

Université de POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNEE 2014

Thèse n°

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**
(arrêté du 17 juillet 1987)

Présentée et soutenue publiquement
le 17 Octobre 2014 à POITIERS

par Mademoiselle PENAUD Lucile
Née le 22 Juillet 1990

**Principales innovations biotechnologiques dans la production des
vaccins anti-tumoraux**

Composition du jury :

Président : Madame IMBERT Christine, Professeur des Universités

Membres : Madame RAGOT Stéphanie, Maître de conférences et Praticien
hospitalier
Madame DEBOUTE Marie, Docteur en Pharmacie

Directeur de thèse : Madame PAGE Guylène, Professeur des Universités



PHARMACIE

Professeurs

- COUET William, Pharmacie Clinique
- FAUCONNEAU Bernard, Toxicologie
- IMBERT Christine, Parasitologie
- GUILLARD Jérôme, Pharmaco chimie
- JOUANNETAUD Marie-Paule, Chimie Thérapeutique
- LEVESQUE Joël, Pharmacognosie
- MARCHAND Sandrine, Pharmacocinétique
- OLIVIER Jean Christophe, Galénique
- PAGE Guylène, Biologie Cellulaire
- RABOUAN Sylvie, Chimie Physique, Chimie Analytique
- SARROUILHE Denis, Physiologie
- SEGUIN François, Biophysique, Biomathématiques

Maîtres de Conférences

- BARRA Anne, Immunologie-Hématologie
- BARRIER Laurence, Biochimie
- BODET Charles, Bactériologie
- BON Delphine, Biophysique
- BRILLAULT Julien, Pharmacologie
- CHARVET Caroline, Physiologie
- DEJEAN Catherine, Pharmacologie
- DEBORDE Marie, Sciences Physico-Chimiques
- DELAGE Jacques, Biomathématiques, Biophysique
- DUPUIS Antoine, Pharmacie Clinique
- FAVOT Laure, Biologie Cellulaire et Moléculaire
- GIRARDOT Marion, pharmacognosie, botanique, biodiversité végétale
- GREGOIRE Nicolas, Pharmacologie
- HUSSAIN Didja, Pharmacie Galénique
- INGRAND Sabrina, Toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile Pharmaco chimie

- PAIN Stéphanie, Toxicologie
- RAGOT Stéphanie, Santé Publique
- RIOUX BILAN Agnès, Biochimie
- TEWES Frédéric, Chimie et Pharmaco chimie
- THEVENOT Sarah, Hygiène et Santé publique
- THOREAU Vincent, Biologie Cellulaire
- WAHL Anne, Chimie Analytique

PAST - Maître de Conférences Associé

- DELOFFRE Clément, Pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, Pharmacien

Professeur 2nd degré

- DEBAIL Didier

Maître de Langue - Anglais

- LILWALL Amy

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Madame Christine Imbert de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse.

Je remercie aussi tout particulièrement Madame Guylène Page pour m'avoir encadrée tout au long de ce travail de thèse. Vous avez toujours été présente et disponible pour répondre à mes questions et me donner des conseils. Juste ce qu'il faut quand il faut, c'était parfait.

Merci aussi à Madame Stéphanie Ragot pour faire partie de ce jury. Vous m'avez donné le goût des essais cliniques et c'est une des raisons pour lesquelles je suis là où je suis aujourd'hui. C'est en rencontrant des professeurs comme vous que la transmission de connaissance et donc l'enseignement prend tout son sens.

Un merci tout particulier à Marie Debouté. Tu me prouves une fois de plus que je peux compter sur toi. Tu m'as formée lors de mes premiers pas en officine et tu as été et est toujours un modèle de réussite pour moi. Je suis ravie de ta présence dans ce jury.

Merci à mes parents et à ma sœur qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui et m'ont permis d'évoluer et de me construire. Vous m'avez aussi soutenue durant ces longues années d'études et pour tout cela, je vous en serai éternellement reconnaissante.

Un grand merci à tous mes amis rencontrés à l'université de Poitiers et qui ont fait de ces années de grands moments de rigolade et d'apprentissages : Maud, Julien, Juliette, Lydia, Rémi et toute la promo concours 2008-2009. Sans vous, les années pharma auraient été plus ternes.

Enfin merci à mes amis de longue date : Guillaume, Julia, Julie, Liz, Lucette, Popo, Alba, Tom J, Tony, Cédric, Tom Rey, Dwab, Kev et tous les autres. Vous avez toujours été à mes côtés dans les bons et les moins bons moments et je souhaite que cela continue pour toujours.

Une page se tourne et un nouveau chapitre commence... Merci à tous !

Liste des abréviations

ADCC : Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag : Antigène

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ARN : Acide Ribonucléique

BCG : Bacille Calmette et Guérin

BCR : B-Cell Receptor

CD : Cellule Dendritique

CDC : Complement Dependent Cytotoxicity

CHO : Chinese Hamster Ovary

CIN : Cervical Intraepithelial Neoplasia

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigènes

CTL : Cytotoxic T-Lymphocyte

EBV : Epstein Barr Virus

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

EGF : Epithelial Growth Factor

EMA : European Medicine Agency

FDA : Food and Drug Administration

FUTURE : Females United To Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical Disease

GM-CSF : Granulocyte and Macrophage Colony-Stimulating Factor

GSK : GlaxoSmithKline

HB : Hépatite B

HBSS : Solution saline équilibrée de Hanks

HBV : Hepatite B Virus

HCV : Hepatite C Virus

HPV : Human Papillomvirus

HR : Hazard Ratio

HSP : Heat Shock Protein

IFN : Interféron

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine
IRM : Imagerie par Résonnance Magnétique
ITAM : Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif
ITIM : Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif
ITT : Intent-To-Treat
LHRH : Luteinizing Hormone Releasing Hormone
LNH : Lymphome Non Hodgkinien
LT : Lymphocyte T
MSD : Merck Sharp and Dohme
MVA : Modified Vaccinia Ankara
NK : Natural Killer
NSCLC : Non-Small Cell Lung Cancer
PAP : Phosphatase Acide Prostatique
pRb : protéine du Rétinoblastome
PSA : Prostatic Specific Antigene
TAA : Tumor-Associated Antigen
TCR : T-Cell Receptor
TH : T Helper
TNF : Tumor Necrosis Factor
TSA : Tumor Specific Antigen
ULN : Upper Limit of Normal
VaIN : Vaginal Intraepithelial Neoplasia
VIN : Vulvar Intraepithelial Neoplasia
VLP : Virus-Like-Particle/Protein
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

Liste des figures et tableaux

Figures :

Figure 1 : Les organes de l'immunité (Claude Perrin, *Biologie Flash*)

Figure 2 : Les acteurs cellulaires de l'immunité innée (<http://acces.ens-lyon.fr/>)

Figure 3 : Les deux types d'immunité adaptative

Figure 4 : Relation antigène-anticorps (<http://www.cancer.ca/fr>)

Figure 5 : La mémoire immunitaire (d'après <http://www.futura-sciences.com>)

Figure 6 : Réponses immunitaires primaire et secondaire (d'après <http://jeanvilarsciences.free.fr>)

Figure 7 : Structure d'une immunoglobuline IgG (d'après <http://www.pasteur.fr>)

Figure 8 : L'immunité adaptative passive et active

Figure 9 : Comparaison de la réponse immunitaire humorale provoquée par la rougeole naturelle et le vaccin contre la rougeole (Rey, 1980)

Figure 10 : Caractéristiques principales du cancer (d'après Hanahan and Weinberg, 2000)

Figure 11 : Statut immunitaire de la souris lors du développement de tumeurs induites par des carcinogènes chimiques (Schreiber et al., 2011)

Figure 12 : Les trois phases de l'immunoediting (d'après <http://www.ebioscience.com>)

Figure 13 : Nombre d'études en cours sur les vaccins thérapeutiques anti-cancer (clinicaltrials.gov, au 10 août 2014)

Figure 14 : Stratégies de recherche des vaccins anti-cancer en 2014

Figure 15 : Structure du virus de l'hépatite B (<http://people.rit.edu/japfaa/infectious.html>)

Figure 16 : Structure du génome du virus de l'hépatite B (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Figure 17: Méthode de production du vaccin recombinant contre l'hépatite B (<http://biotechlerncenter.interpharma.ch/fr>)

Figure 18 : Structure du papillomavirus humain (<http://titan.medhyg.ch/mh>)

Figure 19 : Génome du Papillomavirus humain (HPV 16) (d'après Malik et al., 2014)

Figure 20 : Production des pseudoparticules virales (VLP) contenues dans les vaccins papillomavirus (<http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/immunit-e-et-vaccination>)

Figure 21 : Production du vaccin anti HPV (d'après Berzofsky et al., 2004)

Figure 22 : Mécanisme d'action des vaccins à base de cellules dendritiques (d'après Surmont et al., 2011)

Figure 23 : Méthode de fabrication de Provenge® (d'après Di Lorenzo et al., 2011)

Figure 24 : Courbe Kaplan-Meier de la survie globale, étude IMPACT

(<http://www.ema.europa.eu>)

Figure 25 : Mécanisme d'action des vaccins peptidiques anti-tumoraux (www.buzzle.com)

Figure 26 : Courbe de Kaplan-Meier de la survie sans récurrence basée sur des patients de stade I (haut grade), stade II (très haut grade) et stade III (bas grade) (www.antigenics.com)

Figure 27 : Méthode de production du BiovaxID® (d'après <http://www.sec.gov/Archives>)

Figure 28 : Survie sans récurrence, BiovaxID® versus contrôle (n=117)

(<http://www.getfilings.com/sec-filings/110112>)

Figure 29 : Mécanisme d'action des vaccins à base de vecteurs viraux (<http://dspace.jorum.ac.uk>)

Figure 30 : Génome viral TG4010 (<http://openi.nlm.nih.gov>)

Figure 31 : Séquence du MVATG 9931 (composant viral du TG4010) (Oudard et al., 2010)

Figure 32 : Analyse rétrospective en sous-groupe de 101 patients avec un niveau de TrPAL normal à l'inclusion (<http://www.transgene.fr>)

Figure 33 : Mécanisme d'action des vaccins à base de cellules tumorales (www.buzzle.com)

Figure 34 : Méthode de production de OncoVAX® (d'après <http://www.moh.gov.my>)

Figure 35 : Survie générale des patients atteints d'un cancer du côlon de stade II

(<http://vaccinogeninc.com>)

Figure 36 : Mécanisme d'action des vaccins à base d'ADN (d'après www.pharmaasia.com)

Tableaux :

Tableau 1 : Les différents types de vaccins (d'après <http://www.sf-pediatric.com>)

Tableau 2 : Exemples d'antigènes spécifiques de tumeurs

Tableau 3 : Nombre d'études cliniques en cours pour chaque type de cancer

(clinicaltrials.gov, au 10 août 2014)

Tableau 4 : Vaccins anti-cancer actuellement sur le marché (clinicaltrials.gov, au 10 août 2014)

Table des matières

Introduction	1
I- Immunologie et cancer	3
I-1 Généralités sur l'immunité	3
I-1.1 Immunité innée.....	4
I-1.1.1 Caractéristiques générales	4
I-1.1.2 Acteurs cellulaires et moléculaires de l'immunité innée.....	5
I-1.2 Immunité adaptative	6
I-1.2.1 Cellules de l'immunité adaptative	10
I-1.2.1.1 Lymphocytes B et réponse immunitaire humorale	11
I-1.2.1.2 Lymphocytes T et réponse immunitaire cellulaire	12
I-1.2.2 Différents types d'immunité adaptative	12
I-1.2.2.1 Immunité adaptative passive naturelle	13
I-1.2.2.2 Immunité adaptative passive artificielle.....	13
I-1.2.2.3 Immunité adaptative active naturelle	13
I-1.2.2.4 Immunité adaptative active artificielle	14
I-2 Biologie du cancer	18
I-2.1 La cellule cancéreuse.....	18
I-2.2 Immunité anti-tumorale	20
I-2.2.1 Réponse immunitaire innée anti tumorale.....	20
I-2.2.1.1 Cellules NK	20
I-2.2.1.2 Cellules NKT et Lymphocytes T gamma-delta.....	21
I-2.2.2 Réponse immunitaire spécifique anti tumorale	22
I-2.2.2.1 Lymphocytes T cytotoxiques : CD8 ⁺ et CD4 ⁺	22

I-2.2.2.2 Anticorps	23
I-2.2.3 Concept d'immunosurveillance antitumorale	23
I-2.3 Antigènes tumoraux	25
I-2.4 Echappement tumoral et concept d'immunoediting.....	27
II - Vaccins anti-cancer	30
II-1 Etat des lieux de la recherche sur les vaccins anti-cancer.....	30
II-2 Vaccins anti-tumoraux mis sur le marché en France	36
II-2.1 Vaccins à base de protéine naturelle & cancer primitif du foie : Engerix®	36
II-2.2 Vaccins à base de protéines recombinantes & cancer du col de l'utérus : Gardasil®	40
II-3 Vaccins en cours de recherche ou mis sur le marché hors France	46
II-3.1 Vaccins à base de cellules dendritiques & cancer de la prostate : Provenge®	46
II-3.2 Vaccins à base de peptides & cancer du rein : Oncophage®	52
II-3.3 Vaccins à base d'anticorps monoclonaux anti-idiotypiques & lymphome non-hodgkinien : BiovaxID®	57
II-3.4 Vaccins à base de vecteurs & cancer du poumon non à petites cellules : TG4010	60
II-3.5 Vaccins à base de cellules tumorales & cancer du côlon : OncoVax®	67
II-3.6 Vaccins à base d'ADN	73
Références bibliographiques	78
Références internet.....	83
Résumé	84

Introduction

Chaque année en France, 150 000 personnes meurent du cancer et 350 000 apprennent qu'elles en sont atteintes. Le cancer est donc à l'heure actuelle la première cause de mortalité en France (*Plan cancer III, 2014, <http://www.elysee.fr/declarations>*). Ainsi, au fur et à mesure que la population vieillit, le fardeau médical, économique et social du cancer grandit, rendant ainsi la nécessité de découvrir de nouveaux traitements innovants plus importante que jamais.

Jusque dans les années 1990, les traitements proposés aux patients atteints de cancer comprenaient : chirurgie (ablation de la tumeur et éventuellement de ses extensions), radiothérapie, traitements médicamenteux (chimiothérapie, hormonothérapie, immunothérapie). Par la suite, les thérapies ciblées (théoriquement sans effet sur les cellules saines) ont fait leur apparition dans l'arsenal thérapeutique. Mais parmi toutes ces possibilités, la plupart ne s'attaquent pas aux métastases et les traitements sont souvent très mal tolérés par l'organisme. Chercheurs et cliniciens ont alors eu l'idée d'axer leurs recherches sur les vaccins. En effet, aucun traitement pharmacologique ne peut fournir le même niveau de sécurité, d'efficacité et d'effet à long terme que ces derniers.

L'idée d'employer le système immunitaire pour traiter le cancer a d'abord été énoncée par William Coley en 1893, bien que les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendaient le processus étaient alors inconnus (Coley, 1991). William Coley a tiré profit d'une découverte fortuite : la rémission spontanée d'un sarcome chez un patient infecté par *Streptococcus pyogenes* (Hoption Cann et al., 2003). En effet, la tumeur de ce patient a récidivé après de multiples interventions chirurgicales jusqu'à ce que les plaies ouvertes soient infectées par cette bactérie. Sur une période de plusieurs mois, la tumeur du patient a diminué, jusqu'à ce qu'il soit considéré comme guéri et le cancer de ce patient n'a pas récidivé durant plusieurs années. Coley pense donc que c'est l'infection qui est responsable de la rémission remarquable du patient. Il a alors effectué des expériences approfondies en infectant avec *S. pyogenes* et de manière délibérée des patients atteints de cancers. Selon les cas, cela a donné lieu à des infections donc des échecs, des décès ou des régressions du cancer. Il a par la suite développé une version de son traitement contenant un mélange de *S. pyogenes* et *Serratia marcescens* tués. Cette approche est connue sous le nom de « toxines de Coley » et a engendré plusieurs rémissions remarquables chez des patients présentant une maladie à un

stade avancé. Aujourd'hui, William Coley est considéré comme le « père de l'immunothérapie du cancer ». De nombreuses recherches sont actuellement menées, plus ou moins controversées, sur cette théorie qui allie stimulation de notre système immunitaire et protection de l'organisme contre le cancer.

I- Immunologie et cancer

I-1 Généralités sur l'immunité

L'immunité et le système immunitaire

L'immunité fait référence aux mécanismes de défense d'un organisme vivant contre des agents étrangers, notamment des agents infectieux, susceptibles de menacer son bon fonctionnement ou sa survie.

Les organes du système immunitaire sont appelés organes lymphoïdes. On les trouve de façon ubiquitaire dans le corps humain. Il existe deux types d'organes lymphoïdes (Figure 1) :

- les organes lymphoïdes centraux ou primaires : moelle osseuse et thymus
- les organes lymphoïdes périphériques : ganglions lymphatiques, rate et tissu lymphoïde associé aux muqueuses

La moelle osseuse est le lieu principal de fabrication des globules blancs, principales cellules de l'immunité (polynucléaires, monocytes et lymphocytes B et T).

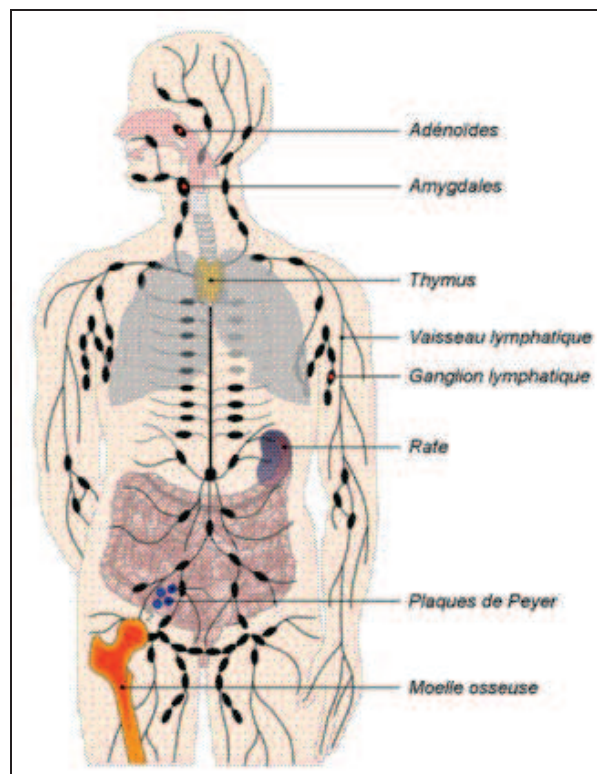


Figure 1 : Les organes de l'immunité

(www.biologieneflash.net)

Les caractéristiques du système immunitaire

Le système immunitaire se distingue par 4 caractéristiques principales :

- La spécificité correspond à la capacité du système immunitaire à reconnaître et à éliminer des agents pathogènes ou des molécules étrangères, appelées antigènes. Chaque antigène possède une structure moléculaire unique qui déclenche la production d'anticorps spécifiques dirigés contre lui.
- La diversité fait référence à la capacité du système immunitaire à combattre des millions de types d'agresseurs en les reconnaissant chacun à l'aide de leurs marqueurs antigéniques.
- La reconnaissance du soi et du non-soi se rapporte à la capacité du système immunitaire de faire la distinction entre les molécules de l'hôte lui-même (le soi) et les molécules étrangères (le non-soi).
- La mémoire fait référence à la capacité du système immunitaire de se souvenir des antigènes qu'il a rencontrés auparavant et de réagir de manière rapide et efficace lors d'expositions ultérieures.

Notion de tolérance immunitaire

Le système immunitaire est doué de la propriété de tolérance. La tolérance immunitaire se définit par la capacité du système immunitaire à ne pas manifester de réaction agressive envers certains antigènes avec lesquels il a été au préalable en contact. Les mécanismes de tolérance naturelle sont acquis au cours du développement et ont pour objectif de prévenir les réactions d'auto-immunité (production d'auto-anticorps dirigés contre l'organisme qui les a fabriqués).

I-1.1 Immunité innée

I-1.1.1 Caractéristiques générales

L'immunité innée est le système de protection de l'organisme présent à la naissance. Elle réunit un ensemble de mécanismes qui interviennent rapidement pour empêcher la pénétration ou la prolifération d'agents infectieux dans l'organisme. Une des particularités de l'immunité innée est qu'elle ne développera pas de mémoire à l'égard des agents pathogènes (contrairement à l'immunité adaptative).

L'immunité innée n'est pas toujours suffisante pour éradiquer le pathogène, mais elle est indispensable. Elle permet à l'organisme de mener à bien une première défense en attendant que l'immunité adaptative prenne le relais, ce qui peut prendre de cinq à sept jours.

I-1.1.2 Acteurs cellulaires et moléculaires de l'immunité innée

La ligne de défense externe de l'immunité innée constitue une barrière physique et chimique empêchant la pénétration de l'agresseur dans l'organisme. Cette défense se compose des tissus épithéliaux (peau et muqueuses) ainsi que des sécrétions produites par ces tissus (mucus, larmes, suc gastrique, bile, etc.). En plus de cette défense externe, la ligne de défense interne permet la lutte contre les agresseurs ayant réussi à pénétrer dans l'organisme.

Les cellules de l'immunité innée sont les suivantes (Figure 2) :

Les cellules polynucléées : neutrophiles, éosinophiles et basophiles

Les polynucléaires se divisent en trois lignées distinctes :

- les polynucléaires neutrophiles sont les plus nombreux dans la circulation sanguine. Ce sont essentiellement des cellules phagocytaires qui jouent un rôle majeur dans la défense antimicrobienne et dans l'inflammation aiguë.
- les polynucléaires éosinophiles jouent un rôle capital dans les défenses antiparasitaires et certaines réactions d'hypersensibilité (réponse immunitaire disproportionnée par rapport à la dangerosité de l'intrus).
- les polynucléaires basophiles libèrent de l'histamine, participent aux réactions allergiques et produisent des substances qui attirent les neutrophiles et les éosinophiles vers une région spécifique afin de combattre l'infection.

Les cellules mononucléées : monocytes/macrophages, cellules dendritiques, cellules NK

Elles regroupent les cellules présentatrices de l'antigène (phagocytes - monocytes/macrophages- et cellules dendritiques) et les cellules tueuses naturelles (lymphocytes NK).

- les monocytes circulent dans la circulation sanguine ou adhèrent aux parois vasculaires avant de migrer dans les tissus. Ils donnent alors naissance aux macrophages qui sont présents uniquement dans les tissus et les organes comme la rate, la moelle osseuse et le foie. Ce sont des cellules essentiellement phagocytaires.

- les cellules dendritiques (CD) sont des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) professionnelles, capables d'activer des lymphocytes T naïfs (lymphocyte qui n'a pas encore rencontré l'antigène spécifique et donc n'a pas eu la possibilité d'être activé par lui, ni d'être différencié en cellule effectrice ou cellule mémoire.). Le rôle des cellules dendritiques est de capter les antigènes en périphérie et de les transporter vers les organes lymphoïdes secondaires pour initier les réponses immunitaires adaptatives.
- les lymphocytes NK ou cellules « natural killer » (cellules tueuses) reconnaissent des cellules tumorales ou infectées, et produisent des substances chimiques (cytokines) qui endommagent et détruisent les cellules cancéreuses.

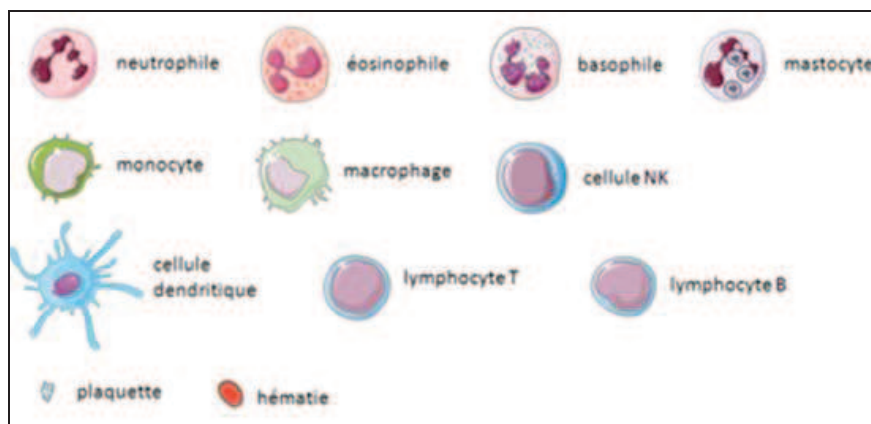


Figure 2 : Les acteurs cellulaires de l'immunité innée

(<http://accres.ens-lyon.fr/>)

I-1.2 Immunité adaptative

L'immunité adaptative entre en action dans les tissus lymphoïdes lorsque l'agent pathogène réussit à déjouer les défenses naturelles non spécifiques. L'immunité adaptative peut être cellulaire ou humorale (Figure 3).

Contrairement aux réponses innées, les réponses acquises sont spécifiques et douées de mémoire.

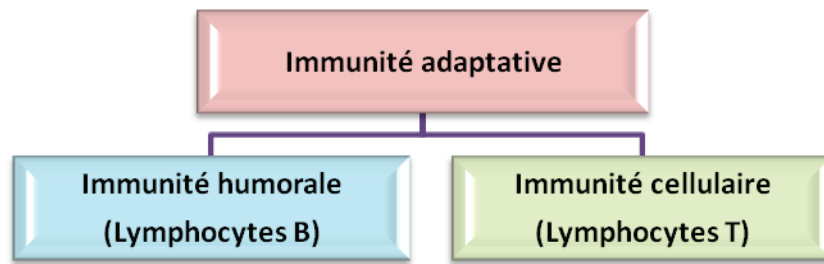


Figure 3 : Les deux types d'immunité adaptative

Relation antigène-anticorps

Pour déclencher cette réponse spécifique, deux types de molécules sont indispensables :

- un antigène : c'est une substance située à la surface des cellules et capable de provoquer une réponse immunitaire telle que la production d'anticorps spécifiques. Un antigène peut être n'importe quelle substance que l'organisme considère comme étrangère, par exemple les bactéries, les virus, les cellules cancéreuses ou d'autres envahisseurs susceptibles de causer une infection ou une maladie.

- un anticorps : c'est une protéine (aussi appelée immunoglobuline) produite par un organisme en réponse à une stimulation par un antigène. Mis en présence de l'antigène qui a provoqué sa formation, l'anticorps a la propriété essentielle de se combiner spécifiquement avec lui (Figure 4).

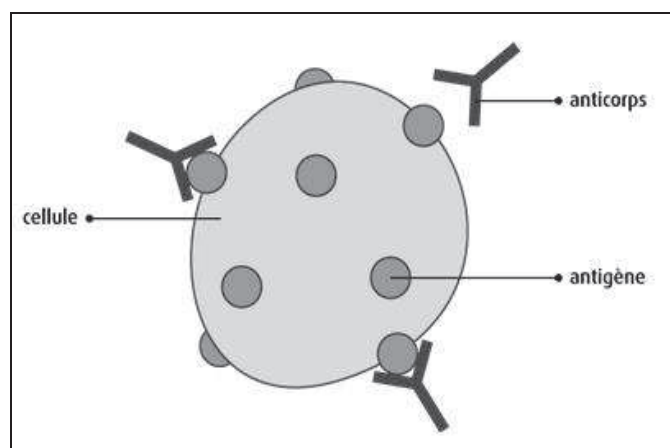


Figure 4 : Relation antigène-anticorps

(<http://www.cancer.ca/fr>)

La mémoire immunitaire

Une des caractéristiques fondamentales et spécifiques de l'immunité adaptative est la mémoire immunitaire. De nombreuses maladies infectieuses ne se produisent qu'une fois dans la vie d'un individu, en dépit du fait que l'exposition aux agents infectieux qui en sont responsables se renouvelle tout au long de la vie. Après la maladie (on parle de **primo-infection**), le système immunitaire aura la capacité d'éliminer les agents pathogènes avant qu'ils puissent induire les symptômes de la maladie. C'est cette protection acquise après la primo-infection qui correspond à la **mémoire immunitaire** (Figure 5).

Lors d'un premier contact antigénique, l'organisme développe une réponse immunitaire primaire. Les lymphocytes T et B prolifèrent et génèrent des cellules qui garderont la « mémoire » de cette rencontre (lymphocytes mémoire). Ces lymphocytes possèdent une longue durée de vie. Ceci permettra aux cellules filles de mieux réagir lors d'un nouveau contact antigénique, en développant une réponse secondaire (aussi appelée **réponse anamnétique**). En effet, lors d'une seconde exposition à l'antigène, l'organisme possède alors un plus grand nombre de lymphocytes possédant le récepteur spécifique de cet antigène. Cela signifie que même après une période prolongée, pouvant atteindre plusieurs dizaines d'années voire toute la vie de l'individu, le système immunitaire est capable de mettre en place des moyens de défense plus rapides et plus efficaces vis-à-vis de l'antigène correspondant. Ce sont ces mécanismes de mémorisation qui sont à la base du concept de vaccination (la vaccination constituant le premier contact avec l'antigène).

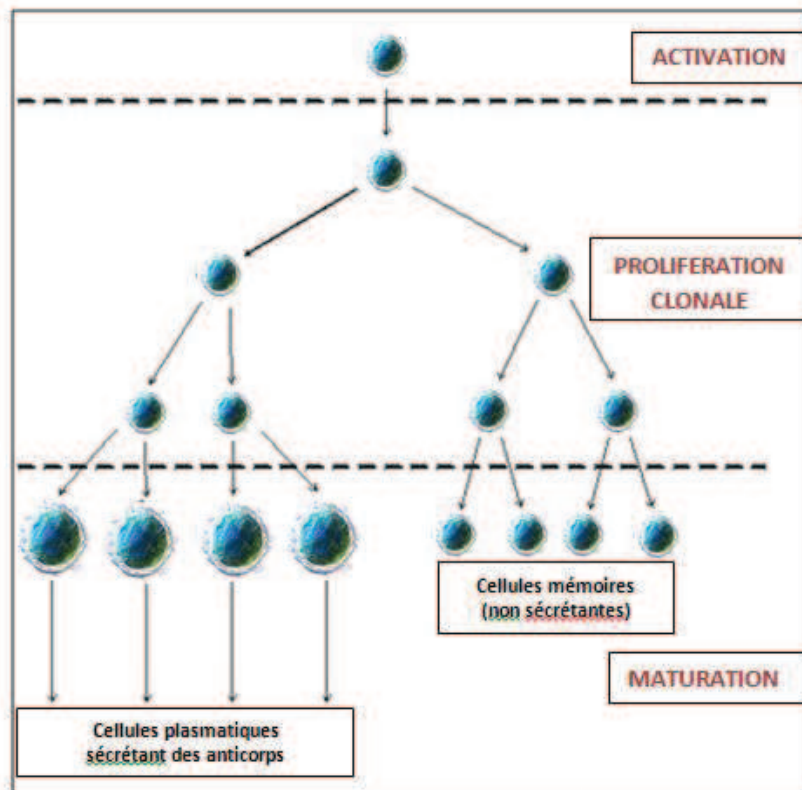


Figure 5 : La mémoire immunitaire

(d'après <http://www.futura-sciences.com>)

Les réponses immunitaires adaptatives

Il existe donc deux types de réponses immunitaires adaptatives (Figure 6) :

- la réponse primaire : elle possède une période de latence relativement longue avant l'apparition d'anticorps, une intensité faible (habituellement insuffisante pour conférer une protection efficace), une faible avidité des anticorps, une durée courte et une composition principalement d'IgM.
- la réponse secondaire (ou anamnétique) en revanche est plus rapide, plus intense et généralement plus efficace que la réponse primaire.

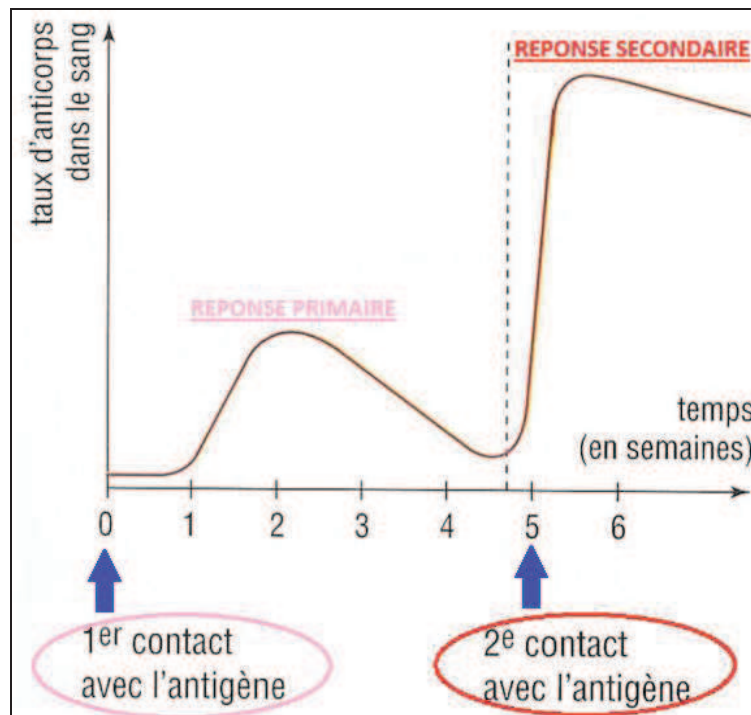


Figure 6 : Réponses immunitaires primaire et secondaire

(d'après <http://jeanvilarsciences.free.fr>)

I-1.2.1 Cellules de l'immunité adaptative

Il s'agit des lymphocytes B et des lymphocytes T.

Après la phase de production dans la moelle osseuse, les lymphocytes qui poursuivent leur maturation dans la moelle osseuse deviennent des lymphocytes B tandis que ceux qui migrent dans le thymus se différencient en lymphocytes T.

Les lymphocytes circulent dans le sang et le système lymphatique. On les retrouve en plus grande concentration dans les ganglions, la rate et les autres tissus lymphatiques où ils sont stockés (amygdales, adénoïdes, plaques de Peyer intestinales, appendice) (www.assim.refer.org).

Les lymphocytes B sont responsables de la réponse immunitaire humorale correspondant à la production d'anticorps.

Les lymphocytes T sont responsables des réponses immunitaires cellulaires intervenant dans la régulation et la cytotoxicité.

I-1.2.1.1 Lymphocytes B et réponse immunitaire humorale

Les lymphocytes B

Les lymphocytes B représentent environ 5 à 15% des lymphocytes circulants et sont définis par la présence d'immunoglobulines (Ig) de surface. Ces immunoglobulines, produites par la cellule elle-même, jouent le rôle de récepteur spécifique pour l'antigène et sont appelés BCR (B-Cell Receptor). Les immunoglobulines sont des hétéro-dimères protéiques, composées de deux chaînes lourdes identiques et deux chaînes légères identiques. Chaque chaîne est composée d'une région constante et d'une région variable (Figure 7).

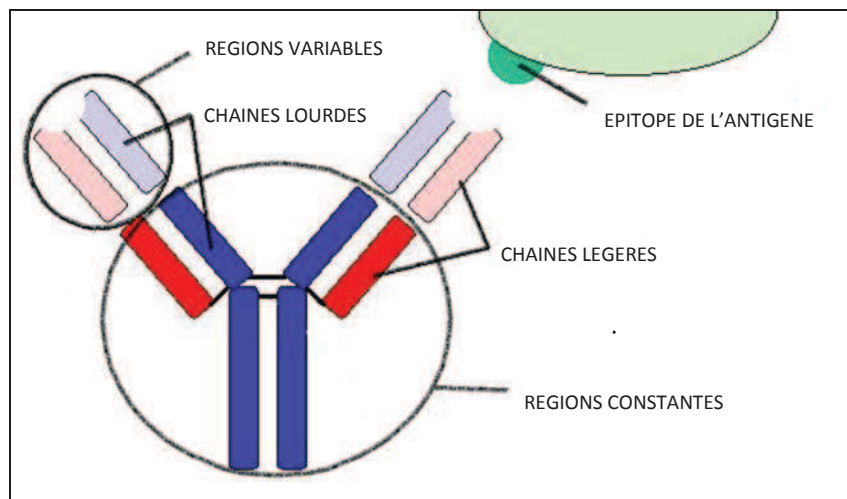


Figure 7 : Structure d'une immunoglobuline IgG

(d'après <http://www.pasteur.fr>)

Les lymphocytes B après activation se transforment en plasmocytes qui sécrètent des immunoglobulines (anticorps) de la même spécificité que leur BCR. Différentes chaînes lourdes déterminent des classes d'immunoglobulines ou iso-types. Il existe également des sous-classes. On décrit ainsi cinq types de chaînes lourdes : gamma, alpha, mu, delta et epsilon, subdivisées en neuf sous-classes : IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, IgD et IgE. Les chaînes légères sont soit kappa soit lambda.

L'immunité humorale

La production d'anticorps par les lymphocytes B assure l'immunité humorale du système immunitaire. Cette immunité est principalement dirigée contre les agents pathogènes extracellulaires tels que les bactéries.

I-1.2.1.2 Lymphocytes T et réponse immunitaire cellulaire

Les lymphocytes T

Durant la différenciation des lymphocytes T, les précurseurs lymphocytaires T acquièrent un récepteur de surface spécifique de l'antigène appelé TCR (T-Cell Receptor). A côté des lymphocytes T $\alpha\beta$ dits conventionnels, on décrit des lymphocytes T $\gamma\delta$ et les lymphocytes NKT ayant des fonctions et un développement différents. Après avoir été soumis aux sélections positive et négative dans le thymus, les lymphocytes T entrant dans la circulation sont dits lymphocytes T naïfs, car ils n'ont pas encore rencontré l'antigène reconnu par leur TCR. Afin d'être activés et d'augmenter leur nombre, ils doivent rencontrer des CPA professionnelles : les cellules dendritiques. Plusieurs signaux sont nécessaires pour ensuite activer les lymphocytes T.

L'immunité cellulaire

Les lymphocytes T du système immunitaire assurent principalement l'immunité cellulaire. Cette immunité est principalement dirigée contre les agents pathogènes intracellulaires tels que les virus, certaines cellules cancéreuses et les greffons.

I-1.2.2 Différents types d'immunité adaptative

L'immunité adaptative peut être active (naturelle ou artificielle) ou passive (naturelle ou artificielle) (Figure 8).

L'immunité active correspond à la fabrication par l'organisme de ses propres anticorps : c'est le cas des vaccins.

L'immunité passive correspond à la réception par l'organisme d'anticorps d'un autre organisme : c'est le cas des sérums.

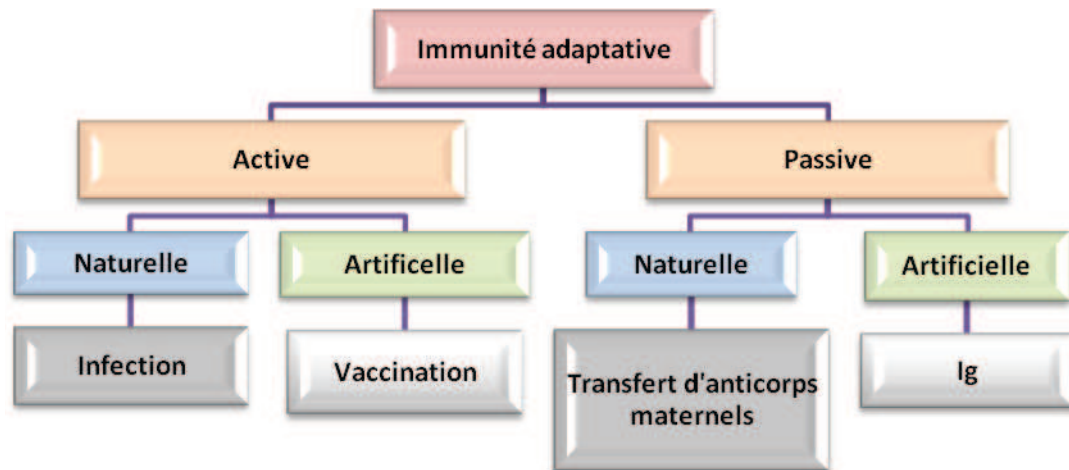


Figure 8 : L'immunité adaptative passive et active

I-1.2.2.1 Immunité adaptative passive naturelle

L'immunité adaptative passive naturelle se rencontre chez les nouveau-nés pendant les premiers mois de la vie, alors qu'ils bénéficient des anticorps que leur mère leur a transmis par le placenta et le lait maternel. C'est une immunité qui disparaît pendant la première année de vie.

I-1.2.2.2 Immunité adaptative passive artificielle

L'immunité adaptative passive artificielle s'obtient lorsqu'une personne bénéficie d'anticorps produits par un autre organisme humain ou animal. La protection fournie par les immunoglobulines en est un exemple.

I-1.2.2.3 Immunité adaptative active naturelle

L'immunité adaptative active naturelle correspond à la production de ses propres anticorps en réponse à une infection par un agent viral, bactérien ou parasitaire. Le degré et la durée de la protection sont variables d'une maladie à l'autre.

Cette immunité peut devenir pathologique. On parle alors de maladies auto-immunes. Ces maladies résultent d'un dysfonctionnement du système immunitaire qui s'attaque aux

constituants normaux de l'organisme, ou auto-antigènes. C'est par exemple le cas du diabète de type 1, de la sclérose en plaque ou de la polyarthrite rhumatoïde.

I-1.2.2.4 Immunité adaptative active artificielle

L'immunité adaptative active artificielle résulte de l'immunisation provoquée par la vaccination sans les complications possibles de la maladie car l'agent infectieux introduit dans l'organisme est dépourvu de sa virulence.

La vaccination

La vaccination consiste à introduire dans l'organisme des préparations antigéniques (vaccins) dans le but d'entraîner une immunité active artificielle. Cette immunité exploite les caractéristiques du système immunitaire et notamment la notion de mémoire immunitaire à des fins préventives et/ou thérapeutiques.

Le vaccin

Un vaccin est une préparation antigénique complexe. Il est fabriqué à partir de bactéries ou de virus complets, de leurs constituants (polysaccharides, protéines) ou de leurs produits (toxines), dont on enlève par différents procédés la capacité de produire la maladie tout en conservant celle d'induire une réponse immunitaire (principe d'immunogénicité).

Introduit dans un organisme vivant, le vaccin provoque la formation d'anticorps capables de s'opposer à l'infection de cet organisme par un micro-organisme donné. Un vaccin peut être préparé à partir d'agents infectieux vivants atténués (vaccins vivants), d'agents infectieux tués ou de constituants d'agents infectieux tués (vaccins inactivés) ou de toxines qui ont perdu leur pouvoir pathogène, mais conservé leur pouvoir antigénique (anatoxines).

Dans le tableau 1 ci-dessous, sont regroupés les différents vaccins actuellement disponibles en France (date de la mise à jour : 06 mars 2014) :

	Vivants atténués	Non vivants			
		Inactivés	Fraction antigénique		
		Entiers	Polyosidiques	Protéiques	VLP*
Bactériens	BCG***	Coqueluche Leptospirose	Haemophilus influenza b Méningocoque Pneumocoque Typhoïde	Coqueluche acellulaire Diphtérie Tétanos	
Viraux	Fièvre jaune Oreillons Poliomyélite oral Rotavirus Rougeole Rubéole Varicelle/Zona	Encéphalite à tiques Encéphalite japonaise Hépatite A Poliomyélite injectable Rage		Grippe Hépatite B	HPV**

*Virus-Like-Particle

** Human Papillomvirus

*** Bacille Calmette et Guérin

Tableau 1 : Les différents types de vaccins

(d'après <http://www.sf-pediatrie.com>)

Composition d'un vaccin

Un vaccin est une préparation antigénique complexe dont les constituants sont :

- **les antigènes** : il peut s'agir d'un vaccin monovalent (un seul antigène), polyvalent (plusieurs antigènes d'un agent infectieux) ou combiné (plusieurs antigènes de plusieurs agents infectieux).
- **les milieux de culture** (cellules d'embryon de poulet, œufs embryonnés de poule, cellules de rein de singe - cellules Vero, cellules diploïdes humaines, levures) : ils sont utilisés pour multiplier les agents infectieux qui serviront à la fabrication des vaccins.
- **le liquide de suspension** : salin, eau stérile ou liquide plus complexe.

- les excipients :

- agents de conservation (formaldéhyde, phénol, 2-phénoxyéthanol, glutaraldéhyde, thimérosal) ou antibiotiques (néomycine, polymyxine B) qui évitent la prolifération microbienne,
- agents de stabilisation (albumine bovine ou humaine, sérum bovin, gélatine, glycine, lactose, sorbitol, sucrose, saccharose) qui servent à la stabilisation des antigènes ou à la prévention de l'adhérence des antigènes aux parois des fioles de verre, ce qui réduirait l'immunogénicité. Il est aussi possible d'ajouter des polysorbates 20 et 80 qui assurent l'homogénéité du produit.
- adjuvants (sel d'aluminium) : ils prolongent la présence des antigènes au point d'injection ce qui permet de renforcer le pouvoir immunisant du vaccin. Le but est d'obtenir une meilleure réponse sérologique et d'assurer une immunité plus durable, avec une quantité plus faible d'antigènes et un plus petit nombre de doses.

Réponse immunitaire selon le type de vaccin

Selon le type de vaccin, la réponse immunitaire induite sera différente.

- vaccin vivant : après l'administration, les particules virales vaccinales se disséminent et se multiplient, activant ainsi l'immunité innée puis adaptative, comme lors d'une infection naturelle. Une infection se produit alors, habituellement sans signe clinique apparent ou avec des symptômes systémiques atténués (fièvre, malaises ou éruptions). Généralement, la réponse immunitaire et la protection conférée sont de même nature et de même intensité que celles qui suivent l'infection naturelle (Figure 9).

Comparativement aux vaccins inactivés, les vaccins vivants induisent une meilleure réponse innée, une production d'anticorps plus importante et plus persistante en raison de la réplication systémique. La conséquence est l'obtention d'un taux d'anticorps plus élevé et durable.

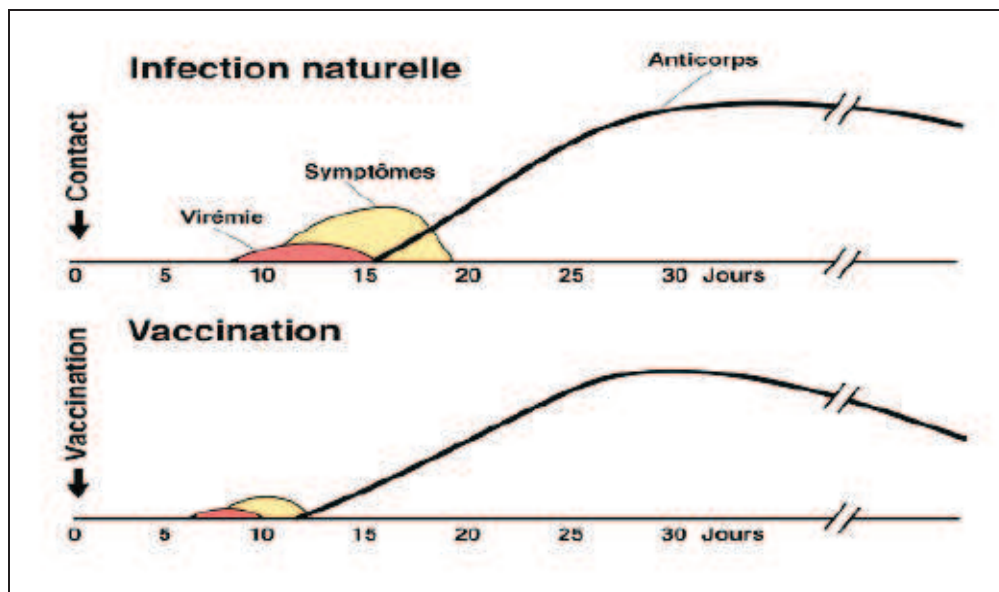


Figure 9 : Comparaison de la réponse immunitaire humorale provoquée par la rougeole naturelle et le vaccin contre la rougeole
(Rey, 1980)

- **vaccin inactivé** : dans ce cas, l'injection est suivie de l'élimination rapide du vaccin par des cellules phagocytaires. Pour être efficaces, les vaccins inactivés nécessitent la présence d'un adjuvant ayant pour but de retenir les antigènes suffisamment longtemps au site d'injection et de fournir des signaux aux cellules dendritiques, seules cellules capables d'activer des lymphocytes naïfs engendrant la protection.

Trois types de vaccins inactivés sont disponibles :

- **vaccin polysaccharidique.** Les polysaccharides stimulent directement les lymphocytes B (réponse indépendante des lymphocytes T), résultant en une production d'anticorps, sans cellules mémoire. Cela explique la faible immunogénicité des vaccins polysaccharidiques dans les 2 premières années de vie, période où les lymphocytes B immatures répondent peu à l'activation par les polysaccharides. C'est pourquoi la protection conférée par ces vaccins est relativement courte et qu'aucune réponse secondaire n'est déclenchée par une nouvelle exposition à ces vaccins : la personne devra être revaccinée (dose de rappel inutile).
- **vaccin entier ou vaccin à protéines purifiées.** Les antigènes vaccinaux pris en charge par les cellules dendritiques migrent vers les ganglions lymphatiques régionaux où ils vont induire les réponses spécifiques nécessaires à la

protection. Cette période dure environ de 2 à 3 semaines, produisant un pic d'anticorps sériques environ 1 mois après la vaccination. Les plasmocytes responsables de la réponse immunitaire primaire meurent rapidement par la suite, entraînant une baisse rapide du taux d'anticorps, d'où la nécessité d'administrer 1 ou plusieurs doses additionnelles, qui entraîneront une réponse anamnétique secondaire.

- **vaccin conjugué.** La conjugaison, qui est le couplage du polysaccharide à une protéine vectrice, induit une réponse immunitaire dépendante des lymphocytes T très tôt dans la vie. Les anticorps produits sont plus fonctionnels que ceux induits par le vaccin polysaccharidique non conjugué, et leur affinité pour les antigènes bactériens s'améliore avec le temps. La réponse immunitaire induite par un vaccin conjugué s'apparente donc à la réponse induite par un vaccin inactivé entier ou un vaccin inactivé à protéines purifiées.

I-2 Biologie du cancer

I-2.1 La cellule cancéreuse

La cellule cancéreuse est définie par 6 caractéristiques principales (Hanahan and Weinberg, 2000) (Figure 10) :

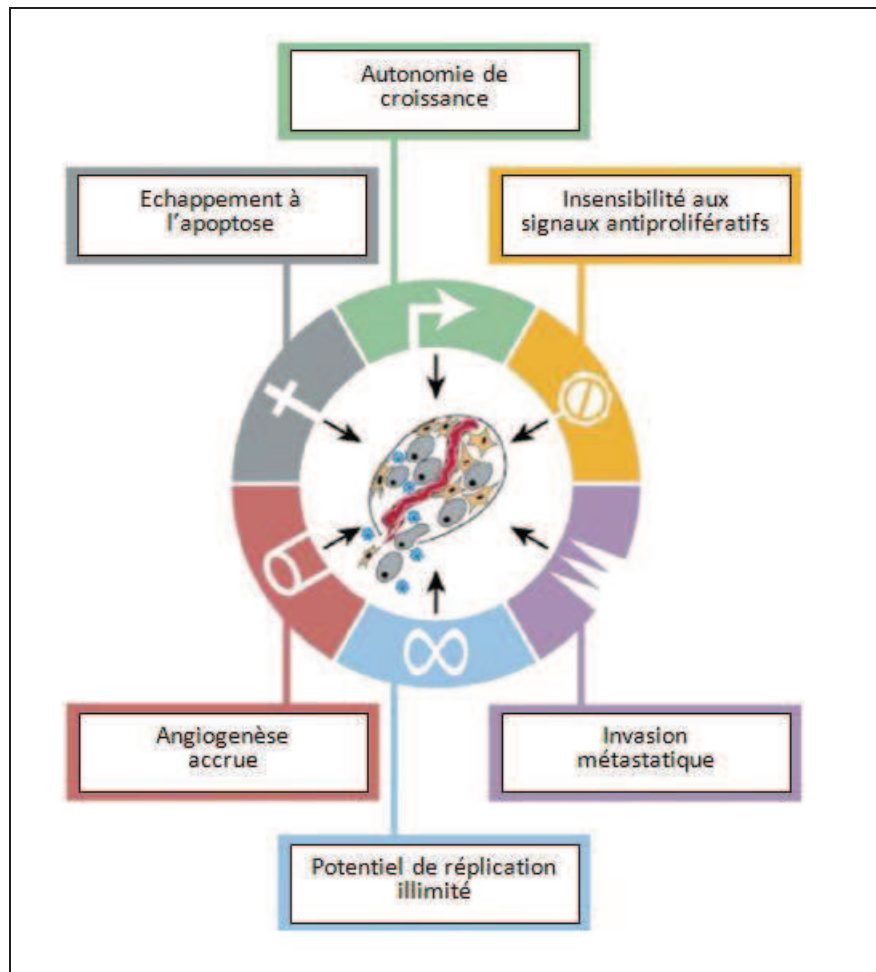


Figure 10 : Caractéristiques principales du cancer

(d'après Hanahan and Weinberg, 2000)

1. **Autonomie de croissance** : Cela permet aux cellules tumorales de réduire leur dépendance vis-à-vis de leur microenvironnement tissulaire et donc d'échapper à l'homéostasie tissulaire. Elles produisent leurs propres facteurs de croissance et assurent donc leur propre stimulation autocrine.
2. **Insensibilité aux signaux antiprolifératifs** : Dans un tissu sain, de multiples signaux antiprolifératifs opèrent pour maintenir la quiescence cellulaire et l'homéostasie tissulaire. Au niveau moléculaire, beaucoup de signaux antiprolifératifs passent par la protéine du rétinoblastome (pRb). Lorsqu'elle est hypo-phosphorylée, pRb bloque la prolifération.
3. **Echappement à l'apoptose** : La capacité à échapper à l'apoptose (mort cellulaire programmée) modifie l'équilibre initial mort/vie en faveur d'une survie cellulaire accrue.

- 4. Potentiel de réplication illimité :** Les cellules de mammifères portent en elles une « horloge biologique », intrinsèque, qui limite leur multiplication. Celle-ci repose sur l'érosion progressive des télomères (répétition d'éléments de séquence de 6 paires de base riches en guanine ; chez l'homme l'hexamère est TTAGGG) au cours des cycles successifs de réplication. Les télomères deviennent alors incapables de protéger les extrémités des chromosomes qui deviennent instables et cela conduit à la mort cellulaire.
- 5. Angiogenèse accrue :** L'oxygène et les nutriments apportés par le réseau vasculaire sont cruciaux pour les fonctions et la survie cellulaires. Les cellules localisées à l'intérieur d'une zone de prolifération aberrante manquent initialement de capacité pro-angiogénique, ce qui réduit leur capacité d'expansion. Afin de grossir, les néoplasies naissantes doivent développer une capacité pro-angiogénique. La cellule cancéreuse est capable de libérer ses propres facteurs angiogéniques qui deviennent des cibles thérapeutiques pour limiter sa croissance.
- 6. Invasion métastatique :** Au cours du développement de la plupart des types de cancers humains, les masses tumorales primaires donnent naissance à des cellules pionnières capables de sortir de la tumeur, d'envahir les tissus adjacents voire de se déplacer à des sites distants dans lesquels parfois, elles réussissent à fonder de nouvelles colonies appelées métastases.

Des recherches récentes ont permis d'identifier de nouvelles caractéristiques en plus des caractéristiques énoncées ci-dessus, telles que : le dérèglement énergétique cellulaire, l'évitement de la destruction immunitaire, l'inflammation promouvant la tumeur, l'instabilité du génome et mutation (Hanahan and Weinberg, 2011).

I-2.2 Immunité anti-tumorale

I-2.2.1 Réponse immunitaire innée anti tumorale

I-2.2.1.1 Cellules NK

Les cellules NK sont des cellules cytotoxiques capables de reconnaître et de lyser les cellules tumorales tout en sécrétant des messagers chimiques, appelées cytokines, qui stimulent et orientent la réponse des lymphocytes B et T.

Cette lyse se fait de manière indépendante de l'antigène et sans activation préalable, contrairement aux lymphocytes B et T. De plus, les cellules NK sont spontanément lytiques envers toutes les cellules, ce qui n'est pas le cas des lymphocytes T qui reconnaissent et ne s'attaquent qu'aux cellules portant un peptide particulier. Cependant, de nombreux mécanismes de régulation empêchent les NK de s'attaquer aux cellules saines.

Les cellules NK peuvent reconnaître les cellules cibles potentielles de deux façons différentes :

- dérégulation de l'équilibre entre les signaux transmis par des récepteurs activateurs (portant des séquences « ITAM » : immunoreceptor tyrosine-based activation motif) et inhibiteurs (portant des séquences « ITIM » : immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif).
- cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC : antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) (Goldsby et al., 2003).

I-2.2.1.2 Cellules NKT et Lymphocytes T gamma-delta

Les cellules NKT (lymphocytes NKT, natural killer T, tueur naturel T)

Ils possèdent des marqueurs de lymphocytes T (TCR de type $\alpha\beta$) et de lymphocytes NK (Kronenberg and Gapin, 2002). Le rôle protecteur des NKT dans l'immunosurveillance et l'immunité anti-tumorale s'exerce à travers la production de cytokines Th1 (IFN γ et TNF) et Th2 (IL4) qui activent d'autres composantes de l'immunité anti-tumorale (cellules NK et macrophages). Outre la production de cytokines, les cellules NKT exercent directement des propriétés cytotoxiques. En effet, elles expriment de façon constitutive Fas-L mais peuvent aussi lyser des cibles par sécrétion de perforine (Godfrey et al., 2000).

Les lymphocytes T $\gamma\delta$

Les lymphocytes T $\gamma\delta$ sont capables de tuer des cellules tumorales *in vitro*. Ils pourraient donc avoir un rôle protecteur dans l'immunité anti-tumorale (Catros et al., 2010).

Ils sont divisés en 2 sous-populations principales chez l'homme :

- les V δ 2 qui répondent aux infections microbiennes en reconnaissant des petites molécules non peptidiques phosphorylées (phospho-antigènes). Ces antigènes sont aussi surexprimés dans les tumeurs.
- les V δ 1 qui semblent reconnaître des molécules homologues à celles du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I (MICA et MICB) dont l'expression est induite par le stress cellulaire.

I-2.2.2 Réponse immunitaire spécifique anti tumorale

I-2.2.2.1 Lymphocytes T cytotoxiques : $CD8^+$ et $CD4^+$

Les lymphocytes T $CD8^+$ (lymphocytes T cytotoxiques, CTL)

Les lymphocytes T $CD8^+$ naïfs se différencient après la reconnaissance antigénique, en lymphocytes T mémoires et en lymphocytes T effecteurs ou cytotoxiques (CTL : cytotoxic T-lymphocyte). La destruction directe de cellules tumorales par les CTL est le principal mécanisme du système immunitaire adaptatif contre le cancer.

Ces LT- $CD8$ renferment des granules contenant de nombreuses enzymes et cytotoxines dont la perforine qui est capable de former des pores. La formation des pores membranaires n'est pas suffisante pour provoquer la mort cellulaire, mais facilite l'entrée d'autres protéines granulaires comme les granzymes, ce qui va induire la lyse de la cellule.

Un autre signal capable d'induire la mort cellulaire est l'interaction de la molécule Fas-L exprimée par les LT- $CD8$ et de la molécule Fas, son récepteur à domaine de mort, sur la cellule cible, entraînant une apoptose par l'activation de la voie des caspases sous-jacentes.

Les LT- $CD8$ produisent également des cytokines, comme l' $IFN\gamma$ ou le $TNF\alpha$, qui peuvent exercer une action cytotoxique sur la cellule tumorale (Kagi et al., 1994).

Les lymphocytes T $CD4^+$ (lymphocytes T auxiliaires, T Helper, TH)

Les lymphocytes T $CD4^+$ spécifiques des antigènes des tumeurs peuvent reconnaître les tumeurs présentées par des CPA soit directement, soit indirectement. Ces lymphocytes (aussi appelés auxiliaires, T Helper ou TH) sont particulièrement importants dans la phase de développement des réponses immunitaires contre les tumeurs, puisqu'ils sécrètent des cytokines qui aident le développement des CTL. De plus, les TH peuvent aussi jouer un rôle inhibiteur plus direct sur le développement des tumeurs en produisant des cytokines comme le $TNF-\alpha$ et l' $IFN-\gamma$ ou des facteurs anti-angiogéniques.

Les cellules TH sont classées en 2 groupes (Mosmann et al., 1986) :

- les TH1, impliquées dans l'immunité contre les pathogènes intracellulaires et les tumeurs
- les TH2, impliquées dans l'immunité contre certains pathogènes extracellulaires et dans les allergies.

Depuis quelques années, cette classification a été mise à l'épreuve par l'identification de nouvelles populations de cellules T $CD4^+$ (Steinmen, 2007) :

- les cellules T CD4⁺ régulatrices (T reg) : elles exercent des fonctions suppressives soit par contact cellulaire soit par sécrétion de cytokines immunosuppressives. Elles empêcheraient le développement des réponses anti tumorales efficaces.
- les TH17 : elles sont appelées ainsi car elles produisent l'IL17, une cytokine proinflammatoire, et sont retrouvées au site de certaines tumeurs d'origine épithéliale.

I-2.2.2.2 Anticorps

Les anticorps ont une action cytotoxique sur les cellules tumorales par quatre mécanismes principaux (Bellet and Dangles-Marie, 2004) :

- la cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps (ADCC : antibody-dependent cellular cytotoxicity). L'anticorps reconnaît les cellules tumorales par son fragment Fab. Grâce à son fragment Fc, il se lie aux cellules effectrices (cellules NK, macrophages et certaines cellules T) qui portent un récepteur pour le fragment Fc et réalise alors un pont entre ces cellules effectrices et les cellules tumorales. Ce pont rapproche physiquement les cellules effectrices qui vont tuer les cellules tumorales.
- l'induction par l'anticorps de la cascade d'activation classique du complément (CDC : complement dependent cytotoxicity) qui aboutira à la lyse de la cellule tumorale.
- la fixation de l'anticorps à la surface de la cellule tumorale, ce qui induit une transduction de signaux aboutissant à l'apoptose de la cellule tumorale.
- l'opsonisation des cellules tumorales sur laquelle s'est fixé l'anticorps.

Plusieurs anticorps monoclonaux spécifiques des antigènes des tumeurs (Her2/neu - trastuzumab : Herceptin[®], CD20 - rituximab : Mabthera[®], le récepteur de l'Epithelial Growth Factor (EGF) - cetuximab : Erbitux[®], ou le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) - bécacizumab : Avastin[®]) ont démontré leur efficacité et sont prescrits pour le traitement d'un nombre croissant de tumeurs (cancers du sein, lymphomes, tumeurs du colon, cancers du rein, tumeurs ORL, cancers du poumon).

I-2.2.3 Concept d'immunosurveillance antitumorale

C'est en 1909 que Paul Ehrlich, scientifique allemand, énonça l'idée de l'importance du système immunitaire dans la prévention des tumeurs (Ehrlich, 1909). Le système immunitaire

étant mal connu à l'époque, cette théorie fut d'abord rejetée. Puis en 1957, Frank Macfarlane Burnet (Burnet, 1957) et Lewis Thomas (Thomas, 1959) ont introduit la théorie de l'immunosurveillance des tumeurs.

L'immunosurveillance est la capacité du système immunitaire à détecter les cellules tumorales et à les détruire. Cette théorie repose sur différentes observations dont celles de William Coley, qui avait retrouvé une corrélation entre la régression de sarcomes osseux et la survenue de surinfection postopératoire par un streptocoque pathogène responsable d'érésipèle. L'hypothèse émise était que la réaction inflammatoire secondaire à la surinfection pouvait aussi contrôler la croissance tumorale et donc qu'il existe un lien entre système immunitaire et cancer (Coley, 1991 ; Burnet, 1970).

Des arguments épidémiologiques ont aussi permis de confirmer cette théorie d'immunosurveillance. En effet, des études épidémiologiques montrent une augmentation de l'incidence de certains cancers chez les individus présentant un déficit immunitaire primitif ou secondaire (Gatti and Good, 1971). Par exemple, le risque de développer un cancer après transplantation d'organe est deux à quatre fois plus important que dans la population générale (Engels et al., 2011). Cependant, ces cancers résultent le plus souvent d'infections opportunistes bactériennes ou virales reflétant donc la susceptibilité accrue de ces patients aux infections : lymphomes et EBV (Epstein Barr Virus) (Dolcetti, 2007), cancers du col de l'utérus et papillomavirus. De même, le fait que certains cancers non viro-induits soient augmentés après transplantation d'organes pourrait être lié à un effet cancérigène propre des traitements immunosuppresseurs, tels que la ciclosporine ou le tacrolimus.

C'est seulement dans les années 1990, avec l'avènement des modèles murins déficients et la production d'anticorps monoclonaux hautement spécifiques que le concept d'immunosurveillance a finalement pu être validé. Ces outils ont en effet permis de montrer que les souris présentant des déficits de différents acteurs de l'immunité sont plus sensibles au développement de cancers que les souris immunocompétentes (Figure 11).

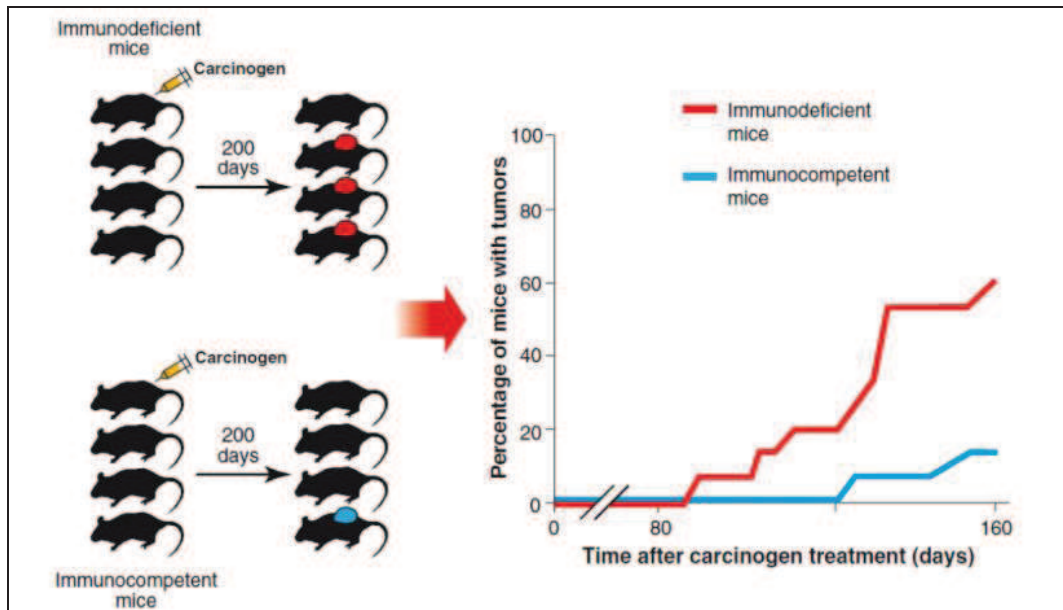


Figure 11 : Statut immunitaire de la souris lors du développement de tumeurs induites par des carcinogènes chimiques
(Schreiber et al., 2011)

D'après cette expérience, la conclusion est donc que le statut immunitaire de la souris est un facteur déterminant lors du développement de tumeurs induites par des carcinogènes chimiques. Les souris immunodéficientes développent en effet plus de tumeurs que les souris immunocompétentes (Schreiber et al., 2011).

I-2.3 Antigènes tumoraux

Le concept d'immunosurveillance anti tumorale suppose que le système immunitaire est capable de distinguer les cellules tumorales, dérivées du « soi », des tissus normaux. Cette étape de reconnaissance des cellules tumorales est possible par l'expression d'antigènes tumoraux.

L'identification et la caractérisation moléculaire du premier antigène tumoral chez l'homme au début des années 1990 par le groupe de Thierry Boon (Van der Bruggen et al., 1991), a constitué une étape décisive pour l'immunologie des tumeurs. A la suite de ce travail, des centaines d'antigènes associés aux tumeurs et reconnus par le système immunitaire ont été isolés.

Chez l'homme, ces antigènes ont d'abord été classés en 2 groupes :

les antigènes associés aux tumeurs (TAA : tumor-associated antigen) qui peuvent être présents à la fois sur les cellules tumorales et les cellules normales

les antigènes spécifiques de tumeurs (TSA : tumor specific antigen) qui sont présents uniquement sur les cellules tumorales

Cette classification était imparfaite et aujourd'hui les antigènes de tumeurs sont classés en cinq grands groupes (Cheever et al., 2009) :

- les antigènes d'activation (ou antigènes de type cancer-testis : MAGE, NY-ESO-1, MUC1),
- les antigènes de différenciation (Melan-A/MART-1, tyrosinase, gp100, gp75, TRP-1, PAP, PSMA),
- les antigènes surexprimés (HER-2/neu, p53, ACE, télomérase),
- les antigènes codés par des gènes mutés (β -caténine, CDK4, caspase 8, α -actinine 4 et CDC27),
- certains antigènes viraux (EBV, HBV, HCV et HPV).

En voici quelques exemples dans le Tableau 2 ci-dessous :

Antigène	Tumeurs	Tissus normaux
MAGE (1, 2, 3...)	Mélanomes Sein, poumon, O.R.L.	Testicules
MART 1	Mélanome	Mélanocytes
Tyrosinase	Mélanome	Mélanocytes, œil
gp 100	Mélanome	Mélanocytes
MUC 1 Pancréas	Sein	
EBV	Burkitt	Quelques lymphocytes B
Ras muté	Pancréas, côlon, thyroïde, poumon	

Tableau 2 : Exemples d'antigènes spécifiques de tumeurs

I-2.4 Echappement tumoral et concept d'immunoediting

L'ensemble des données expérimentales, épidémiologiques et cliniques énoncées auparavant valide donc le concept d'immunosurveillance antitumorale. Les réponses immunitaires permettent donc l'élimination des cellules tumorales, contribuant ainsi à la protection de l'organisme contre le développement des tumeurs.

Pourtant, des cancers apparaissent tout de même chez des patients immunocompétents, ce qui nous amène donc à penser qu'au cours de l'évolution tumorale, des changements permettent aux cellules tumorales d'échapper à leur élimination.

Concept d'immunoediting

Ces dernières années, une théorie alliant immunosurveillance et échappement tumoral a émergée. Il s'agit du concept d'immunoediting (Dunn et al. 2004). Cette théorie, aussi nommée théorie des 3E, se définit en trois phases : élimination, équilibre et échappement (Figure 12).

- **Elimination** : au cours de cette phase, les cellules en cours de transformation sont reconnues et détruites par le système immunitaire. Le système immunitaire joue alors le rôle d'un suppresseur de tumeur extrinsèque.

- **Equilibre** : cette phase correspond à la balance entre la croissance tumorale et la surveillance immunitaire. Le système immunitaire exerce alors une pression sélective qui va permettre d'éliminer les cellules sensibles à son action. Cette phase se traduit par la sélection de cellules tumorales capables d'éviter ou de résister à la destruction par le système immunitaire, voire d'induire une immunosuppression, et conduisant à la phase d'échappement.

- **Echappement** : dans cette phase, les cellules acquièrent des mutations leur permettant d'échapper à la reconnaissance par le système immunitaire voire de contrôler ou d'éliminer les cellules immunitaires. Le système immunitaire devient alors incapable de contrôler la croissance tumorale et des lésions néoplasiques détectables se développent (Dunn et al., 2004).

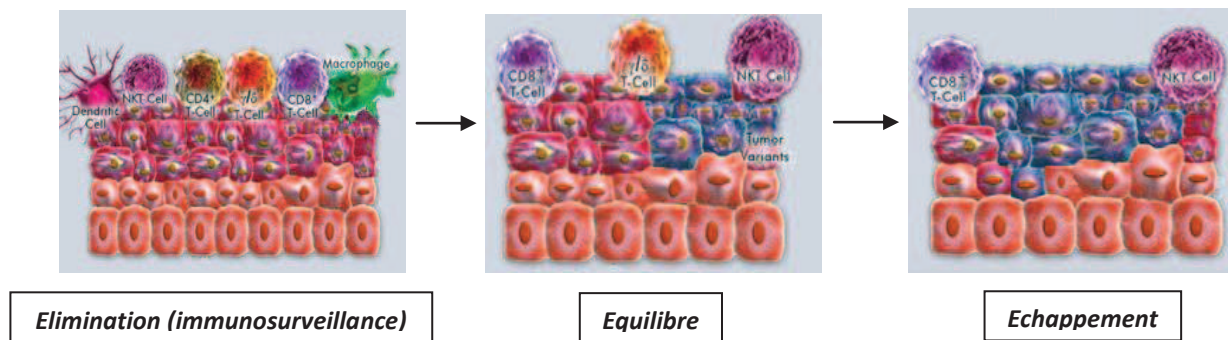


Figure 12 : Les trois phases de l'immunoediting

(d'après <http://www.ebioscience.com>)

Il faut toutefois noter que la théorie de l'immunoediting ne fait pas l'unanimité. Des chercheurs concluent que les cellules tumorales échappent à la détection par le système immunitaire non pas par perte de leur immunogénicité (échappement tumoral) mais grâce à l'induction d'une tolérance centrale ou périphérique (Qin and Blankenstein, 2004 ; Willimsky and Blankenstein, 2005).

L'échappement tumoral

Lors de l'échappement tumoral, le système immunitaire sélectionne des variants tumoraux résistant à l'attaque immunologique par différents mécanismes (www.assim.refer.org):

- perte de l'expression d'antigènes tumoraux, ou de molécules du CMH
- augmentation de l'expression de molécules anti-apoptotiques
- production de molécules immunosuppressives
- recrutement dans le microenvironnement tumoral de cellules suppressives (lymphocytes T régulateurs, cellules myéloïdes suppressives...).
- expression de molécules favorisant l'apoptose des lymphocytes

Ce concept d'immunosurveillance a conduit au développement d'une nouvelle approche thérapeutique, l'immunothérapie des cancers, visant à amplifier la réponse immunitaire anti tumorale naturelle. L'immunothérapie suscite l'espoir d'éradiquer les cellules tumorales sans affecter les cellules normales, et cela quelle que soit leur localisation, et donc notamment au niveau métastatique.

Il existe aujourd’hui différentes indications cliniques où des immuno-modulateurs (BCG dans les cancers de la vessie, IL-2 dans les tumeurs du rein et les mélanomes, imiquimod dans les cancers basocellulaires) ou des vaccins cellulaires (Sipuleucel, Provenge[®] dans les cancers de la prostate) ont démontré leur efficacité et leur intérêt thérapeutique. Ce sont ces vaccins anti-tumoraux, déjà mis sur le marché ou encore à l’étude, qui vont être développés dans la suite de cette thèse.

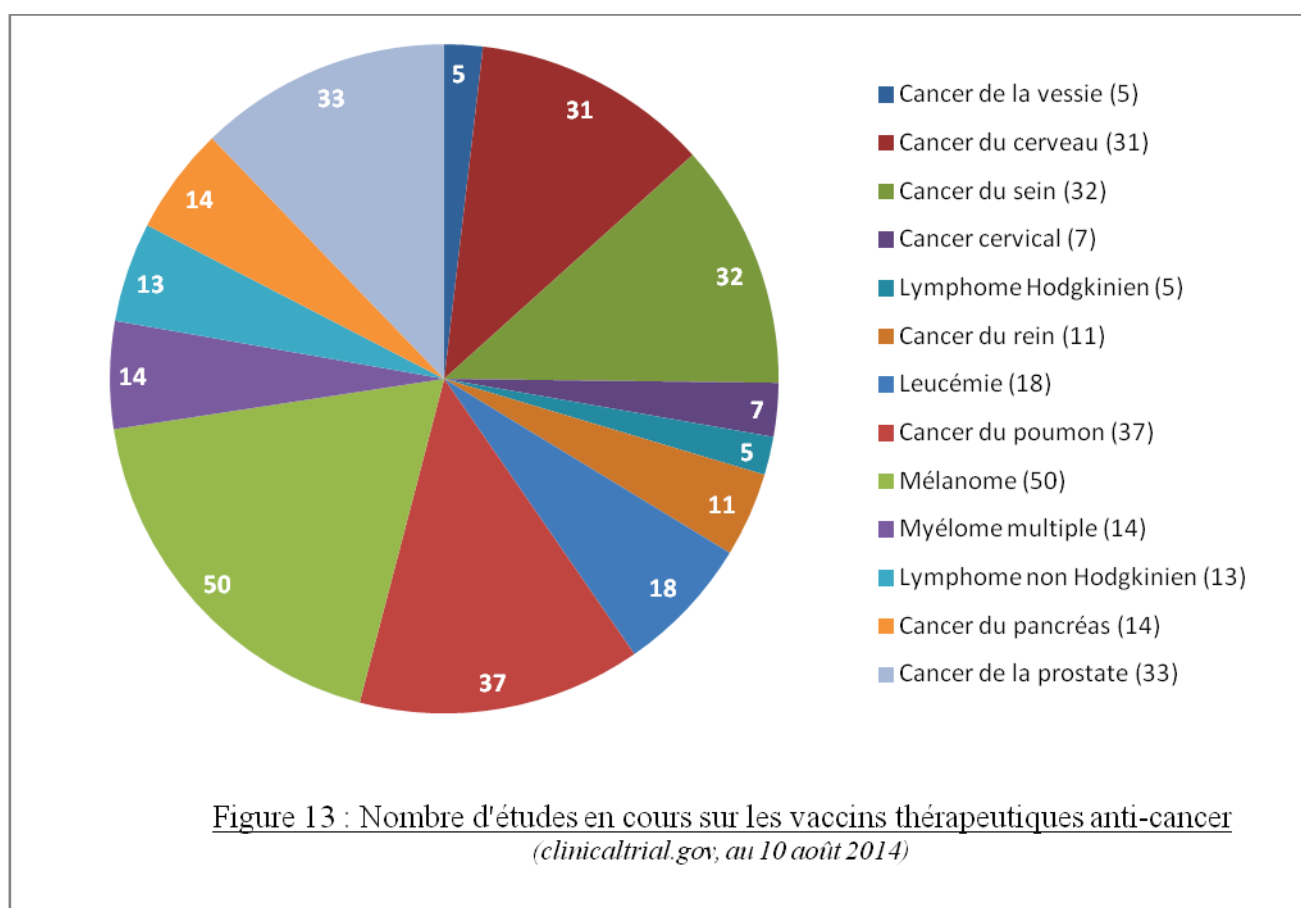
II - Vaccins anti-cancer

Le rationnel de la recherche sur les vaccins anti-cancer peut s'expliquer grâce à trois facteurs (Wei and Hang, 1989; Echchakir et al. 2000) :

- un large éventail d'antigènes tumoraux nouvellement identifiés
- l'évidence de la capacité inhérente du système immunitaire à reconnaître les tumeurs
- un profil de toxicité favorable de ces vaccins

II-1 Etat des lieux de la recherche sur les vaccins anti-cancer

De nombreux essais cliniques sont actuellement menés sur des vaccins anti-cancer comme le montre la figure 13 ci-dessous :



L'analyse par indication clinique suggère qu'un nombre disproportionné de candidats-vaccins (près de 70%) est actuellement développé dans les cancers de la prostate, du sein, du poumon, du cerveau et le mélanome.

Un tel déséquilibre peut s'expliquer notamment par le succès récent de la mise sur le marché de Provenge® (sipuleucel-T) dans le cancer de la prostate (approbation aux États-Unis). En outre, le nombre d'antigènes découverts et validés dans ces cancers dépasse le nombre d'antigènes caractérisés dans les autres types de tumeurs, entraînant les innovations dans ces indications cliniques.

La conclusion de cette analyse montre qu'un grand nombre d'indications en oncologie sont actuellement sous-représentées, ce qui pourrait accroître les besoins médicaux non satisfaits.

L'analyse des phases des essais cliniques en cours, en fonction des différentes indications, montre la aussi une forte disproportion (Tableau 3). En effet, on remarque un grand nombre d'essais de phases I, II et II-I puis une diminution très conséquente concernant les essais de phase III. Cela signifie que l'efficacité de la molécule n'est souvent pas au rendez-vous, stoppant ainsi son développement.

Type de cancer	I	II	II-I	III	III-II	Non spécifié
Cancer de la vessie (5)	2	2	1	0	0	0
Cancer du cerveau (31)	13	8	4	2	0	4
Cancer du sein (32)	17	4	6	2	1	2
Cancer cervical (7)	2	1	4	0	0	0
Lymphome Hodgkinien (5)	1	1	1	1	0	1
Cancer du rein (11)	6	2	1	1	0	1
Leucémie (18)	4	7	5	2	0	0
Cancer du poumon (37)	14	5	12	4	2	0
Mélanome (50)	21	14	11	1	2	1
Myélome multiple (14)	4	5	3	1	0	1
Lymphome non Hodgkinien (13)	2	6	3	1	0	1
Cancer du pancréas (14)	2	3	4	1	0	4
Cancer de la prostate (33)	8	17	5	2	0	1
Total	96	75	60	18	5	16

Tableau 3 : Nombre d'études cliniques en cours pour chaque type de cancer
(clinicaltrial.gov, au 10 août 2014)

Plusieurs paramètres peuvent expliquer l'arrêt des recherches sur un candidat-vaccin :

- **Le mauvais cancer :** La plupart des premiers essais de vaccins ont été effectués dans le mélanome parce qu'il n'y avait pas de traitement efficace dans cette indication mais aussi à cause du fait que des rémissions spontanées ont été notées dans le mélanome, indiquant l'activité du système immunitaire. Malheureusement, les essais ont été peu concluants dans cette indication et c'est finalement un vaccin contre le cancer de la prostate qui a reçu la première approbation de mise sur le marché aux Etats-Unis.
- **Le mauvais adjuvant :** Les vaccins sont composés d'une entité telle qu'un antigène tumoral ou une cellule tumorale entière, plus un adjuvant, qui envoie un signal de danger pour le système immunitaire. Si l'adjuvant n'est pas le bon, le signal envoyé au système immunitaire est lui aussi mauvais. Cela a été le principal facteur du fiasco de l'essai clinique de phase III du Megavax dans le mélanome, dans lequel le bras contrôle a obtenu de meilleurs résultats que le bras vaccin ce qui signifie que la progression de la maladie a été moins importante dans le bras contrôle que dans le bras vaccin. L'équipe conduisant l'essai a décidé de changer l'adjuvant du BCG, qu'ils avaient utilisé dans la phase II, par un autre adjuvant qui s'est avéré être pire.
- **Le mauvais stade de la maladie :** Comme pour les autres médicaments contre le cancer, les premiers essais de vaccins anti-cancer ont tendance à être conduits à un stade très avancé de la maladie mais l'expérience a montré que les vaccins ont du mal à avoir un bénéfice à ce stade. Avec ce type de vaccins, c'est un peu « le plus tôt sera le mieux ».
- **Les mauvais patients :** L'immunothérapie fonctionne mieux chez les patients avec un système immunitaire sain. La preuve de l'importance d'un système immunitaire qui fonctionne bien dans la détermination du bénéfice apporté par un vaccin contre le cancer vient d'études effectuées sur le mélanome par GlaxoSmithKline (GSK). Ils ont trouvé un ensemble de gènes :
 - ✓ qui reflètent la réponse immunitaire spontanée de la tumeur associée à un système immunitaire sain

- ✓ qui distinguent avec précision les patients atteints d'un mélanome qui répondent à leur vaccin MAGE-A3 de ceux qui ne répondent pas (tant en termes de progression de la maladie que de survie).

GSK va proposer ces gènes en tant que marqueurs pour sélectionner les patients qui ont le plus de chances de répondre au traitement.

- **Essais mal conduits :** Certains essais de phase III ont souffert d'un manque de compréhension et d'engagement des centres participants. Une candidat-vaccin a par exemple montré des résultats prometteurs dans le cancer du poumon au centre de cancer du Royal Marsden à Londres. Quand, plus tard, les résultats multicentriques de phase III n'ont montré aucun avantage. Il s'est avéré que, en dépit de la formation, le personnel dans les différents centres avait administré par voie sous-cutanée le vaccin à la majorité des patients, rendant le vaccin totalement inefficace, au lieu de l'administrer par voie intraveineuse.

En outre, si un minimum de huit injections sont nécessaires pour permettre au vaccin de faire son travail, un peu moins de la moitié des patients ont reçu deux injections voire une seule.

- **Investisseurs impatients :** Contrairement à la plupart des médicaments cytotoxiques et cytostatiques, les thérapies qui impliquent la reprogrammation du système immunitaire ont besoin d'un peu de temps pour faire effet. Par exemple, dans le cas de Provenge[®], il n'y avait pas de différence entre le groupe traitement et le groupe contrôle à neuf mois dans l'étude randomisée mais la société a décidé de continuer. Et entre 9 et 12 mois, la courbe de survie est remontée dans le groupe traité par le vaccin. (survie de 4,1 mois par rapport au placebo).

Sur la figure 14 ci-dessous, différentes stratégies, actuellement en cours de recherche sur la mise au point de nouveaux vaccins anti-tumoraux, sont présentées :

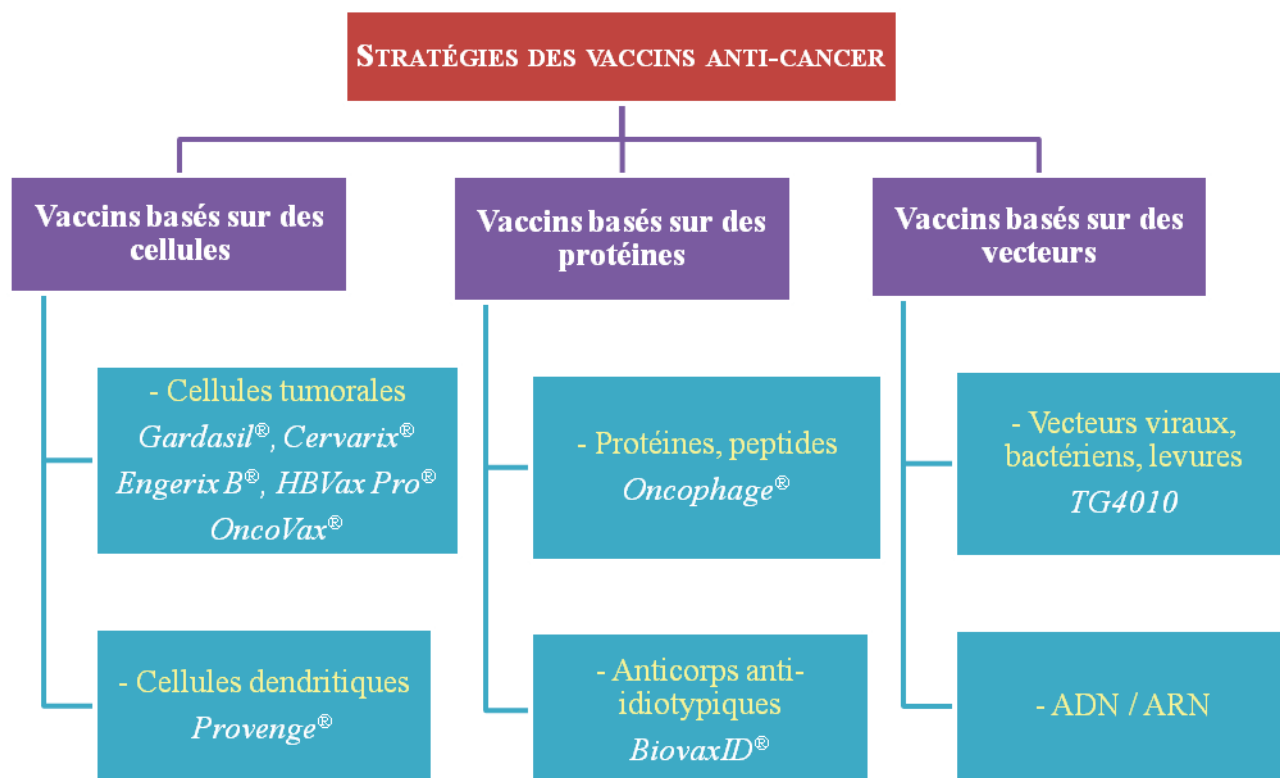


Figure 14 : Stratégies de recherche des vaccins anti-cancer en 2014

A l'aide des essais cliniques menés sur ces différentes stratégies, plusieurs vaccins contre le cancer sont déjà sur le marché dans le monde (Tableau 4) :

Nom	Laboratoire	Type de vaccin	Cancer	Date	Pays
Melaccine ⁽¹⁾	Corixa	Antigènes tumoraux allogéniques	Mélanome	1999	Canada
M-Vax ⁽²⁾	AVAX	Cellules tumorales autologues	Mélanome	2000 (Retrait 2002)	Australie
Gardasil ⁽³⁾	Sanofi Pasteur MSD	Protéines	Col de l'utérus	2006	Etats-Unis, Europe, Australie,

					Canada, Japon
Cervarix ⁽⁴⁾	GSK	Protéines	Col de l'utérus	2007	Australie, Philippines, Europe, Etats- Unis
Oncovax ⁽⁵⁾	Vaccinogen	Cellules tumorales autologues	Colon	2008	Suisse
Oncophage ⁽⁶⁾	Antigenics	Cellules tumorales autologues	Rein	2008	Russie
Provenge ⁽⁷⁾	Dendreon	Cellules dendritiques	Prostate	2010	Etats-Unis
Cimavax EGF ⁽⁸⁾	Centre d'Immunologie Moléculaire de la Havane	Protéines	Poumon	2011	Cuba
Vaxira ⁽⁹⁾	Centre d'Immunologie Moléculaire de la Havane	Anticorps monoclonal anti- idiotypique	Poumon	2013	Cuba, Argentine

Tableau 4 : Vaccins anti-cancer actuellement sur le marché

(1) <http://www.coulterpharm.com>

(2) *Adis International Ltd, BioDrugs 2003*

(3) <http://www.prnewswire.com/news-releases>

(4) *Itoh et al., 2009*

(5) *Rodríguez et al., 2000*

(6) <http://www.smartplanet.com/blog/global-observer/a-vaccine-for-lung-cancer/>

(7) <http://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/vaccines/approvedproducts>

(8) <http://www.reuters.com/article/2007/09/24/glaxo-cervarix-idUSL2446805720070924>

(9) <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/ucm210215.htm>

II-2 Vaccins anti-tumoraux mis sur le marché en France

Actuellement en France, seuls des vaccins préventifs contre le cancer sont disponibles sur le marché : le vaccin contre le virus de l'hépatite B et le vaccin contre le cancer de l'utérus.

II-2.1 Vaccins à base de protéine naturelle & cancer primitif du foie : Engerix®

L'hépatite B et le cancer primitif du foie

La prévalence de l'hépatite B est la plus élevée en Afrique subsaharienne et en Asie orientale. On rencontre également des taux élevés d'infection chronique en Amazonie et dans les parties méridionales d'Europe centrale et orientale.

Le virus de l'hépatite B (VHB) se transmet par le sang et à un moindre degré par les autres liquides biologiques. Dans les zones de forte endémicité, le virus de l'hépatite B se transmet généralement à la naissance, de la mère à l'enfant. Dans les zones de faible endémicité, la transmission sexuelle et l'utilisation d'aiguilles contaminées, notamment chez les toxicomanes par injection, sont les principales voies de contamination.

La plupart des individus ne présentent aucun symptôme pendant la phase d'infection aiguë. Néanmoins, certaines personnes subissent une forme aiguë de la maladie avec un jaunissement de la peau et des yeux (ictère), une coloration foncée des urines, une extrême fatigue, des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales. Chez environ 10% des personnes, le virus de l'hépatite B peut aussi causer une infection hépatique chronique, qui peut ensuite évoluer en cirrhose ou en cancer du foie. Enfin, 1 à 2% des sujets développeront une hépatite fulminante (nécrose aigue totale du foie) dont la mortalité est très élevée. Il est à noter que, plus de 90% des adultes en bonne santé infectés par le virus de l'hépatite B guérissent et sont complètement débarrassés du virus en 6 mois.

Le diagnostic en laboratoire de l'infection par le virus VHB repose sur la détection des antigènes de surface HBsAg de l'hépatite B.

Il n'existe pas de traitement spécifique contre l'hépatite B aiguë. Les personnes atteintes d'hépatite B chronique nécessitant un traitement peuvent se voir prescrire des agents antiviraux oraux comme les analogues de nucléosides dont le tenofovir, Viread® (Laboratoire Gilead), un inhibiteur de la transcriptase inverse dont l'entécavir, Baraclude® (Laboratoire Bristol-Myers Squibb) mais aussi des injections d'interféron dont l'interféron pégylé alpha-2a, Pegasys® (Laboratoire Roche). Concernant le cancer du foie, il est presque toujours mortel. Dans les pays à revenus élevés, la chirurgie et la chimiothérapie peuvent prolonger la vie

encore quelques années dans certains cas. Enfin, en ce qui concerne les personnes souffrant d'une cirrhose, elles reçoivent parfois une greffe du foie, avec un succès variable.

Un vaccin contre cette maladie est disponible depuis 1982. Il est efficace à 95% pour prévenir l'infection et ses conséquences chroniques

(<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/fr/>).

Le virus de l'hépatite B

Le virus de l'hépatite B (VHB) est un virus à ADN appartenant à la famille des Hepadnaviridae.

La particule virale (virion) se compose d'une enveloppe extérieure lipidique et d'un noyau, une nucléocapside de forme icosaédrique composée de protéines. La nucléocapside entoure l'ADN viral et une ADN polymérase qui a une activité de transcriptase inverse (Figure 15).

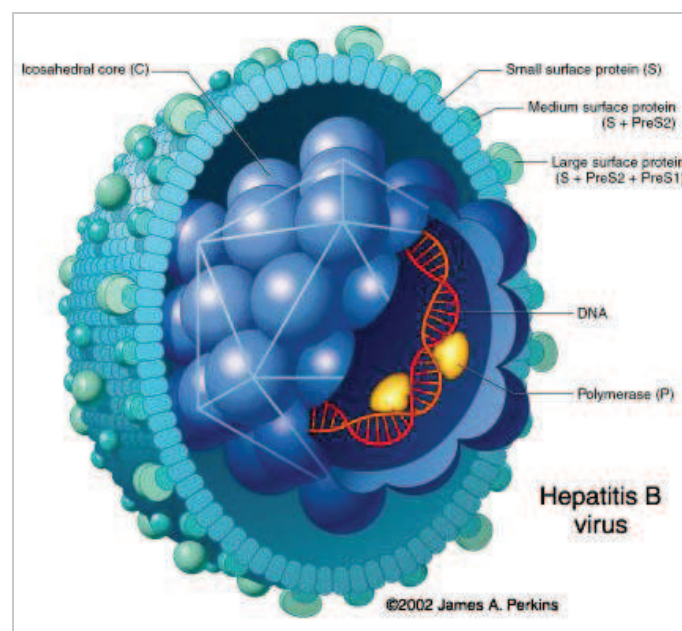


Figure 15 : Structure du virus de l'hépatite B

(<http://people.rit.edu/japfaa/infectious.html>)

Le génome du virus de l'hépatite B est fait d'ADN circulaire, mais il est inhabituel parce que l'ADN n'est pas totalement bicaténaire (Figure 16). Une extrémité est liée à l'ADN polymérase du virus. Le génome est composé de 3020 à 3320 nucléotides (pour le brin le plus long) et de 1700 à 2800 nucléotides (pour le brin le plus court).

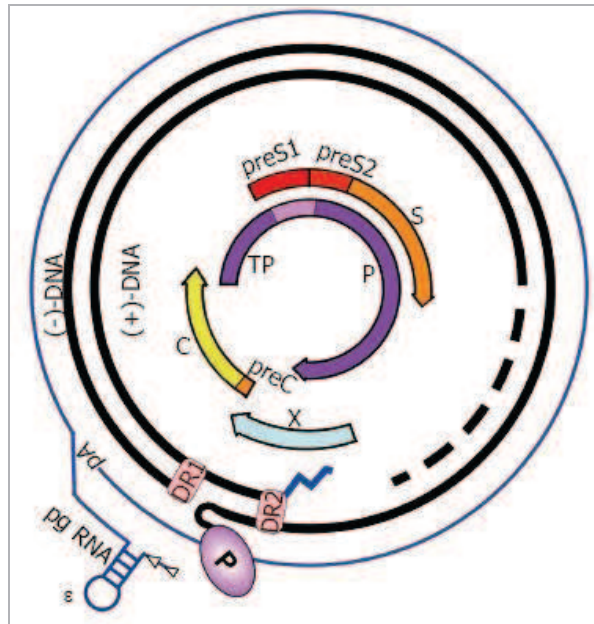


Figure 16 : Structure du génome du virus de l'hépatite B

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4065876/figure/F2/>)

Les vaccins à base de protéines naturelles et recombinantes

Il y a deux types de vaccins disponibles (Zuckerman, 2006) :

- le plus ancien est préparé à partir d'antigènes HBs purifiés à partir de plasma de porteurs sains
- le deuxième est préparé par génie génétique, dans des cellules de levures (Engerix B[®] et HBVax Pro[®]), ou des cellules ovariennes de hamster CHO (Genhevac[®] Pasteur).

Seuls les vaccins issus du génie génétique sont autorisés en France.

Dans la suite de ce paragraphe, l'accent sera mis sur Engerix B[®] qui a obtenu l'autorisation de mise sur le marché le 30 septembre 1988 pour le vaccin à 20 µg (adulte) et en 1994 pour le vaccin à 10 µg (nourrisson et enfant de moins de 15 ans).

● ***Méthode de production***

Les virus de l'hépatite B ne se reproduisent pas dans les œufs de poule comme cela est possible pour le virus de la grippe par exemple. Autrefois, les virus devaient être recueillis dans le sang de patients atteints d'hépatite et la production durait presque une année. Ce qui signifie que très longtemps, le vaccin n'était disponible qu'en quantité restreinte.

De nos jours, le vaccin contre l'hépatite B est fabriqué par génie génétique.

Etape 1 : Un brin d'ADN qui contient l'information nécessaire à l'élaboration d'une protéine antigénique virale est extrait du génome du virus de l'hépatite B.

Etape 2 : Le brin d'ADN est inséré dans un plasmide de la levure de Boulanger.

Etape 3 : Des cellules de levure vont prendre en charge la production de la protéine virale.

Etape 4 : Celle-ci sera ensuite purifiée et appliquée en tant que vaccin.

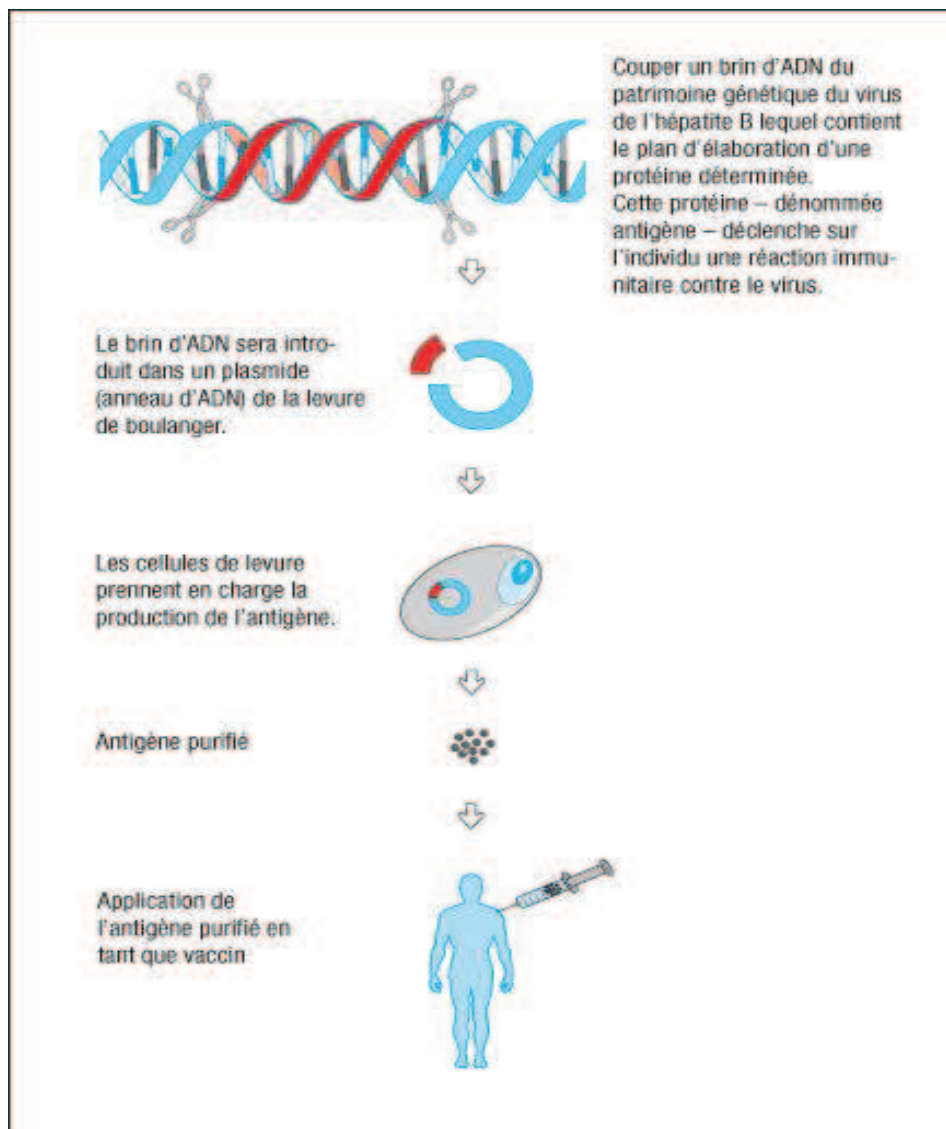


Figure 17: Méthode de production du vaccin recombinant contre l'hépatite B

(<http://biotechlerncenter.interpharma.ch/fr/>)

Ce mode de production présente des avantages qui sont :

- son prix économique
- l'absence de contamination du vaccin par des virus vivants

Le schéma vaccinal contre l'hépatite B est le suivant :

- une injection initiale,
- 2^{ème} injection 1 mois plus tard,
- 3^{ème} injection 6 à 12 mois plus tard.

Des études d'efficacité ont montré que le taux de protection est compris entre 95 % et 100 % chez les nouveau-nés, les nourrissons, les enfants et les adultes à risque.

II-2.2 Vaccins à base de protéines recombinantes & cancer du col de l'utérus :

Gardasil®

Le cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus est le second cancer le plus fréquent chez la femme dans le monde. Il survient exclusivement après l'infection par des virus appartenant à la famille des papillomaviridae.

Au niveau mondial, le cancer du col de l'utérus est responsable d'environ 250 000 à 300 000 décès et de 500 000 nouveaux cas par an (80% dans les pays en voie de développement) d'après le Centre International de Recherche sur le Cancer. En France, on dénombre, chaque année, 3000 cas et plus de 1000 décès.

A ce jour, les chercheurs ont identifié une vingtaine de papillomavirus humains (HPV) à l'origine du cancer du col de l'utérus. Cependant, les plus fréquemment en cause sont le HPV16 (impliqué dans 55% des cas) et le HPV18 (12% des cas).

Les HPV infectent les cellules épithéliales de la peau ou des muqueuses et sont transmis par la dissémination de ces cellules lors de la desquamation. On distingue les HPV à bas risque, agents de lésions bénignes, des HPV à haut risque qui sont responsables de cancers.

Les HPV affectant les muqueuses génitales sont transmis par voie sexuelle et sont fréquents. Les infections qu'ils provoquent disparaissent souvent spontanément et sans signe clinique. Mais l'infection va persister chez 3 à 10 % des femmes infectées, et parmi elles, certaines développeront une lésion précancéreuse appelée néoplasie cervicale intra-épithéliale qui est un précurseur du cancer du col de l'utérus.

Le traitement actuel des lésions précancéreuses est le plus souvent chirurgical : on appelle cela la conisation. Le cancer cervical est lui traité par une combinaison de chirurgie et de radiothérapie avec une chimiothérapie adjuvante, efficace aux stades précoces (<http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info>).

Pendant une longue période, le cancer du col de l'utérus ne pouvait être évité que par une prévention secondaire grâce au dépistage par frottis cervico-utérin suivi d'une colposcopie. Cependant, le taux de couverture de cet examen est encore très loin d'être satisfaisant et l'interprétation est parfois délicate malgré les nouvelles techniques mises au point. Aujourd'hui s'ouvre une nouvelle ère avec la mise sur le marché de vaccins permettant une prévention primaire de cette pathologie.

Le papillomavirus humain

Les papillomavirus appartiennent à la famille des Papillomaviridae.

Ce sont des virus nus comportant une capside icosaédrique de 45 à 55 nm de diamètre, formée de 72 capsomères (Figure 18).

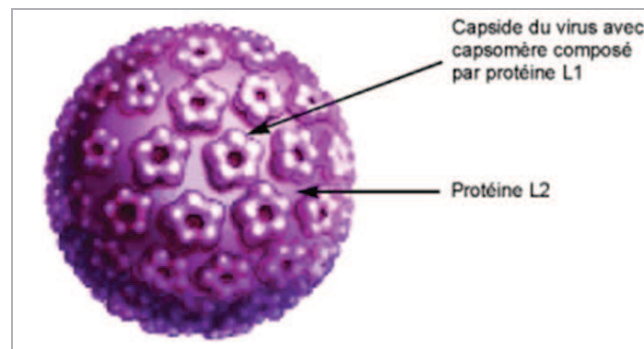


Figure 18 : Structure du papillomavirus humain

(<http://titan.medhyg.ch/mh>)

Le génome (8 Kpd) se présente sous forme d'ADN bicaténaire circulaire dont un seul brin est codant (Figure 19). Il code 9 protéines parmi lesquelles L1 et L2 forment la capside protéique tandis que E6 et E7 sont impliquées dans la transformation maligne des cellules épithéliales en se liant, respectivement, aux protéines p53 et pRb, protéines de régulation du cycle cellulaire (Hebner and Laimins, 2006).

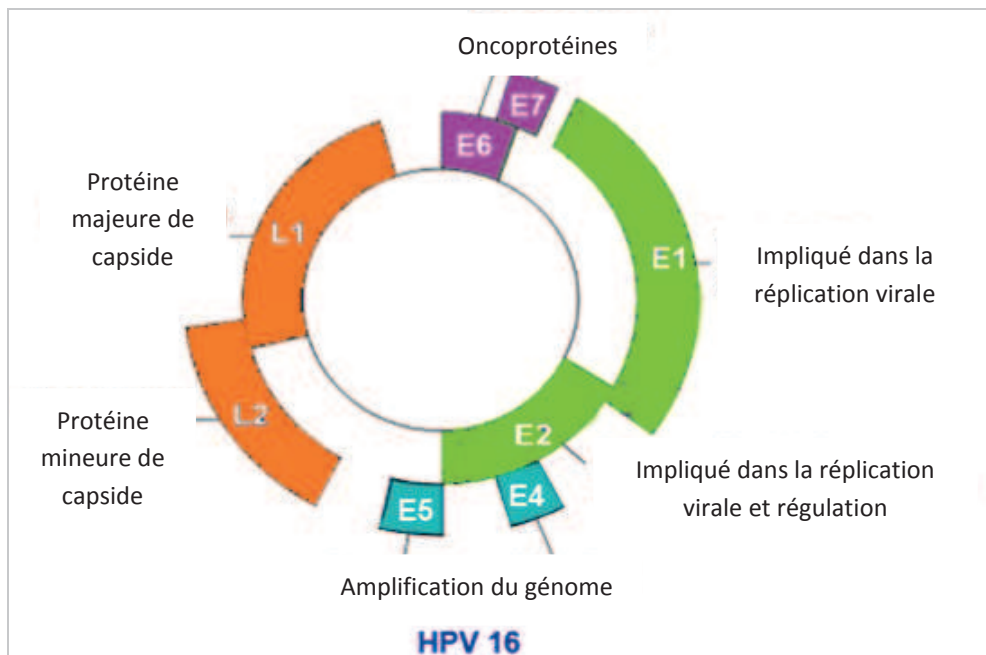


Figure 19 : Génome du Papillomavirus humain (HPV 16)

(d'après Malik et al., 2014)

Les vaccins à base de protéines : Gardasil®

Actuellement, deux vaccins papillomavirus prophylactiques sont commercialisés en France :

- Le vaccin quadrivalent de Sanofi Pasteur MSD (Gardasil®), mis sur le marché en 2006, est produit sur levures (*Saccharomyces cerevisiae*) et cible le cancer du col (HPV 16+18 responsables en Europe de 70 % des cancers du col) et les condylomes (HPV 6+11 impliqués dans environ 90 % des condylomes).
- Le vaccin de GSK (Cervarix®), mis sur le marché en 2007, est produit sur baculovirus et cible le cancer du col (HPV 16+18).

● *Méthode de production*

La culture des HPV *in vitro* étant particulièrement difficile et non réalisable à large échelle, le développement de vaccins prophylactiques à base de virus atténués ou inactivés n'a pu être réalisé comme celui d'autres virus tels que la rougeole ou la grippe. Actuellement, les vaccins mis sur le marché utilisent des VLP (Virus Like Protein) de la protéine de capsid L1 obtenus par génie génétique (Figure 20). Les protéines L1, protéines majeures de la capsid virale, sont capables de s'auto-assembler en pseudo-virions d'HPV. Ces pseudo-particules virales sont nommées VLP ; elles ont une morphologie voisine de celle du HPV, sont dépourvues de

matériel génétique, non oncogènes mais très immunogènes lorsqu'elles sont associées à un adjuvant adéquat (<http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/immunity-et-vaccination>)

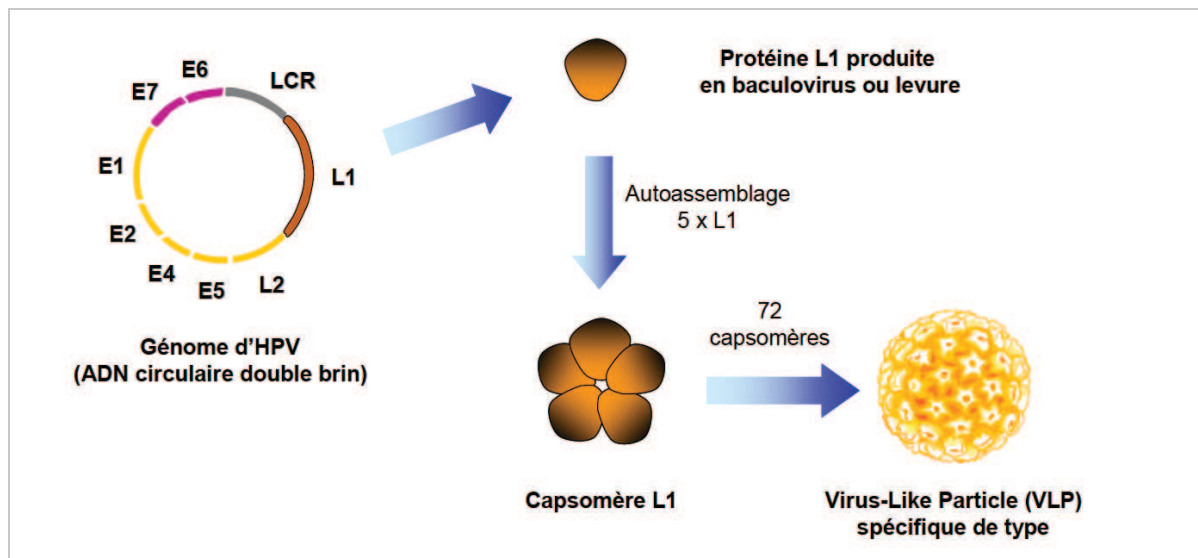


Figure 20 : Production des pseudoparticules virales (VLP) contenues dans les vaccins papillomavirus.

(<http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/immunity-et-vaccination>)

Etape 1 : Le gène L1 est introduit dans différents systèmes eucaryotes permettant la synthèse de l'antigène viral L1.

Etape 2 : Assemblage de 4 protéines L1 en capsomères

Etape 3 : Assemblage de 72 capsomères pour former une VLP

Etape 4 : Purification des VLP et conditionnement sous forme de vaccin (Figure 21)

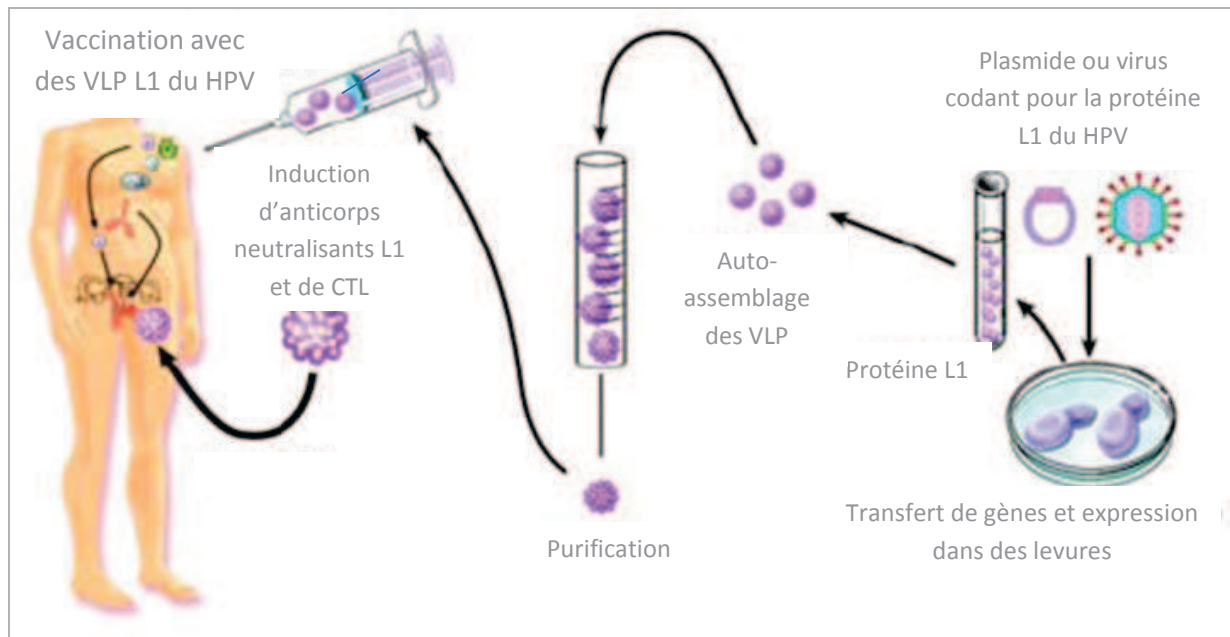


Figure 21 : Production du vaccin anti-HPV

(d'après Berzofsky et al., 2004)

L'avantage principal de ces nouveaux vaccins est leur caractère parfaitement inoffensif car ces VLP ne contiennent pas d'ADN viral et donc pas d'oncogènes responsables de la transformation des cellules infectées. Ces VLP confèrent une immunité protectrice spécifique contre les 4 VLP (6, 11, 16 et 18) présentes dans le vaccin Gardasil® qui devait contenir les isoformes VLP des virus les plus impliqués dans le cancer du col de (Muñoz et al., 2004).

Un autre avantage de ces vaccins est que comme ces VLP possèdent une morphologie quasi identique à celle des virions, ils sont capables d'induire la production de hauts titres d'anticorps neutralisants contre des épitopes conformationnels de la protéine de capsid L1 de l'HPV, titres plus élevés que ceux retrouvés après infection naturelle (Rose et al., 1994).

● *Essais cliniques*

Dans ce paragraphe, seuls les essais conduits sur le vaccin quadrivalent Gardasil® seront détaillés.

L'efficacité de Gardasil® a été évaluée au cours de 4 études cliniques contrôlées contre placebo, en double aveugle, randomisées, de phase II et III incluant au total 20 541 femmes âgées de 16 à 26 ans qui ont été incluses et vaccinées sans dépistage préalable d'une infection

à HPV. Les analyses principales d'efficacité ont été conduites dans la population « per protocole » : schéma vaccinal complet, pas d'infection à HPV avant la 1^{ère} dose de vaccin et jusqu'à 1 mois après la troisième dose.

Les études d'efficacité de phase II du Gardasil[®] ont été réalisées chez des femmes de 16 à 23 ans du Brésil, d'Europe et des Etats-Unis, ne présentant pas de signes cytologiques ou virologiques d'infection à HPV. Parmi ces femmes, 277 ont reçu le vaccin à dose optimale et 275 ont reçu un placebo (554 ayant reçu des formulations vaccinales plus concentrées en antigènes) avec un schéma d'administration vaccinale comprenant une injection à 0, 2 et 6 mois. Avec un recul de 36 mois, l'efficacité est de 88 % en termes de protection contre l'infection à HPV 6, 11, 16, 18 et de 100 % en termes de prévention des lésions dysplasiques de haut grade (Villa et al., 2005).

Le suivi de 241 de ces femmes à 60 mois a objectivé une efficacité de 96 % en termes de protection contre l'infection et la maladie à HPV 6, 11, 16, 18 et de 100 % en termes de prévention des lésions dysplasiques de haut grade et des condylomes (Villa et al., 2006).

Deux études à large échelle de phase III dénommées « Females United To Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical Disease (FUTURE) I et FUTURE II » ont montré une grande efficacité de Gardasil[®] sur de larges cohortes avec un recul de plus de 2 ans. Dans l'étude FUTURE I concernant des femmes de 16 à 23 ans ayant reçu un schéma vaccinal complet, sans violation de protocole, sans infection à HPV préalable ou pendant la durée de la vaccination (2 723 vaccinées *versus* 2 732 placebo), l'efficacité vaccinale était de 100 % en termes de prévention des condylomes acuminés (papillomes, végétations vénériennes ou plus communément crêtes de coq), des VIN (vulvar intraepithelial neoplasia), des VaIN (vaginal intraepithelial neoplasia) et des CIN (cervical intraepithelial neoplasia) quel que soit le grade, dus aux HPV de type 6, 11, 16 et 18 (Garland et al., 2007).

Dans l'étude FUTURE II concernant des femmes de 15 à 26 ans ayant reçu un schéma vaccinal complet, sans violation de protocole, sans infection à HPV préalable ou pendant la durée de la vaccination (5301 vaccinées *versus* 5258 placebo), l'efficacité vaccinale était de 100 % en termes de prévention des CIN 2, des CIN 3 et des adénocarcinomes *in situ* dus aux HPV de type 16 et 18.

Les résultats d'une population « en intention de traiter » (femmes infectées ou non par un ou plusieurs types de papillomavirus ciblés par le vaccin et ayant reçu au moins une injection)

objectivent une efficacité vaccinale de 39 % vis-à-vis des CIN 2/3 ou adénocarcinome *in situ* dus aux HPV 16 et 18 et de 68,5 % vis-à-vis des condylomes acuminés dus aux HPV 6, 11, 16 et 18. En incluant les femmes ayant déjà une infection ou une maladie causée par un HPV contenu ou non dans les valences vaccinales, la vaccination permet de réduire de 34 % le taux de lésions vulvaires, vaginales ou périanales et de 20 % le taux de lésions cervicales (Ault et al, 2007).

En France, le taux de couverture vaccinale est de l'ordre de 30% et reste donc insuffisant. Des pays comme l'Australie, le Portugal et le Royaume-Uni atteignent des taux de l'ordre de 80% (<http://www.sante.gouv.fr/questions-reponses-vaccin-anti-papillomavirus-humain-gardasil-r.html>).

II-3 Vaccins en cours de recherche ou mis sur le marché hors France

II-3.1 Vaccins à base de cellules dendritiques & cancer de la prostate :

Provence®

Le cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est de loin le cancer le plus fréquent chez l'homme, avec 71 500 nouveaux cas diagnostiqués en 2010. Il est le quatrième en termes de mortalité, avec 8 790 décès estimés. C'est le cancer dont l'incidence a le plus augmenté ces 25 dernières années, sans doute en bonne partie du fait du vieillissement de la population.

Le cancer de la prostate a souvent une évolution lente, longtemps asymptomatique, en dehors de gênes urinaires comme l'impossibilité de se retenir (impériosité mictionnelle), la diminution de la force du jet (dysurie), le besoin fréquent d'uriner (pollakiurie), voire l'impossibilité totale de la miction.

Le médecin traitant peut réaliser un examen clinique (toucher rectal) et prescrire un dosage du PSA. Le terme "PSA" est l'abréviation de *Prostatic Specific Antigene*, antigène spécifique de la prostate. Cette molécule n'est produite que par cette glande et son dosage, à partir d'une simple prise de sang, permet d'évaluer l'état de la prostate : une augmentation de son taux relève d'un dysfonctionnement prostatique pas obligatoirement lié à un cancer.

Les formes peu agressives de cancer, localisées dans la prostate seule, sont guéries dans 80 % des cas. Trois traitements sont possibles : la chirurgie par incision ou cœlioscopie, la radiothérapie externe et la curiethérapie.

Pour les formes agressives du cancer produisant des métastases, le médecin prescrit une hormonothérapie visant à neutraliser l'hormone masculine (testostérone) dont dépend

notamment la progression de la tumeur : agonistes ou les antagonistes de la LH-RH, anti-androgènes. En cas de mauvaise réponse, une chimiothérapie est tentée, avec notamment les dérivés de l'if (taxanes) (<http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/cancer-de-la-prostate>).

Les vaccins à base de cellules dendritiques

● *Mécanisme d'action*

Dans un vaccin à base de cellules dendritiques, les cellules dendritiques du patient *ex-vivo* sont modifiées pour reconnaître et cibler des cellules tumorales.

Le patient est soumis à un processus appelé la cytophérèse, dans lequel un ensemble de globules blancs immatures sont récoltés, et le sang qui reste est renvoyé dans le corps.

Les cellules immatures sont transformées en cellules dendritiques immatures, en utilisant certaines cytokines ainsi que des macromolécules.

Ces cellules dendritiques immatures sont ensuite cultivées avec un des éléments suivants :

- un lysat de cellules tumorales ou des cellules de tumeurs inactives issus de patient
- des peptides antigéniques liés à une molécule immunitaire qui peut s'attacher à la surface des cellules dendritiques
- un vecteur qui porte le code pour le peptide antigénique

Cela donne un ensemble de cellules dendritiques matures qui affichent l'antigène tumoral sur leur surface, et qui sont prêtes à éduquer et activer d'autres cellules immunitaires.

Ces cellules dendritiques matures sont ensuite injectées dans le patient.

Ces cellules lancent ainsi une attaque du système immunitaire contre les cellules tumorales par l'activation d'autres cellules du système immunitaire en reconnaissant et détruisant les cellules tumorales.

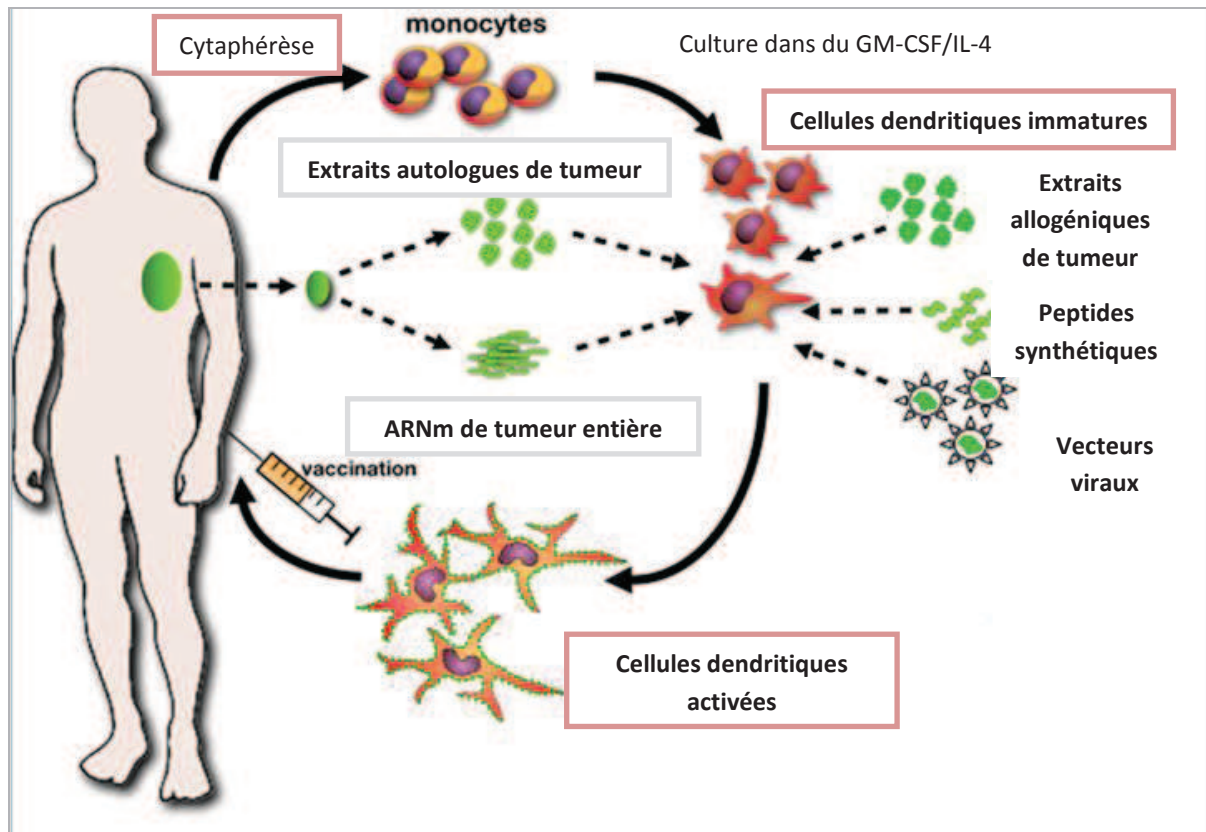


Figure 22 : Mécanisme d'action des vaccins à base de cellules dendritiques

(d'après Surmont et al., 2011)

Un des exemples de vaccins est le sipuleucel-T (connu aussi sous son nom commercial : Provenge[®]) fabriqué par le laboratoire pharmaceutique Dendreon. C'est le premier vaccin thérapeutique utilisé dans le traitement du cancer de la prostate au stade métastatique résistant au traitement hormonal. Provenge[®] répond à la définition d'une immunothérapie cellulaire autologue destinée à induire une réponse immunitaire dirigée contre la phosphatase acide prostatique (PAP), un antigène exprimé dans la plupart des cancers de la prostate.

Comme le Sipuleucel-T est composé des propres cellules dendritiques du patient, les avantages de ce traitement sont que le risque d'activation immunitaire inapproprié contre les composants du vaccin est faible et que la stimulation immunitaire contre l'antigène cible est au contraire maximisée.

● *Méthode de production* (Figure 23)

Etape 1 : Les cellules dendritiques sont obtenues à partir des cellules souches prélevées sur le patient (leucaphérèse).

Etape 2 : Après une période *in vitro*, elles sont « éduquées » pour présenter les parties cancéreuses au système immunitaire du malade, le but étant la reconnaissance des antigènes tumoraux par le système immunitaire.

Elles sont mises en présence d'une protéine de fusion PA2024 qui est constituée par :

- l'antigène de la phosphatase acide prostatique (*Prostatic acid phosphatase*, PAP) qui est présent dans 95 % des cellules cancéreuses de prostate
- un facteur signalant la réponse immunitaire, le GM-CSF, qui aide les cellules présentatrices d'antigènes à devenir matures

Etape 3 : Réinjectées au patient, les cellules dendritiques sont alors en mesure d'activer les agents du système immunitaire capables d'éliminer les cellules tumorales résiduelles.

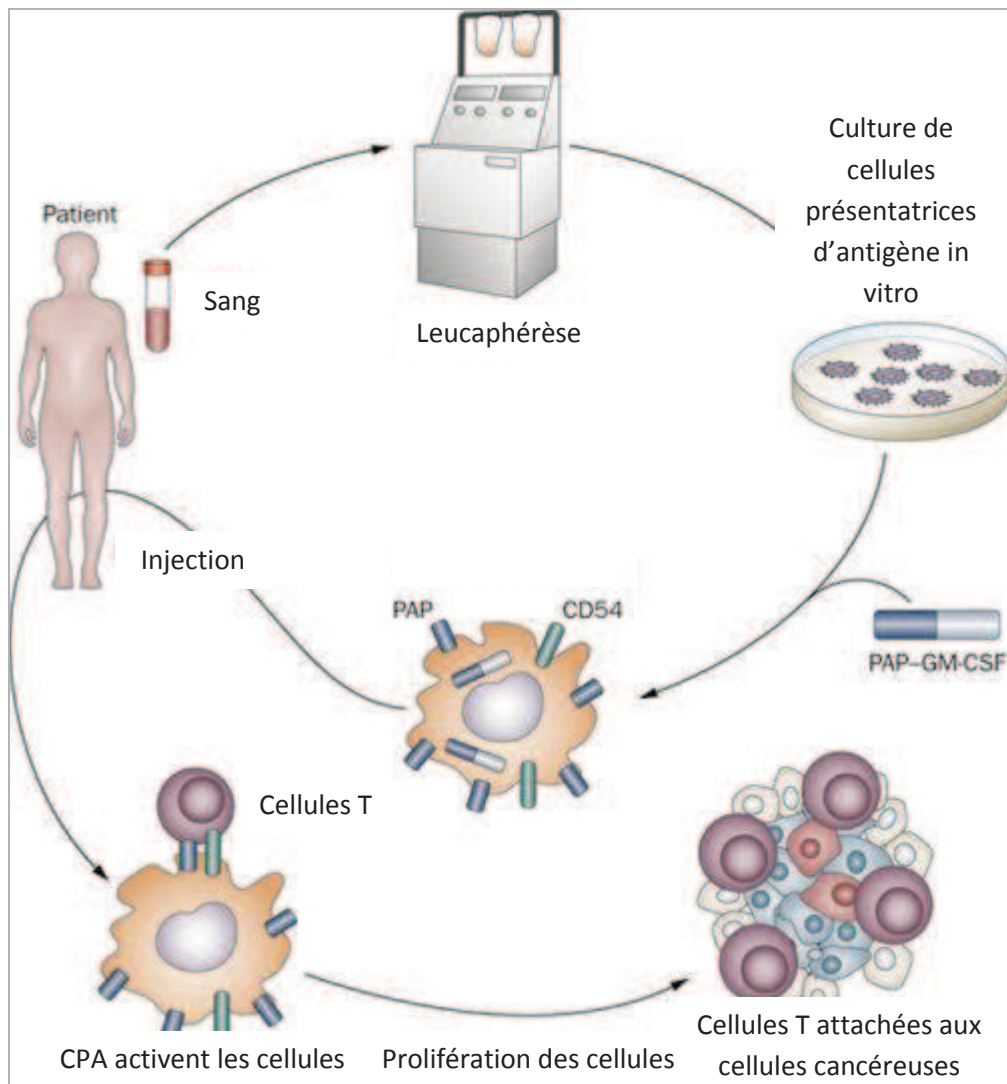


Figure 23 : Méthode de fabrication de Provenge®

(d'après Di Lorenzo et al., 2011)

Le traitement se fait en trois injections espacées de deux semaines.

● *Essais cliniques*

L'efficacité et la sécurité de Provenge® ont été étudiées dans trois études similaires de phase III, randomisées, en double aveugle, contrôlées et multicentriques : D9902B (IMPACT), D9901, et D9902A.

Dans l'étude IMPACT (Figure 24), 512 patients métastatiques ont été randomisés selon un rapport 2:1 pour recevoir soit Provenge® (n = 341), soit le produit utilisé comme contrôle (n = 171).

Une amélioration statistiquement significative de la survie globale a été observée chez les patients traités par Provenge[®], avec une réduction de 22,5 % du risque de décès par rapport aux témoins.

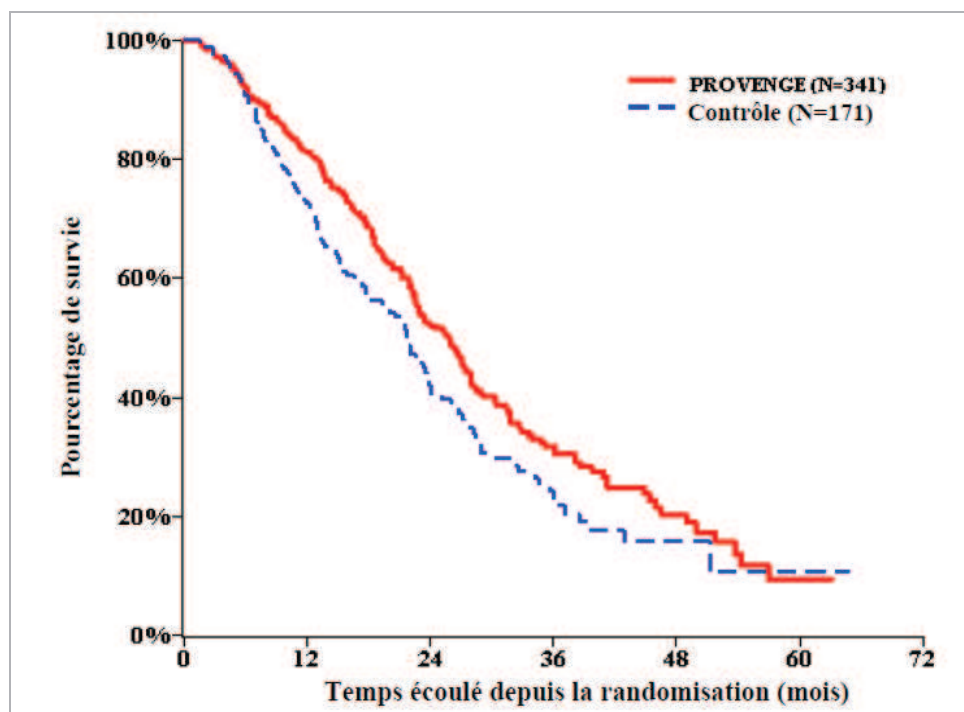


Figure 24 : Courbe Kaplan-Meier de la survie globale, étude IMPACT

(<http://www.ema.europa.eu>)

L'étude D9901 était une étude randomisée, en double aveugle, contrôlée et multicentrique chez des patients atteints de cancer de la prostate métastatique résistant à la castration et sans douleur liée au cancer. Le critère d'évaluation primaire était le temps jusqu'à la progression de la maladie, lequel n'a pas atteint la significativité statistique. Les patients traités par Provenge[®] avaient un avantage de survie statistiquement significatif par rapport aux témoins.

Une troisième étude, D9902A, de conception similaire à l'étude D9901, a pris fin avant l'achèvement du recrutement planifié sur la base des résultats du temps jusqu'à la progression de la maladie dans l'étude D9901. Le critère d'évaluation primaire était le temps jusqu'à la progression de la maladie et le critère d'évaluation secondaire était la survie globale. Aucun critère n'a atteint la significativité statistique (<http://www.ema.europa.eu>).

La mise sur le marché de Provenge® a été approuvée le 29 avril 2010 par l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA). Il a également reçu un avis favorable du Comité européen des médicaments à usage humain de l'Agence européenne des médicaments (EMA) en juin 2013.

II-3.2 Vaccins à base de peptides & cancer du rein : Oncophage®

Le cancer du rein

Le cancer du rein représente 3% des cancers de l'adulte dans les pays occidentaux. Les hommes sont 2 fois plus touchés que les femmes.

C'est la plus fréquente des tumeurs du rein. Il s'agit dans environ 80% des cas d'un adénocarcinome, appelé aussi « adénocarcinome à cellules claires ».

Le cancer du rein est longtemps asymptomatique. Le sang dans les urines (hématurie) est le principal signe d'alerte. Cette hématurie peut être microscopique et donc décelée lors d'un examen urinaire (ECBU). Moins souvent, c'est une douleur située dans la région lombaire qui donne l'alerte. Il peut s'agir également d'une fièvre isolée ou associée à une perte de poids, de la découverte d'une masse dans la région lombaire, d'une varicocèle (dilatation des veines spermatiques au niveau du scrotum) d'apparition récente. Une altération de l'état général avec amaigrissement, fièvre, sueurs nocturnes peut parfois révéler la maladie, souvent à un stade plus avancé.

Le diagnostic est confirmé par des examens cliniques et radiologiques (échographie abdominale, scanner abdominal et pelvien, IRM, scanner thoracique et/ou cérébral voire une scintigraphie osseuse). Le diagnostic sera finalement confirmé par l'analyse anatomo-pathologique de la tumeur, soit après chirurgie, soit parfois après biopsie (<http://www.gustaveroussy.fr>).

Le cancer du rein est le plus souvent traité par la chirurgie lorsqu'il est localisé ou localement avancé. Lorsque le cancer a formé des métastases, le traitement repose sur des médicaments de thérapies ciblées et d'immunothérapie, associés ou non à la chirurgie (<http://www.soc-nephrologie.org>).

Vaccin à base de peptides : Oncophage®

Oncophage® est un vaccin de la société américaine Antigenics Inc. qui est actuellement évalué dans plusieurs essais cliniques. Une procédure « fast track » et « médicaments

orphelins » a été accordée par la FDA pour le cancer du rein, le mélanome métastatique, et le gliome.

● Mécanisme d'action

Les vaccins peptidiques reposent sur les propriétés immunogènes de certains peptides associés au cancer pour initier une cascade d'actions destructrices contre la tumeur.

Des peptides seuls ou des cocktails de peptides, purifiés à partir de cellules cancéreuses du patient lui-même ou synthétisés artificiellement, sont étudiés pour leur immunogénicité et leur application dans divers types de cancers.

Dans le cas où le peptide n'est pas fortement immunogène, et ne peut pas conduire à une réponse immunitaire efficace, il est fusionné avec certaines cytokines, des anticorps ou des peptides. Des agents spécialisés dans la délivrance de peptides aux cellules immunitaires font l'objet de recherches en utilisant des techniques modernes comme la nanotechnologie.

Une fois le vaccin peptidique injecté chez le patient, les cellules présentatrices d'antigènes du système immunitaire du patient vont englober ces peptides, et les présenter à leur surface dans le but de sensibiliser les autres cellules immunitaires. Les cellules immunitaires sont ainsi éduquées et quand elles vont rencontrer le même antigène sur une cellule cancéreuse, elles se sont déjà entraînées pour détruire cette cellule.

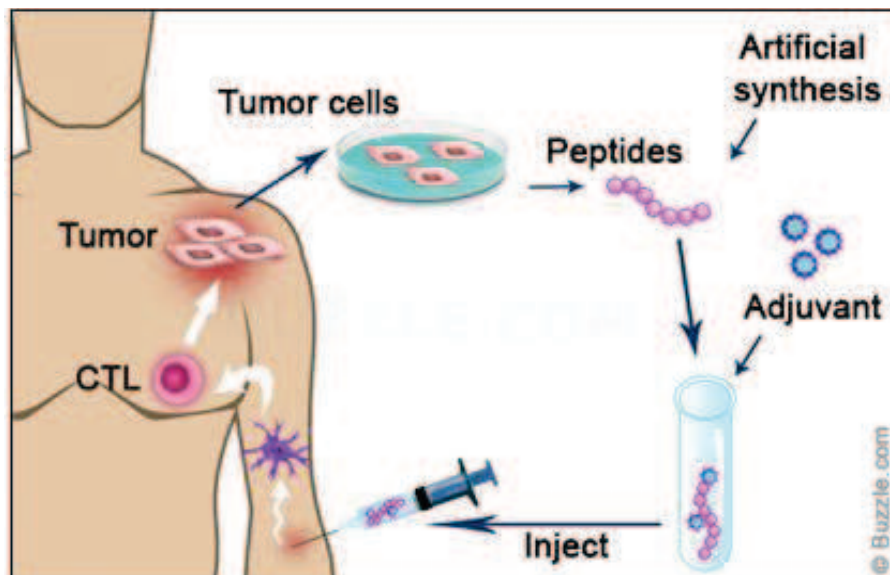


Figure 25 : Mécanisme d'action des vaccins peptidiques anti-tumoraux

(www.buzzle.com)

Voici quelques exemples de vaccins peptidiques ou protéiques :

Oncophage[®] pour le cancer du rein, le mélanome et le cancer du cerveau

Stimuvax[®] pour le cancer du poumon et le cancer du sein

Oncophage[®] est un médicament d'immunothérapie autologue c'est-à-dire qu'il est constitué de protéines qui ont été extraites à partir des cellules cancéreuses du patient. Le principe actif d'Oncophage[®], le vitespen (HSPPC-96) est composé :

- d'une protéine de choc thermique (HSP) de 96kDa : gp96
- d'un ensemble de peptides cellulaires associés au gp96

Lorsqu'Oncophage[®] est administré au patient, son système immunitaire apprend à reconnaître les protéines du vitespen comme étant des protéines étrangères et déclenche une réponse immunitaire. Comme les protéines présentes dans le vitespen sont similaires aux protéines présentes sur les cellules cancéreuses, on s'attend à ce que le système immunitaire attaque également les cellules cancéreuses, empêchant ainsi la récurrence ou la propagation de la tumeur initiale (<http://www.ema.europa.eu/docs>).

● *Méthode de production*

Etape 1 : Préparation de la tumeur

Le vaccin HSPPC-96 est un vaccin autologue et est donc préparé à partir de tissu tumoral prélevé chez chaque patient. La tumeur macroscopique non-nécrotique est prélevée dans des conditions stériles dans la salle d'opération. Elle est pesée, congelée et expédiée sur glace sèche aux installations Antigenics où elle sera traitée (Srivastava and Jaikaria, 2001).

Etape 2 : Fabrication du vaccin

En général, un minimum de 1-7 g de tissu tumoral est nécessaire afin de produire une quantité suffisante de vaccin HSPPC-96.

En utilisant des techniques de purification simples, les HSP et leurs peptides associés sont isolés du tissu tumoral, filtrés et conditionnés sous fiole comme un vaccin injectable (Gordon and Clark, 2004).

Etape 3 : Contrôle qualité

Le test de contrôle qualité est basé sur trois conditions :

- migration de la bande majeure de protéines par électrophorèse sur gel à 96 kDa

- cette bande doit être immuno-effacée avec un anticorps monoclonal anti gp96 préalablement incubé avec le l'homogénat déposé sur le gel d'électrophorèse
- la préparation doit être stérile et les niveaux d'endotoxines dans les niveaux approuvés par la FDA (Belli et al., 2002).

Le processus en laboratoire ne dure que 24 à 48 heures mais l'ensemble du processus, du prélèvement de la tumeur jusqu'à l'injection du vaccin prend en général 6 à 8 semaines.

● *Essais cliniques*

La phase III, randomisée, internationale, multicentrique, en ouvert, a impliqué 728 patients dont les carcinomes à cellules rénales étaient à haut risque de récurrence après néphrectomie.

Un examen indépendant des événements par le comité de l'essai a révélé que 124 patients avaient une maladie au départ; par conséquent, 604 des 728 patients randomisés étaient éligibles pour l'analyse du critère d'évaluation principal de l'étude : la survie sans récurrence.

Les résultats de mars 2006 avaient indiqué une tendance en faveur de la survie sans récurrence pour le bras Oncophage® dans la population globale des patients. La courbe de Kaplan-Meier (une estimation de la probabilité cumulée de survie sans récurrence, Figure 26) montre que, suite à une analyse supplémentaire des données, il y a une amélioration cliniquement significative de la survie sans récurrence pour les patients à meilleur pronostic (stade I : haut grade, II : très haut grade et III T1, T2 et T3a : bas grade) dans le bras Oncophage® par rapport au groupe contrôle (p recto-verso de 0,018).

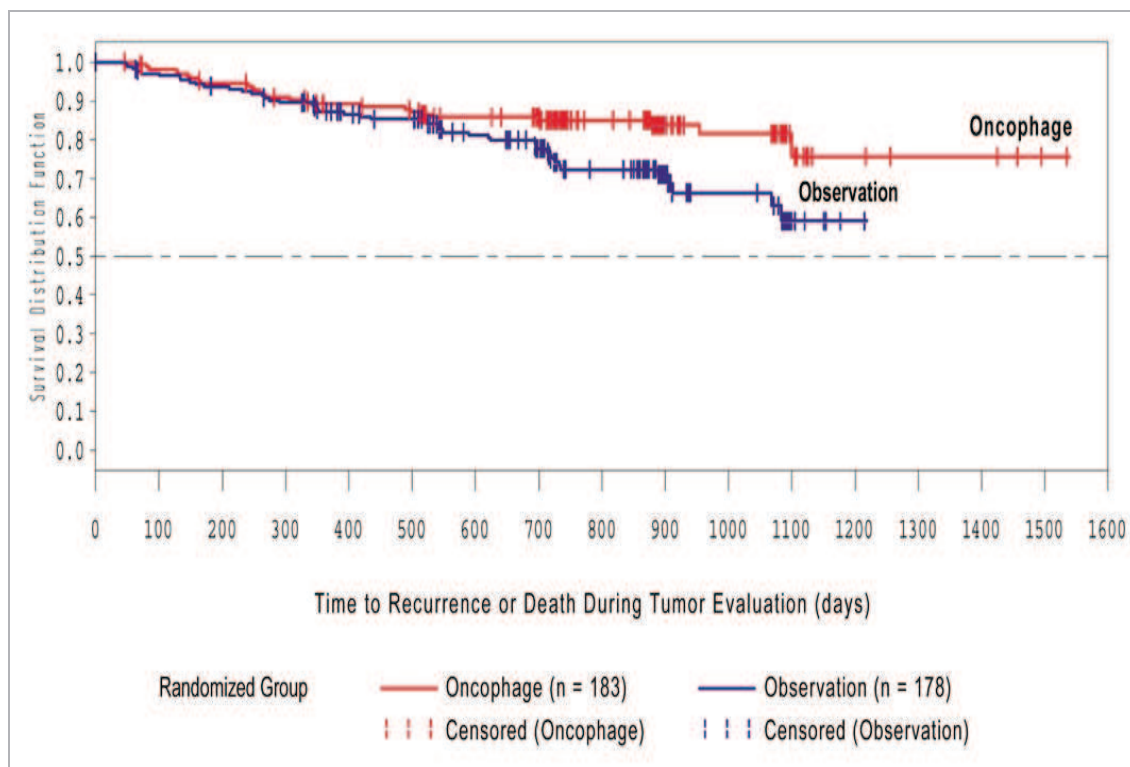


Figure 26 : Courbe de Kaplan-Meier de la survie sans récurrence basée sur des patients de stade I (haut grade), stade II (très haut grade) et stade III (bas grade)

(www.antigenics.com)

La survie globale, le critère secondaire de l'étude, a également été évaluée chez les 604 patients. Une analyse préliminaire indique une tendance contre Oncophage[®]. Toutefois, les données de survie sont immatures pour le moment. La société estime que les données sont également susceptibles d'avoir été influencées par les informations manquantes causées par les patients qui ont été perdus au suivi ou qui ont retiré leur consentement. Au moment de l'arrêt de collection des données en Janvier 2006, 31 patients (10,3 %) étaient morts dans le bras Oncophage[®] contre 22 patients (7,2 %) dans le bras témoin. En mai 2006, sept décès supplémentaires ont été rapportés, avec seulement deux dans le bras Oncophage[®] et cinq dans le bras témoin (www.antigenics.com).

Oncophage[®] a été approuvé en Russie en avril 2008 pour les patients qui ont un cancer du rein de stade plus précoce. L'Agence européenne des médicaments évalue actuellement l'approbation conditionnelle de ce médicament.

II-3.3 Vaccins à base d'anticorps monoclonaux anti-idiotypiques & lymphome non-hodgkinien : BiovaxID®

Le lymphome non hodgkinien

En 2010, en France, environ 10 800 nouveaux cas de lymphome non hodgkinien (LNH) ont été diagnostiqués. Le LNH se situe au 6^{ème} rang des cancers les plus fréquents chez la femme, et au 7^{ème} rang chez l'homme.

Le lymphome non hodgkinien est un cancer du système immunitaire. Il se développe à partir de deux types de cellules : les lymphocytes B (85% des cas) et les lymphocytes T (15% des cas). Le lymphome non hodgkinien provoque une baisse de l'immunité.

Le lymphome non hodgkinien peut se manifester par les signes suivants : fièvre persistante, sueurs importantes (surtout la nuit), perte de poids inexpliquée et aussi augmenter le volume des ganglions de façon persistante et non douloureuse (<http://www.ameli-sante.fr/lymphome-non-hodgkinien>).

Les traitements principaux du lymphome non hodgkinien sont la chimiothérapie, la radiothérapie et l'immunothérapie. Une greffe de cellules souches autologues ou allogéniques est parfois nécessaire (<http://www.francelymphomeespoir.fr>).

Les vaccins à base d'anticorps monoclonaux anti-idiotypiques : BiovaxID®

Le vaccin BiovaxID®, de la société Biovest International, Inc., un des leaders et pionnier dans le développement d'immunothérapies personnalisées du cancer, est un vaccin personnalisé dans le traitement du lymphome folliculaire non hodgkinien.

● *Mécanisme d'action*

Le vaccin BiovaxID® est fabriqué selon un processus connu sous le nom de « rescue fusion hybridization ».

La « rescue fusion hybridization » est un procédé dans lequel les cellules tumorales individuelles obtenues par biopsie sont fusionnées avec une cellule sécrétant des anticorps pour former un hétérohybridome. Cette cellule sécrète alors l'idiotype unique d'immunoglobuline ou l'antigène caractéristique de la tumeur individuelle, qui est purifié pour une utilisation comme vaccin (Schmidt, 2009).

L'idiotype de la tumeur du patient est ensuite lié de manière covalente avec une protéine appelée hémocyanine de patelle (KLH : keyhole limpet hemocyanin). Cette protéine, qui est totalement étrangère à la biologie humaine déclenche une réponse immunitaire générale. En effet, l'hémocyanine de patelle est un pigment transporteur d'oxygène très immunogène, d'un mollusque appelé *Megathura Cranulata*.

Le complexe idiotype-KLH est injecté par voie sous cutanée avec un adjuvant immunologique, le facteur de stimulation GM-CSF (<http://www.genengnews.com>).

Etant donné que le vaccin est constitué des propres cellules du patient (autologue), l'avantage est que le traitement est sans risque et bien toléré.

● *Méthode de production*

Etape 1 : Réception de la biopsie et traitement

Le laboratoire reçoit une petite quantité de tissu tumoral prélevée avant la chimiothérapie. Cette biopsie, contenant des IgG ou des IgM, va donc ensuite être traitée, puis caractérisée, et enfin stockée.

Etape 2 : Fabrication vaccin (Figure 27)

- Le type spécifique de protéine, appelé idiotype, est identifié à partir de la tumeur.
- Les cellules tumorales du patient sont fusionnées avec une lignée cellulaire appelée hétérohybridome souris/humain (lignées cellulaires K6H6/B5 ou 1D12), afin de créer des cellules hybrides.
- Certaines de ces cellules vont ensuite être sélectionnées pour produire le vaccin dans les bioréacteurs appartenant à la société Biovest.
- Le matériel entre ensuite dans un processus de plusieurs étapes de purification
- Le vaccin ainsi finalisé peut être administré au patient

Les scientifiques du laboratoire et leurs systèmes automatisés fabriquent le vaccin actif pendant que chaque patient reçoit une chimiothérapie d'induction.

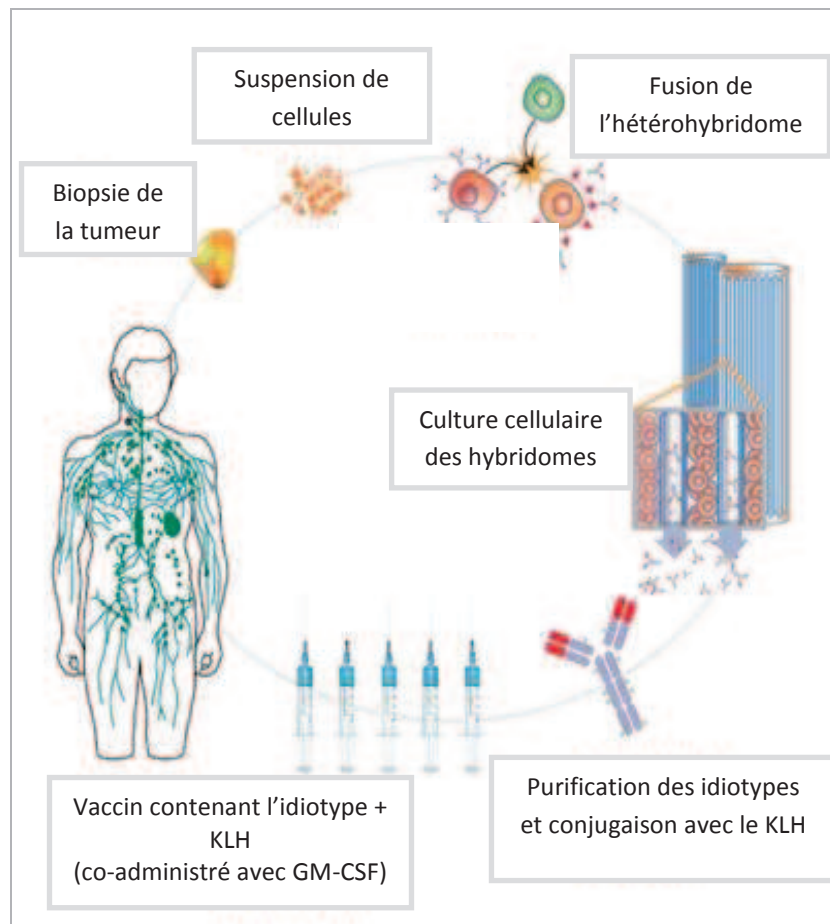


Figure 27 : Méthode de production du BiovaxID®

(d'après <http://www.sec.gov/Archives>)

Etape 3 : Vaccination

En général le vaccin est administré environ 6 mois après la fin de la chimiothérapie inductrice et consiste en cinq injections sous-cutanées de vaccin BiovaxID® administrées durant une période de 6 mois (mois 1, 2, 3, 4 et 6).

● *Essais cliniques*

L'étude clinique de phase III randomisée, multicentrique, contrôlée, en double aveugle, d'une durée de huit ans a montré que le BiovaxID® prolonge significativement la survie sans récurrence dans le traitement du lymphome folliculaire non hodgkinien.

L'étude a relevé que les patients auxquels on a administré du BiovaxID® ont présenté une survie moyenne sans récurrence de 44,2 mois contre 30,6 mois chez ceux auxquels on a administré un vaccin témoin, soit une augmentation de 47 % (Figure 28).

Dans l'étude, dont le suivi moyen est de 4,7 ans, les patients recevant du BiovaxID[®] ont eu un risque de récurrence de la maladie inférieur de 38 % à celui des patients recevant le vaccin témoin.

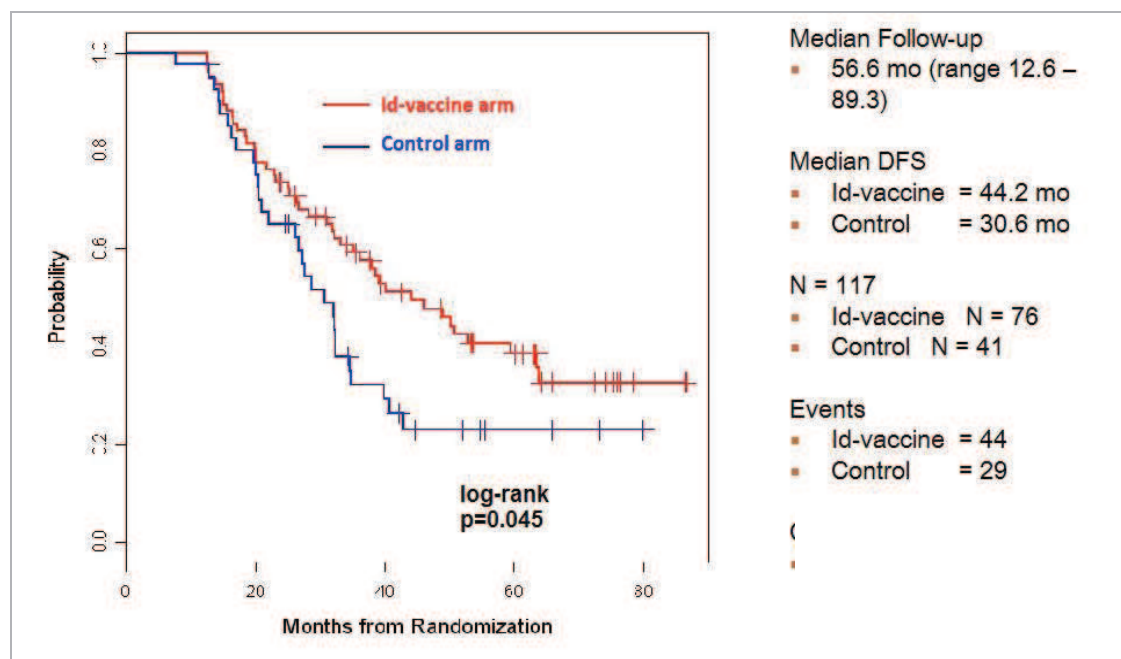


Figure 28 : Survie sans récurrence, BiovaxID[®] versus contrôle (n=117)

(<http://www.getfilings.com/sec-filings/110112>)

Le 14 janvier 2014, l'Agence européenne des médicaments (EMA) a accepté la demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) du BiovaxID[®].

II-3.4 Vaccins à base de vecteurs & cancer du poumon non à petites cellules : TG4010

Le cancer du poumon

Le cancer bronchique non à petites cellules (non-small cell lung cancer : NSCLC) représente 75 à 80% de l'ensemble des cancers bronchiques. Il est parmi les plus mortels. Le taux de survie des personnes atteintes de ce cancer, 5 ans après le diagnostic, est de 17 % chez les femmes et de 14 % chez les hommes.

Parfois, aucun symptôme n'est détectable. Les symptômes les plus courants sont les suivants : toux qui s'intensifie ou qui ne disparaît pas, douleur constante au thorax, respiration sifflante,

essoufflement, crachats de sang, voix enrouée durant plus de 3 à 4 semaines, bronchites ou pneumonies à répétition, perte de poids et d'appétit, fatigue chronique, maux de tête.

Plusieurs tests médicaux permettent de diagnostiquer et d'évaluer la gravité du cancer : l'analyse d'expectorations ou d'échantillons de sang, la biopsie de la masse pulmonaire suspecte ainsi que les images des poumons obtenues par différentes techniques (radiographie, tomodensitométrie, imagerie par résonance magnétique).

On a recours à la chirurgie lorsque la tumeur est localisée et peut être retirée de façon sécuritaire. Parfois, on combine la radiothérapie ou la chimiothérapie à la chirurgie afin de prévenir une rechute (<http://www.passeportsante.net>).

Les vaccins à base de vecteurs viraux : TG4010

Le TG4010 est en cours de développement pour le traitement de première ligne du cancer du poumon « non à petites cellules » au stade métastatique, associé à une chimiothérapie. Il a été mis au point par un laboratoire français, Transgene, basé à Strasbourg.

● *Mécanisme d'action*

Le terme « vecteur » se réfère à un agent qui peut délivrer des gènes dans un type cellulaire souhaité. Les vecteurs couramment utilisés dans le développement de vaccins sont des levures, des bactéries et des virus. L'utilisation de vecteurs permet d'augmenter l'efficacité d'un vaccin en raison de leur capacité inhérente à stimuler le système immunitaire.

La séquence d'ADN codant pour un antigène tumoral particulier pré identifié est insérée dans un vecteur inerte, qui est ensuite injecté dans le patient.

Le vecteur est internalisé par les cellules normales du corps ainsi que des cellules du système immunitaire, et l'antigène est synthétisé à partir de l'ADN contenu dans le vecteur.

Cet antigène est exprimé à la surface des cellules, et les cellules immunitaires sont éduquées pour cet antigène tumoral spécifique. Les cellules immunitaires rencontrent cet antigène sur la tumeur, et initient une cascade de réactions immunitaires envers la tumeur (Figure 29), (<http://www.buzzle.com/articles/strategies-for-cancer-vaccine-development.html>).

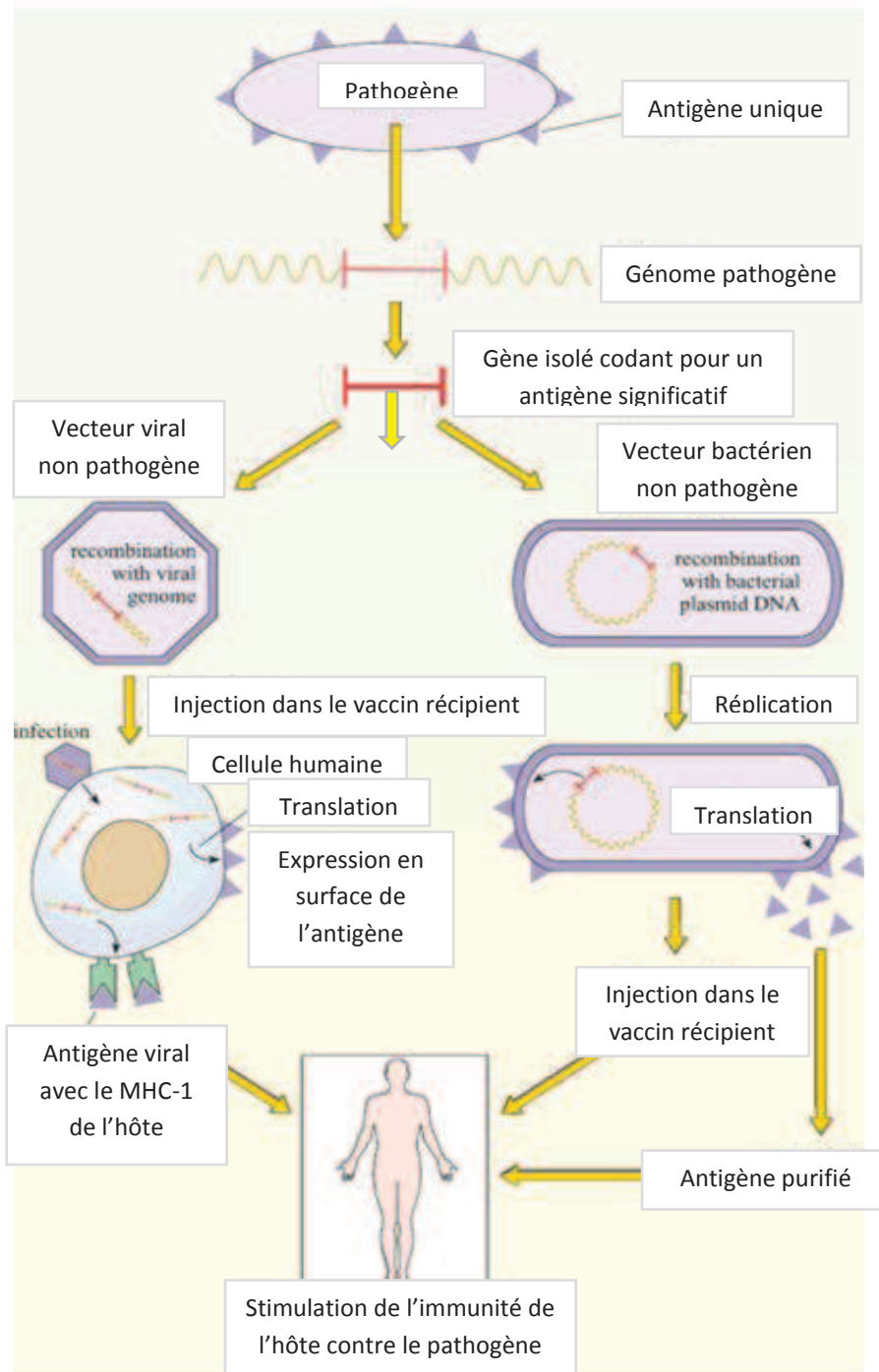


Figure 29 : Mécanisme d'action des vaccins à base de vecteurs viraux

(<http://dSPACE.jorum.ac.uk>)

Dans le cas du TG4010, le vecteur utilisé est le vecteur Modified Vaccinia Ankara (MVA). Ainsi, TG4010 est un virus de la vaccine recombinant (souche MVA, Modified Virus Ankara) exprimant l'antigène MUC1 et la cytokine Interleukine-2 (IL2) (Figure 30).

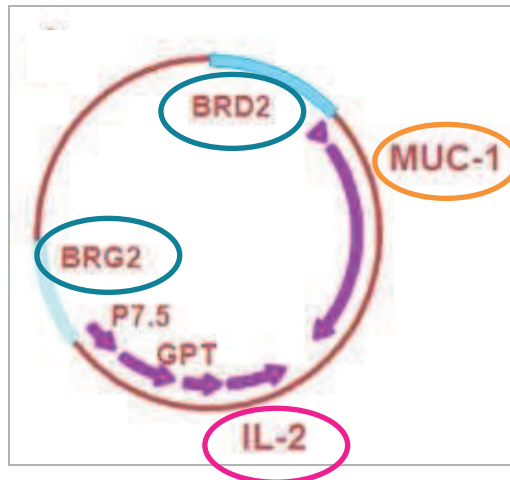


Figure 30 : Génome viral TG4010

(<http://openi.nlm.nih.gov>)

Dans les cellules saines, la protéine MUC1 se trouve normalement à la surface des cellules épithéliales de nombreux types de tissus et agit pour protéger ces cellules. Dans les cellules tumorales, plusieurs modifications de la protéine MUC1 surviennent: surexpression, hypoglycosylation et changements de la localisation cellulaire. Ces changements, et le fait que la protéine MUC1 est hautement immunogène, font de MUC1 une cible de choix pour l'immunothérapie. La stratégie consiste donc à induire l'expression de l'antigène MUC1 dans un environnement non tumoral, c'est-à-dire là où le système immunitaire est totalement fonctionnel, afin d'induire une immunité à la fois innée et adaptative. Outre le cancer du poumon, l'antigène tumoral MUC1 est exprimé dans de nombreuses tumeurs, notamment les cancers du sein, du rein, de la prostate et le cancer colorectal.

● *Méthode de production* (Figure 31)

TG4010 consiste en une suspension de particules de vecteurs MVA-MUC1-IL-2.

Il s'agit du virus de la vaccine de la souche Ankara (MVA) modifié, atténué et recombinant, exprimant à la fois l'antigène MUC1, et la cytokine Interleukine 2 (IL2), fonctionnant comme un adjuvant local au site d'injection.

La souche MVA du virus de la vaccine a été obtenue après 570 passages du virus de la vaccine Ankara dermique (virus de la vaccine Ankara cultivé sur une membrane chorio-allantoïde) dans des fibroblastes primaires de poulet (Hornemann et al., 2003).

Le vecteur MVA-MUC1-IL-2 a été généré par recombinaison homologue entre le MUC1 et l'IL-2 contenus dans le plasmide de transfert pTG9931, portant deux séquences flanquantes entourant la délétion II du MVA (BRD2 et BRG2) et un sous-clone du MVA (N33) (Meyer et al., 1991 ; Sutter and Moss, 1992).

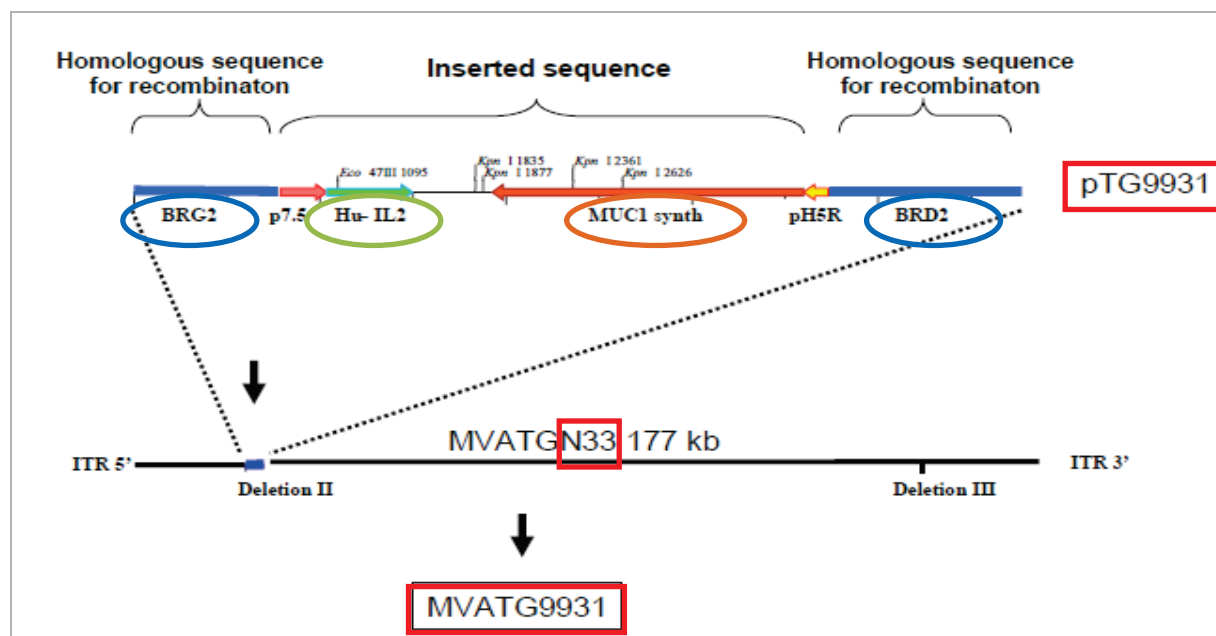


Figure 31 : Séquence du MVATG 9931 (composant viral du TG4010)

(d'après Oudard et al., 2011)

Le vaccin s'administre de manière hebdomadaire pendant 6 semaines, puis toutes les 3 semaines.

● Essais cliniques

Le 8 janvier 2014, Transgène a annoncé les résultats préliminaires de la phase IIb de l'étude TIME, un essai randomisé de phase IIb/III évaluant TG4010 contre placebo, en combinaison avec la chimiothérapie de première ligne chez des patients atteints de cancer du poumon non à petites cellules au stade métastatique. L'objectif principal était la validation du caractère prédictif du biomarqueur « TrPAL ». La tolérance et l'efficacité de la combinaison de TG4010 et de la chimiothérapie standard étaient également évaluées.

La valeur prédictive du biomarqueur TrPAL a été évaluée en comparant la survie sans progression dans les deux bras de l'étude et dans deux sous-groupes, définis sur la base de leur niveau de TrPAL (normal ou élevé) au moment de leur entrée dans l'étude. Un total de

210 patients a été recruté dans l'étude, dont 170 patients avec un niveau normal de TrPAL et 40 patients avec un niveau élevé de TrPAL. Pour l'étude préliminaire prévue dans le protocole, le niveau de TrPAL a été déterminé en référence au niveau de TrPAL chez des volontaires sains. Ce niveau est appelé ULN, pour « Upper Limit of Normal », limite supérieure de la normale. En utilisant ce niveau de mesure, l'objectif principal de l'étude n'a pas été atteint.

En revanche, une deuxième analyse prévue au protocole a été réalisée sur l'ensemble de la population. Cette analyse et les données générées vont conduire à la définition d'une valeur seuil pour les TrPAL, différente de l'ULN, et qui sera utilisée pour la partie phase III de l'étude. Cette analyse basée sur les quartiles montre que chez les 75% de patients présentant les valeurs de TrPAL les plus basses et ayant reçu la combinaison TG4010 / chimiothérapie, il y a une amélioration significative sur le plan médical de la survie sans progression. Cette amélioration est mesurée par une réduction de plus de 25% du risque de progression ou décès chez les patients de ce groupe ayant reçu la combinaison TG4010/chimiothérapie en comparaison au groupe placebo. Inversement, dans le groupe des 25% de patients ayant les niveaux les plus élevés de TrPAL, aucune amélioration de la survie sans progression n'a été démontrée chez les patients ayant reçu la combinaison. Ces résultats préliminaires soutiennent la valeur prédictive du biomarqueur constitué par les TrPAL. TG4010 a été de plus très bien toléré.

Suite à la découverte d'une sous-population de patients bénéficiant plus particulièrement du traitement associant TG4010 et chimiothérapie, par comparaison à la chimiothérapie seule, une étude rétrospective a été menée. Cette sous-population était composée de patients présentant un taux normal de cellules triples positives (TrPAL) (CD16+CD56+CD69+) avant traitement. Les résultats cliniques de l'étude de Phase 2b mettent en évidence une amélioration clinique pour les patients de cette sous-population avec une augmentation statistiquement significative de 6 mois de leur survie moyenne (Figure 32).

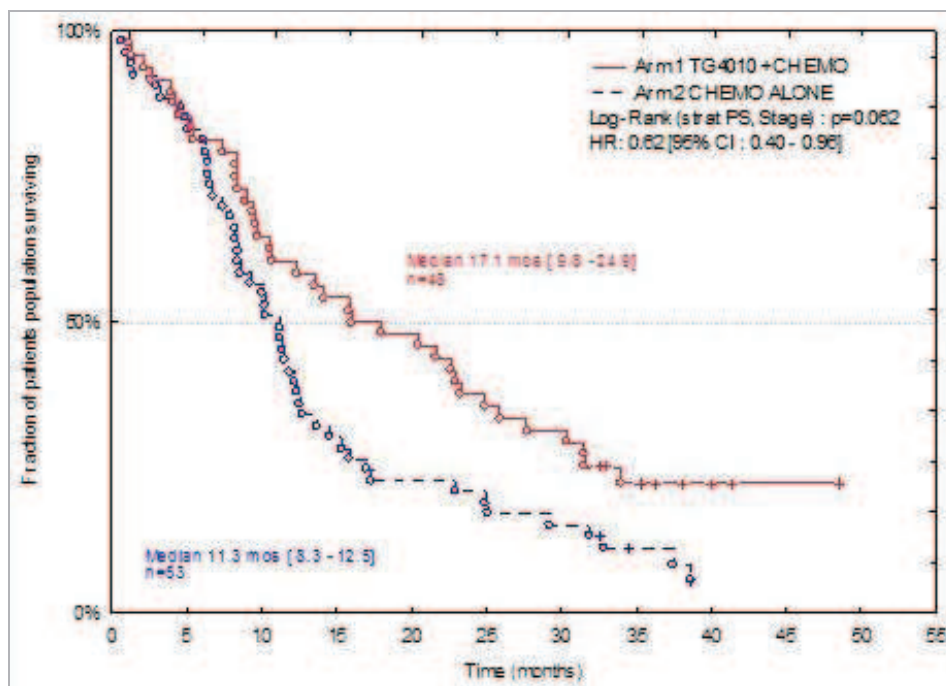


Figure 32 : Analyse rétrospective en sous-groupes de 101 patients avec un niveau de TrPAL normal à l'inclusion
(<http://www.transgene.fr>)

Le 27 mai 2014, Transgène a annoncé des résultats intégrant de nouvelles données de la partie IIB de TIME. Une analyse des données plus matures a montré que l'objectif principal de l'étude, la survie sans progression pour la validation du biomarqueur prédictif TrPAL, était atteint dans le groupe des patients présentant un niveau normal de TrPAL (taux minimal de 40% de survie sans progression à 6 mois dans le groupe expérimental). Pour le groupe des patients avec un niveau élevé de TrPAL, le nombre d'événements requis pour procéder à l'analyse primaire n'était pas encore atteint à cette date.

Par ailleurs, dans le sous-groupe des patients ayant un cancer de type non squameux (191 patients sur 217, soit la vaste majorité des patients de l'étude), la différence de survie sans progression entre le groupe de patients ayant reçu TG4010 (avec la chimiothérapie) et le groupe contrôle était statistiquement et cliniquement significative, avec une valeur de p de 0,02 et un hazard ratio (HR) de 0,71 [0.51, 0.98] (dans la population dite « intent-to-treat » : ITT). Le HR de 0,71 s'analyse comme une probabilité de réduction du risque de progression de 30% environ pour les patients ayant reçu TG4010. Comme attendu, le résultat en termes d'analyse de la survie sans progression dans la population des patients ayant un cancer non-

squameux est encore plus notable dans le sous-groupe des patients ayant un niveau normal de TrPAL.

Transgene est en relation avec les autorités de santé pour discuter les données de l'étude TIME en vue de l'initiation de la phase 3. Transgene a également signé un accord d'option exclusive avec Novartis pour le développement et la commercialisation de TG4010 pour le traitement du cancer du poumon non à petites cellules ainsi que d'autres indications (<http://www.transgene.fr>).

II-3.5 Vaccins à base de cellules tumorales & cancer du côlon : OncoVax[®]

Le cancer du colon

Aussi appelé cancer du côlon-rectum ou cancer colorectal, c'est le deuxième cancer le plus fréquent chez la femme et le troisième chez l'homme. Sur la période 2003-2007, le cancer colorectal a fait en moyenne chaque année 8 690 victimes chez les hommes et 7 740 chez les femmes. Le nombre de nouveaux cas de cancer colorectal en 2010 est estimé à 40 000, dont 53% survenant chez l'homme et 95% chez les plus de 50 ans.

Les symptômes sont le plus souvent des douleurs abdominales, des troubles du transit intestinal, des rectorragies associées ou non à de faux besoins, une anémie, la présence de sang dans les selles. A un stade avancé, des complications comme l'occlusion ou la perforation tumorale ou encore l'altération de l'état général peuvent révéler le cancer.

Le dépistage organisé du cancer colorectal repose sur la recherche d'un saignement occulte dans les selles (test Hemoccult II[®]) chez les 50-74 ans, tous les deux ans.

Le diagnostic du cancer du côlon repose sur la coloscopie totale, qui permet de visualiser la tumeur et de réaliser des biopsies. Une échographie endorectale et éventuellement un scanner ou une IRM peuvent être prescrits.

La chirurgie reste le traitement de base des cancers colorectaux. La chimiothérapie peut être prescrite à titre préventif pour éviter les métastases lorsque la tumeur se développe en profondeur (<http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/cancer-colorectal>).

Les vaccins à base de cellules tumorales : OncoVax[®]

Les vaccins à base de cellules tumorales entières ont été étudiés depuis plus de 20 ans pour leur efficacité dans les modèles précliniques et cliniques.

● Mécanisme d'action

Dans cette stratégie, les cellules tumorales d'un patient sont utilisées pour éduquer les cellules immunitaires. La cellule tumorale est la meilleure source d'antigènes, en particulier lorsque des antigènes spécifiques n'ont pas été (ou ne peuvent pas être) identifiés et purifiés.

Ces cellules sont génétiquement modifiées pour produire certaines molécules immunitaires qui déclenchent une réponse immunitaire contre la tumeur.

Puis elles sont inactivées en utilisant des produits chimiques ou des rayonnements de sorte qu'elles ne puissent former une tumeur lorsque le vaccin est injecté à l'intérieur du patient. Les cellules tumorales modifiées peuvent aussi être couplées avec un adjuvant.

Les cellules tumorales sont détectées par les cellules présentatrices d'antigènes, ce qui déclenche une cascade de réactions de la part des cellules du système immunitaire et ainsi mène à la destruction de la tumeur.

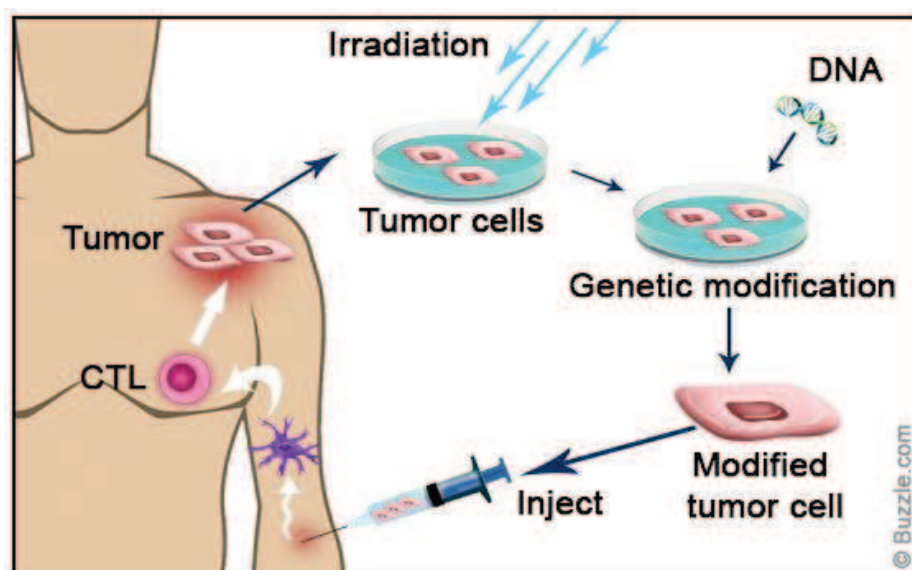


Figure 33 : Mécanisme d'action des vaccins à base de cellules tumorales

(www.buzzle.com)

Les cellules tumorales utilisées pour la préparation de cette classe de vaccins peuvent être de deux types :

- soit provenir du patient lui-même : cellules tumorales autologues
- soit provenir d'un autre patient ayant un cancer similaire : cellules tumorales allogéniques

Une variété de cellules cancéreuses et de fragments de cellules sont utilisés dans les vaccins à base de cellules tumorales :

- cellules tumorales entières inactivées le plus souvent par irradiation
- lysats tumoraux : fragments de cellules tumorales détruites
- oncolysats tumoraux : extraits fabriqués à partir de cellules cancéreuses infectées par une souche de virus permettant la destruction des cellules cancéreuses
- corps apoptotiques : fragments de cellules qui sont morts par apoptose
- cellules tumorales génétiquement modifiées : cellules cancéreuses qui ont été modifiées par génie génétique et incluant le matériel génétique codant pour des cytokines, protéines qui stimulent l'activité des cellules immunitaires.

Voici quelques exemples de vaccins à base de cellules tumorales :

OncoVax[®] (Vaccinogen) pour le cancer du côlon

Reniale[®] (LipoNova) pour le cancer du rein

GVAX[®] pour le cancer de la prostate

C'est donc ce mécanisme qu'utilise OncoVAX[®] : actuellement en phase IIIb, ce vaccin utilise les cellules cancéreuses du patient lui-même afin de mobiliser le système immunitaire pour prévenir la récurrence du cancer du côlon après chirurgie. OncoVAX[®] est donc un vaccin anti-cancer autologue, préparé pour chaque patient et obtenu à partir de la tumeur qui lui a été retirée par chirurgie.

Un inconvénient majeur de vaccins à base de cellules tumorales entières est que les cellules tumorales ne sont généralement pas immunogènes car leurs antigènes sont très souvent masqués pour échapper au contrôle immunitaire du patient. D'autres méthodes telles que l'utilisation de fractions purifiées de lignées cellulaires tumorales allogéniques permettent de récupérer les antigènes tumoraux excrétés par les cellules tumorales dans les milieux de culture et ainsi améliorer l'immunogénicité (Kim et al., 2002).

● *Méthode de production* (Figure 34)

Etape 1 : Préparation de fragments tumoraux

- Le côlon réséqué est découpé et lavé.
- La tumeur est ensuite disséquée et préparée pour le transport. Pour ce faire, la tumeur est mise dans un flacon de transport contenant de la solution saline équilibrée de Hanks avec de

la gentamicine (HBSS / G). Le flacon lui-même emballé dans une boîte de transport permettant un maintien de la température à 4°C.

Etape 2 : Préparation des cellules tumorales

- La tumeur est lavée à l'aide de la solution HBSS / G. Puis elle est taillée en petits morceaux et incubée dans un milieu contenant de la DNase et de la collagénase à 36-38 ° C pendant 35-45 minutes. Les cellules sont ensuite centrifugées et le culot cellulaire est remis en suspension dans du HBSS / G. Un milieu de dissociation supplémentaire est ajouté aux fragments de tumeur restants et la procédure de dissociation est répétée trois fois et la suspension cellulaire est répartie dans 9 flacons.

- Les cellules sont ensuite congelées, avec une vitesse contrôlée de congélation de +4°C à -90°C avec un taux de diminution de 1°C / minute jusqu'à ce que la température de -40°C soit atteinte.

Les flacons sont irradiés (200 000 RADS) à l'aide d'une source radioactive gamma.

- Les cellules tumorales congelées sont ensuite stockées en quarantaine dans des conditions contrôlées dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température $\leq -110^{\circ}\text{C}$.

- Un flacon, parmi les neuf préparés, est utilisé pour les tests de contrôle de qualité. Les huit flacons restants sont maintenus dans une zone de quarantaine séparée du congélateur à azote liquide.

Etape 3 : Préparation des différentes injections

- Préparation pour les deux premières injections : Deux flacons de cellules tumorales irradiées sont décongelés sur un bloc chauffant à 36-38°C. Le BCG est ajouté à la suspension cellulaire. La dose est aspirée dans une seringue, emballée sur une plaque froide et ensuite transportée vers le médecin ou l'infirmière pour l'administration au patient. La dose formulée doit être administrée dans les quatre heures suivant la décongélation des cellules.

- Préparation pour les deux dernières injections : La même procédure que les deux premiers, mais sans le BCG.

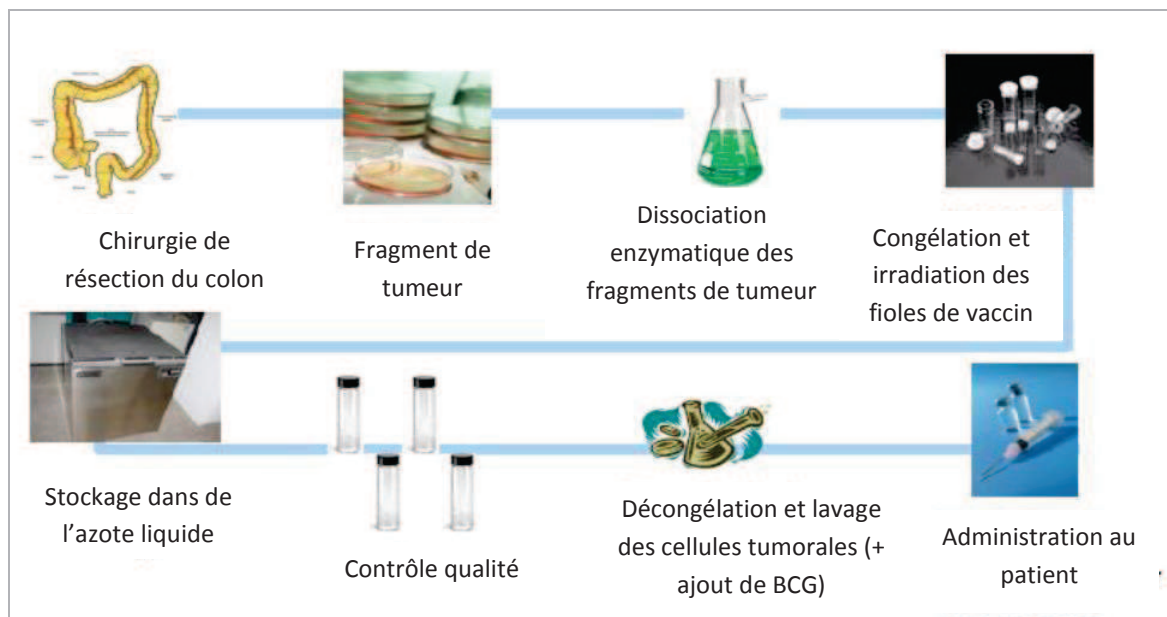


Figure 34 : Méthode de production de OncoVAX®

(d'après <http://www.moh.gov.my>)

En ce qui concerne le schéma vaccinal, le patient reçoit en tout quatre injections.

La première des quatre vaccinations a lieu plusieurs semaines après la chirurgie. Le vaccin renferme une partie des cellules tumorales qui ont été décongelées et combinées à une formulation exclusive de BCG qui sert d'activateur immunogénique. Cette formulation est aussi utilisée pour la deuxième inoculation.

La troisième inoculation et l'injection de rappel (quatrième injection) sont préparées de la même manière, mais sans addition de BCG.

Le patient reçoit les trois premières vaccinations à intervalles hebdomadaires à partir du 28-35^{ème} jours après la chirurgie.

La quatrième et dernière vaccination a lieu 6 mois après la chirurgie (patients atteints de cancer de stade II du côlon) ou un mois après la fin de la chimiothérapie (phase III de patients atteints de cancer du côlon).

● *Essais cliniques*

L'étude de phase IIIa a consisté en un essai clinique randomisé réalisé dans douze hôpitaux différents aux Pays-Bas et incluant 254 patients. Les résultats de cette étude ont démontré l'efficacité d'OncoVAX® pour les patients atteints d'un cancer du côlon de stade II avec une

amélioration statistiquement significative du taux de survie générale (5 ans) et une amélioration de la survie sans récurrence selon le test logarithmique par rangs (Figure 35).

Dans cette étude d'une période médiane de suivi de 5,8 années, il a été montré qu'OncoVAX[®] augmente le taux de survie à 5 ans sans récurrence de 41% avec un taux de mortalité de 21,3% comparé à 37,7% pour le groupe de contrôle ayant subi uniquement la chirurgie (valeur p de 0,008).

Les patients traités ont également démontré une augmentation statistiquement significative de 33% de la survie globale à 5 ans (p-valeur de 0,014) et 80% de réduction concernant la progression tumorale à 18 mois.

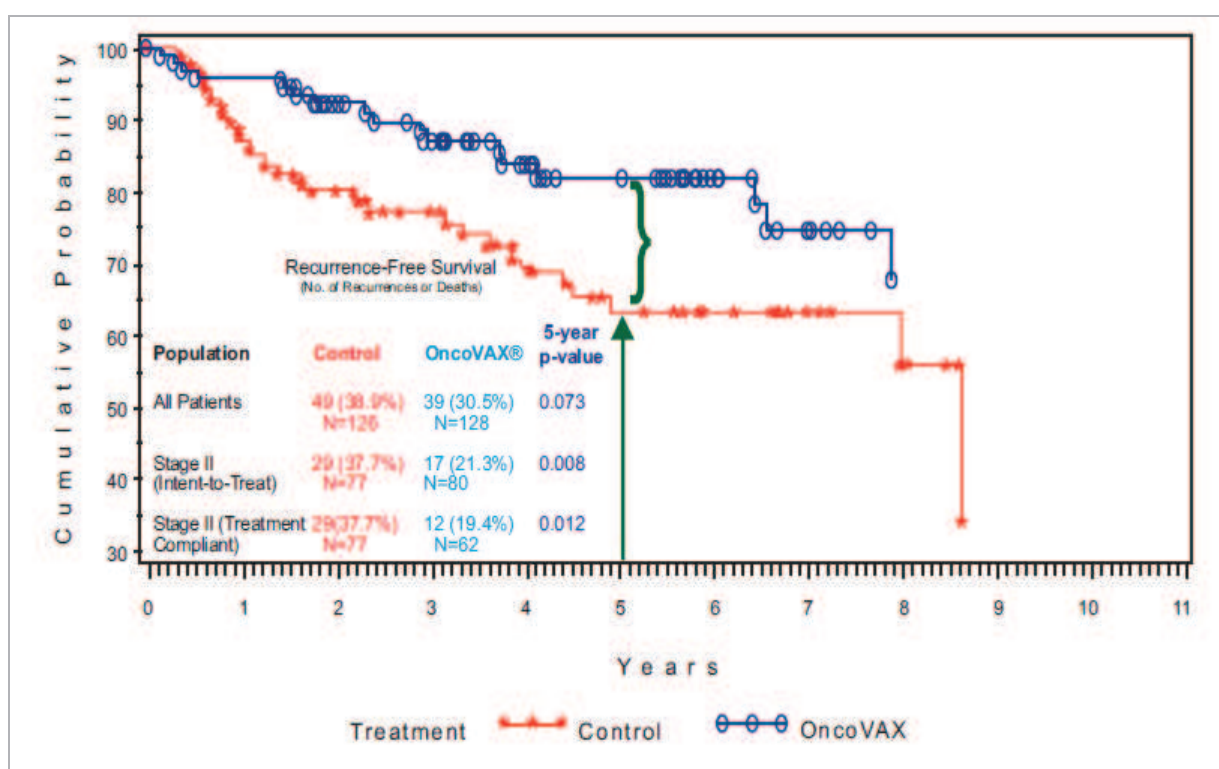


Figure 35 : Survie générale dans les patients atteints d'un cancer du côlon de stade II

(<http://vaccinogeninc.com>)

L'essai de phase IIIb est une étude randomisée et contrôlée dans le cancer du côlon de stade II dans laquelle les patients traités par OncoVAX[®] seront comparés à des patients témoins non traités.

Un total de 550 patients sera inscrit dans au moins 32 centres aux États-Unis et en Europe. Le critère d'évaluation principal est la survie sans maladie. L'étude est conçue pour détecter une réduction de 50% dans la progression de la maladie en supposant un taux de récurrence de 25%

chez les patients non traités, et fournira 90% de puissance pour détecter une différence entre les groupes de traitement à un niveau de signification de 0,05.

La commercialisation d'OncoVAX[®] est actuellement autorisée par Swissmedic, l'autorité médicale suisse, dans la catégorie des « procédés thérapeutiques » et ce depuis mai 2008.

L'autorisation de mise sur le marché de la FDA et de l'EMA était attendue en 2014.

II-3.6 Vaccins à base d'ADN

Cette catégorie de vaccins génétiques modernes implique l'utilisation d'un ADN plasmidique nu pour améliorer ou déclencher la fonction du système immunitaire.

Un gène particulier codant pour un antigène tumoral d'intérêt est inséré dans le plasmide bactérien. Le vaccin à ADN est donc constitué d'un ADN de plasmide qui contient le code génétique pour un antigène spécifique de tumeur (Tumor Specific Antigen, TSA) ou un antigène associé aux tumeurs (Tumor Associated Antigens, TAA) et d'une séquence de régulation, de manière à permettre le décodage de la séquence à l'intérieur des cellules humaines.

Quand ce plasmide ADN est injecté dans le muscle ou la peau, il est englouti et internalisé par les cellules environnantes, ainsi que par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA).

A ce moment, l'information génétique est décodée, l'antigène peptidique est synthétisé et affiché sur la surface, et est présenté aux cellules présentatrices d'antigènes. Les cellules présentatrices d'antigènes éduquent alors d'autres cellules, et initient une réponse immunitaire contre les cellules tumorales (Figure 36).

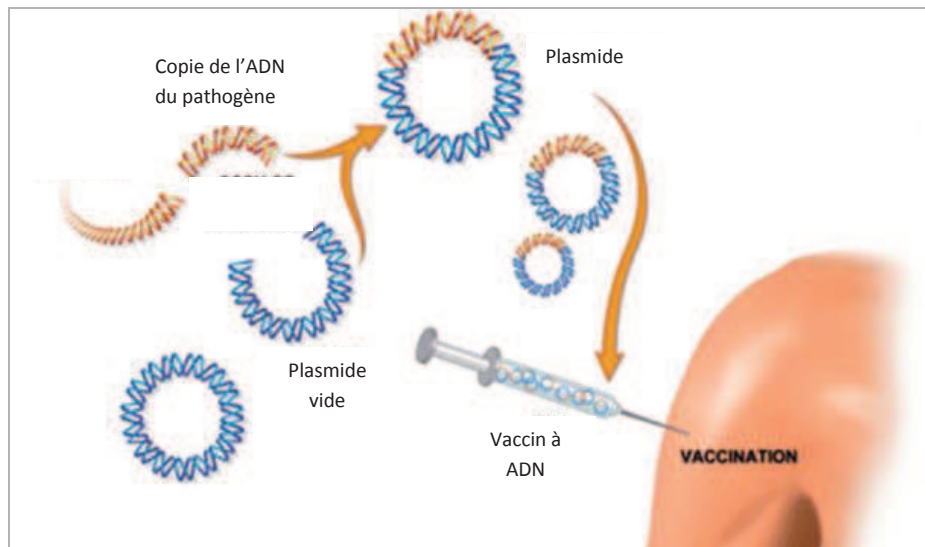


Figure 36 : Mécanisme d'action des vaccins à base d'ADN

(d'après www.pharmaasia.com)

L'efficacité du vaccin à ADN peut être augmentée par l'addition de certaines séquences pathogènes adjacentes à la séquence de l'antigène ou par l'utilisation de systèmes modernes de délivrance tels les nanoparticules.

Les vaccins à ADN et ARN sont simples, pas chers, faciles à produire à grande échelle et ne nécessitent pas de conditions de manutention ou de stockage spéciaux.

Ils induisent des réponses immunitaires seulement pour les antigènes codés et peuvent être soit administrés directement à l'hôte en tant que vaccin, soit être utilisés pour transfecter les cellules dendritiques *in vitro* pour ensuite utiliser les antigènes tumoraux produits par les cellules dendritiques pour l'immunisation.

Le seul inconvénient de vaccins à ADN, en particulier si on utilise de l'ADN oncogénique, est le potentiel de l'ADN à s'intégrer dans le génome de la cellule, favorisant ainsi la malignité.

Une approche plus récente, l'utilisation d'ARN, permet d'éviter ce problème de l'intégration. Mais l'efficacité des vaccins à base d'ARN pourrait être compromise par la dégradation de la molécule d'ARN par des enzymes, les RNases, dans les fluides corporels et la peau (Pejawar-Gaddy and Finn, 2008).

Les raisons de l'échec des vaccins à ADN pour induire de puissantes réponses immunitaires chez les humains n'ont pas été élucidées. Des efforts visant à améliorer les vaccins à ADN ont

conduit à leur efficacité accrue chez les animaux. Cependant, l'absorption de l'ADN des plasmides par les cellules lors de l'injection est très inefficace.

De nos jours, deux stratégies ont été appliquées pour augmenter l'efficacité du vaccin à ADN:

- les approches physiques : tatouage, gène pistolet, ultrasons, électroporation, laser
- les systèmes d'administration viraux et non viraux :
 - les systèmes biologiques de délivrance de gènes : les vecteurs viraux
 - les systèmes non-biologiques de délivrance de gènes : les vecteurs non-viraux, tels que:
 - les lipides cationiques / liposomes
 - les polysaccharides cationiques et les polymères
 - les micro / nano-particules
 - les peptides cationiques / peptides cellulaires pénétrants

Les deux approches sont efficaces dans des modèles animaux, mais n'ont pas encore été évaluées pleinement dans les essais cliniques humains (Bolhassani et al., 2011).

Voici quelques exemples de vaccins à ADN/ARN, actuellement à l'étude :

- vaccin à ADN A-Mammaglobin pour le cancer du sein
- rhPSA pour le cancer de la prostate
- vaccin à ADN gp100 humaine et gp75 contre le mélanome
- VXM01 du cancer du pancréas
- Melan-A dans le mélanome

III – Conclusion et perspectives

Grâce aux recherches menées actuellement sur les vaccins anti-cancer, de nouvelles perspectives thérapeutiques s'offrent aux malades.

Les chercheurs ont aujourd'hui divers outils biotechnologiques de production de vaccins à leur disposition tels que : les cellules tumorales, les cellules dendritiques, les protéines ou peptides, les anticorps monoclonaux anti-idiotypiques et les vecteurs d'ADN ou d'ARN.

Toutes ces avancées, plus ou moins prometteuses, renvoient à une notion de thérapies ciblée et personnalisée. En effet, l'avenir de la recherche en matière de lutte contre le cancer s'oriente dans l'ultrapersonnalisation des médicaments : à un malade correspond un seul et unique traitement. Le vaccin est alors mis au point spécifiquement pour un malade, ce qui augmente ses chances de réponse au traitement comme les essais cliniques le démontrent, mais le temps de production du vaccin est lui aussi augmenté.

En comparaison avec les traitements classiques contre le cancer (chimiothérapie, radiothérapie etc.), les vaccins anti-cancer s'avèrent dans certains cas plus efficaces que ces derniers. En plus de cela, l'administration d'un vaccin est moins contraignante et les effets secondaires beaucoup moins importants.

Certains de ces vaccins sont aussi personnalisés patient par patient, améliorant ainsi le taux de réponse au traitement des malades.

Dans le cas des vaccins, le rapport bénéfice/risque est donc excellent.

Le coût de ces traitements peut en revanche s'avérer relativement élevé (environ 135€ pour une dose de vaccin anti-HPV contre 31 000 \$ pour une dose de Provenge[®], sachant que dans les deux cas, trois doses sont nécessaires). Cela entraîne donc des questionnements sur le ratio coût/bénéfice. En effet, ces traitements dits thérapeutiques ne soignent pas à l'heure actuelle les malades de leur cancer et ne font que repousser l'échéance du stage terminal de la maladie (dans le cas de Provenge[®], amélioration de la survie de 4,1 mois).

Les vaccins anti-cancer apparaissent donc être de bonnes alternatives aux traitements plus agressifs et moins spécifiques que sont la chimiothérapie ou la radiothérapie. Mais bien que

les chercheurs aient fait des progrès dans le développement des vaccins anti-cancer, un travail immense est encore nécessaire. En effet, certains mécanismes d'action restent encore flous et le recul n'est pas encore suffisant en ce qui concerne les effets de ces vaccins anti-cancer sur le long terme. La recherche ne s'arrête donc pas et de nombreux essais sont actuellement en cours. Une des options analysées en ce moment est la mise en plus de protocoles d'association de ces vaccins à d'autres traitements, comme des associations « faibles doses de chimiothérapies / vaccins anti-cancer », pour renforcer la réaction immunitaire. Enfin, la voie d'administration du vaccin est aussi très étudiée car elle peut être déterminante dans l'efficacité du traitement.

Références bibliographiques

Adis International Ltd, Melanoma Vaccine-AVAX Technologies: DNP-VACC, M-Vax. *BioDrugs*. 2003;17(1):69-72.

Ault KA; Future II Study Group. *Lancet*. 2007 Jun 2;369(9576):1861-8. Effect of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like-particle vaccine on risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2, grade 3, and adenocarcinoma in situ: a combined analysis of four randomised clinical trials.

Bellet D, Dangles-Marie V. Elsevier. 2004. Immunothérapie des cancers : des mécanismes de défense contre les tumeurs aux applications cliniques.

Belli F, Testori A, Rivoltini L, Maio M, Andreola G, Sertoli MR, Gallino G, Piris A, Cattelan A, Lazzari I, Carrabba M, Scita G, Santantonio C, Pilla L, Tragni G, Lombardo C, Arienti F, Marchianò A, Queirolo P, Bertolini F, Cova A, Lamaj E, Ascani L, Camerini R, Corsi M, Cascinelli N, Lewis JJ, Srivastava P, Parmiani G. *J Clin Oncol*. 2002 Oct 15;20(20):4169-80. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous tumor-derived heat shock protein gp96-peptide complexes: clinical and immunologic findings.

Berzofsky JA, Ahlers JD, Janik J, Morris J, Oh S, Terabe M, Belyakov IM. *J Clin Invest*. 2004 Aug;114(4):450-62. Progress on new vaccine strategies against chronic viral infections. Bolhassani A, Safaiyan S, Rafati S. *Mol Cancer*. 2011 Jan 7;10:3. Improvement of different vaccine delivery systems for cancer therapy.

Burnet FM. *Br. Med. J*. 1957.1:841–47. Cancer - a biological approach.

Burnet FM. *Prog Exp Tumor Res*. 1970;13:1-27. The concept of immunological surveillance.

Catros V, Toutirais O, Bouet F, Cabillie F, Desille M, Fournié JJ. *Med Sci* 2010. 26 :185-192. Lymphocytes T $\gamma\delta$ en cancérologie, Des lymphocytes tueurs non conventionnels.

Cheever MA, Allison JP, Ferris AS, Finn OJ, Hastings BM, Hecht TT, Mellman I, Prindiville SA, Viner JL, Weiner LM, Matrisian LM. *Clin Cancer Res*. 2009 Sep 1;15(17):5323-37. The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research.

Coley WB. *Clin Orthop Relat Res*. 1991 Jan;(262):3-11. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893.

Di Lorenzo G, Buonerba C, Kantoff PW. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011 May 24;8(9):551-61. Immunotherapy for the treatment of prostate cancer.

Dolcetti R. *Autoimmun Rev*. 2007 Dec;7(2):96-101. Epub 2007 Mar 26. B lymphocytes and Epstein-Barr virus: the lesson of post-transplant lymphoproliferative disorders.

Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. *Immunity*. 2004 Aug;21(2):137-48. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting.

Echchakir H, Vergnon I, Dorothée G, Grunenwald D, Chouaib S, Mami-Chouaib F. *Int Immunol*. 2000 Apr;12(4):537-46. Evidence for in situ expansion of diverse antitumor-specific cytotoxic T lymphocyte clones in a human large cell carcinoma of the lung.

Ehrlich P. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 1909. 5(Part 1):273–90. Ueber den jetzigen Stand der Karzinom forschung. Traduction : About the current state of the art of cancer research.

Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF Jr, Kasiske BL, Israni AK, Snyder JJ, Wolfe RA, Goodrich NP, Bayakly AR, Clarke CA, Copeland G, Finch JL, Fleissner ML, Goodman MT, Kahn A, Koch L, Lynch CF, Madeleine MM, Pawlish K, Rao C, Williams MA, Castenson D, Curry M, Parsons R, Fant G, Lin M. *JAMA*. 2011 Nov 2;306(17):1891-901. Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients.

Garland SM, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Harper DM, Leodolter S, Tang GW, Ferris DG, Steben M, Bryan J, Taddeo FJ, Railkar R, Esser MT, Sings HL, Nelson M, Boslego J, Sattler C, Barr E, Koutsky LA; Females United to Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical Disease (FUTURE) I Investigators. *N Engl J Med*. 2007 May 10;356(19):1928-43. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases.

Gatti RA, Good RA. *Cancer*. 1971 Jul;28(1):89-98. Occurrence of malignancy in immunodeficiency diseases. A literature review.

Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:329-60. The three Es of cancer immunoediting.

Godfrey DI, Hammond KJ, Poulton LD, Smyth MJ, Baxter AG. *Immunol Today*. 2000 Nov;21(11):573-83. NKT cells: facts, functions and fallacies.

Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA et Weinman S. Dunod, Paris, 2003. ISBN 2-10-007396-6. Immunologie : le cours de Janis Kuby.

Gordon NF, Clark BL. *Methods*. 2004 Jan;32(1):63-9. The challenges of bringing autologous HSP-based vaccines to commercial reality.

Hanahan D, Weinberg RA. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57-70. The hallmarks of cancer.

Hanahan D, Weinberg RA. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013. Hallmarks of cancer: the next generation.

Hebner CM, Laimins LA. *Rev Med Virol*. 2006 Mar-Apr;16(2):83-97. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity.

Hoption Cann SA, van Netten JP, van Netten C. *Postgrad Med J*. 2003 Dec;79(938):672-80. Dr William Coley and tumour regression: a place in history or in the future.

Hornemann S, Harlin O, Staib C, Kisling S, Erfle V, Kaspers B, Häcker G, Sutter G. *J Virol.* 2003 Aug;77(15):8394-407. Replication of modified vaccinia virus Ankara in primary chicken embryo fibroblasts requires expression of the interferon resistance gene E3L.

Itoh K, Yamada A, Mine T, Noguchi M. *Jpn J Clin Oncol.* 2009 Feb;39(2):73-80. doi: 10.1093/jjco/hyn132. Epub 2008 Nov 16. Recent advances in cancer vaccines: an overview.

Kägi D, Vignaux F, Ledermann B, Bürki K, Depraetere V, Nagata S, Hengartner H, Golstein P. *Science.* 1994 Jul 22;265(5171):528-30. Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity.

Kim CJ, Dessureault S, Gabrilovich D, Reintgen DS, Slingluff CL Jr. *Cancer Control.* 2002 Jan-Feb;9(1):22-30. Immunotherapy for melanoma.

Kronenberg M, Gapin L. *Nat Rev Immunol* 2002 ; 2 : 557-68. The unconventional lifestyle of NKT cells.

Malik H, Khan FH, Ahsan H. *Arch Virol.* 2014 Feb;159(2):199-205. Human papillomavirus: current status and issues of vaccination.

Meyer H, Sutter G, Mayr A. *J Gen Virol.* 1991 May;72 (Pt 5):1031-8. Mapping of deletions in the genome of the highly attenuated vaccinia virus MVA and their influence on virulence.

Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. *J Immunol.* 1986 Apr 1;136(7):2348-57. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins.

Muñoz N, Bosch FX, Castellsagué X, Díaz M, de Sanjose S, Hammouda D, Shah KV, Meijer CJ. *Int J Cancer.* 2004 Aug 20;111(2):278-85. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective.

Oudard S, Rixe O, Beuselinck B, Linassier C, Banu E, Machiels JP, Baudard M, Ringeisen F, Velu T, Lefrere-Belda MA, Limacher JM, Fridman WH, Azizi M, Acres B, Tartour E. *Cancer Immunol Immunother.* 2011 Feb;60(2):261-71. doi: 10.1007/s00262-010-0935-9. Epub 2010 Nov 11. A phase II study of the cancer vaccine TG4010 alone and in combination with cytokines in patients with metastatic renal clear-cell carcinoma: clinical and immunological findings.

Oudard S, Rixe O, Beuselinck B, Linassier C, Banu E, Machiels JP, Baudard M, Ringeisen F, Velu T, Lefrere-Belda MA, Limacher JM, Fridman WH, Azizi M, Acres B, Tartour E. *Cancer Immunol Immunother.* 2011 Feb;60(2):261-71. doi: 10.1007/s00262-010-0935-9. Epub 2010 Nov 11. A phase II study of the cancer vaccine TG4010 alone and in combination with cytokines in patients with metastatic renal clear-cell carcinoma: clinical and immunological findings.

Pejawar-Gaddy S, Finn OJ. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008 Aug;67(2):93-102. doi: 10.1016/j.critrevonc.2008.02.010. Epub 2008 Apr 8. Cancer vaccines: accomplishments and challenges.

Qin Z, Blankenstein T. *Nat Immunol.* 2004 Jan;5(1):3-4; author reply 4-5. A cancer immunosurveillance controversy.

Rey M. *Abrégés de Vaccinations.* Editeur Masson. 1980.

Rodríguez PC, Rodríguez G, González G, Lage A. *MEDICC Rev.* 2010 Winter;12(1):17-23. Clinical development and perspectives of CIMAvax EGF, Cuban vaccine for non-small-cell lung cancer therapy.

Rose RC, Reichman RC, Bonnez W. *J Gen Virol.* 1994 Aug;75 (Pt 8):2075-9. Human papillomavirus (HPV) type 11 recombinant virus-like particles induce the formation of neutralizing antibodies and detect HPV-specific antibodies in human sera.

Schmidt C. *J Natl Cancer Inst.* 2009 Sep 16;101(18):1228-9, 1232. doi: 10.1093/jnci/djp314. Epub 2009 Sep 8. Lymphoma vaccine trial: one step forward in long trek.

Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. *Science.* 2011 Mar 25;331(6024):1565-70. doi: 10.1126/science.1203486. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion.

Srivastava PK, Jaikaria NS. *Methods Mol Biol.* 2001;156:175-86. Methods of purification of heat shock protein-peptide complexes for use as vaccines against cancers and infectious diseases.

Steinman L. *Nat Med.* 2007 Feb;13(2):139-45. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage.

Surmont VF, van Thiel ER, Vermaelen K, van Meerbeeck JP. *Front Oncol.* 2011 Aug 22;1:22. doi: 10.3389/fonc.2011.00022. eCollection 2011. Investigational approaches for mesothelioma.

Sutter G, Moss B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Nov 15;89(22):10847-51. Nonreplicating vaccinia vector efficiently expresses recombinant genes.

Thomas L. HS Lawrence, ed. New York: Hoeber-Harper, pp. 529–532. 1959. Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States.

van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde BJ, Knuth A, Boon T. *J Immunol.* 2007 Mar 1;178(5):2617-21. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma.

Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Ault KA, Giuliano AR, Wheeler CM, Koutsky LA, Malm C, Lehtinen M, Skjeldestad FE, Olsson SE, Steinwall M, Brown DR, Kurman RJ, Ronnett BM, Stoler MH, Ferenczy A, Harper DM, Tamms GM, Yu J, Lupinacci L, Railkar R, Taddeo FJ, Jansen KU, Esser MT, Sings HL, Saah AJ, Barr E. *Lancet Oncol.* 2005 May;6(5):271-8. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial.

Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Paavonen J, Iversen OE, Olsson SE, Høye J, Steinwall M, Riis-Johannessen G, Andersson-Ellstrom A, Elfgren K, Krogh Gv, Lehtinen M, Malm C, Tamms GM, Giacoletti K, Lupinacci L, Railkar R, Taddeo FJ, Bryan J, Esser MT, Sings HL, Saah AJ, Barr E. Br J Cancer. 2006 Dec 4;95(11):1459-66. Epub 2006 Nov 21. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up.

Wei YQ, Hang ZB. Immunol Invest. 1989 Nov-Dec;18(9-10):1095-105. In situ observation of lymphocyte-tumor cell interaction in human lung carcinoma.

Willimsky G, Blankenstein T. Nature. 2005 Sep 1;437(7055):141-6. Sporadic immunogenic tumours avoid destruction by inducing T-cell tolerance.

Zuckerman JN. Curr Opin Infect Dis. 2006 Oct;19(5):456-9. Vaccination against hepatitis A and B: developments, deployment and delusions.

Références internet

<http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/immunité-et-vaccination>.

<http://www.ameli-sante.fr/lymphome-non-hodgkinien>.

<http://www.assim.refer.org>.

<http://www.biologieneflash.net>.

<http://www.buzzle.com/articles/strategies-for-cancer-vaccine-development.html>.

<http://www.clinicaltrial.gov>.

<http://www.elysee.fr/declarations/article/presentation-du-plan-cancer-iii/>.

<http://www.ema.europa.eu>.

<http://www.ema.europa.eu/docs>.

<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/ucm210215.htm>.

<http://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/vaccines/approvedproducts/ucm111283.htm>.

<http://www.francelymphomeespoir.fr>.

<http://www.genengnews.com>.

<http://www.gustaveroussy.fr>.

<http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/cancer-colorectal>.

<http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/cancer-de-la-prostate>.

<http://www.passeportsante.net>.

<http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/>.

<http://www.prnewswire.com/news-releases>.

<http://www.reuters.com/article/2007/09/24/glaxo-cervarix-idUSL2446805720070924>.

<http://www.sante.gouv.fr/questions-reponses-vaccin-anti-papillomavirus-humain-gardasil-r.html>.

<http://www.smartplanet.com/blog/global-observer/a-vaccine-for-lung-cancer/>.

<http://www.soc-nephrologie.org>.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/fr/>.

Résumé

Le cancer est la première cause de mortalité en France. Pour faire face à ce fléau, les traitements classiques comme la chimiothérapie ou la radiothérapie ont d'abord été utilisés mais ils sont très mal tolérés et ne s'attaquent pas uniquement aux cellules cancéreuses. L'avènement des thérapies ciblées a permis d'améliorer le quotidien des malades, sans que cela ne soit malheureusement suffisant. Les vaccins sont donc apparus comme la solution la plus sûre, la mieux tolérée et la plus personnalisée.

En France, deux vaccins préventifs anti-tumoraux sont déjà sur le marché : le vaccin contre l'hépatite B comme l'Engerix[®] qui est un vaccin à base de protéines naturelles, et le vaccin contre le cancer du col de l'utérus comme le Gardasil[®] qui est un vaccin à base de protéines recombinantes.

En ce qui concerne les vaccins anti-cancer thérapeutiques, cinq axes de recherche sont actuellement étudiés, mettant en œuvre des procédés biotechnologiques de production innovants. Il y a par exemple :

les vaccins à base de cellules tumorales comme OncoVax[®] qui a obtenu une autorisation en Suisse,

les vaccins à base de cellules dendritiques comme Provenge[®] qui est déjà commercialisé aux Etats-Unis,

les vaccins à base de peptides ou protéines comme Oncophage[®] autorisé en Russie,

les vaccins à base d'anticorps monoclonaux anti-idiotypiques comme BiovaxID[®] qui va rentrer sur le marché Européen,

les vaccins à base de vecteurs comme le TG4010 toujours en cours d'essai,

et les vaccins à base d'ADN et d'ARN toujours à la recherche de leur chef de file.

Malgré toutes ces découvertes très récentes, toutes ne sont pas concluantes et les efforts se poursuivent afin de mieux comprendre les mécanismes et effets à long terme. De nouveaux résultats d'essais cliniques sont publiés chaque mois et quelques vaccins très prometteurs devraient arriver sur le marché français dans les années qui viennent.

Mots-clés : cancer, vaccin, procédé biotechnologique, production, essais cliniques

SERMENT DE GALIEN

En présence de mes maîtres et de mes condisciples, **je jure** :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si je manque à mes engagements.