HAL open science

Bactériologie et cancers : vers de nouvelles stratégies thérapeutiques

Quentin Albert

To cite this version:

Quentin Albert. Bactériologie et cancers : vers de nouvelles stratégies thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01517345

HAL Id: dumas-01517345

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01517345

Submitted on 3 May 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE CAEN NORMANDIE

ANNEE 2016/2017

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

THESE POUR LE DIPLOME D'ETATDE DOCTEUR EN PHARMACIE

PRESENTEE PAR

Quentin ALBERT

SUJET :

Bactériologie et Cancers : vers de nouvelles stratégies thérapeutiques.

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 27 Janvier 2017

JURY :	Pr. Jean-Christophe GIARD	PRESIDENT DU JURY
	Dr. Anne DHALLUIN	EXAMINATRICE
	Dr. Claire DAUREL	EXAMINATRICE

Remerciements

Je souhaite remercier en premier lieu le Pr. Jean-Christophe Giard, pour la confiance, les corrections, les discussions toujours enrichissantes et le soutien permanent dont il m'a fait part. Cette chaleureuse rencontre continuera à me pousser vers l'avant pendant longtemps.

Mes sincères remerciements vont ensuite au Dr Anne Dhalluin pour son humble et nécessaire présence. Merci pour tous ces partages.

Mes remerciements vont aussi au Dr Claire Daurel qui a accepté d'évaluer ce travail.

Merci à vous trois, pour l'exemple que vous êtes, soyez assurés de mon profond respect.

Je pense ensuite à toute l'équipe du laboratoire de microbiologie du CHU de Caen avec qui j'ai partagé une année enrichissante. Merci à Zouzou et ses 35°C quotidien, merci à la radio ragot, j'ai nommé : Julie, Clara, Anne, Fiona, Quentin, Mamadou, Pépite …

Merci aussi aux nancéiens que je ne vois plus assez mais avec qui j'ai tant partagé : Marc, Kalu, Peul, Clélia, Reno et Mag, Xav et Gui, Noon et Gérard, …

Merci à Hubert et Gabrielle pour ses jolis moments passés à bord de Brecqhou, à Henri pour les bons conseils, Benoit et Cindy …

Un très gros merci aussi à la bande des plongeurs : Cyrille, Bérengère, Camille, Jérome, Nicole, François, Lud'eau, Anne, Didier … merci pour ces belles virées subaquatiques normandes !

A toute ma famille, mes grands-parents, mes parents et particulièrement « les frangins » ! Merci pour cette complicité qui me manque un peu …

A Cat, pour ce que nous avons et projetons ensemble,

A Ginger, la plus mignonne de toute !

Table des matières

Remerciements 2
Table des figures 6
Table des tableaux 6
Liste des abréviations 7
Introduction 9
1. Les cancers. 11
1.1. Que sont les cancers ? 11
1.2. Epidémiologie. 11
1.3. Les origines de la prolifération incontrôlée. 12
1.4. Le rôle des lymphocytes et du Complexe Majeur d'Histocompatibilité. 16
1.4.1. Le rôle ambivalent des Lth17. 18
1.4.2. Le rôle des Toll-like Receptor. 21
1.5. Dépassement des capacités de contrôle : tumeur clinique. 21
1.6. Stratégie et principe de prise en charge. 22
1.6.1. La Chirurgie. 22
1.6.2. Les chimiothérapies. 23
1.6.3. Les Radiothérapies. 26
1.6.4. Les Hormonothérapies. 27
1.6.5. Les Immunothérapies. 27
1.6.6. La Diététique. 29
1.6.7. Perception par les patients, soins de support et médecines complémentaires. 29
2. Bactériologie. 32
2.1. Eléments de physiologie bactérienne. 32
2.1.1. Définition. 32
2.1.2. Physiologie. 34
2.1.3. Virulence. 34
2.1.4. Le Système Immunitaire face à l'infection bactérienne. 36
2.2. Notion de microbiote. 39
2.2.1. Définition. 39
2.2.2. Rôles physiologiques des microbiotes. 39
2.3. Le microbiote intestinal. 40

2.3.1. Généralités. 40
2.3.2. Quelques rôles physiologiques. 42
2.3.3. Les perturbations du microbiote intestinal : la notion de dysbiose. 43
3. Les bactéries en tant que nouvelle stratégie anti-cancéreuse. 45
3.1. *Clostridium novyi*-NT. 47
3.1.1. Bactériologie. 47
3.1.2. Stratégie thérapeutique. 47
3.2. *Salmonella* Typhimurium. 50
3.2.1. Bactériologie. 50
3.2.2. Stratégie thérapeutique. 50
3.3. Listeria monocytogenes. 52
3.3.1. Bactériologie. 52
3.3.2. Stratégie thérapeutique. 53
3.4. *Mycobacterium bovis* et tumeur vésicale. 56
3.4.1. Bactériologie. 56
3.4.2. Stratégie thérapeutique. 56
3.5. Bifidobacterium. 59
3.5.1. Bactériologie. 59
3.5.2. Stratégie thérapeutique. 59
3.6. Les probiotiques et le microbiote intestinal. 61
4. Conclusion. 66
5. Eléments bibliographiques. 68

Table des figures

Figure 1 : Propriétés d'une cellule cancéreuse. 14
Figure 2: Prolifération cellulaire saine et tumorale. 15
Figure 3: Fonctionnement global du CMH. 18
Figure 4 : Différenciation des CD4 naïfs montrant leur différenciation en Treg, Th 1, Th 2 et Th 17 ainsi que les cytokines produites par les cellules spécialisées et leurs rôles principaux. 20
Figure 5 : Action anti-tumorale (partie A) et pro-tumorale (partie B) des Th17 selon l'environnement. 20
Figure 6 : Mitose et Chimiothérapie. 23
Figure 7 : Cocci Gram positif ; microscopie optique. 32
Figure 8 : Bacilles Gram positif aperçus en microscopie électronique (gauche) et Gram négatif, en microscopie optique (droite). 33
Figure 9 : Représentation schématique des parois des Gram positif et des Gram négatif. 33
Figure 10 : Localisation schématique des facteurs de virulence bactériens. 36
Figure 11 : Représentation schématique de la stimulation immunitaire par une bactérie commensale de l'intestin. 37
Figure 12 : Microbiote, Immunité Innée et Adaptative. 38
Figure 13 : Entérotypes selon l'âge et certains états physiopathologiques. 42
Figure 14 : Proposition de mécanisme d'action de *C. novyi*-NT. 48
Figure 15 : Représentation schématique du mode de vaccination par *Listeria monocytogenes*. 55
Figure 16 : Représentation schématique du mode d'action de la BCG-thérapie. 57
Figure 17 : Profils de résistance aux sels biliaires des différentes souches testées. 64
Figure 18 : Test de virulence *in vivo* de quelques souches. 65

Table des tableaux

Tableau 1 : Principales familles d'agents anticancéreux, mécanismes et toxicité. 25
Tableau 2 : Liste des souches *d'E. hirae* comparées au cours de l'étude menée lors de mon stage de master II. 64

Liste des abréviations

5-FC : 5- FluoroCytosine

5-FU : 5-FluoroUracile

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ADCC : Antibody Dependant Cell Cytotoxicity

AGCC : Acides Gras à Courtes Chaînes

Ac : Anticorps

ATCC : American Type Culture Collection

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

BK : Bacille de Koch

CD : Cytosine Déaminase

CDX : Cluster de Différenciation n°X

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CPA : Cellules Présentatrices d'Antigènes

CTLA-4 : Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

FDA : Food and Drug Administration

G-CSF : Granulocytes Colony Stimulating Factor

HPV : *Human Papillomavirus*

ICAM : Intercellular adhesion molecule

INF : Interféron

Iv : Intra Veineuse

IL : Interleukine

KIR : Killer cell Ig-like Receptor

LB : Lymphocyte B

LFA-1 : Leukocyte function-associated antigen-1

LLO : Listériolysine O

LPS : LipoPolySaccharide

LT_4 : Lymphocyte T CD4

LT_8 : Lymphocyte T CD8

LTh : Lymphocyte T helper

LTreg : Lymphocytes T régulateurs

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

MTC : Médecine Traditionnelle Chinoise

NK : Natural Killer

PAMP : Pathogen Associated Molecular Pattern

PD-1 : Programmed cell Death protein 1

PD-L1 : Programmed Death-Ligand 1

PRR : Pattern Recognition Receptor

QS : Quorum sensing

RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

SFB : Segmented Filamentous Bacteria

SI : Système Immunitaire

SNC : Système Nerveux Central

TAA : Tumor Associated Antigen

TCR : T-cell Receptor

TGFβ : Tumor Growth Factor β

TLR : Toll-Like receptor

TRAIL : Tumor Necrosis Factor Related Apoptosis Inducing Ligand

VHB : Virus de l'Hépatite B

Introduction

On pourrait à première vue penser que la bactériologie et l'oncologie n'ont pas beaucoup de lien. Cependant, les bactéries comme les cellules tumorales interagissent avec le système immunitaire et les récentes découvertes sur le microbiote intestinal réunissent en partie ces deux domaines.

Historiquement, la lutte contre les cancers est un enjeu de santé publique au niveau mondial depuis les années 60. Certaines avancées thérapeutiques ont permis d'en transformer certains en maladies chroniques, donc d'améliorer la survie et parfois de guérir les patients. C'est le cas par exemple de nombreux cancers du sein ou de la prostate, qui évoluent et sont pris en charge parfois pendant plusieurs années. Certains évoluent vers une rémission ou une guérison tandis que d'autres se dégradent et conduisent à la mort de nombreux patients et à de véritables drames familiaux.

En France, en 2014 et selon les documents du 3ème plan cancer 2014-2019 ; 3 millions de personnes vivent avec ou après un cancer, ce qui signifie qu'une famille sur trois est touchée (http://www.gouvernement.fr/action/le-plan-cancer). Les différents plans cancers gouvernementaux qui se succèdent ont toujours pour objectif de guérir plus de malades, de donner plus de moyens aux recherches fondamentales et cliniques, d'améliorer la qualité de vie des patients et de favoriser la prévention. En effet, en France en 2015, 149 000 personnes sont décédées des suites d'un cancer.

Le troisième plan cancer 2014-2019 prévoit 1,5 milliards d'euros d'investissement pour continuer à remplir ces objectifs. En France, chaque année, le coût de la prise en charge des patients est estimée à environ 14 milliards d'euros.

Ces quelques données montrent à quel point les cancers sont des enjeux scientifiques et sociétaux, à la fois sur le plan humain (beaucoup de mortalité évitable, drames familiaux) et économique (coût financier important dans des contextes économiques difficiles).

La nécessité d'avancées thérapeutiques est donc forte.

De son côté, la bactériologie moderne intègre les domaines de la biologie moléculaire et de la génétique. Les nouvelles générations de techniques de séquençage à haut débit ont d'ailleurs permis d'identifier et de caractériser le microbiote intestinal humain, autrefois appelée « flore intestinale ». Présenté comme une communauté essentiellement bactérienne, dense et riche, ce microbiote est important. Il assure notamment de nombreuses fonctions sur les systèmes digestifs et immunitaires que nous développerons dans ce manuscrit. C'est ici principalement la fonction immunitaire qui va nous intéresser.

La physiologie du système immunitaire est complexe et toujours explorée. Le concept de l'anticorps qui se fixe sur un agent pathogène induisant ainsi une reconnaissance spécifique et une réponse immunitaire adaptée, faisant suite à la réponse innée est bien établi. Cette même réaction immunitaire se développe également à l'encontre des cellules tumorales, qui comme les bactéries, peuvent surpasser les capacités de notre système de défense et ainsi créer des situations pathologiques. En terme de traitement, là encore, l'analogie est possible : bactéries et tumeurs peuvent devenir résistantes et l'échec thérapeutique menace. Il faut donc trouver des alternatives. C'est ici que les fonctions immunitaires et autres richesses physiologiques du microbiote et du monde bactérien en général vont nous intéresser.

Nous explorerons donc au cours de ce travail les liens entre bactériologie et oncologie en vue de dégager de nouvelles stratégies anticancéreuses. Nous redéfinirons dans un premier temps ce que nous appelons cancer, ses causes et ses conséquences. Nous nous concentrerons ensuite sur la physiologie des bactéries, leurs interactions avec le système immunitaire, les microbiotes, et particulièrement le microbiote intestinal. Enfin, nous envisagerons les différentes pistes pour utiliser les bactéries dans la lutte contre les tumeurs. Nous avons sélectionné les stratégies les plus avancées, ou les plus prometteuses.

1. Les cancers.

1.1.Que sont les cancers ?

Les cancers sont des maladies caractérisées par la prolifération incontrôlée de cellules liée à un échappement aux mécanismes de régulation qui assurent le développement harmonieux de notre organisme. En se multipliant de façon anarchique, les cellules cancéreuses donnent naissance à des tumeurs de plus en plus grosses, envahissantes, qui détruisent les tissus avoisinants. Les cellules cancéreuses peuvent également essaimer à distance de la tumeur primitive, circuler sous forme libre puis former une nouvelle tumeur. Ce sont les métastases (http://www.ligue-cancer.net).

Ce processus de prolifération peut toucher un tissu solide (par exemple le foie, le côlon) ou liquide (par exemple le sang, on parle alors de leucémie, ou lymphome selon les types cellulaires en cause). Il y a donc théoriquement autant de cancers possibles que de tissus (http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/enjeux/enjeux-medicaux).

1.2.Epidémiologie.

En 2015, on comptait 385 000 cas de cancers en France entraînant 149 000 décès (84 000 hommes et 65 000 femmes) ; soit une mortalité de 38%. 211 000 cas concernaient les hommes, 174 000 cas concernaient les femmes. L'incidence était de 362 cas pour 100 000 hommes et de 272 cas pour 100 000 femmes. Les cancers sont devenus la première cause de mortalité, devant les maladies cardio-vasculaires. Ces chiffres ont doublé en 30 ans en raison de l'augmentation de la population et de son vieillissement, de l'amélioration de la détection des pathologies, de nos comportements et mode de vie. 40% des décès par cancer sont liés au tabac, à l'alcool, l'obésité et à l'exposition solaire, soit 80 000 morts par an en France. Ils sont aussi la deuxième cause de mortalité des enfants de 1 à 14 ans et la première cause de mortalité évitable (Institut national du cancer 2015 et

http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers).

L'âge moyen de diagnostic est de 68 ans pour les hommes et de 67 ans pour les femmes. L'âge moyen de décès des personnes malades de cancer est de 73 ans chez les hommes et 77 ans chez les femmes (http://www.inserm.fr/). Les femmes sont diagnostiquées légèrement plus tôt et survivent un peu plus longtemps que les hommes. Concernant les femmes, les cancers du sein, du côlon-rectum et des poumons sont les trois plus fréquents. Chez les hommes, la prostate, le côlon-rectum et les poumons forment le trio de tête (http://lesdonnees.e-cancer.fr/).

Dans la population générale, les cancers du côlon-rectum et des poumons restent les plus fréquents. Ces deux atteintes sont fortement liées aux comportements : l'alimentation et le tabac en sont les principales causes. Environ 35% des cancers seraient liés à l'alimentation (Beaune, 2001). L'importance capitale d'une bonne hygiène de vie respectueuse de l'organisme apparaît alors capitale (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, 2011).

Environ 3 millions de personnes vivent avec ou après un cancer en France (http://lesdonnees.e-cancer.fr/).

Les avancées thérapeutiques et les diagnostics précoces ont permis de guérir une personne atteinte sur deux et de diminuer le risque de mort due au cancer. Cependant, ces chiffres peuvent varier grandement en fonction du type de cancer et du stade au moment du diagnostic (Institut national du cancer 2015).

1.3.Les origines de la prolifération incontrôlée.

Comment cette attaque de notre propre corps envers lui-même apparaît-elle ? Pour répondre à cette question, nous allons explorer quelques notions de la vie des cellules et des communications intercellulaires liées à l'immunité.

Toutes les cellules somatiques respectent un cycle cellulaire précis. Ce cycle permet le renouvellement et l'homéostasie tissulaire. Grâce à ce cycle, et à la mitose qui le conclut, la cellule réplique son ADN puis se divise en deux cellules filles génétiquement identiques. Ce cycle est régulé et ne survient que s'il est nécessaire à l'organisme. La plupart des cellules saines stoppe ce cycle lorsqu'elles arrivent à confluence, c'est l'inhibition de contact. Une fois en contact, les cellules se spécialisent pour remplir une (ou plusieurs) fonctions tissulaires, puis déclenchent leur apoptose quand elles ont accumulé des dommages. Les cellules de l'immunité (Lymphocytes B et T, Natural Killer, *cf. infra*) expriment pour cela une protéine membranaire ou soluble nommée Fas-Ligand[1] (Fas-L). Ce ligand est reconnu par les cellules somatiques âgées exprimant le récepteur Fas-R membranaire. La reconnaissance de ce ligand par son récepteur permet le déclenchement de la cascade des protéases (caspases) de l'apoptose. D'autres cellules, non spécialisées et non endommagées, continueront à se diviser afin d'assurer le renouvellement et le maintien de l'intégrité tissulaire.

Les cellules tumorales sont caractérisées par une prolifération continue, anarchique et en dehors de tout contrôle. Leur cycle cellulaire peut être rapide et continu jusqu'à envahir le tissu environnant. La figure 1 montre les principales caractéristiques des cellules tumorales. Parmi elles, l'échappement à l'inhibition de contact et à l'apoptose leur confère une quasi immortalité. Cette « immortalité » permet le maintien de dommages cellulaires accumulés, de dysfonctionnements… De plus, certaines cellules tumorales peuvent exprimer un ligand Fas-L soluble mais pas le récepteur Fas-R. Elles favorisent donc la mort des cellules alentours en augmentant les taux de Fas-L soluble alors qu'elles ne sont pas ciblées par ce mécanisme déclencheur de l'apoptose (Askenasy, *et al*. 2004).

[1] Fas-L correspond au CD95-L.

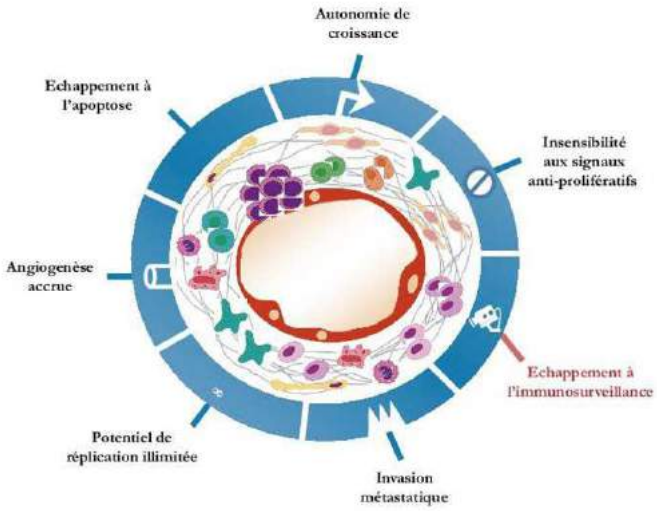

Figure 1 : Propriétés d'une cellule cancéreuse.
(d'après : http://www.jle.com/en/revues/met/e-docs/biologie_du_cancer_bronchique_de_la_paillasse_aux_therapeutiques_innovantes_180351/article.phtml?tab=images)

Des lésions répétées sur l'ADN cellulaire peuvent aussi être à l'origine de ce cycle infini. Elles pourront souvent être réparées, mais pourront également être transmises aux cellules filles lors de la mitose. Les différents mécanismes de réparation n'étant pas infaillibles[2], la lésion pourra alors être source de mutations, de modifications sur les protéines et donc de modifications sur les fonctions cellulaires. Les cancers sont donc aussi des maladies génétiques (figure 2).

De nombreuses causes ont été identifiées à l'origine de ces altérations de l'ADN. De nombreux toxiques (poussière d'amiante, benzène), des virus dits proto-oncogènes (VHB, HPV) sont mis en cause (Anand, *et al*. 2008). *Helicobacter pylori* est également impliqué dans des processus oncogènes. C'est une bactérie à Gram négatif qui a la propriété de se développer à pH acide et est responsable d'infection chronique de l'estomac créant ainsi une inflammation (elle aussi chronique) et des lésions de la muqueuse gastrique. Ces lésions s'accumulent et peuvent déclencher des tumeurs de l'estomac ou de l'œsophage (de Martel, *et al.* 2015).

[2] Ces différents systèmes prévoient entre autre la réparation de cassures entre les brins d'ADN, le remplacement d'une base ou d'un nucléotide et des corrections de mésappariement.

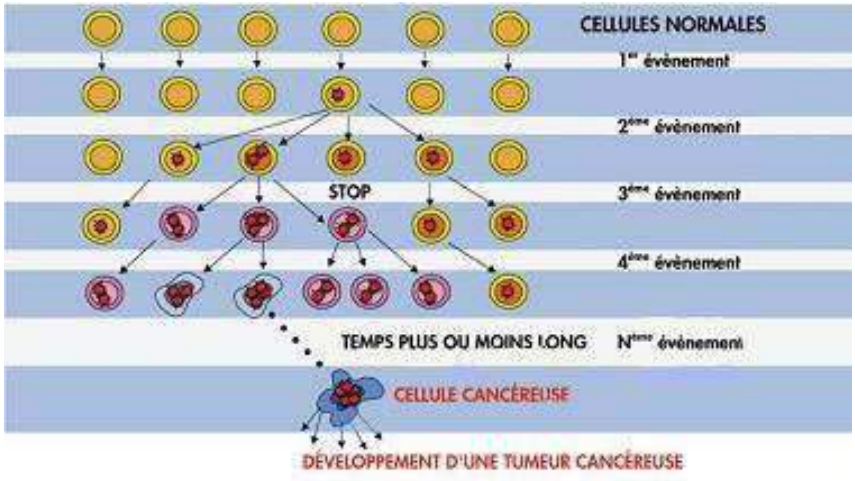

Figure 2: Prolifération cellulaire saine et tumorale.
L'indication « STOP » représente le déclenchement de l'apoptose par la cellule lésée (d'après https://romainrollandtpe.wordpress.com/cellules-cancereuses/)

Le processus qui aboutit à une tumeur clinique est souvent long et complexe. Il est le résultat d'interactions entre le génome et son environnement, à la modification de l'expression des gènes en réponse aux modifications de l'environnement. Des prédispositions génétiques existent chez certains individus mais ne sont pas forcément suffisantes pour déclencher une tumeur et un facteur externe est souvent nécessaire. Notre comportement (alimentaire, consommations diverses, alcool, tabac, pesticides, pollution, sédentarité …) est également un facteur de développement de nombreux cancers évitables (Gibson et Roberfroid, 1995; Hutter, *et al*. 2013).

Au sein de toutes ces interactions et de ce grand ensemble dynamique et complexe que représente l'être humain, il y a le Système Immunitaire (SI). C'est un système coordonné qui permet, entre autres, de reconnaître les éléments du « soi » et de les distinguer de ceux du « non soi » contre lesquels il déclenchera une action de défense. Ce rôle primordial est assuré par des lymphocytes T (LT). Ils maintiennent l'intégrité de l'organisme et nous défendent contre les différentes agressions de l'extérieur. Ils doivent aussi être capables de reconnaître le « soi modifié » qui peut être une cellule altérée ou âgée et qui doit être détruite puis remplacée. Pour remplir ces différents rôles, les cellules de l'immunité communiquent entre elles et avec leur environnement (Di Mauro, *et al*. 2013 ; Bailey, *et al*. 2014). Pour cela un certain nombre de cellules spécifiques est impliqué.

1.4.Le rôle des lymphocytes et du Complexe Majeur d'Histocompatibilité.

Plusieurs types de LT existent et se différencient par les Cluster de Différenciation (CD) à leur surface qui sont des antigènes membranaires. A chaque CD particulier correspond un rôle spécifique dans la communication cellulaire. Les lymphocytes T (T pour Thymus) sont caractérisés par le CD 3. Nous verrons qu'ils sont au centre de nombreuses interactions dans le contexte de l'immunité anti-cancéreuse. Dans le cas de la reconnaissance du soi et du contrôle des tumeurs, ce sont principalement les LT CD 8 qui entrent en jeu. Ils reconnaissent et lysent les cellules porteuses de molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type I (CMH I) couplées à des antigènes endogènes (cf. Paragraphe suivant). D'autres récepteurs membranaires tels qu'ICAM (InterCellular Adhesion Molecule), LFA-1 (Leukocyte Function-associated Antigen-1), Fas, TRAIL (Tumor-Necrosis-factor Related Apoptosis Inducing Ligand*)* interviennent aussi dans cette reconnaissance.

La cellule NK (Natural Killer) est un grand lymphocyte granuleux non-B non-T caractérisée par le CD 56 et l'absence du CD 3. Les NK représentent quantitativement 10 à 20 % des lymphocytes circulants. Elles sont spontanément tueuses pour toutes les cellules de l'organisme, mais heureusement inhibée par la présence de molécule de CMH I exprimée à la surface de quasiment toutes les cellules nucléées et reconnue par le récepteur KIR (Killer cell Ig-like Receptor ; CD 158). D'autres systèmes inhibiteurs coexistent (par exemple : les récepteurs CD 94, NKG2A, KLRG1, ILT2 …) et pour que la cellule devienne cytotoxique, les signaux d'activation doivent quantitativement surpasser les signaux d'inhibition (Singh, *et al*. 2013). Pour déclencher la dégranulation cytotoxique du NK, des signaux du type Fas-FasL, TRAIL-TRAILR précèdent la libération de TNFα et de granzyme B, molécules clés de l'apoptose et point de départ de la destruction de la cellule cible. Les NK produisent aussi des cytokines telles que TNF-α, TGF-β, GM-CSF. Elles participent aussi aux relations des phénomènes Antibody Dependant Cell Cytotoxicity (ADCC).

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de type I est composé d'une protéine composée de deux sous-unités. La première est une chaîne α transmembranaire et la seconde une chaîne β_2 microglobuline. Cette macromolécule est reconnue par les Lymphocytes T CD8 (LT_8) lorsqu'elle présente un antigène peptidique endogène (par exemple une protéine dégradée d'une cellule âgée ou infectée par un virus). Cette reconnaissance active le LT_8 qui exprimera ensuite son activité cytotoxique. Lorsque la reconnaissance n'a pas lieu cela signifie que la cellule n'exprime pas ou plus, ou pas suffisamment la molécule de CMH I et la cellule échappe alors à l'activité du LT_8 (figure 3).

Cependant, la non reconnaissance par le LT_8 désactive l'inhibition lytique des cellules NK. En effet, si la molécule de CMH I n'est plus ou pas assez présente, KIR ne peut plus jouer son rôle inhibiteur. Les cellules NK vont libérer leurs granulations lytiques et détruire la cellule cible non reconnue par le LT_8.

Les deux mécanismes sont complémentaires. En revanche, les cellules tumorales qui expriment suffisamment peu le CMH I (couplé à un Ag) pour ne pas être reconnues comme cancéreuse par le LT_8 mais suffisamment pour inhiber les NK ne seront pas détruites. Après un certain temps ne restent donc que les cellules qui échappent aux LT_8 et aux NK qui vont pouvoir continuer à proliférer. Ce phénomène de sélection, appelé « immuno-editing », va permettre à la tumeur de déjouer les fonctions protectrices du SI et ainsi devenir envahissante puis clinique (Abbal et Roche, 2013).

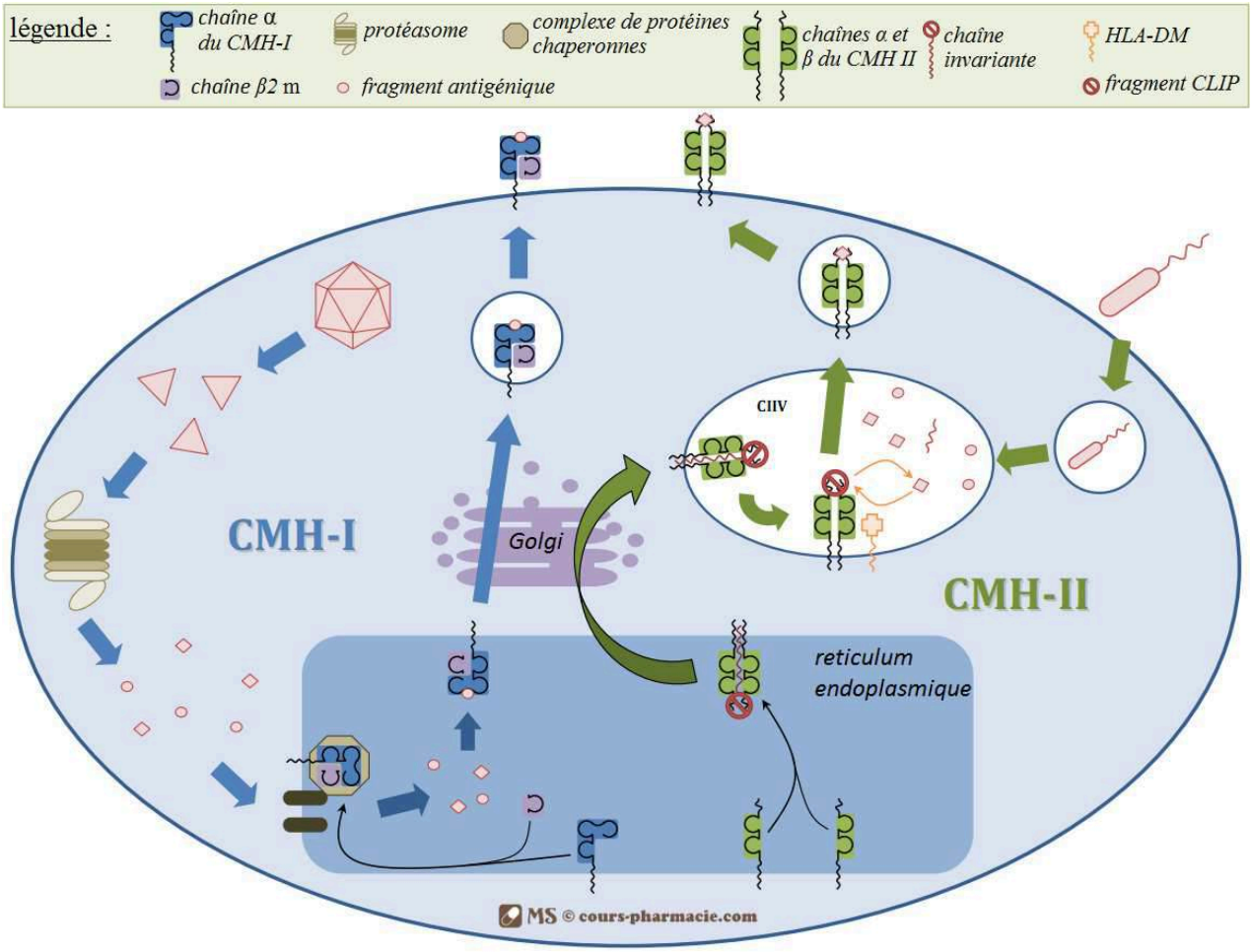

Figure 3: Fonctionnement global du CMH.
La partie gauche du schéma montre la prise en charge des Ag endogènes en cause dans certains processus de cancérisation ou d'infection virale. La partie droite expose la prise en charge d'Ag exogène, en cause lors d'infection bactérienne par exemple. L'expression membranaire des CMH couplés aux Ag permettra la bonne réponse immunitaire (d'après : http://www.cours-pharmacie.com/immunologie/de-limmunite-innee-a-limmunite-adaptative-et-complexe-majeur-d%E2%80%99histocompatibilite.html)

1.4.1. Le rôle ambivalent des Lth17.

Au cours de la réaction immunitaire déclenchée par des antigènes exogènes, ce sont les LT CD 4 qui entrent en jeu. D'abord naïfs (ou Th0), ils se différencient en Th1 et Th2 sous l'action de différentes cytokines (IL 12 ; IL 4). Les Th1 orientent la réponse immunitaire vers une médiation cellulaire via la sécrétion d'Interféron γ (IFN γ) tandis que les Th2 orientent vers une réponse immunitaire à médiation humorale via la sécrétion d'Interleukine 4 (IL4) (Al-Asmakh et Hedin, 2015). Les Treg dérivent eux aussi des CD 4 naïfs, soumis cette fois à l'action de l'IL 2 et du TGF β. Ils ont principalement un rôle de régulation négative de l'immunité, notamment par la diminution de la prolifération des LT. Ils ont donc un rôle dans le maintien de la tolérance immunitaire.

Les LTh17 dérivent des LTh CD4 naïfs soumis à l'influence du Tumor Growth Factor β (TGFβ) et de l'IL6 entre autres. Il s'agit de LTh sécrétant l'IL17, une cytokine jouant un rôle dans le développement de l'inflammation et de l'auto-immunité (Figure 4). Ils sont très souvent retrouvés au sein de tissus tumoraux et leur sécrétion d'IL17 favorise le développement tumoral. Plus précisément, la sécrétion d'IL17A induit l'angiogenèse (Bailey, *et al*. 2014).

Paradoxalement, les Th17 promeuvent aussi la suppression des tumeurs via cette même activité pro-inflammatoire et la sécrétion d'IFNγ qui contribuent au recrutement des Polynucléaires Neutrophiles (PNN) et au développement d'une réponse immunitaire anti-tumorale en favorisant la sélection des CD8 via le CMH I et l'IL2 (Viaud, *et al*. 2015).

L'action pro- ou anti-tumorale de ces LTh17 serait sous la dépendance de différents signaux de l'environnement émis à la fois par les cellules saines et l'environnement tumoral qui varient selon les types de tissus atteints, les types de cancers (figure 5). Les effets physiopathologiques s'exprimeraient donc selon le contexte en favorisant l'une ou l'autre voie métabolique. Par exemple, un environnement comprenant plutôt le TGF-β et l'IL-2 favoriserait le recrutement des Treg et donc un effet pro-tumoral ; alors qu'un environnement riche en IL-6 et en IL-12 favoriserait le recrutement des CD8 et la réponse immune anti-tumorale associée (Bailey, *et al*. 2014). A α β

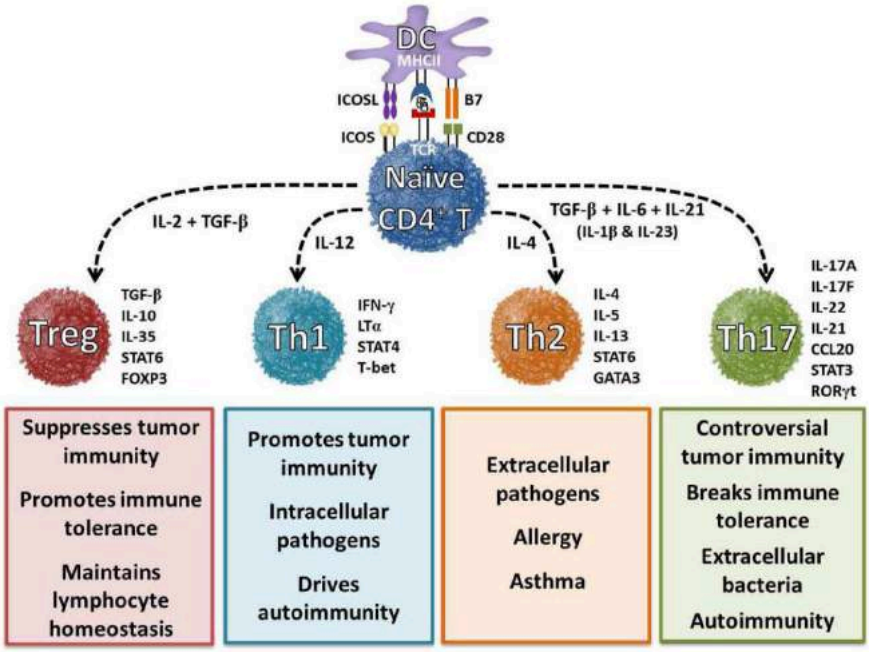

Figure 4 : Différenciation des CD4 naïfs montrant leur différenciation en Treg, Th 1, Th 2 et Th 17 ainsi que les cytokines produites par les cellules spécialisées et leurs rôles principaux.
(Bailey, 2014)

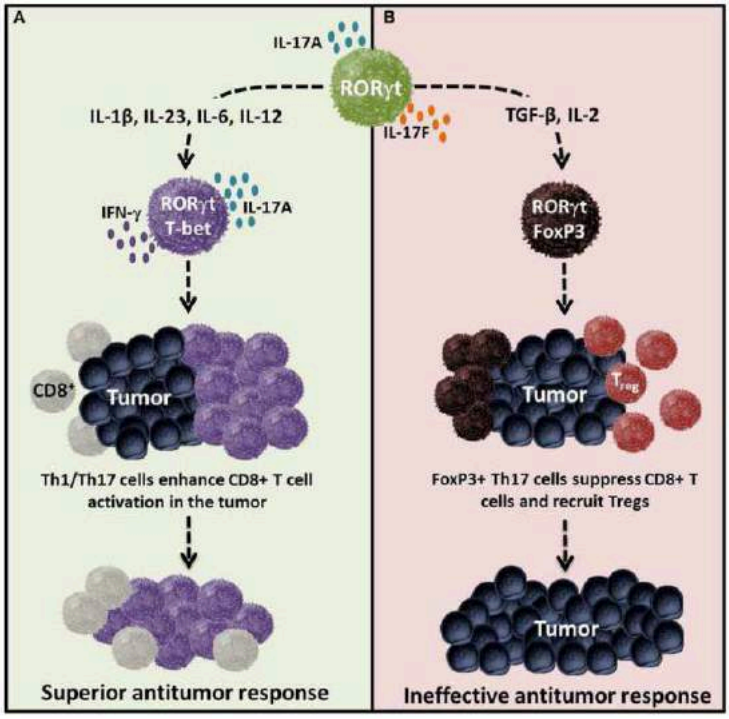

Figure 5 : Action anti-tumorale (partie A) et pro-tumorale (partie B) des Th17 selon l'environnement.
(Bailey, 2014)

RORγt : Related Orphan Receptor γ. C'est un récepteur nucléaire existant sous plusieurs isoformes, la forme « t » est spécifique du thymus et des LT CD_4 et CD_8 immatures. C'est aussi un facteur de transcription.
FoxP3 : C'est un marqueur membranaire des LTreg qui a un rôle de facteur de transcription. Globalement, les LTreg ont tendance à diminuer la réponse immunitaire (régulation négative).

T-bet : C'est un récepteur exprimé par les CD4. Il participe à la médiation de l'immunité en régulant la transformation des Th 1.

La voie A favorise le recrutement des CD8 et donc l'action anti tumorale. En revanche, la voie B recrute plutôt des Treg et donc diminue la réponse immune.

1.4.2. Le rôle des Toll-like Receptor.

Les Toll Like Receptor (TLR) appartiennent aux Pattern Recognition Receptor (PRR). Ce sont des motifs membranaires conservés au cours de l'Evolution : des individus de Règnes différents (donc très éloignés phylogénétiquement) peuvent posséder des TLR de structure moléculaire très proche. Dix types sont connus chez l'Homme. Ils permettent à nos cellules de reconnaitre des motifs moléculaires associés aux différents pathogènes (les champignons, les bactéries, les virus et les protozoaires) que sont les PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern). L'activation de ces TLR est une voie d'activation du SI qui peuvent aussi être mises en jeu dans le contrôle des tumeurs. Ils sont exprimés par les Treg (mais aussi par les cellules présentatrices d'Ag (CPA), par les cellules épithéliales en contact avec le milieu extérieur : épithélium pulmonaire et digestif) : cela permet d'orienter la réponse en inhibant le Treg et en favorisant la réponse T cytotoxique. Un agoniste TLR exprimé par une tumeur va donc être en mesure de favoriser l'inflammation et la réponse immune. Cela favorise donc la destruction des cellules tumorales visibles par l'organisme, mais laisse le champ libre aux cellules « invisibles » (expression CMH I suffisante pour empêcher l'action du LT 8 mais insuffisante pour lever l'inhibition des NK). Ce phénomène serait en cause lors de l'invasion de l'organisme et de l'apparition des métastases (Nelson, *et al*. 2015 ; Viaud, *et al*. 2015 ; Dzutsev, *et al*. 2015 ; Hsiao, *et al*. 2015).

1.5.Dépassement des capacités de contrôle : tumeur clinique.

L'immuno-editing décrit précédemment (sélection des cellules échappant au système immunitaire) permet à des cellules tumorales de proliférer. Elles auront plusieurs capacités, notamment celle d'essaimer. Les métastases seront souvent des tumeurs secondaires déjà invisibles car le plus souvent déjà dans un rapport de production du CMH I favorable et pouvant évoluer indépendamment. Ces cellules vont de plus produire des cytokines pour favoriser leur croissance : cytokines pro-angiogéniques (IL-17A produite par les th17), immuno-ihnibitrices (TGF-β ; IL-10 ; …), favorisant l'apoptose des cellules saines (Fas). La tumeur devenue immunorésistante génère un

environnement favorable à sa croissance et défavorable pour les cellules saines. Son évolution n'est ainsi plus limitée par les mécanismes de défense (Abbal et Roche, 2013).

1.6.Stratégie et principe de prise en charge.

En raison de la potentielle gravité médicale et sociale d'un diagnostic de cancer, un dispositif d'annonce est normalement mis en place. Ce dispositif comprend plusieurs entrevues médicales et para médicales pour informer au mieux les patients sur leurs possibilités de prise en charge. Chaque cas est ensuite présenté en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP), durant laquelle différents professionnels de santé spécialistes essaient de mettre en place la meilleure stratégie possible de prise en charge. Les paragraphes suivants résument les principaux outils thérapeutiques classiques qui sont le plus souvent couplées entre eux.

1.6.1. La Chirurgie.

La résection chirurgicale est un traitement très ancien et est longtemps resté le seul traitement des tumeurs solides. Elle sera proposée si la localisation et la taille de la tumeur le permettent. Cet acte prévoit une marge de résection autour des tissus tumoraux. C'est un acte invasif mais qui présente peu d'effets indésirables. Un traitement chimio-adjuvant sera proposé pour éliminer les cellules tumorales résiduelles et les éventuelles métastases disséminées et trop petites pour être traitées chirurgicalement. Une chirurgie de reconstruction pourra éventuellement être proposée. C'est le cas par exemple dans le cas de cancers du sein. La chirurgie peut aussi être à but diagnostique lors du prélèvement de biopsies par exemple (http://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_1862015/quelques-mots-sur-la-chirurgie-oncologique-valide; http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/la-chirurgie).

1.6.2. Les chimiothérapies.

La chimiothérapie anticancéreuse désigne l'ensemble des molécules utilisée dans la lutte contre les cancers. Des administrations sont possibles par voie orale ou parentérale. De nombreuses molécules sont disponibles. Elles ont pour but de stopper la prolifération cellulaire et ciblent en général les étapes du cycle cellulaire ou les voies de communication cellulaire notamment avec les immunothérapies (*cf.* paragraphe suivant) (http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/chimiothérapie). Au fil du temps, l'objectif a été de proposer des molécules plus efficaces et moins toxiques. Pour remplir ces deux objectifs, la nécessité de produire des molécules sélectives pour les tissus tumoraux s'est avérée importante. C'est pourquoi la plupart des innovations s'appuient sur des principes d'immunothérapies spécifiques (Bianchi et El Anbassi, 2012). Ce n'est pas le cas des agents plus anciens et plus classiques qui sont efficaces sur toutes les cellules se divisant et donc aussi toxiques. La figure 6 montre les étapes de la mitose sur lesquelles certaines chimiothérapies classiques sont actives. On parle alors de molécules cycle dépendantes et phase dépendantes. Le tableau 1 classe les principales familles d'agents anticancéreux, explique leurs mécanismes d'actions principales et leurs toxicités (https://www.gustaveroussy.fr/fr/content/la-chimioth%C3%A9rapie-1).

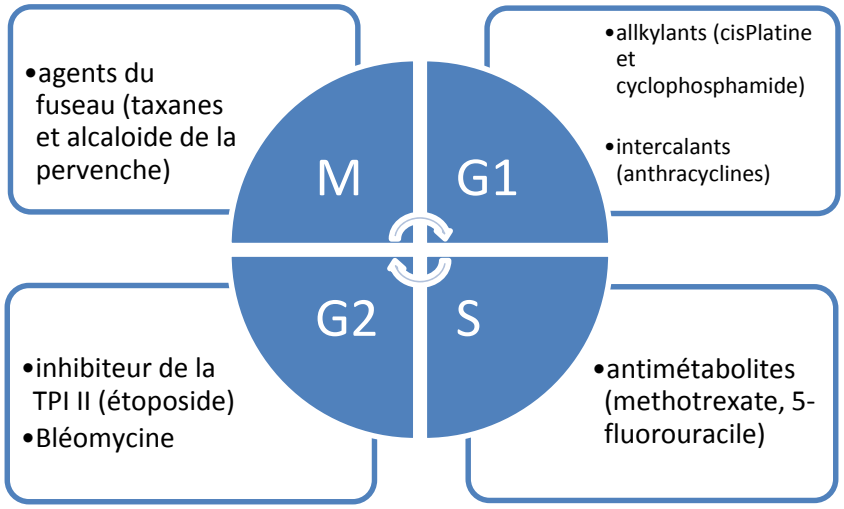

Figure 6 : Mitose et Chimiothérapie.
La phase G1 est une phase d'activation du cycle et de croissance cellulaire. La phase S est la phase de réplication de l'ADN. Enfin, la phase G2 est une seconde phase de croissance. Lors de la phase M (M pour mitose), la cellule se divise en deux cellules filles identiques. Cette division clos le cycle

La grande famille des agents alkylants est utilisée dans de nombreuses indications telles que cancers digestifs et hématologiques. Ce sont pour la plupart des anciennes molécules qui sont assez toxiques. Elles agissent directement sur l'ADN, d'où un certain manque de sélectivité. Les indications hématologiques concernent les leucémies, lymphomes et myélome ; les indications digestives concernent les cancers colorectaux et de l'estomac principalement (www.theriaque.org).

Les anti métabolites vont agir sur les voies métaboliques en les privant des substrats nécessaires à leur réalisation ou en inhibant des enzymes de ces voies. Les voies métaboliques ciblées concernent la synthèse des bases aminées de l'ADN (cas des antifoliques comme le métothrexate), ou la synthèse de l'ADN (cas des antipurines, comme la 6-mercaptopurine, et des antipyrimidines, comme le 5-fluorouracile ou la gemcitabine). L'inhibition de la voie métabolique prive la cellule de nutriments ou d'éléments nécessaires à la synthèse des acides nucléiques ou des protéines. Les indications sont variées dans les domaines hématologiques et digestifs (www.theriaque.org).

Certaines molécules sont issues de plantes, c'est l'exemple des dérivés de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*), des dérivés de l'If (*Taxus baccata*). Ces deux groupes de molécules n'agissent pas, comme la plupart des autres grandes familles d'agents anticancéreux, sur le métabolisme de l'ADN. Leur mécanisme d'action implique l'actine et la mise en place du fuseau lors de la mitose. Les indications thérapeutiques concernent les tumeurs du seins, certaines leucémies et lymphomes (Dorosz, 2012; Bianchi et El Anbassi, 2012).

Tableau 1 : Principales familles d'agents anticancéreux, mécanismes et toxicité.

Famille	mécanisme d'action général	Classe	molécule	mécanisme d'action spécifique	toxicité générale	toxicité spécifique
agents alkylants	inhibition de la réplication de l'ADN par formation d'un radical éléctrophile et formation d'espèces réactives de l'oxygène entrainant des cassures doubles brins	moutardes à l'Azote	cyclophosphamide		nephrotoxicité, trouhbles dihgestifs, troubles cutanés, alopécie, myelosuppression, mutagène et cancérogènes	formation d'acroléine, toxicité vésicale, hématologique (myelosuppression)
			ifosfamide			
			melphalan			
		nitroso-urée	carmustine	dérive de la méthyl nitroso-urée, dégradée en deux radicaux alkylants		
		dérivés du Platine	cisplatine	formation d'un adduit sur l'ADN au niveau d'une guanine, sans groupement alkyle		toxicité rénale cumulative
			carboplatine			
			oxaliplatine			
agents intercalents	liaison d'une macromolécule à l'ADN bicaténaire : inhibition de la réplication et de la transcription de l'ADN	anthracyclines	doxorubicine		alopécie, toxicité cutanée, mucites	cardiotoxicité cumulative et aïgue
			epirubicine			
inhibiteurs de topoisomérases	stabilisation des coupures transitoires créees par les topoisomérases, inhibition de la réplication	inhibiteurs de la topoisomérase I	irinotécan	dérivés de la camptothécine		diarrhée
			topotécan			toxicité hématologique
		inhibiteurs de la topoisomérase II	étoposide	dérivé de la podophylotoxine		leucopénie, thrombopénie, toxicité cardiaque, hépatotxicité
antimétabolites	inhibition d'un processus biologique par analogie structurale avec un substrat de ce processus	antipurines	6-mercaptopurine	inhibition compétitive avec les bases puriques pour la synthèse de l'ADN	hématotoxicité	toxicité hématologique
			fludarabine			
		antipyrimidines	cytarabine	inhibition compétitive avec les bases pyrimidiques pour la synthèse de l'ADN	diarrhhées, toxicité cardiaque, cutanée, mucites	
			gemcitabine			
			5-fluorouracile	incorporation à l'ARN à la place de l'uracile; inhibition de la synthèse protéique		neutropénie, thrombopénie
		antifoliques	méthotrexate	inhibition de la dihydrofolate reductase et de la thymidylate synthase		toxicité rénale, hépatique, neurologique
			pemetrexed			
			hydroxyurée	inhibiteur de la ribonucléotide reductase		hématotoxicité et atteintes cutanées
agents du fuseau		dérivés de la pervenche	vinblastine	inhibition de la polymérisation du fuseau	hématotoxicité, atteintes cutanées,	
			vincristine			
			vinorelbine			
taxanes		dérivés de l'if (taxanes)	docétaxel	stahbilisation du fuseau et inhibition de la dépolymérisation	neuropathies périphériques, alopécie, allergies	
			paclitaxel			
divers		cassure des brins d'ADN	bléomycine			toxicité pulmnaire immédiate et cumulative
		inhibiteur de la tyrosine kinase	imatinib			myalgies, crampes, rash, rétention hydrique
			dasatinib			toxicité hématologique, surveillance cradiaque
		inhibiteur du protéasome	bortézomib			asthénie, troubles hématologiques, neuropathies périphériques
		inhibiteur de la mTOR	everolimus			immunodépression, troubles hématologiques
			temsirolimus			
anticorps monoclonaux		anti CD 20 (LB)	rituximab			syndrome pseudogrippal, troubles hématolohgiques
		anti CD 52	alemtuzumab			syndrome pseudogrippal, troubles hématolohgiques, immunodépression
		anti HER2	trastuzumab			syndrome pseudogrippal, cardiotoxicité, anxiété
		inhibiteur de l'EGFR	cétuximab	IgG		troubles cutanés
			erlotinib			

1.6.3. Les Radiothérapies.

La radiothérapie utilise l'énergie apportée par des rayonnements. Ces rayonnements peuvent être dus à des rayons X, des électrons, des rayons γ du cobalt. L'irradiation apporte un excédent d'énergie qui déstabilise les molécules et entraîne des lésions sur l'ADN, ce qui conduit à la destruction des cellules tumorales et saines. C'est un traitement efficace mais toxique. En effet, le manque de sélectivité entraîne la destruction de cellules saines, notamment les cellules à division rapide de l'intestin et du SI. Des effets indésirables gastro-intestinaux et immunitaires sont donc fréquents. Cependant, les cellules cancéreuses ont déjà accumulé de nombreuses lésions génétiques et se répareront beaucoup moins que les cellules saines. La radiothérapie est donc plus destructrice pour les cellules cancéreuses que les cellules saines. Différents types de radiothérapies sont pratiquées.

La radiothérapie classique (ou externe) utilise des accélérateurs linéaires pour délivrer la dose de rayonnement au patient. Elle utilise le plus souvent les rayons X.

La curiethérapie (en référence à Marie Curie) est pratiquée sur des tumeurs relativement petites. On insère au patient, sous anesthésie générale, de fines plaques ou particules qui restent au contact de la tumeur et vont délivrer la radioactivité progressivement et localement (https://www.gustaveroussy.fr/node/2219).

La hadronthérapie regroupe quant à elle différentes méthodes. On l'utilise pour des tumeurs radiorésistantes ou inopérables. Ces méthodes sont relativement récentes. Elles utilisent les hadrons (des particules nucléaires de la matière), ou des protons, ou encore des ions carbones qui peuvent-être générés par un accélérateur de particules. Ces nouvelles techniques ont permis de gagner en efficacité et en tolérance (http://www.institutroialbertdeux.be/fr/specialities/index/speciality/29/title/Radioth%C3%A9rapie+oncologique; http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/radioth-rapie). Les propriétés

originales de ces particules permettent de mieux focaliser le faisceau irradiant sur les tissus cibles, ce qui améliore leur impact tout en diminuant les dommages causés aux cellules saines avoisinantes (http://www.france-hadron.fr/fr/). En effet, alors que les rayons X traversent le patient, les protons et les ions carbones s'arrêtent après la tumeur (http://archade.fr/).

1.6.4. Les Hormonothérapies.

Si la tumeur est hormono-sensible, un traitement hormonal sera conduit. Une tumeur hormono-sensible est une tumeur exprimant des récepteurs à certaines hormones qui leurs sont nécessaires pour se développer. C'est souvent le cas des cancers du sein et de la prostate. Les tumeurs du sein peuvent être sensibles aux hormones sexuelles féminines, les estrogènes, alors que les tumeurs de la prostate seront sensibles aux hormones sexuelles masculines, les androgènes. Les molécules utilisées empêchent la cellule tumorale de recevoir l'hormone, ce qui la prive de signaux de survie ou de nutriments conduisant à son épuisement et sa lyse. Plusieurs cibles thérapeutiques sont possibles, soit au niveau de l'hormone (inhibition de sa production) soit au niveau de son récepteur (antagonisme) (http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/hormonoth-rapie ; https://www.gustaveroussy.fr/fr/content/hormonoth%C3%A9rapie-0 ; www.theriaque.org). L'hormonothérapie est le plus souvent conduite suite à une résection chirurgicale ou une radiothérapie (Vuillet-A-Ciles, *et al.* 2014).

1.6.5. Les Immunothérapies.

Les immunothérapies regroupent des familles de molécules qui vont interagir avec le SI afin de stopper le développement tumoral. Les avancées récentes et prometteuses concernent des molécules capables de lever les inhibitions des fonctions immunologiques dirigées contre les tumeurs. Elles ne ciblent donc pas directement les tumeurs comme les autres chimiothérapies.

L'ipilimumab est un anticorps anti-CTLA-4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4). Cet antigène membranaire, produit par les LT activés, s'accumule jusqu'à une concentration seuil. Une fois le seuil dépassé, la réponse immune des LT est inhibée par blocage des voies de costimulation. Ce nouvel Ac a donné de bons résultats chez des patients atteints de mélanomes et a été approuvé par la FDA en 2011 (Sharma et Allison, 2015). L'ipilumab est indiqué uniquement dans le traitement des mélanomes en France sous la spécialité YERVOY® (http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR__Product_Information/human/002213/WC500109299.pdf).

Le pembrolizumab et le nivolumab sont deux anticorps dirigés contre le récepteur PD-1 (Programmed Cell Death protein 1) et un de ses deux ligand, PD-L1. Ce couple (PD-1/PD-L1) interfère avec les signaux transduits par le Recepteur des Cellules T (TCR) impliqués dans les mécanismes immuns et les inhibe, pouvant de cette façon créer un environnement tumoral immunosuppressif (Bupathi et Wu, 2016). Le ligand semble être retrouvé sur de nombreux types cellulaires sains et serait un mécanisme de protection des cellules contre les actions lytiques de cellules T. La stratégie consistant à bloquer cette voie cellulaire avec ces anticorps a montré une efficacité dans divers types de cancer, comme des mélanomes, des cancers rénaux, des cancers pulmonaires non à petites cellules et des cancers vésicaux. Ainsi, le nivolimumab a été approuvé par la FDA en 2014. Des essais cliniques ont montré l'efficacité de l'utilisation associée de ces deux nouvelles pistes thérapeutiques (Sharma et Allison, 2015; Ellmark, *et al*. 2016). Le nivolumab, sous la dénomination commerciale OPDIVO® a reçu de l'ANSM un avis favorable pour une extension d'AMM en Avril 2016. Il est indiqué en traitement des mélanomes, cancers bronchiques non à petite cellules et carcinomes à cellules rénales. Son amélioration du service médical rendu est considéré comme modéré (niveau III) (http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/extrait.php?specid=66367812 et http://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2016/20160511134836/anx_134836_fr.p

df). Le pembrolizumab (KEYTRUDA®) est quant à lui indiqué dans le traitement des mélanomes avancés uniquement (http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2015/20150717132284/anx_132284_fr.pdf). Les autres indications ont été retirées pour ces 3 médicaments (http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/). Un rôle des bactéries commensales du microbiote humain (Bacteroidetes) a été montré dans l'efficacité de ces nouvelles molécules. En effet, des bactéries du genre *Bifidobacterium* étaient nécessaires à l'efficacité des agents anti-PDL1(Sivan, *et al*. 2015). De la même façon, la présence de la flore intestinale était nécessaire à l'efficacité des anticorps anti-CTLA-4 (Vétizou, *et al*. 2015; Conejo-Garcia et Rutkowski, 2015). Ces molécules sont prometteuses, mais un coût élevé et une tolérance immunitaire moyenne (Crohn, colite) sont la contrepartie négative de ces avancées.

1.6.6. La Diététique.

Pendant leur « état cancéreux », du fait des conséquences physiologiques et psychologiques à cause des traitements souvent lourds, les patients sont affaiblis. Il leur faudra donc prendre soin de leur appétit et de leur corps. C'est pourquoi une diététique équilibrée et au maximum exempte de substances toxiques sera conseillée.

1.6.7. Perception par les patients, soins de support et médecines complémentaires.

L'annonce d'un diagnostic de cancer est souvent vécue comme un drame personnel et familial. Lorsque l'on pose la question « à quoi vous fait penser le mot cancer ? » les réponses revenant le plus sont, dans l'ordre : chimiothérapies, mort, douleur, métastases, radiothérapies, traitement, peur, grave, incurable, maladie chronique (Enquête EPAC, 2009). Selon la même enquête, le mot « cancer » n'est lui jamais prononcé par la plupart des patients.

Dans l'antiquité, les tumeurs sont perçues comme « des bêtes qui rongent ». Au XIXème siècle, elles sont vues comme une sanction pour une mauvaise hygiène de vie et pour des abus divers. La notion de punition, d'attaque extérieure violente est présente, tout comme celle des comportements. En médecine traditionnelle chinoise (MTC), le cancer est « une énergie révoltée », conséquence d'un mal-être psycho-émotionnel profond et chronique qui désorganise les circulations au sein du corps et de l'esprit (Ye, *et al*. 2015; Efferth, *et al*. 2007).

Aujourd'hui, le choc qu'est l'annonce d'un cancer est synonyme de perte de contrôle, d'anxiété, de dépendance, de peurs. Un sentiment d'injustice et de fatalité s'abat sur les patients pour qui les rythmes de vies sont profondément modifiés. En conséquence, 25% des patients atteints de cancer souffrent de dépression, d'autres ont des troubles sexuels. Tous sont anxieux. Un grand besoin d'écoute est présent mais pas toujours exprimé, d'où parfois des maladresses de la part des patients et des accompagnants qui entretiennent malgré eux ce mal-être. Les aidants sont eux aussi anxieux : ils se sentent démunis, ne savent pas comment aider et se sentent inutiles, incapables de remplir les attentes de l'être cher.

Faisant suite à cette première phase négative, beaucoup de patients reprennent ensuite confiance, redeviennent actifs dans la prise en charge de leur pathologie pour laquelle ils deviennent de vrais « experts ».

La dernière phase peut être est celle de la guérison. Pour beaucoup de patients, « la maladie réveille l'existence ». Les patients guéris vont avoir tendance à privilégier « l'essentiel ». N'oublions pas qu'une guérison biologique, ou clinique n'est pas forcément un retour à la santé tant les conséquences de ce long parcours peuvent être indélébiles. Le corps a changé, l'esprit aussi.

Pour accompagner les patients au cours de cette odyssée médicale, les médecines complémentaires jouent parfois un vrai rôle thérapeutique, même si elles n'ont pas forcément d'action anti-tumorale. Le Yoga, la relaxation, l'acupuncture, le sport, les voyages, le jardinage, une

pratique artistique… sont autant de moyens de penser à soi, de se réapproprier son corps et son esprit. Par exemple, la MTC via la phytothérapie, l'acupuncture et la diététique favorisera grandement la prise en charge de tous les symptômes annexes au cancer ou iatrogènes. Il a été montré cliniquement que l'acupuncture et la phytothérapie amélioraient l'efficacité des chimiothérapies et en diminuaient les effets indésirables tout en favorisant la récupération des patients. De plus, la richesse de la pharmacopée chinoise permet d'autres axes de recherches en phytothérapie pour mettre en évidence des effets anti-tumoraux associés à une bonne tolérance des traitements (Ye, *et al*. 2015; Sałaga, *et al*. 2014) et (http://www.chu-besancon.fr/3c/psy_5fev09.pdf; http://www.scienceshumaines.com/le-cancer-un-voyage-au-bout-de-soi_fr_28685.html)

2. Bactériologie.

2.1.Eléments de physiologie bactérienne.

2.1.1. Définition.

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires, procaryotes (absence de noyau), de formes variées. Leur origine est très ancienne et elles seraient parmi les premiers êtres vivants apparus au cours de l'évolution. Cependant elles conservent toujours l'universalité du code génétique. Bacilles, coques, vibrions, spirilles peuvent croitre, en chaînes, en amas et se développer dans de nombreux milieux (figure 7 et 8). Ils ont colonisé tous les environnements, même les plus hostiles. Ils peuvent être isolés (forme planctonique) ou s'organiser en colonies et biofilms. La structure de leur paroi entraine une réaction différente à la coloration de Gram. Ainsi certaines seront Gram positif ou négatif selon si cette structure contient de l'acide techoïque (Gram positif) ou une membrane externe (Gram négatif) (figure 9). Leur multiplication se fait par division binaire, équivalent de la mitose. Cette caractéristique engendre une croissance rapide des populations (donc un temps de génération court), et donc une évolution et une adaptation rapide et efficace aux différents stress rencontrés. Ce phénomène est renforcé par l'absence de noyau : toutes les étapes de réplication, transcription, et traduction se font simultanément.

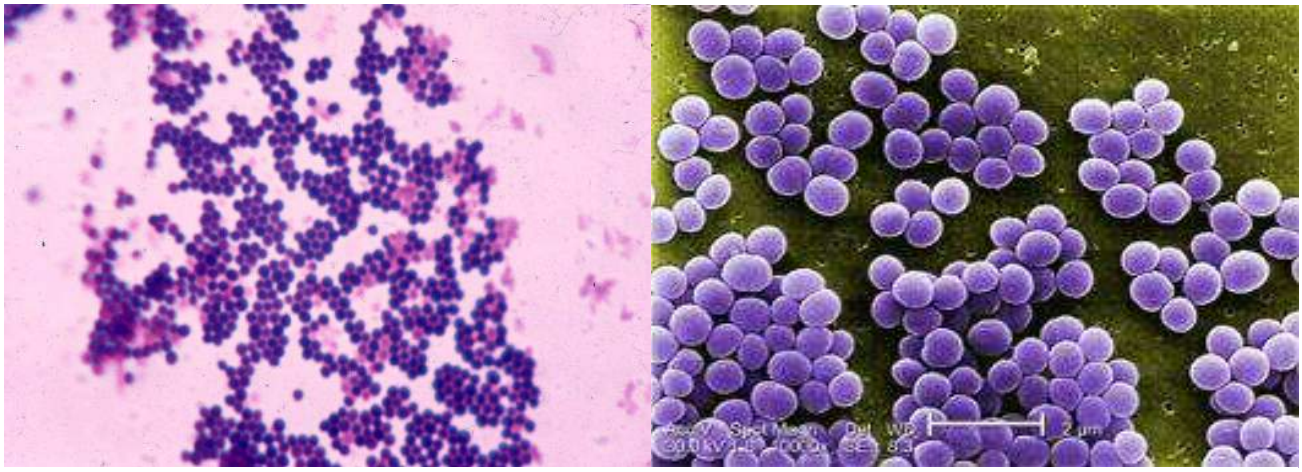

Figure 7 : Cocci Gram positif ; microscopie optique.

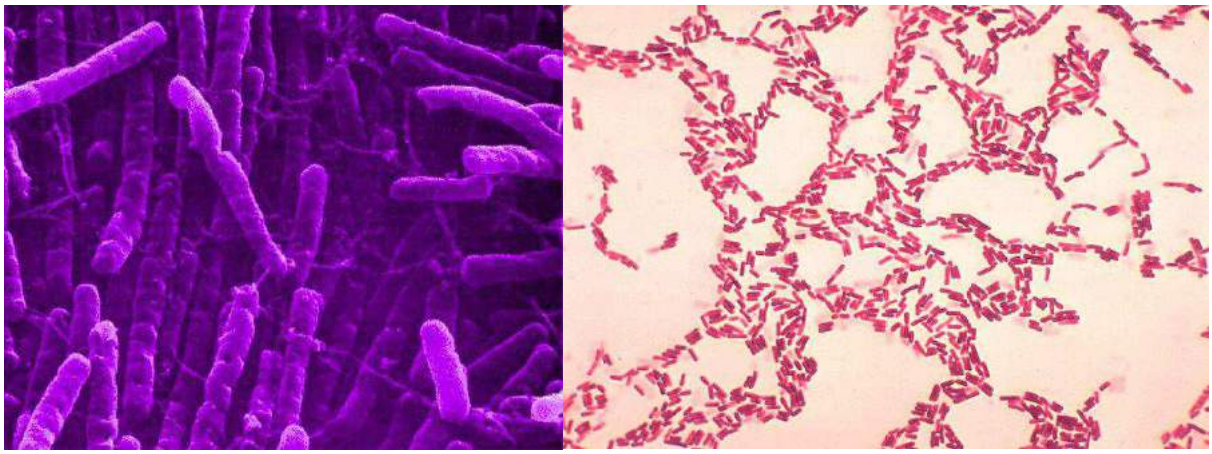

Figure 8 : Bacilles Gram positif aperçus en microscopie électronique (gauche) et Gram négatif, en microscopie optique (droite).
(http://www.ecosociosystemes.fr/bacteries_essentielles.html et https://fr.wikipedia.org/wiki/Bacillus_coagulans)

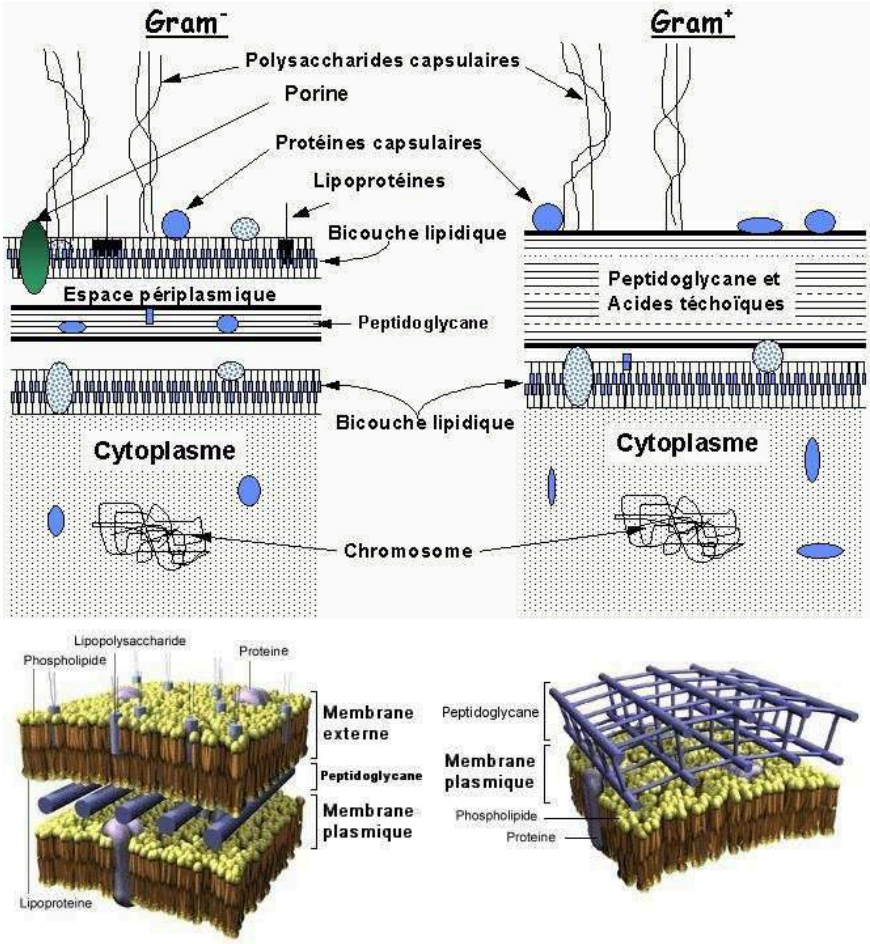

Figure 9 : Représentation schématique des parois des Gram positif et des Gram négatif.
(d'après http://mpronovost.profweb.ca/BIONP1/bionp1_cellule.html et http://www.unige.ch/cyberdocuments/theses2001/BisognanoC/these_body.html)

2.1.2. Physiologie.

Les bactéries sont hétérotrophes pour le carbone et de nombreux autres nutriments, elles auront donc besoin de systèmes d'acquisition de ces nutriments. Ces systèmes peuvent être la diffusion simple ou facilitée à travers la membrane. D'autres sont plus complexes et peuvent nécessiter des interactions entre différentes molécules : c'est le cas des sidérophores par exemple ou des systèmes de sécrétions.

La plasticité génomique a permis le développement de nombreuses stratégies d'adaptation à l'environnement et au développement de modes de vie communautaire entre les bactéries en vue d'une coopération pour la survie au sein d'environnements non favorables : formation de biofilm, Quorum-sensing (QS). Le premier correspond à une organisation spatiale des bactéries sur une surface. Cette organisation favorise la mise en commun de ressources et un comportement coopératif. Le QS, ou « détection du quorum » en français, est la capacité des bactéries et des communautés bactériennes à synchroniser l'expression ou la répression du génome selon les conditions environnementales et la densité de la population bactérienne. Cette synchronisation implique une communication via des signaux chimiques entre les individus (Everett et Rumbaugh, 2015; Williams, 2006; Winzer, *et al.* 2002).

2.1.3. Virulence.

La virulence d'une bactérie est sa capacité à se multiplier au sein d'un organisme hôte au détriment de ce dernier. Une bactérie peut être potentiellement virulente mais non dangereuse : elle se développera alors au sein de l'hôte sans pour autant créer d'infection grave. C'est le cas des bactéries commensales de l'intestin par exemple. L'hôte représente souvent un terrain non favorable car son SI veille et contrôle l'invasion, la notion de virulence étant liée à l'hôte et son état. Les bactéries auront alors à développer différents systèmes de parade pour survivre et continuer à se développer. Si les défenses de l'hôte viennent à faire défaut, la prolifération bactérienne ne sera plus contrôlée. Certaines espèces pourront donc massivement se multiplier grâce à leurs facteurs de

virulence et engendrer une situation clinique. C'est ce qui arrive dans le cas des infections opportunistes. Les facteurs de virulence sont de nature variables et sont des composants physiologiques des bactéries. Ils peuvent être très immunogènes. En voici des exemples :

- Une capsule polysaccharidique peut entourer la bactérie et la protéger du SI (certains *Streptococcus*) en empêchant sa reconnaissance en tant qu'agent étranger par les LT (donc du « non-soi »).
- Le peptidoglycane est par nature immunogène.
- La synthèse de toxine cytotoxique et pro inflammatoire (lipide A du LPS des Gram négatifs, leucocidine de *Staphylococcus aureus*, pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa,* toxine cholérique, diphtérique). L'acide lipotéchoique des bactéries à Gram positif ou les lipoarabinomananes des mycobactéries peuvent avoir une action toxinique.
- Des mécanismes de mobilité sont activés pour rejoindre des zones plus favorables, comme les flagelles (*Escherichia coli),* permettent une meilleure colonisation.
- Le transfert horizontal de matériel génétique et l'acquisition de nouvelles fonctions via les plasmides et les autres éléments génétiques mobiles permet d'acquérir de nouvelles fonctions favorables.
- La régulation très fine de l'expression des gènes codant les enzymes du métabolisme en fonction du milieu (sRNA, QS, transférons, intégrons…) permet une adaptation rapide à l'environnement.

Leur localisation est représentée sur la figure 10. Cette liste nous montre les premiers éléments du rapprochement entre bactéries et cancers : les deux interagissent avec les LT et l'inflammation que nous avons mentionnés au cours des précédents paragraphes.

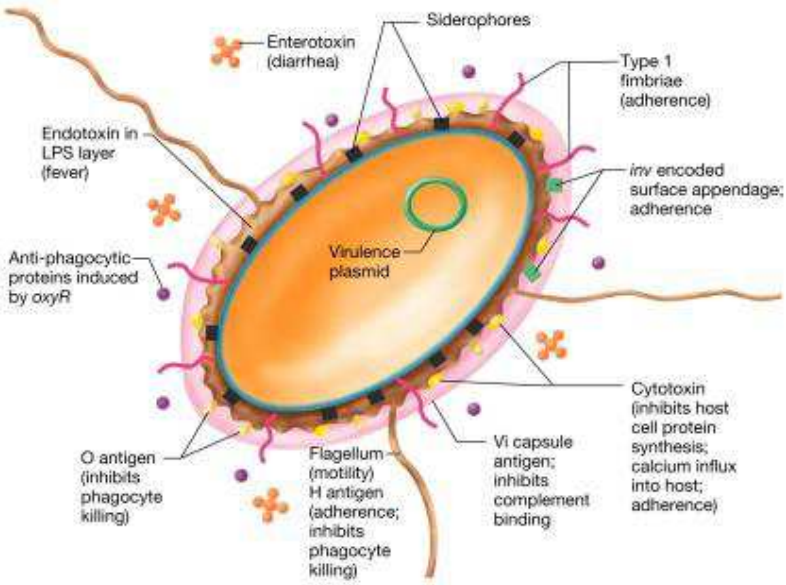

Figure 10 : Localisation schématique des facteurs de virulence bactériens. (http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Virulence&lang=4)

2.1.4. Le Système Immunitaire face à l'infection bactérienne.

L'immunité innée permet d'éliminer ou de limiter la prolifération du microorganisme lorsqu'il se trouve dans un tissu habituellement stérile. L'immunité adaptative fera suite à l'immunité innée et permettra la synthèse d'anticorps (Ac) et de cellules mémoires. Les Ac faciliteront les actions de l'immunité innée. Les cellules mémoires permettront une réactivation plus rapide du SI en cas de nouvelle rencontre avec le pathogène.

Les CPA, dont font partie les cellules dendritiques et les PolyNucléaires Neutrophiles (PNN), portent des Pattern Recognition Receptors (PRR) membranaires. Ces PRR interagissent avec les Pathogen Associated Molecular Pattern (PAMP) membranaires portés par les bactéries. Cette interaction déclenche la phagocytose de l'intrus, ou la destruction de la cellule infectée. Les fragments moléculaires issus de la destruction du germe au sein du phagosome seront alors exposés au niveau membranaire, couplées au CMH II, et permettront leur reconnaissance par les LT en vue de l'activation de l'immunité adaptative (cf. figure 3, page 19).

Le but de l'immunité innée est de recruter des éléments de défense au siège de la localisation bactérienne et ceci afin d'éliminer l'agent pathogène et d'empêcher sa prolifération. Une réaction

inflammatoire va alors se mettre en place. Elle associe diapédèse, margination des leucocytes et extravasation des protéines plasmatiques (pour le complément et les éventuels anticorps). La figure 11 montre globalement la prise en charge d'une bactérie pathogène par le SI.

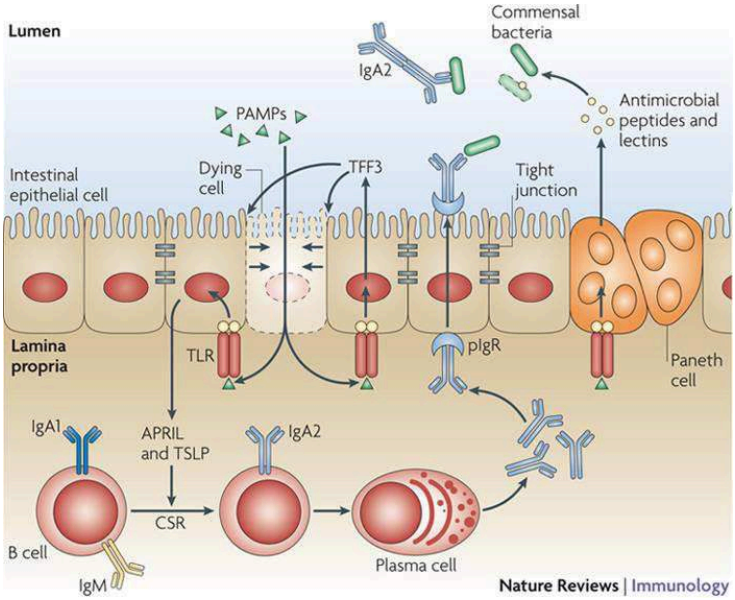

Figure 11 : Représentation schématique de la stimulation immunitaire par une bactérie commensale de l'intestin. (Abreu, 2010)

L'immunité innée peut être activée par différentes voies de signalisation cellulaires telles que l'IL-1, l'IL-6 ou l'Il-8. L'IL-1 est produite par les macrophages et les cellules endothéliales. Elle participe au déclenchement de la fièvre, stimule la production de prostaglandine et joue un rôle dans la margination et la diapédèse leucocytaire. Elle est synthétisée suite à la phagocytose d'une bactérie. L'IL-6 est produite par les macrophages suite à celle de l'IL-1. L'IL-8 est produite par les macrophages et les cellules endothéliales. Elle joue un rôle capital dans la margination leucocytaire.

L'ensemble de ces cytokines a un effet bénéfique pour l'hôte en permettant le développement d'une réaction inflammatoire de court terme qui participe à l'élimination de l'agent bactérien. La réaction inflammatoire permet la génération d'un milieu non favorable au développement de la bactérie pour lequel elle n'est pas encore adaptée mais favorable aux activités cellulaires de défense. Si cette immunité innée s'emballe, il y a sepsis (voire choc septique). Dans ce cas, la réaction

inflammatoire est trop forte et devient toxique pour l'organisme entrainant des répercussions cliniques. C'est souvent le cas lors d'infection où l'organisme doit mettre en place une réaction suffisante pour éradiquer les pathogènes, au détriment du reste de l'organisme. Nous pouvons ici faire un autre parallèle avec l'oncogenèse. En effet, si l'inflammation intense de courte durée peut nuire au développement tumorale, une inflammation modérée et chronique y est plutôt favorable.

Lors d'infections bactérienne, la patience suffit parfois à retrouver un état physiologique et parfois l'aide des antibiotiques est nécessaire. Ce grand ensemble de médicaments regroupe plusieurs familles qui sont plus ou moins spécifiquement efficaces sur certains groupes bactériens et/ou sites infectieux. Leur tolérance varie selon les classes et les molécules (Cao, 2016; Al-Asmakh et Hedin, 2015; Hsiao, *et al*. 2008)(http://www.microbiologybook.org/French-immuno/immchapter1.htm).

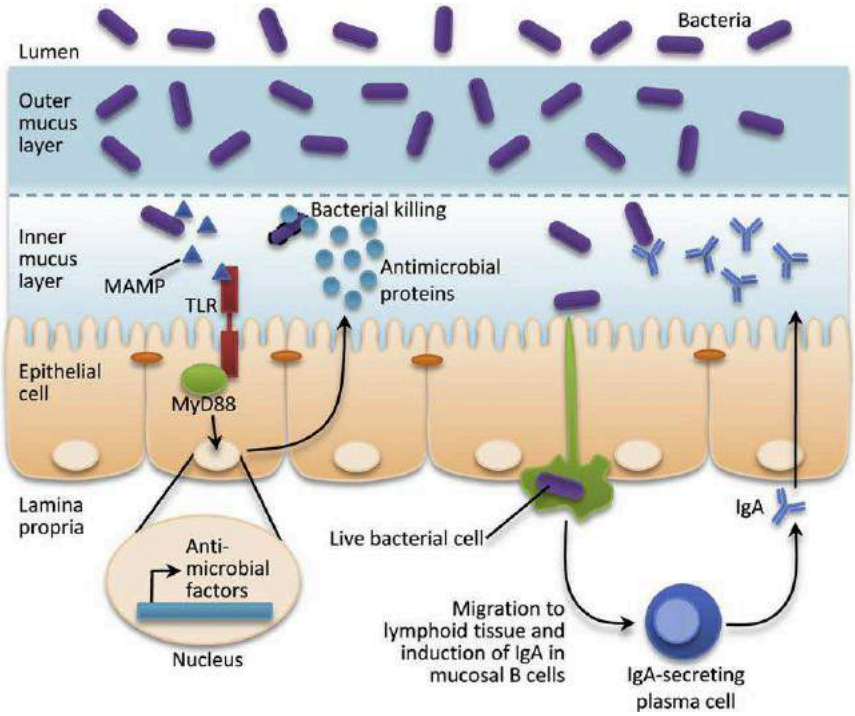

Figure 12 : Microbiote, Immunité Innée et Adaptative.
(Duerkop, *et al.* 2009).
Ce schéma montre la localisation des différents acteurs du dialogue entre microbiote et immunité. L'épithélium intestinal apparait alors comme une vaste agora

2.2.Notion de microbiote.

2.2.1. Définition.

Un microbiote est une communauté de micro-organismes (bactéries, virus et champignons) vivant dans un environnement : le microbiome. Il existe donc de nombreux microbiotes environnementaux. Il existe par exemple un microbiote du sol, de l'océan, mais cela peut aussi être une mare, un tronc d'arbre … Les animaux et les humains hébergent aussi plusieurs microbiotes. Chez l'Homme, plusieurs sont en cours d'étude et particulièrement le microbiote intestinal. La spécificité d'un microbiote est de vivre en accord avec son hôte, voire en symbiose. Les principaux microbiotes humains sont le microbiote intestinal, le microbiote buccal, le microbiote cutané et le microbiote vaginal. Les différentes espèces des différents Règnes du vivant cohabitent et certains ont développé des coévolutions à tendance mutualiste. En effet, par souci d'économie d'énergie, les redondances génétiques aboutissent parfois à leur simplification. Ainsi, certaines espèces profitent des fonctions assurées par la communauté. Tant que toutes les fonctions nécessaires aux organismes sont assurées, il n'y aura pas de conséquences physiologiques néfastes (Kim, *et al.* 2009; Hooper, 2004).

2.2.2. Rôles physiologiques des microbiotes.

Le développement des nouvelles techniques de séquençage à haut débit a permis l'essor de la métagénomique, science qui étudie globalement le matériel génétique d'un échantillon. La plupart des bactéries n'étant pas cultivables par les techniques classiques, ces nouvelles approches ont permis de les mettre en évidence et de les étudier afin de montrer les innombrables fonctions que nous apportent les microbiotes. En « occupant le terrain », les micro-organismes empêchent les potentiels « pathogènes » de prendre le dessus et de devenir prépondérants. Les microbiotes « normaux » ont donc un rôle de barrière vis-à-vis des pathogènes. De plus, l'innombrable pool de voies métaboliques offertes par le microbiote intestinal nous permet d'éliminer des xénobiotiques,

de digérer des aliments et nous fournit des composés utiles comme certaines vitamines (Hsiao, *et al.* 2008).

Comme tout élément étranger, chaque micro-organisme est reconnu par notre système immunitaire qui s'en trouve fortement stimulé. Effectivement, les microbiotes ont aussi pour rôle de stimuler et d'entretenir nos fonctions immunologiques. Ces dernières doivent d'ailleurs veiller à juguler toute tentative de prolifération excessive en régulant les populations (Duerkop, Vaishnava, et Hooper, 2009).

A titre d'exemple : le microbiote est nécessaire à la sécrétion des IgA et des IgM sans qui les germes anaérobies prolifèrent. C'est le cas par exemple des Segmented Filamentous Bacteria (SFB) qui sont génératrices de LTh17 pro inflammatoires qui exacerbent l'auto immunité (des cas d'arthrite ont notamment été décrits). Un autre lien entre bactéries, cancers et immunité est visible ici (Lepage, *et al.* 2013).

2.3.Le microbiote intestinal.

2.3.1. Généralités.

C'est le plus étudié à ce jour. De nombreux projets internationaux ont été créés afin de le caractériser et d'affiner nos connaissances sur cet organe à part entière (MetaHIT (http://www.metahit.eu/), Human Microbiome Project (http://hmpdacc.org/)). Pour une masse estimée autour d'un à cinq kilogrammes, il est composé d'environ 10^{14} bactéries (principalement), soit un nombre de bactéries dix fois plus grand que le nombre de cellules qui composent notre corps.

Il est donc principalement composé de bactéries, mais aussi d'archées, de virus, et d'eukarya. Parmi les bactéries, les anaérobies sont les plus représentées, au sein de trois grands groupes phylogénétiques : Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria. La composition du microbiote est variable entre les individus et au cours de la vie. On définit ainsi des entérotypes selon les espèces

dominantes. La première colonisation a lieu lors de la naissance. Le mode d'accouchement, par voie basse ou par césarienne influence d'ailleurs cette première colonisation et à terme les entérotypes. Il se stabilise approximativement vers trois ans après un accouchement par voie basse (et une première colonisation par les germes génitaux maternels). Lors d'un accouchement par césarienne, la colonisation est un peu plus tardive et commence par des germes de la peau. Cette différence est mise en regard des pathologies allergiques liées à l'inflammation chronique qui sont plus nombreuses chez les personnes nées par césarienne. Les comportements alimentaires modifient aussi qualitativement le microbiote. Par exemple, le groupe Bacteroidetes et le genre *Ruminococcus* seront favorisées par un régime carné et les AG saturés. Le genre *Prevotella* semble lui favorisé par les fibres, les sucres (Erdman et Poutahidis, 2015). Les dernières recherches ont conclu que le microbiote intestinal est une véritable carte d'identité microbienne. 57 espèces sont retrouvées chez 90% de la population. Elles définissent le « core genome » du microbiote intestinal humain. Cependant, la diversité et la richesse du monde bactérien est tel que chaque être humain héberge un microbiote différent. Plus la distance géographique est importante et plus les différences entre les entérotypes de deux individus seront marquées. De grandes ressemblances sont aussi possibles, mais pas l'égalité (Nelson, 2015). La figure 13 représente les différences majeures entre plusieurs entérotypes selon l'âge et le statut nutritionnel. On peut y voir par exemple la forte diminution du groupe Proteobacteria chez les sujets sains et sa persistance chez les sujets malnutris ou obèse. En revanche, le groupe des Firmicutes passe de minoritaire (15 à 20 %) chez l'enfant à largement majoritaire chez l'adulte sain (environ 45 %) (Ottman, *et al.* 2012).

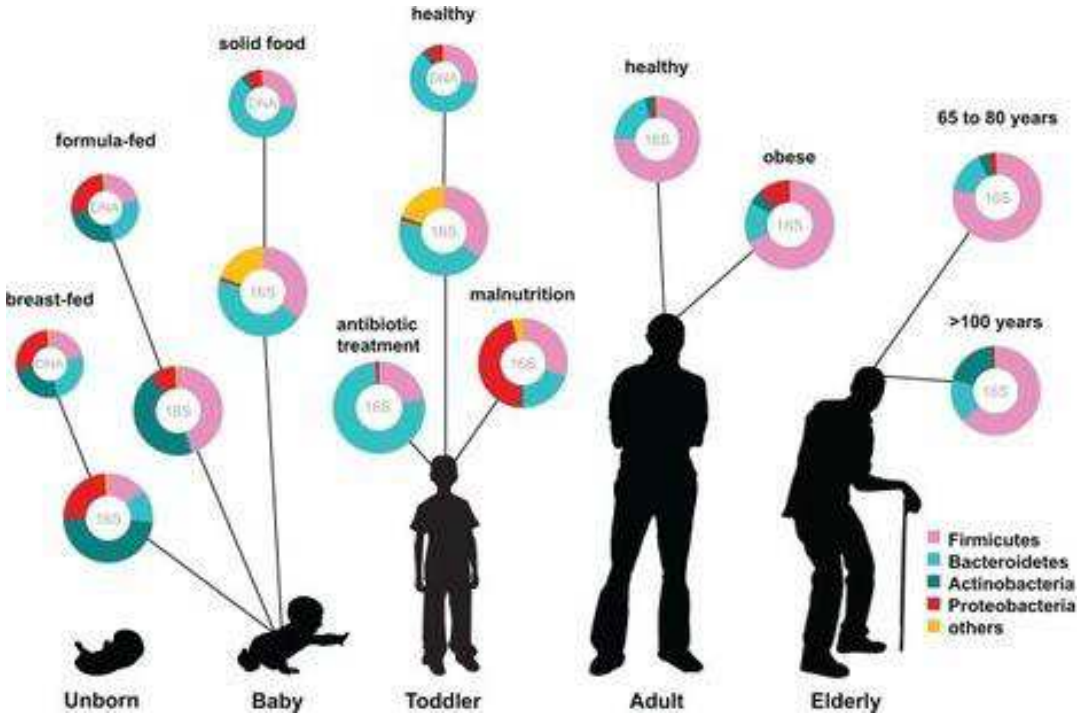

Figure 13 : Entérotypes selon l'âge et certains états physiopathologiques. (Ottman, *et al.* 2012)

2.3.2. Quelques rôles physiologiques.

Plusieurs fonctions ont été identifiées concernant le microbiote intestinal, elles concernent la régulation de l'angiogenèse, le développement musculaire, la production d'énergie. Des centaines d'enzymes sont libérées par les bactéries et nous permettent entre autre de digérer des sucres d'origine végétale comme les pectines, l'arabinose et donc d'en exploiter un maximum d'énergie. La fermentation des sucres va en contrepartie nourrir les bactéries. Elles sont aussi capables de synthétiser des vitamines, des acides aminés, des Acides Gras à Courtes Chaînes, (AGCC) pour remplir leur rôle métabolique (Hsiao, *et al*. 2008). Les bactéries du microbiote ont un rôle essentiel pour le développement du système nerveux entérique qui est en fait le premier apparu au cours de l'évolution, suppléé par la suite par le système nerveux central. Elles ont aussi un rôle dans certaines régulations génétiques, notamment en ce qui concerne les fonctions immunologiques, la prolifération bactérienne, l'inflammation. Des perturbations génétiques du microbiote intestinal ont été mises en évidences chez des souris atteintes de MICI (Dzutsev, *et al*. 2015).

Leur rôle de barrière vis-à-vis des pathogènes et d'entretien du système immunitaire est primordial. En étudiant des souris « germ free » (sans microbiote), on observe que leurs plaques de Payer (équivalent de nos organes lymphoïdes) sont plus petites, qu'elles ont moins de cellules plasmatiques, moins d'IgA, moins de Lymphocytes intraépithéliaux. Tous ces déficits semblent corrigés par une recolonisation par un microbiote de souris saine (Viaud, *et al*. 2013). Cependant, les firmicutes se répartissent différemment et sont associés à moins de cellules dendritiques et LT, accompagnés d'une protection plus faible contre les pathogènes. Le microbiote intestinal serait donc nécessaire mais non suffisant pour une bonne maturation et une bonne protection par le SI. La première colonisation lors de l'accouchement semble primordiale pour cette stimulation immunitaire optimale. D'autre part, la synthèse de butyrate et de propionate par les bactéries commensales favorise la différenciation de LTreg (via l'acétylation du locus FoxP3) ce qui permet de diminuer le potentiel pro inflammatoire de la voie du NFKb. De plus, un lien avec le contrôle du pool Th17 est mentionné. Ces deux derniers aspects offrent la potentialité d'une protection vis-à-vis des voies de cancérisation (Bailey, *et al*. 2014; Kim, Jeon, et Chun, 2013).

2.3.3. Les perturbations du microbiote intestinal : la notion de dysbiose.

Les sources de perturbations sont nombreuses : comportement alimentaire, consommation d'irritants pour la muqueuse (alcool et tabac notamment, mais aussi de nombreux polluants dont les microparticules aériennes, les pesticides, les métaux). On comprendra aisément que l'utilisation (plus ou moins irraisonnée) des antibiotiques est aussi une cause majeure de troubles du microbiote, ou dysbiose (Chow et Mazmanian, 2010).

D'une manière générale les perturbations du microbiote intestinal sont mises en relations avec des maladies chroniques telles qu'allergies, diabètes, obésité, autisme, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (syndrôme métabolique, colites, qui peuvent être transmises de souris à souris via le microbiote). On remarque que ces pathologies sont presque toutes en lien avec une

inflammation chronique qui comme nous l'avons mentionné est la première étape des processus de cancérisation (Dzutsev, *et al*. 2015 ; Gophna, 2011; Panda, *et al*. 2014).

Les inflammations chroniques de l'intestin forment un groupe de nombreuses pathologies, parfois auto-immunes. La maladie de Crohn et le syndrome de l'intestin irritable en font partie. Elles aboutissent régulièrement à des tumeurs après plusieurs années d'évolution. Les causes sont souvent multifactorielles mais mal identifiées. En revanche, la relation étroite avec l'immunité et l'évolution en cancer nous montrent que les communications cellulaires sont primordiales. Il a été montré que les patients atteints de ces pathologies avaient très souvent des différences notables concernant la diversité et la quantité de leurs microbiotes intestinaux. Le lien entre les bactéries et les communications cellulaires est alors évoqué. En rétablissant les acteurs du dialogue, on pourrait restaurer une conversation harmonieuse. C'est ainsi que des tentatives de greffes fécales ont guéri des patientes atteintes de maladie de Crohn. Celle-ci consiste à prélever des bactéries intestinales chez un donneur sain pour réensemencer la flore de la personne atteinte. Dans ce cas, les bactéries jouent leur rôle thérapeutique en amont du cancer (Lichtenstein, Avni-Biron, et Ben-Bassat, 2016 ; Chaluvadi, Hotchkiss, et Yam, 2016) (http://www.probiotictherapy.com.au/index.html).

Maintenant que nous savons que l'immunologie est finalement « le langage » qu'utilisent les cellules pour dialoguer et que les bactéries peuvent aussi l'utiliser, nous pouvons désormais imaginer le rôle potentiel des bactéries comme médiatrice dans la prise en charge anti-cancéreuse.

3. Les bactéries en tant que nouvelle stratégie anti-cancéreuse.

Le concept de thérapie anticancéreuse par les bactéries est vieux de plus d'un siècle. C'est le Dr. Coley, un chirurgien du Mémorial Hospital de New-York, qui a vu guérir certains patients porteurs de sarcome après une infection à *Streptococcus* en 1891 (Chorobik, *et al*. 2013).

Il a ensuite traité 90 patients porteurs de sarcomes de la nuque avec des bactéries vivantes. Un patient a complètement guéri du sarcome et des métastases associées. A l'époque, ces résultats sont impressionnants pour une pathologie sans aucun traitement efficace. Un mélange de bactéries inactivées par la chaleur (*Streptococcus, Serratia marescens*) a ensuite été mis au point. Cette préparation porte le nom de « toxine de Coley » et fut injectée à environ mille personnes atteintes de sarcomes. Pour 80% d'entre elles environ la survie à 5 ans a été améliorée (Chorobik, *et al*. 2013; Richardson, *et al.* 1999). Malheureusement, les résultats n'ont pas été jugés suffisamment reproductibles et l'arrivée de la radiothérapie ont diminué l'attrait pour cette technique.

Ensuite, le Dr. Connell a utilisé en 1935 un filtrat stérile de *Clostridium histolyticum* pour prendre en charge des tumeurs avancées (sarcome épidermoïde, tumeur colique, carcinome du pylore). Il a lui aussi observé une régression de ces tumeurs ce qui lui a permis de penser que les bactéries produisaient des enzymes ayant une activité anti tumorale (Connell, 1935).

On sait maintenant que de nombreuses bactéries croissent dans des milieux pauvres en oxygène, c'est le cas par exemple des *Clostridium*, anaérobies strictes, ou *Salmonella.* Ces bactéries vont naturellement pouvoir se développer au sein ou à proximité de tumeurs solides qui sont des milieux hypoxiques, voire anoxiques (Patyar, *et al*. 2010 ; Nelson, *et al*. 2015 ; Agrawal, *et al*. 2004 ; Faith, *et al.* 2013).

Cette particularité métabolique permet de contourner la complexité de la biologie tumorale et immunitaire dont nous avons exposé un aperçu dans les chapitres précédents. L'utilisation de ces

drogues « biologiquement actives » est plus efficace que les drogues « passives » systémiques actuelles pour coloniser spécifiquement les tissus tumoraux. Le métabolisme bactérien, la capacité de déplacement orienté et la sensibilité à l'environnement ainsi que la stimulation du SI peuvent conduire à des traitements (ou compléments de traitement) efficaces, très sélectifs pour les tissus cancéreux et donc plus sûrs (Chorobik, *et al*. 2013).

La difficulté de développement de nouvelles approches thérapeutiques en cancérologie tient à la nécessité de sélectivité et de détection des tumeurs. Les particularités physiologiques de certaines bactéries, modifiables génétiquement si besoin, remplissent ces objectifs. *Escherichia coli*, *Bifidobacterium*, *Salmonella* Typhimurium, *Clostridium*, *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes* peuvent se localiser et se répliquer au sein de tissus tumoraux lorsqu'elles sont injectées par voie veineuse chez les rongeurs. Elles pourront alors exprimer une toxicité tumorale en synthétisant et/ou en libérant des molécules in situ et en exerçant localement une compétition nutritive au sein de la tumeur. Ces différentes stratégies semblent assez efficaces en modèles *in vivo* chez la souris, avec des guérisons et peu de toxicité sur des tumeurs myéloïdes sous-cutanées. Cependant, si les quelques essais cliniques ont retrouvé la bonne tolérance, l'efficacité était plus relative. L'augmentation des doses restaurant une bonne efficacité a malheureusement révéler une toxicité non négligeable (Nelson, *et al.* 2015 ; Forbes, 2010 ; Hoffman et Zhao, 2014 ; Zu et Wang, 2013 ; Iida, *et al*. 2013).

Nous développerons donc ici quelques pistes qui semblent intéressantes et à un stade de développement relativement avancé. Dans ces exposés, les bactéries seront elles-mêmes agents anti-tumoral ou bien elles en seront le vecteur.

3.1.*Clostridium novyi*-NT.

Faisant suite aux découvertes de Coley et Connell, *Clostridium hystolyticum* M-55 s'est révélée être une souche avirulente qui a été testée. Des résultats intéressants ont été obtenus en modèle animal sur des tumeurs coliques et des mélanomes implantées à des souris, mais cette souche s'est révélée peu efficace en test clinique (Dang, *et al*. 2001; Zu et Wang, 2013).

De nombreuses souches sauvages et modifiées de *Clostridium*, ont été testées ensuite jusque dans les années 1980. Au cours de ce « screening », Volgstein a montré que *C. novyi* était la souche la plus à même de coloniser les tumeurs et d'exercer un effet carcinolytique. Malgré sa grande sensibilité à la toxicité de l'oxygène, cette souche produit une α-toxine létale. La souche *Clostridium novyi*-NT a été mise au point en détruisant le système producteur de la toxine, portée par un phage, par chauffage à 70°C pendant 15 min (Dang, *et al*. 2001).

3.1.1. Bactériologie.

Clostridium novyi est une bactérie du phylum des Firmicutes, anaérobie stricte. C'est un bacille à Gram positif avec un GC% de 28.9 %. On le trouve dans le sol, le fumier et différents végétaux. Produisant des spores, elle peut survivre longtemps en conditions défavorables. Son premier isolement en clinique est associé à l'usage de drogues par voie parentérale et au développement de gangrène. Sa capacité à produire une toxine en condition anaérobie est son principal facteur de pathogénicité (Diaz, *et al*. 2005).

3.1.2. Stratégie thérapeutique.

L'idée est d'utiliser la nécessité d'anaérobiose de la bactérie. On injecterait des spores au patient. L'oxygène lui étant toxique, la bactérie pourra se développer uniquement dans les zones hypoxiques, voire anoxique, donc de façon privilégiée au sein de tumeurs, cette capacité lui confèrant une bonne spécificité. La délétion par traitement thermique du système toxinogène a permis de générer une souche *Clostridium novyi*-NT (Non Toxinogène) qui pourra se développer

en milieu anaérobie sans produire de toxine. Cette bactérie sera donc sélective pour la tumeur et non pathogène. Son efficacité a été testée en combinaison avec des molécules classiques (un anti-angiogénique et un poison de l'ADN) et de la radiothérapie. L'efficacité était satisfaisante mais une toxicité réversible (hépatite et splénomégalie) était présente pour les fortes doses (Diaz, *et al*. 2005).

La germination des spores et le développement bactérien entraînent la production de protéases et de lipases capables de dégrader les tissus tumoraux. Cette attaque associée à l'infection engendre une stimulation inflammatoire et immunitaire qui renforce l'action anti-tumorale notamment par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de cytokines (IL-6, G-CSF entre autres). L'IL 6 favorise la différenciation des TH_{17} et leur action immunitaire anti tumorale (cf. page 21), ce qui limite aussi la diffusion de « l'infection bactérienne ». Cet ensemble concourt ainsi au renforcement de l'action anti-tumorale des LT CD8 (Agrawal, *et al.* 2004 ; Roberts, *et al.* 2014). La figure 11 propose un mécanisme d'action de cette souche.

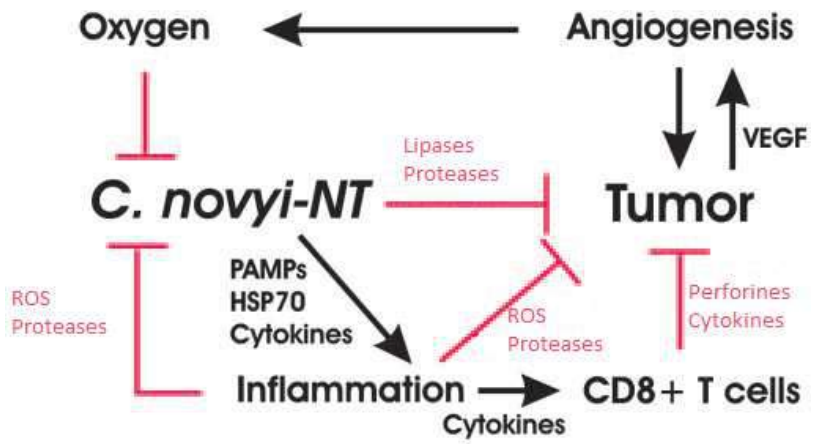

Figure 14 : Proposition de mécanisme d'action de *C. novyi*-NT.
(Agrawal, 2004).
Les spores se localisent dans les zones anoxiques de la tumeur où elles germent et entrainent la lyse des cellules tumorales

Agrawal et collaborateurs ont montré en 2004 l'efficacité de *C. novyi*-NT, utilisé seul, chez la souris, même sur de grosses tumeurs lorsque les immunothérapies étaient principalement efficaces contre les petites tumeurs. Leurs résultats suggèrent aussi que la réponse immune induite est efficace à long terme contre une nouvelle injection de cellules tumorales réalisée jusqu'à 11 mois après le

premier traitement par *C. novyi*-NT. Les auteurs ont ainsi testé trois espèces différentes (souris, lapins et rats). Cette activité inter-espèces, associée au pouvoir invasif de *C. novyi* (gangrène développée par des toxicomanes par voie iv pour des souches virulentes) et sa capacité à germer au sein de tumeurs humaines en font un bon candidat pour des évaluations cliniques futures. En effet, les capacités de colonisations des tissus tumoraux par cette bactérie est particulièrement intéressante (Agrawal, *et al*. 2004). Une précédente étude avait par ailleurs montré l'amélioration d'un traitement par radiothérapie utilisé en association avec *C. novyi*-NT chez la souris (Bettegowda, *et al*. 2003).

Pour compléter leurs études, Diaz et collaborateurs ont évalué la toxicité d'un tel traitement. Environ 15.10^6 spores.kg^{-1} étaient injectées sous la peau de souris porteuses de cellules tumorales coliques d'environ 500 mm^3. Après un mois, seuls des signes mineurs comme une hépatomégalie et une splénomégalie étaient observés ; ces signes ayant disparus un an après. Quelques spores étaient retrouvées au niveau cérébral. Les mêmes signes ont été retrouvés chez les animaux sains testés (souris et lapins). L'étude montre également que les spores ne germent que dans des tissus hypoxiques tumoraux, et pas, par exemple, au sein de tissus modèles d'infarctus du myocarde qui sont eux-aussi anoxiques. Aucune toxicité clinique aigue n'a été mise en évidence. En plus d'un syndrome léthargique, quelques troubles métaboliques ont toutefois été rapportés : cytolyse hépatique (sans nécrose), baisse du CO_2, augmentation de la créatininémie (sans nécrose des tubules rénaux). Ils sont apparemment dus à la germination des spores plus qu'à un syndrome infectieux à proprement parlé. Ces quelques troubles sont diminués par l'usage d'antibiotique (imipénème) mais cela diminue l'efficacité anti-tumorale (15% en plus de rechute dans l'année suivant le traitement). Une hydratation simple permet de diminuer cette toxicité sans baisse d'efficacité. Enfin, les auteurs soulignent que peu de spores sont finalement nécessaires pour obtenir une nécrose tumorale efficace et que 99% des spores sont éliminés de la circulation sanguine une heure après l'injection (Diaz, *et al*. 2005). Ces différents éléments suggèrent donc que cette souche possède un fort potentiel comme future agent anti tumoral.

3.2.*Salmonella* Typhimurium.

3.2.1. Bactériologie.

Salmonella Typhimurium est une entérobactérie. C'est donc un bacille à Gram négatif retrouvée dans la lumière intestinale des mammifères. De nombreux serovars ont été décrits. Le genre est anaérobie facultatif et se réplique 1000 fois plus dans les tissus tumoraux que dans les tissus sains. Sa capacité à produire du lipopolysaccharide (LPS), parfois en grande quantité, est son principal facteur de virulence. Ce LPS la protège de son environnement et a une action toxinique. C'est aussi lui qui stimule notre système immunitaire. *S.* Typhimurium est une bactérie mobile, intra-cellulaire facultative, notamment au sein des cellules phagocytaires dans lesquelles elle peut survivre et se répliquer. Lorsqu'elle envahit la muqueuse intestinale, elle génère des lésions cellulaires et un afflux de leucocytes. Cette réaction inflammatoire et immunitaire est due au LPS principalement et va entrainer une diarrhée (Chorobik, *et al.* 2013).

En ce qui concerne son utilisation thérapeutique, des essais cliniques de phase I ont été réalisés. Les auteurs concluent que des ajustements doivent être trouvés pour définir la meilleure dose et promouvoir la colonisation tumorale (Toso, *et al.* 2002).

3.2.2. Stratégie thérapeutique.

Grâce à l'anaérobiose facultative, un développement intra-tumoral est envisageable. Cependant, le risque de choc toxique est non négligeable. Une souche dont le métabolisme est dépendant des purines (hétérotrophie pour les purines) a été mise au point. Les purines sont assez fortement disponibles aux alentours et au sein des tumeurs et des métastases en raison d'une lyse cellulaire qui peut être importante et qui entraine un relargage de ces métabolites. Cette souche, VPN20009, est délétée de deux gènes : *msbB* et *purI*. C'est Pur I qui est responsable de cette auxotrophie pour les purines. MsbB est quant à elle responsable de la structure du lipide A, composant du LPS. Sa délétion entraine donc une moins forte virulence et un risque de choc toxique

bien plus faible. Cette souche peut être utilisée comme agent anti-tumoral ou comme vecteur de molécules anti tumorales (précurseur de TNFα par exemple) (Loeffler, *et al*. 2007).

L'efficacité chez la souris et la faible toxicité ont conduit au développement d'essais cliniques en 1999. Même si la bonne tolérance (à haute dose) était au rendez-vous, il n'a pas été montré de régression tumorale significative chez les 25 patients de l'essai. Cette faible efficacité était due à la faible colonisation tumorale, ce qui contraste avec la forte colonisation précédemment obtenue chez la souris. L'élimination rapide de la bactérie par l'organisme est aussi envisagée comme cause de la faible efficacité. En effet, cette souche ne survit pas plus de deux cycles de réplication et n'aurait donc pas le temps d'atteindre la tumeur pour y exercer son action (Chorobik, *et al*. 2013; Taniguchi, *et al*. 2010; Momiyama, *et al*. 2012; Zhao, *et al.* 2007; Forbes, 2010).

Pour pallier cet écueil, des souches porteuses de cibles immunologiques tumorales sont en développement, notamment en utilisant les Tumors Associated Antigens (TAA). Ces souches sont très bien reconnues et prises en charge par le SI. Ces techniques permettraient de développer les outils nécessaires pour lutter contre les tissus tumoraux moins accessibles.

Une autre souche, A1-R, a été développée. Celle-ci est auxotrophe pour 2 acides aminés : la leucine et l'arginine, ce qui n'autorise son développement que dans les tissus tumoraux où ils sont plus facilement disponible, toujours en raison d'une lyse cellulaire (Hoffman, 2013). Cette souche a montré une bonne efficacité dans la colonisation de tumeurs pulmonaires greffées à des souris et dans l'induction d'une destruction nucléaire au sein de ces tumeurs. Toujours chez la souris, la souche A1-R a montré une propriété anti-angiogénique efficace dans le traitement des mêmes tumeurs, et ce d'autant plus que la tumeur était fortement vascularisée (Liu, *et al*. 2010).

De nombreuses autres souches sont en développement mais les deux précédentes sont les plus avancées. VPN20009 est la seule à être entrée dans une phase clinique. Il reste encore des obstacles à franchir, mais *Salmonella* peut sembler être un futur traitement ou vecteur de traitement intéressant dans la prise en charge anti-tumorale.

3.3. Listeria monocytogenes.

3.3.1. Bactériologie.

Listeria monocytogenes est un bacille à Gram positif, non sporulé, mobile à 20°C. Son métabolisme est aéro-anaérobie facultatif, possède une catalase et génère une hémolyse β sur gélose au sang grâce à sa listériolysine O (LLO). C'est une souche psychrophile qui peut se développer à 4°C. Elle est cependant détruite en 30 min à une température de 60°C. On la retrouve un peu partout : dans les sols, les eaux, les végétaux. 1 à 10 % de la population seraient porteurs sains au niveau intestinal (*Listeria* fait partie des Firmicutes, groupe bactérien que l'on retrouve au sein du microbiote intestinal). C'est un germe pathogène intracellulaire qui peut engendrer des bactériémies et qui possède un tropisme pour le Système Nerveux Central (SNC). Chez les femmes enceintes, elle est responsable d'infections materno-fœtales. Cependant, *Listeria* est considérée comme opportuniste et ne donnera des situations cliniques que chez les personnes immunologiquement affaiblies (femmes enceintes, personnes âgées, jeunes enfants, immunodéficients). Malgré une antibiothérapie efficace (β-lactamines, aminosides), la mortalité est estimée de 25 à 30 % même si la listériose reste une maladie peut fréquente (environ 200 cas par an en France). La contamination humaine est le plus souvent d'origine alimentaire (son caractère psychrophile lui permet de contaminer des aliments réfrigérés), le plus souvent par des fromages au lait cru, des charcuteries, des produits de la mer, des végétaux. Il n'y a pas de contamination inter-humaine.

3.3.2. Stratégie thérapeutique.

Listeria gagne la circulation systémique en traversant la barrière intestinale. Grâce à l'internaline, une protéine de surface, les bactéries induisent leur phagocytose par les CPA intestinales. La LLO (et une phospholipase) permet ensuite à une faible proportion de bactéries (estimée à 5 %) de s'échapper du phagosome et enfin de se multiplier dans le cytoplasme. Ces bactéries ont aussi la capacité de polymériser l'actine et ainsi de migrer jusqu'aux cellules voisines pour renouveler le cycle (la bactérie n'est alors plus dans un phagosome mais entourée d'une double paroi cellulaire, qu'elle va lyser avec la LLO et une autre phospholipase). Ce parasitisme cellulaire va être mis à profit pour atteindre les cellules tumorales. En effet, une infection à *Listeria* génère une réponse immunitaire forte via les CD4 et les CD8. Compte tenu des conséquences potentiellement graves d'une infection, une souche atténuée a été mise au point. Cette souche est délétée de deux gènes : *actA* et *plcB*. Le premier est essentiel pour les déplacements intercellulaires de la bactérie (il permet la synthèse de l'actine cytosolique nécessaire aux déplacements de la bactérie). Le deuxième code la phospholipase nécessaire à la lyse soit du phagosome, soit de la double paroi cellulaire. Cette souche est avirulente mais stimule toujours le SI car la LLO est toujours présente. Elle a été inoculée à 20 volontaires sains à des doses croissantes. Aucun n'a été malade et aucune leucocytose, ni lymphopénie n'ont été détectées. En revanche la réponse immunitaire évaluée a été considérée comme forte pour tous les sujets sauf un. Cette souche pourrait donc être le support d'une vaccination anti-tumorale (Angelakopoulos, *et al*. 2002).

En effet, considérant les capacités de parasitisme intracellulaire de *Listeria* qui lui permet de se protéger tout en stimulant les CD4 et CD8 via le CMH I et II, l'idée est de mettre au point un vecteur porteur d'Ag spécifique anti-tumoraux, les Tumor Associated Antigen (TAA). Plusieurs stratégies ont été étudiées avec succès sur des modèles murins. Les vecteurs portaient un des Ag suivant : HPV16 (relatif au cancer du col de l'utérus), Her2/neu (cancer du sein), PSA (cancer de la prostate),

TRP-2, VEGFR-2 (Ag du développement tumoral) et HMW-MMA (mélanome). Une première injection suivie d'un rappel était dans la plupart des cas suffisant pour éradiquer les tumeurs correspondantes à ces Ag. Des études précliniques ont montré l'efficacité prophylactique et thérapeutique d'un tel vecteur dirigé contre HPV-16 (Singh et Wallecha, 2011). La réponse immunitaire engendrée par l'injection de *Listeria* comprenait la sécrétion des vecteurs de l'inflammation tels que l'IL-1, IL-6, IL-12, TNF-α. Cette réponse permettait de recruter des NK, des CD4 et CD8 sécrétant de l'INFγ. Enfin, « l'infection » permettait de diminuer le recrutement des Tregs au sein de l'environnement tumoral (mais pas dans le sang périphérique). Ces précisions permettraient en théorie d'aider à orienter la réponse immunitaire anti-tumorale (Kim, *et al*. 2009).

La société ADVAXIS a conduit des essais cliniques sur des patients porteurs de carcinomes métastatiques (cancer cervical en stade IV). Chez la plupart des 15 patients, les effets indésirables du type hypotension et syndrome pseudo-grippal attribués à la réponse immunitaire faisant suite à l'infection, ont été résolu rapidement par la prise d'antibiotique (prévue et faisant suite à l'inoculation bactérienne) et un traitement symptomatique. Une réduction tumorale a été observée chez 30% des patients. Cependant, les auteurs ont déclaré un possible conflit d'intérêt avec la société ADVAXIS (Singh et Wallecha, 2011).

Des essais assez encourageants ont aussi été réalisés avec des bactéries vectrices de radiothérapies dirigées contre les cancers du seins (Quispe-Tintaya, *et al*. 2013; Chandra, *et al*. 2013). Les cancers du sein restent parmi les premiers cancers au monde touchant les femmes et 40% des patientes évoluent vers un stade métastatique. Le traitement courant comprend la résection chirurgicale et un curage axillaire des ganglions lymphatiques suivi d'une chimiothérapie ou hormonothérapie adjuvante. Ce sont les tumeurs résiduelles et les métastases qui sont dangereuses car elles sont difficiles à mettre en évidence et donc prises en charge tardivement et alors difficiles à traiter. Les Ag MAGE-A et/ou MAGE-B sont exprimés par 92% des biopsies de tumeurs du sein mais pas par les tissus sains. Plusieurs essais chez la souris ont montré l'efficacité de la vaccination

par MAGE contre les métastases en utilisant *Listeria* comme vecteur de l'Ag MAGE (Singh, *et al*. 2013). La figure 13 est un schéma résumant le principe de la vaccination par *Listeria.*

L. monocytogenes semble donc intéressante à la fois en thérapeutique et en prophylaxie. Son action via le SI permettrait de l'utiliser comme vecteur vaccinal dirigé contre n'importe quelle tumeur à partir du moment où un Ag spécifique existant puisse-t-être incorporé à la bactérie.

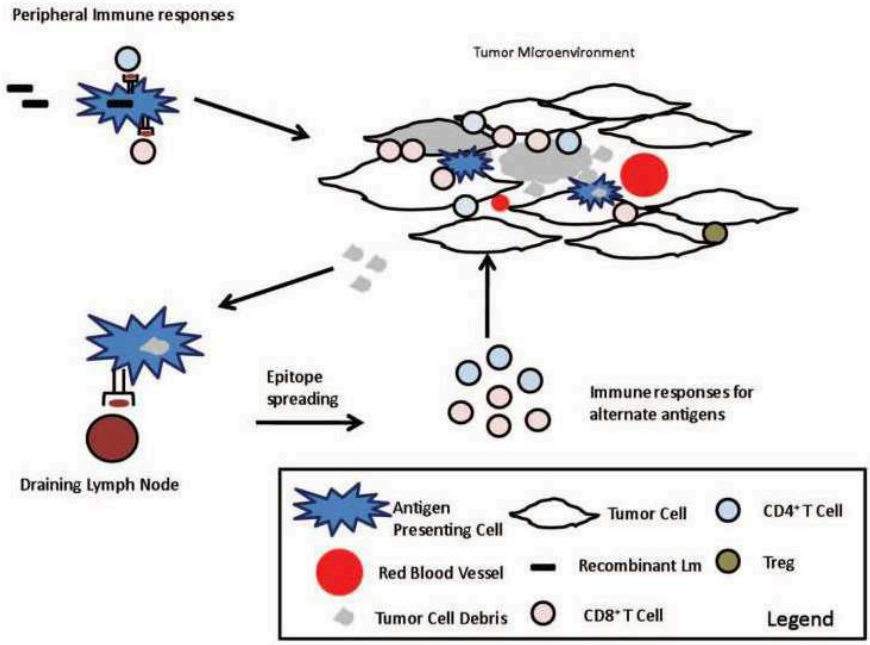

Figure 15 : Représentation schématique du mode de vaccination par *Listeria monocytogenes*.
Les bactéries sont prises en charge par les CPA, ce qui permet l'expression des TAA et de stimuler une réponse immune dirigée contre les cellules tumorales (d'après Singh, 2011)

3.4.*Mycobacterium bovis* et tumeur vésicale.

3.4.1. Bactériologie.

La souche *Mycobacterium bovis* que l'on retrouve dans le vaccin BCG (Bacille de Calmette et Guérin) est une souche proche du Bacille de Koch (BK). Il s'agit d'un bacille incurvé à croissance lente qui prend la coloration de Ziehl-Nielsen caractérisant les Bacilles Acido-Alcoolo-Résistants (BAAR) dont la membrane est composée d'acide mycophenolique. C'est un germe non sporulant, immobile et aérobie strict. Cette dernière particularité le diffère fortement des exemples précédents. Les premiers travaux mettant en évidence l'action antitumorale remonte à la fin des années 1970.

3.4.2. Stratégie thérapeutique.

La condition d'aérobiose stricte ne permettra pas un développement au sein de tissus tumoraux comme nous l'avons mentionné pour les autres exemples. La bactérie ne pourra donc être utilisée que pour des tumeurs externes, principalement au niveau vésical. Dans ce cas, la stratégie consiste à inoculer directement le germe dans la vessie via un cathéter urétral. Cette inoculation fait naître une réponse immunitaire majeure, avec synthèse de nombreuses cytokines (IL-2, 6, 8, 10 et 12, TNFα, INFα et γ) et intervention de plusieurs cellules de l'immunité. Plus précisément, les bacilles sont internalisés par les cellules phagocytaires et inflammatoires (CD4, CD8 et NK), ce qui génère ensuite une réponse immunitaire complète. La production de TNFα induit l'apoptose spécifique des cellules cancéreuses. Des équipes ont tenté de reproduire cette réaction immunitaire en administrant les cytokines aux patients mais la présence de la bactérie semble nécessaire pour obtenir une bonne réponse. Par ailleurs, l'administration des cytokines en plus de l'inoculation bactérienne améliore la réponse par rapport à l'inoculation seule. Des irritations et des réactions allergiques peuvent survenir (Bernardes, *et al.* 2010).

Le succès thérapeutique en clinique varie de 50 à 70%. Le plus souvent l'instillation de BCG se fait en traitement adjuvant, en complément d'une résection transurétrale ou d'une chimiothérapie

conventionnelle. L'instillation permet alors de réduire grandement les récidives et d'améliorer la survie à 5 ans (Thompson, *et al*. 2015). La figure 14 est un schéma qui montre les voies de signalisations cellulaires mises en jeu lors d'une instillation.

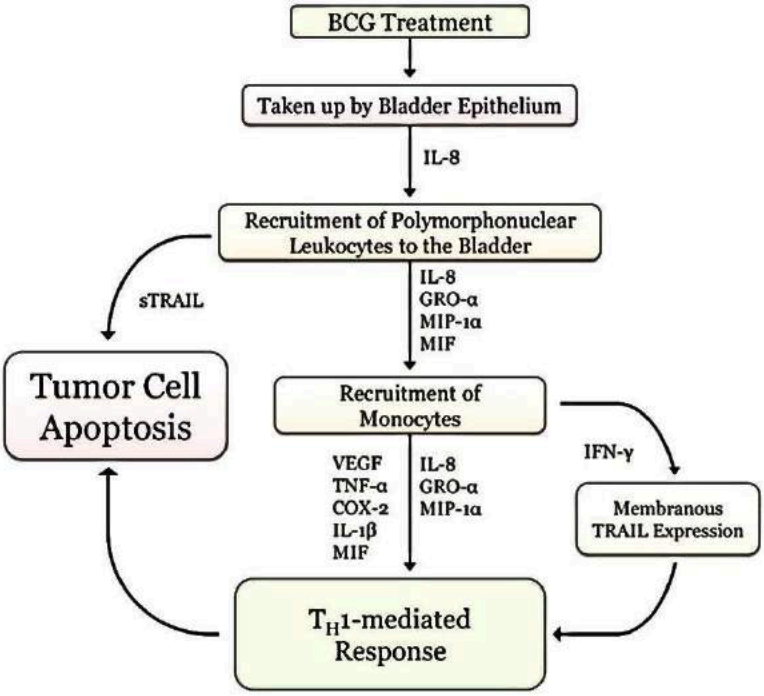

Figure 16 : Représentation schématique du mode d'action de la BCG-thérapie. (Thompson, 2015)

En pratique, selon la Société Française d'Urologie, la BCG-thérapie a été proposée par Morales en 1976 et est utilisée depuis. Elle est devenue le traitement de référence des tumeurs vésicales à hauts risque de récidive et de progression. Dans le cas général, la prise en charge des tumeurs vésicales comprend une résection endovésicale, suivie soit par une instillation endovésicale de mitomycine C (un agent inhibant la synthèse de l'ADN), soit par des instillations de BCG. L'utilisation de mitomycine ne contre-indique pas le BCG qui peut être utilisé en complément par la suite. Ces deux stratégies diminuent les récidives. Le choix de l'une ou l'autre des stratégies se fait en fonction du type de tumeur ; le BCG étant plutôt utilisé pour les tumeurs à risque modéré ou élevé.

Concernant la BCG-thérapie, le traitement d'induction comprend une instillation hebdomadaire pendant 6 semaines, suivies d'un traitement d'entretien. Les protocoles ne sont pas harmonisés à propos de ce traitement d'entretien et une diminution de la posologie permet une meilleure tolérance, qui est moyenne sinon et demande parfois l'arrêt du traitement. Il n'y a pas de procédure de référence concernant le traitement d'entretien en raison d'un nombre faible d'études à ce sujet, donnant des conclusions contradictoires. L'étude la plus importante a utilisé le protocole suivant : le traitement d'induction comprend une instillation hebdomadaire pendant 6 semaines, suivie d'une instillation (à dose plus faible) pendant 3 semaines à 3, 6, 12, 18, 24, 30 et 36 mois du traitement inducteur. Cette étude a été publiée par le SWOG (South West Oncology Group). Avant l'instillation, il convient d'éliminer les contre-indications et de réaliser un bilan biologique comprenant un ECBU (Examen cytobactériologique des urines), la détermination de la formule sanguine, de l'ionogramme, un bilan hépatique et le dosage du PSA pour les hommes.

Tout n'est pas encore déterminée à propos de la BCG-thérapie et certains aspects peuvent certainement être améliorés (harmonisation des protocoles permettant une meilleure tolérance). Cependant, le Bacille de Calmette et Guérin est un exemple pratique de bactérie utilisée tous les jours pour traiter le 6ème cancer touchant la population française.

3.5. Bifidobacterium.

3.5.1. Bactériologie.

Bifidobacterium est un genre des Actinobactéries, anaérobies strictes à Gram positif. De forme irrégulière parfois ramifiées, immobile et présentant un test négatif pour la catalase. Ce sont des bactéries fermentaires non sporulantes que l'on retrouve dans le tube digestif des mammifères (principalement dans le côlon). Elles sont non pathogènes et font partie du microbiote intestinal humain ; ce sont aussi des bactéries probiotiques (Hill, *et al*. 2014).

Les bifidobactéries appartiennent à la famille des bactéries lactiques. La fermentation à laquelle elles participent génère de l'acide lactique, ce qui entraine une diminution du pH qui leur serait favorable en inhibant la croissance d'autres germes. Cette faculté est d'ailleurs mise à profit dans la conservation de certains aliments comme les laits fermentés. Cependant, le goût et la valorisation marketing restent leurs rôles principaux (Cronin, *et al*. 2010).

3.5.2. Stratégie thérapeutique.

La stratégie consiste de nouveau à utiliser la nécessité d'anaérobiose pour le développement bactérien afin de cibler la tumeur. Cependant, *Bifidobacterium* est avirulente et son développement n'entraine ni inflammation, ni réaction immunitaire importante et donc pas de réduction tumorale potentielle. En revanche, la bactérie peut servir de vecteur pour apporter *in situ* un agent ou un élément nécessaire au traitement (Cronin, *et al.* 2010).

La Cytosine Déaminase (CD) est une enzyme codée par un gène plasmidique d'*E. coli.* Elle permet de cliver le 5-fluorocytosine (5-FC) en 5-fluorouracile (5-FU), agent anti tumoral analogue de l'uracile. En prenant la place de l'uracile, cet analogue inhibe le métabolisme des bases pyrimidiques (cytosine, thymidine, uracile) et la pénurie ainsi générée bloque le cycle cellulaire en empêchant les voies de synthèse des acides nucléiques. Des souches de *Bifidobacterium* porteuses

du plasmide pourraient donc théoriquement permettre cette réaction enzymatique *in situ* et ainsi autoriser l'utilisation de prodrogue, le 5-FC, moins toxique qui serait transformé uniquement dans

les tissus tumoraux en molécule active, le 5-FU. Cette stratégie diminuerait grandement les effets indésirables dus au manque de sélectivité d'une injection de 5-FU par voie systémique (Zu et Wang, 2013).

Cette nouvelle piste thérapeutique n'induit pas de production de cytokines pro-inflammatoires et est d'après les auteurs de l'étude, le système le plus efficace et le plus sélectif de transformation et de délivrance du 5-FC en 5-FU. Cependant une induction faible de TNF-α et d'IL-12 est notée, qui permettrait un support de l'activation des LTh0 en LTh1 et supporterait donc la réponse immune médiée par les CD8. Les études précliniques de toxicité pratiquées sur des souris saines, des souris porteuses de tumeurs mammaires chimio-induites et des rats (sains et porteurs de tumeurs également) n'ont mis en avant aucun signe néfaste. Une étude de toxicité chez le singe n'a pas mis en évidence de toxicité particulière. De plus, aucun signe d'anaphylaxie n'a été montré chez les cochons d'Inde. Le haut poids moléculaire de ce type de vecteur serait le principal frein au développement industriel d'un mode d'administration parentéral. Une administration par voie orale serait envisageable, mais les conséquences des interactions avec les enzymes de la digestion sur les souches bactériennes restent à étudier (Taniguchi, *et al*. 2010).

D'après Cronin, des souches de *Bifidobacterium breve* UCC2003 (connue pour participer au métabolisme des sucres complexes d'origines végétales) administrées par voie orale à des souris, transloquent du niveau intestinal vers les tumeurs où elles se multiplient spécifiquement. Les bactéries étaient visibles par une technique de fluorescence plus de deux semaines après administration et sans qu'aucune toxicité ne soit révélée. Cette multiplication était corrélée à une augmentation de l'IFN-γ et de la perméabilité de la paroi intestinale. Cependant, aucune surreprésentation des autres populations bactérienne n'a été mise en évidence suite à ce traitement par *B. breve* qui ne semble donc pas induire de translocation des autres populations bactériennes

(Cronin, *et al*. 2010). La colonisation tumorale semble donc efficace, au moins chez le rat. Des études complémentaires sont donc nécessaires pour appréhender l'efficacité thérapeutique de cette technique qui semble prometteuse.

3.6.Les probiotiques et le microbiote intestinal.

Nous avons précédemment décrit le microbiote intestinal et nous avons entre autres mentionné le formidable contingent bactérien qui s'y développe. Nous pouvons désormais entrevoir la complexité des interactions qu'il peut entretenir avec son environnement et en particulier avec notre SI. Il apparait ainsi qu'entretenir au mieux notre microbiote (par une alimentation saine, variée et en évitant les toxiques) permet de soutenir et renforcer la stimulation de notre SI qui pourra mieux jouer son rôle dans la défense de l'intégrité cellulaire de l'organisme. Nous pouvons donc agir en prophylaxie.

Des études suggèrent que l'apport de bactéries du microbiote (potentiellement absentes chez le sujet) lors du développement de certaines pathologies pourraient avoir une impressionnante efficacité clinique. C'est le cas de la transplantation fécale dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Concernant la prise en charge anti tumorale, plusieurs pistes sont envisagées qui permettraient d'orienter, ou tout au moins de favoriser la stimulation anti-tumorale du microbiote. (Viaud, *et al*. 2013 ; Nelson, *et al*. 2015 ; Sanders, *et al.* 2014 ; Stritzker, *et al*. 2007 ; Iida, *et al*. 2013).

Du point de vue oncologique, Viaud et son équipe ont montré récemment la translocation de bactéries intestinales (*Enterococcus hirae*, *Lactobacillus jonhsonii* et *Lactobacillus murinus*) depuis l'intestin vers les organes lymphoïdes secondaires chez des souris porteuses de tumeurs coliques.

Cette translocation était favorisée par l'inflammation induite par le cyclophosphamide (CTX), un agent alkylant (cf. tableau 1). Sur place, les bactéries stimulaient fortement le SI et engendraient une réponse anti-tumorale suffisamment forte pour guérir les souris. Ces bactéries semblaient de plus nécessaire à l'action thérapeutique, qu'on retrouvait amoindrie chez des bactéries traitées avec la même molécule mais dont le microbiote avait été altéré (Viaud, *et al*. 2013).

J'ai pu caractériser plusieurs souches d'Enterococcus hirae lors de mon stage de Master II au sein du laboratoire de microbiologie du CHU de Caen. *E. hirae* est une souche du microbiote humain, peu virulente et peu retrouvée en clinique. Des souches sont cependant responsables d'endocardites, d'infections urinaires ou cutanées mais elles représentent moins de 1% des infections dues au genre *Enterococcus* (Poyart, *et al*. 2002). Il s'agit d'un cocci à Gram positif, immobile, non capsulé anaérobie aérotolérant, ne possédant pas de catalase. Il est non hémolytique. C'est aussi le modèle d'étude de l'opéron cuivre (Solioz et Stoyanov, 2003; Solioz, *et al.* 2010)

Caractériser ces souches est important afin d'identifier leurs caractéristiques nécessaires à cette action anti tumorale pour pouvoir les utiliser à des fins thérapeutiques pour renforcer ou s'assurer de l'efficacité d'un traitement par CTX. Lors de mon stage j'ai comparé 7 souches d'*E. hirae* entre elles et avec des souches de références concernant la virulence, la résistance aux antibiotiques entre autres critères. La souche ayant transloqué dans l'étude de VIAUD (souche 13144) ne semblait pas différente de la souche issue des selles de souris naïve de tumeur et de traitement par le CTX (souche 13889). Le traitement par le CTX et l'environnement tumoral ne semblent donc pas être à l'origine de cette activité anti tumorale. Très peu de différences ont été mises en évidences entre les souches en ce qui concerne certains caractères phénotypiques (vitesse de croissance, production de biofilm, autolyse induite, virulence in vivo) et la réponse à certains stress (stress oxydant à la ménadione et à l'eau oxygénée, stress acide, stress osmotique, stress chimique par les sels biliaires ou différents métaux (Cu, Ag, Hg, Mn, Zn), résistance aux antibiotiques).

Le tableau 2 montre les souches testées au cours de l'étude et leur origine. Les figures 17 et 18 illustrent quelques-unes des expériences menées au laboratoire pour comparer ces souches. Les souches 13144 et 13889 sont toutes les deux sensibles aux sels biliaires. Elles perdent 3 logs lorsqu'elles sont soumises à 0.1% de sels biliaires. La souche isolée d'une endocardite (13344) est la plus sensible alors que les deux souches environnementales sont les plus résistantes, 708 perd un log et 13152 n'est pas altérée (figure 17). L'essai de virulence in vivo chez *Galleria mellonella* révèle la faible virulence des souches 13144 et 13889 comparée à celle des deux souches environnementales (figure 18). La comparaison des génomes après séquençage a mis en évidence des gènes chez la souche qui transloque non présents chez toutes les souches étudiées, notamment au sein d'une souche qui ne transloque pas.

Ces résultats ont contribué aux travaux publiés par Daillère en Octobre 2016 dans la revue Immunity® (Daillère, *et al*. 2016). Cette publication précise le rôle d'*E.hirae* dans la regression tumorale due au CTX et expose ces résultats. Elle mentionne aussi le rôle de *Barnesiella intestinihominis*, une autre bactérie intestinale impliquée dans l'efficacité anti-tumorale du CTX. *B. intestinihominis* est un bacille à Gram négatif, non sporulante, non mobile, hydrolisant l'aesculine.

L'article montre la stimulation immunologique due à ces bactéries sur des modèles murins porteurs de tumeurs coliques. *E. hirae* transloque, participe à l'efficacité du CTX et la restaure après gavage par voie orale. Il stimule la production de pTh17, diminuent les Treg en faveur de l'action antitumorale. *B. intestinhominis* ne transloque pas mais s'accumule après administration de CTX et permet la différenciation de Th1, induisant une protection à long terme du même type que la vaccination. L'administration du CTX est nécessaire pour observer ces effets adjuvants par ces deux bactéries (Daillère, *et al*. 2016).

Tableau 2 : Liste des souches *d'E. hirae* comparées au cours de l'étude menée lors de mon stage de master II.

numéro de la souche	caractéristiques	réponse au traitement antitumoral
ATCC9790	*E. hirae*, souche de référence, ATCC 9790. Le génome de cette souche a été séquencé et annoté.	Non testée
13144	*E. hirae*, souche retrouvée dans les ganglions lymphatiques secondaires des souris de l'article de Viaud, *et al.*	+++
13889	*E. hirae*, souche retrouvée dans des selles de souris naïves de tumeurs et de cyclophosphamide.	Non testée
13152	*E. hirae*, souche environnementale.	0
708	*E. hirae*, souche environnementale.	+++
13344	*E. hirae*, souche clinique d'endocardite, seule souche productrice de biofilm.	0
13357	*E. hirae* résistant à la vancomycine (souche *vanA*+).	Non testée

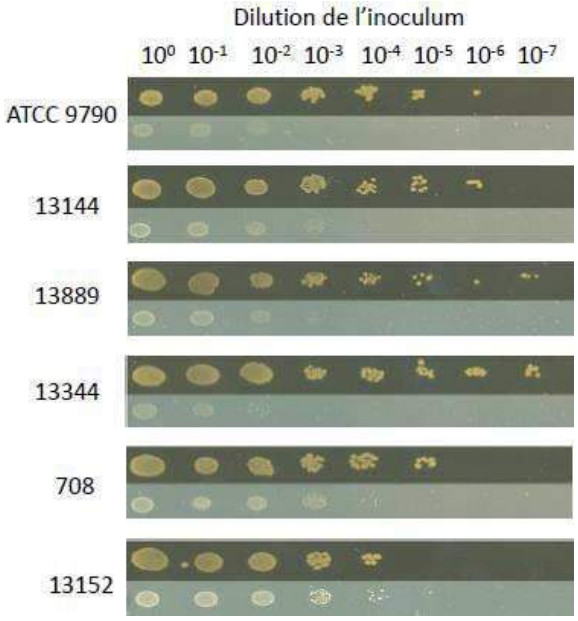

Figure 17 : Profils de résistance aux sels biliaires des différentes souches testées.
Pour chaque souche, la ligne du haut correspond au témoin, celle du bas à une concentration de 0.1% de sels biliaires.

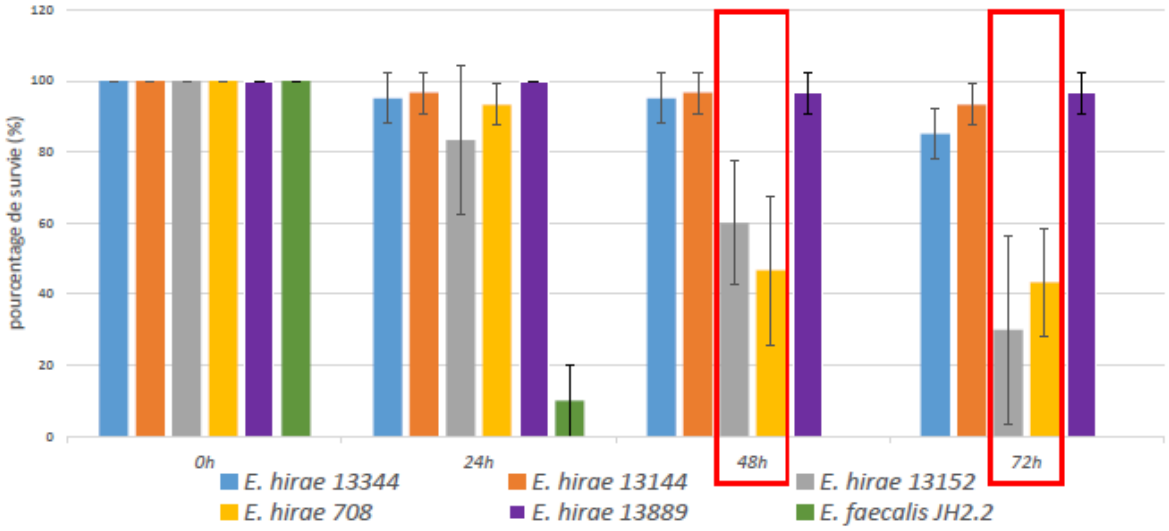

Figure 18 : Test de virulence *in vivo* de quelques souches.
La souche *Enterococcus faecalis JH2.2* est un témoin positif de virulence. Le pourcentage de survie correspond au nombre de chenilles vivantes après 72 heures d'inoculation par rapport au témoin sans inoculation

4. Conclusion.

Les cancers sont toujours un problème majeur de santé publique qui touche 3 millions de personnes en France et a tué 149 000 personnes en 2015. Leurs impacts socio-économiques sont donc très importants et nécessitent des progrès thérapeutiques. Les thérapies classiques donnent parfois des résultats satisfaisants mais leur toxicité est importante.

Les communications intercellulaires sont complexes et encore beaucoup étudiées. Elles concernent à la fois le développement tumoral et l'immunité qui sont étroitement liés. Nous nous sommes aussi rendu compte que ces voies de signalisation cellulaires étaient communes qu'ils s'agissent de tumeurs ou d'infections bactériennes. Les deux interagissent avec le SI qui est le garant de l'intégrité cellulaire et tissulaire du Corps Humain.

Les bactéries, désormais valorisées pour leurs rôles primordiaux au sein du microbiote intestinal, pourraient être parmi les nouveaux agents curatifs et préventifs, biologiquement actifs, dirigés spécifiquement contre les cancers. En utilisant leurs particularités métaboliques, la diversité du monde bactérien nous permet d'apercevoir de nouvelles stratégies thérapeutiques, plus spécifiques, plus efficaces et mieux tolérées. Ces stratégies sont variées. Elles englobent la vaccination, l'immunostimulation, la synthèse de vecteurs, l'utilisation de manipulations génétiques faciles afin de faire des bactéries de véritables atouts thérapeutiques.

Les actions complémentaires, déjà existantes, telles que la prophylaxie (concernant les comportements à risque et désormais concernant le bon entretien de notre microbiote intestinal) et le mieux-être pour les patients continuent aussi à se développer.

Les nouvelles stratégies exposées dans ce manuscrit sont encore du domaine de la recherche pour la plupart d'entre elles. Peu d'essais cliniques ont vu le jour. Cependant, certains résultats sont très prometteurs et il ne fait aucun doute que ce champ d'application de la bactériologie est plein d'avenir vu la diversité de cet univers et la nécessité d'innovations thérapeutiques en oncologie. Multidisciplinaires et complexes, ces voies nécessitent la collaboration de pharmaciens, pharmacologues, microbiologistes, immunologistes, oncologues, cliniciens. De plus, les liens avec le microbiote intestinal ouvre une nouvelle porte de diagnostic précoce et de dépistage de prédisposition en utilisant les nouvelles techniques de séquençage à haut débit.

5. Eléments bibliographiques.

Sites web consultés

http://www.archade.fr (consulté le 17/10/2016).

http://www.chu-besancon.fr/3c/psy_5fev09.pdf (consulté le 01/04/216).

http://lesdonnees.e-cancer.fr/les-fiches-de-synthese/29-incidence-mortalite/38-ensemble-des-cancers/#ind2 (consulté le 03/08/2015).

http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/chimioth-rapie (consulté le 01/04/216).

http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/hormonoth-rapie (consulté le 01/04/216).

http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/la-chirurgie (consulté le 01/04/216).

http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/radioth-rapie (consulté le 01/04/216).

http://www.canceronet.com/public/traitements/traitement12.asp (consulté le 04/08/2015).

http://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_1862015/quelques-mots-sur-la-chirurgie-oncologique-valide (consulté le 01/04/2016).

http://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_1862015/quelques-mots-sur-la-chirurgie-oncologique-valide (consulté le 01/04/216).

http://www.chu-besancon.fr/3c/psy_5fev09.pdf (consulté le 04/08/2015).

http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers (consulté le 20/11/2016).

http://www.ema.europa.eu/ema/ (consulté le 21/10/2016).

http://www.france-hadron.fr/fr/ (consulté le 17/10/2016).

http://www.gouvernement.fr/action/le-plan-cancer (consulté le 03/08/2015).

http://www.gouvernement.fr/sites/default/files/action/piece-jointe/2014/07/2014-02-03_plan_cancer.pdf (consulté le 03/08/2015).

http://hmpdacc.org/ (consulté le 01/04/2016).

http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/enjeux/enjeux-medicaux (consulté le 03/08/2015).

http://www.institutroialbertdeux.be/fr/specialities/index/speciality/29/title/Radioth%C3%A9rapie+oncologique (consulté le 01/04/216).

http://www.ligue-cancer.net/article/9523_le-cancer-en-france?gclid=CPXTjt33jscCFcTItAodB-4GEQ (consulté le 04/07/2015).

http://www.metahit.eu/ (consulté le 01/04/2016).

http://www.microbes-edu.org/ (consulté le 01/04/216).

http://www.microbiologybook.org/French-immuno/immchapter1.htm (consulté le 01/04/216).

http://www.microbiote-intestinal.fr/notion-de-probiotique (consulté le 01/04/216).

http://www.scienceshumaines.com/le-cancer-un-voyage-au-bout-de-soi_fr_28685.html (consulté le 04/08/2015).

https://fr.wikipedia.org/wiki/Cancer (consulté le 04/08/2015).

https://lejournal.cnrs.fr/articles/microbiote-des-bacteries-qui-nous-veulent-du-bien (consulté le 01/04/216).

https://www.gustaveroussy.fr/fr/content/hormonoth%C3%A9rapie-0 (consulté le 01/04/216).

https://www.gustaveroussy.fr/fr/content/la-chimioth%C3%A9rapie-1 (consulté le 01/04/216).

http://www.scienceshumaines.com/le-cancer-un-voyage-au-bout-de-soi_fr_28685.html (consulté le 01/04/216).

www.theriaque.org (consulté le 22/05/2016).

http://www.probiotictherapy.com.au/index.html (consulté le 22/05/2016).

Ouvrages et articles scientifiques.

Abbal, et Roche. 2013. « Immunité et Cancer ».

Abreu, Maria T. 2010. « Toll-like Receptor Signalling in the Intestinal Epithelium: How Bacterial Recognition Shapes Intestinal Function ». *Nature Reviews Immunology* 10 (2): 131‑44.

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (France). 2011. *Nutrition et cancer: légitimité de recommandations nutritionnelles dans le cadre de la prévention des cancers : rapport d'expertise collective*. Maisons-Alfort: ANSES.

Agrawal, Nishant, Chetan Bettegowda, Ian Cheong, Jean-Francois Geschwind, Charles G Drake, Edward L Hipkiss, Mitsuaki Tatsumi, et al. 2004. « Bacteriolytic therapy can generate a potent immune response against experimental tumors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (42): 15172‑77.

Al-Asmakh, Maha, et Lars Hedin. 2015. « Microbiota and the control of blood-tissue barriers ». *Tissue Barriers* 3 (3): e1039691.

Anand, Preetha, Ajaikumar B Kunnumakara, Chitra Sundaram, Kuzhuvelil B Harikumar, Sheeja T Tharakan, Oiki S Lai, Bokyung Sung, et Bharat B Aggarwal. 2008. « Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes ». *Pharmaceutical Research* 25 (9): 2097‑2116.

Angelakopoulos, Haroula, Katharina Loock, David M Sisul, Eric R Jensen, Jeff F Miller, et Elizabeth L Hohmann. 2002. « Safety and Shedding of an Attenuated Strain of Listeria monocytogenes with a Deletion of actA/plcB in Adult Volunteers: a Dose Escalation Study of Oral Inoculation ». *Infection and Immunity* 70 (7): 3592‑3601.

Askenasy, Nadir, Esma S. Yolcu, Isaac Yaniv, et Haval Shirwan. 2004. « Induction of tolerance using Fas ligand: a double-edged immunomodulator ». *Blood* 105 (4): 1396‑1404.

Bailey, Stefanie R., Michelle H. Nelson, Richard A. Himes, Zihai Li, Shikhar Mehrotra, et Chrystal M. Paulos. 2014. « Th17 Cells in Cancer: The Ultimate Identity Crisis ». *Frontiers in Immunology* 5 (juin).

Beaune, Philippe. 2001. « Alimentation et cancer : Interactions entre génétique et xénobiotiques ». In *Gastroentérologie clinique et biologique*, 25:B20‑25. Masson. http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=1054413.

Bernardes, Nuno, Raquel Seruca, Ananda M Chakrabarty, et Arsenio M Fialho. 2010. « Microbial-based therapy of cancer: Current progress and future prospects ». *Bioengineered Bugs* 1 (3): 178‑90.

Bettegowda, Chetan, Long H Dang, Ross Abrams, David L Huso, Larry Dillehay, Ian Cheong, Nishant Agrawal, et al. 2003. « Overcoming the hypoxic barrier to radiation therapy with anaerobic bacteria ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (25): 15083‑88.

Bianchi, Vincent, et Sarra El Anbassi. 2012. *Médicaments*. Bruxelles: De Boeck.

Bupathi, Manojkumar, et Christina Wu. 2016. « Biomarkers for immune therapy in colorectal cancer: mismatch-repair deficiency and others ». *Journal of Gastrointestinal Oncology* 7 (5): 713‑20.

Cao, Xuetao. 2016. « Self-Regulation and Cross-Regulation of Pattern-Recognition Receptor Signalling in Health and Disease ». *Nature Reviews Immunology* 16 (1): 35‑50.

Chaluvadi, Saikiran, Arland T. Hotchkiss Jr., et Kit L. Yam. 2016. « Chapter 36 - Gut Microbiota: Impact of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, Pharmabiotics, and Postbiotics on Human Health A2 - Watson, Ronald Ross ». In *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics*, édité par Victor R. Preedy, 515‑23. Academic Press. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128021897000368.

Chandra, D, A Jahangir, W Quispe-Tintaya, M H Einstein, et C Gravekamp. 2013. « Myeloid-derived suppressor cells have a central role in attenuated Listeria monocytogenes-based immunotherapy against metastatic breast cancer in young and old mice ». *British Journal of Cancer* 108 (11): 2281‑90.

Chorobik, Paulina, Dominik Czaplicki, Karolina Ossysek, et Joanna Bereta. 2013. « Salmonella and Cancer: From Pathogens to Therapeutics ». *Acta Biochimica Polonica* 60 (3): 285‑97.

Chow, Janet, et Sarkis K Mazmanian. 2010. « A Pathobiont of the Microbiota Balances Host Colonization and Intestinal Inflammation ». *Cell host & microbe* 7 (4): 265‑76.

Conejo-Garcia, Jose R., et Melanie R. Rutkowski. 2015. « Small but Mighty: Selected Commensal Bacterial Species Determine the Effectiveness of Anti-Cancer Immunotherapies ». *Immunity* 43 (6): 1037‑39.

Connell, Hendry C. 1935. « The Study and Treatment of Cancer by Proteolytic Enzymes: Preliminary Report ». *Canadian Medical Association Journal* 33 (4): 364‑70.

Cronin, Michelle, David Morrissey, Simon Rajendran, Shereen M El Mashad, Douwe van Sinderen, Gerald C O'Sullivan, et Mark Tangney. 2010. « Orally Administered Bifidobacteria as Vehicles for Delivery of Agents to Systemic Tumors ». *Molecular Therapy* 18 (7): 1397‑1407.

Daillère, Romain, Marie Vétizou, Nadine Waldschmitt, Takahiro Yamazaki, Christophe Isnard, Vichnou Poirier-Colame, Connie P. M. Duong, et al. 2016. « Enterococcus hirae and Barnesiella intestinihominis Facilitate Cyclophosphamide-Induced Therapeutic Immunomodulatory Effects ». *Immunity*. Consulté le octobre 18.

Dang, Long H, Chetan Bettegowda, David L Huso, Kenneth W Kinzler, et Bert Vogelstein. 2001. « Combination bacteriolytic therapy for the treatment of experimental tumors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (26): 15155‑60.

Di Mauro, Antonio, Josef Neu, Giuseppe Riezzo, Francesco Raimondi, Domenico Martinelli, Ruggiero Francavilla, et Flavia Indrio. 2013. « Gastrointestinal function development and microbiota ». *Italian Journal of Pediatrics* 39: 15‑15.

Diaz, Luis A., Ian Cheong, Catherine A. Foss, Xiaosong Zhang, Brock A. Peters, Nishant Agrawal, Chetan Bettegowda, et al. 2005. « Pharmacologic and Toxicologic Evaluation of C. novyi-NT Spores ». *Toxicological Sciences* 88 (2): 562‑75.

Duerkop, Breck A., Shipra Vaishnava, et Lora V. Hooper. 2009. « Immune Responses to the Microbiota at the Intestinal Mucosal Surface ». *Immunity* 31 (3): 368‑76.

Dzutsev, Amiran, Romina S. Goldszmid, Sophie Viaud, Laurence Zitvogel, et Giorgio Trinchieri. 2015. « The role of the microbiota in inflammation, carcinogenesis, and cancer therapy ». *European Journal of Immunology* 45 (1): 17‑31.

Efferth, Thomas, Paul C.H. Li, Venkata S. Badireenath Konkimalla, et Bernd Kaina. 2007. « From traditional Chinese medicine to rational cancer therapy ». *Trends in Molecular Medicine* 13 (8): 353‑61.

Ellmark, Peter, Sara M. Mangsbo, Christina Furebring, Per Norlén, et Thomas H. Tötterman. 2016. « Tumor-Directed Immunotherapy Can Generate Tumor-Specific T Cell Responses through Localized Co-Stimulation ». *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, octobre.

Erdman, Susan E., et Theofilos Poutahidis. 2015. « Gut Bacteria and Cancer ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1856 (1): 86‑90.

Everett, Jake A., et Kendra P. Rumbaugh. 2015. « Chapter 12 - Biofilms, Quorum Sensing and Crosstalk in Medically Important Microbes A2 - Tang, Yi-Wei ». In *Molecular Medical Microbiology (Second Edition)*, édité par Max Sussman, Dongyou Liu, Ian Poxton, et

Joseph Schwartzman, 235‑47. Boston: Academic Press. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123971692000123.
Faith, Jeremiah J., Janaki L. Guruge, Mark Charbonneau, Sathish Subramanian, Henning Seedorf, Andrew L. Goodman, Jose C. Clemente, et al. 2013. « The Long-Term Stability of the Human Gut Microbiota ». *Science* 341 (6141): 1237439.
Forbes, Neil S. 2010. « Engineering the perfect (bacterial) cancer therapy ». *Nature reviews. Cancer* 10 (11): 785‑94.
Gibson, Glenn R., et Marcel B. Roberfroid. 1995. « Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics ». *The Journal of Nutrition* 125 (6): 1401‑12.
Gophna, U. 2011. « The Guts of Dietary Habits ». *Science* 334 (6052): 45‑46.
Hill, Colin, Francisco Guarner, Gregor Reid, Glenn R. Gibson, Daniel J. Merenstein, Bruno Pot, Lorenzo Morelli, et al. 2014. « Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic ». *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 11 (8): 506‑14.
Hoffman, Robert M. 2013. « Tumor Growth Control with IDO-Silencing Salmonella—Letter ». *Cancer Research* 73 (14): 4591‑4591.
Hoffman, Robert M, et Ming Zhao. 2014. « Methods for the development of tumor-targeting bacteria ». *Expert Opinion on Drug Discovery* 9 (7): 741‑50.
Hooper, Lora V. 2004. « Bacterial contributions to mammalian gut development ». *Trends in Microbiology* 12 (3): 129‑34.
Hsiao, Chih-Cheng, Po-Han Chen, Cheng-I. Cheng, Ming-Shian Tsai, Chih-Yang Chang, Shang-Chieh Lu, Ming-Chu Hsieh, Yu-Chun Lin, Po-Huang Lee, et Ying-Hsien Kao. 2015. « Toll-like receptor-4 is a target for suppression of proliferation and chemoresistance in HepG2 hepatoblastoma cells ». *Cancer Letters*.
Hsiao, William W. L., Christine Metz, Davinder P. Singh, et Jesse Roth. 2008. « The Microbes of the Intestine: An Introduction to Their Metabolic and Signaling Capabilities ». *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 37 (4): 857‑71.
Hutter, Carolyn M, Leah E Mechanic, Nilanjan Chatterjee, Peter Kraft, Elizabeth M Gillander, et on behalf of the NCI Gene-Environment Think Tank. 2013. « Gene-Environment Interactions in Cancer Epidemiology: A National Cancer Institute Think Tank Report ». *Genetic epidemiology* 37 (7): 643‑57.
Iida, N., A. Dzutsev, C. A. Stewart, L. Smith, N. Bouladoux, R. A. Weingarten, D. A. Molina, et al. 2013. « Commensal Bacteria Control Cancer Response to Therapy by Modulating the Tumor Microenvironment ». *Science* 342 (6161): 967‑70.
Institut national du cancer. 2015. *Plan cancer 2014-2019: 1er rapport au Président de la République, février 2015*. [Boulogne-Billancourt]: Institut national du cancer.
Kim, Bong-Soo, Yoon-Seong Jeon, et Jongsik Chun. 2013. « Current Status and Future Promise of the Human Microbiome ». *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition* 16 (2): 71‑79.
Kim, Sun Hee, Francisco Castro, Yvonne Paterson, et Claudia Gravekamp. 2009. « High efficacy of a Listeria-based vaccine against metastatic breast cancer reveals a dual mode of action ». *Cancer research* 69 (14): 5860‑66.
Lepage, Patricia, Marion C Leclerc, Marie Joossens, Stanislas Mondot, Hervé M Blottière, Jeroen Raes, Dusko Ehrlich, et Joel Doré. 2013. « A metagenomic insight into our gut's microbiome ». *Gut* 62 (1): 146‑58.

Lichtenstein, Lev, Irit Avni-Biron, et Ofer Ben-Bassat. 2016. « Probiotics and prebiotics in Crohn's disease therapies ». *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, Pre- and Probiotics in Gastroenterology Practice, 30 (1): 81‑88.

Liu, Fang, Lei Zhang, Robert M Hoffman, et Ming Zhao. 2010. « Vessel destruction by tumor-targeting Salmonella typhimurium A1-R is enhanced by high tumor vascularity ». *Cell Cycle* 9 (22): 4518‑24.

Loeffler, Markus, Gaelle Le'Negrate, Maryla Krajewska, et John C Reed. 2007. « Attenuated Salmonella engineered to produce human cytokine LIGHT inhibit tumor growth ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (31): 12879‑83.

Martel, Catherine de, Jacques Ferlay, Silvia Franceschi, Jérôme Vignat, Freddie Bray, David Forman, et Martyn Plummer. 2015. « Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis ». *The Lancet Oncology* 13 (6): 607‑15.

Momiyama, Masashi, Ming Zhao, Hiroaki Kimura, Benjamin Tran, Takashi Chishima, Michael Bouvet, Itaru Endo, et Robert M Hoffman. 2012. « Inhibition and eradication of human glioma with tumor-targeting Salmonella typhimurium in an orthotopic nude-mouse model ». *Cell Cycle* 11 (3): 628‑32.

Nelson, Michelle H, Marshall A Diven, Logan W Huff, et Chrystal M Paulos. 2015. « Harnessing the Microbiome to Enhance Cancer Immunotherapy ». *Journal of Immunology Research* 2015: 368736.

Ottman, Noora, Hauke Smidt, Willem M. de Vos, et Clara Belzer. 2012. « The function of our microbiota: who is out there and what do they do? » *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2 (août).

Panda, Suchita, Ismail El khader, Francesc Casellas, Josefa López Vivancos, Montserrat García Cors, Alba Santiago, Silvia Cuenca, Francisco Guarner, et Chaysavanh Manichanh. 2014. « Short-Term Effect of Antibiotics on Human Gut Microbiota ». Édité par Paul D Cotter. *PLoS ONE* 9 (4): e95476.

Patyar, S, R Joshi, DS Prasad Byrav, A Prakash, B Medhi, et BK Das. 2010. « Bacteria in cancer therapy: a novel experimental strategy ». *Journal of Biomedical Science* 17 (1): 21‑21.

Poyart, Claire, Thierry Lambert, Philippe Morand, Philippe Abassade, Gilles Quesne, Yves Baudouy, et Patrick Trieu-Cuot. 2002. « Native Valve Endocarditis Due to Enterococcus hirae ». *Journal of Clinical Microbiology* 40 (7): 2689‑90.

Quispe-Tintaya, Wilber, Dinesh Chandra, Arthee Jahangir, Matthew Harris, Arturo Casadevall, Ekaterina Dadachova, et Claudia Gravekamp. 2013. « Nontoxic radioactive Listeria(at) is a highly effective therapy against metastatic pancreatic cancer ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (21): 8668‑73.

Richardson, M. A., T. Ramirez, N. C. Russell, et L. A. Moye. 1999. « Coley Toxins Immunotherapy: A Retrospective Review ». *Alternative Therapies in Health and Medicine* 5 (3): 42‑47.

Roberts, Nicholas J, Linping Zhang, Filip Janku, Amanda Collins, Ren-Yuan Bai, Verena Staedtke, Anthony W Rusk, et al. 2014. « Intratumoral injection of Clostridium novyi-NT spores induces antitumor responses ». *Science translational medicine* 6 (249): 249ra111-249ra111.

Sałaga, Maciej, Hubert Zatorski, Marta Sobczak, Chunqiu Chen, et Jakub Fichna. 2014. « Chinese Herbal Medicines in the Treatment of IBD and Colorectal Cancer: A Review ». *Current Treatment Options in Oncology* 15 (3): 405‑20.

Sanders, Mary Ellen, Irene Lenoir-Wijnkoop, Seppo Salminen, Daniel J. Merenstein, Glenn R. Gibson, Bryon W. Petschow, Max Nieuwdorp, et al. 2014. « Probiotics and prebiotics:

prospects for public health and nutritional recommendations ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1309 (1): 19‑29.

Sharma, Padmanee, et James P. Allison. 2015. « The Future of Immune Checkpoint Therapy ». *Science (New York, N.Y.)* 348 (6230): 56‑61.

Singh, Manisha, Ilyssa Ramos, Denise Asafu-Adjei, Wilber Quispe-Tintaya, Dinesh Chandra, Arthee Jahangir, Xingxing Zang, Bharat B Aggarwal, et Claudia Gravekamp. 2013. « Curcumin improves the therapeutic efficacy of Listeria(at)-Mage-b vaccine in correlation with improved T-cell responses in blood of a triple-negative breast cancer model 4T1 ». *Cancer Medicine* 2 (4): 571‑82.

Singh, et Wallecha. 2011. « Cancer Immunotherapy Using Recombinant *Listeria Monocytogenes* : Transition from Bench to Clinic ». *Human Vaccines* 7 (5): 497‑505.

Sivan, Ayelet, Leticia Corrales, Nathaniel Hubert, Jason B. Williams, Keston Aquino-Michaels, Zachary M. Earley, Franco W. Benyamin, et al. 2015. « Commensal Bifidobacterium Promotes Antitumor Immunity and Facilitates Anti-PD-L1 Efficacy ». *Science (New York, N.Y.)* 350 (6264): 1084‑89.

Solioz, Marc, Helge K. Abicht, Mélanie Mermod, et Stefano Mancini. 2010. « Response of Gram-Positive Bacteria to Copper Stress ». *Journal of Biological Inorganic Chemistry: JBIC: A Publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry* 15 (1): 3‑14.

Solioz, Marc, et Jivko V. Stoyanov. 2003. « Copper Homeostasis in Enterococcus Hirae ». *FEMS Microbiology Reviews* 27 (2‑3): 183‑95.

Stritzker, J, S Weibel, P Hill, T Oelschlaeger, W Goebel, et A Szalay. 2007. « Tumor-Specific Colonization, Tissue Distribution, and Gene Induction by Probiotic Escherichia Coli Nissle 1917 in Live Mice ». *International Journal of Medical Microbiology* 297 (3): 151‑62.

Taniguchi, Shun'ichiro, Minoru Fujimori, Takayuki Sasaki, Hiroko Tsutsui, Yuko Shimatani, Keiichi Seki, et Jun Amano. 2010. « Targeting Solid Tumors with Non-Pathogenic Obligate Anaerobic Bacteria ». *Cancer Science* 101 (9): 1925‑32.

Thompson, David B., Larry E. Siref, Michael P. Feloney, Ralph J. Hauke, et Devendra K. Agrawal. 2015. « Immunological Basis in the Pathogenesis and Treatment of Bladder Cancer ». *Expert review of clinical immunology* 11 (2): 265‑79.

Toso, Gill, Hwu, Marincola, Restifo, Schwartzentruber, Sherry, et al. 2002. « Phase I Study of the Intravenous Administration of Attenuated Salmonella Typhimurium to Patients with Metastatic Melanoma ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 20 (1): 142‑52.

Vétizou, Marie, Jonathan M. Pitt, Romain Daillère, Patricia Lepage, Nadine Waldschmitt, Caroline Flament, Sylvie Rusakiewicz, et al. 2015. « Anticancer Immunotherapy by CTLA-4 Blockade Relies on the Gut Microbiota ». *Science (New York, N.Y.)* 350 (6264): 1079‑84.

Viaud, S, R Daillere, I G Boneca, P Lepage, P Langella, M Chamaillard, M J Pittet, et al. 2015. « Gut microbiome and anticancer immune response: really hot Sh[ast]t! » *Cell Death Differ* 22 (2): 199‑214.

Viaud, Sophie, Fabiana Saccheri, Grégoire Mignot, Takahiro Yamazaki, Romain Daillère, Dalil Hannani, David P Enot, et al. 2013. « The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide ». *Science (New York, N.Y.)* 342 (6161): 971‑76.

Vuillet-A-Ciles, Hadrien, Aline Lagarde, et Jacques Buxeraud. 2014. « L'hormonothérapie anticancéreuse ». *Actualités Pharmaceutiques* 53 (540): 25‑29.

Williams, Paul. 2006. « Quorum sensing ». *International Journal of Medical Microbiology*, Quorum sensing in human pathogens, 296 (2–3): 57‑59. doi:10.1016/j.ijmm.2006.01.034.

Winzer, Klaus, Kim R Hardie, et Paul Williams. 2002. « Bacterial cell-to-cell communication: sorry, can't talk now — gone to lunch! » *Current Opinion in Microbiology* 5 (2): 216‑22.

Ye, Lin, Yongning Jia, Ke Ji, Andrew J Sanders, Kan Xue, Jiafu Ji, Malcolm D Mason, et Wen G Jiang. 2015. « Traditional Chinese medicine in the prevention and treatment of cancer and cancer metastasis (Review) ». *Oncology Letters* 10 (3): 1240‑50.

Zhao, Ming, Jack Geller, Huaiyu Ma, Meng Yang, Sheldon Penman, et Robert M Hoffman. 2007. « Monotherapy with a tumor-targeting mutant of Salmonella typhimurium cures orthotopic metastatic mouse models of human prostate cancer ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (24): 10170‑74.

Zu, Chao, et Jiansheng Wang. 2013. « Tumor-colonizing bacteria: A potential tumor targeting therapy ». *Critical Reviews in Microbiology* 40 (3): 225‑35.

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE L'U.F.R.

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises
dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.