

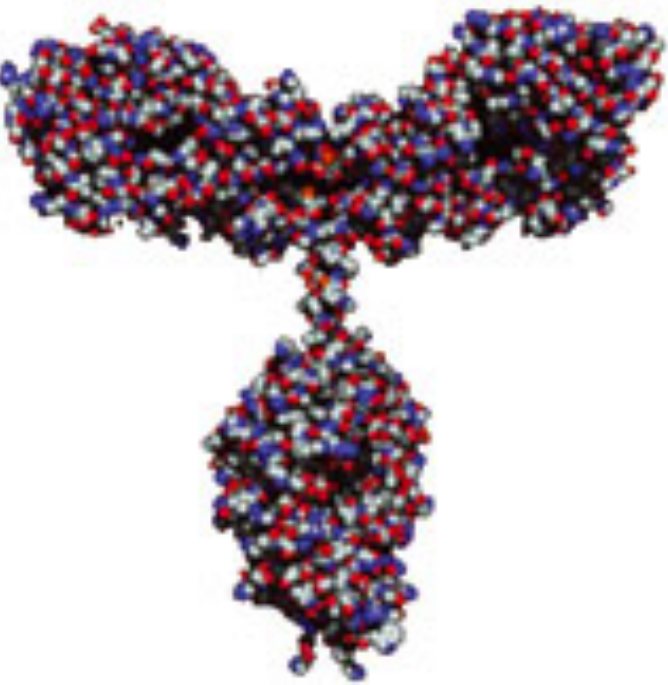
3èmes Journées pharmaceutiques du Gharb 13, 14 juin 2008.

14 - KENITRA — Le PONT sur le Sébou (longueur 312 mètres)



Edit. Sisy-Kenitra
Photo. Marcel Paul

Les anticorps monoclonaux en thérapeutique.



Pr Jamal TAOUFIK
Chef du département des
sciences du médicament

I- INTRODUCTION-HISTORIQUE:

Début du XXème siècle: utilisation des **anticorps** en sérothérapie ou en séroprophylaxie.

Von Behring découvre la protection conférée par les anticorps antidiphtériques.

Utilisation des **immunoglobulines** spécifiques animales dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses.

Abandon de cette immunothérapie:

- progrès de la Vaccination et de l'Antibiothérapie,
- survenue de la maladie sérique.

Vers 1960, utilisation d'anticorps hétérologues du sérum de cheval anti-lymphocytaire (SAL), dans la prévention et le traitement du rejet de greffe.

Tournant en 1975: découverte de la possibilité de produire, par hybridation cellulaire, des anticorps d'une seule spécificité, issus d'un clone de lymphocytes B immortalisés.

Naissance des **anticorps monoclonaux** murins.

Premières applications thérapeutiques en 1981 avec le **muromonab** utilisé dans le traitement des épisodes de rejet aigu en transplantation d'organes.

Parallèlement, les anticorps monoclonaux prirent une place très importante comme réactifs de laboratoire.

Le développement de la technologie des hybridomes et l'utilisation potentielle des anticorps monoclonaux en immunothérapie humaine: grand enthousiasme.

Mais au début, utilisation thérapeutique décevante et a nécessité des années de mise au point.

Inconvénients des premiers anticorps monoclonaux produits par des hybridomes murins:

- une demi-vie courte,
- immunogènes.

La xéno immunisation étant généralement neutralisante de l'activité spécifique de l'anticorps.

Les progrès de la biologie moléculaire, au cours des années 1980, ont permis la production d'abord **d'anticorps chimériques**, puis **d'anticorps humanisés** et enfin d'anticorps totalement **humains**.

Depuis, le développement et l'utilisation clinique de ces anticorps monoclonaux ont connu un essor spectaculaire.

II- DEFINITION:

La réponse immunitaire met en jeu un groupe protéines sériques ayant des propriétés générales semblables:

les **immunoglobulines**.

Lorsqu'elles lient une molécule ou une particule virale ou bactérienne, les **immunoglobulines** sont toutes désignées sous le nom **d'anticorps**, et l'entité reconnue est appelée **antigène**.

Tout anticorps est caractérisé par deux propriétés :

- capacité de lier spécifiquement un ou plusieurs ligands, et
- participation à une ou plusieurs fonctions effectrices (activation du complément, stimulation de la phagocytose, sécrétion d'amines vasoactives, ...)

L'anticorps joue un rôle essentiel dans la réponse immunitaire :

- c'est le récepteur, à la surface des lymphocytes B ou en solution dans le sérum,
- c'est le transmetteur ou l'activateur de signaux physiologiques.

Ces deux rôles sont tenus par des domaines distincts au sein de la molécule d'immunoglobuline.

III- STRUCTURE:

Les anticorps sont des glycoprotéines formées de deux catégories de chaînes polypeptidiques les chaînes légères (**L**) et les chaînes lourdes (**H**).

Le type de la chaîne lourde définit la classe et la sous-classe de l'immunoglobuline:

$\gamma 1$ pour Ig G1, α pour l'IgA, μ pour les IgM, δ pour les IgD et ε pour les IgE.

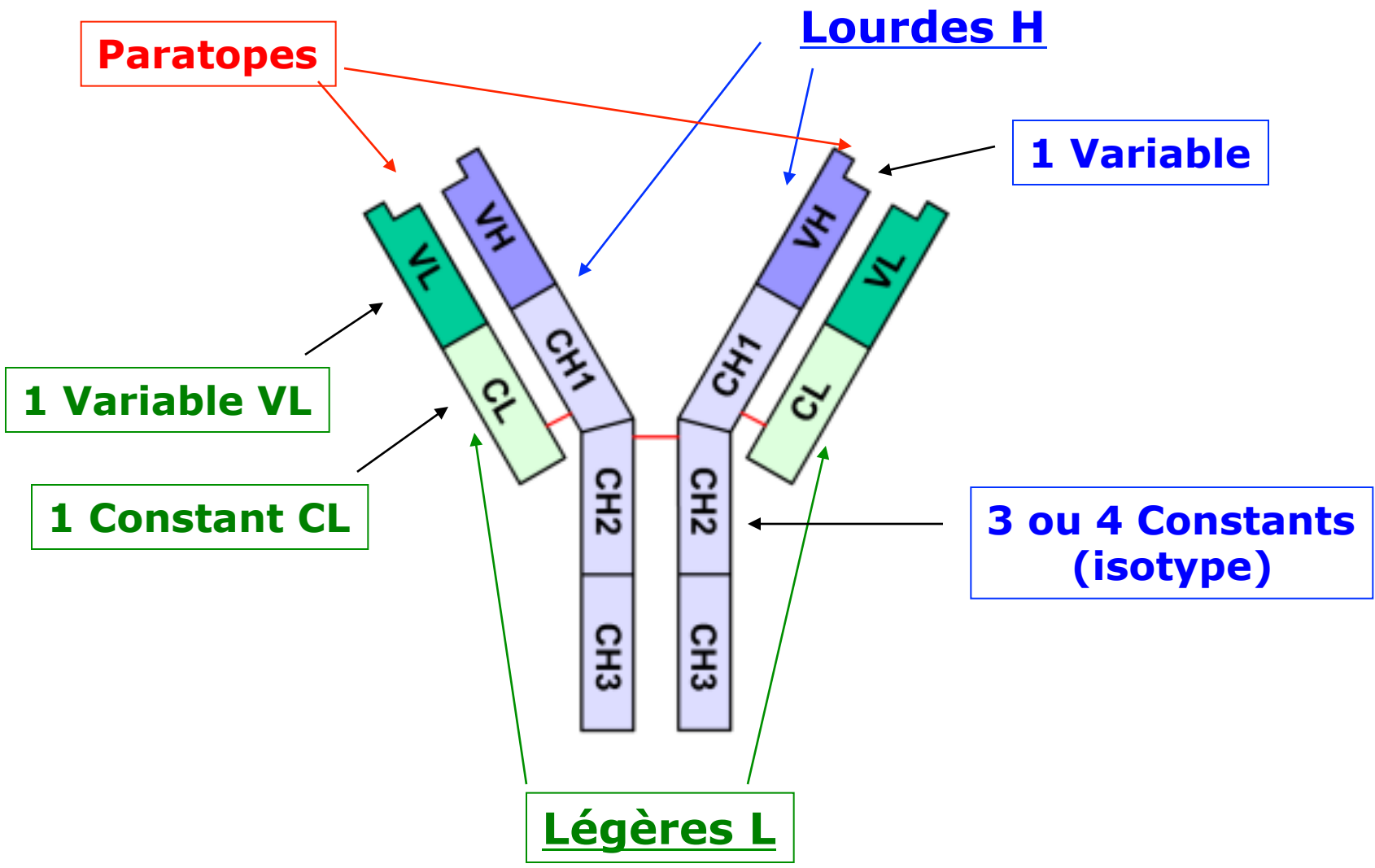
Ces molécules sont symétriques.

Les chaînes légères (**L**) κ et λ sont formées de deux domaines:

- un domaine variable **VL** (V_{κ} ou V_{λ}),
- un domaine constant **CL** (C_{κ} ou C_{λ}).

Les chaînes lourdes (**H**) comportent:

- un domaine N- Terminal variable (**VH**),
- 3 (δ γ α) ou 4 (μ ϵ) domaines constants (**CH**).



Domaines constants

Les domaines constants sont caractérisés par une séquence en acides aminés très proche d'un anticorps à l'autre, caractéristiques de l'espèce et de **l'isotype**.

Les domaines constants ne sont pas impliqués dans la reconnaissance de l'antigène, mais interviennent dans l'activation du système du complément.

Domaines variables

Un anticorps possède 4 domaines variables situés aux extrémités des deux bras.

L'association d'un domaine variable de chaîne lourde (VH) et d'un domaine variable adjacent de chaîne légère (VL) constitue le site de reconnaissance (ou **paratope**) de l'antigène.

Une molécule d'immunoglobuline possède deux sites identiques de liaison à l'antigène, d'où la possibilité de lier deux molécules d'antigène par anticorps.

Les **anticorps monoclonaux** sont des anticorps produits par un clone unique de lymphocytes B.

Ils sont conçus pour être mono spécifiques: ils reconnaissent un type unique de site antigénique, ils sont homogènes contrairement aux anticorps polyclonaux.

IV- OBTENTION:

A- ANTICORPS MURINS:

Les premiers anticorps monoclonaux développés étaient entièrement murins. Ils ont été produits par la technique des hybridomes qui consiste à former des hybrides entre les lymphocytes B de souris immunisées avec un antigène donné et des cellules de myélome murin.

Leur utilisation in vivo à des fins diagnostiques (imagerie) et thérapeutiques a été freinée par leur nature xanthogénique:

- faible fixation de ces anticorps sur les récepteurs Fc humains,
- immunogénicité, à l'origine de l'apparition d'anticorps anti-souris, responsable de la perte d'efficacité de ces anticorps.

B- ANTICORPS CHIMERIQUES ET HUMANISES:

L'élucidation de la structure en domaines des anticorps et l'évolution des technologies de biologie moléculaire ont permis de créer des anticorps chimériques humain-souris.

Ils ne comptent que la partie variable d'origine murine, la partie constante est d'origine humaine.

Leur production consiste à fusionner des gènes codant les régions variables d'un anticorps murin et les régions constantes d'une Ig humaine.

Ces chimères peuvent interagir avec les cellules humaines et conservent une spécificité et une affinité équivalentes à celle de l'anticorps murin parental. Cependant, elles comportent une partie importante de protéines murines (33%) ce qui peut induire une réponse immunitaire humaine anti-souris.

Des anticorps humanisés ont été produits. Ils contiennent seulement la petite partie variable murine composée des régions hypervariables ou CDR qui sont en contact étroit avec l'antigène. Ces CDR sont greffés dans la région variable d'une Ig humaine.

Ils induisent beaucoup moins de réponses immunes anti-souris que les précédents dont ils sont dérivés (7% par rapport à 20 à 40%).

Mais l'affinité de l'anticorps humanisé n'est pas toujours aussi élevée que l'anticorps d'origine.

La chimérisation et l'humanisation permettent de varier les isotypes des anticorps donc de manipuler les fonctions potentielles de l'anticorps (par exemple, la fixation du complément).

Un autre avantage: augmentation de la demi-vie de l'anticorps, qui passe de moins de 20 heures avec les anticorps murins à plusieurs jours, s'approchant des 21 jours des IgG humaines endogènes.

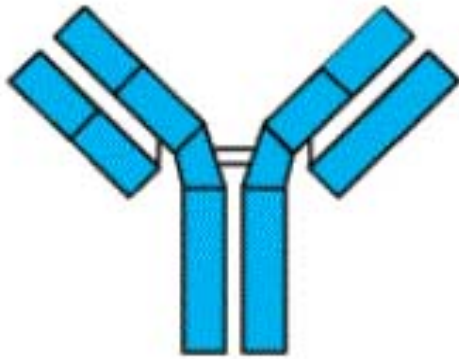
Ceci permet une meilleure utilisation de ces agents thérapeutiques.

C-ANTICORPS ENTIEREMENT HUMAINS:

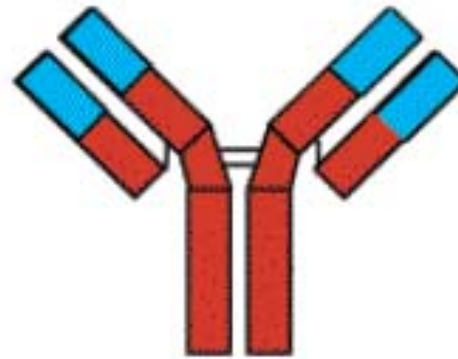
Des anticorps entièrement humains et biocompatibles sont cependant de plus en plus recherchés pour l'immunothérapie passive.

Trois grands types de technologies ont été mis au point pour les obtenir:

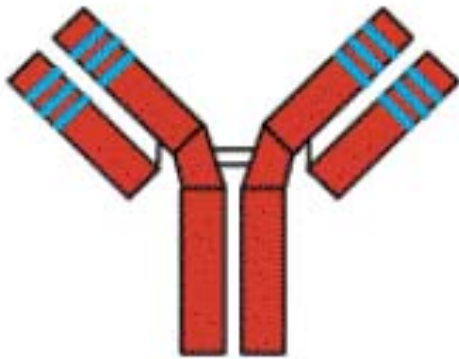
- Techniques d'hybridomes,
- Phage display,
- Souris transgénique.



Souris



Chimère



Humanisé



Humain

V- NOMENCLATURE:

Les anticorps monoclonaux utilisés en thérapeutique ont une DCI se terminant par le suffixe **MAB** (monoclonal antibody).
Selon leur nature, 4 générations:

Les Anticorps Murins: les premiers utilisés à partir de 1975, ils portent le suffixe **MOMAB**;

Les Anticorps chimériques homme/souris (1984) : constitués de domaines variables murins et de domaines constants humains.
Leur dénomination comprend la syllabe **XIMAB**.

Les Anticorps humanisés: développés entre 1988 et 1991. Ils sont constitués d'une Ig humaine possédant uniquement les parties hypervariables (CDR) murines et sont identifiés par la syllabe **ZUMAB**,

Les Anticorps entièrement humain (A partir de 1994) : développés grâce à la technologie d'expression des gènes des Ig humaines dans des phages. Ces anticorps portent le suffixe **MUMAB**.

VI- PHARMACOLOGIE:

Les anticorps monoclonaux sont des **immunoglobulines** (IgG) caractérisés par un poids moléculaire important (environ 150 000 daltons) comparé à celui des autres médicaments (en général inférieur à 1000 D).

Ils sont administrés par voie **intraveineuse** ou par voie **intramusculaire**.

A- MECANISME D'ACTION:

Les anticorps monoclonaux peuvent fonctionner selon trois principaux modes d'action :

- en **bloquant** l'action de molécules ou de récepteurs spécifiques,
- en **ciblant** des cellules spécifiques
- ou en fonctionnant comme des molécules de **signalisation**.

1- Blocage :

Les anticorps monoclonaux sont utilisés pour bloquer de façon spécifique, la fonction de **facteurs de croissance, cytokines** ou autres **médiateurs** solubles. Ce blocage se fait par liaison directe au facteur lui-même ou à son récepteur.

Exemple: les anticorps monoclonaux peuvent empêcher l'interaction et l'activation des cellules **immunes** par blocage de la liaison ligand récepteur, mécanisme qui permet d'expliquer l'activité thérapeutique de certains anticorps monoclonaux dans les maladies auto-immunes et inflammatoires. La liaison d'un anticorps peut aussi suffire pour neutraliser certaines **toxines** et certains **virus**.

2- Ciblage :

En oncologie, les anticorps monoclonaux sont utilisés pour cibler les cellules tumorales. Deux mécanismes existent :

2-1 Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) :

Cette cytotoxicité s'effectue par différentes cellules (monocytes, macrophages, cellules NK) capables de fixer la partie Fc de l'anticorps monoclonal.

La fixation du Fc sur son récepteur induit l'activation des cellules effectrices qui sécrètent dans la cellule cible diverses molécules cytotoxiques : perforines, granzymes ... provoquant sa lyse.

2-2 Cytotoxicité dépendante du complément au CDC :

La partie constante Fc des anticorps peut aussi activer les protéines du complément C1q, il en résulte la formation d'un complexe lytique responsable de la lyse cellulaire. La régulation de ce phénomène est liée aux protéines inhibitrices du complément en particulier CD35 ou CR1 (complement receptor type 1), CD55 ou DAF (decay accelerating factor).

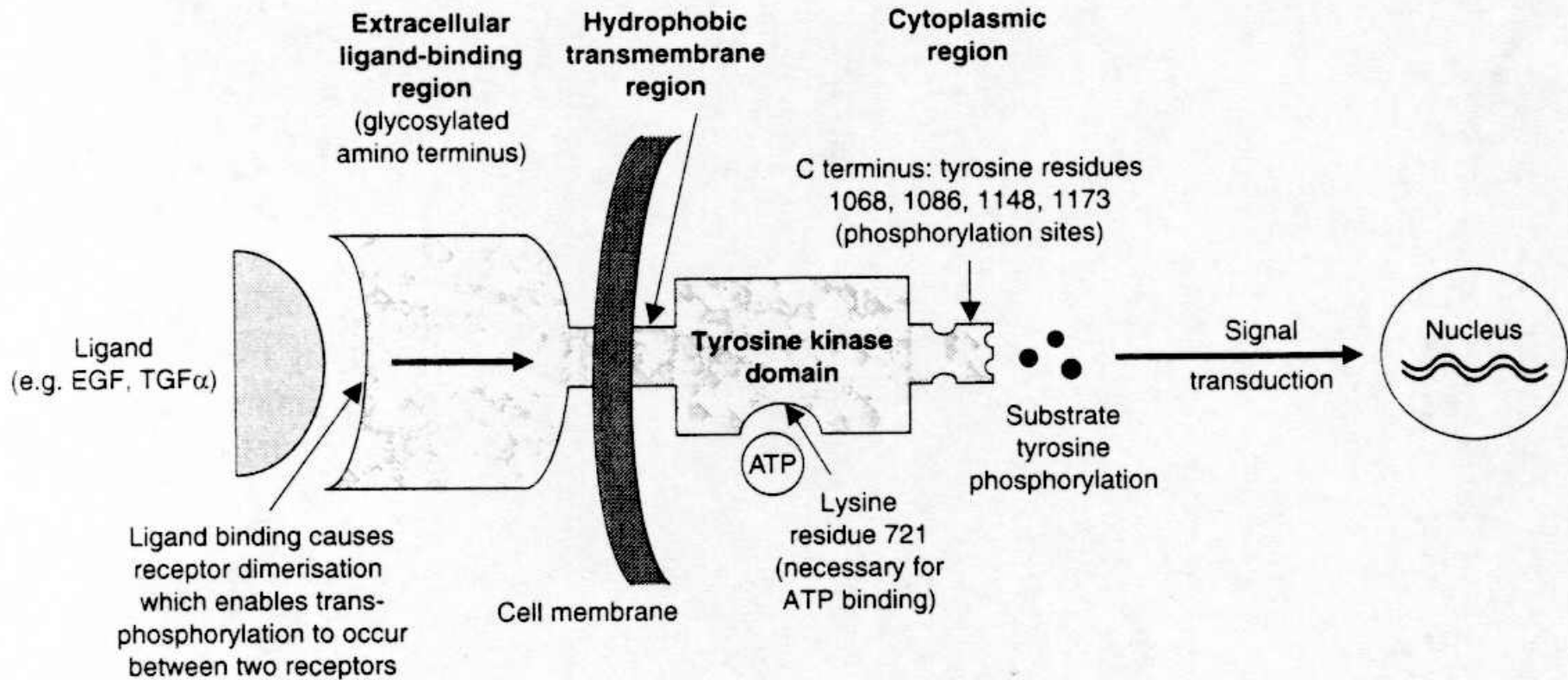
3- Signalisation :

La liaison de récepteurs membranaires par les anticorps monoclonaux de signalisation génère des signaux transmembranaires permettant de contrôler la croissance et l'apoptose des cellules tumorales.

Alternativement, certains anticorps en se liant au récepteur, miment efficacement le ligand naturel et inhibent les fonctions de transmission de signal associées.

L'utilisation d'anticorps de signalisation peut également induire la dérégulation de l'expression ciblée, mécanisme associé à la modification de signalisation intracellulaire.

EXEMPLE DU RECEPTEUR EGFR



B- NOUVELLES APPROCHES D'UTILISATION DES ANTICORPS MONOCLONAUX EN THERAPEUTIQUE

Les avancées accomplies dans le domaine du génie génétique et la meilleure compréhension des mécanismes cellulaires donnent de nouvelles possibilités d'utilisations thérapeutiques des anticorps monoclonaux.

1-Anticorps armés :

Il s'agit de conjuguer les anticorps monoclonaux avec un **isotope radioactif**, une **toxine**, un **médicament** ou une **enzyme**. Le principe de cette approche consiste en l'utilisation des anticorps monoclonaux comme des **vecteurs** permettant une délivrance ciblée de ces molécules directement sur leurs sites d'action.

Anticorps conjugués à une toxine, immunotoxines :

Cette approche consiste à coupler à l'anticorps une **toxine** (diphthérique, ricine, pseudomonas, etc.) ou un agent de chimiothérapie provoquant la mort de la cellule après internalisation de la toxine.

Anticorps conjugués à des radio-isotopes, Radio-immunothérapie:

Les anticorps radio-marqués permettent de réaliser une irradiation ciblée sur le site tumoral en épargnant au maximum les tissus sains. Par ailleurs, cette radio-immunothérapie interne permet d'irradier les cellules tumorales présentes au voisinage de la cellule cible et n'exprimant pas l'antigène choisi par le mécanisme "Cross-fire" ou feu croisé.

Anticorps conjugués à des enzymes :

Cette technologie appelée ADEPT (antibody directed enzyme prodrug therapy) procède en deux étapes: des prodrogues non toxiques sont d'abord conjuguées à l'anticorps, puis l'anticorps se fixe à la cellule cible en transformant la prodrogue en drogue active.

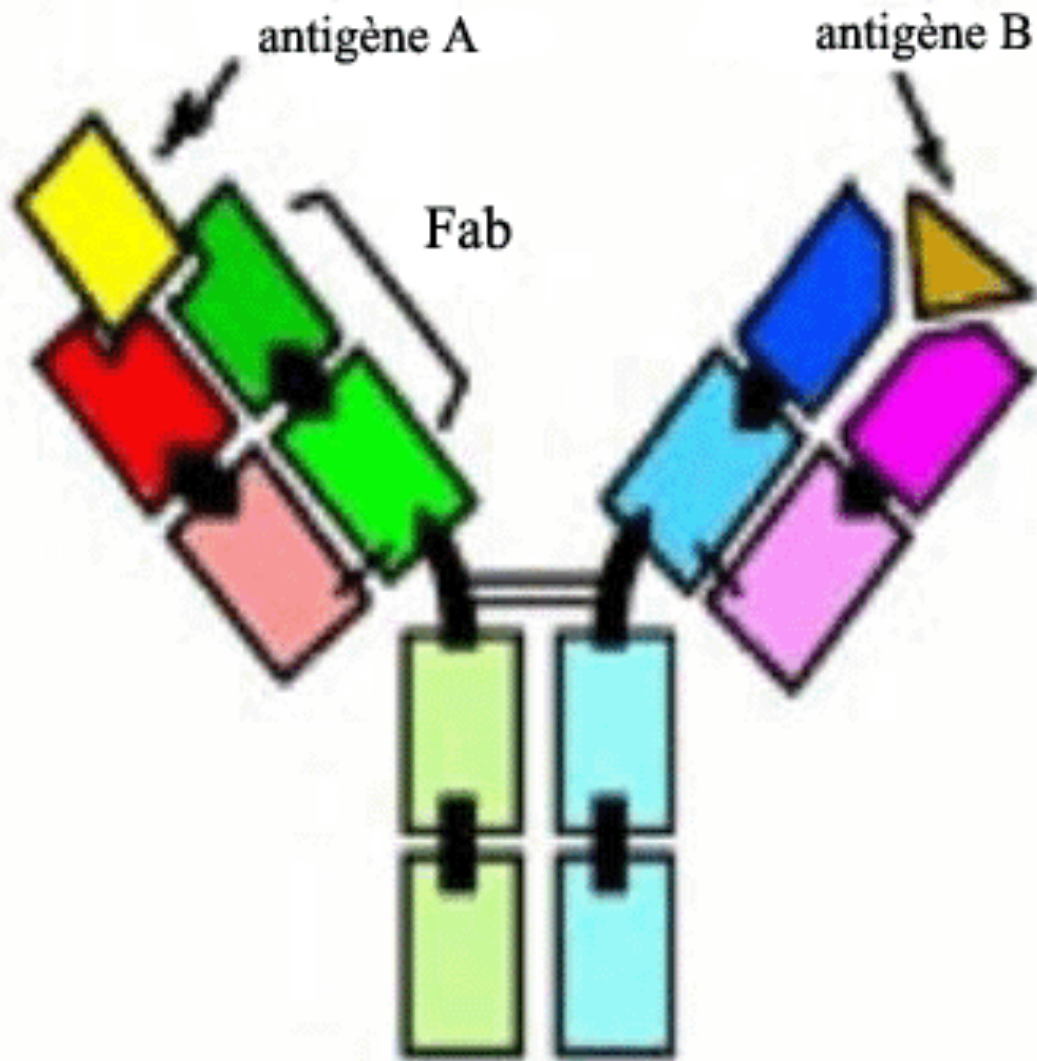
Carboxypeptidases, phosphatase alcaline, glucuronidase et β -lactamase ont été ainsi conjuguées.

Outre la cancérologie, l'avenir de cette approche concerne les maladies infectieuses résistantes à certains antibiotiques ou les maladies parasitaires.

2- Anticorps bi spécifiques:

Un anticorps naturel possède deux régions variables de même spécificité.

On peut construire, par voie chimique ou par génie génétique, un anticorps possédant une partie variable de spécificité A et une autre de spécificité B.



Immunoglobuline G bi-spécifique

L'anticorps ainsi modifié pourra se fixer sur 2 molécules cibles distinctes et les ponter. La première indication a été la cancérologie. En réalisant un anticorps possédant une double spécificité, par exemple un anti-CD3 d'une part et un anti-antigène tumoral d'autre part, on peut espérer ponter un lymphocyte activé à une cellule tumorale, entraînant la lyse de la cellule tumorale. Plusieurs anticorps bi-spécifiques sont actuellement en étude dans plusieurs domaines thérapeutiques.

3- Anticorps intracellulaires : "Intrabodies":

Les anticorps agissent normalement dans le milieu extracellulaire: après leur synthèse, ils sont sécrétés dans les liquides extracellulaires ou restent liés à la surface des cellules B comme récepteurs de l'antigène.

Récemment des gènes codant des anticorps intracellulaires ont été conçus par génie génétique. Ceci permettrait d'utiliser des anticorps dans les cellules pour bloquer la construction des **virus** ou des protéines nocives, telles que les **oncoprotéines**. Le premier exemple de cette approche a consisté à créer l'anticorps F 105 qui se lie à gp 120, une protéine d'enveloppe essentielle pour le VIH.

4- Fragments d'anticorps recombinants :

Cela consiste à utiliser des fragments d'anticorps, en particulier les fragments Fab et scFv produits par la technique du "phage-display".

Les fragments possèdent de nombreux avantages par rapport aux Ig complètes:

- ils ont un volume de distribution plus élevé,
- une efficacité plus rapide,
- un risque plus faible de réactions secondaires d'origine immune,
- et une élimination plus rapide.

Ces propriétés font d'eux des molécules adéquates pour la **détoxification** des **substances** hautement **diffusibles** ou de **toxines** de faible poids moléculaire, en plus, leur intérêt s'est amplifié pour une utilisation en cancérologie, par la possibilité de les conjuguer à des toxines, enzymes ou autres substances, ou d'obtenir des fragments bispécifiques voire trispécifiques (Multimères de fragments de scFv).

VII- ANTICORPS MONOCLONAUX UTILISES EN THERAPEUTIQUE

Actuellement, une vingtaine d'anticorps monoclonaux sont commercialisés et au moins 400 sont en cours d'évaluation. Ces médicaments couvrent les domaines thérapeutiques de l'oncologie, de la transplantation, des maladies auto-immunes, de la cardiologie, de l'infectiologie et de l'allergologie.

1- Anticorps utilisés en cancérologie:

Il faut cibler un Ag spécifique de la tumeur, présent à des niveaux élevés et vital pour la cellule.

ANTICORPS CIBLANT LES TUMEURS SOLIDES

TRASTUZUMAB: HERCEPTIN* cancer du sein

CETUXIMAB: ERBITUX* Tumeurs épithéliales
ORL, des voies aérodigestives supérieures et
les adénocarcinomes colorectaux.

BEVACIZUMAB: AVASTIN* Cancers colorectaux

EDRECOLOMAB: PANOREX* tumeurs solides
du côlon.

ANTICORPS CIBLANT LES TUMEURS HEMATOPOIETIQUES

RITUXIMAB: MABTHERA*

Lymphomes Hodgkiniens.

ALEMTUZUMAB: MABCAMPATH*

Leucémies lymphoïdes chroniques.

GEMTUZUMAB OZOGAMYCINE: MYLOTARG*

Association d'un anticorps humanisé et d'une toxine cellulaire: La **calichéamicine**.

Leucémies myéloblastiques aiguës à CD 33+

2- Anticorps utilisés en transplantation:

Trois anticorps dirigés contre le CD3 et le CD25 sont utilisés pour supprimer la réponse immune après transplantation. L'effet obtenu permet d'éviter le rejet de greffe en induisant une tolérance aux organes transplantés. Ces anticorps monoclonaux sont administrés en complément de produits immunosuppresseurs telles que la ciclosporine et les corticoïdes.

MUROMOMAB-CD3 : ORTHOCLONE OKT3*:

Premier anticorps monoclonal autorisé chez l'homme en 1986 dont l'indication est actuellement le traitement **d'allogreffe rénale hépatique ou cardiaque.**

La puissance immunosuppressive de ce traitement est responsable d'une augmentation de l'incidence des complications virales dont l'infection à cytomégalovirus et surtout de celle des désordres lympho-prolifératifs Epstein Barr virus induits.

BASILIXIMAB : SIMULECT* :

indiqué dans la prévention du rejet aigu après transplantation rénale allogénique *de novo* chez l'adulte et chez l'enfant. Il doit être utilisé en association avec un traitement immunosuppresseur.

DACLIZUMAB : ZENAPAX* :

indiqué dans la prophylaxie du rejet aigu d'organe chez les patients non hyperimmunisés recevant une transplantation rénale allogénique *de novo* en association avec les protocoles immunosuppresseurs incluant ciclosporine et corticoïdes.

3- Anticorps et maladies auto-immunes et inflammatoires

Les **cytokines** et leurs récepteurs jouent un rôle important dans les pathologies inflammatoires et l'auto-immunité. Certaines cytokines ont une activité pro-inflammatoire, alors que d'autres sont plutôt anti-inflammatoires.

La **polyarthrite rhumatoïde** et la maladie de **Crohn** sont parmi les pathologies inflammatoires chroniques dans lesquelles le **TNF- α** , cytokine pro-inflammatoire, joue un rôle central.

Un anticorps monoclonal chimérique anti-TNF- α **l'INFLIXIMAB** a été développé et utilisé en clinique pour le traitement de ces deux pathologies inflammatoires fréquentes et invalidantes.

La compréhension de la physiopathogénie des maladies inflammatoires et les progrès de la biologie moléculaire ont permis de développer d'autres anticorps ciblant les étapes clés de l'auto-immunité et du processus inflammatoire.

INFLIXIMAB : REMICADE*:

indiqué en association avec le méthotrexate pour le traitement de la **polyarthrite rhumatoïde** sévère et évolutive malgré plusieurs traitements de fond et seul, dans le traitement de la **maladie de Crohn** sévère et active et la **maladie de Crohn** fistulisée. Récemment, il a obtenu une extension d'AMM pour le traitement de la **spondylarthrite ankylosante** et d'autres maladies auto-immunes.

ADALIMUMAB : HUMIRA*:

premier anticorps humain anti-TNF- α ayant obtenu en 2003 une AMM pour le traitement de la **polyarthrite rhumatoïde** modérément à sévèrement active de l'adulte réfractaire au traitement de fond.

EFALIZUMAB : RAPTIVA*:

Le blocage de la CD11a par l'efalizumab prévient l'activation des lymphocytes T et leur adhésion à l'endothélium, diminuant ainsi le recrutement de lymphocytes T activés aux sites inflammatoires.

L'Efalizumab est en cours d'évaluation chez les patients **asthmatiques** pour son effet bénéfique sur la réponse inflammatoire aux allergènes.

NATALIZUMAB:

Cet anticorps est en cours de développement dans le cadre du traitement de la **sclérose en plaque** et de la **maladie de Crohn**.

4- Anticorps en pathologie cardiovasculaire

ABCIXIMAB: REOPRO*

Première molécule de la famille des antagonistes des glycoprotéines plaquettaires IIb-IIIa ayant obtenu une AMM, en complément de l'administration d'héparine et d'aspirine, pour la prévention des complications cardiaques ischémiques chez les patients à risque et qui font l'objet d'une intervention coronarienne percutanée (angioplastie, athérectomie et pose d'un stent).

Il est également indiqué pour la réduction à court terme (1 mois) d'infarctus du myocarde chez les patients souffrant d'angor instable réfractaire au traitement médical, chez lesquels une intervention coronarienne percutanée est programmée.

Le ReoPro **inhibe l'agrégation plaquettaire** en empêchant la liaison du fibrinogène, du facteur Von Willebrand et des autres molécules d'adhérence aux récepteurs GPIIb/IIIa (ou intégrines) des plaquettes activées.

5- Anticorps en infectiologie

PALIVIZUMAB : SYNAGIS*:

En 1999, le palivizumab a été autorisé pour la prévention des **infections respiratoires** dues au virus syncytial.

Il exerce une puissante activité neutralisante et d'inhibition de fusion vis-à-vis des variétés des sous-types des chaînes A et B du virus respiratoire syncytial.

TUVIRUZUMAB : OSTAVIR*

anticorps monoclonal dirigé contre
l'antigène HBS chez les sujets atteints
d'hépatite B chronique en association
avec la lamivudine.

SEVIRUMAB : **PROTOVIR***, anticorps monoclonal dirigé contre la glycoprotéine H du cytomégalovirus est en essai clinique d'une part, dans la prévention d'infection à **cytomégalovirus** après greffe allo génique de moelle osseuse et d'autre part, dans le traitement des complications ophtalmologiques du VIH (**rétinites à cytomégalovirus**).

Les anticorps peuvent également être utilisés pour la neutralisation de **toxines**. Des anticorps monoclonaux protégeant de la toxine produite par *Bacillus anthratis* (Anthrax) ainsi que la neurotoxine botulique ont déjà été obtenus.

6- Anticorps en allergologie

La première étape de la pathogenèse de l'allergie, déclenchée en réponse à l'exposition à l'allergène, correspond à la production d'anticorps circulants de la classe des IgE. De ce fait l'utilisation d'anticorps anti- IgE qui puissent piéger les IgE circulant avant fixation sur leur site d'action, constitue une approche simple pour le traitement des inflammations allergiques.

OMALIZUMAB: XOLAIR*

C'est une IgG1 anti- IgE humanisée, indiquée dans le traitement des **asthmes allergiques** modérés à sévères chez les adultes et les adolescents.

Cet anticorps est dirigé spécialement contre la partie Fc des IgE empêchant ainsi leur fixation sur le récepteur Fc ϵ RI. De ce fait, il inhibe la libération, par les mastocytes et les basophiles, des médiateurs préformés responsable de la réaction allergique.

PERSPECTIVES D'AVENIR

Près de 400 anticorps monoclonaux sont en cours d'évaluation,
Potentiel thérapeutique très prometteur.
Les anticorps monoclonaux sont devenus les médicaments qui ont le **plus fort taux** de développement pour de nouvelles applications thérapeutiques, en raison des avancées dans les technologies actuelles qui permettent la conception d'anticorps monoclonaux, sous forme d'Ig entières ou de fragments de différentes tailles, couplés ou non avec des toxines de cytokines ou de radio éléments.

Beaucoup **d'espoirs** soulevés dans le traitement de nombreuses pathologies lourdes, pour lesquelles les thérapeutiques conventionnelles ont montré leurs limites. (**thérapeutiques ciblées**)

Toutefois le **coût** de ces produits est un facteur limitant leur utilisation, d'autant plus que de nombreuses applications restent des traitements de longue durée.

Enfin et en l'absence **d'études** de **tolérance** à long terme, le suivi et la prudence sont indispensables pour mieux évaluer les risques liés à leur utilisation.

EXEMPLES DE PRIX

HERCEPTIN* 6 681.00 DH/Flacon 150 mg 1/
semaine

AVASTIN* 3 686.00 DH/Flacon 100 mg 2/
mois 13 400.00 DH/Flacon 400 mg

MABTHERA* 6 176.00 DH/2 Flacons 100 mg
1/1 à 3 semaines 15 444.00 DH/Flacon 500 mg

