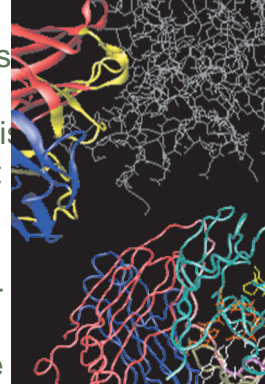


# La prédiction de l'immunogénicité des protéines thérapeutiques

Bernard Maillere, Stéphanie Deluc, Gilles Ravot

> L'immunogénicité des protéines thérapeutiques est un cauchemar pour les industriels, car les anticorps induits par une réponse immunitaire peuvent neutraliser l'activité thérapeutique des protéines, voire provoquer des symptômes auto-immuns. On a cru s'affranchir de ces problèmes avec l'humanisation des séquences, mais de nombreux exemples cliniques démontrent l'insuffisance de l'humanisation pour éviter les réponses immunitaires. Différentes approches ont été développées pour prédire l'immunogénicité des protéines thérapeutiques, dont les plus pertinentes reposent sur l'étude de la réponse des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> spécifiques des protéines thérapeutiques. D'autres approches existent ou sont en développement. Cette revue a pour but de faire le point sur l'ensemble des technologies proposées pour prédire l'immunogénicité des protéines thérapeutiques.



<sup>1</sup>CEA, Institut de biologie et de technologies de Saclay, SIMOPRO, 91191 Gif sur Yvette, France.

<sup>2</sup>Indicia Biotechnology 33, avenue de la Californie, 69600 Oullins, France.

<sup>3</sup>Protéus, 70, allée Graham Bell, parc Georges Besse, Nîmes, F-30000, France.

bernard.maillere@cea.fr  
sdelluc@indicia.fr

## Même humanisée, une protéine est potentiellement immunogène chez l'homme

Selon la réglementation, les risques d'immunogénicité d'un nouveau produit thérapeutique, c'est-à-dire sa capacité à induire une réponse immunitaire, doivent être évalués chez l'animal puis chez l'homme en phases cliniques [1]. La réponse immunitaire induite par les vaccins et les adjuvants est évaluée chez l'animal afin de s'assurer de son potentiel protecteur et de son innocuité. Les molécules organiques induisent généralement peu de réponses immunitaires si bien que de signes d'immunogénicité chez l'animal se traduisent généralement chez l'homme lors des phases cliniques. L'apparition des protéines thérapeutiques a perturbé ce schéma de développement, car les anticorps induits par la protéine injectée ne suffisent plus pour prédire la réponse immunitaire que l'homme développe contre ces molécules. Ces modèles animaux aident à évaluer la capacité de neutralisation des anticorps produits et à analyser l'impact de la présence d'anticorps sur la pharmacocinétique

de la molécule, ou l'apparition de symptômes. Toutefois, il n'est pas rare qu'une protéine immunogène chez l'animal ne le soit pas chez l'homme et réciproquement [2]. Les insulines porcine et bovine ont été retirées du marché en raison des réponses immunitaires qu'elles provoquaient. Le premier anticorps monoclonal ayant reçu l'autorisation de mise sur le marché était d'origine murine (muromonab, dirigé contre l'antigène CD3), mais les essais thérapeutiques effectués dans les années 1980 avec des anticorps monoclonaux de souris ont pu faillir condamner l'avenir des anticorps thérapeutiques en raison de leur immunogénicité [3]. L'humanisation des séquences a permis de considérablement limiter les réponses immunitaires induites par les protéines thérapeutiques et a favorisé le développement de très nombreuses molécules [4, 5]. Toutefois, l'analyse des observations cliniques effectuées depuis le début des années 2000 montre clairement que l'humanisation ne garantit pas l'absence de réponse immunitaire. Ces réponses ont des conséquences très variables. Les anticorps induits peuvent être apparemment sans conséquence clinique ou au contraire réduire l'efficacité de la protéine injectée. Par exemple, environ 30% des patients hémophiles A sévères développent des anticorps neutralisant le facteur VIII thérapeutique qui leur est injecté. Chez les patients atteints de sclérose en plaques, l'interféron bêta peut être neutralisé par les anticorps induits par la répétition des injections [6]. Des résistances aux anticorps anti-TNF (tumor necrosis factor), qui sont soit chimériques ou humains, peuvent être associées à l'apparition d'anticorps neutralisants [7]. Lorsque la protéine injectée est également produite par l'organisme, les anticorps induits peuvent provoquer des symptômes auto-immuns et mettre en danger le patient. L'exemple le plus connu est celui de l'érythropoïétine (EPO) [8]. À la fin des années 1990, un changement de formulation de l'EPO recombinante l'a rendue bizarrement plus immunogène chez

nombre heureusement limité de patients. Les anticorps produits neutralisent non seulement l'activité thérapeutique de l'EPO recombinante, mais également celle de l'EPO naturelle produites par les cellules souches hématopoïétiques humaines. Ils provoquent une érythroblastopénie qui se caractérise par une diminution des précurseurs érythroblastiques de la moelle osseuse responsables du renouvellement des globules rouges. Les protéines thérapeutiques représenteront bientôt une grande classe majeure de médicaments. Plus de trois cents anticorps thérapeutiques sont en cours d'étude clinique et le développement des méthodes de prédiction de l'immunogénicité va accroître la diversité des produits sur le marché. Sachant que les animaux sont de très mauvais modèles prédictifs de la réponse immunitaire chez l'homme, la question se pose de savoir avec quels moyens pouvons-nous prédire au mieux les réponses en anticorps contre les protéines thérapeutiques afin de s'assurer de la qualité de ces nouveaux produits.

### Les méthodes de prédiction de l'immunogénicité d'une protéine : analyse de la réponse des lymphocytes T CD4 spécifiques

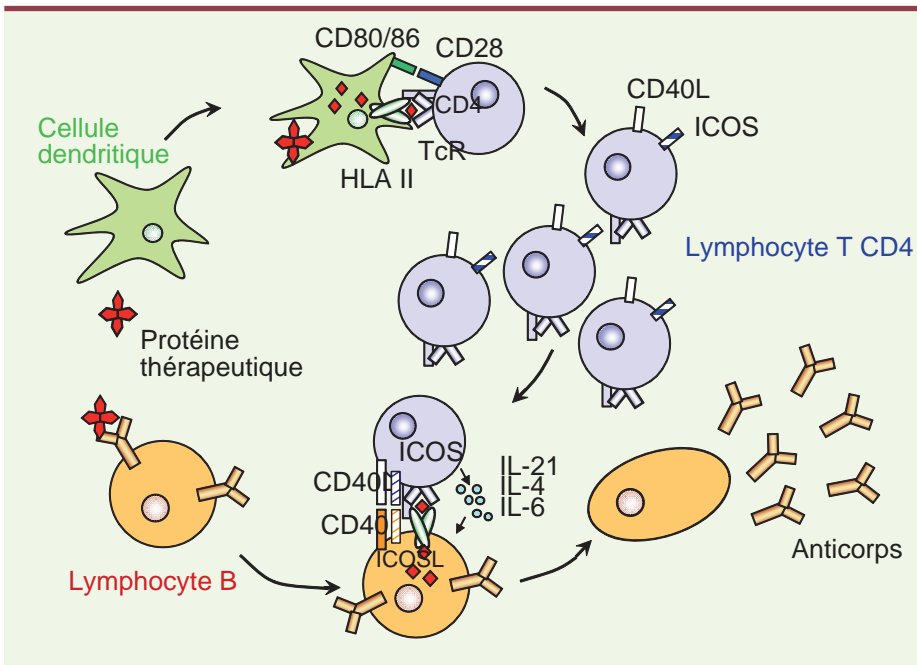
#### Rôle des lymphocytes T CD4 dans la réponse immunitaire aux protéines thérapeutiques

Face au problème que pose la barrière d'espèce de l'immunité, des modèles de souris humanisées ont été développés. Il existe des souris transgéniques qui expriment la protéine transgénique d'origine humaine ou qui expriment des molécules HLA de l'espèce humaine.

Il existe également des souris immunodéficientes dont le système hématopoïétique peut être reconstitué par des cellules souches hématopoïétiques humaines (18). Toutefois, ces souris demeurent imparfaites en raison principalement d'une reconstitution insuffisante du répertoire des lymphocytes, et nécessitent donc d'être améliorées. Les souris prédictives de l'immunogénicité les plus utilisées reposent en fait sur l'évaluation de la capacité des protéines thérapeutiques à stimuler les lymphocytes T CD4 humains. Les lymphocytes T CD4 jouent un rôle majeur dans l'apparition des anticorps (19). Ils fournissent l'aide nécessaire au développement des lymphocytes B en plasmocytes sécrétant des anticorps (fonction helper) (Figure 1). Les réponses immunes contre les protéines thérapeutiques sont dépendantes des lymphocytes T CD4 comme l'attestent des observations faites principalement chez les patients hémophiles : les anticorps inhibiteurs sont des IgG et contiennent des mutations somatiques (reflétant la génération d'IgG de haute affinité), deux caractéristiques qui dépendent des lymphocytes T CD4 (20). Chez des patients hémophiles avec un taux établi d'anticorps anti-facteur VIII (FVIII), l'infection par le VIH (virus de l'immunodéficiência humaine), par la diminution du

Type de méthodes	Nature	Principe	Avantages/inconvénients
Modèle animal	Souris transgénique pour la protéine thérapeutique	Recherche d'anticorps	Reproduit la présence de la protéine d'origine humaine Niveau de tolérance possiblement différent chez l'homme Pas d'éducation des cellules T sur les molécules HLA
	Souris transgénique pour une molécule HLA de classe II	Recherche d'anticorps	Prend en compte la spécificité de la molécule HLA Nombre de modèles limité Protéine non présente dans le « soi » de l'animal
	Souris immunodéficiente reconstituée avec des cellules souches hématopoïétiques humaines	Recherche d'anticorps	Système immunitaire humain Éducation des cellules T humaines sur des molécules HLA non systématique Réponse immunitaire partielle Prise en compte de la diversité humaine possible
Prédiction <i>in silico</i>	Programmes informatiques	Prédiction de la liaison aux molécules HLA de classe II	Facile à faire (site internet) Faux positifs Ne renseigne pas sur l'amplitude de la réponse
Tests biochimiques	Tests de liaison aux molécules HLA de classe II	Mesure de l'affinité des peptides pour les molécules HLA de classe II	Données expérimentales Nécessite des molécules HLA de classe II purifiées Faux positifs Ne renseigne pas sur l'amplitude de la réponse
Tests prédictifs d'activation des lymphocytes	Tests cellulaires <i>in vitro</i> basés sur des cultures de lymphocytes T	Détection de lymphocytes spécifiques chez des sujets naïfs	Reproduit l'activation des lymphocytes T Évaluation de l'intensité et de la fréquence des répondeurs Mesure relative ou absolue (nombre de cellules spécifiques)

Tableau I. Les différentes approches utilisées pour prédire l'immunogénicité des protéines thérapeutiques.



**Figure 1. La coopération cellulaire dans la réponse humorale dirigée contre les protéines thérapeutiques.**

La réponse humorale vis-à-vis d'une protéine thérapeutique fait intervenir au moins trois types de cellules et d'interactions. Les cellules dendritiques immatures capturent la protéine et la dégradent en peptides. Parmi les peptides générés, certains possèdent des résidus d'ancrage appropriés pour lier les molécules HLA de classe II et être présentés aux lymphocytes T CD4. Sous l'effet de facteurs inflammatoires induits par l'injection, les cellules dendritiques immatures se différencient en cellules dendritiques matures et deviennent aptes à stimuler des lymphocytes T naïfs. Elles migrent dans les ganglions lymphatiques et activent des lymphocytes T CD4 spécifiques des peptides de la protéine présentés par les molécules HLA de classe II. Ces lymphocytes T acquièrent des molécules de costimulation (CD40L, ICOS) et les présentent également aux lymphocytes B. Les lymphocytes B possédant une immunoglobuline commune qui est spécifique de la protéine l'internalisent, la dégradent et génèrent des peptides. Selon un processus similaire à celui décrit dans les cellules dendritiques, des peptides sont présentés aux lymphocytes T CD4. Ceux-ci induisent et les activent. Leur activation fournit l'aide nécessaire à la différenciation des lymphocytes T en lymphocytes sécréteurs d'IgG spécifiques de la protéine. Les molécules de costimulation et les cytokines (IL-4, IL-6, IL-21) sécrétées par les lymphocytes T CD4 aident également à la différenciation des lymphocytes B en cellules sécrétrices d'anticorps. Ces anticorps produits contre la protéine thérapeutique peuvent neutraliser son activité et modifier sa pharmacologie.

Les méthodes *in silico* reposent sur des programmes informatiques qui identifient des peptides susceptibles de se lier aux molécules HLA de classe II. Elles se fondent sur le constat que la plupart des épitopes T sont des peptides de forte affinité pour les molécules HLA de classe II. Ces méthodes recherchent la présence de motifs spécifiques aux molécules HLA de classe II, établissent des scores de prédiction à partir de matrices reflétant l'influence des différents acides aminés sur la liaison, ou se basent sur des systèmes experts [13].

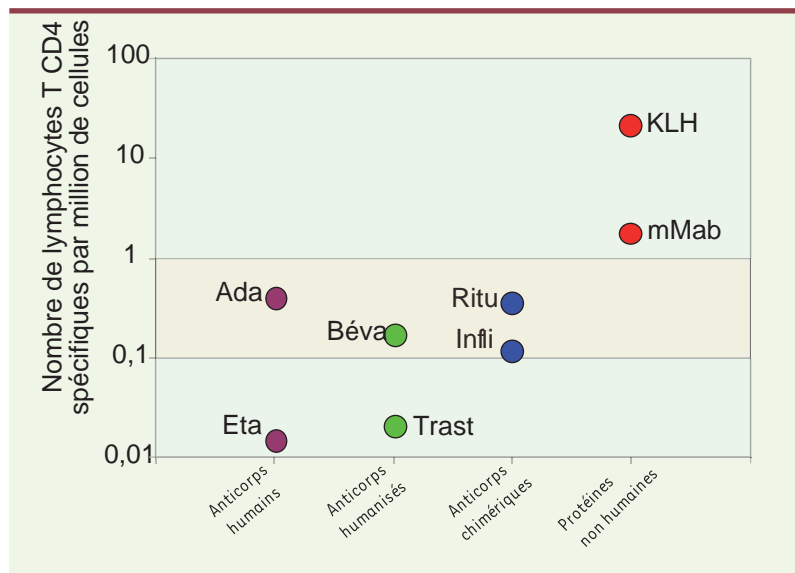
Les tests biochimiques de liaison aux molécules HLA de classe II permettent de mesurer l'affinité des peptides et d'identifier les épitopes T. Parmi les approches expérimentales de validation de modèles *in silico*, les méthodes de criblage à haut débit sont les plus efficaces pour identifier les épitopes T. Elles reposent sur des méthodes de criblage à haut débit qui permettent de tester des milliers de peptides liant les molécules HLA de classe II. Elles induisent systématiquement l'activation des lymphocytes T CD4 et génèrent donc un nombre élevé de faux positifs ce qui impose de vérifier que les peptides identifiés sont effectivement capables de stimuler des lymphocytes T CD4.

Des lymphocytes T CD4 spécifiques du FVIII ont été identifiés chez certains de ces patients. Des lymphocytes T CD4 sécrétant des anticorps inhibiteurs. Chez l'animal, l'absence d'activation des lymphocytes T CD4 est suffisante pour empêcher le développement d'une réponse immunitaire, par exemple contre l'intégrine  $\alpha$ 9 $\beta$ 1.

**Méthodes d'évaluation de la réponse des lymphocytes T CD4**  
 Les lymphocytes T CD4 reconnaissent leurs antigènes sous la forme de peptides, appelés épitopes T, que leur présentent les molécules HLA de classe II. En raison du polymorphisme des molécules HLA, les épitopes T varient d'un individu à un autre, mais certains peuvent être communs à plusieurs individus. Les méthodes d'évaluation de la réponse des lymphocytes T tiennent compte de ce polymorphisme et se répartissent en tests *in silico*, biochimiques et cellulaires.

spécifiques sont naïfs et en très faibles nombres. Les quelques expériences dans le thymus. Il est donc possible que des clones de lymphocytes T dirigés contre des séquences rapportent des valeurs autour de 1 cellule T spécifique d'un épitope persistant dans l'organisme. Tant qu'ils ne sont pas activés, ces lymphocytes T autoréactifs sont immunogènes comme la *KLH* (*impet haemocyanin*) la valeur inoffensive et ignorent les antigènes. En observée est autour de 30 cellules pour 1 million de cellules souches, leur activation peut être déclenchée par l'injection des protéines thérapeutiques et le processus de les activer spécifiquement pour les mettre en cause de la réaction inflammatoire qu'elle peut provoquer. Cette activation nécessite d'amplifier les cellules T. Ces tests sont donc très différents des tests immunologiques réalisés lors des essais vaccinaux : dans ce cas, les lymphocytes T spécifiques des antigènes sont beaucoup plus nombreux. Ils partagent toutefois des techniques communes d'immunologie cellulaire, telles que l'Elispot, le marquage intracellulaire des lymphocytes T CD4. Ils permettent d'identifier les cytokines ou la mesure de prolifération. La justification de ces tests prédictifs d'activation des lymphocytes T comme source d'information sur l'immunogénicité des protéines vient de ce que la

taille des répertoires des lymphocytes T CD4 naïfs contrôle en partie l'amplitude de la réponse des lymphocytes T CD4 : plus il y a de lymphocytes T naïfs spécifiques d'une protéine est élevé, plus la réponse sera importante. Le répertoire des lymphocytes T CD4 naïfs est principalement défini par la sélection positive et négative des lymphocytes T CD4 dans le thymus par les péptides qui ont permis l'explosion de leur développement. Les lymphocytes T autoréactifs, qui reconnaissent des peptides auto-antigéniques, sont en partie éliminés de l'organisme par cette sélection. L'humanisation des séquences des protéines thérapeutiques, qui sont humanisées dans leur partie constante, les parties variables restant réduites, réduit donc le nombre de lymphocytes T spécifiques des protéines thérapeutiques. Toutefois, toutes les protéines humaines ne sont



**Figure 2. Quantification du nombre de lymphocytes T CD4 spécifiques d'anticorps thérapeutiques.** Les lymphocytes T CD4 spécifiques d'anticorps thérapeutiques de souris ont été amplifiés par culture en présence de leur antigène et de cellules T CD4 naïfs. Leur spécificité a été testée par Elispot. Les fréquences de lymphocytes T ont été calculées à partir de la fréquence des puits de culture contenant des lymphocytes T spécifiques. mMAB : Ac monoclonal murin ; Ritu : rituximab ; Infli : infliximab ; Béva : bécacizumab ; Trast : trastuzumab ; Ada : adalimumab ; Eta : étanercept.

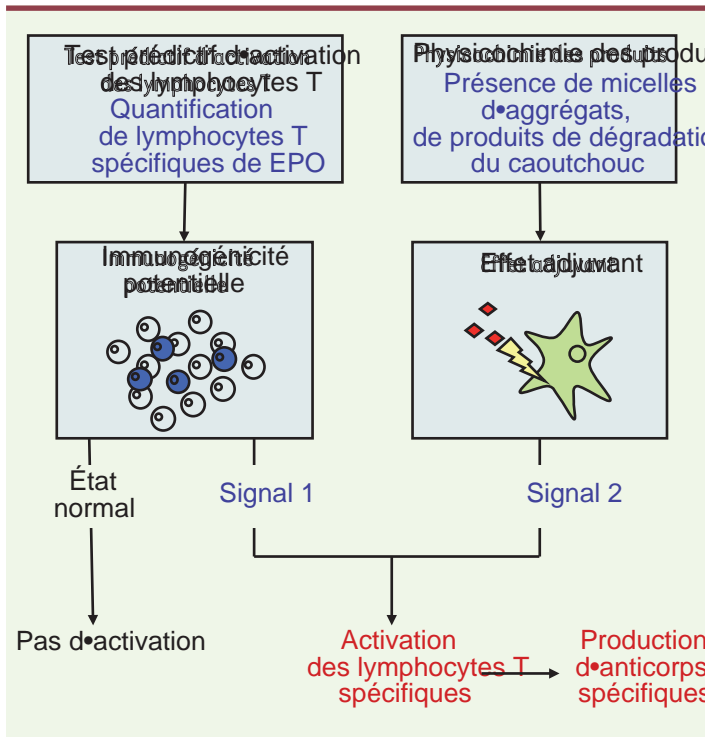
origine animale en séquences les plus proches possibles des séquences humaines ; les anticorps « humains », qui sont produits à partir de la recombinaison *in vitro* de gènes d'immunoglobulines humaines (display) ou de l'immunisation de souris transgéniques humanisées pour les gènes d'immunoglobulines [36]. Il est communément considéré que plus l'humanisation est élevée, plus les risques de réponse immunitaire sont faibles. Des anticorps chimériques comme le rituximab (reconnaissant l'antigène CD20) [27] et l'infliximab (anti-TNF) [23] induisent chez une partie des patients une réponse humorale alors que des anticorps humanisés tels que le bécacizumab (anti-VEGF) [24] et le trastuzumab (herceptine®, anti-HER2/neu) [25] sont bien tolérés. Pourtant, des anticorps entièrement humains peuvent être immunogènes et le cas de l'adalimumab (Humira®, anti-TNF) nous avons récemment quantifié le nombre de lymphocytes T CD4 spécifiques de ces anticorps dans le sang de sujets sains

possédant des molécules HLA différentes, stratégie d'amplification *in vitro* [17] (Figure 2). Alors que la taille du répertoire de lymphocytes T CD4 spécifiques de la KLH ou d'un anticorps de souris est respectivement de 20 et 3 cellules par million, ce répertoire est plus restreint pour les anticorps thérapeutiques (trastuzumab [25] et étanercept, qui est une protéine de fusion entre une partie du récepteur du TNF et une partie Fc d'une IgG1 humaine [27]). Une exception est le bévacizumab puisque le répertoire de lymphocytes T CD4 spécifiques est au-dessus du seuil par million de cellules alors que le produit est [26].

En revanche, ces fréquences sont très inférieures pour les lymphocytes T CD4 spécifiques d'anticorps considérés comme peu immunogènes (rituximab, infliximab, rituximab), le nombre de lymphocytes T CD4 spécifiques est compris entre 0,1 et 1 cellule par million. En revanche, ces fréquences sont très inférieures pour les lymphocytes T CD4 spécifiques d'anticorps considérés comme peu immunogènes (trastuzumab [25] et étanercept, qui est une protéine de fusion entre une partie du récepteur du TNF et une partie Fc d'une IgG1 humaine [27]). Une exception est le bévacizumab puisque le répertoire de lymphocytes T CD4 spécifiques est au-dessus du seuil par million de cellules alors que le produit est [26].

En revanche, ces fréquences sont très inférieures pour les lymphocytes T CD4 spécifiques d'anticorps considérés comme peu immunogènes (rituximab, infliximab, rituximab), le nombre de lymphocytes T CD4 spécifiques est compris entre 0,1 et 1 cellule par million. En revanche, ces fréquences sont très inférieures pour les lymphocytes T CD4 spécifiques d'anticorps considérés comme peu immunogènes (trastuzumab [25] et étanercept, qui est une protéine de fusion entre une partie du récepteur du TNF et une partie Fc d'une IgG1 humaine [27]). Une exception est le bévacizumab puisque le répertoire de lymphocytes T CD4 spécifiques est au-dessus du seuil par million de cellules alors que le produit est [26].

**Comment comprendre la réponse immunitaire contre l'érythropoïétine recombinante ?**



**Figure 3. Modèle de compréhension de la réponse immunitaire contre l'érythropoïétine humaine.** La réponse immunitaire contre l'EPO dépend de deux signaux distincts : la capacité de la molécule à être reconnue par les lymphocytes T et sa capacité à fournir un effet adjuvant. Ce dernier effet dépend de sa formulation.

Un deuxième exemple de réponse immunitaire que nous avons récemment étudié par ces tests de quantification de lymphocytes T CD4 spécifiques est celui de l'EPO. L'EPO est un facteur de croissance qui intervient dans le renouvellement des globules rouges et est utilisé en clinique pour corriger les anémies, notamment chez les patients insuffisants rénaux. À la fin des années 1990, une augmentation brutale de la mortalité des patients traités pour des maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde ou la maladie de Crohn a été attribuée à certains lots de l'EPO recombinant. Les lots incriminés pouvaient induire une réponse immunitaire qui neutralisait les anticorps thérapeutiques de l'EPO recombinante et celle de l'EPO naturelle produite par le patient, provoquant l'érythroblastopénie. Les principales investigations réalisées sur ces lots ont proposé que leur immunogénicité était due à la présence de micelles, d'aggrégats ou de produits de dégradation issus du caoutchouc des seringues préremplies [30]. De fait, les mesures prises pour éviter l'altération des lots d'EPO, telles que l'enrobage du caoutchouc des seringues et le respect de la chaîne du froid, ont permis de revenir aux taux initiaux d'érythroblastopénie. Sachant que la réponse humorale dirigée contre l'EPO est dépendante de lymphocytes T CD4, nous avons étudié le répertoire de lymphocytes T CD4 préexistants spécifiques de l'EPO chez des sujets normaux en utilisant la technique d'amplification de ces cellules [16]. Nous avons observé que ce répertoire était relativement important chez près de la moitié des donneurs sains étudiés. Cette observation nous a permis de proposer un modèle permettant de comprendre les réponses humorales contre l'EPO (Figure 3). Celles-ci résulteraient de l'existence de deux facteurs indépendants : un répertoire de lymphocytes T spécifiques de l'EPO et des conditions favorables à leur activation. Dans des conditions normales, les lymphocytes T CD4 spécifiques de l'EPO ne sont pas activés par l'EPO endogène car il n'y a pas de conditions favorables à leur stimulation. En revanche, l'apport des micelles, agrégats ou

produits de dégradation issus du caoutchouc pourrait favoriser la maturation et la migration des cellules dendritiques et ainsi activer les lymphocytes T naïfs. Tant qu'aucun effet adjuvant de ce type n'est apporté par la formulation, l'EPO recombinante est bien tolérée. Mais il est aussi vrai que l'effet adjuvant de la formulation n'aurait pas ces conséquences si le répertoire de lymphocytes T CD4 spécifiques de l'EPO n'était pas aussi important. L'évaluation du nombre de lymphocytes T CD4 présents dans le sang des sujets sains permet donc de définir un potentiel d'immunogénicité et, mieux encore, d'identifier les protéines thérapeutiques ayant un risque d'être immunogènes. La réalisation de ces tests aurait permis d'anticiper le risque d'immunogénicité de l'EPO.

## Conclusion

L'immunologie prédictive est naissante. Elle va bénéficier de la fois des progrès effectués en recherche fondamentale sur les mécanismes de l'immunogénicité, des observations cliniques et de la cancérisation des produits faite par les industriels. Pour le moment elle a surtout bénéficié des avancées majeures de ces vingt dernières années dans la compréhension de la réponse immunitaire et des technologies qui en découlent. Le dialogue entre pharmaciens, biologistes, biostatisticiens, investigateurs, sponsors d'études cliniques et immunologistes sera donc au cœur des progrès futurs. Un autre dialogue se développe de plus en plus avec les autorités réglementaires qui, comme en témoignent les récentes directives, surveillent les avancées dans ce domaine. Tous attendent de l'immunologie prédictive les moyens de mieux maîtriser les effets indésirables de l'immunogénicité afin de pouvoir produire des médicaments sûrs et sans effets secondaires.

## SUMMARY

### The prediction of immunogenicity of therapeutic proteins

Immunogenicity of therapeutic proteins is a nightmare for industry because induced antibodies can neutralize the therapeutic and provoke autoimmune symptoms. It was believed that sequence humanization would be sufficient to tackle these problems but multiple clinical examples now demonstrate that humanization does not suffice to abrogate immune responses. In order to predict immunogenicity of therapeutic proteins, different approaches have been developed among which the most relevant ones are based on the evaluation of the response of naïve CD4 T lymphocytes specific for therapeutic proteins. Other approaches also exist or are in development. This review is the state of art in the different technologies that are proposed to predict immunogenicity of therapeutic proteins.

## CONFLIT D'INTÉRÊTS

Bernard Maillère déclare participer ou avoir participé à des interventions ponctuelles (contrat de collaboration et activité de conseil) pour l'entreprise Protéus. Stéphanie Delluc déclare avoir des liens durables ou permanents (contrat de travail) avec l'entreprise Indicia. Gilles Ravot déclare avoir des liens durables ou permanents (contrat de travail) avec l'entreprise Protéus.

## RÉFÉRENCES

- Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins. EMA/CHMP/BMWP/14327/2006 2006.
- Lee A, H. Immunogenicity of therapeutic proteins: clinical implications and future prospects. *Ther* 2002 ; 24 : 1720-40.
- Hwang WY, Foote J. Immunogenicity of engineered antibodies. *Pharm Res* 2004 ; 21 : 103-11.
- Bertholdo A. Neutralizing antibodies to interferon beta: implications for the management of multiple sclerosis. *Neurology* 2004 ; 17 : 241-6.
- Almeida N, de Carvalho JF, Artur Almeida Silva C, Bonfa E. Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases. *Alergy Immunol* 2010 ; 38 : 82-9.
- Casadevall N, Natarf J, Vireo B. Erythrocyte aplasia and anti-erythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *Engl J Med* 2002 ; 346 : 469-75.
- Hermeling S, Jiskoot W, Crommelin D. Development of a transgenic mouse model immune tolerant for human interferon beta. *Pharm Res* 2005 ; 22 : 847-51.
- Reipert BM, Steinitz KN, van Helden PM. Opportunities and limitations of mouse models humanized for HLA class II antigens. *Transgenic Res* 2008 ; 17 (suppl 1) : 92-7.
- Recher P, Legendre N, van Gaalen C. Generation of human antigen-specific monoclonal IgM antibodies using vaccinated human immune system. *Transgenic Res* 2010 ; 5.
- Quaranta M, Vantomme V, Ducloux S. CD4+ T-cell clones specific for wild-type factor VIII: a molecular mechanism responsible for a higher incidence of inhibitor formation in mild/moderate hemophilia A. *Transfusion* 2003 ; 43 : 1351-8.
- Brady RO, Kerner BL, Arkin S. Loss of high-responder inhibitors in patients with severe hemophilia A and human immunodeficiency virus type 1 infection: a report from the Multi-center hemophilia cohort study. *Transfusion* 1993 ; 42 : 375-9.
- Yeung VP, Chang J, Miller E. Elimination of an immunodominant CD4+ cell epitope in human IFN-beta does not result in response directed at the subdominant epitope. *Immunol* 2004 ; 172 : 6658-65.
- Yang P, Sidney J, Dow C. A systematic assessment of MHC class II peptide binding predictions and evaluation of a consensus approach. *Comput Biol* 2008 ; 4 : e1000048.
- Yang P, Sidney J, Kohn DA. Several common HLA-DR types share largely overlapping peptide binding repertoires. *Immunol* 1998 ; 160 : 3363-73.
- Castelli FA, Leleu M, Pouvelle-Merati D. Differential capacity of T cell priming in naive donors of promiscuous CD4+ T cell epitopes of HCV NS3 and core proteins. *J Immunol* 2007 ; 37 : 1513-23.
- Delluc S, Ravot G, Maillere B. Quantification of the preexisting CD4 T-cell repertoires specific for human erythropoietin reveals its immunogenicity potential. *Blood* 2010 ; 116 : 4542-5.
- Delluc S, Ravot G, Maillere B. Quantitative analysis of the CD4 T-cell repertoire specific to therapeutic antibodies in healthy donors. *Transfusion* 2011 ; 25 : 2040-8.
- Moon JJ, Chu HH, Pepper M. Naive CD4+ T cell frequency varies for different epitopes and predicts repertoire diversity and response magnitude. *Immunity* 2007 ; 27 : 203-13.
- Geiger R, Duhen T, Lanzavecchia A, Sallusto F. Human naive and memory CD4+ T cell repertoires specific for naturally processed antigens analyzed using libraries of amplified T cells. *J Immunol* 2009 ; 206 : 1525-34.
- Jenkins MK, Chu HH, McLachlan JB, Moon JJ. On the composition of the preimmune repertoire of T cells specific for peptide-major histocompatibility complex ligands. *Dev Immunol* 2010 ; 28 : 275-94.
- Onaoli PS, Oehen S, Buerki K. Attenuation of tolerance and induction of diabetes by virus infection in viral antigen transgenic mice. *Diabetes* 2006 ; 55 : 305-17.
- Pijpe J, van Imhoff GW, Spijkerboer F. Rituximab treatment in patients with primary Sjogren's syndrome: an open-label phase II study. *Rheum* 2005 ; 52 : 2740-50.
- Baert F, Noman M, Vermeire S. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003 ; 348 : 601-8.
- Gordon MS, Margolin K, Tappin P. Phase I safety and pharmacokinetic study of recombinant human anti-vascular endothelial growth factor in patients with advanced cancer. *Anticancer Res* 2001 ; 19 : 843-50.



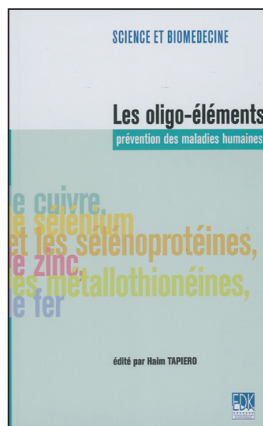
## RÉFÉRENCES

25. Van Walle I, Gansemans Y, Parren PW, et al. Immunogenicity screening in protein drug development. *Expert Opin Biol Ther* 2007 ; 7 : 405-18.
26. Bartelds GM, Wijbrandts CA, Nurmohamed MT, et al. Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007 ; 66 : 921-6.
27. Dore RK, Mathews S, Schechtman J, et al. The immunogenicity, safety, and efficacy of etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2007 ; 25 : 40-6.
28. Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum* 2004 ; 50 : 2580-9.
29. Thurlings RM, Teng O, Vos K, et al. Clinical response, pharmacokinetics, development of human anti-chimeric antibodies, and synovial tissue response to rituximab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010 ; 69 : 409-12.
30. Schellekens H, Jiskoot W. Erythropoietin-associated PRCA: Still an unsolved mystery. *J Immunotoxicol* 2006 ; 3 : 123-30.
31. Stas P, Lasters I. Immunogénicité de protéines d'intérêt thérapeutique : les anticorps monoclonaux thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 1070-7.
32. Cogné M, Duchez S, Pascal V. Transgénèse animale et humanisation des anticorps : des souris pour des hommes. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 1149-54.
33. Sibia J. Protéine de fusion ou anticorps monoclonal : quel biomédicament choisir dans une maladie inflammatoire ? *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 1033-8.
34. Casadevall N, Mayeux P. Anticorps anti-érythropoïétine chez des patients insuffisants rénaux traités par l'hormone recombinante. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 542-3.
35. Cachat A, Duc Dodon M, Gazzolo L, Rigal D, Villaudy J. Les souris ne sont pas des hommes, et pourtant... Ce que les souris humanisées nous apprennent sur les maladies infectieuses. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 63-8.
36. Abès R, Dutertre CA, Teillaud JL. Les anticorps : mieux les connaître pour mieux s'en servir. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 1011-9.

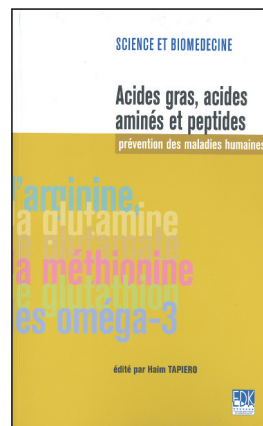
### TIRÉS À PART

B. Maillère

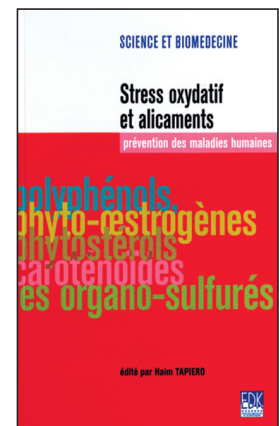
## Collection SCIENCE ET BIOMÉDECINE



ISBN : 2-84254-107-3 64 pages



ISBN : 2-84254-108-1 80 pages



ISBN : 2-84254-111-1 86 pages

### Bon de commande

À retourner à EDK, 25, rue Daviel - 75013 Paris  
Tél. : 01 58 10 19 05 - Fax : 01 43 29 32 62 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....  
Adresse : .....  
Code postal : ..... Ville : .....  
Pays : .....  
Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Les oligo-éléments** : 10 € + 3 € de port = **13 € TTC**

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Acides gras, acides aminés et peptides** : 12 € + 3 € de port = **15 € TTC**

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Stress oxydatif et alicaments** : 14 € + 3 € de port = **17 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de EDK

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |