



médicine/sciences 1996 ; 12 : 447-50

LES CYTOKINES ONT 20 ANS : DE LA CULTURE CELLULAIRE AUX APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES

Didier Fradelizi

Il n'est pas sûr que les applications médicales d'une découverte scientifique apparaissent immédiatement comme évidentes au chercheur qui en est l'auteur. L'exemple de la découverte de l'interleukine-2 (IL-2) me paraît à cet égard éclairant. Doris Morgan était une technicienne de recherche travaillant dans le laboratoire de Robert Gallo. C'est à elle que revint l'honneur de signer le premier papier démontrant que des lymphocytes stimulés *in vitro* sécrètent un facteur capable de faire proliférer de manière continue en culture des lymphocytes T humains ou murins [1]. Ce facteur, quelques années plus tard, fut baptisé « Interleukine-2 » (IL-2). Doris Morgan, Frank Ruscetti et Robert Gallo imaginaient-ils que leur découverte de cette substance allait fonder ce qui est en train de devenir une nouvelle discipline de la biologie : l'étude des cytokines, ces messagers solubles qui assurent les communications intercellulaires ? Les auteurs de cette première publication imaginaient-ils que ces hormones cellulaires deviendraient des médicaments puissants, déjà couramment utilisés pour certains d'entre eux, mais dont on commence seulement à découvrir les potentialités thérapeutiques des nombreux autres ?

Le lent développement de l'histoire des cytokines

Déjà illustrée par l'histoire de la physique nucléaire, cette lenteur imaginative des chercheurs marqua également le début de l'histoire des cytokines. Je peux témoigner qu'il y a 20 ans, nous avons été nombreux à percevoir la découverte de l'IL-2 avant tout comme un grand progrès méthodologique pour la culture cellulaire permettant de faire proliférer commodément les lymphocytes T *in vitro*. Cette propriété était déjà en elle-même exceptionnellement intéressante. Rappelons que cette utilisation de l'IL-2 *in vitro* permit des découvertes très importantes. Par exemple, en immunologie fondamentale, la multiplication des lymphocytes T en culture en présence d'IL-2 permit l'expansion de populations monoclonales de lymphocytes T spécifiques d'antigènes et l'identification moléculaire du récepteur particulier (TCR) qu'ils utilisent. L'IL-2 fut aussi utilisée pour faire proliférer *in vitro* des lymphocytes ganglionnaires de patients atteints d'une affection curieuse associant déficit immunitaire et lymphoadénopathie. Au sein des blastes lymphocytaires T activés obtenus, Luc Montanier et Françoise Barré purent identifier le VIH. Je rappelle ces deux exemples pour illustrer

ADRESSE

D. Fradelizi : directeur de recherche à l'Inserm. Laboratoire immunomodulation et auto-immunité, Inserm U. 283, hôpital Cochin, 27, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

TIRÉS À PART

D. Fradelizi.

l'immense intérêt des cytokines, ne serait-ce que comme outil de recherche en biologie cellulaire. Progressivement cependant, au fur et à mesure que se sont enrichies nos connaissances sur les propriétés de ces nouvelles molécules, s'est formé le concept que les cytokines n'étaient pas seulement des outils commodes pour le cultivateur de cellules mais devaient être les médiateurs physiologiques des communications intercellulaires concourant à l'homéostasie et utilisables en clinique. Cette prise de conscience, commencée à propos de l'IL-2, s'est élargie à l'ensemble des cytokines bientôt perçue comme un réseau interactif complexe [2, 3]. Les applications cliniques suivirent. Parce que l'IL-2 stimule la prolifération des lymphocytes T, ce sont les applications immunologiques de cette cytokine qui furent les premières imaginées. Ainsi furent réalisés et publiés les premiers essais cliniques : d'abord l'immunothérapie anti tumorale [4], en second lieu l'immunostimulation à visée vaccinale (hépatite B) chez des patients insuffisamment rénaux immunodéprimés [5].

Quelle est la situation aujourd'hui à quelques jours du 20^e anniversaire de l'identification de l'IL-2 ? Force est de constater que les progrès sont lents. Certes, on a su définir quelques indications irremplaçables des cytokines, particulièrement dans les domaines hématologiques et infectieux, mais leur efficacité dans de nombreux autres domaines, notamment contre le cancer, est toujours en cours d'étude. La lenteur de cette progression ne doit nullement porter au découragement mais plutôt à la modestie et à l'espoir. Cette lenteur s'explique par au moins deux types de raisons : les unes scientifiques, les autres économiques et industrielles. L'explication scientifique est la suivante : les cytokines sont nombreuses, possèdent des activités pléiotropiques imparfaitement élucidées, agissent sur de multiples systèmes cellulaires, ont des effets synergiques ou antagonistes, de sorte que de nombreux travaux de recherche fondamentale sont encore nécessaires avant d'être en mesure de bien maîtriser leur emploi thérapeutique. Quant aux lenteurs industrielles elles s'expliquent par les réti-

cences de nombreuses compagnies qui étaient dubitatives (certaines le sont encore) quant à l'intérêt stratégique et économique de développer des biomécules. La mise sur pied de laboratoires de biotechnologie nécessite en effet de gros investissements que ne justifie peut-être pas la taille des marchés.

Du développement industriel des cytokines à leurs applications cliniques

Malgré les difficultés mentionnées plus haut, un certain nombre de compagnies pharmaceutiques ont fait ce choix. Il s'agit souvent de grandes sociétés ayant racheté des dynamiques petites entreprises de biotechnologies. La production de cytokines recombinantes a été entreprise et des protocoles thérapeutiques ont démarré. Une dizaine de cytokines ont obtenu leur autorisation de mise sur le marché et sont, dès à présent, disponibles sur prescription médicale. C'est notamment le cas de l'érythropoïétine (EPO), plusieurs interférons (IFN), des G-CSF (*granulocyte-colony stimulating factor*) et GM-CSF (*granulocyte-macrophage-colony stimulating factor*) et de l'IL-2. Un bref panorama des principales cytokines thérapeutiques et leurs domaines d'application clinique (à des stades divers de développement) peut être dressé.

Dans le domaine du cancer, les cytokines sont utilisées avec deux objectifs différents : soit pour leur activité antitumorale, soit pour traiter les conséquences néfastes des thérapeutiques antitumorales classiques.

L'aide à la reconstitution de la moelle

L'érythropoïétine (EPO) [6], le G-CSF et le GM-CSF sont certainement (et de loin) les cytokines les plus utilisées en clinique [7]. Ces trois facteurs qui stimulent la prolifération des cellules souches de la moelle osseuse (cellules souches érythrocytaires pour EPO et myéloïdes pour les CSF) sont, en effet, des produits remarquables pour hâter la reconstitution hématologique en globules rouges ou en polynucléaires de patients traités par des fortes doses

de chimiothérapie. L'utilisation de ces cytokines a rendu possible la mise au point de protocoles antitumoraux plus agressifs sans inconvénient pour les malades. Plusieurs études sont en cours pour évaluer l'incidence positive de ces facteurs sur la survie à long terme des patients. La chimiothérapie peut aussi induire une thrombopénie. Cette réduction du nombre des plaquettes constitue une sérieuse limitation à certains protocoles. Plusieurs compagnies ont en développement les cytokines IL-3, IL-6 et IL-11 qui ont été reconnues capables de stimuler la thrombopoïèse. Toutefois on peut prédire un bel avenir à la thrombopoïétine, nouvelle cytokine récemment identifiée à l'issue d'une vive compétition scientifique internationale dans laquelle le groupe de W. Vainchenker (Inserm/IGR, Villejuif, France) [8, 9] a joué un rôle déterminant.

L'immunothérapie adoptive : l'interleukine 2

Plusieurs cytokines sont utilisées pour traiter les patients atteints de tumeur. Au premier rang vient évidemment l'IL-2. Cette molécule, dont on fête cette année les 20 ans, occupe une place ambivalente en cancérologie. On se rappelle que la première administration d'IL-2 à des patients porteurs de tumeurs solides fut réalisée par le groupe de Rosenberg [4]. Le protocole original d'immunothérapie adoptive associait deux actes thérapeutiques : d'une part, l'injection d'effecteurs antitumoraux LAK (*lymphokine activated killers*) et simultanément l'administration parentérale de très fortes doses d'IL-2 recombinante [10]. Les résultats ont été décevants en pratique mais extrêmement informatifs sur le plan des concepts. En pratique, en effet, cet essai thérapeutique a déçu pour les deux raisons suivantes : d'une part le nombre des rémissions complètes obtenues a été faible (autour de 10 %-15 %); d'autre part, l'administration systémique d'IL-2 recombinante à forte dose s'est avérée extrêmement toxique, provoquant notamment un syndrome de fuite vasculaire avec œdème pulmonaire. C'est pourquoi l'immunothérapie adoptive n'est plus considérée comme une stratégie antitumorale

d'avenir. Sur le plan conceptuel, en revanche, l'analyse des résultats antitumoraux a été riche d'enseignements. L'efficacité thérapeutique de cette immunothérapie (même si ce n'était que dans un nombre réduit de cas) démontrait pour la première fois chez l'homme que certaines tumeurs (mélanomes malins et cancer du rein) expriment des antigènes tumoraux qui peuvent être reconnus comme étrangers par le système immunitaire de l'hôte. Cette information est cruciale et a suscité d'importants travaux visant à trouver d'autres moyens d'éradiquer des cellules tumorales en stimulant les défenses immunes de l'hôte. Parmi ceux-ci on mentionnera les travaux réalisés depuis 1991 par le groupe collaboratif français (C. Roth à l'Institut Pasteur, Paris, France, Lluís Mir au Cnrs/IGR, Villejuif, France, F. Quintin-Colona à l'École Vétérinaire de Maisons-Alfort, France et notre groupe Inserm) qui montrent, dans différents modèles expérimentaux de la souris [11] et dans les tumeurs spontanées des animaux domestiques (chats et chiens), que l'administration locale de cytokine par une stratégie de thérapie génique est le moyen le plus efficace d'induire le rejet tumoral. Ces résultats, simultanément obtenus par de nombreux groupes, encouragent à développer cette nouvelle approche prometteuse. Plusieurs compagnies suivent cette voie (*Chiron, Viagene, Somatix Therapy, Genetic Therapy Inc. aux États-Unis ou Transgène en France*) et projettent de mettre au point la technique de transfert de gène en utilisant les cytokines TNF, IL-2, IL-4, GM-CSF ou IFN γ .

Dans l'attente des premiers résultats de la thérapie génique, un certain nombre de protocoles de traitement reposant sur l'administration parentérale de cytokines sont régulièrement utilisés. Un bilan précis des applications cliniques des cytokines a été récemment préparé par Betty Dodet [12]. L'administration d'IL-2 reste indiquée comme ultime recours dans les mélanomes malins et les cancers du rein permettant une prolongation significative de la survie des patients. La toxicité du produit demeure grande mais certaines précautions permettent d'éviter les incidents graves. En revanche, l'injection

associée de lymphocytes tueurs LAK ou TIL (*tumor infiltrating lymphocytes*) est abandonnée dans la plupart des centres. Plusieurs protocoles expérimentaux associant l'IL-2 à d'autres traitements sont envisagés. Un essai multicentrique associant plusieurs centres anticancéreux français est en cours pour évaluer l'efficacité d'une stratégie associant l'IL-2 à la chimiothérapie pour traiter les cancers du rein métastatiques. Un autre protocole associant l'IL-2 et l'IFN a débuté.

D'autres cytokines sont utilisées pour lutter contre le cancer

L'IFN α est une cytokine couramment utilisée qui donne des résultats significatifs dans plusieurs types tumoraux : leucémies à tricholeucocytes, leucémies myéloïdes chroniques, mycosis fungoïde, myélomes, tumeurs de Kaposi ainsi que diverses tumeurs solides. L'IL-4 n'en est qu'aux essais cliniques préliminaires. Ceux-ci montrent que l'IL-4 possède des effets antitumoraux intéressants dans deux types de cancer : les lymphomes non hodgkiniens et les cancers du poumon (à l'exclusion des tumeurs à petites cellules). On a beaucoup parlé de l'IL-12 ces derniers mois car l'efficacité antitumorale de cette cytokine dans les modèles expérimentaux murins est remarquable. On lira plus loin dans ce numéro (*voir l'article de S. Chouaib et J. Chehimi, p. 451 de ce numéro*) les intéressantes caractéristiques de cette cytokine. On notera que les problèmes de toxicité qui avaient justifié l'arrêt d'un essai clinique mené aux États-Unis avec l'IL-12 semblent aujourd'hui résolus. Les résultats permettant d'évaluer son efficacité thérapeutique antitumorale chez l'homme ne seront pas disponibles avant plusieurs mois (*m/s n° 1, vol. 12, p. 120*).

L'utilisation de cytokines en pathologie infectieuse et inflammatoire

Il est logique d'envisager l'utilisation des cytokines lors des atteintes qui impliquent leur production en quantité insuffisante. L'IFN γ a donné des résultats très intéressants pour traiter les patients ayant une granulomatose septique (déficit enzymatique rendant les polynucléaires incapables de

détruire les bactéries qu'ils phagocytent (*m/s n° 2, vol. 5, p. 125*)). D'autres déficits comme les infections primitives à mycobactéries ou le syndrome de Buckley ont récemment été traités par l'IFN γ . Le syndrome d'agranulocytose congénitale est très largement corrigé par l'administration chronique de G-CSF. Ces effets bénéfiques illustrent bien le rôle crucial des cytokines dans les mécanismes de défenses, notamment contre l'infection. A cet égard, une utilisation particulièrement remarquable de l'IFN α est le traitement des hépatites chroniques B ou C [13]. Utilisé depuis plusieurs années, son efficacité est reconnue. De plus, il est possible (l'analyse est en cours) que les patients recevant ce traitement soient relativement protégés contre le développement ultérieur d'une cirrhose hépatique. L'utilisation de cytokines dans le déficit immunitaire au cours de l'infection VIH est considérée avec prudence. En effet, le rétablissement des fonctions immunes déficientes est souhaitable, mais les causes de ce dysfonctionnement sont mal comprises et les modifications de l'équilibre des cytokines sont encore l'objet d'investigations fondamentales et de discussions. Différents protocoles cliniques expérimentaux ont débuté ou sont projetés : faibles doses d'IL-2, IL-4, IL-12.

Il est enfin un nouveau champ d'application des cytokines qui se développe et paraît potentiellement extrêmement intéressant : « la modulation intentionnelle contrôlée » de l'équilibre des cytokines. En effet, dans de nombreuses situations pathologiques comme l'inflammation aiguë (choc septique, purpura fulminans) ou les maladies auto-immunes et leur cortège d'inflammation chronique, l'équilibre des cytokines s'écarte de son équilibre homéostatique et amplifie le désordre pathologique. Différentes stratégies ont été essayées ou sont en cours de mise au point pour contre-carrer ce déséquilibre. L'inhibition ou la neutralisation des cytokines IL-1 et TNF, qui jouent un rôle particulier dans l'inflammation, a été réalisée par divers produits recombinants ou issus des biotechnologies, prépa-

rés par plusieurs compagnies comme Roche, Bayer/CellTech, Immunex, Genentech, Synergen, Centocor. Les stratégies utilisées ont reposé sur l'utilisation de l'inhibiteur physiologique de l'IL-1 (IL-1 récepteur antagoniste = IL-1 ra), du récepteur soluble de l'IL-1, de molécules hybrides comportant la partie du récepteur soluble du TNF fixant le ligand, et enfin d'anticorps (généralement humanisés). Différentes publications ont rapporté les premiers résultats. Pour l'instant l'efficacité dans le choc septique n'est pas convaincante. En revanche, l'essai Centocor avec l'anti-TNF utilisé dans la polyarthrite rhumatoïde a donné des résultats très positifs, au moins pour traiter les poussées aiguës (*m/s n° 12, vol. 10, p. 1327*). Le même anticorps s'est révélé intéressant dans la maladie de Crohn. Une autre stratégie anti-inflammatoire est théoriquement possible. En effet l'étude des propriétés distinctives des lymphocytes T auxiliaires de type Th2 a montré que les cytokines qu'ils sécrètent inhibent la réponse Th1 et l'inflammation. Ces résultats ont permis de démontrer dans les modèles expérimentaux l'efficacité des cytokines IL-10, IL-4 et IL-13 pour améliorer ou guérir différentes maladies auto-immunes et inflammatoires. Inspirés de ces résultats quelques essais cliniques débutent ou sont program-

més notamment avec l'IL-10 (polyarthrite, maladie de Crohn), puis l'IL-4 (polyarthrite) [14].

Cette brève mise au point illustre les multiples domaines d'application des cytokines : cancérologie, hématologie, immunologie, maladies auto-immunes, rhumatologie, infectiologie, etc. Quelques-unes de ces molécules ont déjà atteint le statut de médicament disponible sur prescription médicale. Nombre d'entre elles n'en sont encore qu'au stade d'essais cliniques ou sont en cours d'analyse au laboratoire dans des modèles expérimentaux. Il paraît clair que de nouvelles cytokines et beaucoup de nouvelles applications sont encore à découvrir ■

RÉFÉRENCES

1. Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 1976 ; 193 : 1007-8.
2. Banchereau J. Interleukine-4. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 946-53.
3. Banchereau J. Interleukine-5. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 954-57.
4. Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, Leitman S, Chang AE, Ettinghausen SE, Matory YL, Skibber JM, Shiloni E, Vetto JT, Seipp CA, Simpson C, Reichert CM. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant IL-2 to patients with metastatic cancer. *N Engl J Med* 1985 ; 313 : 1485-92.
5. Meuer SC, Dumann H, Meyer zum Büschelfelde KH, Köhler H. Low dose IL-2 induces systemic immune response against HBsAg in immunodeficient non-responders to hepatitis B vaccination. *Lancet* 1989 ; 1 : 15-7.
6. Lacombe C, Mayeux P. L'érythropoïétine. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 947-55.
7. Varet B. L'érythropoïétine, quel avenir ? *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 943-5.
8. Wendling F, Maraskovsky E, Debili N, Florindo C, Teepe M, Titeux M, Methia N, Breton-Gorius J, Cosman D, Vainchenker W. CMpl ligand is a humoral regulator of megakaryocytopoiesis. *Nature* 1994 ; 369 : 571-4.
9. Wendling F, Debili N, Methia N, Titeux M, Vainchenker W. Le gène codant pour la thrombopoïétine est cloné. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 874-6.
10. Fridman W. Le point sur le traitement des cancers par l'association LAK/interleukine 2. *médecine/sciences* 1987 ; 3 : 490-1.
11. Roth C, Mir LM, Cressent M, Quintin-Colonna F, Ley V, Fradelizi D, Kourilsky Ph. Inhibition of tumor growth by histoincompatible cells expressing IL-2. *Int Immunol* 1992 ; 12 : 1429-36.
12. Dodet B. Cytokines in the clinics. Choose your weapon ! *Eur Cytokine Netw* 1994 ; 5 : 369-77.
13. Degos F, Benhamou J. Le traitement des hépatites chroniques. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 117-24.
14. Émilie D, Russo-Marie F. Nouvelles perspectives des recherches sur la polyarthrite rhumatoïde. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 1577-80.