

Activité antitumorale des lymphocytes Natural Killer dans le Neuroblastome et le Sarcome GastroIntestinale (GIST): le rôle de NCR3/NKp30

Introduction : Depuis l'introduction des premiers agents alkylants pour le traitement du cancer en 1940, des efforts énormes ont été conduits à fin de pouvoir cibler plus finement les cellules cancéreuses. Plusieurs évidences cliniques ont démontré que la cellule tumorale, après avoir répondu en phase d'induction à la chimiothérapie, présente, ensuite une période de latence et, en suite, développe des mécanismes de résistance qui vont être responsables de la rechute de la maladie.

La mise en évidence d'altérations moléculaires dans les cellules cancéreuses a permis, en décrivant mieux la maladie, d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques, puis de développer des thérapies ciblées contre celles-ci. Dans les deux dernières décennies le monde scientifique a effectué une révolution dans le traitement du cancer avec la découverte des « thérapie ciblée ». Les thérapies ciblées sont des médicaments qui ciblent spécifiquement une protéine ou un mécanisme impliqué dans le développement de la tumeur. Les anticorps monoclonaux comme l'Avastin (anti-VEGF) et les anti tyrosine kinase comme l'Imatinib Mesylate, sont les premiers traitements ciblés qui ont permis de révolutionner les décours de certaines pathologies tumorales comme la Leucémie Myéloïde Chronique (CLL) ou le Sarcome Gastro-Intestinale (GIST). Actuellement on dispose de nombreuses molécules aptes à cibler oncogènes ou gènes mutés dans les tumeurs.

Malheureusement, la tumeur peut développer d'autres altérations moléculaires qui déterminent la résistance de certains patients à des thérapies ciblées, malgré la présence de la cible dans la tumeur.

L'immunothérapie passive constitue un volet important des thérapies ciblées avec les anticorps monoclonaux dirigés vers différentes protéines surexprimées sur les cellules tumorales. Cependant le concept d'immunothérapie pose sur des bases historiques bien plus anciennes. Il y a plus d'un siècle, des médecins ont constaté que le système immunitaire pouvait ralentir la progression d'un cancer. Une infection sur le site d'une tumeur activait une réponse immunitaire qui luttait contre les envahisseurs bactériens, tout en permettant de diminuer la taille de la tumeur.

D'autres ont noté qu'il n'était même pas nécessaire que l'infection soit au même endroit que la tumeur. Les patients chez qui une maladie infectieuse avait provoqué une forte fièvre profitaient parfois d'une régression de leur cancer. Ces observations ont poussé d'autres chercheurs du XIXe siècle, comme William B. Coley, à développer des traitements à base d'injections de cocktails bactériens.

A la fin du siècle, Paul Ehrlich, émit l'hypothèse que le corps produisait des molécules capables de combattre les tumeurs. Mais, malgré ces succès, la compréhension du fonctionnement du système immunitaire restait très incomplète. Les immunothérapies contre le cancer finirent par passer au second plan par rapport aux chimiothérapies et aux radiothérapies. La « phase de la Renaissance » de l'immunothérapie est donc commencé avec les anticorps monoclonaux ; depuis plusieurs drogues aptes à intervenir sur les système immunitaire ont été testé; pendant le dernier congrès de la Société Américaine d'Oncologie Clinique (ASCO), les essais thérapeutiques avec des immunothérapie comme l'anti-PD1 ou l'anti CTLA-4, ont mis en évidence des résultats spectaculaires dans des pathologie chimio résistants comme les mélanome métastatiques.

Les différentes études d'immunothérapie nous ont démontré que la réponse thérapeutique peut être hautement variable et ceci est probablement dû à l'interaction hôte-tumeur. Les cellules tumorales sont en fait capables de modifier le microenvironnement circonstants à fin d'induire des effets modifiant la tumeur. L'action de la tumeur sur les cellules du système immunitaire induit un mécanisme d'échappement à la reconnaissance immune, avec une conséquente progression tumorale.

Les cellules impliquées dans l'immunité innée constituent une première barrière pour éliminer les cellules tumorales, mais elle n'a pas la capacité d'installer un état immunitaire mémoire spécifique capable de prévenir la récurrence ou la formation de métastases. Au cours de la réponse immune adaptative, des lymphocytes T spécifiques reconnaissent les peptides exposés à la surface des cellules présentatrices d'antigènes. Cette interaction conduit à l'activation de ces lymphocytes mais aussi à la génération de cellules mémoires. L'infiltration de certaines tumeurs par des cellules lymphoïdes (lymphocytes T, cellules Natural Killer NK) est considérée comme le signe d'un pronostic favorable.

Plusieurs études ont mis en évidence l'association d'un infiltrat immunitaire spécifique et la survie libre de maladie (EFS). Les lymphocytes Natural Killer (NK) constituent une composante majeure de l'immuno-surveillance innée dans plusieurs cancers hématologiques et solides. L'activité des lymphocytes NK passe principalement par une grande variété de récepteurs avec un rôle activateur ou inhibiteur. Parmi les récepteurs activateurs présents à la surface des lymphocytes NK, le récepteur NCR3/NKp30 a un rôle majeur dans la toxicité directe contre la cellule cible et dans l'activation des cellules dendritiques.

Nous avons étudié le rôle et les caractéristiques des lymphocytes natural killer dans 2 pathologies tumorales sensibles à l'immuno-surveillance par les lymphocytes NK: le neuroblastome (NB) et le Sarcome gastro-intestinale (GIST).

GIST : Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) sont les cancers mésoenchymateux les plus fréquents du tube digestif. Des mutations somatiques hyper-fonctionnelles du proto-oncogène c-kit sont retrouvées dans 85 % des GIST et aussi des mutations de la chaîne alpha du récepteur au PDGF (PDGFRA) ont été décrites dans 35 % des GIST qui n'ont pas de mutations kit. STI 571 (Gleevec, Imatinib-IM) est une drogue qui bloque la phosphorylation du substrat tyrosine kinase qui est constitutivement activé dans les GIST. IM permet le contrôle de la maladie, c'est-à-dire des réponses cliniques objectives et stables chez 80 % des patients souffrant de GIST. Les tumeurs GIST qui ont une mutation dans l'exon 11 (76 % des patients) ont la plus forte réponse clinique objective. Plusieurs observations montrent que STI 571 peut induire un effet antitumoral par un mode d'action autre que l'effet direct sur les cellules portant les mutations c-kit. En effet, certaines GIST présentant une très faible expression de kit répondent à STI 571. Borg et al dans notre laboratoire ont précédemment démontré que l'IM en plus de son effet anti-tumoral direct sur les cellules exprimant le c-kit muté, agit indirectement sur les cellules de l'hôte pour induire une réponse anti-tumorale. IM agit sur les DC de l'hôte pour induire une activation des cellules NK et assurer un effet anti-tumoral dépendant des cellules NK chez la souris. De plus les auteurs ont démontré que les patients porteurs de GIST et sous traitement par STI 571 développent une activation des cellules NK qui corrèle avec la réponse clinique (diminution de la tumeur et survie à long terme). Dans une étude plus récente notre équipe a étudié les caractéristiques du récepteur activateur NKp30 : ce récepteur est down-régulé sur les lymphocytes NK circulantes des patients atteints par GIST. L'étude conduite a démontré que l'épissage alternatif du gène

NCR3/NKp30 peut être déterminant dans la fonction NK et dans la survie des patients atteints de GIST. Plus en détail, l'épissage alternatif de l'exon 4 peut amener à 3 différentes isoformes NKp30 qui se différencient par leur partie intracellulaire et pour leurs fonctions. En fait, NKp30a et NKp30b sont des récepteurs pro-inflammatoires et pro-cytotoxiques, par contre l'isoforme NKp30c est plutôt immunosuppressive et après activation induit la production de la cytokine immuno-toléro-gène IL-10.

ARTICLE 1 : Afin de caractériser les lymphocytes infiltrant le GIST, nous avons effectué une recherche visant à analyser l'infiltrat des lymphocytes CD3+, des lymphocytes T régulateurs (Treg) et des lymphocytes NK dans des tumeurs GIST localisées, et corréler ces résultats à la survie des patients. Nous avons mis en évidence que, avant traitement, les lymphocytes NK sont surtout localisés au niveau des fibres trabéculaires qui entourent la tumeur, alors que les lymphocytes T sont localisés à l'intérieur de la tumeur en contact avec les cellules tumorales qui expriment HLA-I.

Nous avons aussi observé que les cellules NK ont un phénotype plutôt CD56^{bright} et migrent à l'intérieur de la tumeur après traitement par Imatinib. L'analyse de survie a mis en évidence que les lymphocytes NK et T peuvent prédire la survie sans progression (PFS). Ces résultats mettent en évidence l'importance de l'infiltrat immunitaire dans la prédiction du risque de rechute dans le GIST et soulignent l'importance de viser une réponse immunitaire dans les protocoles thérapeutiques.

Le NEUROBLASTOME (NB) Le NB est la tumeur solide extra-crânienne la plus fréquente chez le jeune enfant. C'est un cancer touchant des cellules embryonnaires de la crête neurale qui constitue le système nerveux autonome sympathique. Le NB de haut grade (HR-NB) est caractérisé par une diffusion métastatique au niveau de la moelle osseuse et/ou par l'amplification de l'oncogène MYCN. Malgré un traitement intensif de la forme de haut grade, le pronostic de ces enfants est très sombre (environ 40%EFS).

Le système immunitaire joue un rôle très important dans le NB : plusieurs mécanismes d'évasion immunitaire ont été décrits, les études in vitro ont démontré l'importance des cellules NK dans la reconnaissance et l'élimination des cellules de NB.

Nous avons déterminé la proportion de lymphocytes NK dans le sang périphérique et dans la moelle dans une cohorte de Neuroblastome (NB) localisé et métastatique : une infiltration plus importante par les NK CD56^{bright} a été observée chez les patients présentant une maladie métastatique et chez les patients avec une réponse mineure au traitement d'induction. De plus, les NK présents dans les échantillons de moelle osseuse infiltrés par les neuroblastes, présentaient une expression plus basse du récepteur NKp30. L'expression du ligand de NKp30, B7-H6, a été mise en évidence sur les neuroblastes infiltrant la moelle osseuse, et sa forme soluble, sB7-H6, a été retrouvée être positivement corrélée à l'extension de maladie et à la réponse au traitement d'induction.

L'analyse de l'épissage alternatif du gène NCR3/NKp30 a permis de mettre en évidence l'impact des isoformes NKp30 sur la survie sans progression chez les patients atteints de NB de haut risque en maladie minimale résiduelle après chimiothérapie d'induction. En particulier, les patients présentant un taux élevé de l'isoforme pro-inflammatoire (NKp30b) par rapport à l'isoforme immunosuppressive (NKp30c), présentent une meilleure survie sans événement. Nous avons aussi démontré le rôle des monocytes dans l'amplification de la réponse NKp30 dépendante.

Les résultats de notre recherche dans le GIST et dans le NB, deux maladies différentes mais toutes les deux sensibles aux lymphocytes NK, soulignent l'importance d'intégrer de nouvelles options thérapeutiques aptes à cibler le système immunitaire. En particulier, les patients porteurs de l'isoforme NKp30c pourraient bénéficier du traitement par HDACs inhibiteurs ou agents deméthylants qui peuvent agir au niveau de l'épissage alternatif de l'exon 4 du gène NCR3, ou d'anticorps anti-IL-10.

Les deux tumeurs pourraient bénéficier d'une activation NK par administration de cytokines comme l'IL-15 et l'IFN α en association à des drogues immuno-modulatrices telles que le Gleevec et la cyclophosphamide.