

Réponse immunitaire antitumorale : nouvelles perspectives dans le traitement du carcinome à cellules rénales

F. Bouet

V. Catros

UPRES 2261, Faculté de médecine de Rennes, Laboratoire de génétique et biologie cellulaire, CHRU Pontchaillou, 35033 Rennes cedex 9
francoise.bouet@chu-rennes.fr

Résumé. Depuis la découverte de l'immunité antitumorale, les stratégies en immunothérapie des tumeurs se développent de façon importante. Elles se fondent, pour la plupart, sur l'activation de la réponse lymphocytaire T spécifique. Les cellules tumorales présentent en effet des antigènes de tumeur capables d'être reconnus par les cellules effectrices du système immunitaire, qui peuvent alors, dans certaines conditions, les éliminer. Le carcinome à cellules rénales est classiquement connu pour être immunogène. À l'heure actuelle, un traitement par cytokines est le traitement de référence du cancer du rein métastatique. Des stratégies de thérapie cellulaire sont à l'étude actuellement. Il s'agit soit d'injecter des lymphocytes dans le cadre d'une immunothérapie adoptive, soit de vacciner les patients avec des cellules dendritiques chargées avec des antigènes de tumeur ou avec des cellules tumorales autologues ou encore de tenter des allogreffes de moelle osseuse. Dans tous ces protocoles, des essais préliminaires sont nécessaires. Notre groupe a choisi de stimuler les lymphocytes issus de la tumeur, des ganglions ou du sang périphérique avec des cellules dendritiques autologues, chargées en antigènes de tumeur par phagocytose des cellules tumorales autologues irradiées, puis de les expandre avant de les injecter en grand nombre au patient. Seule l'analyse précise du statut immunitaire du patient avant et après l'injection du produit de thérapie cellulaire, couplée, à la fois à une analyse immunologique phénotypique et fonctionnelle des cellules injectées, et à la réponse clinique observée chez les patients, pourra aider à déterminer la stratégie thérapeutique la plus adaptée.

Mots clés : immunothérapie antitumorale, cellule dendritique, lymphocyte activé

Summary. Recent advances in the field of immunobiology have provided many opportunities for anticancer-immunotherapy. Because they express tumor antigen, tumor cells can be kill by T cells. Renal Cell Carcinoma (RCC) is an immunogenic tumor and metastatic RCC is presently treated by cytokines. Anticancer immunity may be achieved by differents strategies: allogeneic hematopoietic cell transplantation, vaccination with peptides, vaccination with loaded dendritic cells or adoptive cellular therapy in which specific T cells are isolated and expanded *in vitro* and then infused to patients. In our group, we have chosen the adoptive transfer of *in vitro* activated T cells with autologous tumor antigen loaded dendritic cells. To determine the best strategy of anticancer-immunotherapy, we need rigorous control of the specificity and the phenotype of the cell therapy product linked with the immunological status of the patient (before and after infusion) and with the clinical response.

Key words: anticancer immunotherapy, dendritic cell, activated lymphocyte

Article reçu le 12 août 2003,
accepté le 28 novembre 2003

Tirés à part : F. Bouet

Depuis la découverte des antigènes de tumeur, il est admis que le système immunitaire est impliqué dans la surveillance du développement d'une tumeur au sein d'un organisme. Nous présenterons les différents acteurs de la réponse immunitaire antitumorale et les perspectives d'immunothérapie qui émergent actuellement, en particulier dans le carcinome à cellules rénales (RCC).

Carcinome à cellules rénales et immunothérapie

Le RCC représente 3 % des tumeurs solides de l'adulte et 89 % des cancers du rein. Il touche plus fréquemment l'homme que la femme. Lorsque le diagnostic est fait précocement, avant l'observation de métastases, le pronostic est de 87 % de survie à 5 ans ; cependant 27 % des cancers sont diagnostiqués à un stade tardif métastatique et dans ce cas, l'espérance de vie est de 5 à 15 % à 5 ans [1].

Le RCC survient dans la grande majorité des cas sous forme sporadique. Il existe cependant dans moins de 5 % des cas des formes familiales, cancers héréditaires autosomiques dominants où l'on observe une translocation du chromosome 3 (t 3:8). Il existe également un cancer du rein associé à d'autres cancers dans la maladie de Van Hippel-Lindau. Le gène incriminé est le gène VHL situé en 3p25-26. Il est associé à un proto-oncogène c-raf 1. Ce gène régule la sécrétion de VEGF (*vascular endothelial growth factor*). D'autres anomalies cytogénétiques ont été rapportées dans le cancer du rein. La plus fréquente des anomalies est une anomalie de nombre : la trisomie 7.

Les facteurs pronostiques les plus importants sont la présence de métastases et les aspects morphologiques des cellules tumorales. Le grade de Fuhrman est basé sur l'aspect du noyau et la taille du nucléole. Sa valeur pronostique a été démontrée avec un clivage pronostique net entre les grades I et II d'une part, et III et IV d'autre part. Le carcinome rénal est un cancer radio-résistant et la chimiothérapie est peu efficace. Cela est en partie dû à la glycoprotéine P170 responsable de l'efflux des médicaments. Le gène MDR-1 codant pour cette protéine est surexprimé dans ce type de cancer. Environ 10 % des patients répondent à la chimiothérapie. Les seuls médicaments efficaces sont la vinblastine et les fluoropyrimidines. Pour les tumeurs de taille inférieure à 2 cm, la chirurgie conservatrice est de règle ; pour les plus grosses tumeurs, la thérapeutique consiste essentiellement en une néphrectomie totale élargie. Il n'existe pas de traitement conventionnel efficace (radiothérapie ou chimiothérapie) des RCC métastatiques. C'est le fait de rémissions spontanées et de longues périodes sans rechute qui ont permis de soupçonner les capacités de ce cancer à provoquer une réaction immu-

nitaire antitumorale. L'immunothérapie par injection d'IL-2 et d'IFN α est à l'heure actuelle le traitement standard de ce type de tumeur [2]. Diverses stratégies de thérapie cellulaire pour une immunothérapie de ces cancers sont actuellement à l'étude.

Le système immunitaire interagit avec les cellules tumorales

C'est au XIX^e siècle que William Coley, chirurgien au *Memorial hospital* de New York a rapporté pour la première fois une régression de tumeur chez un malade présentant un épisode infectieux aigu. Cette constatation a été à l'origine de l'hypothèse selon laquelle un dysfonctionnement du système immunitaire pouvait accompagner le processus de cancérisation. Plus tard, d'autres équipes ont confirmé que l'injection d'extraits de bactéries à des souris pouvait induire la nécrose hémorragique d'une tumeur. Cette nécrose survient grâce à une activation du système immunitaire avec sécrétion de TNF (facteur nécrosant des tumeurs). À partir des années 1970, Burnet a développé sa théorie de l'immuno-surveillance naturelle des cancers. De nombreux travaux ont été réalisés pour étudier la stimulation du système immunitaire non spécifique par des protéines bactériennes et leurs dérivés. C'est dans ce contexte qu'a été par exemple utilisé le BCG (bacille de Calmette Guérin) qui est un traitement de référence de certaines tumeurs non infiltrantes de la vessie [3].

D'autres arguments sont en faveur d'une immunosurveillance du cancer : la découverte au cours d'autopsie de tumeurs cliniquement inapparentes dont le nombre augmente avec l'espérance de vie ; la fréquence des tumeurs est supérieure chez les personnes âgées, le très jeune enfant ou le sujet immunodéprimé, en particulier, celle des tumeurs associées à des virus chez des patients traités par des immunosuppresseurs. On sait actuellement que l'utilisation de la cyclosporine qui stimule l'expression fonctionnelle du TGF β (*transforming growth factor*), favorise la croissance des cellules tumorales et la formation de métastases. L'infiltration des tumeurs par des cellules lymphoïdes : NK, lymphocytes T et cellules dendritiques, est sujette à controverse. Elle est considérée comme un signe de pronostic favorable par certains, mais est pour d'autres corrélée à un stade avancé de la maladie [4]. La tumeur peut passer longtemps inaperçue du système immunitaire. Aussi longtemps qu'elle n'exprime pas de signaux de danger, elle exprime le soi « modifié » certes, mais à un niveau insuffisant, ou dans un contexte inefficace pour être considérée comme dangereuse et activer le système immunitaire. Elle est même capable d'induire une tolérance active de ce système par les moyens très variés décrits plus loin, comme par exemple l'induction de cellules dendriti-

ques tolérogènes. La preuve que le système immunitaire pouvait reconnaître les cellules cancéreuses a été apportée par la découverte des antigènes de tumeur.

Les antigènes tumoraux sont peu connus dans le carcinome rénal

Les antigènes sont des peptides issus le plus souvent de la dégradation de protéines anormales : soit par mutation somatique, soit par réactivation de gènes silencieux ou par l'activation de gènes rétroviraux endogènes ou d'oncogènes. Ils peuvent également être le produit de la dégradation de protéines normales : protéines ne s'exprimant que dans les tissus embryonnaires ou protéines exprimées normalement dans les cellules normales mais surexprimées dans les cellules cancéreuses.

Bien que la plupart des antigènes de tumeur soient présentés dans un contexte HLA de classe I, des antigènes peuvent cependant être reconnus par les T CD4 dans un contexte HLA de classe II. Cela est possible grâce à la présentation par la cellule dendritique ou encore directement par les cellules cancéreuses qui peuvent exprimer les molécules HLA de classe II sous l'influence d'IFN γ sécrété par les cellules inflammatoires et immunitaires infiltrant la tumeur [5]. De façon schématique plusieurs catégories d'antigènes peuvent être distinguées dans le carcinome rénal.

Antigènes spécifiques de tumeur

Ils sont aussi appelés antigènes « publics » car leur expression est partagée par différents types histologiques de cancer. C'est le cas de la famille des gènes MAGE, BAGE, GAGE et RAGE. Ce sont les gènes MAGE exprimés dans le mélanome qui ont été les premiers découverts par le groupe de T. Boon de l'institut Ludwig à Bruxelles en 1992 [6]. Le gène RAGE a été décrit dans le cancer du rein.

Muc-1, un gène codant une mucine est surexprimé dans 80 % des tumeurs mammaires et est également exprimé dans les cancers de l'ovaire, du pancréas et du rein [7]. Sa localisation et sa glycosylation dans les cellules tumorales sont anormales faisant apparaître de nouveaux épitopes (MUC1 et MUC2) antigéniques.

Le proto-oncogène Her-2/neu est présent en une seule copie dans les cellules normales. Il code pour une protéine transmembranaire à activité tyrosine kinase intervenant dans la croissance cellulaire qui n'est quasiment pas détectable en immunohistochimie dans les tissus normaux à l'âge adulte, mais qui peut être exprimé au cours de différents cancers soit par surexpression du gène, soit par amplification de celui-ci. L'augmentation du nombre de copies du gène est corrélée à un mauvais pronostic (3 copies ou plus). Deux peptides antigéniques actuellement décrits sont dérivés de Her-2/neu : E75 et GP2 présentés tous les deux dans un contexte HLA-A2. Trente à 40 % des can-

cers du sein et de l'ovaire expriment Her-2/neu et cet antigène est également retrouvé dans le cancer du rein [8]. La protéine transmembranaire G250 est quand à elle exprimée dans 95 % des RCC et 60 % des RCC métastatiques sans être exprimée dans les tissus sains.

Antigènes de différenciation

Ces antigènes sont des produits de gènes de différenciation qui s'expriment de façon limitée dans les tissus sains correspondants, et sont surexprimés en cas de cancer. Il s'agit des produits des gènes RU2 (gène d'entretien) et alt-M-CSF (épissage alternatif d'une cytokine : M-CSF) dans les cellules rénales.

Antigènes issus de mutation

Une mutation ponctuelle peut conduire à une protéine anormale qui devient antigénique. Il faut citer l'oncogène ras muté, les gènes suppresseurs de tumeur mutés, comme ceux codant la protéine p53 mutée qui sont à la fois oncogéniques et antigéniques. Il a été également décrit une mutation du gène de hsp 70-2 dans le carcinome rénal. Rappelons les mutations du gène VHL présentes dans la maladie de Von Hippel Lindau, mais également dans 57 % des cancers du rein sporadiques.

Des lymphocytes T spécifiques de la majorité des antigènes tumoraux précédemment cités ont pu être mis en évidence et caractérisés. La reconnaissance spécifique des antigènes de la cellule tumorale par les lymphocytes T stimule la production de cytokines de type Th1 (IFN γ et TNF α) et leur différenciation en effecteurs cytotoxiques.

Initiation et déroulement d'une réponse immunitaire antitumorale

Deux contraintes pèsent sur le système immunitaire : la première est de distinguer le soi du non-soi ou du soi modifié, la seconde est d'éliminer tout ce qui est dangereux pour l'organisme. On distingue classiquement deux systèmes de défense :

- le système inné présent très tôt au cours de l'évolution des espèces, qui représente une première barrière de défense contre les agents pathogènes, et est immédiatement activé suite à la rencontre avec l'agent infectieux ;
- le système adaptatif qui développe une réponse plus lente (en quelques jours) : réponse spécifique d'un antigène donné avec persistance d'une mémoire immunologique après stimulation antigénique. Ce système est apparu avec les espèces plus évoluées.

Les cellules NK, première ligne de défense anticancéreuse non spécifique

Les cellules NK (cellules tueuses naturelles) constituent 5 à 10 % des lymphocytes sanguins et appartiennent à la famille des grands lymphocytes granuleux. Ils sont en majorité CD3-CD16+ CD56+. Ils peuvent détruire leurs

cibles par différents mécanismes : soit par contact indirect au moyen de leur récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines (CD16) entraînant une lyse par ADCC (*antibody dependant cellular cytotoxicity*) d'une cellule cible ayant fixé des anticorps ; soit par contact direct entre la cellule NK et la cellule cible par interaction membranaire de type récepteur-ligand. Dans ce cas, la cellule NK reconnaît sa cible par deux types de récepteurs : les récepteurs activateurs qui entraînent la lyse de la cellule cible et les récepteurs inhibiteurs qui inhibent cette lyse. Les récepteurs inhibiteurs appartiennent à deux familles distinctes : certains sont codés par des gènes apparentés aux gènes de la superfamille des immunoglobulines et se lient aux molécules du CMH de classe I (HLA-A B ou C), ce sont les KIR (récepteurs inhibiteurs des NK) ; d'autres appartiennent à la famille des lectines comme par exemple CD94-NKG2 A ou C qui se lient aux molécules CMH de classe I (HLA E) [9].

L'interaction entre ces récepteurs et la molécule de CMH classe I entraîne une inhibition de la lyse de la cible (*figure 1*) [10]. En revanche, si la cellule exprime les molécules de classe I à un niveau insuffisant, il y a déclenchement de la lyse.

Les cellules NK, lorsqu'elles sont activées, sécrètent des cytokines : $IFN\gamma$, $TNF\beta$, $TNF\alpha$ et GM-CSF efficaces par elles-mêmes et aussi par leur participation à l'activation de la réponse immunitaire spécifique.

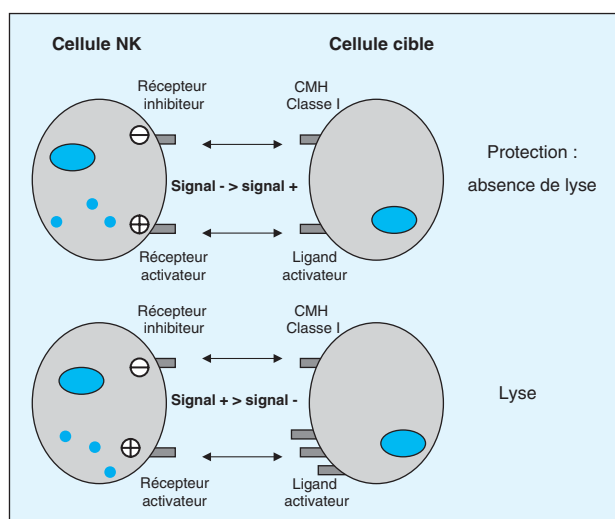


Figure 1. Capacités cytotoxiques des cellules NK (d'après Schleinitz *et al.* [10]). La capacité cytotoxique des cellules NK est inhibée par la reconnaissance des molécules CMH de classe I sur la cellule cible par les récepteurs inhibiteurs. L'interaction entre les récepteurs inhibiteurs et les molécules de classe I aboutit à la transmission d'un signal qui bloque l'activation de la cytotoxicité induite par les récepteurs activateurs.

Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA)

Pour initier une réponse immunitaire spécifique, l'antigène doit être présenté par une molécule de classe II aux lymphocytes T CD4. Parmi les CPA : macrophages, lymphocytes B, cellules dendritiques ; les cellules dendritiques sont les plus performantes. La réponse immunitaire initiée par les cellules dendritiques dans le cadre d'une réponse antitumorale efficace est de type Th1 avec sécrétion d' $IFN\gamma$ et d'IL-2 par les T CD4 auxiliaires et aboutit à la lyse de la cellule tumorale par les effecteurs T CD8 cytotoxiques. Cependant, suivant la qualité de la synapse immunologique (présentation antigénique, quantité de peptides, molécules de costimulation) et le contexte cytokinique, les cellules dendritiques peuvent également être tolérogènes, ce qui a pour effet de favoriser le maintien du processus cancéreux.

Les cellules dendritiques ont deux origines hématopoïétiques : myéloïde ou lymphoïde. Les cellules dendritiques myéloïdes sont des cellules sentinelles disséminées dans la plupart des tissus. Elles présentent, comme les macrophages, une aptitude particulière aux mécanismes d'endocytose et de phagocytose. Elles internalisent les antigènes tumoraux provenant de lysats, de fragments ou de corps apoptotiques de cellules cancéreuses dans les tissus périphériques. Si cette étape est accompagnée de l'expression locale de « signaux de danger » (signaux inflammatoires d'activation), la cellule dendritique va subir un processus de maturation. Elle présentera des changements phénotypiques (expression de récepteurs aux chimiokines, de molécules de costimulation) et morphologiques comme l'apparition de « dendrites ». Ces changements lui confèrent la possibilité de migrer dans les aires T du ganglion lymphatique de drainage le plus proche où aura lieu l'activation des lymphocytes T. Le fait que la cellule dendritique soit considérée comme la meilleure CPA vient de sa capacité à internaliser un antigène exogène et à pouvoir le présenter à la fois dans un contexte CMH classe I entraînant l'activation des T CD8 cytotoxiques et dans un contexte classe II entraînant l'activation des T CD4 auxiliaires. Ce phénomène résulte d'un adressage intracellulaire particulier et est appelé le *cross-priming* ou présentation croisée [11].

La capacité à présenter les antigènes tumoraux *via* les molécules de classe I et II joue un rôle déterminant dans la réponse immunitaire antitumorale des cellules dendritiques. L'activation des lymphocytes T naifs nécessite la coopération entre les T CD8 et les T CD4 et l'expression des molécules de costimulation comme CD80 ou CD86 qui sont absentes de la surface des cellules non hématopoïétiques. Les cellules cancéreuses en général n'expriment pas les molécules de classe II. Ce sont les cellules dendritiques ayant internalisé les antigènes tumoraux qui activeront la réponse cellulaire.

Les cellules dendritiques existent principalement sous deux formes fonctionnelles de maturation. Les cellules dendritiques immatures se trouvent dans les tissus périphériques. Elles expriment des taux relativement faibles de molécules du CMH et de molécules de costimulation CD40, CD80 et CD86. Elles ont une forte capacité d'endocytose et de phagocytose qui leur permet d'avoir de bonnes capacités à capter les antigènes. De nombreux récepteurs permettent la reconnaissance des éléments à endocyter ou à phagocyter. Les récepteurs du mannose impliqués dans l'endocytose des antigènes glycosylés et les récepteurs Fc qui permettent l'endocytose de complexes immuns jouent un rôle important dans la réponse immunitaire.

La maturation des cellules dendritiques peut survenir grâce à différents signaux : des signaux de danger comme les composants des parois bactériennes de type lipopolysaccharide (LPS) ou encore des signaux inflammatoires comme la présence de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF α ou l'IL-1 β . L'interaction du ligand de CD40 présent sur les lymphocytes T activés avec la molécule CD40 présente sur les CPA est également en faveur d'une maturation ultime des cellules dendritiques (figure 2) [12]. Dans le cas de la réponse immunitaire anti-infectieuse, des signaux de danger d'origine microbienne peuvent interagir avec les récepteurs Toll des cellules dendritiques [13], entraînant ainsi la maturation des cellules

dendritiques et l'expression à leur surface de molécules de costimulation (B7) qui vont permettre l'activation des lymphocytes. Dans le cas de la réponse anti-tumorale, l'expression de protéines de stress à la surface de la cellule cancéreuse ou la mort par nécrose de celle-ci peuvent favoriser l'expression des molécules de costimulation sur la cellule dendritique et l'activation lymphocytaire [14]. En revanche, si les signaux de danger sont absents, la cellule dendritique n'exprime pas de molécules de costimulation et peut induire l'anergie des lymphocytes [15]. Ces cellules dendritiques sont dites tolérogènes. Ce sont des cellules dendritiques immatures périphériques qui, soit en présence d'IL-10, ou encore suite à une stimulation antigénique répétée, mûrent en une population de cellules dendritiques tolérogènes activant des clones de T régulateurs, comme par exemple ceux de type Tr1 caractérisés par leur faible capacité proliférative en réponse aux mitogènes et leur production de cytokines : forte sécrétion d'IL-10, de TGF β , faible sécrétion d'IL-2 et absence de sécrétion d'IL-4 [16].

La maturation des cellules dendritiques permet leur migration dans les aires ganglionnaires les plus proches, où a lieu l'activation lymphocytaire. Cette migration se fait grâce à l'action de chimiokines telles que CCL19 et CCL21 qui interagissent avec la molécule CCR7 présente sur les cellules dendritiques matures [17].

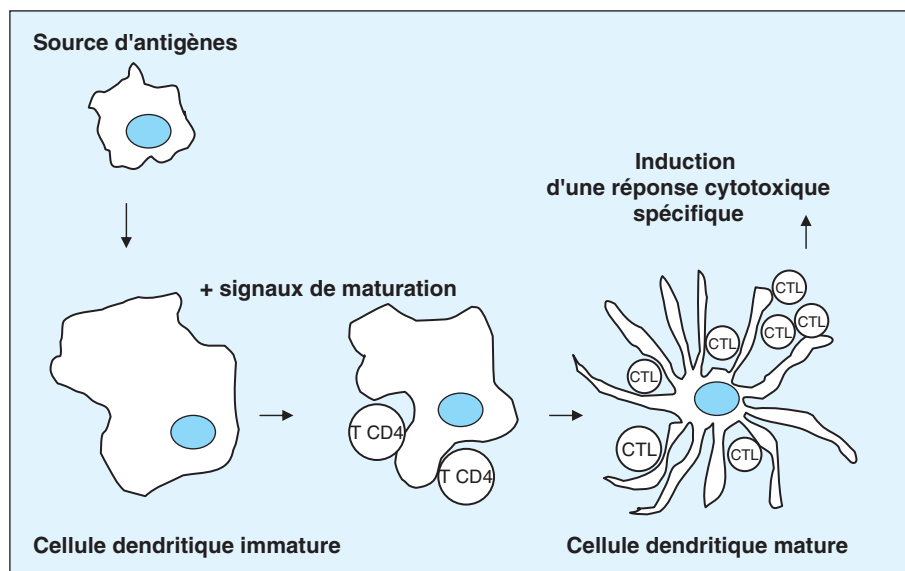


Figure 2. Cellules dendritiques et activation des lymphocytes T cytotoxiques (d'après Amigorena [12]). Après avoir ingéré des antigènes, les cellules dendritiques interagissent avec des lymphocytes T auxiliaires (T CD4) grâce à la liaison CMH classe II-TCR. Cette interaction permet la liaison du CD40L au CD40. Cela entraîne la maturation des cellules dendritiques et l'activation des lymphocytes cytotoxiques (CTL) grâce à la liaison CMH classe I-TCR. Les facteurs de maturation des cellules dendritiques sont les signaux de danger (comme les pathogènes), les cytokines pro-inflammatoires, les HSP (*heat shock protein*) ou les phénomènes de nécrose.

Les cellules dendritiques matures présentent une augmentation de l'expression membranaire des molécules du CMH et des molécules de costimulation lymphocytaire, qui leur confèrent une capacité remarquable à activer les lymphocytes T alors que leurs capacités phagocytaires diminuent.

Il y a donc nécessité pour activer les lymphocytes T naïfs en CTL antitumoraux d'avoir plusieurs paramètres réunis : la présentation d'antigènes tumoraux accompagnée de molécules de costimulation et la présence de cytokines favorisant la voie Th1.

Les cellules effectrices et régulatrices de la réponse spécifique : les lymphocytes T

Les lymphocytes T représentent 65 à 80 % des lymphocytes circulants et jouent à la fois le rôle de cellules effectrices du système immunitaire, ainsi que celui de régulateurs de la production d'anticorps. Les fonctions effectrices s'exercent selon deux grands mécanismes distincts : la production de cytokines et les fonctions cytotoxiques. Les fonctions effectrices ne sont activées qu'après reconnaissance spécifique de l'antigène par les cellules T. Les lymphocytes T sont les seules cellules pouvant détruire leur cible de façon totalement spécifique à l'antigène qui a induit leur sensibilisation. Cette reconnaissance spécifique de l'antigène a lieu grâce à une structure de reconnaissance : le TCR (*T cell receptor*). Le TCR est ancré dans la membrane par un court segment transmembranaire associé à la molécule CD3. La combinaison de deux domaines variables constitue le site de liaison à l'antigène. L'immense diversité des récepteurs de l'antigène est acquise au cours de la différenciation des lymphocytes T dans le thymus.

L'interaction spécifique du TCR avec son ligand sur la cellule cible est de faible affinité. L'interaction est renforcée par des liaisons entre les molécules du CMH et les corécepteurs CD4 ou CD8. Elle est également stabilisée par des interactions entre molécules d'adhérence comme par exemple les couples LFA1/ICAM1 et CD2/LFA3.

Les lymphocytes T sont divisés en plusieurs sous-populations fonctionnelles.

Les lymphocytes T auxiliaires

Les T auxiliaires (*T helper*) expriment la molécule CD4 et se lient à la molécule du CMH classe II. Ils représentent 30 à 50 % des lymphocytes circulants et exercent essentiellement leurs fonctions par le biais de médiateurs solubles : les cytokines.

Les lymphocytes T cytotoxiques

La deuxième sous-population est composée des T CD8 qui représentent 20 à 30 % des lymphocytes circulants et

sont impliqués dans les phénomènes de cytotoxicité. Le ligand de la molécule CD8 est la molécule du CMH classe I.

Les lymphocytes T régulateurs

Il existe également une sous-population de lymphocytes T de type Th3. Il s'agit de T régulateurs activés par les cellules dendritiques tolérogènes qui participent à l'équilibre de tolérance du soi [16]. Ils pourraient contribuer à la tolérance du cancer. Ces lymphocytes peuvent présenter un phénotype T CD4+ CD25+ CD8- et représentent environ 10 % des lymphocytes T matures. Ils contrôlent l'expansion clonale des lymphocytes T effecteurs. Ces cellules sont caractérisées actuellement chez l'homme comme étant CD4+ CD8-CTLA-4+ et CD45RO+. Ces cellules répondent peu à la stimulation par de l'anti-CD3, par des cellules dendritiques matures allogéniques ou encore d'autres agents mitogènes. Elles sont capables de supprimer les réponses prolifératives des cellules CD25- à ces mêmes agents.

Coopération cellulaire lymphocyte-CPA

Au moment de l'initiation de la réponse immunitaire, l'antigène est présenté par les CPA professionnelles. Un second signal est nécessaire à la différenciation en effecteurs. Il est délivré aux lymphocytes T par des molécules de la famille CD28 qui ont pour ligand les molécules de la famille B7 (B7.1 ou CD80 et B7.2 ou CD86) présents sur les CPA.

L'activation du lymphocyte T entraîne la formation de clones de lymphocytes T de même spécificité vis-à-vis d'un antigène donné. Cette activation spécifique entraîne la sécrétion d'interleukines qui à leur tour induisent des effets biologiques très divers et non spécifiques de l'antigène ayant provoqué l'activation des cellules.

L'IL-2 est la principale interleukine concernée. Elle est indispensable à la croissance des cellules exprimant son récepteur : lymphocytes T, cellules NK et certains lymphocytes B. Elle est donc indispensable au développement de la réponse immunitaire. Selon le type de cytokines produites, la réponse immunitaire va être plutôt cellulaire ou humorale. La production de cytokines est influencée par les caractéristiques de la CPA et par son environnement (présence ou absence de signaux de danger, densité des peptides). On sait par exemple que la sécrétion d'IL-12 par la CPA pendant l'activation des lymphocytes T induit une réponse de type Th1.

Une réponse de type Th1 est caractérisée par la production d'IFN γ , de TNF α et d'IL-2, et aura pour conséquence une activation de la réponse cellulaire cytotoxique (CTL et cellules NK) et inflammatoire. C'est ce type de réponse qui est favorable à une réponse immunitaire antitumorale aboutissant à la lyse de la cellule tumorale.

Une réponse de type Th2 s'accompagne d'une sécrétion d'IL-4, IL-5, IL-10 et IL-13 et active la réponse humorale [18].

Une réponse régulatrice est caractérisée par une forte production d'IL-10, de TGF β , une faible production d'IL-2 et l'absence de production d'IL-4 [16].

En fait, il existe une véritable coopération cellulaire avec interférence des différents acteurs de la réponse immunitaire, qui peuvent à chaque instant influencer le type de réponse observée. Nous avons décrit l'influence de l'environnement de la cellule dendritique pour obtenir une activation des lymphocytes T. Les lymphocytes T et en particulier les T CD4 (exprimant le CD40L) peuvent, eux aussi, modifier l'état d'activation de la cellule dendritique par l'intermédiaire de leur récepteur CD40 et augmenter ainsi

leur capacité à produire de l'IL-12, à exprimer leurs molécules de costimulation et donc influencer la réponse vers le type Th1 avec activation des CTL.

Les mécanismes de cytotoxicité

Comme nous l'avons vu, différentes cellules immunocompétentes peuvent lyser la cellule cancéreuse soit par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique d'un antigène, soit de façon aspécifique (*figure 3*). La nature de la lyse spécifique dépend du type de présentation antigénique par la cellule cancéreuse.

La lyse peut avoir lieu selon différents mécanismes d'induction d'apoptose.

Le premier mécanisme est la lyse par libération de molécules cytotoxiques comme la perforine ou le granzyme à

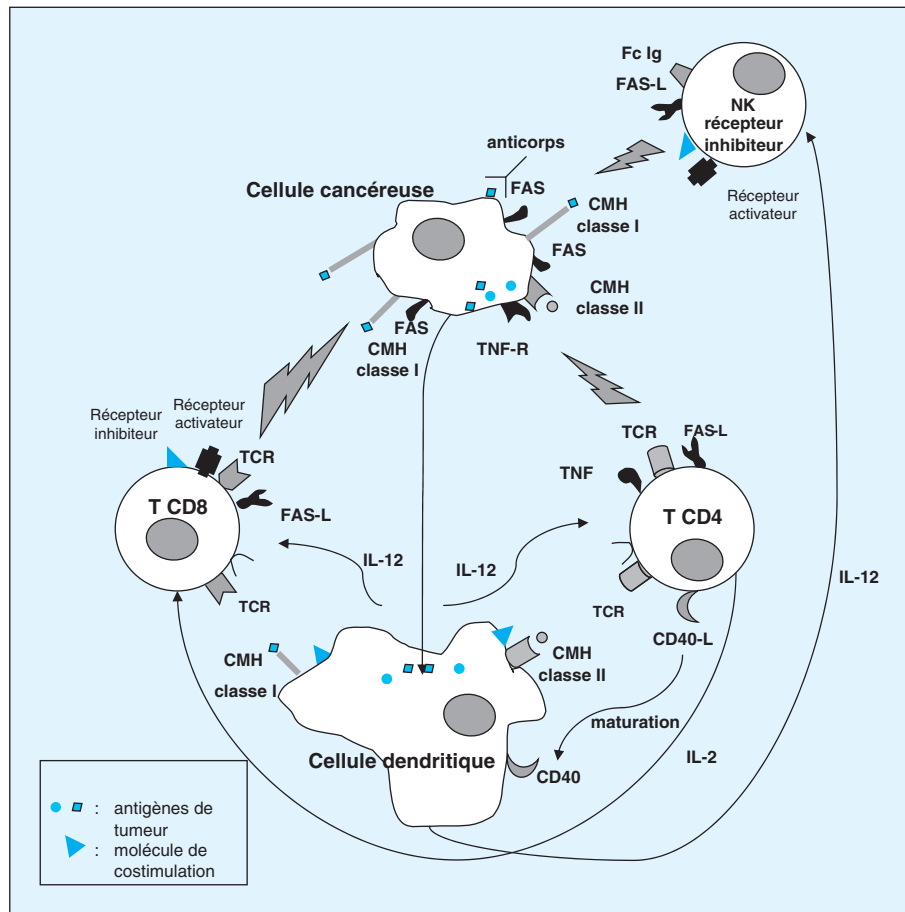


Figure 3. Mécanismes de lyse de la cellule tumorale. La cellule cancéreuse peut être lysée de façon aspécifique par les cellules NK, soit par la liaison de ses récepteurs inhibiteurs et activateurs sur leurs ligands, soit par la voie FAS/FAS-L ou encore par une cytotoxicité dépendante des anticorps. Elle peut être lysée de façon spécifique par les T CD8 ayant été activés par la présentation des antigènes de tumeur par les cellules dendritiques dans un contexte CMH de classe I en présence des molécules de costimulation. Certaines sous-populations de T CD8 peuvent exprimer des récepteurs inhibiteurs et activateurs du même type que ceux présents sur les cellules NK. Les T CD4, après la présentation antigénique par les cellules dendritiques dans un contexte de CMH de classe II en présence des molécules de costimulation, activent les T CD8 grâce à la sécrétion d'IL-2, favorisent la maturation terminale des cellules dendritiques et peuvent également acquérir des propriétés cytotoxiques spécifiques vis-à-vis de la cellule tumorale.

l'occasion d'un contact cellulaire. La perforine est une protéine dont le gène est situé sur le chromosome 10 et qui est exprimée dans les cellules NK et les lymphocytes T activés. Son mode d'action est calcium dépendant : en présence de Ca^{++} , la perforine se polymérise pour former des structures tubulaires, véritables pores membranaires perméabilisant la cellule notamment à l'entrée de granzyme. Les granzymes sont des protéases qui activent les mécanismes de mort cellulaire.

Le deuxième mécanisme est le déclenchement de l'apoptose suite à un contact entre des récepteurs cellulaires (de type TNF-R ou FAS) présents sur la cellule cible et leur ligand porté ou sécrété ($TNF\alpha$, $IFN\gamma$) par la cellule cytotoxique. L'engagement du récepteur FAS entraîne l'agrégation de son domaine intracellulaire de mort et induit une série d'événements en cascades : activation des protéines FADD, FLICE, recrutement et activation des caspases dans la cellule cible. Ces événements entraînent la protéolyse des constituants cellulaires, la fragmentation de l'ADN puis la mort cellulaire par apoptose de la cellule cible.

Les cellules tumorales peuvent échapper au système immunitaire

Malgré tous ces mécanismes performants et ces stratégies variées, la cellule tumorale échappe au système immunitaire puisque le cancer se développe (figure 4) [19]. La progression de la maladie métastatique peut s'expliquer par un dysfonctionnement de la réponse immunitaire se traduisant par un état d'immunosuppression souvent décrit chez le patient cancéreux notamment ceux atteints de RCC [20]. On observe en effet dans les RCC :

- une diminution de l'expression des molécules du CMH de classe I, qui est par ailleurs corrélée à un mauvais pronostic anatomopathologique ;
- une diminution de l'expression de FAS et une augmentation de l'expression de FAS-L capable de lyser les CTL ou les cellules NK exprimant FAS. Ces modifications sont corrélées à l'apparition de la résistance aux médicaments (expression du MDR) ;
- une baisse de l'expression des molécules d'adhérence comme I-CAM-1 et V-CAM-1 ainsi qu'une absence d'expression de CD80 et CD86 ;
- une sécrétion importante de facteurs immunosuppresseurs. Le $TGF\beta$ favorise la croissance tumorale, augmente l'angiogenèse et induit une inhibition des cellules immunocompétentes. L'IL-6 et l'IL-10 sont également sécrétées. Il a été rapporté par plusieurs auteurs que le taux sérique d'IL-6 était inversement corrélé à la survie des patients. L'IL-6 serait par ailleurs impliqué dans la cachexie associée au syndrome inflammatoire souvent observée en cas de cancer ;
- plus récemment une augmentation de l'expression des molécules HLA-G (HLA classe I particulière) a été dé-

critée. Cette molécule est présente pendant la grossesse à l'interface mère-enfant et participerait au phénomène de la tolérance [21].

Le système immunitaire a pour mission de distinguer le non soi dangereux (microbes) et le soi modifié (cancer) du non soi inoffensif (pollens, aliments). Cette capacité dépend d'une coopération entre les T CD4 et les cellules dendritiques. Si le lymphocyte reçoit un premier signal puissant d'activation sans le second signal (molécules de costimulation), il y a soit inactivation ou anergie du lymphocyte, soit suicide par apoptose de ce lymphocyte.

C'est grâce à une meilleure compréhension des mécanismes d'échappement des cellules tumorales à une réponse immunitaire que des approches thérapeutiques peuvent maintenant être envisagées. Des signaux de danger suite à une infection, ou des molécules de stress exprimées par les cellules cancéreuses, vont être reconnus par les cellules dendritiques et vont favoriser l'expression des molécules de costimulation par les cellules dendritiques et ainsi permettre l'activation de lymphocytes T spécifiques [15].

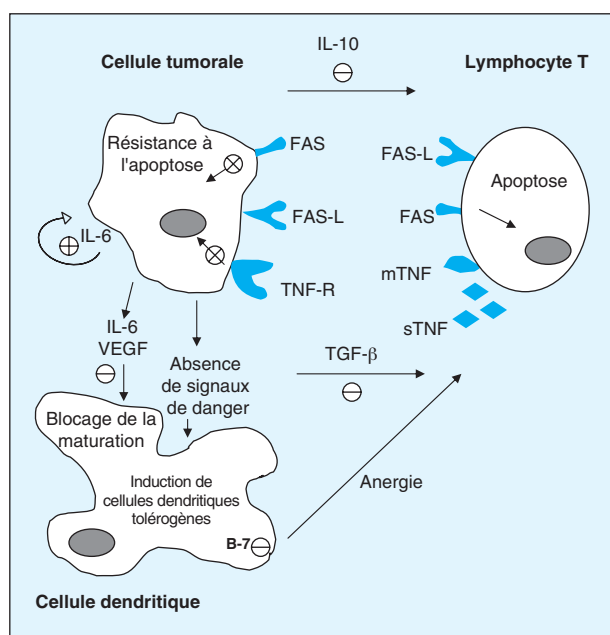


Figure 4. Mécanismes d'échappement de la cellule tumorale (d'après Chouaib *et al.* [19]). Les cellules tumorales peuvent sécréter des facteurs immunosuppresseurs responsables de l'anergie ou de l'apoptose des cellules effectrices. Elles peuvent produire des facteurs de croissance autocrine comme l'IL-6 qui favorise la croissance tumorale. La cellule tumorale est également capable d'échapper à l'apoptose induite par FAS-L et le TNF membranaire (mTNF) ou soluble (sTNF) et peut induire l'apoptose des cellules effectrices par une interaction de type FAS/FAS-L. De plus, elle peut être responsable d'un défaut de maturation des cellules dendritiques et peut favoriser l'orientation vers des cellules dendritiques tolérantes.

Ainsi, les cellules cancéreuses faisant partie du soi, peuvent dans certaines conditions (stress, état infectieux, état inflammatoire de la tumeur) être reconnues comme du soi modifié grâce à l'expression de leurs antigènes de tumeur. C'est ainsi qu'elles peuvent être éliminées. Ces conditions d'activation optimales peuvent être reproduites dans des approches thérapeutiques.

Premiers essais de traitement des tumeurs par immunothérapie

L'immunothérapie a fait la preuve de son efficacité sur des modèles expérimentaux de tumeur (*in vivo*) chez l'animal. Actuellement, la thérapie cellulaire du cancer par cellules immunocompétentes est en évaluation clinique. Il s'agit de traiter des patients avec des cellules effectrices (lymphocytes activés) ou encore de stimuler le développement d'une immunité protectrice par exemple par injection d'anticorps ou de cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques).

En 1995, le groupe d'Atzpodien a obtenu dans un essai de phase II, 30 % de réponses objectives à un traitement associant l'IL-2 et l'IFN α en sous-cutané chez 152 patients atteints de RCC métastatique. Ces résultats viennent d'être confirmés par la même équipe [22]. Des études de phase II réalisées par d'autres groupes n'ont pas toujours retrouvé de tels résultats. Toutefois dans tous les essais, environ 10 % des patients métastatiques présentent des réponses durables. L'administration de doses élevées d'IL-2 associées à l'IFN α s'accompagne d'effets secondaires sévères notamment de syndrome grippal et de fuites capillaires. Ces effets peuvent être considérablement diminués en utilisant la voie sous-cutanée au lieu de la voie intraveineuse. D'autres perspectives prometteuses existent, en particulier l'utilisation de la voie locale à proximité de la tumeur. Dans une série de 116 patients atteints de métastases pulmonaires secondaires à un cancer du rein, l'IL-2 par inhalation en plus de son utilisation systémique a entraîné un taux de réponses de 16 % avec 49 % de stabilisation [23].

Traitement des cancers par des cellules immunocompétentes

L'injection de lymphocytes

Devant les résultats spectaculaires obtenus avec des lymphocytes activés dans des modèles expérimentaux de tumeur chez l'animal, l'équipe de Rosenberg a, dès 1986, cherché à traiter des patients atteints de mélanome ou de RCC : deux types de cancers « historiquement » reconnus comme sensibles à l'immunothérapie. Les premiers résultats de l'équipe de Rosenberg ont mis en évidence l'intérêt d'injecter des LAK en association avec l'IL-2 avec 35 % de réponses alors que l'utilisation de l'IL-2 seul n'a donné que 20 % de réponses. Cependant, ces résultats n'ont pas

été retrouvés par les autres équipes. Progressivement la préparation de lymphocytes activés a été modifiée, dans un premier temps en les préparant à partir de prélèvements tumoraux (*tumor infiltrating lymphocyte* ou TIL), puis en diminuant la concentration d'IL-2 dans le milieu de culture, enfin en les préparant à partir de différents prélèvements.

En 1994, l'équipe de Beldegrun a comparé, chez des patients atteints de carcinome à cellules rénales, l'injection de TIL triés pour leur phénotype T CD8 à l'injection de TIL totaux. Ils ont montré un bénéfice à l'injection des T CD8 avec 35 % de réponses et une survie supérieure à 2 ans pour 60 % des patients.

Un essai récent chez 39 patients atteints de carcinome à cellules rénales stade IV doit être cité. Les patients ont été vaccinés avec des cellules cancéreuses autologues et le BCG puis les lymphocytes issus du ganglion à proximité du lieu de l'injection ont été mis en culture 7 jours après la vaccination et activés par un anticorps anti-CD3 monoclonal [24]. Plusieurs milliards de lymphocytes ont été réinjectés aux patients et un taux de réponse de 27 % a été obtenu. S'il est bien établi que l'injection de lymphocytes activés à des patients atteints de cancer présente un réel espoir thérapeutique [24, 25], la préparation *ex vivo* de ces lymphocytes activés fait encore l'objet de nombreux essais d'optimisation.

Allogreffes à conditionnement non myéloablatif

Une approche très originale et récente consiste à proposer des allogreffes de moelle chez des patients porteurs de tumeur solide. Cette idée est venue de l'observation de stabilisations ou de régressions de tumeurs solides existant de façon concomitante à une leucémie, chez des patients pour lesquels l'indication d'allogreffe de moelle était posée. Le principe est le même dans le traitement de la leucémie et celui des tumeurs solides. Un conditionnement par cyclophosphamide et fludarabine est réalisé chez le patient, puis une allogreffe de cellules hématopoïétiques est effectuée. Cette allogreffe provoque une lyse des cellules cancéreuses qui correspond à l'effet thérapeutique attendu, avec pour effet secondaire la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) qui peut être modulée suivant le type de cellules hématopoïétiques que l'on greffe. Une étude récente portant sur dix-neuf patients concerne le RCC métastatique. Dix réponses ont été obtenues dont 3 rémissions complètes et 7 rémissions partielles. Neuf sur dix-neuf patients étaient en vie un an après la greffe, 2/19 sont décédés des complications de la greffe et 8/19 de leur cancer [26].

Cellules dendritiques

Un essai réalisé en 1999 par l'équipe de Holtl dans le RCC, proposait trois cures de cellules dendritiques chargées en lysat de tumeur autologue et une activation par de

la KLH. Les cellules dendritiques étaient maturées par du TNF α et de la PGE2 après le chargement antigénique [27]. Des réponses cliniques objectives ont été constatées. Cette équipe a obtenu une forte activation des CTL anti-KLH dans le sang périphérique des patients. L'objectif des auteurs était que cette forte stimulation du système immunitaire par la KLH (entraînant une sécrétion de cytokines de type Th1 par les T CD4 et une activation des cellules dendritiques *via* le CD40-L), entraîne la sécrétion d'IL-12 par les cellules dendritiques et potentialise la réponse CTL anti-lysate tumoral.

Un autre essai a utilisé des cellules dendritiques chargées avec un peptide Muc-1 [28].

Plusieurs approches expérimentales, comme la fusion avec des liposomes [29] ou encore la transfection avec des ARN tumoraux [30] sont actuellement menées pour améliorer la présentation des antigènes de tumeur par les molécules de classe I. Une façon efficace d'obtenir l'expression endogène d'antigènes de tumeur par la cellule dendritique, est de la fusionner avec les cellules tumorales. Un essai clinique vient d'en faire la preuve. Dix-sept patients atteints de RCC ont été vaccinés avec 100 millions de cellules résultant de l'électrofusion de cellules dendritiques allogéniques avec des cellules tumorales autologues [7]. Quatre patients ont montré un rejet complet de toutes leurs métastases. Trois autres patients ont bénéficié d'une réduction de plus de 50 % de tous les sites tumoraux pendant plus de 3 mois. Les analyses histologiques et biologiques ont confirmé une réponse immunitaire antitumorale médiée par les lymphocytes T CD8 spécifiques [7].

Les essais cliniques en cours ou à venir

On assiste actuellement au démarrage de nouveaux essais cliniques. Certains de ces essais utilisent des extraits de lignées cellulaires sécurisées, ce qui peut être une alternative intéressante à la culture des cellules tumorales autologues, pas toujours très facile à réaliser. Des essais sont menés dans pratiquement tous les types de tumeurs. Il s'agit principalement d'essais de phase I ou II, encore souvent menés dans des contextes HLA particuliers. D'après les résultats préliminaires, il apparaît que la thérapie cellulaire par CPA améliore les résultats obtenus avec les vaccinations par simples peptides antigéniques. Il apparaît également que les réponses thérapeutiques sont meilleures lorsqu'une immunothérapie est proposée à un stade précoce de la maladie. Il faut rappeler que le choix d'une stratégie d'immunothérapie plutôt qu'une autre devra tenir compte de l'état d'immunosuppression du patient. S'il est indéniable que des efforts doivent encore être menés pour améliorer les protocoles de préparation *ex vivo* des lymphocytes T cytotoxiques, il ne faut pas oublier que cette thérapie cellulaire de « suppléance » présente l'intérêt d'être envisageable pour des malades immu-

nodéprimés et pourrait s'administrer à des stades avancés du développement tumoral. Il est cependant hautement probable, qu'à l'avenir, plusieurs approches complémentaires pourront être combinées, comme cela a été le cas avec la chimiothérapie des cancers.

Notre équipe a fait le choix de l'activation *ex vivo* des lymphocytes grâce aux cellules dendritiques autologues chargées avec des antigènes tumoraux. Cela permet d'isoler les cellules effectrices de l'environnement immunosuppresseur de la tumeur et de prendre en compte l'ensemble des antigènes tumoraux des patients grâce à l'utilisation de leurs cellules cancéreuses autologues. En effet, l'histoire naturelle d'une tumeur est faite de mutations et de progressions successives aboutissant à un ensemble hétérogène de cellules exprimant différents antigènes (tumeur primitive et métastases). Traiter ces tumeurs nécessite différents clones de lymphocytes, spécifiques des différents antigènes de tumeur, connus ou non, présents sur les cellules cancéreuses du patient. Cette approche consiste à expandre des lymphocytes T issus de la tumeur, de ganglion et du sang périphérique en les stimulant par des cellules dendritiques chargées avec les antigènes de tumeur. Dans notre protocole, trois cultures sont menées en parallèle : celles des lymphocytes, des cellules dendritiques et des cellules tumorales autologues. Au septième jour de culture, les cellules dendritiques sont chargées avec les antigènes de tumeur par phagocytose des cellules cancéreuses autologues irradiées à 75 Gy, puis les cellules dendritiques sont cocultivées avec les lymphocytes pendant 7 jours. Au terme de cette coculture, l'expansion des lymphocytes est réalisée sur cellules nourricières puis en

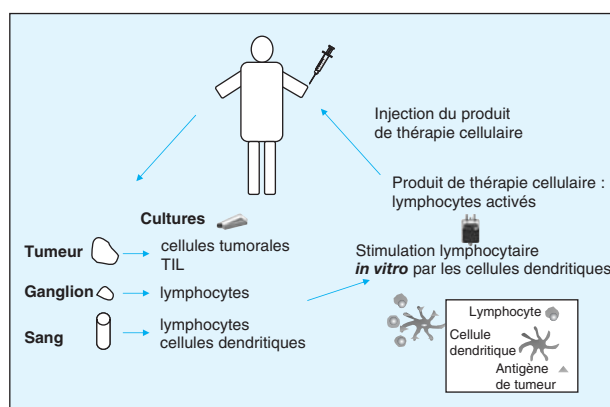


Figure 5. Préparation du produit de thérapie cellulaire. Après isolement et culture des lymphocytes à partir de la tumeur (TIL), des ganglions ou du sang périphérique, les différents types de lymphocytes sont stimulés par des cellules dendritiques autologues, chargées avec les antigènes de tumeur par les cellules tumorales autologues irradiées. Ils sont ensuite soumis à une procédure d'expansion. En 3 semaines environ $0,5$ à 1×10^9 de lymphocytes activés sont obtenus en vue d'être injectés au patient.

Tableau I. Évaluation du produit de thérapie cellulaire et immunomonitoring des patients. (Ces essais sont réalisés sous la responsabilité du professeur Genetet, laboratoire d'immunologie cellulaire du CHU de Rennes).

Étude des cellules préparées

- Analyse phénotypique par cytométrie en flux*
- Activité cytotoxique spécifique vis-à-vis des cellules tumorales autologues
- Activité cytotoxique NK vis-à-vis des cellules cibles K562
- Sécrétion d'IFN γ en réponse aux cellules tumorales autologues
- Capacité de réplication (longueur des télomères)

Étude du statut immunitaire du patient avant et après l'administration du produit de thérapie cellulaire

- Étude phénotypique des lymphocytes circulants
- Capacité des lymphocytes à sécréter des cytokines associées aux réponses immunitaires de type Th1
- Activité cytotoxique NK sur les cellules K562
- Réponse proliférative aux antigènes de rappel

* L'appartenance des cellules à l'une ou l'autre des sous-populations (CD4/CD8) de lymphocytes T (CD3), à la population des lymphocytes T $\gamma\delta$ (pan $\gamma\delta$), à la population des cellules NK (CD56/CD94), à la population des lymphocytes T régulateurs (CD25/CD152), à la population des cellules dendritiques (CD11cDR+ lin-), et leur état d'activation (DR) ou de différenciation (CD45RA/RO pour les lymphocytes et CD80, CD83, CD86, CD40 pour les cellules dendritiques) sera recherchée. Le marqueur APO 2.7 permet de préciser le pourcentage de lymphocytes viables dans le produit de thérapie cellulaire.

poche de culture afin d'obtenir environ 10⁹ lymphocytes qui sont alors injectés au patient (figure 5). L'immunosurveillance des patients et l'évaluation phénotypique et fonctionnelle du produit de thérapie cellulaire sont effectuées de façon répétée tout au long du protocole (tableau I). Cela devrait nous permettre d'évaluer les réponses cliniques objectives, de les mettre en relation avec les caractéristiques immunologiques du produit de thérapie cellulaire, ainsi qu'avec le statut immunitaire du patient avant et après l'injection de celui-ci (essai clinique en cours, autorisé par l' Afssaps le 9/04/02).

Il faut noter que, actuellement, nous n'avons pas connaissance d'essais cliniques de réinjection de lymphocytes ainsi éduqués *in vitro*. L'objectif de ce type de thérapie cellulaire est d'injecter une grande quantité de cellules de nature polyclonale, ce qui devrait permettre de bénéficier à la fois des capacités lytiques des T CD8 et de l'effet *helper* des T CD4. De plus, elle permet de favoriser l'émergence de lymphocytes cytotoxiques spécifiques d'antigènes, connus ou non, provenant de la tumeur autologue permettant d'agir sur différents clones de cellules tumorales au sein d'une même tumeur.

De nombreuses stratégies d'immunothérapie du cancer sont actuellement en évaluation dans des essais cliniques. Seul un immunomonitoring précis, corrélé à l'évolution clinique des patients et à l'évaluation la plus performante possible du produit de thérapie cellulaire permettra l'émergence d'une thérapie cellulaire antitumorale efficace.

Références

1. Figlin RA, Thompson JA, Bukowski RM, *et al.* Multicenter, randomized, phase III trial of CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in combination with recombinant interleukin-2 in metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1999 ; 17 : 2521-9.
2. Atzpodien J, Lopez Hanninen E, Kirchner H, *et al.* Multiinstitutional home-therapy trial of recombinant human interleukin-2 and interferon alfa-2 in progressive metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1995 ; 13 : 497-501.
3. Patard JJ, Brasseur F, Gil-Diez S, *et al.* Expression of mage genes in transitional cell carcinomas of urinary bladder. *Int J Cancer* 1995 ; 64 : 60-4.
4. Nakano O, Sato M, Naito Y, *et al.* Proliferative activity of intratumoral CD8+ T-lymphocytes as a prognostic factor in human renal cell carcinoma : clinicopathologic demonstration of antitumor immunity. *Cancer Res* 2001 ; 61 : 5132-6.
5. Wang RF. The role of MHC classII-restricted tumor antigens and CD4+ T cells in antitumor immunity. *Trends Immunol* 2001 ; 22 : 269-76.
6. Traversari C, van der Bruggen P, Luescher IF, *et al.* A nonapeptide encoded by human gene MAGE-1 is recognized on HLA-A1 cytolytic lymphocytes directed against tumor antigen MZ2-E. *J Exp Med* 1992 ; 176 : 1453-7.
7. Kugler A, Stuhler G, Walden P, *et al.* Regression of human metastatic renal cell carcinoma after vaccination with tumor cell-dendritic cell hybrids. *Nat Med* 2000 ; 6 : 332-6.
8. Brossart P, Stuhler G, Flad T, *et al.* Her-2/neu-derived peptides are tumor-associated antigens expressed by human renal cell and colon carcinoma lines and are recognized by *in vitro* induced specific cytotoxic T lymphocytes. *Cancer Res* 1998 ; 58 : 732-6.
9. Groh V, Rhinehart R, Randolph-Habecker, *et al.* Costimulation of CD8 alpha, beta cells by NKG2D *via* engagement by MIC induced on virus-infected cells. *Nat Immunol* 2001 ; 2 : 255-60.
10. Schleinitz N, Dignat-George F, Sampol J, *et al.* Les cellules *natural killer*. *Revue française des laboratoires* 2002 ; 341 : 23-30.
11. Catros-Quemener V, Bouet F, Genetet N. Immunité antitumorale et thérapies cellulaires du cancer. *Med Sci* 2003 ; 19 : 43-53.
12. Amigorena S. Présentation antigénique par les cellules dendritiques. *Med Sci* 1999 ; 15 : 931-8.
13. Imler JL, Hoffmann JA. Toll receptors in *Drosophila* : a family of molecules regulating development and immunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002 ; 270 : 63-79.
14. Kanellopoulos J, Ojcius DM. La notion de danger. *Med Sci* 2000 ; 16 : 865-73.
15. Matzinger P. An innate sense of danger. *Ann NY Acad Sci* 2002 ; 961 : 341-2.
16. Groux H. An overview of regulatory T cells. *Microbes et infection* 2001 ; 3 : 883-9.
17. Homey B, Müller A, Zlotnik A. Chemokines : agents for the immunotherapy of cancer ? *Nature Rev* 2002 ; 2 : 175-84.
18. Genetet N. *Immunologie biologique médicale*. Cachan : Médicales Internationales, 2002.
19. Chouaib S, Asselin-Paturel C, Mami-Chouaib F, *et al.* The host-tumor immune conflict : from immunosuppression to resistance and destruction. *Immunol Today* 1997 ; 18 : 493-7.

20. Yee C, Riddell SR, Greenberg PD. *In vivo* tracking of tumor-specific T cells. *Curr Opin Immunol* 2001 ; 13 : 141-6.
21. Ibrahim EC, Guerra N, Lacombe MJ, *et al.* Tumor-specific up-regulation of nonclassical class I HLA-G antigen expression in renal carcinoma. *Cancer Res* 2001 ; 61 : 6838-45.
22. Atzpodien J, Hoffmann R, Franzke M, *et al.* Thirteen-year, long-term efficacy of interferon 2alpha and interleukin 2-based home therapy in patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer* 2002 ; 95 : 1045-50.
23. Heinzer H, Huland E, Huland H. Regional immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma. *Urologe A* 2002 ; 41 : 239-48.
24. Chang AE, Li Q, Jiang G, *et al.* Phase II trial of autologous tumor vaccination, anti-CD3-activated vaccine-primed lymphocytes, and interleukin-2 in stage IV renal cell cancer. *J Clin Oncol* 2003 ; 21 : 884-90.
25. Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, *et al.* A phase I study of nonmyeloablative chemotherapy and adoptive transfer of autologous tumor antigen-specific T lymphocytes in patients with metastatic melanoma. *J Immunother* 2002 ; 25 : 243-51.
26. Childs R, Drachenberg D. Allogenic stem cell transplantation for renal cell carcinoma. *Curr Opin Immunol* 2001 ; 11 : 495-502.
27. Holtl L, Zelle-Rieser C, Gander H, *et al.* Immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma with tumor lysate-pulsed autologous dendritic cells. *Clin Cancer Res* 2002 ; 8 : 3369-76.
28. Brossart M. Dendritic cells in vaccination therapies of malignant disease. *Transfus Apheresis Sci* 2002 ; 27 : 183-6.
29. Mulders P, Tso CL, Gitlitz B, *et al.* Presentation of renal tumor antigens by human dendritic cells activates tumor-infiltrating lymphocytes against autologous tumor : implications for live kidney cancer vaccines. *Clin Cancer Res* 1999 ; 5 : 445-54.
30. Nair SK, Morse M, Boczkowski D, *et al.* Induction of tumor-specific cytotoxic T lymphocytes in cancer patients by autologous tumor RNA-transfected dendritic cells. *Ann Surg* 2002 ; 235 : 540-9.