



État de l'art

Anticorps monoclonaux à usage thérapeutique :
un peu d'histoire, beaucoup d'ingénierie, et ... quelques succès cliniques

Therapeutic monoclonal antibodies: a short historical perspective,
a lot of engineering, and... some clinical successes

S. Siberil ^{a,b}, C.-A. Dutertre ^{a,b}, C. Boix ^a, J.-L. Teillaud ^{a,*}

^a *Unité Inserm 255, université Paris-VI–Pierre-et-Marie-Curie, centre de recherches biomédicales des Cordeliers, Paris, France*

^b *Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies, les-Ulis, France*

Disponible sur internet le 19 mai 2005

Résumé

Trente ans après leur découverte, les anticorps monoclonaux sont devenus de réels outils thérapeutiques. Dix-neuf anticorps monoclonaux sont sur le marché ou ont reçu l'approbation des agences sanitaires pour le traitement de maladies graves. De nombreux travaux menés ces deux dernières décades ont visé l'obtention d'anticorps monoclonaux de seconde génération, possédant des affinités élevées, moins immunogènes et ayant de meilleures fonctions effectrices. Le développement de techniques moléculaires a également permis la fabrication d'anticorps bispécifiques et de protéines de fusion constituées de modules individualisés ayant des propriétés fonctionnelles différentes. L'utilisation d'approches protéomiques et/ou génomiques, combinés à celle de la technique du phage display permet désormais la sélection à un rythme élevé de nombreux anticorps dirigés contre de nouvelles cibles. Les efforts actuels sont centrés sur une meilleure sélection des patients, l'optimisation des schémas et des voies d'injection, un meilleur contrôle de la pharmacocinétique et de la biodistribution des anticorps, ainsi qu'un contrôle accru des effets secondaires, parfois sévères, observés avec certains anticorps.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Thirty years after their discovery by Milstein and Köhler, monoclonal antibodies have now come of age as therapeutics. Nineteen monoclonal antibodies are on the market and/or have got authorization to be used for the treatment of severe diseases. Many technical efforts have been devoted over the last two decades to the generation of second generation mAbs with better affinities, decreased immunogenicity and optimized effector functions. The development of molecular engineering techniques applied to antibody molecules has also made it possible to design bi-specific antibodies and fusion molecules exhibiting different modules with bi-functional activities. The use of proteomics and genomics combined with phage display allows now the rapid selection of antibodies directed against new targets at a high rate. Many efforts are currently focused on the selection of high-responder patients, the optimization of antibody delivery, schemes of infusion, antibody pharmacokinetics and bio-distribution, as well as on a better control of the severe side-effects generated by some antibody treatments.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Anticorps chimérique ; Anticorps humanisé ; Anticorps monoclonal ; Banque de phages ; Cytotoxicité dépendante des anticorps ; Fragment simple chaîne ; Glycosylation ; Protéine de fusion ; Région Fc ; Souris humanisée

Keywords: Antibody-dependent cell cytotoxicity; Chimeric antibody; Fc region; Fusion protein; Glycosylation; Humanized antibody; Humanized mouse; Monoclonal antibody; Phage display; Single chain Fv

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : jean-luc.teillaud@u255.bhdc.jussieu.fr (J.-L. Teillaud).

1. Un peu d'Histoire : de la génétique cellulaire aux principes de base de la fabrication d'un anticorps monoclonal

La fabrication des anticorps monoclonaux (AcM) a été rendue possible grâce à la génétique, qui a apporté les bases conceptuelles et technologiques permettant la fabrication des hybridomes et à l'immunologie, qui a tenté d'analyser la nature et la structure des anticorps.

Les premières cellules hybrides ont été obtenues en 1960 par Georges Barski et ses collaborateurs à Villejuif, ainsi que par Boris Ephrussi et ses collaborateurs à l'Institut Pasteur. Ces généticiens ont obtenu à partir de cellules provenant d'espèces différentes des cellules « hybrides ». De tels hybrides sont des cellules ayant une grande instabilité chromosomique, ce qui conduit à la perte d'une partie de leur matériel génétique : il devient alors possible de corrélérer des pertes de fonctions ou la perte de l'expression de certaines molécules à la perte de certains chromosomes. Au cours des années 60, il est devenu évident que pour pouvoir utiliser pleinement cette technique d'hybridation cellulaire, il fallait aussi disposer d'une technique de sélection permettant de récupérer uniquement les cellules hybrides. En 1964, John Littlefield a mis au point des cellules ayant des déficiences enzymatiques mais pouvant toutefois se multiplier dans un milieu de culture normal [1]. En revanche, en présence de certaines drogues, ces cellules meurent, alors que des cellules hybrides dérivées ont, par complémentarité génique, toute la machinerie enzymatique pour survivre.

Les immunologistes qui essayaient dans les années 1970 d'élucider la structure fine des anticorps ainsi que les règles gouvernant leur synthèse et l'association des chaînes lourdes (H) et légères (L) ont cherché à créer des cellules hybrides permettant d'analyser l'expression et l'assemblage de ces chaînes, en utilisant des cellules tumorales B, dérivées de myélome de souris, ayant la propriété de pousser *in vitro* en culture de façon indéfinie. Ces cellules, utiles pour élucider la structure des anticorps, n'ont pas d'intérêt diagnostique et clinique puisque les anticorps produits n'ont pas de spécificité prédéfinie. C'est en 1975 que César Milstein et Georges Köhler ont appliqué la technique de fusion cellulaire et de sélection des cellules hybrides aux lymphocytes B : la fusion de lymphocytes B normaux provenant d'une souris immunisée avec des globules rouges de mouton avec des cellules de myélome leur a permis d'obtenir des cellules hybrides produisant un anticorps monoclonal dirigé contre les globules rouges de mouton [2]. De telles cellules hybrides héritent de deux propriétés : elles se multiplient indéfiniment, comme les cellules de myélome, en donnant naissance à des populations de cellules filles identiques entre elles ; elles fabriquent les anticorps que les lymphocytes B provenant de la souris fabriquaient. Chaque clone de cellules filles produit le même anticorps qui est dit monoclonal. Les avantages d'un tel anticorps par rapport aux anticorps polyclonaux trouvés dans un sérum sont importants : les hybridomes sont gardés

pendant des années en culture *in vitro* sans modification de l'anticorps qu'ils produisent ; de plus, ces cellules peuvent être congelées. On dispose donc d'une source illimitée de cellules produisant, au moins en théorie, toujours le même anticorps ayant la même affinité et les mêmes propriétés physicochimiques.

La technique des anticorps monoclonaux est simple à mettre en œuvre et peut facilement s'automatiser [3] : les cellules mononucléées provenant d'une rate ou de ganglions lymphatiques d'une souris ou d'un rat immunisé — il n'y a nul besoin de purifier les lymphocytes B — sont fusionnées *in vitro* avec du polyéthylène glycol (ou PEG, un agent de fusion des membranes plasmiques des cellules eucaryotes) à des cellules de myélome. L'utilisation du PEG, mise au point par Pontecorvo en 1975 [4], a permis de ne plus utiliser le virus de Sendai également capable de fusionner les membranes plasmiques. Les cellules de myélome utilisées sont préalablement sélectionnées pour leur déficience en une enzyme, habituellement l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransférase (HGPRT⁻ ou HPRT⁻) ou, plus rarement, la thymidine-kinase (TK⁻). En effet, les cellules eucaryotes disposent de deux voies distinctes pour synthétiser les nucléotides : la voie de néosynthèse à partir de sucres et d'acides aminés et la voie alterne, à partir de nucléosides. L'HPRT et la TK assurent une étape essentielle de la voie alterne, la catalyse de la réaction entre une base purique et un phosphoribosyl pyrophosphate, conduisant à la formation d'un nucléotide purique monophosphate. Leur déficience conduit à l'utilisation par la cellule de la voie de néosynthèse, qui peut être bloquée par des substances telles que l'aminoptérine, l'azaserine ou le méthotrexate. Les cellules de souris les plus utilisées comme partenaires de fusion, P3X63Ag8 et Sp2/0-Ag14, toutes deux dérivées du myélome MOPC21, sont HPRT⁻ et sont de plus des variants qui ont perdu la capacité de synthétiser leur propre chaîne lourde et légère d'immunoglobuline ; il est à souligner qu'elles contiennent cependant un transcrit aberrant de chaîne légère, source de difficultés lors de tentatives de clonage par RT-PCR. Une fois la fusion effectuée, les cellules hybridées sont mises en présence d'un milieu contenant un agent de sélection, l'aminoptérine. Celle-ci bloque la seule voie de synthèse de nucléotides qu'il reste aux cellules parentales de myélome du fait de leur déficience en HPRT, permettant ainsi la sélection des cellules hybrides, qui, par complémentarité génique, expriment une enzyme fonctionnelle et sont donc capables d'utiliser la voie alterne de synthèse de nucléotides à partir de nucléosides. L'apport d'hypoxanthine exogène dans le milieu de culture pendant quelques semaines satisfait un besoin transitoire en purines, le temps que la complémentarité due à la fusion cellulaire atteigne sa pleine efficacité. Le milieu de sélection contient également de la thymidine, parce que l'aminoptérine est un antifolate qui bloque la thymidylate synthétase. Ce milieu de sélection est désigné sous le nom de HAT, pour hypoxanthine, aminoptérine, thymidine. Au bout de quelques semaines de sélection, ce milieu est remplacé par du milieu HT, puis par le milieu habituel. Les lymphocytes B

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/10520907>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/10520907>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)