



HAL
open science

Imiter la réponse immunitaire humorale polyclonale : de l'association de deux anticorps monoclonaux aux productions oligoclonales

Christel Larbouret, Marie-Alix Poul, Thierry Chardès

► To cite this version:

Christel Larbouret, Marie-Alix Poul, Thierry Chardès. Imiter la réponse immunitaire humorale polyclonale : de l'association de deux anticorps monoclonaux aux productions oligoclonales. *Médecine/Sciences*, 2019, 35, pp.1083-1091. <10.1051/medsci/2019216>. <hal-02331499>

HAL Id: hal-02331499

<https://hal.science/hal-02331499v1>

Submitted on 24 Oct 2019

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

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



HAL Authorization

Imiter la réponse immunitaire humorale polyclonale : de l'association de deux anticorps monoclonaux aux productions oligoclonales

Christel Larbouret¹, Marie-Alix Poul¹, Thierry Chardès^{1,2}

¹Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier (IRCM), Inserm U1194, Université de Montpellier, Institut régional du Cancer de Montpellier (ICM), Montpellier, 34298, France

²Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS)

Auteur correspondant : thierry.chardes@inserm.fr

Résumé

Les anticorps monoclonaux ont révolutionné le traitement de nombreuses maladies mais leur efficacité clinique reste limitée dans certains cas. Des associations d'anticorps se liant à une même cible (homo-combinaisons) ou à plusieurs cibles différentes (hétéro-combinaisons), mimant ainsi une réponse immunitaire humorale polyclonale, ont conduit à une amélioration thérapeutique dans des essais précliniques et cliniques, essentiellement en cancérologie et en infectiologie. Ces combinaisons augmentent l'efficacité des réponses biologiques et court-circuitent les mécanismes de résistances observés lors d'une monothérapie par anticorps. Le procédé de formulation et d'administration des combinaisons d'anticorps le plus fréquent est une formulation séparée, avec injection séquentielle de chaque anticorps « principe actif ». Alternativement, se développent des formulations combinées, où les anticorps produits séparément sont mélangés avant administration, ou produits simultanément par une lignée cellulaire unique ou un mélange de lignées cellulaires correspondant à une *master-bank*

cellulaire polyclonale. La réglementation, la toxicité et la séquence d'injection des mélanges oligoclonaux restent des points à éclaircir et à optimiser pour un meilleur effet thérapeutique.

Introduction

Au XIX^e siècle, les travaux pionniers de Shibasaburo Kitasato et Emil von Behring en Allemagne, et d'Emile Roux en France, ouvrirent la voie à la sérothérapie, qui consiste en l'utilisation à but thérapeutique de sérums d'animaux ou d'hommes préalablement immunisés, contenant des anticorps spécifiques de pathogènes comme principe actif. César Milstein et Georges Köhler ont révolutionné ce concept en inventant la technique d'hybridation lymphocytaire et ont permis le développement d'une nouvelle classe pharmacologique de biomédicaments, les anticorps « monoclonaux (AcM) qui font l'objet de ce numéro de *médecine/sciences*. Toutefois, les réponses partielles et éphémères, souvent associées à des phénomènes de résistance (bien étudiés en recherche fondamentale), limitent l'efficacité clinique des AcM. Pour pallier ces obstacles, des associations d'AcM, le plus souvent évalués séparément, ou oligoclonaux, cocktail d'anticorps considéré comme un biomédicament unique, sont en cours de développement. En effet, le système immunitaire a naturellement évolué pour développer une réponse humorale polyclonale, optimisant ainsi sa capacité à combattre les maladies, plutôt qu'une stratégie monoclonale telle que proposée par les biomédicaments anticorps actuellement approuvés. L'autorisation de mise sur le marché (AMM) de deux combinaisons d'anticorps thérapeutiques a récemment validé ce concept de « mime » de la réponse immunitaire humorale polyclonale en oncologie. Les améliorations techniques dans la capacité à produire des mélanges oligoclonaux reproductibles d'anticorps, chaque composant étant sélectionné sur des critères précis, tels que la spécificité épitopique, l'affinité ou son activité biologique intrinsèque, permettent maintenant d'imiter la réponse immunitaire humorale polyclonale, ouvrant ainsi la voie à la sérothérapie du XXI^e siècle.

Titre niveau 1

Les prémices d'un mélange oligoclonal thérapeutique maîtrisé : homo-combinaison et hétéro-combinaison d'anticorps en préclinique

Titre niveau 2

Co-ciblage anti-tumoral

Autour des années 2000, la notion d'homo-combinaison d'anticorps, engageant des épitopes distincts sur un même récepteur, a été proposée par plusieurs équipes, dont celle de Yosef Yarden (institut Weizmann, Israël). Ainsi des homo-combinaisons d'anticorps anti-EGFR (*epidermal growth factor receptor*) [1], anti-HER2 (*human epidermal growth factor receptor-2*) [2] ou anti-cMET (ou *hepatocyte growth factor [HGF] receptor*) [3] induisent une activité anti-tumorale synergique due à l'accélération de la dégradation des récepteurs ciblés et à une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendant des anticorps (ADCC) renforcée (**Figure 1**). Ces combinaisons permettent de contrer la résistance au traitement provoquée par une monothérapie anti-EGFR dans le cancer colorectal [4], ou anti-cMET dans le cancer gastrique [5], et de maintenir une activité anti-tumorale malgré la présence de mutations des domaines extracellulaires de ces récepteurs [6]. Dès 2007, notre équipe à l'institut de recherche en cancérologie de Montpellier [7], démontrait que l'hétéro-combinaison d'anticorps anti-EGFR/anti-HER2 engageant des épitopes distincts sur ces deux récepteurs collaborant fonctionnellement, induisait une synergie anti-tumorale en favorisant l'ADCC, la diminution de l'expression de ces récepteurs et la formation des homodimères, mais aussi en inhibant les voies de signalisation intracellulaires [8]. Ces travaux précliniques, confirmés par d'autres groupes de recherche [9], ont permis la mise en place de l'essai clinique de phase I

THERAPY dans le cancer du pancréas métastatique et progressant sous gemcitabine. L'association cétuximab/trastuzumab (qui ciblent respectivement l'EGFR et HER2) a induit une stabilisation de la maladie chez 27 % des patients, sans réponse objective, mais avec une corrélation positive entre une toxicité cutanée et la survie sans progression des patients [10]. L'essai n'a pu être poursuivi à cause de cette toxicité, soulignant ainsi la nécessité de repenser la dose active dans le cas de combinaison d'anticorps. Ce concept d'hétéro-combinaison d'anticorps a pour but d'éviter les phénomènes de signalisation compensatoire liés au ciblage par les anticorps d'un récepteur unique. Il a été étendu au double ciblage EGFR/HER3 dans les tumeurs résistantes au cétuximab [4]. Ces hétéro-combinaisons d'anticorps peuvent également associer le ciblage d'un ligand, tel que le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) ou l'HGF, pour agir sur le microenvironnement, et le ciblage d'un récepteur spécifique de la tumeur [11]. Enfin, des cocktails oligoclonaux de trois [12] ou six [13] anticorps ciblant respectivement l'EGFR, HER2 et HER3 ont démontré un effet anti-tumoral accru dans des modèles expérimentaux, avec un blocage des voies de signalisation sous-jacentes ERK (*extracellular signal-regulated kinases*) et AKT (protéine kinase B), et une dégradation accélérée des récepteurs. L'homo- ou l'hétéro-combinaison d'anticorps en hématologie a également été proposée à l'aide d'anticorps ciblant les molécules CD20, CD22 ou CD52 exprimées par les lymphocytes B (et T en ce qui concerne CD52) [14].

Titre niveau 2

Co-ciblage anti-microbien

Reproduire la réponse immunitaire humorale par une combinaison d'anticorps thérapeutiques trouve aussi tout son sens dans le cadre d'une thérapie anti-infectieuse. En effet, les virus et les bactéries sont complexes (souches, facteurs de virulence, variabilité, etc.) et adoptent de

nombreuses stratégies d'échappement et ont des mécanismes d'action variés. Dès 1982, Volk *et al.* montrent que la combinaison de deux anticorps ciblant le virus de la stomatite vésiculaire améliore la neutralisation virale [15]. Depuis lors, des anticorps oligoclonaux ciblant le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) [16], le virus Ebola [17], le virus de l'hépatite B [18], le virus de la vaccine [19], le MERS-coronavirus (responsable du syndrome respiratoire du Moyen-Orient) [20], le virus de la rage [21], ou des toxines des bactéries *Clostridium difficile* [22], de *C. botulinum* [23] ou de *Bordetella pertussis* [24], entre autres, ont démontré une synergie dans leur capacité de neutralisation. Toutes ces démonstrations précliniques ont largement souligné l'intérêt de combiner des anticorps thérapeutiques pour imiter la réponse immunitaire humorale polyclonale.

Titre niveau 2

Co-ciblage des molécules de contrôle immunitaire : réveiller le système immunitaire

L'importance des points de contrôle immunitaire, telles que CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4*) et PD-1 (*programmed cell death 1*), pour moduler la réponse T anti-tumorale a été soulignée récemment par l'attribution du prix Nobel de physiologie ou médecine 2018 à James Allison et Tasuku Honjo. La compréhension de leurs rôles dans la régulation de l'activation des lymphocytes et dans l'échappement immunitaire des tumeurs a conduit au développement d'associations d'anticorps ciblant les molécules de cette famille fonctionnelle, qui sont classées en molécules co-inhibitrices (que l'on cherche à bloquer) ou molécules co-activatrices (que l'on cherche à stimuler). L'hétéro-combinaison d'anticorps anti-CTLA-4/anti-PD-1 bloquants a conduit dès 2010 à valider une synergie thérapeutique anti-tumorale dans des modèles murins de cancer colorectal et de mélanome, marquée par une infiltration accrue de lymphocytes T cytotoxiques et une inhibition de lymphocytes T

régulateurs et de cellules myéloïdes suppressives [25]. D'autres hétéro-combinaisons d'anticorps anti-points de contrôle immunitaire PD-1/4-1-BB (CD137 ou *tumor necrosis factor receptor superfamily member 9*) ou PD-1/LAG3 (*lymphocyte-activation gene 3*) [26], TIM3 (*T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3*) [27], entre autres, ont été proposées pour moduler les réponses immunitaires dans les cancers. Le lien, récemment démontré, entre l'expression ou la surexpression de PD-L1 (le ligand de PD-1) chez certains patients et l'efficacité d'anticorps anti-HER2 [28] suggère qu'il serait intéressant de combiner des anticorps ciblant des membres de la famille HER avec des anticorps ciblant les points de contrôle immunitaires dans certains cancers.

Titre niveau 1

La preuve de concept clinique : trastuzumab/pertuzumab dans le cancer du sein et nivolumab/ipilimumab dans le mélanome

La première association d'anticorps approuvée en 2012 a été l'homo-combinaison anti-HER2 trastuzumab/pertuzumab associée au docétaxel¹ dans le cancer du sein métastatique HER2-amplifié. L'essai de phase III CLEOPATRA, portant sur 808 patientes, a montré une survie moyenne sans progression (PFS) de 18,7 mois dans le groupe traité par la combinaison anticorps + docétaxel contre 12,4 mois dans le groupe traité par le trastuzumab seul + docétaxel [29], avec une toxicité cardiaque comparable dans les deux bras de traitement. Cette combinaison associée au docétaxel a ensuite été approuvée en traitement néo-adjuvant chez des patientes nouvellement diagnostiquées (Essais APHINITY et NEOSHERE [30]). Toutefois, l'essai clinique NEOSPHERE a révélé une plus forte toxicité dans le bras traité par la combinaison trastuzumab/pertuzumab. Aucun des essais cliniques de phase III associant des anticorps n'a cependant conduit à des résultats positifs. Ainsi, dans le cancer gastrique HER2-positif (étude JACOB), l'association pertuzumab et trastuzumab avec le cisplatine ou

¹ Alcaloïde qui se lie à la tubuline, favorisant sa polymérisation en microtubules.

le 5-fluoro-uracile n'a pas amélioré la survie des patients [31]. L'étude CAIRO2 [32], associant l'hétéro-combinaison bévacizumab/cétuximab avec l'oxaliplatine et la capécitabine, l'étude PACCE [33] impliquant bévacizumab/panitumumab associé à l'oxaliplatine et l'irinotécan dans le cancer colorectal métastatique, et l'étude AVEREL [34], associant trastuzumab et bévacizumab dans le cancer du sein HER2-amplifié, se sont aussi révélées infructueuses. Le co-ciblage du VEGF avec les récepteurs EGFR ou HER2 ne semble donc pas pertinent en termes de synergie ou d'additivité, peut-être à cause d'interactions négatives entre voies de signalisation, ou d'interactions pharmacodynamiques (défaut de vascularisation tumorale, inhibition de l'expression d'un des deux récepteurs) [35].

Seuls 20-30 % des patients atteints de mélanome métastatique répondent à la monothérapie avec les anticorps anti-CTLA-4 ou anti-PD-1 bloquant les points de contrôle immunitaire. Dès 2013, un essai clinique de phase I associant l'anti-CTLA-4 ipilimumab avec l'anti-PD1 nivolumab démontrait une régression tumorale chez 50 % des patients traités [36]. Dans l'essai clinique de phase III Checkmate 067, portant sur 945 patients atteints de mélanome métastatique, la survie sans progression a été supérieure dans le bras traité par l'hétéro-combinaison ipilimumab/nivolumab (11,5 mois), comparativement aux bras traités par le nivolumab (6,9 mois), ou par l'ipilimumab (2,9 mois) [37]. Toutefois, ce bénéfice en ce qui concerne la survie est associé à une toxicité accrue dans le bras traité par l'hétéro-combinaison nivolumab/ipilimumab (55 % des patients ont des effets secondaires de grade 3 et 4), comparé aux bras monothérapie (16 % pour le nivolumab et 27 % pour l'ipilimumab) [38]. Cet essai a conduit la *food and drug administration* (FDA) américaine à approuver cette combinaison d'anticorps anti-points de contrôle immunitaire dans le mélanome métastatique. Depuis, des essais cliniques de phase III, associant anti-CTLA-4 et anti-PD-1 ou anti-PD-L1, ont donné des résultats positifs dans le cancer du poumon et le carcinome rénal. Enfin, la combinaison de l'anticorps anti-PD-L1 atézolizumab avec l'anticorps anti-VEGF

bévacizumab, associée à la chimiothérapie dans le cancer du poumon, a récemment montré un bénéfice en terme de survie sans progression par rapport au bras sans atézolizumab (8,3 mois vs 6,8 mois) [39].

Environ 300 essais cliniques² utilisant une combinaison d'anticorps, associée ou non avec une chimiothérapie, sont actuellement en cours dans de nombreuses indications [40–42] (**Tableau I**). En cancérologie, l'essentiel des études, complètes ou en cours de recrutement, implique l'association ipilimumab/nivolumab (environ 130 essais, dont une cinquantaine dans les indications mélanome et cancer du poumon [42]) et l'association trastuzumab/pertuzumab (environ 40 études [40]). D'autres essais impliquant des homo- ou hétéro-combinaisons sont répertoriés :

- Anti-HER2 trastuzumab/anti-PD-L1 atézolizumab (3 essais),
- Anti-HER2 pertuzumab/anti-PD-L1 atézolizumab (3 essais),
- Anti-EGFR cétuximab/anti-PD-L1 avélumab (4 essais),
- Anti-PD-L1 durvalumab/anti-CTLA-4 trémélimumab (35 essais),
- Anti-VEGF bévacizumab/anti-PD-L1 atézolizumab (16 essais),
- Anti-VEGF bévacizumab/anti-PD1 pembrolizumab (6 essais),
- Anti-VEGF bévacizumab/anti-HER2 trastuzumab (4 essais),
- Anti-VEGF bévacizumab/anti-EGFR cétuximab (12 essais),
- ADC trastuzumab-Emtansine/pertuzumab ou trastuzumab ou pembrolizumab ou atézolizumab ou anti-4-BB1 (11 essais).

La plupart de ces combinaisons d'anticorps sont administrées séquentiellement, à partir d'entités biologiques anticorps développées individuellement comme biomédicament, et ayant obtenu initialement une AMM en tant qu'anticorps monoclonal « principe actif unique ». Le choix de la séquence de traitement reste encore à optimiser, notamment si des combinaisons

² ClinicalTrials.gov

d'anticorps anti-tumeur avec des anticorps anti-point de contrôle immunitaire sont proposées. En infectiologie, une vingtaine d'essais cliniques sont recensés (*Tableau I*). Dans quelques cas, de nouvelles stratégies industrielles de production/formulation, développées par certaines sociétés pharmaceutiques, ont permis de rationaliser et d'optimiser la production de combinaison d'anticorps (*Figure 2*).

Titre niveau 1

La validation industrielle des combinaisons d'anticorps : formulation « unique » ou « séparée », production en « cellule unique » ou « par un mélange de plusieurs cellules » ?

La production d'anticorps pour développer des associations thérapeutiques peut se réaliser selon 4 stratégies principales (*Figure 2*), qui ont conduit au développement clinique de mélanges oligoclonaux d'anticorps (*Tableau I et II*) :

- Stratégie « formulation séparée » : les principes actifs « anticorps » sont produits séparément à partir de chaque lignée cellulaire (surtout des cellules CHO), la formulation pharmaceutique est réalisée individuellement et les biomédicaments anticorps sont injectés séquentiellement lors du traitement. Cette stratégie pharmaceutique est la plus classique lorsqu'on utilise des biomédicaments « anticorps monoclonal » déjà approuvés. Elle est à la base de l'approbation des combinaisons trastuzumab/pertuzumab et nivolumab/ipilimumab par les autorités réglementaires et est utilisée dans la plupart des essais cliniques en cours.
- Stratégie « formulation unique » : les principes actifs « anticorps » sont produits séparément à partir de chaque lignée cellulaire (généralement dérivée de la lignée CHO) et l'étape de formulation pharmaceutique mélange les principes actifs pour conduire au

biomédicament « combinaison ». Cette stratégie a été développée pour produire la combinaison Sym004 de 2 anticorps anti-EGFR futuximab et modotuximab avec une stœchiométrie 1/1 [43], cette combinaison étant actuellement en essai clinique de phase II dans le cancer colorectal métastatique et le glioblastome. Une autre combinaison de trois anticorps anti-neurotoxine de *C. botulinum* (Xoma 3AB) a été développée jusqu'en phase I [44]. Cette stratégie a aussi été utilisée pour produire l'anticorps MM-151 [6,45], mélange stœchiométrique 2/2/1 de trois anticorps anti-EGFR, testé jusqu'en phase I, en association avec de la chimiothérapie ou avec l'anticorps anti-HER3 MM-121, dans le cancer colorectal et le cancer du poumon.

- Stratégie « production en cellule unique »: Les principes actifs « anticorps » sont produits ensemble par les cellules d'une seule lignée cellulaire. Une formulation pharmaceutique unique conduit au biomédicament « combinaison ». Ce procédé Oligoclomics^R [46], utilise la lignée cellulaire PER.C6 transfectée avec une construction génétique codant une seule chaîne légère kappa, et deux constructions génétiques codant chacune une chaîne lourde H de spécificité différente (technologie « *common light chain* »). Des mélanges d'anticorps mono-spécifiques et bi-spécifiques ont été développés en utilisant cette approche. À noter que cette technologie a été ensuite associée avec l'ingénierie du domaine CH3 pour forcer la production préférentielle d'anticorps bi-spécifiques, dont certains sont en cours de développement clinique, tels que les anticorps ciblant HER2/HER3 [47] dans le cancer du sein et le cancer gastrique, EGFR/Lgr5 (*leucine-rich repeat containing G protein-coupled receptor 5*) dans les tumeurs solides, et CD3/CLEC12A (*C-type lectin domain family 12 member A*) dans la leucémie aiguë myéloïde.
- Stratégie « production par un mélange de plusieurs cellules »: les lignées cellulaires produisant les principes actifs « anticorps » sont initialement mélangées pour produire

une « *master-cell bank* » cellulaire polyclonale. Une formulation unique conduit au biomédicament « combinaison ». Le procédé permet d'intégrer d'une manière site-spécifique chaque construction anticorps sur le même locus chromosomique dans chaque lignée cellulaire (Flp-In, CHO, CHO-DG44) [48], dans le but d'uniformiser le niveau d'expression de chaque anticorps après mélange des lignées cellulaires transformées. Ainsi, un mélange maîtrisé de 25 anticorps anti-RhD (*Rhésus D*) (rozrolimupab ou Sym001 [49]) ont été produits et testés en phase II dans le purpura thrombocytopénique [50], un mélange de deux anticorps anti-cMET avec une stœchiométrie 1/1 (Sym015 [3,5]) en phase II dans les tumeurs MET-amplifiées, et un mélange oligoclonal de deux anticorps anti-EGFR, deux anticorps anti-HER2 et deux anticorps anti-HER3 (Sym013 [4,13]) en phase I dans les cancers épithéliaux.

Titre niveau 1

Avantages/inconvénients et réglementation des associations d'anticorps

L'homo- ou l'hétéro-combinaison d'anticorps présente de nombreux avantages par rapport à la monothérapie anticorps (**Tableau III**). La combinaison d'anticorps permet de cibler plusieurs épitopes bien définis présents sur un ou plusieurs antigènes, avec un rapport stœchiométrique d'anticorps parfaitement contrôlé et ajustable. Au sein d'un cocktail, chaque anticorps peut être adapté en termes d'affinité, d'épitope, d'isotype, ou de glycosylation. Le fait de cibler plusieurs épitopes sur un même récepteur ou un pathogène, ou sur plusieurs récepteurs ou souches de pathogènes, permet également d'augmenter le nombre de cibles recrutées et donc le nombre d'anticorps liés par entité biologique (cellule ou pathogène). Les réponses biologiques induites par ces anticorps s'en retrouvent renforcées, comme les mécanismes immunitaires effecteurs dépendant de la région Fc de l'IgG (ADCC, CDC

[*complement-dependent cytotoxicity*], ADCP [*antibody-dependent cell phagocytosis*]), l'inhibition d'une signalisation cellulaire compensatoire (éventuellement par l'élimination ou l'internalisation/dégradation de la, ou des cibles) qui repose sur la partie Fab de l'IgG, ou la neutralisation et la clairance de virus. Dans le cas de l'hétéro-combinaison d'anticorps anti-points de contrôle immunitaire ou dirigés contre leurs ligands (comme PDL-1 par exemple), la combinaison permet de contrer simultanément les mécanismes de régulation négative redondants exploités par les tumeurs pour échapper au système immunitaire. Un mélange oligoclonal d'anticorps permet ainsi d'élargir le spectre d'activité du biomédicament, anticipant et évitant d'éventuelles résistances au traitement, préexistantes ou acquises par émergence de clones résistants sous l'effet d'un des constituants de l'association. Enfin, en cancérologie, les hétéro-combinaisons ciblant la cellule cancéreuse ou le microenvironnement tumoral immunitaire et les vaisseaux, procèdent de mécanismes d'action potentiellement synergiques *in vivo* dont les modalités restent à clarifier.

La production des mélanges d'anticorps est globalement régie selon les bonnes pratiques de fabrication classiquement utilisées pour produire les anticorps thérapeutiques [51]. Actuellement, la stratégie de « formulation séparée » continue à prévaloir pour associer deux AcM, que ce soit dans les formulations déjà approuvées ou en cours d'essais cliniques. Toutefois, cette stratégie sera de plus en plus coûteuse si on souhaite développer des mélanges de trois à six anticorps, avec des procédures et des contraintes de réglementation de plus en plus lourdes et compliquées. En effet, les réglementations de l'EMA (agence européenne des médicaments) et de la FDA imposent d'évaluer les composants d'un mélange oligoclonal individuellement et en combinaison, pour leur toxicité, leur efficacité et leur pharmacocinétique. Les procédures réglementaires sont donc dédoublées pour chaque anticorps « principe actif », chacun étant considéré comme un biomédicament unique dans une association. Face à ces difficultés, les stratégies « production en cellule unique » ou

« production par un mélange de plusieurs cellules » devraient permettre de maîtriser les procédés et coûts de production, et de faciliter les procédures réglementaires et d'enregistrement [52]. Concrètement, la FDA a déjà autorisé des mélanges oligoclonaux d'anticorps, préparés selon la stratégie « formulation unique », à être utilisés dans des tests cliniques de phase I et II [44]. Des essais de phase I avec le Sym004 [53] et le MM-151 [54], obtenus selon la stratégie « formulation unique », ont obtenu l'autorisation de la FDA pour être testés comme « biomédicament unique » en cancérologie. Il est donc nécessaire d'évaluer très précocement, au stade préclinique, la stratégie de production de mélanges oligoclonaux pour réduire les risques et les coûts. Reste à savoir comment la FDA ou l'EMA appréhenderont d'un point de vue réglementaire les nouveaux mélanges oligoclonaux d'anticorps préparés selon les stratégies de « production en cellule unique » ou de « production par un mélange de cellules ».

Un mélange oligoclonal est formulé selon un rapport stœchiométrique d'anticorps défini lors de la demande réglementaire initiale d'« *investigational new drug* »³. Du fait de la pharmacocinétique différentielle de chaque anticorps (absorption, distribution, métabolisme et excrétion), la formulation stœchiométrique ne sera probablement pas maintenue chez le patient traité. Ce problème doit être appréhendé dès les études précliniques. La sélection de la dose et de la séquence de traitement chez l'homme doit tenir compte de la pharmacocinétique particulière de chaque anticorps dans le mélange. Ainsi, le rapport stœchiométrique des six anticorps constituant le mélange Sym013 variera *in vivo* au cours du temps en fonction de l'exposition à la cible, forte pour l'EGFR, ou allant de moyenne à faible pour HER2 et HER3. Cela sera encore plus vrai pour des mélanges oligoclonaux anti-infectieux pour lesquels l'élimination *in vivo* du pathogène dépend de multiples facteurs. La potentialisation de la toxicité, observée dans certains essais cliniques de combinaison [10], souligne la nécessité de

³ Une autorisation réglementaire est requise pour la réalisation d'essais cliniques. Aux États-Unis, une demande d'*investigational new drug* (ou IND) doit être déposée auprès de la FDA.

bien ajuster le choix de la dose dans les essais cliniques de phase I. Celle-là ne sera pas obligatoirement calquée sur la dose approuvée en monothérapie. Actuellement, les deux combinaisons approuvées en clinique utilisent les doses d'anticorps identifiés dans les essais cliniques en monothérapie. La caractérisation des mécanismes d'action propres au mélange oligoclonal, en comparaison avec chaque AcM présent dans le mélange, devra être réalisée précocément dans des modèles précliniques pertinents afin de bien étayer le développement clinique.

Titre niveau 1

Conclusion : vers un mime de la réponse immunitaire polyclonale thérapeutique ?

Le système immunitaire a naturellement évolué pour développer une réponse humorale polyclonale. Le développement d'associations ou de mélanges oligoclonaux d'anticorps pour améliorer les thérapies ciblées existantes aborde un tournant décisif. Il devrait permettre de mimer cette réponse immunitaire humorale. Toutefois, des contraintes biologiques, pratiques et réglementaires, doivent être franchies pour enrichir la classe pharmacologique des anticorps avec ce nouveau concept.

Summary

Mimicking polyclonal immune response in therapy : from combination of two monoclonal antibodies to oligoclonal antibody-based mixtures

Monoclonal antibodies have revolutionized the treatment of many diseases, but their clinical effectiveness remains limited in some cases. Associations of antibodies binding to the same target (homo-combination) or to several different targets (hetero-combination), thereby mimicking a polyclonal humoral immune response, have demonstrated a therapeutic

improvement in pre-clinical and clinical trials, mainly in the field of oncology and infectious diseases. The combinations increase the efficacy of the biological responses and override resistance mechanisms observed with antibody monotherapy. The most common method of formulating and administering antibody combinations is a separate formulation, with sequential injection of each antibody as individual drug substance. Alternatively, combined formulations are developed where the separately-produced antibodies are mixed before administration or produced simultaneously by a single cell line, or a mixture of cell lines as a polyclonal master cell bank. The regulation, the toxicity and the injection sequence of these oligoclonal antibody-based mixtures remain points to be clarified and optimized for a better therapeutic effect.

Liens d'intérêts

Christel Larbouret, Marie-Alix Poul et Thierry Chardès déclarent avoir participé à des interventions ponctuelles (collaboration pour des travaux scientifiques) avec les sociétés *Roche*, *LFB*, *CisBio* et *GamaMabs*.

Remerciements

Les auteurs remercient les Drs André Pèlerin, Isabelle Navarro-Teulon, Bruno Robert, Nadège Gaborit, Yassamine Lazrek et Gaëlle Thomas pour leur contribution aux travaux de l'équipe auxquels il est fait référence dans cet article ; ils remercient également Véronique Garambois, Geneviève Heintz, Sabine Bousquié, et toute l'équipe de l'animalerie de l'IRCM pour leur assistance technique. Ces travaux ont été financés par la Ligue contre le Cancer, le cancéropôle GSO, le GEFLUC, le programme FUI13 UmAbHER3 (BPI France), le SIRIC Montpellier Cancer, Inserm Transfert et le LabEx MAbImprove ANR-10-LABX-53-01.

Références

1. Friedman LM, Rinon A, Schechter B, *et al.* Synergistic down-regulation of receptor tyrosine kinases by combinations of mAbs: implications for cancer immunotherapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005 ; 102 : 1915–1920.
2. Ben-Kasus T, Schechter B, Lavi S, *et al.* Persistent elimination of ErbB-2/HER2-overexpressing tumors using combinations of monoclonal antibodies: relevance of receptor endocytosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009 ; 106 : 3294–3299.
3. Poulsen TT, Grandal MM, Skartved NJØ, *et al.* Sym015: A Highly Efficacious Antibody Mixture against MET-Amplified Tumors. *Clin. Cancer Res.* 2017 ; 23 : 5923–5935.
4. Iida M, Brand TM, Starr MM, *et al.* Overcoming acquired resistance to cetuximab by dual targeting HER family receptors with antibody-based therapy. *Mol. Cancer* 2014 ; 13 : 242.
5. Pollmann SE, Calvert VS, Rao S, *et al.* Acquired Resistance to a MET Antibody In Vivo Can Be Overcome by the MET Antibody Mixture Sym015. *Mol. Cancer Ther.* 2018 ; 17 : 1259–1270.
6. Arena S, Siravegna G, Mussolin B, *et al.* MM-151 overcomes acquired resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancers harboring EGFR extracellular domain mutations. *Sci Transl Med* 2016 ; 8 : 324ra14.
7. Larbouret C, Robert B, Navarro-Teulon I, *et al.* In vivo therapeutic synergism of anti-epidermal growth factor receptor and anti-HER2 monoclonal antibodies against pancreatic carcinomas. *Clin. Cancer Res.* 2007 ; 13 : 3356–3362.
8. Thomas G, Chardès T, Gaborit N, *et al.* HER3 as biomarker and therapeutic target in pancreatic cancer: new insights in pertuzumab therapy in preclinical models. *Oncotarget* 2014 ; 5 : 7138–7148.
9. Maron R, Schechter B, Mancini M, *et al.* Inhibition of pancreatic carcinoma by homo- and heterocombinations of antibodies against EGF-receptor and its kin HER2/ErbB-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2013 ; 110 : 15389–15394.
10. Assenat E, Azria D, Mollevi C, *et al.* Dual targeting of HER1/EGFR and HER2 with cetuximab and trastuzumab in patients with metastatic pancreatic cancer after gemcitabine failure: results of the “THERAPY” phase 1-2 trial. *Oncotarget* 2015 ; 6 : 12796–12808.
11. Van Cutsem E, Eng C, Nowara E, *et al.* Randomized phase Ib/II trial of rilotumumab or ganitumab with panitumumab versus panitumumab alone in patients with wild-type KRAS metastatic colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2014 ; 20 : 4240–4250.
12. Mancini M, Gal H, Gaborit N, *et al.* An oligoclonal antibody durably overcomes resistance of lung cancer to third-generation EGFR inhibitors. *EMBO Mol Med* 2018 ; 10 : 294–308.
13. Jacobsen HJ, Poulsen TT, Dahlman A, *et al.* Pan-HER, an Antibody Mixture Simultaneously Targeting EGFR, HER2, and HER3, Effectively Overcomes Tumor Heterogeneity and Plasticity. *Clin. Cancer Res.* 2015 ; 21 : 4110–4122.
14. Strauss SJ, Morschhauser F, Rech J, *et al.* Multicenter phase II trial of immunotherapy with the humanized anti-CD22 antibody, epratuzumab, in combination with rituximab, in refractory or recurrent non-Hodgkin’s lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2006 ; 24 : 3880–3886.
15. Volk WA, Synder RM, Benjamin DC, *et al.* Monoclonal antibodies to the glycoprotein of vesicular stomatitis virus: comparative neutralizing activity. *J. Virol.* 1982 ; 42 : 220–227.
16. Bar-On Y, Gruell H, Schoofs T, *et al.* Safety and antiviral activity of combination HIV-1 broadly neutralizing antibodies in viremic individuals. *Nat. Med.* 2018 ; 24 : 1701–1707.

17. Qiu X, Audet J, Lv M, *et al.* Two-mAb cocktail protects macaques against the Makona variant of Ebola virus. *Sci Transl Med* 2016 ; 8 : 329ra33.
18. Galun E, Eren R, Safadi R, *et al.* Clinical evaluation (phase I) of a combination of two human monoclonal antibodies to HBV: safety and antiviral properties. *Hepatology* 2002 ; 35 : 673–679.
19. Lantto J, Haahr Hansen M, Rasmussen SK, *et al.* Capturing the natural diversity of the human antibody response against vaccinia virus. *J. Virol.* 2011 ; 85 : 1820–1833.
20. Pascal KE, Coleman CM, Mujica AO, *et al.* Pre- and postexposure efficacy of fully human antibodies against Spike protein in a novel humanized mouse model of MERS-CoV infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015 ; 112 : 8738–8743.
21. Bakker ABH, Marissen WE, Kramer RA, *et al.* Novel human monoclonal antibody combination effectively neutralizing natural rabies virus variants and individual in vitro escape mutants. *J. Virol.* 2005 ; 79 : 9062–9068.
22. Marozsan AJ, Ma D, Nagashima KA, *et al.* Protection against *Clostridium difficile* infection with broadly neutralizing antitoxin monoclonal antibodies. *J. Infect. Dis.* 2012 ; 206 : 706–713.
23. Fan Y, Garcia-Rodriguez C, Lou J, *et al.* A three monoclonal antibody combination potently neutralizes multiple botulinum neurotoxin serotype F subtypes. *PLoS ONE* 2017 ; 12 : e0174187.
24. Nguyen AW, Wagner EK, Laber JR, *et al.* A cocktail of humanized anti-pertussis toxin antibodies limits disease in murine and baboon models of whooping cough. *Sci Transl Med* 2015 ; 7 : 316ra195.
25. Curran MA, Montalvo W, Yagita H, *et al.* PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010 ; 107 : 4275–4280.
26. Chen S, Lee L-F, Fisher TS, *et al.* Combination of 4-1BB agonist and PD-1 antagonist promotes antitumor effector/memory CD8 T cells in a poorly immunogenic tumor model. *Cancer Immunol Res* 2015 ; 3 : 149–160.
27. Guo Z, Cheng D, Xia Z, *et al.* Combined TIM-3 blockade and CD137 activation affords the long-term protection in a murine model of ovarian cancer. *J Transl Med* 2013 ; 11 : 215.
28. Chaganty BKR, Qiu S, Gest A, *et al.* Trastuzumab upregulates PD-L1 as a potential mechanism of trastuzumab resistance through engagement of immune effector cells and stimulation of IFN γ secretion. *Cancer Lett.* 2018 ; 430 : 47–56.
29. Baselga J, Cortés J, Kim S-B, *et al.* Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2012 ; 366 : 109–119.
30. Minckwitz G von, Procter M, Azambuja E de, *et al.* Adjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Early HER2-Positive Breast Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2017 ; 377 : 122–131.
31. Tabernero J, Hoff PM, Shen L, *et al.* Pertuzumab plus trastuzumab and chemotherapy for HER2-positive metastatic gastric or gastro-oesophageal junction cancer (JACOB): final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2018 ; 19 : 1372–1384.
32. Tol J, Koopman M, Cats A, *et al.* Chemotherapy, Bevacizumab, and Cetuximab in Metastatic Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine* 2009 ; 360 : 563–572.
33. Hecht JR, Mitchell E, Chidiac T, *et al.* A randomized phase III trial of chemotherapy, bevacizumab, and panitumumab compared with chemotherapy and bevacizumab alone for metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009 ; 27 : 672–680.

34. Gianni L, Romieu GH, Lichinitser M, *et al.* AVEREL: a randomized phase III Trial evaluating bevacizumab in combination with docetaxel and trastuzumab as first-line therapy for HER2-positive locally recurrent/metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2013 ; 31 : 1719–1725.
35. Heskamp S, Boerman OC, Molkenboer-Kueneen JDM, *et al.* Cetuximab reduces the accumulation of radiolabeled bevacizumab in cancer xenografts without decreasing VEGF expression. *Mol. Pharm.* 2014 ; 11 : 4249–4257.
36. Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, *et al.* Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2013 ; 369 : 122–133.
37. Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, *et al.* Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2017 ; 377 : 1345–1356.
38. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, *et al.* Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2015 ; 373 : 23–34.
39. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, *et al.* Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N. Engl. J. Med.* 2018 ; 378 : 2288–2301.
40. Henricks LM, Schellens JHM, Huitema ADR, *et al.* The use of combinations of monoclonal antibodies in clinical oncology. *Cancer Treat. Rev.* 2015 ; 41 : 859–867.
41. Corti D, Kearns JD. Promises and pitfalls for recombinant oligoclonal antibodies-based therapeutics in cancer and infectious disease. *Curr. Opin. Immunol.* 2016 ; 40 : 51–61.
42. Chae YK, Arya A, Iams W, *et al.* Current landscape and future of dual anti-CTLA4 and PD-1/PD-L1 blockade immunotherapy in cancer; lessons learned from clinical trials with melanoma and non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Immunother Cancer* 2018 ; 6 : 39.
43. Pedersen MW, Jacobsen HJ, Koefoed K, *et al.* Sym004: a novel synergistic anti-epidermal growth factor receptor antibody mixture with superior anticancer efficacy. *Cancer Res.* 2010 ; 70 : 588–597.
44. Nayak SU, Griffiss JM, McKenzie R, *et al.* Safety and pharmacokinetics of XOMA 3AB, a novel mixture of three monoclonal antibodies against botulinum toxin A. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014 ; 58 : 5047–5053.
45. Napolitano S, Martini G, Martinelli E, *et al.* Antitumor efficacy of triple monoclonal antibody inhibition of epidermal growth factor receptor (EGFR) with MM151 in EGFR-dependent and in cetuximab-resistant human colorectal cancer cells. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 82773–82783.
46. Kruif J de, Kramer A, Nijhuis R, *et al.* Generation of stable cell clones expressing mixtures of human antibodies. *Biotechnol. Bioeng.* 2010 ; 106 : 741–750.
47. Geuijen CAW, De Nardis C, Maussang D, *et al.* Unbiased Combinatorial Screening Identifies a Bispecific IgG1 that Potently Inhibits HER3 Signaling via HER2-Guided Ligand Blockade. *Cancer Cell* 2018 ; 33 : 922-936.e10.
48. Rasmussen SK, Nielsen LS, Müller C, *et al.* Recombinant antibody mixtures; optimization of cell line generation and single-batch manufacturing processes. *BMC Proc* 2011 ; 5 Suppl 8 : O2.
49. Wiberg FC, Rasmussen SK, Frandsen TP, *et al.* Production of target-specific recombinant human polyclonal antibodies in mammalian cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2006 ; 94 : 396–405.
50. Robak T, Windyga J, Trelinski J, *et al.* Rozrolimupab, a mixture of 25 recombinant human monoclonal RhD antibodies, in the treatment of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2012 ; 120 : 3670–3676.
51. Chon JH, Zarbis-Papastoitis G. Advances in the production and downstream processing of antibodies. *N Biotechnol* 2011 ; 28 : 458–463.

52. Rasmussen SK, Næsted H, Müller C, *et al.* Recombinant antibody mixtures: production strategies and cost considerations. *Arch. Biochem. Biophys.* 2012 ; 526 : 139–145.
53. Kojima T, Yamazaki K, Kato K, *et al.* Phase I dose-escalation trial of Sym004, an anti-EGFR antibody mixture, in Japanese patients with advanced solid tumors. *Cancer Sci.* 2018 ; 109 : 3253–3262.
54. Lieu CH, Harb WA, Beeram M, *et al.* Phase 1 trial of MM-151, a novel oligoclonal anti-EGFR antibody combination in patients with refractory solid tumors. *JCO* 2014 ; 32 : 2518–2518.
55. Carvalho S, Levi-Schaffer F, Sela M, *et al.* Immunotherapy of cancer: from monoclonal to oligoclonal cocktails of anti-cancer antibodies: IUPHAR Review 18. *Br. J. Pharmacol.* 2016 ; 173 : 1407–1424.

Légendes des figures

Figure 1. Les homo- ou hétéro-combinaisons d’anticorps monoclonaux (adapté d’après [55])

Figure 2. Différentes stratégies pour produire un biomédicament (BM) représentant un mélange d’anticorps thérapeutiques, à partir de deux principes actifs (PA) anticorps. La stratégie « Production en cellule unique » permet de produire un mélange d’anticorps mono- ou bi-spécifique (adapté d’après [52]).

Tableaux

Tableau I. Principaux essais cliniques utilisant une combinaison d’anticorps en thérapie anti-infectieuse. gp120 : glycoprotéine d’enveloppe (Env) ; V3 glycan site Env : site de glycosylation de la région V3 de gp120.

Tableau II. Principaux essais cliniques utilisant un mélange d’anticorps en oncologie.

* : développement stoppé.

Tableau III. Avantages et inconvénients des mélanges d’anticorps.

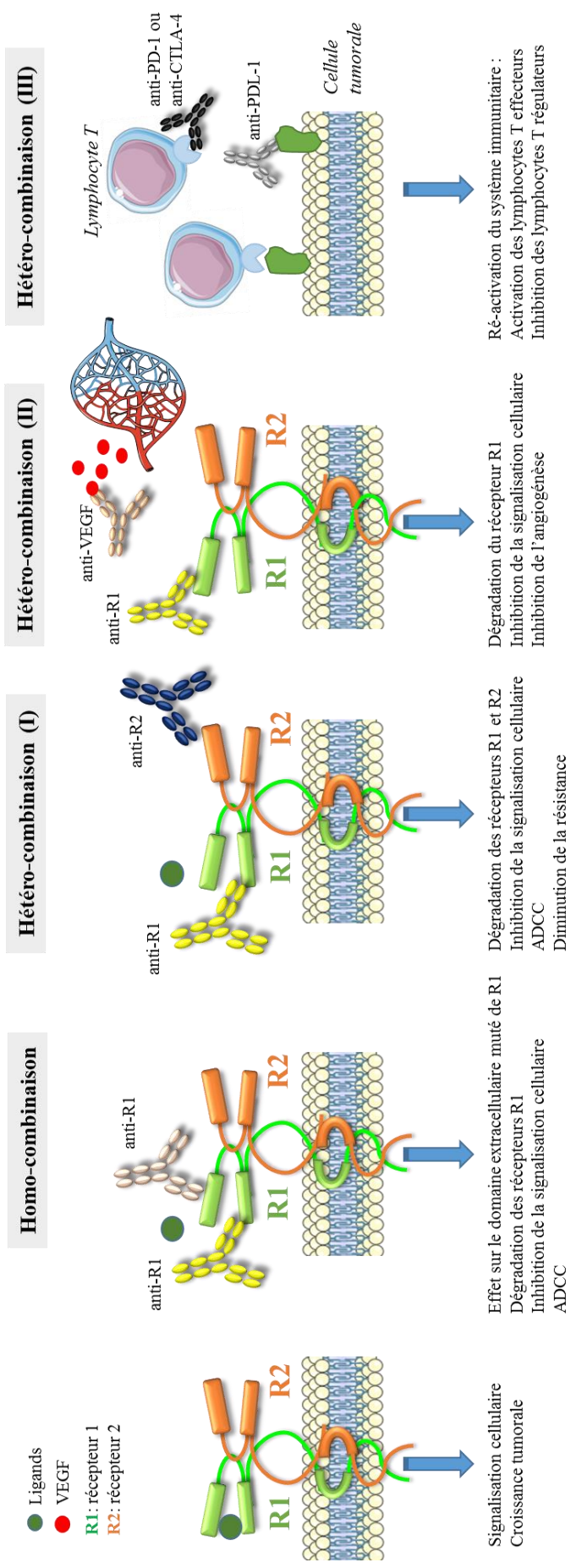


Fig. 1: Les homo- ou hétéro-combinaisons d'anticorps monoclonaux (adapté d'après [55])

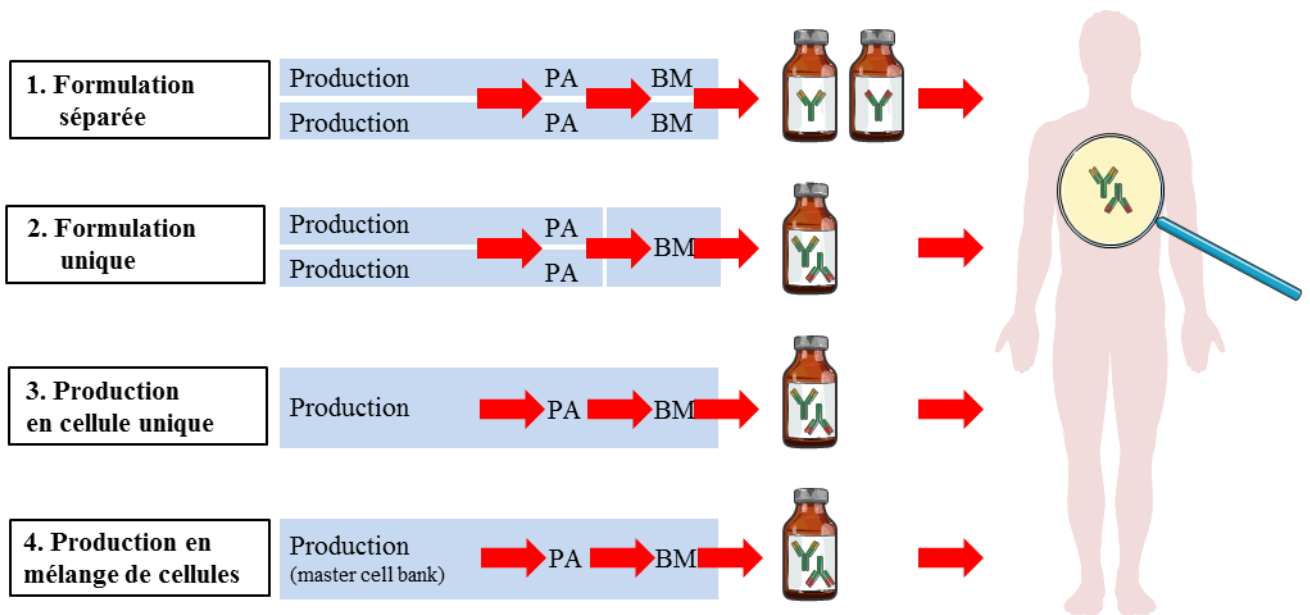


Figure 2. Différentes stratégies pour produire un biomédicament (BM) représentant un mélange d'anticorps thérapeutiques, à partir de deux principes actifs (PA) anticorps. La stratégie « Production en cellule unique » permet de produire un mélange d'anticorps mono- ou bi-spécifique (adapté d'après [52]).

Tab.1. Principaux mélanges d'anticorps développés en infectiologie

Pathogène	Anticorps	Formulation	Cibles	Phase clinique	Date
Virus de l'immunodéficience humaine	3BNC117 + 10-1074	Séparée	CD4bs-gp120 + V3 glycan site Env	Phase I	2018
	VRC01LS + 10-1074	Séparée	CD4bs-gp120 + V3 glycan site Env	Phase I/II	2018
	10E8VLS + VRC07-523LS	Séparée	gp41 + CD4bs-gp120	Phase I	2018
	VRC01LS + VRC07-523LS	Séparée	CD4bs-gp120 + CD4bs-gp120	Phase I	2018
	PGDM1400 + PGT121	Séparée	V2-loop Env + V3 glycan site Env	Phase I	2017
	2G12 + 4E10 + 2F5	Unique	Env	Phase I/II	2007
Virus de la grippe	CT-P27	Unique	Héماغلوتينines groupe 1 et 2	Phase IIb	2018
	CR8020 + CR6261	Séparée	Héماغلوتينines	Phase IIa	2014
<i>Clostridium difficile</i>	MK-6072 + MK-3415A	Séparée	Toxines A et B	Phase III	2018
	MK-3415 + MK-6072 + MK-3415A	Séparée	Toxines A et B	Phase III	2018
	MK-6072 + MK-3415A	Séparée	Toxines A et B	Phase III	2018
	GS-CDA1 + MDX-1388	Séparée	Toxines A et B	Phase II	2010
<i>Shigella</i>	caStx1 + CaStx2	Unique	Toxines Shiga 1 et 2	Phase II	2013
Virus de la rage	SYN023 (CTB011 + CTB012)	Unique	<i>Rabies G protein</i>	Phase I	2018
	CL184	Unique	<i>Rabies G protein</i>	Phase II	2013
Virus respiratoire syncytial	Motavizumab (MEDI-524) + Palivizumal	Séparée	RSV	Phase II	2012
<i>Clostridium botulinum</i>	NTM-1633 (XE02 + XE06 + XE17)	Unique	Neurotoxines E1, E3 et E4	Phase I	2018
	NTM-1634 (XC41+XC42+XC44+XC8:	Unique	Neurotoxines C et D	Phase I	2018
	NTM-1632 (3 Abs)	Unique	Neurotoxine B	Phase I	2017
	Xoma 3AB	Unique	Neurotoxine A	Phase I	2014
Virus Ebola	GamEMab	Unique	Ebola	Phase I	2018
	Zmapp (Zmab + c2G4 + c4G7)	Unique	Protéine GP	Phase I	2018
	REGN3470+3471+3479	Unique	protéine GP	Phase I	2018
MERS coronavirus	REGN3048 + REGN3051	Séparée	Protéine Spike	Phase I	2018
<i>Staphylococcus aureus</i>	ASN100 (ASN-1 + ASN-2)	Unique	α -héماغلوسine et leukotoxines	Phase II	2018

Tab.2. Principaux mélanges d'anticorps développés en oncologie

Indication thérapeutique	Anticorps	Formulation	Cibles	Phase clinique	Date
Cancer colorectal/cancer du poumon	MM-151	Unique	3xEGFR	Phase I*	2015
Cancer colorectal/cancer du poumon	MM-151 + MM-121	Séparée	3xEGFR + HER3	Phase I*	2015
Cancer colorectal/glioblastome	Sym004: futuximab + modotuximab	Unique	2xEGFR	Phase II	2018
Cancers épithéliaux	Sym013	Plusieurs cellules	2xEGFR + 2xHER2 + 2x HER3	Phase II	2016
Tumeurs cMET-amplifié	Sym015	Plusieurs cellules	2xcMET	Phase II	2016
Cancer du sein	Bispécifique MCLA-128	Cellule unique	HER2/HER3	Phase I	2017
Leucémie myéloïde aiguë	Bispécifique MCLA-117	Cellule unique	CLEC12A/CD3	Phase I	2017
Cancer colorectal	Bispécifique MCLA-158	Cellule unique	LGR5/EGFR	Phase I	2018

Tab.3. Avantages et inconvénients des combinaisons d'anticorps.

	Avantages	Inconvénients
Combinaison d'anticorps	<ul style="list-style-type: none"> Ciblage de plusieurs épitopes Synergie fonctionnelle : <ul style="list-style-type: none"> aggrégation activation/inhibition du système immunitaire activation/inhibition de la signalisation Fab-dépendante Élimination de la cible Diminution de la résistance aux traitements 	<ul style="list-style-type: none"> Production des mélanges : <ul style="list-style-type: none"> coût réglementation Toxicité Pharmacocinétique différentielle de chaque anticorps La formulation stœchiométrique La dose et la fréquence d'injection