

L'interleukine-12 humaine : propriétés biologiques et potentialités thérapeutiques

Salem Chouaib
Jihed Chehimi

L'interleukine-12 (IL12) est une cytokine hétérodimérique au large spectre d'activités biologiques ; son rôle principal est de potentialiser l'activité cytotoxique et de participer à la régulation de la prolifération des lymphocytes T et des cellules NK. Elle induit la production de l'interféron γ (INF γ), et favorise la différenciation des cellules auxiliaires de type Th-1. Elle est impliquée dans la surveillance immunologique antitumorale : du fait de sa capacité d'induire une réponse immune efficace contre des tumeurs peu immunogènes, son utilisation potentielle en thérapeutique oncologique suscite à l'heure actuelle un grand intérêt. L'IL12 joue un rôle pivot dans la cascade des cytokines et est une bonne candidate comme adjuvant dans le traitement de certaines manifestations immunopathologiques au cours du développement de maladies infectieuses, notamment le déficit immunitaire associé au VIH. Il est clairement établi que cette cytokine intervient dans la phase précoce de la réponse immune contre les infections bactériennes et parasitaires et constitue un messenger entre la résistance naturelle et le développement de l'immunité spécifique.

La purification et la caractérisation fonctionnelle des cytokines ont contribué à élucider la nature des communications interlymphocytaires qui régissent l'élaboration d'une réponse immune. Les expériences de délétion génique menées chez l'animal confirment de façon formelle que le rôle *in vivo* de ces facteurs est capital dans la différenciation et la maturation des effecteurs de l'immunité [1]. Ces messagers possèdent des potentialités thérapeutiques et constituent des

cibles et des outils privilégiés de l'intervention immunitaire [2]. Ainsi au cours de la dernière décennie, se sont développées des approches d'immunothérapie active, alors que d'autres perspectives se dessinent à présent grâce aux nouvelles stratégies de transfert de gène de cytokine. Parmi l'arsenal des modificateurs de la réponse biologique, une nouvelle cytokine responsable de l'interaction entre les cellules phagocytaires et les lymphocytes, l'interleukine-12 (IL12), semble susciter un intérêt particulier

ADRESSE

S. Chouaib: *directeur de recherche à l'Inserm, CJF 94-11, cytokines et immunité antitumorale, Institut Gustave-Roussy, 94700 Villejuif, France.* J. Chehimi: *professeur assistant, Division of allergy, immunology and infectious diseases, The Children's Hospital of Philadelphia, Pennsylvania, États-Unis.*

RÉFÉRENCES

1. Shorlen H, Holschke, Huening T, Shimpl A, Horak I. Development and function of T cells in mice rendered interleukin-2 deficient by gene targeting. *Nature* 1991; 352: 621-4.
2. Oppenheim JJ, Rossio JL, Gearing AJH. *Clinical application of cytokines: role in pathogenesis; diagnosis and therapy*. New York: Oxford University Press, 1993.
3. Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick RM, Clark SC, Chan S, Loudon R, Sherman F, Perussia B, Trinchieri G. Identification and purification of Natural Killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J Exp Med* 1989; 170: 827.
4. Stern AS, Podlaski FJ, Hulmes JD, Pan YE, Quinn PM, Wolitzky AG, Familletti PC, Siremla DL, Truitt T, Chizzonite R, Gately MK. Purification to homogeneity and partial characterization of cytotoxic lymphocyte maturation factor from human B-lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6808-12.
5. D'Andrea A, Rengaraju M, Valiante NM, Chehimi J, Kubin M, Aste-Amezaga M, Chan SH, Kobayashi M, Young D, Nickbarg E, Chizzonite R, Wolf SF, Trinchieri G. Production of natural killer cell stimulatory factor (NKSF/IL-12) by peripheral blood mononuclear cells. *J Exp Med* 1992; 176: 1387-98.
6. Chehimi J, B. Trinchieri G. Interleukin-12: a bridge between innate resistance and adaptive immunity with a role in infection and acquired immunodeficiency. *J Clin Immunol* 1994; 14: 149-61.
7. Gubler U, Chua AO, Schoenhaut DS, Dwyer CM, McComas W, Motyka R, Nabavi N, Wolitzky AG, Quinn PM, Familletti PC, Gately MK. Coexpression of two distinct genes is required to generate secreted bioactive cytotoxic lymphocyte maturation factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4143-7.
8. Desai BB, Quinn PM, Mongini A, Chizzonite R, Gately MK. The IL-12 receptor. II. Distribution and regulation of receptor expression. *J Immunol* 1992; 148: 3125-32.
9. Chua AO, Chizzonite R, Desai BB, Truitt TP, Nunes P, Minetti LJ, Warrior RR, Presky DH, Levine SF, Gately MK, Gubler U. Expression cloning of a human IL-12 receptor component. A new member of the cytokine receptor superfamily with strong homology to gp130. *J Immunol* 1994; 153: 128-36.

et un grand espoir du fait de ses propriétés immunorégulatrices et de ses potentialités thérapeutiques pour le traitement de certains types de cancers et de maladies infectieuses.

La molécule et son récepteur

L'IL12 humaine fut décrite sous le nom de *natural killer stimulating factor* (NKSF) par Trinchieri *et al.* [3] et sous le terme de *cytotoxic lymphocyte maturation factor* (CLMF) par Gately *et al.* [4]. Ce facteur a été initialement purifié à partir des surnageants de culture de lignées B lymphoblastoïdes humaines RPMI 8866 et NC37B. Au niveau des cellules du sang périphérique, il est clairement établi que les lymphocytes B et les monocytes, ainsi que les cellules dendritiques, sont les sources de production principales de l'IL12 [5]. Il s'agit de la seule cytokine hétérodimérique décrite de nos jours. Elle est constituée de deux polypeptides de 35 kDa (p35) et de 40 kDa (p40) codés par des gènes distincts localisés respectivement sur 13p12-q13.2 et 5q31q33. Des expériences de transfection indiquent que la coexpression de ces deux gènes par une même cellule est indispensable pour la génération d'une molécule biologiquement active [6]. Outre l'hétérodimère, les cellules productrices d'IL12 sécrètent la p40 seule qui est constamment exprimée en excès par rapport à l'hétérodimère (rapport 10 à 50:1) [7]. La production de l'IL12 est réglée négativement par certaines cytokines, telles que l'IL10, IL4, IL13 et le *tumor growth factor* TGF β .

Le récepteur de l'IL12 demeure mal caractérisé. Les données de tests de liaison fondées sur l'utilisation de l'IL12 radiomarquée indiquent l'existence de faible (K_D : 100 à 600 pM) et de forte (K_D : de 2 à 20 pM) affinités [8]. La structure du récepteur n'est pas clairement établie, mais certains travaux suggèrent l'existence d'une structure multimérique. Récemment, l'ADNc codant pour une chaîne du récepteur de l'IL12 a été cloné [9]. Il s'agit d'une chaîne transmembranaire qui possède une analogie avec la gp130 du récepteur de l'IL6.

Activités biologiques de l'IL12

Rôle de l'IL12 dans l'hématopoïèse

Plusieurs arguments expérimentaux indiquent que L'IL12, en association avec certaines cytokines (IL3, le *stem cell factor* ou IL11), induit la croissance et la survie des cellules souches hématopoïétiques murines et leur confère un potentiel de différenciation vers les cellules myéloïdes et B [10-12]. Des résultats similaires ont été récemment rapportés chez l'homme [13]. Cependant, quand la stimulation par l'IL12 des cellules souches se fait en présence des cellules NK, une inhibition de la formation des colonies hématopoïétiques est observée [13]. Cette inhibition résulte d'une dualité fonctionnelle de l'IL12 qui, d'une part, induit la croissance des progéniteurs hématopoïétiques et, d'autre part, est capable d'induire la sécrétion de certaines cytokines susceptibles d'inhiber l'hématopoïèse telles que le *tumor necrosis factor* TNF α et l'interféron γ (IFN γ).

IL12: un facteur au centre de la cascade des cytokines qui favorise la différenciation des cellules Th-1

L'IL12 joue un rôle essentiel dans la cascade des cytokines par sa capacité d'induire la sécrétion de l'INF γ aussi bien par les lymphocytes T que par les cellules NK [14]. Elle joue un rôle déterminant dans la différenciation des cellules T de type Th-1 et dans l'inhibition de la différenciation des cellules T de type Th-2 [15, 16]. L'IL12 agit à la fois sur les cellules naïves, comme l'ont montré des expériences utilisant des lymphocytes du cordon, et sur les cellules mémoires [17]. Les mécanismes par lesquels l'IL12 induit le développement des cellules Th-1 semblent être liés, soit à sa capacité de sensibiliser les cellules CD4⁺ et CD8⁺, conduisant à une production accrue d'IFN γ en réponse à une stimulation antigénique et à une prolifération sélective des cellules Th-1, soit à sa capacité de supprimer la différenciation des cellules productrices d'IL4 [18]. Elle a ainsi un effet sur la commutation isotypique des anticorps spécifiques de l'antigène et peut, de ce fait, exercer

RÉFÉRENCES

10. Jacobsen SE, Veiby OP, Smeland EB. Cytotoxic lymphocyte maturation factor (interleukin-12) is a synergistic growth factor for hematopoietic stem cells. *J Exp Med* 1993; 178: 413-8.
11. Dybedal I, Larsen S, Jacobsen SE. IL-12 directly enhances *in vitro* murine erythropoiesis in combination with IL-4 and stem cell factor. *J Immunol* 1995; 154: 4950-5.
12. Fardoun-Joalland D, Teixeira-Lebrun G, Lenormand B, Dzonzo-Gadet M, Vannier JP. Synergism of interleukin-12 and interleukin-3 on development of hematopoietic progenitors. *Eur J Hematol* 1995; 54: 172-5.
13. Bellone G, Trinchieri G. Dual stimulatory and inhibitory effect of NK cell stimulatory factor/IL-12 on human hematopoiesis. *J Immunol* 1994; 153: 930-7.
14. Chan SH, Perussia B, Gupta JW, Kobayashi M, Pospisil M, Young HA, Wolf SF, Young D, Clark SC, Trinchieri G. Induction of IFN production by NK cell stimulatory factor (NKSF): Characterization of the responder cells and synergy with other inducers. *J Exp Med* 1991; 173: 869-79.
15. Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccini MP, Maggi E, Trinchieri G, Romagnani S. Natural killer cell stimulatory factor (NKSF/IL-12) induces Th1-type specific immune responses and inhibits the development of IL-4 producing Th2 cells. *J Exp Med* 1993; 177: 1199-204.
16. Manetti R, Gerosa F, Giudizi MG, Biagiotti R, Parronchi P, Piccini MP, Sampareo S, Maggi E, Romagnani S, Trinchieri G. Interleukin-12 induces stable priming for interferon- γ (IFN- γ) production during differentiation of human T helper (Th) cells and transient IFN- γ production in established Th2 cell clones. *J Exp Med* 1994; 179: 1273-83.
17. Wu CY, Demeure C, Kiniwa M, Gately M, Delespesse G. IL-12 induces the production of IFN- γ by neonatal human CD4 T cells. *J Immunol* 1993; 151: 1938-49.
18. Trinchieri G. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 251-76.
19. Naume B, Johnsen AC, Espevik T, Sundan A. Gene expression and secretion of cytokines and cytokine receptors from highly purified CD56⁺ natural killer cells stimulated with interleukin-2, interleukin-7 and interleukin-12. *Eur J Immunol* 1993; 23: 1831-8.

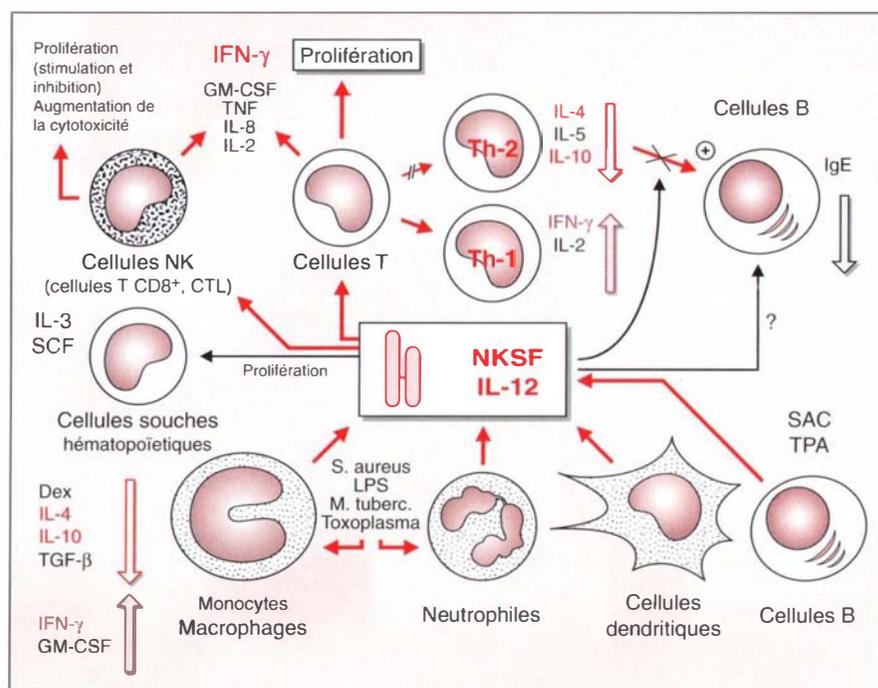


Figure 1. **Cellules productrices et cibles de l'interleukine 12.** Outre sa capacité d'induire la production d'interféron IFN- γ par les cellules T et NK (natural killer), tant *in vitro* qu'*in vivo*, l'IL12 se situe au centre de la cascade des cytokines en contrôlant la production de plusieurs d'entre elles, comme l'IL2, le GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor), le TNF (tumor necrosis factor) et l'IL8 [19-22]. De plus, cette cytokine possède des propriétés immunorégulatrices liées à sa capacité de stimuler l'expression d'un certain nombre de récepteurs et de molécules d'adhérence [23, 24] tels que les molécules CD25, HLA-DR, CD69 (VEA), CD71 (récepteur de la transferrine), le récepteur du TNF (p75), les molécules CD2, CD11a (LFA-1) et CD54 (ICAM). NKSF: natural killer stimulating factor; SCF: stem cell factor; TGF: tumor growth factor; LPS: lipopolysaccharides; TPA activateur tissulaire du plasminogène; Dex: dexaméthasone.

un contrôle direct sur le développement de la réaction allergique.

Synergie entre l'IL12 et les molécules de costimulation

Plusieurs arguments indiquent l'existence d'une synergie entre l'IL12 et l'interaction B7.1-CD28. Cette synergie s'accompagne d'une augmentation de la prolifération et de la production de cytokines sécrétées par les lymphocytes T humains [25] et par certains clones murins de type Th-1 [26]. Dans un modèle expérimental, il a été clairement montré que l'efficacité de l'éradication tumorale induite par l'IL12 était plus importante quand les cellules tumorales exprimaient à leur surface la molécule

B7.1. Par ailleurs, des cellules tumorales modifiées, utilisées comme vaccins après transfection par les gènes de l'IL12 et de B7, se sont révélées capables dans un modèle murin d'engendrer une réponse antitumorale contre une tumeur sauvage insuffisamment immunogène [23]. Les mécanismes sous-jacents à cette synergie IL12-B7.1 semblent être associés à une infiltration lymphocytaire accrue de la tumeur par des CD4⁺ et des CD8⁺ [27].

IL12: une cytokine clé dans la différenciation des cellules tueuses naturelles et spécifiques de l'antigène

Plusieurs travaux ont montré que l'IL12 est un facteur essentiel dans

RÉFÉRENCES

20. Aste-Amezaga M, D'Andrea A, Kubin M, Trinchieri G. Cooperation of natural killer cell stimulatory factor/interleukin-12 with other stimuli in the induction of cytokines and cytotoxic cell associated molecules in human T and NK cells. *Cell Immunol* 1994; 156: 480-92.
21. Morris SC, Madden KB, Adamovicz JJ, Gause WC, Hubbard BR, Gately MK, Finkelman FD. Effects of IL-12 *in vivo* cytokine gene expression and Ig isotype selection. *J Immunol* 1994; 152: 1047-56.
22. D'Andrea A, Aste-Amezaga M, Valiante NM, Ma X, Kubin M, Trinchieri G. Interleukin-12 inhibits human lymphocyte IFN- γ production by suppressing natural killer cell stimulatory factor/interleukin-12 synthesis in accessory cells. *J Exp Med* 1993; 178: 1041-8.
23. Robertson MJ, Soiffer RJ, Wolf SF, Manley TJ, Donahue C, Young D, Herrmann SH, Ritz J. Response of human natural killer (NK) cells to NK cell stimulatory factor (NKSF): cytolytic activity and proliferation of NK cells are differentially regulated by NKSF. *J Exp Med* 1992; 175: 779-88.
24. Rabinowich H, Herberman RB, Whiteside TL. Differential effects of IL12 and IL2 on expression and function of cellular adhesion molecules on purified human natural killer cells. *Cell Immunol* 1993; 152: 481-98.
25. Kubin M, Kamoun M, Trinchieri G. Interleukin 12 synergizes with B7/CD28 interaction in inducing efficient proliferation and cytokine production of human T cells. *J Exp Med* 1994; 180: 211-22.
26. Murphy EE, Terres G, Macatonia SE, Hsieh CS, Mattson J, Lanier L, Wysocka M, Trinchieri G, Murphy K, O'Garra A. B7 and IL-12 cooperate for proliferation and IFN- γ production by mouse T helper clones that are unresponsive to B7 costimulation. *J Exp Med* 1994; 180: 223-31.
27. Zitvogel L, Tahara H, Cai Q, Storkus WJ, Muller G, Wolf SF, Gately M, Robbins PD, Lotze MT. Construction and characterisation of retroviral vectors expressing biologically active human interleukin-12. *Hum Gene Ther* 1994; 5: 1493-506.
28. Chehimi J, Starr S, Frank I, Rengaraju M, Jackson SJ, Llanes C, Kobayashi M, Perussia B, Young D, Nickbarg E, Wolf SF, Trinchieri G. Natural killer cell stimulatory factor (NKSF) increases the cytotoxic activity of NK cells from both healthy donors and HIV-infected patients. *J Exp Med* 1992; 175: 789-96.

l'exacerbation du potentiel lytique des cellules tueuses naturelles NK (*natural killers*) et LAK (*lymphokines activated killers*) [23, 28, 29]. L'effet de l'IL12 sur ces cellules est très précoce et ne nécessite pas une prolifération cellulaire. En effet, l'IL12 stimule l'activité cytotoxique constitutive des cellules NK mais peut également la restaurer quand elle est déficiente dans certaines situations pathologiques, comme c'est le cas chez certains patients ayant un cancer métastatique [30], ou chez des patients atteints par la maladie de Sézary [31], ou encore par déficit immunitaire lié au VIH [28]. Par ailleurs cette cytokine joue un rôle déterminant dans la différenciation des cellules T cytotoxiques spécifiques de l'antigène ou alloréactives [32, 33]. Il faut souligner que, du fait qu'elle est produite par les cellules accessoires, la génération d'effecteurs cytotoxiques devient possible en l'absence de certaines cytokines produites par les cellules T auxiliaires.

Par ailleurs, bien qu'elles partagent plusieurs propriétés biologiques, l'IL12 et l'IL2 sont deux cytokines

fonctionnellement distinctes notamment par leur source de production et leur implication différentielle dans le développement et dans la régulation de la cytotoxicité à médiation cellulaire, restreinte ou non par le complexe majeur d'histocompatibilité (Tableau I).

Potentialités antitumorales de l'IL12

L'administration intratumorale ou par voie systémique de l'IL12 est corrélée à une régression tumorale

A la lumière des observations faites *in vitro* et dans les modèles expérimentaux murins, l'IL12 a acquis une place privilégiée parmi les modificateurs de la réponse biologique dans l'immunosurveillance antitumorale et suscite un intérêt croissant pour une utilisation *in vivo* dans le cadre de certains traitements antitumoraux. En effet, plusieurs travaux indiquent que l'administration de l'IL12 *in vivo* potentialise l'activité NK et CTL et induit la production de l'INF γ , avec un effet sur la différenciation des cellules

Tableau I
COMPARAISON DES ACTIVITÉS DE L'INTERLEUKINE 2 ET DE L'INTERLEUKINE 12

Cytokines	IL2	IL12
Cellules productrices	Cellules Th1	Cellules phagocytaires Cellules dendritiques Cellules B, neutrophiles
Expression du récepteur		
Cellules T	+	+
Cellules NK	+	+
Monocytes	+	?
Cellules B	+	?
Augmentation de l'activité NK	+++	++
Génération de cellules LAK	+++	+ (++++ avec l'IL2)
Génération de CTL	+	+++
Induction de IFN γ	+	++ (++++ avec l'IL2)

NK: natural killer; LAK: lymphokine-activated killer cell; CTL: cytotoxic lymphocyte.

RÉFÉRENCES

29. Chehimi J, Valiante NM, D'Andrea A, Rengaraju M, Rosado Z, Kobayashi M, Perussia B, Wolf S, Starr SE, Trinchieri G. Enhancing effect of natural killer cell stimulatory factor (NKSF/IL-12) on cell-mediated cytotoxicity against tumor-derived and virus-infected cells. *Eur J Immunol* 1993; 23: 1826-30.
30. Soiffer RJ, Roberstson MJ, Murray C, Cochran K, Ritz J. Interleukin-12 augments cytolytic activity of peripheral blood lymphocytes from patients with hematologic and solid malignancies. *Blood* 1993; 82 (9): 2790-6.
31. Rook AH, Kubin M, Cassn M, Vonderheid E, Vowels BR, Wolfe JT, Wolf S, Trinchieri G, Less SR. Interleukin-12 reverses cytokine and immune abnormalities in Sezary syndrome. *J Immunol* 1995; 154: 1491-8.
32. Mehrotra PT, Wu D, Crim JA, Mostowski HS, Siegel JP. Effects of IL-12 on the generation of cytotoxic activity in human CD8⁺ T lymphocytes. *J Immunol* 1993; 151: 2444-52.
33. Chouaib S, Chehimi J, Bani L, Genetet N, Tursz T, Gay F, Trinchieri G, Mami-Chouaib F. Interleukin 12 induces the differentiation of major histocompatibility complex class I-primed cytotoxic T-lymphocyte precursors into allospecific cytotoxic effectors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 12659-63.
34. Brunda MJ, Luistro L, Warriar RR, Wright RB, Hubbard BR, Murphy M, Wolf SF, Gately MK. Antitumor and antimetastatic activity of interleukin-12 against murine tumors. *J Exp Med* 1993; 178: 1223-30.
35. Tahara H, Zeh HJ, Workus WJ, Pappo I, Watkins SC, Gubler U, Wolf SF, Robbins PD, Lotze MT. Fibroblasts genetically engineered to secrete interleukin-12 can suppress tumor growth and induce antitumor immunity to a murine melanoma *in vivo*. *Cancer Res* 1994; 54: 182-9.
36. Noguchi Y, Richards EC, Chen YT, Old LJ. Influence of interleukin-12 on p53 peptide vaccination against established Meth A sarcoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 2219-23.
37. Tahara H, Zitvogel L, Storkus WJ, Zeh HJ, McKinney TG, Schreiber RD, Gubler U, Robbins PD, Lotze MT. Effective eradication of established murine tumors with interleukin-12 (IL-12) gene therapy using a polycistronic retroviral vector. *J Immunol* 1995; 6466-74.
38. Germann T, Gately MK, Schoenhaut DS, Lohoff M, Matner F, Fischer S, Jin S, Schmitt E, Rude E. Interleukin-12/T cell stimulating factor, a cytokine with multiple effects on T helper type 1 (T_H1) but not on T_H2 cells. *Eur J Immunol* 1993; 23: 1762-70.

Th-1 auxiliaires spécifiques de l'antigène. Quand l'IL12 est utilisée comme adjuvant au cours d'une immunisation, elle favorise la différenciation des cellules de type Th-1 et inhibe la différenciation des cellules productrices d'IL4 [31]. L'administration de l'IL12 à des souris porteuses de tumeurs peut prolonger leur survie en inhibant de manière significative la progression tumorale [32-34], comme cela a été montré pour certaines

tumeurs expérimentales (M5076: sarcome réticulaire, Renca: adénocarcinome, B16F10: mélanome).

Transfert du gène codant pour l'IL12 et tentative de thérapie génique

Bien que l'administration de l'IL12 par voie systémique soit corrélée à une régression tumorale chez certaines souches de souris [35], l'existence de certains effets secondaires

Tableau II	
RÔLE DE L'INTERLEUKINE 12 DANS LA DÉFENSE CONTRE LES MALADIES INFECTIEUSES	
Maladie	Effets
Leishmaniose	<ul style="list-style-type: none"> • Règle la réponse anti-<i>Leishmania</i> (chez la souris) • Exerce un effet protecteur chez les souris sensibles. Utilisée comme adjuvant, elle modifie l'équilibre Th2-Th1 et protège les souris sensibles • Agit en synergie avec le Pentostam dans la guérison des souris sensibles en modifiant l'équilibre Th2-Th1 • Augmente <i>in vitro</i> la réponse protectrice Th1 chez l'homme atteint de Leishmaniose viscérale à <i>L. Donovanii</i>
Paludisme	<ul style="list-style-type: none"> • Effet antiparasitaire et augmentation de la survie des souris sensibles
Tuberculose et lèpre	<ul style="list-style-type: none"> • Effet antibactérien et protection contre l'infection pulmonaire
Schistosomiase	<ul style="list-style-type: none"> • Réduit la formation du granulome pathogène chez la souris • Augmente l'activité antiparasitaire chez la souris • Préviend la réponse Th2 associée à la maladie lorsqu'elle est utilisée comme adjuvant dans la vaccination chez la souris
Listeria, <i>Brucella</i> Toxoplasmose	<ul style="list-style-type: none"> • Augmente la résistance antiparasitaire
VIH NK	<ul style="list-style-type: none"> • Augmente l'activité tueuse défectueuse des cellules • Corrige les réponses prolifératives défectueuses des cellules T en réponse à des peptides VIH, alloantigènes et antigènes de rappel • Diminue l'induction de mort cellulaire programmée

RÉFÉRENCES

39. Heinzel FP, Schoenhaut DS, Rerko RM, Rosser LE, Gately MK. Recombinant interleukin 12 cures mice infected with *Leishmania major*. *J Exp Med* 1993; 177: 1505-9.
40. Sypek JP, Chung CL, Mayor SEH, Subramanyam JM, Goldman SJ, Sieburth DS, Wolf SF, Schaub RG. Resolution of cutaneous leishmaniasis: interleukin-12 initiates a protective T helper type 1 immune response. *J Exp Med* 1993; 177: 1797-802.
41. Afonso LCC, Scharton TM, Vieira LQ, Wysocka M, Trinchieri G, Scott P. The adjuvant effect of interleukin-12 in a vaccine against *Leishmania major*. *Science* 1994; 263: 235-7.
42. Wynn TA, Eltoun I, Oswald IP, Cheever AW, Sher A. Endogenous interleukin 12 (IL-12) regulates granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni* and exogenous IL-12 both inhibits and prophylactically immunizes against egg pathology. *J Exp Med* 1994; 179: 1551-61.
43. Clerici M, Lucey DR, Berzofsky JA, Pinto LA, Wynn TA, Blatt SP, Dolan MJ, Hendrix CW, Wolf SF, Shearer GM. Restoration of HIV-specific cell-mediated immune responses by interleukin-12 *in vitro*. *Science* 1993; 262: 1721-4.
44. Sirianni MC, Ansotegui IJ, Aiuti F, Wiggzell H. Natural killer cell stimulatory (NKSF)/IL-12 and cytolytic activities of PBL/NK cells from human immunodeficiency virus type-1 infected patients. *Scand J Immunol* 1995; 40: 83-6.
45. Chehimi J, Starr S, Frank I, D'Andrea A, Ma X, Mac Gregor RR, Sennelier J, Trinchieri G. Impaired interleukin-12 production in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Exp Med* 1994; 179: 1361-6.
46. Liblau RS, Singer SM, McDevitt HO. Th1 and Th2 Cd4⁺ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol Today* 1995; 16: 34-8.
47. Powrie F, Coffmann RL. Cytokine regulation of T-cell function: potential for therapeutic intervention. *Immunol Today* 1993; 14: 270-4.
48. Trembleau S, Penna G, Bosi E, Mortara A, Gately MK, Adorini L. Interleukin 12 Administration Induces T helper type 1 Cell and accelerates autoimmune diabetes in NOD Mice. *J Exp Med* 1995; 181: 817-21.
49. Leonard JP, Waldburger KE, Goldmann SJ. Prevention of Experimental autoimmune encephalomyelitis by antibodies against interleukin 12. *J Exp Med* 1995; 181: 381-6.

chez les primates ont été suggérés. Par ailleurs, des arguments indiquent que l'administration péritumorale semble être plus efficace que l'administration par voie systémique. L'efficacité du transfert du gène de l'IL12 dans la régression tumorale dans plusieurs modèles expérimentaux murins est clairement établie [36]. A la lumière des résultats obtenus dans les modèles expérimentaux, plusieurs groupes s'orientent à l'heure actuelle vers l'élaboration de nouvelles stratégies fondées sur l'utilisation du transfert du gène de l'IL-12 pour le traitement d'un certain nombre de cancers humains. Des essais, utilisant des fibroblastes autologues transfectés par le gène de l'IL12 [37], sont en cours de développement chez l'homme.

Rôle de l'IL12 dans les maladies infectieuses

Le meilleur modèle expérimental, permettant d'analyser le rôle joué par l'IL12 dans la stimulation de la réponse immunitaire de type Th-1, s'est révélé être la souris infectée par le protozoaire parasite *Leishmania major*. A la différence des souches résistantes telles que les C3H qui répondent à *L. major* par une réponse Th-1 protectrice, les souris BALB/c développent une réponse Th-2 qui n'empêche pas la progression de l'infection. Un traitement systémique continu par l'IL12, dès le début de l'infection, protège les souris BALB/c sensibles à l'infection par *L. major*. Parallèlement à l'effet curatif de l'IL12, on observe le passage d'une réponse de type Th-2 à une réponse de type Th-1 dès le début de la production d'INF γ et de l'inhibition de la production d'IL4 [38, 39]. Lorsque le traitement par l'IL12 se fait quelques jours après l'infection, il est inefficace, suggérant l'incapacité de l'IL12 de modifier une réponse Th-2 établie [40]. L'immunisation des souris BALB/c par des extraits solubles de *L. major* induit une réponse non protectrice de type Th-2. Cependant, la vaccination par l'extrait soluble associée à l'IL12 induit une réponse mémoire Th-1 qui protège complètement les souris BALB/c contre une infection ultérieure par *L. major* [41]. Ces résultats ont été confirmés dans l'infection par *Schistosoma mansoni*, dans la

quelle un vaccin incluant l'IL12 comme adjuvant prévient la réponse Th-2 responsable de la formation du granulome pathogène [42].

IL12 et déficit immunitaire associé au VIH

Outre la baisse globale du nombre des cellules T CD4⁺, on observe chez les patients atteints par le VIH en début d'infection, un déséquilibre dans la fonction et l'activation des cellules T helper [28] et, notamment, une production altérée de cytokines susceptibles de modifier l'interaction entre le système immunitaire et le VIH. Plusieurs signes témoignent du rôle des cytokines au cours de l'infection par le VIH, bien que l'importance relative de leur expression ne soit toujours pas établie. Clerici *et al.* ont proposé qu'un déséquilibre dans les cytokines Th-1/Th-2, observé *in vitro*, et la possibilité d'un passage d'une réponse Th-1 à Th-2 [43] soient critiques dans l'étiologie de l'infection VIH (*m/s n° 5, vol. 10, p. 610*); ils contribueraient à la dysrégulation immunitaire associée à l'infection par le virus. Les mêmes auteurs ont proposé que la résistance à l'infection virale pourrait dépendre d'une immunité cellulaire efficace et par conséquent, de la prépondérance de la réponse Th-1. La capacité de l'IL12 d'augmenter les réponses Th-1 d'hypersensibilité retardée suggère que cette cytokine pourrait constituer un immunostimulant dans l'infection VIH (*m/s n° 1, vol. 10, p. 120*). On a pu montrer, en effet, que l'IL12 stimulait l'activité cytotoxique de cellules NK de patients infectés par le VIH à différents stades de la maladie [44]. L'IL12 induit la production d'INF γ par les lymphocytes du sang périphérique de patients séropositifs pour le VIH (VIH⁺) bien qu'à un niveau moindre que dans les cellules de témoins normaux [41]. En outre, *in vitro*, l'IL12 corrige les réponses prolifératives défectueuses des cellules T de patients VIH⁺ vis-à-vis des peptides du VIH, des alloantigènes et des antigènes de rappel, le virus de la grippe, par exemple [45]. L'éventuelle pertinence d'un défaut de production d'IL12 dans la pathogénie du SIDA rend importante la poursuite des recherches relatives aux mécanismes en cause.

Des expériences indiquent que l'infection par le VIH, *in vitro*, de macrophages dérivés de monocytes normaux diminue significativement leur aptitude à produire l'IL12. Cela suggère que cette régulation négative est en relation directe avec l'infection VIH, peut-être par l'intermédiaire de produits viraux ou de facteurs cellulaires induits par l'infection [36]. Dans l'avenir, la compréhension de la nature moléculaire de l'inhibition de la production d'IL12 et de sa cinétique au cours de l'infection pourraient permettre une analyse plus fine du rôle éventuel de l'IL12 dans la pathogénie de l'infection VIH.

L'ensemble de ces observations *in vitro* pose la question de l'utilisation thérapeutique possible de l'IL12 chez les patients atteints du SIDA, soit comme agent potentialisant la réponse immunitaire cellulaire contre les agents opportunistes ou même contre le VIH lui-même, soit en combinaison, adjuvant dans la vaccination thérapeutique ou préventive contre le VIH ou d'autres pathogènes. De manière intéressante, certaines données précliniques dans les modèles animaux expérimentaux suggèrent que la demi-vie *in vivo* est relativement longue (6 h) et la toxicité relativement modeste comparée à celle des autres cytokines.

IL12 dans les affections auto-immunes

L'implication des cellules auxiliaires de type Th1 dans la pathogénie de plusieurs maladies auto-immunes spécifiques d'organes telle que l'encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE), le diabète insulino-dépendant (DID) ou l'arthrite induite par le collagène est de plus en plus admise [46, 47]. Il a, en outre, été montré que l'IL12, par sa capacité d'induire la différenciation des cellules de type Th1, joue un rôle dans l'induction de certaines maladies auto-immunes expérimentales (*m/s* n° 7, vol. 11, p. 1051). Très récemment, des expériences chez la souris ont montré que la délétion de la sous-unité p40 de l'IL12 s'accompagne de l'incapacité de ces

souris de développer une réponse de type Th1 ; de ce fait, elles ne développent pas de maladie auto-immune. Par ailleurs, l'IL4 et l'IL10 (cytokines de type Th2), dont l'effet est antagoniste de celui de l'IL12, sont capables de protéger contre l'incidence du diabète chez la souris NOD [48]. Il est intéressant de rapporter l'observation de Léonard *et al.* que l'administration d'un anticorps dirigé contre l'IL12 était capable de réduire l'incidence et la sévérité de l'EAE induite par transfert adoptif, ce qui suggère un rôle de l'IL12 endogène dans le développement de cette maladie [49]. Toutes ces observations sont en faveur d'un rôle précoce de l'IL12 dans l'induction de certaines maladies auto-immunes. L'étude de certains antagonistes de l'IL12 pour la prévention de certaines maladies auto-immunes suscite à l'heure actuelle un grand intérêt. Par ailleurs, une meilleure connaissance de la structure du récepteur de l'IL12 pourrait permettre d'intervenir dans le contrôle de la survenue de ces maladies. A cet égard, il faut signaler un rôle possible de la chaîne p40 et de son homodimère (p40)₂ comme antagoniste naturel de l'IL12 dans l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques ■

Remerciements

Les auteurs remercient Luc G. Legrès et Cécile Pardoux pour leur collaboration lors de la rédaction de ce manuscrit.

TIRÉS À PART

S. Chouaib.

Summary

Human interleukin-12: biological role and therapeutic potential

Interleukin-12 (IL12) is a disulfide-linked heterodimeric cytokine originally identified as a product of EBV-transformed B cell lines; monocytes/macrophages are the physiologically most relevant producers of IL12 in response to bacteria or intracellular parasites. Although IL12 has an enhancing effect on the survival and growth of hematopoietic progenitor cells, most of the IL12 biological activity has been described on T and NK cells, on which it induces production of lymphokines, primarily IFN γ , enhances cytotoxic activity and, in cooperation with other stimuli, increases proliferation. Early during infection, IL12 acts as a proinflammatory cytokine by inducing IFN γ production from NK and T cells which in turn activates phagocytic cells. IL12 then sets the stage for the ensuing adaptive immune response by stimulating generation of T helper type 1 (Th-1) cells and by activating cell-mediated resistance mechanisms against several pathogens. Several studies have now established that IL-12 plays an early and major role in the resistance to bacterial and parasitic infections by activating macrophages through induction of IFN γ from NK and T cells. Thus, because of its ability to induce Th-1 responses and efficient cell-mediated immunity, IL12 has several potential therapeutic uses in infectious diseases and in cancer patients. Natural IL12 appears to provide a regulatory link between innate resistance and the development of the antigen-specific adaptive immune response. The recombinant protein also has therapeutic potential because of its activity against tumors and infections, and its effectiveness as an adjuvant enhancing cell-mediated immunity in vaccination.