

COMMUNICATION

Mélanome — Thérapeutique immunitaire : l'immunothérapie cellulaire et vaccinale

MOTS-CLÉS : MÉLANOME. LYMPHOCYTE T. VACCINATION. IMMUNOTHÉRAPIE ADOPTIVE. MICROENVIRONNEMENT CELLULAIRE

Melanoma: Cellular and vaccinal immunotherapy

KEY-WORDS (Index medicus): MELANOMA T-LYMPHOCYTES. IMMUNOTHERAPY, ADOPTIVE. CELLULAR MICROENVIRONMENT

Brigitte DRÉNO^{*,**}, Amir KHAMMARI^{*,**}, Anne Chantal KNOL^{*,**},
Nathalie LABARRIÈRE

Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en relation avec le contenu de l'article.

RÉSUMÉ

Le mélanome est une tumeur où le système immunitaire de l'individu joue un rôle central, expliquant l'intérêt des approches thérapeutiques par thérapie cellulaire (TILs : Tumor Infil-trating Lymphocytes) et par vaccin. L'identification des antigènes du mélanome a également été une étape importante pour le développement de ces thérapeutiques immunitaires. Le point fort de ces traitements est de permettre d'obtenir des réponses de longue durée sur plusieurs années. Leur faiblesse est de n'induire qu'un pourcentage faible de réponse jusqu' à ce jour. Récemment a été identifié le rôle crucial du micro-environnement, que les cellules mélaniques rendent immunotolérant inhibant ainsi l'efficacité des lymphocytes T cytotoxiques activés par les thérapeutiques immunitaires. Connaître les mécanismes responsables de cet état d'immunotolérance est donc un enjeu crucial aujourd'hui. Dans ce contexte, les stratégies thérapeutiques actuelles reposent sur des approches adjuvantes, utilisées à un stade plus précoce de la maladie. Au stade métastatique, les stratégies reposent notamment sur la destruction des lymphocytes T régulateurs par des lymphodéplétions réalisées préalablement aux immunothérapies, la sélection d'antigènes de mélanome induisant les meilleures réponses lymphocytaires cytotoxiques, des traitements combinés avec des

* Dermato Cancérologie, CHU Nantes

** Unité INSERM U 892

Tirés à part : Professeur Brigitte DRÉNO, Service de Dermato Cancérologie, CHU Hôtel-Dieu, 1 Place Alexis Ricordeau — 44035 Nantes Cedex 01 ; e-mail : brigitte.dreno@wanadoo.fr

Article reçu et accepté le 10 février 2014

anticorps monoclonaux bloquant les molécules inhibitrices de l'activation lymphocytaires T. En conclusion, les thérapeutiques immunitaires dans le mélanome s'orientent vers une utilisation en situation adjuvante au stade précoce de la maladie, et en traitement combiné au stade métastatique en sélectionnant les antigènes de mélanome les plus immunogènes associés à des stimulants de l'immunité innée du micro-environnement tumoral. Mettre en évidence des marqueurs prédictifs de ces thérapeutiques immunitaires permettant de sélectionner les patients répondeurs « potentiels » est aussi un enjeu essentiel.

SUMMARY

Melanoma is a malignancy in which the immune system plays a central role, thus explaining the effectiveness of therapeutic vaccination and cellular immunotherapy with tumor-infiltrating lymphocytes. The identification of specific melanoma antigens was an important step in the development of these new approaches. These treatments are capable of yielding tumor responses that last several years, but the response rate is currently inadequate. The crucial role of the tumor microenvironment has recently been shown: melanoma cells render their immediate environment immunotolerant, undermining the effectiveness of stimulated cytotoxic T lymphocytes. The mechanisms responsible for this state of immune tolerance are a major focus of research. Current therapeutic strategies are based on early adjuvant approaches, destruction of regulatory T cells by lymphodepletion prior to immunotherapy, selection of the melanoma antigens inducing the best cytotoxic T cell responses, and combining cellular therapy with monoclonal antibodies that block molecules inhibiting T lymphocyte activation. Immune therapy for melanoma is thus moving towards adjuvant strategies for early-stage disease and combined treatments for metastatic melanoma. It is also important to identify markers that can be used to predict which patients will respond to a given treatment.

INTRODUCTION

Le mélanome est une des tumeurs malignes pour laquelle le système immunitaire joue un rôle crucial dans le contrôle de l'évolution de la maladie. Dès 1922 [1], il était suggéré l'existence d'une corrélation entre l'importance de l'infiltrat lymphocytaire T au sein de la tumeur mélanique et la survie globale du patient. Des cas de régression spontanée de tumeur primitive ou de métastases cutanées ont également été rapportés. Enfin, le vitiligo peut être associé à une évolution résolutive du mélanome. Parallèlement, le mélanome est une tumeur pour laquelle plus d'une trentaine d'antigènes ont été identifiés permettant ainsi le développement des approches par vaccination. La disponibilité de lignées tumorales et de clones cellulaires T ont été aussi un point essentiel pour le développement de ces approches thérapeutiques immunitaires. L'immunothérapie cellulaire anti-tumorale fait appel à deux mécanismes :

- *l'immunothérapie cellulaire adoptive*, consistant à injecter au patient des lymphocytes T autologues issus de sa tumeur ou de son sang après les avoir amplifiés *in vitro* pour en obtenir plusieurs milliards (TILs polyclonaux, lymphocytes T sélectionnés, Clones T)

- *l'immunothérapie active*, représentée par la vaccination qui vise à induire directement chez le patient une réponse immunitaire T spécifique d'antigènes de mélanome, en injectant ces antigènes sous des formes variables (protéine recombinante, DNA, peptides, cellules dendritiques chargées).

LES DIFFÉRENTES MÉTHODES D'IMMUNOTHÉRAPIE CELLULAIRE

Les approches par immunothérapie cellulaire se sont beaucoup diversifiées durant ces dernières années.

L'immunothérapie cellulaire adoptive

Elle comprend 3 types de méthode de production :

Les lymphocytes infiltrant la tumeur ou TILs

Développée au cours des années 1980 [2] sur la base des travaux de Stephan Rosenberg, l'immunothérapie cellulaire adoptive consiste à générer et amplifier *ex vivo*, des populations lymphocytaires infiltrant la tumeur ou TILs. Ces lymphocytes, isolés à partir des fragments de la tumeur du patient, sont amplifiés *in vitro* en grandes quantités puis réinjectés au patient, en association avec des injections d'IL-2. Ces TILs deviennent activés seulement lorsque leur récepteur T reconnaît un peptide spécifique présenté dans un contexte HLA par une cellule dendritique ou une cellule mélanique. Les critères d'une expansion de TILs de qualité sont : une culture de courte durée, des télomères longs et une expression de l'antigène CD27 par les TILs.

Les clones lymphocytaires T

Dans le mélanome, de nombreux antigènes tumoraux sont connus et peuvent être sélectionnés comme cibles pour l'immunothérapie adoptive (Melan-A, NY-SO1, MAGE...). Un des avantages de l'immunothérapie cellulaire est de pouvoir sélectionner les lymphocytes T les plus réactifs vis-à-vis d'un ou plusieurs antigènes de mélanome, puis de les amplifier pour les réinjecter aux patients : ce sont les clones lymphocytaires T. L'antigène Melan-A, qui appartient à la famille des antigènes de différenciation mélanocytaire, constitue ainsi une cible antigénique idéale, en raison de sa forte immunogénicité et de son haut niveau d'expression par les cellules mélaniques.

Les lymphocytes T modifiés

Une autre approche de l'immunothérapie adoptive consiste à injecter des lymphocytes T sélectionnés à l'aide de récepteurs T modifiés génétiquement. Un gène codant pour un récepteurs T reconnaissant un antigène de mélanome est ainsi

introduit dans des lymphocytes prélevés par prélèvement sanguin. L'avantage majeur est de pouvoir utiliser des lymphocytes T du sang périphérique [3]. Aujourd'hui la génération de lymphocytes T avec des récepteurs antigéniques chimériques CARs (Chimeric Antigen Receptors) pourrait être une alternative. Ils ont l'avantage de ne pas être HLA restreints. Ils sont la résultante de la fusion entre le domaine intracellulaire du TCR (CD₃ et CD28) avec le domaine de liaison extracellulaire d'un fragment isolé d'une chaîne variable d'un anticorps qui reconnaît un antigène de mélanome. Ils associent ainsi la spécificité d'un anticorps et l'activité cytotoxique d'un lymphocyte T. Mais les antigènes reconnus par des lymphocytes T CAR doivent être exprimés à la surface de la cellule tumorale, à la différence des lymphocytes T transduits qui peuvent reconnaître des antigènes intra ou extracellulaires comme gp 100 et MART-1 dans un contexte HLA spécifique [4].

Les multimères sécurisés

Cette approche thérapeutique vise à obtenir des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'antigènes de mélanome en utilisant une autre technique que celle des clones T ou des lymphocytes T modifiés. La sous-population des lymphocytes T spécifiques de l'antigène choisi, est ainsi sélectionnée par une technique de séparation immunomagnétique par billes, recouvertes de multimères de HLA classe I spécifiques du peptide antigénique choisi. [5]. La technologie des multimères MHC-peptides représente une avancée très importante dans le domaine de l'immunothérapie adoptive des mélanomes par sa rapidité, sa spécificité et le fait que le tri puisse être réalisé à partir du sang périphérique du patient évitant ainsi la biopsie du site métastatique, ce qui est un avantage très important.

La vaccination

Différentes approches sont aussi proposées pour la vaccination comme pour l'immunothérapie adaptative.

Cellules tumorales modifiées

À l'origine, ce traitement était fondé sur l'utilisation de cellules tumorales autologues ou allogéniques inactivées par irradiation. Le principe du vaccin consiste à injecter au malade par voie sous-cutanée ou intradermique des cellules tumorales autologues irradiées dont les fonctions immunitaires ont été modifiées pour les rendre vulnérables aux lymphocytes T cytotoxiques.

Cellules dendritiques

Des outils plus récents ont permis l'élaboration de stratégies plus complexes, telles que la vaccination par cellules dendritiques autologues chargées d'antigènes tumoraux sous la forme de peptides ou de préparations cellulaires globales (lysats

tumoraux ou corps apoptotiques). L'utilisation des cellules dendritiques dans un but de vaccination dans le mélanome repose sur la constatation que ces cellules sont d'excellentes cellules présentatrices d'antigènes. Elles sont ainsi capables d'internaliser un ou plusieurs antigènes et de les présenter aux lymphocytes T [6]. Afin d'améliorer la présentation antigénique des cellules dendritiques, on peut induire une fusion entre les cellules dendritiques et les cellules tumorales, ou encore transférer les cellules dendritiques avec l'ARN des cellules tumorales.

Dendritomes

Une autre approche est représentée par les cellules hybrides, fusion d'une cellule tumorale et d'une cellule présentatrice d'antigènes.

Peptides

Depuis le clonage de MAGE-1 en 1991, premier antigène de tumeur identifié comme pouvant être reconnu par les lymphocytes T, de nombreux autres antigènes ont été caractérisés. Des peptides obtenus à partir de ces antigènes de mélanome peuvent être présentés par les molécules du CMH et induire une réponse immunitaire. Les peptides utilisés actuellement proviennent essentiellement de protéines mélaniques mutées ou surexprimées ou de protéines de différenciation qui se lient essentiellement à la molécule HLA-A*02, présente chez 50 % des patients caucasiens [7]. Les inconvénients de la vaccination peptidique reposent sur l'instabilité des peptides, la nécessité de réaliser le typage HLA du patient et celle de connaître le profil antigénique de la tumeur.

Protéines recombinantes

Obtenues par clonage du gène au sein d'un plasmide, ces protéines ont l'avantage d'éliminer la contrainte du groupe HLA. Une protéine recombinante est essentiellement à l'étude en clinique, « MAGE-3 » qui n'est pas exprimée par les cellules normales mais par 60 % des mélanomes métastatiques [8].

LES RÉSULTATS CLINIQUES AU STADE MÉTASTATIQUE

Vaccination et immunothérapie adoptive aux stades métastatiques utilisées seules

À ce jour, chez les patients au stade métastatique, les essais cliniques par vaccination peptidique, cellules tumorales modifiées, cellules dendritiques (quel que soit la méthode de chargement), protéines recombinantes n'ont rapporté aucun résultat significatif, avec un taux de réponse aux alentours de 5 % [9]. Cependant, ces études ont montré que la vaccination anti tumorale était non toxique à court et moyen terme et qu'elle permettait d'induire une réponse immunologique. Une première étude de phase III, randomisée, dacarbazine versus cellules dendritiques chargées

avec des peptides chez des patients au stade métastatique a été réalisée, mais n'a pas montré de différence significative sur la survie globale et la survie sans rechute [10]. Une deuxième étude gp 100 + Interleukine 2 versus Interleukine 2 a montré une augmentation de la survie globale dans le bras gp100 + interleukine2 (17,6 mois) versus le bras interleukine 2 (11,1 mois) mais sans atteindre la significativité ($p = 0,06$) [11].

L'immunothérapie adoptive par TILs polyclonaux, injectés seuls, a démontré des taux de réponse clinique objectifs élevés de 34 % mais ces réponses sont le plus souvent de courte durée, 3 à 4 mois [12].

Ces résultats décevants ont amené beaucoup de doute sur l'intérêt de ces approches thérapeutiques immunitaires jusqu'à ce que les mécanismes d'immunotolérance du mélanome commencent à être compris amenant alors de nouveaux espoirs par une utilisation différente de ces traitements immunitaires.

L'IMMUNOTOLÉRANCE DU MICRO-ENVIRONNEMENT TUMORAL

Les mécanismes de l'échappement thérapeutique du mélanome à ces thérapeutiques immunitaires commencent à être identifiés représentant un tournant très important pour l'immunothérapie du mélanome. Il a été ainsi montré que les lymphocytes T activés cytotoxiques pénétraient bien jusqu'au site tumoral métastatique induisant une réaction inflammatoire locale aboutissant à une destruction tumorale partielle. Mais il a été aussi démontré que cette « phase inflammatoire d'induction » était suivie d'une deuxième phase dite d'« inflammation chronique » au cours de laquelle se développe un état d'immunotolérance du micro environnement tumoral et notamment de l'immunité innée [13].

Les principaux mécanismes identifiés de cette immunotolérance à ce jour sont :

Propres à la cellule mélanique

- Disparition de l'expression à la surface des cellules mélaniques des antigènes HLA de classe I, II ;
- Altération des mécanismes de présentation des antigènes tumoraux (variants tumoraux) ;
- Internalisation des antigènes de mélanome disparaissant de la surface de la cellule mélanique ;
- Sécrétion de facteurs immunosuppresseurs tels qu'IDO, PGE2, TGF- β , IL-10, GM-CSF, Fas soluble ;
- Surexpression de molécules anti apoptotiques telles que BCL-2, FLIP.

Afflux de cellules T régulatrice Foxp3 au niveau du site métastatique. Ces cellules lymphocytaires T inhibent l'interaction TILs — cellules mélanocytaires notamment en sécrétant de l'IL-10 et du TGF β .

Afflux de cellules présentatrices d'antigènes immunosuppressives dans le microenvironnement tumoral, rendant les lymphocytes CD4/CD8 non fonctionnels : cellules myéloïdes suppressives, cellules dendritiques plasmocytoïdes, macrophages toléro-gènes.

Inhibition de l'activation des TILs par induction de l'expression à leur surface de molécules inhibant leur activation telles que CTLA-4, PD-1.

LES STRATÉGIES RÉCENTES DE CONTOURNEMENT DE CETTE IMMUNOTOLÉRANCE

Elles sont diverses, ce qui renforce leurs chances de succès.

La stratégie adjuvante

Le rationnel est basé sur une utilisation des thérapeutiques immunitaires avant l'apparition de l'immunotolérance en lien avec une inflammation chronique. Ainsi, pour l'immunothérapie adoptive, une étude clinique de phase II randomisée (TILs + IL-2 versus IL-2 seul) a évalué l'efficacité clinique de l'injection de TILs polyclonaux en situation adjuvante après un curage ganglionnaire chez des patients ayant un envahissement ganglionnaire loco régional. Elle a montré avec un suivi maintenant très long de 17 ans une différence significative à la fois sur la survie sans rechute ($p = 0,023$) et sur la survie globale ($p = 0,02$) mais aussi un lien entre une masse tumorale faible et une efficacité supérieure de l'immunothérapie adaptative [14].

Dans le domaine de la vaccination, un essai clinique randomisé en double aveugle en adjuvant a comparé la protéine recombinante MAGE-3 associé à un adjuvant à un placebo sur le même profil de patients. Cette étude a inclus 3917 patients. Les patients étaient sélectionnés sur l'expression de MAGE-3 (60 % des patients). Un marqueur prédictif tissulaire de la réponse thérapeutique a été identifié par PCR appelé « gene signature ». À ce jour, avec un suivi moyen de 2 ans, cette étude ne démontre pas de différence significative sur la survie sans rechute et la survie globale sur l'ensemble de la population. L'analyse en fonction de la « gene signature » est en cours.

La lymphodéplétion néo adjuvante

Le rationnel est basé sur la destruction des lymphocytes T régulateurs par la lymphodéplétion. Le groupe de Rosenberg a ainsi démontré une efficacité clinique des TILs injectés après une lymphodéplétion par chimiothérapie (Cyclophosphamide, Fludarabine) seule ou associée à une radiothérapie. Les réponses cliniques sont très importantes, entre 49 et 72 % corrélées à l'intensité de la lymphodéplétion ; Les durées de réponse sont longues, de l'ordre de 7 ans chez 40 % des patients [15]. Mais les effets secondaires sont sévères notamment en lien avec des réactivations EBV et limitent de ce fait l'utilisation de cette lymphodéplétion.

Sélection des antigènes les plus inducteurs de lymphocytes T réactifs

Il s'agit de l'utilisation de lymphocytes T amplifiés, spécifiques d'antigènes de mélanome identifiés comme très immunogènes. En effet, l'activité cytotoxique d'un lymphocyte T CD-8+ est très dépendante du type d'antigène de mélanome. C'est l'immunothérapie adoptive ciblée par clone T ou par lymphocytes T transduits, ou par lymphocytes T triés (tétramères). La majorité des études cliniques « antigène spécifique » par clone T dans le domaine du mélanome ont été réalisées avec les antigènes Melan-A/MART1 et gp100 avec un taux de réponse aux alentours de 30 % mais surtout des réponses de longue durée [16, 17]. Il s'y associe une expansion d'un répertoire lymphocytaire T qui est corrélé à la réponse clinique et apparaît précocement [16] ce qui en fait un marqueur prédictif potentiel de l'utilisation de ces clones T. Cependant il a été noté une destruction des mélanocytes normaux, de la peau et des yeux en lien avec des mécanismes d'auto immunité sévères [17]. Ces antigènes de différenciation sont en effet exprimés par les mélanocytes normaux, une corticothérapie générale est alors nécessaire. Une alternative peut être l'utilisation des antigènes « Cancer Testis » qui ne sont exprimés que par les cellules germinales testiculaires. Ce dernier a été utilisé dans le cadre de lymphocytes T transduits avec un TCR NYSO-1 avec 5 réponses cliniques sur 11 patients traités sans effet secondaire [18]. Les autres études cliniques utilisant des lymphocytes TCR transduits ont été réalisées d'une part avec l'antigène MART-1 associé à une lymphodéplétion préalable par cyclophosphamide et fludarabine avec un taux de réponse de 30 %, et d'autre part avec l'antigène anti-gp100 avec un taux de réponse de 19 % [19].

En dehors de la complexité technique, une limite importante à cette approche par clones T transduits ou non est la restriction HLA et la nécessité que l'antigène choisi soit exprimé par les cellules tumorales. Ainsi, NYSO-1 n'est exprimé que par 30 % des mélanomes. Les récepteurs chimériques pourraient être une alternative mais ils ne peuvent pas cibler des antigènes de mélanome intra cellulaires comme MART-1, gp 100. Actuellement la meilleure cible des lymphocytes T CAR semblent être les gangliosides GD2 et GD3. Des études cliniques sont en cours. Les effets secondaires restent à évaluer : fièvre, hypotension, insuffisance hépatique ont été rapportés dans d'autres indications.

Injection intra lésionnelle simultanée d'une cytokine pro inflammatoire

L'objectif de cette approche est de stimuler le micro environnement tumorale à l'aide d'une cytokine pro-inflammatoire telle que l'interféron, le TNF ou l'interleukine 2 afin de permettre aux TILs d'exercer leur fonction cytotoxique. Dans une étude phase I/II ouverte, réalisée récemment dans notre service, 12 patients atteints de mélanome au stade métastatique, ont reçu deux transferts de TIL associés à des injections intra-lésionnelles d'adénovirus interféron. Parmi 13 patients évaluables pour la réponse tumorale, 4 (31 %) ont eu une réponse objective globale dont deux complètes, et un une stabilisation de la maladie. Le taux de réponse était de 46 % pour les lésions injectées. Deux patients ont eu une réponse sur des métastases à distance de toute injection. La stimulation de l'immunité innée par l'adénovirus

exprimant l'interféron gamma semble capable d'inverser l'état de tolérance immunitaire tumoral, permettant ainsi aux TIL d'exercer leur activité cytotoxique.

Traitements combinés

Traitement combiné avec un anticorps monoclonal anti CTLA-4, anti PDL-1 ou anti PD-1. L'objectif est de maintenir ainsi une activation prolongée des TILs au niveau du site tumorale en bloquant l'expression des molécules inhibitrices de l'activation à la surface des lymphocytes T [20]. Une étude clinique est en cours combinant « TILs et ipilimumab ».

Traitement combiné avec un anti BRAF : Les réponses à un anti BRAF sont de courtes durées amenant à discuter de l'intérêt d'un traitement combiné avec les TILs. Il a ainsi été montré *in vitro* que le blocage de la voie MAP kinase facilitait la reconnaissance des cellules tumorales mutées BRAFV600 sans spécificité d'antigène par les TILs [21]. Par ailleurs, les TILs pourraient permettre de compléter l'action de l'anti BRAF sur les cellules mélaniques en ciblant les cellules BRAF non mutées [22], ce que semble confirmer les résultats de Donia M *et al.* [23].

En conclusion, les thérapeutiques immunitaires du mélanome sont en pleine évolution grâce d'une part à une meilleure connaissance des mécanismes d'immunotolérance du microenvironnement tumoral et d'autre part grâce à la mise au point de procédés techniques de production permettant de produire des lymphocytes T spécifiques vis-à-vis des antigènes de mélanome les plus immunogènes. Les thérapeutiques immunitaires ont en commun d'induire des réponses cliniques retardées pouvant apparaître 6 à 9 mois après le début du traitement. Mais ces réponses sont le plus souvent de très longues durées notamment au stade de rémission complète, permettant parfois de parler de guérison ce qui n'est pas le cas jusqu'à maintenant avec les thérapies ciblées. La cible métastatique « idéale » est celle des patients à évolution lente avec une masse tumorale faible à modérée. L'autre cible des thérapeutiques immunitaires en particulier de la vaccination est la situation adjuvante au stade d'envahissement ganglionnaire et peut être dans le futur au stade primitif. Son meilleur atout est une excellente tolérance. De manière très récente les traitements combinés associant TIL et anticorps monoclonaux ou inhibiteur de BRAF ou de MEK renforcent l'intérêt de ces thérapeutiques immunitaires. Enfin l'identification de marqueurs prédictifs de la réponse thérapeutique comme la « gene signature » avec MAGE-3 est un enjeu crucial car si les répondeurs sont moins nombreux avec les thérapeutiques immunitaires au stade métastatique, pouvoir les sélectionner renforcerait significativement la place de ces approches thérapeutiques à la fois sur un plan clinique et économique.

RÉFÉRENCES

- [1] MAC CARTY W.C. — Longevity in cancer: a study of 293 cases. *Ann. Surg.*, 1922 Jul, 76(1), 9-12.

- [2] ROSENBERG S.A., SPIESS P., LAFRENIERE R. — A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science*. 1986 Sep 19 ; 233(4770), 1318-21.
- [3] PARK T.S., ROSENBERG S.A., MORGAN R.A. — Treating cancer with genetically engineered T cells. *Trends Biotechnol.*, 2011 Nov., 29(11), 550-7.
- [4] BURNS W.R., ZHAO Y., FRANKEL T.L., HINRICHS C.S., ZHENG Z., XU H., et al. — A high molecular weight melanoma-associated antigen-specific chimeric antigen receptor redirects lymphocytes to target human melanomas. *Cancer Res.*, 2010, 70(8), 3027-33.
- [5] BOUQUÉ R., BONNIN A., BERNARDEAU K., KHAMMARI A., DRÉNO B., JOTEREAU F., et al. — A fast and efficient HLA multimer-based sorting procedure that induces little apoptosis to isolate clinical grade human tumor specific T lymphocytes. — *Cancer Immunol. Immunother.*, 2009, 58(4), 553-66.
- [6] ZHANG S., WANG Q., MIAO B. — Review: dendritic cell-based vaccine in the treatment of patients with advanced melanoma. *Cancer Biother Radiopharm.*, 2007, 22(4), 501-7.
- [7] MOCELLIN S. — Peptides in melanoma therapy. *Curr. Pharm. Des.*, 2012, 18(6), 820-31.
- [8] VAN BAREN N., BONNET M.C., DRÉNO B., KHAMMARI A., DORVAL T., PIPERNO-NEUMANN S., et al. — Tumoral and immunologic response after vaccination of melanoma patients with an ALVAC virus encoding MAGE antigens recognized by T cells. *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23(35), 9008-2.
- [9] SONDAK V.K., SABEL M.S., MULÉ J.J. — Allogeneic and autologous melanoma vaccines: where have we been and where are we going? *Clin. Cancer. Res.*, 2006, 12(7 Pt 2), 2337s-2341s.
- [10] SCHADENDORF D., UGUREL S., SCHULER-THURNER B., NESTLE F.O., ENK A., BRÖCKER E.B., et al. — Dacarbazine (DTIC) versus vaccination with autologous peptide-pulsed dendritic cells (DC) in first-line treatment of patients with metastatic melanoma: a randomized phase III trial of the DC study group of the DeCOG. *Ann. Oncol.* 2006, 17(4), 563-70.
- [11] SCHWARTZENTRUBER D.J., LAWSON D.H., RICHARDS J.M., CONRY R.M., MILLER D.M., TREISMAN J., et al. — gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma. *N. Engl. J. Med.*, 2011, 364(22), 2119-27.
- [12] ROSENBERG S.A., YANNELLI J.R., YANG J.C., TOPALIAN S.L., SCHWARTZENTRUBER D.J., WEBER J.S., et al. — Treatment of patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin 2. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1994, 86(15), 1159-66.
- [13] LANDSBERG J., KOHLMAYER J., RENN M., BALD T., ROGAVA M., CRON M., et al. — Melanomas resist T-cell therapy through inflammation-induced reversible dedifferentiation. *Nature*. 2012, 490(7420), 412-6
- [14] A. KHAMMARI, A.-C. KNOL, J.-M. NGUYEN, C. BOSSARD, M.-G. DENIS, M.-C. PANDOLFINO, et al. — Adoptive TIL Transfer in the Adjuvant Setting for Melanoma: Long-Term Patient Survival. *Journal of Immunology Research*. 2014, Article ID 186212.
- [15] DUDLEY M.E., YANG J.C., SHERRY R., HUGHES M.S., ROYAL R., KAMMULA U., et al. — Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. *J. Clin. Oncol.*, 2008, 26(32), 5233-9.
- [16] KHAMMARI A., LABARRIERE N., VIGNARD V., NGUYEN J.M., PANDOLFINO M.C., KNOL A.C., et al. — Treatment of metastatic melanoma with autologous Melan-A/MART-1-specific cytotoxic T lymphocyte clones. *J. Invest. Dermatol.*, 2009, 129(12), 2835-42.
- [17] JOHNSON L.A., MORGAN R.A., DUDLEY M.E., CASSARD L., YANG J.C., HUGHES M.S., et al. — Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood*. 2009, 114(3), 535-46.
- [18] HUNDER NN, WALLEN H, CAO J, HENDRICKS DW, REILLY JZ, RODMYRE R et al. Treatment of metastatic melanoma with autologous CD4+ T cells against NY-ESO-1. *Engl. J. Med.* 2008, 358(25), 2698-703.

- [19] JOHNSON L.A., MORGAN R.A., DUDLEY M.E., CASSARD L., YANG J.C., HUGHES M.S., et al. — Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood.*, 2009, 114(3), 535-46.
- [20] AHMADZADEH M., JOHNSON L.A., HEEMSKERK B., WUNDERLICH J.R., DUDLEY M.E., WHITE D.E., ROSENBERG S.A. — Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood.* 2009, 114(8), 1537-44.
- [21] KOYA R.C., MOK S., OTTE N., BLACKETOR K.J., COMIN-ANDUIX B., TUMEH P.C., et al. — BRAF inhibitor vemurafenib improves the antitumor activity of adoptive cell immunotherapy. *Cancer Res.*, 2012, 72(16), 3928-37.
- [22] VOSGANIAN G.S., BOS R., SHERMAN L.A. — Immunologic effects of an orally available BRAFV600E inhibitor in BRAF wild-type murine models. *J. Immunother.*, 2012, 35(6), 473-7.
- [23] DONIA M., FAGONE P., NICOLETTI F., ANDERSEN R.S., HØGDALL E., STRATEN P.T., et al. — BRAF inhibition improves tumor recognition by the immune system: Potential implications for combinatorial therapies against melanoma involving adoptive T-cell transfer. *Oncoimmunology.* 2012, 1(9), 1476-1483.

DISCUSSION

M. Jacques-Louis ROUËSSÉ

Y a-t-il une explication immunologique aux observations de mélanomes rétinien dont les métastases apparaissent souvent des années après le traitement de la tumeur primitive ?

Ce phénomène de métastases survenant des années après l'exérèse de la tumeur primitive, n'est pas propre au mélanome rétinien mais se retrouve avec les mélanomes cutanés. Il n'y pas de facteur immunologique spécifiques identifiés pour expliquer ce phénomène. Le seul point plus spécifique au mélanome rétinien est une activité N Killer qui serait diminuée en cas de métastase.

M. Pierre GODEAU

Vous avez signalé dans le micro-environnement de la cellule tumorale au sein des métastases la présence de VEGF. Les anti-VEGF ont-ils une place dans la stratégie thérapeutique ?

Effectivement les anti-VEGF pourraient avoir une place dans le traitement du mélanome métastatique. Des essais cliniques de phase I/II sont en cours avec quelques résultats encourageants (axitinib, bevacizumab). Leur intérêt pourrait être en traitement combiné, en les associant notamment aux anti-BRAF.

