

# NOUVELLES AVANCÉES DANS L'UTILISATION DES ANTICORPS MONOCLONAUX EN THÉRAPEUTIQUE

A.J. SCHEEN (1)

**RÉSUMÉ :** De nouvelles avancées importantes peuvent être attendues dans les prochaines années avec l'utilisation des anticorps (Ac) monoclonaux, essentiellement grâce aux progrès dans le domaine du génie génétique et à la meilleure connaissance de l'homéostasie cellulaire. Le recours à des Ac monoclonaux dits «armés» consiste à utiliser les Ac monoclonaux comme des vecteurs permettant une délivrance ciblée d'autres molécules exerçant un effet thérapeutique (généralement cytotoxique) directement sur leurs sites d'action : cela peut être un isotope radioactif, une toxine, une enzyme ou un médicament. D'autres approches sont également envisagées comme le recours à des Ac monoclonaux particuliers, par exemple des Ac bi-spécifiques, des Ac à action intracellulaire ou encore des fragments d'Ac recombinants. Ces nouvelles approches originales ouvrent certainement des perspectives prometteuses dans le domaine de la thérapeutique. Cependant, dans bien des cas, leur intérêt réel en termes de rapport «efficacité-sécurité-coût» reste encore à démontrer en comparaison à d'autres approches plus classiques.

**MOTS-CLÉS :** Agents anticancéreux - Anticorps armés - Anticorps monoclonaux - Biothérapie - Thérapie ciblée

## INTRODUCTION

Les progrès accomplis dans le domaine du génie génétique et la meilleure compréhension des mécanismes cellulaires donnent de nouvelles possibilités d'utilisations thérapeutiques des anticorps (Ac) monoclonaux (1). Nous avons présenté dans un premier article, paru dans ce numéro, les caractéristiques principales des Ac monoclonaux murins, chimériques, humanisés et humains, ainsi que la nomenclature internationale permettant de les répertorier (2). Le but du présent article est de présenter brièvement quelques nouvelles approches thérapeutiques utilisant les Ac monoclonaux (3), avec surtout des applications en cancérologie (4). Certains exemples seront détaillés dans deux articles conjoints du présent numéro (5, 6). Nous envisagerons d'abord les Ac monoclonaux «armés», puis nous détaillerons quelque peu d'autres types d'Ac susceptibles d'ouvrir encore de nouvelles perspectives dans le domaine de la thérapeutique (7, 8).

**NEW ADVANCES IN THERAPEUTIC USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES SUMMARY :** New major advances may be expected in a near future regarding the use of monoclonal antibodies (mAb), mainly thanks to the remarkable progress in biotechnology and the better knowledge of cellular homeostasis. The concept of antibody-targeted drugs relies upon the use of mAbs as vectors capable of specifically delivering at targeted cells (i.e. tumours) other active agents that could exert locally a cytotoxic effect (radioisotope, toxin, enzyme, drug). Other approaches will also be considered such as the development and use of bispecific mAbs, intracellular mAbs or fragments of mAbs. These novel original approaches open promising therapeutic prospects. However, in many cases, their real interest in terms of «efficacy-safety-cost» ratio remains to be demonstrated as compared to other classical therapeutic approaches.

**KEYWORDS :** Anti-cancer agents - Biotherapy - Monoclonal antibodies - Targeted drugs

## ANTICORPS ARMÉS

Le principe de cette approche consiste en l'utilisation des Ac monoclonaux comme des vecteurs permettant une délivrance ciblée d'autres molécules exerçant un effet thérapeutique directement sur leurs sites d'action. S'inspirant du concept de «magic bullet» mis à l'honneur par Paul Ehrlich, ainsi que rappelé dans notre éditorial (9), les Ac «armés» représentent des missiles téléguidés sur une cible bien spécifique. Il s'agit de conjuguer les Ac monoclonaux avec un isotope radioactif, une toxine, une enzyme ou un médicament. L'application la plus avancée concerne l'héματο-oncologie dans laquelle les Ac, en délivrant de façon ciblée une molécule cytotoxique, sont capables de contribuer à détruire sélectivement les cellules tumorales (5, 6).

### ANTICORPS CONJUGUÉS À DES RADIO-ISOTOPES : RADIO-IMMUNOTHÉRAPIE

Les Ac radio-marqués permettent de réaliser une irradiation ciblée sur le site tumoral en épargnant au maximum les tissus sains (6). 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 dit «cross-fire» ou feu croisé. La radio-immunothérapie a surtout été utilisée dans le traitement des lymphomes parce que ces tumeurs sont généralement fortement radio-sensibles. Pour limiter l'exposition aux radiations, des Ac monoclonaux

(1) Professeur ordinaire, Université de Liège, Chef de Service, Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies métaboliques et Unité de Pharmacologie clinique, CHU de Liège.

murins ont été choisis car leur haute immunogénicité favorise une clairance rapide du produit (2). L'<sup>90</sup>Y ibritumomab tiuxetan (Zevalin®) est composé d'un Ac dirigé contre le CD20 (ibritumomab) et d'un radio-isotope émetteur de rayonnement B (<sup>90</sup>Yttrium), stabilisés ensemble par un chélateur (tiuxetan). Les applications de ce médicament dans le traitement de certains lymphomes ont été décrites en détail dans un autre article de ce numéro (6).

#### ANTICORPS CONJUGUÉS À UNE TOXINE : IMMUNOTOXINES

Cette approche consiste à coupler à l'Ac une toxine (diphthérique, ricine, etc.) provoquant la mort de la cellule après internalisation de la toxine (10). Par exemple, un traitement faisant appel à une immunotoxine diphthérique, composée du domaine catalytique de la toxine diphthérique fusionnée à un Ac monoclonal anti-CD3, a été testé récemment avec succès dans le lymphome cutané à cellules T (11).

Le gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®) est un anticorps monoclonal humanisé ciblant spécifiquement l'antigène CD33 qui se retrouve à la surface de la plupart des cellules leucémiques blastiques (12). Cet Ac est conjugué à la calicheamicin, un antibiotique cytotoxique très puissant, environ 1.000 fois plus puissant que la doxorubicine. La calicheamicin est un membre hydrophile de la famille des antibiotiques qui clive les séquences spécifiques des doubles hélices de l'ADN. Le mécanisme d'action de ce médicament peut être résumé de la façon suivante. Le complexe gemtuzumab ozogamicin-calicheamicin se lie à l'antigène de surface CD33 des cellules leucémiques myéloïdes. Le complexe pénètre la cellule et la calicheamicin est ensuite libérée dans les lysosomes des cellules myéloïdes. Elle se lie à l'ADN, ce qui entraîne une cassure de l'ADN, suivie d'une apoptose cellulaire. Le Mylotarg® (non commercialisé en Belgique, mais déjà testé dans des essais cliniques ou à titre compassionnel dans notre pays) a été utilisé avec succès dans le traitement de la leucémie myéloïde réfractaire à une chimiothérapie conventionnelle, chez les sujets âgés de plus de 60 ans (12).

#### ANTICORPS CONJUGUÉS À DES ENZYMES

Le concept de générer des agents cytotoxiques au niveau même d'une tumeur à partir de prodrugs non toxiques amenées sélectivement sur leur cible par des Ac servant de vecteurs a été développé il y a une quinzaine d'années déjà et testé, à ce moment, dans des modèles animaux (13). Cette technologie appelée ADEPT

(«Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy») procède en deux étapes : des prodrugs non toxiques sont d'abord conjuguées à l'Ac, puis l'Ac est couplé à une enzyme qui activera, *in situ*, la prodrug pour la transformer en un agent cytotoxique localement efficace. Cette technique permet de diminuer la toxicité générale de la drogue tout en assurant une efficacité locale maximale. Amidases, kinases, phosphatases, glycosidases, carboxypeptidases, glucuronidase et  $\beta$ -lactamase ont été ainsi conjuguées. Dans certains cas, la prodrug peut être activée spécifiquement par des peptidases endogènes. Les prodrugs activées dans la tumeur (TAP pour «Tumor Activated Prodrugs») sont, bien entendu, surtout développées pour être utilisées en oncologie (14). Cette approche pourrait cependant aussi concerner à l'avenir les maladies infectieuses résistantes à certains antibiotiques ou encore les maladies parasitaires.

#### ANTICORPS CONJUGUÉS À UN MÉDICAMENT

Les immunoliposomes sont des liposomes conjugués à des Ac monoclonaux (15). Cette technologie a bénéficié des avancées conjointes dans la fabrication des liposomes et des Ac monoclonaux. Les liposomes contiennent des molécules ou des nucléotides à action thérapeutique et, grâce aux Ac monoclonaux, peuvent être téléguidés directement sur les cellules cibles, en général des cellules néoplasiques. Bien que cette approche soit encore à un stade de développement, des progrès significatifs ont été réalisés ces dernières années. Les immunoliposomes offrent l'avantage d'augmenter l'interaction locale avec la cellule cible, soit sous la forme d'une fusion avec la membrane cellulaire, soit grâce à une internalisation par endocytose, ce qui aboutit à un plus haut taux de rétention de l'agent pharmacologique (13). Les immunoliposomes ont été utilisés avec succès *in vivo* pour délivrer, de façon ciblée dans la tumeur, des gènes suppresseurs de la tumeur, grâce à des fragments d'Ac monoclonaux contre le récepteur humain de la transferrine, par exemple. Cette approche a été appliquée à des tumeurs cérébrales ou à des cancers du sein. Cette technique peut également être utilisée dans un but d'imagerie à visée diagnostique. Dans ce cas, les immunoliposomes sont utilisés pour acheminer de façon ciblée des agents de contraste utilisés en résonance magnétique nucléaire ou des radioéléments utilisés en médecine nucléaire (15).

Outre la technique des liposomes, d'autres approches peuvent être envisagées combinant un Ac monoclonal et une drogue active, en particulier celle faisant appel à la technique de la

protéine de fusion (16). Ainsi, il a été rapporté récemment qu'une protéine de fusion couplant une interleuline-2 humaine et un Ac monoclonal anti-CD30 spécifique de certaines tumeurs comme les lymphomes de type Hodgkin et les lymphomes anaplasiques à grandes cellules pouvait s'avérer utile pour éradiquer de petites tumeurs résiduelles (17).

## AUTRES TYPES D'ANTICORPS

### ANTICORPS BI-SPÉCIFIQUES

Un Ac naturel possède deux régions variables de même spécificité. On peut construire, par voie chimique ou par génie génétique, un Ac possédant une partie variable de spécificité A et une autre de spécificité B. L'Ac ainsi modifié pourra se fixer sur 2 molécules cibles distinctes et les ponter. La première indication a été la cancérologie. En réalisant un Ac 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 Ac bi-spécifiques sont actuellement en étude dans plusieurs domaines thérapeutiques, notamment en cancérologie (18). Des travaux récents ont montré des résultats prometteurs chez la souris en utilisant un variant de l'herceptine ciblant simultanément deux antigènes bien connus dans le domaine de la cancérologie, HER-2 («Human Epidermal growth factor Receptor 2») et VEGF («Vascular Endothelial Growth Factor») (19). Ces Ac «deux en un» remettent quelque peu en question le paradigme de l'Ac monoclonal avec un seul site de liaison à un antigène spécifique. Cette approche pourrait offrir de nouvelles opportunités quant à l'utilisation future des Ac monoclonaux en clinique.

### ANTICORPS INTRACELLULAIRES

Les Ac 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 Ac intracellulaires ont été conçus par génie génétique. Ceci permettrait d'utiliser des Ac 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'Ac F 105 qui se lie à gp 120, une protéine d'enveloppe essentielle pour le VIH (Virus d'Immunodéficience Humain) (20). Cette approche devrait permettre de téléguidé l'administration de médicaments

anti-rétroviraux spécifiquement dans les cellules infectées par le virus.

### FRAGMENTS D'ANTICORPS RECOMBINANTS

Cette approche consiste à utiliser des fragments d'Ac, en particulier les fragments Fab et scFv produits par la technique du «phage-display». Les fragments possèdent de nombreux avantages par rapport aux immunoglobulines 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. L'utilisation de ces fragments d'Ac ouvre la voie à la «nanomédecine». Ils permettent, en effet, d'amener à leurs cibles spécifiques des agents pharmacologiques de très faible poids moléculaire intégrés dans des nanoparticules, garantissant ainsi une excellente biodisponibilité, une meilleure biocompatibilité et un meilleur profil de sécurité (21).

Ces propriétés font d'eux des molécules adéquates pour la détoxification des substances hautement à haut pouvoir de diffusion ou de toxines de faible poids moléculaire. De 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) (22). Les Ac peuvent également être utilisés pour la neutralisation de toxines. Des Ac monoclonaux protégeant de la toxine produite par *Bacillus anthracis* (Anthrax) (23) ainsi que la neurotoxine botulique ont déjà été obtenus.

## CONCLUSION

Près de 400 Ac monoclonaux sont en cours d'évaluation et représentent un potentiel thérapeutique très prometteur. Les Ac 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'Ac monoclonaux, sous forme d'immunoglobulines entières ou de fragments de différentes tailles, couplés ou non avec des toxines, des cytokines ou des radio-éléments. Ils portent beaucoup d'espérance dans le traitement de nombreuses pathologies lourdes, pour lesquelles les thérapeutiques conventionnelles ont montré leurs limites, grâce à leur approche originale de «thérapeutiques ciblées». Cependant, comme pour tout nouveau traitement pharmacologique, et ce d'autant plus qu'il s'agit de biotechnologies innovantes, il convient de prôner un suivi

attentif de façon à bien évaluer le rapport bénéfices/risques, à court et à long termes, de ce que l'on peut considérer déjà être une véritable révolution thérapeutique.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Teillaud JL.— Qu'est-ce qu'une biothérapie ? L'exemple des anticorps monoclonaux. *Presse Med*, 2009, **38**, 825-831.
2. Scheen AJ.— Nomenclature internationale des différents types d'anticorps monoclonaux. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 244-247.
3. Laffly E, Sodoyer R.— Monoclonal antibodies, 30 years of successes. *J Soc Biol*, 2006, **200**, 325-343.
4. Zafir-Lavie I, Michaeli Y, Reiter Y.— Novel antibodies as anticancer agents. *Oncogene*, 2007, **26**, 3714-3733.
5. Gennigens Ch, Collignon J, Jerusalem G, et al.— Anticorps monoclonaux à usage thérapeutique en hématologie. Généralités. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 264-267.
6. Bonnet C, Beguin Y, De Prijck B, et al.— Anticorps monoclonaux en hématologie en 2009. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 268-273.
7. Dutertre CA, Teillaud JL.— Monoclonal antibodies, act two : new molecules for new challenges. *J Soc Biol*, 2006, **200**, 377-386.
8. Baty D, Chames P.— Le point sur les anticorps autorisés en imagerie et en immunothérapie. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 2006, **21**, 255-263.
9. Scheen AJ, Moutschen M.— Editorial. Les anticorps monoclonaux en thérapeutique. *Rev Med Liège*, 2009, **64**, 233-236.
10. Mathew M, Verma RS.— Humanized immunotoxins: a new generation of immunotoxins for targeted cancer therapy. *Cancer Sci*, 2009, May 19. Epub ahead of print.
11. Frankel AE, Zuckero SL, Mankin AA, et al.— Anti-CD3 recombinant diphtheria immunotoxin therapy of cutaneous T cell lymphoma. *Curr Drug Targets*, 2009, **10**, 104-109.
12. Stasi R, Evangelista ML, Buccisano F, et al.— Gemtuzumab ozogamicin in the treatment of acute myeloid leukemia. *Cancer Treat Rev*, 2008, **34**, 49-60.
13. Bagshawe KD, Sharma SK, Springer CJ, Rogers GT.— Antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). A review of some theoretical, experimental and clinical aspects. *Ann Oncol*, 1994, **5**, 879-891.
14. Denny WA.— Tumor-activated prodrugs – a new approach to cancer therapy. *Cancer Invest*, 2004, **22**, 604-619.
15. Sofou S, Sgouros G.— Antibody-targeted liposomes in cancer therapy and imaging. *Expert Opin Drug Deliv*, 2008, **5**, 189-204.
16. Senter PD.— Potent antibody drug conjugates for cancer therapy. *Curr Opin Chem Biol*, 2009, May 2. Epub ahead of print.
17. Hirsch B, Brauer J, Fischdick M, et al.— Anti-CD30 human IL-2 fusion proteins display strong and specific cytotoxicity *in vivo*. *Curr Drug Targets*, 2009, **10**, 110-117.
18. Chames P, Baty D.— Bispecific antibodies for cancer therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2009, **12**, 276-283.
19. Bostrom J, Yu SF, Kan D, et al.— Variants of the antibody herceptin that interact with HER2 and VEGF at the antigen binding site. *Science*, 2009, **323**, 1610-1614.
20. Clayton R, Ohagen A, Goethals O, et al.— Binding kinetics, uptake and intracellular accumulation of F105, an anti-gp120 human IgG1kappa monoclonal antibody, in HIV-1 infected cells. *J Virol Methods*, 2007, **139**, 17-23.
21. Debbage P.— Targeted drugs and nanomedicine : present and future. *Curr Pharm Des*, 2009, **15**, 153-172.
22. Schaedel O, Reiter Y.— Antibodies and their fragments as anti-cancer agents. *Curr Pharm Res*, 2006, **12**, 363-378.
23. Schneemann A, Manchester M.— Anti-toxin antibodies in prophylaxis and treatment of inhalation anthrax. *Future Microbiol*, 2009, **4**, 35-43.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr. A.J. Scheen, Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies Métaboliques, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique.