Bull. Acad. Natle Méd., 2016, *200*, n° 1, 67-79, séance du 19 janvier 2016

Séance dédiée : « L'entrée en force de l'immunothérapie en oncologie »

COMMUNICATION

Liens entre génétique et immunologie : mutations et antigènes

Mots-Clés : Tumeurs. Lymphocytes T. Mutation

Links between genetics and immunology: mutations and antigens

Keywords: Neoplasm. T-Lymphocytes. Mutation

Maha AYYOUB *

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.

RÉSUMÉ

Les progrès récents de l'immunothérapie anti-tumorale par « immune checkpoint inhibitors *» mettent l'accent sur l'importance des réponses lymphocytaires T aux tumeurs dans le contrôle de la maladie. De plus, les nouveaux développements des technologies de séquençage de l'ADN à haut débit combinées aux approches d'immunologie réverse permettent d'apprécier l'implication des réponses lymphocytaires T aux néoantigènes, résultant d'altérations génomiques spécifiques de la tumeur, dans la réponse immunitaire anti-tumorale. Les néoantigènes étendent et complètent les catégories d'antigènes tumoraux et, ensemble avec ces dernières, offrent aujourd'hui la possibilité de cibler d'importantes proportions de tumeurs par des approches d'immunothérapie spécifique passive et active.*

SUMMARY

Recent advances in cancer immunotherapy by immune checkpoint blockade are emphasizing the importance of T cell responses to tumors in disease control. In addition, the development

* Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm) UMR 1015, 114 rue Édouard Vaillant, 94800 Villejuif ; e-mail : maha.ayyoub@inserm.fr

Tirés à part : Docteur Maha Ayyoub, même adresse
Article reçu et accepté le 13 janvier 2016

of next generation DNA sequencing technologies combined to reverse immunology approaches facilitate the appreciation of the involvement of T cell responses to neoantigens, which result from tumor-specific genomic alterations, in the immune response to tumors. Neoantigens extend the categories of previously characterized tumor antigens and, together with the latter, offer opportunities to target large proportions of tumors by passive and active specific immunotherapy approaches.

INTRODUCTION

Les succès cliniques récents de l'immunothérapie par « *Immune Checkpoint Inhibitors* » dans le traitement du mélanome et du cancer bronchique récompensent des décennies de recherche en immunologie des tumeurs [1]. Ils ouvrent aussi incontestablement la voie à une nouvelle ère de recherche dans ce domaine qui permettra de capitaliser sur ces premiers résultats afin d'une part d'élargir les classes d'immunothérapies et d'autre part d'étendre leur champ d'application à d'autres types de tumeurs. Ces thérapies, basées sur des anticorps monoclonaux (AcM) qui modulent différentes voies de signalisation régulatrices de l'activité des effecteurs de l'immunité, ont permis de confirmer l'importance de la réponse immunitaire adaptative contre les antigènes (Ag) tumoraux dans le contrôle de la maladie.

L'identification, à partir des années 1990, des Ag des tumeurs humains reconnus par des lymphocytes T CD8 cytotoxiques (LTC) avait permis d'apprécier pleinement le rôle majeur de l'immunité adaptative dans la réponse immunitaire anti-tumorale [2]. L'importance de la réponse adaptative, et notamment celle des lymphocytes T (LT), a été confortée par de nombreuses études montrant une corrélation entre l'infiltrat T intra-tumoral et une meilleure survie des patients [3]. Le corollaire de la caractérisation moléculaire des Ag des tumeurs est le développement des thérapies visant à les cibler spécifiquement ; à savoir l'immunothérapie spécifique active (vaccin) ou passive (transfert adoptif de cellules T spécifiques).

La génétique a été liée à l'identification des premiers Ag tumoraux reconnus par des LTC en premier lieu dans des modèles murins puis chez l'homme [4, 5]. D'autres méthodologies, basées ou non sur une approche génétique, ont également été développées et ont permis d'identifier des Ag tumoraux humains reconnus par les LTC [6], les LT CD4 auxiliaires [7] ou les anticorps [8]. L'ensemble de ces travaux a conduit à l'identification d'un nombre important d'Ag spécifiquement ou préférentiellement exprimés dans les tumeurs [2]. Selon leur origine et leur profil d'expression dans les tissus sains et dans les tumeurs ces Ag ont été classés dans plusieurs catégories dont les principales sont celles : i) des Ag cancer/lignée germinale, ii) des Ag de différenciation mélanocytaire, iii) des Ag surexprimés, iv) des Ag viraux et v) des néoantigènes résultant d'anomalies génomiques (mutations, délétions, translocations). Même si des néoantigènes avaient été identifiés dès les années 2000 [7, 9], il a fallu attendre les développements technologiques récents du séquençage à haut débit de l'ADN [10], pour que l'intérêt de la réponse immunitaire à ces Ag commence à être pleinement apprécié [11].

Le rôle des techniques de génétique et de génomique dans l'identification des Ag de tumeurs et celui des altérations génétiques et épigénétiques dans l'expression de certaines classes d'Ag tumoraux seront exposés. L'intérêt de ces différentes classes d'Ag dans le développement des immunothérapies anti-tumorales spécifiques sera discuté.

IMMUNE CHECKPOINT INHIBITORS ET RÉPONSE LYMPHOCYTAIRE T

Concomitamment à la découverte des Ag tumoraux, le rôle du cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) comme inhibiteur de l'activation des LT a été mis en évidence [12] et, rapidement, l'efficacité du blocage de son interaction avec son ligand par des AcM dans le renforcement de la réponse immunitaire anti-tumorale a été démontrée dans des modèles murins [13]. L'identification d'un panel de récepteurs de signalisation négative, exprimés par les LT, dont le rôle physiologique est de limiter la nocivité de la réponse immunitaire vis à vis du soi et qui sont exploités par les tumeurs afin d'échapper à la réponse immunitaire a permis le développement des AcM appelés « *immunes checkpoint inhibitors* » qui visent à bloquer leur interaction avec leurs ligands. Les AcM anti-CTLA-4 (Ipilimumab) et anti-Programmed cell death (PD)-1 (Pembrolizumab), approuvés en 2011 et 2014, respectivement, pour le traitement du mélanome ont démontré une efficacité clinique avec des réponses durables, même après l'arrêt du traitement, mais seulement dans une fraction des patients traités [1]. Des efforts de recherche sont actuellement entrepris afin de déterminer les caractéristiques des tumeurs et le statut immunologique des patients qui sont susceptibles de répondre à ces thérapies. En particulier, plusieurs études démontrent que l'existence d'une réponse immunitaire T anti-tumorale préalable est quasiment un prérequis pour l'efficacité des AcM anti-PD-1 [11, 14]. Décrypter la nature de ces réponses immunitaires et des Ag qu'elles ciblent semble donc aujourd'hui crucial pour la sélection des patients à traiter et pour l'induction de telles réponses, lorsqu'elles sont absentes ou faibles, par exemple par vaccination, chez les patients qui ne bénéficieraient autrement pas de ces thérapies.

IDENTIFICATION DES AG TUMORAUX HUMAINS

Dans les années qui ont suivi la découverte des LT, leur rôle dans le contrôle des tumeurs avait été rapidement établi dans des modèles murins [15] où le transfert des LT des souris immunes à la tumeur à des souris naïves irradiées les protégeait d'une greffe tumorale. Le développement de protocoles de culture de LT ainsi que de lignées tumorales *in vitro* a fourni les deux types de populations cellulaires qui ont permis le clonage des gènes codant pour les Ag tumoraux [4, 5]. Finalement, la découverte de la nature de l'Ag présenté par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I aux LTC, à savoir des fragments protéolytiques (peptides) de protéines intracellulaires [16], a permis l'identification des

épitopes (peptides antigéniques présentés par les molécules de CMH) tumoraux reconnus par les LTC spécifiques des tumeurs.

Approches génétiques

Chez l'homme les premiers travaux qui ont permis l'identification des Ag tumoraux ont été réalisés chez des patients atteints de mélanome probablement grâce à la relative facilité d'obtention des lignées tumorales *in vitro*. La culture de lignées de mélanome avec des LT circulant autologues ou de LT infiltrant la tumeur en présence d'IL-2 a permis le clonage de LTC capables de lyser la tumeur. L'équipe du Prof. T. Boon a été la première à exploiter ce système expérimental en appliquant une méthode de clonage de gènes codant pour des Ag tumoraux murins qu'ils avaient développée précédemment. En cultivant la lignée tumorale en présence d'un clone de LTC spécifique, des sous-lignées tumorales qui n'étaient plus reconnues par le clone et qui avaient donc, *a priori*, perdu l'expression de l'Ag tumoral cible, ont été dérivées et appelées variantes de perte. Une librairie d'ADNc préparée à partir des ARN de la lignée d'origine leur a permis d'identifier le gène qui restaurait la reconnaissance de la variante de perte par les LTC spécifiques, autrement dit le gène codant pour l'Ag tumoral [5]. La méthode a été également adaptée pour le clonage de gènes codant pour des Ag reconnus par les LT CD4 [7]. Finalement, dans une deuxième approche génétique appelée SEREX (*serological analysis of expression cDNA libraries*) et visant à identifier les Ag tumoraux cibles de la réponse humorale (anticorps), des librairies d'ADNc tumoraux, préparées directement à partir de l'échantillon tumoral sans la nécessité de dériver une lignée tumorale, ont été utilisées afin de produire des protéines tumorales recombinantes qui étaient ensuite criblées par les sérums des patients [17].

L'ensemble de ces approches a permis l'identification d'un nombre important d'Ag tumoraux dans plusieurs types de tumeurs [2]. Ces Ag correspondaient pour la majeure partie à des protéines cellulaires normales non mutées mais dont le profil d'expression était à l'origine de leur spécificité tumorale comme les Ag cancer/lignée germinale et les Ag de différenciation mélanocytaire. Cependant, certaines études ont mis en évidence des Ag mutés (néoantigènes) [7, 9], des Ag codés par des introns maintenus dans des ARN dont une forme non complètement épissée était présente spécifiquement dans les tumeurs [18] ou des Ag codés par un transcrit anti-sens d'un gène transcrit en double sens [19]. Ces exemples démontrent la robustesse de cette méthode par le fait que son point de départ, les LT ou les anticorps spécifiques, n'impliquait aucun préjugé sur la nature de l'Ag. Ils illustrent aussi l'étendue des anomalies tumorales susceptibles d'être reconnues par le système immunitaire.

Approches biochimiques

L'élution des peptides présentés par les molécules du CMH de classe I à la surface des tumeurs, leur fractionnement par chromatographie et l'analyse par spectrométrie de masse de la séquence des peptides contenus dans les fractions conférant à une

cellule cible non tumorale une reconnaissance par des LTC spécifiques de la tumeur a permis l'identification de plusieurs peptides antigéniques et des protéines desquelles ils étaient issus [20].

Voies d'apprêtement de l'Ag et immunologie reverse

La présentation d'un peptide à la surface des cellules tumorales ou des cellules présentatrices de l'Ag nécessite plusieurs étapes de protéolyse, de transport et de liaison aux molécules de CMH. Concernant spécifiquement la voie de présentation des Ag par les molécules du CMH de classe I, les règles régissant les coupures protéolytiques par les protéasomes ainsi que les motifs de liaison des peptides aux molécules de CMH codées par les différentes variantes alléliques sont bien définis. Cela a permis le développement d'algorithmes qui prédisent, à partir d'une séquence protéique, les sites de coupure par les protéasomes et d'autres qui prédisent les séquences peptidiques susceptibles de se lier aux molécules de CMH d'un patient [21]. Les algorithmes de prédiction de liaison ont été perfectionnés notamment par l'utilisation des réseaux neuronaux et sont aujourd'hui fiables [21]. Alors que l'apprêtement de l'Ag et la liaison du peptide au CMH sont des conditions nécessaires à la présentation d'un épitope elles ne sont cependant pas suffisantes pour l'induction d'une réponse immunitaire qui est conditionnée par la présence dans le répertoire T du patient de LTC spécifiques. L'approche d'immunologie reverse utilise les algorithmes de prédiction couplés à la recherche de LTC spécifiques afin d'identifier de nouveaux épitopes à partir de séquences d'Ag connus [22] ou de nouveaux Ag potentiels à partir de données de génomiques [11].

Les classes principales d'antigènes tumoraux humains

Antigènes partagés exprimés spécifiquement dans les tumeurs

Deux classes d'Ag appartiennent à cette catégorie : les Ag cancer/lignée germinale et les Ag viraux. Leurs principaux avantages sont la haute spécificité tumorale et l'expression partagée par une proportion de patients permettant une applicabilité large des thérapies les ciblant.

Les Ag cancer/lignée germinale sont codés par des gènes normalement exprimés dans les cellules de la lignée germinale et silencieux dans les tissus somatiques. Ils sont exprimés de façon aberrante, par des mécanismes épigénétiques, dans des tumeurs de différents types histologiques (ex. : mélanome malin, cancers bronchiques, cancers ovariens, cancers mammaires n'exprimant pas les récepteurs hormonaux) [2]. Cette classe comprend un nombre important d'Ag codés par plus de 100 familles de gènes dont environ la moitié est localisée dans le chromosome X [23]. Plusieurs de ces Ag, comme ceux des familles MAGE-A et NY-ESO-1/LAGE, sont fortement immunogéniques, induisent des réponses immunitaires spontanées chez les patients et sont actuellement à la base du développement de plusieurs stratégies d'immunothérapies spécifiques qui sont au stade d'essais cliniques avancés [2].

Les Ag viraux sont codés par des gènes de virus oncogéniques dont l'expression est maintenue dans les tumeurs viro-induites comme les hépatocarcinomes, les cancers du col de l'utérus et certains cancers ORL [2]. Les protéines oncogéniques E6 et E7 du virus du papillome humain font l'objet d'un développement vaccinal pour le traitement des néoplasies intra-épithéliales vulvaires pré-carcinomateuses et des cancers du col de l'utérus [24].

Antigènes de différenciation mélanocytaire et antigènes surexprimés

Contrairement à ceux de la catégorie précédente, ces Ag ont un degré moindre de spécificité tumorale puisqu'ils sont également exprimés dans certains tissus sains. Cependant, déjà dans les premières études d'identification des Ag de mélanome, plusieurs protéines de différenciation mélanocytaire, exprimées dans les mélanocytes et les mélanomes, ont été identifiées comme cibles des réponses immunitaires spontanées chez les patients [2]. De plus, des études ultérieures ont montré que les LTC spécifiques de ces Ag étaient présents à des proportions significatives parmi les LT infiltrant les tumeurs [25]. De ce fait, plusieurs Ag de différenciation mélanocytaire, comme MelanA/MART-1 ou gp100, sont cibles de stratégies d'immunothérapie spécifique.

La surexpression dans les tumeurs de protéines exprimées dans un ou plusieurs tissus sains pourrait permettre le ciblage de la tumeur sans endommager les tissus sains. L'Ag le plus étudié dans la classe des Ag surexprimés est le récepteur de facteur de croissance et oncogène HER2/ERBB2 [2]. Ce récepteur est ciblé par des AcM (Herceptin) qui bloquent son activité oncogénique mais certaines études suggèrent que ce traitement induit également une réponse immunitaire endogène contre HER2. Par ailleurs, des vaccins ciblant cet Ag sont aussi en cours de développement.

Néoantigènes

Il s'agit d'épitopes codés par des gènes ayant subi une anomalie génomique (délétion, translocation et le plus souvent mutation) somatique, ne touchant donc que la tumeur et étant absente du génome constitutionnel du patient. La différence entre la séquence protéique normale et tumorale peut être suffisante pour que cette dernière soit reconnue par des LT CD4 et CD8. Des néoantigènes ont été identifiés comme cibles des réponses T chez les patients dans plusieurs études [7, 9]. Ces Ag ou ces épitopes sont hautement spécifiques de la tumeur et sont de ce point de vue des cibles parfaites pour l'immunothérapie. Ils sont cependant le plus souvent codés par des mutations privées rendant leur exploitation thérapeutique limitée au seul patient dont la tumeur porte la mutation dans un cadre de médecine personnalisée.

SÉQUENCAGE À HAUT DÉBIT DE L'ADN ET RÉPONSE IMMUNITAIRE AUX TUMEURS

Comme cela a été exposé dans un compte rendu récent de l'Académie [10], les avancements technologiques majeurs des méthodes de séquençage de l'ADN réalisés depuis 2005 permettent aujourd'hui le séquençage de l'exome (l'ensemble des séquences codantes du génome) d'un échantillon humain en quelques heures ou quelques jours ouvrant la voie à l'exploitation de ces résultats dans le cadre de la médecine personnalisée. Une méta-analyse du taux de mutations somatiques dans des tumeurs de 27 origines histologiques différentes réalisée par séquençage à haut débit de l'exome ou du génome de 3,083 paires d'échantillons tumoraux et sains a montré une variation de l'ordre de 1000 fois entre les types tumoraux mais également une variation importante entre les patients quand un seul type tumoral était analysé [26]. Une médiane de 44 mutations par tumeur (1.5 mutations/Mb d'exome) a été trouvée dans la cohorte et pour certains types tumoraux comme le mélanome et le cancer bronchique épidermoïde non à petites cellules le taux de mutations pouvait atteindre 100 mutations/Mb. La majorité de ces mutations ne sont pas oncogéniques (ou pilotes, driver mutations en anglais) mais des mutations accessoires (passenger mutations en anglais) présentes donc le plus souvent dans des tumeurs uniques (mutations privées). Ces mutations peuvent néanmoins coder pour des néoantigènes potentiels.

Plusieurs études très récentes ont investigué la réponse immunitaire au mutanome tumoral (ensemble de mutations détectées par l'alignement de la séquence de l'exome d'une tumeur d'une part à celles du génome humain de référence ainsi que celle de l'exome constitutionnel du patient de l'autre) au cours de la réponse à l'immunothérapie ou de la réponse immunitaire spontanée aux tumeurs [11]. L'analyse de cohortes de patients atteints de cancer bronchique ou de mélanome et traités par des immunes checkpoint inhibitors (anti-PD-1 (Pembrolizumab) ou anti-CTLA-4 (Ipilimumab ou Tremelimumab)) a suggéré que la réponse clinique au traitement pouvait être positivement corrélée au taux de mutations somatiques dans les tumeurs [27, 28]. En analysant la réponse immunitaire chez certains patients dans ces cohortes en utilisant différentes stratégies d'immunologie reverse (**Figure 1**), les auteurs ont en effet mis en évidence des réponses lymphocytaires T contre des peptides codés par certaines de ces mutations apportant ainsi des éléments de preuve confirmant l'hypothèse. D'autres études ont également montré que des réponses lymphocytaires T CD4 et CD8 contre les mutations somatiques sont fréquemment détectées chez les patients atteints de mélanome au site tumoral et dans la circulation et ceci avant ou après traitement par transfert adoptif de LT infiltrant la tumeur [29-31]. Le mélanome et les cancers bronchiques sont parmi les types tumoraux qui ont des taux moyens de mutations très élevés ce qui pourrait expliquer la détection fréquente de réponses immunitaires anti-néoantigènes chez ces patients. Dans leur étude, TN Schumacher et ses collègues ont estimé que parmi toutes les mutations

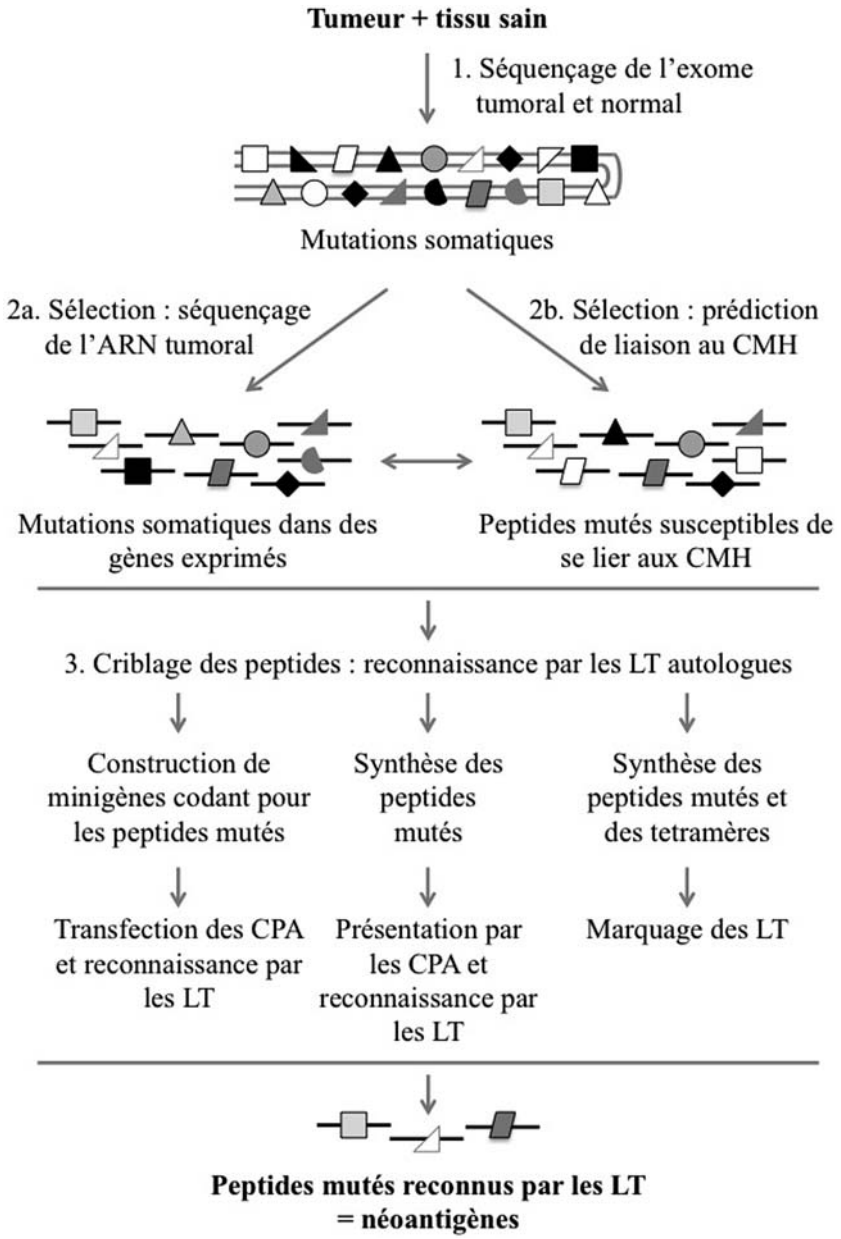

FIG. 1. — Identification des néoantigènes à partir des données de génomique

Identification des néoantigènes à partir des données de génomique. L'identification des néoantigènes repose, pour chaque patient, sur le séquençage à haut débit des génomes ou exomes normaux (ADN extrait d'un tissu sain) et tumoraux (ADN extrait de l'échantillon tumoral ou d'une lignée tumorale dérivée de l'échantillon) permettant de déterminer les mutations somatiques, c'est à dire uniquement présentes dans la tumeur (1). Selon les tumeurs, ce nombre peut varier de quelques mutations à plusieurs centaines dont seulement une petite fraction codera pour des néoantigènes reconnus par les LT du patient. Il est donc nécessaire d'introduire des étapes de sélection (2) et de criblage (3) qui permettent l'identification de ces Ag. Dans certaines études le séquençage à haut débit des ARN tumoraux est utilisé afin de sélectionner, parmi toutes les mutations, celles qui sont présentes dans des gènes exprimés dans la tumeur, donc les seules susceptibles d'induire une réponse immunitaire (2a) [29, 30]. Les algorithmes de prédiction de liaison aux CMH sont utilisés dans certaines études afin de sélectionner parmi les peptides mutés de la tumeur ceux qui sont *a priori* capables de se lier aux molécules de CMH exprimées chez le patient (2b) [31]. Certaines études combinent ces deux approches de sélection. Enfin, l'étape fondamentale dans cette stratégie est celle du criblage fonctionnel des peptides mutés sélectionnés (3). Le criblage peut être réalisé par un test fonctionnel de reconnaissance des cellules présentatrices de l'Ag (CPA), chargées avec les peptides mutés synthétiques [29, 30] ou transfectées avec de l'ADN (minigènes) ou de l'ARN codant pour ces peptides [33], par les LT circulant ou infiltrant la tumeur. Une deuxième approche de criblage utilise des tetramères fluorescents de molécules de CMH recombinantes contenant le peptide muté qui permettent de marquer spécifiquement les LT spécifiques d'un épitope (CMH + peptide antigénique) et de les identifier au sein d'une population hétérogène de LT grâce à l'analyse par cytométrie en flux. Des tetramères contenant les différents peptides mutés sont ainsi préparés et utilisés afin de tester la présence de LT spécifiques parmi les LT circulant ou infiltrant la tumeur du patient [28]. L'application de cette stratégie au cours des trois dernières années chez des patients atteints de mélanomes, de cancers bronchiques et de cancers du tractus digestif a permis l'identification d'un à 3 néoantigènes dans une majorité des tumeurs testées [27-33].

d'une tumeur environ 60 % sont dans des gènes exprimés dans la tumeur et seulement 0,5 % codent pour des néoantigènes reconnus, dans ces cas, par des LT CD4 [30]. Cette estimation soulève des questions quant à la pertinence de ce type d'Ag dans des tumeurs ayant un taux inférieur de mutations. Cependant, une étude investiguant la réponse immunitaire aux néoantigènes chez des patients atteints de cancers épithéliaux du tractus digestif a montré que ces réponses étaient détectables chez 9 patients sur les 10 inclus avec un taux de mutations dans la tumeur bas à modéré [32]. Le même groupe avait montré que 25 % des LT infiltrant la tumeur, utilisés pour traiter par transfert adoptif un patient atteint de cholangiocarcinome, étaient des LT CD4 spécifiques d'un néoantigène. À la rechute, le patient a été traité par infusion d'une population lymphocytaire à >95 % spécifique de l'Ag qui a induit une régression tumorale [33]. Malgré le nombre limité d'études sur ce sujet, par sa dépendance d'une technologie de séquençage récente et d'une infrastructure importante d'analyse de la réponse immunitaire, leurs résultats suggèrent que la réponse immunitaire aux néoantigènes est une composante a part entière de la réponse immunitaire aux tumeurs qui a un potentiel de développement thérapeutique réel.

CONCLUSION

L'efficacité clinique du transfert adoptif de LT spécifiques des Ag de tumeurs avait fourni la preuve de concept de la capacité de la réponse immunitaire adaptative à contrôler les tumeurs [33, 34]. La mise sur le marché des immune checkpoint inhibitors qui font partie aujourd'hui aux côtés de la chirurgie, de la chimiothérapie et de la radiothérapie de l'arsenal de lutte contre le cancer confirme le concept [1]. Notamment, les études de cohortes qui montrent un lien entre l'efficacité clinique des immune checkpoint inhibitors et la réponse lymphocytaire T spontanée des patients [14, 27, 28] placent les Ag de tumeurs au devant de la scène comme des cibles importantes du développement des immunothérapies anti-tumorales. Les Ag de tumeurs peuvent être ciblés soit par des approches de transfert adoptif de LT spécifiques [34] soit par vaccination [35] seules ou en combinaison avec les immune checkpoint inhibitors. Le développement de chacune de ces deux approches a ses défis spécifiques. Dans le cas du transfert adoptif il s'agit principalement du choix de la population à transférer ; à savoir des LT infiltrant la tumeur, des clones de LT spécifiques ou des LT transgéniques exprimant un récepteur T, d'affinité augmentée ou pas, ou un récepteur chimérique anticorps/récepteur T (CAR T cells) spécifique [34]. Les thérapies vaccinales quant à elles nécessiteront des développements dans la production de différentes formes de l'Ag ainsi que sa formulation avec des adjuvants permettant une stimulation efficace de la réponse immunitaire [35]. Le choix des Ag à cibler représente, néanmoins, un défi commun aux deux approches. Parmi les considérations importantes dans ce choix il y a l'étendue de l'expression des Ag dans une population. De ce point de vue nous pouvons opposer les néoantigènes, généralement exprimés dans des tumeurs uniques, à toutes les autres classes d'Ag, dont l'expression est partagée par une proportion des tumeurs d'un type histologique donné (ex. : Ag de différenciation mélanocytaire) ou de plusieurs types histologiques (ex. : Ag cancer/lignée germinale). Le choix dépendra également du degré de spécificité tumorale, c'est à dire de l'absence d'expression dans les tissus sains, avec d'un côté du spectre les néoantigènes et les Ag viraux hautement spécifiques et de l'autre les Ag surexprimés et les Ag de différenciation mélanocytaire. Avec une expression normale limitée à la lignée germinale située dans des sites dits privilégiés, c'est à dire protégés du système immunitaire, les Ag cancer/lignée germinale pourraient être considérés d'un point de vue immunologique comme ayant une spécificité tumorale importante [2]. Cependant, alors qu'aucun effet secondaire de type auto-immunitaire n'a été observé lors du traitement par transfert adoptif de LT spécifiques de NY-ESO-1 [36], le ciblage par la même méthode thérapeutique de MAGE-A3, un autre Ag de la classe, a conduit dans plusieurs essais cliniques à des effets secondaires liés à une infiltration d'organes par des LT activés [37, 38]. Dans le premier cas une expression faible d'un autre membre de la famille MAGE-A dans de rares neurones [37] et dans le deuxième la reconnaissance croisée d'un peptide dérivé d'une protéine normale des muscles striés par les LT transférés [38] ont été proposées comme explication de l'accumulation cérébrale et cardiaque des LT, respectivement.

Ces études mettent probablement cependant en évidence des limitations propres au transfert adoptif de LT portant un récepteur modifié *in vitro* dont l'affinité pour l'Ag est largement supérieur aux celles, plus physiologiques, des récepteurs des LT détectés lors des réponses spontanées des patients aux tumeurs. Par conséquent, le choix de l'Ag à cibler devra probablement également dépendre de la stratégie thérapeutique choisie avec un choix d'Ag ayant une expression hautement spécifique lorsque des LT de très haute affinité sont utilisés. Cependant, même dans ce cas, il semble aujourd'hui difficile de prédire une reconnaissance croisée potentielle d'une protéine normale du soi par de tels récepteurs [38]. Le transfert de LT avec une affinité/avidité physiologique ou la vaccination devraient permettre de cibler un nombre plus important d'Ag appartenant aux différentes classes.

Le développement des méthodes de séquençage de l'ADN et de l'ARN à haut débit permet l'identification du panel d'Ag exprimés par une tumeur et donc ciblables par immunothérapie. Il est raisonnable d'anticiper que nous soyons à l'aube d'une époque où une large proportion de tumeurs sera ciblable par immunothérapie spécifique. Le choix de la catégorie d'Ag à cibler pour chaque patient tiendra compte des Ag exprimés par la tumeur. Les Ag partagés et spécifiques (Ag viraux et un certain nombre d'Ag cancer/lignée germinale) ont l'avantage de l'applicabilité à un nombre important de patients. Les néoantigènes représenteront des Ag de choix pour des tumeurs n'exprimant pas d'Ag partagés connus justifiant, dans ce cas, la lourdeur de l'infrastructure et de la stratégie de médecine personnalisée à mettre en place.

RÉFÉRENCES

[1] Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. Cancer Cell. 2015;27(4):450-61.

[2] Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P, Boon T. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer. 2014;14(2):135-46.

[3] Galon J, Angell HK, Bedognetti D, Marincola FM. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive, and mechanistic signatures. Immunity. 2013;39(1):11-26.

[4] De Plaen E, Lurquin C, Van Pel A, Mariamé B, Szikora JP, Wölfel T, et *al.* Immunogenic (tum-) variants of mouse tumor P815: cloning of the gene of tum- antigen P91A and identification of the tum- mutation. Proc Natl Acad Sci U S A. 1988;85(7):2274-8.

[5] van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, et *al.* A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. Science. 1991;254(5038):1643-7.

[6] Cox AL, Skipper J, Chen Y, Henderson RA, Darrow TL, Shabanowitz J, et *al.* Identification of a peptide recognized by five melanoma-specific human cytotoxic T cell lines. Science. 1994; 264(5159):716-9.

[7] Wang RF, Wang X, Atwood AC, Topalian SL, Rosenberg SA. Cloning genes encoding MHC class II-restricted antigens: mutated CDC27 as a tumor antigen. Science. 1999; 284(5418):1351-4.

[8] Türeci O, Sahin U, Schobert I, Koslowski M, Scmitt H, Schild HJ, et *al.* The SSX-2 gene, which is involved in the t(X ; 18) translocation of synovial sarcomas, codes for the human tumor antigen HOM-MEL-40. Cancer Res. 1996;56(20):4766-72.

[9] Lennerz V, Fatho M, Gentilini C, Frye RA, Lifke A, Ferel D, et *al.* The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(44):16013-8.

[10] Le Gall JY, Debré P ; Commission I (Biologie). Genome sequencing and personalized medicine: perspectives and limitations. Bull Acad Natl Med. 2014;198(1):101-17.

[11] Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. Science. 2015; 348(6230):69-74.

[12] Krummel MF, Allison JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. J Exp Med. 1995;182(2):459-65.

[13] Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. Science. 1996;271(5256):1734-6.

[14] Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJ, Robert L, et *al.* PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. Nature. 2014;515(7528):568-71.

[15] Freedman LR, Cerottini JC, Brunner KT. In vivo studies of the role of cytotoxic T cells in tumor allograft immunity. J Immunol. 1972;109(6):1371-8.

[16] Elliott T, Townsend A, Cerundolo V. Antigen presentation. Naturally processed peptides. Nature. 1990;348(6298):195-7.

[17] Türeci O, Sahin U, Schobert I, Koslowski M, Scmitt H, Schild HJ, et *al.* The SSX-2 gene, which is involved in the t(X ; 18) translocation of synovial sarcomas, codes for the human tumor antigen HOM-MEL-40. Cancer Res. 1996;56(20):4766-72.

[18] Guilloux Y, Lucas S, Brichard VG, Van Pel A, Viret C, De Plaen E, et *al.* A peptide recognized by human cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas is encoded by an intron sequence of the N-acetylglucosaminyltransferase V gene. J Exp Med. 1996;183(3):1173-83.

[19] Van Den Eynde BJ, Gaugler B, Probst-Kepper M, Michaux L, Devuyst O, Lorge F, et *al.* A new antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human kidney tumor results from reverse strand transcription. J Exp Med. 1999;190(12):1793-800.

[20] Cox AL, Skipper J, Chen Y, Henderson RA, Darrow TL, Shabanowitz J, et *al.* Identification of a peptide recognized by five melanoma-specific human cytotoxic T cell lines. Science. 1994; 264(5159):716-9.

[21] Backert L, Kohlbacher O. Immunoinformatics and epitope prediction in the age of genomic medicine. Genome Med. 2015;7(1):119.

[22] Ayyoub M, Stevanovic S, Sahin U, Guillaume P, Servis C, Rimoldi D, et *al.* Proteasome-assisted identification of a SSX-2-derived epitope recognized by tumor-reactive CTL infiltrating metastatic melanoma. J Immunol. 2002;168(4):1717-22.

[23] Almeida LG, Sakabe NJ, deOliveira AR, Silva MC, Mundstein AS, Cohen T, et *al.* CTdatabase: a knowledge-base of high-throughput and curated data on cancer-testis antigens. Nucleic Acids Res. 2009;37(Database issue):D816-9.

[24] Melief CJ, van Hall T, Arens R, Ossendorp F, van der Burg SH. Therapeutic cancer vaccines. J Clin Invest. 2015;125(9):3401-12.

[25] Benlalam H, Labarrière N, Linard B, Derré L, Diez E, Pandolfino MC, et *al.* Comprehensive analysis of the frequency of recognition of melanoma-associated antigen (MAA) by CD8 melanoma infiltrating lymphocytes (TIL): implications for immunotherapy. Eur J Immunol. 2001;31(7):2007-15.

[26] Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, Kryukov GV, Cibulskis K, Sivachenko A, et *al.* Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. Nature. 2013; 499(7457):214-8.

[27] Snyder A, Makarov V, Merghoub T, Yuan J, Zaretsky JM, Desrichard A, et *al.* Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. N Engl J Med. 2014;371(23):2189-99.

[28] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et *al.* Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. Science. 2015;348(6230):124-8.

[29] Robbins PF, Lu YC, El-Gamil M, Li YF, Gross C, Gartner J, et *al.* Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells. Nat Med. 2013 ; 19(6):747-52.

[30] Linnemann C, van Buuren MM, Bies L, Verdegaal EM, Schotte R, Calis JJ, et *al.* High-throughput epitope discovery reveals frequent recognition of neo-antigens by CD4+ T cells in human melanoma. Nat Med. 2015;21(1):81-5.

[31] Cohen CJ, Gartner JJ, Horovitz-Fried M, Shamalov K, Trebska-McGowan K, Bliskovsky VV, et *al.* Isolation of neoantigen-specific T cells from tumor and peripheral lymphocytes. J Clin Invest. 2015;125(10):3981-91.

[32] Tran E, Ahmadzadeh M, Lu YC, Gros A, Turcotte S, Robbins PF, et *al.* Immunogenicity of somatic mutations in human gastrointestinal cancers. Science. 2015;350(6266):1387-90.

[33] Tran E, Turcotte S, Gros A, Robbins PF, Lu YC, Dudley ME, et *al.* Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4+ T cells in a patient with epithelial cancer. Science. 2014; 344(6184):641-5.

[34] Feldman SA, Assadipour Y, Kriley I, Goff SL, Rosenberg SA. Adoptive Cell Therapy-Tumor-Infiltrating Lymphocytes, T-Cell Receptors, and Chimeric Antigen Receptors. Semin Oncol. 2015;42(4):626-39.

[35] Obeid J, Hu Y, Slingluff CL Jr. Vaccines, Adjuvants, and Dendritic Cell Activators-Current Status and Future Challenges. Semin Oncol. 2015;42(4):549-61.

[36] Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, Yang JC, Sherry RM, Dudley ME, et *al.* Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. J Clin Oncol. 2011;29(7):917-24.

[37] Morgan RA, Chinnasamy N, Abate-Daga D, Gros A, Robbins PF, Zheng Z, et *al.* Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy. J Immunother. 2013;36(2):133-51.

[38] Linette GP, Stadtmauer EA, Maus MV, Rapoport AP, Levine BL, Emery L, et *al.* Cardiovascular toxicity and titin cross-reactivity of affinity-enhanced T cells in myeloma and melanoma. Blood. 2013;122(6):863-71.