



HAL
open science

L'interleukine 2 en immunothérapie clinique

Patrice André

► **To cite this version:**

Patrice André. L'interleukine 2 en immunothérapie clinique. Sciences pharmaceutiques. 1992.
dumas-03143121

HAL Id: dumas-03143121

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03143121>

Submitted on 16 Feb 2021

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.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

2^e exemplaire

UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine

U.F.R. DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE : 1992

N° D'ORDRE : 7012

TITRE DE LA THESE :

**L'INTERLEUKINE 2
EN IMMUNOTHERAPIE CLINIQUE**

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE.

Par

M. : **ANDRE Patrice**

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 11 mars 1992

Devant M. Le Professeur A. FAVIER, Président du Jury

et

M. le Professeur M. CUSSAC

Mme J. RIONDEL - *traites de conférences* -



UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine

U.F.R. DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE : 1992

NO D'ORDRE :

TITRE DE LA THESE :

**L'INTERLEUKINE 2
EN IMMUNOTHERAPIE CLINIQUE**

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE.

Par

M. : **ANDRE Patrice**

[Données à caractère personnel]



Cette thèse sera soutenue publiquement le mars 1992

Devant M. Le Professeur A. FAVIER, Président du Jury

et

M. le Professeur M. CUSSAC

Mme J. RIONDEL

REMERCIEMENTS

A mes parents

A ma famille

A mes amis.

REMERCIEMENTS

A notre Président de Thèse,

Monsieur le Professeur A. FAVIER
Professeur de Biochimie à l'UFR de
Pharmacie de Grenoble
Chef du Service du laboratoire de biochimie
du CHU de Grenoble

Nous le remercions très vivement pour l'aide
qu'il nous a apportée dans la progression de ce travail
pour son accueil chaleureux et sa disponibilité.

A Monsieur le Professeur M. CUSSAC,

Professeur de Chimie Thérapeutique à
l'UFR de Pharmacie de Grenoble.

Nous sommes très sensible à l'attention qu'il
a bien voulu nous témoigner en siégeant dans
ce jury.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer ici
notre gratitude.

A Madame J. RIONDEL Maître de Conférences,

Service de Physiologie et Pharmacologie
de l'UFR de Pharmacie de Grenoble.

Nous sommes heureux de lui exprimer
notre reconnaissance et la remercions
sincèrement d'avoir accepter de faire
partie de ce jury.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

	PAGES
I - <u>LES INTERLEUKINES</u> :	16
1. Introduction :	17
2. Présentation des différentes interleukines :	19
2.1. Interleukine-1 :	19
2.2. Interleukine-2 :	21
2.3. Interleukine-3 :	21
2.4. Interleukine-4 :	22
2.5. Interleukine-5 :	22
2.6. Interleukine-6 :	22
2.7. Interleukine-7 :	24
2.8. Interleukine-8 :	24
2.9. Interleukine-9 :	24
2.10. Interleukine-10 :	25
2.11. Interleukine-11 :	25
2.12. Les autres cytokines :	25
3. Les interleukines dans la réponse immunitaire :	26
3.1. La réponse spécifique :	28
3.11. Réponse immunitaire à médiation cellulaire :	28
3.12. Réponse immunitaire à médiation humorale :	30
3.2. La réponse non-spécifique :	32
4. Interleukines et pathologies :	33

	PAGES
II - <u>L'IMMUNOTHERAPIE</u> :	35
1. Système immunitaire et développement d'une tumeur :	35
2. L'immunothérapie des cancers :	37
2.1. Définition :	37
2.2. Les moyens disponibles :	37
2.3. Perpectives et espoirs :	39
III - <u>L'INTERLEUKINE-2</u> :	42
A/ L'INTERLEUKINE-2 ET SES RECEPTEURS :	42
1. Découverte de l'interleukine-2 :	42
2. Structure primaire et tridimensionnelle de l'interleukine :	43
3. Biochimie de l'interleukine-2 :	48
4. Le gène de l'interleukine-2 :	48
5. Le Récepteur de l'interleukine-2 :	49
5.1. Mise en évidence :	49
5.2. Caractérisation :	50
5.3. Dualité du récepteur dans son affinité pour l'interleukine-2 :	53
5.4. Expression du récepteur :	55

	PAGES
5.5. Types cellulaires exprimant le récepteur à l'interleukine-2 :	55
5.6. Modes d'induction :	57
5.7. Cinétique d'apparition :	57
5.8. Phénomènes induits par la fixation de l'interleukine-2 sur son récepteur :	58
B/ DEVELOPPEMENT DE L'INTERLEUKINE-2 :	60
1. Production :	60
2. Purification :	62
C/ EXPLORATION DE L'INTERLEUKINE-2 EN BIOLOGIE CLINIQUE :	62
1. Indications :	62
2. Echantillons à étudier :	63
3. Dosages de l'interleukine-2 et titration des activités :	64
4. Etude des cellules productrices de l'interleukine-2 :	65
5. Conclusion :	66

	PAGES
D/ REGULATION DE LA PRODUCTION DE L'INTERLEUKINE-2 :	66
1. Le circuit amplificateur :	66
2. Le circuit supprimeur :	66
E/ DROGUES INTERFERENTES AVEC LA PRODUCTION DE L'INTERLEUKINE-2 :	68
1. Les corticostéroïdes :	68
2. La ciclosporine A :	70
F/ EFFETS BIOLOGIQUES INDUITS PAR L'ADMINISTRATION DE L'INTERLEUKINE-2 :	71
1. Prolifération et différenciation des lymphocytes T :	71
2. Prolifération des cellules naturels killers :	73
3. Obtention des lymphokines activated killers :	74
4. Obtention des tumor-infiltrating lymphocytes :	76
5. Activité sur les lymphocytes B :	77
6. Activités sur d'autres lymphokines :	79
6.1. L'interféron γ :	79
6.2. Le tumor necrosis factor :	80

	PAGES
7. Conclusion :	81
G/ UTILISATION DE L'INTERLEUKINE-2 EN THERAPEU- TIQUE HUMAINE :	81
1. Pharmacocinétique de l'interleukine-2 :	81
1.1. Eléments de pharmacocinétique :	81
1.2. Pharmacocinétique de l'interleukine-2 selon le mode d'administration :	81
1.3. Variation du nombre de cellules et de leur phénotype liée à la pharmacocinétique :	82
1.4. Pharmacocinétique et activité lytique :	83
2. Indications de l'interleukine-2 en thérapeutique humaine :	84
2.1. Indications actuelles :	84
2.1.1.1. L'adénocarcinome métastatique du rein :	85
2.1.1.2. Le mélanome malin :	86
2.1.1.3. Le myelome multiple :	86
2.1.1.4. Les autres cancers :	87
2.1.2. L'interleukine-2 après autogreffe de moelle osseuse :	87
2.2. Indications potentielles :	88
2.2.1. Immunostimulation :	88
2.2.2. S.I.D.A. :	89
2.2.3. Les vaccins :	90

	PAGES
3. Stratégies thérapeutiques avec l'interleukine-2 :	90
3.1. Les produits disponibles :	90
3.2. Les schémas de posologie :	92
3.2.1. Interleukine-2 seule :	92
3.2.2. Interleukine-2 et cellules LAK :	94
3.2.3. Interleukine-2 et cellules TiL :	95
3.2.4. Interleukine-2 et interférons :	98
3.2.5. Interleukine-2 et chimiothérapie :	98
3.2.6. Interleukine-2 et anticorps mono- clonaux spécifiques de la tumeur :	98
3.3. Le prix d'un traitement à l'interleukine-2 :	99
4. Synthèse des principaux essais menés à travers le monde :	100
4.1. Critères d'inclusion ou de non-inclusion :	100
4.2. Analyse des essais selon la tumeur :	102
4.2.1. L'adénocarcinome métastatique du rein :	103
4.2.2. Le mélanome malin :	106
4.2.3. Le cancer colorectal :	108
4.2.4. Le neuroblastome :	110
4.2.5. Le cancer du sein :	112
4.2.6. Le cancer ovarien :	112
4.2.7. Les métastases hépatiques :	115
4.2.8. Le cancer superficiel de la vessie :	115
4.2.9. Le S.I.D.A. :	117
4.2.10. Les leucémies et greffes de moelle osseuse :	117
5. Thérapie génique avec l'interleukine-2 :	117

	PAGES
6. Vaccinothérapie anti-cancéreuse :	118
H/ LES EFFETS INDESIRABLES DE L'INTERLEUKINE-2 :	119
1. Fréquence des complications :	119
1.1. Influence de la dose :	120
1.2. Influence de l'administration concomitante de cellules LAK :	120
1.3. Influence du mode d'administration de l'interleukine-2 :	122
2. Nature des complications :	122
2.1. Complications cardio-vasculaires :	122
2.1.1. Syndrome de fuite capillaire :	124
2.1.2. Complications hémodynamiques :	125
2.1.3. Troubles du rythme :	126
2.1.4. Les accidents myocardiques :	126
2.2. Complications rénales :	126
2.3. Complications digestives :	127
2.4. Complications hématologiques :	128
2.5. Complications neuropsychiques :	129
2.6. Complications endocriniennes :	129
2.7. Complications infectieuses :	130
2.8. Syndrome pseudo-grippal :	130
2.9. Complications respiratoires :	130
2.10. Signes cutanés :	131
2.11. Asthénie :	131
2.12. Décès :	132

	PAGES
3. Physiopathologie :	132
4. Prise en charge thérapeutique :	134
4.1. Sélection des patients :	134
4.2. Limitations de l'hypersensibilité capillaire :	134
4.3. Traitement symptomatique et surveillance :	135
4.3.1. Réanimation hydro-électrolytique :	135
4.3.2. Prise en charge hémodynamique :	136
4.3.3. Prévention des complications septiques :	138
4.3.4. Prévention et traitement des autres complications :	139
4.3.5. Précautions spécifiques vis-à-vis du traitement comportant des cellules LAK :	140
4.3.6. Interruption du traitement :	141
4.3.7. Fin de la cure :	141
5. Conclusion :	141
I/ SYNTHÈSE ET DISCUSSION :	142
1. Réponse tumorale et modalités thérapeutiques :	142
1.1. Interleukine-2 seule :	142
1.2. Interleukine-2 et cellules LAK :	143
1.3. Interleukine-2 et cellules TiL :	144
1.4. Interleukine-2 locale régionale :	144
1.5. Interleukine-2 avec cytokines ou médicaments cytostatiques :	144

	PAGES
2. Caractéristiques de la réponse :	147
3. Facteurs de pronostics :	149
3.1. Liés aux patients :	149
3.2. Liés à la tumeur :	150
3.3. Liés aux protocoles d'administration de l'interleukine-2 :	151
 J/ CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES D'AVENIR :	 152

LISTE DES ABREVIATIONS

- C.M.H. = Complexe majeur d'histocompatibilité.
C.S.F. = Colony stimulating factors.
C.T.L. = Lymphocytes T-cytotoxiques.
G.CSF = Granulocytes - Colony stimulating factors.
G.M-CSF = Granulocytes macrophage - Colony stimulating factors.
I.F.N. = Interféron.
IL-1 = Interleukine-1.
IL-2 = Interleukine-2.
IL-3 = Interleukine-3.
IL-4 = Interleukine-4.
IL-5 = Interleukine-5.
IL-6 = Interleukine-6.
IL-7 = Interleukine-7.
IL-8 = Interleukine-8.
IL-9 = Interleukine-9.
IL-10 = Interleukine-10.
IL-11 = Interleukine-11.
I.M. = Intra musculaire.
IP-3 = Inositol tri phosphate-3.
I.V. = Intra-veineuse.
L.A.K. = Lymphokine activated killers.
L.G.L. = Large granular lymphocytes.
N.K. = Natural killers.
P.H.A. = Phytohémaglutinine.
Rc = Récepteur.
S.C. = Sous-cutané.
Tac = Antigène d'activation des lymphocytes T.
TiL = Tumor infiltrating lymphocytes.
T.N.F. = Tumor necrosis factor.

LISTE DES FIGURES

	PAGES
Figure 1 : Les interleukines dans la réponse immunitaire	27
Figure 2 : Interleukine-2. Structure primaire de la protéine et séquence nucléotidique de l'ADN complémentaire	44
Figure 3 : Séquence d'acides aminés de l'IL-2 selon TANIGUCHI et al. (1983)	45
Figure 4 : Diagramme représentant la structure tridimensionnelle la plus probable de la molécule d'IL-2	47
Figure 5 : Récepteur de l'IL-2	52
Figure 6 : Production de l'IL-2	61
Figure 7 : Mécanisme de la production de l'IL-2	69
Figure 8 : Protocole clinique d'immunothérapie cellulaire avec cellules LAK et IL-2	96
Figure 9 : Immunothérapie adoptive	97

LISTE DES TABLEAUX

	PAGES
Tableau I : Les différentes appellations des interleukines	18
Tableau II : Principales cytokines humaines	20
Tableau III : Cinétique et constantes d'équilibre de l'IL-2	54
Tableau IV : Modes d'administration de l'IL-2	93
Tableau V : Critères d'atteinte de l'état général	101
Tableau VI : Adénocarcinome rénal	104
Tableau VII : Mélanome malin	107
Tableau VIII : Le cancer colorectal	109
Tableau IX : Le neuroblastome	111
Tableau X : Le cancer du sein	113
Tableau XI : Le cancer ovarien	114
Tableau XII : Le cancer superficiel de la vessie	116
Tableau XIII : Fréquence des complications à forte et faible dose d'IL-2	121
Tableau XIV : Fréquence des complications pour des doses élevées d'IL-2 en fonction de l'administration de LAK	123

Chapitre I :
LES INTERLEUKINES

I - LES INTERLEUKINES :

1. Introduction :

Dès les débuts des cultures de lymphocytes, dans les années soixante, on avait constaté que les surnageants de lymphocytes activés contenaient des facteurs capables d'agir sur d'autres cellules. Ils pouvaient par exemple, déclencher la transformation blastique et la mitose de lymphocytes ou inhiber la migration des macrophages.

A ces facteurs, définis par leur activité biologique, on avait donné le nom de lymphokines ; la difficulté de classer les facteurs d'activité voisine, mais de caractéristiques différentes, décrits par plusieurs équipes avait cependant rendu ce domaine très complexe.

A l'heure actuelle, on emploie plus volontiers le terme général de cytokine car ces facteurs peuvent être produits par différents types cellulaires. Les interleukines représentent un sous-groupe qui rassemble des peptides sécrétés par certains lymphocytes et les macrophages, elles agissent comme signaux au sein du système immunitaire.

Le premier écueil rencontré, face aux interleukines, est leur dénomination. En effet, regroupée sous le terme d'interleukine, chacune n'en a pas moins sa ou ses appellations propres (Tableau I).

Ce sont les progrès de la biologie moléculaire qui ont donné un second souffle à cette étude, ils ont permis de préciser les gènes responsables de la synthèse de ces facteurs, d'établir leur formule chimique précise et d'obtenir de la substance pure par recombinaison génétique. Cela a rendu possible, l'étude de leurs effets biologiques sur différents systèmes expérimentaux, ainsi que leur utilisation en thérapeutique humaine.

- IL1** : - Lymphocyte activating factor (LAF) (Facteur d'activation des lymphocytes).
- IL2** : - T cell growth factor (TCGF) (Facteur de croissance des lymphocytes T)
- Thymocyte stimulating factor (TSF) (Facteur de stimulation des thymocytes).
- IL3** : - Multi colony stimulating factor (multi CSF) (Facteur de stimulation des colonies).
- IL4** : - Complementary DNA for human B (ADN complémentaire pour les lymphocytes B humains).
- B cells growth factor (BCGF) (Facteur de croissance des lymphocytes B).
- B cells stimulating factor I (BCSF I) (Facteur I de stimulation des lymphocytes B).
- IL5** : - T cells replacing factor (TRF) (Facteur remplaçant les lymphocytes T)
- B cells growth factor II (BCGF II) (Facteur II de croissance des lymphocytes B)
- IL6** : - B cells stimulating factor 2 (BCSF 2) (Facteur II de stimulation des lymphocytes B)
- IL7** : - Lymphopoiétine I
- IL8** : - Monocyte derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) (Facteur monocytaire chimiotactique pour les neutrophiles)
- Monocyte derived neutrophil activating peptide (MONAP) (Peptide monocytaire activateur des neutrophiles)
- Neutrophil activating factor (NAF) (Facteur d'activation des neutrophiles)
- Granulocytes chemotactic factor (GCP) (Facteur chimiotactique des granulocytes).

TABLEAU I : LES DIFFERENTES APPELLATIONS DES INTERLEUKINES

Les interleukines agissent au niveau cellulaire par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques. Elles agissent en cascades et leur action propre est souvent liée à l'action d'autres cytokines.

Leur synthèse et leur libération peut faire suite à une stimulation antigénique, mais, contrairement aux anticorps, les antigènes ne déterminent pas leur composition chimique.

Dans un premier temps, nous présenterons chacune des onze interleukines identifiées ; puis nous étudierons leur rôle dans la réponse immunitaire, leurs implications dans diverses pathologies et leurs emplois thérapeutiques potentiels.

2. Présentation des différentes interleukines :

Les propriétés physico-chimiques et biochimiques des principales interleukines sont regroupées dans le tableau II.

2.1. Interleukine-1 :

Deux types d'interleukine-1 (IL-1), codés par deux gènes distincts, ont été identifiés, IL-1 α et IL-1 β (51, 52, 81). La culture de lignées monocytaires et macrophagiques a montré qu'après activation, ces cellules produisent les deux formes d'IL-1 dans un rapport β/α de 9 pour 1. On ignore cependant si une même cellule est capable de sécréter les deux formes.

Malgré une faible homologie dans leur séquence en acides aminés, elles se lient aux mêmes récepteurs cellulaires, mais avec des affinités différentes.

La synthèse d'IL-1, induite par de nombreux stimuli (protéines étrangères, agents inflammatoires, micro-organismes...), est réalisée par un grand nombre de cellules : monocytes, macrophages, cellules naturels killers (NK), lymphocytes T et B, lymphoblastes, kératinocytes, astrocytes, mélanocytes. Cette

nom	Principales cellules productrices	Nombre d'acides aminés		Glycosylation	Propriétés biochimiques	Cystéine	Localisation chromosomique	Gène	Principaux effets biologiques
		précurseur	secrété						
IL-1 alpha	Monocytes/Macrophages	271	159	0	15-17 kDa	2			Libération de lymphokines par les T activés et les lymphoblastes Induction de différenciation et de prolifération de Ly B avec d'autres facteurs de différenciation. Croissance de fibroblastes, de cellules synoviales, de cellules endothéliales. Libération de PGE2, collagénase, de protéines de la phase aigue, fièvre. Augmentation de l'activité des cellules NK Production de lymphokines, activité T cytotoxique
	Cellules dendritiques				pi 5.0				
	Cellules tueuses naturelles								
IL-1 bêta	Cellules endothéliales	299	153	+	15-17 kDa	5	2q(13-21)		Croissance de fibroblastes, de cellules synoviales, de cellules endothéliales. Libération de PGE2, collagénase, de protéines de la phase aigue, fièvre. Augmentation de l'activité des cellules NK Production de lymphokines, activité T cytotoxique
	Fibroblastes astrocytes				pi 7.0		2q(24-31)		
	Kératinocytes								
IL-2	Cellules T activées	193	183	+	15 kDa		4q	3/4	Croissance de cellules T activées Production de lymphokines Activité T cytotoxique Augmentation de l'activité NK Augmentation de l'activité cytotoxique médiée par des lymphokines Cytotoxicité monocyttaire Coactivation de cellules B
IL-3 (multi-CSF)	Lymphocytes circulants Clones de cellules T activées	152	133	+		2	5q(23-31)	4/5 2,4kb	Multiplication de cellules souches multipotentes
IL-4 (BCGF-1)	Cellules T activées	153	129	+		6	5	3/4 -10kb	Prolifération de cellules B activées Augmentation d'expression du FcεR sur les lymphocytes circulants et les Ly B des amygdales Libération de CD23 (FcεR libre) par les cellules B Augmentation de sécrétion d'IgE par les lymphocytes circulants Facteurs de croissance pour les cellules T
IL-5	Cellules T	134	112	+		2	5	3/4	Différenciation des éosinophiles Augmentation de sécrétion d'Ig M et A par les lymphocytes sanguins
IL-6 (BSF-2) (IFN B2)	Monocytes Lignée T transformée par HTLV Fibroblastes Lignées myélomateuses Lignées néoplasiques	212	184		26 kDa	4	7p(15-21)	4/5 -7kb	Activité antivirale Différenciation des cellules B et stimulation de sécrétion d'Ig Facteur de croissance des hybridomes et plasmocytomes Facteur d'activation des cellules T Facteur de différenciation de Cellules T cytotoxiques Co stimulation de la prolifération des thymocytes Facteur de stimulation des hépatocytes
IL-7 souris		154	129	+	25 kDa	6			Activation et différenciation de cellules pré et pro-B, des cellules T
IL-7 homme		177	152	+	25 kDa	6			
IL-8 (TCF,NAP-1, MDNCF)		99	72	0	7-8kDa	4		0/1 1,4kb	Facteur chemoattractant
IFN alpha	Leucocytes	189	166	0	18-20 kDa	3	9 (-14-20 gènes)	0/1	antiviral, expression d'Ag du CMH
IFN bêta	Fibroblastes	187	166	+	23 kDa	2	9	0/1	
IFN gamma	Lymphocytes T	166	143-6	+	20-25 kDa	2	12(q24.1)	3/4 -5kb	antiviral, expression d'Ag du CMH inhibiteur de sécrétion d'IgE,
TNF alpha	Monocytes/macrophages	233	157	0	17kDa		6	3/4	Cachectine, facteur de nécrose tumorale, expression d'Ag du CMH
TNF bêta (L Lymphocytes)		205	171	+	20-25 kDa	0	6	3/4 3,5	Facteur de nécrose tumorale
hILDa/LIF	Lymphocytes	202	179	+	38 kDa	6		-4kb	Facteur de différenciation myélomonocytaire

TABLEAU II : PRINCIPALES CYTOKINES HUMAINES

synthèse est inhibée par les immunosuppresseurs tels que la ciclosporine et les corticoïdes.

Son rôle principal est la stimulation des lymphocytes T. Cette fonction sera développée dans le paragraphe relatif à la réponse immunitaire.

L'IL-1 joue un rôle fondamental dans l'inflammation. En agissant sur les cellules endothéliales, dans l'inflammation d'origine immunologique et dans l'inflammation non-spécifique, elle entraîne une importante réaction locale ainsi que de la fièvre.

L'IL-1 intervient dans l'hématopoïèse qu'elle stimule en provoquant la prolifération des cellules pluripotentes de la moelle osseuse au sein d'un clone cellulaire, et en augmentant le nombre de cellules formant ce clone (52). En effet, l'administration d'IL-1 provoque une augmentation du nombre des récepteurs cellulaires à leurs facteurs spécifiques de stimulation (Colony stimulating factors : C.S.F.) qui jouent un rôle dans la régulation de la croissance des lignées hématopoïétiques.

2.2. Interleukine-2 :

Elle est produite par les lymphocytes T et joue un rôle central dans l'activation des effecteurs spécifiques de la réponse immunitaire.

L'interleukine-2 (IL-2) représente le sujet principal de ce travail et sera traitée en détails dans les prochains chapitres.

2.3. Interleukine-3 :

Elle est produite essentiellement par les lymphocytes T activés et intervient principalement sur les cellules hématopoïétiques.

C'est un facteur de croissance des cellules pluripotentes de la moelle osseuse, assurant la prolifération et le développement de toutes les lignées hématopoïétiques (81). L'intérêt de

son emploi seule ou en association dans le traitement des dysfonctionnements médullaires est en cours d'évaluation .

A un moindre degré, l'interleukine-3 (IL-3) peut activer les lymphocytes T et les macrophages. En contre partie, elle inhiberait l'activité des cellules lymphokine activated killers (LAK).

2.4. Interleukine-4 :

L'interleukine-4 (IL-4) est produite par les cellules T auxiliaires. Elle intervient essentiellement dans la réponse immunitaire, mais agit également dans l'hématopoïèse, en synergie avec l'érythropoïétine (81) et autres C.S.F. pour stimuler les lignées érythrocytaires, granulocytaires et mégacaryocytaires. Elle a, à ce niveau une activité proche de l'IL-3.

C'est aussi un facteur de différenciation des lymphocytes B, permettant le switch des immunoglobulines (Phénomène de commutation de classe). Elle s'oppose à l'action de l'IL-2 lors de la génération des cellules LAK. De même, elle inhibe la production d'IL-1, d'interleukine-6 (IL-6) et de tumor necrosis factor (T.N.F.) par les macrophages.

2.5. Interleukine-5

Produite par les lymphocytes T auxiliaires, l'interleukine -5 (IL-5) intervient dans la réponse immunitaire humorale induisant la transformation des lymphocytes B en plasmocytes.

De plus, l'IL-5 est un facteur de croissance et de différenciation des polynucléaires éosinophiles.

2.6. Interleukine-6 :

L'interleukine-6 (IL-6) est sécrétée par les macrophages,

les lymphocytes T et de nombreuses autres cellules, comme les fibroblastes, les cellules endothéliales, etc...

La production d'IL-6 survient en réponse à une agression. Elle met en jeu les cellules présentes sur le site de cette agression. La multiplicité des cellules et des signaux responsables de cette synthèse conduit à une amplification en cascade.

L'IL-6 a des effets paracrines (sécrétion interne et action sur les tissus voisins), endocrines (sécrétion dans le sang et effet à distance) et, peut-être, autocrines (sécrétion interne et action sur les cellules productrices).

L'IL-6 est un facteur de différenciation pour les lignées lymphoïdes B et T et les cellules hématopoïétiques. Elle intervient alors suivant un mode paracrine, comparable à celui de la plupart des cytokines. Comme les interleukines 1, 3, et 4 elle agit en synergie avec les CSF. Elle induit la production de granulocytes macrophages CSF (GM-CSF) par les fibroblastes et les cellules endothéliales de la moelle osseuse. En outre, l'IL-6 agit précisément sur les cellules hématopoïétiques en potentialisant l'effet de l'IL-3 sur la différenciation des cellules souches. Elle possède également une action tardive sur la lignée granuleuse comparable à celle du granulocytes-CSF (G-CSF).

L'IL-6 est impliquée dans l'apparition du phénomène fébrile et dans la production des protéines de l'inflammation. C'est un facteur endocrine. Elle est retrouvée dans les épanchements articulaires inflammatoires, mais ses effets locaux sont moins bien définis que ceux de l'IL-1. L'IL-6, comme l'IL-1, exerce un effet proinflammatoire et pyrogène, mais ne provoque pas la production de prostaglandines.

L'IL-6 interviendrait comme facteur de croissance autocrine pour certaines tumeurs. En effet, elle stimule la croissance des plasmocytomes qui peuvent exprimer, à leur surface, son récepteur spécifique et transcrire son gène.

Enfin, l'IL-6 nous le verrons plus loin, participe à la réponse immunitaire humorale et cellulaire comme facteur de croissance et de différenciation des lymphocytes B en plasmocytes.

2.7. Interleukine-7 :

L'interleukine-7 (IL-7) est une lymphokine produite par le thymus, qui intervient dans la prolifération et la maturation des cellules pré-B et des cellules pré-T (51).

2.8. Interleukine-8 :

L'interleukine-8 (IL-8) est produite par de nombreux types cellulaires en réponse à un stimulus inflammatoire (leucocytes activés, fibroblastes, cellules endothéliales, kératinocytes), après stimulation par l'IL-1. Elle a une activité chimiotactique qui s'exerce essentiellement sur les polynucléaires neutrophiles mais aussi sur les lymphocytes T. Elle intervient dans le processus inflammatoire en induisant la libération de lactoferrine et de leucotriènes par les polynucléaires neutrophiles (17).

Les interleukines suivantes sont des découvertes très récentes aussi elles n'apparaissent pas dans le tableau I.

2.9. Interleukine-9 :

Produite par les lymphocytes T, l'interleukine-9 (IL-9) est une glycoprotéine de 37-43 KDa riche en cysteines.

Elle permet la survie des mastocytes et, conjointement avec l'IL-3, induit la prolifération des mastocytes dérivant de la moelle osseuse et la production d'IL-6 par ces derniers. Enfin, l'IL-9 induit la prolifération de certaines lignées T.

2.10. Interleukine-10 :

L'interleukine-10 (IL-10) est produite par les lymphocytes T, les lymphocytes B et les mastocytes. Décrite comme "Cytokine Synthèse Inhibitory Factor", l'IL-10 n'inhibe pas uniquement la production des cytokines.

En synergie avec l'IL-2 et l'IL-4, elle induit la prolifération des thymocytes et accroît la cytotoxicité des CD8+ (qui portent le marqueur membranaire CD8) en présence d'IL-2.

L'IL-10 inhibe les fonctions de présentation de l'antigène par les macrophages et la production d'IL-1, IL-6 et de T.N.F. par ces derniers.

Enfin, avec l'IL-3 et l'IL-4, elle induit la prolifération des mastocytes dérivant de la moelle osseuse.

2.11. Interleukine-11

L'interleukine-11 (IL-11) est produite par les cellules stromales, des fibroblastes pulmonaires ou des cellules du trophoblaste.

Elle agit en synergie avec l'IL-3 sur la différenciation des mégacaryocytes et favorise la production d'immunoglobulines par les lymphocytes B.

2.12. Les autres cytokines :

Il existe d'autres cytokines qui n'ont pas pris l'appellation interleukine. Il convient néanmoins de les citer comme ; les Interférons et les Tumor Necrosis Factors.

Ce sont des facteurs importants à connaître car ils jouent un rôle majeur lors de la réponse immunitaire.

* Les interférons (IFN), outre une propriété antivirale commune peuvent moduler les fonctions du système immunitaire.

L'I.F.N. gamma, synthétisé par les lymphocytes auxiliaires, active les macrophages, les lymphocytes cytotoxiques et les cellules N.K. Il agit en partie en potentialisant l'action de l'IL-2.

L'I.F.N. alpha est employé avec succès dans le traitement de certains cancers.

* Les T.N.F. sont au nombre de deux. Le T.N.F. alpha est sécrété surtout par les macrophages, tandis que le T.N.F. béta (ex : lymphotoxine) est essentiellement produit par les lymphocytes T. Le T.N.F. alpha partage avec l'IL-1 de nombreuses activités. Il participe au choc septique endotoxinique et induit les états cachectiques. Il joue également un rôle dans l'induction de la cicatrisation et dans la lyse tumorale.

3. Les interleukines dans la réponse immunitaire (figure 1) :

L'expression générale "réponse immunitaire" regroupe la réponse non spécifique, assurée par les macrophages et les cellules N.K., et la réponse spécifique. Celle-ci est divisée en réponse cellulaire reposant sur les lymphocytes T (T pour thymus dans lequel, après naissance dans la moelle osseuse, ils migrent pour subir maturation sous l'effet des hormones thymiques, éducation et sélection), et en réponse humorale faisant intervenir les lymphocytes B (B pour Bone marrow, moelle osseuse en anglais où ils prennent naissance).

Par leur rôle stimulant sur l'hématopoïèse, les interleukines et tout particulièrement l'IL-1 et l'IL-3, participent à la production des cellules impliquées dans la réponse immunitaire.

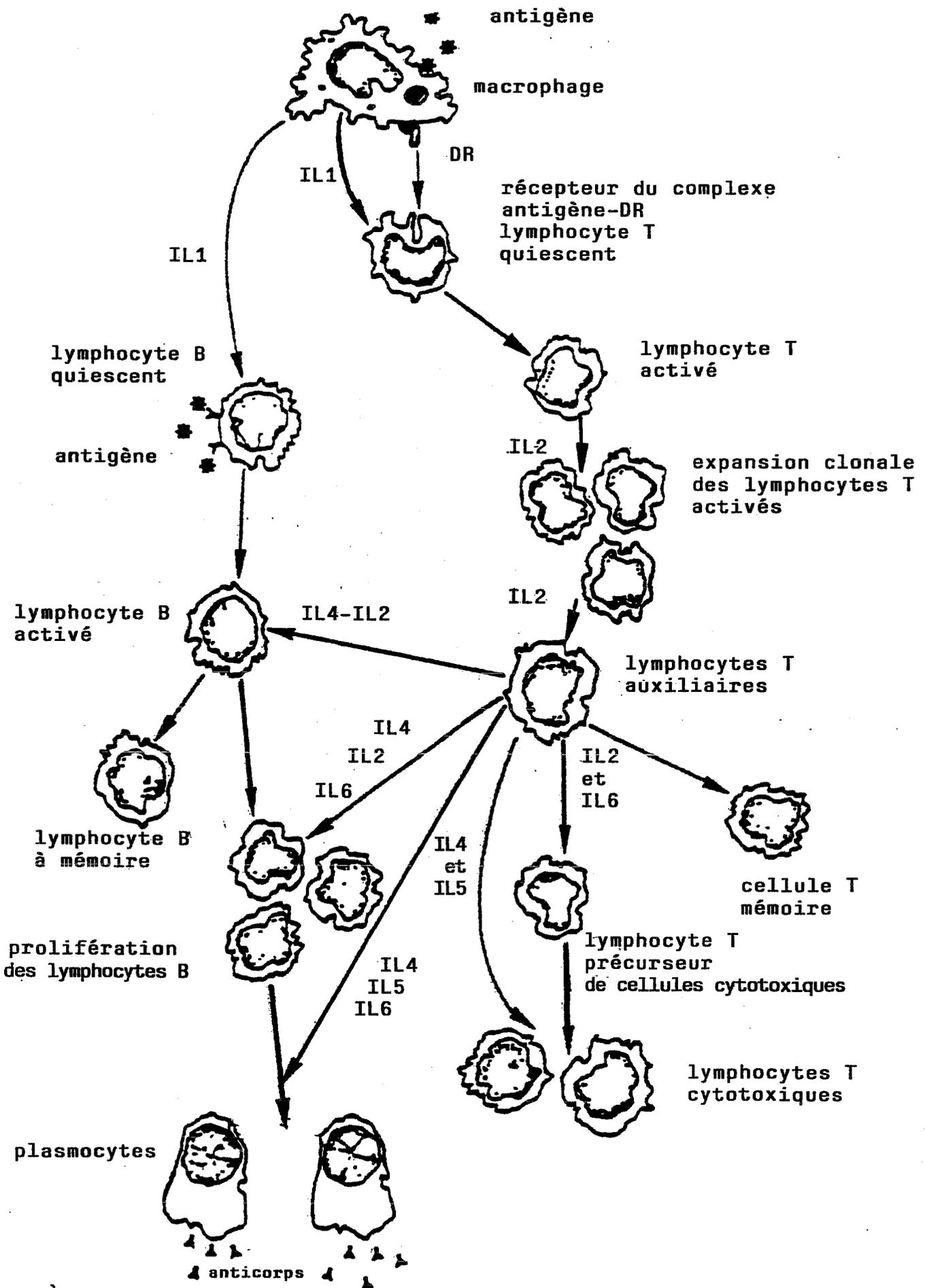


FIGURE 1 : LES INTERLEUKINES DANS LA REPOSE IMMUNITAIRE

3.1. La réponse spécifique :

3.1.1. Réponse immunitaire à médiation cellulaire :

Un antigène introduit dans un organisme est susceptible d'être fixé par des cellules de la lignée monocytaire qui l'internalisent, modifient son motif antigénique, puis présentent en association avec des molécules d'histocompatibilité de classe II les épitopes simplifiés aux lymphocytes T auxiliaires ou CD4+ (car ils portent le marqueur membranaire CD4). Il y a alors double reconnaissance :

- Du macrophage et du lymphocyte grâce aux molécules d'histocompatibilité de classe II du macrophage et au marqueur de membrane CD4 du lymphocyte T auxiliaire.

- De l'épitope antigénique par le récepteur pour l'antigène porté par le lymphocyte T.

Les macrophages activés vont synthétiser de l'IL-1 : Ce signal biochimique est nécessaire à la coopération macrophage-lymphocyte T et à l'activation des lymphocytes T (4).

Les lymphocytes T quiescents sont initialement en phase G du cycle cellulaire. Ils contiennent des ARNm non traduits, dont celui de l'antigène Tac (Antigène d'activation des lymphocytes T) qui correspond, en fait, au récepteur de l'IL-2. L'antigène présenté par le macrophage, en présence d'IL-1 permet l'activation du lymphocyte T qui passe alors de la phase G₀ à la phase G₁ et exprime le récepteur à l'IL-2 (81).

Simultanément, les lymphocytes T activés expriment le gène codant pour l'IL-2 et vont donc synthétiser cette interleukine (124).

L'IL-1 au niveau des lymphocytes T, induit donc la synthèse de l'IL-2, et l'expression sur ces mêmes lymphocytes de ses récepteurs à l'IL-2 (4). Cette double expression permet la prolifération des lymphocytes T. En effet l'IL-2 se fixant sur ces

récepteurs membranaires de forte affinité, est internalisée, agit au niveau du noyau, puis est dégradée. Elle agit en fin de phase G1 du cycle cellulaire et induit la synthèse d'ADN.

La liaison IL-2/Récepteur stimule l'expression clonale des cellules T activées tant que l'antigène est présent. Dès que celui-ci disparaît, le nombre de récepteurs à l'IL-2 diminue et la prolifération des cellules T s'arrête, même s'il existe encore de l'IL-2 (31).

L'induction et la régulation de l'expression du récepteur à l'IL-2 semble jouer un rôle essentiel dans le contrôle de l'intensité de la réponse immunitaire.

L'IL-2 permet la prolifération des cellules T auxiliaires qui synthétisent, non seulement l'IL-2, mais aussi les IL-4, 5 et 6 nécessaires à l'expansion de la réponse immunitaire. Seuls les lymphocytes producteurs d'IL-2 peuvent secondairement activer d'autres lymphocytes T, et générer des lymphocytes effecteurs de l'immunité à médiation cellulaire (4). En effet, l'IL-2 active les précurseurs des cellules T cytotoxiques, assurant la différenciation en cellules effectrices (51). Son action est potentialisée par l'IL-6 qui augmente l'expression des récepteurs à l'IL-2 (46). L'IL-4 stimule la croissance des cellules cytotoxiques et assure la prolifération des cellules T matures, indépendamment de l'IL-2. Enfin, l'IL-5 augmente aussi l'activité toxique des cellules T cytotoxiques. Celles-ci sont capables de reconnaître et de détruire les cellules cibles porteuses de l'antigène en association avec les structures de la classe I du système HLA.

A la suite de l'activation par l'antigène et les interleukines, un certain nombre de lymphocytes T - les lymphocytes T mémoire - ne se différencient pas en cellules effectrices et demeurent quiescents (4). Ils constituent le support de la mémoire immunologique de la réponse à médiation cellulaire.

3.1.2. Réponse immunitaire à médiation humorale :

La régulation de la réponse humorale est aussi sous le contrôle des lymphokines sécrétées par les lymphocytes T.

L'IL-1 et l'IL-7, en assurant la maturation des cellules pré B, permettent la différenciation des lymphocytes B (51).

L'IL-1 produite par les macrophages activés stimule les lymphocytes B. Cependant, l'activation effective des lymphocytes B est consécutive à la fixation de l'antigène sur leurs immunoglobulines de surface.

Activés, les lymphocytes B sont stimulés par les IL-2, 4, 5, et 6, synthétisées par les cellules T auxiliaires. Il y a donc coopération entre lymphocytes T et B.

L'IL-4 est le premier facteur à intervenir. Elle permet aux lymphocytes B quiescents en phase G₀ de passer en phase G₁ et participe ainsi à l'activation de ces lymphocytes.

Ultérieurement, l'IL-4 prend part à la maturation des lymphocytes B en permettant leur transformation en plasmocytes, et participe, de ce fait, à la production des immunoglobulines (51). Cette interleukine entre dans la régulation de l'isotypie des immunoglobulines. Elle induit tout particulièrement la production des Ig M, Ig G₁ et Ig E (51). L'IL-2 participe aussi à la prolifération et à la différenciation des lymphocytes B activés. Ceux-ci expriment à leur surface des récepteurs de faible affinité pour l'IL-2. Cependant, le mécanisme exact de l'action de l'IL-2 sur les lymphocytes B reste à démontrer.

L'IL-5 est un facteur de croissance et de différenciation qui favorise surtout la production des Ig A.

L'IL-6 (46) agit à la fois sur la prolifération et sur la différenciation des lymphocytes B. Elle accroît l'expression du gène de la chaîne lourde des immunoglobulines et favorise la production d'ARNm correspondant à la forme sécrétée de cette

chaîne. Cet effet s'exerce sur l'ensemble des classes d'immunoglobulines.

Comme dans le cas des lymphocytes T, certains lymphocytes B activés vont demeurer quiescents (4), conservant une morphologie identique à celle du petit lymphocyte initial. Au décours de cette activation, des réarrangements géniques se produisent, améliorant l'efficacité des anticorps : Commutation des Ig M en Ig G et augmentation d'affinité. Ces lymphocytes acquièrent une longue durée de vie qui leur permettra, ultérieurement, lors d'un nouveau contact avec le même antigène, de participer à une réponse immunitaire de type secondaire. Ils constituent le support de la mémoire immunologique de la réponse à médiation humorale (4).

3.2. Réponse non spécifique :

Des cellules autres que les lymphocytes et les macrophages, les cellules N.K., participent à la réponse immunitaire. Ces cellules sont définies par leur capacité à détruire in vitro des cellules tumorales maintenues en culture, et ce, indépendamment de toute sensibilisation préalable et de la présence d'antigène ou du complément (7).

L'IL-2 stimule l'activité des cellules N.K. (124) et peut également faire apparaître une activité cytotoxique de type N.K. chez des cellules d'origine lymphoïde. Ces cellules sont alors appelées L.A.K. et tumor infiltrating lymphocytes (lymphocytes infiltrant les tumeurs) (TiL). L'action de l'IL-2 à ce niveau, est potentialisée par l'IL-4 (51).

La troisième partie de ce travail traitera entre autre des cellules LAK et TiL.

Les interleukines apparaissent comme des médiateurs indispensables au bon déroulement de la réponse immune, mais aussi comme des "outils" potentiels pour moduler celle-ci.

4. Interleukines et pathologie :

L'excès ou l'insuffisance de production d'interleukines contribue au développement de certains états pathologiques : syndrome inflammatoire, infections, maladies auto-immunes (31). Ainsi, un déficit de la synthèse d'IL-2 a été observé chez des patients atteints de SIDA, de maladies auto-immunes, de certains diabètes, de cancers (31), de lupus érythémateux disséminés (81), de lèpre lépromateuse et de pemphigus (118). De même, des perturbations de l'expression des récepteurs de l'IL-2 ont été décrites chez des patients atteints de SIDA, d'hypogammaglobulinémie, de certaines leucémies (81) ou de pemphigus (118). Si dans le SIDA, la destruction des cellules T auxiliaires par le virus HIV explique le déficit de la production d'IL-2 et la sévère immunodéficience provoquant des infections opportunistes (81), de nombreuses études sont en cours pour expliquer le mécanisme de ces anomalies dans les autres pathologies.

L'IL-1 joue un rôle important dans l'inflammation, tout particulièrement dans la pathogénie de l'arthrite rhumatoïde. En effet, elle induit la dégradation de la matrice du cartilage, en stimulant probablement la synthèse et la sécrétion des collagénases et d'autres métalloprotéases par les chondrocytes, et en empêchant ces derniers d'élaborer des protéoglycannes. Enfin, elle participe à la dégradation de la matrice osseuse par des mécanismes indépendants de la prostaglandine E2. L'IL-1 est, non seulement abondante dans le liquide synovial des malades atteints d'arthrite rhumatoïde, mais, après injection en intra-articulaire à l'animal, elle provoque également un processus inflammatoire identique à celui observé dans l'arthrite rhumatoïde (81). Des inhibiteurs de l'IL-1 font actuellement l'objet d'essais thérapeutiques dans le traitement de cette maladie.

Les activités pro-inflammatoires de l'IL-6 ne sont pas encore toutes connues. Comme l'IL-1, l'IL-6 est retrouvée en concentration importante dans le liquide synovial et le sérum de malades souffrant d'arthrites inflammatoires.

La concentration en IL-6 augmente également dans le sérum et l'urine immédiatement après une transplantation rénale et lors des épisodes aigus de rejet de greffe (17).

La découverte de nouveaux médiateurs, une meilleure connaissance de leur structure, de leur production, de leur mécanisme d'action, de leur interaction et de leur toxicité permettront sans doute d'expliquer certains mécanismes à ce jour incompris, voire d'en découvrir d'autres.

Chapitre II :
L'IMMUNOTHERAPIE

II - L'IMMUNOTHERAPIE :

1. Système immunitaire et développement d'une tumeur :

Que savons-nous des cancers sur le plan immunologique ? Quelles relations existent-ils entre le développement des cellules cancéreuses et l'activité du système immunitaire ? Des réactions immunitaires observées à la suite du développement de certaines tumeurs jouent-elles un rôle réel de protection ? L'existence de relations étroites entre l'activité du système immunitaire et le développement des tumeurs ne fait aucun doute aujourd'hui.

Un certain nombre d'observations clinico-pathologiques est généralement avancé pour illustrer une réponse immune contre le cancer chez l'homme, en voici quelques unes (42) :

- Il existe une susceptibilité à certains types de cancer lors d'immunodéficience cellulaire (héréditaire ou acquise après traitement immunosuppresseur, antitumoral, ou par infection virale).

- La présence d'anticorps antitumoraux (mélanome, cancer du poumon, leucémie) a pu être détectée.

- On peut constater la présence d'infiltrats inflammatoires péri-tumoraux.

Dans la plupart de ces situations, il est très difficile chez l'homme, de démontrer formellement une relation de cause à effet, comme par exemple entre l'émergence d'un cancer et la présence d'une immunosuppression : un agent immunosuppresseur est en effet souvent mutagène lui-même ; une immunodéficience héréditaire pourrait également toucher des gènes impliqués dans la susceptibilité à certaines tumeurs [(59) Kagan J.M.]. Ce que l'on peut par contre affirmer c'est qu'en marge de ces observations il existe des interactions entre le système immunitaire et le cancer, sans vouloir aller plus loin et les interpréter dans le sens d'une surveillance immune du cancer.

L'idée de manipuler le système immunitaire pour éradiquer les cellules cancéreuses repose sur l'hypothèse que les cellules tumorales peuvent être reconnues comme "non soi". Cette théorie avance que ces cellules portent à leur surface des structures particulières, différentes de celles trouvées sur les cellules normales provenant du même tissu et pouvant être reconnues comme antigènes par le système immunitaire.

Les modifications antigéniques retrouvées sur les cellules tumorales peuvent être des néo-antigènes codés par un virus oncogène (virus d'Epstein Barr dans le lymphome de Burkitt et le cancer du naso-pharynx par exemple), ou des changements subtils de la structure du récepteur de facteurs de croissance dûs à un oncogène (comme dans certains mélanomes). Ces modifications peuvent aussi correspondre à la présence d'antigènes habituellement exprimés au cours de la vie foetale (Ag carcino-embryonnaire ou α foeto protéine sur les tumeurs digestives), ou encore résulter de la perte de certains antigènes (molécules H.L.A. sur les neuroblastomes).

L'échappement des tumeurs à la réponse immunitaire peut-être facile si l'antigénécité est faible ce qui est sans doute le cas de nombreuses tumeurs "spontanées". Les antigènes tumoraux peuvent aussi disparaître de la surface cellulaire (modulation antigénique) ou être masqués par des anticorps qui leur permettent d'échapper à la reconnaissance et à l'attaque par les cellules cytotoxiques.

Il convient à ce niveau du chapitre d'ouvrir une parenthèse sur les infiltrats inflammatoires péri-tumoraux. Ces infiltrats ont souvent été interprétés comme une réponse de l'hôte contre sa tumeur. Certains travaux semblent indiquer que la présence de telles réactions représente un signe d'évolution favorable pratiquement dans tous les types de cancer mais selon des fréquences et des intensités variables.

Grâce à l'emploi des Ac monoclonaux on s'est rapidement rendu compte que le composant principal était le lymphocyte T. Von Fliedner et coll. (42) ont mis au point une technique de clonage pour les lymphocytes T péri-tumoraux qui a permis d'évaluer leur potentiel proliférant. Ils l'ont appliquée à 35 patients porteurs de tumeurs diverses. Il s'est avéré que la fréquence clonogénique moyenne des lymphocytes T se situait aux environs de 5 % de la valeur normale. Cette diminution de la fréquence des précurseurs clonogéniques est sélective, le lymphocyte T de type CD8+ étant bien plus atteint que le type CD4+. Il faut noter que ces lymphocytes T souffrant d'un déficit clonogénique ne se distinguent pas des autres du point de vue phénotypique et fonctionnel.

L'hypothèse généralement avancée est que des facteurs solubles produits par la tumeur inhibent les lymphocytes T. Ce type d'expérience souligne la complexité des interactions entre la tumeur et le système immunitaire de l'hôte.

2. L'immunothérapie des cancers :

2.1. Définition :

L'immunothérapie (58) a pour but : l'utilisation clinique d'agents capables de moduler l'activité du système immunitaire afin d'améliorer les défenses spécifiques et/ou non spécifiques de l'hôte, de manière à stimuler l'activité antitumorale des cellules immunocompétentes.

C'est au début des années 1970, en particulier sous l'impulsion de Georges MATHE et de ses collaborateurs, que la biothérapie des cancers connut un grand développement clinique associé aux progrès réalisés en immunologie d'une part et en génie génétique d'autre part.

2.2. Les moyens disponibles :

Puisque la surveillance immunitaire naturelle ne permet pas

un contrôle suffisant de l'évolution des tumeurs, il est tentant de chercher à modifier la réponse immunitaire pour renforcer ce contrôle : c'est l'objectif de l'immunothérapie des cancers.

Dans les systèmes expérimentaux, plusieurs modalités d'immunothérapie ont été utilisées :

- L'immunothérapie active modifie la réponse immunitaire de l'animal. Elle peut être spécifique et consiste à immuniser le sujet contre les cellules de sa propre tumeur. On utilise généralement des cellules tumorales préalablement broyées ou inactivées. On peut aussi théoriquement employer des cellules tumorales provenant d'autres sujets à condition que ces cellules portent des antigènes communs.

- L'immunothérapie active non spécifique constitue un autre moyen de lutter contre le développement des tumeurs. Cette approche est basée sur l'utilisation d'adjuvants qui ont pour effet d'amplifier la réponse immunitaire par l'intermédiaire des cellules effectrices non spécifiques, macrophages, cellules NK ou LAK ; le premier produit utilisé le B.C.G. est aujourd'hui abandonné dans cette indication. D'autres produits immunostimulants tels que levamisole, l'azimexon, l'isoprinosine sont actuellement à l'étude.

Cette immunothérapie active est aussi nommée immunostimulation.

- L'immunothérapie passive consiste à transférer des cellules lymphoïdes sensibilisées ou des antigènes à un sujet porteur de tumeur. Une première approche repose sur l'utilisation des anticorps qui traitent passivement mais spécifiquement car ils impliquent la reconnaissance de structures déterminées, les antigènes. Récemment les anticorps polyclonaux ont été remplacés par des anticorps monoclonaux.

Ces anticorps sont utilisés seuls ou associés à des agents cytotoxiques (methotrexate ou adriamycine) formant ainsi de véritables immunotoxines ou "missiles téléguidés".

Les limitations de cette forme d'immunothérapie à l'aide d'anti-

corps monoclonaux, restent encore nombreuses : manque de spécificité de l'antigène (qui peut être retrouvé ailleurs que sur la tumeur), hétérogénéité des cellules des tumeurs qui expriment des antigènes différents permettant à certaines cellules d'échapper à l'action d'anticorps utilisés, impossibilité pour l'anticorps d'atteindre sa cible par défaut de vascularisation du module tumoral, immunisation du patient contre l'anticorps injecté ce qui limite les possibilités de répétition des traitements avec les mêmes ou d'autres anticorps.

D'autres approches ont été envisagées avec les lymphocytes T cytotoxiques ou les cellules N.K. administrés selon des protocoles très rigoureux ; mais ces deux types de cellules biologiques n'ont jamais permis d'obtenir des résultats valables.

Dans le traitement des tumeurs humaines, après avoir soulevé de nombreux espoirs qui ne se sont pas confirmés, l'immunothérapie n'occupe actuellement qu'une place très modeste. Cependant de nouveaux espoirs reposent aujourd'hui sur l'utilisation de substances plus spécifiques directement impliquée dans les défenses de l'organisme : Les médiateurs naturels de l'immunité. Il s'agit des interleukines, du facteur nécrosant des tumeurs, des I.F.N. et des hormones régulant l'action d'organes à fonction immunitaire, comme le thymus. Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de produire, par génie génétique, ces substances purifiées en quantités suffisantes pour réaliser des essais thérapeutiques. Elles sont utilisées en cancérologie à des doses élevées apparemment très supérieures aux concentrations du sang normal.

2.3. Perspectives et espoirs :

La chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie des tumeurs ont ceci de commun ; elles visent à éliminer, mais dès qu'il y a des métastases disséminées, ces méthodes deviennent impuissantes. Tout le monde sait que le véritable traitement du

cancer, à terme, sera celui qui ne se contentera pas de supprimer une masse tumorale mais traitera aussi la maladie générale.

L'immunothérapie constitue ainsi la quatrième voie pour le traitement des cancers. Elle est différente par son mode d'action (qui correspond à une amplification ou à une stimulation de nos défenses naturelles) et par la multitude de molécules biologiques à notre disposition. Tous les indices montrent que cette quatrième modalité est en train de s'imposer. L'ampleur des investissements de l'industrie privée dans ce domaine le démontre.

Les progrès à attendre dans la compréhension du système immunitaire, l'utilisation des connaissances en biologie moléculaire et cellulaire, l'intensification des traitements grâce à l'association de différentes molécules pourront sans doute permettre d'augmenter les probabilités de guérison des patients. C'est dans ce sens que l'immunothérapie confortera sa place de quatrième voie de traitement des cancers.

Chapitre III :
L'INTERLEUKINE-2

III - L'INTERLEUKINE-2 :

A - L'INTERLEUKINE-2 ET SES RECEPTEURS :

1. Découverte de l'interleukine-2 :

Le plus connu des messagers de l'immunité, l'IL-2, fut découvert un peu fortuitement en 1975 par une équipe de chercheurs américains travaillant dans le laboratoire de Robert GALLO (plus célèbre de nos jours pour sa contribution à l'élu- cidation des origines du SIDA).

D. MORGAN et F. RUSCETTI (84) cherchaient alors des subs- tances capables de stimuler la multiplication de cellules sou- ches de sang. Leur démarche expérimentale fut la suivante (124) : On savait que les lymphocytes isolés du sang de donneurs normaux sont au repos et ne se divisent pas. En revan- che, ces lymphocytes se multiplient lorsqu'ils sont mis en culture en présence de substances "stimulantes" comme la phyto- hémagglutinine (PHA).

D. MORGAN et F. RUSCETTI observèrent que les milieux dans lesquels des lymphocytes humains avaient été cultivés et ainsi "stimulés", contenaient un "facteur" sécrété par ces cellules et capable d'induire la multiplication in vitro de lymphocytes T de différentes espèces. Ils baptisèrent ce facteur du nom de T.C.G.F. (pour T. Cell Growth Factor, facteur de croissance des lymphocytes T).

C'est en 1979, lors du deuxième Workshop International sur les lymphokines, qu'une nouvelle nomenclature fut introduite concernant les facteurs solubles produits par et agissant sur les leucocytes. Les deux seuls membres de cette famille qui furent officiellement "brevetés" à cette occasion sont les IL-1 et IL-2.

Ce facteur fut à l'époque reconnu comme un précieux réac-

tif de laboratoire. Il est aujourd'hui le représentant principal d'une nouvelle classe de molécules : les interleukines ou messagers de l'immunité.

2. Structure primaire et tridimensionnelle de l'interleukine-2 :

L'IL-2 est une protéine dont la séquence en acides aminés a été déterminée par Tanigushi et son équipe en 1983, puis confirmée par d'autres équipes (56, 102).

La chaîne polypeptidique comporte 153 acides aminés. Le poids moléculaire calculé est de 17.6 KD (V. figure n°2).

La région N terminale est hydrophobe : elle correspond à un peptide signal qui se trouve clivé lors de la sécrétion de la protéine.

Le clivage pourrait se faire entre les résidus sérine en position 20 et alanine en position 21.

Ainsi l'IL-2 est un polypeptide de 133 acides aminés de poids moléculaire calculé de 15.4 KD.

Le point isoélectrique est proche de la neutralité : le nombre de résidus basiques (arginine + lysine) est voisin de celui des résidus acides (acide aspartique + acide glutamique).

Il existe peu d'homologies avec d'autres lymphokines telles que l'I.F.N.

La structure primaire a été vérifiée par spectrométrie de masse (45), technique simple et efficace qui a permis également de révéler l'existence d'un pont disulfure entre les résidus cystéine en position 58 et 105. Ce pont disulfure est indispensable au maintien de la protéine dans sa conformation biologiquement active. Le résidu cystéine en position 125 est libre (151), (V. figure3).

Ces résultats ont été obtenus en étudiant l'activité des molécules dont, alternativement, une des 3 cystéines avait été remplacée par une sérine (7,60).

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala
 ATCACTCTCTTTAATCACTACTCACAGTAACCTCAACTCCTGCCACA ATG TAC AGG ATG CAA CTC CTG TCT TGC ATT GCA
 10
 Leu Ser Leu Ala Leu Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu
 CTA AGT CTT GCA CTT GTC ACA AAC AGT GCA CCT ACT TCA AGT TCT ACA AAG AAA ACA CAG CTA CAA CTG
 20
 Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
 GAG CAT TTA CTG CTG GAT TTA CAG ATG ATT TTG AAT GGA ATT AAT AAT TAC AAG AAT CCC AAA CTC ACC
 30
 Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 AGG ATG CTC ACA TTT AAG TTT TAC ATG CCC AAG AAG GCC ACA GAA CTG AAA CAT CTT CAG TGT CTA GAA
 40
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
 GAA GAA CTC AAA CCT CTG GAG GAA GTG CTA AAT TTA GCT CAA AGC AAA AAC TTT CAC TTA AGA CCC AGG
 50
 Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu
 GAC TTA ATC AGC AAT ATC AAC GTA ATA GTT CTG GAA CTA AAG GGA TCT GAA ACA ACA TTC ATG TGT GAA
 60
 Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile
 TAT GCT GAT GAG ACA GCA ACC ATT GTA GAA TTT CTG AAC AGA TGG ATT ACC TTT TGT CAA AGC ATC ATC
 70
 Ser Thr Leu Thr
 TCA ACA CTA ACT TGA TAATTAAGTGCTTCCCACTTAAAACATATCAGGCCTTCTATTTATTTAAATATTTAAATTTTATATTTATT
 80
 GTTGAATGTATGGTTTGCTACCTATTGTAACCTATTATTCTTAATCTTAAACTATAAATATGGATCTTTTATGATTCTTTTTGTAAGCCCT
 90
 AGGGGCTCTAAAATGGTTTCACTTATTTATCCCAAATATTTATTATTATGTTGAATGTTAAATATAGTATCTATGTAGATTGGTTAGTAA
 100
 AACTATTT AATAAA TTTGATAAATATAAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAA

D'après TANIGUCHI

FIGURE 2 : INTERLEUKINE II
STRUCTURE PRIMAIRE DE LA PROTEINE ET SEQUENCE
NUCLEOTIDIQUE DE L'ADN COMPLEMENTAIRE

La flèche noire indique le site présumé du clivage.

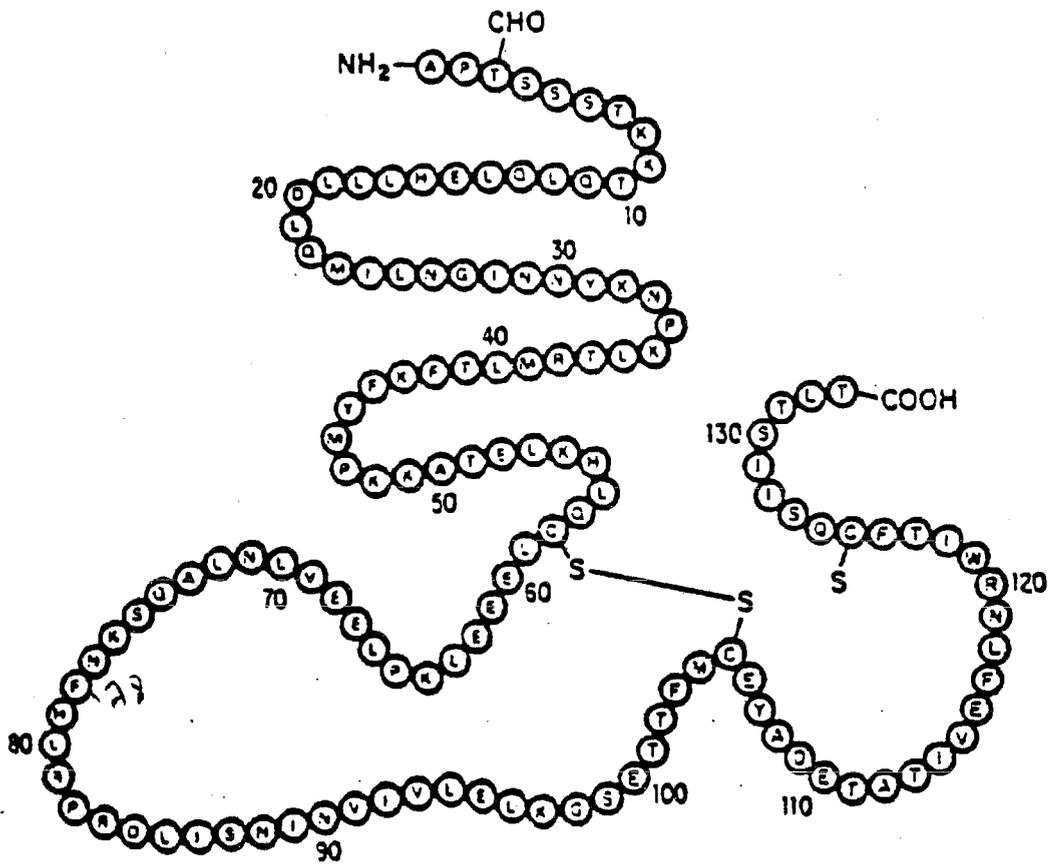


FIGURE 3 : SEQUENCE D'ACIDES AMINES DE L'IL-2 SELON TANIGUCHI ET AL. (1983)

L'IL-2 possède de nombreuses similitudes structurales et fonctionnelles dans les différentes espèces (homme, singe, rat) où elle a été étudiée.

Chez la souris, le poids moléculaire apparemment plus élevé (30-40 KD), est attribué à une association non covalente de deux sous-unités.

Récemment, la chaîne carbonée de l'IL-2 a été vue par cristallographie aux rayons X (13) ; ces études, confirmées plus tard par dichroïsme circulaire au spectroscope, ont indiqué que l'IL-2 a environ 60 % de structure secondaire en α hélice, mais n'a pas de β -strands ni de β -sheets.

La structure tridimensionnelle la plus plausible est un ensemble composé d'une quadruple hélice α droite (V. Figure 4).

Les 4 hélices correspondant aux groupes d'acides aminés 17-31, 64-73, 83-97 et 116-132 sont appelées ABCD.

Une région de résidus hydrophobes située dans la boucle reliant les hélices A et B pourrait être importante pour la liaison de l'IL-2 avec son récepteur(Rc).

Les Ac monoclonaux dirigés contre l'IL-2 se fixent au niveau de boucles. Ceux qui inhibent l'action de la protéine, se fixent sur des sites correspondant à la région des résidus 30-60, c'est-à-dire la boucle entre les hélices A et B (26).

La poursuite des travaux de recherche sur la structure pourrait permettre d'aboutir à la détermination précise d'analogues synthétiques de la cytokine, doués de propriétés agonistes ou antagonistes, et qui éviteraient les effets indésirables et la toxicité de la molécule native ou de l'IL-2 recombinante (rIL-2) (66).

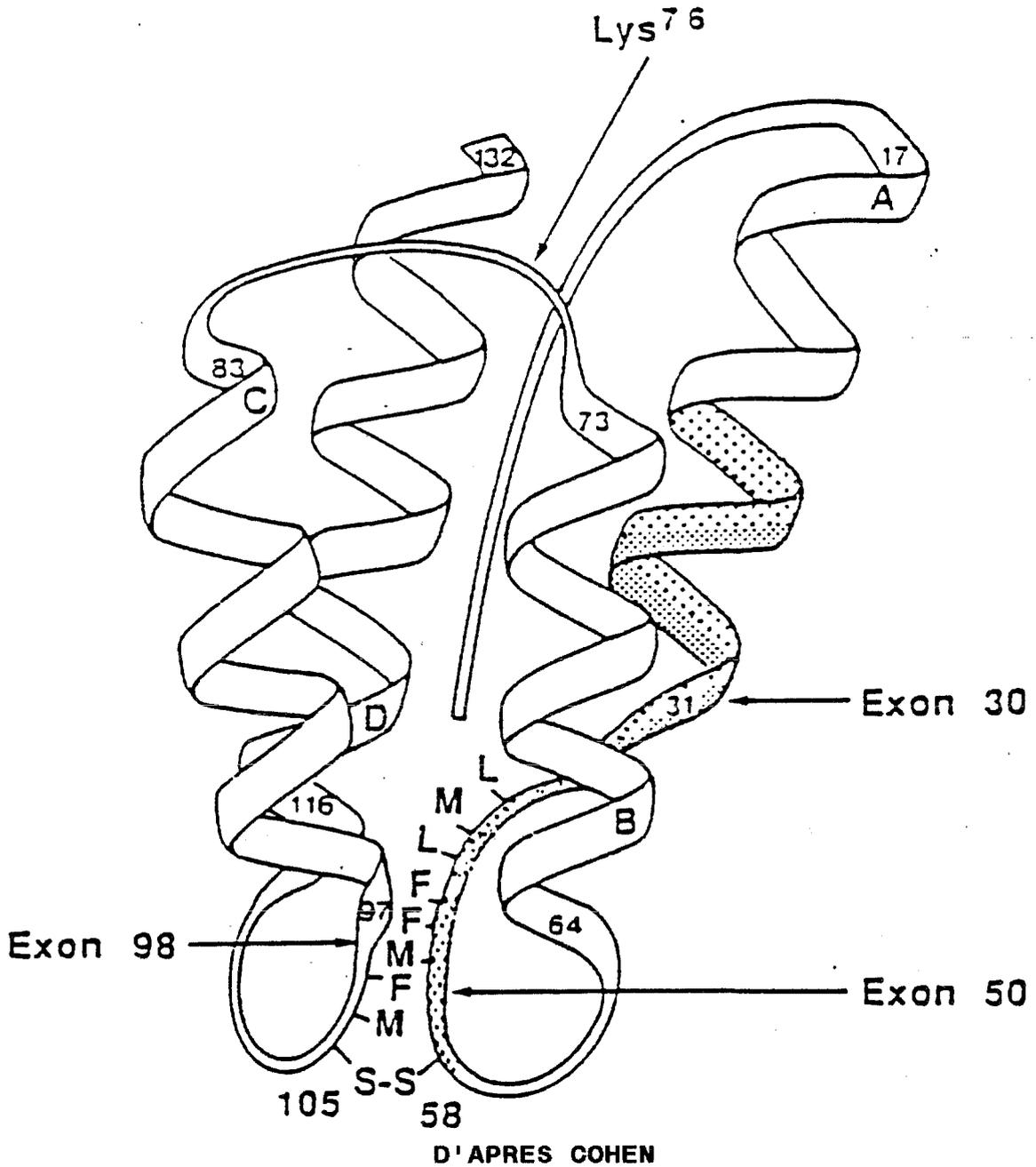


FIGURE 4 : DIAGRAMME REPRESENTANT LA STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE LA PLUS PROBABLE DE LA MOLECULE D'IL-2

3. Biochimie de l'interleukine-2 :

L'IL-2 est une molécule biologiquement très active à des doses infimes : 100 picogrammes d'IL-2 par millilitre de milieu de culture sont suffisants pour faire notablement proliférer des lymphocytes T.

L'IL-2 naturelle produite à partir des lymphocytes périphériques normaux est biochimiquement différente de celle préparée à partir de cellules tumorales. En effet, la première présente une hétérogénéité de charge, montrant 3 pics en isofocalisation. Cette hétérogénéité est due à une glycosylation variable de la séquence peptidique. Cependant l'activité biologique des deux types d'interleukine est apparemment identique, semblant prouver que la présence de glucides sur la molécule n'est pas indispensable à son activité biologique (22).

4. Le gène de l'interleukine-2 :

Le matériel génétique codant pour l'IL-2, utilisé comme sonde moléculaire permet de rechercher le gène de l'IL-2 dans les chromosomes afin de réaliser des études structurales et surtout des études sur la manière dont s'opère la commande de l'expression de ce gène.

Il n'existe qu'un gène chez l'homme, localisé sur le chromosome 4, plus précisément sur le segment q26-28 (120).

Tout le génome de l'IL-2 qui est codé par 4 exons séparés par 3 introns (1 long et 2 courts), est similaire à celui des autres cytokines, comme l'IL-4 et GM-CSF. Donc il apparaît qu'une famille de molécules similaires aurait évolué à partir d'un même gène ancestral commun.

Une telle structure génomique homologue suggère que chaque exon peut coder pour des éléments distincts qui sont communs à une même famille de lymphokines faisant partie de la super famille des immunoglobulines.

Le gène est divisé en 4 exons :

- Le premier correspond à une région 5' non transcrite et aux 49 premiers acides aminés de la protéine dont 20 constituent le peptide signal.

- Les exons 2 et 3, séparés par une longue séquence, codent respectivement pour les 20 et 48 résidus suivants

- Les 36 derniers acides aminés et la région 3' non transcrite sont contenus dans le quatrième exon.

L'organisation du gène est identique dans les lymphocytes normaux périphériques et dans de nombreux types de cellules lymphoïdes malignes (56).

Aucun réarrangement, aucune délétion ou amplification n'a été observé dans les états d'immuno-dépression congénitaux ou acquis, marqués par un défaut de production d'IL-2.

Le gène de l'IL-2 est exprimé de façon transitoire lors de l'activation des cellules T.

5. Le récepteur de l'interleukine-2 :

5.1. Mise en évidence :

La prolifération des lymphocytes en réponse à l'IL-2 est liée à l'expression d'un Rc membranaire à la surface de la cellule cible. En effet, l'IL-2 n'agit que sur les cellules activées, ayant acquis le Rc spécifique, de forte affinité et saturable.

Deux approches ont permis de mettre en évidence et de quantifier le Rc sur différents types cellulaires :

- Le test d'absorption : seules les cellules exprimant le Rc sont susceptibles d'absorber et de consommer l'IL-2. Le dosage de l'activité résiduelle de l'IL-2, incubée en présence de cellules-test est un moyen d'évaluation quantitative du Rc à la surface cellulaire.

- Le test de liaison (binding assay) : L'IL-2 radio-marquée permet la détection de sites membranaires pour ce facteur.

Du fait de ses propriétés de liaison, de l'existence d'un Rc spécifique à haute affinité et de sa capacité d'agir à distance, l'IL-2 peut être assimilée à une hormone (22, 123, 155).

5.2. Caractérisation :

Vers 1982, les immunologistes avaient compris qu'il leur faudrait déterminer la structure de l'IL-2 et de ses Rc pour comprendre les mécanismes moléculaires déclenchant la prolifération des lymphocytes T, et pour synthétiser des agents thérapeutiques bloquant ces Rc ou agissant comme l'hormone. En 1983, une étape déterminante fut franchie : T. TANIGUCHI et ses collaborateurs de l'université de Tokyo isolèrent le gène de l'IL-2.

Peu après, W. LEONARD et ses collaborateurs du laboratoire T. WALDMANN, ainsi que T. NIKAIDO et T. UCHIYAMA, de l'université de Kyoto, ont simultanément isolé un gène qui codait apparemment, le Rc de l'IL-2 : la protéine codée par ce gène réagissait avec un Anticorps monoclonal dirigé contre le Rc de l'IL-2, l'anticorps anti Tac.

Cet anticorps a été rapidement identifié comme un anticorps pouvant être dirigé contre le Rc à l'IL-2. En effet l'antigène appelé Tac contient le site cellulaire interagissant spécifiquement avec l'IL-2. L'anticorps anti Tac supprime la prolifération induite par l'IL-2 des cellules T préalablement activées et bloque l'activation de lymphocytes périphériques par antigène ou lectine. D'autre part, il empêche la fixation d'IL-2 radio-marquée sur des cellules T clonées (116). Il a été utilisé pour purifier et caractériser le Rc de l'IL-2.

Une première molécule fut décrite, elle était de petite taille, ne se liait que faiblement à l'IL-2 et ne semblait être qu'une partie du Rc complet. Puis en 1986, K. TESHIGAWARA, à Dartmouth et M. TSUDO, à Bethesda ont découvert un second Rc de l'IL-2, plus long que le premier.

Il est apparu alors que le Rc de l'IL-2 était constitué de deux chaînes : l'une, de masse moléculaire de 55 KD, qui réagit avec l'anticorps de T. UCHIYAMA, et l'autre, de masse moléculaire égale à 75 KD. Au printemps 1988, M. TSUDO isola d'abord des Ac monoclonaux qui réagissaient avec cette chaîne puis, avec M. MATAKEYAMA, de l'université d'Osaka, il identifia et isola le gène codant la protéine de 75 KD.

Actuellement, trois formes de Rc pour l'IL-2 sont décrits (V. Figure 5) :

- Basse affinité.
- Affinité intermédiaire.
- Haute affinité.

Chaque forme est en corrélation avec l'expression de deux chaînes différentes : La chaîne α correspond au Rc de faible affinité (55 KD), elle est synthétisée lors de l'activation du lymphocyte ; cette molécule, caractéristique des cellules T activées, va s'associer par liaison non covalente à une deuxième chaîne β (75 KD) d'affinité moyenne, déjà exprimée sur le lymphocyte. C'est l'association des deux chaînes qui va constituer le Rc de haute affinité sur lequel l'IL-2 nouvellement secrétée par la cellule va venir se placer (système autocrine). La molécule α (CD25), n'étant synthétisée qu'au moment de l'activation, sert de facteur limitant à la présence du Rc de l'IL-2 de haute affinité (73).

Dernièrement, il a été rapporté une nouvelle sous-unité, nommée γ elle possède une masse moléculaire de 95 à 110 KD. Cette nouvelle sous-unité est exprimée en basse, intermédiaire et haute affinité selon les formes du Rc à l'IL-2 (27).

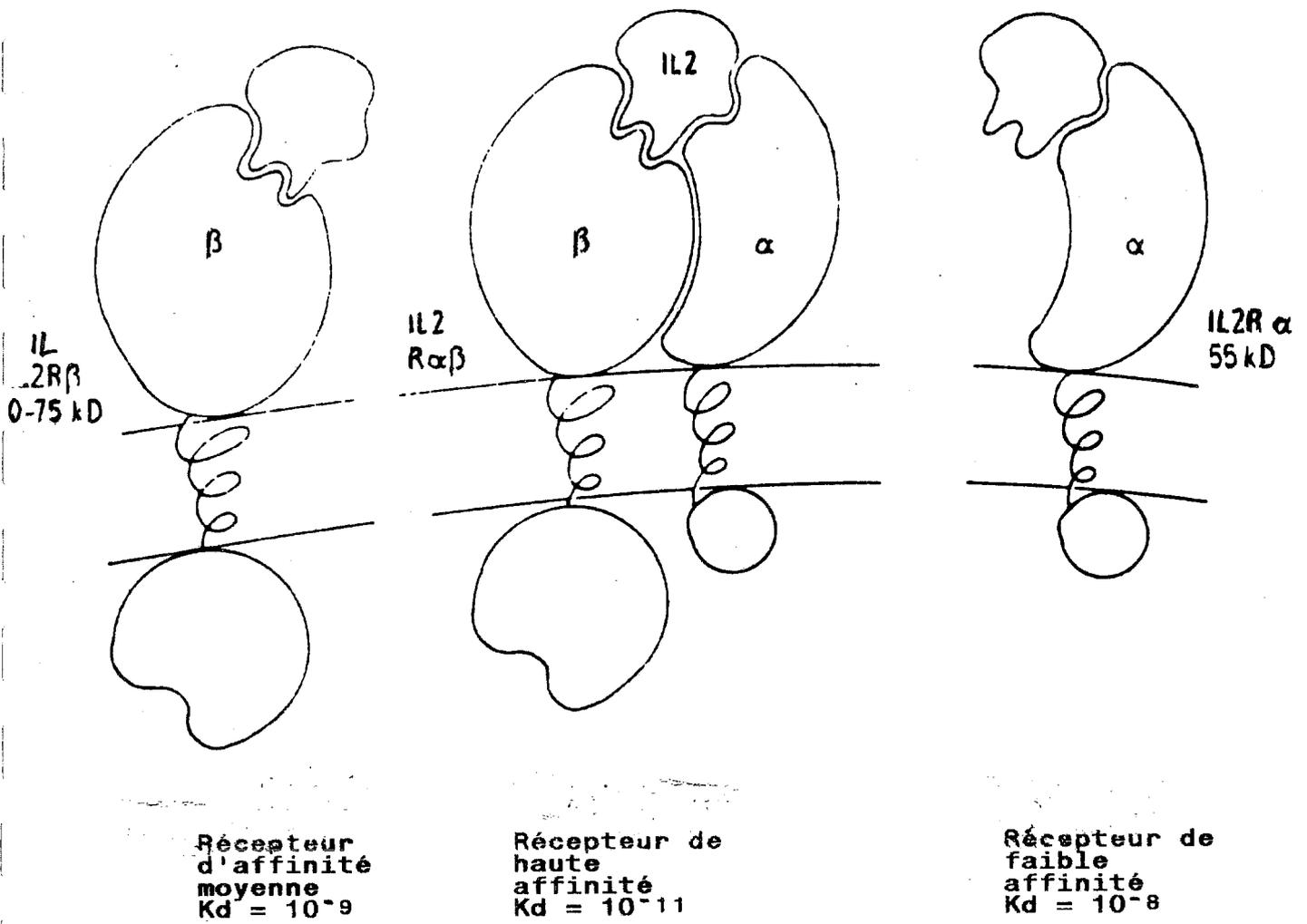


FIGURE 5 : RECEPTEUR DE L'IL-2

5.3. Dualité du récepteur dans son affinité pour l'interleukine-2 :

Il est bien établi que les sous-unités α et β ne sont pas liées par un pont disulfure. En fait, ces deux chaînes interagissent apparemment sans liaison covalente, pour former un Rc hétérodimère à forte affinité pour l'IL-2. Aussi, le site fixateur de la chaîne α est séparé et distinct du site fixateur de la chaîne β . L'évidence de l'interprétation vient des observations ; par exemple, quand il y a expression, les deux chaînes lient l'IL-2 avec des affinités distinctes :

La chaîne α lie l'IL-2 avec un K_d de $10^{-9}M$ et la chaîne β lie l'IL-2 avec un K_d de $10^{-8}M$. En conséquence, seulement quand les deux chaînes sont présentes ensemble et qu'elles s'expriment sur la même cellule, alors que les Rc ont une forte affinité à l'IL-2 détectable ($K_d = 10^{-11}M$).

En fait, la coopération entre les deux sites conduit à l'augmentation de 100 à 1000 fois de l'affinité ligatrice du couple α, β .

Quand elles s'expriment individuellement, chaque chaîne réagit avec l'IL-2 très différemment comme le montre les constantes de liaisons cinétiques et d'équilibre (Cf tableau III). Sur la base de ces résultats, on reconnaît que l'IL-2 s'attache et se dissocie de la chaîne α lentement, alors qu'elle réagit très vite avec la chaîne β .

Encore plus intéressantes sont les données sur les liaisons cinétiques obtenues quand les récepteurs à forte affinité sont analysés. Le pourcentage d'association du couple α, β est dû à la vitesse de réaction de la chaîne β , tandis que le pourcentage de dissociation est dû à la vitesse de réaction lente de la chaîne α .

Cependant, bien que les sites de fixation aient une faible affinité pour l'IL-2, quand les chaînes α et β sont capables de s'exprimer simultanément, les deux chaînes coopèrent, et il en résulte une augmentation de l'affinité ligatrice.

Chain	Kinetic binding constants		Equilibrium dissociation constants (M)		
	dissociation (k') (s^{-1})	association (k) (t) ($M^{-1} s^{-1}$)	kinetic (k'/k)	equilibrium	
75 α	2.5×10^{-4}	(46 min)	3.8×10^5	0.7×10^{-9}	$1.2 (\pm 0.1) \times 10^{-9}$
p55 β	4.0×10^{-1}	(1.7 s)	1.4×10^7	2.9×10^{-8}	$1.4 (\pm 0.1) \times 10^{-8}$
β	2.3×10^{-4}	(50 min)	3.1×10^7	0.7×10^{-11}	$1.3 (\pm 0.1) \times 10^{-11}$

TABLEAU III : CINETIQUE ET CONSTANTES D'EQUILIBRE DE L'IL-2

La formation d'une forte affinité du Rc de la part de deux faibles affinités ligatrices peut seulement résulter d'une coopération dans le mécanisme de liaison avec l'IL-2 et de la combinaison des deux sites : si les sites des deux chaînes se lient dans la même région de l'IL-2, alors ils se complètent.

Ce Rc peut donc être le premier d'une nouvelle famille d'hormones peptidiques qui utilise l'unique site de fixation des deux chaînes distinctes pour créer des Rc capables de fonctionner à de très faibles concentrations d'IL-2.

5.4. Expression du récepteur :

Les Rc de l'IL-2 ne sont pas exprimés sur les cellules T au repos, mais le deviennent rapidement après une activation par un antigène ou un agent mitogène.

Les Rc d'affinité intermédiaire n'interfèrent pas sur l'évolution des cellules T, tandis que les Rc de basse et haute affinité sont exprimés significativement seulement pour la continuation de l'activité des cellules T.

Les Rc de haute affinité traduisent la majorité des signaux d'IL-2 mitogéniques, et sont présumés être la classe la plus importante des trois classes de Rc en influençant la durée et l'importance de la réponse immune des cellules T, faisant suite à l'activation de l'IL-2.

5.5. Types cellulaires exprimant le récepteur à l'interleukine-2 :

Les lymphocytes T activés constituent la classe de cellules la plus concernée par l'expression de sites spécifiques pour l'IL-2. La densité des Rc d'IL-2 est hétérogène (4 000 à 12 000/cellule) ; elle obéit à une distribution log-normale sur des populations de cellules T clonées et synchronisées.

Si les Rc de l'IL-2 ne sont pas présents sur la plupart des lignées de cellules leucémiques, ils sont exprimés en grandes quantités par les cellules T infectées par HTLV1 (Human T Cell Leukemia Virus). Ces cellules néoplasiques n'exigent pas d'activation préalable et produisent spontanément de l'IL-2, des Rc de l'IL-2 et des virions HTLV. Les Rc pourraient être impliqués dans le phénomène de croissance incontrôlée de ces cellules (74).

Des Rc de l'IL-2 ont été identifiés sur des cellules lymphocytaires B de souris, stimulées par le lipopolysaccharide et un Ac anti-immunoglobuline, ainsi que sur des lymphocytes B humains purifiés et cultivés en présence de cellules T irradiées et de monocytes, ou transformés par E.B.V. Des études par immunoprécipitation ont montré que les Rc des cellules T et B sont identiques (149).

L'I.F.N. induit l'expression de Rc à l'IL-2 à la surface de monocytes humains normaux et de monocytes et de promyelo-cytes appartenant aux lignées leucémiques U 937 et HL 60. Ces Rc se sont avérés fonctionnels, capables de lier l'IL-2 et joueraient un rôle dans l'interaction cellules T/monocytes au cours de la réponse immunitaire (54).

Il a été observé que les cellules N.K. sont également stimulées par l'IL-2. Contrairement aux lymphocytes T, les cellules N.K. ne portent pas de Rc pour l'antigène et seraient activées en permanence ; la chaîne β du Rc de l'IL-2 est constamment présente à leur surface.

Les thymocytes matures et immatures, précurseurs des lymphocytes T sont capables de produire de l'IL-2 et d'y répondre. La présence de Rc de l'IL-2 sur les thymocytes immatures suggère pour cette cytokine un rôle dans l'ontogénie des cellules T humaines. Les Rc, dans ce cas, semblent spontanément exprimés, sans stimulation antigénique spécifique.

Il est possible que le micro-environnement thymique produise des stimuli transitoires équivalents aux stimuli antigéniques, capables d'induire l'expression des Rc et la prolifération dépendante d'IL-2 des précurseurs intra-thymiques des cellules T (135).

5.6. Modes d'induction :

Tous les signaux induisant la prolifération des cellules T le font en provoquant à la fois la production d'IL-2 et l'expression de son Rc, l'interaction des deux aboutissant au phénomène de multiplication cellulaire.

Ces signaux sont :

a) Non spécifiques (artificiels) :

- Des lectines : P.H.A.
- Le calcium ionophore.
- Des anticorps mitogéniques anti cellules T (OKT₃ par exemple qui est dirigé contre la molécule de membrane CD₃).

b) Spécifiques (physiologiques) :

- IFN γ , IL-2, la mitomycine C, la phospholipase C, les monocytes ainsi que les hormones thymiques.

5.7. Cinétique d'apparition :

A partir d'études in vitro, on a montré que l'expression du Rc d'IL-2 est éphémère après stimulation des cellules T. Donc les Rc d'IL-2 ne sont pas détectables sur la majorité des cellules T fraîchement isolées.

Après l'activation polyclonale des cellules T, les Rc d'IL-2 apparaissent asynchrones, et trois jours sont nécessaires pour que toutes les cellules de la population expriment leurs Rc d'IL-2.

Plus tard le nombre de Rc d'IL-2 diminue petit à petit, la prolifération peut cesser, et la plupart des cellules arrive

dans la phase de repos du cycle cellulaire (G0 ou début de G1) douze à quatorze jours après le début de la culture. L'addition d'IL-2 durant cette période n'empêche pas ce déclin, alors qu'une nouvelle stimulation antigénique à ce moment provoque très rapidement la réapparition d'un nombre optimal de Rc.

L'observation de cet aspect transitoire de l'expression des Rc peut contribuer à expliquer l'aspect cyclique de la croissance des cellules T in vivo et rendre compte d'un phénomène participant à la régulation de l'action biologique de l'IL-2 (30).

5.8. Phénomènes induits par la fixation de l'interleukine -2 sur son récepteur :

Il a été établi que trois paramètres seulement déterminent la prolifération lymphocytaires après l'activation antigénique:

- la concentration en IL-2,
- le nombre des Rc de l'IL-2 à la surface des lymphocytes,
- la durée de l'interaction de l'IL-2 avec son Rc.

Les Rc de l'IL-2 fonctionnent comme des interrupteurs, étant "on" quand IL-2 est liée ; "off" quand le complexe est intériorisé.

L'IL-2 se fixe rapidement sur son Rc en interagissant avec le site de fixation, sur la chaîne courte α (p 55) puis elle est maintenue en place par une interaction avec l'autre site de fixation, chaîne longue β (p 75). L'accélération caractéristique de l'intégration du Rc permise par le ligand est maintenant connue pour être communiquée par p 75 (Smith 1988). De plus, p 75 est responsable du signal à la réponse de prolifération. Cette interprétation est prouvée par deux expériences différentes :

- Premièrement, la production endogène d'IL-2 par une lignée cellulaire leucémique (MLA-144), entraîne la stimulation d'une croissance continue de type autocrine (Smith, 1982). Cette

découverte est significative car les cellules MLA-144 expriment seulement le Rc p 75 à l'IL-2 (TSUDO, 1986).

- Deuxièmement, les cellules T normales sont toujours capables de répondre à l'IL-2 en présence d'Ac monoclonaux réagissant avec p 55, ce qui rompt la coopération cinétique dans la formation de Rc à l'IL-2 à haute affinité. (WANG, 1987).

Comme le $t_{1/2}$ de "l'internalisation" des Rc à l'IL-2 occupés est seulement de 15 minutes, et que le $t_{1/2}$ de dissociation de l'IL-2 est de 45 minutes, une fois qu'un Rc est occupé il est internalisé puis dégradé avant que l'IL-2 puisse se dissocier de ses sites de liaison. Ainsi au sujet de la production d'un signal d'activation, l'hypothèse de la durée d'occupation est plus adéquate que celle du taux d'occupation et le Rc à l'IL-2 travaille donc comme un interrupteur "on-off" : Tant que le Rc est occupé par l'IL-2, les signaux sont générés. Un nombre déterminé d'interactions IL-2/Rc qui s'accumulent durant au moins cinq heures est requis pour stimuler la progression irréversible de la phase G1 à la phase S (CANTRELL, 1984).

Comme l'occupation du Rc détermine la production du signal, le taux d'apparition de nouveaux Rc à la surface de la cellule détermine finalement la durée de la phase G1 du cycle cellulaire, étant donné le nombre limite ou inadéquat de Rc avant l'exposition à l'IL-2.

Les événements intracellulaires qui découlent de l'activation du Rc sont aujourd'hui relativement bien connus, ils sont analogues aux effets de l'interaction des facteurs de croissance avec leurs Rc. La liaison de l'hormone avec son Rc déclenche, sur la face interne de la membrane cellulaire une cascade d'évènements et, en particulier, active une enzyme appelée protéine kinase. Cet enchaînement de réactions enzymatiques induit la prolifération cellulaire.

Ces mécanismes seront expliqués dans le chapitre traitant des effets biologiques de l'IL-2 avec la prolifération et la différenciation des lymphocytes T.

Pour terminer, il est à noter que la demi-vie intracellulaire de l'IL-2 a été estimée entre 60 et 80 minutes. Elle pourrait subir une dégradation lysosomiale.

B - DEVELOPPEMENT DE L'INTERLEUKINE-2

1. Production (Voir figure n° 6) :

Dans les premiers temps, l'IL-2 humaine était produite en très petites quantités par culture de lymphocytes du sang périphérique en présence de P.H.A.

L'utilisation de la lignée cellulaire Jurkat (lignée dérivée d'un lymphome T humain) stimulée par des agents mitogènes, a permis la production de quantités plus importantes d'IL-2, mais le produit final n'était pas parfaitement pur. L'application fructueuse de génie génétique à la production d'IL-2 recombinante a permis la production de quantités suffisantes, tant pour la recherche fondamentale que pour les études cliniques.

Le gène de l'IL-2 a été cloné à partir d'ARN messager isolé de cellules de Jurkat, retranscrit en ADN à l'aide de la transcriptase-reverse. Le gène a été inséré dans le vecteur plasmidique p BR 322 avec une séquence activatrice permettant l'expression du gène par E. COLI. Le plasmide a ensuite été incorporé dans la cellule bactérienne. Comme le plasmide contient aussi les gènes de la résistance aux tétracyclines et aux ampicillines, ces antibiotiques ont été utilisés pour sélectionner les bactéries ayant incorporé le plasmide.

Les souches d'E. COLI transformées sont mises en culture dans des fermentateurs de 1000 litres. Une fois la fermentation terminée, les cellules bactériennes sont lysées et l'IL-2 recombinante est purifiée jusqu'à ce qu'elle soit homogène.

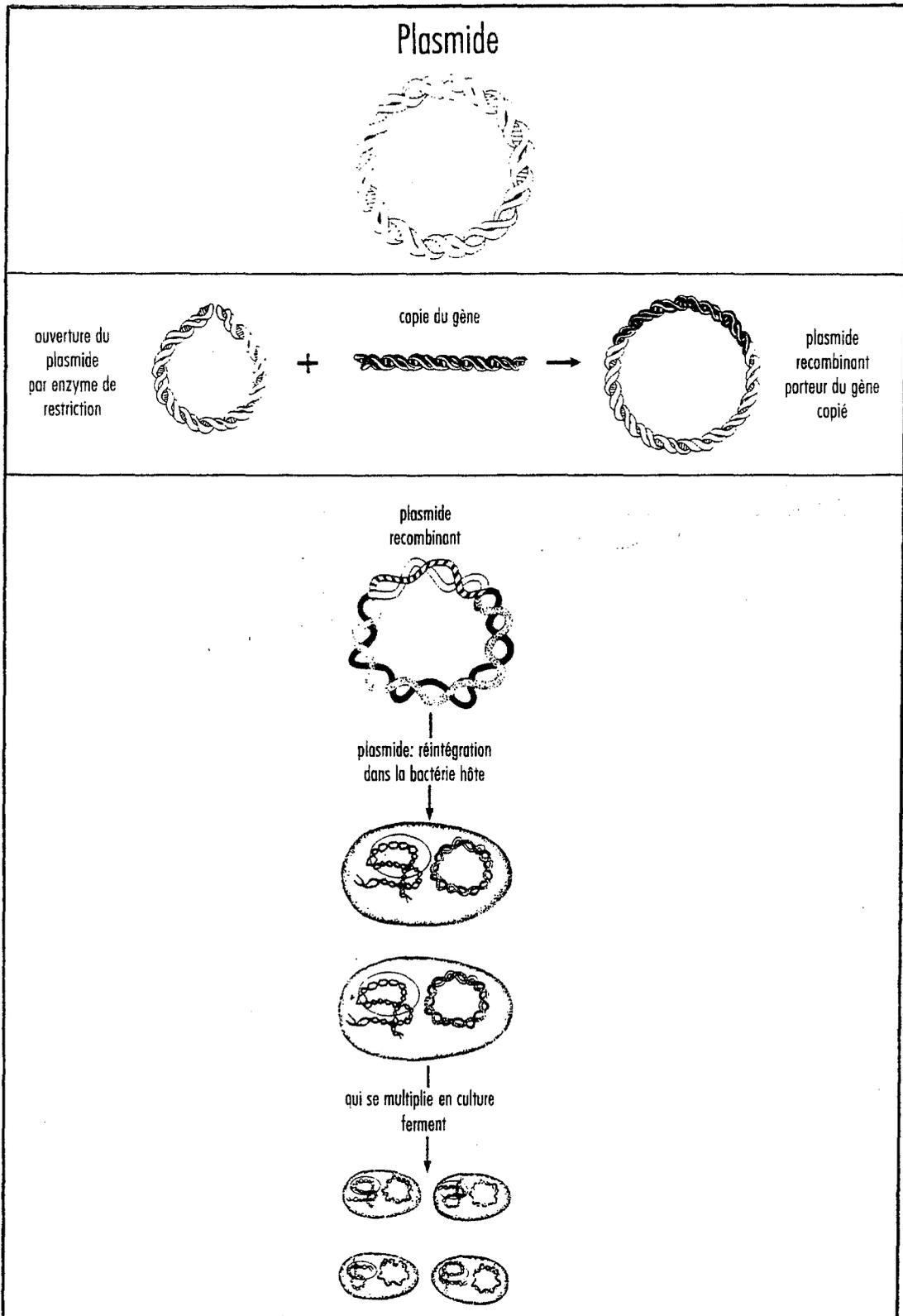


FIGURE 6 : PRODUCTION DE L'IL-2

Ce produit est la des-alanyl-1, sérine 125 IL-2 humaine. Elle diffère de l'IL-2 native par l'absence de l'alanine N terminale, par la substitution de la cystéine en position 125 par la sérine et par l'absence de glycosylation. Cependant, aucune de ces différences n'a d'effet sur l'efficacité et l'activité biologiques de l'IL-2 recombinante qui sont identiques à celles de l'IL-2 naturelle. Le produit fini est une molécule plus homogène que l'IL-2 native.

2. Purification :

Plusieurs procédés biochimiques de purification sont utilisés (GEARINE et al, 1985) :

- Filtration sur gel.
- Chromatographie d'affinité.
- Chromatographie liquide haute performance.

Ils permettent d'éliminer les contaminants résiduels. La chromatographie utilisant les Ac monoclonaux couplés à des billes de sépharose constitue une méthode de purification particulièrement efficace (SMITH et al, 1983).

La purification de l'IL-2 permet de mieux caractériser cette lymphokine et montre son hétérogénéité en fonction des différentes sources.

C/ EXPLORATION DE L'INTERLEUKINE-2 EN BIOLOGIE CLINIQUE :

1. Indications :

Dans le cadre de l'immunothérapie par l'IL-2, les dosages plasmatiques de l'IL-2 injectée sont nécessaires au cours des études préliminaires pour établir la pharmacocinétique en fonction des doses et de la périodicité des injections.

Il est également essentiel de pouvoir déterminer les concentrations de cytokines endogènes induites par le traitement (ex : IFN γ et TNF α), dans le cadre de l'étude physiopathologique de l'activité et des effets secondaires (recherche d'une relation dose-effet par rapport aux doses administrées ou aux taux sériques de cytokines endogènes induites).

Certains sujets dans la population normale ont des anticorps "naturels" dirigés contre des déterminants portés par des cytokines. Ils peuvent modifier la pharmacocinétique de la cytokine voire diminuer ou neutraliser son activité. Il est donc important de les titrer et d'établir éventuellement leur spécificité par rapport au site de liaison de l'IL-2 à son R_c. La méthodologie mise en oeuvre doit pouvoir tenir compte de la présence de complexes IL-2/Ac ou IL-2/protéines de transport (ou inhibiteurs) dans l'échantillon étudié.

2. Echantillons à étudier :

Les dosages de l'IL-2 peuvent se faire sur des liquides biologiques : Plasma, sérum, liquide synovial, liquide céphalo-rachidien et lavage broncho-alvéolaire. A la différence des hormones, il n'y a pas pour l'IL-2 de taux basal de sécrétion.

La plupart des explorations biologiques sont pratiquées in vitro sur des cellules mononuclées du sang, du lavage broncho-alvéolaire ou bien obtenues par biopsie, cyto-aspiration ou ponction. On peut étudier le niveau de production spontanée, indiquant une activation cellulaire in-vivo et le taux de réponse à un inducteur.

On peut enfin, dans les mêmes systèmes, étudier l'expression des R_c de l'IL-2 sur les membranes cellulaires, à l'aide d'anticorps monoclonaux en cytométrie de flux.

3. Dosage de l'interleukine-2 et titration des activités :

L'activité de l'IL-2 est couramment mesurée par la prolifération de la lignée T murine CTLL-2 dont la prolifération est strictement dépendante de la concentration d'IL-2 dans le milieu. La prolifération est appréciée par la mesure de l'incorporation de thymidine tritiée dans les cellules en phase S/G2 pendant la période d'exposition au traceur (comptage de radioactivité) ou de bromodeoxyuridine (avec mesure en ELISA de la quantité d'anticorps anti-bromodeoxyuridine fixés sur les cellules). On peut aussi beaucoup plus simplement procéder à une mesure colorimétrique de l'activité de l'hydrogénase mitochondriale par le clivage d'un sel de tetrazolium en Formazan.

Les résultats sont exprimés en unités, par référence à une courbe d'étalonnage obtenue à l'aide de l'IL-2.

Les dosages immunochimiques de l'IL-2 sont réalisés dans les liquides biologiques et les surnageants de cultures cellulaires par techniques radio-immunologiques ou ELISA à l'aide de deux anticorps monoclonaux reconnaissant des épitopes différents de la molécule (technique en "sandwich"). L'anticorps monoclonal en phase solide peut-être remplacé par des anticorps polyclonaux.

La spécificité de ces tests est dans l'ensemble satisfaisante mais il convient de noter qu'il n'y a pas de corrélation entre la concentration d'une molécule d'IL-2 et son activité biologique du fait de la présence possible de protéines de liaison, d'inhibiteurs ou d'autres cytokines d'activité antagoniste (IL-4, antagoniste de l'activité de l'IL-2).

Sur le même principe l'estimation quantitative du R_c à l'IL-2 a été mis au point, par le dosage de sa chaîne α dont le taux sérique augmente lors de l'activation in vivo des cellules T et dans le déficit immunitaire de l'insuffisance rénale chronique.

4. Etude des cellules productrices d'interleukine-2 :

L'expression de l'ARN messenger de l'IL-2 peut-être étudiée en autoradiographie au sein d'une population hétérogène par hybridation in situ à l'aide de sondes nucléotidiques spécifiques marquées au ³²P. Un dosage de l'ARN messenger peut-être réalisé par dot blot ou par réaction en chaîne de la polymérase (PCR). Un contrôle de la taille des ARN messenger est possible par Northern Blot.

Ces techniques apportent des informations complémentaires pour mettre en évidence une activation cellulaire in vivo, par exemple sur cellules du sang, de lavage bronchoalvéolaire, ou de liquide synovial. On doit constater cependant, que la trop grande sensibilité de ces techniques conduit souvent à détecter un grand nombre de cellules exprimant le message du gène de l'IL-2 alors que le taux de production par cellule, seul paramètre important pour l'interprétation de la mesure, demeure très faible ou nul. Ces techniques ont donc actuellement peu d'applications en investigation clinique courante.

La mesure des cellules qui sécrètent l'IL-2 peut-être réalisée par la technique de l'ELISPOT imaginée par C. CZERKINSKY pour les immunoglobulines et appliquée avec succès aux cytokines. Cette méthode nécessite des anticorps très spécifiques de très haute affinité.

Elle permet de déterminer le nombre de cellules productrices d'IL-2 spontanément après activation in vitro, et d'estimer le taux de production par le diamètre du "spot".

Le nombre de cellules contenant de l'IL-2 dans leur cytoplasme peut-être mesurée par cytofluorométrie à l'aide des mêmes anticorps spécifiques de haute affinité, après fixation et perméabilisation de leur membrane cytoplasmique.

5. Conclusion :

La complexité des actions en cascade des cytokines, l'existence d'inhibiteurs, d'anticorps ou de protéines de liaisons impliquent pour leur exploration un niveau d'expérience limité à des laboratoires très spécialisés ayant une solide expérience de la recherche fondamentale dans ce domaine.

D - REGULATION DE LA PRODUCTION DE L'INTERLEUKINE-2 :

La production de l'IL-2 est contrôlée par des mécanismes régulateurs complexes que l'on peut schématiser de la façon suivante :

- le circuit amplificateur fait appel principalement à l'IL-1 qui conjointement à l'antigène ou au mitogène, stimule par l'intermédiaire d'un lymphocyte T auxiliaire amplificateur, une cellule T précurseur qui devient productrice d'IL-2.

- un circuit supprimeur fait intervenir la production de prostaglandines E2 par les monocytes et les macrophages. La PGE2 active des lymphocytes T supprimeurs qui libèrent un facteur bloquant l'activation des cellules T précurseurs, en producteurs d'IL-2.

1. Le circuit amplificateur :

Les différentes étapes aboutissant à la production d'IL-2 ont été décrites dans le chapitre I paragraphe (3) : "les interleukines dans la réponse immunitaire".

2. Le circuit supprimeur :

Plusieurs phénomènes interviennent pour stopper la prolifération cellulaire induite par le contact antigénique.

Lorsque l'antigène n'est plus présent dans le milieu, le nombre de Rc de l'IL-2 diminue spontanément. Parallèlement, on observe une diminution de la quantité d'IL-2.

Cette diminution a été expliquée à la fois par une consommation de la lymphokine par les cellules T se multipliant et par un mécanisme inhibiteur faisant appel à des cellules suppressives (155).

Ce mécanisme inhibiteur fait intervenir comme acteurs principaux :

- Les monocytes et macrophages.
- Les lymphocytes T suppresseurs et une prostaglandine : La PGE2.

L'hypothèse de l'intervention de la prostaglandine E dans le phénomène de contrôle négatif de la synthèse d'IL-2 repose sur une propriété du muramyl dipeptide.

* Le muramyl dipeptide ou N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine est une copie synthétique d'un composant présent dans les peptidoglycannes de la paroi cellulaire de nombreuses bactéries. Il possède la capacité de stimuler la production de prostaglandines E par les macrophages et d'inhiber la production d'IL-2. Cette inhibition est levée par l'indométacine.

La prostaglandine E2 n'agit pas directement, mais est capable d'activer les cellules T radiosensibles qui vont inhiber les cellules produisant l'IL-2 (142).

Ces cellules T appartiennent à la sous population des lymphocytes CD8+.

* L'IL-2 elle-même interviendrait dans un rétro-contrôle négatif (feed-back), en induisant, lorsqu'elle a atteint des taux élevés, la différenciation des précurseurs en cellules T suppressives (142). Ce mécanisme ne pourrait se déclencher qu'après la disparition de l'antigène dans le milieu. En effet,

la stimulation du complexe antigène TCR-CD3 porté par les cellules CD8+ les rend hyposensibles à l'IL-2. Cet état réfractaire est transitoire mais faciliterait l'activation et la prolifération des cellules T auxiliaires qui suit la perturbation antigénique initiale.

La disparition de l'antigène autoriserait la restauration de la sensibilité des cellules suppressives à l'IL-2 et donc leur possibilité de prolifération.

* L'action des lymphocytes T suppresseurs sur les cellules productrices d'IL-2 utiliserait un facteur suppresseur. Cet intermédiaire soluble appelé P.I.T.S. pour Prostaglandin induced T Cells Derived Suppressor, existerait soit à l'état "préformé" dans les cellules productrices, la prostaglandine E intervenant pour produire son relargage, soit sous forme de précurseurs à partir duquel la prostaglandine E déclencherait du P.I.T.S. actif (V. Figure n° 7).

E - DROGUES INTERFERENTES AVEC LA PRODUCTION DE L'IL-2 :

Elles sont utilisées en thérapeutique à des fins immunosuppressives.

1. Corticostéroïdes :

Les glucocorticoïdes, comme la dexaméthasone, suppriment la production d'IL-2. Ils agissent en bloquant la synthèse de leucotriène B₄ qui constitue une étape nécessaire à la production de la lymphokine. Les corticoïdes diminuent l'expression des Rc de l'IL-2. Ils aboliraient la composante IL-2 dépendante du mécanisme d'expression du récepteur (98).

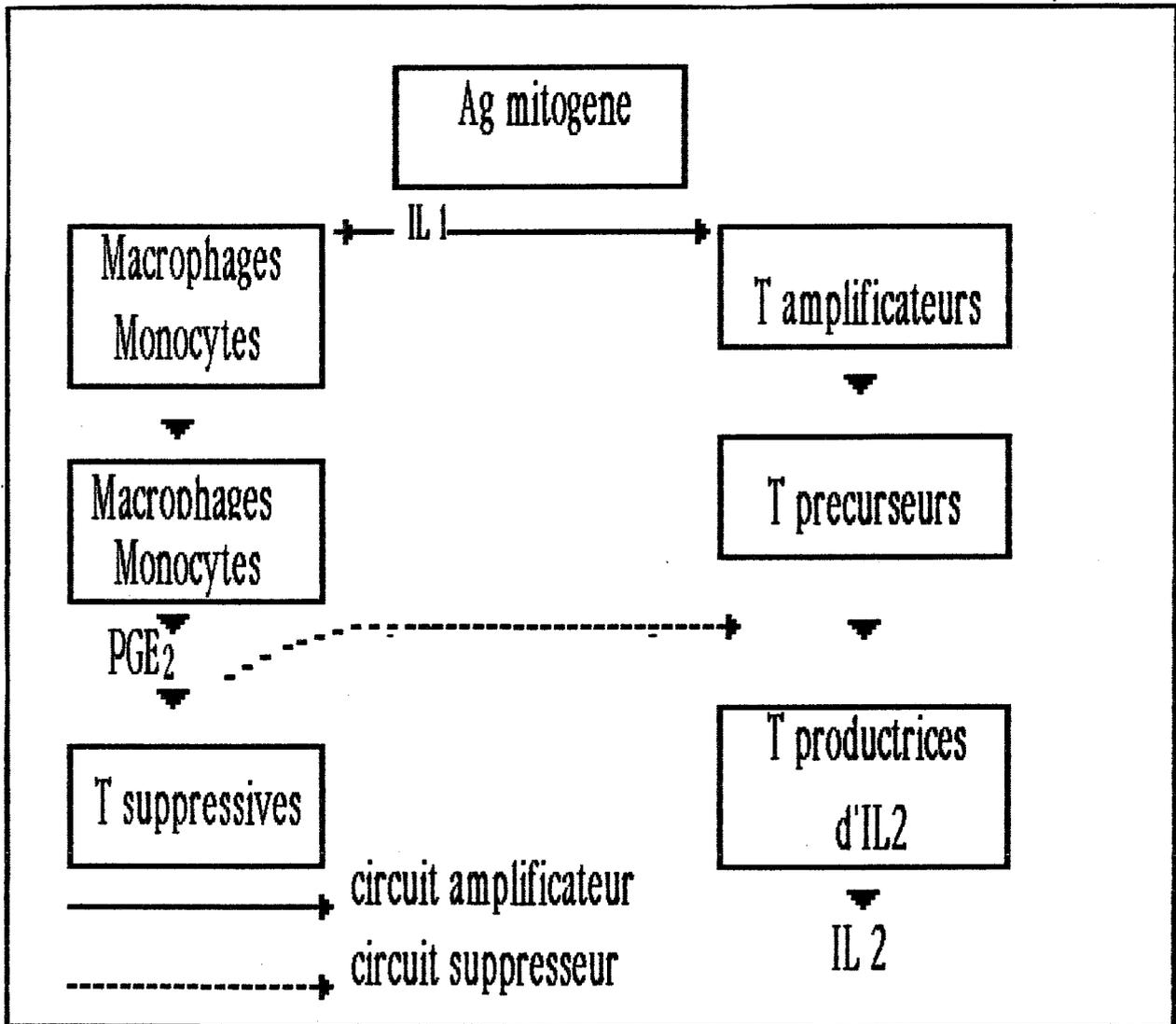


FIGURE 7 : MECANISME DE PRODUCTION DE L'IL-2

2. La ciclosporine A :

Ce métabolite fongique est un peptide cyclique doué d'un puissant pouvoir immunosuppresseur. Il a pour cible principale les lymphocytes T auxiliaires dont il inhibe la fonction de façon sélective et réversible, en interagissant avec l'ADN, freinant la transcription des lymphokines notamment de l'IL-2 (7). L'addition de l'IL-2 exogène permet, après soustraction de la ciclosporine de restaurer la prolifération des lymphocytes. Une action sur l'expression des récepteurs de l'IL-2 a également été décrite mais elle est plus modeste (7). Cet effet immunosuppresseur est utilisé dans le traitement de prévention du rejet des greffes d'organes.

Lors d'une transplantation d'organe, les lymphocytes s'activent après avoir reconnu des allo-antigènes étrangers sur le greffon. Ils sécrètent des lymphokines qui aideront à la différenciation des lymphocytes T cytotoxiques et des lymphocytes B producteurs d'anticorps dirigés contre le greffon.

La ciclosporine inhibe de façon sélective le développement de la réponse immunitaire contre les antigènes de l'organe greffé et améliore considérablement le pronostic des greffes.

Dans le même ordre d'idée cet effet inhibiteur de la production de l'IL-2 est utilisé également dans le traitement des maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux disséminé et la polyarthrite rhumatoïde (68).

Récemment ont été décrits des essais d'immunosuppression utilisant des injections d'anticorps monoclonaux anti-récepteur de l'IL-2 (anti CD25) (131).

F - EFFETS BIOLOGIQUES INDUITS PAR L'ADMINISTRATION DE L'IL-2 :

1. Prolifération et différenciation des lymphocytes T :

Permettre la croissance des cellules T constitue l'action essentielle de l'IL-2 à laquelle elle doit sa première appellation : TCGF.

Son action est directe. L'IL-2 provoque la prolifération des lymphocytes T helpers et cytotoxiques.

Deux conditions sont essentielles :

- les lymphocytes cibles doivent exprimer un Rc pour l'IL-2,
- les lymphocytes cibles doivent préalablement avoir été stimulés par un antigène ou par un mitogène.

Lorsque l'antigène est présenté par des cellules spécialisées (comme les macrophages) aux lymphocytes portant le Rc de cet antigène. Plusieurs protéines CD3, associées au Rc de l'antigène, provoquent alors la dissociation d'un phospholipide des membranes cellulaires, le phosphatidylinositol, en inositol triphosphate (IP₃) et diacylglycérol (DG). L'IP₃ entraîne la mobilisation dans le cytoplasme d'ions calcium stockés par la cellule. L'action conjointe du DG et des ions calcium active une protéine kinase qui, à son tour, active le Rc de l'IL-2 en le phosphorylant. Des pompes ioniques, couplées, situées dans la membrane, assurent le rééquilibrage des concentrations en ions calcium de part et d'autre de la membrane.

L'activation du Rc de l'IL-2 permet la fixation de l'interleukine. Cette fixation a deux effets sur le noyau des lymphocytes :

- d'une part, elle provoque la synthèse de nouvelles molécules,
- d'autre part, elle déclenche la division cellulaire.

L'expression du Rc et le déclenchement de la production de l'IL-2 ne sont possibles qu'en présence de l'IL-2 produit par les macrophages activés.

La conséquence principale de l'amplification de la réponse cellulaire par l'IL-2 est l'augmentation de la réponse cytotoxique des lymphocytes T.

Les lymphocytes T cytotoxiques (CTL) sont une sous-population de lymphocytes impliqués dans la lyse de cellules infectées par des virus, de cellules tumorales et de cellules de greffes allogéniques ou xénogéniques. La majorité des CTL appartient à une sous-population de cellules T, CD8+ (exprime une glycoprotéine CD8 de 76 Kd) chez l'homme, qui reconnaît les antigènes en association avec les molécules de classe I du CMH. Cependant, une minorité (sans doute moins de 10 %) des CTL est CD4+ (exprime une glycoprotéine CD4 de 62 Kd) et reconnaît l'antigène en association avec les molécules de classe II du CMH. Les deux types de CTL proviennent de cellules précurseurs non lytiques qui sont extrêmement radio-sensibles.

L'action cytolytique des CTL est autonome : elle ne nécessite l'appoint d'aucune autre cellule, ni d'aucun facteur humoral. Le contact direct entre les CTL et sa cible est nécessaire : aucune cytotoxicité est observée si la CTL et la cible sont séparées par une membrane semi-perméable. L'utilisation d'inhibiteurs a permis de décomposer l'action lytique des CTL et de distinguer trois étapes : la liaison de la CTL à la cible (formation du conjugué), la lésion létale (préparation à la lyse) et la cytolyse à proprement parler (7).

* L'établissement du contact :

La présence de certains cations est nécessaire au contact, en particulier le Mg^{2+} et le Ca^{2+} mais la lyse elle-même est indépendante des cations. A l'inverse des CTL, la cellule cible ne doit pas être métaboliquement active. Elle intervient passivement.

* La lésion létale :

Il a été mis en évidence dans les CTL des granules azurophiles, ils sont retrouvés en microscopie électronique, concentrés au contact de la cible lorsque le conjugué CTL/cellule cible est formé. Ces granules contiennent des enzymes cytolytiques (comme la perforine), des substances cytolytiques, telles que la lymphotoxine.

* La cytololyse :

Elle aboutit à une entrée massive d'eau dans la cellule cible et donc sa destruction.

Des expériences réalisées par micromanipulation de cellules individuelles ont montré qu'une CTL peut tuer plusieurs cellules cibles successivement, ce qui implique que la CTL est résistante aux effets de ses propres médiateurs cytotoxiques.

2. Prolifération des cellules naturels killers :

Les lymphocytes T ne sont pas les seules cellules stimulées par l'IL-2 : dès 1981, Christopher Henney et ses collègues de l'université de Washington ont observé que des cellules tueuses naturelles ou NK étaient également activées.

Les cellules N.K. ont l'aspect morphologique de grands lymphocytes granuleux (large granular lymphocytes LGL). Elles sont présentes dans le sang et dans différents organes lymphoïdes, dont la rate. In vitro, elles sont capables de détruire une grande variété de cellules tumorales, surtout les cellules établies en culture. Cette activité tumoricide est spontanée, c'est-à-dire qu'elle ne requiert pas d'activation préalable. Elle peut cependant être franchement augmentée par l'activation préalable de la cellule N.K., en particulier sous l'effet de l'IL-2 et de l'IFN γ . A l'inverse, les macrophages sont capables de supprimer l'activité des cellules N.K.

In vivo le rôle des cellules N.K. dans le contrôle des tumeurs est suggéré, dans certains systèmes expérimentaux, par l'augmentation de la croissance des tumeurs ou de leurs métastases lorsque l'activité des cellules N.K. est inhibée.

Contrairement aux lymphocytes T, les cellules N.K. ne portent pas de Rc pour l'antigène et seraient activées en permanence ; la chaîne β du Rc de l'IL-2 est constamment présente à leur surface.

Comme nous l'avons vu pour les lymphocytes T cytotoxiques, la cytolysse nécessite la présence de Ca^{2+} et de Mg^{2+} . De façon générale, les mécanismes de la cytolysse semblent assez proches de ceux décrits pour les CTL. Des données récentes suggèrent que les granules présents dans le cytoplasme des grands lymphocytes granuleux pourraient être les médiateurs de la cytotoxicité (7).

Plusieurs observations indiquent que les cellules N.K. pourraient jouer un rôle important dans la prévention de la croissance de certains tumeurs in vivo. Les souris nues qui, en dépit de l'absence de cellules T, ne sont pas plus sensibles à la carcinogénèse expérimentale ou spontanée que des souris normales, deviennent sensibles au développement de carcinomes métastatiques primaires après traitement par des sérums anti-interféron, que l'on sait inhiber l'activité N.K. Une corrélation a été observée entre le niveau de l'activité N.K. spontanée ou modifiée par des immunomodulateurs et la rapidité d'élimination des cellules tumorales ou la fréquence des tumeurs spontanées.

3. Obtention des L.A.K.

Il s'agit de cellules définies par leur propriété cytotoxique induite après culture en présence d'IL-2.

Le terme "activité des cellules LAK" décrit la lyse in vitro de cellules autologues et de cellules tumorales fraîches

"allogéniques", de même que des lignées de cellules tumorales y compris celles résistantes à la lyse des cellules N.K. La population des cellules LAK est une population lytique hétérogène, distincte des cellules N.K. et des CTL. Leurs marqueurs de surface phénotypiques sont caractéristiques des cellules killers non C.M.H. restreintes.

Rosenberg et coll. ont été les premiers à décrire une technique pour générer ces cellules. L'incubation de splénocytes murins ou de lymphocytes du sang périphérique humain avec l'IL-2 produit après 3 ou 4 jours des cellules LAK (104).

Leur obtention, à des fins thérapeutiques, nécessite leucaphérèse et cultures cellulaires. Des leucaphérèses traitant 10 à 24 litres de sang total en quatre heures permettant de collecter $5 \cdot 10^3$ à $10 \cdot 10^{10}$ cellules mononuclées. La séparation sur gradient Ficoll-Hypaque recueille les lymphocytes. Leur mise en culture en présence d'IL-2 permet d'obtenir une multiplication in vitro des cellules LAK prêtes à être réinjectées au malade (15, 118).

Des études comparatives portant sur des produits de leucaphérèse obtenues de patients soumis à un protocole IL-2/LAK ont permis de définir différents paramètres qui pourraient simplifier la procédure de production des cellules LAK et améliorer le rendement (36).

* Il a été d'abord démontré que la purification des cellules mononucléaires issues de leucaphérèses avant leur culture n'est pas obligatoire.

* Un excès d'hématies et de granulocytes (jusqu'à 50 %) dans les échantillons non purifiés améliore, dans une culture à court terme (4 jours), l'activation des cellules mononucléaires et quand la concentration des polynucléaires n'excède pas $3 \cdot 10^8$ /ml. Différents facteurs peuvent contribuer à cet effet positif : La présence d'hématies, la libération de cytokines par les granulocytes.

* L'ajout d'un milieu avec 2 % de plasma autologue inactivé avant chaque traitement au lieu de 2 % d'un pool de sérum AB humain ne modifie pas le rétablissement des cellules mononucléaires dans une culture de 4 jours mais augmente l'activité des cellules LAK. Certaines équipes utilisent également du milieu sans sérum.

* L'utilisation de plasma autologue en essais cliniques réduit le prix de la culture de 25 % et supprime le risque de contamination virale.

* L'addition d'indométacine dans le milieu pour limiter les effets toxiques chez les patients avec l'IL-2, n'a pas d'effet sur la prolifération cellulaire ou l'activation.

L'IL-2 est un facteur essentiel pour l'induction et la croissance des cellules LAK ce qui lui confère un intérêt important et croissant dans l'établissement de l'immunothérapie adoptive de certains cancers.

4. Obtention des T.I.L.

De nouvelles approches immunothérapeutiques ont conduit les chercheurs à étudier des protocoles plus efficaces et moins toxiques, employant des cellules lymphoïdes différentes.

Des modèles expérimentaux sur la souris ont permis d'identifier des cellules TiL (lymphocytes infiltrant les tumeurs) qui présentent une forte activité antinéoplasique, à la fois in vivo et in vitro (101).

Ces cellules isolées à partir d'un fragment tumoral se multiplient in vitro en présence d'IL-2. Elles sont à 60 à 100 fois plus puissantes que les cellules LAK (100). Elles diffèrent des cellules LAK pour les raisons suivantes (129) :

* De fortes doses de cellules Til peuvent exercer des

effets antinéoplasiques indépendamment de l'administration d'IL-2, bien que l'efficacité soit augmentée d'au moins 5 fois par association avec l'IL-2.

* Dans 95 % des cas les cellules TIL cultivées en présence d'IL-2 sont des CTL.

* Elles ont un meilleur effet lytique contre les cellules tumorales autologues fraîches et montrent une spécificité lytique vis à vis de la cible autologue.

* Un pré-traitement avec une simple dose de cyclophosphamide améliore considérablement l'efficacité des cellules TIL transférées. Elles peuvent être extraites de diverses tumeurs par stimulation avec des mitogènes ou des lymphokines (11).

Ces TIL présentent un tropisme particulier pour leur tumeur d'origine : Après réinjection, ils migrent préférentiellement sur les sites tumoraux. A côté de cet avantage déterminant, les TIL ont l'inconvénient d'être difficiles d'accès (ils nécessitent une intervention chirurgicale pour prélever une métastase tumorale), de culture longue (au moins un mois) et de coût élevé.

5. Activité sur les lymphocytes B :

Les lymphocytes B, comme les lymphocytes T, restent inactifs jusqu'à ce qu'ils entrent en contact avec leur antigène ; puis ils prolifèrent et se différencient en plasmocytes, libérant de grandes quantités d'anticorps.

On ne connaît pas le rôle précis de l'IL-2 dans ces modifications cellulaires, mais la plupart des immunologistes pensent que l'hormone provoque le développement de clones de lymphocytes B activés par un antigène, comme dans le cas des lymphocytes T, notamment l'IL-2 participe à la différenciation des lymphocytes B en les aidant à sécréter les anticorps (126).

Des études par immunoprécipitation utilisant l'anticorps anti-Tac marqué au tritium ont montré que les Rc de l'IL-2 sur les cellules B et sur les cellules T activées sont identiques.

Cependant le rôle exact de l'IL-2 dans la prolifération et la différenciation des lymphocytes B reste controversé.

Certains auteurs privilégient l'hypothèse d'un effet indirect de l'IL-2 sur la prolifération des cellules B. Son action se ferait par l'activation des cellules T auxiliaires et la libération consécutive du BCGF (B Cell Growth Factor) qui est une molécule distincte de l'IL-2 (82).

D'autres évoquent la possibilité d'un effet direct de l'IL-2, ceci étant étayé par la présence du récepteur de la lymphokine sur les cellules B (84). Une étude révèle que l'induction du récepteur de l'IL-2 sur les lymphocytes B stimulés par des antigènes ou des mitogènes divers, ainsi que la prolifération et la différenciation de ces cellules en réponse à l'IL-2, nécessite la fonction accessoire de monocytes ou d'IL-1.

L'intervention de la cytokine dans le phénomène de la production d'immunoglobuline est évoquée également.

Elle est capable d'induire, comme le BCDF (B Cell differentiation factor), la sécrétion d'Ig G par un clone de cellules B humaine (SGB3), de façon dépendante de la dose. L'effet de l'IL-2 et du BCDF s'additionnent. Cette étude a été effectuée sur des cellules B transformées et des différences par rapport aux cellules normales sont possibles. Cette restriction mise à part, on peut admettre que l'IL-2 puisse agir directement sur les cellules B via les Rc spécifiques de la cytokine et induire la sécrétion d'Ig G, même si ce rôle n'est peut-être pas essentiel in vivo (148).

Si les résultats des multiples études restent controversés, il semblerait cependant que l'IL-2 puisse jouer un rôle central, non seulement dans la régulation de la réponse immunitaire

cellulaire, mais également dans celle à médiation humorale.

Les lymphocytes et les cellules phagocytaires sont des agents de la réponse à médiation cellulaire, qui désigne la réaction dans laquelle des anticorps ne jouent qu'un rôle accessoire. Il est cependant impossible de considérer les deux types de réponse immunitaire comme étant entièrement séparés. Les cellules sont nécessaires au déclenchement des réponses de l'anticorps et il est vraisemblable qu'aucune réaction à médiation cellulaire ne se produit en l'absence totale d'anticorps.

6. Activités sur d'autres lymphokines :

6.1. L'interféron γ :

L'IFN γ est essentiellement produit par les lymphocytes T auxiliaires et suppresseurs à la suite d'une stimulation par un alloantigène ou un mitogène. La production d'IFN γ par les lymphocytes T est sous la dépendance de l'IL-1 et de l'IL-2. L'IFN γ est également synthétisé par les cellules N.K. sous l'effet de l'IL-2.

En plus de son activité antivirale, l'IFN γ régule la réponse des lymphocytes T et participe à la coopération cellulaire B-T en agissant comme un facteur de maturation des lymphocytes B (114) :

* L'IL-2 induit la production d'IFN γ par les lymphocytes T. Cet IFN peut, à son tour, stimuler l'expression des Rc pour l'IL-2 sur les cellules T. Ceci peut expliquer l'activité accrue des CTL après traitement par l'IFN γ . L'IFN γ augmente également la sensibilité des cellules cibles à la lyse par les CTL en agissant sur l'expression des antigènes du CMH (7).

* L'IFN γ est capable soit de supprimer, soit d'augmenter la production d'anticorps in vivo et in vitro ; la nature de l'effet dépend de l'IFN et du moment où il est introduit (7).

6.2. Le tumor necrosis factor :

Le macrophage activé est le principal producteur de TNF α . Cette origine différencie cette molécule du TNF β , cytokine produite par les lymphocytes. La production est augmentée en présence d'IL-2 qui agit probablement sur la transcription des gènes correspondants.

Bien que l'IFN γ recombinant n'augmente pas directement la production de TNF, on observe un effet synergique marqué entre l'IL-2 et l'IFN γ dans l'induction de ces facteurs cytotoxiques (7).

Un autre effet synergique observé entre IL-2/TNF n'est pas associé à un phénomène prolifératif ou à une induction de sécrétion d'autres cytokines (IFN γ , IL-1) mais se manifeste par un effet direct sur les LGL.

Des résultats indiquent que les faibles doses d'IL-2 inefficaces par l'induction de l'activité LAK sont cependant capables d'induire une augmentation de l'expression du récepteur au TNF sur les LGL (21). Cet effet synergique se traduit aussi par une induction de la chaîne α du récepteur à l'IL-2 (p 55) permettant ainsi la formation du récepteur de haute affinité à la surface des LGL associant la p 55 et la p 75.

Enfin d'autres résultats indiquent également que l'incapacité des faibles concentrations d'IL-2 à induire la génération des cellules LAK semble être liée en partie à leur incapacité à induire la production de TNF par les LGL (21).

Le mécanisme intime de la cytotoxicité du TNF reste encore mal connu (7).

En conclusion, la possibilité de substituer les fortes doses d'IL-2 par la combinaison IL-2/TNF offre une alternative prometteuse pour l'immunothérapie cellulaire permettant de limiter les effets secondaires résultant de l'administration de fortes doses d'IL-2.

7. Conclusion :

Tous les effets biologiques découverts à ce jour justifient l'emploi de l'IL-2. Les activités des interleukines ne sont jamais uniques, et leurs cibles sont souvent diverses. Un des aspects les plus remarquables de leur mode d'action, est l'extraordinaire capacité de synergie de ces facteurs. La complexité des mécanismes d'action des cytokines est encore accrue par leur capacité de s'induire mutuellement. Tous ces mécanismes doivent être pris en compte pour comprendre la physiologie de la réponse immune.

G - UTILISATION DE L'IL-2 EN THERAPEUTIQUE HUMAINE :

1. Pharmacocinétique de l'IL-2 :

1.1. Eléments de Pharmacocinétique :

L'IL-2 est métabolisée dans les tubules rénaux après administration intra-veineuse (I.V.). Les courbes de clairance plasmatique après injection en bolus suivent un mode biexponentiel.

La demie-vie dans le sérum est assez courte avec une phase α de 13 minutes et une phase β d'élimination plus lente de 85 minutes (64, 96). La phase α représente 87 % de la dose administrée en bolus. Ces résultats évoquent un modèle à deux compartiments dans lequel la clairance initiale rapide relève d'un passage dans un compartiment extravasculaire, d'où l'IL-2 retourne lentement vers le compartiment plasmatique (Lotze et coll., 1985, Parkinson 1988).

1.2. Pharmacocinétique de l'IL-2 selon le mode d'administration :

La même dose (3.10⁶U) administrée en I.V. de 2 heures et

voie sous-cutanée (S.C) ou intra-musculaire (I.M) donne des concentrations de 8 à 24 U/ml pendant 4 à 5 heures en I.V, et qui se prolongent 8 à 10 heures après l'injection S.C.

L'administration intrapéritonéale ou intrapleurale donne des durées de demie-vie plus longues que celle obtenue par injection massive. Il a été détecté dans le sérum des concentrations au-delà de 24 heures pour des "effusions pleurales" et au-delà de 8 heures qui suit l'instillation intra-pleurale (64).

1.3. Variation du nombre de cellules et de leur phénotype liée à la pharmacocinétique :

On note une lymphopénie importante, qui intervient quelques heures après l'administration de l'IL-2. On observe un retour à la normale 24 à 48 heures après l'administration massive par I.V. ou après l'arrêt d'une perfusion I.V. continue.

Il a été démontré que les variations du nombre de lymphocytes sont dépendantes de la date et du planning d'administration dans certains cas mais pas toujours (28, 128). Une perfusion continue et des plannings bihebdomadaires ont été associés à une lymphocytose accrue (28, 64, 128, 137).

Certaines études (137) ont examiné le phénotype cellulaire dans les tous premiers jours du traitement au rIL-2. Elles ont décrit une perte rapide de l'activité NK et des cellules précurseurs LAK pendant 5 à 15 minutes et ce jusqu'au recouvrement du nombre de lymphocytes. Cette perte n'est généralement pas sélective et inclut à la fois les cellules T et B et les cellules présentant le Rc à l'IL-2 (140).

Il a été également montré que ces changements dynamiques du phénotype cellulaire et les variations du nombre réel de lymphocytes sont dépendantes de la concentration et du planning d'injections (140).

L'augmentation du nombre de lymphocytes peut aller de 10 à 15 fois pour des perfusions continues et tend à être encore supérieure pour un régime d'injections toutes les 8 heures (128, 140).

L'accroissement lymphocytaire et le nombre de cellules de certains phénotypes, par exemple celles portant le Rc à l'IL-2 et celles montrant une réponse proliférative à l'IL-2, peuvent être progressivement augmentés par des cycles supplémentaires de traitement à l'IL-2. L'augmentation est constatée lorsque l'intervalle inter-cycles est de quelques jours, mais pas pour des intervalles prolongés. (128, 137)

L'importance de la durée de perfusion a été décrite avec précision par THOMPSON et coll. en 1988 (139). La lymphocytose induite par $3 \cdot 10^6$ U/m²/jour infusées sur 24 heures était nettement supérieure à celle induite par $3 \cdot 10^6$ U/m²/jour injectées pendant 2 heures (Pour une durée de traitement de 5 jours consécutifs dans les deux cas).

Ces données indiquent que pour des doses égales, la perfusion continue a un meilleur effet biologique. L'accroissement lymphocytaire est associé à des nombres plus importants de cellules activées avec des fonctions NK, LAK et de cellules exprimant le Rc à l'IL-2.

L'augmentation constatée pour certains phénotypes, par exemple des cellules portant des Rc à l'IL-2 suggère une activation préférentielle de certains sous groupes et un manque d'effet relatif sur les cellules B (137).

1.4. Pharmacocinétique et activité lytique :

En général, l'activité des cellules NK et LAK semble être induite et augmentée davantage par de fortes doses en perfusion continue que par tout autre forme d'administration. Toutefois

les différences d'activité lytique observées dans diverses études peuvent, bien entendu, être le reflet d'une erreur de détection plus que d'un défaut d'induction de l'activité killer (140).

L'information en ce qui concerne la durée d'une cytotoxicité éventuellement accrue reste rare. Plusieurs rapports indiquent que cette cytotoxicité dure seulement 7 à 10 jours après arrêt du traitement à l'IL-2 (140). Il a été noté une activité NK mais pas LAK, de 35 à 42 jours et à plus de 180 jours, chez WALEWSKI et coll. (150), grâce à des perfusions continues de l'IL-2.

2. Indications de l'IL-2 en thérapeutique humaine :

2.1. Indications actuelles :

2.1.1. L'immunothérapie adoptive du cancer :

L'utilisation de l'IL-2 en thérapeutique soulève actuellement des espoirs majeurs dans le domaine de l'immunothérapie adoptive de certaines affections néoplasiques.

Le traitement consiste à administrer au porteur d'une tumeur, des cellules ayant une action antitumorale et aboutissant directement ou indirectement à la régression de la tumeur établie. A ses débuts, la difficulté essentielle de cette approche thérapeutique résidait dans l'insuffisance du nombre de cellules actives que l'on pouvait obtenir et injecter.

Les travaux de S. ROSENBERG, dont le protocole consiste à injecter au malade ses lymphocytes tueurs activés par l'IL-2 en laboratoire associés à l'IL-2, en font le pionnier de cette immunothérapie anticancéreuse.

Ses expérimentations chez la souris lui ont permis de conclure que les effets du traitement étaient essentiellement adoptifs. C'est-à-dire que le but n'était pas de stimuler directe-

ment le système immunitaire de l'animal porteur de tumeurs, mais plutôt de préparer en dehors du corps un produit actif par lui-même et de l'injecter ensuite.

Chez l'homme, c'est un peu plus compliqué, car ROSENBERG a montré que l'IL-2 injectée seule est capable de faire régresser des tumeurs, en particulier des mélanomes. Cette observation est très importante : elle apporte une réponse à une question posée depuis plus de vingt ans sur le rôle du système immunitaire dans la défense contre les tumeurs. Elle n'a certes pas été généralisée à tous les cancers, mais c'est néanmoins une confirmation d'idées qui circule depuis des années, et qui permet aujourd'hui de penser que cela vaut la peine d'essayer... (68)

Et les tentatives sont nombreuses : on évalue divers moyens pour améliorer le protocole du clinicien américain et surtout pour l'appliquer à différentes formes de cancers. En France, un Groupe d'Immunothérapie des Cancers (GIC) a été créé en Octobre 1988. Il regroupe différentes équipes appartenant à l'institut Curie, centre Léon-Bérard, institut Gustave Roussy de Villejuif et enfin l'institut Paoli-Calmette à Marseille.

2.1.1.1. L'adénocarcinome métastatique du rein :

Le carcinome rénal est la tumeur du rein qui est la plus fréquente. Anciennement, on pensait qu'il se développait à partir du tissu surrénalien, actuellement on sait qu'il dérive des cellules épithéliales des tubules proximaux. Il est appelé également hypernéphrome, carcinome à cellules claires ou encore tumeur de Grawitz. Le carcinome rénal est plus fréquent chez l'homme que chez la femme et survient essentiellement entre 50 et 70 ans.

La néphrectomie totale et le traitement de choix chez les patients ayant une atteinte localisée et représente le seul traitement curatif. Si des métastases sont déjà présentes lors du diagnostic, une néphrectomie simple est parfois effectuée à

titre palliatif (DEKERSON et coll. 1978 ; DE FORGES et coll. 1988).

La majorité des médicaments cytotoxiques donnent des taux de réponse inférieurs à 5 %. Récemment, l'IFN α a été essayé avec des réponses de l'ordre de 15 %, à condition d'utiliser des doses élevées, de façon prolongée, pendant plusieurs mois.

L'IL-2 fut utilisée dès 1985, des essais cliniques élargis durant les années suivantes ont conduits à la commercialisation et à l'autorisation de mise sur le marché de l'IL-2 en 1990 avec la seule indication du traitement de l'adénocarcinome rénal métastatique de l'adulte (96).

2.1.1.2. Le mélanome malin :

Les cancers de la peau sont les plus fréquents des cancers humains. Cette fréquence augmente de 6 à 10 % chaque année selon les pays. Les deux principaux types de cancers sont les cancers épithéiliaux et les mélanomes malins.

C'est sur les mélanomes malins que l'IL-2 a démontré son efficacité (20).

Ce mélanome est le cancer dont le dépistage est le moins onéreux car il se réduit à une simple inspection. Son traitement est le moins coûteux à un stade précoce puisque l'excérèse simple d'une lésion débutante assure la guérison.

Si ce stade précoce est malheureusement dépassé, l'IL-2 constitue une thérapie très intéressante, utilisée seule ou en combinaison avec l'IFN α ou le TNF afin d'obtenir une réponse optimale (44).

2.1.1.3. Le myélome multiple :

En dépit des progrès accomplis depuis 30 ans dans les traitements chimiothérapeutiques et radiothérapeutiques, le myélome multiple demeure, à quelques rares exceptions près, une maladie incurable.

La survie globale ne s'est guère améliorée depuis l'avènement du

classique schéma d'ALEXANIAN associant melphalan et prednisolone. Sa durée de vie médiane reste d'environ 3 ans.

L'existence de cellules T suppressives spécifiques du myélome a déjà été démontrée par le passé. S'appuyant sur cette hypothèse d'une régulation immunitaire par l'hôte de la croissance du myélome, D.U. GOTTLIEB et coll. ont cherché à savoir si elle pouvait impliquer d'autres cellules immunitaires, à savoir les cellules LAK.

In vitro, les cellules mononuclées non stimulées se sont révélées dépourvues de cytotoxicité pour les cellules myélomateuses. En revanche, lorsque les cellules, prélevées chez un patient atteint de maladie de Kahler, ont été stimulées in vitro par l'IL-2, puis remises en présence des cellules tumorales, une lyse cellulaire substantielle a été observée.

L'espoir actuel de disposer d'une thérapie immunologique, capable d'éliminer la "maladie myélomateuse résiduelle minime" est du plus haut intérêt (50).

2.1.1.4. Les autres cancers :

Un traitement à la base d'IL-2 a été appliqué à divers cancers :

- * Le neuroblastome de l'enfant.
- * Cancer colorectal.
- * Cancer du sein avancé.
- * Cancer superficiel de la vessie.
- * Cancer ovarien.
- * lymphomes malins.

2.1.2. L'IL-2 après autogreffe de moelle osseuse :

Après autogreffe de moelle osseuse, les patients présentent un déficit immunitaire à traduction clinique, lié principalement

aux lymphocytes T. Alors que numériquement les cellules immuno-compétentes reviennent rapidement à la normale, il persiste longtemps des anomalies qualitatives de l'immunité.

Ainsi la capacité de prolifération des lymphocytes T n'est pas normalisée après un an. De plus, il est démontré que la production d'IL-2 par les lymphocytes du sang périphérique est largement inférieure à la normale, phénomène potentiellement important dans la physiopathologie du déficit immunitaire. L'IL-2 est donc utilisée comme immunothérapie de consolidation contre cette maladie résiduelle minimale. Les lymphocytes peuvent en effet exprimer le récepteur à l'IL-2 et leur capacité de prolifération en culture est partiellement restaurée après stimulation par de l'IL-2 exogène.

De même, si les activités cytotoxiques non spécifiques (NK et LAK) remontent rapidement aux valeurs pré-greffe, elles sont toutefois augmentées de manière significative par stimulation à l'IL-2 (12).

2.2. Indications potentielles :

Dans les années à venir, on peut raisonnablement penser que les indications de l'IL-2 seront élargies.

2.2.1. Immunostimulation :

Le traitement des maladies infectieuses est certainement l'un des domaines thérapeutiques où l'immunostimulation par l'IL-2 est prometteuse.

Dans de nombreuses infections chroniques, comme la tuberculose, la lèpre et la leishmaniose, les microorganismes restent à l'abri dans les macrophages infestés, qui libèrent des substances à action destructrice sur les tissus environnants. Les expériences de G. KAPLAN, Z. COHN et leurs collègues de l'université Rochefeller semblent montrer que l'activation des lymphocytes T, des cellules tueuses naturelles et des macrophages par l'admi-

nistration d'IL-2, renforce l'activité du système immunitaire : Les cellules stimulées par l'IL-2 tuent les cellules infectées et les microorganismes qu'elles contiennent.

2.2.2. S.I.D.A. :

La cause sous-jacente de l'immunodéficience présentée par les malades est un déficit sélectif touchant des lymphocytes T helper définis phénotypiquement par le marqueur CD4, infesté par le virus H.I.V. (68).

Le déficit en cellules CD4+ est associé à des anomalies de la plupart des activités du système immunitaire. La réduction du nombre de lymphocytes CD4+ n'explique pas toutes les anomalies. Il s'y associe un déficit qualitatif qui pourrait concerner l'expression à leur surface de récepteur à l'IL-2 et la production de cette cytokine.

Des études effectuées in vitro montre chez les patients atteints de SIDA une nette diminution des fonctions NK. Les cellules NK, après fixation sur leurs cellules cibles sont incapables de libérer leur facteur cytotoxique.

La sécrétion d'IFN γ en réponse aux antigènes microbiens spécifiques est également affectée.

Tout ceci explique la survenue chez ces malades d'infections opportunistes par des agents tels que cytomégalovirus, l'herpès simplex virus et pneumocystis carinii ainsi qu'une forme inhabituellement agressive du sarcome de Kaposi.

Ces différentes observations ont amené certains auteurs à essayer de renforcer les réponses immunitaires par l'IL-2.

2.2.3. Les vaccins :

Les propriétés d'immunostimulation de l'IL-2 commencent à être exploitées pour augmenter la réponse aux vaccinations.

Différents essais ont été effectués chez les animaux, l'équipe de B. MOSS du National Cancer Institute (U.S.A.) a immunisé des souris nues (privées de thymus) par injection d'un virus de la vaccine contenant le gène codant pour l'IL-2. Alors que les souris nues vaccinées avec le virus de la vaccine meurent à cause de leur déficit de l'immunité cellulaire, ces mêmes souris vaccinées avec le virus recombinant exprimant l'IL-2 neutralisent le virus, l'éliminent et survivent.

L'effet adjuvant de l'IL-2 a été confirmé chez l'homme. L'injection simultanée d'un vaccin antihépatite B et d'IL-2 (à doses faibles) a permis d'immuniser 6 des 10 sujets dialysés immunodéprimés "non-répondeurs", qui avaient reçu précédemment plusieurs injections du vaccin sans jamais s'immuniser.

Le succès des vaccins que l'on produira par génie génétique dépendra peut-être de l'efficacité des immunostimulants disponibles, par exemple de l'IL-2 (124).

3. Stratégies thérapeutiques avec l'interleukine-2 :

3.1. Les produits disponibles :

Les promesses d'applications thérapeutiques de l'IL-2 et des autres interleukines ont provoqué une véritable frénésie des industriels aux Etats-Unis et au Japon, et une approche dynamique mais plus sage en France.

Selon le magazine Business Week (1984), le marché des IL pourrait rivaliser, d'ici l'an 2000, avec celui des antibiotiques.

L'enthousiasme Outre-Atlantique est impressionnant. Des géants tels que Hoffmann-La-Roche, Dupont de Nemours, Smith-Kline, se sont lancés dans le développement des interleukines. Des laboratoires de biotechnologie très dynamiques tels que Genentech, Cetus et Biogen produisent de l'IL-2 humaine recombinante et cherchent déjà de nouvelles molécules biologiques.

La Société Immunex, fondée il y a quatre ans par de jeunes chercheurs, se consacre entièrement à l'isolement de gènes d'interleukines pour le compte d'autres sociétés.

Plusieurs IL-2 recombinantes sont disponibles à partir d'E. Coli :

- * IL-2 Cetus Corporation (Emeryville California) = Proleukin[®].
- * IL-2 Hoffmann La Roche.
- * IL-2 Bioleukin Biogen (S.A. Genève).
- * IL-2 Roussel (France).
- * IL-2 Tadeka Chemical Industries Co (Japon).

Parmi le grand nombre de préparations d'IL-2 recombinantes disponibles, les plus utilisées sont celles de la Cetus Corporation et de Hoffmann La Roche. A titre comparatif, 1 unité Cetus est à peu près égale à 2,3 unités La Roche. [6 UI d'IL-2 = 1 U Cetus].

Cette différence d'activité devrait être prise en compte lors d'essais faits pour comparer des études qui utilisent différents types d'IL-2 recombinante (28).

Très récemment la Société Sanofi a déposé deux demandes de brevets européens couvrant l'IL-2 recombinante glycosylée, produite par les cellules CHO (lignée continue de cellules ovariennes de hamster chinois). Les activités immunostimulantes et anti-tumorales décrites sont plus fortes que celles de l'IL-2 produite, par E. Coli, chez Sanofi.

D'après les résultats décrits, la première a une activité spécifique supérieure à $10 \cdot 10^6$ U/mg de protéine, et la seconde une activité spécifique de $5 \cdot 10^6$ U/mg.

3.2. Les schémas de posologie :

Les schémas thérapeutiques présentés obéissent à un consensus établi après de multiples essais menés à travers le monde, qui utilisent de l'IL-2 seule ou en association ; ils ne sont pas parfaits et les chercheurs essaient encore d'établir un schéma optimal pour atténuer les effets toxiques de l'IL-2.

3.2.1. IL-2 seule :

* Bolus I.V. ou perfusions intermittentes :

ROSENBERG et Coll. (108) ont adopté ce mode d'administration. L'IL-2 est diluée dans 50 cc de soluté isotonique enrichi de 5 % d'albumine humaine et injectée en bolus de 15 minutes toutes les 8 heures pendant 5 jours : La dose utilisée est de $6 \cdot 10^5$ UI/kg. (V. Tableau n° IV)

Les auteurs utilisent les voies veineuses périphériques ou centrales de préférence car plus sûres en cas de complications cardio-vasculaires.

Le protocole comporte 2 cycles de bolus de 5 jours séparés par une interruption de 5 à 7 jours avec possibilité de renouvellement une fois (118).

* Perfusions continues :

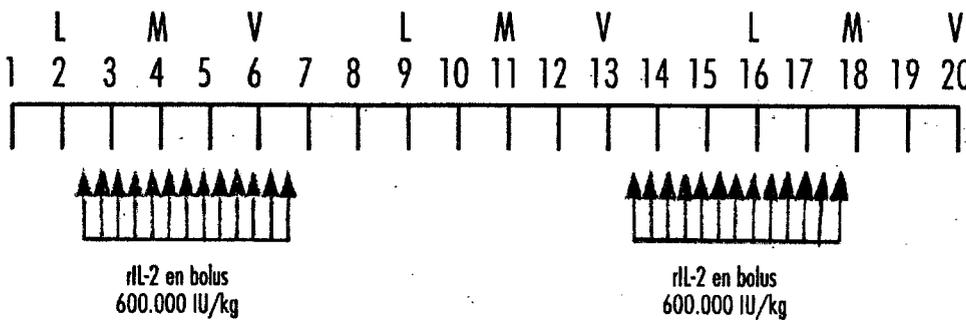
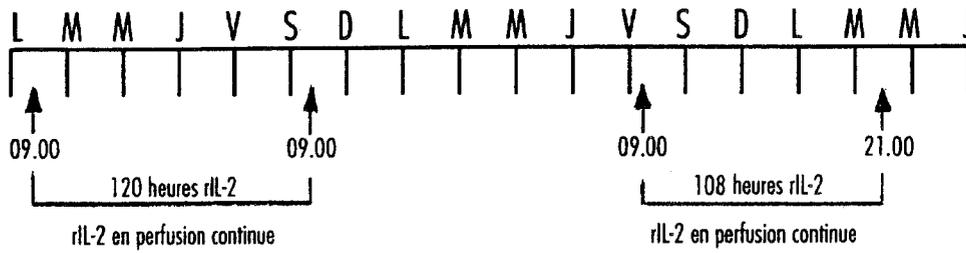
L'administration continue d'IL-2 pendant 24 heures et durant 5 jours est surtout préconisée par WEST et coll. (156).

Le schéma thérapeutique conseillé est le suivant : (V. Tableau n° IV)

- Un premier cycle d'induction comportant deux périodes de 5 jours d'IL-2 à $18 \text{ M UI/m}^2/\text{J}$ en perfusion continue séparée par une interruption de 5 à 7 jours.

- Un arrêt de 3 semaines.

Proleukin® seule



TABEAU IV : MODES D'ADMINISTRATION DE L'IL-2

- Un deuxième cycle d'induction identique au premier avec les mêmes posologies et voie d'administration.
- Un arrêt de 3 semaines.
- 2 à 4 cycles identiques aux deux précédents. Ces derniers cycles n'auront lieu qu'en l'absence de progression de la maladie ou d'effets secondaires majeurs.

Pour les partisans de ce protocole, les effets secondaires sont moindres. Cependant la dose totale quotidienne est fortement, d'au moins 75 % par rapport à celle reçue en perfusions intermittentes (118).

*** Voie intrapéritonéale :**

L'injection intrapéritonéale d'IL-2 en bolus de 50 cc de soluté isotonique enrichi de 5 % d'albumine humaine suivie d'un rinçage de la cavité péritonéale avec 250 cc de soluté isotonique est répétée toutes les 8 heures.

Cette voie d'administration présente les mêmes effets secondaires que l'administration I.V. d'IL-2.

Cependant les principales difficultés sont liées à la pose et à la présence du cathéter au développement d'ascite et surtout d'adhérences intra-péritonéales (80, 118).

*** Voie sous-cutanée :**

C'est une voie nouvelle et les conclusions des différents essais cliniques sont en cours.

3.2.2. Interleukine-2 et cellules LAK :

Les patients reçoivent de l'IL-2 pendant 5 jours et après un délai de 2 jours, subissent des leucaphérèses quotidiennes pendant 5 jours, le moment du pic lymphocytaire se situant entre le 7ème et le 12ème jour. Le volume lymphocytaire récupéré varie de 10.10^{10} à 13.10^{10} . Les lymphocytes de chaque

leucaphérèse sont cultivés en présence d'IL-2 pendant 5 jours puis réinjectés quotidiennement par cathéter central en 30 minutes les 5 jours suivants. Le traitement est complété par injection finale d'IL-2 pendant 2 à 3 jours (V. Figure 8 et 9) (36).

La durée du traitement avoisine les 15 jours. Le nombre de cellules injectées est très variable selon les sujets (en moyenne entre 5 et $10 \cdot 10^{10}$ LAK). Cette technique lourde, particulièrement coûteuse n'est pas dénuée de risque de contamination bactérienne et virale des cultures et donc d'hépatite virale (118).

3.2.3. IL-2 et cellules Til :

Les injections de cellules Til sont toujours associées à un pré-traitement par cyclophosphamide ou irradiation corporelle totale et avec perfusions concomitantes d'IL-2.

La technique consiste à prélever des fragments tumoraux d'au moins 10 à 30 g. et d'en extraire par digestions enzymatiques successives des lymphocytes qui mis en culture avec l'IL-2 se multiplient et s'activent (V. Figure n° 9) (143).

Lorsque les cellules Til sont prêtes, le malade reçoit une dose unique I.V. de cyclophosphamide (25 mg/kg) et 36 heures plus tard la première perfusion de cellules Til (au maximum 2×10^{11} cellules) en 30 à 60 minutes. Le nombre de perfusions sur 24 à 48 heures est très variable (1 à 7) et ce fonction de la quantité de cellules administrées et du temps requis pour les obtenir. Après la première injection de cellules Til, on institue les bolus d'IL-2 toutes les 8 heures. La durée brève du traitement, 5 jours en moyenne, pourrait expliquer des effets secondaires moindres.

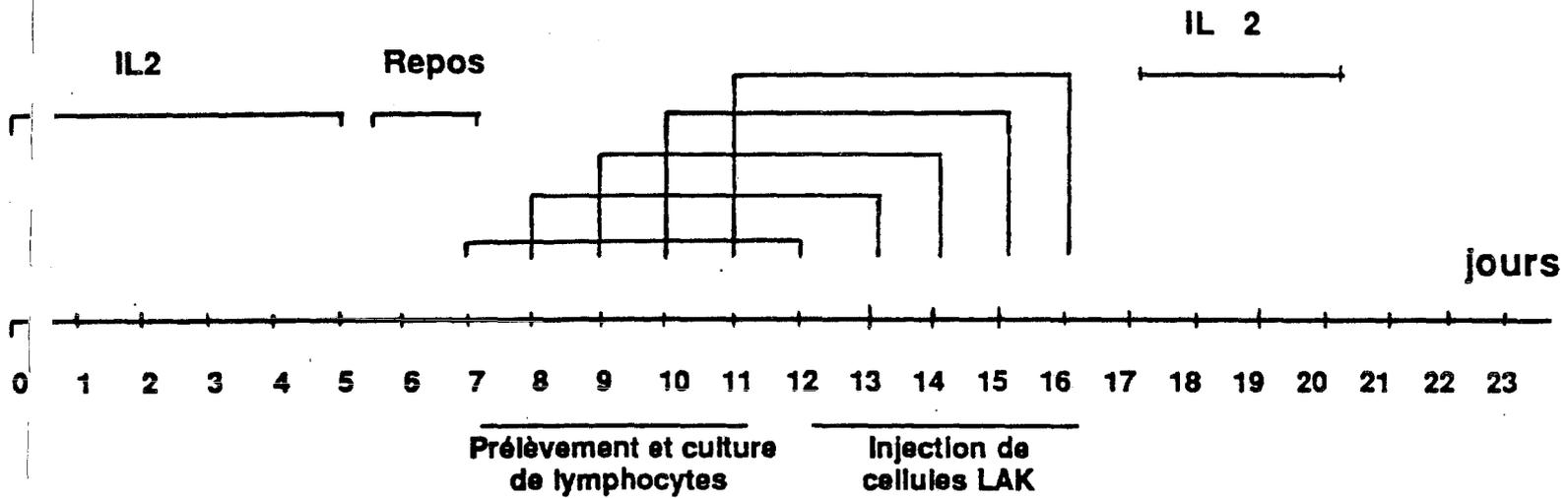


FIGURE 8 : PROTOCOLE CLINIQUE D'IMMUNOTHERAPIE CELLULAIRE AVEC CELLULES LAK ET IL-2

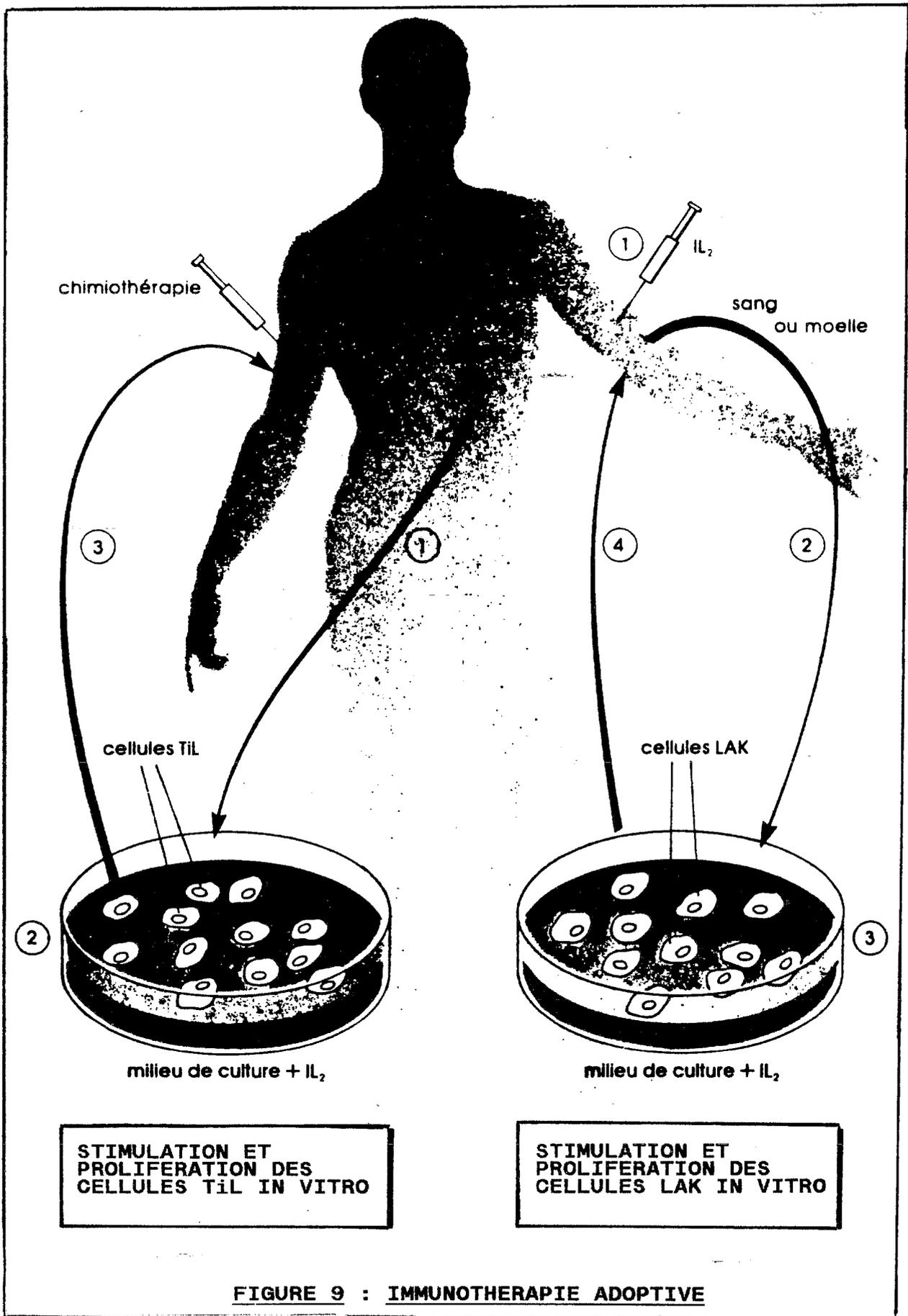


FIGURE 9 : IMMUNOTHERAPIE ADOPTIVE

D'autres auteurs comme KRADIN et coll. (65) réalisent des cycles de 5 jours incluant perfusions continues d'IL-2 et 3 bolus de cellules TIL sans adjonction de cyclophosphamide avec interruption de 3 jours.

3.2.4. IL-2 et IFN :

L'IFN β a été employé par TAMURA et coll. (136) dans un essai de phase I chez des patients avec néoplasies avancées en association avec de l'IL-2 aux doses maximales tolérées de 6.10^6 UI/m²/J d'IFN β en bolus de 2 heures et de $1,1.10^6$ U/m²/J d'IL-2 en perfusion continue, ceci à 5 jours par semaine pendant quatre semaines.

Ce protocole n'est pas un schéma type, et les associations IL-2 et IFN n'ont pas encore permis d'établir des schémas thérapeutiques car les essais sont trop peu nombreux à ce jour ; de nouvelles posologies sont adaptées en fonction de l'essai (36).

3.2.5. IL-2 et chimiothérapie :

L'association IL-2/cyclo phosphamide a été réalisée par quelques équipes en utilisant ces produits à faible dose (77, 83). Le cyclophosphamide étant prescrit aux doses de 350 mg/m² pendant 3 jours et l'IL-2 à celles de $3,6.10^6$ UI/m²/J.

Des protocoles incluant Bicnu^R, auto-greffe de moelle, bolus d'IL-2 sont actuellement en cours dans certaines équipes.

3.2.6. Interleukine-2 et anticorps monoclonaux spécifiques de la tumeur :

Les modalités d'administration de cette association restent à définir, soit r IL-2 et Ac, soit LAK et Ac. Les travaux sur les modèles murins donnent des résultats très variables

en fonction du siège des métastases hépatiques ou pulmonaires (118).

3.3. Le prix d'un traitement à l'interleukine-2 :

Si l'on se limite à étudier les dépenses effectuées pour un traitement donné, en excluant un coût social et ses répercussions sur le système économique (c'est-à-dire les gains virtuels...), ces dépenses sont excessivement complexes à calculer et comprennent à la fois :

- Les coûts directs liés à l'administration du produit et de ses éventuels adjuvants ;
- Les coûts induits par l'hospitalisation "normale" du malade et la nécessité de sa surveillance (bilan, examens complémentaires) ;
- Enfin les coûts des complications éventuelles de ce même traitement.

Le prix de revient par personne et par an dans le traitement de l'adénocarcinome rénal métastasé se présente ainsi (69) :

- Coût direct lié au produit et à ses adjuvants :
52 000 F.
- Coût de l'hospitalisation (22 jours en moyenne) :
entre 45 000 F et 70 000 F.
- Coût de la surveillance biologique (non compris dans le coût précédent) : 12 000 F.

Le coût moyen est donc compris entre 110 000 F et 135 000 F par personne. Si ce produit était appliqué à tous les nouveaux malades concernés en France (1500 par an), le coût total s'établirait entre 165 MF et 200 MF.

Toutefois, au plus 20 à 25 % des malades traités par l'IL-2 voient leur cancer diminuer et la moitié d'entre eux survivent au bout de 2 ans. Ramené à ces divers résultats, le coût de l'année de survie est donc compris entre 0,6 MF et 0,9 MF par



personne, chez les sujets dont la moyenne d'âge est de plus de 65 ans.

D'une façon générale, les produits sont délivrés par la pharmacie hospitalière, financée hors dotation globale et remboursés par la sécurité sociale sur la base d'un prix d'achat majoré de 15 %.

4. Synthèse des principaux essais menés à travers le monde :

4.1. Critères d'inclusion et de non inclusion :

* Pourront être inclus les patients présentant :

- Un âge compris entre 10 et 70 ans.
- Une hospitalisation d'au moins 5 jours (durée d'administration d'un cycle de traitement).
- Une confirmation histologique, cytologique et biologique de leur affection maligne.
- Un indice de Karnofski supérieur à 60 (V tableau n° V).
- Un consentement éclairé par écrit pour participer à l'essai.

* Ne pourront pas être inclus les patients présentant :

- Un traitement antérieur à visée anticancéreuse qu'il s'agisse d'un immunomodulateur ou une chimiothérapie moins d'un mois avant l'inclusion dans l'essai.
- Une insuffisance cardio-respiratoire et rénale sévère ou une maladie auto-immune.
- Une infection évolutive nécessitant une antibiothérapie.
- Un traitement régulier par des corticoïdes. Toute corticothérapie devra avoir été arrêtée au moins 1 mois avant l'inclusion.

ECOG	KARNOFSKI
0 - Activité normale	100 - Normal ; aucune plainte
1 - Symptômes, mais patient se déplaçant	90 - Patient capable d'avoir des activités normales, signes ou symptômes minimes de maladie
	80 - Activité normale avec effort
2 - Alitement moins de la moitié du temps	70 - Auto-entretien. Incapacité d'avoir une activité normale ou d'effectuer un travail actif
	60 - Patient ambulatoire. Demande une certaine aide dans les activités de la vie quotidienne et pour ses soins
3 - Alitement plus de la moitié du temps	50 - Nécessite des soins médicaux importants et fréquents
	40 - Invalide ; nécessite des soins spéciaux et une assistance
4 - Patient grabataire à 100 %	30 - Grand invalide ; hospitalisation nécessaire bien que le décès ne soit pas imminent
	20 - Grand malade ; hospitalisation et traitement actif
	10 - Moribond
	0 - Décès

TABLEAU V : CRITERES D'ATTEINTE DE L'ETAT GENERAL

4.2. Analyse des essais selon la localisation des tumeurs :

Les essais rapportés dans ce travail font partie d'une liste qui s'allonge régulièrement et donc non exhaustive. L'intérêt de ces répertoires est de permettre de déduire les taux de réponse en sachant que les différences entre les essais portent sur la posologie, la voie d'administration et les associations avec l'IL-2.

Il est également intéressant de regrouper les principales observations et conclusions des différentes équipes.

Les critères de réponse des essais cliniques nécessitent des termes rigoureux et standards, en voici leurs définitions :

* Critères de réponse par localisation :

- Réponse complète (RC) : Disparition de toutes les lésions connues, constatée à deux examens effectués à un intervalle d'au moins quatre semaines.

- Réponse partielle (RP) : Diminution égale ou supérieure à 50 % du volume tumoral total des lésions ayant été mesurées à chaque localisation, sur un organe, pour déterminer l'effet du traitement, constatée à deux examens effectués à 4 semaines d'intervalle au moins. En cas de lésion unique, cela correspond à une diminution supérieure à 50 % de la surface tumorale. En cas de lésions multiples, cela correspond à une diminution supérieure à 50 % de la somme des produits des diamètres perpendiculaires des différentes lésions.

- Stabilisation de la maladie (S.M.) : Absence d'une diminution de 50 % de la taille totale de la tumeur et d'une augmentation de 25 % de la taille de l'une des lésions mesurables.

- Aggravation de la maladie (A.M.) : Augmentation égale ou supérieure à 25 % de la taille d'une lésion mesurable ou apparition de nouvelles lésions.

* Durée de la réponse :

La durée de la RC va de la date où elle a été constatée jusqu'à la date où une aggravation est observée pour la première fois. Pour les patients qui n'obtiennent qu'une RP, la durée de la réponse est calculée du premier jour de traitement jusqu'au jour où la rechute est prouvée.

4.2.1. L'adénocarcinome métastatique du rein :

* Résultats :

Suite aux multiples essais entrepris à travers le monde, on a pu comparer les taux de réponse de l'IL-2 avec ou sans cellules LAK, ainsi que les différences entre les modes d'administration : bolus et perfusion continue (154).

Les résultats sont présentés dans le tableau VI.

* Commentaire :

Le pronostic du cancer du rein est très mauvais. Dans la plupart des études la survie moyenne est de 6 à 12 mois à partir de la date du diagnostic.

Toutes les tentatives thérapeutiques de ce cancer se sont avérées décevantes jusqu'ici. Il est relativement peu sensible à la radiothérapie et à la chimiothérapie ; aussi ces modalités thérapeutiques ne sont utilisées qu'à titre palliatif (ROTOLO et coll. 1989).

La majorité des médicaments cytotoxiques actuellement disponibles donnent des taux de réponses inférieurs à 5 %. Une rémission spontanée se produit chez moins de 1 % des patients. Elle survient généralement après la résection de la tumeur primitive, intervention chirurgicale dont le taux de mortalité est d'environ 2 %.

TABLEAU VI : ADENOCARCINOME RENAL

Produit	Modes d'administration	Nombre de patients	Taux de réponses	Référence
IL-2	IVC	9	11% [1RP]	Philip et al., 1987 (35)
IL-2	IVC	21	5% [1RC]	Rosenberg et al., 1988, (108)
IL-2	IVC	18	17% [1RC(5%)/2RP]	Philip et al., 1988 (95)
IL-2	IVC	42	19% [2RC(6%)/2RP/4SM/22AM]	Philip et al., 1988 (87)
IL-2	IVC	38	18% [4RC(10%)/3RP]	Rosenberg et al., 1988 (108)
IL-2	B	83	16% [4RC(5%)/9RP]	Rosenberg et al., 1988 (104)
IL-2	IVC	32	19% [2RC(6%)/4RP/4SM]	Negrier et al., 1989 (87)
IL-2	B	52	21% [4RC(7%)/7RP]	Rosenberg et al., 1989 (105)
IL-2	IVC	18	17% [1RC(6%)/2RP]	Stoter et al., 1989 (132)
IL-2	IVC	44	11% [1RC(2%)/4RP]	Bukowski et al., 1990 (14)
IL-2	IVC	14	43% [3RP/3SM/8AM]	Philip et al., 1990 (94)
IL-2	IVC	6	0%	Tursz et al., 1990 (145)
IL-2 + LAK	IVC	36	33% [4RC(11%)/8RP/7SM]	Rosenberg et al., 1987 (108)
IL-2 + LAK	IVC	6	50% [3RP]	West et al., 1987 (6)
IL-2 + LAK	B	32	15% [2RC(6%)/3RP]	Fisher et al., 1988 (40)
IL-2 + LAK	IVC	19	32% [6 RP]	Philip et al., 1988 (95)
IL-2 + LAK	IVC	53	27% [5RC(10%)/9RP]	Philip et al., 1988 (87)
IL-2 + LAK	B	139	21% [12RC(9%)/17RP]	Rosenberg et al., 1988 (111)
IL-2 + LAK	IVC	51	27% [5RC(10%)/9RP/11SM]	Negrier et al., 1989 (44)
IL-2 + LAK	B	72	35% [8RC(11%)/17RP]	Rosenberg et al., 1989 (105)
IL-2 + LAK	B	40	17% [2RC(5%)/5RP]	Wang et al., 1989, (152)
IL-2 + LAK	IVC	23	90% [2RP(8%)/5RP]	West et al., 1989 (105)
IL-2 + LAK	IVC	22	41% [5RP/5SM/13AM]	Philip et al., 1990 (94)
IL-2 + Til	IVC	4	25% [1RP]	Topalian et al., 1988 (144)
IL-2 + IFN α (SC)	IVC	19	31% [6RP]	Philip et al., 1987 (35)
IL-2 + IFN α (SC)	B	27	37% [2RC(7%)/8RP/10SM]	Atzpodien et al., 1990 (6)
IL-2 + IFN α	IVC	19	16% [3RP]	Bartsch et al., 1990
IL-2 + IFN α	IVC + IM	15	60% [3RC(20%)/3RP/3SM/3AM]	Hirsch et al., 1990 (55)
IL-2 + IFN α	IVC	8	25% [2RP]	Morant et al., 1990
IL-2 + IFN α	IVC	12	33% [4RC]	Stoter et al., 1990

B = Bolus/IVC = Intraveineuse continue/RC = Réponse complète/
 RP = Réponse partielle/SM = Stabilisation maladie

Récemment, l'IFN α a été également utilisé avec des réponses de l'ordre de 15 % mais à condition d'utiliser des doses élevées et de façon prolongée, pendant plusieurs mois (96).

Les études comparatives des divers résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative des taux de réponse entre le traitement en bolus d'une part et le traitement en perfusion continue d'autre part. Des essais européens, il ressort également qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements avec ou sans LAK.

La plupart des réponses ont été observées au cours des deux premières cures thérapeutiques. Cependant, dans plusieurs cas, la régression de la tumeur a persisté après l'arrêt du traitement.

Les essais ont surtout montré que la réponse dépend en fait de l'intensité du traitement.

Le suivi des malades sur 24 mois permet de constater que la durée médiane de survie se situe à 19 mois avec une probabilité globale de survie à 42 %. Ces chiffres sont à rapprocher de la durée médiane de survie de 7,5 mois chez les malades non néphrectomisés et de 8,5 mois chez les malades néphrectomisés.

Il n'y a pas de différence statistiquement significative quant à la survie entre le groupe des malades traités par la seule IL-2 et celui des patients traités par l'association IL-2 cellules LAK, avec néanmoins un léger effet positif en faveur du traitement par l'IL-2 seule.

* Conclusion :

Toutes ces études apportent une nouvelle preuve de l'efficacité de l'IL-2 dans le cancer métastatique du rein. Le taux de réponse global, tous protocoles confondus est de 26 %.

Les cellules LAK n'apparaissent pas comme un outil majeur dans ce type de cancer.

De même les combinaisons IL-2, IFN α ou TNF n'améliorent pas le taux de réponse et ne sont pas ou peu utilisées dans les nouveaux protocoles (94).

De nombreux problèmes restent posés et des études complémentaires sont donc indispensables.

4.2.2. Le mélanome malin :

* Résultats :

Ils sont regroupés dans le tableau VII.

* Commentaires :

Les taux de réponse sont de l'ordre de 30 % tous types de produits confondus.

De bons taux de réponses sont observés avec les cellules LAK et surtout les cellules TiL qui représentent actuellement un traitement de choix pour le mélanome malin métastatique.

De nombreux essais ont été effectués en associant l'IL-2 et dacarbazine (DTiC) ou le cyclophosphamide pour diminuer les doses d'IL-2 et éviter aux patients un traitement avec soins intensifs.

Les résultats sont eux aussi très satisfaisants, l'intensité du traitement restant optimale.

En raison de ces bons résultats, la stratégie actuelle est d'arrêter le traitement en cas d'échec total après une ou deux cures, et de le poursuivre en cas de réponse partielle. Lors de la disparition totale des métastases, il est difficile de savoir qu'elle est la meilleure attitude thérapeutique, arrêt des injections ou réalisation d'une cure supplémentaire ? (75)

Actuellement, le temps de la durée de rémission lors d'une réponse complète peut-être évaluée à 15 mois en moyenne.

TABLEAU VII: MELANOME MALIN

Produit	Modes d'administration	Nombre de patients	Taux de réponses	Référence
IL-2	B	16	37,5% [5RP/1SM]	Rosenberg et al., 1987 (108)
IL-2	IVC	10	50% [5RP]	West et al., 1987, (156)
IL-2	IVC	42	24% [10 RP]	Rosenberg et al., 1989 (44)
IL-2	B	31	13% [4RP]	Thatcher et al., 1989 (138)
IL-2	IVC	47	22% [2RC(4%)/8RP]	Parkinson et al., 1990 (93)
IL-2	IVC	15	20% [3RC]	Tursz et al., 1990 (145)
IL-2 + LAK	IVC	26	24% [2RC(8%)/4RP/1SM]	Rosenberg et al., 1987 (108)
IL-2 + LAK	IVC	10	50% [5RP]	West et al., 1987 (156)
IL-2 + LAK	IVC	10	50% [1RC(10%)/4RP]	Eberlein et al., 1988 (33)
IL-2 + LAK	IVC	34	18% [3RC(9%)/3RP]	Rosenberg et al., 1988 (107)
IL-2 + LAK	IVC	36	16% [1RC(3%)/5RP]	Dutcher et al., 1989 (32)
IL-2 + LAK	IVC	48	21% [4RC(8%)/6RP]	Rosenberg et al., 1989 (44)
IL-2 + LAK	IVC	78	15% [1RC(1%)/6RP]	Sznol et al., 1989 (134)
IL-2 + LAK	B + IVC	36	12% [1RC(2%)/6RP]	Bar et al., 1990 (9)
IL-2 + LAK	B	6	17% [1RP]	Clark et al., 1990, (25)
IL-2 + LAK	IVC	9	1SM	Clark et al., 1990 (25)
IL-2 + LAK	IVC	59	27% [1RC(2%)/15RP]	West et al., 1990 (67)
IL-2 + TiL	IVC	20	55% [1RC(5%)/10RP]	Rosenberg et al., 1988 (112)
IL-2 + TiL	IVC	6	17% [1RP]	Topalian et al., 1988 (144)
IL-2 + TiL	IVC	13	8% [1RP]	Kradin et al., 1989 (65)
IL-2 + IFN α	IVC + IM	10	40% [1RC(10%)/3RP]	Lee et al., 1989 (72)
IL-2 + IFN α	B	39	33% [3RC(8%)/10RP]	Rosenberg et al., 1989 (109)
IL-2 + IFN α	B	8	12,5% [1RP/3SM/3AM]	Atzpodien et al., 1990 (6)
IL-2 + IFN α	IVC	19	26% [5RP]	Bergmann et al., 1990 (44)
IL-2 + DTIC	IVC	29	24% [1RC(3%)/6RP]	Flaherty et al., 1989 (41)
IL-2 + DTIC	IVC	18	22% [2RC(11%)/4RP]	Shiloni et al., 1989 (44)
IL-2 + DTIC	IVC	24	25% [2RC(8%)/4RP]	Stoter et al., 1989 (133)
IL-2 + LAK + DTIC	IVC	25	25% [2RC(8%)/4RP]	West et al., 1989 (44)
IL-2 + cyclophosphamide	IVC	27	22% [1RC(4%)/5RP]	Mitchell et al., 1988 (83)
IL-2 + cyclophosphamide	IVC	32	6% [2RP]	Lindermann et al., 1989 (77)

B = Bolus/IVC = Intraveineuse continue/RC = Réponse complète/
 RP = Réponse partielle/SM = Stabilisation maladie

* Conclusion :

Pour le mélanome malin, une thérapie de combinaison semble une option encourageante pour le futur malgré encore de nombreuses imperfections.

4.2.3. Le cancer colorectal :

* Les résultats :

Voir tableau VIII.

* Commentaires :

Dans ce type de cancer les meilleures réponses sont observées avec l'association de 5 fluoro-uracile (5FU) ou encore par administration intrapéritonéale, une technique très récente.

Le taux de réponse de ce cancer à la chimiothérapie est très faible (10 %) et la drogue qui présente le meilleur potentiel d'efficacité reste le 5FU.

On a pu observer que le taux de réponse est seulement de 6 % quand le 5FU est administré avant l'IL-2, alors qu'il atteint 29 % quand l'IL-2 est injectée en premier. L'ordre d'administration des drogues semble donc important mais aucune explication n'est donnée à ce jour.

* Conclusion :

Il apparait clairement que la combinaison des deux drogues est nettement plus efficace que les drogues utilisées seules. Cela encourage à poursuivre les recherches dans cette direction et notamment à tester de nouvelles associations. De nombreux essais devront encore avoir lieu pour confirmer les résultats actuels et donner une analyse encore plus objective.

TABLEAU VIII: LE CANCER COLORECTAL

Produit	Modes d'administration	Nombre de patients	Taux de réponses	Référence
IL-2	IVC	10	0%	West et al., 1988 (108)
IL-2 + LAK	IVC	13	0%	West et al., 1987 (156)
IL-2 + LAK	IVC	4	0%	Eberlein et al., 1988 (33)
IL-2 + LAK	IVC	27	11% [1RC(4%)/2RP]	Rosenberg et al., 1988 (108)
IL-2 + LAK	IVC	42	12% [1RC(2%)/4RP]	Rosenberg et al., 1989 (44)
IL-2 + TiL	IVC	1	1RP	Topalian et al., 1988 (144)
IL-2 + IFNx (SC)	B	8	0%	Atzpodien et al., 1990 (6)
IL-2 + 5 FU	IVC	14	29% [4RP]	Hamblin et al., 1990 (44)
IL-2 + 5 FU	IVC	17	6% [1RP]	Tanner et al., 1990 (44)

B = Bolus/ IVC = Intraveineuse continue/ RC = Réponse complète/
 RP = Réponse partielle/ SM = Stabilisation maladie/
 5 FU = 5 fluoro-uracile

4.2.4. Le neuroblastome :

* Les résultats :

Voir tableau IX.

* Commentaires :

Le neuroblastome est la tumeur solide la plus fréquente chez l'enfant. Sa localisation est rétropéritonéale dans 75 % des cas avec une dissémination métastatique. Les métastases sont, en effet, présentes dans 50 % des cas au moment du diagnostic, surtout après l'âge de 1 an ; Elles sont essentiellement osseuses, médullaires et ganglionnaires.

Jusqu'à aujourd'hui, le pronostic de cette maladie de l'enfant est très mauvais.

Un progrès considérable a été effectué dans son traitement, en particulier avec une chimiothérapie à forte dose et une greffe de moelle osseuse. Des rechutes retardées jusqu'à 72 mois post-greffe ont représenté une amélioration des résultats, la régression spontanée de cette tumeur chez des enfants de moins de 1 an apporte un argument supplémentaire en faveur du rôle joué par le système immunitaire dans la défense antitumorale et du bénéfice potentiel de l'immunothérapie.

Le meilleur schéma de traitement semble actuellement l'utilisation de l'IL-2 après greffe de moelle osseuse, car les résultats sont plus probants qu'avec de l'IL-2 seule.

Les essais en cours ont pour but de déterminer le moment optimal pour injecter l'IL-2. Les données préliminaires suggèrent que l'IL-2 pourrait être administrée après un certain délai plutôt qu'immédiatement après la transplantation.

Là encore les modalités nouvelles de traitement confirmeront ou non l'indication de l'immunothérapie par l'IL-2 dans le neuroblastome.

TABLEAU IX : LE NEUROBLASTOME

Produit	Modes d'administration	Nombre de patients	Taux de réponses	Référence
IL-2 après greffe de moelle osseuse	IVC	2	50% [1RC]	Favrot et al., 1989 (38)
IL-2 après greffe de moelle osseuse	IVC	4	50% [1RC (25%)/1RP]	Favrot et al., 1989 (39)
IL-2 + LAK	IVC	15	14 progression de la maladie	Favrot et al., 1989 (39)

B = Bolus/ IVC = Intraveineuse continue/ RC = Réponse complète/
RP = Réponse partielle/ SM : Stabilisation maladie

4.2.5. Le cancer du sein :

* Résultats :

Voir tableau X.

* Commentaires :

Avec ce cancer, les premières études n'étaient pas encourageantes. Les patients initialement évalués avaient reçu une thérapie antérieure substantielle. Généralement cela ne convient pas pour tester une nouvelle drogue, particulièrement une drogue qui réalise son effet dans le système immunitaire.

En conséquence, l'absence de réponses objectives dans l'essai initial ISRAEL (non relaté dans le tableau) n'était pas trop surprenant.

Un deuxième groupe de patients n'ayant pas reçu une chimiothérapie antérieure, a donc été étudié.

Cinq jours d'IL-2 furent suivis par 2 mois de thérapie à faible dose. Une activité clinique est observée dans ce groupe, bien que les données soient assez floues. Néanmoins, cela démontre la nécessité d'établir la bonne thérapie, dans le groupe de patients le plus approprié.

Enfin, le développement de protocoles utilisant l'IL-2 en première thérapie, combinée avec le tamoxifène, peuvent aboutir à un progrès notable dans le traitement de ce type de tumeur.

4.2.6. Le cancer ovarien :

* Les résultats :

Voir tableau XI.

* Commentaires :

Deux approches ont été essayées chez des patients présentant un cancer ovarien :

TABLEAU X : LE CANCER DU SEIN

Produit	Modes d'admi- nistra- tion	Nombre de patients	Taux de réponses	Référence
IL-2	IVC	1	0%	Rosenberg et al. 1988 (108)
IL-2	IVC	11	9% [1RP/ 5SM]	Israël et al., 1989 (44)
IL-2	IVC	8	6SM	Morère et al., 1990 (44)
IL-2 + LAK	IVC	1	0%	West et al., 1987 (156)

**B = Bolus/ IVC = Intraveineuse continue/ RC = Réponse complète/
RP = Réponse partielle/ SM : Stabilisation maladie**

TABEAU XI : LE CANCER OVARIEN

Produit	Modes d'administration	Nombre de patients	Taux de réponses	Référence
IL-2	IVC	1	1RP	West et al., 1987 (156)
IL-2	IVC	10	10% [1RC]	Benedetti et al., 1989 (44)
IL-2	IVC	11	9% [1RC]	Panici et al., 1989 (91)
IL-2 intrapéritonéale	B	7	0%	Chapmann et al., 1988 (19)
IL-2 + LAK intrapéritonéale	B	10	20% [2RP]	Steis et al., 1990 (130)
IL-2 + carboplatine	IVC	5	40% [1RC (25%)1RP]	Rugarli et al., 1988 (115)

B = Bolus/ IVC = Intraveineuse continue/ RC = Réponse complète/ RP = Réponse partielle/ SM : Stabilisation maladie

La première porte sur l'utilisation d'une thérapie systémique. Quelques réponses furent notées ; Cependant, le protocole n'était pas particulièrement optimal.

La deuxième concernait la voie et l'injection intrapéritonéale : Voie qui a donné lieu à des controverses dans la presse scientifique en raison des risques de développement par les patientes de fibroses probablement dose-dépendantes. Maintenant que l'activité est notée chez environ 15 % des patientes, il semblerait approprié d'essayer de développer la voie intrapéritonéale dans le futur.

4.2.7. Les métastases hépatiques :

Avec les métastases hépatiques, il y a un changement du concept thérapeutique ; On est passé d'une approche systémique par I.V. à une approche ciblée par voie artérielle.

Théoriquement, cela semblait une voie adaptée au traitement, en particulier des patients atteints de métastases hépatiques.

Malheureusement, la mise en pratique du concept a présenté des difficultés notamment pour la mise en place de la cannule. Il semble donc à l'heure actuelle que la voie artérielle ne soit pas la voie optimale pour traiter les patients avec des métastases hépatiques et on revient donc à la thérapie I.V.

4.2.8. Le cancer superficiel de la vessie :

* Les résultats :

Voir tableau XII.

* Commentaires :

Les essais sont trop peu nombreux pour être interprétés. Toutefois dans l'avenir cette forme de cancer permet d'envi-

TABLEAU XII : LE CANCER SUPERFICIEL DE LA VESSIE

Produit	Modes d'administration	Nombre de patients	Taux de réponses	Référence
IL-2 (UI/m ² /J)	Intra- artériel continu			
18.103		3	0%	
18.104		3	42%	Tubaro et al., 1990 (44)
18.105		3	2RP	
18.106		3	1RP	

B = Bolus/ IVC = Intraveineuse continue/ RC = Réponse complète/
RP = Réponse partielle/ SM : Stabilisation maladie

sager l'application du concept de cible par administration intravésicale.

4.2.9. Le SIDA :

Dans le syndrome d'immuno-déficience acquis, on a pu montrer que les lymphocytes incubés avec de l'IL-2 développent une activité cytotoxique vis-à-vis des cellules infectées par des germes opportunistes, toutefois l'administration d'IL-2 aux patients atteints du SIDA s'est généralement soldée par un échec (103).

Néanmoins MURRAY et coll. (86) rapportent dans 10 cas de SIDA ayant présenté antérieurement des infections opportunistes, une stimulation in vivo de la production d'IFN α après administration d'IL-2 (1, 86).

4.2.10. Les leucémies et greffes de moelle osseuse :

Tous les essais sont en cours actuellement, et n'ont encore donné lieu à aucune publication de résultats.

5. Thérapie génique avec l'IL-2 :

Elle utilise des cellules lymphoïdes génétiquement modifiées, comme vecteurs de gènes étrangers.

En 1988, ROSENBERG aidé des biologistes BLAESE et ANDERSON développa une stratégie de modification génétique des lymphocytes afin d'augmenter leur efficacité antitumorale.

La première phase de cette recherche a consisté à insérer un gène de résistance à la néomycine, de façon à vérifier grâce à ce gène marqueur que les lymphocytes avaient bien intégré le

gène et étaient capables, ainsi modifiés, de survivre dans la circulation sanguine.

Le succès de cet essai permet maintenant d'envisager la deuxième phase proprement thérapeutique avec l'introduction dans les TiL du gène codant pour des cytokines telles que le TNF, l'IL-2 ou encore l'IFN α (3).

Des essais de thérapie génique utilisant des TiL sont en cours aux USA. Le gène codant pour le TNF est introduit dans les TiL du malade en culture. Les cellules ainsi modifiées sont réinjectées au malade, elles infiltrent la tumeur et y produisent le TNF en quantité, ce qui conduit à sa destruction.

La première greffe génique française a débuté au centre Léon Bérard avec l'aide d'une équipe américaine, les résultats ne seront connus qu'en 1992 (147).

6. Vaccinothérapie anticancéreuse :

Après l'immunothérapie des cancers, la thérapie génique anticancéreuse avec les TiL, le Pr ROSENBERG serait aujourd'hui sur le point d'identifier un gène du mélanome malin responsable de la production des antigènes spécifiques de ces cellules tumorales. Son expérience du transfert de gènes dans les TiL associée à cette découverte lui permet de proposer la mise en oeuvre d'un programme de vaccinothérapie.

L'objectif est d'introduire ce gène dans les cellules tumorales à l'aide d'un virus "transporteur" et de les réinjecter chez le patient. Les antigènes tumoraux produits en grande quantité provoqueraient une augmentation considérable du nombre des lymphocytes T spécifiques, ce qui devrait favoriser la disparition de la tumeur. ROSENBERG pense renforcer l'activité anti-tumorale, par l'intermédiaire de l'IL-2 en ajoutant son gène dans les cellules tumorales.

Les essais chez la souris ayant été soldés par un succès, une demande d'expérimentation humaine a été proposée auprès de la Food and Drug Administration (88).

Le but final serait d'associer une immunothérapie à une thérapie génique pour essayer dans les essais futurs d'immuniser l'homme contre le cancer à l'aide d'un vaccin anticancer.

H - LES EFFETS INDESIRABLES DE L'INTERLEUKINE :

Les propriétés anti-tumorales de l'IL-2 permettent la régression partielle ou complète de certains cancers métastasés insensibles aux traitements conventionnels.

Cependant son utilisation clinique est limitée par des effets secondaires de gravité variable. Ceux-ci n'entraînent, le plus souvent, qu'un inconfort transitoire mais ils sont parfois sévères et peuvent exceptionnellement entraîner le décès du malade.

La majorité des complications est liée à une perméabilité capillaire accrue.

La prise en charge des malades doit donc prévenir et limiter les conséquences néfastes de la fuite capillaire, afin de réduire la toxicité du traitement. Elle doit également permettre l'administration de la totalité du traitement ou à défaut augmenter la dose maximale tolérable. Enfin, l'inconfort des malades doit être atténué sans réduire l'effet anti-tumoral.

1. Fréquence des complications :

La fréquence et l'intensité des complications liées à l'administration d'IL-2 varient de façon considérable en fonction du protocole thérapeutique et du terrain.

L'analyse des données bibliographiques est rendue difficile par le faible nombre de malades inclus dans la majorité des séries, le caractère parfois incomplet des observations, le mode d'expression des résultats (toxicité par cure ou par malade, échelle de toxicité) et les variations portant à la fois sur la dose et le mode d'administration de l'IL-2. Les divers protocoles ne peuvent donc être comparés rigoureusement quant à la fréquence et la gravité des effets indésirables.

1.1. Influence de la dose :

Les études de phase I et II ont montré que la toxicité augmente avec la dose quotidienne administrée.

Si les doses quotidiennes inférieures à $3 \cdot 10^6$ UI/m² (bolus) sont généralement bien tolérées, les posologies plus élevées provoquent l'apparition de fièvre et de frissons dans les heures qui suivent l'injection et de la fatigue qui persiste quelques jours.

Les effets indésirables plus graves sont rencontrés avec des doses quotidiennes supérieures à $6 \cdot 10^6$ UI/ml, ils sont de nature digestive, cardio-vasculaire, rénale, hématologique, neurologique et septique. Leur fréquence et leur gravité augmentent parallèlement à la dose quotidienne administrée. (Voir tableau n° XIII).

L'ensemble des effets secondaires est réversible dans un délai de quelques heures à quelques jours (selon leur nature) après la fin de la perfusion d'IL-2.

1.2. Influence de l'administration concomitante de cellules LAK :

L'analyse des études successives de S.A. ROSENBERG (malades traités de façon identique et complications rapportées de façon identique) (74, 79, 93, 85, 67) permet de mettre en

COMPLICA- TIONS (%)	TRAITEMENT IL2 : 60.10 ⁶ UI/m ² /J avec LAK 486 patients (627 cures)	IL2 : 60.10 ⁶ UI/m ² /J sans LAK 73 patients** (155 cures)
Cardiovasculaires		
- Hypotension traitée par inotropes	69	
- Troubles du rythme	12	
- Infarctus	2	
Prise de poids > 10 %	30	12
Ventilation assistée	6	
Rénales		
- Créatininémie > 450 umol/l	15	6
- Oligurie (<250 ml/24h)	17	
Digestives		
- Nausées-vomissements	80	20
- Diarrhée	75	56
- Cholestase	28	7
Hématologiques		
- Transfusions globulaires	68	25
- Thrombopénies (< 25000)	14	
Neuropsychiques	43	
Frissons	52	
Sepsis	9	
Décès	2	

* : ROSENBERG 87 et 89, DUTCHER 89, FISHER 88, MARGOLIN 89

** : PACIUCCI 89, THOMPSON 88 et 89

TABLEAU XIII: FREQUENCE DES COMPLICATIONS A FORTE ET A FAIBLE DOSE D'IL-2
(résultats exprimés en % par cure).

évidence une toxicité plus importante chez les patients soumis à un protocole comportant des réinjections de cellules LAK.

Pour des doses d'IL-2 de $1,8 \cdot 10^6$ UI/kg/J administrées en 3 injections (soit environ $60 \cdot 10^6$ UI/m²/J, la fréquence des frissons, complications septiques, troubles du rythme cardiaque, hypotension et transfusions, est plus élevée chez les malades traités par IL-2 et cellules LAK que chez ceux recevant uniquement de l'IL-2. (Voir tableau n° XIV).

1.3. Influence du mode d'administration de l'IL-2 :

La dose quotidienne d'IL-2 peut-être administrée en 3 bolus intraveineux directs, par brève perfusion de 2 heures ou par perfusion continue sur 24 heures. Aucune étude ne permet de comparer la fréquence et la gravité des complications associées à ces 3 modes d'administration.

Cependant la dose quotidienne maximale définie dans les études de phase I est plus élevée quand l'IL-2 est administrée en bolus et seul ce mode d'injection a jusqu'à présent été effectué à forte dose ($60 \cdot 10^6$ UI/m²/J).

2. Nature des complications :

2.1. Complications cardio-vasculaires :

Elles représentent la cause principale de la morbidité et de la mortalité liée à l'immunothérapie par l'IL-2. Les accidents les plus fréquents sont de nature hémodynamique mais il existe également des troubles du rythme cardiaque et des épisodes d'insuffisance coronaire aiguë (71).

TRAITEMENT	IL2 : 60.10 ⁶ UI/m ² /J avec LAK 358 patients (449 cures)	IL2 : 60.10 ⁶ UI/m ² /J sans LAK 128 Patients (178 cures)
COMPLICATIONS	n (%)	n (%)
Cardiovasculaires		
- Hypotension traitée par inotropes	326 (73)	110 (62)
- Troubles du rythme	61 (15)**	14 (8)
- Infarctus	11 (2,5)	4 (2)
Prise de poids > 10 %	144 (32)	44 (25)
Ventilation assistée	23 (5)	13 (7)
Rénales		
- Créatininémie > 450 µmol/l	74 (16)	23 (13)
- Oligurie (<250 ml/24h)	82 (18)	24 (13)
Digestives		
- Nausées-vomissements	210 (80)*	141 (79)
- Diarrhée	201 (76)*	129 (72)
- Cholestase	109 (24)	66 (37)
Hématologiques		
- Transfusions globulaires	331 (74)	93 (52)
- Thrombopénies (< 25000)	62 (14)	22 (12)
Neuropsychiques	173 (42)**	83 (47)
Frissons	168 (64)*	61 (34)
Sepsis	51 (11)	8 (4)
Décès	6 (1,3)	5 (3)

ROSENBERG 87 et 89, DUTCHER 89, FISHER 88, MARGOLIN 89

* : n = 193 (264 cures)

** : n = 323 (414 cures)

TABLEAU XIV : FREQUENCE DES COMPLICATIONS POUR DES DOSES ÉLEVÉES D'IL-2 EN FONCTION DE L'ADMINISTRATION DE LAK
(résultats exprimés en % par cure).

2.1.1. Syndrome de fuite capillaire :

Il représente le problème le plus fréquent, sinon, le plus constant, en tout cas le plus préoccupant dans la conduite du traitement (24).

L'effet vaso-dilatateur majeur par action sur l'endothélium se traduit par l'extravasation des protéines et du liquide plasmatique des capillaires vers le milieu extravasculaire où il est séquestré avec une diminution des résistances vasculaires périphériques.

Ainsi y-a-t-il accumulation de liquide dans le parenchyme de nombreux organes et dans les tissus mous d'où formation d'oedèmes généralisés, d'épanchement pleural ou péritonéal, d'oedème cérébral et pulmonaire avec détresse respiratoire, prise pondérale brutale (5 à 10 kg en moyenne, parfois 20 kg), hypotension, et tachycardie (11).

Cet ensemble hémodynamique est très voisin de la phase initiale du choc septique (48).

L'origine de ce "capillary leak syndrome" est mal connue. On suggère plusieurs processus, libération de substances vaso-actives (histamine, leucotriènes, prostaglandines, système des kinines), activation du complément, toxicité directe de l'IL-2 sur l'endothélium vasculaire, rôle d'autres cytokines telles le TNF ou l'IL-1 libérées en cascade. Si l'on sait que le TNF peut être tenu responsable de presque tous les signes du choc septique, le rôle de l'IL-1 est plus discutable.

En effet, récemment PURI et coll. (97), ont décrit chez la souris, une diminution de la perméabilité vasculaire et de l'oedème pulmonaire grâce à l'injection d'IL-1 α .

2.1.2. Complications hémodynamiques :

Elles résultent directement de l'augmentation de la perméabilité capillaire qui a été mise en évidence chez l'animal par des études à l'albumine marquée.

Chez les patients traités par IL-2 avec réinjection de cellules LAK, on constate :

- Une augmentation de la fréquence cardiaque.
- Une diminution de la pression artérielle systémique moyenne.
- Une diminution des résistances artérielles systémiques.
- Une élévation de l'index cardiaque.
- Une diminution de la fraction d'éjection du ventricule gauche.

Par contre, aucune modification des pressions de remplissage ventriculaire droite et gauche n'a été observée.

Il existe donc sous IL-2 un état hyperkinétique marqué par une élévation du débit cardiaque et une baisse des résistances artérielles systémiques.

A des doses de $60 \cdot 10^6$ UI/ml (bolus), les anomalies hémodynamiques se traduisent par une baisse de pression artérielle dont le maintien nécessite dans 70 % des cas un remplissage vasculaire ou des drogues vasopressives qui peuvent être elles-mêmes à l'origine des conséquences néfastes. Le remplissage vasculaire (qu'elle qu'en soit la nature) entraîne du fait de l'hyperperméabilité capillaire une prise de poids (supérieure à 10 % du poids dans un tiers des cas) et un oedème pulmonaire qui conduit à la ventilation assistée chez 6 % des malades traités par IL-2 à fortes doses (53). (Voir tableau n° XIII).

Les drogues vasopressives modifient les résistances vasculaires régionales et peuvent ainsi aggraver les anomalies de l'extraction tissulaire d'oxygène et précipiter les défaillan-

ces viscérales ; de plus elles augmentent la consommation d'oxygène myocardique et favorisent les accidents coronariens.

2.1.3. Troubles du rythme :

Les troubles du rythme cardiaque observés sous l'IL-2 peuvent être auriculaires ou ventriculaires. Ils concernent moins de 10 % des patients et sont probablement favorisés par l'hypoxémie, l'hypovolémie, les anomalies métaboliques et les drogues vasopressives.

Quelques cas de mort subite ont été rapportés, ils pourraient être dûs à un trouble du rythme ventriculaire rapide passé inaperçu.

2.1.4. Les accidents myocardiques :

En dehors de l'insuffisance coronaire aiguë observée dans 4 % des cures et des infarctus du myocarde (jusqu'à 2,5 % des cures d'IL-2 à forte dose), des myocardites sans ischémie ont été décrites.

Contrairement aux accidents ischémiques, elles sont réversibles et ne laissent pas de séquelle à l'arrêt du traitement ; leur physiopathologie n'est pas très claire (67).

2.2. Complications rénales :

Elles sont en grande partie liées aux anomalies hémodynamiques. L'ensemble des études consacrées au sujet conclut à l'existence d'une insuffisance rénale fonctionnelle caractérisée par une oligurie, une élévation de l'urée sanguine et de la créatinémie associée à une élévation de l'activité rénine plasmatique .

Il existe également une diminution de la natriurèse et de

l'excrétion fractionnelle du sodium. Ces perturbations sont le plus souvent aggravées par une tubulographie liée aux épisodes hypotensifs sévères et par les anti-inflammatoires non stéroïdiens souvent prescrits pour diminuer la fièvre et les frissons.

A des doses de 60.10^6 UI/m²/J (bolus), l'insuffisance rénale grave (créatinémie > 450 micromol/l) s'observe dans 15 % des cas, les oliguries (diurèse < 250 ml/J) dans 17 % des cas. Aucune épuration extra-rénale n'a été signalée dans la littérature.

Quelques cas de syndromes néphrotiques ont été également décrits.

Les complications rénales sont favorisées par une insuffisance rénale préalable alors que la néphrectomie préalable ne semble pas influencer leur fréquence ou leur intensité.

Les complications rénales sont toujours réversibles à l'arrêt de l'IL-2 et la fonction rénale se normalise dans un délai de quelques jours suivant la fin du traitement.

2.3. Complications digestives :

Les nausées, vomissements et diarrhée surviennent chez 50 à 75 % des malades traités à doses conventionnelles (bolus ou continu). L'existence de pertes digestives hautes et basses complique singulièrement la réanimation hydro-électrolytique de ces malades.

Quelques cas de perforations coliques en territoire non tumoral ont été rapportés (119).

Les complications hépatiques sont de deux ordres : Des hépatites transfusionnelles ont été signalées chez les malades

traités par IL-2 et réinjection de cellules LAK. Elles sont liées au plasma hétérologue utilisé pour les milieux de culture. L'utilisation de plasma homologue prélevé par plasmaphérèse avant le traitement supprime cette complication.

Une cholestase intra-hépatique plus ou moins sévère, sans cytolyse, a été rapportée chez 25 à 37 % des malades traités par fortes doses. Cette complication a toujours été réversible en moins d'une semaine. Son mécanisme n'est pas élucidé (infiltration lymphoïde, fuite capillaire, toxicité directe de l'IL-2 ou d'autres cytokines ?).

2.4. Complications hématologiques :

Les conséquences hématologiques de l'immunothérapie par IL-2 portent sur les 3 lignées :

- L'anémie nécessite une transfusion chez 68 % des malades traités à fortes doses ; elle est plus fréquente en cas de cytaphérèses et réinjection de cellules LAK. Elle est fonction de la dose d'IL-2.

- Les thrombopénies profondes ($< 2500/mm^3$) sont beaucoup plus rares, elles surviennent dans moins de 15 % des cas, même avec de fortes doses, et ne sont pas décrites avec des doses intermédiaires (90).

- Les anomalies de la lignée leucocytaire pendant le traitement touchent évidemment les lymphocytes dont le nombre est diminué au début de la thérapie. Une hyperéosinophilie parfois majeure est décrite souvent associée à une neutropénie très modérée (62).

L'anémie peut être majorée par les prélèvements itératifs, les cytaphérèses et l'hémodilution mais il existe également un mécanisme central. Chez la majorité des patients, il n'a pas été retrouvé de cause de saignement ni de stigmates d'hémolyse. La thrombopénie semble relever d'un mécanisme périphérique qui

peut-être lié au TNF. Ces thrombopénies ne sont pas associées à une coagulopathie de consommation.

2.5. Complications neuropsychiques :

L'administration systémique d'IL-2 est responsable de troubles neuropsychiques variables :

- Troubles du comportement et de l'humeur (agitation, agressivité, hallucinations le plus souvent).

- Troubles des fonctions supérieures (désorientation temporo-spatiale).

- Troubles de conscience (sommolence, obnubilation).

La fréquence des signes neuropsychiques augmente avec la dose administrée et l'emploi de cellules LAK.

L'ensemble de ces manifestations est réversible à l'arrêt du traitement (29, 146).

2.6. Complications endocriniennes :

De nombreuses hormones voient leur taux plasmatique varier de façon considérable : Une élévation des taux de cortisol, d'ACTH et de TSH ainsi qu'une baisse des taux d'hormones thyroïdiennes ont été décrites. Cependant, un seul cas d'insuffisance surrénale aiguë par hémorragie surrénalienne bilatérale est connu.

Des hypo- ou hyperthyroïdies sont fréquemment décrites. L'hypothyroïdie symptomatique est rare ; elle semble d'origine auto-immune et non réversible. Pour certains, elle s'observerait davantage chez les patients répondeurs au traitement (5, 18, 76, 78).

2.7. Complications infectieuses :

Les accidents infectieux sont habituellement moins fréquents que les complications précédentes mais ils représentent la deuxième cause de mortalité après les accidents cardiovasculaires.

Leur fréquence ne semble pas dépendante de la dose administrée mais elle est plus grande dans les séries comportant des cellules LAK (11 % contre 4 %).

La majorité des complications infectieuses est liée à l'utilisation de cathéters centraux pour l'administration de l'IL-2 ou la réalisation de cytophèreses. Cependant, un mécanisme direct est probable en raison des anomalies de chimiotactisme des polynucléaires observées in-vitro sous IL-2.

Le diagnostic des complications infectieuses, notamment septicémiques est rendu difficile par l'existence de la fièvre et des frissons liés à l'IL-2 (127).

2.8. Syndrome pseudo-grippal :

Il comprend fièvre, frissons, sensation de malaise. Il est quasi constant et imputable à la sécrétion d'IFN α dont le pic sérique s'élève après l'IL-2.

2.9. Complications respiratoires :

L'essentiel des manifestations respiratoires symptomatiques est lié à l'oedème pulmonaire lésionnel secondaire à l'hyperperméabilité capillaire et dans plusieurs séries, à un remplissage vasculaire excessif.

L'exploration fonctionnelle respiratoire de patients traités par IL-2 et réinjection de TiL a mis en évidence un syndrome obstructif partiellement réversible sous β_2 sympathomiméti-

ques ainsi qu'un syndrome restrictif plus modéré.

2.10. Signes cutanés :

Le prurit est fréquent (106). Les signes cutanés proprement dits, surviennent chez presque tous les malades (47). Ils sont polymorphes mais assez stéréotypés.

On peut voir un érythème localisé à la face (régions malaires) au cou, au thorax ou une érythrodermie prurigineuse, douloureuse, parfois pétéchiiale avec oedème palmo-plantaire.

L'évolution se fait vers la desquamation diffuse 48-72 heures après l'arrêt du traitement. Parfois s'associe une stomatite érythémateuse ou érosive, une glossite décapillée, un effluvium télogène. Le tableau clinique est très proche de celui rencontré dans les réactions du greffon contre l'hôte.

Plus rarement s'observent des érosions cutanées multiples ou confinées à des cicatrices chirurgicales.

Enfin, il a été constaté des aggravations de psoriasis antérieur avec soit simple poussée de psoriasis en plaque localisée soit passage en érythrodermie qui de toute façon est rapidement résolutive (90, 118).

2.11. Asthénie :

L'ensemble de ces manifestations s'accompagne de façon constante d'une asthénie très intense qui s'aggrave au fil des jours et empêche parfois la poursuite ou la reprise du traitement en raison de l'inconfort qu'elle provoque.

2.12. Décès :

La fréquence des décès reste faible même avec des doses élevées d'IL-2 (< 3 %). Les causes les plus fréquentes sont les accidents cardio-vasculaires et les complications septiques.

3. Physiopathologie :

Le mécanisme exact par lequel l'IL-2 entraîne des manifestations aussi polymorphes est actuellement mal connu. Si bon nombre des complications observées sont liées aux conséquences hémodynamiques de l'hyperperméabilité capillaire, l'origine de celle-ci reste à découvrir.

L'exploration hémodynamique de malades traités par IL-2, l'établissement de modèles animaux et les nombreux travaux consacrés à l'ensemble des cytokines ont fait progresser pour une large part nos connaissances dans ce domaine. Des progrès réalisés, on peut attendre une meilleure prévention et une prise en charge optimale de l'immunothérapie.

Un certain nombre d'arguments expérimentaux suggèrent l'absence de responsabilité directe de l'IL-2 dans les effets secondaires qu'elle provoque :

- * La fièvre est constamment associée au traitement ; elle est secondaire à la synthèse de prostaglandines E2 par l'hypothalamus. Cependant, l'IL-2 n'augmente pas directement cette synthèse in-vitro (contrairement à l'IL-1 et au TNF).

- * L'injection à l'animal du surnageant de cellules mononuclées stimulées par l'IL-2 élève plus précocement la température que l'injection d'IL-2 elle-même.

- * L'effet pyrogénique de l'IL-2 est retardé par rapport à celui des autres cytokines pyrogéniques (IL-1 et TNF).

- * L'injection d'IL-2 à des souris nues, irradiées ou

préalablement traitées par un Ac monoclonal anti CD3, n'entraîne pas d'effet secondaire.

On peut en déduire que les lymphocytes et monocytes activés par l'IL-2 sécrètent d'autres cytokines qui joueraient un rôle majeur dans la médiation des effets systémiques de l'IL-2. Parmi elles, le TNF et l'IL-1 peuvent être responsables de la fièvre, mais, seuls les taux de TNF sont élevés chez les malades traités par IL-2. Celui-ci semble donc être le principal responsable de la fièvre et des effets secondaires initiaux.

Les lésions endothéliales responsables de l'augmentation de la perméabilité capillaire peuvent résulter de deux mécanismes, l'un direct, l'autre indirect. Le TNF et l'IL-1 induisent des modifications morphologiques des cellules endothéliales (élongation et altération des filaments d'actine) et l'apparition sur ces cellules endothéliales de récepteur aux monocytes et aux lymphocytes T.

Parallèlement, les cellules NK stimulées par l'IL-2 semblent adhérer aux cellules endothéliales et les léser indépendamment de l'action de l'IL-1 et du TNF. Ce dernier semble jouer un rôle central dans l'apparition de la fièvre, de l'hyperperméabilité capillaire et des modifications hémodynamiques et respiratoires qui en découlent. Le nombre croissant de résultats tant cliniques qu'expérimentaux démontrant le rôle du TNF dans le choc septique et le syndrome de détresse respiratoire aigu de l'adulte (syndromes proches de l'ensemble des complications cardiovasculaires et respiratoires observées sous IL-2) confirme cette hypothèse.

Le TNF n'est probablement pas le seul médiateur mis en jeu ; une augmentation des taux de C3a circulant et d'IFN α a été rapportée sous IL-2, leurs rôles respectifs restent à définir mais semblent moins importants que celui joué par le TNF.

4. Prise en charge thérapeutique :

Indépendamment du choix de la dose et du mode d'administration, 3 approches sont susceptibles de réduire les effets secondaires de l'IL-2 :

- Sélection des patients.
- Limitation de l'hyperperméabilité capillaire.
- Traitement symptomatique.

4.1. Sélection des patients :

Les principales causes de décès sous IL-2 sont les troubles du rythme ventriculaire, les insuffisances coronaires aiguës et les complications septiques.

Le dépistage des patients à risque, avant la mise en route du traitement, devrait en réduire la fréquence. Les antécédents de troubles du rythme ventriculaire et d'insuffisance coronaire représentent donc des contre-indications au traitement par IL-2.

Chez les malades sans antécédents cardio-vasculaires âgés de plus de 40 ans, il est souhaitable d'effectuer un électrocardiogramme de repos et une scintigraphie myocardique d'effort qui, positifs, contre-indiquent également le traitement.

De même, une insuffisance respiratoire sévère, une insuffisance rénale ou un état général altéré (indice de Karnofski < 80) sans être des contre-indications absolues, doivent rendre très vigilants.

4.2. Limitations de l'hyperperméabilité capillaire :

Les principales conséquences physiopathologiques de l'immunothérapie par IL-2 semblent être médiées par le TNF. Des tentatives d'inhiber celui-ci avec les corticostéroïdes et l'IL-1 α ont été effectuées dans le but de réduire l'hyperper-

méabilité capillaire et ses conséquences.

Ces diverses modalités thérapeutiques, bien qu'attractives, sont encore expérimentales, leur efficacité et leur innocuité chez l'homme restent à établir avant qu'une utilisation clinique puisse être envisagée.

4.3. Traitement symptomatique et surveillance :

4.3.1. Réanimation hydro-électrolytique :

Les apports entéraux ou parentéraux visant à rétablir la volémie des patients sous IL-2 entraînent, qu'elle que soit leur nature (cristalloïde, colloïde, albumine concentrée), une prise de poids et l'apparition d'oedèmes périphériques et pulmonaires.

Face à l'hyperperméabilité capillaire, le remplissage vasculaire est donc théoriquement illogique. Sans apporter d'amélioration hémodynamique ou rénale, il aggrave la fonction respiratoire.

La prévention des accidents respiratoires nécessite un bilan hydrosodé nul mais il faut également éviter la déshydratation qui aggraverait l'hypovolémie efficace et l'insuffisance rénale fonctionnelle.

En pratique, la prise de poids doit se limiter à moins d'1 Kg/J.

L'établissement du bilan hydrosodé des malades traités par IL-2 est rendu difficile par des pertes extra-rénales accrues, difficilement évaluables. En dehors de la diurèse, le bilan hydrique doit tenir compte des pertes digestives (vomissements et diarrhées) qu'il faut quantifier précisément et des pertes sudorales et respiratoires (qui représentent habituellement

700 ml chez l'adulte), qu'il faut majorer de 300 ml par degré de température au-dessus de 37°C.

Parallèlement, l'ensemble des apports (entéraux et parentéraux) doit être mesuré quotidiennement. La surveillance de l'équilibre hydrosodé doit se faire sur la diurèse toutes les 6 heures, le poids toutes les 12 heures ; l'établissement de bilan des entrées et des sorties en eau et en sel et le ionogramme sanguin et urinaire sont quotidiens.

En pratique, il suffit pendant les deux premiers jours de limiter les perfusions à 500 ml de solution cristalloïde qui assurent la perméabilité de la voie veineuse centrale et de limiter les apports hydriques oraux au maximum à 1000 ml. Vers la quarante-huitième heure, l'apparition ou la majoration de la fièvre, les vomissements, la diarrhée et l'anorexie, conduisent parfois à élargir les apports parentéraux pour obtenir un bilan hydrosodé nul.

Une élévation de créatininémie supérieure à 450 micromol/l conduit généralement à interrompre le traitement mais ne constitue pas une contre-indication à sa reprise ultérieure et au renouvellement des cures. Les diurétiques ne sont généralement efficaces dans la relance de la diurèse qu'après l'arrêt du traitement, ils n'ont pas d'indication pendant la cure.

A la fin de la cure, la diurèse se normalise généralement de façon spontanée en quelques heures, un traitement diurétique transitoire est parfois nécessaire à la relance de la diurèse après normalisation de l'hémodynamique. Enfin, la fonction rénale se normalise en 2 à 4 jours, ce qui permet généralement d'effectuer les cures suivantes dans les délais prévus.

4.3.2. Prise en charge hémodynamique :

La pression artérielle et la fréquence cardiaque doivent

être surveillées toutes les 2 heures, voire plus souvent, si l'hémodynamique est instable. La surveillance continue du rythme cardiaque ne peut se concevoir qu'en unité spécialisée de soins intensifs et ne peut être généralisée à tous les malades. Elle doit être effectuée en cas d'extra-systoles ventriculaires, de trouble du rythme supra-ventriculaire ou ventriculaire dépisté cliniquement ou sur l'électrocardiogramme quotidien.

La surveillance hémodynamique invasive par cathétérisme artériel pulmonaire n'est pas utile en routine, elle doit être réservée aux états de choc et aux insuffisances respiratoires aiguës qui ne cèdent pas à l'arrêt du traitement et reste donc d'indication exceptionnelle.

De même, la mesure de la pression veineuse centrale n'apporte pas d'élément décisif pour la conduite thérapeutique, elle est mal corrélée à la pression capillaire pulmonaire et demande des manipulations itératives du cathéter central qui favorisent les complications septiques.

L'hypotension artérielle ne nécessite un traitement spécifique que si la pression systolique est inférieure à 80 mm de Hg sur deux prises successives à une heure d'intervalle. En présence d'une telle hypotension, on peut tenter un remplissage vasculaire transitoire par albumine concentrée (20 %) si le bilan est négatif (perte de poids). En cas d'échec de cette manoeuvre ou devant un bilan hydrosodé nul ou positif, les vasopresseurs (Dopamine) sont introduits ; leur administration nécessite une unité de soins intensifs avec surveillance d'un électrocardiogramme continu.

L'échec de ce traitement doit conduire à l'arrêt transitoire de l'IL-2, puis à sa reprise à mi-dose dès normalisation de la pression artérielle.

Les autres drogues inotropes (Dopamine notamment) n'ont pas d'indication en dehors d'une insuffisance ventriculaire

gauche documentée. L'insuffisance coronaire aiguë, qu'elle que soit sa nature, impose l'arrêt immédiat du traitement de même que les troubles du rythme ventriculaire soutenus.

4.3.3. Prévention des complications septiques :

L'IL-2 doit être administrée sur une voie veineuse centrale. Le risque élevé de complications septicémiques nécessite une manipulation rigoureuse de cathéter. La tunnélisation de celui-ci, les changements réguliers des pansements, effectués aseptiquement, peuvent éviter une partie de ces complications.

Les cytophères doivent, dans la mesure du possible, être effectuées par des voies périphériques ou sur une voie centrale réservée à cet usage.

Toute manoeuvre superflue (prise de pression veineuse centrale, prélèvements) doit être proscrite de même que les injections intraveineuses directes dans le cathéter qui entraînent des modifications du débit de l'IL-2.

Une hémoculture quotidienne doit être effectuée pour dépister précocement les septicémies. A la fin de la cure, il est indispensable de vérifier la défervescence (l'apyrexie doit survenir dans les heures qui suivent l'interruption du traitement). La persistance de la fièvre au-delà, de ce délai, doit faire rechercher une complication septique.

L'efficacité d'un traitement antibiotique prophylactique est discutée. L'utilité et l'innocuité d'un tel traitement chez les malades porteurs d'un cathéter central tunnélisé de calibre habituel n'ont pas été évaluées et il est important de noter que les aminosides sont à proscrire durant le traitement par l'IL-2.

4.3.4. Prévention et traitement des autres complications :

* Les manifestations neuropsychiques, posent parfois de réels problèmes thérapeutiques. Elles peuvent être en partie prévenues ou atténuées par une prise en charge non médicamenteuse. Celle-ci comporte une information concernant la nature des effets indésirables susceptibles de survenir durant le traitement et le caractère constamment réversible de l'ensemble de ces manifestations.

Durant le traitement, il semble utile de favoriser les contacts avec le monde extérieur (musique, télévision), la présence d'un membre de la famille proche contribue également à soulager l'angoisse et à atténuer les manifestations neuropsychiques.

Quand ces moyens sont dépassés, les neuroleptiques peuvent devenir indispensables et sont généralement efficaces sur les hallucinations, l'agitation et l'agressivité.

Les troubles de conscience ont parfois été suffisamment sévères pour entraîner la ventilation artificielle et l'arrêt du traitement.

* Les manifestations digestives sont dominées par les vomissements et la diarrhée, très fréquents, quelle que soit la dose employée. Elles doivent être prises en compte qualitativement et quantitativement dans la réanimation hydroélectrolytique et sont souvent difficiles à juguler par des ralentisseurs du transit et les anti-émétiques. Parmi ces derniers le Zophren^R et le Kytril^R utilisés à l'hôpital depuis peu, semblent très efficaces sans majoration des effets secondaires de l'IL-2.

* Les complications rénales sont secondaires aux anomalies hémodynamiques. Elles ne bénéficient d'aucune thérapeutique spécifique en dehors de la Dopamine et de la réanimation hydro-électrolytique (2).

Les médicaments néphrotoxiques doivent être proscrits. A cet égard, les anti-inflammatoires non stéroïdiens prescrits à visée antipyrétique sont relativement dangereux, cependant, leurs effets bénéfiques potentiels sur l'activité antitumorale de l'IL-2 sont susceptibles de compenser leur néphrotoxicité.

* La fièvre constamment élevée dès que la dose dépasse $6.10^6/m^2/J$ participe à la tachycardie, la vasodilatation et l'augmentation du débit cardiaque.

Elle peut être relativement contrôlée par le paracétamol ; L'emploi des anti-inflammatoires non stéroïdiens est beaucoup plus discutable. Les corticoïdes sont proscrits.

La persistance de la fièvre au-delà de la 6ème heure après l'arrêt du traitement doit faire rechercher un sepsis.

* Les complications thrombo-emboliques sont favorisées par la néoplasie sous-jacente, l'alitement, l'IL-2 et les cathéters. Elles doivent être prévenues par les anti-coagulants à dose préventive.

4.3.5. Précautions spécifiques vis-à-vis du traitement comportant des cellules LAK :

Les réinjections des cellules LAK s'accompagnent de frissons intenses. Elles doivent se faire sous stricte surveillance du rythme cardiaque et de la pression artérielle en milieu de réanimation.

La perfusion d'IL-2 peut-être interrompue 30 minutes avant la perfusion des LAK pour éviter un bolus d'IL-2 pendant celle-ci.

Les frissons peuvent être atténués par l'administration préalable de polaramine.^R

4.3.6. Interruption du traitement :

L'IL-2 doit être interrompue dans les circonstances suivantes :

- Pression artérielle inférieure à 80 mm de Hg malgré l'emploi d'inotropes associés, selon le bilan hydrique, à un remplissage vasculaire.
- élévation de la créatininémie au-delà de 450 micromol/l.
- Insuffisance respiratoire aiguë nécessitant la ventilation artificielle.
- Troubles sévères de la conscience.
- Troubles du rythme ventriculaire.
- Insuffisance coronaire aiguë.

Les quatre dernières complications citées doivent entraîner un arrêt définitif du traitement alors qu'il est possible de réintroduire l'IL-2 à dose plus faible après correction d'une insuffisance rénale ou normalisation de la pression artérielle.

4.3.7. Fin de la cure :

Le malade doit être surveillé pendant les 6 à 12 heures suivant la fin du traitement pour vérifier la reprise de la diurèse, la normalisation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle ainsi que l'obtention de l'apyrexie.

5. Conclusion :

La prise en charge des malades traités par l'IL-2 est actuellement, du moins en ce qui concerne la prévention et le traitement des effets secondaires, largement empirique.

La stratégie générale et les thérapeutiques symptomatiques exposées ci-dessus n'ont pas fait l'objet d'une évaluation rigoureuse. Elles sont le fruit de l'expérience clinique qui

commence à peine à s'élargir et leur efficacité est encore réduite.

Les effets secondaires constituent, à l'heure actuelle, le principal facteur limitant l'immunothérapie par IL-2.

I - SYNTHÈSE ET DISCUSSION :

1. Réponse tumorale et modalités thérapeutiques :

1.1. Interleukine-2 seule :

L'IL-2 recombinante, utilisée seule, a certainement une activité anticancéreuse chez les Hommes.

Des études précoces en phase I/II ont été menées sur des patients sélectionnés délibérément après un échec vis-à-vis d'autres thérapies ou lorsqu'il n'y avait pas de traitement standard à disposition. Ces patients avaient des cancers résistants : Des mélanomes malins, des carcinomes rénaux, des sarcomes, des lymphomes malins et des adénocarcinomes localisés en divers sites : Colon, poumon, sein, etc...

LOTZE et Coll. en 1986 ont été les premiers à rendre compte de réponses (bien que partielles) chez 3 des 6 patients mélanomateux qui avaient reçu de fortes doses de r IL-2 (80).

Ensuite un nombre de rapports sur l'IL-2 seule ont confirmé cette activité principalement dans les carcinomes métastatiques rénaux et les mélanomes malins qui semblent plus sensibles à l'IL-2 ; des réponses partielles ont aussi été rapportées dans les lymphomes et des cancers coliques.

En 1991, le bilan des essais thérapeutiques avec IL-2 est simple : L'IL-2 apparaît d'ores et déjà comme le médicament le plus actif dans le traitement du cancer du rein et l'un des rares médicaments efficace dans le mélanome. La place de l'IL-2 dans le traitement d'autres tumeurs solides reste à préciser.

On peut penser que l'IL-2 aurait de meilleures chances d'être active si elle était donnée plus précocement et non pas après l'échec de plusieurs essais de chimiothérapie conventionnelle ayant profondément diminué le pool des lymphocytes potentiellement activables par l'IL-2.

1.2. Interleukine-2 et cellules LAK :

Initialement, on pensait que les cellules LAK potentialiseraient la réponse, mais les essais ultérieurs ont montré que le taux de réponse n'est pas significativement différent entre les patients traités par les cellules LAK et ceux traités sans les cellules LAK. En conséquence, l'importance des cellules LAK dans le traitement des patients porteurs d'un adénocarcinome métastatique rénal ou d'un mélanome malin a été considérablement réduite (137).

Bien que le rôle des cellules LAK semble être moins significatif en pratique clinique que dans les modèles expérimentaux, leurs natures et fonctions doivent être étudiées plus en détail. Les méthodes de leucaphérèse devraient être améliorées. La culture devrait porter sur des lymphocytes plus spécifiques afin de déterminer leur localisation sélective dans les sites tumoraux. C'est seulement de cette façon qu'il sera possible de comprendre si les cellules LAK sont des agents antitumoraux spécifiques ou simplement un complément immunologique non-spécifique.

1.3. Interleukine et cellules TiL :

Cette nouvelle voie de traitement semble très prometteuse, au vue des résultats des premiers essais réalisés. Toutefois, l'insuffisance du nombre des essais et le manque de connaissance de ces cellules TiL ne permettent pas à l'heure actuelle d'évaluer de manière significative l'efficacité globale de cette immunothérapie (137).

Les cellules TiL grâce à leur spécificité antitumorale se prêtent bien aux protocoles de thérapie cellulaire. Ils permettent la modification au laboratoire de ces cellules soit par des facteurs de croissance , soit par introduction de gènes, puis leurs réinjections aux malades.

1.4. Interleukine-2 locale-régionale :

Il a été étudié de nouvelles voies d'administration de l'IL-2 et des cellules killers induites par l'IL-2 ; dont les plus intéressantes au niveau local de la maladie, comme le système nerveux central et les cavités intrapéritonéales et intravésicales (157).

L'administration locale de lymphocytes augmente les effets thérapeutiques de l'immunothérapie adoptive et réduit les effets secondaires liés au traitement (137).

Ces résultats préliminaires avec l'IL-2 administrée localement sont encourageants mais ils demandent des investigations complémentaires dans ce domaine.

1.5. Interleukine avec cytokines ou médicaments cytostatiques :

Avec l'émergence de diverses modalités alternatives en immunothérapie cellulaire, l'association de cytokines humaines

recombinantes s'est avérée de plus en plus judicieuse pour développer de nouvelles thérapies contre le cancer.

L'addition de cytokines supplémentaires dans une thérapie combinatoire avec l'IL-2 améliore grandement l'effet antitumoral remarqué dans certains modèles.

Lorsqu'il est administré simultanément à l'IL-2, l'IFN α améliore l'activité antitumorale. On ne sait pas encore si cet effet positif est dû à une meilleure cytotoxicité des cellules effectrices antitumorales observées lors de l'utilisation des deux agents biologiques ou à un effet modulateur de l'IFN α sur la susceptibilité des cellules tumorales à subir une lyse, peut-être par une expression accrue des antigènes du C.M.H. de classe I.

De même, la combinaison, dans les modèles animaux, de l'IL-2 avec le TNF est plus active que chacun des agents pris séparément. La meilleure activité antitumorale est obtenue par l'administration simultanée de ces deux cytokines, mais de récentes études ont montré que cet effet dépend de l'ordre des injections, avec comme stratégie la plus efficace, le TNF précédant l'IL-2.

Les mécanismes biologiques qui sous-tendent cette interaction restent de l'ordre de la spéculation.

Les modèles précliniques et cliniques utilisant des combinaisons de cytokines ont donné un aperçu de la complexité des mécanismes de ces interactions et ont mis l'accent sur la nécessité d'une compréhension biologique plus complète avant que des bases rationnelles pour la thérapie à l'IL-2 puissent être posées.

L'utilisation d'IL-2 et d'anticorps monoclonaux réagissant avec des antigènes à la surface des cellules malignes repose sur des bases théoriques considérables et quelques bases expérimentales.

On a démontré *in vitro* que des anticorps réagissant avec la surface des cellules tumorales accroissent la cytotoxicité des cellules LAK ; c'est avec les mélanomes malins qu'une efficacité antitumorale supplémentaire s'est révélée la plus intéressante.

Il existe donc des preuves expérimentales suggérant que l'amélioration de l'activité antitumorale peut suivre l'utilisation d'IL-2 associée à d'autres cytokines, à des Ac monoclonaux, ou l'un et l'autre avec des cellules LAK (137).

On rapporte également des améliorations significatives dues à l'emploi d'IL-2 combinée à la chimiothérapie. En effet, on a démontré que le cyclophosphamide, à des concentrations diverses, aide à l'activation cytotoxique par l'IL-2 via l'inhibition des lymphocytes T suppresseurs.

Quoiqu'il en soit, la synergie thérapeutique de l'IL-2 et du cyclophosphamide administré à de faibles concentrations, reste à établir (63).

Avec la dacarbazine, qui est elle-même active contre les mélanomes, la combinaison d'IL-2 a donné des résultats encourageants dans cette indication. De plus, l'action de l'IL-2 sur la perméabilité capillaire pourrait favoriser une meilleure diffusion des agents chimiques.

L'administration d'IL-2 après réduction tumorale par chimiothérapie à haute dose suivie d'autogreffe de moelle osseuse, est une voie thérapeutique a priori séduisante, en dépit de la lourdeur d'un tel traitement. En effet, l'IL-2 est alors administrée au moment de la reconstitution lymphocytaire à partir du greffon médullaire, stade auquel les NK sont particulièrement abondants.

Quelques données cliniques et expérimentales permettent de préciser que des études plus poussées s'intéresseront à ce

domaine complexe qu'est l'immunothérapie de combinaison, l'une des voies les plus prometteuses du traitement contre le cancer.

2. Caractéristiques de la réponse :

Des réponses objectives de la tumeur ont été enregistrées après la thérapie à l'IL-2. La plupart des données concernent les mélanomes malins métastatiques et les adénocarcinomes rénaux car les patients qui présentent ces cancers répondent particulièrement bien à l'IL-2 et aux nouveaux programmes de traitement.

Dans ces cancers, les sites de réponse les plus fréquents sont situés dans le poumon, la peau, les aires sous-cutanées et les adénopathies périphériques (33, 36, 55, 72, 87, 114). D'autres sites non viscéraux répondent également, le foie, l'adénopathie intra-abdominale des tissus mous et l'adénopathie médiastinale.

La plupart des réponses sont observées pendant les 2 premiers cycles de traitement, c'est-à-dire, pendant 1 à 3 mois (14, 121, 156). Il est intéressant à noter, que malgré cela, les réponses peuvent évoluer au cours des mois suivants. Les patients ayant une maladie stable peuvent connaître une réponse partielle, voire complète, processus qui peut prendre 3 ou 6 mois, alors que le traitement se poursuit ou après arrêt de ce traitement (156).

Des réponses durables ont été enregistrées avec des rémissions de plus de 41 mois chez environ 10 % des patients présentant des mélanomes métastatiques et des adénocarcinomes rénaux (109, 137). Ces rémissions durables se sont également produites dans des sites viscéraux tels que le foie et les poumons.

Dans les séries les plus complètes de ROSENBERG et coll., la durée des réponses complètes pour les adénocar-

cinomes rénaux après traitement à l'IL-2 seule est de 25 à 34 mois.

L'échelle de durée de la réponse partielle sans progression, est plus large : 3 à 27 mois pour les adénocarcinomes rénaux et de 2 à 41 mois pour les mélanomes (109).

Des rémissions durables complètes ou partielles, peuvent être obtenues à présent par l'IL-2, même chez des patients souffrant de tumeurs avancées.

Une autre caractéristique importante de la thérapie à l'IL-2 est la stabilisation de la maladie qui progressait auparavant. Les patients dont les tumeurs progressaient antérieurement et qui présentaient ensuite des réponses durables ou une stabilisation de la maladie connurent également des améliorations du point de vue activité et état de performances (83, 109). La durée de stabilisation peut-être très voisine de celle de la rémission objective dans certaines séries. Néanmoins, la durée moyenne de réponse reste quand même assez courte.

Pour des mélanomes métastatiques, elle est de l'ordre de 4 à 6 mois (109, 137) ; Pour les carcinomes rénaux elle tend à être légèrement plus longue, de 6 à 10 mois (109).

Il est intéressant de constater qu'il est possible également d'améliorer la réponse par une chimiothérapie à la suite d'une rechute pendant le traitement à l'IL-2 (61). Les données en ce qui concerne la survie sont encore dispersées ce qui n'est pas surprenant étant donnée la mise en place toute récente de ce traitement à l'IL-2. La survie moyenne de ces patients aux tumeurs avancées s'étage de 8 à 13 mois pour les mélanomes et de 9 à 11 mois pour les carcinomes rénaux (133).

Il est clair maintenant qu'une proportion de patients ayant des tumeurs avancées et résistantes montrent, grâce au traitement à l'IL-2 des effets substantiels antitumoraux et une

palliation des symptômes. Ce bénéfice dure plusieurs mois voire des années après la fin du traitement.

3. Facteurs de pronostics :

3.1. Liés aux patients :

Comme nous l'avons vu, l'immunothérapie adoptive utilisant les cellules LAK ou l'IL-2 peut provoquer une régression de la tumeur chez des patients qui ne répondent à aucune autre thérapie disponible.

Mais quels patients sont les plus aptes à répondre ?

WEST et coll. affirment que la réponse au traitement est liée à l'état de performance avant le traitement (136). Ils observent également que le comportement de la réponse est lié au nombre basal de lymphocytes ($1531/\text{mm}^3$ contre $898/\text{mm}^3$; $p < 0,01$) et au degré de lymphocytose obtenu après une première action de l'IL-2 ($7997/\text{mm}^3$ contre $3771/\text{mm}^3$; $p < 0,01$).

Les mêmes auteurs rapportent que les cellules mononucléaires, des patients répondant positivement, ont un nombre légèrement supérieur d'unités lytiques par 10^7 cellules après l'activation in vitro, bien que ces différences n'aient aucune signification statistique.

Par contre, CREEKMORE et coll. n'ont trouvé aucune différence de concentration des cellules effectrices circulantes entre les patients répondant positivement et les autres (140).

En examinant les séries de carcinomes rénaux décrits par ROSENBERG et en les comparant avec leurs propres patients, FISHER et coll. ont montré que les patients atteints de métastases des poumons ou des tissus mous répondaient mieux que ceux présentant des atteintes abdominales. On a aussi noté des taux de réponse plus faibles chez des patients dont la masse

tumorale n'excédait pas 100 cm² et chez des patients n'ayant pas subi une néphrectomie préalable (40).

En ce qui concerne d'éventuels facteurs de pronostics, les données sont donc de toute évidence contradictoires. Aucune analyse multiparamétrique n'est disponible en raison du petit nombre de patients impliqués dans ces divers essais. Le type de tumeur, l'extension de la maladie, l'état immunobiologique précédant le traitement et d'autres caractéristiques concernant les patients sont autant de facteurs qui peuvent influencer le résultat de ces traitements.

3.2. Liés à la tumeur :

L'immunogénicité de la tumeur est l'un des facteurs essentiel pour le succès de la thérapie à l'IL-2.

Les tumeurs immunogéniques semblent répondre par des mécanismes liés aux cellules T ; les tumeurs peu ou pas immunogéniques répondent par des mécanismes impliquant des cellules cytotoxiques non-dépendantes du C.M.H., incluant les cellules N.K. activées et une partie des cellules T cytotoxiques, deux populations qui contribuent ensemble à la génération des cellules LAK.

Une différence de sensibilité à la thérapie des tumeurs immunogéniques et non-immunogéniques est apparemment due à l'expression des antigènes du C.M.H. de classe I (153).

Dans certaines études, on a traité avec succès des tumeurs macrométastatiques exprimant des antigènes du C.M.H. de classe I, seulement au moyen de mécanismes liés aux cellules T. Les tumeurs n'exprimant pas ces antigènes ou faiblement immunogéniques, qui peuvent être traitées par des cellules LAK, sont résistantes à la thérapie à l'IL-2 lorsqu'elles atteignent la phase macrométastatique.

Ces observations liant l'expression des antigènes du C.M.H. de classe I à la surface des cellules tumorales et la sensibilité à la thérapie par l'IL-2 apportent des arguments en faveur des traitements associant l'IFN α et l'IL-2, l'IFN α augmentant l'expression des antigènes du C.M.H. de classe I.

3.3. Liés aux protocoles d'administration de l'IL-2 :

Avec la récente publication des résultats d'un grand nombre de traitements d'IL-2 en phase I/II, il devient possible de comparer la toxicité et les effets biologiques des différentes doses et plannings d'IL-2 chez l'homme.

L'étude comparative la plus complète des relations entre la dose, le planning de l'IL-2, la toxicité clinique et l'immunomodulation, a été réalisée par THOMPSON et coll. à l'université de Washington (140). Utilisant l'IL-2 de Hoffmann La Roche, 2 concentrations ($3 \cdot 10^5$ U/m²/Jour et $3 \cdot 10^6$ U/m²/Jour) ont été testées avec des perfusions de 20 à 24 heures. Ensuite, la concentration plus forte a également été étudiée sous forme de 3 bolus par jour. Toutes les doses ont été administrées pendant 5 jours toutes les 2 semaines pendant 4 cycles.

Ainsi on a pu analyser l'effet des différents plannings avec la même dose journalière. Cette étude montre que, pour une dose quotidienne équivalente la perfusion continue est à la fois plus toxique et plus active biologiquement au regard de l'importance de la lymphocytose post-IL-2, de la production de lymphocytes circulants activés et de précurseurs des cellules LAK.

L'observation que la perfusion continue d'IL-2 est plus toxique que le bolus va à l'encontre des premières observations de WEST et coll. qui ont testé la thérapie IL-2/LAK en employant des perfusions continues d'IL-2 pendant 5 jours (156). Ce résultat contradictoire peut-être expliqué par le fait que ces derniers administraient des doses quotidiennes d'IL-2 très

inférieures. D'autre part, il faut signaler que la pharmacologie clinique de l'IL-2 permettait d'espérer de meilleurs effets cellulaires avec le régime de perfusion continue, ce qui semble corroborer par les observations de THOMPSON et coll.

Malgré ces publications et d'autres, la question demeure entière de savoir si la toxicité de cette thérapie est nécessaire à l'obtention de la réponse clinique optimale.

Quoiqu'il en soit, il est clair que la toxicité clinique et les effets biologiques de l'IL-2 sont liés à la dose et au planning.

A l'heure actuelle, il y a plus de questions que de réponses à propos des conditions pratiques de l'immunothérapie adoptive. Seules de nouvelles études conduites sur davantage de patients pourront nous permettre d'évaluer rigoureusement et avec précision les conditions optimales pour utiliser l'IL-2 en thérapeutique humaine.

J - CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES D'AVENIR :

L'amélioration des connaissances en immunologie cellulaire et moléculaire et la grande disponibilité des cytokines humaines recombinantes ont ouvert le champ à la thérapie antinéoplasique, qui exploite les réponses immunologiques contre les tumeurs.

Le succès de l'IL-2 dans le traitement des patients souffrant de carcinomes métastatiques rénaux et de mélanomes malins a donné lieu à une vaste recherche de l'activité antitumorale, induite par les cytokines, de diverses cellules immunes. Quoiqu'il en soit, à notre connaissance, il n'y a pas eu d'étude statistique ou prospective montrant l'efficacité de ce traitement, comparée aux thérapies conventionnelles. De plus, dans la plupart des cancers avancés, le suivi a été de courte

durée, ce qui peut limiter l'évaluation de l'efficacité clinique.

A présent, la plus grande part de la recherche sur l'IL-2 est concentrée sur les modalités nécessaires pour augmenter l'efficacité et la spécificité des mécanismes antitumoraux induits par l'IL-2.

Un certain nombre d'essais cliniques sont conduits pour évaluer les différents régimes en IL-2 ; ces études peuvent conduire à une atténuation de la toxicité liée à l'IL-2 par diminution des doses avec préservation des effets thérapeutiques.

Les résultats préliminaires obtenus avec l'administration locale d'IL-2 montrent des réponses significatives pour des niveaux de toxicité réduits ; Il semble que ces nouveaux protocoles alternatifs par rapport aux fortes doses d'IL-2 injectée conventionnellement (IV) vont faire de l'immunothérapie anti-néoplasique une technique de soins mieux adaptée à chaque malade.

Une autre tentative a été de combiner l'IL-2 avec des cellules effectrices ou divers agents antinéoplasiques. Alors que le bénéfice thérapeutique de ces régimes combinatoires reste à établir, l'approche "sur mesure" de la biothérapie contre le cancer devient de plus en plus adéquate, cliniquement.

Pour la première fois, l'usage de cellules antinéoplasiques autologues, les TiL, pour l'obtention d'une réponse immune antitumorale permet un traitement personnalisé à des niveaux de spécificité que ne surpasse pas la thérapie conventionnelle.

En résumé, l'usage de la biothérapie contre le cancer est encore à un stade peu avancé et on devra travailler davantage à établir les modalités de ce traitement en relation avec la chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie. Des efforts

continus sont fournis pour diminuer la complexité du traitement.

Pour permettre un usage plus généralisé de cette biothérapie, on visera à adapter ce traitement aux consultations externes. Ceci aidera à améliorer la qualité de vie des malades à faible espérance de vie.

Le rôle de cette biothérapie dans des régimes à multimodalités n'est toujours pas défini. De récentes études ont montré que les lymphocytes killers sont parmi les premières cellules immunitaires à revenir à leur taux initial après la chimiothérapie. Ainsi une combinaison d'agents chimio- et immunothérapeutiques peut aider à la restauration du système immunitaire endommagé et contribuer au soin de la maladie résiduelle.

La place réelle de l'IL-2 en cancérologie ne pourra être déterminée que par la réalisation d'études de phase II et de phase III, portant sur des populations de malades précises et évaluées rigoureusement par des équipes de cancérologie pluridisciplinaires maîtrisant bien la méthodologie des essais thérapeutiques. De tels essais ne se conçoivent que dans les centres disposant des infrastructures de laboratoires permettant les investigations biologiques - en particulier immunologiques - nécessaires à la compréhension des mécanismes impliqués dans les réponses thérapeutiques. La réalisation rapide de ces essais pose des problèmes de formation des cancérologues médicaux mais surtout de politique hospitalière. Ils seront le champ d'expérience de nouveaux types de relation entre structures hospitalières, laboratoires de recherche et industrie pharmaceutique.

L'usage thérapeutique des cytokines et des cellules cytotoxiques peut aider à redéfinir le cancer comme une entité biologique, destinée à être vaincue par la modulation cellulaire et moléculaire des fonctions immunitaires in vivo.

B I B L I O G R A P H I E

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - AGOSTINI C., ZAMBELLO R., TRENTIN L., FERRUGLIO C., MIASCIARELLI M., SIVIERO F., POLETTI V., SPIGA L., GRITTI F., SEMENZATO G.
Cytotoxic events taking place in the lung of patients with H.I.V.-1 infection. Evidence of a intrinsic defect of the major histocompatibility complex-unrestricted killing partially restored by the incubation with recombinant interleukin-2.
Am. Rev. Respir. Dis., 1990, 142 (3), 516-522.

- 2 - ALLAOUCHICHE B., MERCATELLO A., TOGNET E., NEGRIER S., MOSKOVITCHENKO J.F., FRANKS C.R., PHILIP T.
Prospective effect of norepinephrine infusion in acute renal insufficiency induced by interleukin-2 therapy.
Nephron, 1990, 55, 438-439.

- 3 - AMADEO S.
L'ère de la thérapie génique est vraiment ouverte.
Le quotidien du médecin, 1990, N° 4576.

- 4 - A.S.S.I.M.
Immunologie générale.
Medsi/Mc Graw-Hill, 1989, pp 133-138, 144-160, 251-260.

- 5 - ATKINS M.B., MIER J.W. PARKINSON D.R., GOULD J.A., BERKMAN E.M., KAPLAN M.M.
Hypothyroidism after treatment with interleukin-2 and LAK cells.
New. Engl. J. Med., 1988, 318, 1557-1563.

- 6 - ATZPODIEN J., KIRCHNER H., FRANKS C.R., KORFER A., PALMER P.A., EVERS P., POLIWODA H.
Out patient treatment of advanced human using a combination of interleukin-2 and interferon- α 2b.
Lancet, 1990, 335, 1509-1512.

- 7 - BACH J.F., LE SAURE P.
Immunologie.
Flammarion/Médecine-Science, 1989, pp 37, 133-147, 204-205,
348-349.
- 8 - BAGGLIOLINI M., WALZ A., KUNNEL S.L.
Neutrophil activating peptide-1/Interleukin-8, a novel
cytokine that activater neutrophils.
J. Clin. Invest., 1989, 84, 1045-1049.
- 9 - BAR H., SZNOL M., ATKINS M.B., CIO BANU N., MICETICH K.C.,
BOLDT D.H., MARGOLIN K.A., ARONSON F.R., RAYNER A.A.,
HAWKINS M.J., MIER J.W., PAIETTA E., FISCHER R.I., WEISS
G.R., DOROSHOW J.H.
Metastatic malignant melanoma treated with combined bolus
and continuous infusion interleukin-2 and LAK cells.
J. Clin. Oncol., 1990, 8, 1138-1147.
- 10 - BELLDEGRUN A., MUNI L.M., ROSENBERG S.A.
Interleukin-2 expanded tumor infiltrating lymphocytes human
renal cancer : isolation, characterization and antitumor
activity.
Cancer Res., 1988, 48, 206-214.
- 11 - BELLDEGRUN A., WELB D.E., AUSTIN H.A., STEINBERG S.M.,
WHITE D.E., LINEHAN W.M., ROSENBERG S.A.
Effects of interleukin-2 on renal function in patients
receiving immunotherapy for advanced cancer.
Ann. Int. Med., 1987, 106, 817-822.
- 12 - BOSLY A., BRICE P., HUMBLET Y., DOYEN C., FAILLE A., CHATE-
LAIN B., GISSELBRECHT C., SYMANN M.
Interleukin-2 after autologous bone marrow transplantation
as consolidative immunotherapy against minimal residual
disease.
Nouv. Rev. Fr. Hematol., 1990, 32, 13-16.

- 13 - BRANDHUBER B.J., BOONE T., KENNEY W.C., MC KAY D.B.
Three dimensional structure of interleukin-2.
Science, 1987, 238, 1707-1709.

- 14 - BUROSWSKI R.M., GOODMAN P., CRAWFORD E.D.
Phase II trial of high dose intermittent interleukin-2 in
metastatic renal cell carcinoma : A southwest oncology
group study.
J. Clin. Invest., 199, 85, 143-146.

- 15 - CALABRESI F., RUGGERI E.M.
Interleukin-2 and LAK cells.
Lymphohaematopoietic Growth Factors in Cancer Therapy, 1990,
79-90. Mertelsmann R./Ed. Springer-Verlag, Berlin/Ger.

- 16 - CAVAILLE-COLL M., BRISSON E., KLATZONAN D., GLUCKMAN J.C.
Exogenous interleukin-2 and mitogen responses in A.I.D.S.
patients.
Lancet, 1984, 1, 1245.

- 17 - CAVAILLON J.M.
Interleukines et inflammation.
Sem. Hôp., Paris, 1990, 66, 882-888

- 18 - CHAMBRIER C., MERCATELLO A., TOGNET E., COTTET-EMERL J.M.,
COHEN R., BLAY J.Y., FAVROT M., PHILIP T., BEYLOT M.
Hormonal and metabolic effects of chronic interleukin-2
infusion in cancer patients.
J. Biol. Response Mod. 1990, 9, 251-255.

- 19 - CHAPMAN P.B., KOLTZ J.E., HAKES T.B., GABRILOVE J.L., WELTE
K., MERLUZZI V.J., ENGERT A., BRADLEY E.C., KONRAD M.,
MERTELSMANN R.
A phase I trial of intraperitoneal recombinant interleukin
-2 in patients with ovarian carcinoma.
Investig. New Drugs, 1988, 6, 179-188.

- 20 - CHEMALY P.
Dépistage du mélanome malin. Les cancers cutanés.
Impact médecin ; les dossiers du praticien, n° 73, 10-17.
- 21 - CHOUAIB S.
Involvement of tumor necrosis factor in lymphokine activated killers differentiation.
Lymphokine Receptor Interactions. Colloque INSERM, 1989, 179, 33-41, Fradelizi D., Bertoglio J. Eds.
- 22 - CHOUAIB S. FRADELIZI D.
Interleukine-2 humaine.
Ann. Immunol., 1983, 134 D, n° 2, 157- 164.
- 23 - CIARDELLI T., SMITH K.A.
IL-2 : Prototype for a new generation of immunoactive pharmaceuticals.
T.I.P.S., 1989, 10, 239-243.
- 24 - CICARDI M., GARDINALI M., BISIANI G., ROSTI A., ALLAVENA P., AGOSTINI A.
The systemic capillary leak syndrome : Appearance of interleukin-2 receptor positive cells during attacks.
Ann. Inter. Med., 1990, 113, 475-477.
- 25 - CLARCK J.W., SMITH S.W., STEIS R.G., URBA W.J., CRUM E., MILLER R., MC KNIGHT J., BEMAN J., CREEKMORE S., STEWART M., CONBON K., SZNOL M., KREMERS P., COHEN P., LONGO D.L.
Interleukin-2 and LAK cells therapy : analysis of a bolus interleukin-2 and continuous infusion interleukin-2 regimen.
Cancer Res., 1990, 50, 7343-7350.
- 26 - COHEN F.E., KOSEN P.A., KUNTZ I.D., EPSTEIN L.B., CIARDELLI T., SMITH K.A.
Structure-activity studies on interleukin-2.
Science, 1986, 234, 349-352.

- 27 - COLAMONICI O.R., NECHERS L.M., ROSOLEN A.
Putative gamma subunit of the interleukin-2 receptor is detected in low, intermediate, and high affinity interleukin-2 receptor-bearing cells.
J. Immunol., 1984, 3, 122-126.
- 28 - CREEKMORE S.P., HARRIS J.E., ELLIS T.M., BRAUN D.P., COHEN I.I., BHOOPALAM N., JASSAK P.F., CAHILL M.A., CANZONERI C.L., FISHER R.I.
A phase I clinical trial of recombinant interleukin-2 by periodic 24-hour intravenous infusions.
J. Clin. Oncol., 1989, 7, 276-284.
- 29 - DENICOFF K.D., RUBINOW D.R., PAPA M.Z., SIMPSON C., SEIPP C.A., LOTZE M.T., CHANG A.E., ROSENSTEIN D., ROSENBERG S.A.
The neuropsychiatric effects of treatment with interleukin-2 and LAK cells.
Ann. Inter. Med., 1987, 107, 293-300.
- 30 - DEPPER J.M., LEONARD W.J., KRONKE M., NOGUCHI P.D.
Regulation of interleukin-2 receptor expression : effects of phorbol diester, phospholipase c, and reexpression to lectin or antigen.
J. Immunol., 1984, 133, 3054-3061.
- 31 - DINARELLO C.A., MIER J.W.
Current concept lymphokines.
N. Engl. J. Med., 1987, 317, 940-945.
- 32 - DUTCHER J.P., CREEKMORE S., WEISS G.R., MARGOLIN K., MARKOWITZ A.B., ROPER M., PARKINSON D., CIOBANU N., FISHER R., BOLDT T.H., DOROSHOW J.M., RAYNER A.A., HAWKINS M., ATKINS M.
A phase II study of interleukin-2 and LAK cells in patients with metastatic malignant melanoma.
J. Clin. Oncol., 1989, 7, 477-485.

- 33 - EBERLEIN T.J., SCHOOF D.D., JUNG S.E., DAVIDSON D., GRAMOLINI B., MC GRATH K., MASSARO A., WILSON R.E.
A new regimen of interleukin-2 and LAK cells.
Arch. Inter. Med., 1988, 148, 2571-2576.
- 34 - ELRATH M.J. KAPLAN G., BURKHARDT R.A., COHN Z.A.
Cutaneous response to recombinant interleukin-2 in human immunodeficiency virus-1 seropositive individuals.
Proc. Natl. Acad. Scien., 1990, 87 (15), 5783-5787.
- 35 - FAVROT M., NEGRIER S., PHILIP T.
Quel est le rôle de l'immunothérapie en cancérologie ?
Méd et Hyg., 1990, 48, 1657-1661.
- 36 - FAVROT M., COZE C., COMBARET V., NEGRIER S., PHILIP I., PHILIP T.
Immunothérapie adoptive par l'interleukine-2 en cancérologie.
Bull. Cancer, 1990, 77, 925-931.
- 37 - FAVROT M., COZE C., COMBARET V., GASPARD G.M., COLIN C., FRANKS C.R., NEGRIER S., PHILIP I., PHILIP T.
LAK cells expansion for clinical trials of adoptive immunotherapy with interleukin-2 : Optimization of the culture technique.
Mol. Biother., 1990, 2, 32-37.
- 38 - FAVROT M., FLORET D., NEGRIER S., DACHENG Z., COCHAT P., BOUFFET E., FRANKS C.R., BIJMAN T., BRUNOT-MENTIGNY M., PHILIP T.
Systemic interleukin-2 therapy in children with progressive neuroblastoma after high dose chemotherapy and bone marrow transplantation.
Bone Marrow Transplant., 1989, 4, 499-503.

- 39 - FAVROT M., MICHON J., FLORET D., NEGRIER S., MATHIOT C., COZE C., ZUCKER J.M., FRANKS C.R., BOUFFET E., PHILIP T.
Interleukin-2 immunotherapy in children with neuroblastoma after high dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation.
Ped. Hemat. Oncol., 1990, 7, 275-284.
- 40 - FISHER R.I., COLTRAM C.A., DOROSHOW J.M., RAYNER A.A., HAWINKS M.J., MICI J.W., WIERNICK P., MANNIS J.D., WEISS G.R., MARGOLIN K.A., GEMLO B.T., HOYTH D.F., PARKINSON D.R., PAIETTA E.
Metastatic renal cancer treated with interleukin-2 and LAK cells.
Ann. Inter. Med., 1988, 108, 518-523.
- 41 - FLAHERTY L.
The combination of recombinant interleukin-2 and dacarbazine (D.T.C.I.) in metastatic malignant melanoma.
Cancer Treat. Rev., 1989, 16, (suppl A), 65-66.
- 42 - FLIEDNER V., LIANG C., CHAPPUIS C., CAPASSO P., MINOIDIS D., MIESCHER S.
Existe-t-il une réponse immune contre le cancer chez l'homme ?
Med. et Hyg., 1988, 46, 3216-3219.
- 43 - FRADELIZI D.
Les messagers de l'immunité.
La Recherche, 1986, 176, 668-678.
- 44 - FRANKS C.R.
European clinical studies with recombinant interleukin-2 : an overview.
Insights Into Immunotherapy, 1990, 1, 5-13.

- 45 - FUKUMARA K., TSUJI T., TOI K.
Verification by mass spectrometry of the primary structure
of human interleukin-2.
J. Biol. Chem., 1985, 260, 10487-10494.
- 46 - GALANAUD P., EMILIE D., LEPRINCE C.
Une cytokine aux frontières de l'inflammation et de l'immu-
nologie : L'interleukine-6.
M/S., 1989, 5, 338-340.
- 47 - GASPARI A.A., LOTZE M.T., ROSENBERG S.A., STERN J.B., KATZ
S.I.
Dermatologic changes associated with interleukin-2 and LAK
cells.
J.A.M.A., 1987, 258, 1624-1629.
- 48 - GAYNOR E.R., VITEK L., STICHLIN L., CREEKMORE S.P., FERRARO
M.E., THOMAS J.R., FISHER S.G., FISCHER R.I.
The hemodynamic effects of treatment with interleukin and
LAK cells.
Ann. Inter. Med., 1988, 109, 953-958.
- 49 - GEMBO B.T., PALLADINO M.A., JAFFE H.S., ESPAVIK T.P.,
RAYNER A.A.
Circulating cytokines in patients with metastatic cancer
treated with recombinant interleukin-2 and LAK cells.
Cancer Res., 1988, 48, 5864-5867.
- 50 - GOTTLIEB D.J.
Malignant cells are sensitive to LAK cell lysis : Pre-
clinical and clinical studies of interleukin-2 in the
treatment of multiple myeloma.
Br. J. Haematol., 1990, 75, 499-505.
- 51 - HENNEY C.S.
The interleukins as lymphocytes growth factors.
Transplant. Proc., 1989, 21, 22-25.

- 52 - HENNEY C.S.
Interleukin-1.
Transplant. Proc., 1989, 21, 46-89.
- 53 - HERBERMAN R.B.
Interleukin-2 therapy of human cancer : Potencial benefits versus toxicity.
J. Clin. Oncol., 1989, 7, n° 1, 1-4.
- 54 - HERMANN F., CANNISTRA S.A. LEVINE H., GRIFFIN J.D.
Expression of interleukin-2 receptors and binding of interleukin-2 by γ interferon induced human leukemic and normal monocytic cells.
J. Exp. Med., 1985, 162, 1111-1116.
- 55 - HIRSH M., LIPTON A., HARVEY H., GIVANT E., HOPPER K.
Phase I trial study of interleukin-2 and interferon α 2a as outpatient therapy for patients with advanced malignancy.
J. Clin. Oncol., 1990, 8, 1657-1663.
- 56 - HOLBROOK N.J., SMITH K.A., FORNACE A.J., COMEAU J.M., WISKOCIL R.L., CRABTREE G.R.
T cell growth factor : complete nucleotide sequence and organization of the gene in normal and malignant cells.
Proc. Natl. Acad. Scien., 1984, 81, 1634-1638.
- 57 - HUREZ D.
Les interleukines.
Allergie et immunologie, 1985, 17, 65-68.
- 58 - JASMIN C.
Le traitement biologique des cancers.
La Recherche, 1987, 189, 755-764.
- 59 - KAGAN J.M., FAHEY J.L.
Tumor immunologie.
J.A.M.A., 1987, 258, 2988-2992.

- 60 - KASHIMA N., NISHI-TAKAOKA C., FUJITA T., TAKI S., YAMADA G., HAMURO J., TANIGUCHI T.
Unique structure of murine interleukin-2 as deduced from cloned cDNAs.
Nature, 1985, 313, 402-404.
- 61 - KAY N.E., OKEN M.M., MAZZA J.J., BRADLEY E.C.
Evidence for tumor reduction in refractory or relapsed B-CLL patients with infusional interleukin-2.
Nouv. Rev. Fr. Hematol., 1988, 30, 475-478.
- 62 - KLEMPNER M.S., NORING R., MIER J.W., ATKINS M.B.
An acquired chemotactic defect in neutrophils from patients receiving interleukin-2 immunotherapy.
N. Engl. J. Med., 1990, 322, 959-965.
- 63 - KOLITZ E., WONG G.Y., WELTE K., MERLUZZI V.J., ENGERT A., BIALAS T., POLIVKA A., BRADLEY E.C., KONRAD M., GNECCO C., OETTGEN H.F., MERTELSMANN R.
Phase I trial of recombinant interleukin-2 and cyclophosphamide : augmentation of cellular immunity and T-cell mitogenic response with long-term administration of recombinant interleukin-2
J. Biol. Response Mod. 1988, 7, 457-472.
- 64 - KONRAD M.W., HEMSTRECT G., HERSH E.M., MONSELL P.W.A., MERTELSMANN R., KOLITZ J.E., BRADLEY E.C.
Pharmacokinetics of recombinant interleukin-2 human.
Cancer Res., 1990, 50, 2009-2017.
- 65 - KRADIN R.L., KURNICH J.T., LAZARUS D.S., PREFFER F.I., DUBINETT S.M., PINTO C.E., GIFFORD J., DAVIDSON E., GROVE B., CALLAHAN R.J., STRAUSS H.W.
Tumor infiltrating lymphocytes and interleukin-2 treatment of advanced cancer.
Lancet, 1989, 1, 577-580.

- 66 - KUO L., ROBB R.J.
Structure - fonction relation slips for the interleukin-2
receptor system : localization of a receptor binding site
on interleukin-2.
J. Immunol., 1986, 137, 1538-1543.
- 67 - LAGI-PASINI F., DI PERRI T., VAN DER PLAS K., PALMER P.,
FRANKS C.R.
Myocardial injury after interleukin-2 therapy.
Lancet, 1989, i, 592-595.
- 68 - LAHARY A., LENORMAND B, HAUVILLE C, LEES O.
Les interleukines.
Immunologie Médicale, 1986, 15, 38-48.
- 69 - LALANDE F.
Cytokines et interférons : aspects économiques et coût de
la santé.
M/S., 1991, 7, 715-718.
- 70 - LEE R.E., GASPARI A.A., LOTZE M.T., CHANG A.E., ROSENBERG
S.A.
Interleukin-2 and psoriasis.
Arch. Dermatol., 1988, 124, 1811-1815.
- 71 - LEE R.E., LOTZE M.T., SHIBBER J.M., TUCHER E., BONOW R.O.,
OGNIBENE F.P., CARRASQUILLO J.A., SHELMANER J.H., PARILLO
J.E.
Cardiorespiratory effects of immunotherapy with interleukin
-2.
J. Clin. Oncol., 1989, 7, 7-20.
- 72 - LEE R.E., TALPAZ M., ROTHBERG J.M., MURRAY J.L., PAPADOU-
LOS N., PLAGER C., BENJAMIN R., LEVITT D., GUTTERNAN J.
Concomittant administration of recombinant interleukin-2
and interferon α 2a in cancer patients : A phase I study.
J. Clin. Oncol., 1989, 7, 1726-1732.

- 73 - LEONARD W.J.
A novel immune activation gene (ACT-2) and molecular regulation of the human interleukin-2 receptor.
Lymphokine Receptor Interactions. Colloque INSERM, 1989, 179, 45-51, Eds Fradelizi D., Bertoglio J.
- 74 - LEONARD W.J., DEPPER J.M., CRABTREE G.R., RUDIHOFF S., PUMPHREY J., ROBB R.J., KRONKE M., SVETLIK P.B., PEPPER N.J., WALDMANN T.A., GREENE W.C.
Molecular cloning and expression of cDNAs for the human interleukin-2 receptor.
Nature, 1984, 311, 626-631.
- 75 - LEVY R., TOURANI J.M., LE MAIGNAN C., ANDRIEU J.M.
Métastases cérébrales du mélanome malin sous interleukines -2.
Presse-med., 1990, 19, 1904-1905.
- 76 - LIESSUM P.A., DE-MULDER P.H., MATTYSEN E.J., CORTENS F.H., WAGENER D.J.
Hypothyroidism and goitre during interleukin-2 therapy without LAK cells.
Lancet, 1989, 1, 224.
- 77 - LINDERMANN A., HOEFFKEN K., SCHMIDT R., DIEHL V., KLOKE O., GAMM H., HAYUNGS J., OSTER W., BOEHM M., HERRMAN F., MERTELSMANN R.
A multicenter trial of interleukin-2 and low-dose cyclophosphamide in highly chemotherapy resistant malignancies.
Cancer Treat. Rev., 1989, 16, (Suppl A), 53-57.
- 78 - LISSONI P., BARNI S., ARCHILI C., CATTANEO G., ROVELLI F., CONTI A., MAESTRONI G.J., TANCINI G.
Endocrine effects of a 24-hours intravenous infusion of interleukin-2 in the immunotherapy of cancer.
Anticancer Research, 1990, 10, 753-758.

- 79 - LOTZE M.T., CUSTER M.C., ROSENBERG S.A.
Intraperitoneal administration of interleukin-2 in patients with cancer.
Cancer, 1986, 58, 2764-2772.
- 80 - LOTZE M.T., CHANG A.E., SEIPP C., SIMPSON C.G., VETTO J.I., ROSENBERG S.A.
High dose recombinant interleukin-2 in the treatment of patients with disseminated cancer.
J.A.M.A., 1986, 256, 3117-3124.
- 81 - MALKOWSKY M., SONDEL P.M., STROBER W., DALGLEISH A.G.
The interleukins in acquired disease.
Clin. Exp. Immuno., 1988, 74, 151-161.
- 82 - MIEDEMA F., MELIEF C.J.
T- cell regulation of human B cell activation. A reappraisal of the role of interleukin-2.
Immunology today, 1985, 6, 258-259.
- 83 - MITCHELL M.S., KEMPF R.A., HAREL W., SHAU H., BOSWELL W.D., LIND S., BRADLEY E.C.
Effectiveness and tolerability of low dose cyclophosphamide and low dose intravenous interleukin-2 disseminated melanoma.
J. Clin. Oncol., 1988, 6, 409-424.
- 84 - MITTLER R., RAO P., OLINI G., WESTBERG E., NEWMAN W., HOFFMAN H., GOLDSTEIN G.
Activated human B- cells display a functional interleukin-2 receptor.
J. IMMUNOL., 1985, 134, 2393-2399.
- 85 - MORGAN D.A., RUSCETTI F.W., GALLO R.
Selective in vitro growth of T- lymphocytes from normal human bone marrows.
Science, 1976, 193, 1007-1008.

- 86 - MURRAY H.W., PAMPHILIS I., SCHOOLEY R.T.
Circulating interferon γ in A.I.D.S. patients treated with
interleukin-2
N. Engl. J. Med., 1988, 318, 1538-1539.
- 87 - NEGRIER S., PHILIP T., STOTER G., FOSSA S.D., JANSSEN S.,
JACONE A. CLETON F.S., EREMIN O., ISRAEL L., JASMIN C.,
RUGARLI C., MASSE H.V.D., THATCHER N., SYMANN M., BARTSCH
H.H., BERGMANN L., BIJMAN J.J., PALMER P.A., FRANKS C.R.
Interleukin-2 with or without LAK cells in metastatic renal
cell carcinoma : a report of a european multicentre study.
Eur. J. Cancer. Clin. Oncol., 1990, 25, 21-28.
- 88 - NOUSSENBAUM G.
Sur la piste d'un vaccin.
Impact Medecin, 1991, 106, 35.
- 89 - PACIUCCI P.A., HOLLAND J.F., GLIDEWELL O., ODCHIMAR R.
Recombinant interleukin-2 by continuous infusion and adop-
tive transfer of recombinant interleukin-2 activated cells
in patients with advanced cancer.
J. Clin. Oncol., 1989, 7, 869-878.
- 90 - PACIUCCI P.A., MANDELI J., LESLIE OLEKSOWICK P.D., AMEGLIO
F., HOLLAND J.F.
Thrombocytopenia during immunotherapy with interleukin-2 by
constant infusion.
The American Journal of Medicine, 1990, 89, 308.
- 91 - PANICI P.B., SCAMBIA G., GREGGI S.
Recombinant interleukin-2 continuous infusion in ovarian
cancer patients with minimal residual disease at second
look.
Cancer Treat. Rev., 1989, 16 (suppl A), 123-127.
- 92 - PARKINSON D.R.
Interleukin-2 in cancer therapy.
Seminars in oncology, 1988, 15 (suppl 6), 10-26.

- 93 - PARKINSON D.R., ABRAMS J.S., WIERNICK P.M., MARGOLIN K.A.,
VON ECHO D.A., SZNOL M., DUTCHER J.P., AROSON F.R.,
DOROSHOW J.H., ATKINS M.B., HAWKINS M.J.
Interleukin-2 therapy in patients with metastatic malignant
melanoma : A phase II study.
J. Clin. Oncol., 1990, 8, 1650-1656.
- 94 - PHILIP T., NEGRIER S., MERCATELLO A., TOGNET E., PALMER P.,
THIESSE P., FRANKS C.R.
Interleukin-2 in the treatment of metastatic renal cancer :
77 patients treated in Lyon.
Insights Into Immunotherapy, 1990, 1, 23-30.
- 95 - PHILIP T., STOTER G., JASMIN C., FOSSA S.D., SYMAN M.,
ISRAEL L., RUGARLI C., BIJMAN J.T., PALMER P., FRANKS C.R.
Recombinant human interleukin-2 with or without LAK cells
in metastatic renal cell carcinoma.
A.S.C.O. abs., 1989, 507.
- 96 - PROLEUKIN^R
Brochure laboratoire Eurocetus.
- 97 - PURI R.K., TRAVIS W.D., ROSENBERG S.A.
Decrease in interleukin-2 induced leakage in the lungs of
mice by administration of recombinant interleukin-1 α in
vivo.
Cancer Res., 1989, 49, 969-976.
- 98 - REED J.C., ABIDI A.H., ALPERS J.D., HOOVER R.G., ROBB R.J.,
NOWELL P.C.
Effect of cyclosporin A and dexamethasone on interleukin-2
receptor gene expression.
J. Immunol., 1986, 137, 150-154.
- 99 - RENOUX M.
Comprendre les interleukines.
La Gazette Médicale, 1990, 97, 23-26.

- 100 - REVILLARD J.P., COZON G.
Principes de l'exploration des cytokines en biologie clinique.
XIIIe Journées Nationales de Biologie, 1990, 55-61, Lyon.
- 101 - ROBB R.J., KUTNY R.M., PANICO M., MORRIS H.R., CHOWDHRY V.
Aminoacid sequence and post translationnal modification of human interleukin-2.
Proc. Natl. Acad. Scien., 1984, 81, 6486-6490.
- 102 - ROBERTS K., LOTZE M.T., ROSENBERG S.A.
Separation and fonctionnal studies of the human lymphokine activated killers cells.
Cancer Res., 1987, 47, 4366-4371.
- 103 - ROOK A.H., MASUR H., CLIFFORD L.H., FREDERICK W., KASHARA T., MACHER A.M., DJEU J.Y., MANISCHE-WITZ J.F., JACKSON L., FAUCI A.S., QUINNAN J.R.
Interleukin-2 enhances the drepressed natural killer and cytomegalovirus specific cytotoxic activities of lymphocytes from patients with acquired immune deficiency syndrome.
J. Clin. Invest., 1983, 72, 398-403.
- 104 - ROSENBERG S.A.
The development of new immunotherapies for the treatment of cancer using interleukin-2.
Ann. Surg., 1988, 208, 121-135.
- 105 - ROSENBERG S.A.
Clinical immunotherapy studies in the Surgery Branch of the U.S. National Cancer Institute : brief review.
Cancer Treat. Rev., 1989, 16, 115-121.
- 106 - ROSENBERG S.A., SPIESS S.P., LA FRENIERE R.
A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor infiltrating lymphocytes.
Science, 1986, 233, 1318-1321.

- 107 - ROSENBERG S.A., LOTZE M.T., MULE J.J.
New approaches to the immunotherapy of cancer using interleukin-2.
Ann. Inter. Med., 1988, 108, 853-864.
- 108 - ROSENBERG S.A., LOTZE M.T., MUUL L.M., CHANG A.E., AVIS F.P., LEITMAN S.
A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using LAK and interleukin-2 or high dose interleukin-2 alone.
N. Engl. J. Med., 1987, 316, 889-897.
- 109 - ROSENBERG S.A., LOTZE M.T., YANG J.C., AEBERSOLD P.M., LINEHAN W.M., SEIPP C.A., WHITE D.E.
Experience with the use of high dose interleukin-2 in the treatment of 652 cancer patients.
Ann. Surg., 1989, 210, 474-485.
- 110 - ROSENBERG S.A., LOTZE T., YANG J.C., LINEHAN W.M., SEIPP C.A., CALABRO S., KARP S.E., SHERRY R.M., STEINBERG S., WHITE D.E.
Combination therapy with interleukin-2 and interferon α for the treatment of patients with advanced cancer.
J. Clin. Oncol., 1989, 7, 1863-1867.
- 111 - ROSENBERG S.A., LOTZE M.T., MUUL L.M., LEITMAN S., CHANG E.A., ETTINGHAUSEN S.E., MATORY Y.L., SKIBBER J.M., SHILONI E., VETTO J.T., SEIPP C.A., SIMPSON C., REICHERT S.
Observations on the systemic administration of autologous L.A.K. cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer.
N. Engl. J. Med., 1985, 313, 1485-1492.

- 112 - ROSENBERG S.A., PACKARD B.S., AEBERSOLD P.M., SALOMON D., TOPALIAN S.L., TOY S.T., SIMON P., LOTZE M.T., YANG J.C., SEIPP C.A., SIMPSON C., CARTER C., BOCK S., SCHWARTZENTRUBER D., WEI J.P., WHITE D.E.
Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in immunotherapy of patients with metastatic melanoma.
N. Engl. J. Med., 1988, 319, 1676-1680.
- 113 - ROTH A.D., KIRKWOOD J.M.
New clinical trials with interleukin-2 : rationale for regional administration.
Nat. Immun. Cell. Growth, Regui, 1989, 8, 153-164.
- 114 - ROUGER P.
Une lymphokine : L'interféron gamma.
La Lettre du Pharmacologue, 1989, 3, 87-88.
- 115 - RUGARLI C., BESANA C., BORRI A., DI LUCCA G., FOPPOLI M., FORTIS C.
Treatment of metastatic cancer with recombinant interleukin-2 with or without LAK cells : The Milan experience.
Insights Into Immunotherapy, 1990, 1, 15-22.
- 116 - RUSCETTI F.W.
Biology of interleukin-2.
Surv. Immunol., 1984, 3, 122-126.
- 117 - SARNA G.P., FIGLIN R.A. PERTCHECK M.
Systemic administration of recombinant methionyl human interleukin-2 to cancer patients : Clinical results.
J. Biol. Res. Med., 1989, 8, 16-24.
- 118 - SAYAG J., KOEPEL M.C.
Interleukine-2 en dermatologie.
Sem. Hôp. Paris, 1990, 66, 637-644.

- 119 - SCHWARTZENTRUBER D., LOTZE M.T., ROSENBERG S.A.
Colonic perforation. An unusual complication of therapy
with high dose interleukin-2.
Cancer, 1988, 62, 2350-2353.
- 120 - SEIGEL L.J., HARPER M.E., GALLO R.C., NASH W.G., O'BRIEN
S.J.
Gene for T- cell growth factor : Location on human chromo-
some 49 and feline chromosome B1.
Science, 1984, 223, 175-176.
- 121 - SHILONI E., POUILLART P., JANSSENS J.
Sequential dacarbazine chemotherapy followed by recombi-
nant interleukin-2 in metastatic melanoma : A pilot multi-
centre phase I/II study.
Eur. J. Cancer. Clin. Oncol., 1989, 25 (suppl 3), 45-49.
- 122 - SHIRAKAWA F., TANAKA Y., ETO S., SUZUKI M., YANAMITH U.
Requirement of macrophages for the induction of the inter-
leukin-2 receptors on B lymphocytes.
J. Immunol., 1986, 136, 3288-3291.
- 123 - SMITH K.A.
T- cell growth factor.
Immunol. Rev., 1980, 51, 337-357.
- 124 - SMITH K.A.
IL-2 : Inception, impact and implications.
Science, 1988, 240, 1169-1176.
- 125 - SMITH K.A.
Interleukin-2 and its receptors : Structure-activity
consideration.
Lymphokine Receptor Interactions, Colloque INSERM, 1989,
179, 13-15, Eds Fradelizi D., Bertoglio J.

- 126 - SMITH K.A.
L'interleukine-2.
Pour la science, 1990, 151, 78-86.
- 127 - SNYDMANS D.R., SULLIVAN B., GILL M., GOULD J.A., PARKINSON D.R., ATKINS M.B.
Nocosomial sepsis associated with interleukin-2.
Ann. Inter. Med., 1990, 112, 102-107.
- 128 - SONDEL P.M., HANK J.A., KOHLER P.C., SOSMAN J.A., WEIL-HILLMAN G., FISCH P.
The cellular immunotherapy of cancer : Current and potential uses of interleukin-2.
Crit. Rev. Oncol/Hematol, 1989, 9, 125-147.
- 129 - SPIESS P.J., YANG J.C., ROSENBERG S.A.
In vivo antitumor activity of tumor infiltrating lymphocytes expanded in recombinant interleukin-2.
J. Nat. Cancer Inst., 1987, 79, 1067-1075.
- 130 - STEIS R.G., URBA W.J., VANDERNOLEN L.A., BOOKMAN M.A., SMITH J.W., CLARK J.W., MILLER R.L., CRUM E.D., BECKNER S.K., KNIGHT J.E.D., OZOLS R.F., STEVENSON H.C., YOUNG R.C., LONGO D.L.
Intraperitoneal LAK cell and recombinant interleukin-2 therapy for malignancies limited to the peritoneal cavity.
J. Clin. Oncol., 1990, 8, 1618-1629.
- 131 - STOROGENKO M.
Les interleukines.
L'Eurobiologiste, 1990, 24, 421-428.
- 132 - STOTER G., FOSSA S.D., RUGARLI C., SYMANN M., JASMIN C., ISRAEL L., BIJMAN J.T., PALMER P., FRANKS C.R.
Metastatic renal cell cancer treated with low dose interleukin-2.
Cancer Treat. Rev., 1989, 16, 111-113.

- 133 - STOTER G., SHILONI E., AAMDAL S., CLETON F.J., IACOBELLI S., BIJMAN J.TH., PALMER P., FRANKS C.R., RODENHUIS S.
Sequential administration of recombinant interleukin-2 human and dacarbazine in metastatic melanoma : A multi-centric phase II study.
Eur. J. Cancer. Clin. Oncol, 1989, 25 (suppl 3), 541-543.
- 134 - SZNOL M., DUTCHER J.P., ATKINS M.B., RAYNER A.R.A., MARGOLIN K.A., GAYNOR E.R., WEISS G.R., ARONSON F., PARKINSON D.R., HAWKINS M.J.
Review of interleukin-2 alone and interleukin-2/L.A.K. clinical trials in metastatic malignant melanoma.
Cancer Treat. Rev., 1989, 16 (suppl A), 29-38.
- 135 - SZTEIN M.B., SERRATE S.A., GOLDSTEIN A.L.
Modulation of interleukin-2 receptor expression on normal human lymphocytes by thymic hormones.
Proc. Natl. Acad. Sci., 1986, 83, 6107-6111.
- 136 - TAMURA T., SASAKI Y., SHINKAO T., EGUCHI K., SAKURAI M., FUJIWARA Y., NAKAGAWA K., MINATO K., BUNGO M., SAIJO N.
Phase I study of combination therapy with interleukin-2 and β interferon in patients with advanced malignancy.
Cancer Res., 1988, 49, 730-735.
- 137 - THATCHER N.
IL-2 : Clinical aspects.
Lymphohaematopoietic Growth Factors in Cancer Therapy, 1990, 57-77, Mertelsmann, Springer-Verlag, Berlin/Ger.
- 138 - THATCHER N., DAZZI H., JOHNSON R.J., RUSSEL S., GHOSH A.H., MOORE M., CHADWICK G., CRAIG R.D.P.
Recombinant interleukin-2 given intrasplenically and intravenously for advanced malignant melanoma : A phase I/II study.
Br. J. Cancer, 1989, 60, 770-774.

- 139 - THOMPSON J.A., LEE D.J., LINDGREN C.G.
Influence of dose and duration of infusion of interleukin
-2 on toxicity and immunomodulation.
J. Clin. Oncol., 1988, 6, 669-678.
- 140 - THOMPSON J.A., LEE D.J., COX W.W., LINDGREN C.G., COLLINS
C., NERAAS K.A., DENNIN R.A., FEFER A.
Recombinant interleukin-2 toxicity, pharmacokinetics and
immunomodulatory effects in a phase I trial.
Cancer Res., 1987, 47, 4202-4207.
- 141 - TIGGES M.A. CASEY L.S., KOSHLAND M.E.
Mechanism of interleukin-2 signaling : Mediation of diffe-
rent outcoms by a single receptor and transduction path-
way.
Science, 1989, 243, 781-786.
- 142 - TING C., YANG S.S., HARGROVE M.E.
Induction of suppressor T- cells by interleukin-2.
J. Immunol., 1984, 133, 261-266.
- 143 - TOPALIAN S.L., MUUL L.M., SALOMON D., ROSENBERG S.A.
Expansion of human tumor infiltrating lymphocytes for use
in immunotherapy trials.
J. Immunol., 1987, 102, 127-141.
- 144 - TOPALIAN S.L., SALOMON D., AVIS F.P., CHANG A.E., FREESSEN
D.L., LINCHAM V.W., LOTZE M.T., ROBERTSON C.N., SEIPP
C.A., SIMON P., SIMPSON C.E., ROSENBERG S.A.
Immunotherapy of patients with advanced cancer using tumor
infiltrating lymphocytes and recombinant interleukin-2 :
A pilot study.
J. Clin. Oncol., 1988, 6, 839-853.

- 145 - TURSZ T., DORVAL T., BERTHAUD P., JOUVE M., AVRIL M.F., GARCIA-GIRALT E., LE CHEVALIER T., SPIELMANN M., SEVIN D., PALANGIE T., BRANDELY M., FRIEDMAN W.H., HERCEND T., POUILLART P.
Essai de phase I d'une interleukine-2 humaine recombinante.
Presse-Med., 1991, 20, 250-254.
- 146 - VECHT C.J., KEOHANE C., MENON R.S., PUNT C.J.A., STOTER G.
Acute fatal leukoencephalopathie after interleukin-2 therapy.
N. Engl. J. Med., 1990, 323, 1146-1147.
- 147 - VINCENT J.
Première greffe génique française.
Impact Médecin, 1991, 97, 32.
- 148 - WALDMAN T.A.
The structure, function and expression of interleukin-2 receptors on normal and malignant lymphocytes.
Science, 1986, 232, 727-732.
- 149 - WALDMAN T.A., GOLDMAN C.K., ROBB R.J.
Expression of interleukin-2 receptors on activated human B cells.
J. Exp. Med., 1984, 160, 1450-1466.
- 150 - WALEUSKI J., PAIETTA E., DUTCHER J., WIERNICK P.M.
Evaluation of N.K and L.A.K. cell activity in vivo in patients treated with high dose interleukin-2 and adoptive transfer of autologous LAK cells.
Cancer Res. Clin. Oncol., 1989, 115, 170-174.

- 151 - WANG A., LU S., MARK D.F.
Site specific mutagenesis of the human interleukin-2 gene : Structure fonction analysis of the cysteine residues.
Science, 1984, 224, 1431-1433.
- 152 - WANG J.C.L., WALLE A., NOVOGRODSKY A., SUTHANTHIRAN M., SILVER R.T., BANDER N.H., RUBIN A.L., STENZEL K.H.
A phase II clinical trial of adoptive immunotherapy for advanced renal cell carcinoma using mitogen-activated autologous leukocytes and continuous infusion interleukin-2.
J. Clin. Oncol., 1989, 7, 1885-1891.
- 153 - WEBER J.S., JAY G., TANAKA K., ROSENBERG S.A.
Immunotherapy of a murine tumor with interleukine-2 : increased sensitivity after M.H.C. class I gene transfection.
J. Exp. Med., 1987, 166, 1716-1733.
- 154 - WEISS G.R., MARGOLIN K., ARONSON F.R., SZNOL M., ATKINS M.B., GUCALP R., FISCHER R.I., SHAU H., BOSWELL W.D., LIND S., BRADLEY E.C.
A randomised phase II trial of continuous infusion interleukin-2 or bolus injection interleukin-2 plus LAK cells for advanced renal cell carcinoma.
A.S.C.O., 1989, n° 509.
- 155 - WELTE K., MERTELSMANN R.
Human interleukin-2 : biochemistry physiology, and possible pathogenetic role in immunodeficiency syndromes.
Cancer Invest., 1985, 3, 35-49.
- 156 - WEST W.H., TAUER K.W., YANNELLI J.R., MARSHALL G.D., ORR D.W., THURMAN G.B., OLDMAN R.K.
Constant infusion recombinant interleukin-2 in adoptive immunotherapy of advanced cancer.
N. Engl. J. Med., 1987, 316, 898-905.

157 - YOSHIDA S., TANAKA R., TAHAI N., ONO K.

Local administration of autologous LAK cells and recombinant interleukin-2 to patients with malignant brain tumors.

Cancer Res., 1988, 48, 5011-5016.



A U T O R I S A T I O N D ' I M P R E S S I O N

De la Thèse dont l'intitulé est :

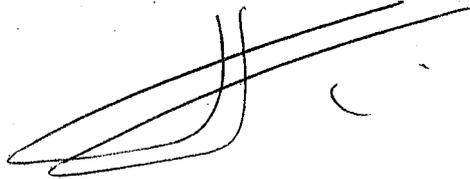
1) Anterleukémine - 2 en immunothérapie clinique -

CANDIDAT : M^r ANDRE Patrice

VU

GRENOBLE, le 19-12-91

Le Président du Jury FAUJER A.

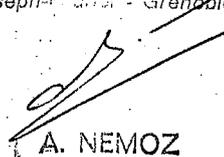


VU

GRENOBLE, le 30 janvier 1992

Le Président de l'Université
Joseph FOURIER GRENOBLE I
Sciences. Technologie. Médecine

Le Président de l'Université
Joseph Fourier - Grenoble I



A. NEMOZ

