

Cytokines dans l'inflammation allergique

M. PRETOLANI

RÉSUMÉ

Les processus atopiques et l'asthme, en particulier, se manifestent par une inflammation tissulaire caractérisée par une accumulation de leucocytes activés, notamment des éosinophiles et des lymphocytes T de type Th2. L'accumulation bronchique des éosinophiles et leur activation, la corrélation existant entre ces paramètres et la sévérité de l'asthme, ainsi que la capacité de ces cellules à synthétiser des médiateurs potentiellement impliqués dans le développement des lésions tissulaires (protéines cationiques, lipides, cytokines), sont autant d'arguments en faveur de leur rôle délétère dans cette pathologie. L'éosinophilie sanguine et tissulaire peut être la conséquence d'une augmentation de l'éosinopoïèse, mais également de l'adhérence, du recrutement et de la survie des éosinophiles matures. Ces phénomènes sont orchestrés en grande partie par les cytokines, notamment par l'IL-5. De ce fait, des thérapies destinées à inhiber efficacement et sélectivement la synthèse et/ou les effets de cette cytokine pourraient représenter une perspective intéressante dans le traitement de l'asthme et des processus atopiques, en général. Différentes stratégies sont étudiées à l'heure actuelle. Elles comprennent des anticorps dirigés spécifiquement contre l'IL-5 et l'utilisation de certaines cytokines capables de bloquer la réponse Th2. Il s'agit notamment de l'IL-10 et des interférons, en particulier l'IFN- α et γ . Plusieurs travaux effectués sur des modèles expérimentaux et chez l'homme ont montré la capacité de ces cytokines à inhiber l'accumulation des éosinophiles au niveau sanguin et tissulaire lors des réactions allergiques, ainsi que certaines fonctions de ces cellules *in vitro*. Bien que cela suggère une application thérapeutique de ces composés dans le cadre des processus atopiques, notamment de l'asthme, des études cliniques approfondies restent nécessaires afin d'évaluer leur efficacité réelle et de cerner les effets indésirables potentiels.

MOTS-CLÉS: Asthme. – Éosinophiles. – IL-5. – IL-10. – Interférons.

SUMMARY

Cytokines in allergic inflammation. – One of the features of atopic reactions, particularly asthma, is tissue inflammation characterized by accumulation of activated leukocytes, especially eosinophils and type Th2 T lymphocytes. Bronchial accumulation of eosinophils and their activation, the correlation between these parameters and the severity of asthma, and the capacity of these cells to synthesize mediators potentially involved in the development of tissue lesions (cationic proteins, lipids, cytokines), are all arguments in favour of their harmful role in this disease. Blood and tissue eosinophilia can be due to increased eosinopoiesis, but also increased adhesion, recruitment and survival of mature eosinophils. These phenomena are largely regulated by cytokines, especially IL-5. Consequently, treatments designed to effectively and selectively inhibit the synthesis and/or effects of this cytokine could present useful prospects in the treatment of asthma and atopic reactions in general. Various strategies are currently being investigated, including antibodies specifically directed against IL-5 and the use of certain cytokines able to block the Th2 response, especially IL-10 and interferons, particularly IFN- α and γ . Several studies conducted in animal models and in man have demonstrated the capacity of these cytokines to inhibit accumulation of eosinophils in the blood and tissue during allergic reactions, as well as some of the functions of these cells *in vitro*. Although these findings suggest a possible therapeutic application of these compounds, in the context of atopic diseases, especially asthma, more detailed clinical studies must be conducted in order to evaluate their real efficacy and to define their potential adverse effects.

KEY-WORDS: Asthma. – Eosinophils. – IL-5. – IL-10. – Interferons.

Unité de Pharmacologie Cellulaire, Unité associée Institut Pasteur/INSERM U485, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75015 PARIS.

E-mail: mpretol@pasteur.fr

Tirés à part: Dr M. Pretolani, adresse ci-dessus.

PRETOLANI M. – Cytokines dans l'inflammation allergique.
Rev. fr. Allergol., 1998, **38** (10), 942-946.

LES MÉCANISMES INFLAMMATOIRES DE L'ASTHME : LES ÉOSINOPHILES

L'asthme est défini comme étant un « syndrome chronique inflammatoire des voies aériennes dans lequel de nombreux types cellulaires, dont les éosinophiles et les lymphocytes T, jouent un rôle » [1]. Cette définition consensuelle décrit l'inflammation comme le phénomène responsable des symptômes de la maladie généralement associés à une diminution du débit respiratoire ainsi qu'à une hyperréactivité bronchique non spécifique.

L'étude comparative des biopsies bronchiques, des liquides de lavage bronchoalvéolaire (LBA), des expectorations induites obtenues chez des sujets asthmatiques et chez des individus sains, ainsi que l'examen de pièces anatomiques d'individus décédés d'asthme aigu grave ont permis de mettre en évidence une augmentation du nombre d'éosinophiles activés au niveau de l'épithélium et de la sous-muqueuse bronchiques, comme en témoignent les quantités de protéines cationiques, en particulier d'« eosinophil-cationic protein » (ECP), détectées dans ces compartiments [2]. De plus, le nombre d'éosinophiles et les taux d'ECP corrélaient positivement avec la sévérité de l'asthme, ce qui suggère un rôle clé de ces cellules dans les altérations inflammatoires et fonctionnelles respiratoires caractéristiques de cette pathologie [2].

Via leur capacité à libérer les protéines cationiques qui exercent une action cytotoxique vis-à-vis de l'épithélium, les éosinophiles peuvent participer au développement de l'hyperréactivité bronchique. La desquamation ainsi induite pourrait favoriser le contact entre les allergènes et les structures sous-épithéliales qui deviendraient hyperréactives. Toutefois, d'autres mécanismes pourraient être impliqués, dont l'augmentation de la perméabilité vasculaire, la stimulation de la prolifération endothéliale, de la sécrétion de mucus et de l'hyperplasie musculaire [3, 4]. Par sa capacité à activer les fibroblastes, *via* les protéines cationiques, le « transforming-growth factor » (TGF)- α et le TGF- β 1, l'éosinophile jouerait également un rôle potentiel dans le développement de la fibrose et l'épaississement de la membrane basale [3, 4]. Enfin, les protéines cationiques des éosinophiles peuvent activer l'épithélium bronchique en stimulant la libération de « granulocyte macrophage colony-stimulating factor » (GM-CSF) et l'expression membranaire des récepteurs de l'« insulin-growth factor » (IGF-1), facteur mitogé-

nique pour de nombreux types de cellules épithéliales.

L'éosinophilie observée au niveau de la muqueuse bronchique de sujets asthmatiques peut être associée à une infiltration et une activation de lymphocytes T totaux ou de phénotype CD4⁺, CD8⁺, $\gamma\delta$, de cellules B, de macrophages, de cellules dendritiques, de mastocytes, de basophiles, de neutrophiles et de plaquettes sanguines. Une augmentation de l'expression d'IL-4 et d'IL-5 et de son ARNm a été mise en évidence dans le sérum, les LBA et la muqueuse bronchique de patients asthmatiques, une observation qui témoigne d'une polarisation des lymphocytes vers le phénotype T auxiliaire de type 2 (Th2). La notion de cytokines Th1 et Th2 provient d'études réalisées chez la souris montrant que certains clones de lymphocytes Th produisent préférentiellement de l'IFN- γ et de l'IL-2 alors que d'autres synthétisent de l'IL-5 et de l'IL-4 [5]. Le premier type de clone est appelé Th1 et le second Th2, les deux produisant également de l'IL-3, du GM-CSF, et du TNF- α . Des études ultérieures ont montré que la synthèse d'IL-4 et d'IL-5 est généralement associée à celle de l'IL-6, de l'IL-10, et de l'IL-13 [6]. Les lymphocytes Th1 seraient ainsi impliqués plutôt dans l'immunité cellulaire alors que les Th2 interviendraient dans l'immunité humorale et dans la production d'IgE et, du fait de la production de l'IL-5, dans les maladies associées à une éosinophilie sanguine et/ou tissulaire.

L'INTERLEUKINE-5

L'éosinophilie sanguine et l'accumulation des éosinophiles dans les tissus lors de diverses pathologies peuvent être expliquées, au moins en partie, par la production de molécules impliquées dans l'éosinopoïèse, de facteurs de recrutement et de molécules agissant sur l'adhérence de ces cellules, mais également par la libération locale de stimuli de persistance, c'est-à-dire capables d'augmenter leur survie. De nombreuses équipes ont, en effet, mis en évidence dans le liquide de LBA, les expectorations, le liquide pleural, les polypes nasaux et le sérum de patients atteints de maladies associées aux éosinophiles, la présence d'une activité biologique susceptible de prolonger la survie d'éosinophiles sanguins d'individus sains. Grâce à l'utilisation d'anticorps neutralisant différentes cytokines, il a été montré que cette activité était due principalement à l'IL-3, à l'IL-5 et/ou au GM-CSF.

L'IL-5, qui prolonge la survie des éosinophiles en inhibant leur apoptose spontanée et la phagocytose par les macrophages, est une cytokine définie comme un marqueur de réponse Th2 [6]. Elle présente la particularité d'être synthétisée par et d'activer peu de types cellulaires, dont l'éosinophile. Ainsi, l'IL-5 est produite uniquement par les sous-populations auxiliaires CD4⁺, cytotoxiques CD8⁺, NK, et $\gamma\delta$ de lymphocytes T ainsi que par les mastocytes, essentiellement de phénotype tryptase⁺ chymase⁻. De nombreuses équipes ont par ailleurs montré que l'éosinophile même est également une source d'IL-5 et de son ARNm.

Les cibles cellulaires de l'IL-5 se limitent aux mastocytes, aux basophiles, aux lymphocytes B et aux éosinophiles. Ainsi, l'IL-5 augmente la libération induite par divers stimuli d'histamine et de LTC₄ par les basophiles et les mastocytes, prolonge leur survie, stimule la production des basophiles à partir de leurs précurseurs hématopoïétiques et favorise la production d'IgM par les lymphocytes B activés par des agents mitogéniques [7].

L'IL-5 induit l'éosinopoïèse, stimule le métabolisme oxydatif, induit la migration des éosinophiles, accroît leur adhérence et prolonge leur survie en inhibant l'apoptose. L'IL-5 est également un facteur de « priming » vis-à-vis de nombreux stimuli pro-inflammatoires. Le « priming » des éosinophiles par l'IL-5 permet, ou augmente, l'effet de ces stimuli sur le chimiotactisme, la dégranulation, la libération d'anions superoxydes et de médiateurs lipidiques ainsi que sur la phagocytose [3, 4, 7].

LES CYTOKINES ANTI-INFLAMMATOIRES

L'interleukine-10

L'IL-10 a été décrite initialement comme étant une cytokine produite par les lymphocytes Th2 murins et capable d'inhiber la production d'IFN- γ par les cellules Th1 [8]. Successivement, de nombreux autres types cellulaires ont été montrés capables de synthétiser l'IL-10, dont les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺, les monocytes, les macrophages, les mastocytes, les kératinocytes, les cellules épithéliales et les éosinophiles eux-mêmes. Ainsi, l'IL-10 ne peut pas être considérée comme étant un marqueur spécifique de la réponse Th2, car son profil d'activité est plus proche de celui de l'IL-6, que de celui de l'IL-4 ou de l'IL-5. Lors de la plupart des réactions inflammatoires, les cellules de la lignée monocyttaire représentent la source principale d'IL-10.

Les données montrant que l'IL-10 inhibait la libération d'IL-5 par les lymphocytes T humains et par des clones Th0 et Th2 ont suggéré pour la première fois son rôle protecteur potentiel vis-à-vis de la réaction allergique. D'autres arguments en faveur de cette hypothèse ont été proposés successivement, comme la capacité de l'IL-10 à inhiber certaines fonctions des cellules présentatrices d'antigène, à supprimer, *in vivo*, la production d'IL-5 et l'éosinophilie dans divers modèles d'inflammation allergique chez la souris, de bloquer la production de cytokines par des mastocytes murins activés de façon dépendante des IgE, d'inhiber la survie des éosinophiles humains *in vitro* [9, 10].

L'ensemble de ces résultats suggère que, contrairement à d'autres cytokines issues des lymphocytes Th2, telles que l'IL-4 ou l'IL-5, l'IL-10 joue un rôle plutôt protecteur de l'inflammation d'origine allergique.

Les interférons

L'IFN- γ est la principale cytokine impliquée dans l'activation du lymphocyte T et du macrophage dans le contexte de la défense cellulaire vis-à-vis de l'hôte [11]. Un nombre croissant d'études a montré que l'IFN- γ pouvait également avoir un rôle modulateur important lors des réactions allergiques. En effet, l'IFN- γ bloque la synthèse d'IgE par les lymphocytes B humains et murins, inhibe sélectivement la prolifération des lymphocytes Th2 et favorise la polarisation du lymphocyte TTh0 vers le phénotype Th1. Dans des modèles murins d'allergie pulmonaire, l'administration par voie inhalée d'IFN- γ diminue la synthèse d'IgE spécifiques, l'afflux d'éosinophiles dans les voies aériennes ainsi que l'hyperréactivité bronchique. Par ailleurs, des données récentes montrent une éosinophilie des voies aériennes très prolongée en réponse à une stimulation antigénique chez des souris génétiquement déficientes pour le récepteur de l'IFN- γ . Ceci confirme que cette cytokine jouerait un rôle important dans la résolution de la réaction inflammatoire allergique [12].

Parmi les membres de la famille des interférons de type I, l'IFN- α possède également des propriétés anti-allergiques. Ainsi, cette cytokine inhibe la polarisation des lymphocytes T naïfs vers le phénotype Th2, en favorisant leur différenciation en Th1, bloque la synthèse d'IL-5 par les cellules Th2 et augmente celle d'IL-10. Ces deux dernières observations ont été effectuées notamment lors de l'administration d'IFN- α à des sujets atteints de syndrome hyperéosinophilique. En effet, chez ces

patients, la réduction du nombre d'éosinophiles circulants observée lors du traitement avec l'IFN- α s'accompagnait d'une diminution des niveaux plasmatiques d'IL-5. Finalement, il a été montré que le traitement de souris immunisées avec l'IFN- α inhibe dans les voies aériennes le recrutement des éosinophiles et des lymphocytes T CD4⁺ activés déclenché par une provocation antigénique [12].

L'ensemble de ces observations suggère que l'IFN- α modulerait la réaction allergique à la fois en inhibant la différenciation et certaines fonctions effectrices des lymphocytes T, mais également en s'opposant directement aux phénomènes de recrutement des éosinophiles dans les tissus enflammés.

CYTOKINES ET ANTI-CYTOKINES DANS LE TRAITEMENT DE L'ASTHME : VERS UNE NOUVELLE STRATÉGIE THÉRAPEUTIQUE ?

Les traitements de l'asthme comprennent à l'heure actuelle essentiellement des bronchodilatateurs et des anti-inflammatoires, notamment les glucocorticostéroïdes. En particulier, l'administration de glucocorticostéroïdes aux sujets asthmatiques améliore leur fonction respiratoire, diminue le nombre d'éosinophiles tissulaires matures et leur activation, et induit une chute du nombre de leurs précurseurs hématopoïétiques circulants [13]. L'efficacité des glucocorticostéroïdes dans le traitement de l'asthme résulte de nombreuses actions, dont une diminution de la perméabilité alvéolo-capillaire, une inhibition de l'afflux et de l'activation des éosinophiles et un effet immunosuppresseur prédominant sur les lymphocytes-T avec, comme conséquence, un blocage de la synthèse d'IL-3, d'IL-5 et du GM-CSF [13]. Toutefois, les glucocorticostéroïdes entraînent certains effets secondaires qui résultent essentiellement de leur administration chronique. De ce fait, une thérapie destinée à inhiber efficacement et plus sélectivement l'inflammation éosinophilique tout en réduisant les doses de glucocorticostéroïdes pourrait représenter une perspective intéressante dans le traitement de l'asthme.

Bien que de nombreux facteurs capables d'activer l'éosinophile puissent représenter des cibles thérapeutiques potentielles, l'IL-5 reste sans doute le stimulus le plus sélectif et un des plus puissants car agissant sur la plupart des fonctions et à toutes les étapes de la vie de cette cellule. Toutefois, la plupart des preuves directes soulignant l'importance de l'IL-5 et des éosinophiles dans le développement de l'asthme ont été obtenues jusqu'à

présent exclusivement dans des modèles animaux. Ainsi, l'administration d'anticorps dirigés contre l'IL-5 à des cobayes, des souris ou des singes immunisés et provoqués avec l'antigène, inhibe le recrutement des éosinophiles dans le LBA et diminue fortement l'hyperréactivité bronchique [14]. Chez l'homme, seules quelques évidences indirectes confirment le rôle nuisible de l'IL-5 dans les états inflammatoires pulmonaires d'origine allergique. Ainsi, son instillation par voie intra-bronchique à des sujets atteints d'asthme modéré induit une augmentation du nombre d'éosinophiles activés à la fois dans la muqueuse bronchique et dans le LBA [15]. L'application répétée d'IL-5, en dehors de la période des pollens, sur la muqueuse nasale de sujets atteints de rhinite allergique saisonnière provoque également une éosinophilie et une augmentation des quantités d'ECP dans le liquide de lavage nasal [16].

Dans le but d'inhiber la réponse Th2 et, de façon préférentielle, la synthèse et/ou les effets de l'IL-5, différentes stratégies thérapeutiques peuvent être proposées. La première consiste à inhiber sélectivement ses actions par l'intermédiaire d'anticorps spécifiques. A cette fin, des études cliniques sont actuellement en cours afin de démontrer l'efficacité d'un anticorps humanisé dirigé contre l'IL-5 dans le traitement de l'asthme modéré. Sa nature, les faibles doses employées ainsi que sa longue durée d'effet vis-à-vis de l'éosinophilie et de l'hyperréactivité bronchique dans un modèle de singe allergique [14], pourraient faire de cet anticorps un prototype intéressant capable d'ouvrir des perspectives thérapeutiques nouvelles dans le traitement des maladies allergiques et des pathologies associées à une hyperéosinophilie, en général.

Une autre stratégie thérapeutique émergente concerne l'utilisation potentielle de cytokines anti-inflammatoires dans le but d'antagoniser la réponse de type Th2 caractéristique des états inflammatoires allergiques. Bien qu'en nombre assez limité, des études cliniques ont également été effectuées visant à tester l'efficacité de l'IFN- γ dans le traitement des processus atopiques. Ainsi, l'administration de cette cytokine par voie sous-cutanée à des patients atteints de dermatite atopique sévère, a été suivie d'une amélioration des symptômes associée à une réduction du nombre d'éosinophiles circulants. Toutefois, ce même traitement s'est révélé inefficace chez des sujets asthmatiques sensibles aux corticoïdes, suggérant qu'une administration locale d'IFN- γ pourrait en augmenter la bio-disponibilité et mieux cibler ses effets. Cette hypothèse a été confirmée partielle-

ment par une étude ultérieure montrant que l'administration d'IFN- γ par voie inhalée pendant 12 jours à des sujets normaux n'a pas entraîné d'effets indésirables [12].

L'IFN- α a également fait l'objet de quelques études cliniques dans le cadre des pathologies associées à une éosinophilie sanguine et/ou tissulaire. Ainsi, son administration à des sujets atteints de syndrome hyperéosinophilique ou de dermatite atopique a provoqué une chute des éosinophiles circulants et des taux d'ECP. Ces effets pourraient être la conséquence de l'action inhibitrice de l'IFN- α vis-à-vis de la différenciation et de la prolifération des éosinophiles à partir de précurseurs hématopoïétiques, mais également de ses capacités à bloquer l'activation des éosinophiles matures, notamment leur dégranulation [12].

Bien que de nombreux éléments expérimentaux plaident en faveur d'une action anti-allergique de l'IL-10, aucune étude clinique n'a été effectuée à ce jour dans le but de prouver l'efficacité thérapeutique de cette cytokine dans le traitement des affections atopiques. Deux travaux se sont adressés aux effets déclenchés par une administration d'IL-10 par voie intraveineuse à des volontaires sains ou à des patients ayant subi une

transplantation rénale. Dans les deux cas, l'IL-10 s'est révélée dépourvue d'effets indésirables et elle a réduit de façon durable les niveaux plasmatiques de TNF- α . Ces résultats encourageants sont cependant insuffisants pour proposer, à ce jour, l'utilisation de cette cytokine en tant que traitement alternatif ou additionnel des pathologies allergiques et de l'asthme en particulier [9, 10].

CONCLUSION

L'ensemble des données discutées ci-dessus montre clairement que certaines cytokines anti-inflammatoires bloquent efficacement l'accumulation des éosinophiles dans le sang et les tissus ainsi que certaines de leurs fonctions chez l'animal et chez l'homme. Cela suggère une application potentielle de ces composés dans le cadre des processus atopiques, notamment de l'asthme. Mais la mise en évidence d'un effet protecteur vis-à-vis des altérations respiratoires fonctionnelles et non seulement inflammatoires, l'étude des mode et fréquence de leur administration, l'optimisation des doses pour atteindre une efficacité thérapeutique tout en limitant les effets secondaires, sont autant d'aspects qui demandent à être clarifiés.

RÉFÉRENCES

1. International consensus report on diagnosis and treatment of asthma. *Eur. Respir. J.*, 1992, 5, 601-641.
2. Bousquet J., Chanez P., Lacoste J.Y., Barneon G., Ghavanian N., Enander L., Venge P., Ahlstedt S., Simony-Lafontaine J., Godard P., Michel F.B. – Eosinophilic inflammation in asthma. *N. Engl. J. Med.*, 1990, 323, 1033-1039.
3. Kroegel C., Virchow Jr J.C., Luttmann W., Walker C., Warner J.A. – Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (Part I). *Eur. Respir. J.*, 1994, 7, 519-543.
4. Kroegel C., Warner J.A., Virchow Jr J.C., Matthys H. – Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (Part II). *Eur. Respir. J.*, 1994, 7, 743-760.
5. Mosmann T.R., Cherwinski H., Bond M.W., Giedlin M.A., Coffman R.L. – Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.*, 1986, 136, 2348-2357.
6. Callard R.E., Gearing A.J.H. – The cytokine factsbook (Ed. Callard R.E., Gearing A.J.H.). Academic Press, Londres, Royaume Uni. 1994.
7. Sanderson C.J. – Interleukin-5, eosinophils, and disease. *Blood*, 1992, 79, 3101-3109.
8. Moore, K.W., O'Garra, A., de Waal Malefyt, R., Vieira, P., Mosmann, T.R. – Interleukin-10. *Ann. Rev. Immunol.*, 1993, 11, 165-190.
9. Pretolani M., Goldman M. – IL-10 : a potential therapy for allergic inflammation ? *Immunol. Today*, 1997, 18, 277-280.
10. Pretolani M. – Interleukin-10 : an anti-inflammatory cytokine with a therapeutic potential. *Clin. Exp. Allergy* (sous presse).
11. Lin, Y., Janeway, C.A. Jr. – Interferon gamma plays a critical role in induced cell death of effector T cells : a possible third mechanism of self-tolerance. *J. Exp. Med.*, 1990, 172, 1735-1739.
12. Pretolani M., Goldman M. – Cytokines involved in the down-regulation of allergic airway inflammation. *Res. Immunol.*, 68th Forum in Immunology, 1997, 33-38.
13. Barnes P.J. – Mechanisms of action of glucocorticoids in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 154 (suppl.), 21-27.
14. Egan R.W., Athwahl D., Chou C.C., Emtage S., Jehn C.H., Kung T.T., Mauser P.J., Murgolo N.J., Bodmer M.W. – Inhibition of pulmonary eosinophilia and hyperreactivity by antibodies to interleukin-5. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1995, 107, 321-322.
15. Shi H., Qin S., Huang G., Chen Y., Xiao C., Xu H., Liang G., Xie Z., Qin X., Wu J., Li G., Zhang C. – Infiltration of eosinophils into the asthmatic airways caused by interleukin 5. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 1997, 16, 220-224.
16. Terada N., Konno A., Tada H., Shirotori K., Ishikawa K., Togawa K. – The effect of recombinant human interleukin-5 on eosinophil accumulation and degranulation in human nasal mucosa. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 90, 160-168.

