

## **Etudes des marqueurs diagnostic et immunologique du mésothéliome : applications en thérapie antitumorale.**

**Equipe de Recherche n°4, Unité INSERM 892**

**Centre de Recherche en Cancérologie Nantes/Angers**

Directeur : Marc GREGOIRE

Le mésothéliome pleural malin (MPM) est une tumeur primitive de la plèvre, très agressive, dont le pronostic reste défavorable malgré les avancées thérapeutiques récentes. Son diagnostic est généralement posé à un stade avancé de la maladie, lorsqu'un traitement curatif est peu envisageable. Pour espérer une augmentation significative de la survie des patients atteints de MPM, un diagnostic précoce est nécessaire. En plus des marqueurs histologiques, mais qui restent partagés à d'autres cancers, quelques marqueurs sériques ont été proposés. Cependant, aucun n'est suffisamment sensible ou spécifique pour être utilisable en routine. La mésothéline ou l'ostéopontine solubles semblent être des marqueurs du MPM, mais les données disponibles sont encore insuffisantes pour pouvoir recommander leur utilisation. Ainsi, une étude importante doit être développée afin de déterminer les marqueurs spécifiques nécessaires au diagnostic et au ciblage thérapeutique.

Les moyens thérapeutiques du MPM sont, à ce jour, limités et le protocole optimal n'est pas connu. L'efficacité de la chimiothérapie permet une augmentation relative que de quelques mois sur la survie médiane. Une chirurgie à un stade très précoce de la maladie est également proposée. Malgré l'apparition récente de nouveaux schémas thérapeutiques, incluant une chimiothérapie, une chirurgie d'exérèse et une radiothérapie, aucun bénéfice évident n'est encore constaté.

Cependant, bien que le MPM ne soit pas reconnu comme un cancer «immunologique», une corrélation entre un pronostic favorable du MPM et une infiltration lymphocytaire importante de la tumeur a été établie et la régression spontanée associée à une infiltration par des lymphocytes a été décrite. Ces observations laissent supposer que des stratégies visant à stimuler le système immunitaire dans le but d'induire un rejet de la tumeur, semblent représenter une alternative ou un complément thérapeutique envisageable.

### **Travaux récents**

Trois projets sont conjointement menés :

1) Etude des marqueurs biologiques pour le diagnostic. Nous avons décrit l'association de la mésothéline soluble au mésothéliome. Nous avons montré que son expression était spécifique, via l'expression altérée d'un gène et de métalloprotéases. Pour obtenir des informations complémentaires dans ce domaine, nous avons réalisé une étude génomique sur une importante cohorte de lignées cellulaires (>20) établie dans notre labo. Plusieurs nouveaux marqueurs ont été identifiés par cette approche.

2) Développement de stratégies thérapeutiques alternatives. Nous avons testé l'infection des cellules de mésothéliome par un dérivé du vaccin contre la rougeole (souche Schwarz). Cette infection se fait de façon spécifique via le récepteur CD46, un récepteur membranaire surexprimé par la majorité des lignées de mésothéliomes testées, contrairement aux cellules normales de plèvre. Nous avons montré que cette infection est spécifique, qu'elle induit une mort cellulaire et l'activation d'une réponse immunitaire. Celle-ci est obtenue par une maturation spontanée des cellules dendritiques ayant phagocyté les cellules

infectées favorisant une réponse lymphocytaire importante dirigée contre des antigènes de tumeurs (voir 4-2004).

3) Développement de stratégies thérapeutiques adjuvantes ou concomitantes. Dans cette étude, nous avons mis en évidence les effets combinés des inhibiteurs "histone dé-acétylase" connus (butyrate, acide valproïque et SAHA) et de la méthylation d'ADN (5-AZA) sur la mort cellulaire par apoptose, associée à une surexpression d'antigènes tumoraux. Nous avons également montré la néo-expression de l'antigène NY-ESO-1 pour les cellules traitées par des doses très inférieures à celles utilisées en clinique, et l'induction d'une réponse cytotoxique du clone T CD8 correspondant.

## **Objectifs**

L'objectif principal de ce projet est de mettre en évidence des marqueurs biologiques et immunologiques concernant le mésothéliome. Cela doit permettre le développement de marqueurs diagnostique et du dépistage précoce de ce cancer et le développement de thérapies plus efficaces basées sur une activation de la réponse immunitaire associée aux traitements usuels. Trois principaux projets :

1) Mise en évidence de marqueurs et antigènes associés au MPM. Etude commencée en 2006, comprenant une étude génomique sur une importante collection d'échantillons biologiques (Liquides pleuraux, sang, cellules) établie par notre équipe, en collaboration avec l'équipe clinique du Dr. Laurent Cellierin (Service de Pneumologie du CHU de Nantes – Institut du Thorax). Après la mise en évidence de gènes d'intérêt par DNA-chips, confirmés par RT-PCR, les résultats récents nous ont permis d'initier une étude protéomique, afin de caractériser les marqueurs cellulaires et solubles spécifiques au MPM, travaux réalisés en collaboration avec l'équipe de recherche du Pr. Arnaud Scherpereel (Service de Pneumologie du CHU de Lille)..

2) Rôle de l'infection virale. Une collaboration, initiée en 2004, a été mise en place avec le Dr. Frédéric Tangy (Institut Pasteur-Paris) pour a) la production de vaccins rougeole recombinants intégrant un vecteur d'expression d'antigène tumoral et/ou un vecteur d'induction d'apoptose favorisant les réponses immunitaires et cytotoxiques, b) vérifier et comparer le taux d'infection des cellules tumorales (lignées de mésothéliome) versus celles de cellules normales (plèvre); c) démontrer l'effet cytotoxique après infection et d) vérifier une l'activation d'une réponse T induite soit de type T helper et/ou de type cytotoxique. Des partenaires industriels seraient intéressés.

3) Rôle des inhibiteurs HDAC et agents hypométhylants. En collaboration depuis 2007 avec le laboratoire de chimie spécialisée du Pr. P. Bertrand (CRNS-Poitiers) afin de développer des molécules d'intérêt dans une stratégie combinant la cytotoxicité par apoptose et l'immunogénicité par expression d'antigènes tumoraux. Les études in vitro et in vivo (modèles murins) sont en cours afin de démontrer les intérêts potentiels pour des traitements thérapeutiques.

## **Résultats attendus**

Le mésothéliome pleural malin, cancer professionnel lié à l'amiante, présente encore de nombreuses limites quant à son dépistage précoce, son diagnostic et son traitement. Notre travail devrait aboutir à l'amélioration du diagnostic, mais également à une meilleure efficacité des traitements en développant des actions thérapeutiques plus ciblées, impliquant l'activation du système immunitaire.

Nos travaux récents ont mis en évidence des marqueurs solubles (dont la mésothéline) détectables dans le sang ou les liquides pleuraux, à des stades précoces de la maladie. La poursuite de notre étude, doit

pouvoir améliorer la pertinence et la spécificité de ce marqueur et d'autres marqueurs, encore plus spécifiques, nécessaires à l'efficacité thérapeutique et la prise en charge de ce cancer.

Les traitements restent, en effet, encore décevants en termes d'efficacité. Notre étude, basée soit sur les effets de molécules comme les inhibiteurs HDAC et les agents hypométhylants, soit par l'infection virale des cellules tumorales par un dérivé du vaccin "rougeole", ont montré, outre une cytotoxicité antitumorale attendue, une activation importante et parfois spécifique, de la réponse immunitaire. C'est sur ce point que nous souhaitons développer et axer nos travaux, pour proposer des solutions thérapeutiques alternatives ou complémentaires à celles proposées actuellement.

### **Publication de l'équipe sur ce sujet**

Boisgerault N, Tangy F and Grégoire M. New perspectives in cancer virotherapy: bringing the immune system into play. *Immunotherapy*, 2010, march 2(2), 185-199, 2010.

Grégoire M. What's the place of immunotherapy in malignant mesothelioma treatment ? *Cell Adhesion and Migration*, Vol 4, n°1, 153-161, 2010.

Grégoire M. A near future for curative vaccine in mesothelioma *Expert Review of Respiratory Medicine* 4(3), 311-314, 2010.

Carole Sapede, Anne Gauvrit, Isabelle Barbieux, Martine Padieu, Laurent Cellerin, Christine Sagan, Arnaud Scherpereel, Gérard Dabouis, Marc Grégoire (2008) Aberrant splicing and protease involvement in mesothelin release from epithelioid mesothelioma cells. *Cancer Sci* 99: 3. 590-594 Mar 2008

Anne Gauvrit, Samantha Brandler, Carole Sapede-Peroz, Nicolas Boisgerault, Frédéric Tangy, Marc Grégoire (2008) Measles virus induces oncolysis of mesothelioma cells and allows dendritic cells to cross-prime tumor-specific CD8 response. *Cancer Res* 68: 12. 4882-4892 Jun 2008.

Frédéric Ebstein, Carole Sapede, Pierre-Joseph Royer, Marie Marcq, Catherine Ligeza-Poisson, Isabelle Barbieux, Laurent Cellerin, Gérard Dabouis, Marc Grégoire (2004) Cytotoxic T cell responses against mesothelioma by apoptotic cell-pulsed dendritic cells. *Am J Respir Crit Care Med* 169: 12. 1322-1330 Jun 2004

M Grégoire, C Ligeza-Poisson, N Juge-Morineau, R Spisek (2003) Anti-cancer therapy using dendritic cells and apoptotic tumour cells: pre-clinical data in human mesothelioma and acute myeloid leukaemia. *Vaccine* 21: 7-8. 791-794 Jan 2003

### **Publications en collaboration**

Bogdan-Dragos Grigoriu, Arnaud Scherpereel, Patrick Devos, Bachar Chahine, Marc Letourneux, Pierre Lebailly, Marc Grégoire, Henri Porte, Marie-Christine Copin, Philippe Lassalle (2007) Utility of osteopontin and serum mesothelin in malignant pleural mesothelioma diagnosis and prognosis assessment. *Clin Cancer Res* 13: 10. 2928-2935 May 2007

Grigoriu, Chahine, Zerimech, Grégoire, Balduyck, Copin, Devos, Lassalle, Scherpereel (2009) Serum mesothelin has a higher diagnostic utility than hyaluronic acid in malignant mesothelioma. *Clin Biochem* Mar 2009