

Approches immunologiques potentielles du traitement du paludisme humain

Claudio Daniel RIBEIRO

A l'heure actuelle les différentes possibilités thérapeutiques proposées pour le traitement du paludisme rencontrent de plus en plus d'obstacles dus à la croissance de la chimiorésistance du Plasmodium. Cette chimiorésistance est d'autant plus grave que l'infection à Plasmodium falciparum, mortel en l'absence de traitement, peut se présenter cliniquement par un coma survenant quelques heures après la première manifestation de la maladie. Ainsi, la recherche de stratégies alternatives s'impose dans le but d'améliorer l'efficacité des interventions thérapeutiques et, par conséquent, la qualité des programmes de contrôle de cette affection.

Dans ce document nous allons analyser deux approches immunologiques potentielles du traitement anti-palustre : l'effet inhibiteur de l'Interféron gamma (IFN γ) sur le développement des formes exoéry-

throcytaires (FEEs) hépatiques de P. falciparum et, l'utilisation des anticorps monoclonaux humains (ACMHs) spécifiques d'antigènes plasmodiaux pour l'immunothérapie du paludisme humain.

Inhibition du développement des formes exoerythrocytaires (FEEs) du plasmodium par l'interferon γ

L'infection naturelle par le Plasmodium commence quand les formes sporozoïtes mûres, présentes dans les glandes salivaires des Anophèles femelles, sont inoculées dans la circulation par la piqûre de cet hôte invertébré. Après une demi-heure dans la circulation, les parasites vont gagner le foie. Dans les hépatocytes ils vont se différencier pour donner naissance aux stades infectant des globules rouges (mérozoïtes). Le cycle érythrocytaire va aboutir à la rupture des hématies et à la libération de nouvelles formes infectantes globulaires. C'est le cycle de schizogonie érythrocytaire qui détermine les symptômes cliniques de la maladie.

Bien que les formes hépatiques du parasite expriment quelques antigènes qui leur sont propres (Druilhe et al, 1984), la localisation des parasites à l'intérieur de la cellule leur offre un certain degré de protection contre l'attaque des anticorps. Cependant, des inducteurs d'interféron α et β , comme le RNA, peuvent réduire la gravité du paludisme murin induit par des sporozoïtes de P. berghei, probablement en agissant au niveau des FEEs (Jahiel et al., 1970). Récemment, le groupe dirigé par Ruth et Victor NUSSENZWEIG - la New York University Medical Center - a pu déterminer le rôle de l'IFN ou INF immun (produit par les lymphocytes T après contact avec l'antigène) sur le développement des FEEs. L'idée directrice de l'étude était que l'IFN intervient dans la résistance naturellement acquise contre les Plasmodia plus que les IFN α et β . Ainsi, une sonde de DNA spécifique du DNA plasmodial, pouvant détecter jusqu'à 100 pg de DNA parasitaire (correspondant à 10.000 noyaux haploïdes) a été utilisée. Il a été démontré que l'injection de 150 à 200 unités d'IFN γ recombinant

de souris, administrées 5 heures avant l'inoculation des sporozoïtes de P. berghei, retardait l'apparition des formes sanguines chez les animaux traités (Ferreira et al., 1986). Toutes les souris étaient parasitées vers le 6ème jour de l'injection, mais la parasitémie du groupe pré-traité par l'IFN γ , correspondait au 1/10e de celle du groupe témoin. Cet effet n'était pas observé :

1) si des anticorps de lapin anti IFN γ étaient administrés conjointement avec l'IFN γ .

2) si l'injection d'IFN γ était effectuée 72 heures après l'inoculation des sporozoïtes (quand les parasites ont quitté le foie et gagent les cellules sanguines). Ceci suggérait que l'effet de l'IFN concernait les FEEs et non les FEs.

Le même effet a été constaté chez le rat où une dose de 150 u d'IFN (10 à 20 ng de protéine) inhibe 30 % du développement des FFEs. Cependant, bien qu'une réduction de 90 % des FEEs est induite par des doses relativement faibles d'IFN γ , l'élimination complète des parasites ne peut être obtenue qu'avec l'injection de trois doses, réparties dans le temps, par rapport à l'injection infectante (-18, -5 et +24 heures). Le potentiel inhibiteur est indépendant du nombre de sporozoïtes injectés.

Dans une autre expérience des chimpanzés reçoivent 6 doses quotidiennes (5×10^6 u) d'IFN γ humain recombinant et 10^5 sporozoïtes de P. vivax, 5 heures après la première injection. Ils sont splénectomisés 7 jours après l'injection dans le but de permettre le développement des formes sanguines. Des frottis, réalisés régulièrement à partir de J8 révèlent que la période pré-patente est plus importante chez les animaux traités par les infections d'IFN γ (12 à 16 jours). Pour les singes infectés et non traités par l'IFN elle est de 10 à 12 jours. En outre, la parasitémie est moins élevée chez les animaux traités et ceci jusqu'à J16 quand un traitement par la chloroquine et de la primaquine fut institué.

L'effet de l'IFN γ recombinant humain sur le développement des FEEs a été étudié également in vitro dans un système utilisant

des lignées d'hépatomes humains et des sporozoïtes de P. berghei. Le pré-traitement des cellules par des faibles concentrations d'IFN γ (0,01 u/ml) induit une diminution significative du nombre de FEE. Elle est maximale (97 %) à des concentrations supérieures à 1 u/ml. L'activité de l'IFN γ est plus importante quand il est introduit quelques heures avant les sporozoïtes. Cette observation contraste avec le fait que l'activité maximale des inducteurs d'IFN γ et β s'observe lorsqu'ils sont administrés 20 heures après l'injection. On peut ainsi suggérer que les IFNs γ et β et l'IFN γ peuvent inhiber le développement des FEEs par des voies différentes. L'association de ces différents types d'IFN s'avérerait plus active sur les FEEs du Plasmodium. Des résultats similaires ont aussi été observés par Mellouk et al. (1987) qui ont étudié l'effet de différentes cytokines sur les FEEs de Plasmodium falciparum en utilisant des hépatocytes humains comme cellules cibles. Les IFNs γ , γ et β avaient un rôle inhibiteur dans la différenciation et la maturation des FEEs. L'effet inhibiteur le plus marqué étant enregistré avec l'IFN

Un effet protecteur de l'IFN γ fut aussi noté dans un modèle d'infection expérimental des singes par Plasmodium cynomolgi. Encore une fois cette propriété protectrice a été attribuée à un effet de l'IFN γ sur les FEEs de ce Plasmodium (MAHESHWARI et al., 1986).

Ferreira et al. (1986) considèrent que cette activité est le résultat d'une action directe de l'IFN sur les hépatocytes; elle paraît distincte de la cytotoxicité médiée par des macrophages ou des cellules NK activées par cette lymphokine. Ceci est compatible avec l'observation que l'IFN agit in vivo indépendamment du nombre de sporozoïtes injectés.

Ces résultats peuvent suggérer un rôle de l'Interféron dans les immunités naturellement (piqûres d'anophèles infestés) ou artificiellement (vaccin synthétique ou recombinant) acquises contre les formes sporozoïtes du plasmodium. En effet, les cellules spléniques de souris vaccinées contre les formes sporozoïtes de P. berghei libèrent des grandes concentrations d'INF γ , quand elles sont exposées à cet antigène in vitro (Ojo-Amaize et al., 1984). Il a été observé

également que le sérum d'individus impaludés contient de fortes concentrations d'IFN (Rhodes Feuillette et al., 1981; Ojo Amaize et al., 1981).

Finalement, vu la persistance de certaines FEEs dans le foie des individus infestés par P. vivax et P. ovale (Krotoski et al., 1982) longtemps après la disparition des FEs et vu la toxicité des médicaments actifs sur les formes hépatiques (Clyde, 1981), l'utilisation de l'IFN recombinant dans le traitement des formes à rechute du paludisme pourrait être envisagée.

Utilisation d'anticorps monoclonaux humains spécifiques d'antigènes plasmodiaux

Il était connu depuis les travaux de McGrégor qu'il était possible de protéger des enfants contre le paludisme par le transfert d'immunoglobulines provenant d'individus hyperimmuns.

Après la mise au point de la technique d'hybridomes conduisant à l'obtention d'anticorps monoclonaux spécifiques d'un antigène donné (Kohler et Milstein, 1975), l'immunoglobinothérapie du paludisme allait à nouveau être considérée comme une alternative intéressante dans le traitement de cette affection. Cependant l'inoculation d'anticorps xénogéniques chez l'homme représentait un obstacle important à l'emploi de cette stratégie vu le risque des réactions allergiques aux protéines animales infectées. Une limite supplémentaire de l'immunoglobinothérapie à l'aide d'anticorps monoclonaux murins (Acs Mos Mu) est liée aux différences de répertoire des cellules - B murines et humaines. De plus des Plasmodies humaines n'infectent pas les rongeurs et il n'est pas exclu que le système immunitaire de la souris ne reconnaisse pas des déterminants antigéniques sur les protéines injectées, qui seraient exposés ou immunogéniques uniquement, chez l'homme (Gysin, Dubois & Pereira da Silva, 1982).

Ces difficultés sont cependant maintenant détournées par la possibilité d'obtention d'anticorps monoclonaux humains. Ces anticorps peuvent être produits par deux types de cellules. Les hybridomes (Homme-homme, homme-souris ou homme-rat) ou par des lignées lymphoblastoïdes transformées ou immortalisées par le virus Epstein Barr (EBV).

La fusion des lymphocytes humains avec des myélomes homologues est rendue difficile par deux types de limites. La première est liée à la propre source des lymphocytes, tandis qu'une rate de souris immunisée présentera 10 cellules avec une prédominance de lymphocytes B, 50 ml de sang périphérique humain fourniront, dans le meilleur des cas, 5×10^6 lymphocytes dont seulement 20 % seront des cellules B. La deuxième est due à la mauvaise adaptation et croissance des myélomes humains en culture. Ainsi, en l'absence de meilleurs partenaires, des hybridomes homme-souris ou homme-rat ont été produits. Ces solutions ne peuvent être que partielles car avec le maintien prolongé des hybridomes en culture, les chromosomes humains sont préférentiellement "exclus" (Schlom, Wunderlich et Teramoto, 1980) et aussitôt que le chromosome 14 (portant les gènes pour les chaînes lourdes des immunoglobulines) ou les chromosomes 2 et 22 (portant respectivement les gènes pour les chaînes légères K et λ) sont perdus, la production d'immunoglobulines s'arrête.

L'établissement de lignées lymphoblastoïdes par l'EBV correspond à une alternative séduisante. La majorité des individus adultes a été infectée par l'EBV et porte les gènes viraux dans ses lymphocytes. Le contact des lymphocytes humains purifiés avec le virus conduit à une activation polyclonale des lymphocytes B avec hypersécrétion d'immunoglobulines (Steinitz et al., 1977). L'EBV peut "immortaliser" les lymphocytes et produire des lignées lymphoblastoïdes qui produisent des anticorps monoclonaux. Plus récemment une technique mixte de production de lignées lymphoblastoïdes par l'EBV suivie par des techniques d'hybridation a donné des résultats prometteurs (Kozbor et Poder, 1983).

Dans le domaine du paludisme, comme pour d'autres maladies parasitaires et infectieuses en général, l'utilisation de ces Acs avec

des buts thérapeutiques est devenue une possibilité séduisante pour les parasitologues, immunologistes et cliniciens. Ainsi dans une lettre dans Lancet (Monjour et al., 1983) et une courte communication dans J. Immunology (Lundgren et al., 1983), il était rapporté pour la première fois l'obtention de lignées lymphoblastoïdes, par la transformation par l'EBV, secrétant des anticorps monoclonaux spécifiques de formes érythrocytaires de P. falciparum. Les antigènes reconnus par ces anticorps commencent à être identifiés et caractérisés et semblent correspondre, en ce qui concerne les formes sanguines, à des protéines de 230-240 kDa et 115 kDa (Desgranges et al., 1986). Fait curieux, parmi les clones obtenus par Lundgren et al. (1983) un clone oligoclonal, réagissait simultanément avec la surface des mérozoïtes et la surface des globules rouges normaux. Ceci fait évoquer les possibilités de l'existence de communautés antigéniques entre le globule rouge normal et le mérozoïte et de l'hétérogénéité des anticorps étudiés.

Des anticorps monoclonaux humains spécifiques du stade sporozoïte de P. falciparum ont été aussi obtenus (Monjour et al., 1984).

En pratique, l'emploi des Acs Mos Humains comme outil d'immunothérapie des cas graves de paludisme ne peut être envisageable qu'après la preuve de ses propriétés protectrices in vivo dans des modèles expérimentaux (comme le paludisme expérimental du singe par P. falciparum). Un risque cependant semble être négligeable à l'heure actuelle, celui de transférer l'infection par l'EBV à l'hôte. En effet Crawford, Huehens et Epstein (1983) ont montré récemment qu'il était possible d'enlever ces particules des surnageants de culture potentiellement injectables.

Finalement, bien que l'intérêt de l'utilisation des anticorps monoclonaux humains pour le sérodiagnostic du paludisme soit très probablement bien limité, les Acs Mos pourront s'avérer très utiles pour l'identification des antigènes importants pour le sérodiagnostic et l'immunoprophylaxie du paludisme.

Claudio Daniel RIBEIRO
Département d'immunologie
Centre collaborateur de l'OMS au Brésil