

1987

ACTION DES CÉPHALOSPORINES SUR LES LYMPHOCYTES T : RÔLE DES MÉDIATEURS

B. ROUVEIX, F. CHAU

ROUVEIX B., CHAU F. — Action des céphalosporines sur les lymphocytes T : rôle des médiateurs.
Path Biol, 1987, 35, n° 10 bis, 1450-1453.

RÉSUMÉ : La majorité des céphalosporines déprime la mitogénicité des lymphocytes et stimule la sécrétion de lymphokines *in vitro* à doses équivalentes aux concentrations sériques thérapeutiques. La suppression de la blastogénèse pourrait être en rapport avec la stimulation des cellules T suppressives impliquées dans la régulation de la multiplication cellulaire. En effet, les céphalosporines sont susceptibles de faire sécréter un facteur soluble inhibiteur par les lymphocytes T suppresseurs. La pénicilline est sans effet. Cette sécrétion pourrait être directe ou provoquée par la libération accrue de prostaglandines E_2 à partir des monocytes. La stimulation de la fonction T suppressive par les céphalosporines est à rapprocher de la plus faible incidence des effets indésirables immuno-allergiques observés avec ces antibiotiques par rapport aux pénicillines.

MOTS-CLÉS : β -lactamines. — Immunité. — Lymphocytes T suppresseurs. — Prostaglandines. — Effets indésirables.

Un grand nombre d'antibiotiques est susceptible de moduler, du moins *in vitro*, les réponses immunologiques de l'animal et de l'homme [5]. Les applications cliniques dans le choix thérapeutique d'un ou d'un autre antibiotique sont loin d'être claires, bien que l'on puisse néanmoins espérer à l'avenir une meilleure adaptation du traitement antibiotique tenant compte du statut immunologique du patient. Si cette préoccupation préside à l'origine des travaux sur l'antibiotique et l'immunité, d'autres perspectives existent dont celle de la tolérance au traitement antibiotique.

to blunt : attraction (inhibitor)

ROUVEIX B., CHAU F. — Effect of cephalosporins on T lymphocytes : role of mediators.
Path Biol, 1987, 35, n° 10 bis, 1450-1453.

SUMMARY : The *in vitro* effect of various cephalosporins on T lymphocyte functions was studied. These antibiotics directly stimulated lymphokine production and significantly suppressed mitogen-stimulated lymphocyte transformation responses. Penicillin had no effect. Suppression of blastogenesis could be mediated through suppressor cell enhancement as indicated by : (i) the significant suppressed lymphocyte transformation observed while using the dialyzed supernatant of cephalosporin-stimulated and cultured lymphocytes, (ii) the enhanced blastogenesis, commonly ascribed to suppressor cell depletion, blunted by pre-incubation with cephalosporins, (iii) the suppressed blastogenesis of allogenic responder cells in MLR by cephalosporin pre-incubated, mitomycin treated cells. An indirect effect through PgE_2 release by macrophages cannot be ruled out. The enhancement of suppressor activity by most of the cephalosporins might explain the smaller incidence of late hypersensitivity reactions observed with these antibiotics compared with penicillins.

KEY-WORDS : β -lactamines. — Immunity. — T suppressor cells. — Prostaglandins. — Side effects.

D'un point de vue strictement toxicologique, l'antibiotique idéal serait, entre autres qualités, celui qui n'agirait qu'exclusivement sur les micro-organismes et non sur les cellules de l'hôte. On en est loin. Néanmoins, dans une même famille de produits, certains membres sont mieux tolérés que d'autres

Département de Pharmacologie Clinique, INSERM U.13, Hôpital Claude Bernard, 75944 PARIS Cedex 19.

Manuscrit reçu à la Rédaction le 18 octobre 1987, Accepté le 23 octobre 1987.

par le système immunologique. C'est le cas des céphalosporines par rapport aux pénicillines, puisque seulement 8 à 10 % des patients qui ont déclenché une réaction immune à médiation cellulaire aux pénicillines, en feront une avec les céphalosporines [8]. La réactivité immunologique à ces molécules est donc différente.

In vitro, les β -lactamines modifient les réactions d'immunité à médiation cellulaire à des doses identiques à celles obtenues en utilisation clinique. Leur action est variable selon le type de la β -lactamine et selon la fonction lymphocytaire étudiée. Les effets observés pour un même produit sont parfois difficiles à comprendre car s'exprimant en sens opposés [10]. Ainsi la pénicilline stimule la sécrétion de lymphokine du type LAF (Leukocyte Aggregating Factor) ou LIF (Leukocyte Inhibiting Factor) et ne modifie pas, voire légèrement stimule la mitogénicité lymphocytaire. A l'inverse, les céphalosporines qui augmentent aussi la sécrétion de lymphokines, diminuent la mitogénicité [3, 7, 10].

Cette action opposée des céphalosporines sur deux fonctions de l'immunité cellulaire peut sembler paradoxale. Une des hypothèses soulevées dans ce travail, repose sur la stimulation des lymphocytes T suppresseurs (CD8). Ces lymphocytes détiennent en effet un rôle clé dans les mécanismes intimes de régulation de la réponse lymphocytaire et sécrètent un facteur soluble dénommé SISS (Soluble Immune Suppressor Supernatant) qui inhibe la multiplication cellulaire. De plus, le fait que ce sous-type lymphocytaire soit absent chez les patients atopiques ou allergiques justifie l'étude des β -lactamines et plus particulièrement des céphalosporines, à ce niveau.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

— *Préparation des cellules* : les cellules mononucléées sont obtenues à partir du sang de 10 sujets adultes en bonne santé.

Après centrifugation sur gradient Ficoll-Hypaque, les lymphocytes sont lavés et conservés à 4°C dans du RPMI 1640.

— *Antibiotiques* : benzylpénicilline (Specillin G), céphalotine, céfoxitine, céfador, céfadroxil et latamoxef sont préparés en solution fraîche à la concentration finale de 50 et 100 μ g/ml.

— *Recherche d'un facteur soluble suppresseur* : les lymphocytes humains, à raison de 3×10^6 cellules par ml, sont mis en culture avec les antibiotiques pendant 48, 72 et 96 heures. Les surnageants sont recueillis, dialysés et lyophilisés. L'action mitogénique de ce surnageant est alors essayée par le test de transformation lymphocytaire de façon comparée à un surnageant témoin ou stimulé par la Concanavalin A (Con A, 10 μ g/ml), mitogène inducteur de SISS [4].

— *Elimination des cellules T suppressives en pré-incubation* [11] : les lymphocytes humains (3×10^6 /ml) sont incubés pendant 24 heures en présence d'antibiotiques. Les cultures sont lavées et stimulées par la Con A (10 μ g/ml) pendant 72 heures. L'activité mitogénique est alors évaluée par l'incorporation de thymidine tritiée.

— *Recherche de l'activité des cellules T suppressives en cultures mixtes* : les lymphocytes humains (3×10^6 /ml) sont incubés en culture pendant 72 heures en présence des antibiotiques ou de la Con A (10 μ g/ml). Les cultures sont alors lavées et bloquées par la mitomycine C (200 μ g/ml pendant 40 minutes à 37°C). Après plusieurs nouveaux lavages, ces lymphocytes sont mis en présence de lymphocytes frais allogéniques additionnés de Con A (10 μ g/ml) pendant 72 heures. La thymidine tritiée est ajoutée 4 heures avant la fin de la culture. Puis les cellules sont recueillies et l'on détermine un index de stimulation.

RÉSULTATS

Le surnageant dialysé de culture des lymphocytes T stimulés par les céphalosporines supprime la transformation lymphocytaire. Cette action suppressive ressemble à celle obtenue avec le facteur soluble sécrété par les T suppresseurs en réponse à la stimulation par la Con A. Cet effet des céphalosporines n'est pas identique pour toutes les molécules : très intense avec le latamoxef, elle est pratiquement nulle avec le céfador. La pénicilline induit un surnageant dénué d'action (fig. 1).

La blastogénèse des cellules T est classiquement augmentée par une pré-culture de 24 heures qui appauvrit la population cellulaire en T suppresseurs dont la durée de vie est brève. Lorsque des céphalosporines sont présentes pendant la pré-incubation, l'indice de blastogénèse est conservé, quoique de façon inférieure à celui du témoin, traduisant une stimulation des CD8 (tableau I).

Lors de la réalisation d'une réaction lymphocytaire mixte, la population cellulaire pré-traitée par les céphalosporines puis bloquée par la mitomycine, réduit la mitogénicité de la population lymphocytaire homologe. Cette réduction est toutefois sensiblement inférieure à celle obtenue avec la Con A. Comme dans les deux modèles précédents, la pénicilline reste inactive (tableau I).

DISCUSSION

Les céphalosporines sont susceptibles de faire sécréter par les lymphocytes T suppresseurs un facteur soluble qui inhibe la multiplication cellulaire des lymphocytes T. Cette activité est plus ou moins intense selon le type de céphalosporine et ne permet pas d'établir une échelle d'activité entre les différentes molécules. Elle n'est pas retrouvée avec la pénicilline.

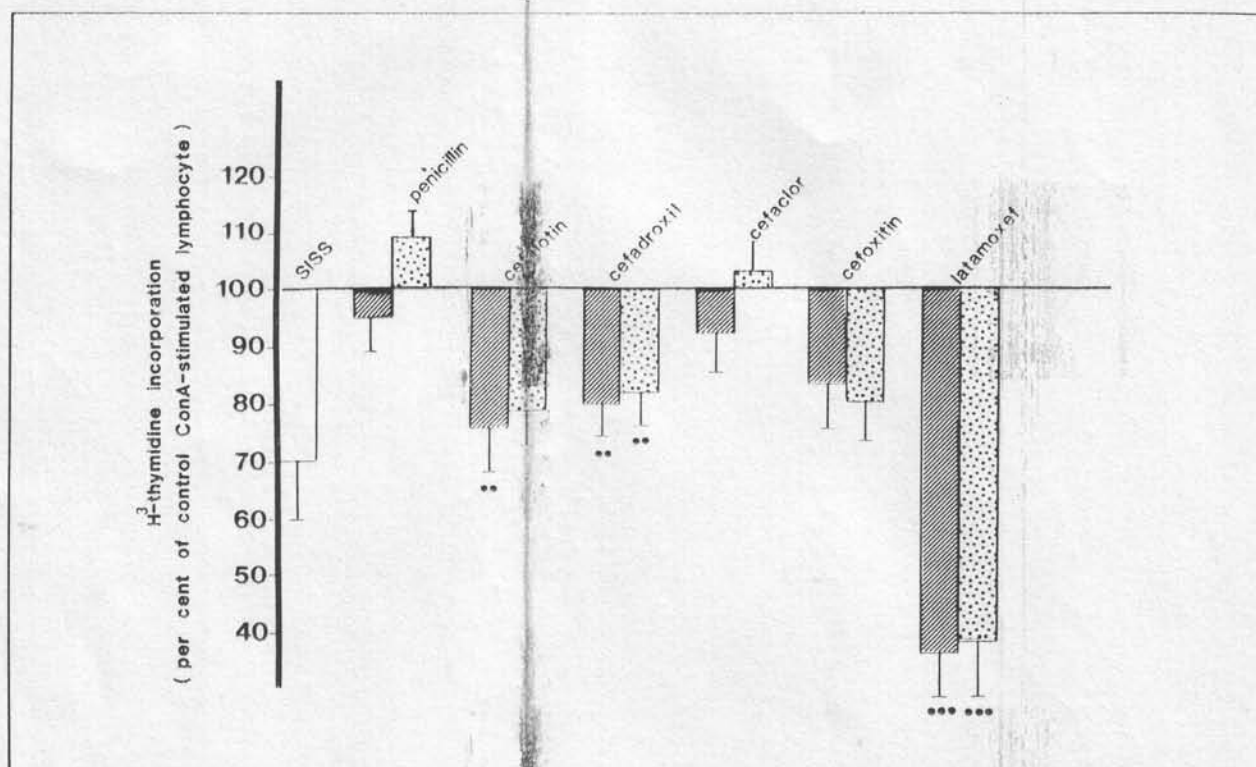


Fig. 1. — Effet d'un surnageant de lymphocytes stimulés par les céphalosporines sur l'incorporation de thymidine tritiée des lymphocytes stimulés par la Con A après 72 heures de culture. Colonnes hachurées : 50 µg/ml, colonnes pointillées : 100 µg/ml (chaque colonne est la moyenne $\pm$ SEM de 10 sujets, réalisés chacun en triplicate, * $p < 0,005$, ** $p < 0,01$).

Fig. 1. — Effect of cephalosporin stimulated human lymphocytes supernatants on Con A-stimulated uptake of [^{3} H]-thymidine by human lymphocytes for 72 hours. Horizontal line : [^{3} H]-thymidine incorporation control obtained using 10 µg/ml of Con A. Hatched bars : 50 µg/ml cephalosporin-stimulated lymphocyte culture, dotted bars : 100 µg/ml (Each bar is mean $\pm$ SEM of ten individual subjects in triplicate. * $p < 0,005$, ** $p < 0,01$).

TABLEAU I. — Effet des céphalosporines sur la mitogénicité des lymphocytes (A) après élimination des cellules T suppressives par pré-incubation et (B) en culture lymphocytaire mixte.

Antibiotique ajouté à la culture	µg/ml	(A) Elimination des T supresseurs		(B) Culture lymphocytaire mixte	
		cpm expérimental/cpm témoin (n = 6)		Activité suppressive induite par pré-traitement	
		lymphocytes frais	lymphocytes pré-incubés	SI =	cpm lymphocyte pré-traité + lymphocyte allogénique
Rien			1,63 $\pm$ 0,08		1
Con A					0,29 $\pm$ 0,02
Pénicilline	50	0,95 $\pm$ 0,10	1,61 $\pm$ 0,11		0,87 $\pm$ 0,18
	100	1,13 $\pm$ 0,06	1,54 $\pm$ 0,20		0,99 $\pm$ 0,21
Céfalotine	50	1 $\pm$ 0,06	0,98 $\pm$ 0,06		0,59 $\pm$ 0,11
	100	0,4 $\pm$ 0,04***	1,08 $\pm$ 0,14		0,32 $\pm$ 0,07
Céfadroxil	50	0,87 $\pm$ 0,02**	1,12 $\pm$ 0,32		0,47 $\pm$ 0,06
	100	0,67 $\pm$ 0,06**	0,96 $\pm$ 0,18		0,21 $\pm$ 0,17
Céfador	50	0,90 $\pm$ 0,08	1,58 $\pm$ 0,22		0,98 $\pm$ 0,08
	100	1,05 $\pm$ 0,08	1,47 $\pm$ 0,14		0,84 $\pm$ 0,11
Céfoxitine	50	0,90 $\pm$ 0,08	1,21 $\pm$ 0,29		0,58 $\pm$ 0,19
	100	0,73 $\pm$ 0,05***	0,88 $\pm$ 0,36		0,50 $\pm$ 0,21
Latamoxef	50	0,71 $\pm$ 0,03	1,02 $\pm$ 0,03		0,48 $\pm$ 0,12
	100	0,71 $\pm$ 0,04***	1,06 $\pm$ 0,08		0,22 $\pm$ 0,24

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

cilline. Ainsi l'action immunosuppressive des céphalosporines souvent rapportée dans la littérature aux seules vues des résultats du test de transformation lymphoblastique pourrait être la traduction de la stimulation d'une sous-population lymphocytaire.

Cet effet stimulant n'est pas isolé, puisque les céphalosporines sont par ailleurs capables d'entraîner la libération dans le milieu de lymphokines T dépendantes telles que le LIF et le LAF. Il serait la traduction de la stimulation de lymphocytes ne se divisant pas [9]. Ainsi les céphalosporines peuvent stimuler différents sous-types lymphocytaires.

L'implication du lymphocyte T suppresseur dans la sécrétion d'un médiateur soluble suppresseur semble être pratiquement acquise à la lecture des résultats obtenus en réaction lymphocytaire mixte. En revanche, il n'est pas certain que les céphalosporines activent directement ce sous-type lymphocytaire et on ne peut exclure une action indirecte par stimulation du monocyte-macrophage entraînant la libération de prostaglandines E_2 qui stimulerait les T suppresseurs. En effet, cette hypothèse est vérifiée par dosage immunologique des PgE_2 dans le milieu de culture de monocytes-macrophages stimulés par les

β -lactamines : les céphalosporines induisent une sécrétion de PgE_2 de plus du double de celle mesurée chez les témoins. Mais l'intensité de cette sécrétion n'est pas proportionnelle à l'inhibition de l'incorporation de thymidine tritiée pour une molécule donnée (résultats non présentés). La pénicilline est active, bien qu'au-delà de 72 heures de culture. En revanche, la concentration de PgE_2 dans une culture de cellules mononucléées incluant lymphocytes et macrophages est inférieure à celle des témoins, observation qui pourrait traduire une fixation ou une consommation des PgE_2 par les lymphocytes. Là encore, la pénicilline est inactive (résultats non présentés).

La signification clinique d'une stimulation des lymphocytes T suppresseurs par la majorité des céphalosporines n'est pas évidente. Néanmoins, sachant qu'au cours d'affections telles que le LED, les dermatites atopiques ou l'allergie, les T suppressives sont en nombre réduit [2, 6], une éventuelle stimulation de ces cellules par les céphalosporines pourrait expliquer la meilleure tolérance de ces antibiotiques observée en clinique humaine par rapport aux pénicillines.

RÉFÉRENCES

1. BANCK G., FORSGREN A. — Antibiotics and suppression of lymphocytes function *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1979, 10, 554-560.
2. BRESNIHAN B., JASIN H.E. — Suppressor function of peripheral blood mononuclear cells in normal individuals and in patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest.* 1977, 59, 106-116.
3. CHAPERON E.A., SANDERS W.E. — Suppression of lymphocyte responses by cephalosporins. *Infect Immun.* 1978, 19, 378-384.
4. GREENE W.C., FLEISHER T.A., WALDMANN T.A. — Soluble suppressor supernatants elaborated by concanavalin A-activated human mononuclear cells. I. Characterization of a soluble suppressor of T cell proliferation. *J Immunol.* 1981, 126, 1185-1197.
5. HAUSER W.E., REMINGTON J.S. — Effect of antimicrobial agents on the immune response. In : RISTUCCIA A.M., CUNHA B.A. — *Antimicrobial Therapy*, pp. 55-79. New York. Raven Press, 1984.
6. KERSARWALA H.H., MACCIA C., AMARAM N., SZEPI R., PAGEORGIOU P. — Suppressor T cells and soluble suppressor factors in allergy : effect of immunotherapy. *Clin Allergy.* 1984, 14, 519-524.
7. MANZELLA J.P., CLARK J.K. — Effect of moxalactam and cefuroxime on mitogen-stimulated human mononuclear leukocytes. *Antimicrob Agents Chemother.* 1983, 23, 360-363.
8. PETZ L.D. — Immunologic cross reactivity between penicillins and cephalosporins. A review. *J Infect Dis.* 1978, 137 (suppl.), 74-79.
9. ROCKLIN R. — Production of migration inhibitory factor by non-dividing lymphocytes. *J Immunol.* 1973, 110, 674-678.
10. ROUVEIX B., GROULT F., LEVACHER M. — Beta-lactam antibiotics and human lymphocyte function : the *in vitro* effect on blastogenesis, lymphokine production and suppressor cell functions. *Int J Immunopharmacol.* 1987, 9, 567-575.
11. SHOU L., SCHWARTZ S.A., GOOD R.A. — Suppressor cell activity after Concanavalin A treatment of lymphocytes from normal donors. *J Exp Med.* 1976, 143, 1100-1110.