIb/IIIa à la surface des plaquettes sanguines, autorisé depuis 1995 déjà. Il est utilisé en prévention des

complications cardiaques ischémiques chez des patients qui subissent une intervention coronarienne percutanée ou en cas d'angor instable.

En raison de l'absence de la partie Fc, les fragments Fab ont des demi-vies plasmatiques comparativement plus courtes, ce qui peut par exemple être compensé par un couplage avec des chaînes de polyéthylène-glycol. Un exemple d'un tel principe actif est le certolizumab pégol (Cimzia[®]) utilisé contre la polyarthrite rhumatoïde [15].

Anticorps bispécifiques et diabodies

Normalement, les anticorps monoclonaux avec leurs deux domaines de reconnaissance des antigènes susceptibles de se fixer chacun à l'épitope correspondant, peuvent générer un couplage de plusieurs molécules d'anticorps via l'antigène. Un effet qui est désigné sous le nom de « *bridging* », par exemple pour les molécules d'IgE sur les mastocytes et qui conduit à leur dégranulation. On a toutefois constaté dans les années 1980 que dans le corps, les IgG₄ échangent partiellement des sites de fixation aux antigènes (*fab arm exchange*) en raison d'une instabilité dans la région charnière et peuvent exister sous la forme de molécules bispécifiques. Trois décennies plus tard, la présence de l'ensemble des quatre sous-classes d'IgG avec des domaines de reconnaissance des antigènes différents a été démontrée dans le sang, le placenta et le lait. Les anticorps bispécifiques sont donc parfaitement normaux, même dans le corps des personnes en bonne santé.

Il a également été constaté dans les années 1980 que ces molécules sont très intéressantes du point de vue thérapeutique. Un premier anticorps bispécifique a permis de rapprocher un lymphocyte T d'une cellule leucémique, ce qui a ensuite conduit à la destruction de la cellule cancéreuse, médiée par le lymphocyte T. La plupart des anticorps bispécifiques sont produits par l'une des trois méthodes suivantes [16] :

- Couplage chimique via des molécules réticulantes (*cross-linker*)
- Fusion cellulaire de deux lignées d'hybridomes (technologie des quadromes)
- Méthodes de génie génétique

En fonction du mode de préparation des molécules, elles diffèrent dans leur nombre de sites de fixation aux antigènes, dans leur géométrie, dans leur demi-vie sérique et dans leurs fonctions effectrices.

Le premier anticorps bispécifique arrivé sur le marché en 2009 était le catumaxomab (Removab[®]), pour le traitement de l'ascite maligne (une accumulation de liquide dans la cavité péritonéale induite par un cancer) chez des patients avec des carcinomes EpCAM-positifs. Son homologation a toutefois été retirée par le fabricant à mi-2017. Le catumaxomab est obtenu par la technologie des quadromes, dans laquelle deux lignées d'hybridomes sont fusionnées. L'un des hybridomes provenait du rat et produisait des anticorps contre l'antigène tumoral EpCAM, alors que l'autre hybridome provenait de la souris et produisait des anticorps

contre le complexe du récepteur CD3 sur les lymphocytes T. Théoriquement, les quadromes chimériques contiennent chacun deux chaînes de protéines légères et lourdes différentes permettant la formation d'anticorps, toutefois les chaînes légères et lourdes des anticorps de la même espèce s'associent préférentiellement entre elles, de sorte que l'on obtenait, en plus de purs anticorps de souris ou de rat, que d'anticorps chimériques souris/rat avec des chaînes légères correctes. Le catumaxomab avait une partie Fc mixte rat/souris, qui pouvait être séparée des purs anticorps de rat ou de souris par chromatographie sur colonnes à protéine A et élution sélective. L'anticorps avait une affinité relativement élevée à la fois pour les récepteurs Fcγ sur les macrophages et les cellules tueuses naturelles, de sorte que non seulement les lymphocytes T à proximité des cellules tumorales EpCAM-positives étaient activés, mais aussi les cellules immunitaires accessoires.

Un deuxième anticorps bispécifique a été homologué en Europe en novembre 2015, le blinatumumab (Blinicyto®), pour le traitement d'adultes avec leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) à précurseurs B avec chromosome Philadelphie négatif, en rechute ou réfractaire. Il ne s'agit toutefois pas d'un anticorps complet mais d'un *bispécifique T-cell engager* (BiTE), préparé via la technologie *diabody*. Pour cette molécule, les gènes des régions variables des chaînes d'anticorps légères et lourdes ont été combinés de telle sorte que, par exemple, la chaîne V_L d'un fragment Fv1 a été reliée avec la chaîne V_H du Fv2, respectivement la chaîne V_H du Fv1 avec la chaîne V_L du Fv2 par un *linker* glycine (illustration 3). Cela fait apparaître deux protéines de fusion V_H/V_L respectivement V_L/V_H, qui se fixent entre elles dans une orientation *head-to-tail* et forment des complexes relativement compacts, même si elles sont reliées entre elles de manière non covalente. Ces molécules bispécifiques peuvent être stabilisées en liant les deux fragments Fv en un *single-chain diabody* via un *linker* glycine supplémentaire. Le blinatumumab se fixe aussi bien à l'antigène CD19 sur les lymphocytes B qu'au CD3 des lymphocytes T, comme le catumaxomab. Les lymphocytes T sont ainsi activés à proximité des lymphocytes B dégénérés, ce qui conduit à leur destruction.

Une intéressante application d'une molécule d'anticorps bispécifique est apparue avec l'émicizumab (Hemlibra®) [17]. L'émicizumab se fixe aussi bien au facteur de coagulation IXa qu'au X et les amène à proximité l'un de l'autre, de sorte que le facteur IXa scinde le facteur X et peut ainsi l'activer. Chez les personnes en bonne santé, cette fonction est remplie par le facteur VIII. Toutefois, chez les personnes atteintes d'hémophilie A, l'absence de facteur VIII fonctionnel renforce la tendance aux hémorragies, qui ne peut être traitée que par une substitution avec du facteur VIII. Toutefois, certains patients avec une hémophilie A produisent des anticorps neutralisant contre le facteur VIII de substitution, appelés inhibiteurs. En Allemagne, l'émicizumab permet d'offrir un autre traitement à ces patients depuis mars 2018.

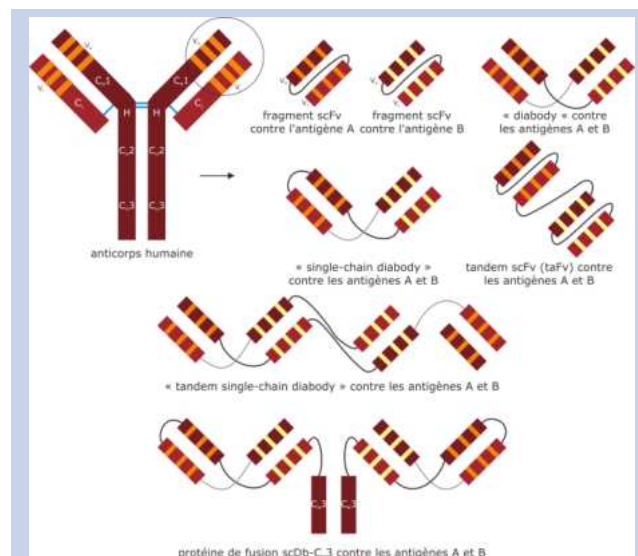


Illustration 3 : Fragments d'anticorps recombinants.

A partir d'un anticorps complet, les gènes pour les régions variables peuvent être combinés de différentes manières. En plus des molécules scFv individuelles contre un antigène donné, il est aussi possible de présenter des molécules scFv bivalentes liées par une liaison covalente, appelées «*diabody*» et qui ciblent deux antigènes différents. Ces associations de scFv se distinguent par l'absence de la partie Fc d'un anticorps, ce qui implique qu'elles n'exercent pas les fonctions effectrices des anticorps. Différentes autres possibilités de couplage via des peptides linker ont également été testées, dont certaines sont présentées pour comparaison.

Légende : scFv – *single-chain variable fragment* ; V_H – région variable de la chaîne lourde ; V_L – région variable de la chaîne légère

Anticorps - protéines de fusion

Le « récepteur Fc néonatal » (FcRn) assure que dans le corps, les anticorps actifs de la mère soient transmis à l'enfant à naître via le placenta. Ce récepteur spécial est toutefois aussi présent hors du placenta, dans un grand nombre d'autres tissus et influence, outre la transcytose d'un côté à l'autre de la cellule (p. ex. dans l'épithélium), avant tout aussi le recyclage des anticorps absorbés par endocytose. Cela signifie que les fragments Fc d'anticorps qui se fixent à ces récepteurs présentent une demi-vie plasmatique relativement longue et doivent par conséquent être administrés moins fréquemment. Cette observation a été reprise pour des protéines à cibles, qui seraient trop instables seules et qui présentent une demi-vie d'élimination nettement prolongée par la fusion avec le fragment Fc. Ainsi par exemple, le principe actif étanercept (Enbrel®) comprend une partie du récepteur TNF-α et neutralise l'effet de la cytokine de manière similaire à l'adalimumab. A ce jour, certains principes actifs ayant été développés de cette manière ont été homologués (tableau 3 en annexe) [18].

Conjugués anticorps-principe actif

Les conjugués anticorps-principe actif (*antibody drug conjugate*, ADC) sont un autre développement des anticorps monoclonaux classiques. L'idée de base est d'introduire un principe thérapeutique hautement toxique dans une cellule tumorale au moyen d'un anticorps, sans que le tissu sain soit

affecté de manière significative. Pour ce faire, des toxines très puissantes ont été couplées de manière covalente à des anticorps adaptés, qui reconnaissent pour leur part des antigènes associés à la tumeur sur les cellules cibles et s'y fixent spécifiquement [19]. Ensuite, le complexe formé de l'antigène et du conjugué anticorps-principe actif qui lui est lié est internalisé dans la cellule tumorale et pénètre dans les organites intracellulaires, endosomes et lysosomes. Dans le milieu chimique typique de ces compartiments, la toxine est libérée et l'anticorps dégradé par protéolyse (illustration 4). Selon sa spécificité, la toxine perturbe des mécanismes cellulaires très divers. La plupart des composants cytotoxiques qui se trouvent dans des ADC en cours de développement se fixent soit au sillon mineur de l'ADN et y induisent des ruptures des brins, soit à la tubuline en y entraînant des perturbations de l'architecture et de la fonctionnalité des microtubules. Ces mécanismes induisent finalement la mort cellulaire (apoptose) de la cellule touchée. La préparation d'un ADC comprend plusieurs étapes critiques, notamment :

- Choix d'un antigène cible adéquat, afin qu'il s'adresse autant que possible exclusivement aux cellules tumorales, comme par exemple Her2 dans le cancer du sein, qui est reconnu par le trastuzumab emtansine (Kadcyla[®]), ou CD30 qui se fixe au brentuximab védotine (Adcetris[®]).
- Mise à disposition de toxines nouvelles et très efficaces, qui n'entrent pas en ligne de compte comme cytostatique isolé, par exemple auristatine, maytansinoïdes ou calichéamicine.
- Développement de *linkers* suffisamment stables, tels les *linkers* dipeptide ou thioéther, qui fixent sûrement la toxine à l'anticorps jusqu'à l'internalisation mais qui la libère ensuite dans la cellule.
- Développement de techniques efficaces de conjugaison, afin que les composants puissent être préparés avec un rendement élevé.

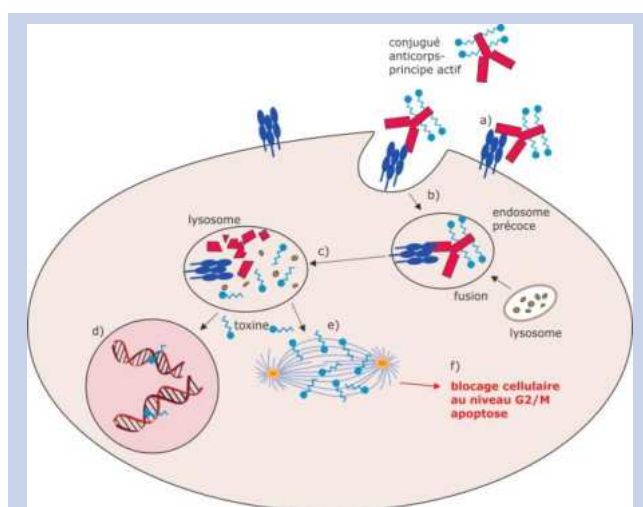


Illustration 4 : Mécanisme d'action des conjugués anticorps-principe actif (ADC).

Légende : a) fixation de l'ADC ; b) internalisation ; c) scission enzymatique de l'ADC ; d) cassures des brins d'ADN ; e) perturbations des microtubules ; f) apoptose

Nomenclature des anticorps

Le premier anticorps homologué était le muromonab-CD3 en 1986, le nom de ce principe actif étant dérivé de « *murine monoclonal antibody against CD3* ». Depuis lors, un groupe de travail de l'Organisation Mondiale de la Santé a élaboré une nomenclature uniforme pour la dénomination commune internationale des anticorps thérapeutiques [20]. Ainsi, le nom du principe actif doit comprendre un préfixe spécifique au principe actif, une racine A, une racine B et un suffixe (tableau 2). Le suffixe désigne le groupe de principes actifs des anticorps monoclonaux et est toujours « -mab » ; le muromonab-CD3 différait donc encore de cette nomenclature. Tous les principes actifs qui présentent un domaine donné de reconnaissance d'un antigène, à savoir une région variable, reçoivent ce suffixe. C'est pourquoi la protéine de fusion étanercept (Enbrel[®]) a été dénommée à partir du récepteur TNF- α et du fragment Fc d'un anticorps, alors que le fragment Fab pégylé contre le TNF- α porte le nom de certolizumab pégol (Cimzia[®]).

La racine B fait référence à l'espèce de laquelle l'anticorps provient, respectivement si une humanisation de la molécule a été réalisée. L'indication ou la cible contre laquelle l'anticorps est dirigé est déduite de la racine A. Le préfixe doit être unique, désigner individuellement le principe actif et finalement donner au principe actif un nom évocateur. Si l'association des racines A et B devait provoquer une collision de consonnes, il est possible d'introduire une voyelle adéquate afin de rendre la prononciation plus facile (tableau 2). Par exemple, le nom du principe actif ustékinumab provient de l'addition de usté-ki-n-u-mab, correspondant à « -k(i)- » pour une interleukine comme antigène cible et « -u- » pour un anticorps humain, dans ce cas relié par un « n » en « -kinumab ».

Lorsqu'un anticorps porte un traceur radioactif, le nom de l'anticorps est précédé du nom de l'isotope, du symbole de l'élément et du numéro de l'isotope (p. ex. Y-90-ibritumomab-tiuxetan, Zevalin[®]). En cas de coupage d'un anticorps avec une autre substance, par exemple une toxine ou un cytostatique, un deuxième nom suit celui de l'anticorps (p. ex. trastuzumab emtansine, Kadcyla[®]).

Tableau 2 : Nomenclature des noms des principes actifs des anticorps

Syllabe	Signification	Exemple
Suffixe général du principe actif		
-mab	Anticorps monoclonal	Infliximab
Organisme source (racine B)		
-u-	Homme	Adalimumab
-o-	Souris	Sulésimab
-a-	Rat	
-e-	Hamster	
-i-	Primate	
-zu-	Humanisé	Trastuzumab
-xi-	Chimère	Infliximab
-axo-	Rat/souris	Catumaxomab
-xizu-	Combinaison de chaînes chimère et humanisée	
Maladie ou cible (racine A)		
-b(a)-	Bactéries	Pagibacimab
-c(i)-	Cardiovasculaire	Abciximab
-f(u)-	Champignons	
-k(i)-	Interleukine	Ilximumab
-l(i)-	Immunomodulateur	Adalimumab
-n(e)-	Système nerveux	
-s(o)-	Os	Denosumab
-tox(a)-	Toxine	Atidoxumab
-t(u)-	Tumeur	Panitumumab
-v(i)-	Virus	Palivizumab

Domaines thérapeutiques

Rien qu'en 2017, 20 nouveaux anticorps ont été homologués en Allemagne dont 11 étaient des biosimilaires des anticorps bien connus adalimumab (Humira®), rituximab (MabThera®) et trastuzumab (Herceptin®). A l'échéance du brevet des anciens anticorps, certaines firmes se trouvent déjà dans les starting-blocks avec des imitations. Au contraire des petites molécules synthétiques, les protéines recombinantes sont beaucoup plus complexes et ne peuvent pas être simplement commercialisées comme les autres génériques. L'EMA, l'autorité européenne de contrôle, a établi une procédure d'autorisation spécifique pour les principes actifs protéiques, qui a essentiellement pour but de démontrer l'équivalence physico-chimique de la nouvelle molécule par rapport au principe actif de référence. Les grandes études cliniques d'efficacité sont donc supprimées [21]. Actuellement (état 06/2018), 249 médicaments produits par génie génétique avec 197 principes actifs sont autorisés en Allemagne, dont 78 sont des anticorps monoclonaux, anticorps biosimilaires ou fragments d'anticorps. La plupart des indications pour ces anticorps peuvent être regroupées sous le terme générique de maladies auto-immunes, comme la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis, les maladies intestinales inflammatoires, ainsi que naturellement les affections tumorales [8, 23]. Les indications des différents anticorps se recoupent aussi partiellement (tableau 3), comme par exemple pour le rituximab (MabThera®), qui est utilisé non seulement pour l'élimination des lymphocytes B en cas de lymphome non hodgkinien mais aussi sur la polyarthrite rhumatoïde.

La raison de ces indications tient à la nature des anticorps, qui peuvent aussi bien neutraliser grâce à leur fixation très spécifique qu'induire une ADCC et/ou une CDC via leur

fragment Fc. Dans les maladies auto-immunes, l'objectif prioritaire est avant tout la neutralisation des cytokines excédentaires tels que par exemple les médiateurs pro-inflammatoires TNF- α , l'interleukine(IL)-1 ou -6 avec notamment le certolizumab pégol, l'adalimumab, le golimumab ou encore le canakinumab, respectivement le siltuximab. Avec des connaissances plus précises sur les cytokines respectives impliquées dans les différentes affections auto-immunes, il est possible d'adresser d'autres molécules signal (p. ex. avec l'ixékizumab contre IL-17A) ou encore leurs récepteurs (p. ex. avec le brodalumab contre IL-17RA). Cela empêche que le système immunitaire continue à surréagir et détruit les structures propres du corps.

Des auto-anticorps, produits par des lymphocytes B autoréactifs et des lymphocytes T autoréactifs médient la destruction des tissus dans les maladies auto-immunes. Certains anticorps s'attaquent précisément à ces cellules immunitaires et empêchent soit leur migration dans les tissus enflammés (p. ex. le natalizumab), soit le marquage pour la CDC et l'ADCC (p. ex. l'alemtuzumab ou l'ocrelizumab).

Et c'est justement l'approche de la destruction des cellules indésirables par CDC et SDCC qui est fréquemment utilisé dans le traitement des tumeurs. Deux des anticorps les plus anciens, le rituximab et le trastuzumab, ont été précisément développés dans ce but pour le traitement du lymphome folliculaire, respectivement du cancer du sein. Maintenant, il n'existe plus uniquement des anticorps « normaux » dirigés de manière ciblée contre les antigènes tumoraux, mais aussi des molécules dotées d'armes supplémentaires, qui transportent avec elles soit une puissante cytotoxine (trastuzumab emtansine), soit un isotope radioactif (ibritumomab tiuxétan) jusqu'aux cellules tumorales afin de les détruire. Dans les affections tumorales, de manière similaire aux cytokines neutralisées par des anticorps dans les maladies auto-immunes, des récepteurs de l'hormone de croissance (p. ex. pour l'olatumab) ou des facteurs de l'angiogenèse (p. ex. pour le bévacizumab) constituent des points d'attaque pour empêcher la prolifération des cellules tumorales et la croissance du cancer. Une approche thérapeutique entièrement nouvelle dans les maladies tumorales a été maintenant concrétisée avec les inhibiteurs de checkpoints atézolimumab, avélumab, ipilimumab, nivolumab ou pembrolizumab. Ils empêchent que les cellules tumorales envoient un signal inhibiteur à des lymphocytes T spécifiques et stimulent ainsi le système immunitaire du corps à être lui-même actif contre les cellules tumorales.

De manière surprenante, seuls deux anticorps monoclonaux, le palivizumab (Synagis®) et le bézlotoxumab (Zinplava®) sont disponibles pour une immunisation passive – une indication que l'on relie pourtant habituellement à des préparations d'immunoglobulines.

Les nombreuses autres indications qui ont été développées pour les différents anticorps sont également intéressantes (tableau 3 en annexe), ainsi que leurs modes de fonctionnement, dans lesquels ils se fixent spécifiquement et inhibent des molécules, ou les amènent à proximité l'un de

l'autre. L'inconvénient de tous les anticorps et fragments d'anticorps est qu'en tant qu'agents thérapeutiques protéiniques, ils ne sont pas biodisponibles par voie orale et doivent toujours être administrés par voie parentérale. La variante la plus simple, qui est même partiellement réalisable par les patients ou le personnel soignant instruit en conséquence, est l'administration sous-cutanée, p. ex. pour l'étanercept ou l'alirocumab. La perfusion intraveineuse est en revanche beaucoup plus lourde, elle nécessite, par exemple pour l'infliximab, une administration sur 1 à 2 heures suivie d'une surveillance durant encore 1 à 2 heures. Pour l'abatacept, l'administration sous-cutanée ou intraveineuse du principe actif dépend de l'indication. Une forme d'administration très particulière doit être utilisée pour le ranibizumab, qui est administré une fois par mois par voie intravitréenne. Les monographies EPAR publiées par l'agence européenne des médicaments fournissent des indications plus précises sur les modes d'administration respectifs (<http://www.ema.europa.eu>).

Conclusion

Un regard sur la liste des anticorps monoclonaux autorisés montre le potentiel de ces molécules en tant qu'agents thérapeutiques. Ce qui est encore confirmé par le fait qu'actuellement, près de 400 anticorps monoclonaux se trouvent à différents stades des études cliniques. Leurs avantages sont évidents : Leur développement est comparativement simple, leur spécificité est énorme et leur tolérance est élevée. Il n'en reste pas moins qu'il s'agit de protéines, qui doivent toujours être administrées par voie parentérale.

Littérature

Vous trouverez la bibliographie complète sous www.online-academy.ch

Contrôle de connaissances online

Le contrôle de connaissances de cet article ainsi que d'autres formations continues sont disponibles sur www.online-academy.ch

Auteure



Dr. phil. nat. Ilse Zündorf

Maître de conférences, Frankfurt am Main (D)

En route pour le succès de votre formation continue

1. sur internet visitez www.online-academy.ch
2. enregistrez-vous gratuitement afin d'obtenir votre accès d'essai
3. consultez vos progrès d'apprentissage à l'aide du contrôle de connaissances online

Aimeriez-vous encore plus de formation continue accréditée de points FPH ? Choisissez votre abonnement payant parmi une multitude d'offres attrayantes sur internet !

Comité consultatif

Prof. Dr Theo Dingermaier, Francfort (D)
Prof. Dr Gerrit Borchard, Genève (CH)
Dr Karin Nemec, Vienne (A)
Prof. Dr Manfred Schubert-Zsilavecz, Francfort (D)

Editeur

pnn pharma nation network ag
Kirchgasse 42, 8001 Zurich
T : 044 225 15 00, F : 044 225 15 06
E : online-academy@pnn.ch, www.online-academy.ch

Annexe

Tableau 1 : Propriétés des isotypes d'immunoglobulines (modifié selon [3])

Isotype	IgM	IgD	IgG				IgA		IgE
Caractéristiques	10 % des immunoglobulines ; pentamère ; pas de région charnière, 4 domaines C _H	< 1 % du total des immunoglobulines	Immunoglobuline principale (70–75 %) ; monomère ; longue demi-vie (7–20 j)				15–20 % des immunoglobulines ; monomères et dimères possibles		Pas de région charnière, 4 domaines C _H
Subdivision			IgG ₁	IgG ₂	IgG ₃	IgG ₄	IgA ₁	IgA ₂	
Fonctions									
Neutralisation	+	–	++	++	++	++	++		–
Opsonisation	+	–	+++	*	++	+	+		–
Permet la destruction par les cellules NK	–	–	++	–	++	–	–		–
Sensibilisation des mastocytes	–	–	+	–	+	–	–		+++
Activation du système du complément	+++	–	++	+	+++	–	+		–
Répartition									
Présence à la surface des lymphocytes B	Oui	Oui	–	–	–	–	–		–
Transport à travers l'épithélium	+	–	–	–	–	–	+++ (dimère)		–
Transport à travers le placenta	–	–	+++	+	++	+/-	–		–
Diffusion dans les espaces extravasculaires	+/-	–	+++	+++	+++	+++	++ (monomère)		+
Concentration sérique moyenne [mg/ml]	1,5	0,04	9	3	1	0,5	2,1		3 x 10 ⁻⁵

*En présence d'un récepteur Fc de l'allotype correspondant, l'IgG₂ agit comme opsonine

Légende : C_H – région constante de la chaîne lourde ; j – jour(s) ; cellules NK – cellules tueuses naturelles

Tableau 3 : Anticorps, fragments d'anticorps et protéines de fusion autorisés en Suisse (État 05/18)

Principe actif	Préparation	Indication	Description de la molécule
Abatacept	Orencia®	Polyarthrite rhumatoïde ; arthrite juvénile idiopathique polyarticulaire active ; arthrite psoriasique	Protéine de fusion de la partie Fc d'un anticorps IgG ₁ humain et du domaine extracellulaire de CTLA-4 humain
Abciximab	ReoPro®	Antithrombotique	Fragment Fab chimérique contre les récepteurs à la glycoprotéine IIb/IIIa
Adalimumab	Humira®	Psoriasis en plaque ; arthrite psoriasique ; polyarthrite rhumatoïde ; spondylarthrite axiale ; maladie de Crohn ; colite ulcéreuse ; arthrite juvénile idiopathique polyarticulaire active arthrite associée à une enthésite active ; hidradénite suppurée ; uvéite non infectieuse	Anticorps IgG ₁ humain contre le TNF-α
Aflibercept	Eylea®	Forme humide de la dégénérescence maculaire liée à l'âge ; œdème maculaire ; néovascularisation choroïdienne consécutive à une myopie pathologique	Protéine de fusion de fragments des domaines extracellulaires des récepteurs VEGF humains 1 et 2 avec le fragment Fc de l'IgG ₁ humaine
	Zaltrap®	Cancer colorectal métastaté	
Alemtuzumab	Lemtrada®	Sclérose en plaques	Anticorps IgG ₁ humanisé contre le CD52 sur les lymphocytes T et B
Alirocumab	Praluent®	Hypercholestérolémie primaire ; dyslipidémie mixte	Anticorps IgG ₁ humain contre la proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 (PCSK9)
Atezolimumab	Tecentriq®	Carcinome urothélial ; cancer du poumon non à petites cellules	Anticorps IgG ₁ humain modifié dans la partie Fc contre le PD-L1
Avelumab	Bavencio®	Carcinome à cellules de Merkel	Anticorps IgG ₁ humain contre le PD-L1
Basiliximab	Simulect®	Rejet de transplants rénaux	Anticorps chimérique contre la chaîne α (antigène CD25) du récepteur IL-2
Bélatacept	Nulojix®	Rejet de transplants rénaux	Protéine de fusion du domaine extracellulaire modifié de CTLA-4 humain et de la partie Fc de l'IgG ₁ humaine
Bélimumab	Benlysta®	Lupus érythémateux systémique	Anticorps IgG ₁ humain contre la protéine humaine soluble stimulateur des lymphocytes B (BLyS, aussi dénommée BAFF ou TNFSF13B)
Bésilesomab	Scintimun®	Diagnostic de médecine nucléaire pour l'identification des inflammations et des infections	Anticorps IgG ₁ murin contre le NCA-95 (<i>non specific cross-reacting antigen 95</i>) sur les granulocytes, radiomarqué avec une solution de pertechnéate de sodium (^{99m} Tc)
Bévacizumab	Avastin®	Cancer du côlon ou du rectum ; cancer mammaire métastatique ; cancer du poumon non à petites cellules avancé ; carcinome rénal avancé ou métastatique ; carcinome ovarien épithélial, carcinome de la trompe ou péritonéal ; cancer du col utérin persistant ; récidivant ou métastatique	Anticorps IgG ₁ humanisé contre le VEGF
Bezlotoxumab	Zinplava®	Prévention des infections fréquentes à <i>Clostridium difficile</i>	Anticorps IgG ₁ humain contre la toxine B de <i>Clostridium difficile</i>
Blinatumomab	Blinicyto®	Leucémie lymphatique aiguë	Fragment d'anticorps bispécifique engageant les lymphocytes T (BiTE) contre le CD19 sur les lymphocytes B et le CD3 sur les lymphocytes T
Brentuximab vedotin	Adcetris®	Lymphome hodgkinien ; lymphome anaplasique à grandes cellules systémique ; lymphome T cutané CD30 positif	Anticorps recombinant chimérique IgG ₁ contre le CD30 conjugué à la monométhylauristatine E (MMAE), molécule antimicrotubules
Canakinumab	Ilaris®	Syndromes périodiques associés à la cryopyrine	Anticorps IgG ₁ humain contre l'IL-1β
Certolizumab pégol	Cimzia®	Polyarthrite rhumatoïde ; spondylarthrite axiale ; arthrite psoriasique	Fragment Fab d'un anticorps recombinant humanisé contre le TNF-α, conjugué au polyéthylène-glycol
Cétuximab	Erbix®	Carcinome colorectal métastatique présentant le gène RAS de type sauvage et exprimant l'EGFR ; carcinome épidermoïde de la région tête et cou	Anticorps IgG ₁ chimérique contre l'EGFR
Daratumumab	Darzalex®	Myélome multiple	Anticorps IgG ₁ humain contre le CD38
Dénosumab	Prolia®	Ostéoporose ; perte osseuse en cas de cancer de la prostate	Anticorps IgG ₁ humain contre le RANKL (<i>receptor activator of NF-κB ligand</i>)
Eculizumab	Soliris®	Hémoglobininurie paroxystique nocturne ; syndrome hémolytique et urémique atypique	Anticorps IgG _{2/4} humanisé contre la protéine C5 du complément
Efmoroctocog alfa	Elocta®	Hémophilie A	Protéine de fusion d'un facteur VIII de coagulation et du fragment Fc d'un anticorps IgG ₁
Eftrenonacog alfa	Alprolix®	Hémophilie B	Protéine de fusion d'un facteur IX de coagulation et du fragment Fc d'un anticorps IgG ₁
Elotuzumab	Empliciti®	Myélome multiple	Anticorps humanisé immunostimulant IgG ₁ contre le SLAMF7 (<i>signaling lymphocyte activation molecule family member 7</i>)
Etanercept et biosimilaires	Enbrel® Erelzi®	Polyarthrite rhumatoïde ; arthrite juvénile idiopathique ; rhumatisme psoriasique ; spondylarthrite ankylosante sévère ; psoriasis en plaques ; spondylarthrite axiale non radiographique sévère	Protéine de fusion du fragment Fc d'un anticorps IgG ₁ humain et du récepteur TNF-2-p75
Evolocumab	Repatha®	Hypercholestérolémie primaire ; dyslipidémie mixte ; hypercholestérolémie familiale homozygote	Anticorps IgG ₁ humain contre la proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 (PCSK9)
Golimimumab	Simponi®	Polyarthrite rhumatoïde ; arthrite psoriasique ; spondylarthrite axiale ; colite ulcéreuse ; arthrite juvénile idiopathique polyarticulaire active	Anticorps IgG ₁ humain contre le TNF-α

Ibritumomab Tiuxetan	Zevalin®	Lymphome non hodgkinien	Anticorps IgG, murin contre le CD20 sur les lymphocytes B pour le marquage avec l'yttrium-90
Idarucizumab	Praxbind®	Antidote du dabigatran	Fragment Fab d'anticorps humanisé contre le dabigatran
Infliximab et biosimilaires	Remicade®, Inflectra®, Remsima®	Maladie de Crohn ; polyarthrite rhumatoïde ; colite ulcéreuse ; spondylarthrite ankylosante ; psoriasis	Anticorps IgG ₁ chimérique contre le TNF- α
Inotuzumab ozogamicin	Besponsa®	Leucémie lymphatique aiguë	Anticorps IgG ₄ humanisé contre le CD22, lié par covalence au N-acétyl-gamma-calichéamicine diméthylhydrazide
Ipilimumab	Yervoy®	Mélanome avancé	Anticorps IgG ₁ humain contre le CTLA-4
Ixékizumab	Taltz®	Psoriasis en plaques	Anticorps IgG ₄ humanisé contre l'IL-17A
Mépolizumab	Nucala®	Asthme éosinophile	Anticorps IgG ₄ humanisé contre l'IL-5
Natalizumab	Tysabri®	Sclérose en plaque rémittente récurrente	Anticorps IgG ₄ humanisé contre l'intégrine α 4
Nivolumab	Opdivo®	Cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) ; carcinome à cellules rénales avancé ; lymphome de Hodgkin classique ; mélanome avancé ; carcinome épidermoïde de la tête et du cou (CETC) ; carcinome urothélial	Anticorps IgG ₄ humain contre le récepteur PD-1
Obinutuzumab	Gazyvaro®	Leucémie lymphatique chronique ; lymphome folliculaire	Anticorps IgG ₂ humanisé contre le CD20
Ocrélizumab	Ocrevus®	Sclérose en plaques récurrente ; sclérose en plaques primaire progressive	Anticorps IgG ₄ humanisé contre le CD20
Ofatumumab	Arzerra®	Leucémie lymphatique chronique	Anticorps IgG ₁ humain contre le CD20
Olaratumab	Lartruvo®	Sarcome des tissus mous	Anticorps IgG ₄ humain contre le PDGFR α (platelet derived growth factor receptor α)
Omalizumab	Xolair®	Asthme allergique sévère ; urticaire chronique	Anticorps IgG ₄ humanisé contre les anticorps IgE
Palivizumab	Synagis®	Infection des voies respiratoires par le virus RS (prévention)	Anticorps IgG ₁ humanisé contre l'épitope A de la protéine de fusion du virus RS
Panitumumab	Vectibix®	Cancer colorectal avec un statut RAS de type sauvage	Anticorps IgG ₂ humain contre l'EGFR
Pembrolizumab	Keytruda®	Mélanome avancé ; cancer du poumon non à petites cellules ; lymphome de Hodgkin classique ; carcinome urothélial avancé	Anticorps IgG ₄ humanisé contre le récepteur PD-1
Pertuzumab	Perjeta®	Cancer du sein métastaté	Anticorps IgG ₁ humanisé contre le récepteur de type 2 des facteurs de croissance épidermiques (HER2)
Ramucirumab	Cyramza®	Cancer gastrique avancé ; adénocarcinome de la jonction gastro-œsophagienne ; cancer colorectal métastatique ; cancer du poumon non à petites cellules avancé	Anticorps IgG ₁ humain contre le récepteur VEGF de type 2
Ranibizumab	Lucentis®	Forme humide de la dégénérescence maculaire liée à l'âge ; œdème maculaire diabétique ; œdème maculaire consécutif à une occlusion de veine rétinienne ; perte de vision due à une néovascularisation choroïdienne	Fragment Fab d'un anticorps humanisé contre le VEGF-A
Reslizumab	Cinqaero®	Asthme éosinophile	Anticorps IgG ₄ humanisé contre l'IL-5
Rituximab	MabThera®	Lymphome folliculaire ; lymphome non hodgkinien diffus à grandes cellules B ; leucémie lymphatique chronique ; polyarthrite rhumatoïde sévère ; granulomatose avec polyangéite ; polyangéite microscopique	Anticorps IgG ₁ chimérique contre le CD20
Romiplostim	Nplate®	Purpura thrombopénique auto-immun primaire chronique	Protéine de fusion («peptibody») du fragment Fc d'un IgG ₁ , lié au niveau C-terminal avec une chaîne peptidique contenant deux domaines de liaison au récepteur à la TPO
Sarilumab	Kevzara®	Polyarthrite rhumatoïde	Anticorps IgG ₁ humain contre le récepteur IL-6
Sécukinumab	Cosentyx®	Psoriasis en plaques ; arthrite psoriasique ; spondylarthrite ankylosante	Anticorps IgG ₁ humain contre l'IL-17A
Siltuximab	Sylvant®	Maladie de Castleman	Anticorps IgG ₁ chimérique contre l'IL-6
Tocilizumab	Actemra®	Polyarthrite rhumatoïde ; arthrite idiopathique juvénile systémique active ; polyarthrite idiopathique juvénile	Anticorps IgG ₁ humanisé contre le récepteur IL-6
Trastuzumab	Herceptin®	Cancer du sein au stade précoce et métastatique ; cancer métastatique de l'estomac	Anticorps IgG ₁ humanisé contre le récepteur de type 2 des facteurs de croissance épidermiques (HER2)
Trastuzumab emtansin	Kadcyla®	Cancer du sein avancé ou métastatique	Anticorps IgG ₁ humanisé contre le récepteur de type 2 des facteurs de croissance épidermiques (HER2) conjugué à un agent anti-microtubulaire DM1 par une liaison thioéther MCC (4-[N-maléimidométhyl]cyclohexane-1-carboxylate) stable
Ustékinumab	Stelara®	Psoriasis en plaques ; arthrite psoriasique active ; maladie de Crohn	Anticorps IgG ₁ humain contre l'IL-12/23
Védolizumab	Entyvio®	Maladie de Crohn ; colite ulcéreuse	Anticorps IgG ₄ humanisé contre l'intégrine α 4 β 7

Légende : CTLA-4 – antigène-4 associé au lymphocyte T cytotoxique ; EGFR – récepteurs du facteur de croissance épidermique ; IL – interleukine ; PD – programmed death ; PD-L1 – programmed death ligand 1 ; virus RS – virus respiratoire syncytial ; TNF- α – facteur de nécrose tumorale α ; VEGF – facteur de croissance de l'endothélium vasculaire