

plasmique de la cellule tumorale, contribuant ainsi à la phagocytose des corps apoptotiques par les CD. Nous rapportons ici qu'un second stress prémortem, l'autophagie, doit être déclenché pour permettre l'émission de l'ATP dans le milieu extracellulaire, générateur du recrutement des cellules présentatrices d'antigènes et de l'activation de l'inflammasome des CD pour la sécrétion d'IL-1 β et la polarisation des lymphocytes T effecteurs. L'architecture de la tumeur se modifie après chimiothérapie efficace, permettant l'accumulation intratumorale séquentielle d'acteurs de l'immunité innée et acquise qui agiront de concert pour l'élimination des cellules tumorales. Ces résultats permettent de générer de nouveaux facteurs prédictifs de réponse aux anthracyclines et de nouvelles stratégies d'immuno-chimiothérapie.

SUMMARY

Most anticancer agents are thought to act through direct induction of tumoral, stromal and endothelial cell death by apoptosis or necrosis. In a 2008 issue of Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, we described an alternative (or complementary) theory whereby the immune system participates in the antitumoral effects of some chemotherapy or radiotherapy regimens by promoting an immunogenic cell death pathway. In particular, we showed the critical importance of two pre-mortem stressors that determine the immunogenicity of dying tumor cells. The first, an ER stress response culminating in calreticuline exposure at the tumor cell surface, is mandatory for the uptake and efficient phagocytosis of apoptotic bodies by dendritic cells. In the second, autophagy leads to the release of ATP by dying tumor cells, resulting in the recruitment of inflammatory phagocytes and antigen-presenting cells, and also triggering the inflammasome that causes IL-1 β release and CD8⁺ T cell polarization. The tumor microenvironment changes following chemotherapy, favoring sequential accumulation of a series of innate and cognate effectors that act in a coordinated fashion to promote tumor eradication. These findings will help to identify immune predictors of the response to conventional anticancer treatments and to design innovative combinatorial immunochemotherapy regimens.

INTRODUCTION

Mort cellulaire par chimiothérapie : immunité ou tolérance ?

Le travail de notre équipe ces huit dernières années a permis de démontrer la contribution du système immunitaire à l'efficacité de certaines chimiothérapies ou radiothérapies.

Dans divers modèles de tumeurs transplantées (sarcomes, cancers mammaires, cancers coliques, thymomes, ostéosarcomes) dans divers fonds génétiques de souris mais aussi dans des modèles de sarcomes spontanés induits par le méthylcholanthrène, nous avons montré que l'absence de lymphocytes (plus particulièrement les T $\alpha\beta^+$ CD4⁺, CD8⁺ ou les T $\gamma\delta^+$) abolit l'efficacité des traitements cytotoxiques. Les cytokines de l'immunité innée (comme IL-17, IL-1 β et leurs récepteurs respectifs IL-17RA, IL-1R1) et de l'immunité acquise (IFN γ , IFNARII) sont indispensables au succès des cytotoxiques anti-tumoraux [1, 2]. De plus, l'analyse cinétique par

cytofluorométrie des infiltrats tumoraux post-chimiothérapie met en évidence d'abord un recrutement de lymphocytes T $\gamma\delta$ producteurs d'IL-17, puis l'accumulation de lymphocytes T CD8+ producteurs d'IFN γ et à moindre niveau, de lymphocytes T CD4+ producteurs d'IFN γ [2].

Quels cytotoxiques induisent une réponse immunitaire *in vivo* ?

Une recherche à large échelle aléatoire de tous les composés cytotoxiques a révélé que seules, certaines chimiothérapies comme les anthracyclines, le cyclophosphamide, l'oxaliplatine ainsi que les rayons X, peuvent provoquer cet afflux de lymphocytes intratumoraux et une mort immunogène. Ces composés ont la propriété de déclencher les stress prémortem appropriés pour rendre la cellule tumorale « immunogène » (notamment le stress du réticulum endoplasmique et l'autophagie, voir ci-dessous).

Stress du réticulum endoplasmique et immunogénicité de la mort

Une des conditions majeures, pour l'induction d'une réponse immunitaire anti-tumorale, est la capacité de certaines cellules du système immunitaire inné à phagocyter les cellules tumorales, puis à apprêter et à présenter les antigènes tumoraux à des lymphocytes T naïfs. Notre équipe a contribué à mettre en évidence le premier signal indispensable à la reconnaissance de la phagocytose des cellules tumorales mourantes par les CD. Celui-ci est l'exposition, à la surface de la membrane plasmique, d'une protéine du réticulum endoplasmique, la calréticuline (CRT), dans les heures suivant le stress chimiothérapeutique [3, 4]. L'exposition de la CRT en surface résulte d'une cascade d'événements intracellulaires appelés « stress du réticulum endoplasmique » [5]. La CRT est retrouvée à la surface de cellules mourantes et est caractéristique de la mort cellulaire immunogène. Un de nos résultats les plus surprenants est qu'une chimiothérapie non immunogène comme l'étoposide (incapable de provoquer la translocation de la calréticuline à la membrane) devient soudainement agent anti-tumoral très efficace lorsqu'elle est combinée à la CRT recombinante injectée en intra-tumorale. Ces effets synergiques (étoposide + CRT locale) disparaissent chez les souris immunodéficientes. [4].

Signal d'inflammation aseptique et engagement de TLR4 pour la mort immunogène

La phagocytose des corps apoptotiques exposant la CRT par les CD est nécessaire mais non suffisante pour expliquer l'immunogénicité de la mort cellulaire engendrée par les chimiothérapies. Un second signal d'apoptose tardive est aussi fondamental : le relargage d'HMGB1 (High mobility group box 1 protein), un facteur nucléaire, n'appartenant pas au groupe des histones. L'HMGB-1 est relargué dans le milieu extracellulaire dans les phases tardives de l'apoptose ou nécrose, pour se fixer sur le récepteur TLR4 (Toll-Like Receptor 4, récepteur des lipopolysaccharides) et déclencher une réponse inflammatoire au niveau des CD (dépendante de l'adaptateur Myd88). La signalisation des CD via TLR4 conduit à une rétention du

chargement phagocyté dans les endosomes tardifs, évitant une dégradation de ce contenu dans les lysosomes. Ainsi, l'apprêtement antigénique des CD compétentes pour la transduction de signal via TLR4 se fait de façon plus efficace qu'en l'absence de TLR4 ou Myd88. Le ligand de TLR4 est HMGB1 dans le contexte d'une chimiothérapie. Les cellules tumorales déficientes en HMGB1 perdent leur immunogénicité post-chimiothérapie. De plus, les patients porteurs d'un allèle muté de TLR4 (polymorphisme génétique — Asp299Gly — provoquant une perte de fixation du LPS ou de HMGB1 à TLR4) répondent moins efficacement à la chimiothérapie adjuvante dans le cancer du sein ou du colon [6, 7].

Inflammasome et immunité antitumorale

Nos travaux récents montrent que les modifications post-chimiothérapie engendrées par les stress *premortem* sont non seulement de nature biochimique/protéique (HMGB1/CRT) mais aussi de nature métabolique. En effet, le relargage d'ATP par la cellule tumorale mourante est également nécessaire pour l'activation des récepteurs purinergiques P2RX7 exprimés par les CD. L'activation des récepteurs P2RX7 déclenche une cascade d'événements majeurs, comme l'assemblage de l'inflammasome Nlrp3 qui active la caspase 1 permettant la libération de la cytokine inflammatoire IL-1 β . L'IL-1 β est une molécule co-activatrice des lymphocytes T cytotoxiques qui deviennent alors des sources importantes d'IFN γ . En l'absence d'un des éléments moléculaires de la plateforme de l'inflammasome (P2RX7, Nlrp3, ASC, caspase-1, IL-1 β /IL-1R1), l'immunogénicité des cellules tumorales mourantes est affectée et l'efficacité de la chimiothérapie anti-tumorale diminue très fortement [1]. De plus, les patientes porteuses d'un cancer mammaire et traitées en adjuvant par anthracyclines répondent moins efficacement à la chimiothérapie si elles sont porteuses d'un allèle muté (polymorphisme génétique provoquant une perte de fonctionnalité) de P2RX7 [1].

Ainsi, nos travaux ont mis en évidence trois signaux immunogènes majeurs : la CRT, exposée en surface des cellules mourantes ayant subi un stress du réticulum endoplasmique, l'HMGB-1, relargué par les cellules en nécrose tardive (post apoptose) et enfin l'ATP pour lequel les mécanismes conduisant à sa sécrétion post chimiothérapie immunogène restent inconnus. L'autophagie est un processus physiologique de survie cellulaire induit par la privation en nutriments du milieu, l'hypoxie, ou lors d'un stress métabolique. Ce processus consiste en une autodigestion lysosomale des composés cellulaires tels que les macromolécules, les ribosomes ou les organelles. Ce processus de défense est aussi utilisé pour lutter contre des infections bactériennes ; on parle alors de xénophagie. L'auto- ou la xéno-phagie sont des processus reliés au stress du réticulum endoplasmique [8], pouvant être induits par des chimiothérapies. Ce manuscrit va ainsi détailler la nécessité d'un autre stress, l'autophagie pour assurer une mort tumorale immunogène, à travers la sécrétion d'ATP.

RÉSULTATS

Pour étudier si la chimiothérapie provoque un mécanisme autophagique *in vivo*, nous avons analysé l'agrégation des autophagosomes à l'aide d'une lignée tumorale dérivée de CT26 (carcinome colorectale) exprimant une protéine fusion LC3-GFP. LC3 le marqueur communément utilisé pour visualiser la formation des autophagosomes pathognomoniques de l'autophagie. Ainsi, en post-chimiothérapie, on note la formation d'agrégats de LC3, témoignant de la capacité du traitement cytotoxique à déclencher l'activation de la machinerie autophagique *in vivo* (Figure 1A). Souhaitant analyser les perturbations biochimiques et moléculaires suite à l'autophagie, nous avons étudié les modifications de l'émission des signaux immunogènes par des lignées tumorales murines rendues incompetentes pour l'autophagie (en inactivant des gènes codant pour des protéines clés dans ce processus, notamment Atg5 et Atg7, par infection lentivirale recombinant les ARN inhibiteurs shARN des cibles moléculaires). Ces cellules seront nommées par la suite déficientes en autophagie, Atg5^{KD} ou Atg7^{KD}. Ainsi, les cellules CT26 control, Atg5^{KD} ou Atg7^{KD}, entrent en apoptose de façon similaire après traitement par chimiothérapie immunogène (Mitoxantrone, MTX ou Oxaliplatine, Oxa) [10]. De plus, ces cellules restent capables d'exposer la CRT à la membrane plasmique et relarguent HMGB-1. En revanche, la déficience en autophagie ne permet plus la sécrétion d'ATP. Ces données indiquent que l'induction de l'autophagie par la chimiothérapie est un processus essentiel à la sécrétion d'ATP. Ces résultats ont été corroborés par l'utilisation de cultures primaires fibroblastiques issus d'embryons murins (MEF) génétiquement déficients pour Atg5, 6, 7, ou 12 ou sauvages contrôles) et d'une lignée d'ostéosarcome humaine U2OS [10].

Le fait que la chimiothérapie provoque le relargage d'ATP *in vivo* au site tumoral a été étudié dans les animaux porteurs d'une tumeur génétiquement transfectée pour surexprimer un détecteur enzymatique d'ATP, la luciférase. La luminescence augmente 48 heures après l'exposition à la chimiothérapie *in vivo* au sein des tumeurs sauvages mais pas au sein des tumeurs CT26- Atg5^{KD} ou Atg7^{KD}, démontrant le lien cause-effet de l'autophagie et du relargage d'ATP *in situ* [10].

L'injection sous cutanée, sans aucun adjuvant, de la lignée tumorale MCA 205 (compétente pour l'autophagie) traitée par chimiothérapie induit une réponse immunitaire anti-tumorale protectrice, capable de prévenir la croissance de la même lignée, injectée vivante ultérieurement (Figure 1B). Cette protection est médiée par les lymphocytes T producteurs d'IFN γ , se traduisant par une infiltration massive de ces cellules au sein de la tumeur post traitement. Les cellules déficientes en autophagie ne sont quant à elles pas capables d'induire une telle réponse protectrice (Figure 1B). L'administration aux souris d'un inhibiteur des ecto-ATPases (enzymes dégradant l'ATP extracellulaire) tel que ARL67156 (ARL), est un moyen permettant d'augmenter artificiellement la concentration d'ATP extracellulaire et donc de compenser le défaut d'émission d'ATP par les cellules déficientes en autophagie. Lorsque l'ARL et les cellules déficientes en autophagie sont

co-administrés, la protection vaccinale est restaurée. Cette restauration peut être bloquée par l'administration d'antagonistes aux récepteurs purinergiques tels que l'ATP oxydé (oxy-ATP) ou la suramine, confirmant l'importance de la signalisation ATP/P2RX7. La reconnaissance de l'ATP par les CD via le récepteur purinergique P2RX7 permet, en complément du signal TLR4 apporté par HMGB-1 [6], la production d'IL-1 β , essentielle à l'élaboration de la réponse anti-tumorale après chimiothérapie [1]. Ainsi, l'administration d'IL-1 β , conjointement aux cellules déficientes en autophagie restaure également l'immunogénicité de ces dernières. L'ensemble de ces données indique que l'induction d'autophagie par la chimiothérapie est essentielle dans un protocole prophylactique pour élaborer une réponse immunitaire anti-tumorale protectrice.

Lorsque des souris porteuses de tumeurs sont traitées par chimiothérapie immunogène, celles-ci voient leur croissance tumorale contrôlée au cours du temps, de façon dépendante du système immunitaire [1, 2, 4, 6, 9, 10]. En effet, l'émission de signaux immunogènes et leur perception par le système immunitaire conduit au recrutement intra-tumoral de CD (CD11c⁺), au niveau des foyers d'apoptose (Caspase 3a⁺). Ceci est suivi du recrutement de lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ anti-tumoraux, producteurs d'IFN γ ainsi que de lymphocytes T $\gamma\delta$, producteurs d'IL-17. L'ensemble de ces cellules joue un rôle clé dans l'élaboration de la réponse anti-tumorale après chimiothérapie immunogène [1, 2, 4, 6, 9]. Nous avons ainsi étudié l'ensemble de ces paramètres après traitement en protocole thérapeutique de souris porteuses de tumeurs déficientes en autophagie [10]. Tout d'abord, les tumeurs ainsi déficientes ne sont plus contrôlées *in vivo* après chimiothérapie. Ceci s'explique par l'absence de recrutement de CD dans la tumeur (Figure 1D, panneau du haut), ainsi qu'à un défaut d'élaboration d'une réponse immune adaptative efficace, en d'autres termes un défaut de réponse lymphocytaire T CD4⁺, CD8⁺, et TcR $\gamma\delta$ ⁺, (sur la base de l'infiltration intra-tumorale de ces cellules et de la sécrétion d'IFN γ et d'IL-17, respectivement). Ainsi, les LT CD8⁺ (Figure 1C), mais aussi CD4⁺ et TcR $\gamma\delta$ ⁺ ne sont plus recrutés au sein des tumeurs déficientes en autophagie. L'administration d'ARL à des souris porteuses de tumeurs déficientes en autophagie élève au niveau local la concentration en ATP restaurant ainsi le contrôle de la croissance tumorale *in vivo*. Ceci se traduit par la restauration du recrutement intra-tumoral des CD CD11c⁺ (Figure 1D), suivi de l'induction de LT CD4⁺, CD8⁺ et de LT $\gamma\delta$, producteurs d'IFN γ et d'IL-17 respectivement (Figure 1E).

Collectivement, l'ensemble de nos données indique que l'induction d'autophagie par la chimiothérapie est essentielle à l'émission de l'ATP *in vivo*, l'un des trois signaux immunogènes clés de la mort cellulaire, et donc à l'élaboration d'une réponse immunitaire anti-tumorale efficace.

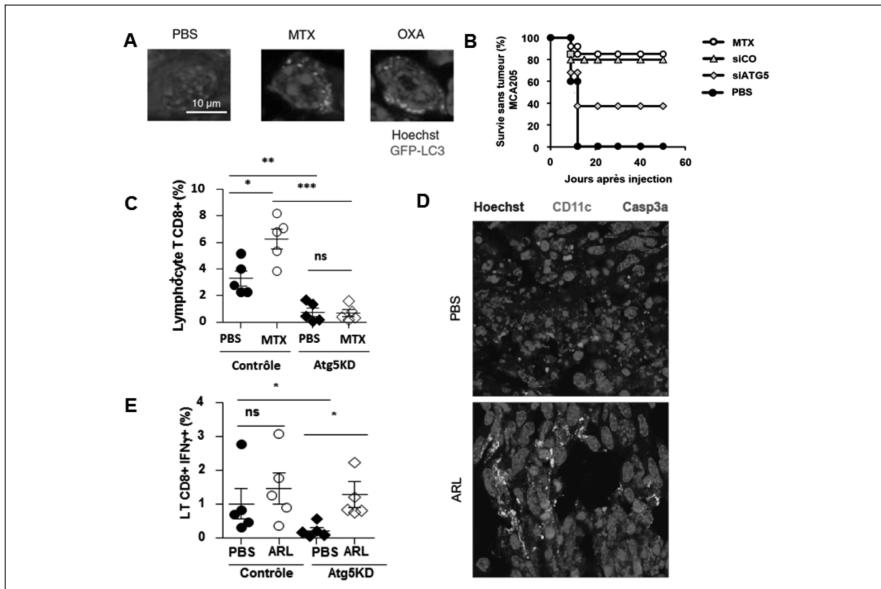


FIG. 1. — L'autophagie induite par la chimiothérapie est nécessaire à l'émission de l'ATP, qui constitue un signal immunogène clé nécessaire à l'élaboration d'une réponse anti-tumorale efficace. **A** — *La chimiothérapie induit l'autophagie in vivo* : tumeur CT26 exprimant la protéine fusion LC3-GFP. 48h post chimiothérapie (Mitoxantrone, MTX ou Oxaliplatine, OXA), les tumeurs provenant de souris traitées présentent des agrégats autophagiques révélés par la protéine LC3-GFP en microscopie. **B** — *l'autophagie est nécessaire à l'immunogénicité de la mort tumorale* : différentes lignées MCA205 transfectées par des siRNA contrôle (siCO) ou ciblant une protéine impliquée dans l'autophagie (si-Atg5), pré-incubées en présence de MTX (2 μ M) durant 24h, ont été inoculées à des souris C57Bl/6 (20/groupe). Sept jours plus tard, des cellules MCA205 sauvages ont été injectées à ces mêmes souris et la proportion de souris ne développant pas de tumeurs a été suivie au cours du temps. **C** — *l'autophagie est nécessaire au recrutement intra-tumoral des cellules immunitaires effectrices essentielles au contrôle de la tumeur in vivo* : Des souris porteuses de tumeurs contrôle ou Atg5^{KD}, ont été traitées par MTX. Seules les souris porteuses de tumeurs contrôles répondent à la chimiothérapie (croissance tumorale significativement réduite après traitement). L'infiltrat immunitaire intra-tumoral a été évalué par cytométrie en flux sept jours plus tard. La fréquence des lymphocytes T (LT) CD8⁺, cellules indispensables à l'efficacité de la chimiothérapie, est présentée. Ainsi, les tumeurs déficientes en autophagies perdent la capacité d'attirer ces cellules effectrices après traitement par MTX. **D-E** — *restauration du recrutement des cellules immunitaires par un inhibiteur d'ecto-ATPase, ARL* : l'injection intratumorale de l'enzyme ARL augmentant artificiellement le niveau d'ATP extracellulaire au sein des tumeurs Atg5^{KD} *in vivo*. L'élévation de l'ATP au sein de tumeurs déficientes en autophagie restaure l'efficacité de la chimiothérapie, se traduisant par la restauration de l'infiltration des CD CD11c⁺ au niveau des foyers apoptotiques Caspase3a⁺ (observation par immunofluorescence 48h post MTX) (**D**) ainsi que des LT CD8⁺ effecteurs producteurs d'IFN γ au sein des tumeurs post MTX (analyse par cytométrie en flux sept jours post MTX) (**E**).

DISCUSSION

L'autophagie est un processus dont le rôle est controversé dans les cancers [11]. Certaines études montrent notamment que les cellules tumorales expriment plus faiblement les protéines impliquées dans le processus d'autophagie (LC3, bécline-1). Une perte de fonction du gène codant pour bécline-1 (BECN1) favorise la tumorigénèse [12] alors qu'une surexpression de bécline-1 l'inhibe [13] suggérant que la déficience en autophagie joue un rôle dans le processus de transformation maligne. De plus, le gène BECN1 est muté dans 40 % des cancers de la prostate, 50 % des cancers du sein et dans 75 % des cancers ovariens [13, 14]. Le niveau d'expression de BECN1 est réduit dans d'autres cancers comme le cancer du côlon [15], du cerveau [16], et les carcinomes hépatocellulaires [17]. Ainsi, l'autophagie peut-elle être considéré comme un processus « suppresseur de tumeur » ou anti-oncogénique.

À l'inverse, l'autophagie est initialement un mécanisme assurant la survie cellulaire lors de stress environnementaux ou cellulaires (privation en nutriments, hypoxie, stress thérapeutique) et confère une certaine résistance aux thérapies antinéoplasiques [18]. Des études récentes ont en effet montré que l'inhibition de l'autophagie rendait les cellules tumorales plus sensibles aux agents cytotoxiques ainsi qu'à l'hormonothérapie et à la radiothérapie [19-24]. A l'inverse, l'induction de l'autophagie dans certains cancers résistants à l'apoptose, pourrait être une réelle solution thérapeutique afin de restaurer une mort tumorale [25-28].

Notre travail incite à rediscuter les indications de favoriser versus inhiber l'autophagie lors de la définition de la stratégie thérapeutique. Nous avons identifié ce processus comme étant majeur après traitement par chimiothérapie « immunogène » car il conduit à la production d'ATP, l'un des signaux essentiel permettant le recrutement des effecteurs de l'immunité anti-tumorale pendant le traitement. Si les patients sont amenés à recevoir une anthracycline, un alkylant, l'oxaliplatine ou des rayons X, l'autophagie doit être activée. En revanche, s'ils vont recevoir un cytotoxique provoquant une mort non immunogène (comme l'étoposide ou les taxanes), inhiber l'autophagie pourrait être salutaire pour accroître la mort tumorale. Ainsi les patients ayant un cancer présentant une déficience en autophagie pourraient certainement bénéficier de stratégies pharmacologiques visant à compenser les défauts d'émission d'ATP (Figure 2). Ainsi, au-delà du développement d'agents pouvant induire l'autophagie [29], l'élévation de la concentration locale d'ATP par l'administration d'inhibiteurs d'apyrase, peut-elle constituer une stratégie thérapeutique compensatoire ?

Par ailleurs, de nombreux travaux attestent de la surexpression tumorale d'enzymes dégradant l'ATP extracellulaire (CD39) ou transformant l'ADP ou AMP en adénosine immunosuppressive (CD73) [30]. Nos données non publiées montrent en effet que ces tumeurs sont résistantes à la mort immunogène et ne répondent pas durablement aux agents cytotoxiques par incapacité à recruter les effecteurs du système immunitaire.

CONCLUSIONS

Les résultats exposés dans ce travail soulignent le rôle majeur joué par le système immunitaire dans le traitement des pathologies tumorales par la chimiothérapie ou les nouveaux traitements ciblés. Compte tenu de ces éléments, il est certain que les futures stratégies thérapeutiques anticancéreuses, pour être optimales, devront prendre en compte non seulement les caractéristiques du produit, celles de la tumeur, mais aussi de l'hôte.

Il serait important de déterminer les caractéristiques immunologiques intrinsèques des composés cytotoxiques par des méthodes d'analyse à haut débit. L'utilisation de la lignée d'ostéosarcome humaine U2OS transfectée stablement avec les produits de fusion fluorescents LC3, CRT ou HMGB1 (GFP) permet de sélectionner les produits entraînant une mort immunogène, *ex vivo*. Ces informations permettront de mieux sélectionner les produits d'amont de l'industrie pharmaceutique et de mieux entrevoir leurs combinaisons avec des immunothérapies.

Il paraît possible de prédéterminer les caractéristiques immunologiques intrinsèques des cellules tumorales. Des tumeurs déficientes pour les molécules du stress du réticulum endoplasmique et/ou pour les mécanismes d'autophagie (ce qui est le cas de la plupart des tumeurs avancées), n'auront pas la capacité de relarguer les facteurs de danger nécessaires pour la mort immunogène. Une connaissance précise de leur capacité à relarguer HMGB1, à exposer la calréticuline à la membrane plasmique, à exposer les HSPs, à exercer l'agrégation des autophagosomes est envisageable par immunohistochimie. Ces éléments diagnostiques permettront de proposer des stratégies d'immunochimiothérapies ciblées (compensatoires) et adaptées. Ainsi un déficit en autophagie se compense-t-il par un inhibiteur des ecto-ATPases (Figure2).

La connaissance des caractéristiques immunogénétiques [31] des patients permettra de déterminer les polymorphismes et variations déterminantes pour la réponse thérapeutique et l'évolution, comme le polymorphisme de TLR4 dans le cancer du sein, de l'IL-10 dans le lymphome[32], de l'IL-18 dans le cancer de l'ovaire [33], ou du Fc γ R111A dans la réponse aux anticorps monoclonaux [34].

L'existence de mécanismes de tolérance ou d'immunosuppression liés à la tumeur (lymphocytes T régulateurs, cellules dendritiques myéloïdes immunosuppressives ou tolérogènes, sécrétion de TGF β , d'arginase, d'IL-10, expression de PD-1, Tim³, CTLA4) devra être contournée par l'utilisation d'anticorps neutralisants, par des immunostimulants (agonistes de TLR ou CD40, CD27), ou par des stratégies de déplétion lymphocytaire transitoire.

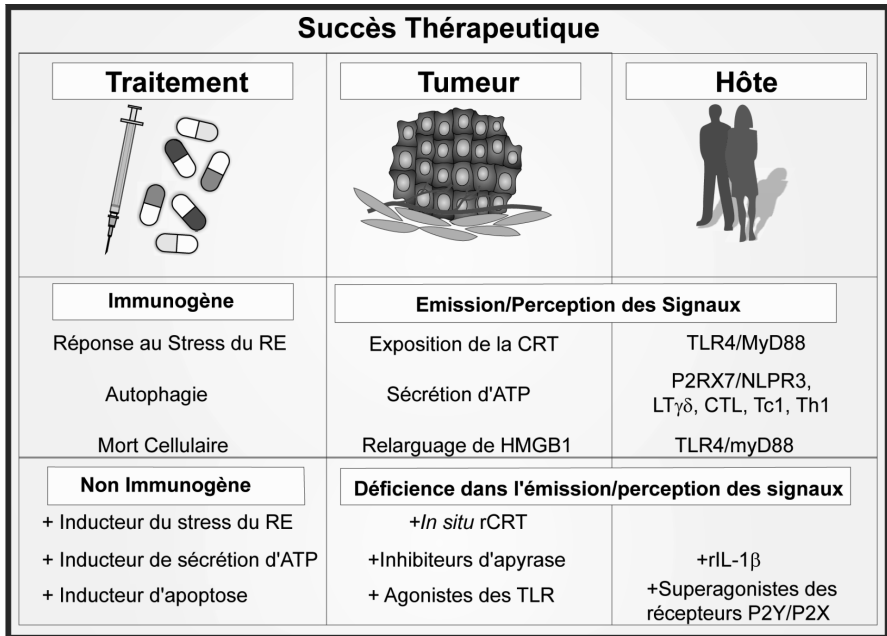


FIG. 2. — Vue schématique des traitements anti-cancéreux personnalisés :

Le succès thérapeutique dépend des propriétés intrinsèques du composé cytotoxique, de la tumeur et de l'hôte (le patient). Tout d'abord, le traitement doit induire une mort immunogène, et pour cela induire un stress du RE ainsi que l'autophagie et enfin la mort de la cellule cible. Ceci permet l'émission des signaux immunogènes par la tumeur (CRT, HMGB-1, ATP) sont perçus par l'immunité de l'hôte via des récepteurs (CD91, TLR4, P2RX7/NLRP3). Cette signalisation permet le recrutement et l'activation des cellules effectrices (CTL, LT γ δ) et à l'élimination des cellules tumorales. Pour garantir le succès thérapeutique, il faudrait développer des stratégies thérapeutiques compensatoires personnalisées. Tout d'abord, au niveau du traitement : combiner une chimiothérapie non immunogène avec un inducteur de stress du RE par exemple. Il faudrait déterminer les défauts éventuels d'émission d'un (ou plusieurs) des signaux immunogènes par la tumeur du patient. Par exemple, compenser un défaut d'exposition de la CRT au moyen de CRT recombinante, ou encore compenser un défaut d'émission d'HMGB-1 par l'ajout d'un agoniste du TLR4. De manière similaire, les mutations « perte de fonction » des récepteurs clés impliqués dans la reconnaissance des signaux immunogènes doivent être ciblées et compensées par exemple en ciblant une voie TLR alternative au TLR4, ou à l'aide de cytokines appropriées.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier les soutiens financiers indispensables à la réalisation de ce travail : l'INSERM, La Ligue contre le Cancer, l'ARC, la FRM, l'AIRC, l'INCa et le Cancéropole Ile de France.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] GHIRINGHELLI F., APETOH L., TESNIÈRE A. *et al.* — Activation of the NLRP3 inflammasome in dendritic cells induces IL-1beta-dependent adaptive immunity against tumors. *Nat. Med.*, 2009, 15(10), p. 1170-8.
- [2] MA Y., AYMERIC L., LOCHER C. *et al.* — Contribution of IL-17-producing gamma delta T cells to the efficacy of anticancer chemotherapy. *J. Exp. Med.*, 2011, 208(3), p. 491-503.
- [3] GARDAI S.J., MCPHILLIPS K.A., FRASCH S.C. *et al.* — Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell*, 2005, 123(2), p. 321-34.
- [4] OBEID M., TESNIÈRE A., GHIRINGHELLI F. *et al.* — Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nat. Med.*, 2007, 13(1), p. 54-61.
- [5] WEST M.A., WALLIN R.P., MATTHEWS S.P. *et al.* — Enhanced dendritic cell antigen capture via toll-like receptor-induced actin remodeling. *Science*, 2004, 305(5687), p. 1153-7.
- [6] APETOH L., GHIRINGHELLI F., TESNIÈRE A. *et al.* — Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat. Med.*, 2007, 13(9), p. 1050-9.
- [7] TESNIÈRE A., SCHLEMMER F., BOIGE V. *et al.* — Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin. *Oncogene*, 2010, 29(4), p. 482-91.
- [8] LEVINE B., MIZUSHIMA N., VIRGIN H.W. — Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*, 2011, 469(7330), p. 323-35.
- [9] CASARES N., PEQUIGNOT M.O., TESNIÈRE A. *et al.* — Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death. *J. Exp. Med.*, 2005, 202(12), p. 1691-701.
- [10] MICHAUD M., MARTINS I., SUKKURWALA A.Q. *et al.* — Autophagy-dependent anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice. *Science*, 2011, 334(6062), p. 1573-7.
- [11] DALBY K.N., TEKEDERELI I., LOPEZ-BERESTEIN G. *et al.* — Targeting the prodeath and prosurvival functions of autophagy as novel therapeutic strategies in cancer. *Autophagy*, 2010, 6(3), p. 322-9.
- [12] QU X., YU J., BHAGAT G. *et al.* — Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J. Clin. Invest.*, 2003, 112(12), p. 1809-20.
- [13] LIANG X.H., JACKSON S., SEAMAN M. *et al.* — Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*, 1999, 402(6762), p. 672-6.
- [14] AITA V.M., LIANG X.H., MURTY V.V. *et al.* — Cloning and genomic organization of beclin 1, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21. *Genomics*, 1999, 59(1), p. 59-65.
- [15] KONERI K., GOI T., HIRONO Y. *et al.* — Beclin 1 gene inhibits tumor growth in colon cancer cell lines. *Anticancer Res.*, 2007, 27(3B), p. 1453-7.
- [16] MIRACCO C., COSCI E., OLIVERI G. *et al.* — Protein and mRNA expression of autophagy gene Beclin 1 in human brain tumours. *Int. J. Oncol.*, 2007, 30(2), p. 429-36.
- [17] DANIEL F., LEGRAND A., PESSAYRE D. *et al.* — Beclin 1 mRNA strongly correlates with Bcl-XLmRNA expression in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Invest.*, 2007, 25(4), p. 226-31.
- [18] KONDO Y., KANZAWA, SAWAYA T. *et al.* — The role of autophagy in cancer development and response to therapy. *Nat. Rev. Cancer*, 2005, 5(9), p. 726-34.

- [19] AMARAVADI R.K., YU D., LUM J.J. *et al.* — Autophagy inhibition enhances therapy-induced apoptosis in a Myc-induced model of lymphoma. *J. Clin. Invest.*, 2007, 117(2), p. 326-36.
- [20] APEL A., HERR I., SCHWARZ H. *et al.* — Blocked autophagy sensitizes resistant carcinoma cells to radiation therapy. *Cancer Res.*, 2008, 68(5), p. 1485-94.
- [21] BOYA P., GONZALEZ-POLO R., CASARES N. *et al.* — Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol Cell Biol.*, 2005, 25(3), p. 1025-40.
- [22] KANZAWA T., GERMANO I.M., KOMATA T. *et al.* — Role of autophagy in temozolomide-induced cytotoxicity for malignant glioma cells. *Cell Death Differ.*, 2004, 11(4), p. 448-57.
- [23] PAGLIN S., HOLLISTER T., DELOHERY T. *et al.* — A novel response of cancer cells to radiation involves autophagy and formation of acidic vesicles. *Cancer Res.*, 2001, 61(2), p. 439-44.
- [24] QADIR M.A., KWOK B., DRAGOWSKA W.H. *et al.* — Macroautophagy inhibition sensitizes tamoxifen-resistant breast cancer cells and enhances mitochondrial depolarization. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2008, 112(3), p. 389-403.
- [25] AKAR U., OZPOLAT B., MEHTA K. *et al.* — Tissue transglutaminase inhibits autophagy in pancreatic cancer cells. *Mol Cancer Res.*, 2007, 5(3), p. 241-9.
- [26] MORETTI L., ATTIA A., KIM K.W. *et al.* — Crosstalk between Bak/Bax and mTOR signaling regulates radiation-induced autophagy. *Autophagy*, 2007, 3(2) p. 142-4.
- [27] SHIMIZU S., KANASEKI T., MIZUSHIMA T. *et al.* — Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes. *Nat. Cell Biol.*, 2004, 6(12), p. 1221-8.
- [28] XUE L., FLETCHER G.C., TOLKOVSKY A.M. — Autophagy is activated by apoptotic signalling in sympathetic neurons: an alternative mechanism of death execution. *Mol. Cell Neurosci.*, 1999, 14(3), p. 180-98.
- [29] FLEMING A., NODA T., YOSHIMORI T. *et al.* — Chemical modulators of autophagy as biological probes and potential therapeutics. *Nat. Chem. Biol.*, 2011, 7(1), p. 9-17.
- [30] STAGG J., SMYTH M.J. — Extracellular adenosine triphosphate and adenosine in cancer. *Oncogene*, 2010, 29(39), p. 5346-58.
- [31] TSUNG A., SAHAI R., TANAKA H. *et al.* — The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J. Exp. Med.*, 2005, 201(7), p. 1135-43.
- [32] LECH-MARANDA E., BASEGGIO L., BIENVENU J. *et al.* — Interleukin-10 gene promoter polymorphisms influence the clinical outcome of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*, 2004, 103(9), p. 3529-34.
- [33] BUSHLEY A.W., FERRELL R., MCDUFFIE K. *et al.* — Polymorphisms of interleukin (IL)-1alpha, IL-1beta, IL-6, IL-10, and IL-18 and the risk of ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.*, 2004, 95(3), p. 672-9.
- [34] NIMMERJAHN F., RAVETCH J.V. — Antibodies, Fc receptors and cancer. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007, 19(2), p. 239-45.