

THÉRAPIE PHOTODYNAMIQUE : CONCEPTS, MÉCANISMES D'ACTION ET APPLICATIONS EN GREFFE DE CELLULES SOUCHES.

Pierre Fokam* et Denis Claude Roy, MD, FRCPC

Département d'hématologie-oncologie,
Hôpital Maisonneuve-Rosemont,
Département de Médecine,
Université de Montréal.

*Étudiant à la maîtrise.

INTRODUCTION

La thérapie photodynamique (PDT) est une approche thérapeutique prometteuse utilisée dans le traitement de différents types de cancer et de maladies non oncologiques (1). La PDT exerce son action en associant la lumière, l'oxygène et un agent photosensibilisateur à un médicament sensible à la lumière afin de détruire des cellules ciblées. Plusieurs agents photosensibles sont à l'essai pour le traitement de nombreuses pathologies. Le 4,5-dibromorhodamine ester méthylique (TH9402) est un agent photosensible de seconde génération présentement à l'essai dans le traitement de greffons cellulaires, ainsi que dans la prévention et le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH). Dans cette revue, nous nous proposons de mettre en exergue les propriétés et les applications de ce photosensibilisateur.

THÉRAPIE PHOTODYNAMIQUE : UN PEU D'HISTOIRE!

L'utilisation de la lumière comme agent thérapeutique est une réalité qui peut être retracée jusqu'à l'Antiquité. En effet, la lumière a été utilisée en Égypte antique, en Inde et en Chine pour traiter des maladies de la peau, comme le psoriasis et le vitiligo, des affections malignes ainsi que le rachitisme et même la psychose! Il est connu que dans la Grèce antique, on employait l'exposition au soleil comme approche thérapeutique. Les bains de soleil représentaient même un passe-temps populaire (2,3). Au cours des XVIII^e et XIX^e siècle en France, la lumière du soleil a été utilisée dans le traitement de conditions diverses dont la tuberculose, le rachitisme, le scorbut, le rhumatisme, la paralysie, l'œdème et la fatigue musculaire. La photothérapie nouvelle a pris naissance avec les travaux du médecin danois Niels Finsen qui, à la fin du XIX^e siècle, a décrit le traitement réussi de la variole en utilisant la lumière rouge qui empêchait la suppuration des pustules. Ce médecin a par la suite continué à utiliser la lumière, mais cette fois dans le spectre ultraviolet, pour traiter la tuberculose cutanée, ce qui lui a valu l'obtention d'un prix Nobel en 1903 (4).

Le concept plus moderne de PDT, où la mort cellulaire est induite par l'interaction de la lumière et de produits chimiques, remonte tout de même à au moins 100 ans. En effet, Oscar Raab, étudiant en médecine qui travaillait avec le Professeur Herman von Tappeiner à Munich, a découvert, au cours d'une étude sur les effets de l'acridine, que la combinaison d'acridine rouge et de lumière avait un effet mortel sur l'*Infusoria*, une espèce de paramécies (5). Il a démontré que cet effet sur les paramécies était moins marqué lorsque l'acridine ou la lumière seule était utilisée. Raab avait donc découvert la propriété optique de la fluorescence et conclu que ce n'était pas la lumière, mais plutôt un certain

produit de la fluorescence qui induisait la toxicité *in vitro*. Il a postulé, avec justesse, que cet effet était causé par le transfert d'énergie de la lumière au composé chimique (4).

Le premier rapport faisant état de l'administration parentérale d'un agent photosensible chez l'humain date de 1900, alors que Prime, un neurologue français, a utilisé l'éosine par voie orale pour le traitement de l'épilepsie. Il a noté l'apparition d'une dermatite dans les régions de la peau exposées au soleil. Cette découverte allait mener à la première application médicale d'une interaction entre un composé fluorescent et la lumière. Ainsi, von Tappeiner et un dermatologue nommé Jesionek ont utilisé une combinaison d'éosine et de lumière blanche pour traiter des tumeurs de la peau. Avec Jodlbauer, von Tappeiner a ensuite démontré la nécessité de l'oxygène dans des réactions de photosensibilisation. En 1907, ils ont proposé le terme « action photodynamique » pour décrire ce phénomène.

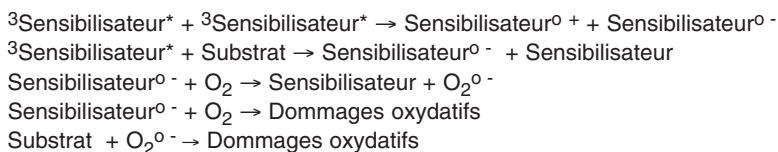
MÉCANISMES PHYSICOCHIMIQUES DE LA PDT

La PDT requiert l'association d'un agent photosensible avec un activateur, qui est la lumière, et un coactivateur qui n'est autre que l'oxygène. Un photosensibilisateur est une molécule qui possède généralement un groupement chromophore. Fait important, le photosensibilisateur seul est inactif (en absence de lumière), mais, suite à l'absorption de lumière, il passe à un état excité. Une fois excité, il peut réagir avec les molécules environnantes. De manière plus détaillée, les principes photochimiques et photophysiques de la PDT se présentent comme suit : en présence de lumière de longueur d'onde appropriée, l'agent photosensible est excité et passe donc de l'état inactif (S_0) au premier état excité (S_1) suivi par la conversion à l'état de triplet (T_1). La durée de vie plus longue de l'état de triplet permet l'interaction de l'agent photosensible excité avec les molécules environnantes et, il est généralement admis, que la génération de l'espèce cytotoxique produite pendant la PDT se fait pendant cet état. L'état de triplet excité peut réagir de deux façons définies comme étant les mécanismes de type I et de type II.

Un mécanisme de type I (Figure 1) implique l'enlèvement d'un atome d'hydrogène ou une réaction de transfert d'électron entre l'état excité du photosensibilisateur et un substrat qui peut être un composé biologique, un solvant ou un autre agent photosensible, et libération de radicaux libres et d'ions radicalaires. Les radicaux libres sont généralement très réactifs et peuvent aisément interagir avec l'oxygène moléculaire pour produire des oxygènes réactifs comme des anions superoxydes ou des radicaux hydroxyyles. Or les radicaux libres sont connus pour causer des dommages ou des lésions cellulaires irréversibles.

Figure 1

Mécanisme de type I impliqué dans la thérapie photodynamique.



Le mécanisme de type I implique l'enlèvement d'un atome d'hydrogène, ou une réaction entraînant un transfert d'électron entre l'état excité du photosensibilisateur et le substrat, produisant des radicaux libres et des ions radicalaires. Ces espèces radicalaires sont généralement plus réactives et réagissent rapidement avec les molécules d'oxygène pour générer des espèces réactives de l'oxygène (ERO), comme les radicaux anions superoxydes ($\text{O}_2^{\circ -}$) et les radicaux hydroxyles (OH°). Certaines réactions peuvent provoquer des dommages irréversibles. Les dommages générés par ces espèces oxydées mènent éventuellement à des lésions biologiques observées en PDT.

Symboles : O_2 , oxygène au stade fondamental (stade 0) ; (*), état excité ; ($^{\circ}$) radicaux libres.

Un mécanisme de type II (Figure 2) résulte d'un transfert d'énergie entre l'état triplet excité de la molécule photosensible et l'oxygène moléculaire non actif produisant le premier état excité d'oxygène singulet. Ce singulet d'oxygène est extrêmement réactif et peut interagir avec un grand nombre de substrats biologiques, induisant des dommages oxydatifs et finalement la mort cellulaire.

Il est communément admis que le mécanisme de type II prédomine pendant la PDT, et que le singulet d'oxygène est l'agent cytotoxique primaire responsable des effets biologiques observés (6). Le mécanisme de type I devient plus important lorsque les concentrations d'oxygène sont basses ou dans des environnements plus polaires (7). Cependant, ces deux types de mécanismes mènent à des lésions oxydatives semblables.

MÉCANISMES DE MORT CELLULAIRE INDUITE PAR LA PDT

Apoptose et nécrose

À cause de l'intérêt intense porté depuis quelques années aux mécanismes de mort cellulaire, les études dans le champ de la PDT ont recherché la présence d'apoptose ou de nécrose tant *in vitro* que *in vivo*. Agarwal et al. (8) ont été les premiers à retrouver une apoptose après la PDT dans les cellules lymphomateuses de la souris L5178Y. En effet, en présence d'un agent photosensible (phthalocyanine de chloroaluminium), une induction rapide de l'apoptose, obtenue par activation de la phospholipase C, a été mise en évidence. Les facteurs cruciaux dans la détermination du type de mort cellulaire, apoptose ou nécrose, après PDT sont : le type de cellule, la localisation sous-cellulaire du photosensibilisateur et la dose. En général, on croit que l'apoptose résulte de faibles doses de PDT, alors que la nécrose est observée suite à l'exposition à de fortes intensités (9). Ainsi, Nagata et al. (10) ont testé le photosensibilisateur amphiphile ATX-S10(Na) sur des cellules malignes de mélanome humain et ont observé que de faibles doses de PDT, conduisant à moins de 70 % de cytotoxicité, induisaient principalement une mort cellulaire par apoptose. Par contre, la plupart des cellules étaient nécrotiques à des doses induisant 99 % de cytotoxicité. Finalement, une fonction commune du programme d'apoptose amorcé par la PDT est la sortie rapide de cytochrome C des mitochondries vers le cytosol suivie par l'activation de l'apoptosome et de la procaspase 3.

Effet de voisinage (*bystander*)

Un mécanisme de mort cellulaire différent a été décrit par Dahle et al. (11). Pendant la PDT *in vitro*, il a été démontré que quelques cellules meurent par effet direct, mais que d'autres cellules de voisinage subissent les dégâts des cellules mortes, qui sont propagés par une chaîne de cellules adjacentes. Ce processus est nommé l'effet de voisinage (*bystander* en anglais). Ainsi la communication entre les cellules est impliquée dans la résultante du traitement photodynamique, si seulement une partie des cellules est exposée à la PDT. La communication intercellulaire joue donc un rôle dans l'induction de la mort cellulaire induite par la PDT. Par ailleurs, l'effet de voisinage semble plus marquant pour les cellules présentant une réaction de nécrose plutôt qu'une réaction d'apoptose.

Dommages à l'ADN

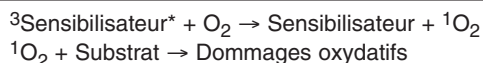
La lumière solaire provoque des dommages à l'ADN par deux mécanismes. Premièrement, l'ADN absorbe directement la lumière dans l'UVC et la gamme d'UVB du spectre (jusqu'à 320 nm). L'absorption provoque des photoproduits caractéristiques, particulièrement la formation de dimères de pyrimidine. On a démontré des altérations de l'ADN dans plusieurs études de PDT *in vitro* (12). Cependant, ces dégâts n'ont pas été directement liés à des effets mortels. Deuxièmement, la PDT peut causer des dommages oxydatifs au niveau des bases de l'ADN, avec cassures de brins et formation de liaisons croisées. Le potentiel mutagène varie selon le type cellulaire, reflétant probablement des différences dans la capacité de réparation, ou dans les mécanismes de surveillance de dégâts. Les réactions survenant dans le contexte d'exposition à des radicaux libres sont probablement impliquées dans le processus de carcinogenèse induite chimiquement. En effet, l'oxygène singulet peut être aisément produit à l'intérieur des cellules et réagit efficacement avec l'ADN, causant des cassures des simples brins. Sa réaction préférentielle avec la guanine dans l'ADN mène principalement à la délétion d'un G dans la séquence d'ADN.

AGENTS PHOTOSENSIBLES

Tel qu'évoqués plus tôt, les agents photosensibles sont des composés ayant la capacité d'absorber la lumière de longueur d'onde spécifique et de la transformer en énergie utile. Dans le cas de PDT, cela impliquerait la production d'agents cytotoxiques

Figure 2

Mécanisme de type II impliqué dans la thérapie photodynamique.



Le mécanisme de type II, entraîne un transfert d'énergie de l'état triplet excité du photosensibilisateur à une molécule d'oxygène provoquant la production de l'état singulet excité de l'oxygène.

Symboles : O_2 , oxygène au stade fondamental (stade 0) ; $^1\text{O}_2$, oxygène singulet.

mortels. Il y a des centaines d'agents naturels et synthétiques qui peuvent fonctionner comme photosensibilisateurs pour la PDT, allant de dérivés végétaux à des composés synthétiques complexes. La caractéristique clef de n'importe quel agent photosensible est sa capacité à s'accumuler préférentiellement dans le tissu malade et à produire par la suite des agents cytotoxiques pour induire l'effet biologique désiré. De nos jours, il existe plusieurs agents photosensibles de diverses générations développés au fil du temps.

Les agents photosensibles de première génération sont les dérivés de l'hématoporphyrine, comme la Photofrine® (13). Les dérivés de l'hématoporphyrine sont actuellement les agents photosensibles les plus utilisés. La Photofrine®, commercialisée par la firme QLT PhotoTherapeutics (Vancouver, Canada), est présentement utilisée en clinique dans plusieurs pays, dont le Canada, pour le traitement des phases précoces et avancées des cancers du poumon, de l'œsophage, de la vessie et de l'estomac, ainsi que du cancer cervical et de la dysplasie cervicale (5). Malgré leurs succès apparents, les dérivés de l'hématoporphyrine présentent deux inconvénients majeurs. Tout d'abord, ces composés sont aisément absorbés et persistent dans le tissu cutané jusqu'à environ dix semaines après leur administration, causant une photosensibilité marquée de la peau et exigeant que le patient évite la lumière du soleil. Il s'agit d'un inconvénient non négligeable, particulièrement pour les patients atteints d'un cancer avancé. Deuxièmement, tandis que la Photofrine® a un certain nombre de pics d'absorption entre 400 et 650 nm, sa bande absorbante la plus faible, soit 630 nm, est utilisée le plus souvent pour exciter le photosensibilisateur, afin de limiter la pénétration du tissu par la lumière, pénétration qui varie avec la longueur d'onde. Bien que de tels inconvénients n'aient pas arrêté l'utilisation de la Photofrine® comme outil contre le cancer et autres conditions, la recherche de nouveaux agents photosensibles se devait d'être poursuivie.

Plusieurs photosensibilisateurs de deuxième génération ont depuis été développés. Quelques agents parmi les plus récents démontrent deux propriétés très avantageuses. D'abord la longueur d'onde d'absorbance a été changée de 630 nm, absorbance faible de la Photofrine®, à une absorbance beaucoup plus grande aux alentours de 660-800 nm. Ceci est important puisque la lumière de courte longueur d'onde est aisément dispersée par les tissus et pénètre faiblement, tandis que la lumière près de l'infrarouge peut pénétrer dans des tissus d'une épaisseur supérieure à 1 cm. De plus, des efforts ont été générés afin d'identifier des agents qui pouvaient être aisément éliminés de la circulation et de la peau, afin de permettre de limiter à une courte période de temps, suite à l'administration du médicament, l'isolement des patients de la lumière brillante (14). Parmi les agents de seconde génération, on peut citer entre autres : le bleu de méthylène, l'acide 5-aminolévulinique, la vertéporfine, la tin-éthyl-étiopurpurine, la témoporfine, les texaphyrines, les phthalocyanines, le N-aspartyle chlorure e6, les porphycènes et les rhodamines (15). Regardons plus en détails, les propriétés et les

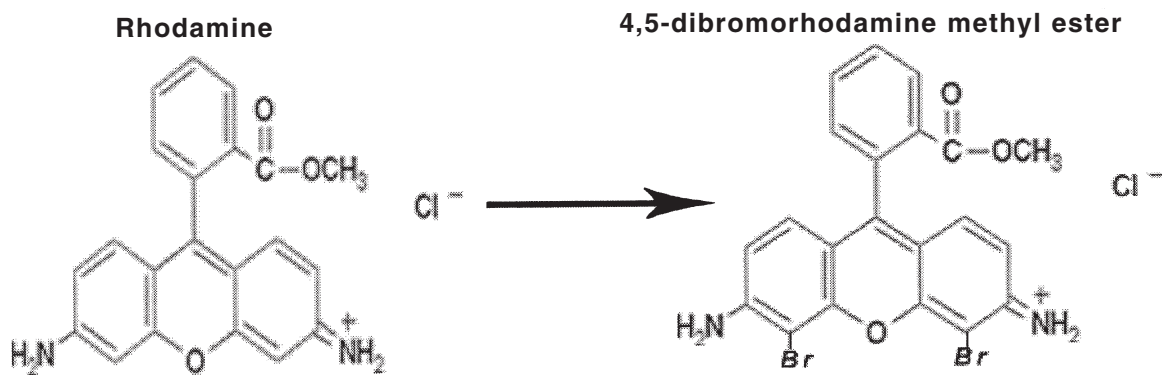
applications d'un dérivé de la rhodamine qui présente des propriétés biologiques particulièrement attrayantes.

PROPRIÉTÉS ET APPLICATIONS DU 4,5- DIBROMOMORHODAMINE ESTER MÉTHYLIQUE (TH9402) DANS LA PDT

Les rhodamines, à cause de leur incorporation spécifique dans les mitochondries et de leur utilisation comme sondes fluorescentes, ont été largement utilisées comme photosensibilisateurs, ce qui a mené naturellement à leur évaluation comme agents photosensibles dans le traitement de tumeurs malignes. La rhodamine-123 est une molécule potentiellement intéressante pour la PDT, parce qu'elle démontre une assimilation préférentielle dans les cellules cancéreuses. Fait important, cette famille de molécules échoue aussi à s'accumuler dans les cellules souches hématopoïétiques normales. De plus, elle démontre une faible toxicité et une élimination rapide, deux propriétés extrêmement favorables pour la PDT. Cependant, son haut rendement quantique de fluorescence se traduit par une faible formation de triplets d'oxygène. L'utilité de la rhodamine-123 dans sa forme originale comme photosensibilisateur thérapeutique est limitée, car elle est très peu phototoxique (16,17). Ce problème a été résolu en ajoutant des atomes lourds, comme le brome ou le chlore, à la molécule de base (18). L'addition de ces atomes au chromophore augmente le croisement intersystème de l'état singulet à l'état de triplet en amplifiant le spin orbital, permettant ainsi des changements, autrement interdits, de l'état de spin ($S_1 \rightarrow T_1$). L'addition d'halogènes au chromophore déplace aussi l'absorption maximale vers la fin du spectre rouge.

Le 4,5-dibromorhodamine ester méthylique (TH9402 ; Celmed Biosciences, Montréal, Canada) est un dérivé de la rhodamine-123. L'agent photosensible TH9402 (Figure 3) a été développé par un groupe de chimistes de l'Université de Montréal (Canada) et présente des propriétés photophysiques favorables (stabilité et faible toxicité). Des études montrent que, lorsque les cellules sont mises en présence du TH9402, cet agent photosensible s'accumule dans des lignées de cellules malignes. De plus, des études réalisées dans notre laboratoire ont démontré que les cellules cancéreuses provenant de patients avec leucémie retenant plus de TH9402 que les cellules normales (19). Nous avons aussi démontré que ce même agent peut être utilisé pour éliminer de manière sélective les cellules T alloréactives contenues dans les greffons de donneurs allogéniques en vue d'une transplantation de cellules souches (20). Comme ces cellules sont responsables de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH), qui résulte de la réactivité des cellules du donneur contre les cellules du receveur, nous postulons que leur élimination permettra de prévenir ou de traiter cette réaction immunologique (GVH) qui est associée à une toxicité majeure. Cette élimination spécifique est possible grâce à la présence de la glycoprotéine P (Pgp) à la surface des lymphocytes T au repos et au niveau des cellules souches normales. La Pgp, un produit du gène de résistance aux

Figure 3
Structure moléculaire du 4,5-dibromorhodamine ester méthylique.



L'agent photosensible 4,5-dibromorhodamine ester méthylique (TH9402) est un dérivé de la rhodamine auquel on a ajouté des ions brome en position 4 et 5. Inerte en absence de lumière, le TH9402 n'exerce son activité qu'en présence de lumière visible (514 nm).

médicaments-1 (*MDR1*), pompe les médicaments de l'intérieur de la cellule vers l'extérieur. Fait intéressant, certaines études ont démontré que la Pgp est inactivée à la surface des cellules activées (21). Il s'ensuit que l'agent photosensible incorporé dans les cellules activées ne peut plus être expulsé, et que ces cellules sont rapidement éliminées suite à leur exposition à la lumière. Cette accumulation différentielle est donc à l'origine de l'élimination sélective des cellules activées, lorsqu'elles sont soumises à la PDT, et à la préservation des cellules T au repos. À ce jour, le TH9402 est utilisé dans des études cliniques d'élimination des cellules cancéreuses présentes dans les greffons de moelle osseuse ou de cellules souches du sang de sujets cancéreux qui doivent être traités par une approche de greffe autologue (22). De plus, des études sont actuellement en cours afin de prévenir la GVH par l'élimination sélective de cellules alloréactives avant une greffe de cellules souches allogéniques. Cette stratégie est aussi évaluée pour le traitement de la GVH, une condition apparentée à l'auto-immunité et qui implique des lymphocytes T activés au niveau pathogénique.

Les expérimentations cliniques de phase I ont utilisé l'analogue bromé de la rhodamine, le TH9402, pour le traitement de la leucémie myéloïde chronique. Cette thérapie photodynamique, utilisée *ex vivo* pour purger les cellules leucémiques dans les greffons de cellules souches autologues, détruit les cellules malades tout en épargnant les cellules saines (22).

Des études *in vivo* utilisant le TH9402 ont été menées dans notre laboratoire et ont démontré que la PDT éliminait rapidement les cellules T alloréactives et préservait les cellules T au repos, ainsi que leur capacité de prolifération, afin de prévenir la GVH (23). L'équipe de Chen et al. (24) a démontré dans un modèle de transplantation murine incompatible au niveau du complexe majeur d'histocompatibilité que, lorsque les souris receveuses étaient inoculées avec des cellules BCL1 leucémiques/lymphomateuses et subissaient une irradiation mortelle, l'infusion de moelle osseuse dépourvue de cellules T aboutissait à une rechute. L'addition de cellules T activées, mais non traitées, et provenant d'une réaction lymphocytaire mixte, produisait une GVH mortelle. Par contre, l'administration de cellules traitées à la PDT contrôlait la récurrence de cellules BCL1 sans causer la GVH. Ainsi, la PDT associée au TH9402 semble empêcher la GVH, tout en préservant l'activité GVL *in vivo*.

AVANTAGES DU TH9402 ET DE LA PDT

Le haut niveau d'efficacité et de sélectivité de l'agent photosensible TH9402 pour les cellules activées représente une des raisons principales de son choix pour éliminer les cellules T alloréactives. À prime abord, l'utilisation d'anticorps monoclonaux semble plus rassurante que celle de la PDT, puisqu'elle permet d'éliminer les cellules T sur la base de l'expression antigénique de certaines molécules d'activation. La structure ciblée, clairement définie, devrait assurer une élimination robuste des cellules alloréactives. Il apparaît cependant que ces dits marqueurs d'activation ne sont pas aussi spécifiques qu'anticipés, et que de tels antigènes peuvent être exprimés sur des cellules au repos et même sur des populations cellulaires qui pourraient être utiles pour contrôler la GVH (cellules T régulatrices), ce qui serait contre-productif. Dans ce contexte, une approche immunologique sélective pour l'élimination des cellules T activées implique le ciblage de plusieurs structures antigéniques de façon simultanée. Ce ciblage sous-entend l'utilisation d'appareils de cytométrie de flux sophistiqués que l'on ne retrouve que dans un nombre très limité d'institutions.

En terme d'équipement, la PDT/TH9402 exige un dispositif d'éclairage qui est un instrument pouvant être incorporé facilement dans la plupart des laboratoires de thérapie cellulaire. Cet instrument est entièrement automatisé et l'émission précise de la lumière est assurée par un contrôle continu de la luminosité. Au contraire de la plupart des photosensibilisateurs, pour lesquels le spectre d'absorption nécessite une irradiation dans le spectre des ultraviolets, le TH9402 utilisé dans notre procédure de PDT exige seulement la lumière visible (vers 514nm) qui est non mutagène.

La PDT avec le TH9402 représente un processus extrêmement flexible. En variant les différents paramètres de traitement (concentration, conditions d'incubation, temps d'exposition et intensité lumineuse), il est possible de moduler l'effet sur des populations cellulaires ciblées. Le fait que les paramètres de la PDT puissent être modifiés pour éliminer des populations cellulaires par des mécanismes distincts impliquant principalement l'apoptose ou la nécrose représente aussi une occasion intéressante d'examiner diverses approches immunothérapeutiques et d'induction de la tolérance. Fait important, la même stratégie de PDT peut être utilisée tant pour l'élimination des

cellules T alloréactives que pour celle des cellules cancéreuses, limitant ainsi le nombre d'instruments qui exigent une validation et un contrôle de qualité continu.

MÉCANISMES IMMUNOLOGIQUES DE LA PDT DANS LA PRÉVENTION ET LE TRAITEMENT DE LA GVH

Comme mentionné précédemment, l'effet physicochimique de la PDT est basé non seulement sur la génération de radicaux libres et de singulets d'oxygène, mais aussi sur la rétention préférentielle et sélective de l'agent photosensible dans les cellules anormales ou hyperprolifératives. Dans le cas de GVH chronique (GVHc), la PDT pourrait exercer son action par divers mécanismes biologiques et immunologiques. En effet, l'effet immunomodulateur de la PDT résulterait, entre autres, d'une induction de l'apoptose des cellules T, d'une hyporégulation de l'alloréactivité induisant une tolérance immunologique due à des mécanismes tels que l'anergie, l'ignorance, la délétion et la suppression (25). Une réponse vaccinale de type T pourrait être impliquée, ainsi que la mise en place d'une réponse immune régulatrice et la stimulation de la sécrétion de certaines cytokines. Il est aussi à noter que l'impact de certains paramètres sur la réponse clinique, telles que la composition de la suspension cellulaire et la biodistribution (durée de vie en circulation, élimination) des cellules après réinjection, n'est pas clairement défini.

Importance de l'apoptose

L'efficacité de la photophérese extracorporelle (traitement extracorporel des lymphocytes T photosensibilisés par du 8-méthoxypsoralène avec des rayons UVA et réinjection au donneur des lymphocytes traités) dans le traitement de la GVH résulterait de l'induction de l'apoptose des cellules T activées et potentiellement d'autres cellules immunes (26). Ces cellules T apoptotiques seraient par la suite phagocytées par les macrophages, ce qui aurait pour conséquence de faciliter la génération d'une réponse immune anti-cellule T. Une telle action pourrait être impliquée dans le mécanisme d'action de la PDT. En effet, la PDT associée au TH9402 induit une mort cellulaire par apoptose (données soumises pour publication). La conséquence directe d'une telle action est l'élimination physique des cellules alloréactives du greffon. De ce fait, la baisse du nombre de cellules alloréactives du greffon par la PDT serait donc un moyen de contrôler la GVHc. Le fait que cette élimination des cellules alloréactives implique un mécanisme d'apoptose constituerait un avantage pour la génération d'une réponse immune robuste (25). En effet, une cellule apoptotique est moins endommagée qu'une cellule nécrotique, ce qui rend la présentation des récepteurs cellulaires T (TCR) par les cellules dendritiques plus efficace. L'apoptose est d'autant plus importante que, selon plusieurs études, elle joue un rôle dans le mécanisme d'action de la PDT, que ce soit dans les lymphomes T cutanés ou la GVH (27,28).

La réponse anti-idiotypique de type vaccin

Dans plusieurs modèles de maladies auto-immunes, les cellules régulatrices responsables de la résistance à l'auto-immunité sont les cellules T anti-idiotypiques (29,30). Ces cellules reconnaissent les épitopes du récepteur TCR. La réponse immune qui en résulte fait référence au concept de la vaccination T décrit par Irun R. Cohen (31,32). Ce système régulateur dépend de facteurs différents, comme la présence de clones de lymphocytes T dont l'activité est dirigée contre les lymphocytes T autoréactifs. Le

concept de vaccination de cellules T est aussi valable pour tous les lymphocytes T activés, incluant les cellules T alloréactives. De telles réactions « d'anti-autoimmunité » peuvent être initiées *in vitro* et *in vivo* suite à la manipulation de lymphocytes autoréactifs et/ou alloréactifs par photophérese extracorporelle ou par PDT. En effet, les expérimentations animales, consistant à traiter les lymphocytes T pathogènes à l'aide du 8-méthoxypsoralène et des UVA, suggèrent que la photophérese extracorporelle induit une réaction immunitaire de type vaccin dirigée contre les cellules responsables de l'effet pathogène (33,34). Cette hypothèse du développement d'une réponse immunitaire vis-à-vis des clones T anti-hôte au cours de la photophérese extracorporelle pourrait être initiée au cours de la PDT et se présenter comme suit. Les clones T alloréactifs responsables de la GVHc, traités par la PDT en association avec le TH9402, sont phagocytés par des cellules dendritiques qui, en présence d'un signal de danger, arrivent à maturité et migrent vers les organes lymphoïdes. Les cellules dendritiques vont digérer les clones T pathogènes et présenter, par l'intermédiaire des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité, des antigènes modifiés par la PDT à des lymphocytes T régulateurs. Ces lymphocytes reconnaissent, via leurs récepteurs TCR, ces antigènes modifiés et s'activent en présence de molécules de costimulation exprimées par les cellules dendritiques. Il s'ensuit une prolifération de lymphocytes T régulateurs activés. Ces lymphocytes T régulateurs vont se différencier en effecteurs et patrouiller l'organisme à la recherche des clones pathogènes persistants, afin d'inhiber leur fonction ou leur prolifération, ou encore pour les détruire. Cet effet anti-idiotypique est déjà postulé dans le cas de traitements par photophérese extracorporelle de patients atteints de lymphome cutané (35). Un mécanisme semblable pourrait donc constituer un des modes d'action de la PDT avec le TH9402 dans le traitement de la GVHc.

CONCLUSION

La PDT implique un nombre significatif d'agents, dont certains présentent des caractéristiques thérapeutiques des plus intéressantes. Nous pouvons parier que ces nouveaux agents seront appelés à jouer un rôle important dans le traitement de plusieurs conditions néoplasiques et immunologiques.

RÉFÉRENCES

1. Dougherty TJ. An update on photodynamic therapy applications. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20:3-7.
2. Ackroyd R, Keltly C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2001;74:656-69.
3. Epstein JH. Phototherapy and photochemotherapy. *N Engl J Med* 1990;322:1149-51.
4. Allison RR, Downie GH, Cuenca R, Hu XH, Childs CJ, Sibata CH. Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagn Photodyn Ther* 2004;1:27-42.
5. Kessel D. Photodynamic therapy: from the beginning. *Photodiagn Photodyn Ther* 2004;1:3-7.
6. Fuchs J, Thiele J. The role of oxygen in cutaneous photodynamic therapy. *Free Radic Biol Med* 1998;24:835-47.
7. Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J Photochem Photobiol B* 1997;39:1-18.
8. Agarwal ML, Clay ME, Harvey EJ, Evans HH, Antunez AR, Oleinick NL. Photodynamic therapy induces rapid cell death by apoptosis in L5178Y mouse lymphoma cells. *Cancer Res* 1991;51:5993-6.

9. Plaetzer K, Kiesslich T, Krammer B, Hammerl P. Characterization of the cell death modes and the associated changes in cellular energy supply in response to ALPcS4-PDT. *Photochem Photobiol Sci* 2002;1:172-7.
10. Nagata S, Obana A, Gohto Y, Nakajima S. Necrotic and apoptotic cell death of human malignant melanoma cells following photodynamic therapy using an amphiphilic photosensitizer, ATX-S10(Na). *Lasers Surg Med* 2003;33:64-70.
11. Dahle J, Kaalhus O, Moan J, Steen HB. Cooperative effects of photodynamic treatment of cells in microcolonies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:1773-8.
12. Oleinick NL, Evans HH. The photobiology of photodynamic therapy: cellular targets and mechanisms. *Radiat Res* 1998;150(5 Suppl):S146-56.
13. Lipson RL, Baldes EJ, Olsen AM. The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection. *J Natl Cancer Inst* 1961;26:1-11.
14. Brown SA. Fluoroquinolones in animal health. *J Vet Pharmacol Ther* 1996;19:1-14.
15. Sharman WM, Allen CM, van Lier JE. Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discov Today* 1999;4:507-17.
16. Diwu Z, Lown JW. Phototherapeutic potential of alternative photosensitizers to porphyrins. *Pharmacol Ther* 1994;63:1-35.
17. Villeneuve L. Ex vivo photodynamic purging in chronic myelogenous leukaemia and other neoplasias with rhodamine derivatives. *Biotechnol Appl Biochem* 1999;30(Pt 1):1-17.
18. Pal P, Zeng H, Durocher G, Girard D, Li T, Gupta AK, et al. Phototoxicity of some bromine-substituted rhodamine dyes: synthesis, photophysical properties and application as photosensitizers. *Photochem Photobiol* 1996;63:161-8.
19. Roy DC, Paquette Y, Balassy A, Villeneuve L, Beauger N, Blanchard L, et al. Elimination of chronic myeloid leukemia (CML) cells with a novel photodynamic treatment. *Blood* 1999;94:144A.
20. Guimond M, Balassy A, Barrette M, Brochu S, Perreault C, Roy DC. P-glycoprotein targeting: a unique strategy to selectively eliminate immunoreactive T cells. *Blood* 2002;100:375-82.
21. Pilarski LM, Paine D, McElhaney JE, Cass CE, Belch AR. Multidrug transporter P-glycoprotein 170 as a differentiation antigen on normal human lymphocytes and thymocytes: modulation with differentiation stage and during aging. *Am J Hematol* 1995;49:323-35.
22. Boumedine RS, Roy DC. Elimination of alloreactive T cells using photodynamic therapy. *Cytotherapy* 2005;7:134-43.
23. Boumedine RS, Krosi G, Vaillancourt M, Perreault C, Roy DC. Elimination of alloreactive T lymphocytes using photodynamic therapy prevents the development of GVHD and promotes B and T cell reconstitution after MHC-mismatched transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:57-8.
24. Chen BJ, Cui X, Liu C, Chao NJ. Prevention of graft-versus-host disease while preserving graft-versus-leukemia effect after selective depletion of host-reactive T cells by photodynamic cell purging process. *Blood* 2002;99:3083-8.
25. Yu X, Carpenter P, Anasetti C. Advances in transplantation tolerance. *Lancet* 2001;357:1959-63.
26. Miracco C, Rubegni P, De Aloe G, D'Ascenzo G, Mazzatenta C, De Santi MM, et al. Extracorporeal photochemotherapy induces apoptosis of infiltrating lymphoid cells in patients with mycosis fungoides in early stages. A quantitative histological study. *Br J Dermatol* 1997;137:549-57.
27. Yoo EK, Rook AH, Elenitsas R, Gasparro FP, Vowels BR. Apoptosis induction of ultraviolet light A and photochemotherapy in cutaneous T-cell Lymphoma: relevance to mechanism of therapeutic action. *J Invest Dermatol* 1996;107:235-42.
28. Foss FM, Gorgun G, Miller KB. Extracorporeal photopheresis in chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:719-25.
29. Lider O, Beraud E, Reshef T, Friedman A, Cohen IR. Vaccination against experimental autoimmune encephalomyelitis using a subencephalitogenic dose of autoimmune effector T cells. (2). Induction of a protective anti-idiotypic response. *J Autoimmun* 1989;2:87-99.
30. Sun D, Qin Y, Chluba J, Epplen JT, Wekerle H. Suppression of experimentally induced autoimmune encephalomyelitis by cytolytic T-T cell interactions. *Nature* 1988;332:843-5.
31. Cohen IR. Regulation of autoimmune disease physiological and therapeutic. *Immunol Rev* 1986;94:5-21.
32. Cohen IR. T-cell vaccination for autoimmune disease: a panorama. *Vaccine* 2001;20:706-10.
33. Heshmati F. Mechanisms of action of extracorporeal photochemotherapy. *Transfus Apher Sci* 2003;29:61-70.
34. Girardi M, Herreid P, Tigelaar RE. Specific suppression of lupus-like graft-versus-host disease using extracorporeal photochemical attenuation of effector lymphocytes. *J Invest Dermatol* 1995;104:177-82.
35. Berger CL, Xu AL, Hanlon D, Lee C, Schechner J, Glusac E, et al. Induction of human tumor-loaded dendritic cells. *Int J Cancer* 2001;91:438-47.

ABRÉVIATIONS

ERO	espèces réactives de l'oxygène
GVH	réaction du greffon contre hôte
GVHc	réaction du greffon contre hôte chronique
GVL	réaction du greffon contre leucémie
PDT	thérapie photodynamique
TCR	récepteurs cellulaires T
TH9402	4,5-dibromorhodamine ester méthylique
UVA	rayons ultraviolets A (320-400 nm)
UVB	rayons ultraviolets B (280-320 nm)
UVC	rayons ultraviolets C (100-280 nm)