



## Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (37) Module d'immunologie virologie et cancer du Master de cancérologie de Lyon



LABEX  
DEVWECAN  
UNIVERSITÉ DE LYON



### Contact Équipe pédagogique

Julien Marie  
julien.marie@inserm.fr

> Cette année encore, dans le cadre d'un partenariat avec *médecine/sciences*, les étudiants de l'unité d'enseignement « Immunologie, virologie et cancer », dirigée par le Dr Julien Marie, au sein du Master Cancer (Université Lyon 1/VetAgroSup), présentent une analyse d'articles scientifiques récents faisant état d'observations innovantes et importantes. Ce travail de M1 a été encadré par des chercheurs immunologistes et virologistes du Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon. Le master de cancérologie de Lyon est une formation dite d'excellence, qui accueille chaque année 30 à 40 étudiants en M1 et en M2. Ce master assure aux étudiants de M1 une formation à la cancérologie reposant sur un socle de base commun. En M2, les étudiants peuvent choisir l'une des trois spécialités suivantes : « Recherche en cancérologie », « Technologie haut

débit en cancérologie » ou « Innovations thérapeutiques en cancérologie ». Créé en 2013, le Master de cancérologie de Lyon repose sur une forte implication des chercheurs et enseignants-chercheurs du laboratoire d'excellence (LabEx DEV2CAN), ainsi que sur un partenariat solide avec des laboratoires académiques situés à Oxford, Bruxelles, Tokyo, Boston, New York, San Diego, etc. <

## NOUVELLE

### Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> jouent un rôle majeur dans la réponse immunitaire antitumorale

Lucie Leclair<sup>1</sup>, Stéphane Depil<sup>2</sup>

> Les lymphocytes T (LT) sont des acteurs majeurs de la réponse immunitaire adaptative, que ce soit dans le cadre des infections ou de la réponse antitumorale. Il existe deux grandes classes de LT : les LT CD8<sup>+</sup> et les LT CD4<sup>+</sup>. Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> sont considérés comme les cellules cytotoxiques, tandis que les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> sont perçus comme les « chefs d'orchestre » de la régulation de la réponse immunitaire. Les LT CD8<sup>+</sup> reconnaissent des peptides présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, tandis que les LT CD4<sup>+</sup> reconnaissent des épitopes restreints au CMH de classe II. Les molécules du CMH-I sont exprimées sur toutes les cellules nucléées et présentent des peptides endo-

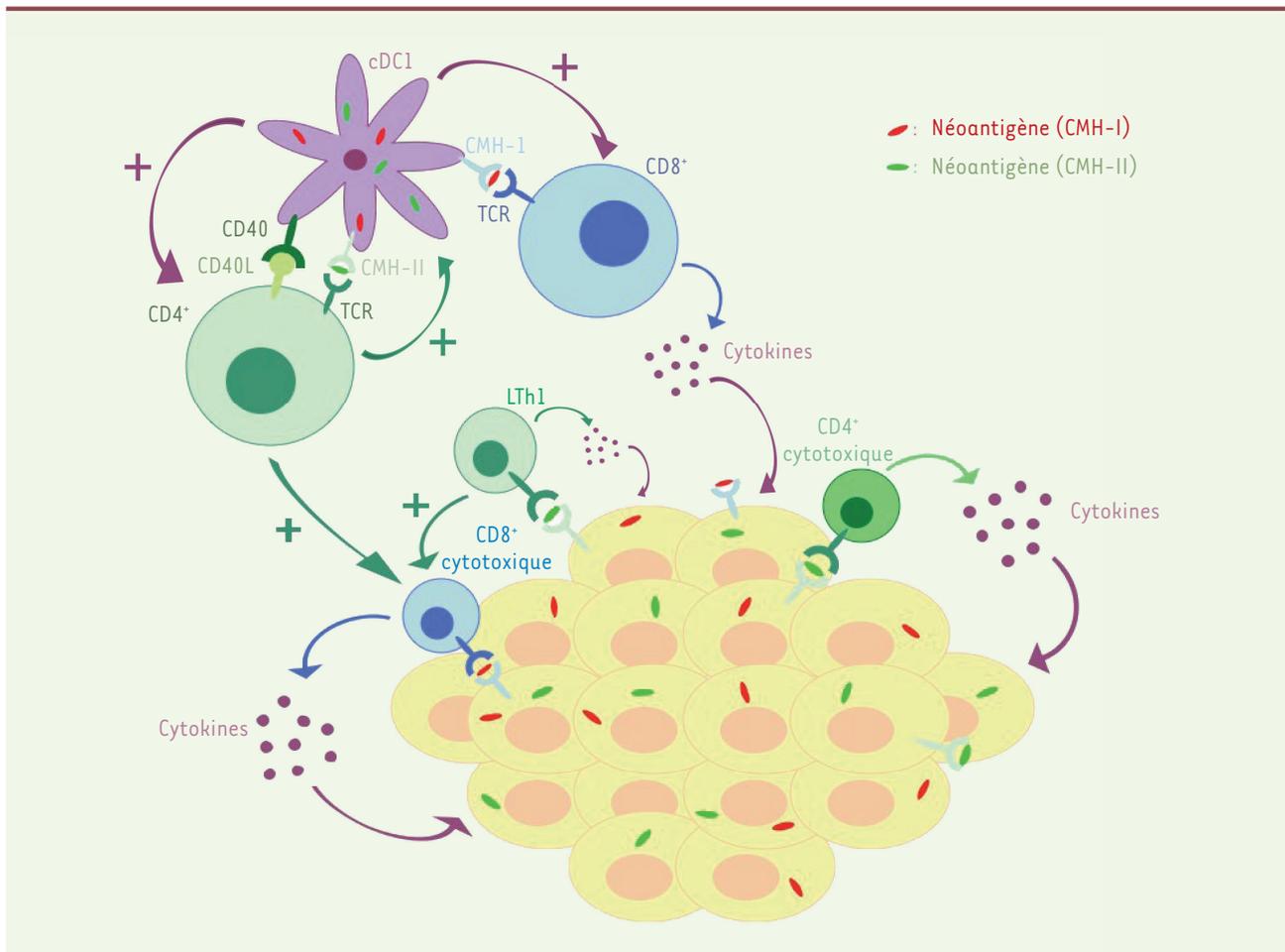
gènes, provenant du cytoplasme de la cellule. Les molécules du CMH-II se trouvent sur les cellules présentatrices d'antigènes comme les cellules dendritiques et les macrophages, et présentent des antigènes provenant du milieu extracellulaire. À noter que les cellules présentatrices d'antigènes, et notamment les cellules dendritiques, sont capables de faire de la présentation croisée, c'est-à-dire de présenter des antigènes extracellulaires via les molécules du CMH-I [1]. Afin d'obtenir une immunité antitumorale, il est nécessaire que les LT reconnaissent des antigènes tumoraux qui peuvent provenir de différentes altérations de la tumeur (antigènes surexprimés par la tumeur ou mutations spécifiques générant des néoantigènes). L'identification

<sup>1</sup>Master Cancer ISPB, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France.

<sup>2</sup>Centre de recherche en cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France.

lucie.leclair@etu.univ-lyon1.fr  
stephane.depil@lyon.unicancer.fr

des néoantigènes associés à des mutations somatiques a permis de développer de nouvelles perspectives de vaccination antitumorale. Ces vaccins ont pour but de générer des réponses T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> spécifiques de la tumeur et peuvent être combinés aux inhibiteurs de points de contrôle (*checkpoint*) immunitaire (ICI) afin d'augmenter les effets de ces derniers [2]. Le rôle des LT CD8<sup>+</sup> cytotoxiques dans la réponse antitumorale et l'immunothérapie a été très bien caractérisé au fil des années. Celui des LT CD4<sup>+</sup> et du CMH-II reste encore à préciser. Néanmoins, trois études récentes ont permis de mettre en évidence le fait que les LT CD4<sup>+</sup> jouent un rôle majeur dans l'élimination des cellules tumorales par le système immunitaire.



**Figure 1. Impact de l'action des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> sur la réponse T CD8<sup>+</sup> antitumorale.** Les lymphocytes T (LT) CD4<sup>+</sup> interagissent avec les cellules dendritiques conventionnelles de type 1 (cDC1) qui, activées, vont induire une présentation croisée de l'antigène aux LT CD8<sup>+</sup>. Les LT CD8<sup>+</sup> et les LT CD4<sup>+</sup> cytotoxiques sont capables de produire des molécules cytotoxiques à la suite de la reconnaissance de l'antigène, molécules qui provoquent la mort des cellules tumorales. Les LT CD4<sup>+</sup> auxiliaires, quant à eux, sont capables de sécréter des facteurs permettant de stimuler la réponse effectrice des LT CD8<sup>+</sup> cytotoxiques.

### La présence d'antigènes restreints aux molécules du CMH de classe II permet un rejet de la tumeur plus efficace par le système immunitaire

Afin d'étudier l'influence des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> dans la réponse antitumorale, Alspach *et al.* ont développé un modèle bio-informatique optimisé de prédiction d'épitopes restreints aux molécules du CMH-II et l'ont utilisé pour caractériser les néoantigènes exprimés par les cellules d'une lignée de sarcome induit par le méthylcholanthrène [3]. Les tumeurs obtenues à partir de cette lignée sont connues pour être rejetées *in vivo* par les LT CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> à la suite d'une immunothérapie par ICI. Bien que des études précédentes aient permis

d'identifier des néoantigènes restreints aux molécules du CMH-I dans cette lignée, en particulier le néoantigène mLAMA4 (provenant d'une mutation dans la sous-unité alpha-4 de la laminine), aucun néoantigène restreint aux molécules du CMH-II provenant de cette lignée n'avait été décrit jusqu'alors. Grâce à ce nouveau modèle de prédiction, les chercheurs sont parvenus à identifier un néoantigène aux molécules du CMH-II, lié à l'expression par les cellules tumorales d'une forme mutée de la protéine transmembranaire intégrine β1 (mITGB1). Par la suite, en utilisant une autre lignée tumorale de sarcome induit par un oncogène, mais non immunogène et n'exprimant pas de néoantigène (la lignée KP9025), les

auteurs ont pu montrer que la co-expression des deux néoantigènes décrits ci-dessus (mITGB1 restreint aux molécules du CMH-II et mLAMA4 restreint aux molécules du CMH-I) est nécessaire et suffisante pour rendre la lignée KP9025 immunogène et sensible aux ICI. En revanche, leur expression indépendamment l'une de l'autre ne permet pas d'induire cette réponse. Des résultats similaires ont été obtenus dans des essais de vaccination de souris avec des cellules irradiées exprimant soit un seul soit les deux néoantigènes. Ainsi, le rejet de la tumeur par une immunothérapie de type vaccinale ou ICI semble directement lié à la génération de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>, spécifiques de la tumeur.



L'analyse des facteurs de transcription exprimés par les LT CD4<sup>+</sup> infiltrant la tumeur et spécifiques de mITGB1, ainsi que celle des cytokines produites par ces cellules, montrent que ces cellules s'apparentent à des LT de type « Th1 », des lymphocytes auxiliaires favorisant la génération de LT CD8<sup>+</sup> cytotoxiques. En combinant des marquages par tétramères des LT CD8<sup>+</sup> spécifiques de mITGB1 et des tests de cytotoxicité *in vivo*, les auteurs ont pu montrer que l'expansion des LT CD8<sup>+</sup> est plus importante et que la réponse cytotoxique est plus efficace lorsque la tumeur exprime les deux types de néoantigènes. Par la suite, à l'aide d'un modèle d'injection controlatérale de tumeurs, les auteurs ont pu montrer que la présence de néoantigènes restreints aux molécules du CMH-I et du CMH-II, et donc de LT CD8<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup> spécifiques, était nécessaire au niveau du même site de la tumeur, afin de maintenir une réponse cytotoxique efficace et d'induire une réponse T CD8<sup>+</sup> mémoire.

### Une réponse T CD8<sup>+</sup> antitumorale optimale nécessite une interaction des LT CD4<sup>+</sup> avec les cDC1 via les molécules du CMH-II et la molécule CD40

Il est généralement admis que les cellules dendritiques conventionnelles de type 1 (cDC1), capables de présentation croisée, activent les LT CD8<sup>+</sup>, alors que les cDC2 sont spécialisées dans l'éducation (*priming*) des LT CD4<sup>+</sup>. L'équipe de Ferris *et al.* a cherché à caractériser les interactions entre les cDC et les LT CD4<sup>+</sup> et l'impact de ces interactions sur la réponse T CD8<sup>+</sup> antitumorale [4]. À l'aide d'un modèle murin d'inactivation conditionnelle de l'expression des molécules du CMH-II par les cDC1 et des analyses de la prolifération des LT en réponse à des antigènes soit solubles, soit membranaires, les auteurs ont pu montrer que l'expression du CMH-II par les cDC1 était nécessaire et suffisante pour que l'activation des LT CD4<sup>+</sup> ait lieu en réponse à des antigènes membranaires. Après injection de cellules tumorales exprimant l'ovalbumine membranaire (mOVA), les auteurs ont observé une plus faible expansion des LT CD8<sup>+</sup> spécifiques de l'ovalbu-

mine dans les souris possédant des cDC1 n'exprimant pas de molécules du CMH-II, ce qui indique que l'interaction entre les cDC1 et les LT CD4<sup>+</sup> via le CMH-II joue un rôle sur la réponse CD8<sup>+</sup> antitumorale. De plus, la prolifération de LT CD4<sup>+</sup> spécifiques de l'ovalbumine est également fortement diminuée lorsque les cDC1 n'expriment plus de molécules du CMH-II. En l'absence des cDC1, les cDC2 ne sont donc pas suffisamment efficaces pour activer les LT CD4<sup>+</sup> avec un antigène membranaire.

Il a été montré que les LT CD4<sup>+</sup> participent à l'initiation de la réponse T CD8<sup>+</sup> de façon dépendante de l'activation des cDC1 (*licensing*) grâce à une interaction du récepteur CD40 (présent sur les cDC) avec son ligand CD40L (présent sur les LT CD4<sup>+</sup>). En utilisant un modèle d'expression conditionnelle de CD40 sur les cDC1, les auteurs ont pu confirmer que cette interaction était nécessaire pour le rejet de la tumeur exprimant mOVA. En effet, contrairement au contrôle, la tumeur n'est pas rejetée lorsque CD40 n'est pas exprimé sur les cDC1. De plus, l'expansion *in vivo* des LT CD8<sup>+</sup> et des LT CD4<sup>+</sup> spécifiques de l'ovalbumine est plus faible en absence de CD40.

### Le rôle des LT CD4<sup>+</sup> cytotoxiques : l'exemple du cancer de la vessie

Un autre rôle des LT CD4<sup>+</sup> dans la réponse anti-tumorale est illustré par l'étude de Oh *et al.* dans le carcinome à cellules transitionnelles de la vessie [5]. En effectuant différentes analyses transcriptomiques des LT de la tumeur et des tissus adjacents, ces auteurs ont pu observer que le taux de LT CD8<sup>+</sup> dans la tumeur est similaire à celui trouvé dans le tissu sain et que le taux de LT CD4<sup>+</sup> intra-tumoral est supérieur au taux de LT CD8<sup>+</sup> infiltrant la tumeur. Des analyses supplémentaires des LT CD4<sup>+</sup> ont permis d'identifier différents sous-types de LT, comme des LT CD4<sup>+</sup> mémoires, des lymphocytes Th17, des LT régulateurs, mais également des LT CD4<sup>+</sup> capables d'exprimer des molécules cytotoxiques antitumorales. Ces cellules ont un profil d'expression d'ARNm semblable à celui des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> effecteurs. Certaines catégories de LT CD4<sup>+</sup> cytotoxiques sont retrouvées amplifiées

dans le tissu tumoral, alors que les taux de LT CD8<sup>+</sup> dans le tissu tumoral sont similaires à ceux du tissu sain ; cette expansion clonale de LT CD4<sup>+</sup> pourrait être due à la reconnaissance d'antigènes restreints aux molécules du CMH-II, correspondant à la tumeur de la vessie en particulier. Afin de tester la cytotoxicité de ces cellules, les chercheurs ont mis en co-culture les LT CD4<sup>+</sup> de la tumeur avec les cellules tumorales de la vessie. Ils ont pu constater une augmentation de l'apoptose des cellules tumorales lorsque les LT régulateurs sont éliminés de la culture, mettant ainsi en évidence le fait que les LT régulateurs sont capables d'inhiber la cytotoxicité des LT CD4<sup>+</sup> cytotoxiques. De plus, ces fonctions antitumorales sont dépendantes de l'interaction avec les molécules du CMH-II, puisque la cytotoxicité anti-tumorale n'est plus augmentée en présence d'un anticorps anti-CMH-II.

En conclusion, ces trois études démontrent l'importance des LT CD4<sup>+</sup> non seulement en tant que cellules auxiliaires, mais également en tant que cellules effectrices au cours de la réponse immunitaire antitumorale. L'identification des conditions d'activation des LT CD4<sup>+</sup> auxiliaires et cytotoxiques, ainsi que leur importance dans différents types de cancer sont primordiales pour le développement de nouvelles stratégies d'immunothérapie efficaces. ♦

### CD4<sup>+</sup> T Lymphocytes: major players in antitumor immune response

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nat Rev Immunol* 2020 ; 20 : 651-68.
2. Alcazer V, Bonaventura P, Tonon L, *et al.* Neoepitopes-based vaccines: challenges and perspectives. *Eur J Cancer* 2019 ; 108 : 55-60.
3. Alspach E, Lussier DM, Miceli AP, *et al.* MHC-II neoantigens shape tumour immunity and response to immunotherapy. *Nature* 2019 ; 574 : 696-701.
4. Ferris ST, Durai V, Wu R, *et al.* cDC1 prime and are licensed by CD4<sup>+</sup> T cells to induce anti-tumour immunity. *Nature* 2020 ; 584 : 624-9.
5. Oh DY, Kwek SS, Raju SS, *et al.* Intratumoral CD4<sup>+</sup> T cells mediate anti-tumor cytotoxicity in human bladder cancer. *Cell* 2020 ; 181 : 1612-25.