

Master 2: Biochimie-Immunologie



SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



# Biothérapies Moléculaires et Cellulaires

Mme. Ahras-Sifi N

2022-2023



# Biothérapie?

# Biothérapie?

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



- Méthode thérapeutique basées sur l'utilisation de molécules conçues à partir d'un organisme vivant (levures, bactéries)
- Ou de substances prélevées sur des organismes vivants (hormones, extraits d'organes ou de tissus, anticorps, interleukines...).
- Par opposition à la chimiothérapie, où l'on utilise des substances de synthèse.

Médicament biologique

*loi n° 2007-248 du 26 février 2007*

*transposant la directive européenne n° 2004/27/CE  
du Parlement européen et du Conseil*

# *Un marché des biothérapies en pleine croissance*

SAHLA MAHLA



En 2017, 4 nouveaux médicaments sur 10 étaient des biomédicaments.

On estime que d'ici 2024, la majorité des nouveaux médicaments devraient être des biomédicaments.

Ces derniers représentent actuellement la moitié des essais cliniques en cours et un quart du marché mondial du médicament (240 milliards de dollars environ)

# Biothérapie?

## SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



Concept d' **Immunothérapie ciblée**

Développement d'outil biologique dirigé contre une cible spécifique de la réaction immunitaire.



Savoir **identifier une cible thérapeutique** très spécifique pour **agir au cœur de la maladie**, si possible, éviter les effets collatéraux.



Avoir la capacité de **créer des outils biologiques**  
(anticorps monoclonaux ou des protéines de fusion)

# Comment naît une biothérapie?

1

Explorer les mécanismes moléculaires de la maladie

2

Décrypter un processus physiopathologique

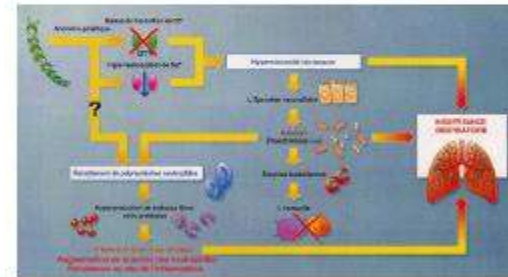
3

Identification d'une cible clé dans le développement de la maladie

4

Développement de la forme thérapeutique la plus adaptée pour agir sur cette cible,

DIU 04Mar2016



# Forme thérapeutique

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



cellules souches



genes



- **Thérapie génique**
- **Thérapie moléculaire**
- **Anticorps (Ab)**
- **Cytokines**
- **Protéines recombinantes...**
- **Thérapie cellulaire**
- **Cellules souches**
- **Thérapie tissulaire**



**PROGRAMME**

**SAHLA MAHLA**

المصدر الأول للطالب الجزائري



**Partie I: Biothérapies moléculaires**

**Partie II: Biothérapies cellulaires**





# **Biothérapies moléculaires**

## ➤ Conception des médicaments

- **Les grandes étapes de l'histoire des médicaments :**

d'un principe actif dans un milieu complexe (ex: extrait végétal) à la molécule biologique active (ex : anticorps).

المصدر الأول للطالب الجزائري



**Préhistoire : «Médecine » empirique**

-3000 -> XVIII<sup>e</sup> s : plantes médicinales, tissus animaux, et dérivés



XIX<sup>e</sup> s ->: chimie de synthèse ou d'hémisynthèse

**Molécules de synthèse (chimie organique)**

EXP: Insuline humaine le premier médicament dérivé de l'ADN recombiné, a été approuvée par laboratoire Eli Lilly par le Royaume-Uni 1982

**XX<sup>e</sup> s ->: « Biotechnologies »**

**Molécules biologiques (ADN, protéines)**

**Principe  
actif**

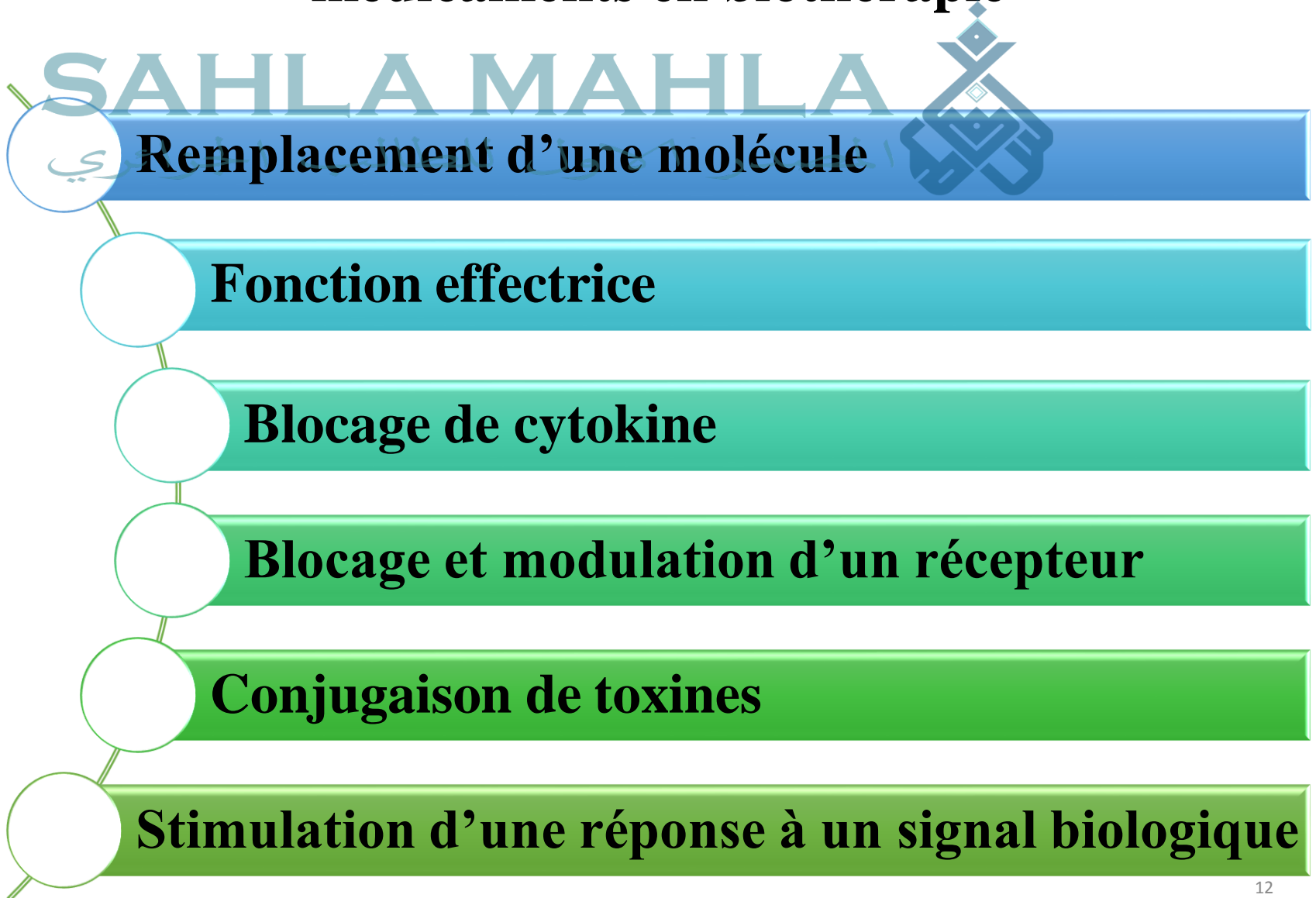
Aujourd'hui il existe plus de 170 biothérapies

**Biothérapie = Biotechnologie**

# Avantages et inconvénients des protéines médicaments en fonction de leur origine

ORIGINE	AVANTAGE	INCONVÉNIENT	EXEMPLE
Extraction à partir de fluides ou tissus animaux	<ul style="list-style-type: none"> <li>- non synthétisable par chimie</li> <li>- source alternative aux biotechnologies</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- quantité trop faible pour extraire</li> <li>- contamination biologique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- albumine, FVIII, FIX, protéine C</li> <li>- anticorps</li> <li>- FSH/LH/hCG...</li> </ul>
Synthèse chimique	<ul style="list-style-type: none"> <li>- petits peptides</li> <li>- pas de contamination biologique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- complexe, non rentable pour gros peptide</li> <li>- pas de glycosylation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- desmopressine</li> </ul>
Protéine issue des biotechnologies	<ul style="list-style-type: none"> <li>- protéines non extractibles</li> <li>- source alternative aux extractifs</li> <li>- protéines chimères</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- compromis entre qualité et quantité</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- EPO, IFN, G-CSF, GH...</li> <li>- anticorps monoclonaux</li> <li>- FSH/LH</li> <li>- FVIII...</li> </ul>

# Mécanismes utilisés pour le développement de médicaments en biothérapie



# A. Remplacement d'une molécule

Exemple 1

SAHLA MAHLA



- L'**insuline** pour le contrôle du diabète est considérée comme l'exemple le plus ancien pour la thérapie de remplacement hormonal depuis sa découverte il y a plus de 80 ans.
- Le développement de **l'insuline recombinante** au début de 1980 élimine les effets secondaires posés par les produits extraits de bovins et de porc.
- Depuis lors, de nouvelles générations **d'analogues d'insuline** tels que des **analogues à action rapide** et des **analogues à longue durée** de vie ont été produites.

## A. Remplacement d'une molécule



- Le **facteur VIII recombinant, la VIIa et l'IX** jouent un rôle important dans la coagulation sanguine et sont utilisés pour les personnes qui sont génétiquement déficientes (hémophilie) ou ont subi une perte de sang lors d'une intervention chirurgicale ou d'un traumatisme.

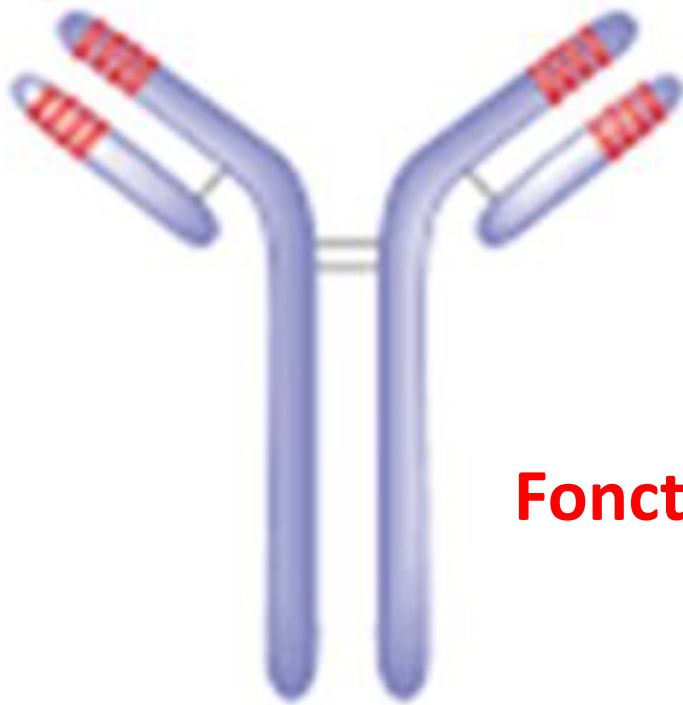
## B. Fonctions effectrices

- Rappel: fonctions générales des Ig:

SAHLA MAHLA  
المصدر الأول للطالب الجزائري



Liaison à l'antigène



Fonctions effectrices

## B. Fonctions effectrices

SAHLA MAHLA



- Rappel: fonctions générales des Ig: المصدر
- **Liaison à l'antigène**
- Les immunoglobulines se lient de façon spécifique à un antigènes apparenté.
- La liaison à l'antigène est la première fonction des anticorps qui, en tant que telle, peut assurer une protection de l'hôte. (neutralisation)

**Souvent, la liaison de l'anticorps à l'antigène ne conduit à aucun effet biologique direct.**



## B. Fonctions effectrices

SAHLA MAHLA

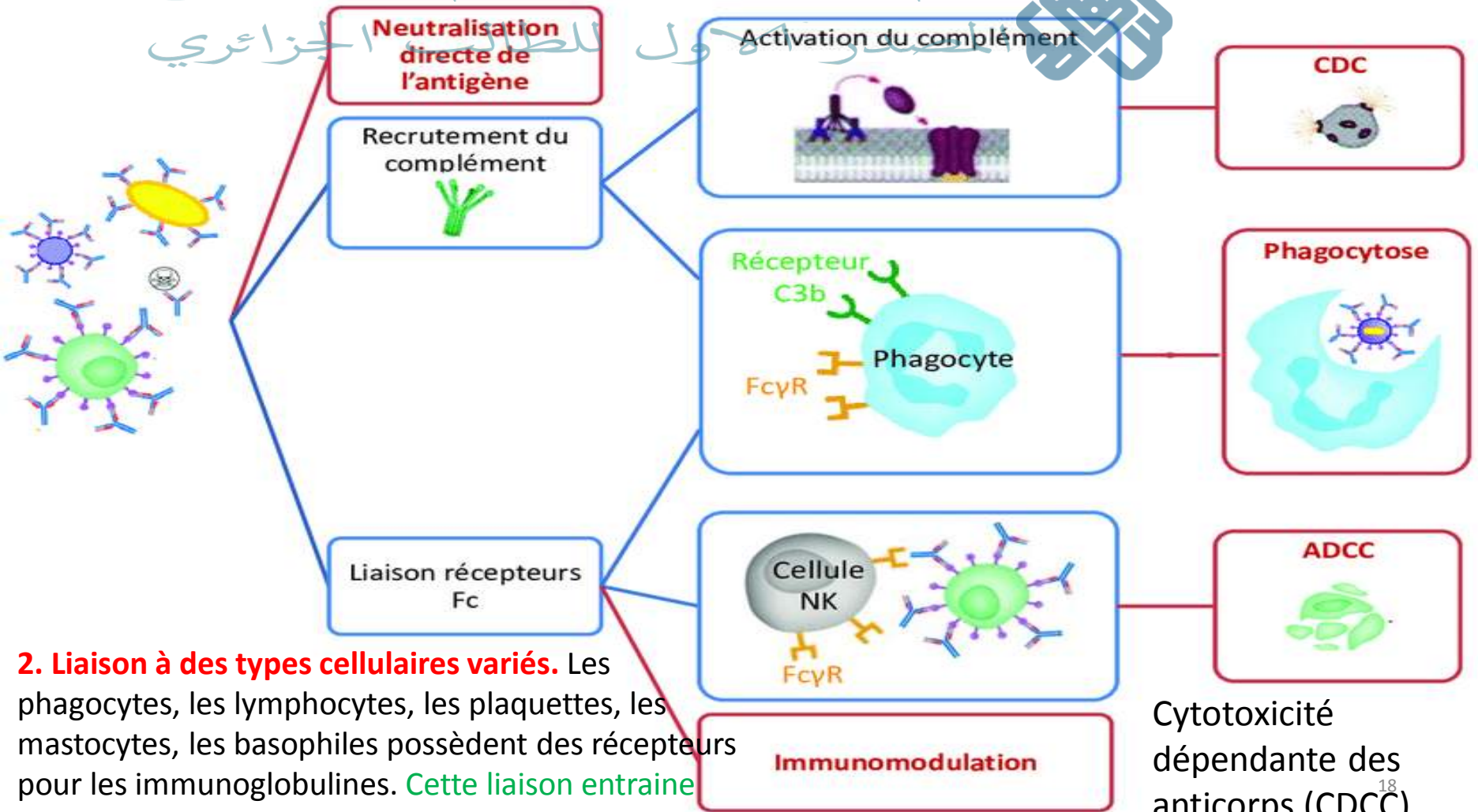


- **Fonctions effectrices**

- Les effets biologiques importants des anticorps sont plutôt la conséquence de fonctions effectrices. Pour qu'une fonction effectrice soit mise en œuvre, il faut que l'anticorps se lie à l'antigène.

**1. Fixation du complément.** Cela conduit à la lyse des cellules et au relâchement de molécules biologiquement actives.

Cytotoxicité dépendante du complément (CDC)



Cytotoxicité dépendante des anticorps (CDCC)

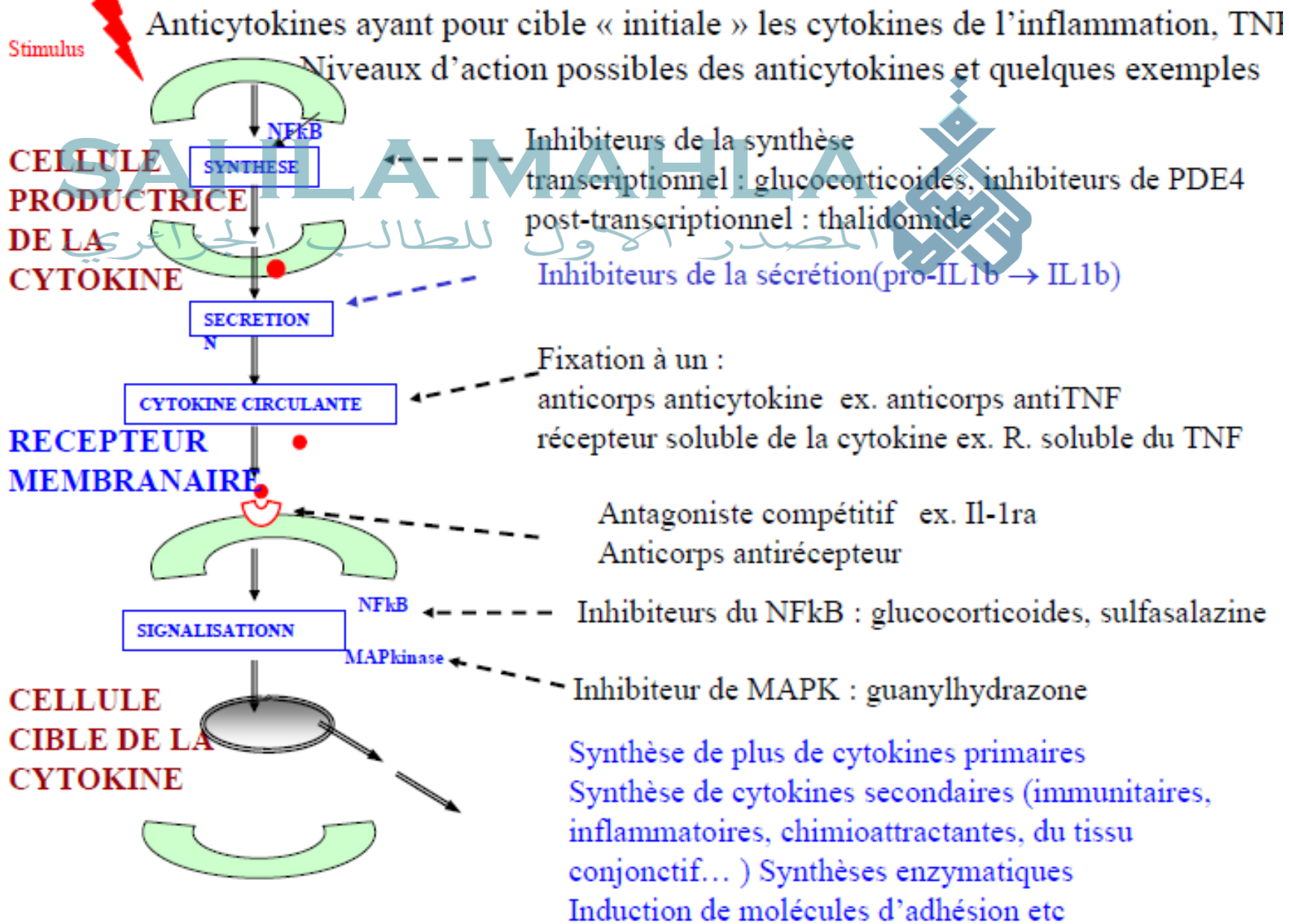
## C. Blocage de cytokine

- Les **antagonistes du facteur de nécrose tumorale (TNF)**, tels que **l'infliximab, adalimumab, golimumab, certolizumab** sont actuellement la classe la plus réussie de médicaments biothérapeutiques pour les maladies inflammatoires.

Un **mode d'action** majeur pour ces antagonistes soit **bloquent le TNF soluble** soit **le récepteur** .

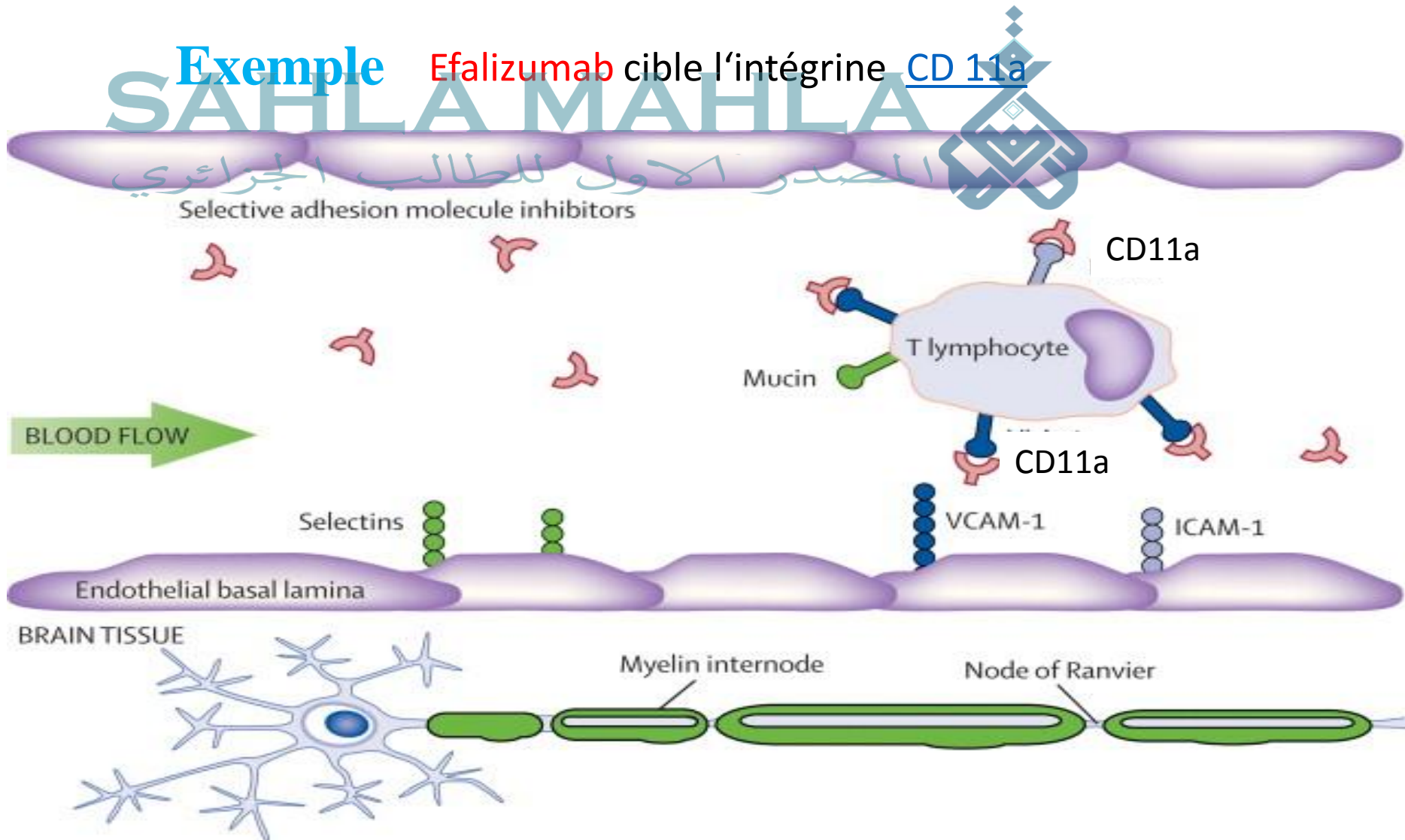
- **canakinumab (Anti- IL-1)**, la **cryopyrine** et **ustekinumab (anticorps anti-IL-12 / IL-23)** pour le traitement du psoriasis.

## MECANISMES D'ACTION DES ANTICYTOKINES



# D. Blocage et modulation d'un récepteur

**Exemple** Efalizumab cible l'intégrine [CD 11a](#)



## E. Conjugaison de toxines



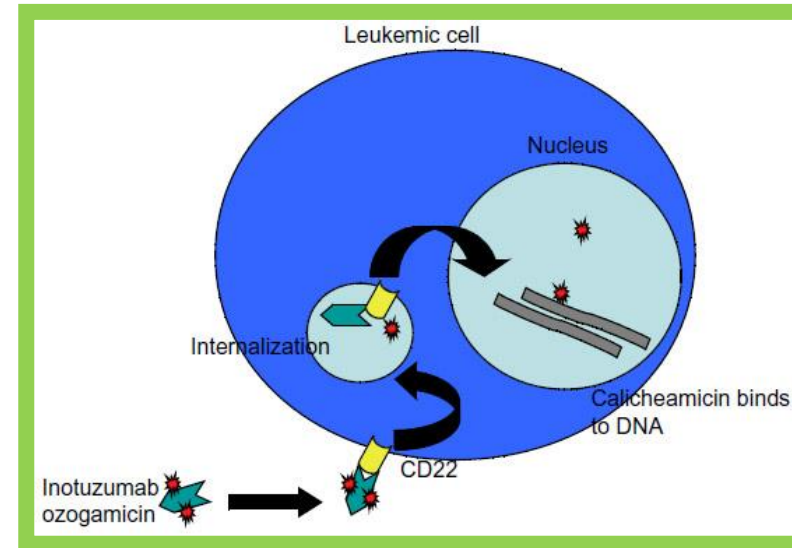
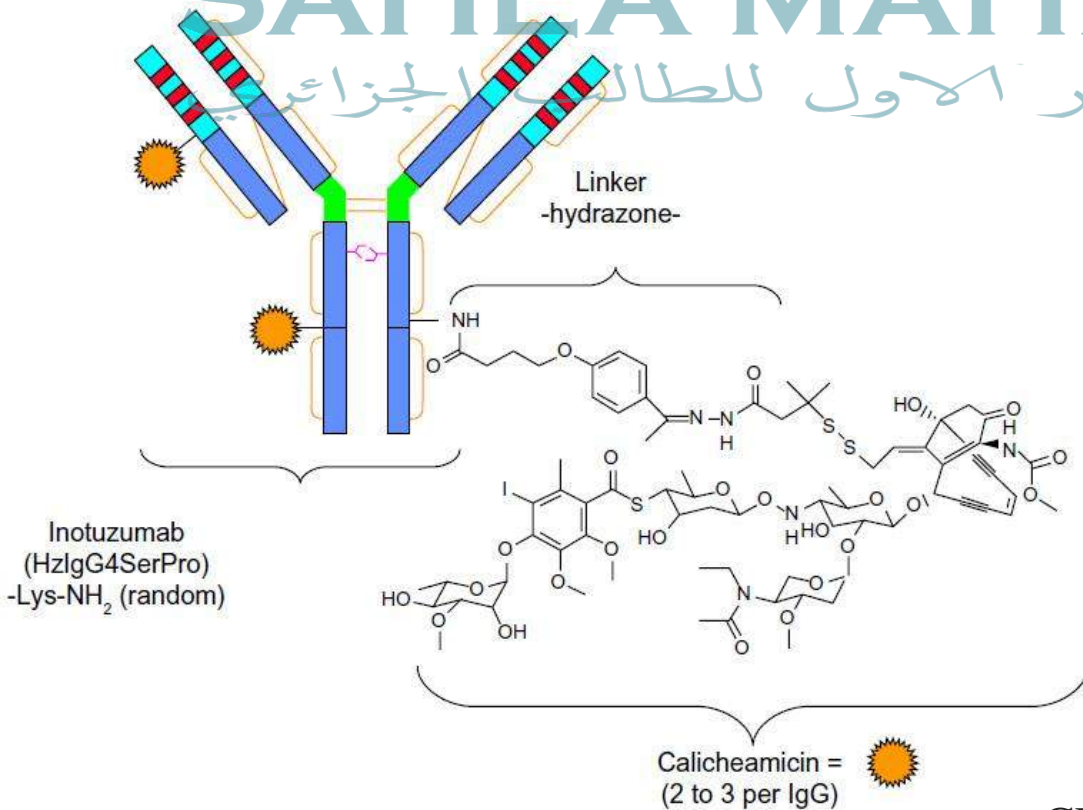
Une livraison ciblée de la toxine dans les cellules tumorales et provoque une activité anti-tumorale spécifique

Exemple

# Inotuzumab ozogamicin

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



CD22 exprimé à la surface des cellules des leucémies aigues lymphoblastiques

## F. Stimulation des réponses au signal biologique

- **Romiplostim**, une protéine analogue de thrombopoïétine

SAHLA MAHLA  
المصدر الأول للطالب الجزائري



**Active le récepteur Tie2 de la régénération plaquettaire et la prolifération de leurs précurseurs (les mégacaryocytes)**



Traitement du purpura thrombocytopénique idiopathique chronique (maladie auto-immune due à une destruction des plaquettes).



# Exemples de Biothérapies dans les maladies inflammatoires

SAHLA MAHLA



Mécanisme d'action	Exemple molécule
Bloquer une cytokine pro-inflammatoire (TNF-alpha, IL-1) en utilisant soit un Ac monoclonal « inhibiteur artificiel », soit un récepteur soluble	Adalimumab (anti TNF-alpha) Infliximab (anti TNF-alpha) Anakinra (inhibiteur IL1) Etanercept
Inhibiteur capable de neutraliser une cellule : Eliminer lymphocyte B malins (lymphomes) , LB autoréactifs (lupus, PR..)	Rituximab
Neutraliser l'activité d'une cellule, en inhibant ses capacités de coopération	Abatacept Proteine de fusion (CTLA-4-Ig) : bloque les Lymphocytes T dans les maladies autoimmunes (Pr, Lupus,...)
Protéine recombinante ayant des pouvoirs anti-inflammatoires ou immunomodulateurs	IL-10 humaines recombinante utilisée dans la PR
Bloquer un mécanisme important de l'inflammation, bloque le recrutement des cellules proinflammatoires (inh de chémokines, inh de proteine d'adhésion) ou angiogénèse	En cours de développement dans les maladies inflammatoires
Favoriser un mécanisme régulateur (apoptose des cellules lymphocytaires anormalement activées)	



## Master 2: Biochimie-Immunologie



SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



# Biothérapies Moléculaires et Cellulaires

Mme. Ahras-Sifi N

2022-2023

SAHLAMAFIA

الجامعة الجزائرية



# Chapitre I : Biothérapies moléculaires et immunothérapie antitumorale

# Immunothérapie antitumorale ?

L'immunothérapie est une approche thérapeutique qui agit sur le système immunitaire d'un patient pour lutter contre sa maladie.

Dans le cas du cancer, elle ne s'attaque pas directement à la tumeur, mais stimule les cellules immunitaires impliquées dans sa reconnaissance et sa destruction.

Avant d'aborder les différentes stratégies d'immunothérapie employé dans le traitement des tumeurs nous allons dans ce chapitre tout d'abord voir les mécanismes de défense immunitaire contre les tumeurs et les mécanismes d'échappement :

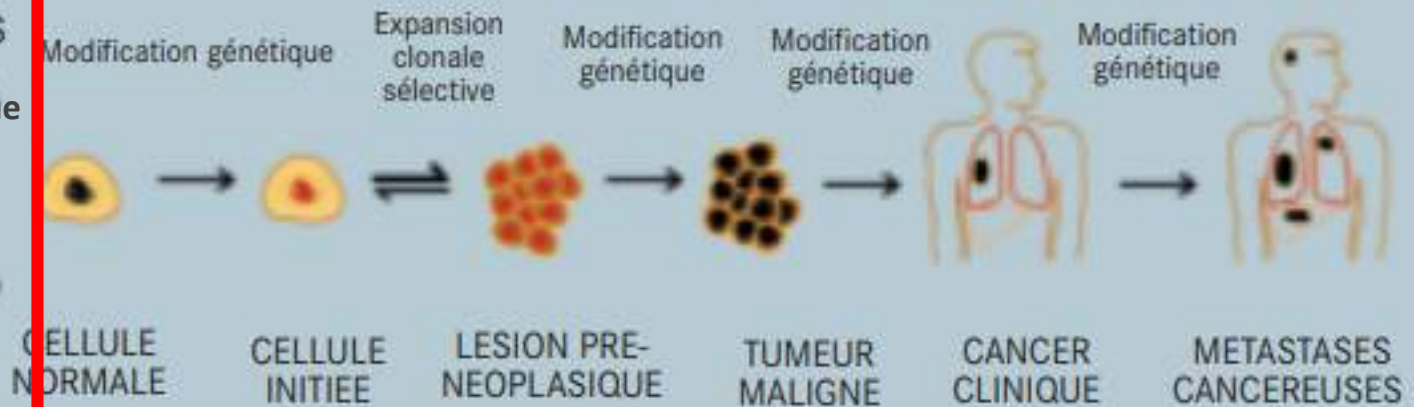
# 1. La réponse immunitaire anti-cancéreuse :

SAHLA  
المصالح  
الجزائري

Au cours de ce processus, la cellule développe :

- Des anomalies de la différenciation terminale
- Des anomalies du contrôle de la croissance
- Une résistance à la cytotoxicité
- des anomalies de l'apoptose

PRODUITS CHIMIQUES  
Inflammation chronique  
et stress oxydant  
VIRUS  
Origine génétique  
RAYONNEMENTS  
HORMONES



Ces étapes sont le résultat de :

- L'activation des proto-oncogènes
- l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeur
- l'inactivation des gènes assurant la stabilité du génome

# 1. La réponse immunitaire anti-cancéreuse :

**Trois mécanismes immunitaires semblent essentiels pour prévenir l'oncogenèse.**

SAHILA MAHILA  
المصدر الاول للطالب الجزائري



1. l'immunité peut protéger contre les infections virales et ainsi contre la formation de tumeurs viro-induites.
2. le système immunitaire peut permettre la résolution des phénomènes inflammatoires et du stress oxydant qui favorisent l'oncogenèse.
3. le système immunitaire peut être capable d'identifier des antigènes associés aux tumeurs (AAT) et de détruire directement les cellules tumorales. Ce phénomène est appelé “immuno-surveillance antitumorale”

Le développement d'une réponse immunitaire à toute agression antigénique se traduit par l'activation des deux systèmes de défense :

- **Une réponse innée**

Qui constitue la première ligne de défense qui implique les cellules Natural Killer (NK), les cellules dendritiques ou macrophagiques.

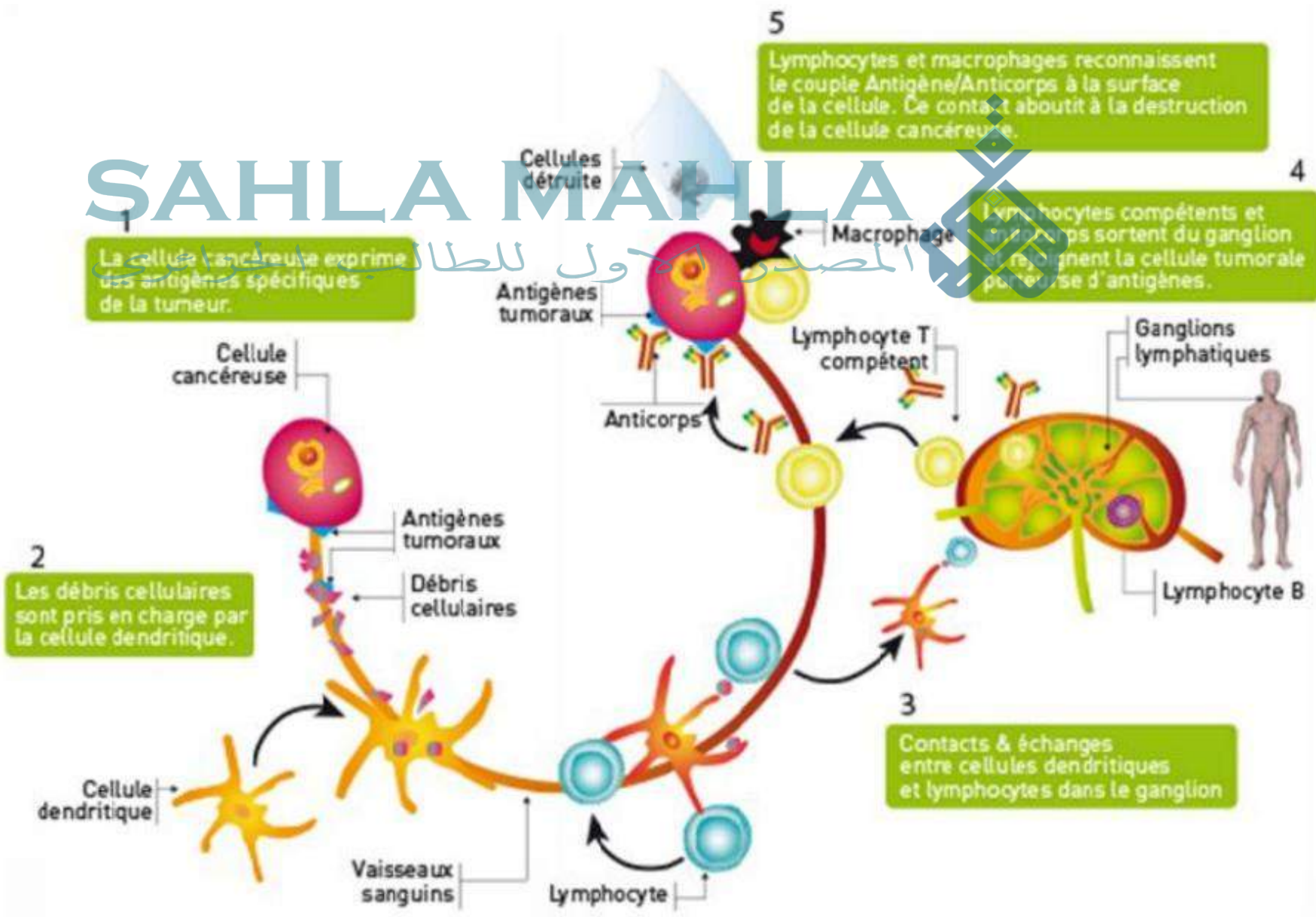
- **Une réponse spécifique ou adaptative**

Impliquant des réponses humorales (les lymphocytes B) et des réponses à médiation cellulaire (les lymphocytes T).

Comme toute réponse immunitaire, la réponse antitumorale adaptative nécessite pour son déclenchement l'activation par une CPA,

le plus souvent une CD présentant des Ag de tumeur. **Les cellules tumorales sont des cellules du soi et, de ce fait, bien qu'anormales, très faiblement inductrices de réponse, à cause de leur faible antigénicité.** Le rôle des CPA est donc crucial pour le développement d'une défense efficace.

# La réponse immunitaire anticancéreuse



SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب



## Les Natural Killer (NK):

Les cellules NK sont des cellules tueuses innées capables de tuer les cellules tumorales qui, contrairement aux cellules normales, n'expriment plus les molécules inhibitrices bloquant les fonctions tueuses des NK.

Cela se traduit souvent par **la sous-expression du CMH de classe 1** (un récepteur inhibiteur des NK) par les cellules cancéreuses.

Les cellules tumorales peuvent aussi **surexprimer des ligands de récepteurs activateurs des NK.**

## Les lymphocytes T :

Pour susciter des réponses antitumorales, les Ag tumoraux sont présentés par les CD dans le contexte du **CMH I pour activer les lymphocytes T cytotoxiques (CTL)**

**CD8+** et du **CMH II pour activer les cellules T auxiliaires CD4+**.

Deux types de cellules T auxiliaires sont impliqués : Th1 et Th2.

Les cellules Th1 ont de multiples fonctions, notamment la production d'interleukine (IL)-2 et d'interféron (IFN), qui favorisent une réponse immunitaire médiée par les CTL qui activent d'autres CTL pour reconnaître et tuer les cellules tumorales

Les cytokines généralement associées aux réponses immunitaires médiées par les anticorps et aux fonctions immunitaires suppressives sont produites par les cellules Th2.

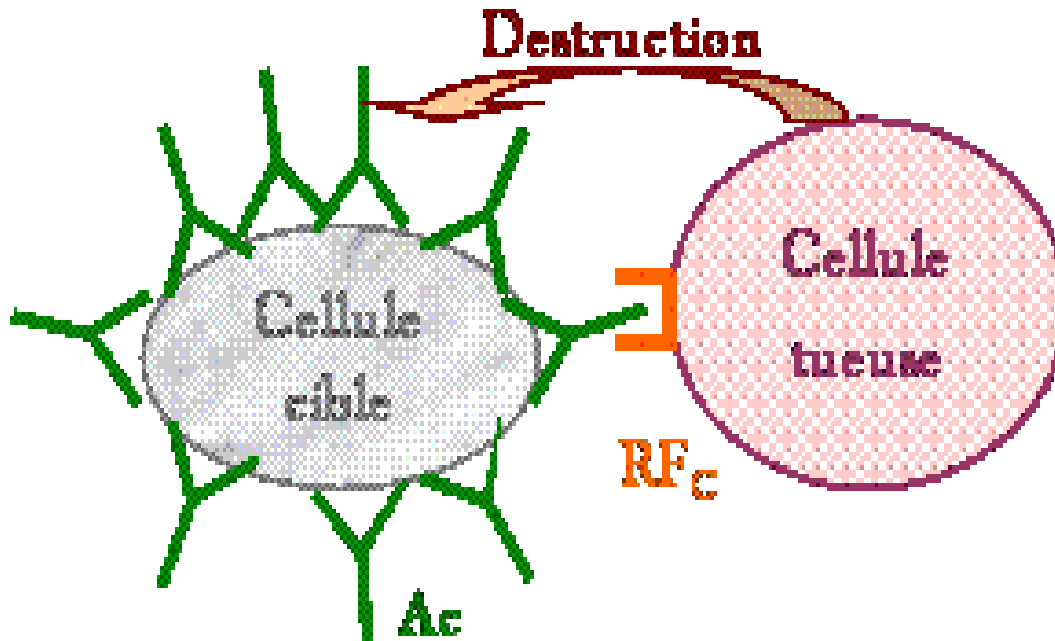
En effet, les LT CD4 de type Th2, qui produisent de l'IL-4, pourraient favoriser la croissance tumorale. Et les LT CD4 de type Th17 produisent de l'IL-17 et pourraient jouer un rôle délétère dans certains cancers en favorisant la résistance à l'apoptose et en induisant l'angiogenèse tumorale.

## Les lymphocytes B :

Différents mécanismes impliquent les Ac spécifiques des Ag tumoraux dans la mort des cellules tumorales.

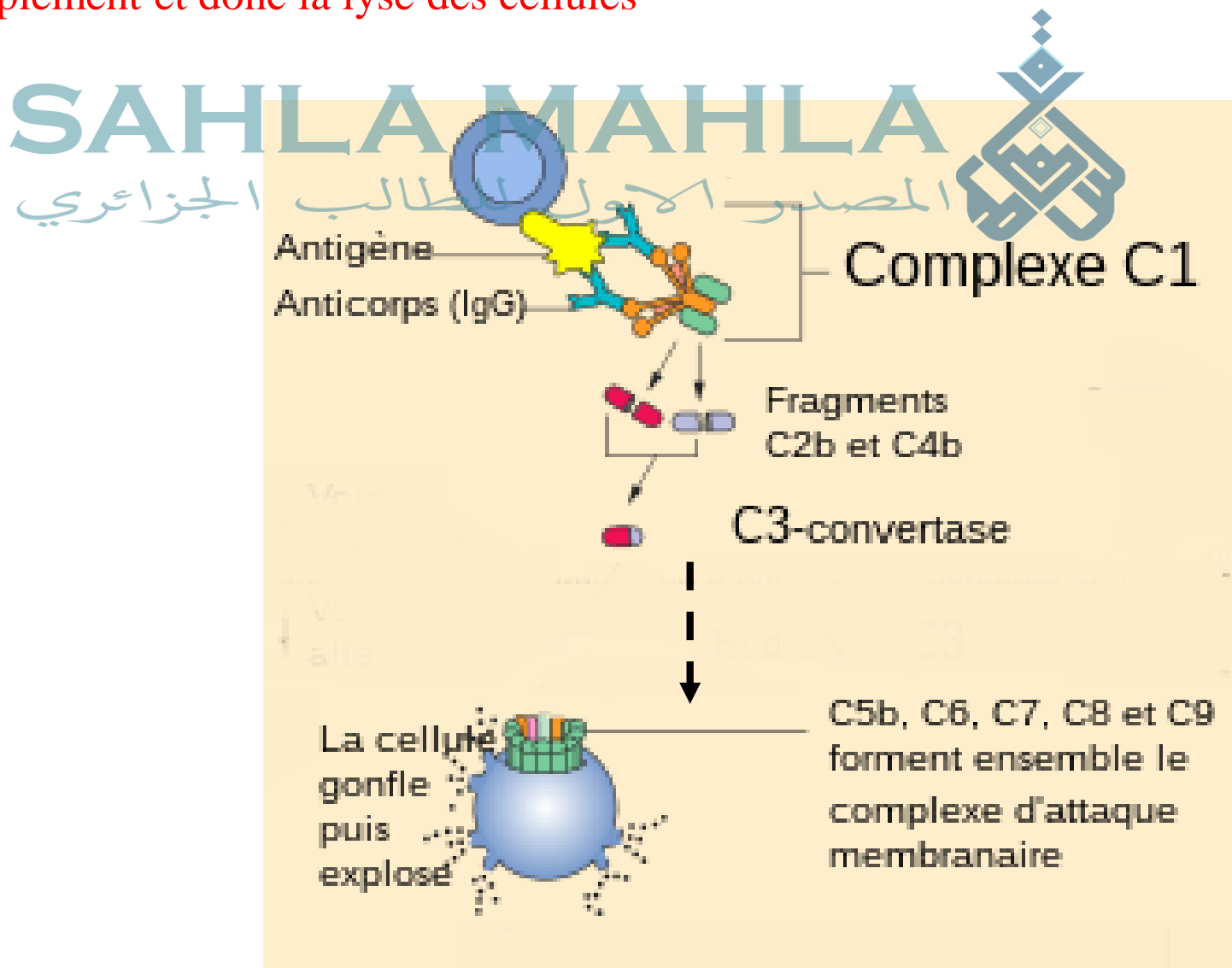
Le mécanisme principal est appelé “cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps”, ou ADCC (Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity).

Les anticorps liés aux cellules tumorales activent les cellules effectrices du système immunitaire. Les anticorps IgG se fixent via leur région Fc sur les récepteurs aux fragments Fc des macrophages ou des cellules NK



Cette fixation entraînant leur activation et la lyse des cellules tumorales.

La liaison des Ag de tumeurs aux Ac peut aussi entraîner la cascade classique du complément et donc la lyse des cellules



Cependant, malgré cette surveillance opérée par le système immunitaire, certaines cellules tumorales peuvent se développer.

SAHLA MAHLA

## 2. Les mécanismes d'échappement des cellules cancéreuses au système immunitaire :

- 2.1. Perte d'expression des antigènes de surface :
- 2.2. Altération de l'expression des molécules du CMH :
- 2.3. Dérégulation des signaux d'apoptose :
- 2.4. Cytokines immunosuppressives :
- 2.5. Apoptose des cellules T :
- 2.6. Cellules T régulatrices :
- 2.7. Etat d'anergie:

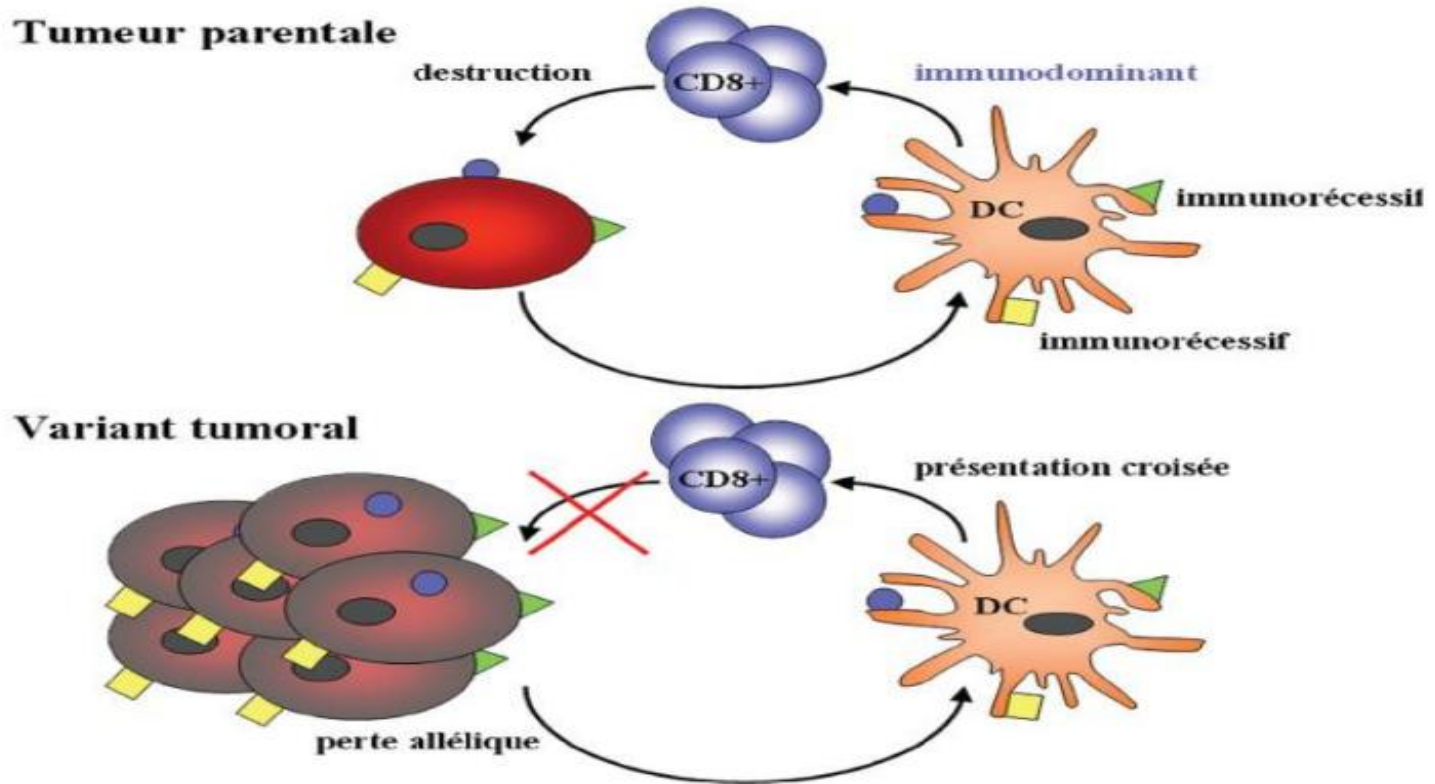
## 2.1. Perte d'expression des antigènes de surface :

Les mécanismes contrôlant la **diminution de l'expression des Ag tumoraux** ne sont pas totalement élucidés, mais ils pourraient être facilités par le concept d'**immunodominance des épitopes**

L'immunodominance est le phénomène immunologique dans lequel les réponses immunitaires sont montées contre seulement quelques-uns des peptides antigéniques parmi les nombreux produits

Cet épitope présent sur les populations tumorales parentales va entraîner une réponse immunitaire antitumorale spécifique.

Après destruction de la population parentale, une nouvelle hiérarchie s'établit entre les variants résistants, aboutissant à la transformation d'épitope immunorécessif en épitope immunodominant. Cependant, l'épitope immunodominant parental peut continuer à être présenté via les cellules dendritiques aux LT CD8+, maintenant ainsi une réponse immunitaire contre une cible « fantôme », au détriment de réponses dirigées contre les autres épitopes



## 2.2. Altération de l'expression des molécules du CMH :

La présentation des antigènes par les molécules du CMH aux LT est un mécanisme majeur de la réponse immunitaire spécifique.

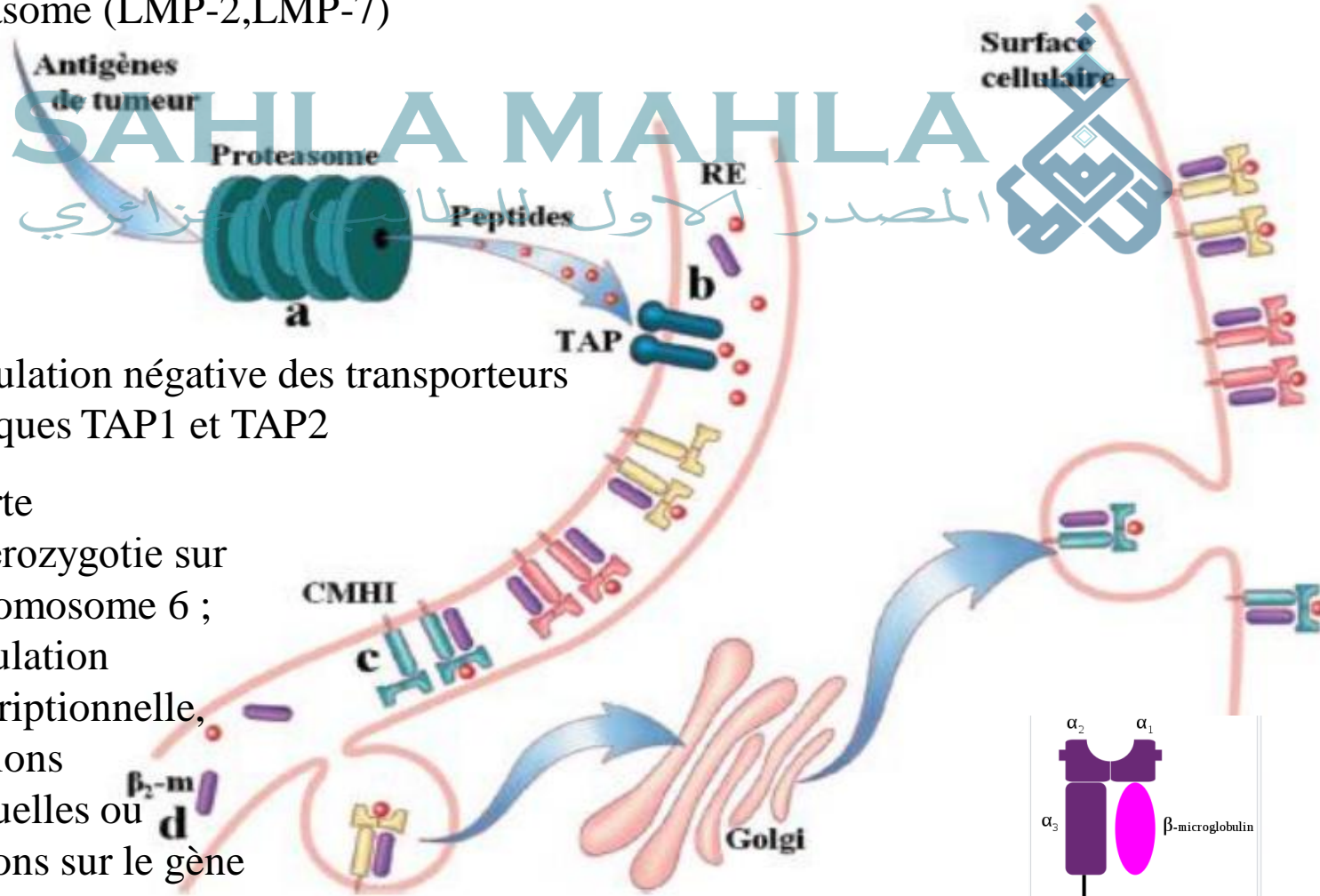
L'absence partielle ou totale d'expression des molécules du CMH est fréquente dans de nombreux types tumoraux humains, comme le mélanome, les carcinomes du côlon ou les cancers de la prostate.

Dans le cancer du sein, la perte d'expression est supérieure à 50 %.



# Les mécanismes impliqués dans cette perte d'expression des molécules du CMH ?

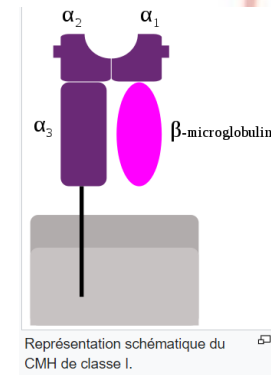
a : régulation négative de complexes protéiques du protéasome (LMP-2, LMP-7)



b : régulation négative des transporteurs peptidiques TAP1 et TAP2

c : perte d'hétérozygotie sur le chromosome 6 ; dérégulation transcriptionnelle, mutations ponctuelles ou délétions sur le gène codant le CMHI

d : mutations ou délétions du gène codant la bêta-2 microglobuline (β<sub>2</sub>-m)



## 2.3. Dérégulation des signaux d'apoptose :

L'apoptose est la mort cellulaire programmée, elle correspond aux phénomènes qui conduisent normalement à la mort cellulaire, indispensable à l'homéostasie de l'organisme.

- L'interaction **Fas/FasL** se traduit par l'activation d'une cascade de caspases, impliquant notamment **la caspase-8**.
- Certaines tumeurs expriment un inhibiteur de la caspase-8, la **protéine cFLIP** (cellular FLICE-inhibitory protein), les rendant ainsi résistantes à l'apoptose induite par Fas.

## 2.3. Dérégulation des signaux d'apoptose :

- L'activité apoptotique induite par **TRAIL** est également souvent inhibée par les cellules tumorales, notamment suite à de nombreuses mutations ou perte d'expression de gènes codant des protéines impliquées dans la cascade de caspases.

**TRAIL** (*tumor-necrosis-factor related apoptosis inducing ligand*)

- l'oncogène ***bcl-2*** codant la protéine anti-apoptotique Bcl-2 est souvent **surexprimé** dans les lymphomes folliculaires.

## 2.4. Cytokines immunosuppressives :

L'activation ou l'inhibition des LT reposent en grande partie sur la nature des cytokines qui composent le micro-environnement tumoral.

Les cellules tumorales produisent certaines cytokines et chimiokines qui vont affecter de manière négative la maturation et les fonctions des cellules immunitaires.

## 2.4. Cytokines immunosuppressives :

Exemple:

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



La molécule **VEGF** (Vascular Endothelial Growth Factor), sécrétée par de nombreuses tumeurs, est notamment responsable de l'angiogenèse tumorale.

Elle possède également une activité inhibitrice sur la maturation et la différenciation des DC, en bloquant le facteur de transcription NF- $\kappa$ B.

## Exemple:

La cytokine **IL-10** est fréquemment détectée dans le sérum de patients atteints de cancer.

Elle peut avoir un effet inhibiteur sur la différenciation et la fonctionnalité des DC à partir des cellules souches hématopoïétiques.

L'IL-10 inhibe la présentation antigénique, la production d'IL-12 et donc l'induction d'une réponse TH1 *in vivo*.

Elle entraîne l'apoptose des DC en augmentant leur sensibilité à la lyse par les cellules NK autologues

## Exemple:

L'IL-10 peut également protéger les tumeurs de la lyse par les populations CTL en diminuant l'expression des molécules du CMH de classes I et II

SAHILA MAHLA  
المصدر الاول للطالب الجزائري



## Exemple:

De fortes concentrations de cytokine **TGF- $\beta$**  (Transforming Growth Factor- $\beta$ ) peuvent être retrouvées chez des patients, souvent associées à une progression de la maladie.

المصدر الاول للطالب الجزائري

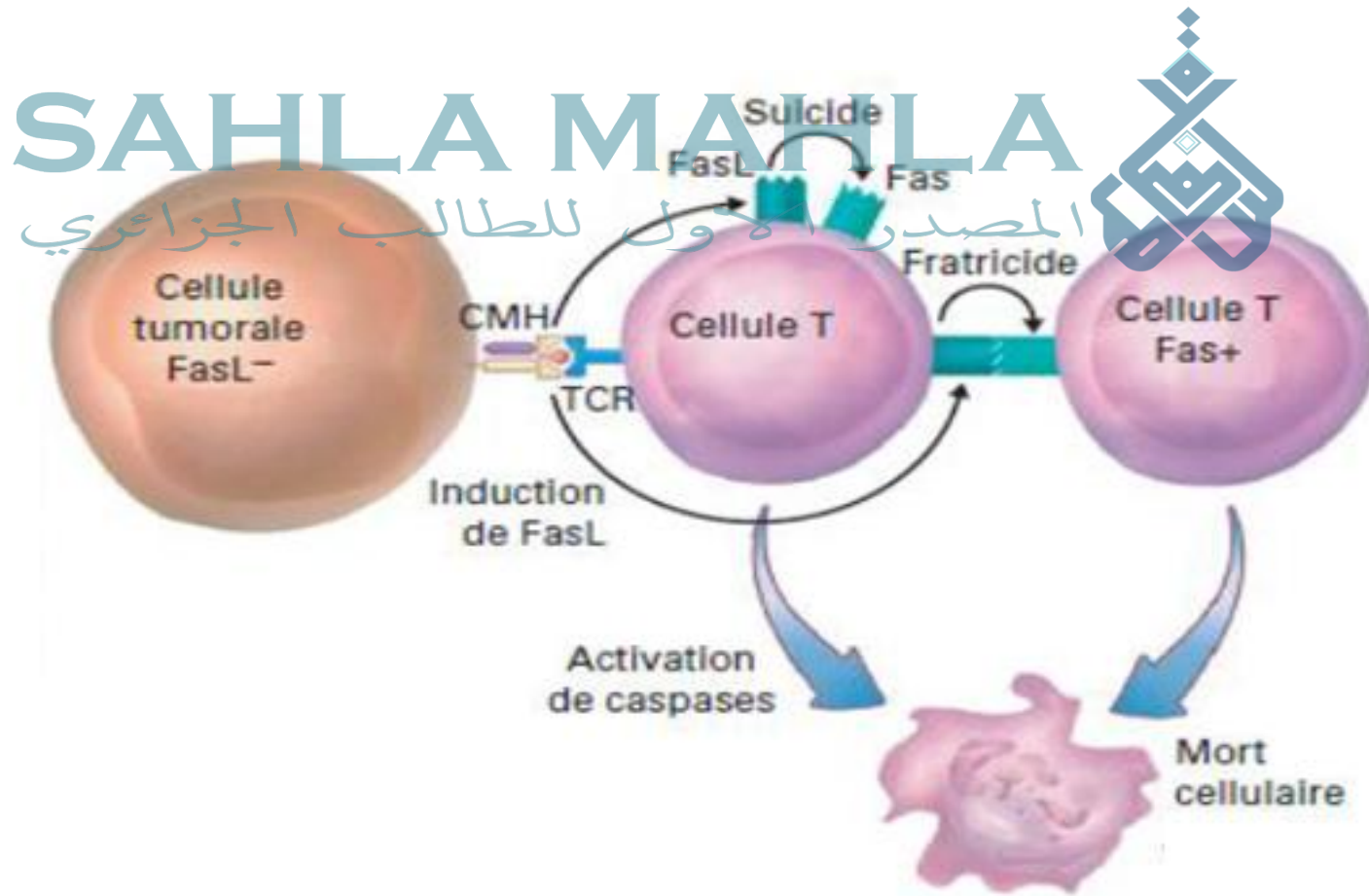
Le TGF- $\beta$  inhibe l'activation et la prolifération des lymphocytes *in vivo*.



## 2.5. Apoptose des cellules T :

Les cellules T activées par la reconnaissance spécifique des antigènes tumoraux vont **exprimer fortement FasL** à leur surface, ce qui va induire leur propre apoptose (suicide) ainsi que l'apoptose des cellules T voisines Fas positives (fratricide)

# Apoptose des cellules T induite par FasL



*La reconnaissance des cellules tumorales par les LT entraîne une surexpression des molécules Fas et FasL à la surface des LT aboutissant à leur destruction*

## 2.6. Cellules T régulatrices :

Les **LTR ont une activité immunosuppressive** *in vitro*.

Ils inhibent l'activation et la prolifération des LT cultivés en présence d'APC et stimulés avec un antigène.

L'activité suppressive intervient en partie *via* **l'inactivation de la production d'IL-2 par les LT effecteurs.**

D'autres cytokines immunosuppressives (**IL-10, TGF- $\beta$** ) peuvent être impliquées *in vivo* dans l'inactivation des LT par les LTR.

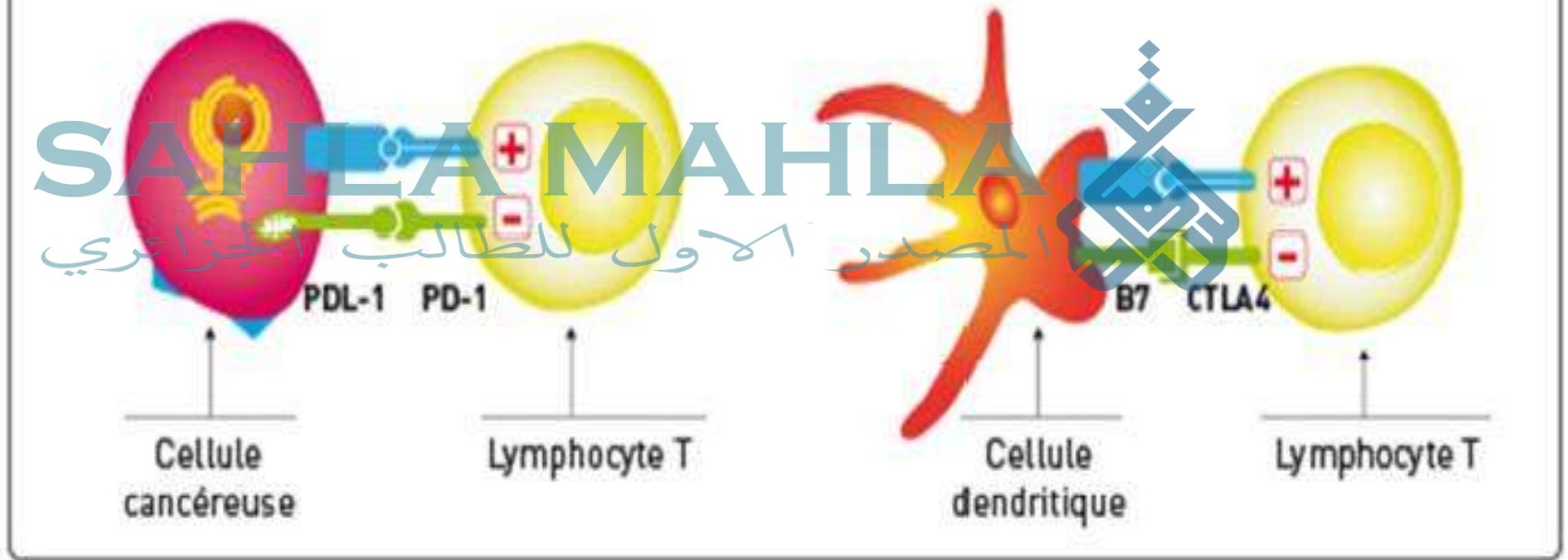
## 2.7. Etat d'anergie:

Chez les patients porteurs de tumeur, un mécanisme d'échappement se développe qui empêche les cellules du système immunitaire d'éliminer les cellules tumorales **'état d'anergie'**.

Des molécules à la surface des cellules tumorales « endorment ou anesthésient » les lymphocytes de telle sorte qu'ils deviennent incapables d'éliminer les cellules cancéreuses.

## Blocage de la réponse immunitaire par deux couples moléculaires

### PDL-1/PD-1 & B7/CTLA4



### Légende de la figure 2 :

Les interactions entre cellules se font par l'intermédiaire de couples moléculaires. Certains couples activent le système immunitaire (+), d'autres le bloquent et l'inhibent (-). Les couples moléculaires (CTLA4/B7 entre cellules dendritiques et lymphocytes T et PDL1 et PD1 entre cellules tumorales et lymphocytes T) inhibent la réponse immunitaire. Ce sont ces verrous que l'immunothérapie essaie de lever pour améliorer la réponse immunitaire contre les cellules tumorales.

**L'immunothérapie a pour objectif de briser les effets inhibiteurs de ces couples moléculaires pour rétablir une réponse immunitaire efficace.**

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطلاب الجزائري



### 3. APPROCHES DE L'IMMUNOTHÉRAPIE DU CANCER

### 3. APPROCHES DE L'IMMUNOTHÉRAPIE DU SAHLA MAHLA CANCER

المصدر الأول للطالب الجزائري



L'objectif principal de l'immunothérapie du cancer est de restimuler le système immunitaire parfois inactivé chez les patients afin qu'il soit à nouveau capable de lancer des attaques soutenues contre les cellules tumorales, ce qui aboutit idéalement à l'éradication du cancer

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



## 3.1 L'immunothérapie anti-tumorale



## 3.1 L'immunothérapie anti-tumorale :

Comment l'immunothérapie va-t-elle stimuler le système immunitaire pour lutter contre le cancer ?

### A) Immunothérapie non spécifique (1970)

L'injection du BCG a été efficace chez des patients présentant des tumeurs de la vessie.

(BCG: vaccin bilié de Calmette et Guérin, vaccin contre la tuberculose préparé à partir d'une souche de bacille tuberculeux bovine

Cependant, ce type de stimulation est resté d'une faible efficacité parce qu'elle fait appel à une **immunothérapie non spécifique** qui s'appuie sur la **stimulation générale du système immunitaire** sans être capable de cibler spécifiquement la tumeur.

## B) L'immunothérapie spécifique (A partir de 1991)

La découverte de la présence de molécules présentes uniquement à la surface des cellules tumorales (**Ag tumoraux**) et pouvant être reconnues par des lymphocytes a permis l'application de l'immunothérapie spécifique aux patients.

Elle induit une réponse immunitaire particulière et propre aux cellules tumorales qui peut aboutir à la suppression de la tumeur.

**L'immunothérapie passive**

**L'immunothérapie active**

## B) L'immunothérapie spécifique

### L'immunothérapie passive

AcM dirigé contre Ag exprimé par les cellules tumorales. Ils se fixeront sur les cellules tumorales qui seront éliminées par des cellules effectrices immunologiques (Macrophages, NK).

## B) L'immunothérapie spécifique

### L'immunothérapie active

Injection d'Ag capable d'initier ou de stimuler une réponse immunitaire spécifique.

Dans ce cas, un échantillon de la tumeur est prélevé et analysé pour identifier les Ag tumoraux présents à la surface des cellules tumorales et absentes à la surface des cellules normales (exp immunohistochimie)

## B) L'immunothérapie spécifique

### L'immunothérapie active

SAHLA MAHLA



Les Ag tumoraux injectés vont stimuler le SI du patient qui va produire des Ac dirigés spécifiquement contre la tumeur ce qui aboutit à la destruction des cellules tumorales.

Ces antigènes peuvent aussi être chargés artificiellement sur des cellules dendritiques prélevées chez le patient puis réinjectées.



voir TD

SAHLA MAHLA

المعهد العالي لطالب الدراسات والبحوث  
البيطرية - الجزائر



## 3.2 Anticorps monoclonaux

## 3.2. Anticorps monoclonaux :

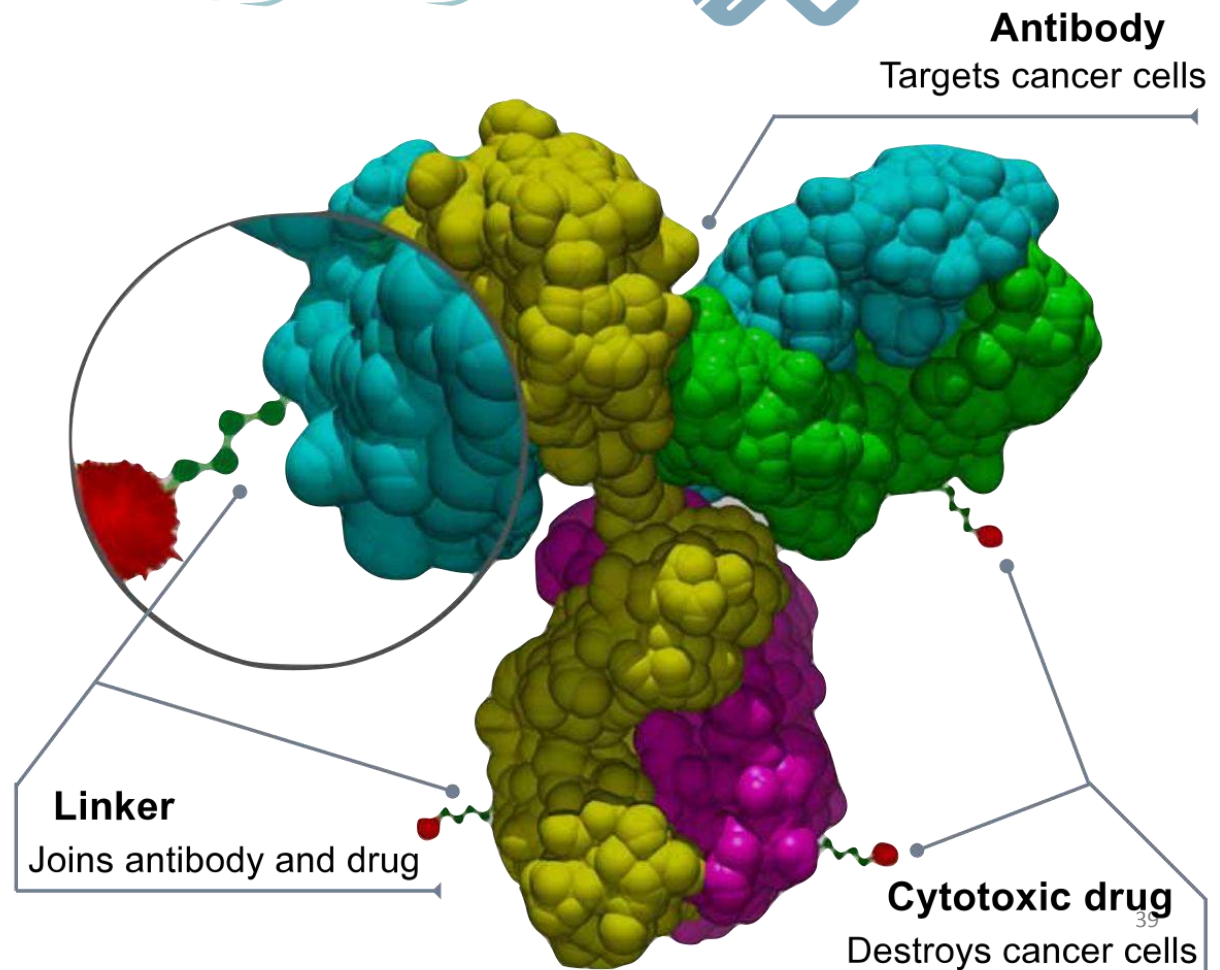
Au cours des 20 dernières années, les AcM ont constitué un traitement majeur pour divers cancers (cancer du sein, des lymphomes et du cancer colorectal)

Un AcM peut être " nu ", c'est-à-dire qu'il n'est associé à aucun autre médicament, ou conjugué.

Les AcM conjugués sont associés à des médicaments de chimiothérapie, à des particules radioactives ou à des toxines afin qu'ils puissent servir d'outil pour diriger ces agents vers les cellules cancéreuses.

## 3.2.1 Les anticorps conjugués

Les AC conjugués sont conçus pour délivrer, de manière sélective, une puissante cytotoxicité à l'intérieur des cellules tumorales exprimant l'antigène de surface cible.





## A. Conception des anticorps conjugués

Les 3 composants d'un anticorps conjugué sont:

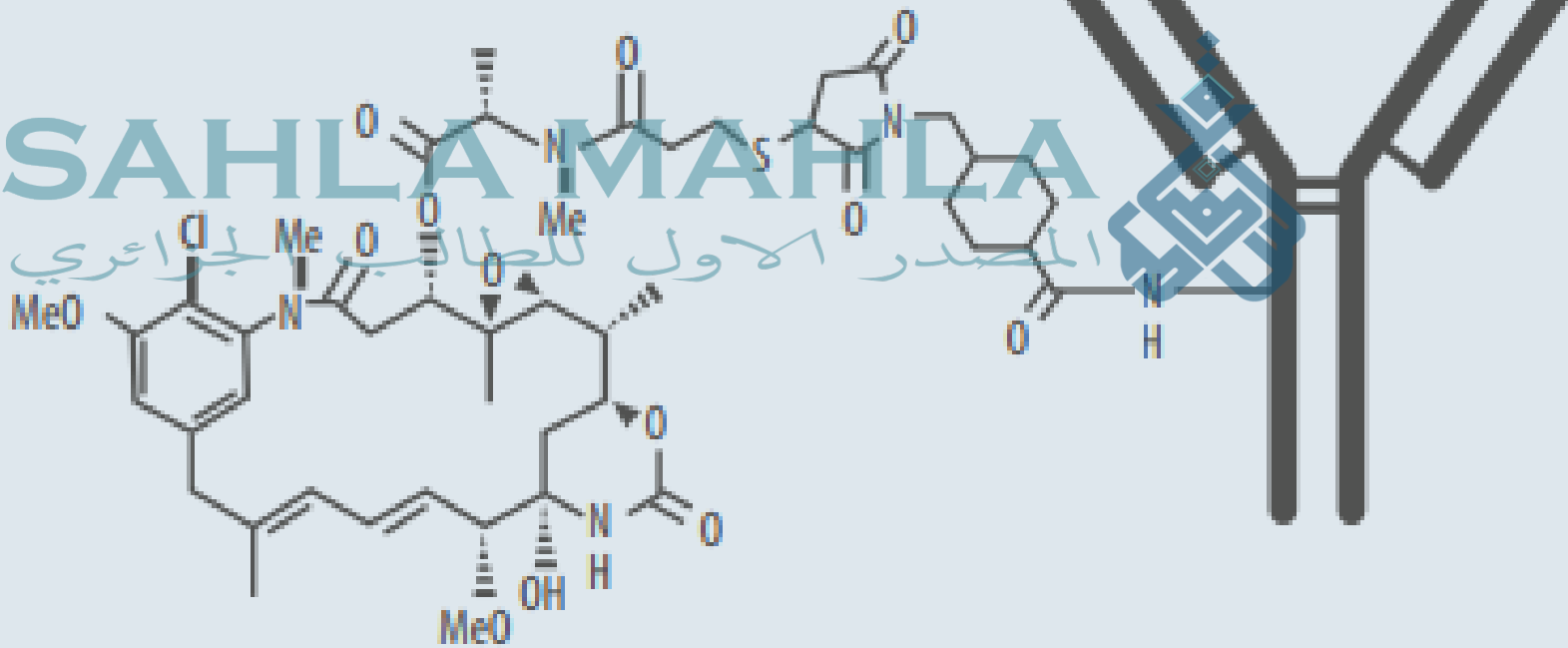
المصدر الاول للطالب الجزائري



1. ACm
2. Agent cytotoxique
3. Agent de liaison (“linker”) permettant une liaison covalente stable entre les deux premier.

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



DM1 (dérivé de la maitansine)

MCC (agent de liaison)

Trastuzumab

**Un anticorps conjugué optimal combine les meilleures caractéristiques de chacun de ses composants**

## A.1. Anticorps monoclonaux



- Outre la capacité à reconnaître la cellule cancéreuse, les mAb sont dotés de propriétés pharmacologiques :
  - inhibition de la prolifération,
  - induction de l'apoptose
  - ou activation d'effecteurs cellulaires (Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity [ADCC])
  - ou sériques (Complement Dependent Cytotoxicity [CDC]).

## A.1. Anticorps monoclonaux

- La conjugaison de la toxine au mAb ne doit pas altérer la forte affinité pour l'antigène



- L'efficacité d'un anticorps conjugué est aussi liée à une concentration intracellulaire efficace de la toxine libérée.

En général, le nombre de complexes internalisés est inférieur au nombre de complexes fixés sur la cellule.

**L'internalisation de l'anticorps est une étape primordiale .**

## A.2. Agents cytotoxiques

- La première génération d'anticorps conjugués comportait des agents cytotoxiques approuvés dans le traitement du cancer, comme la **doxorubicine**, le **méthotrexate** et le **5 fluoro-uracile (5-FU)** **n'a pas connue un grand succès.**
- Des cytotoxines beaucoup plus puissantes ont récemment été testées, :
  - ➤ **Les maitansinoïdes (Tubuline)**
  - ➤ **Les auristatines**
  - ➤ La troisième classe de toxine récemment étudiée est celle dérivée de la **calichéamycine**

## A.2. Agents cytotoxiques

- Le nombre des toxines liées au mAb est critique dans l'optimisation de l'Ac conjugué (2 à 4)
- Les agents cytotoxiques utilisés doivent être suffisamment hydrosolubles et stables dans les solutions aqueuses et dans le plasma, car les anticorps conjugués peuvent rester en circulation pendant plusieurs jours.

## A.3. Agents de liaison

- C'est probablement la partie clé dans la conception des anticorps conjugués.
- Liaison stable dans la circulation sanguine, tout en permettant un relargage rapide de la toxine après l'internalisation du complexe dans la cellule cancéreuse.

## A.3. Agents de liaison

- ➤ Les **hydrazones** ( $R_1R_2C=NNH_2$ ) ont été les premières séquences testées.
- Elles peuvent être hydrolysées dans les lysosomes, et sont relativement stables dans le sang à un pH compris entre 7,3 et 7,5, mais pas suffisamment pour maintenir l'agent cytotoxique dans la circulation sanguine.



## A.3. Agents de liaison

- Après l'échec des hydrazones, les **séquences disulfures** ont été développées. Ce type de séquence est suffisamment stable dans la circulation. Le relargage de la toxine fait suite à un échange avec un groupe thiol présent dans le milieu intracellulaire, comme le **glutathion (GSH)**.
- Le dernier type de liaison est la **séquence thio-éther**  $R-C(=O)-O-R'$ . Elle est stable dans la circulation. Elle libère l'agent toxique, uniquement après internalisation, par dégradation lysosomale.

## B. Mode d'action des anticorps conjugués

### B.1. Reconnaissance

SAHILA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



- Grâce à son composant mAb, l'anticorps conjugué se fixe spécifiquement sur des récepteurs de surface des cellules tumorales, ce qui constitue la première étape de son activité.

## B.2. Internalisation

- Les taux d'internalisation de l'anticorps conjugué et de l'anticorps non conjugué ont été comparés. Les anticorps conjugués sont internalisés suivant des taux similaires, voire meilleurs dans certains cas, que leurs anticorps respectifs non conjugués .
- Trois mécanismes d'internalisation ont été observés avec les anticorps conjugués :

## B.2. Internalisation

- ➤ **L'endocytose par vésicules recouvertes de clathrine**
- La clathrine est présente dans le cytosol sous forme de triskèles qui se polymérisent en cages formées d'hexagones et de pentagones.
- L'initiation de la formation de vésicules de clathrine requiert l'internalisation de l'antigène, ainsi que l'action de plusieurs dizaines de protéines.
- La vésicule poursuit alors son chemin vers les endosomes.

# SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري

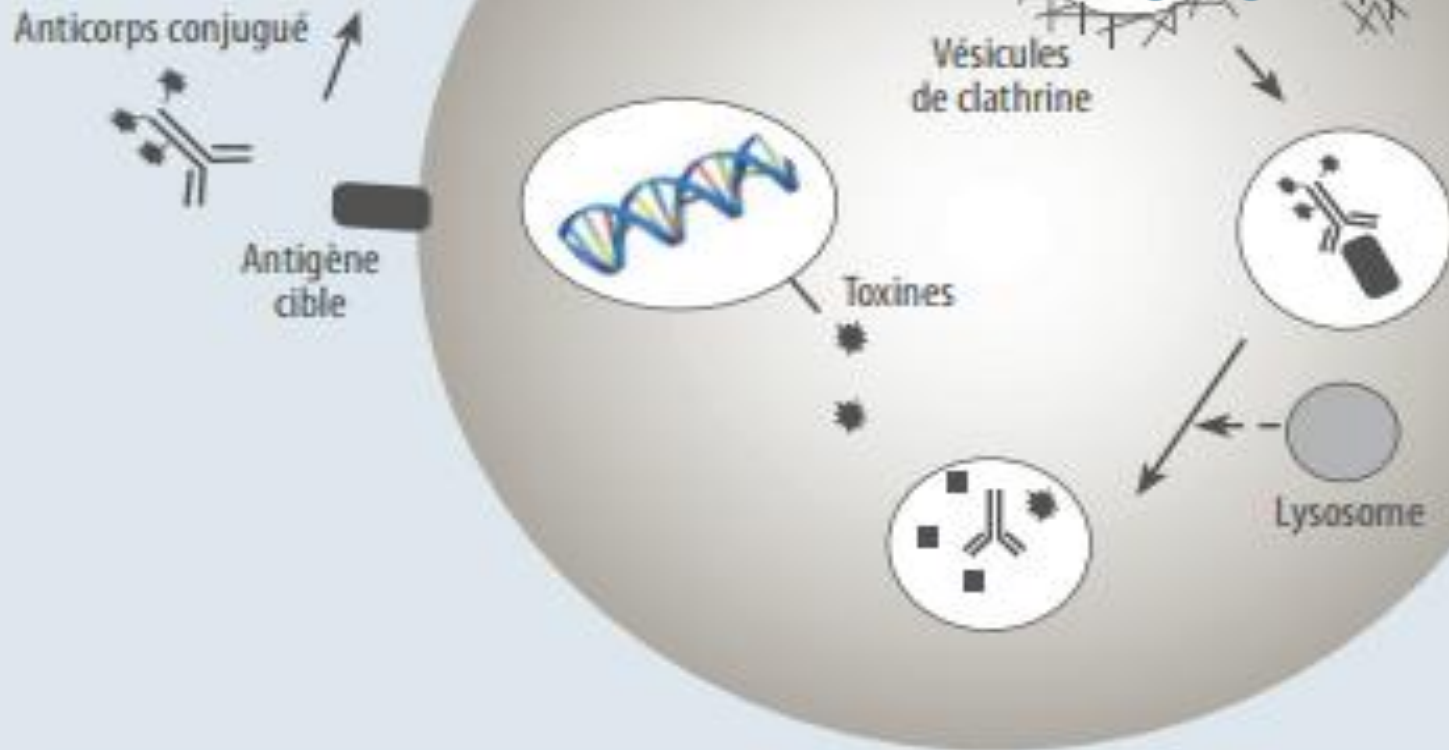


Figure 2. Internalisation de l'anticorps conjugué et libération de la toxine.

- ➤ **Les cavéoles**, remplace la clathrine, participent également aux phénomènes d'endocytose des anticorps conjugués.
- Cependant, le matériel internalisé par les cavéoles s'accumule dans le réticulum endoplasmique ou l'appareil de Golgi. Dans ces compartiments, aucune activité protéolytique ne permet de libérer de toxine.
- ➤ À de fortes concentrations, les anticorps conjugués sont internalisés par un mécanisme indépendant de l'antigène, **la pinocytose**.
- La pinocytose implique la formation d'une vésicule qui absorbe les anticorps conjugués dissous dans le milieu extracellulaire.

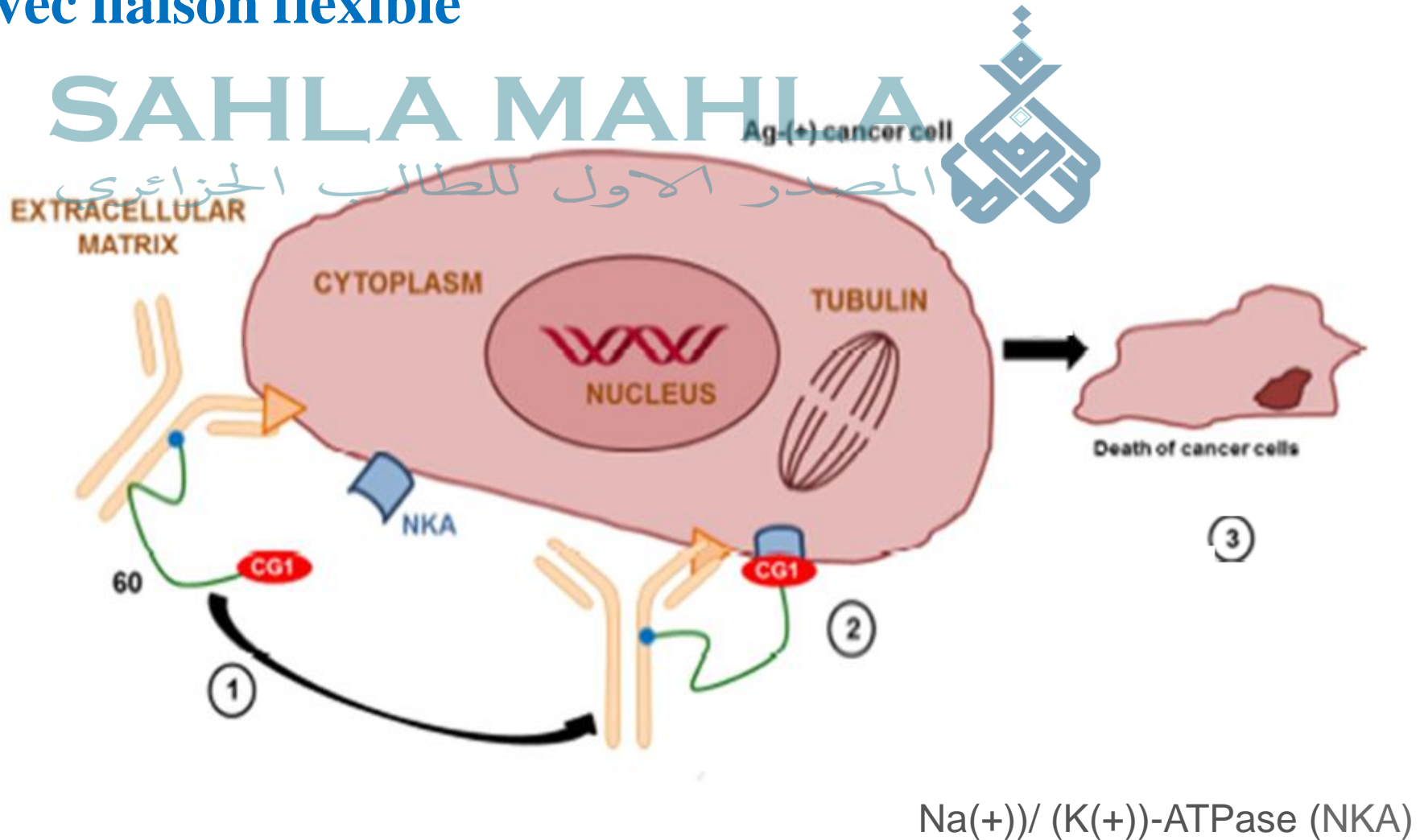
### B.3. Relargage intracellulaire de l'agent cytotoxique

SAHLA MAHLA



- les anticorps conjugués internalisés sont déchargés dans le lysosome, où ils **sont catalysés par les protéases**. Les toxines sont ainsi libérées à l'intérieur des cellules.
- La mort de la cellule cancéreuse dépend de la nature de la toxine.

# A. AbC ciblant un antigène non internalisant avec liaison flexible



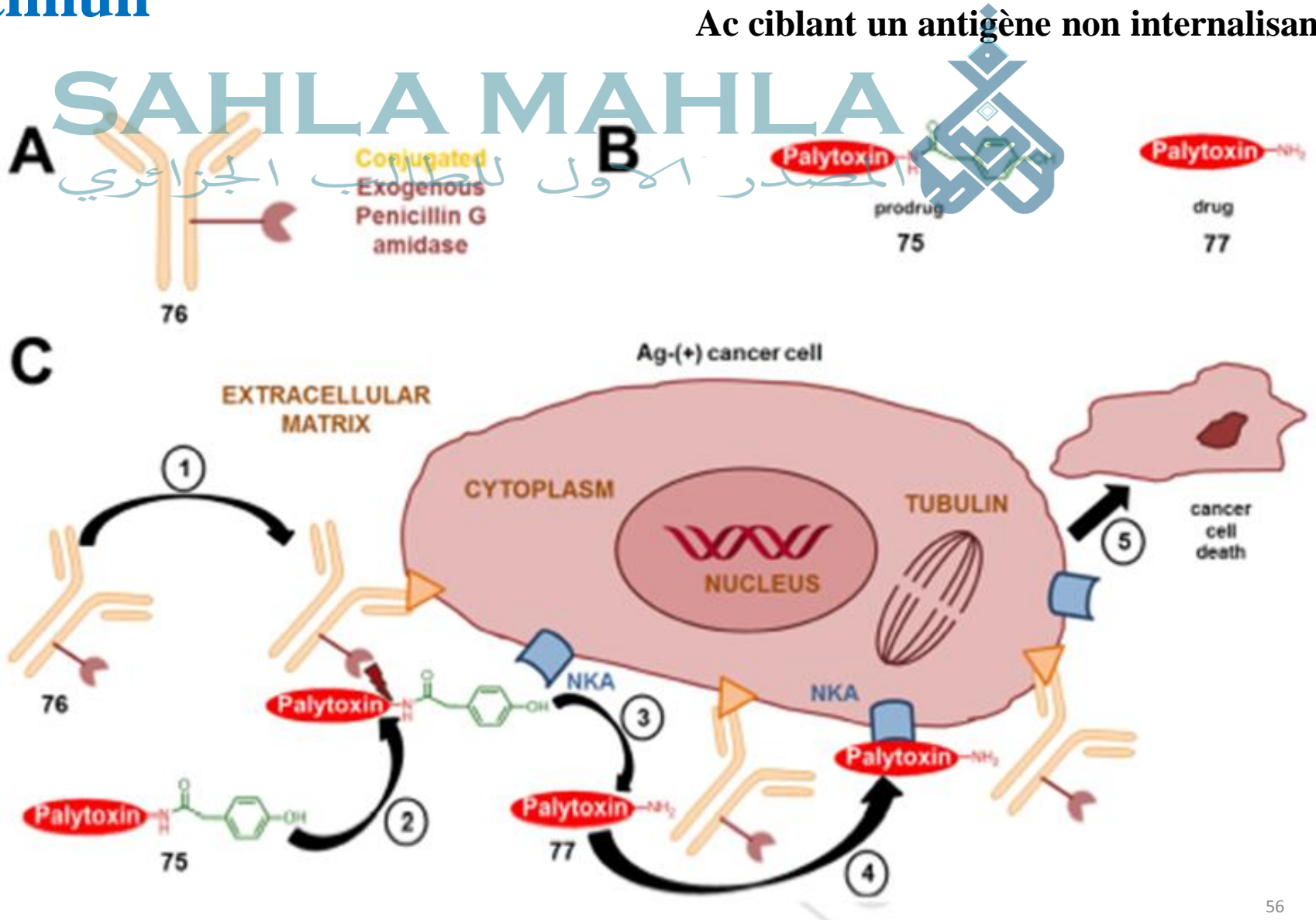
Scheme 17. A) Formula of mAb-CG1 conjugate. B) Mechanism of action: first, the conjugate binds to its antigen at the membrane of a cancer cell (1), then the flexibility of the long pegylated linker facilitates the CG1 binding to NKA (2) inducing the necrosis-like cancer cell death (3).

Na(+))/ (K(+))-ATPase (NKA)

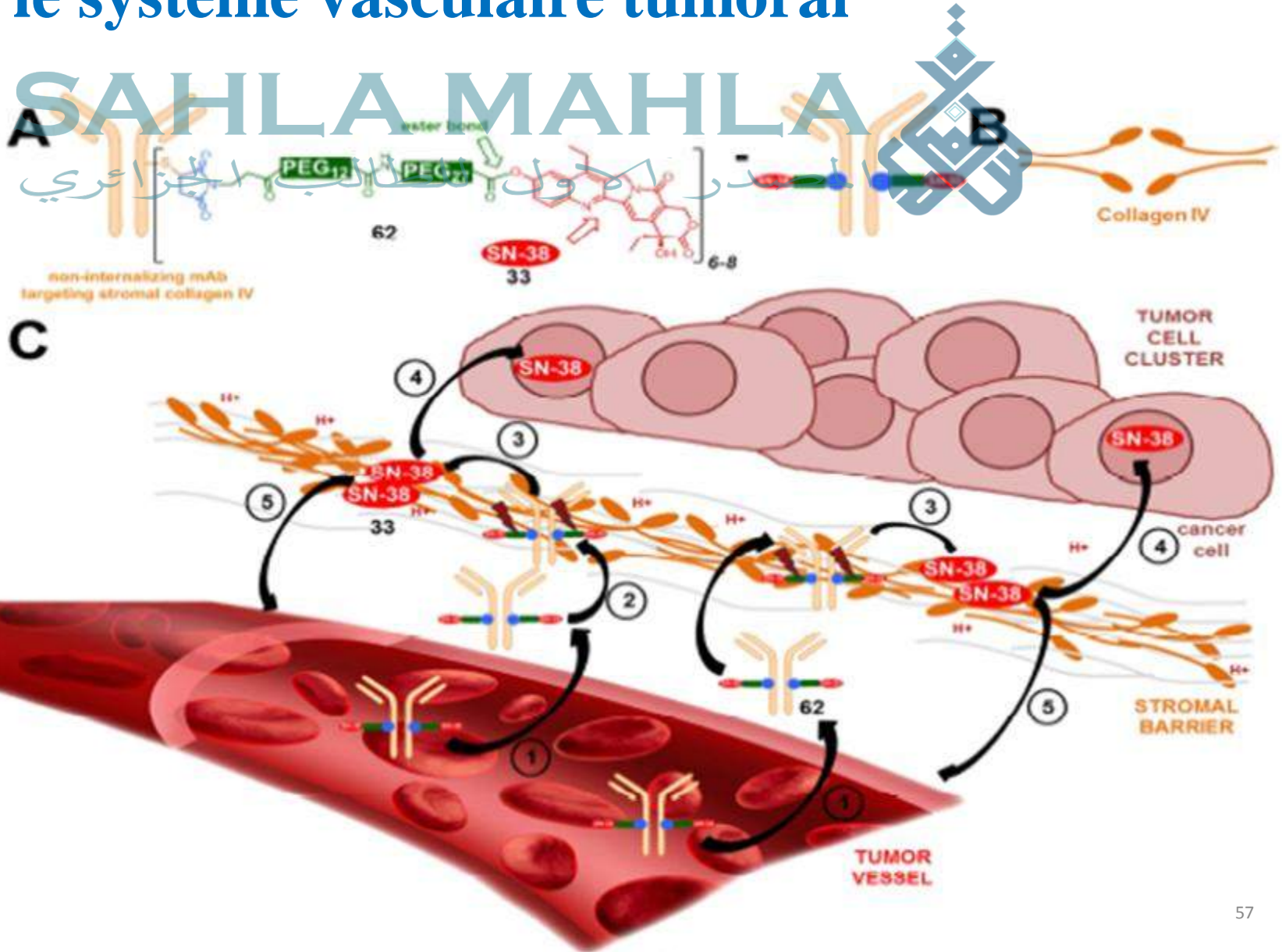


# B. Extracellular drug delivery using exogenous stimuli

Ac ciblant un antigène non internalisant



# C. AbC ciblant le microenvironnement tumoral ou le système vasculaire tumoral



## 3.2.2 Les anticorps monoclonaux « nus »

La Food and Drug Administration (FDA) a approuvé de nombreux AcM thérapeutiques pour traiter différents types de cancers.

En 1997, le rituximab (Rituxan, Genentech) est devenu le premier AcM approuvé pour un usage clinique, indiqué chez les patients atteints de certaines tumeurs malignes à cellules B.

De nombreux autres AcM ont été approuvés depuis

## **A. Bloqueurs de points de contrôle immunitaire : Les anticorps anti-CTLA4 et anti- PD1/PD-L1 : une « révolution » thérapeutique**

En 2013, le journal Science accorda à l'immunothérapie anti-tumorale le « breakthrough of the year », c'est-à-dire, toute recherche scientifique confondue, la reconnaissance de l'avancée la plus remarquable de l'année

Cette décision portait sur le développement et les résultats positifs de 3 nouvelles thérapeutiques immunomodulatrices : les inhibiteurs des checkpoints immunologiques anti-CTLA4 et anti-PD1 et les biothérapies T CAR (récepteur antigénique chimérique)

## Exemple 1 **Ipilimumab**

SAHLA MAHLA

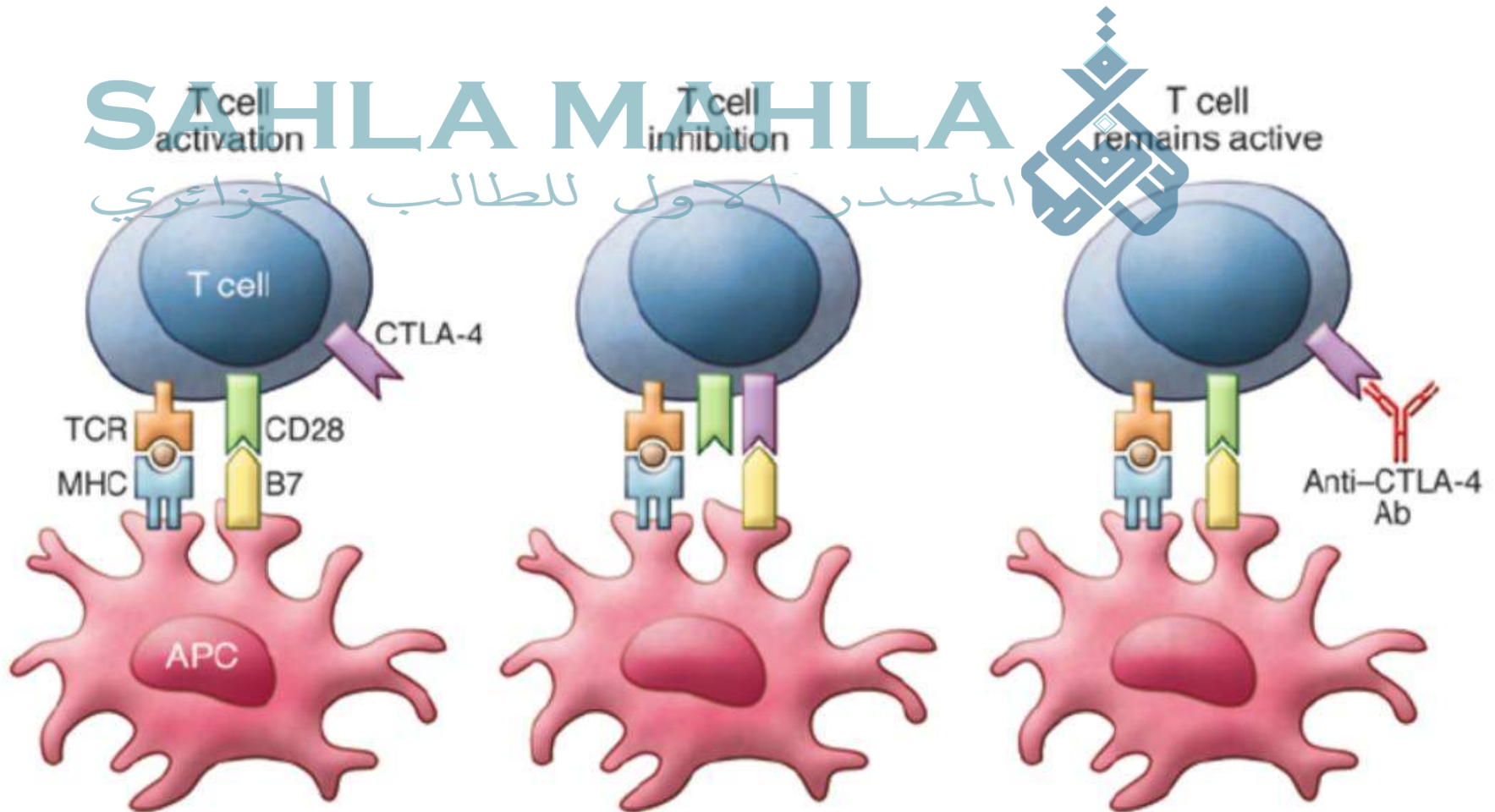


La FDA a approuvé l'anti-CTLA-4 ipilimumab pour le traitement du mélanome, marquant ainsi le début d'une nouvelle ère pour l'immunothérapie du cancer.

Il a démontré son efficacité chez des patients atteints de mélanomes métastatiques.

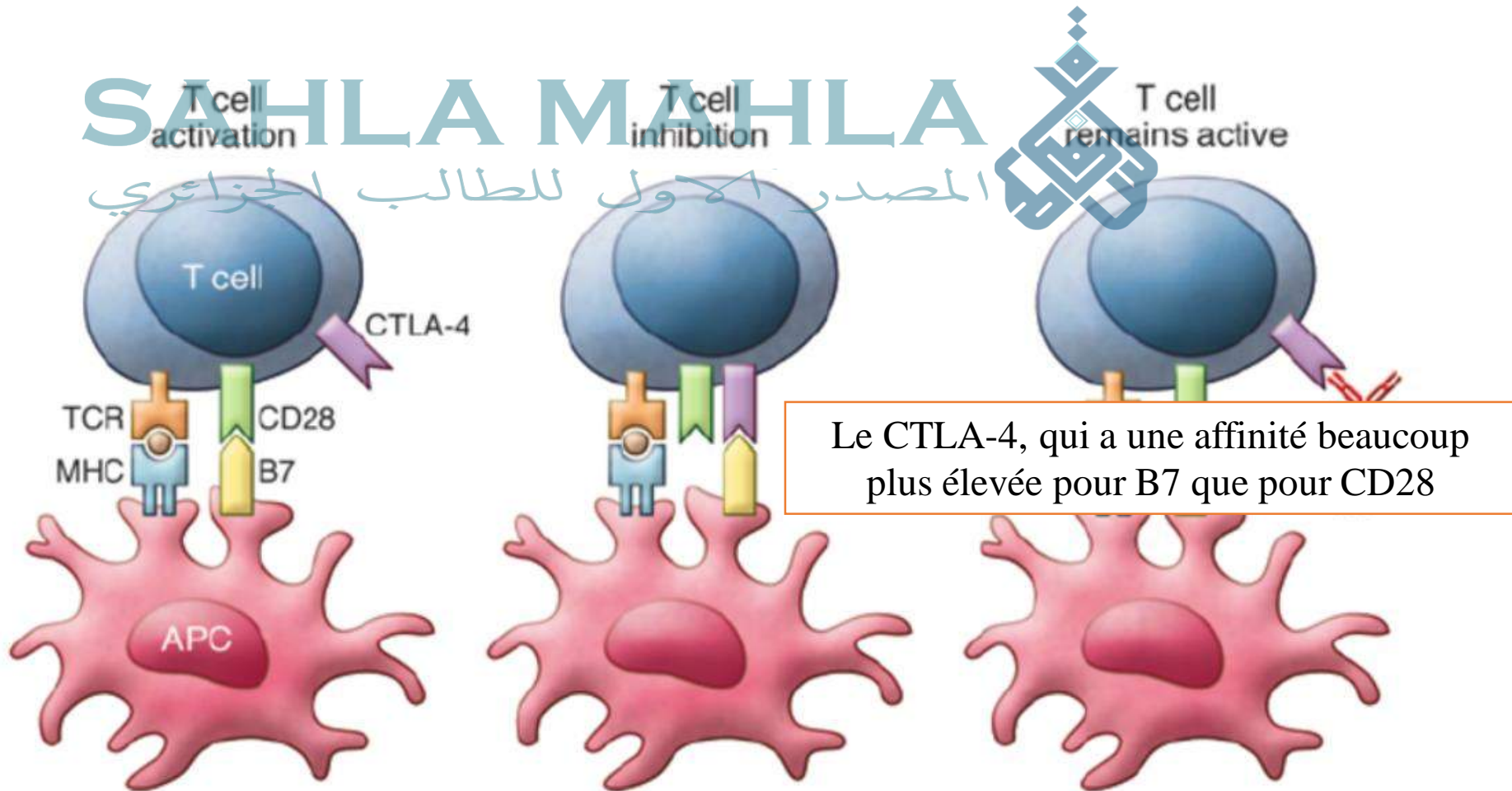
Le CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte–associated antigen 4) est le premier récepteur de points de contrôle immunitaires à être cliniquement ciblé. Il est exprimé exclusivement à la surface des cellules T, où sa principale fonction est de réguler l'amplitude de l'activation des cellules T.

# Mécanisme d'action de l'ipilimumab



L'activation des lymphocytes T nécessite une stimulation à la fois par le TCR et le CD28

# Mécanisme d'action de l'ipilimumab



La liaison des protéines membres de la famille B7 à CTLA-4 inhibe la fonction des LT

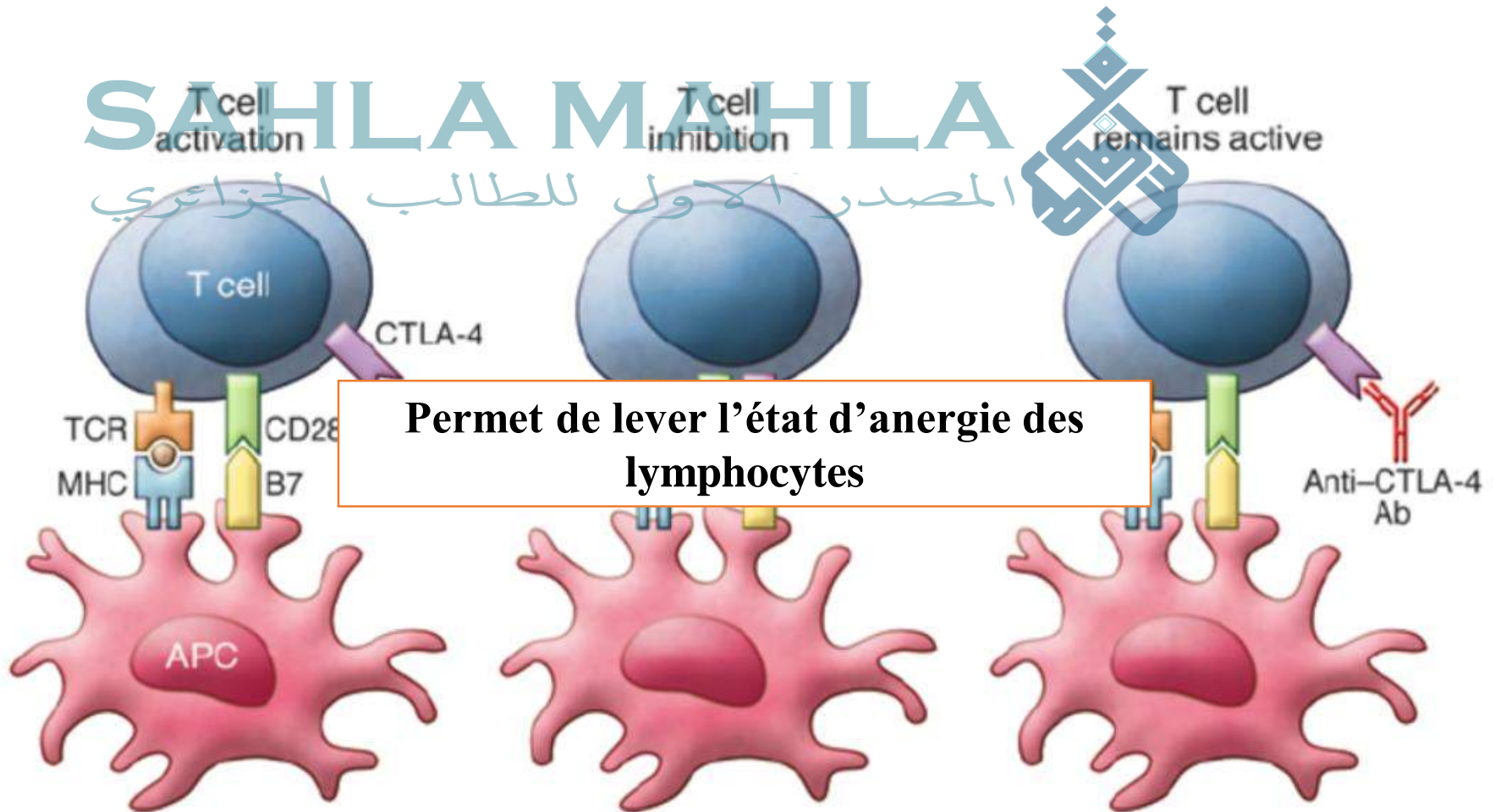
L'expression de CTLA-4 augmente parallèlement à la stimulation du TCR, servant ainsi de frein aux réponses des LT

Les voies moléculaires spécifiques par lesquelles le CTLA-4 bloque l'activation des cellules T restent à l'étude, bien que de nombreuses études suggèrent qu'il perturbe les signaux kinases qui sont déclenchés par CD28 et le TCR. المصدر الاول للطالب الجزائري

Des études suggèrent que le CTLA-4 active les phosphatases SHP2 et PP2A, qui bloque la cascade de phosphorylation initiée par le TCR et l'activation de CD28, atténuant ainsi l'activation des cellules T.



# Mécanisme d'action de l'ipilimumab



L' anti-CTLA-4 bloque la liaison de CTLA-4 aux protéines B7 et empêchent l'inhibition de la fonction des LT.

## Exemple 1 **Ipilimumab**

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



- la FDA a approuvé l'anti-CTLA-4 ipilimumab pour le traitement du mélanome, marquant ainsi le début d'une nouvelle ère pour l'immunothérapie du cancer

**Exemple 1:** L'administration d'anticorps dirigés contre l'une des molécules du couple moléculaire (CTLA-4) cytotoxic T-lymphocyte antigen, **Ipilimumab** (commercialisé) permet de lever l'état d'anergie des lymphocytes et a *démontré son efficacité chez des patients atteints de mélanomes métastatiques.*

L'administration d'un anticorps **anti-CTLA-4** associé à la chimiothérapie de référence augmente la survie des patients à 20.8% à 3 ans alors qu'elle est de 12.2% chez les patients ne recevant que la chimiothérapie seule

1

SAHILA MAHLIA

## ii. Biothérapies moléculaires et Pathologies auto-immunes

المصدر الأول للطالب الجزائري

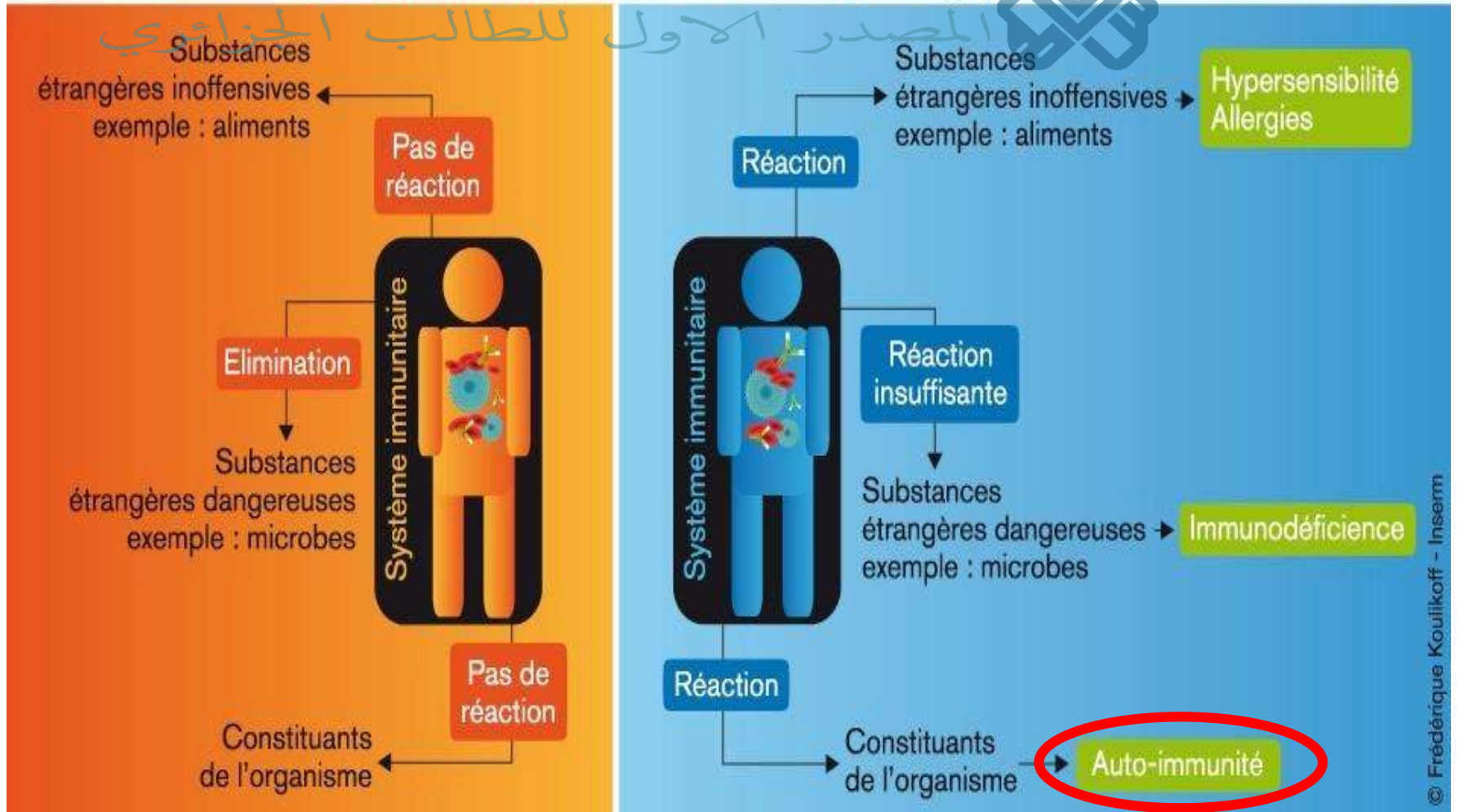


# Auto-immunité ?

2

L'auto-immunité résulte de la rupture de tolérance aux antigènes du soi.

Fonctionnement normal      Fonctionnement pathologique



# Principales maladies auto-immunes

3

## SAHLA MAHLA



المصنوع من أجل الطلاب الجزائريين  
2 grands types de maladies auto-immunes (MAI)

### MAI spécifiques d'organe

- Diabète
- Thyroïdite
- Myasthénie
- Cytopénies
- ...

Maladies auto-immunes

### MAI non spécifiques d'organe

- Polyarthrite rhumatoïde
- Lupus érythémateux systémique
- Maladie de Gougerot Sjögren
- Sclérodermie
- Dermato-polymyosite
- Vascularites...

Souvent atteintes de

- la peau
- les articulations
- les reins
- les vaisseaux

# Mécanismes physiopathologiques de l'auto-immunité:

## Les intervenants de la réponse auto-immune

4

- **1. Les auto-antigènes :**
- Antigène de l'organisme (antigène du soi) qui stimule le système immunitaire
  
- **2. Les lymphocytes T et les lymphocytes B auto-réactifs:**
  
- **3. Les cellules dendritiques:** exemple des cellules dendritiques immatures Elles peuvent être immunogènes et stimulantes des lymphocytes T ou B auto-réactifs après activation par des phénomènes inflammatoires.

# Traitement des maladies auto-immunes

5

SAHLA MAHLA

OBJECTIFS

المصدر الأول للطالب الجزائري



- Réduire la réponse immune et l'inflammation  
( immunosuppresseurs corticoïdes)
- Pallier les conséquences fonctionnelles des atteintes cellulaires ou tissulaires (Traitement symptomatique)
- Supprimer les auto-Ac

6

SAHLA MAHLA



# Nouveaux traitements: Biothérapie moléculaire

**Exemple: la polyarthrite rhumatoïde**



# POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ??

Caractérisés par une synovite et une destruction articulaire

7

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري

Neutrophiles  
membrane  
synoviale  
hypertrophiée

Prolifération des  
synoviocytes

PR précoce



T cells B cells

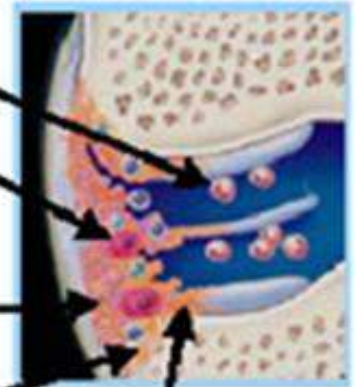


OS  
Cartilage  
Capsule  
Membrane  
synoviale  
Synoviocytes

Neutrophiles  
Cellules  
plasmatiques  
angiogénèse

Erosions osseuses Pannus

PR avérée



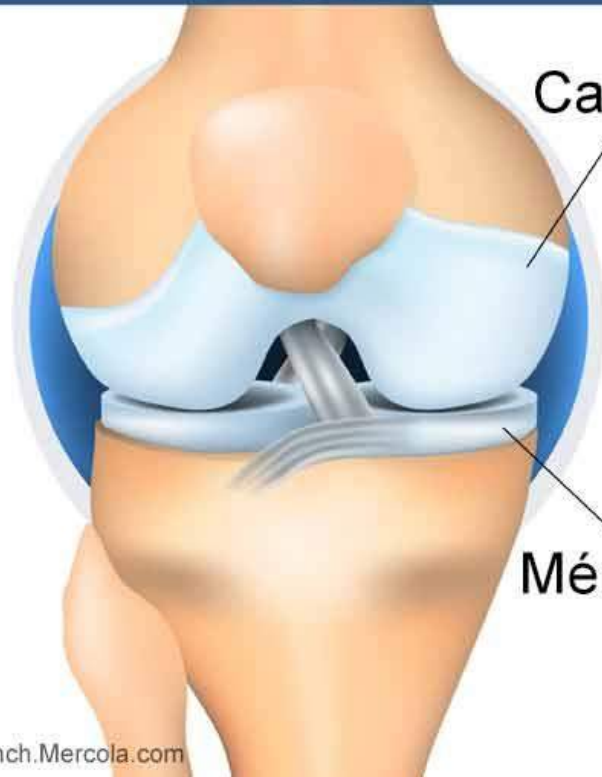
# POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ??

Caractérisés par une synovite et une destruction articulaire

8

ARTICULATION  
SAINNE

POLYARTHRITE  
RHUMATOÏDE



Cartilage

Ménisque

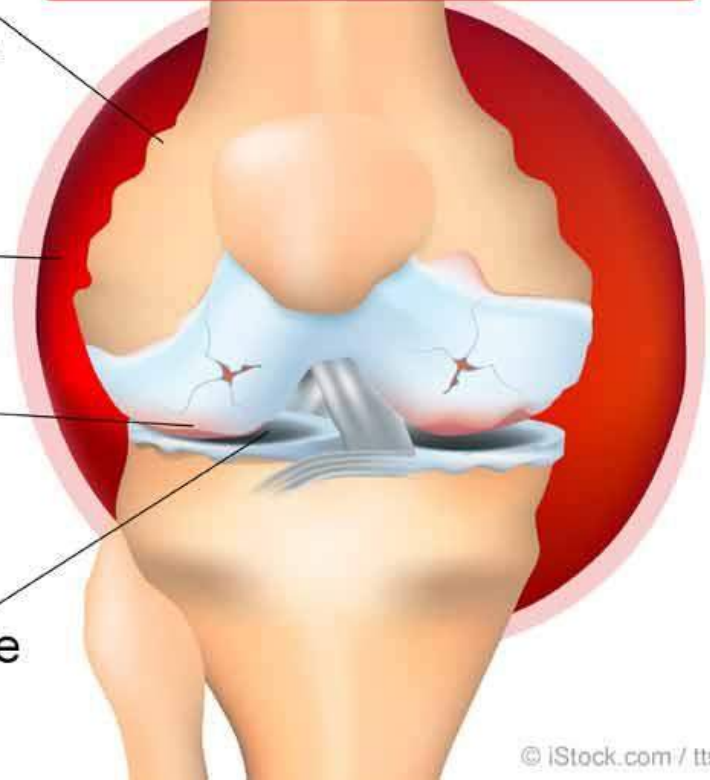
Érosion  
Osseuse

Osseuse

Membrane  
synoviale  
gonflée et  
enflammée

Usure du  
cartilage

Espace  
articulaire  
réduit



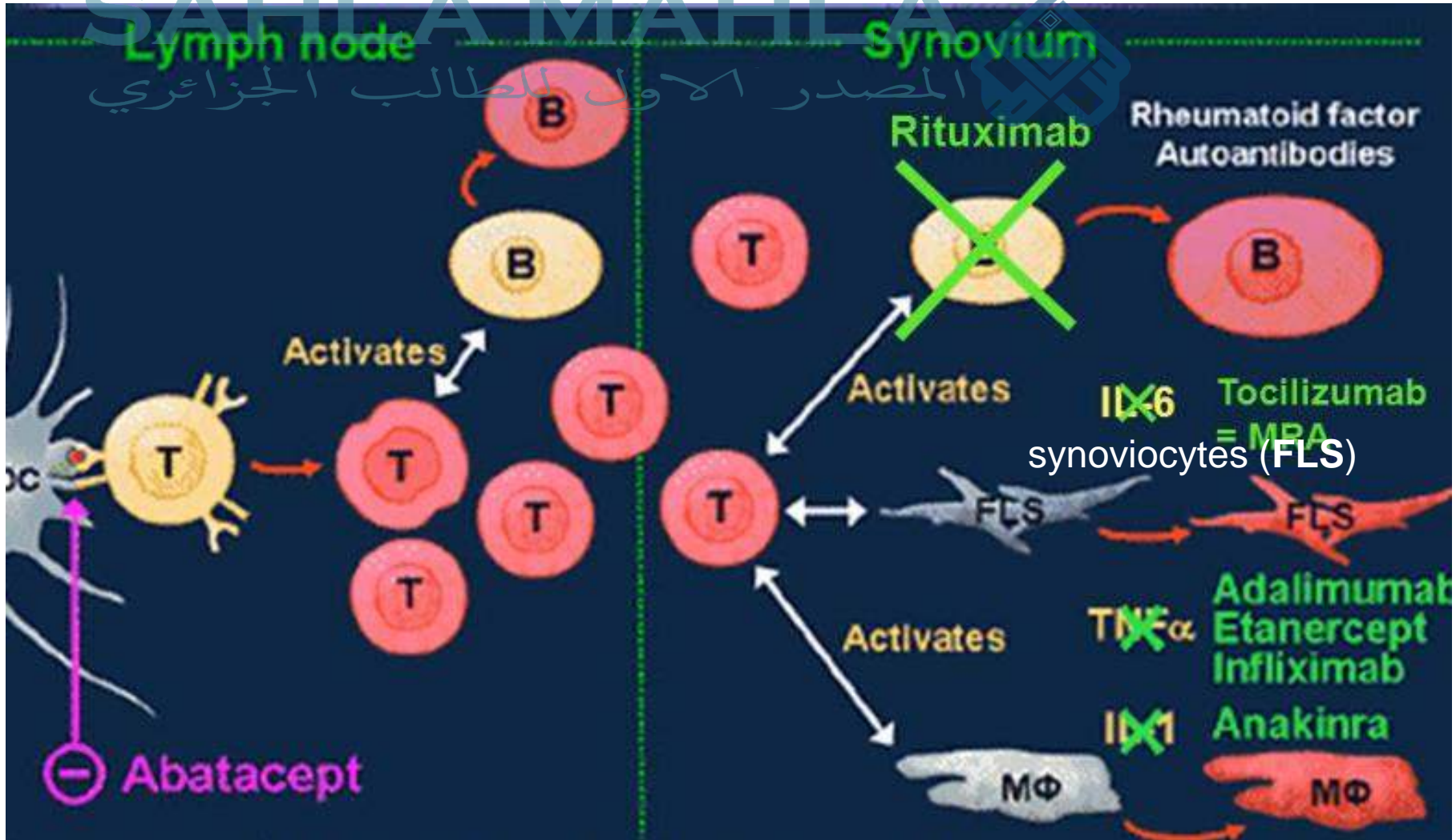
# Traitement de la PR par biothérapie

9

- **Les molécules disponibles:** Il existe actuellement neuf biothérapies dans les rhumatismes inflammatoires chroniques.
- **Cinq anti-TNF :** l'infliximab (Remicade®), l'éta nercept (Enbrel®), l'adalimumab (Humira®), le certolizumab (Cimzia®), le golimumab (Simponi®).
- **Un anti-lymphocyte B CD20 +** (le rituximab, Mabthera®).
- **Un inhibiteur de la co-activation des lymphocytes T** (abatacept, Orencia®).
- **Un anticorps anti-récepteur de l'IL-6** (tocilizumab, RoActemra®).
- **Un anticorps anti-récepteur de l'IL-1** (anakinra, Kineret®).

# Biothérapies moléculaires dans la PR

10



# 1. Ciblage des LB Rituximab

Exemple

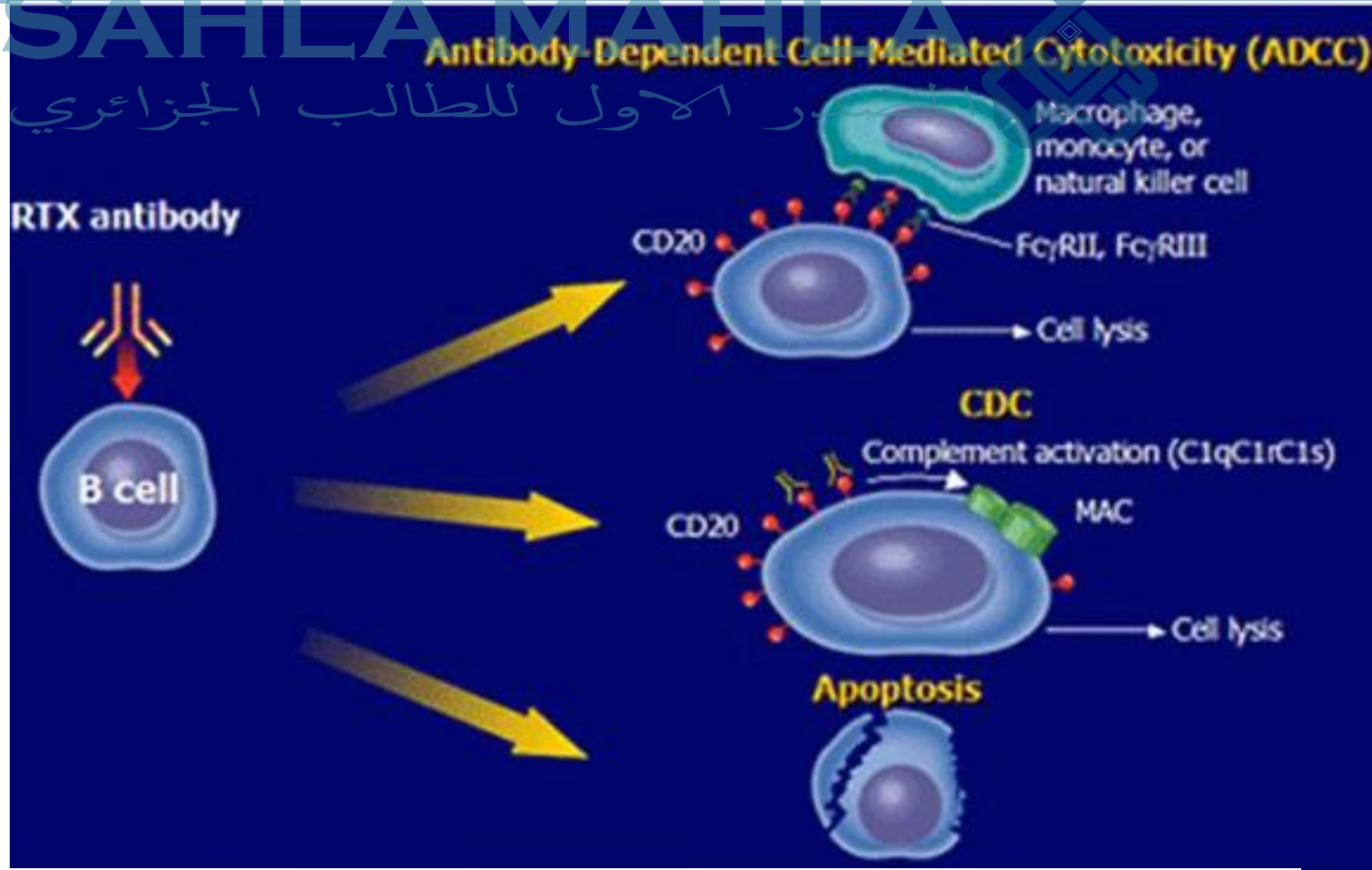
Rituximab:

ACMC

chimérique anti-

CD20

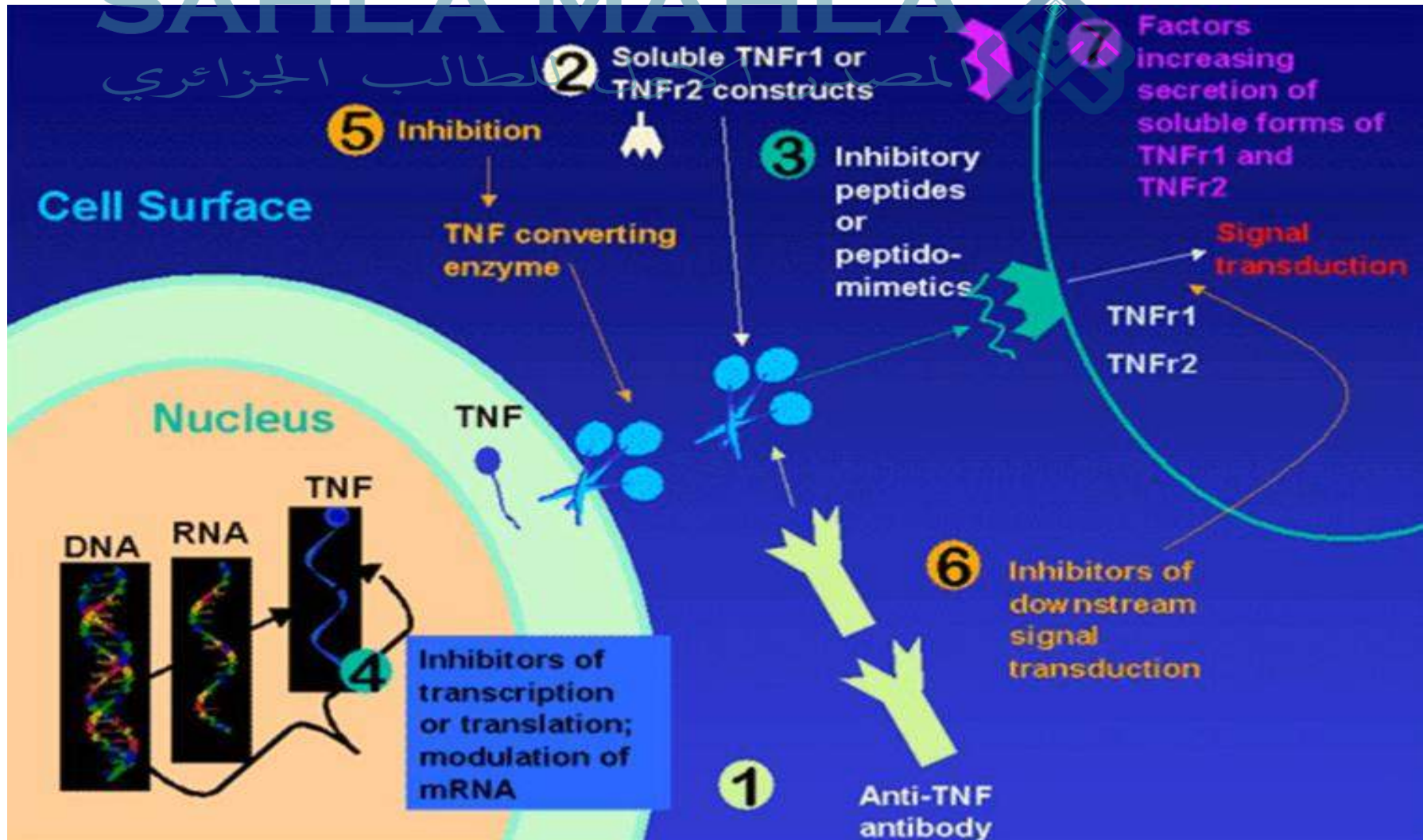
11



Mécanismes d'action du rituximab sur les lymphocytes B dans la PR

- Lyse des lymphocytes B exprimant le CD20 par apoptose, ADCC et CDCC.

# 3. Ciblage des cytokines: Blocage du TNF



# 3. Ciblage des cytokines: Blocage du TNF

Exemple

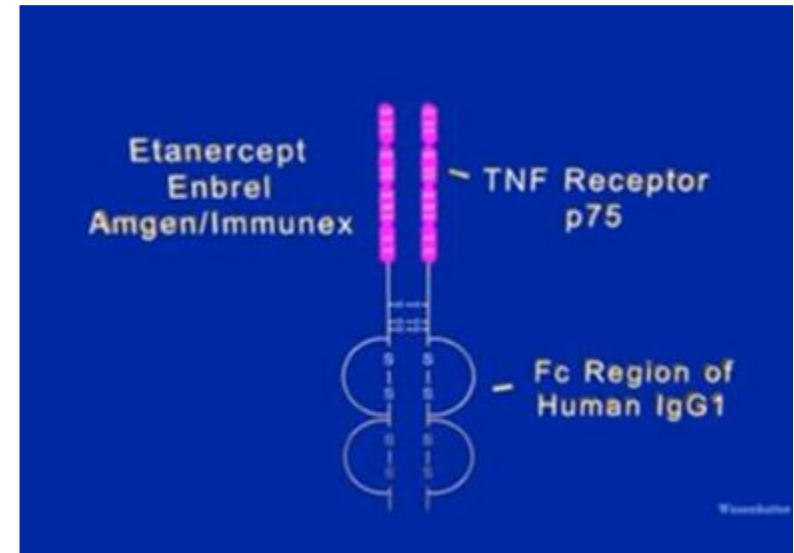
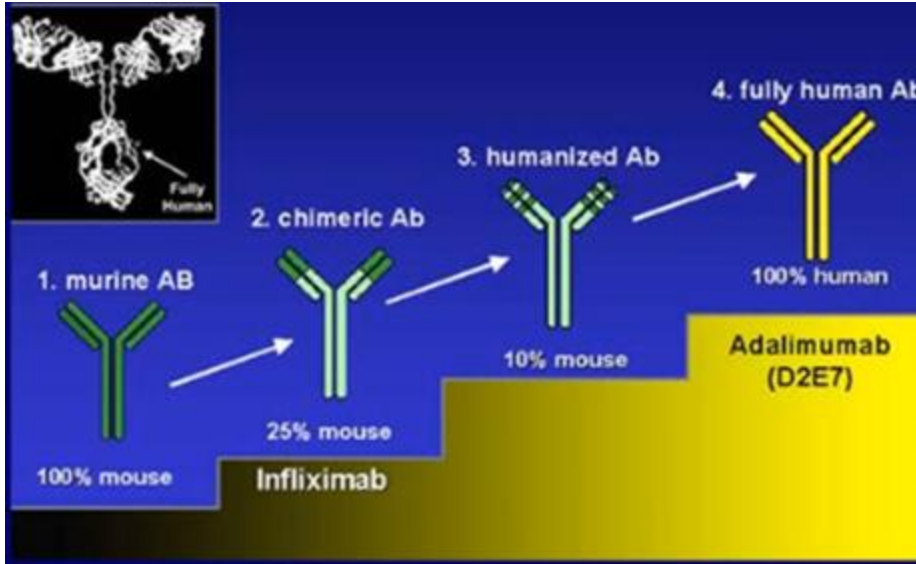
13

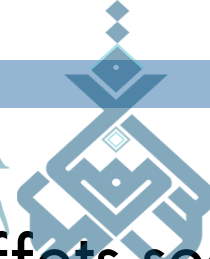
**Infliximab (ACMC chimérique anti-TNF $\alpha$ )**

**Etanercept**

(protéine fusion [TNFRII] $_2$ FcIg)

**Adalimumab (ACMC humain anti-TNF $\alpha$ )**





Anti-TNF- $\alpha$ : peuvent induire des effets secondaires.

→ voir TD





## Master 2: Biochimie-Immunologie



SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



# Biothérapies Moléculaires et Cellulaires

Mme. Ahras-Sifi N

2022-2023

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطلاب الجزائري



## Partie II: Biothérapies cellulaires

# Biothérapies cellulaires ?

SAHLA MAHLA



المصدر الأول للطالب الجزائري

- **L'ensemble des techniques permettant la manipulation ou la transformation d'une cellule ou d'un tissu, afin de leur conférer des fonctions nouvelles, en l'occurrence thérapeutiques.**
- Objectif est de réparer des cellules déficientes (ou âgées ou manquants) par des cellules en bonne santé de façon à réparer un tissu ou la fonction d'un organe.

# Les sources cellulaires Biothérapies cellulaires ?

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



1. **Les cellules souches embryonnaires**
2. **Les cellules souches adultes**
3. **Les cellules souches pluripotentes induites (Induced Pluripotent Stem Cells IPS).**

## Cellule souche (CS) ?

SAHLA MAHLA

➤ **Cellule indifférenciée** qui a pour propriétés :

- **Auto renouvellement** : Elle se divise en deux C filles dont au moins une reste indifférenciée (mêmes propriétés que C mère), en particulier la propriété d'auto-renouvellement ainsi la CS se renouvelle constamment.
- **Génération des cellules différenciées**, capables d'assurer la fonction d'un tissu ou d'un organe.

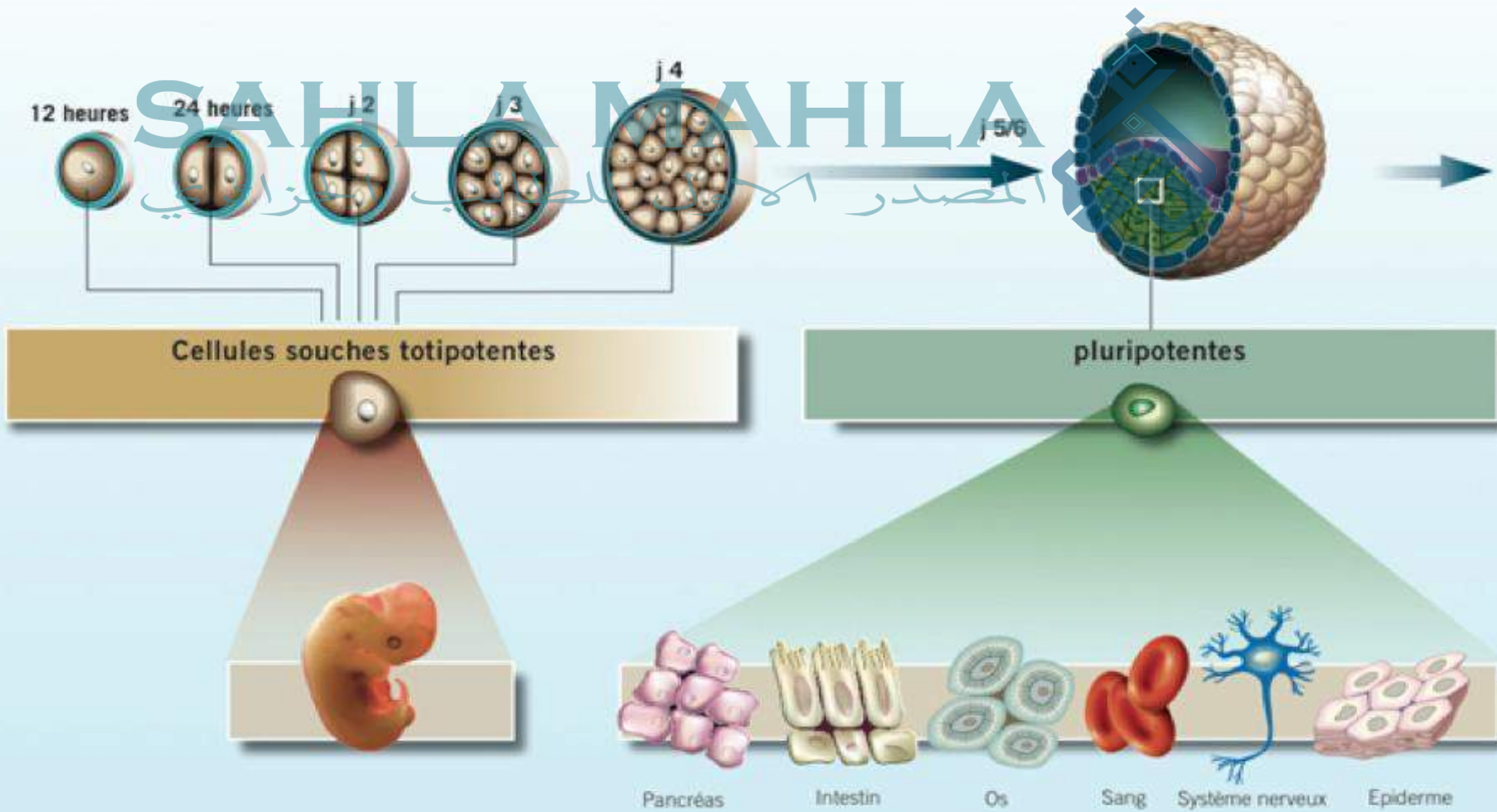
# Les types de cellules souches

Les différents types de cellules souches en fonction de leur capacité à générer des cellules différentes.

- *CS unipotentes* qui ne génèrent qu'un seul type cellulaire différencié
- *CS multipotentes* capables de générer plusieurs types cellulaires différenciés : par exemple, les *cellules souches hématopoïétiques*
- *CS pluripotentes* capables de générer tous les types cellulaires différenciés de l'organisme adulte, y compris les gamètes
- *SC totipotentes* capables de générer un être humain entier à partir d'une seule cellule. 1 seul exemple l'ovocyte fécondé (*blastomères*) après une ou deux (max quatre) divisions

# Quatre types de cellules souches

PRÉEMBRYON  
STADE BLASTOCYTE



**Issues des premières divisions de l'œuf fécondé,** ces cellules sont indifférenciées et immortelles. Dites totipotentes, elles sont celles ayant la plus grande capacité de différenciation. Une seule d'entre elles – si elle était réimplantée dans un utérus – permettrait d'aboutir à un individu complet.

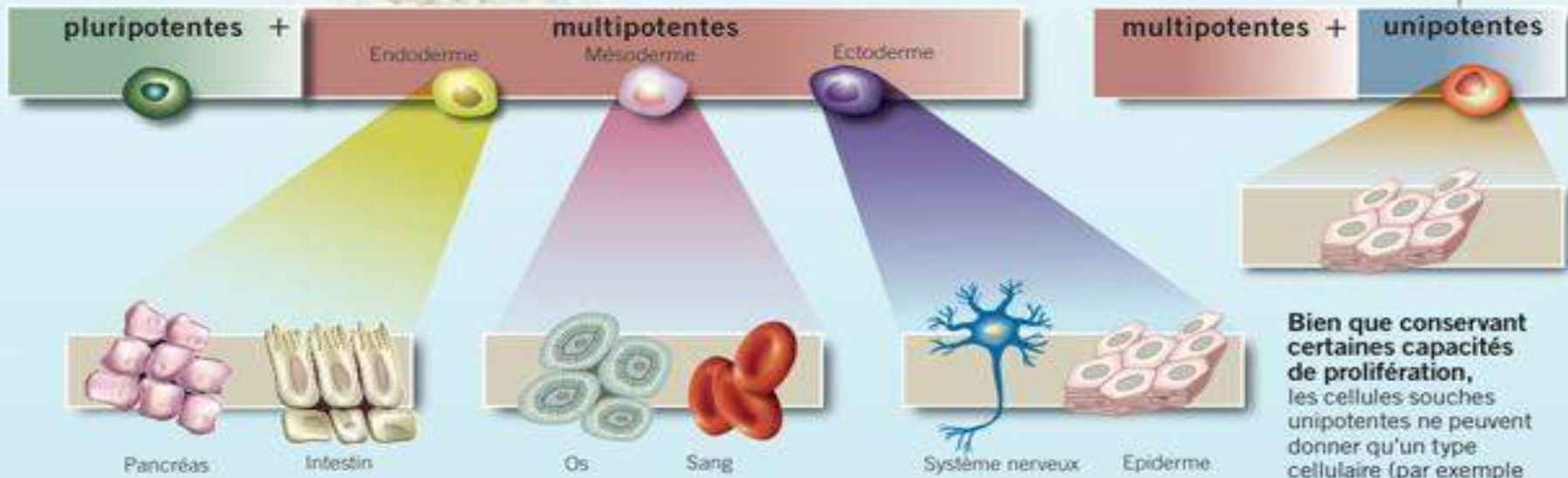
**Présentes dans la masse interne du préembryon au stade de blastocyste,** ces cellules pluripotentes sont immortelles et capables de se différencier en n'importe lequel des 200 types cellulaires. C'est sur ces fameuses « cellules souches embryonnaires humaines » (CSEh) que se concentre la recherche biomédicale actuelle.

EMBRYON IMPLANTÉ

FŒTUS

Ectoderme  
Mésoderme  
Endoderme

SAHILA MAHLA  
المصدر الأول للطالب الجزائري



**Hébergées dans des zones restreintes des différents tissus fœtaux ou adultes**, les cellules souches multipotentes, appelées « cellules souches adultes », ne peuvent donner naissance qu'à un seul organe (en fonction du feuillet embryonnaire d'origine : mésoderme, endoderme ou ectoderme). Elles sont, en revanche, à l'origine de plusieurs types de cellules différenciées dudit organe. Une cellule souche hématopoïétique, par exemple, peut donner n'importe laquelle des cellules sanguines (globule rouge, globule blanc, plaquette...).

**Bien que conservant certaines capacités de prolifération**, les cellules souches unipotentes ne peuvent donner qu'un type cellulaire (par exemple hépatocytes du foie ou kératinocytes de la peau). Un organisme adulte conserve aussi des niches de cellules souches multipotentes.



## **TOTIPOPOTENCE**

Tous les types cellulaires y compris les cellules extra-embryonnaires

## **PLURIPOTENCE :**

Toutes les cellules spécialisées d'un individu

## **MULTIPOTENCE :**

Plusieurs types de cellules spécialisées

## **UNIPOTENCE :**

Un seul type de cellules spécialisées



# I. Les cellules souches embryonnaires

# I. Les cellules souches embryonnaires

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



Les cellules souches embryonnaires (CSE) sont des cellules pluripotentes prélevées sur des embryons entre le 5<sup>e</sup> et le 6<sup>e</sup> jour suivant une fécondation *in vitro* (stade blastocyste du développement embryonnaire), puis détruit pour extraire les cellules de la masse cellulaire interne (ICM)

# Isolement des CSE

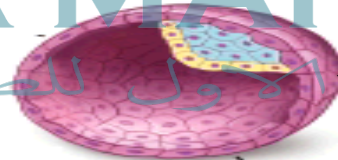
Les cellules SE sont isolées à partir de la masse cellulaire interne du blastocyste.

La culture des CSE est difficile et nécessite des cellules nourricières, par exemple fibroblastes embryonnaires murins ou LIF (leukemia inhibitory factor)., pour les maintenir le potentiel d'auto-renouvellement et un état indifférencié

# Isolement des CSE

SAHLA MAHLA

Blastocyste

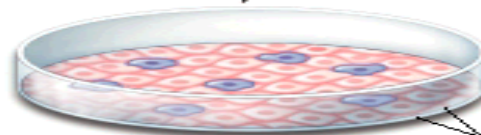
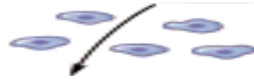


Inner Cell Mass (ICM)

*masse cellulaire interne d'un embryon de 5-6 jours*



Isolated ICM



couche nourricière

mouse embryonic fibroblast

Irradiated **MEF**  
and **LIF**

leukemia inhibitory factor

Les MEF soutiennent la croissance indifférenciée des CSE pluripotentes en sécrétant les facteurs solubles nécessaires et en fournissant un substrat pour la fixation des CS.

Le LIF : un effecteur capital dans le maintien de la pluripotence des cellules souches embryonnaires



Les CSE ont été isolés pour la première fois d'embryons de souris en 1981. Cependant, Les ES les humains ont été obtenus pour la première fois en 1998.

L'essentiel des recherches est ensuite effectué sur les lignées cellulaires hES

Les lignées cellulaires hES utilisées en recherche proviennent actuellement d'embryons surnuméraires c'est-à-dire non implantés à l'issus d'un processus de procréation médicalement assistée.

# Les marqueurs des CSE

Les marqueurs ESC sont classés principalement en quatre groupes :

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



1. les marqueurs de surface cellulaire
2. les facteurs de transcription
3. les marqueurs intracellulaires liés à la voie du signal
4. les marqueurs peptidiques.

Malheureusement, les marqueurs de CSE changent en culture cellulaire. Les marqueurs de surface cellulaire sont les plus utilisés pour l'identification par coloration ou par cytométrie en flux.

## **Les marqueurs de surface cellulaire les plus couramment utilisés sont :**

Les antigènes embryonnaires spécifiques au stade (SSEA-1, -3, -4), cluster de différenciation les antigènes (CD133, CD31, CD59, CD49f), TRA-1-60 et TRA-1-81, le facteur de cellule souche (SCF) et le facteur de croissance-1 dérivé du tératocarcinome.



Parmi **les facteurs de transcription**, on distingue les gènes, qui interviennent dans la régulation de voies importantes de souches, tels que, Oct-3/4, Sox2, KLF-4 et Nanog.

**Les marqueurs intracellulaires liés à la signalisation** jouent un rôle important dans le maintien de l'ESC auto-renouvellement. Comme exemples peuvent servir des protéines de la voie de signalisation Wnt /  $\beta$ -caténine, Protéines SMAD et molécules associées au facteur de croissance transformant- $\beta$  (TGF- $\beta$ )

# I.A. Les Cellules Souches Embryonnaires de Souris

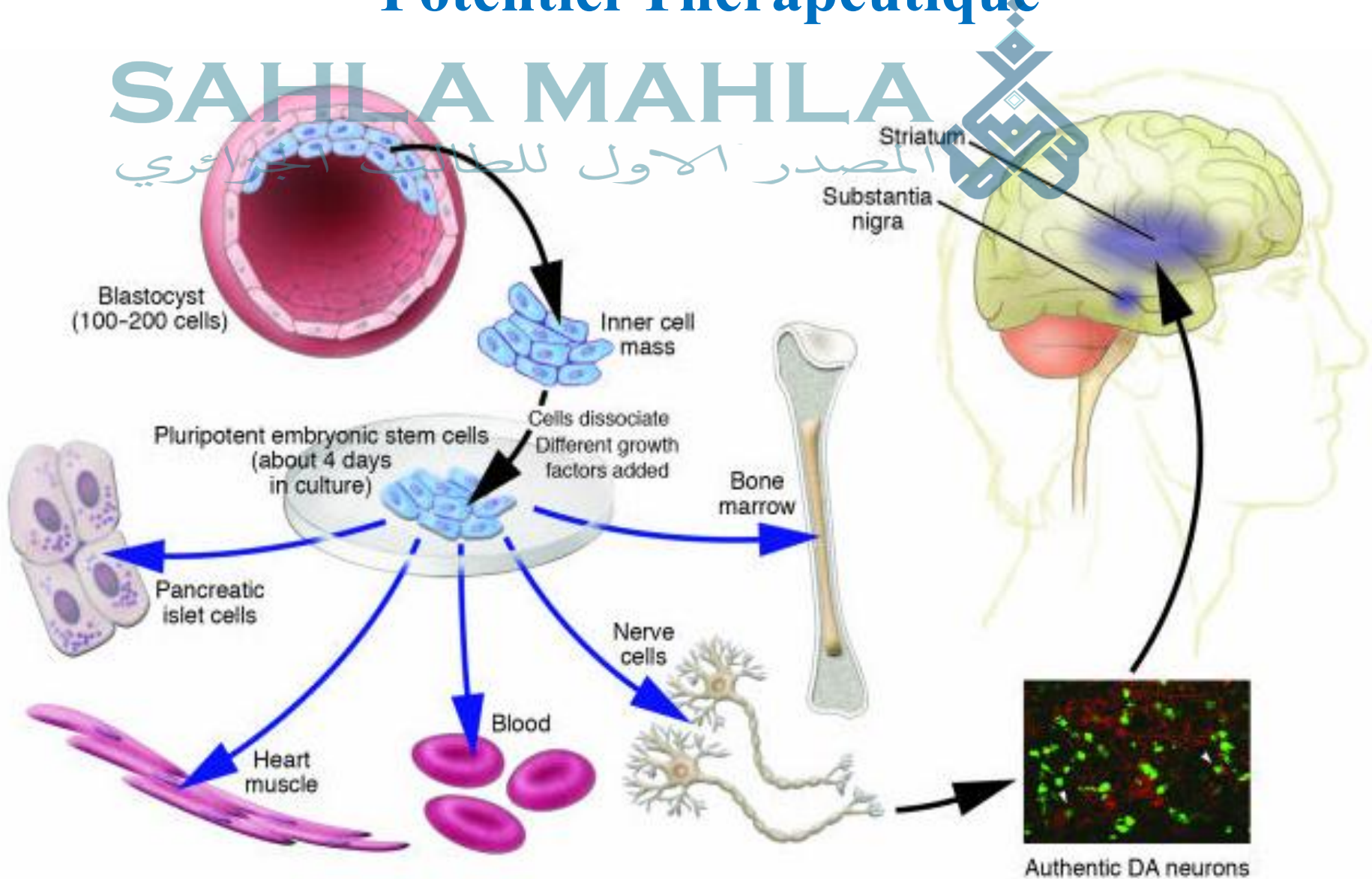
Isolées en 1981, ce n'est qu'en 1995 que pour la première fois on montre qu'elles peuvent, dans des boîtes de culture en laboratoire, différencier en de nombreux types cellulaires

*Source potentielle de cellules thérapeutiques pour la médecine régénérative*

# Les Cellules Souches Embryonnaires: Potentiel Thérapeutique

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



# Les Cellules Souches Embryonnaires (CSE) et la maladie de Parkinson

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري



En 1998, il est rapporté que les CSE de souris forment, après transplantation chez l'animal, des neurones dopaminergiques avec des synapses.

En 2002, mis en évidence de leur capacité à corriger certaines fonctions cérébrales après transplantation dans un modèle animal de la maladie de Parkinson.

# I.B. Les Cellules Souches Embryonnaires Humaines

- En novembre 1998, deux groupes (USA) rapportent l'isolement de cellules souches embryonnaires à partir d'embryons humains de 5 jours (fécondation in vitro et développement de l'embryon dans le laboratoire pendant 5 jours avant d'isoler les cellules souches).

# Avantage des CSEh



- Elles permettent d'acquérir de nouvelles connaissances sur :
- **le développement normal et pathologique** humain. A partir de cellules issues d'embryons sains ou malades, les chercheurs peuvent étudier les différents stades du développement ainsi que le devenir des différentes cellules qui composent l'organisme.
- **des maladies génétiques rares**, en utilisant des cellules porteuses d'une altération génétique associée à une telle maladie. Ces cellules servent de **modèle cellulaire de la maladie** et permettent notamment de **tester de nouveau traitement**

# Avantage des CSEh

Un formidable outil pour la recherche  
biomédicale

SAHILA MAHILA  
المصدر الأول للطالب الجزائري



- **le fonctionnement des cellules de différents organes et les maladies associées.**
- Pour cela, il est nécessaire d'induire la différenciation des cellules souches embryonnaires en cellules spécialisées à étudier (neurones, cellules cardiaques, hépatocytes, cellules du pancréas, cellules musculaires...). Cette approche est particulièrement utile quand il s'agit de travailler sur des cellules qui se renouvellent peu (ou pas) dans l'organisme et qui sont difficilement accessibles, comme les neurones.

# Avantage des CSEh

SAHLEA MAHLEA  
المصدر الأول للطالب الجزائري

Un formidable outil pour la recherche biomédicale



- Par ailleurs, les cellules souches embryonnaires humaines peuvent être utilisées en **thérapie cellulaire**, pour régénérer un organe ou produire des substances nécessaires à rétablir une fonction biologique. Elles constituent un réservoir inépuisable de cellules qu'il est possible de différencier en cellules d'intérêt thérapeutique à délivrer à un patient.



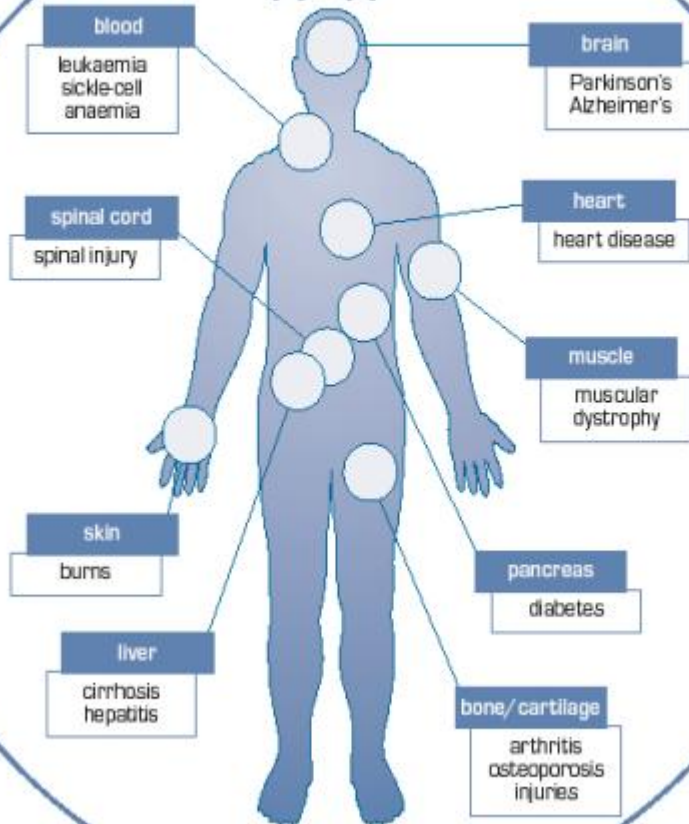
# Applications Therapeutiques des CSEh

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري

Thérapie cellulaire

Potential stem-cell  
therapy applications



diabète

brûlures

maladie de parkinson

infarctus du myocard

maladies du sang

myopathies

perte de cartilage

perte osseuse

cancer

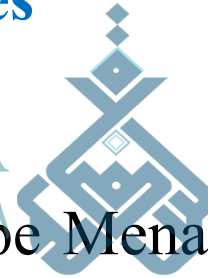
# Transplantation de Cellules Souches Embryonnaires Humaines dans le cœur de rat après Infarctus

- Publié Août 2007
- -Dérivation de CSE humaines en cardiomyocytes in vitro: 80% des cellules sont des cardiomyocytes
- Transplantation 4 jours après induction de l'infarctus
- Analyse 4 semaines après transplantation:
- Pas de formation de tumeur Amélioration de la fonction cardiaque

NB Les souris avaient reçu un traitement immunosuppresseur afin que leur système immunitaire ne rejette pas la greffe de cellules souches

# Thérapie cellulaire de l'insuffisance cardiaque : première implantation de cellules cardiaques dérivées de cellules souches embryonnaires humaines

SAHLA MAHLA



- Le 21 octobre 2014, le Professeur Philippe Menasché et son équipe du service de chirurgie cardiovasculaire de l'hôpital européen Georges Pompidou, ont pratiqué une greffe de C cardiaques dérivées de CSE humaines
- L'opération a été pratiquée chez une femme de 68 ans atteinte d'insuffisance cardiaque sévère.
- Dix semaines après l'intervention, la patiente se portait bien, son état s'est nettement amélioré, sans qu'aucune complication n'ait été observée.
- Une avancée prometteuse dans le traitement des maladies cardiaques

# Utilisation des Cellules Souches Embryonnaires Humaines en Clinique

SAHLA MAHLA

المعهد الجزائري للطالب الجزائري

**Limites ????**



# Les inconvénients des cellules souches embryonnaires :

Limites ????

SAHLA MAHLA

L'éthique :

المصدر الأول للطالب الجزائري



Ces cellules sont isolées d'embryons surnuméraires ou issus d'avortements, leur utilisation soulève donc des problèmes d'éthique.

Notamment pour certains groupes, religieux ou non qui considèrent l'extraction de CSE comme une atteinte à l'intégrité de l'embryon.

La diversité de la réglementation en Europe par exemple, montre à quel point cette question est difficile à trancher pour les pouvoirs publics

# Les inconvénients des cellules souches embryonnaires :

Limites ????

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



## Le risque carcinogène :

Des études sur la souris ont montré que l'utilisation de ces cellules ES a engendré l'apparition des tumeurs.

En effet, ces cellules possèdent une grande capacité de prolifération qui peut à terme être incontrôlable.

Le risque de cancérogenèse après administration de cellules ES pourrait être proportionnel à leur capacité de prolifération.

Ce risque proviendrait des possibilités accrues de mutation lorsque la cellule est plus indifférenciée et qu'elle subit un nombre de divisions élevé

# Les inconvénients des cellules souches embryonnaires :

## Limites ????

- **Le rejet par le système immunitaire**
- Les CSEh sont issues d'un embryon, dont la probabilité d'être compatible sur le plan immunitaire (« compatibilité HLA ») avec un patient est extrêmement faible.
- En l'absence de compatibilité, un traitement par cellules issues de CSEh est envisageable uniquement sous un traitement médicamenteux lourd par *immunosuppresseurs* comme pour une greffe d'organe. - Une solution à l'étude est le transfert de noyau de cellule somatique: **Clonage thérapeutique.**
- **Apparition d'anomalies génétiques**
- La culture cellulaire *in vitro* est totalement artificielle et ne mime que très infidèlement les conditions de vie cellulaire *in vivo*. Dans ces conditions apparaissent fréquemment des cellules portant des anomalies génétiques, qui sont précancéreuses.

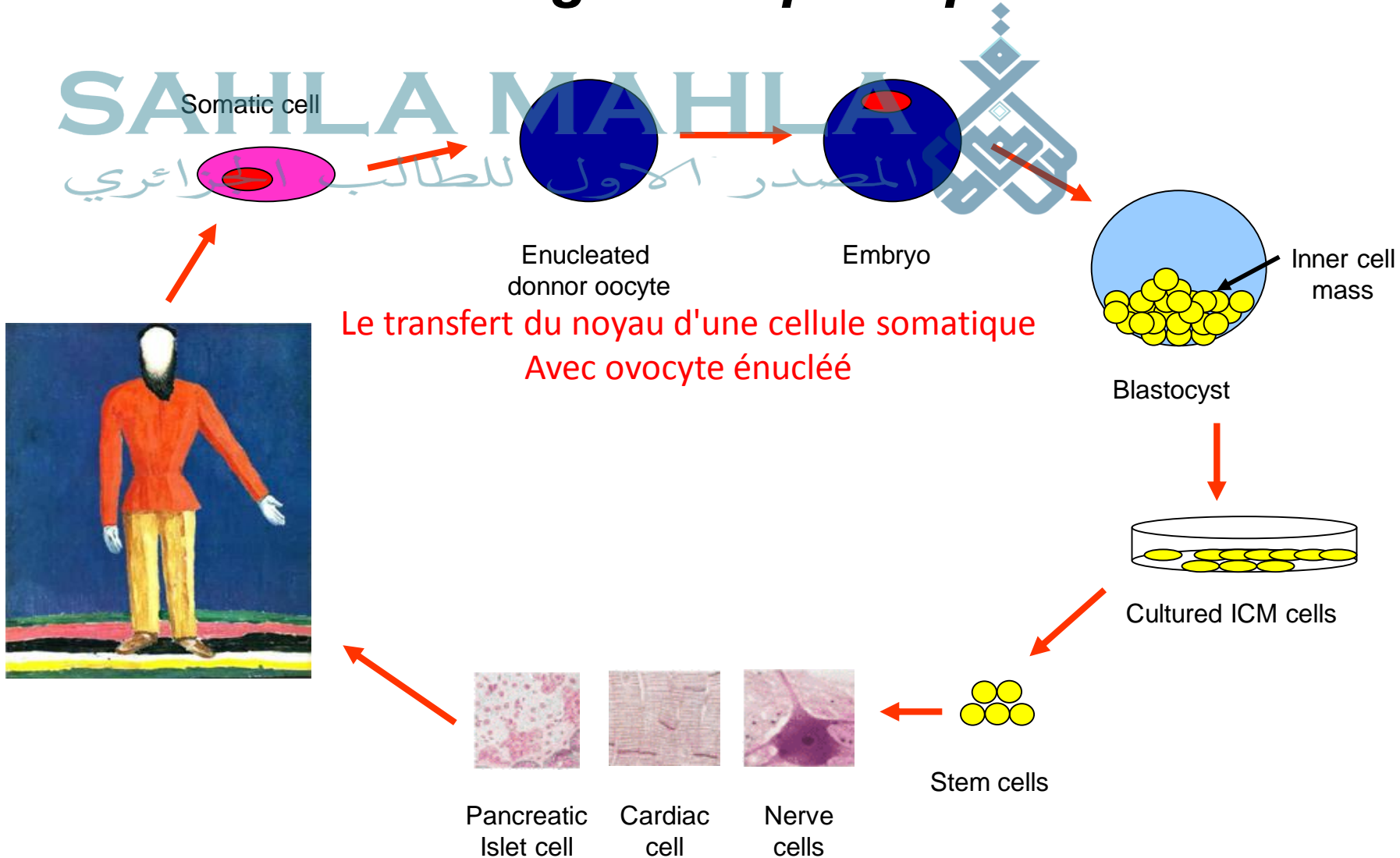
# Le clonage thérapeutique :

Le clonage thérapeutique ou encore appelé clonage non reproductif, consiste à transférer le noyau d'une cellule somatique adulte dans un ovule énucléé dans le but d'obtenir des CSE, dont la culture des SCh *in vitro* pourrait fournir des lignées de cellules différenciées ou de tissus susceptibles d'être utilisées, notamment par greffes, afin de traiter une maladie.

Il s'agit d'un moyen de fabriquer des lignées de cellules ou des tissus génétiquement identiques à l'individu chez qui a été prélevée la cellule adulte d'où provient le noyau utilisé



# Le clonage thérapeutique



# Le Clonage Thérapeutique: La Pratique

**Technique à efficacité très aléatoire:**

Taux de réussite chez animaux d'élevage: 1 pour 100 tentatives

Février 2004 à Séoul: Premier embryon humain aurait été obtenu par clonage thérapeutique.

Processus très lourd, peu efficace et très coûteux actuellement:

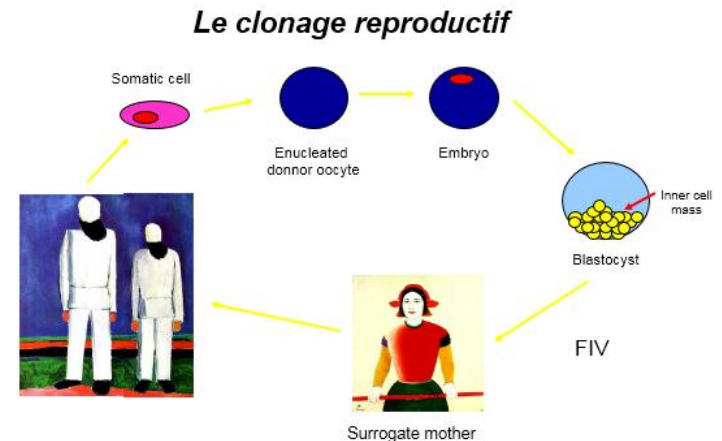
1 cellule souche à partir d'un individu a nécessité:

242 ovules, 16 femmes volontaires (2 cycles de super ovulation); Coût estimé:  
100 000 Euros

Nécessité d'effectuer des recherches fondamentales pour comprendre et améliorer le processus, ou développer des solutions alternatives.

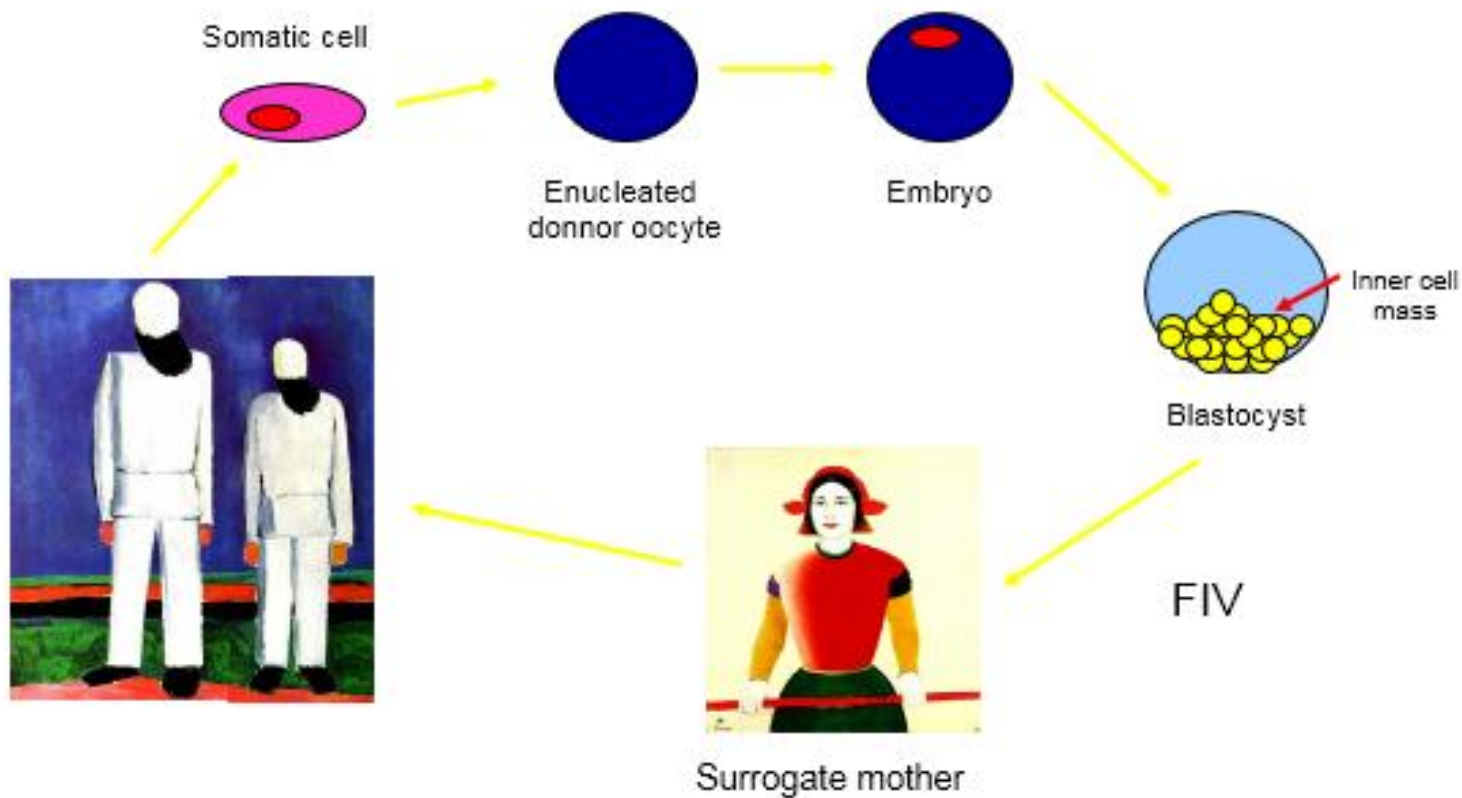
# Ethique

- 1) **Créer des embryons humains destinés à être détruits pour isoler les cellules souches: à partir de quand un embryon est un être humain?**
- 2) **Risque d'instrumentalisation, commercialisation, du corps de la femme pour obtenir les ovocytes pour le clonage thérapeutique.**
- 3) **Risque d'ouvrir la porte au clonage reproductif.**



# SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري  
**Le clonage reproductif**



# Loi Bioéthique

**En France:** Clonage reproductif est passible de 20 ans de réclusion criminelle (interdiction internationale en cours)

Clonage thérapeutique: Possibilité d'utiliser les embryons surnuméraires et d'importer des cellules embryonnaires humaines générées aux USA.

## Europe:

Grande-Bretagne: Clonage thérapeutique autorisé.

Pays-Bas, Belgique, Suède, Danemark, Finlande, Portugal :Autorisé par absence de loi.

Interdit en Italie, Allemagne

# 3. Les Solutions Alternatives au Clonage Thérapeutique



## *Les Embryons Homme-Vache*

*Autorisation donnée en Grande-Bretagne en Septembre 2007.*

La création in vitro d'embryons « chimères » constitués d'un patrimoine génétique humain intégré dans un ovocyte de mammifère (vache, lapine).

## *La reprogrammation des cellules de peau*

En Novembre 2008, une équipe Japonaise (Yamanaka) a pu reprogrammer des cellules de peau de humaines en cellules ayant toutes les caractéristiques des cellules souches embryonnaires, en les forçant à exprimer 4 gènes.

Très faible rendement: 1/1000

**Shinya Yamanaka a obtenu en 2012 le PRIX NOBEL DE MEDECINE**

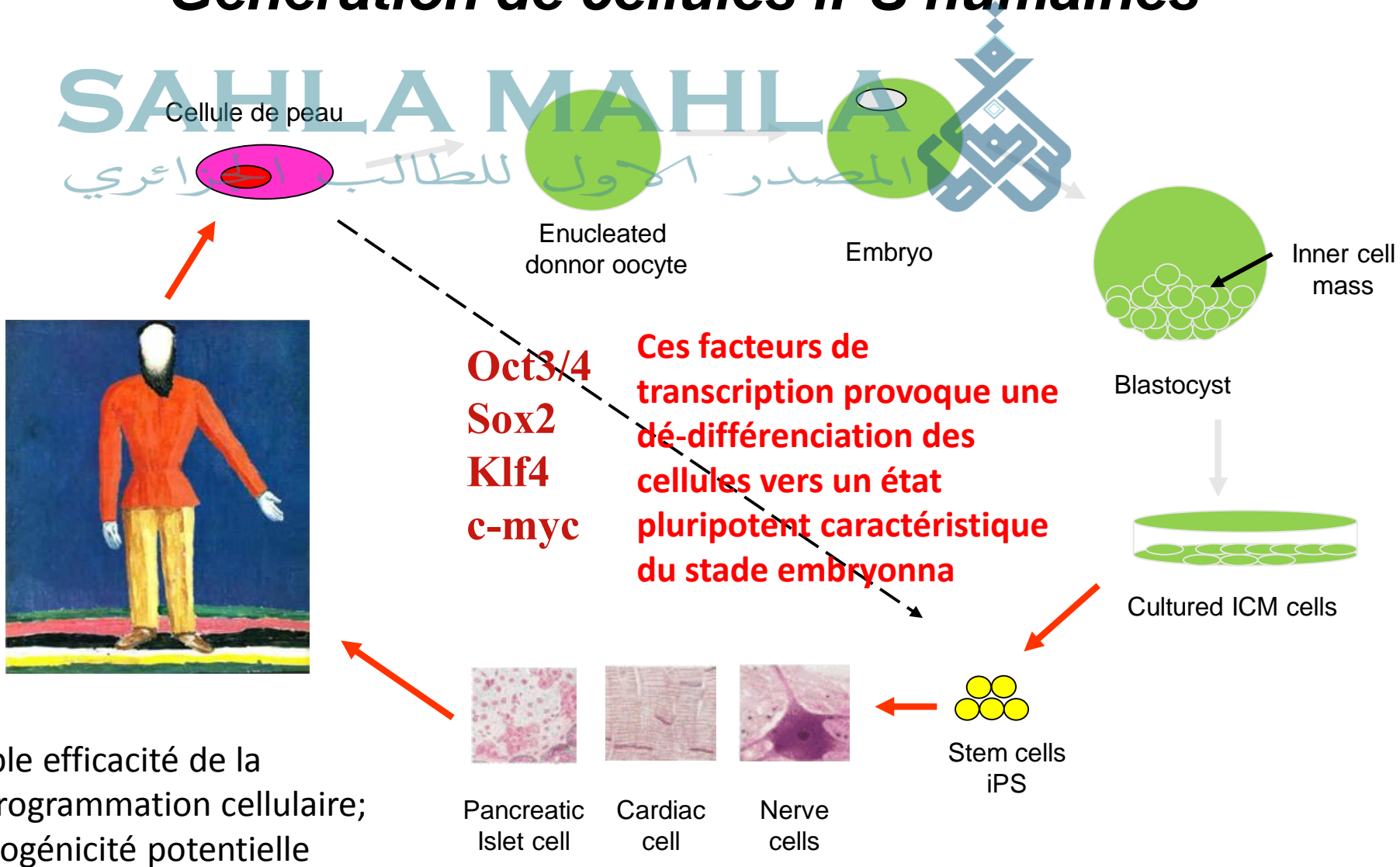
# Cellules souches pluripotentes induites (Induced Pluripotent Stem Cells, ou IPS)

SAHLA MAHLA



- Takahashi et collaborateurs (2007) ont montré qu'il était possible de reprogrammer des cellules matures grâce à l'expression de différents facteurs de transcription (Oct4, Sox2, Kif4, c-MYC).
- Ce procédé permet d'obtenir des cellules « **embryonnaires-like** », ayant des caractéristiques très proches aux véritables CSE,
- Les cellules IPS saines constituent donc **une source potentielle de thérapie cellulaire**. En dehors du domaine de la thérapie cellulaire, cette approche **permet la création de lignées de cellules malades, porteuses d'un défaut génétique donné, et pouvant être utilisées pour un criblage moléculaire pharmacologique**.

# Génération de cellules iPS humaines







## **II. Les cellules souches adultes**

# Les cellules souches adultes

*Certains tissus/organes d'un individu sain sont en constant renouvellement grâce aux cellules souches adultes*

المصدر الأول للطالب الجزائري

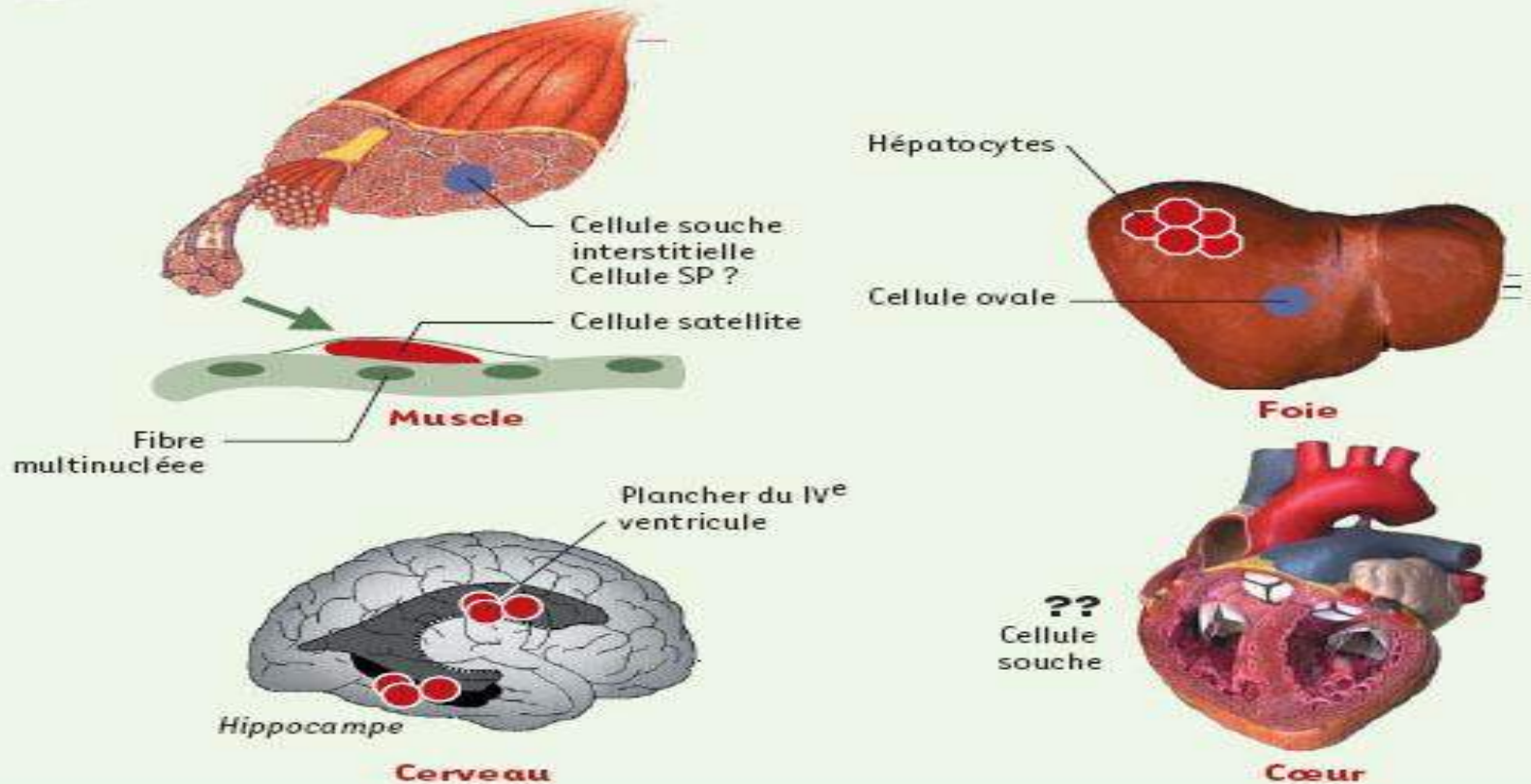


- *les cellules souches adultes* ont une capacité de prolifération importante mais ont perdu la capacité de générer l'ensemble des tissus de l'organisme.
- **CS hématopoïétiques (GR,GB...)**
- **CS mésenchymateuses (os, cartilage...)** → voir TD
- **CS épithéliales (peau, muqueuse intestinale)**
- **CS hépatocytaires**

**A** CELLULES SOUCHES DES TISSUS À RENOUVELLEMENT RAPIDE

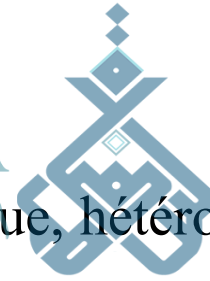


**B** CELLULES SOUCHES DES TISSUS NE SE RENOUVELANT PAS OU PEU



# Utilisations thérapeutiques des cellules souches adultes :

SAHLA MAHLA



- Usage clinique établi : moelle osseuse (autologue, hétérologue), peau (autologue, hétérologue), cartilage

# GREFFES

- **Grefe autologue** : Il s'agit de transférer des cellules d'un territoire à un autre chez un même patient lorsqu'une partie des tissus de l'organisme est malade.  
SAHLA MAHLA المصدر الأول للطبيب الجزائري
- **Avantage** : pas de rejet // **Inconvénient** : gène morbide conservé
- **Grefe autologue avec modification cellulaire** : Uniquement si la correction est faisable et identifiée, et si il est possible d'amplifier les cellules. Il s'agit soit de la correction génique temporaire ou définitive pour obtenir la sécrétion d'un produit thérapeutique ou l'amélioration de propriétés biologiques.
- **Avantage** : pas de rejet // **Inconvénient** : manipulation de gènes ; production, sécurité de l'utilisation clinique
- **Grefe hétérologue** : Dans ce cas, on a un receveur et un donneur. On l'effectue si les cellules du receveur ne sont pas accessibles, modifiables, ou fonctionnelles.
- **Avantage** : génome non morbide, capacités régénératives // **Inconvénient** : Immunogénicité, sécurité virale



**Exemple: LA GREFFE  
DE CELLULES SOUCHES  
HÉMATOPOÏÉTIQUES**

# LA GREFFE DE CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES

- La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) permet en quelque sorte de faire une remise à zéro du système sanguin et/ou immunitaire.
- L'opération consiste à remplacer les cellules malades par des cellules saines.

## Caractéristiques des CSH

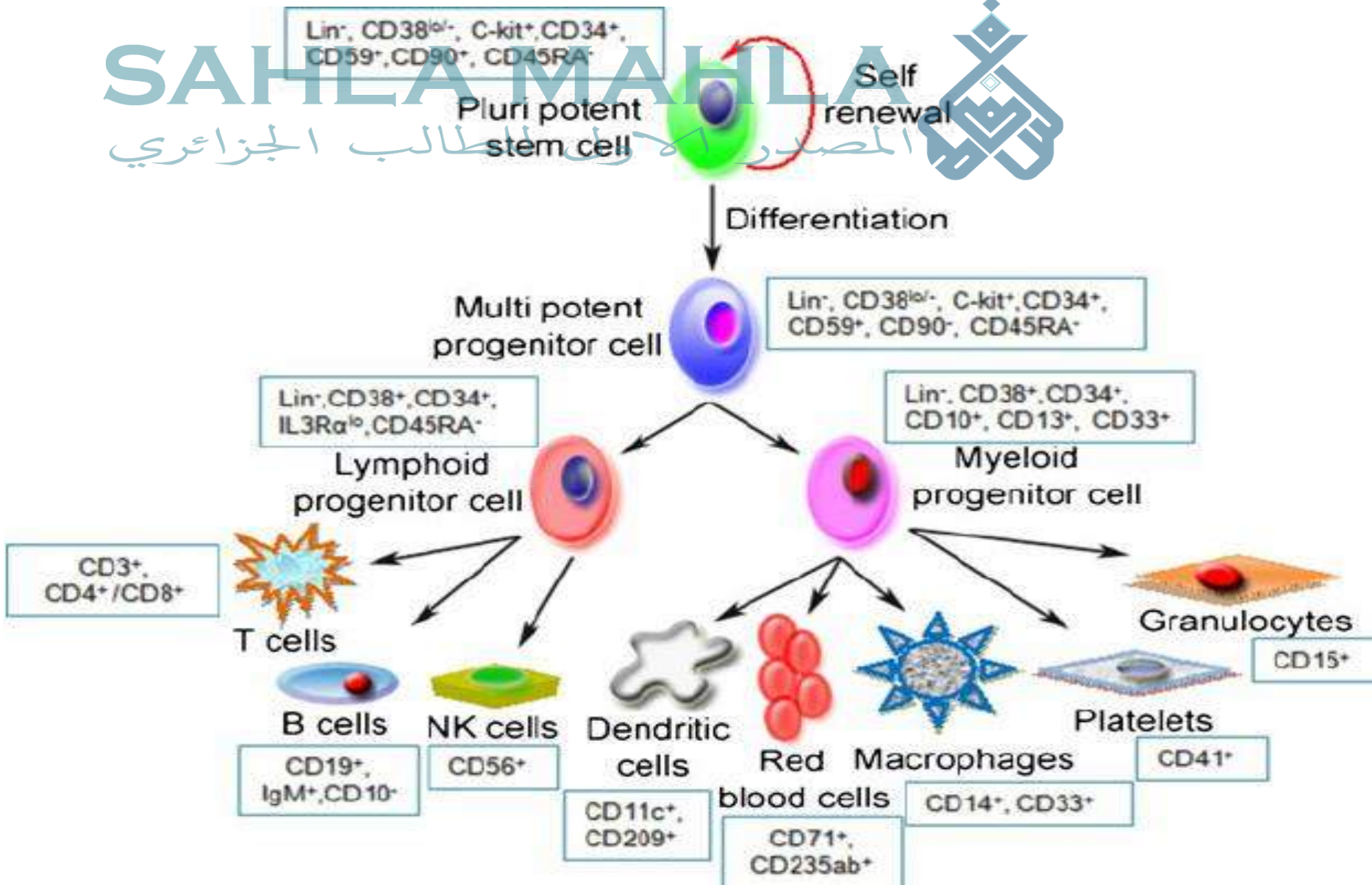
- **Multipotence** (capables de générer plusieurs types de cellules).

**Contrairement aux cellules pluripotentes, les CS multipotentes ont une capacité de prolifération limitée**

- **CD34+**

# Identification des CSH

## Phénotype aux différentes étapes de leur différenciation

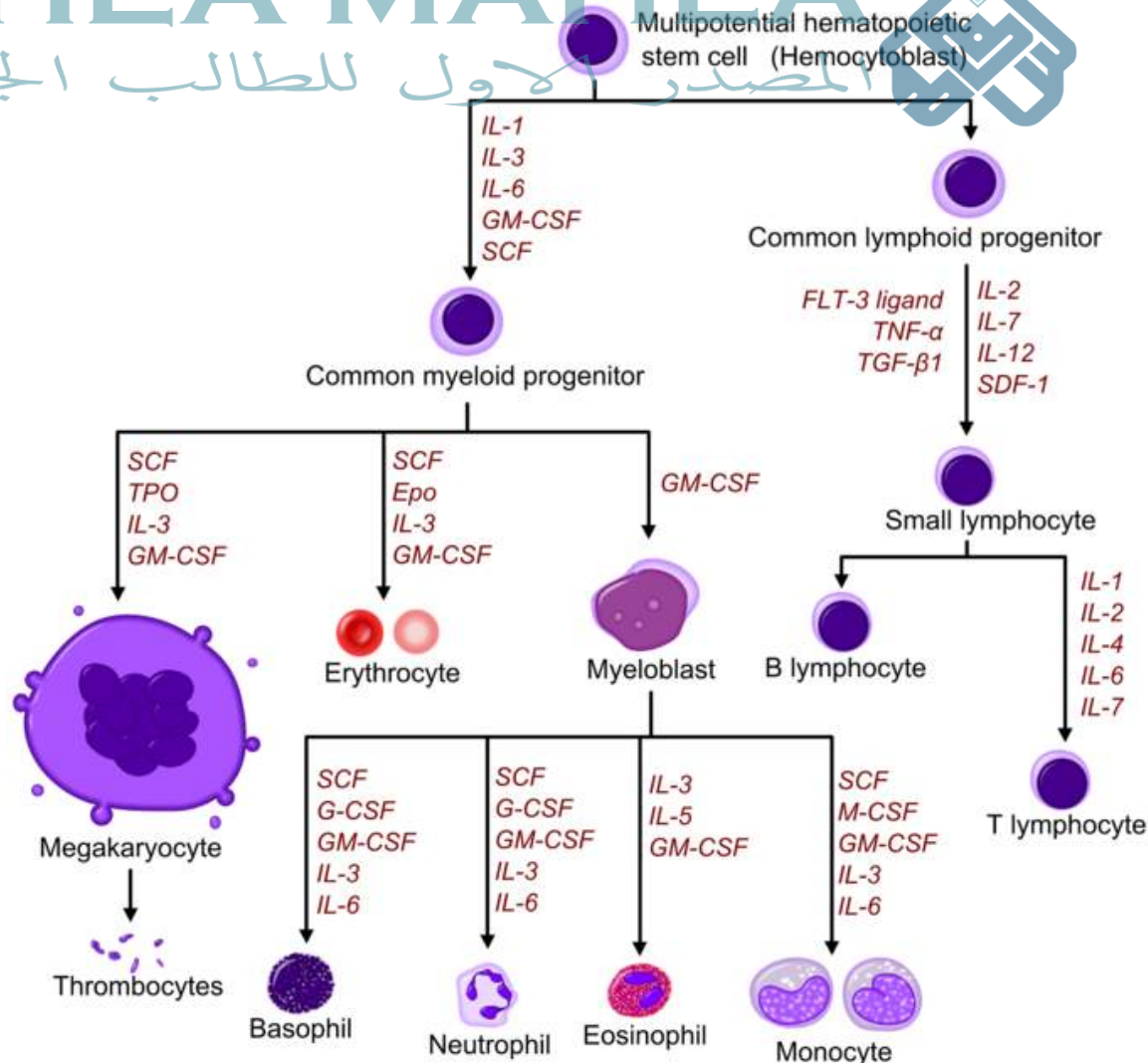




# Facteurs de croissance de l'hématopoïèse et cytokines

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



# Différentes sources de CSH

- ***La moelle osseuse*** (cavité des gros os du corps, comme ceux du bassin, prélèvement sous anesthésie locale ou générale)
- CSH représentent entre **0,5 et 1% des cellules mononucléées** (stroma médulaire). Il est donc nécessaire, lors du prélèvement de moelle, de pouvoir faire un tri cellulaire afin d'obtenir une population CD34+ la plus pure possible.

## • ***Le sang périphérique***

- Dans les conditions physiologiques, **moins de 0,1%** des cellules du sang périphérique expriment le marqueur CD34+.
- Grâce à certains facteurs de croissance (G-CSF : Granulocyte-Colony Stimulating Factor, par exemple) et plus récemment à un antagoniste du récepteur CXCR4 (Plerixafor, Mozobil®) , il est possible de mobiliser les CSH vers le sang périphérique.

(Le récepteur CXCR4 permet de retenir les CSH dans la moelle osseuse par l'interaction avec la chimiokine CXCL12 )

# Différentes sources de CSH

- ***Le sang du cordon*** : L'immaturation du SI du tissu foetal, confère aux CSH une plus faible immunogénicité et offre une alternative à la greffe de moelle en l'absence de donneur compatible.
- **La conservation de sang placentaire n'est autorisée en France que pour soigner d'autres patients, de façon anonyme et gratuite.**
- **Le réseau français du sang placentaire (RFSP)** coordonne la collecte et la conservation du sang de cordon, grâce à un réseau de maternités partenaires couvrant plus du quart des naissances en France.
- Les femmes qui acceptent de donner ce produit sanguin à l'occasion de la naissance de leur enfant, le font de manière altruiste. A partir du quatrième mois de grossesse, si la mère est éligible, elle peut donner son consentement.
- Le prélèvement a lieu dans les minutes qui suivent l'accouchement lorsque le cordon ombilical vient d'être coupé Le sang est ensuite congelé et conservé dans une banque en vue de son utilisation ultérieure.

# Utilisation clinique des CSH

SAHLA MAHLA



- **La greffe autologue** de CSH n'est pas un traitement en soi mais plutôt un support de traitement.
- En effet, les CSH provenant du patient lui-même sont conservées et réinjectées après une chimiothérapie intensive. Cette stratégie permet d'avoir recours à des doses de chimiothérapie très élevées, dans le but d'améliorer la réponse du patient au traitement anticancéreux.
- **La greffe de CSH allogéniques** permet de restaurer un tissu hématopoïétique déficient (déficit immunitaire) ou envahi par des cellules malignes (hémopathies malignes: leucémies aiguës, les lymphomes, myélome). Dans les deux cas, les **CSH constituent véritablement un traitement en tant que tel.**
- L'allogreffe de CSH nécessite un donneur sain différent du receveur et sélectionné en fonction de certains critères d'histocompatibilité. Dans la mesure du possible, une compatibilité parfaite du système majeur d'histocompatibilité (système HLA) est exigée entre le donneur et le receveur.