

## I- Les anticorps monoclonaux

### 1-Rappel sur la structure des Anticorps :

Bien que différentes immunoglobulines puissent présenter des variations structurales, elles sont toutes construites sur la même unité de base (Fig 1).

#### *A. Chaînes lourdes et légères*

Toutes les immunoglobulines ont une unité de base formée d'une structure comprenant quatre chaînes. Elles sont ainsi composées de deux chaînes légères (L) identiques (23kD) et de deux chaînes lourdes (H) identiques (50-70kD).

#### *B. Ponts disulfures*

- Ponts disulfures inter-chaînes. Les chaînes lourdes et légères, d'une part, et les deux chaînes lourdes, d'autre part, sont maintenues ensemble par des ponts-disulfures inter-chaînes ainsi que des liaisons non-covalentes. Le nombre de ponts disulfures inter-chaînes varie en fonction des molécules d'immunoglobulines.

-Ponts disulfures intra-chaînes. Se trouvent au sein de chaque chaîne polypeptidique.

#### *C. Régions Variables (V) et Constantes (C)*

Les chaînes lourdes et les chaînes légères peuvent être divisées en deux régions basées sur la variabilité des séquences des acides aminés :

- Pour la chaîne légère : les régions VL (110 acides aminés) et CL (110 acides aminés)
- Pour la chaîne lourde : les régions VH (110 acides aminés) et CH (330-440 acides aminés)

#### *D. Région charnière*

Elle correspond à la partie où les bras de la structure d'anticorps sont en forme de Y. Cette région est appelée « charnière » car c'est à ce niveau que la molécule présente un certain degré de flexibilité.

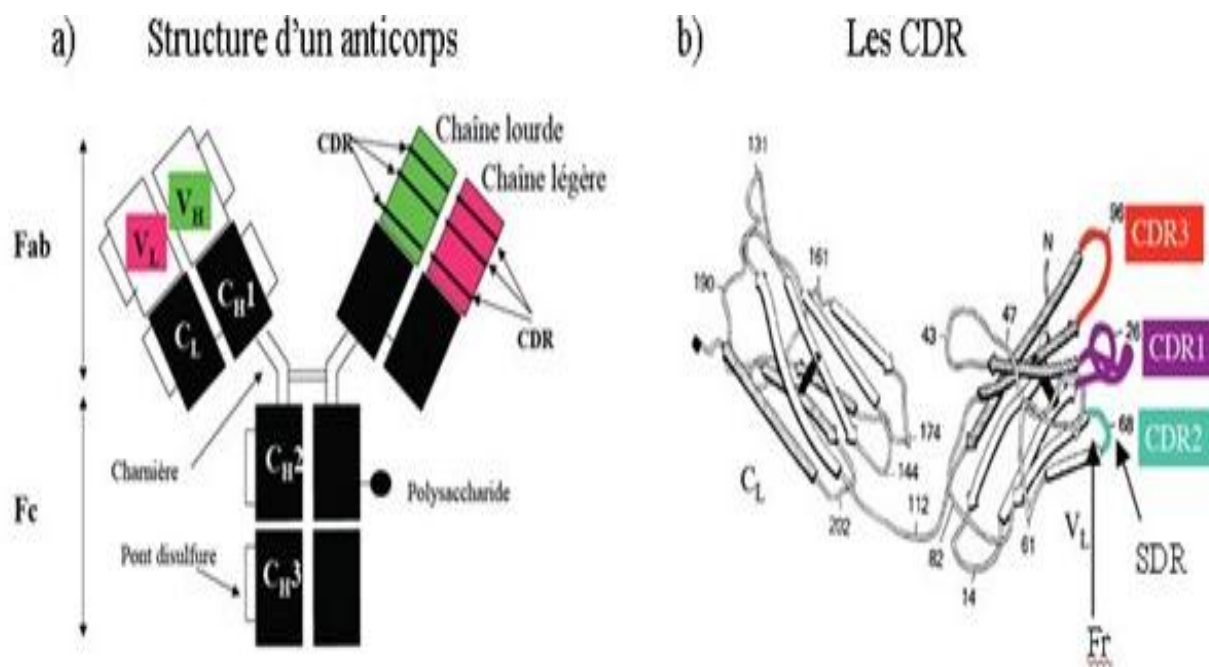
#### *E. Domaines*

Les images de la structure tridimensionnelle de la molécule d'immunoglobuline montrent que cette dernière est structurée en régions globulaires, chacune d'entre elles contenant un pont disulfure intra-chaîne. Ces régions sont appelées domaines.

- Domaines de la chaîne légère : VL et CL
- Domaines de la chaîne lourde VH, CH1 à CH3 (eventuellement CH4)

### F.Oligosaccharides

Des motifs oligosaccharidiques sont attachés au domaine CH2 de la plupart des immunoglobulines. Dans certains cas, ces oligosaccharides peuvent aussi être attachés sur d'autres parties de la molécule.



**Figure 1 : Structure d'un anticorps**

### 2-Définition

Les Anticorps monoclonaux (AcM) sont reconnues comme une population identique d'anticorps provenant d'un « seul et unique » clone de cellules B. Ils ne reconnaissent qu'un seul type d'épitope sur un antigène donné et ils présentent toujours les mêmes caractéristiques et plus particulièrement la même spécificité.

### 3-Différences entre les Anticorps monoclonaux et Anticorps polyclonaux

Les anticorps polyclonaux (AcP) sont capables de reconnaître plusieurs épitopes différents d'un même antigène. Ils offrent une faible spécificité par rapport aux anticorps monoclonaux, car ils sont composés par un mélange complexe d'immunoglobulines ciblant tous les épitopes de l'antigène, tandis que les anticorps monoclonaux ciblent un unique épitope. Ils possèdent une large gamme de sélectivités et affinités ce qui peut donner lieu à

des réactivités croisées ou à des interférences dans un essai immunologique. Ceci dit qu'ils sont moins stables que les AcM.

#### **4-Production des Anticorps monoclonaux Par la Technique d'hybridome**

Les AcM ont été découverts par Kehler et Milstein en 1975 suite à la mise en œuvre de la technique d'hybridation cellulaire. Cette technologie est développée, essentiellement à partir de cellules de souris, d'une part, d'autre part en raison de l'existence de lignées de myélomes murins. Le principe général de la production d'hybridome repose sur la fusion de lymphocytes B, sécrétant des anticorps mais ne se multipliant pas *in vitro*, avec des cellules de myélome lymphoïde, ayant la capacité de se multiplier rapidement et indéfiniment *in vitro* dans un milieu de culture adéquat (Fig 2 ).

La technique d'hybridome se déroule en cinq étapes :

- *Immunisation de l'animal et obtention de lymphocytes B.*
- *La fusion des plasmocytes avec des cellules de myélome lymphoïde.*
- *La sélection des cellules hybrides.*
- *Le screening et Le clonage des hybridomes d'intérêt.*
- *La production en masse d'AcM .*

##### **4.1-Immunisation et choix de l'animal :**

L'immunisation se fait principalement sur la souris car son génome est environ à 95% d'homologie avec celui de l'homme, elle permet d'obtenir à la fois des cellules de myélome et des lymphocytes B compatibles entre nécessaires pour l'étape de la fusion. De plus c'est un animal de durée de vie courte et se reproduit facilement. La souche la plus utilisée est la BALB/C qui est une lignée consanguine albinos, immunodéficiente permettant ainsi une bonne réponse de son système immunitaire à une stimulation antigénique.

La première immunisation est réalisée par de fortes doses d'antigène (par voie IV ou IP) s'étalant sur quatre semaines et en présence d'un adjuvant complet de Freund. Ce composé est un mélange d'huile minérale qui freine la diffusion de l'antigène, et d'un mélange de mycobactéries tuées qui génèrent une réaction inflammatoire.

Afin d'amplifier la réponse immunitaire chez l'animal, un rappel de quatre à cinq fois la dose initiale d'antigène est appliqué trois jours avant la fusion (en présence uniquement

d'huile minérale comme adjuvant). L'immunoréactivité des sérums obtenus est analysée par un test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

#### **4.2- La fusion :**

Après le sacrifice de l'animal, la rate est extraite puis broyée, à partir de l'homogénat, les lymphocytes sont séparés par centrifugation sur gradient de densité (400 g/30 min). Les érythrocytes et les cellules mortes se localisent au fond du tube, tandis que les lymphocytes demeurent à l'interface, formant un anneau blanc pâle). On obtient  $1.10^7$  à  $1.10^8$  cellules par rate de souris. Les lymphocytes purifiés sont mélangés avec les cellules de myélome qui ont subi au préalable, une double mutation les transformant en cellules cancéreuses incapables de produire des immunoglobulines et de sécréter l'enzyme HGPRT (hypoxanthine guanosine phosphoribosyl transférase) qui intervient dans la synthèse d'ADN et ARN par la voie exogène.

La fusion des deux cellules se fait dans un milieu stérile en présence d'un agent fusionnant appelé PEG (le Polyéthylène Glycol) : un polymère qui a l'avantage d'induire une fusion rapide (2 min à 37°C) et d'être dépourvu d'impureté toxique pour les cellules. La lignée de cellules hybrides ainsi obtenue, ou hybridome, conserve les deux propriétés des cellules mères, c'est-à-dire la multiplication indéfinie dans un milieu de culture approprié, et la sécrétion abondante d'anticorps purs et identiques.

#### **4.3- La sélection des cellules hybrides :**

Les hybridomes sont incubés en présence d'un supplément sélecteur HAT (hypoxanthine aminoptérine thymidine). Le principe de cette sélection est basée sur la mutation (HGPRT-) d'une part, et sur le pouvoir de l'aminoptérine a bloqué la synthèse endogène des bases puriques et pyrimidiques d'autre part.

En effet, en absence de l'enzyme les cellules de myélome ne peuvent utiliser l'hypoxanthine exogène pour synthétiser les purines, donc elles meurent, alors que les hybridomes, non déficitaires en cette enzyme qui est apportée par les lymphocytes B sensibilisés, peuvent utiliser l'hypoxanthine et la thymidine dans la voie exogène afin de synthétiser l'ADN et l'ARN nécessaires la multiplication. Les lymphocytes B non fusionnées ayant une durée de vie plutôt courte, meurent rapidement.

#### **4.4- Screening et clonage des cellules productrices d'anticorps**

Afin d'obtenir des lignées clonales d'hybridomes sécrétrices de l'anticorps monoclonal d'intérêt, les hybridomes correspondant aux surnageant positifs criblés par ELISA (screening primaire) sont clonés par dilution limite (mettre au maximum une seule cellule par puits), par cytométrie de flux (analyse par le SCRW : Secretion Capture Report Web) ou encore sur gel d'agarose. Chaque clone est ensuite testé par ELISA (screening secondaire) afin de vérifier sa capacité à lier l'antigène ou l'haptène utilisé lors de l'immunisation. D'autres méthodes sont utilisées pour le screening des hybridomes cibles tel que : la radioimmunologie (RIA), l'hémagglutination, l'immunofluorescence indirecte. Ces tests sont généralement effectués entre 9 et 11 jours après la fusion.

#### **4.5- Production des anticorps monoclonaux en masse**

Pour répondre à la demande croissante d'AcM, des techniques de culture des hybridomes *in vivo* et *in vitro* ont été développées

##### 4.5.1- Production *in vivo* : procédé de l'ascite

Les hybridomes positifs ( $10^6$  -  $10^7$  cellules) sont introduits par injection intrapéritonéale ou sous-cutanée chez une souris compatible. Du Pristan (huile minérale) est injecté au préalable afin de provoquer une irritation de la cavité abdominale mais pas encore d'ascite (épanchement de liquide dans la cavité abdominale). Au bout de 10 à 25 jours, la tumeur se développe et sécrète l'Ac monoclonal dans le liquide d'ascite à des concentrations importantes (1-10 mg/mL). L'AcM peut être ensuite purifié par chromatographie du liquide d'ascite.

##### 4.5.2- Production *in vitro* : procédé de culture cellulaire

Toutes les lignées d'hybridomes ne se cultivent pas *in vitro* avec le même succès. Quelques-unes exigent un milieu de culture et des facteurs de croissance très spécifiques. C'est ainsi qu'il existe différents systèmes de culture. Cependant, le plus important pour la survie des cellules, comme pour le contrôle de la culture, est de maintenir toutes les cellules en suspension, avec une bonne homogénéisation du liquide. On distingue des flacons pour cultures en rotation (Rollerkulturen), des flacons pour cultures selon Spinner, des réacteurs capillaires (principe de la dialyse), et le plus souvent des bioréacteurs à agitation mécanique dérivés des fermenteurs microbiens. Le rendement des cultures est généralement très faible (1-20 µg/mL) par rapport à celui de la culture *in vivo*. La conservation des anticorps

monoclonaux est obtenue par congélation d'une partie du clone dans une ampoule placée dans l'azote liquide. L'autre partie du clone est maintenue en activité ; sa durée de vie est de plus de 20 ans.

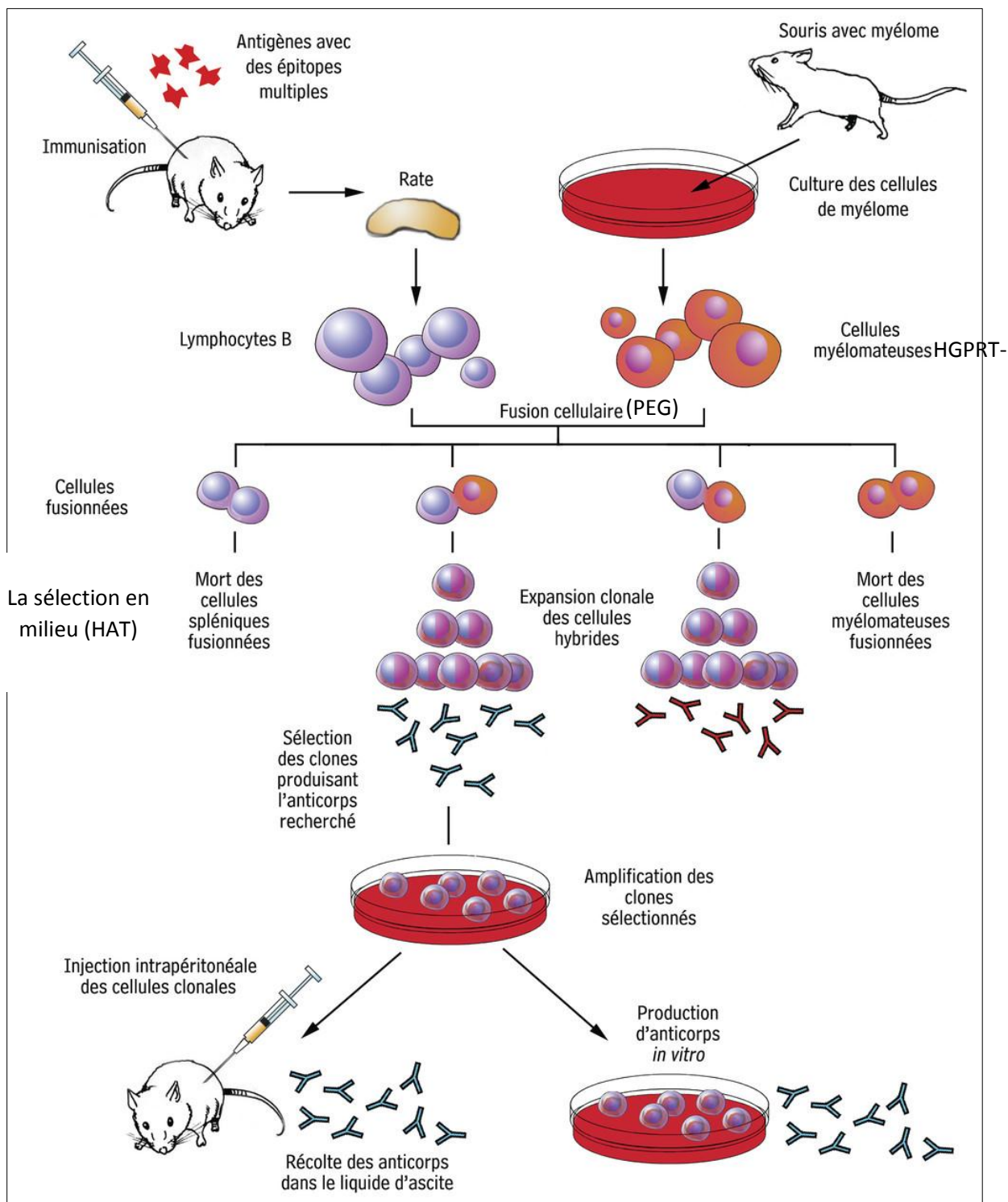
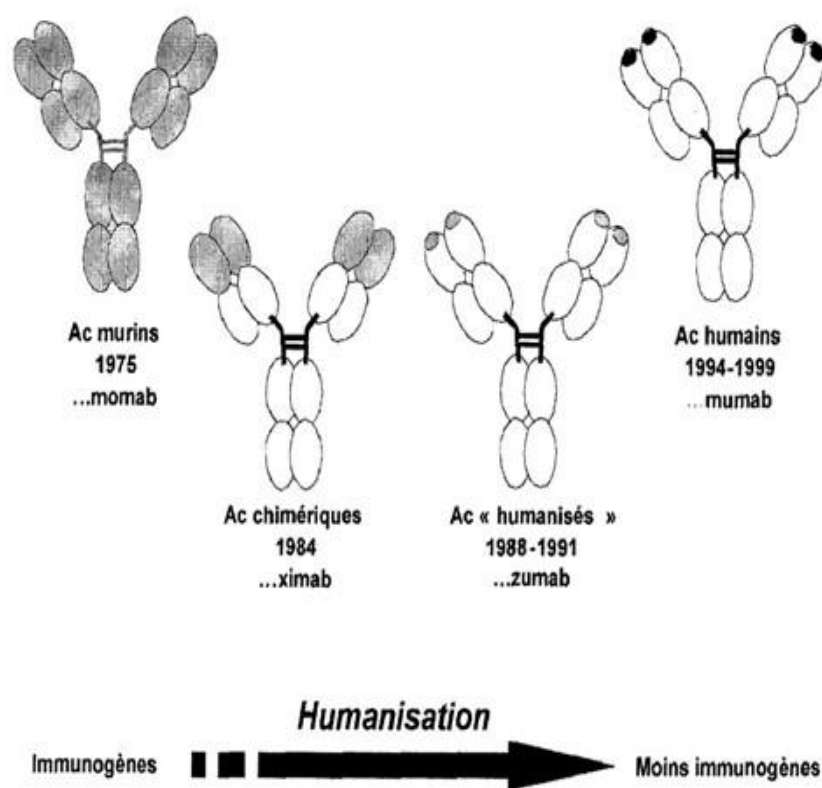


Figure 2 : production d'anticorps monoclonaux selon la technologie des hybridomes d'après Kohler et Milstein

## 5-Les anticorps recombinants ou thérapeutiques : la seconde génération

Les premiers anticorps monoclonaux produits par des hybridomes murins (première génération) apparaissent comme des outils remarquables pour la recherche, mais décevants pour l'immuno-intervention thérapeutique (une courte demie vie et une forte immunogénicité). Développer d'autres types d'anticorps a été essentiel. En effet Les progrès de la biologie moléculaire, au cours des années 1980, ont permis la production d'abord d'anticorps chimériques, puis d'anticorps humanisés et enfin plus récemment d'anticorps totalement humains. Ils ont tous une DCI (Dénomination Commune Internationale) se terminant par « mab », acronyme de « *monoclonal antibody* » (Fig 3).



**Figure3 : Ingénierie des anticorps monoclonaux**

### 5.1-Anticorps chimériques

Les premières tentatives d'humanisation d'anticorps murins ont d'abord conduit à la construction d'anticorps chimériques, dans lesquels les régions constantes des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines murines sont remplacées par des régions constantes humaines. L'association des gènes humains des régions constantes aux gènes d'origine murine des régions variables de l'anticorps monoclonal initial utilise la technique ADN



recombinant (Morrison SL et al., 1984). Une telle construction permet d'obtenir des anticorps hybrides composés à 75% de la séquence humaine de l'Ig, pouvant interagir avec les cellules effectrices tout en conservant leur spécificité et leur affinité pour l'antigène. Cependant l'utilisation de ces Anticorps en thérapie a engendré des réactions immunitaires de type HACA (Human AntiChimeric Antibodies), il apparut donc nécessaire de rendre les anticorps murins encore plus humains. Ils sont désignés par le suffixe -ximab.

### **5.2-Anticorps humanisés**

Ils possèdent encore moins de séquences d'origine murine que les anticorps chimériques. En effet, ils sont constitués à 90% de séquences humaines, dans lesquelles seules les régions hypervariables (CDR) sont d'origine murine. Ces anticorps humanisés sont obtenus par greffage des régions hypervariables CDR des anticorps de souris sur des régions variables plus conservées (« framework » FR) des VH et VL humaines (Jones PT et al., 1986). Ils portent le suffixe -zumab.

### **5.3-Les anticorps totalement humains**

Des anticorps totalement humains, désignés par un nom se terminant par le suffixe -mumab. Ils sont produits en utilisant principalement deux techniques, celle des souris transgéniques « xenomouse » et celle de l'expression à la surface de phages.

#### ***1-Anticorps humains à partir de souris transgéniques « xenomouse »***

Chez ces souris, la machinerie servant à la production d'Ig de souris est inactivée et humanisée avec la presque totalité des locus correspondant aux gènes codant les Ig humaines afin de permettre chez la souris la production d'une large diversité d'anticorps humains de forte affinité. L'obtention de ces souris nécessite trois grandes étapes.

La première consiste à inactiver les gènes codants pour les chaînes légères et lourdes de l'anticorps considéré. La seconde étape consiste à transférer chez la souris les locus correspondant aux gènes des anticorps humains. Au final, le croisement des souris issues de cette fusion et exprimant les chaînes lourdes et légères des anticorps humains en présence d'anticorps murins avec les souris inactivées va donner naissance à des souris pouvant à la fois produire l'anticorps humain mais incapables de produire l'anticorps d'origine murine



## 2. Technique du phage display

C'est une technique de sélection *in vitro* des parties variables d'anticorps, développée en 1990 par l'équipe de John McCafferty. Le principe général consiste en la fusion de gènes codant pour les VH et VL avec le génome d'un phage, de telle façon que ceux-ci se retrouvent joints au domaine N-terminal des protéines de surface du phage. Ce dernier ayant la possibilité d'exprimer, à sa surface, les protéines synthétisées, une telle ingénierie permet de relier le génotype au phénotype. Ensuite, les phages portant la molécule d'intérêt seront sélectionnés pour leur interaction avec une autre molécule (un antigène par exemple) fixée à un support solide et ces phages seront ensuite utilisés pour infecter une souche d '*E. coli* et ainsi enrichir la population de phages spécifiques (Fig 4)

De plus, cette technique permet de produire des fragments d'anticorps monoclonaux, notamment humains, de reproduire et de simuler *in vitro* le processus de maturation des anticorps, et enfin, associée à certaines techniques de biologie moléculaire telle la réaction de polymérisation en chaîne, elle permet de modifier les anticorps afin d'en optimiser l'affinité.

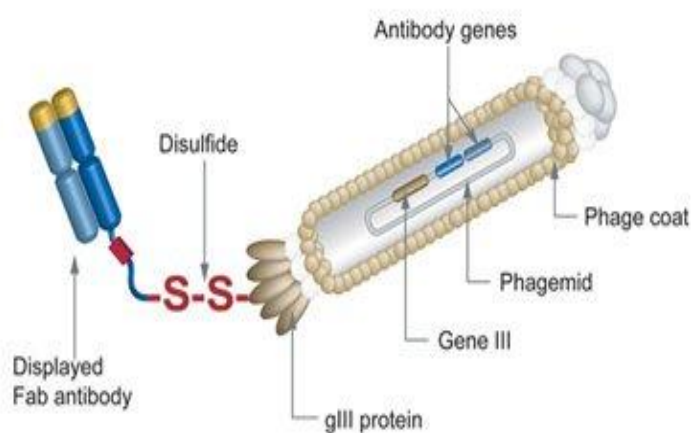


Figure 4 : principe général de la technique du phage display

#### **5.4- Dérivés des anticorps monoclonaux : fragments fonctionnels**

Les AcM présentent toujours d'importantes limitations, entre autres un haut poids moléculaire (150 kDa) limitant sérieusement leur pénétration dans les tissus, et des coûts de production très élevés. Il s'avère possible d'utiliser des formes plus petites d'anticorps qui possèderaient une large surface de contact avec la cible et une grande aire d'action allant de la surface cellulaire au domaine intracellulaire (Fig 5).

**5.4.1- Fragments monovalents :** Les fragments d'anticorps concernés sont des fragments Fab (fragment antigen-binding) et des scFv (single-chain Fragment variable). Les premiers sont obtenus suite à une hydrolyse de la molécule d'anticorps par la papaïne (formation de deux fragments Fab (50 K) comportant le site de liaison à l'antigène et d'un fragment Fc cristallisable) ou par la pepsine (formation d'un seul fragment Fab<sub>2</sub> où les deux fragments Fab restent liés par deux ponts disulfures et le fragment Fc est scindé en plusieurs peptides). L'absence de la région Fc pour ces anticorps permet d'éviter une fixation aspécifique sur les tissus sains et diminue les réactions immunitaires de l'organisme.

Les seconds fragments sont constitués uniquement des domaines variables des chaînes lourdes et légères. Ils sont stabilisés par un peptide de liaison (généralement quinze acides aminés) qui relie artificiellement le domaine VL au domaine VH. En raison de sa petite taille (25K), de sa faible immunogénicité et de sa relative facilité d'expression, Le format scFv est le plus couramment utilisé comme anticorps intracellulaire (intrabody) pour neutraliser, perturber ou suivre la dynamique endogène d'un antigène.

#### **5.4.2- Fragments bispécifiques et multivalents**

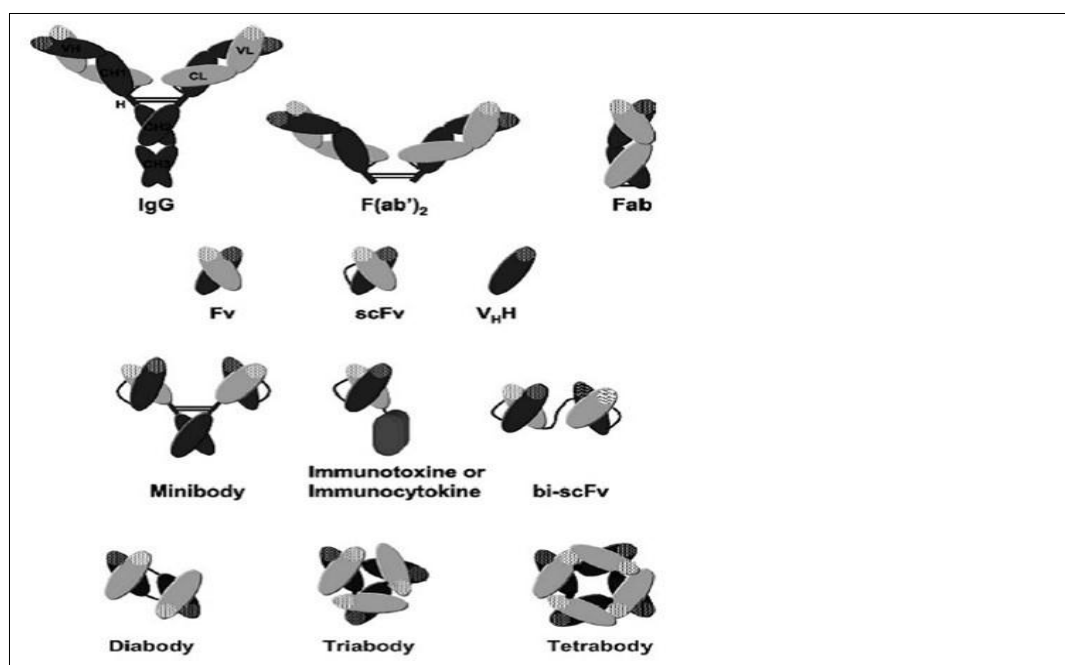
Les anticorps bispécifiques (AcBS) sont des AcM synthétiques possédant deux paratopes différents sur la même molécule et ainsi une double spécificité. De multiples combinaisons ont été créées via diverses stratégies :

-La stratégie de quadroma : comme lors d'une hybridation classique, cette technologie consiste à fusionner les deux hybridomes produisant les AcM correspondant aux deux spécificités visées, puis la sélection des hybrides de cette fusion et exclusion des hybridomes non fusés et des cellules qui résultent d'une fusion intra-hybridome. Finalement, clonage et production des AcBS.

- La stratégie chimique : initialement décrite par Glenny, elle est basée sur le couplage de fragments Fab' ou ScFv par un lien thioéther. En effet, la création des molécules bispécifiques (diabodies) voire même trispécifiques (triabodies) est réalisée par le raccourcissement du

peptide de liaison existant entre les deux fragments, forçant ainsi la dimérisation ou la trimérisation de la molécule sous la forme d'une molécule compacte.

- La stratégie de l'ingénierie génétique : elle est fondée sur un ensemble de techniques résumé comme suit : d'abord, fusion d'un segment d'ADN codant pour un anticorps à chaîne unique avec un segment d'ADN codant pour une région constante d'IgG. Ensuite, ce produit de fusion est lié à un segment d'ADN codant pour une région variable des chaînes lourdes, présentant une spécificité différente. Enfin, réintroduction des structures recombinantes dans des cellules sécrétrices telles des lignées lymphoïdes ou autre (par exemple la souche CHO), après leur réinsertion dans des vecteurs d'expression appropriés aux cellules choisies.



**Figure 5 :** fragments monovalents et bivalents d'anticorps (Pelegri A et al., 2000)

### **5.5- Les anticorps couplés ou armés**

Ils ne font pas appel à une action directe de l'anticorps ou à d'autres éléments effecteurs, c'est un élément conjugué à l'anticorps qui détruit la cellule cible . On parle alors d'anticorps conjugués ou immunotoxine. Des isotopes radioactifs (rayonnements alpha, bêta, Auger), des enzymes des agents biologiques, des drogues ou encore des toxines (la ricine, la toxine diphtérique et l'abrine). L'efficacité thérapeutique repose alors principalement sur l'agent couplé, l'anticorps jouant le rôle de vecteur pour guider l'agent vers la cible. Lors de

la reconnaissance de l'antigène sur la cellule cible, l'anticorps est internalisé, la toxine est libérée et provoque la mort cellulaire.

## **6-Propriétés pharmacocinétiques des anticorps monoclonaux**

Les AcM sont des protéines de haut poids moléculaire (150Kda), caractérisées par leur hydrophilie, leur pharmacocinétique (la relation entre la dose et la concentration) est différente de celle des médicaments classiques qui sont généralement des molécules issues d'une synthèse chimique et dotés d'une masse moléculaire faible. Leur devenir est décrit par des phases d'absorption (pour les administrations par voie EV), de distribution et d'élimination.

### **6.1-Absorption :**

Elle dépend du mode d'administration (sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire). Or, la majorité des anticorps monoclonaux est administrée par voie IV, ce qui permet une exposition rapide et complète avec un passage dans le système lymphatique ou sanguin et une absorption variable, bien que cette dernière reste lente et difficile à quantifier précisément.

*Exemple* : on estime par exemple qu'entre 50 à 100% d'une fraction injectée en sous-cutanée est absorbée, avec un pic de concentration entre le 5 et 10 jour.

### **6.2-Distribution :**

Elle correspond principalement au ciblage tissulaire de la molécule dans l'organisme, plusieurs études ont montré que la distribution dépend directement de la physiologie et de la vascularisation tissulaire. Dans le traitement du cancer, le ciblage thérapeutique est particulièrement important parce que les anticorps monoclonaux diffusent mal et de manière hétérogène dans les tumeurs. La méthode de référence pour étudier la distribution tissulaire est l'étude de la réactivité tissulaire croisée dans laquelle la fixation de l'AcM sur différents tissus humains et animaux est analysée.

### **6.3- Elimination :**

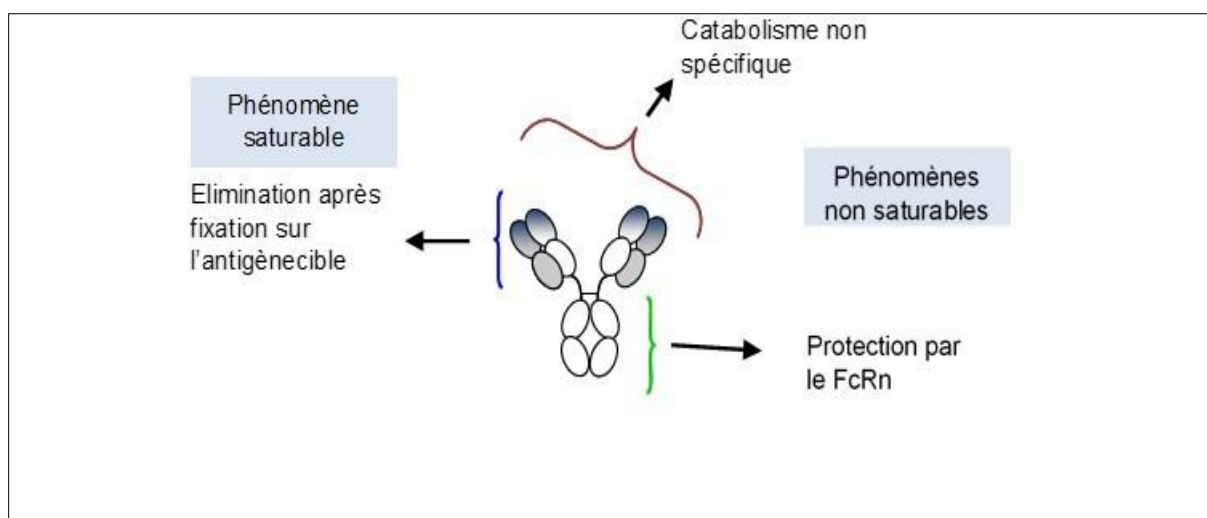
Peu de données concernent l'élimination des AcM (une demi-vie d'élimination terminale longue de 8 - 28 jours), mais comme ils sont analogues aux IgG endogènes (La majorité des AcM sont des immunoglobulines de type G) ils semblent être catabolisés essentiellement par trois mécanismes (**Fig 6**).

**6.3.1-La pinocytose** : lorsqu'ils passent dans le liquide interstitiel, les AcM sont, comme toutes les protéines, captés par les cellules endothéliales vasculaires par pinocytose (ou cell drinking) : les AcM migrent alors dans les endosomes puis sont dégradés dans les lysosomes

et relargués de la cellule. C'est une voie de catabolisme non spécifique et non saturable, qui concerne toutes les protéines circulantes.

**6.3.2-Elimination après fixation sur leur cible** : les AcM sont éliminés soit par internalisation lorsque le récepteur est cellulaire (le complexe immun est dégradé) soit par formation d'un complexe immun si la cible est circulante (élimination par le système immunitaire de la cible et de l'anticorps). C'est une voie spécifique et saturable puisqu'elle dépend du type d'antigène et de son nombre.

**6.3.3- élimination dépendante du récepteur FcRn** : par définition le FcRn (neonatal Fc receptor) est un récepteur saturable, situé dans les cellules endothéliales, intestinales et rénales, il assure le passage trans-cellulaire des IgG et leur recyclage. En effet, le FcRn fixe les AcM via leur portion Fc et les détourne de la voie de dégradation habituelle pour les rediriger vers la surface cellulaire. Ce phénomène explique ainsi la longue demi-vie des AcM, certains AcM étant protégés par cette « portion » FcRn et re-largués dans la circulation sanguine.



**Figure 6:** mécanismes d'élimination des anticorps monoclonaux

## **7-Applications et modes d'action des anticorps monoclonaux**

Les AcM ont été appliqués pour longtemps en immunologie fondamentale pour les études des lignées cellulaires, des marqueurs des cellules non lymphocytaires, des cellules pathologiques, et la protéomique. Actuellement, ils sont utilisés en thérapie dans plusieurs domaines : l'hémo-oncologie, le déficit immunitaire, les maladies auto-immunes, la cancérologie, l'infectiologie, le rejet de greffes et l'enzymothérapie.

Selon la cible et la maladie à traiter, Les anticorps thérapeutiques peuvent agir par différentes voies d'action. On distingue trois modes principaux : le blocage, la signalisation et le ciblage.

**-Blocage** : c'est une voie d'action directe, au cours de laquelle les ACM peuvent mimer ou bloquer le ligand naturel d'un récepteur comme celui des facteurs de croissance, de cytokines ou d'autres médiateurs solubles. Ex : le Trastuzumab, qui se fixe sur le récepteur HER-2 empêchant la fixation du facteur de croissance EGF et donc la prolifération cellulaire.

**-La signalisation** : c'est une voie indirecte recrutant d'autres effecteurs et faisant appel à la plurivalence antigénique de l'AcM. En effet, l'anticorps permet le regroupement au niveau membranaire de la cible les marqueurs antigéniques reconnus et de déclencher par la suite des cascades de phosphorylations intracellulaires induisant une apoptose de la cellule cible.

**-Le ciblage** : c'est une voie directe, activée principalement en cas d'invasion microbienne. L'AcM reconnaît l'agent pathogène et induit son élimination par trois mécanismes : la CDC (complement dependent cytotoxicity), l'ADCC (Anti body Dependent Cellular Cytotoxicity) et la phagocytose.

### **7-1 Anticorps utilisés en diagnostic**

Ils sont utilisés pour l'identification d'un antigène au sein d'un mélange (liquide biologique, coupe tissulaire, suspension cellulaire, ...) et pour le dosage d'antigènes en solution. Tel que les immunodosages pour le diagnostic de marqueurs de maladies (VIH, CMV, ...) ou de marqueurs cellulaires. Les anticorps sont utilisés également dans la recherche fondamentale comme outils et traceurs dans des techniques comme le Western Blot ou l'immunoprécipitation. D'autre part, les anticorps ont été utilisés en imagerie médicale. Pour cela, les anticorps ont subi des modifications et ont été chimiquement marqués avec des composés fluorescents, magnétiques et radioactifs.

### **7-2 Anticorps utilisés en thérapie**

L'utilisation de sérum était le seul moyen permettant de traiter certaines maladies infectieuses comme la rougeole, les oreillons ou des infections respiratoires. La sérothérapie fut remplacée par la vaccination et l'antibiothérapie, car elle induisait de nombreux accidents anaphylactiques dus à l'origine animale des sérums. Cependant elle reste nécessaire dans certains cas comme le traitement de maladies médiées par des toxines (tétanos, botulisme, diphtérie) ou des morsures venimeuses.

L'apparition des anticorps monoclonaux murins a pu remplacer l'utilisation d'immuns sérums animaux et apporta un grand renouveau en thérapeutique. Le Muromonab ou Orthoclone OKT3® dirigé contre le récepteur CD3 des lymphocytes T fut le premier anticorps monoclonal thérapeutique humain utilisé à partir de l'année 1986. Son rôle a été de limiter les réactions inflammatoires intervenant dans les rejets de greffes.

### **Exemples d'AcM thérapeutiques**

**L'anti IgE** : est un anticorps monoclonal humanisé agit soit : Par la liaison avec l'IgE présent sur la surface des mastocytes ou les basophiles donc l'inhibition de la fixation de l'allergène et par la suite la disparition des symptômes de l'asthme. Par sa liaison avec l'IgE libre donc formation du complexe immunitaire qui va empêcher la liaison de l'IgE avec les cellules mastocytaires et les basophiles.

**L'anti CD20** : le CD20 est exprimé sur la surface des cellules LB dans la plus part de leur stade de développement à l'exception des plasmocytes et les stades tout à fait initiaux. L'anti CD20 est un anticorps monoclonal qui a montré son efficacité chez les patients de tumeur maligne lymphoïde (lymphome non hodgkinien). C'est une IgG chimérique qui cible l'Ag CD20 présent sur les cellules LB maligne et normaux donc il induit comme un effet secondaire la lymphopénie. Il agit via trois mécanismes : Liaison directe, activation de cascade su complément CDC et ADCC. L'anti CD20 a un effet antiprolifératif pour les cellules donc induction de la mort cellulaire.

**L'anti HER2** : HER2 est un récepteur du facteur de croissance surexprimé dans les cellules tumorales du sein. L'anti HER2 se lie au HER2 et induit donc l'inhibition de transmission du signal de prolifération.

**L'anti VEGFR2** : Le VGEF facteur de croissance endothéliale vasculaire permet la vascularisation accrue des tumeurs et la métastase. Cet anticorps monoclonal agit contre le VEGFR2 inhibe la liaison du VGEF et induit un signal d'inhibition pour les cellules. L'activité anti tumorale il a été montré dans un modèle préclinique en corrélation avec l'arrêt de croissance de la tumeur, induction de l'apoptose et inhibition de l'angiogenèse.