

**Faculté de pharmacie
et des sciences biomédicales**

Les vaccins ARNm personnalisés contre le cancer

Auteur :

ABDELAZIZ Mourad

Promoteur(s) :

VAN BAREN Nicolas

Année académique :

2025-2026

Master en Sciences Pharmaceutiques à finalité spécialisée

Table des matières

Remerciements.....	2
Liste des tableaux	3
Liste des figures	3
Liste des abréviations	4
I. INTRODUCTION	6
II. Les principaux types de vaccins anticancéreux	7
III. Les vaccins à ARNm contre le cancer et leur mécanisme d'action	7
IV. Les types d'ARNm utilisés dans les vaccins contre le cancer	8
V. Les systèmes viraux et non viraux de délivrance de l'ARNm	11
Chargement ex vivo de l'ARNm dans les cellules dendritiques (DC).....	11
Injection directe d'ARNm, avec ou sans vecteur	12
VI. Conception et développement de nouveaux lipides pour les systèmes de délivrance LNP.....	13
VII. Efficacité préclinique des nanoparticules lipidiques et autres nanoparticules pour la délivrance de l'ARNm en cancérologie.....	16
VIII. Les différents antigènes ciblés dans les vaccins à ARNm contre le cancer	16
Nature des antigènes tumoraux reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques (CD8 ⁺)	16
Présentation des antigènes tumoraux par les molécules HLA et reconnaissance par le récepteur TCR.....	20
IX. Identification des néoantigènes pour la conception des vaccins à ARNm	22
X. Validation des néoantigènes	23
XI. Optimisation de la traduction et de la stabilité de l'ARNm	26
XII. Systèmes d'encapsulation de l'ARNm : focus sur les nanoparticules lipidiques (LNP)	30
Rôle des nanoparticules lipidiques (LNP)	30
Mécanisme d'internalisation et de libération intracellulaire des LNP	31
Traduction et présentation antigénique	32
XIII. Administration et réponse immunitaire induite par les vaccins à ARNm.....	32
XIV. Application clinique et essai récent de vaccin à ARNm contre le cancer	35
XV. Conclusion	40
Méthodologie	42
Bibliographie	43

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à mon promoteur, **Nicolas Van Baren**, pour son accompagnement précieux tout au long de ce travail. Ses conseils avisés, sa disponibilité et son expertise en immunologie tumorale ont été déterminants pour la réussite de ce mémoire.

Mes remerciements vont également à l'ensemble de mes professeurs qui m'ont enseigné les bases scientifiques nécessaires à la compréhension de ce sujet complexe, et dont les cours ont nourri ma réflexion tout au long de ce parcours.

Un immense merci à ma famille pour son soutien indéfectible, et plus particulièrement à mes parents dont l'amour, la patience et la confiance m'ont permis de mener ce projet à bien malgré les moments de doute. Sans vous tous, ce travail n'aurait pas vu le jour.

Je déclare sur l'honneur que ce mémoire a été écrit de ma plume, sans avoir sollicité d'aide extérieure illicite, qu'il n'est pas la reprise d'un travail présenté dans une autre institution pour évaluation, et qu'il n'a jamais été publié, en tout ou en partie.

Toutes les informations (idées, phrases, graphes, cartes, tableaux...) empruntées ou faisant référence à des sources primaires ou secondaires sont référencées adéquatement selon la méthode universitaire en vigueur. Je déclare avoir pris connaissance et adhérer au Code de déontologie pour les étudiants en matières d'emprunts, de citations et d'exploitation de sources diverses et savoir que le plagiat constitue une faute grave.

Liste des tableaux

Tableau 1:Antigènes tumoraux reconnus par les lymphocytes T CD8⁺	19
--	----

Liste des figures

Figure 1: Le mécanisme d'action des vaccins à ARNm contre le cancer	9
Figure 2: types d'ARNm utilisés dans les vaccins	10
Figure 3: calendrier de développement des technologies d'ARNm et des systèmes d'administration de LNP	13
Figure 4: les différents composants des LNP	15
Figure 5:Schéma général du traitement et de la présentation des antigènes tumoraux par les cellules cancéreuses via le CMH de classe I	21
Figure 6 : Résumé des trois principales méthodes utilisées pour valider l'immunogénicité des néoantigènes restreints au CMH de classe I ou II	25
Figure 7 : Mécanisme d'action des vaccins ARNm	33
Figure 8: Processus de fabrication d'un vaccin thérapeutique personnalisé à ARNm contre le cancer encapsulé dans des nanoparticules lipidiques (ARNm-LNP)	34

Liste des abréviations

- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **ARN** : Acide ribonucléique.
- **AUG** : Codon d'initiation de la traduction (méthionine).
- **CDS** : *Coding Sequence* (séquence codante).
- **CMH** : Complexe majeur d'histocompatibilité.
- **COVID** : *Coronavirus Disease*.
- **CPA** : Cellule présentatrice d'antigène.
- **CUG** : Codon alternatif d'initiation de la traduction.
- **DC** : *Dendritic Cell* (cellule dendritique).
- **DOPE** : *Dioleoylphosphatidylethanolamine*.
- **DOTMA** : *N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimethylammonium*.
- **EBV** : *Epstein–Barr Virus*.
- **ELISA** : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*.
- **ESO** : *Esophageal Squamous-cell carcinoma*.
- **FDA** : *Food and Drug Administration*.
- **GC** : Guanine–Cytosine.
- **GU** : Guanine–Uracile.
- **GZMB** : Granzyme B.
- **HLA** : *Human Leukocyte Antigen*.
- **HOBIT** : *Homolog of Blimp-1 in T cells*.
- **HPLC** : *High-Performance Liquid Chromatography*.
- **HPV** : *Human Papillomavirus*.
- **ICS** : *Intracellular Cytokine Staining*.
- **IFIT** : *Interferon-Induced Proteins with Tetratricopeptide Repeats*.
- **IFN** : Interféron.
- **IL** : Interleukine.
- **IMCODE** : *Immunogenic Coding Regions*.
- **IVT** : *In Vitro Transcription*.
- **LAGE** : *Lymphocyte Antigen Gene*.
- **LNP** : *Lipid Nanoparticles* (nanoparticules lipidiques).
- **LT** : Lymphocyte T.

- **MAGE** : *Melanoma Antigen Gene*.
- **MART** : *Melanoma Antigen Recognized by T cells* (MART-1).
- **MHC** : *Major Histocompatibility Complex*.
- **NetMHCpan** : est un outil de bioinformatique qui prédit la capacité de peptides à se lier aux molécules de CMH de classe I (HLA chez l'humain) à partir de leur séquence.
- **NGS** : *Next-Generation Sequencing*.
- **ORF** : *Open Reading Frame*.
- **PAL** : Poly(A) tail (queue polyadénylée).
- **PD** : *Programmed cell Death*.
- **PDAC** : *Pancreatic Ductal Adenocarcinoma*.
- **PEG** : Polyéthylène glycol.
- **PTEN** : *Phosphatase and Tensin Homolog*.
- **RFS** : *Recurrence-Free Survival*.
- **RIG** : *Retinoic acid-Inducible Gene*.
- **RNA** : *Ribonucleic Acid*.
- **SAM** : *Self-Amplifying Mrna*.
- **SARS** : *Severe Acute Respiratory Syndrome*.
- **SNV** : *Single Nucleotide Variant*.
- **STING** : *Stimulator of Interferon Genes*.
- **TAIL** : Queue poly(A).
- **TAP** : *Transporter Associated with Antigen Processing*.
- **TCR** : *T Cell Receptor*.
- **TLR** : *Toll-Like Receptor*.
- **TNF** : *Tumor Necrosis Factor*.
- **TRM** : *Tissue-Resident Memory T cells*.
- **UTR** : *Untranslated Region*.
- **VCE** : *Vaccine Clinical Efficacy*.

I. INTRODUCTION

Le cancer est l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde, malgré les progrès significatifs réalisés dans les traitements classiques tels que la chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie. Ces approches ciblent directement les cellules tumorales, mais présentent souvent des effets secondaires importants et des réponses thérapeutiques limitées dans les cas avancés de la maladie. En réponse à ces défis, les stratégies d'immunothérapie ont émergé comme des approches innovantes visant à mobiliser le système immunitaire de l'hôte pour reconnaître et éliminer les cellules cancéreuses de manière plus spécifique et durable .(Zhou et al. 2025)

Les vaccins contre le cancer représentent une sous-catégorie particulière de l'immunothérapie qui cherche à entraîner de façon proactive le système immunitaire à reconnaître des antigènes tumoraux spécifiques. Contrairement aux vaccins classiques contre les agents infectieux, qui ont traditionnellement été conçus pour stimuler la production d'anticorps neutralisants par les lymphocytes B, les vaccins thérapeutiques anticancéreux doivent activer principalement des réponses cellulaires médiées par les lymphocytes T, en particulier les lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺, capables de détruire les cellules tumorales exprimant l'antigène cible. Cette différence fonctionnelle est essentielle car la majeure partie des antigènes tumoraux est intracellulaire et ne peut être efficacement neutralisée par des anticorps seuls.(Makker, Galley, et Bennett 2024)

Les approches modernes de vaccination anticancéreuse exploitent des antigènes dérivés de mutations spécifiques des cellules tumorales (néoantigènes), des antigènes sur-exprimés ou d'origine virale, Antigènes de différenciation tumorale, Protéines aberrantes et antigènes dérivés d'altérations non génétiques, afin de contourner la tolérance immunitaire et induire une réponse T robuste. L'objectif principal est d'amplifier la présentation des antigènes tumoraux par les cellules présentatrices d'antigènes et de promouvoir l'activation et l'expansion des lymphocytes T effecteurs, conduisant à une immunité antitumorale durable. Cette stratégie s'appuie sur la compréhension contemporaine de l'immunologie des tumeurs, qui met en évidence l'importance des réponses cellulaires adaptatives plutôt que des réponses humorales dans le contrôle et l'élimination des cellules malignes.(Zhou et al. 2025)

Avec l'avènement des nouvelles technologies, notamment les vaccins à ARN messager (ARNm), qui ont démontré leur efficacité et sécurité dans le contexte de la pandémie de COVID-19, la recherche sur les vaccins anticancéreux a connu une accélération sans précédent.

Ces vaccins permettent une conception rapide, flexible et hautement personnalisée des antigènes à cibler, ouvrant la voie à des stratégies thérapeutiques individualisées qui peuvent considérablement améliorer les résultats cliniques pour les patients atteints de cancer.(Fu et al. 2025)

II. Les principaux types de vaccins anticancéreux

Il existe plusieurs types de vaccins anticancéreux incluant des antigènes tumoraux. **Les vaccins à ADN** se distinguent par leur faible coût, leur stabilité et leur capacité à coder plusieurs antigènes, mais leur efficacité clinique reste limitée en raison des difficultés à faire entrer l'ADN dans les cellules et parvenir au noyau cellulaire, avec un risque théorique d'intégration et de modification génomique. **Les vaccins à ARN**, en particulier à ARNm, offrent un développement rapide, une forte immunogénicité et une absence de risque d'intégration dans le génome, avec une efficacité élevée dans les cellules dendritiques, bien que leur instabilité et leur potentiel inflammatoire nécessitent des systèmes d'administration optimisés. **Les vaccins peptidiques ou protéiques** présentent un excellent profil de sécurité et une haute spécificité, notamment sous forme de peptides longs synthétiques, mais leur efficacité peut être limitée par les restrictions HLA et la nécessité d'adjuvants puissants. Les vaccins à base de cellules, principalement les vaccins à cellules dendritiques, induisent une stimulation immunitaire robuste et ont montré des bénéfices cliniques significatifs, au prix d'une fabrication complexe, coûteuse et hautement personnalisée. Enfin, **les vaccins utilisant des vecteurs viraux ou bactériens** bénéficient d'une immunogénicité intrinsèque et d'une réponse durable, mais leur efficacité est limitée par l'immunité anti-vecteur et par des contraintes logistiques, et réglementaires lourdes. (Fan et al. 2023)

Il faut noter que certains de ces vaccins, en particulier les vaccins à acides nucléiques ou à virus ou bactérie, possèdent des propriétés adjuvantes intrinsèques, certains de leurs composants ayant la capacité d'activer l'immunité innée. Ils apportent donc simultanément le ou les antigènes et des signaux de danger, qui ensemble sont requis pour induire une réponse immunitaire efficace.

III. Les vaccins à ARNm contre le cancer et leur mécanisme d'action

La pandémie de COVID-19 a marqué un tournant décisif dans l'histoire de la vaccination. Les deux vaccins à ARNm approuvés à l'origine dans cette indication, mRNA-1273 (Moderna) et BNT162b2 (Pfizer-BioNTech), ont été développés en un temps record et ont contribué à

contrôler efficacement la propagation du virus. Il convient de préciser que les technologies de vaccin ARNm « sur mesure » et de nanoparticules lipidiques comme vecteur étaient en cours de développement par ces firmes depuis des années, dans le but de les utiliser comme vaccin contre le cancer. Le succès des vaccins COVID-19 a donné un immense espoir pour le développement futur des vaccins à ARNm, tout en accélérant la recherche dans ce domaine et en stimulant l'industrie biopharmaceutique.(Ni 2023)

Le principe des vaccins à ARNm repose sur l'introduction dans l'organisme d'une molécule d'ARN simple brin codant pour une protéine virale ou un ou plusieurs antigènes tumoraux. Après l'injection, cet ARNm est capté par des cellules présentatrices d'antigène, principalement des cellules dendritiques. À l'intérieur de leur cytoplasme, l'ARNm est traduit en protéines néo-antigéniques, et il active ces cellules via les récepteurs Toll-like TLR7 et TLR8, et stimule leur maturation et leur capacité de présentation antigénique.

Une fois activées et matures, les cellules dendritiques migrent vers les ganglions lymphatiques, où elles déclenchent une réponse immunitaire humorale et cellulaire puissante. Comparés aux vaccins classiques, les vaccins à ARNm induisent une forte production d'interférons de type I et stimulent efficacement les lymphocytes T CD8+, essentiels à la destruction des cellules infectées par des pathogènes intracellulaires et des cellules tumorales.(Ni 2023)

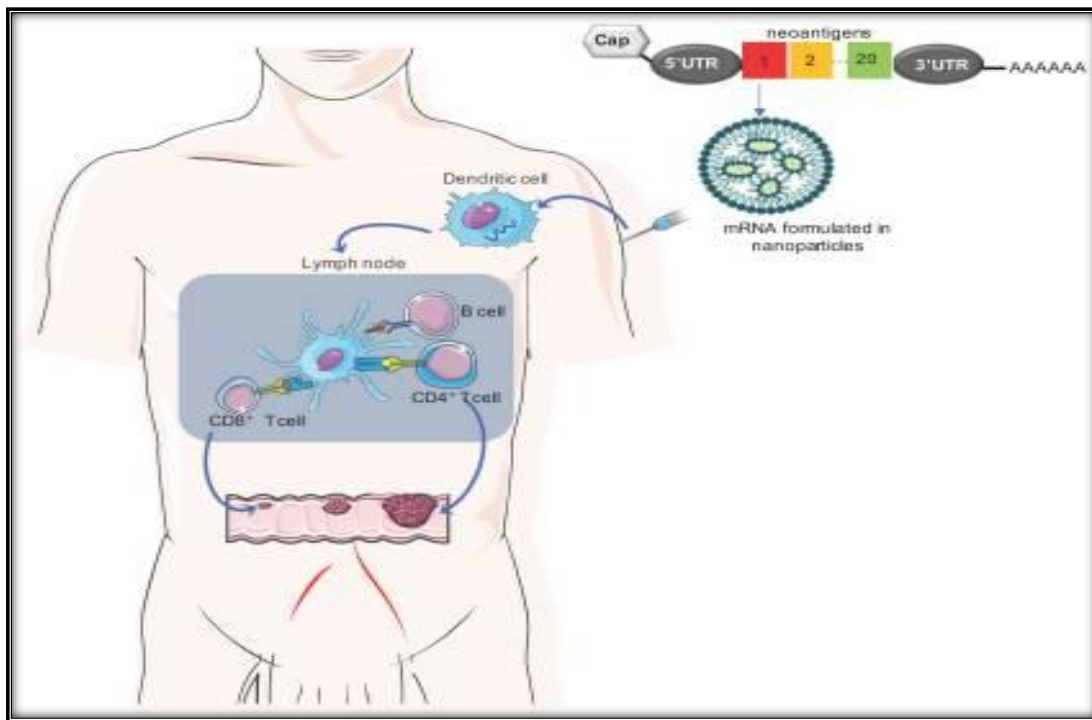
IV. Les types d'ARNm utilisés dans les vaccins contre le cancer

Les ARNm destinés au traitement du cancer se classent généralement en deux grandes catégories : l'ARNm non répliatif (appelé aussi ARNm conventionnel) et l'ARNm auto-amplifiant, connu sous le nom de réplicon RNA ou SAM. (Fu et al. 2025)

Les vaccins à ARNm conventionnels contiennent la séquence codant pour l'antigène d'intérêt ainsi que les régions non traduites 5' et 3' (UTR), indispensables à la stabilité et à la traduction du message. Ces ARNm ne possèdent pas la capacité de se répliquer et sont rapidement dégradés avant et après leur délivrance dans les cellules. Leur efficacité dépend donc directement du nombre de molécules injectées, ce qui nécessite parfois des doses répétées pour maintenir une expression protéique suffisante, ce qui engendre certaines préoccupations de l'utilisation à long terme.(Fu et al. 2025)

Les vaccins à ARNm auto-amplifiant (self-amplifying mRNA, SAM) se distinguent des ARNm conventionnels par l'intégration d'éléments dérivés de virus à ARN, notamment une ARN polymérase ARN-dépendante (réplicase). Cette machinerie permet une répliation

intracellulaire du message après son entrée dans la cellule cible, conduisant à une production prolongée et amplifiée de l'antigène.(Fu et al. 2025)



(Ni 2023)

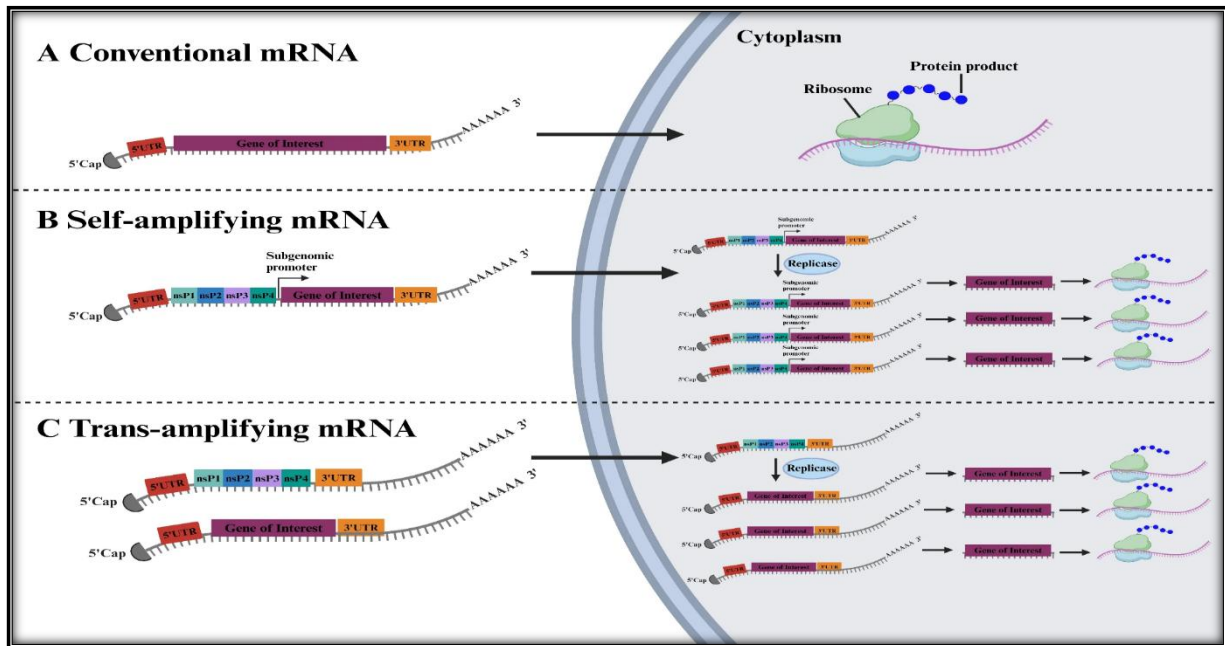
Figure 1: Le mécanisme d'action des vaccins à ARNm contre le cancer

Grâce à ce mécanisme, un seul ARN introduit peut générer un grand nombre de copies intracellulaires, ce qui renforce l'expression antigénique et l'intensité de la réponse immunitaire. Cette auto-amplification permet d'atteindre une efficacité immunologique comparable, voire supérieure, à celle des vaccins à ARNm classiques, tout en utilisant des doses nettement plus faibles, pouvant être réduites de 100 à 1 000 fois. (Fu et al. 2025) (Hu et al. 2023)

On a aussi l'ARN trans-amplificateur (taRNA) qui est une version dérivée des SAM. La différence est que dans les SAM (saRNA), la séquence codant la réplicase et celle codant l'antigène sont dans la même chaîne d'ARNm, ce qui donne naissance à des séquences très longues et parfois difficiles à produire, à stabiliser et à délivrer efficacement.

Le développement des ARN trans-amplifiants (taRNA) permet de surmonter ces défis par la séparation de ces deux séquences en deux ARN distincts, le premier qui code pour la réplicase

et le deuxième qui code pour l'antigène d'intérêt (appelé trans-réplicon). (Yıldız, Răileanu, et Beissert 2024)



(Fu et al. 2025)

Figure 2: types d'ARNm utilisés dans les vaccins

Ainsi, la réplicase produite par le premier ARN permet la réplication du trans-réplicon dans le cytoplasme, assurant une production efficace d'antigène tout en améliorant la sécurité, la stabilité et la simplicité de fabrication par rapport au saRNA classique.(Fu et al. 2025)

On a aussi Les ARN circulaires (circRNA) qui représentent une classe particulière d'ARN présent chez de nombreux eucaryotes ainsi que chez certains virus. Leur structure fermée en anneau les rend résistants à la dégradation par les exonucléases, contrairement aux ARN linéaires.

Cette stabilité remarquable, associée à des travaux récents démontrant que des circRNA synthétiques peuvent servir de matrices efficaces pour la traduction de protéines, positionne ces molécules comme des candidats prometteurs pour les applications thérapeutiques à base d'ARN, notamment dans le domaine des vaccins et de la thérapie génique. Mais les circARN sont encore en phase de recherche (leur emploi contre le cancer demande encore des recherches approfondies). (Amaya et al. 2023)

Récemment, une nouvelle génération d'ARN messagers appelée ARNm minimal synthétisé chimiquement (CmRNA) a été développée comme une alternative plus stable, spécifique, efficace et sûre aux ARNm transcrits in vitro (IVT-mRNA) utilisés en immunothérapie anticancéreuse.

Le CmRNA se distingue par l'absence de coiffe (cap) et de queue poly(A). Il code généralement pour de courts peptides de 15 à 25 acides aminés, correspondant à seulement quelques centaines de nucléotides. Cette structure simplifiée lui confère une meilleure stabilité et une capacité accrue à activer le système immunitaire.

Malgré certains défis liés à l'optimisation des systèmes de délivrance et à la standardisation de la production, les CmRNA représentent une approche prometteuse en raison de leur stabilité élevée, de leur traduction efficace, et de leur simplicité structurelle. Comparé aux ARNm conventionnels, le CmRNA est plus court et moins complexe, ce qui le rend moins sensible à la dégradation et plus facilement modulable par des modifications chimiques ciblées.(Imani, Tagit, et Pichon 2024)

V. Les systèmes viraux et non viraux de délivrance de l'ARNm

Depuis le début d'utilisation des vaccins à ARNm plusieurs stratégies de délivrance ont été développées. Elles se répartissent en deux approches :

- le chargement ex vivo de l'ARNm dans des cellules dendritiques (DCs).
- l'injection directe d'ARNm, avec ou sans vecteur.

Chargement ex vivo de l'ARNm dans les cellules dendritiques (DC)

Les cellules dendritiques sont les cellules présentatrices d'antigènes les plus efficaces du système immunitaire. Des cellules précurseurs, les monocytes, sont prélevées chez le patient, souvent par leucaphérèse, et mises en culture en présence d'agents induisant leur différenciation en cellules dendritiques. Elles sont ensuite transfectées avec un ARNm codant pour un ou plusieurs antigènes tumoraux exprimés par leur tumeur, puis elles sont réinjectées au patient pour déclencher une réponse immunitaire ciblée.

Les cellules dendritiques peuvent internaliser l'ARNm nu par endocytose, mais pour une transfection plus efficace l'optimisation est faite par électroporation, ce qui permet d'obtenir des rendements élevés. Le chargement ex vivo peut aussi inclure des ARNm supplémentaires codant des molécules co-stimulatrices (par ex. CD83, TNFRSF4, 4-1BBL), ce qui augmente fortement le pouvoir immunostimulant des DC.

L'inconvénient majeur de cette approche réside dans son coût élevé et sa charge importante de travail, car elle nécessite plusieurs étapes complexes en laboratoire.(Vishweshwaraiah et Dokholyan 2022)

Injection directe d'ARNm, avec ou sans vecteur

L'injection directe d'ARNm représente une approche plus rapide et moins coûteuse que la stratégie ex vivo. Les progrès dans ce domaine ont permis d'améliorer la précision et l'efficacité de la délivrance cellulaire spécifique des vaccins à ARNm.

L'ARNm nu a déjà été utilisé avec succès pour des immunisations in vivo. Dans cette méthode, les vaccins sont formulés uniquement dans une solution tampon, sans vecteur ni adjuvant. L'ARNm natif est directement injecté dans l'organisme, où il peut induire la production d'anticorps spécifiques de l'antigène ainsi qu'une réponse immunitaire à médiation cellulaire impliquant les lymphocytes T.

Cependant, la principale limite de cette plateforme repose sur la courte demi-vie extracellulaire de l'ARNm nu, rapidement dégradé par les ribonucléases présentes dans le milieu biologique. Cette instabilité réduit l'efficacité de la transfection et la durée de l'expression antigénique, d'où la nécessité de systèmes de délivrance protecteurs, comme les nanoparticules lipidiques (LNP) ou d'autres vecteurs non viraux. **(Vishweshwaraiah et Dokholyan 2022)**

Au cours de la dernière décennie, le développement de systèmes de délivrance viraux et non viraux a suscité un intérêt croissant en tant que stratégie prometteuse pour le transfert d'acide nucléique et la production de protéines thérapeutiques humaines. L'objectif est d'obtenir une expression efficace du gène cible tout en réduisant la toxicité inflammatoire et cellulaire. **(Kiaie et al. 2022)**

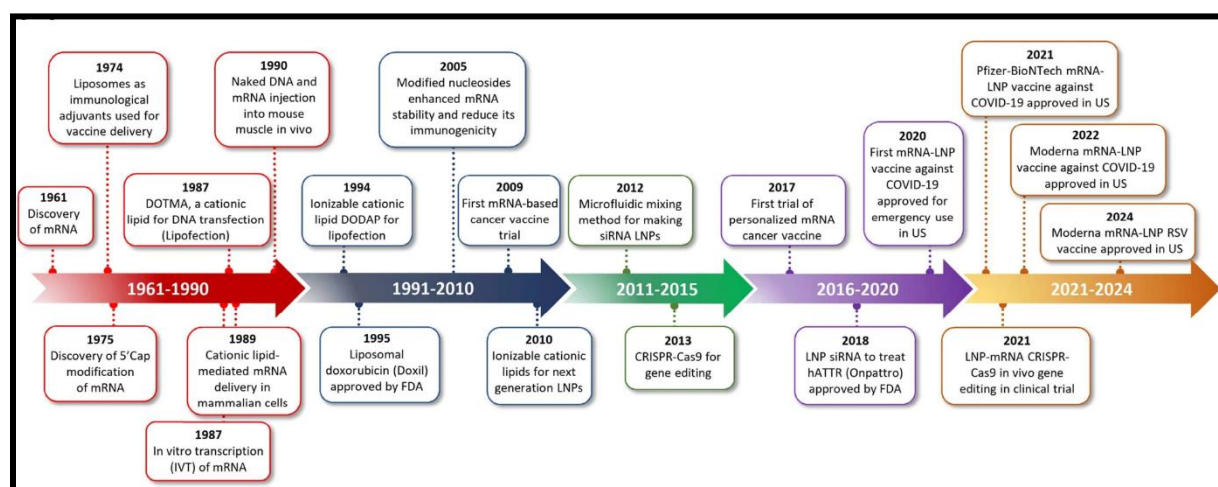
Les vecteurs viraux, bien qu'efficaces pour la transfection des cellules hôtes, présentent plusieurs limites : un risque d'intégration dans le génome, une toxicité inflammatoire accrue, une toxicité potentielle et une taille d'insert restreinte. En outre une immunisation contre le vecteur réduit l'efficacité de vaccinations répétées, ce qui rend leur utilisation inadaptée pour des thérapies à long terme.

En revanche, les vecteurs non viraux ont été conçus pour contourner ces inconvénients. Ils provoquent une stimulation immunitaire moindre, réduisent la cytotoxicité et limitent les interactions non spécifiques avec les protéines sériques ou les cellules non ciblées. Ces vecteurs permettent également une délivrance ciblée et efficace dans plusieurs tissus, améliorant la biodistribution et la sécurité du traitement. **(Kiaie et al. 2022)**

Parmi les approches non virales, plusieurs catégories ont été développées : les nanoparticules polymériques, les nanoparticules hybrides, et les systèmes à base de matrices (scaffold-

mediated NPs). Toutefois, ce sont les nanoparticules lipidiques (LNP) qui se sont imposées comme le vecteur de référence pour la délivrance de l'ARNm.

L'utilisation des liposomes pour le transport de l'ARNm remonte à 1978, mais ce n'est qu'à partir de 2015 que les LNP modernes ont été optimisées afin de réduire la toxicité et l'immunogénicité, tout en assurant une transfection efficace in vivo. Ces avancées ont permis de transformer les LNP en plateformes clés pour le développement de vaccins et de traitements à base d'ARNm, notamment dans le domaine du cancer et des maladies infectieuses. (Kiaie et al. 2022)



(Lu et al. 2024)

Figure 3: calendrier de développement des technologies d'ARNm et des systèmes d'administration de LNP

VI. Conception et développement de nouveaux lipides pour les systèmes de délivrance LNP

Les nanoparticules lipidiques (lipid nanoparticles, LNP) se sont imposées comme des systèmes de délivrance de référence pour les vaccins et thérapies à base d'ARNm, en raison de leur capacité à protéger les acides nucléiques contre la dégradation enzymatique, à améliorer leur stabilité systémique et à favoriser leur internalisation cellulaire. Les avancées récentes dans ce domaine ont montré que la performance biologique des LNP dépend étroitement de la nature chimique et des propriétés physicochimiques de chacun de leurs composants lipidiques, ce qui a conduit au développement rationnel de nouvelles générations de lipides optimisés. (Lu et al. 2024)

1. Lipides cationiques ou ionisables

Les lipides cationiques ou ionisables constituent l'élément central des LNP, car ils assurent la complexation électrostatique avec l'ARNm. Les lipides ionisables de nouvelle génération sont conçus pour être faiblement chargés à pH physiologique, ce qui limite leur toxicité systémique, tout en devenant fortement protonés en milieu acide, notamment dans les endosomes. Cette protonation favorise l'interaction avec les lipides endosomaux anioniques, entraînant une déstabilisation membranaire et facilitant la libération de l'ARNm dans le cytoplasme. Les travaux récents mettent l'accent sur le développement de lipides ionisables biodégradables, intégrant des liaisons esters ou disulfures, afin de réduire l'accumulation tissulaire et les effets indésirables. (Lu et al. 2024)

2. Phospholipides auxiliaires

Les phospholipides auxiliaires jouent un rôle structural essentiel dans l'assemblage des LNP. Ils contribuent à la formation de la bicouche lipidique, à la stabilité mécanique des particules et à leur interaction avec les membranes biologiques. En modulant la rigidité et la fluidité de la nanoparticule, ces lipides influencent la biodistribution, l'endocytose et la fusion membranaire. Les études récentes soulignent que le choix du phospholipide peut impacter significativement l'efficacité de la délivrance intracellulaire et la cinétique de libération de l'ARNm. (Lu et al. 2024)

3. Lipides PEGylés

Les lipides PEGylés, obtenus par l'ancrage de chaînes de polyéthylène glycol (PEG) à la surface des LNP, sont utilisés pour améliorer leur stabilité colloïdale et prolonger leur temps de circulation systémique. Le PEG limite l'adsorption des protéines plasmatiques et réduit la reconnaissance par le système immunitaire inné. Toutefois, la densité et la longueur des chaînes PEG doivent être finement ajustées, car une PEGylation excessive peut diminuer l'absorption cellulaire et l'efficacité de transfection. Les recherches récentes visent à développer des lipides PEGylés « clivables », capables de se détacher après administration afin d'optimiser l'équilibre entre furtivité et efficacité biologique. (Lu et al. 2024)

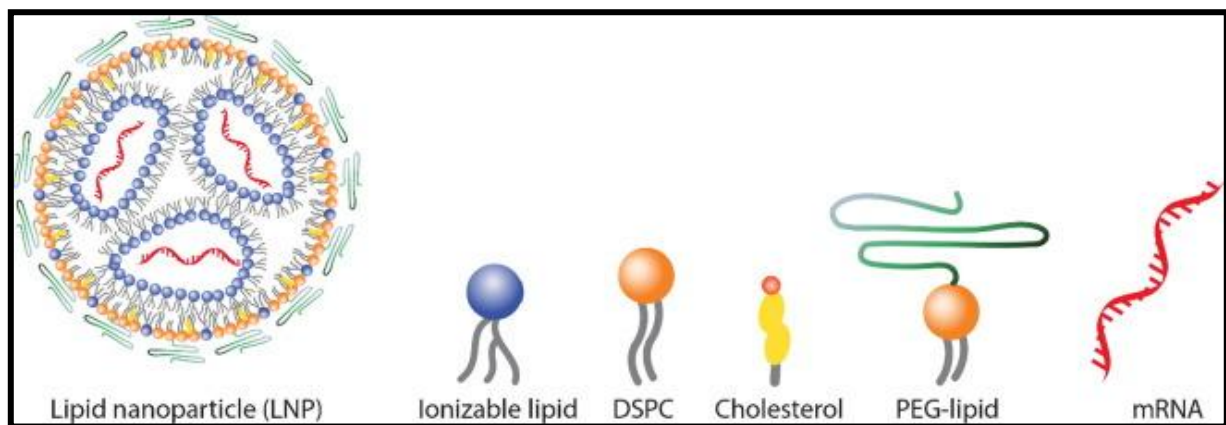
4. Cholestérol

Le cholestérol est un composant clé des LNP, contribuant à leur cohésion structurale et à leur biocompatibilité. Il améliore l'organisation lipidique, renforce la stabilité de la nanoparticule et facilite les interactions avec les membranes cellulaires. Des modifications structurales du

cholestérol ont récemment été explorées afin d'optimiser la fluidité membranaire, la fusion endosomale et la délivrance cytoplasmique de l'ARNm. Ces approches montrent que le cholestérol ne joue pas un rôle purement passif, mais participe activement à la performance des LNP. (Lu et al. 2024)

Perspectives de développement

Les efforts actuels de recherche se concentrent sur la conception de nouveaux lipides multifonctionnels, combinant biodégradabilité, efficacité de délivrance et spécificité tissulaire. L'ingénierie fine des composants lipidiques vise à améliorer la sécurité des formulations, à réduire la toxicité inflammatoire et à moduler la réponse immunitaire induite par les vaccins à ARNm. Ces avancées positionnent les LNP comme une plateforme modulable et évolutive, essentielle au développement des futures stratégies vaccinales et thérapeutiques personnalisées. (Lu et al. 2024)



(Hald Albertsen et al. 2022)

Figure 4: les différents composants des LNP

L'optimisation des systèmes de délivrance est une étape essentielle pour la stabilité, la biodistribution et l'expression efficace de l'ARNm qui code les antigènes tumoraux.

Cependant, la réussite d'un vaccin à ARNm ne dépend pas uniquement du vecteur utilisé : elle repose aussi sur le choix des antigènes ciblés, capables de déclencher une réponse immunitaire antitumorale spécifique et durable.

Les progrès réalisés ont permis d'identifier un large éventail d'antigènes associés ou spécifiques aux tumeurs, ouvrant la voie au développement de vaccins personnalisés capables de s'adapter au profil génétique de chaque patient.

VII. Efficacité préclinique des nanoparticules lipidiques et autres nanoparticules pour la délivrance de l'ARNm en cancérologie

Les études précliniques montrent que les nanoparticules lipidiques (LNP) constituent des vecteurs particulièrement prometteurs pour la délivrance d'ARNm en cancérologie, aussi bien pour des vaccins que pour des approches de thérapie génique. Des formulations optimisées de LNP permettent de délivrer un ARNm codant un antigène tumoral, d'induire une forte réponse des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques et de freiner significativement la croissance tumorale, notamment via l'activation de voies de signalisation comme STING et la production locale de cytokines pro-inflammatoires. D'autres travaux ont montré que des LNP peuvent restaurer l'expression de gènes suppresseurs de tumeur (tels que PTEN ou p53) ou co-délivrer des ARN thérapeutiques (siRNA anti-PD-L1 et ARNm codant un antigène) vers les cellules dendritiques et les ganglions lymphatiques, ce qui renforce l'activation des lymphocytes T CD8⁺ et potentialise l'effet d'inhibiteurs de points de contrôle immunitaires. Dans l'ensemble, ces résultats soulignent le fort potentiel des LNP et de nanoparticules apparentées comme plateformes de délivrance de l'ARNm en immunothérapie anticancéreuse, tout en rappelant que les mécanismes d'action détaillés et les effets à long terme doivent encore être clarifiés avant une utilisation clinique à grande échelle.(Laila, An, et Xu 2024)

VIII. Les différents antigènes ciblés dans les vaccins à ARNm contre le cancer

Nature des antigènes tumoraux reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques (CD8⁺)

Les lymphocytes T cytotoxiques (LT CD8⁺) reconnaissent spécifiquement des peptides antigéniques dérivés de protéines intracellulaires, présentés à la surface des cellules tumorales par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH I / HLA-I). Ces peptides résultent de la dégradation protéasomale des protéines tumorales et leur présentation conditionne l'activation de la réponse immunitaire antitumorale. Les antigènes tumoraux peuvent être classés en plusieurs catégories selon leur origine biologique, leur spécificité tumorale et leur potentiel immunogène.(Coulie et al. 2014)

1. Néo-antigènes tumoraux (antigènes mutés)

Les néo-antigènes tumoraux dérivent de mutations somatiques spécifiques des cellules cancéreuses, telles que des mutations ponctuelles, des insertions ou des délétions. Ces

altérations génétiques génèrent des peptides totalement nouveaux, absents des cellules normales. En raison de cette spécificité tumorale stricte, les néo-antigènes ne sont pas soumis à la tolérance immunitaire et présentent une forte immunogénicité.

Les néo-antigènes sont aujourd'hui considérés comme les cibles les plus prometteuses de l'immunothérapie moderne, notamment dans les stratégies de vaccins anticancéreux personnalisés et les thérapies à base de lymphocytes T. Leur reconnaissance par les LT CD8⁺ dépend de leur capacité à être efficacement présentés par les molécules HLA-I du patient.(Schumacher et Schreiber 2015)

2. Protéines aberrantes et antigènes dérivés d'altérations non génétiques

Outre les mutations somatiques classiques, certaines cellules tumorales expriment des antigènes dérivés de protéines aberrantes, résultant d'anomalies de l'expression génique, de défauts d'épissage, de dérégulations traductionnelles ou de modifications post-traductionnelles anormales. Ces altérations conduisent à la production de peptides inhabituels qui peuvent être reconnus comme non-soi par le système immunitaire.

Parmi ces antigènes figurent notamment les peptides issus de frameshifts aberrants, de protéines tronquées, ou encore de protéines normalement silencieuses mais réactivées dans un contexte tumoral. Bien que ces antigènes ne soient pas toujours associés à des mutations ponctuelles détectables, ils peuvent être présentés par les molécules HLA de classe I et déclencher des réponses des lymphocytes T CD8⁺.(Coulie et al. 2014; Schumacher et Schreiber 2015)

Outre ces protéines aberrantes dérivées d'altérations non génétiques, une autre catégorie importante d'antigènes tumoraux est représentée par les antigènes cancer-germline (ou antigènes cancer-testis). Ces protéines sont exprimées dans de nombreux types de cancers, alors que, dans les tissus normaux, leur expression est normalement restreinte aux cellules germinales testiculaires, qui n'expriment pas les molécules HLA-I et ne participent donc pas à la présentation antigénique au cours de la sélection thymique. En conséquence, les antigènes cancer-germline échappent à la tolérance centrale et peuvent être reconnus comme non-soi par les lymphocytes T, ce qui leur confère un fort potentiel immunogène en contexte tumoral. Des antigènes tels que MAGE-A, NY-ESO-1 ou LAGE-1 sont capables d'induire des réponses robustes de lymphocytes T CD8⁺ et font l'objet de nombreuses stratégies d'immunothérapie, notamment vaccins et thérapies cellulaires ciblant spécifiquement ces épitopes.(Coulie et al. 2014)

3. Antigènes oncoviraux

Les antigènes oncoviraux dérivent de protéines exprimées par des virus oncogènes intégrés ou persistants dans les cellules tumorales. Contrairement aux antigènes tumoraux d'origine cellulaire, ces protéines virales sont totalement étrangères à l'organisme humain, ce qui leur confère une spécificité tumorale élevée et une forte immunogénicité, en l'absence de tolérance centrale.

Des exemples incluent les protéines E6 et E7 du papillomavirus humain (HPV) dans les cancers du col de l'utérus et de l'oropharynx, ainsi que les antigènes dérivés du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans certains lymphomes et carcinomes nasopharyngés. Ces antigènes sont exprimés de manière constitutive dans les cellules tumorales et jouent souvent un rôle direct dans la transformation maligne, ce qui limite les mécanismes d'échappement tumoral par perte d'expression.

Des peptides dérivés des antigènes oncoviraux sont efficacement présentés par les molécules du CMH de classe I et reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺, induisant des réponses immunitaires puissantes. En raison de ces caractéristiques, les antigènes oncoviraux constituent des cibles privilégiées pour les stratégies vaccinales anticancéreuses, aussi bien prophylactiques que thérapeutiques.(Coulie et al. 2014; Schumacher et Schreiber 2015)

4. Antigènes de différenciation tumorale

Les antigènes de différenciation correspondent à des protéines exprimées physiologiquement par un tissu donné et conservées dans les cellules tumorales issues de ce tissu. Ils reflètent donc l'origine cellulaire de la tumeur. Un exemple bien caractérisé est Melan-A/MART-1, exprimé par les mélanocytes normaux et les cellules de mélanome. Ces antigènes peuvent être reconnus par les LT CD8⁺ lorsqu'ils sont présentés par les molécules HLA-I, mais cette immunité est souvent limitée par les mécanismes de tolérance immunitaire, car ils sont considérés comme des antigènes du soi. En outre, des réactions auto-immunes contre le tissu d'origine, par exemple du vitiligo dans le cas de Melan-A, peuvent suivre l'immunisation.

En conséquence, bien que ces antigènes puissent induire une réponse cytotoxique, celle-ci est souvent de faible intensité ou transitoire, ce qui limite leur efficacité thérapeutique.(Coulie et al. 2014)

5. Antigènes surexprimés ou amplifiés

Les antigènes surexprimés sont issus de protéines présentes à bas niveau dans les cellules normales, mais fortement surexprimées dans les cellules tumorales en raison de mécanismes d'amplification génique ou de dérégulation transcriptionnelle. Des exemples incluent HER2/neu, WT1 ou p53. La surexpression conduit à une augmentation de la quantité de peptides dérivés présentés par le CMH I, favorisant ainsi leur reconnaissance par les LT CD8⁺.

Cependant, comme ces antigènes sont également exprimés dans les cellules normales, ils restent soumis à la tolérance immunitaire et peuvent induire des réponses auto-immunes limitées ou des réponses antitumorales modérées. (Coulie et al. 2014)

Catégorie	Origine	Spécificité tumorale	Exemples
Néo-antigènes tumoraux	Peptides issus de mutations somatiques	Très élevée	Néo-épitopes spécifiques
Protéines aberrantes	Anomalies d'expression ou d'épissage	Variable	Protéines tronquées
Antigènes cancer-testis	Exprimés dans les cancers, absents des tissus normaux somatiques	Élevée	MAGE-A, NY-ESO-1
Antigènes oncoviraux	Protéines virales oncogènes	Très élevée	HPV E6/E7, EBV
Antigènes de différenciation	Protéines normales d'un tissu conservées dans la tumeur	Faible	Melan-A
Antigènes surexprimés	Protéines normales fortement surexprimées	Modérée	HER2, p53

Tableau 1: Antigènes tumoraux reconnus par les lymphocytes T CD8⁺

Cependant, l'immunogénicité de ces antigènes reste variable et dépend fortement de leur niveau d'expression, de leur stabilité et de leur efficacité de présentation antigénique. Leur identification et leur exploitation thérapeutique demeurent un domaine de recherche actif, en

particulier dans le cadre des vaccins anticancéreux personnalisés, où ils peuvent élargir le répertoire des cibles immunologiques potentielles.(Coulie et al. 2014; Schumacher et Schreiber 2015)

Rappel

Présentation des antigènes tumoraux par les molécules HLA et reconnaissance par le récepteur TCR

1. Rôle central des molécules HLA dans la présentation antigénique tumorale

La reconnaissance immunitaire des cellules tumorales par les lymphocytes T cytotoxiques repose sur la présentation de peptides antigéniques par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité humain (HLA). Les protéines intracellulaires sont dégradées par le protéasome en peptides de 8 à 11 acides aminés. Ces peptides sont ensuite transportés vers le réticulum endoplasmique via le transporteur TAP, chargés sur les molécules HLA de classe I, puis exprimés à la surface cellulaire sous forme de complexes peptide–HLA. Cette présentation est indispensable à la surveillance immunitaire et conditionne l'activation des lymphocytes T CD8⁺. La tolérance immunitaire élimine ou inhibe les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques de peptides normaux. Seuls les peptides dérivant de protéines anormales, soit d'origine virale, soit altérées dans des cellules cancéreuses, peuvent par conséquent faire l'objet d'une réponse immune spécifique. (Liu et al. 2023)

2. Diversité des molécules HLA-I et impact des allèles sur la reconnaissance tumorale

Les molécules HLA de classe I comprennent trois loci majeurs : HLA-A, HLA-B et HLA-C. Ces gènes sont parmi les plus polymorphes du génome humain, avec plusieurs milliers d'allèles décrits pour chacun. Chaque allèle possède une poche de liaison peptidique spécifique, déterminant les peptides capables d'être présentés. Ainsi, la présentation d'un antigène tumoral dépend étroitement du génotype HLA du patient. Cette diversité explique les différences interindividuelles observées dans les réponses immunitaires antivirales et antitumorales et constitue un facteur clé dans la conception des vaccins anticancéreux personnalisés.(Raghavan et Geng 2015)

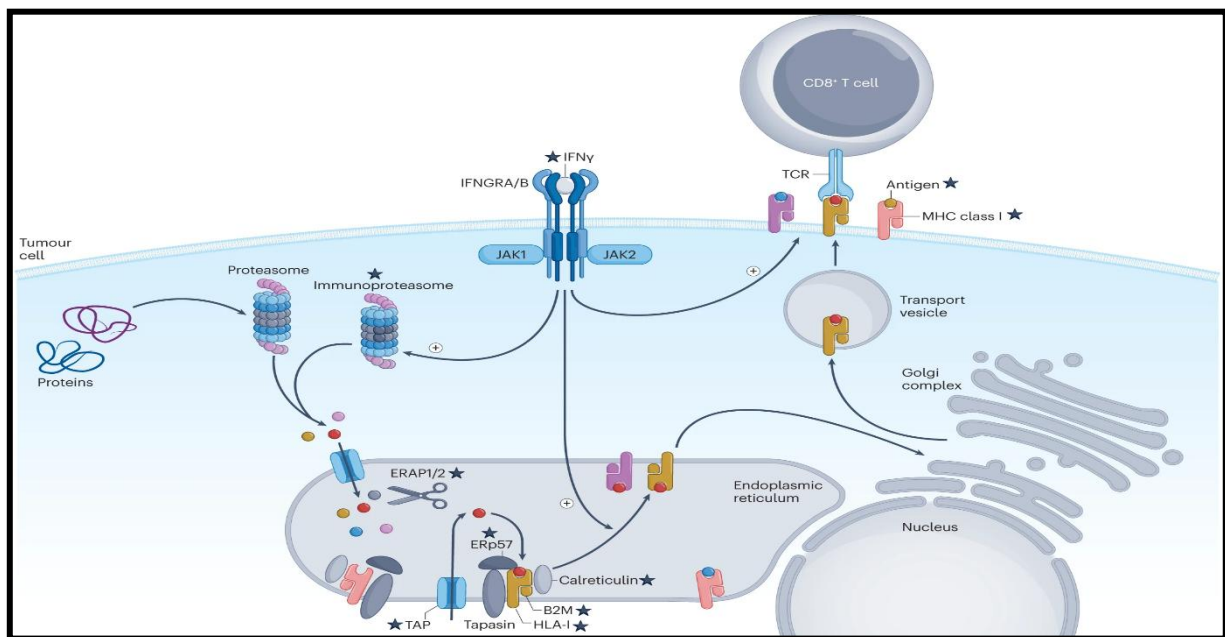
3. Interaction moléculaire entre le complexe peptide–HLA et le récepteur TCR

La reconnaissance antigénique par les lymphocytes T ne dépend pas uniquement du peptide, mais de l'interaction tridimensionnelle entre le peptide, la molécule HLA et le récepteur des

lymphocytes T (TCR). Le TCR reconnaît simultanément des résidus du peptide antigénique et des régions conservées de la molécule HLA. Les boucles hypervariables du TCR, en particulier la région CDR3, jouent un rôle majeur dans la spécificité de cette reconnaissance. Cette interaction fine permet aux lymphocytes T de discriminer les peptides du soi des peptides mutés, comme les néoantigènes tumoraux. (Bradley 2023)

4. Présentation antigénique et activation des lymphocytes T CD8⁺

Lorsque le complexe peptide–HLA-I est reconnu par un TCR spécifique, accompagné des signaux de co-stimulation appropriés, le lymphocyte T CD8⁺ est activé. Cette activation conduit à la prolifération clonale et à la différenciation en cellules T cytotoxiques effectrices capables de lyser les cellules tumorales exprimant l'antigène cible. La qualité et la stabilité de la présentation antigénique influencent directement l'intensité et la durabilité de la réponse cytotoxique, ce qui est particulièrement critique dans le contexte tumoral où les mécanismes d'échappement immunitaire sont fréquents. (Giles et al. 2023)



(Yang, Halima, et Chan 2023)

Figure 5: Schéma général du traitement et de la présentation des antigènes tumoraux par les cellules cancéreuses via le CMH de classe I

5. Intérêt des néoantigènes tumoraux dans le contexte HLA–TCR

Les néoantigènes tumoraux, issus de mutations somatiques spécifiques des cellules cancéreuses, génèrent des peptides totalement absents des tissus normaux. En raison de cette spécificité, ils ne sont pas soumis à la tolérance centrale et présentent une forte immunogénicité

lorsqu'ils sont efficacement présentés par les molécules HLA du patient. Leur reconnaissance par les lymphocytes T CD8⁺ repose entièrement sur l'axe peptide–HLA–TCR, ce qui en fait des cibles privilégiées pour les vaccins à ARNm personnalisés et les immunothérapies modernes. (Giles et al. 2023)

IX. Identification des néoantigènes pour la conception des vaccins à ARNm

L'une des étapes essentielles dans le développement de vaccins anticancéreux personnalisés consiste à identifier précisément les mutations présentes dans la tumeur, afin de sélectionner celles qui ont le plus fort potentiel à déclencher une réponse immunitaire efficace. Pour cela, on commence par identifier l'ensemble des mutations acquises par les cellules cancéreuses.

La méthode utilisée repose sur le séquençage de nouvelle génération (NGS), réalisé à partir d'un échantillon tumoral comparé à un tissu sain du même patient, généralement le sang. Cette comparaison permet d'éviter de confondre des variants germinaux normaux avec de véritables néoantigènes tumoraux. Les technologies actuelles permettent d'obtenir un matériel génétique de qualité NGS à partir de tissus frais, congelés ou même fixés en paraffine. Cependant, l'analyse repose souvent sur une seule biopsie, ce qui peut ne pas refléter toute l'hétérogénéité clonale de la tumeur. (Sahin et Türeci 2018)

Les mutations les plus fréquentes détectées sont les variantes mononucléotidiques (SNV), qui, lorsqu'elles modifient un acide aminé dans une protéine exprimée, peuvent générer des néoépitopes reconnus par les cellules T. D'autres types d'altérations – comme les insertions/délétions (indels) ou les fusions géniques – peuvent produire des séquences aberrantes très immunogènes, notamment par la création de décalages du cadre de lecture. En revanche, certains antigènes potentiels issus d'anomalies épigénétiques, transcriptionnelles ou post-traductionnelles sont encore difficiles à détecter avec les outils actuels. (Sahin et Türeci 2018)

Une fois les mutations identifiées, il faut déterminer lesquelles ont le plus de chances d'être présentées par les molécules du CMH et donc de déclencher une réponse des lymphocytes T. Cette étape repose sur des algorithmes prédictifs, comme NetMHC ou les outils de l'IEDB, qui évaluent la capacité d'un peptide muté à se lier au CMH I ou II. La stabilité du complexe CMH-peptide semble être un meilleur indicateur d'immunogénicité que l'affinité seule, mais les bases de données restent encore limitées. (Sahin et Türeci 2018)

Par ailleurs, l'expression du gène muté est un élément déterminant : plus un antigène est abondamment exprimé, plus il a de chances d'être présenté à la surface cellulaire. De ce fait, les approches modernes combinent souvent les prédictions de liaison au CMH avec les données d'expression issues du séquençage ARN.

La prédiction des néoantigènes présentés par le CMH II est encore plus complexe que pour le CMH I, car la longueur et le registre des peptides sont moins définis. Malgré cela, les peptides prévus comme bons ligands du CMH II enrichissent efficacement les néoantigènes capables d'activer les lymphocytes T CD4⁺. **(Sahin et Türeci 2018)**

Un enjeu important dans la sélection des cibles vaccinales est de privilégier des mutations présentes dans toutes les cellules tumorales, appelées mutations clonales. Cela réduit le risque de sélection de clones tumoraux « échappés » ne portant pas la mutation ciblée. Les patients atteints de cancer présentant un nombre élevé de néoantigènes clonaux répondent d'ailleurs mieux aux immunothérapies. **(Sahin et Türeci 2018)**

Enfin, des modèles récents proposent d'intégrer la notion de "qualité du néoantigène", en tenant compte de la similarité entre un néoépitope et des peptides microbiens (très immunogéniques) et de la différence de présentation entre la version mutée et la version normale du peptide. Ces critères semblent mieux prédire la survie et la réponse clinique dans plusieurs types de cancers. **(Sahin et Türeci 2018)**

X. Validation des néoantigènes

Le développement de modèles fiables pour classer et prioriser les néoantigènes restreints au CMH de classe I ou II dépend directement de la disponibilité de jeux de données dans lesquels on a validé des réponses lymphocytaires CD8⁺ ou CD4⁺. Constituer un ensemble de validation nécessite trois étapes : identifier les mutations présentes dans la tumeur, sélectionner les néoantigènes à tester, puis vérifier expérimentalement leur immunogénicité. À ce jour, plusieurs jeux de validation existent pour les néoantigènes présentés par le CMH-I, alors que ceux dédiés au CMH-II restent nettement plus rares. La constitution d'un tel jeu de données implique aussi des choix méthodologiques : quelles mutations retenir, comment sélectionner les néoantigènes prioritaires et quelles techniques expérimentales utiliser. Les méthodes standard employées jusqu'ici, ainsi que leurs limites, constituent un champ actif de recherche. **(Borden et al. 2022)**

Historiquement, la plupart des validations ont porté sur des néoantigènes dérivés de SNV (variantes mononucléotidiques) ou de petits indels. Ces mutations sont bien représentées dans

les jeux de données disponibles, ce qui a permis de développer et tester de nombreux modèles de priorisation. Cependant, élargir la gamme des mutations analysées représente une direction importante pour l'avenir. Certaines altérations, comme les fusions géniques, les grands indels ou les nouveaux cadres de lecture (neo-ORF), génèrent des peptides fortement modifiés—parfois plus de 50 % différents de la séquence normale—ce qui pourrait renforcer leur immunogénicité. D'ailleurs, des travaux récents montrent que les grands indels sont souvent plus immunogènes que les SNV. Leur prise en compte aiderait à affiner certains critères comme la similarité de séquence, qui varie peu lorsqu'on ne considère que les mutations ponctuelles. Cette expansion serait aussi utile d'un point de vue clinique, car les modèles actuels de prédiction CMH-I et CMH-II ont presque exclusivement été entraînés sur des néoantigènes provenant de SNV et d'indels, ce qui limite le spectre des mutations qu'ils peuvent correctement évaluer. Un cas récent illustre bien cet enjeu : un vaccin ciblant une fusion génique a, à elle seule, permis une rémission complète chez un patient, ce qui montre l'importance d'inclure des sources mutationnelles plus diverses dans les vaccins personnalisés. (Borden et al. 2022)

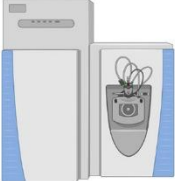
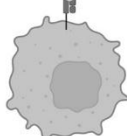
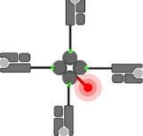
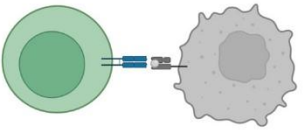
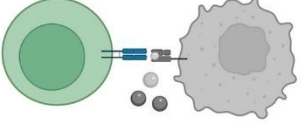
L'élargissement de l'éventail des néoantigènes testés permettrait aussi d'améliorer la qualité des modèles prédictifs. Pour limiter le nombre de candidats à valider, les néoantigènes sont en général préfiltrés, le plus souvent selon leur affinité prédite pour le CMH, notamment via NetMHCpan. Cette étape est indispensable pour identifier les rares néoantigènes immunogènes, mais elle introduit aussi un biais : les modèles basés uniquement sur des néoantigènes à forte affinité prédite ne peuvent pas révéler les caractéristiques d'autres classes de néoantigènes. Or des travaux chez la souris montrent que certains néoantigènes ayant une affinité faible (dissociation > 500 nM, au-delà des seuils de sélection classiques) peuvent quand même induire une réponse CD8⁺. Cela suggère que des critères supplémentaires interviennent et que les jeux actuels ne permettent pas de les identifier, puisqu'ils ne contiennent presque aucun néoantigène faiblement affiné. (Borden et al. 2022)

Plusieurs approches expérimentales permettent de valider les néoantigènes, chacune fournissant une information complémentaire. Les trois principales méthodes illustrées dans la Figure 6 sont :

- **la spectrométrie de masse**, qui identifie directement les peptides réellement présentés par le CMH à partir de peptides élués.
- **les multimères du CMH** (comme les tétramères), qui permettent de détecter des lymphocytes T spécifiques du néoantigène.

- **les tests fonctionnels** (ELISpot, ELISA, ICS), qui mesurent la production de cytokines par des lymphocytes T après stimulation de leur TCR, preuve de leur activation.

Chaque méthode a ses limites : les tétramères détectent mal les lymphocytes à faible affinité, pourtant fréquents dans les réponses antitumorales, et les tests fonctionnels peuvent manquer des réponses provenant de cellules T épuisées. C'est pourquoi combiner plusieurs approches reste idéal pour confirmer l'immunogénicité. (Borden et al. 2022)

Technology	What is tested	What is validated
 Mass spectrometry	 Detects peptides eluted from MHC class I or II molecules	 Validates cell surface presentation on MHC
 MHC multimer staining	 Measures T cells with a TCR that is specific for a particular neoantigen:MHC	 Validates TCR recognition and expansion of neoantigen-specific T cells
 ELISA, ELISpot, intracellular cytokine staining	 Detects production of IFN γ , IL-2, or TNF α	 Validates T cell activation

(Borden et al. 2022)

Figure 6 : Résumé des trois principales méthodes utilisées pour valider l'immunogénicité des néoantigènes restreints au CMH de classe I ou II

Un élément important à prendre en compte dans l'interprétation des jeux de validation est qu'une grande partie provient d'études vaccinales. Après vaccination, les lymphocytes T peuvent réagir à un néoantigène même si celui-ci n'est pas exprimé dans la tumeur. C'est pourquoi les modèles qui intègrent le niveau d'expression tumorale échouent souvent sur ces

datasets : la réponse observée n'est pas forcément due à une reconnaissance antitumorale réelle, mais simplement à l'immunisation induite par le vaccin. Ce biais doit être pris en compte aussi bien lors de la création que de l'exploitation de jeux de validation. (Borden et al. 2022)

Globalement, les néoantigènes restreints au CMH-I sont aujourd'hui bien documentés, mais plusieurs axes restent prioritaires pour améliorer les modèles :

1. élargir les jeux de validation dédiés au CMH-II.
2. intégrer davantage de types de mutations (fusions, grands indels, nouveaux ORF...).
3. affiner la sélection des néoantigènes à tester pour capturer un spectre plus représentatif de l'immunogénicité.

Ces efforts permettront de renforcer la précision et l'utilité clinique des modèles de priorisation des néoantigènes. (Borden et al. 2022)

XI. Optimisation de la traduction et de la stabilité de l'ARNm

Une étape essentielle de la conception du vaccin consiste à optimiser l'ARNm afin d'améliorer sa stabilité, son efficacité de traduction, de réduire son immunogénicité innée et de garantir une délivrance efficace. (Fu et al. 2025)

Cette optimisation se fait sur plusieurs niveaux : la coiffe 5', la queue poly(A), les UTR, la séquence codante (CDS) et enfin la purification de l'ARNm obtenu.

• 1. Coiffe 5' et ses modifications

Chez les eucaryotes, la coiffe 5' est une structure indispensable au fonctionnement de tout ARNm. Elle protège l'ARN des exonucléases, facilite l'export nucléaire et augmente fortement l'efficacité de traduction. Cette coiffe naturelle, appelée **Cap 0**, est constituée d'un résidu de 7-méthyl-guanosine (m7G) lié par une structure triphosphate. Elle peut être enrichie en Cap 1 ou Cap 2 par méthylation supplémentaire du premier ou du second nucléotide.

Pour les ARNm synthétisés in vitro (IVT), la présence d'un triphosphate libre à l'extrémité 5' est problématique : il est reconnu par des récepteurs de l'immunité innée comme **RIG-I** ou **IFIT**, ce qui déclenche une réponse interféron qui bloque la traduction des protéines. Il est donc indispensable de retirer ce triphosphate et d'ajouter une coiffe correcte. (Fu et al. 2025)

Deux grandes méthodes de coiffage existent :

a) Coiffage co-transcriptionnel (chimique)

On ajoute un analogue de coiffe directement dans la réaction de transcription. Cependant, la coiffe peut parfois s'incorporer dans le mauvais sens, diminuant l'efficacité de traduction. Pour corriger ce problème, des analogues de coiffe de type ARCA (Anti-Reverse Cap Analog) ont été développés, qui s'incorporent systématiquement dans la bonne orientation. Leur performance reste toutefois limitée, avec seulement 60–80% d'ARN effectivement coiffés. Plus récemment, des nouvelles stratégies de coiffage ont permis d'atteindre des taux de coiffage beaucoup plus élevés, ce qui en fait la référence actuelle. (Fu et al. 2025)

b) Coiffage post-transcriptionnel (enzymatique)

La méthode la plus répandue utilise l'enzyme du virus de la vaccine (VCE), qui génère une coiffe Cap 0 avec une grande spécificité. Cette méthode est plus coûteuse et plus complexe, mais très efficace. La coiffe Cap 1 peut ensuite être obtenue via l'enzyme VP39 (vaccinia) ou VP4 (virus de la langue bleue). Enfin, l'apparition de nouvelles méthodes d'analyse, permet de quantifier précisément les différents types de coiffes présentes sur l'ARNm. (Fu et al. 2025)

• 2. Queue poly(A) et modifications

La queue poly(A) est essentielle pour la stabilité, la traduction et la protection de l'ARNm.

Deux méthodes existent pour l'ajouter aux ARN :

- **Polyadénylation enzymatique** : produit des queues de longueur variable.
- **Transcription à partir d'un motif poly(T)** sur le plasmide : permet de définir exactement la longueur souhaitée et est donc préférée.

La longueur optimale varie selon la cellule cible :

- environ **300 nt** pour les lymphocytes T primaires.
- **120–150 nt** pour les cellules dendritiques dérivées de monocytes.

Pour les ARNm IVT, des queues de **60 à 150 nt** ont été testées, et la longueur idéale doit être adaptée au contexte expérimental.

Certaines modifications naturelles influencent aussi la stabilité :

- **uridylation** → accélère la dégradation.

- **guanylation** → protège de la déadénylation.

Plusieurs technologies (TAIL-seq, PAL-seq, PAIso-seq) permettent aujourd'hui d'analyser en profondeur la structure de ces queues poly(A). (Fu et al. 2025)

• **3. Optimisation des UTR 5' et 3'**

Les UTR jouent un rôle central dans la régulation de la traduction, de la stabilité et du ciblage cellulaire.

a) UTR 5'

Les séquences les plus utilisées proviennent de gènes très exprimés comme l' α - et β -globine ou Hsp70.

Bonnes pratiques de conception :

1. **Aucun codon de démarrage** (AUG, CUG) dans l'UTR 5'.
2. **Éviter des structures secondaires très stables** qui empêchent la fixation du ribosome.
3. **Privilégier des UTR courtes et peu structurées** pour favoriser la traduction. (Fu et al. 2025)

b) UTR 3'

Les UTR 3' de gènes de globine sont souvent employées. Points clés :

- réduire les séquences riches en AU ou GU qui rendent l'ARN instable.
- contrôler la longueur totale.
- éviter ou moduler les sites de liaison aux miRNA.
- prendre en compte les variations selon le type cellulaire.

Des modifications ARN naturelles comme m6A, m5C, m6Am ou pseudouridine peuvent aussi apparaître dans les UTR et influencent les performances.

Les progrès en machine learning permettent maintenant d'optimiser ces régions de manière prédictive. (Fu et al. 2025)

- **4. Optimisation de la CDS (séquence codante)**

La CDS détermine la structure du néoantigène et influence directement la quantité de protéine produite.

Principales stratégies :

a) Optimisation des codons

- Favoriser les codons fréquents en cellules humaines.
- Attention : une traduction trop rapide peut empêcher un repli correct des protéines.

b) Enrichissement en GC

- Les séquences riches en GC sont associées à une meilleure stabilité et une forte expression.
- Les séquences riches en uridine donnent de faibles niveaux d'expression.

c) Codon pair bias

Certaines paires de codons stabilisent mieux l'ARN et favorisent la traduction (ex : GC3). Les codons terminés par A/U (AU3) sont moins performants.

d) Éviter les structures secondaires problématiques

En particulier près du codon de démarrage, car elles ralentissent ou bloquent l'initiation.

e) Incorporation de nucléosides modifiés

Pour améliorer stabilité et précision de traduction :

- m⁵C.
- pseudouridine (Ψ).
- N1-méthyl-pseudouridine (m¹Ψ). (Fu et al. 2025)

5. Purification de l'ARNm

La synthèse in vitro génère de nombreux contaminants :

- petits fragments abortifs.
- ARN double brin.

- produits secondaires activant l'immunité innée.

Ces impuretés diminuent fortement la traduction et augmentent l'inflammation.

Des études clés (Karikó et al.) ont montré que leur élimination :

- réduit drastiquement l'induction d'IFN.
- augmente la production protéique de **10 à 1000 fois** dans les DC humaines.

Méthodes disponibles :

- **HPLC**, efficace mais coûteuse et avec des rendements < 50 %.
- **Méthode cellulose-éthanol**, simple et éliminant jusqu'à 90 % du dsRNA.
- **Synthèse sur support solide**, permettant d'éviter complètement le dsRNA. (Fu et al. 2025)

XII. Systèmes d'encapsulation de l'ARNm : focus sur les nanoparticules lipidiques (LNP)

Rôle des nanoparticules lipidiques (LNP)

- **Protection de l'ARNm et augmentation de sa stabilité**

L'ARNm nu est extrêmement sensible aux RNases présentes dans l'environnement extracellulaire. Les LNP forment une structure dense qui encapsule et protège l'ARNm jusqu'à ce qu'il atteigne les cellules cibles.(Buschmann et al. 2021)

- **Facilitation de l'entrée cellulaire**

Une fois injectées, les LNP interagissent avec les membranes cellulaires et sont internalisées principalement par endocytose. (Hou et al. 2021)

- **Promotion de l'échappement endosomal**

Une fois internalisées, les LNP doivent libérer l'ARNm dans le cytoplasme. Les lipides ionisables qu'elles contiennent deviennent chargés positivement dans l'endosome acidifié, ce qui perturbe la membrane endosomale et permet l'échappement de l'ARNm. C'est une étape cruciale, car un échappement insuffisant réduit fortement la traduction de l'antigène tumoral.(Hou et al. 2021)

- **Amélioration de la stabilité et du transport in vivo**

Les nanoparticules lipidiques protègent l'ARNm contre la dégradation enzymatique et améliorent sa stabilité, sa biodistribution et sa circulation in vivo. Après administration, elles sont préférentiellement internalisées par les cellules présentatrices d'antigènes, telles que les cellules dendritiques et les macrophages, permettant la traduction de l'ARNm et la présentation antigénique via les molécules HLA.(Hou et al. 2021)

- **Modulation contrôlée de l'immunogénicité**

Les nanoparticules lipidiques jouent un rôle essentiel dans la modulation de l'immunité innée induite par l'ARNm. Grâce aux lipides ionisables, elles limitent l'activation excessive des récepteurs de reconnaissance comme TLR et NLRP3, ce qui évite une production trop importante de cytokines inflammatoires. Cette régulation permet d'obtenir une expression optimale de l'antigène tout en maintenant l'activation immunitaire à un niveau contrôlé. Ainsi, les LNP assurent un équilibre entre efficacité vaccinale et sécurité immunologique.(Lee et al. 2023)

Mécanisme d'internalisation et de libération intracellulaire des LNP

- **Internalisation par endocytose**

Les LNP pénètrent majoritairement dans les cellules par endocytose médiée par des récepteurs ou par macropinocytose. Les lipides ionisables possèdent un comportement dépendant du pH : ils restent globalement neutres à pH physiologique, ce qui limite leurs interactions avec les membranes anioniques des cellules sanguines et améliore la biocompatibilité des nanoparticules.(Hou et al. 2021)

- **Acidification de l'endosome**

Une fois dans l'endosome, le pH diminue progressivement (de ~7,4 à ~5,5). Cette acidification charge positivement les lipides ionisables, augmentant leur interaction avec les lipides anioniques de l'endosome. Cela prépare la sortie de l'ARNm.(Hald Albertsen et al. 2022)

- **Effet d'échappement endosomal**

L'interaction des lipides ionisables protonés avec les lipides endosomaux provoque :

- Une désorganisation de la membrane.

- Une rupture partielle de l'endosome → permettant la libération de l'ARNm dans le cytoplasme.

C'est une étape déterminante pour l'efficacité des vaccins à ARNm. (Hou et al. 2021)

- **Dégradation contrôlée des LNP**

Les lipides ionisables modernes sont biodégradables, ce qui réduit la toxicité et l'inflammation systémique. (Hald Albertsen et al. 2022)

Traduction et présentation antigénique

Une fois délivré dans le cytosol, l'ARNm vaccinal est traduit par la machinerie cellulaire en protéines antigéniques tumorales. Ces antigènes peuvent suivre deux voies de présentation :

- **Voie endogène (MHC I) :** les antigènes exprimés à l'intérieur des cellules présentatrices d'antigène sont dégradés par le protéasome, les peptides sont chargés sur des molécules de CMH classe I, puis présentés à la surface cellulaire. Cette présentation stimule les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques, capables de reconnaître et détruire les cellules exprimant l'antigène.
- **Voie exogène / croisée (MHC II ou cross-présentation) :** si l'antigène est sécrété ou exprimé à la surface, des cellules présentatrices d'antigènes (ex : cellules dendritiques, macrophages) peuvent le capter, le traiter et le présenter via CMH classe II, activant ainsi les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires, ou via cross-présentation (certaines CPA peuvent charger des peptides externes sur MHC I), ce qui renforce la réponse CD8⁺.

Cette dualité de présentation confère aux vaccins à ARNm un avantage déterminant : la capacité de déclencher à la fois une réponse cytotoxique (CD8⁺) et une réponse auxiliaire/coordonnatrice (CD4⁺), assurant une immunité antitumorale large et durable. (Kim et al. 2021)

XIII. Administration et réponse immunitaire induite par les vaccins à ARNm

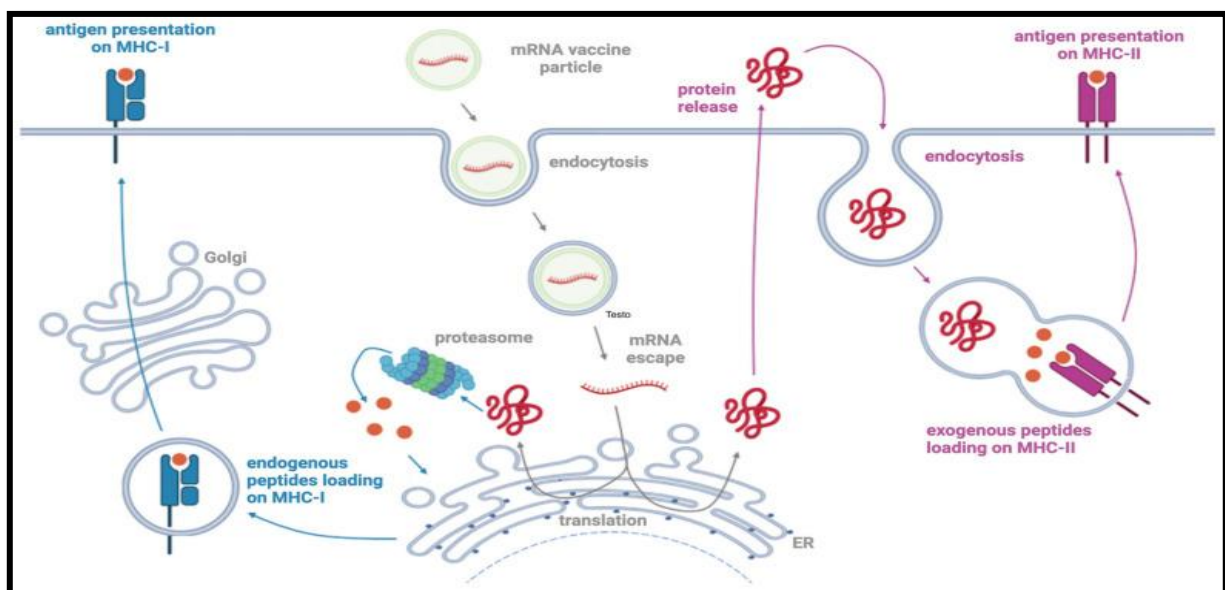
Après administration intramusculaire, les vaccins à ARNm encapsulés dans des nanoparticules lipidiques (LNP) déclenchent une réponse immunitaire innée locale. Les LNP induisent la production de plusieurs cytokines et chimiokines (telles que CCL2, CCL3, CCL4, CXCL2, CXCL10, IL-1 β , IL-6, TNF- α et IFN- γ), ce qui entraîne l'afflux de neutrophiles, de monocytes,

de macrophages et de cellules dendritiques vers le site d'injection. Ces dernières cellules internalisent les LNP et traduisent efficacement l'ARNm en antigène.

L'ARNm capté active également certains récepteurs intracellulaires (TLR3, TLR7, TLR8), qui déclenchent la réponse interféron et renforcent l'immunité innée. L'utilisation de nucléosides modifiés permet toutefois de limiter une activation excessive, favorisant une expression optimale de l'antigène. Les LNP jouent ici un rôle d'adjuvant intrinsèque, en stimulant l'immunité innée tout en facilitant la traduction de l'ARN codé.

Les cellules dendritiques ayant internalisé et exprimé l'antigène migrent ensuite vers le ganglion lymphatique drainant. Elles y présentent les peptides antigéniques via les molécules du CMH de classe I, activant ainsi les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques, et via le CMH de classe II, activant les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires. Parmi ces derniers, les T follicular helper (Tfh) jouent un rôle clé dans l'activation des lymphocytes B, la commutation isotypique et la formation de centres germinatifs.

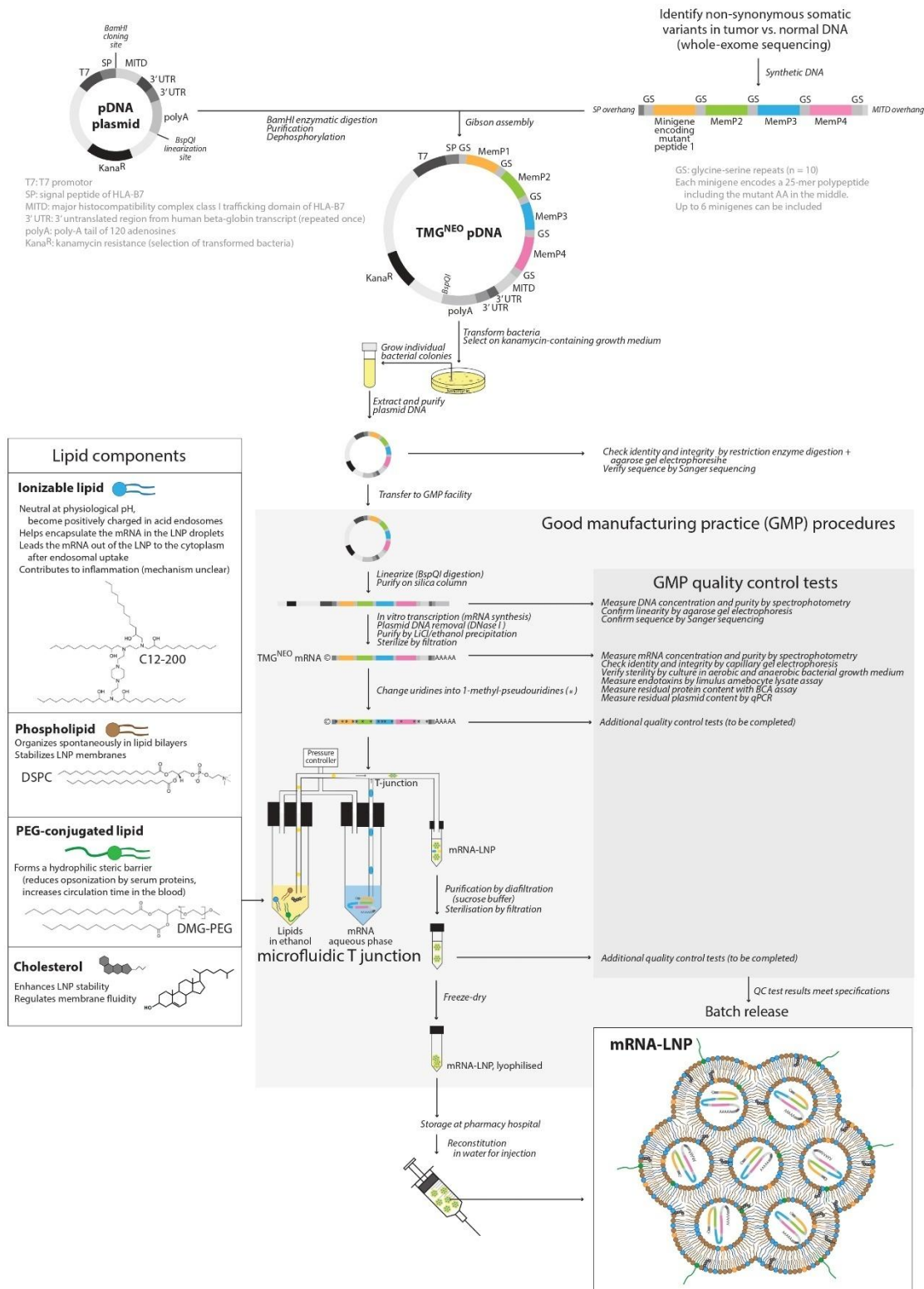
Cette activation coordonnée des réponses CD4⁺, CD8⁺ et B aboutit à une réponse adaptative complète, à prédominance Th1 (production d'IFN- γ , IL-2, TNF- α). Elle conduit à la production d'anticorps neutralisants, mais aussi à la génération de cellules B mémoire, de plasmocytes longue durée et de lymphocytes T mémoire. L'ensemble de ces mécanismes assure une immunité antitumorale ou antivirale durable, caractéristique des vaccins à ARNm.(Perrotta et al. 2023)



(Perrotta et al. 2023)

Figure 7 : Mécanisme d'action des vaccins ARNm

Manufacturing process of a personalized therapeutic vaccine against cancer made of a synthetic mRNA encoding patient-matched neoepitopes in lipid nanoparticles



(Van Baren Nicolas)

Figure 8: Processus de fabrication d'un vaccin thérapeutique personnalisé à ARNm contre le cancer encapsulé dans des nanoparticules lipidiques (ARNm-LNP)

Cette figure présente de façon détaillée les étapes clés du processus de conception, production et contrôle qualité d'un vaccin thérapeutique sur mesure basé sur l'ARN messager (ARNm) destiné à la lutte contre le cancer. Le processus commence par la détection pour chaque patient les mutations somatiques non synonymes propres à la tumeur, habituellement via le séquençage de l'exome complet qui oppose l'ADN tumoral à l'ADN normal. Les néo-épitopes choisis sont par la suite incorporés sous forme de minigènes dans un dispositif d'ADN plasmidique qui sert de modèle à la transcription.

Suite à une amplification bactérienne et purification du plasmide, ce dernier est linéarisé avant d'être employé pour la transcription de l'ARNm in vitro. Ce dernier renferme des éléments structuraux optimisés (coiffe, régions UTR, queue poly(A)) afin d'assurer une stabilité et une traduction efficace. L'ARNm est ensuite purifié, vérifié et chimiquement ajusté (par exemple par remplacement d'uridines) pour diminuer son immunogénicité innée non spécifique.

L'étape suivante consiste à encapsuler l'ARNm dans des nanoparticules lipidiques, obtenues par la combinaison contrôlée de l'ARNm en phase aqueuse avec une phase lipidique comprenant des lipides ionisables, des phospholipides auxiliaires, du cholestérol et des lipides PEGylés, généralement à l'aide de dispositifs microfluidiques. Ces LNP garantissent la défense de l'ARNm, aident à son intégration dans les cellules et stimulent sa diffusion dans le cytoplasme suite à l'endocytose.

Finalement, le produit final est soumis à une série d'inspections de qualité respectant les bonnes pratiques de fabrication (GMP). Cela inclut la validation de l'intégrité et de la pureté de l'ARNm, la caractérisation physicochimique des LNP, ainsi que des contrôles de stérilité et de sécurité. Le vaccin peut donc être préparé, entreposé et administré au patient, déclenchant l'expression des néo-antigènes tumoraux et la stimulation d'une réponse immunitaire cytotoxique spécifique, principalement orchestrée par les lymphocytes T CD8⁺.

XIV. Application clinique et essai récent de vaccin à ARNm contre le cancer

A. Contexte et enjeux thérapeutiques du PDAC

L'adénocarcinome ductal pancréatique (PDAC) demeure l'un des cancers les plus redoutables, avec un taux de létalité de 88 %. Bien que la chirurgie soit le seul traitement curatif, près de 90 % des patients subissent une récurrence dans un délai médian de 7 à 9 mois après l'intervention, et la survie globale à 5 ans ne dépasse pas 8 à 10 %. Les PDAC sont historiquement considérés

comme des tumeurs « froides », caractérisées par un faible taux de mutations et une insensibilité quasi totale (< 5 % de réponse) aux inhibiteurs de points de contrôle immunitaire classiques. Toutefois, des observations récentes ont montré que les survivants à long terme du PDAC développent des réponses spontanées de cellules T contre des néoantigènes spécifiques aux tumeurs, ouvrant la voie à des stratégies vaccinales personnalisées. (Rojas et al. 2023)

B. Méthodologie et conception de l'essai de Phase I (2023)

L'étude pionnière menée par Balachandran et ses collègues a évalué la faisabilité de l'autogene cevumeran, un vaccin à ARNm personnalisé, au sein d'un flux de travail oncologique complexe.

1. Le produit vaccinal: L'autogene cevumeran utilise une technologie d'ARNm-lipoplexe individualisée. Pour chaque patient, jusqu'à 20 néoantigènes ont été sélectionnés après séquençage de l'exome entier et de l'ARN de la tumeur réséquée. L'ARNm, formulé dans des nanoparticules lipoplexes de 400 nm (lipide cationique DOTMA et phospholipide DOPE), est administré par voie intraveineuse pour cibler efficacement les organes lymphoïdes.

2. Le régime séquentiel: pour maximiser l'activation des cellules T, l'essai a testé une stratégie en trois étapes :

- Une dose unique d'atézolizumab (anti-PD-L1) à la semaine 6 post-chirurgie pour lever l'inhibition des cellules T.
- Huit doses de vaccin à ARNm personnalisé (priming) à partir de la semaine 9.
- Douze cycles de chimiothérapie mFOLFIRINOX à partir de la semaine 21, suivis d'une dose de rappel (booster) vaccinale à la semaine 46.

Cette étude a démontré une faisabilité logistique majeure : le processus complet, de la résection chirurgicale à l'administration de la première dose personnalisée, a été réalisé en seulement 9 semaines. (Rojas et al. 2023)

C. Évaluation de la sécurité et de la toxicité

Le critère d'évaluation primaire de l'essai de phase I sur l'autogene cevumeran était la **sécurité d'utilisation**. L'étude a démontré que le vaccin est **bien toléré** et que son administration est réalisable dans le cadre clinique standard.

1. Profil de toxicité de l'atézolizumab : Sur les 19 patients ayant reçu l'atézolizumab (anti-PD-L1), **aucun (0 %)** n'a présenté d'effets indésirables de grade 3 ou supérieur. Les effets de grade 1 et 2 étaient classiques de l'immunothérapie (prurit, éruption cutanée, fatigue).

2. Profil de toxicité du vaccin à ARNm (Autogene cevumeran) :

- **Effets indésirables légers (Grade 1-2) :** Tous les patients (100 %) ont ressenti des effets secondaires mineurs tels que de la fatigue, de la fièvre, des frissons, ou des douleurs au site d'injection.

- **Effets indésirables sévères (Grade 3) :** Seul **un patient sur 16 (6 %)** a présenté un effet indésirable de grade 3 (fièvre et hypertension).

- **Seuil de sécurité :** L'étude avait fixé un seuil d'arrêt de l'essai si plus de 25 % des patients présentaient des toxicités graves liées au vaccin. Ce seuil n'a jamais été approché, confirmant la **haute tolérance** de la plateforme ARNm-lipoplexe.

3. Faisabilité et interruption : Trois patients n'ont pas pu recevoir la totalité des 9 doses prévues. Cependant, ces interruptions étaient dues à la progression de la maladie ou à la toxicité de la chimiothérapie mFOLFIRINOX, et non à une toxicité directe du vaccin à ARNm. **(Rojas et al. 2023) (Sethna et al. 2025)**

D. Résultats d'immunogénicité et corrélation clinique initiale

Sur les 16 patients ayant reçu le vaccin, 50 % (8 patients) ont été classés comme « répondeurs », ayant généré des réponses de cellules T spécifiques aux néoantigènes de forte magnitude, non détectables avant la vaccination.

- **Expansion clonale :** Grâce à une nouvelle méthode mathématique de suivi (CloneTrack), les chercheurs ont observé que les clones de cellules T induits par le vaccin pouvaient représenter jusqu'à 10 % de toutes les cellules T du sang. Ces clones étaient principalement des cellules CD8⁺ polyfonctionnelles produisant des cytokines effectrices (IFN γ , TNF) et possédant une capacité lytique. **(Rojas et al. 2023)**

- **Impact sur la survie :** À un suivi médian de 18 mois, la survie sans récurrence (RFS) médiane n'était pas atteinte chez les répondeurs, contre 13,4 mois chez les non-répondeurs (). Cette corrélation n'était pas biaisée par l'aptitude immunitaire générale des patients, car répondeurs et non-répondeurs ont montré des réponses équivalentes à un vaccin ARNm contre le SARS-CoV-2 administré simultanément.

Un cas clinique particulièrement illustratif (Patient 29) a montré le développement d'une lésion hépatique de 7 mm après la vaccination. Une biopsie a révélé l'absence de cellules malignes mais un infiltrat lymphoïde dense composé des 15 clones de cellules T induits par le vaccin. La lésion a disparu par la suite, suggérant que les cellules T vaccinales peuvent infiltrer et éradiquer des micrométastases. (Rojas et al. 2023)

E. Suivi à long terme et longévité exceptionnelle (2025)

Le suivi étendu à 3,2 ans a permis de valider la durabilité de cette approche. Les données publiées en 2025 révèlent que la supériorité de la survie sans récurrence chez les répondeurs se maintient de manière robuste .

1. Une mémoire immunitaire persistante: L'étude de suivi à long terme publiée en 2025 démontre que le vaccin induit des lymphocytes T CD8+ d'une longévité exceptionnelle. Les chercheurs ont calculé que ces cellules de défense persistent en moyenne pendant 7,7 ans dans l'organisme. De manière remarquable, environ 20 % de ces clones sont si stables que leur durée de présence estimée atteint plusieurs décennies. Sur le plan statistique, cette protection dépasse souvent l'espérance de vie restante des patients, ce qui suggère que le vaccin installe une surveillance immunitaire permanente capable de couvrir toute la période de risque de récurrence

2. Efficacité du rappel (boost): Alors que les doses de priming induisent la majorité des clones, le rappel à la semaine 46 multiplie par sept la durée de vie estimée de ces clones, sans induire de nouveaux clones de novo. 86 % des clones persistent à des fréquences substantielles dans le sang plus de 3 ans après la vaccination.

3. Avidité et spécificité: Les clones persistants incluent des cellules T possédant une avidité nano et subnanomolaire pour les néoépitopes de tumeurs pancréatiques, confirmant que même les mutations passagères dans des cancers peu mutés peuvent générer des cibles de haute qualité pour l'immunothérapie. (Sethna et al. 2025)

F. Dynamique phénotypique : l'émergence des cellules TRM-like (*Tissue-Resident Memory*)

L'évolution biologique des lymphocytes induits par le vaccin a été analysée par une stratégie de traçage phénotypique multidimensionnel (basée sur le séquençage de l'ARN et du récepteur T — TCR — sur cellule unique). Cette approche, appelée "PhenoTrack" par les auteurs, a permis de cartographier avec précision la transition des clones de cellules T à travers trois phases distinctes sur une période de trois ans.

- **Phase d'expansion:** Initialement, les clones présentent un phénotype hautement prolifératif (marqueurs KI67).

- **Phase de contraction et mémoire:** Après l'administration du mFOLFIRINOX, les clones ne disparaissent pas mais transitent vers un état de mémoire résidente tissulaire circulant (TRM-like). Ces cellules surexpriment des gènes effecteurs (GZMB, NKG7, PRF1) et le facteur de transcription central des cellules TRM, ZNF683 (HOBIT).

- **Absence d'épuisement:** Contrairement à d'autres immunothérapies, les cellules T induites par le vaccin ne montrent pas de signes d'épuisement immunitaire malgré des doses répétées, conservant une fonction effectrice stable et une capacité de rappel fonctionnel jusqu'à 3,6 ans post-vaccination. (Sethna et al. 2025)

G. Pression sélective et mécanismes de résistance

L'analyse de l'évolution tumorale chez les patients ayant récidivé (Patients 14 et 25) apporte des preuves directes de l'activité vaccinale.

- **Élagage clonal (Clonal Pruning):** Dans les tumeurs récurrentes, les chercheurs ont observé une disparition sélective des clones cancéreux porteurs des néoantigènes ciblés par le vaccin. Cela suggère que les cellules T induites exercent une pression sélective directe qui élimine les cellules tumorales sensibles, laissant place à une récurrence issue de clones tumoraux ayant échappé à la reconnaissance immunitaire (échappement clonal).

- **Facteurs de récurrence:** Les patients ayant récidivé présentaient une immunité vaccinale cumulative plus faible, soit en raison d'une longévité plus courte des clones, soit d'un délai d'apparition plus tardif. (Sethna et al. 2025)

H. Conclusion et perspectives pour l'oncologie

Ces travaux marquent un tournant dans l'application clinique des vaccins à ARNm contre le cancer. Ils démontrent pour la première fois que l'on peut surmonter la tolérance immunitaire de l'hôte pour générer une immunité T CD8+ durable et fonctionnelle dans un cancer réputé "froid" comme le PDAC. L'induction de cellules de type TRM persistantes sur près d'une décennie offre une nouvelle perspective sur la prévention de la récurrence post-chirurgicale. Ces résultats justifient désormais de larges essais randomisés mondiaux (comme l'étude IMCODE 003) pour valider l'efficacité thérapeutique de l'autogène cevumeran à plus grande échelle. (Sethna et al. 2025)

En plus des avancées observées dans le cancer du pancréas, le domaine des vaccins à ARNm personnalisés enregistre des percées majeures dans d'autres types de tumeurs, notamment avec le vaccin mRNA-4157 (V940) développé par Moderna en collaboration avec Merck. L'étude clinique de phase IIb a démontré que l'administration de ce vaccin personnalisé, en combinaison avec le pembrolizumab (un anti-PD-1), permet une réduction de 44 % du risque de récurrence ou de décès par rapport au pembrolizumab seul chez des patients ayant subi une résection de mélanome à haut risque (stade III/IV). Les données de suivi à trois ans confirment la supériorité durable de cette combinaison, montrant une survie sans récurrence maintenue par rapport à la monothérapie. Ce succès a conduit au lancement de vastes programmes de phase III visant à valider ces résultats à l'échelle mondiale, ainsi qu'à des essais évaluant l'efficacité du vaccin dans des contextes de mélanomes métastatiques non résectables. Ces résultats positionnent l'immunothérapie personnalisée par ARNm comme un futur pilier de l'oncologie de précision, avec des premières approbations commerciales potentiellement attendues d'ici 2029. (Magoola et Niazi 2025) (Gazouli et al. 2025)

XV. Conclusion

La vaccination contre le cancer représente aujourd'hui une stratégie thérapeutique innovante visant à mobiliser le système immunitaire du patient afin de reconnaître et d'éliminer spécifiquement les cellules tumorales. Contrairement aux vaccins prophylactiques classiques, principalement orientés vers l'induction d'une réponse humorale médiée par les lymphocytes B et les anticorps, les vaccins anticancéreux ont pour objectif central l'activation d'une immunité cellulaire robuste, dominée par les lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺ capables de cibler et de détruire les cellules exprimant des antigènes tumoraux spécifiques.

Parmi les différentes plateformes vaccinales développées en oncologie — incluant les vaccins à ADN, peptidiques, à base de cellules dendritiques ou utilisant des vecteurs viraux et bactériens — les vaccins à ARNm se sont imposés comme une approche particulièrement prometteuse. Leur flexibilité de conception, leur rapidité de développement, l'absence de risque d'intégration génomique et leur capacité à induire simultanément des réponses immunitaires innées et adaptatives constituent des avantages majeurs. L'émergence de formats avancés tels que les ARNm auto-amplifiants (saRNA) et trans-amplifiants (taRNA) a permis d'améliorer l'expression antigénique tout en réduisant les doses nécessaires, renforçant ainsi leur potentiel clinique.

Le succès des vaccins à ARNm repose toutefois de manière déterminante sur l'efficacité des systèmes de délivrance. Les nanoparticules lipidiques (LNP) se sont affirmées comme des vecteurs de référence, capables de protéger l'ARNm, de faciliter son internalisation cellulaire et d'assurer sa libération cytoplasmique. Les progrès récents dans la conception rationnelle de lipides ionisables biodégradables, de phospholipides auxiliaires, de lipides PEGylés clivables et de dérivés optimisés du cholestérol ont permis d'améliorer la stabilité, la biodistribution et la sécurité des formulations. Les données précliniques démontrent que ces systèmes peuvent induire des réponses immunitaires antitumorales puissantes, notamment par l'activation des lymphocytes T cytotoxiques.

Au-delà des aspects technologiques, la sélection des antigènes tumoraux constitue un autre pilier fondamental de la vaccination anticancéreuse. Les avancées en génomique tumorale et en bio-informatique ont permis de prédire avec une certaine précision des néoantigènes spécifiques à chaque patient, ouvrant la voie à des vaccins personnalisés capables de s'adapter à l'hétérogénéité tumorale. Les résultats cliniques récents obtenus avec des vaccins à ARNm personnalisés, notamment en association avec des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire, confirment la pertinence de cette approche et soulignent son potentiel pour améliorer durablement la prise en charge des cancers.

En conclusion, les vaccins à ARNm personnalisés s'inscrivent comme une avancée majeure de l'immunothérapie anticancéreuse moderne. L'intégration des progrès réalisés en biologie moléculaire, en immunologie et en sciences pharmaceutiques permet d'envisager des stratégies vaccinales de plus en plus efficaces, sûres et adaptées au profil de chaque patient. Bien que des défis subsistent, notamment en termes d'optimisation de la réponse immunitaire et de validation clinique à long terme, les perspectives offertes par les vaccins à ARNm laissent entrevoir une transformation profonde des approches thérapeutiques en oncologie dans les années à venir.

Méthodologie

L'idée du thème choisi est née d'un intérêt personnel pour les avancées récentes dans le développement des vaccins à ARNm. Le sujet a été initialement proposé par moi-même, puis affiné et validé à la suite de discussions avec mon promoteur, Nicolas Van Baren, au cours desquelles les objectifs et le périmètre du travail ont été précisés.

Dans un premier temps, mon promoteur m'a fourni plusieurs articles scientifiques de référence, permettant d'acquérir une base théorique solide sur l'immunologie des cancers, les principes des vaccins thérapeutiques et les plateformes à ARNm. Ces lectures préliminaires ont servi à structurer le plan du mémoire et à orienter la suite des recherches.

Une recherche bibliographique approfondie a ensuite été menée à l'aide de bases de données scientifiques reconnues, principalement PubMed, en utilisant des mots-clés et termes MeSH tels que mRNA cancer vaccines, neoantigens, lipid nanoparticles et antigen presentation. Des articles originaux, des revues de la littérature, ainsi que des études précliniques et cliniques ont été sélectionnés.

La sélection s'est principalement focalisée sur des publications récentes, afin de refléter l'état actuel des connaissances, tout en intégrant certains articles plus anciens lorsqu'ils constituaient des références fondamentales. Les sources retenues ont été analysées de manière critique et synthétisées afin de décrire les mécanismes immunologiques impliqués, les stratégies de délivrance de l'ARNm, les réponses immunitaires induites et les perspectives cliniques des vaccins à ARNm contre le cancer.

Bibliographie

- Amaya, Laura, Lilit Grigoryan, Zhijian Li, Audrey Lee, Paul A. Wender, Bali Pulendran, et Howard Y. Chang. 2023. « Circular RNA Vaccine Induces Potent T Cell Responses ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 120(20):e2302191120. doi:10.1073/pnas.2302191120.
- Borden, Elizabeth S., Kenneth H. Buetow, Melissa A. Wilson, et Karen Taraszka Hastings. 2022. « Cancer Neoantigens: Challenges and Future Directions for Prediction, Prioritization, and Validation ». *Frontiers in Oncology* 12. doi:10.3389/fonc.2022.836821.
- Bradley, Philip. 2023. « Structure-based prediction of T cell receptor:peptide-MHC interactions » édité par M. L. Dustin, T. Taniguchi, et M. L. Dustin. *eLife* 12:e82813. doi:10.7554/eLife.82813.
- Buschmann, Michael D., Manuel J. Carrasco, Suman Alishetty, Mikell Paige, Mohamad Gabriel Alameh, et Drew Weissman. 2021. « Nanomaterial Delivery Systems for mRNA Vaccines ». *Vaccines* 9(1):65. doi:10.3390/vaccines9010065.
- Coulie, Pierre G., Benoît J. Van den Eynde, Pierre van der Bruggen, et Thierry Boon. 2014. « Tumour Antigens Recognized by T Lymphocytes: At the Core of Cancer Immunotherapy ». *Nature Reviews Cancer* 14(2):135-46. doi:10.1038/nrc3670.
- Fan, Ting, Mingna Zhang, Jingxian Yang, Zhounan Zhu, Wanlu Cao, et Chunyan Dong. 2023. « Therapeutic cancer vaccines: advancements, challenges and prospects ». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 8:450. doi:10.1038/s41392-023-01674-3.
- Fu, Qiang, Xiaoming Zhao, Jinxia Hu, Yang Jiao, Yunfei Yan, Xuchen Pan, Xin Wang, et Fei Jiao. 2025a. « mRNA Vaccines in the Context of Cancer Treatment: From Concept to Application ». *Journal of Translational Medicine* 23(1):12. doi:10.1186/s12967-024-06033-6.
- Gazouli, Ioanna, Dimitrios Bafaloukos, Christos Koutserimpas, et George Samonis. 2025. « Individualized mRNA Vaccines in Melanoma—Where Do We Stand? » *Vaccines* 13(9):986. doi:10.3390/vaccines13090986.
- Giles, Josephine R., Anna-Maria Globig, Susan M. Kaech, et E. John Wherry. 2023. « CD8+ T cells in the Cancer Immunity Cycle ». *Immunity* 56(10):2231-53. doi:10.1016/j.immuni.2023.09.005.
- Hald Albertsen, Camilla, Jayesh A. Kulkarni, Dominik Witzigmann, Marianne Lind, Karsten Petersson, et Jens B. Simonsen. 2022. « The role of lipid components in lipid nanoparticles for vaccines and gene therapy ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 188:114416. doi:10.1016/j.addr.2022.114416.
- Hou, Xucheng, Tal Zaks, Robert Langer, et Yizhou Dong. 2021. « Lipid Nanoparticles for mRNA Delivery ». *Nature Reviews Materials* 6(12):1078-94. doi:10.1038/s41578-021-00358-0.
- Hu, Chaoying, Jianyang Liu, Feiran Cheng, Yu Bai, Qunying Mao, Miao Xu, et Zhenglun Liang. 2023. « Amplifying mRNA Vaccines: Potential Versatile Magicians for Oncotherapy ». *Frontiers in Immunology* 14. doi:10.3389/fimmu.2023.1261243.
- Imani, Saber, Oya Tagit, et Chantal Pichon. 2024. « Neoantigen vaccine nanoformulations based on Chemically synthesized minimal mRNA (CmRNA): small molecules, big impact ». *NPJ Vaccines* 9:14. doi:10.1038/s41541-024-00807-1.

- Kiaie, Seyed Hossein, Naime Majidi Zolbanin, Armin Ahmadi, Rafieh Bagherifar, Hadi Valizadeh, Fatah Kashanchi, et Reza Jafari. 2022. « Recent advances in mRNA-LNP therapeutics: immunological and pharmacological aspects ». *Journal of Nanobiotechnology* 20(1):276. doi:10.1186/s12951-022-01478-7.
- Kim, Jeonghwan, Yulia Eygeris, Mohit Gupta, et Gaurav Sahay. 2021. « Self-assembled mRNA vaccines ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 170:83-112. doi:10.1016/j.addr.2020.12.014.
- Laila, Umm E., Wang An, et Zhi-Xiang Xu. 2024. « Emerging Prospects of mRNA Cancer Vaccines: Mechanisms, Formulations, and Challenges in Cancer Immunotherapy ». *Frontiers in Immunology* 15. doi:10.3389/fimmu.2024.1448489.
- Lee, Yeji, Michaela Jeong, Jeongeun Park, Hyein Jung, et Hyukjin Lee. 2023. « Immunogenicity of Lipid Nanoparticles and Its Impact on the Efficacy of mRNA Vaccines and Therapeutics ». *Experimental & Molecular Medicine* 55(10):2085-96. doi:10.1038/s12276-023-01086-x.
- Liu, Da-Hua, Fei-Fei Mou, Min An, et Pu Xia. 2023. « Human Leukocyte Antigen and Tumor Immunotherapy (Review) ». *International Journal of Oncology* 62(6):68. doi:10.3892/ijo.2023.5516.
- Lu, Ruei-Min, Hsiang-En Hsu, Ser John Lynon P. Perez, Monika Kumari, Guan-Hong Chen, Ming-Hsiang Hong, Yin-Shiou Lin, Ching-Hang Liu, Shih-Han Ko, Christian Angelo P. Concio, Yi-Jen Su, Yi-Han Chang, Wen-Shan Li, et Han-Chung Wu. 2024. « Current landscape of mRNA technologies and delivery systems for new modality therapeutics ». *Journal of Biomedical Science* 31(1):89. doi:10.1186/s12929-024-01080-z.
- Magoola, Matthias, et Sarfaraz K. Niazi. 2025. « Current Progress and Future Perspectives of RNA-Based Cancer Vaccines: A 2025 Update ». *Cancers* 17(11):1882. doi:10.3390/cancers17111882.
- Makker, Shania, Charlotte Galley, et Clare L. Bennett. 2024. « Cancer vaccines: from an immunology perspective ». *Immunotherapy Advances* 4(1):ltad030. doi:10.1093/immadv/ltad030.
- Ni, Ling. 2023. « Advances in mRNA-Based Cancer Vaccines ». *Vaccines* 11(10):1599. doi:10.3390/vaccines11101599.
- Perrotta, Cristiana, Claudio Fenizia, Carla Carnovale, Marco Pozzi, Daria Trabattoni, Davide Cervia, et Emilio Clementi. 2023. « Updated Considerations for the Immunopharmacological Aspects of the “Talented mRNA Vaccines” ». *Vaccines* 11(9):1481. doi:10.3390/vaccines11091481.
- Raghavan, Malini, et Jie Geng. 2015. « HLA-B Polymorphisms and Intracellular Assembly Modes ». *Molecular immunology* 68(2 0 0):89-93. doi:10.1016/j.molimm.2015.07.007.
- Rojas, Luis A., Zachary Sethna, Kevin C. Soares, Cristina Olcese, Nan Pang, Erin Patterson, Jayon Lihm, Nicholas Ceglia, Pablo Guasp, Alexander Chu, Rebecca Yu, Adrienne Kaya Chandra, Theresa Waters, Jennifer Ruan, Masataka Amisaki, Abderezak Zebboudj, Zagaa Odgerel, George Payne, Evelyn Derhovanessian, Felicitas Müller, Ina Rhee, Mahesh Yadav, Anton Dobrin, Michel Sadelain, Marta Łuksza, Noah Cohen, Laura Tang, Olca Basturk, Mithat Gönen, Seth Katz, Richard Kinh Do, Andrew S. Epstein, Parisa Momtaz, Wungki Park, Ryan Sugarman, Anna M. Varghese, Elizabeth Won, Avni Desai, Alice C. Wei, Michael I. D’Angelica, T. Peter Kingham, Ira Mellman, Taha Merghoub, Jedd D. Wolchok, Ugur Sahin, Özlem Türeci, Benjamin D. Greenbaum, William R. Jarnagin, Jeffrey Drebin, Eileen M. O’Reilly, et Vinod P. Balachandran. 2023. « Personalized RNA Neoantigen Vaccines Stimulate T Cells in Pancreatic Cancer ». *Nature* 618(7963):144-50. doi:10.1038/s41586-023-06063-y.

- Sahin, Ugur, et Özlem Türeci. 2018. « Personalized vaccines for cancer immunotherapy ». *Science* 359(6382):1355-60. doi:10.1126/science.aar7112.
- Schumacher, Tonne N., et Robert D. Schreiber. 2015. « Neoantigens in cancer immunotherapy ». *Science* 348(6230):69-74. doi:10.1126/science.aaa4971.
- Sethna, Zachary, Pablo Guasp, Charlotte Reiche, Martina Milighetti, Nicholas Ceglia, Erin Patterson, Jayon Lihm, George Payne, Olga Lyudoviyk, Luis A. Rojas, Nan Pang, Akihiro Ohmoto, Masataka Amisaki, Abderezak Zebboudj, Zagaa Odgerel, Emmanuel M. Bruno, Siqi Linsey Zhang, Charlotte Cheng, Yuval Elhanati, Evelyn Derhovanessian, Luisa Manning, Felicitas Müller, Ina Rhee, Mahesh Yadav, Taha Merghoub, Jedd D. Wolchok, Olca Basturk, Mithat Gönen, Andrew S. Epstein, Parisa Momtaz, Wungki Park, Ryan Sugarman, Anna M. Varghese, Elizabeth Won, Avni Desai, Alice C. Wei, Michael I. D'Angelica, T. Peter Kingham, Kevin C. Soares, William R. Jarnagin, Jeffrey Drebin, Eileen M. O'Reilly, Ira Mellman, Ugur Sahin, Özlem Türeci, Benjamin D. Greenbaum, et Vinod P. Balachandran. 2025. « RNA Neoantigen Vaccines Prime Long-Lived CD8+ T Cells in Pancreatic Cancer ». *Nature* 639(8056):1042-51. doi:10.1038/s41586-024-08508-4.
- Vishweshwaraiah, Yashavantha L., et Nikolay V. Dokholyan. 2022. « mRNA vaccines for cancer immunotherapy ». *Frontiers in Immunology* 13:1029069. doi:10.3389/fimmu.2022.1029069.
- Yang, Kailin, Ahmed Halima, et Timothy A. Chan. 2023. « Antigen Presentation in Cancer — Mechanisms and Clinical Implications for Immunotherapy ». *Nature Reviews Clinical Oncology* 20(9):604-23. doi:10.1038/s41571-023-00789-4.
- Yıldız, Ayşegül, Cristian Răileanu, et Tim Beissert. 2024. « Trans-Amplifying RNA: A Journey from Alphavirus Research to Future Vaccines ». *Viruses* 16(4):503. doi:10.3390/v16040503.
- Zhou, Yingqiong, Yuquan Wei, Xiaohu Tian, et Xiawei Wei. 2025. « Cancer Vaccines: Current Status and Future Directions ». *Journal of Hematology & Oncology* 18(1):18. doi:10.1186/s13045-025-01670-w.

Le cancer demeure l'une des principales causes de mortalité mondiale, ce qui a favorisé l'émergence de l'immunothérapie par ARNm comme une stratégie innovante pour mobiliser le système immunitaire de manière spécifique et durable. Contrairement aux vaccins traditionnels, ces thérapies visent à entraîner l'organisme à reconnaître des antigènes tumoraux spécifiques, en activant principalement une réponse cellulaire portée par les lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺. Cette technologie repose sur diverses plateformes, incluant l'ARNm conventionnel ainsi que des formats avancés comme les ARNm auto-amplifiants (saRNA) et trans-amplifiants (taRNA), qui optimisent l'expression de l'antigène tout en permettant de réduire les doses injectées. Pour assurer le succès de ces vaccins, l'ARNm est encapsulé dans des nanoparticules lipidiques (LNP) qui le protègent de la dégradation enzymatique et facilitent son acheminement vers les cellules présentatrices d'antigènes. La personnalisation du traitement constitue un pilier majeur, utilisant le séquençage de nouvelle génération (NGS) pour identifier les néoantigènes issus des mutations propres à la tumeur de chaque patient. Parallèlement, l'optimisation structurelle de l'ARNm, notamment au niveau de la coiffe 5', de la queue poly(A) et de l'enrichissement en GC, garantit une stabilité accrue et une traduction protéique efficace. Les applications cliniques récentes, particulièrement dans le traitement de l'adénocarcinome ductal pancréatique (PDAC), démontrent que cette approche peut induire des lymphocytes T à longue durée de vie, capables de persister plusieurs années et montrant un potentiel prometteur pour retarder ou prévenir les récurrences chez les patients ayant développé une réponse immunitaire. En conclusion, l'intégration de ces progrès en biologie moléculaire et en ingénierie des systèmes de délivrance ouvre la voie à une médecine de précision transformant durablement la prise en charge oncologique personnalisée.

Cancer remains a leading cause of global mortality, fostering the emergence of mRNA immunotherapy as an innovative strategy to mobilize the immune system in a specific and durable manner. Unlike traditional vaccines, these therapies aim to train the body to recognize specific tumor antigens, primarily by activating a cellular response driven by CD8⁺ cytotoxic T cells. This technology relies on various platforms, including conventional mRNA as well as advanced formats such as self-amplifying mRNA (saRNA) and trans-amplifying mRNA (taRNA), which optimize antigen expression while allowing for reduced injection doses. To ensure the success of these vaccines, mRNA is encapsulated in lipid nanoparticles (LNPs) that protect it from enzymatic degradation and facilitate its delivery to antigen-presenting cells. Treatment personalization is a major pillar, utilizing Next-Generation Sequencing (NGS) to identify neoantigens derived from each patient's tumor-specific mutations. Concurrently, structural optimization of the mRNA—notably at the 5' cap, poly(A) tail, and GC enrichment levels—ensures increased stability and efficient protein translation. Recent clinical applications, particularly in the treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), demonstrate that this approach can induce long-lived T cells capable of persisting for several years. In Phase I trials, these responses show promising potential for delaying or preventing recurrence in patients who developed a robust immune response, correlating with improved outcomes in these responders. In conclusion, the integration of these advances in molecular biology and delivery system engineering paves the way for precision medicine, durably transforming personalized oncological care.