

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

DES Biologie Médicale
Cambodge - septembre 2009

CM6.4
Immunothérapies

Bertrand Bellier
UPMC CNRS
Immunology Immunopathology Immunotherapy
Pitié-Salpêtrière - Paris - France
bertrand.bellier@upmc.fr

i3
immunology
immunopathology
immunotherapy

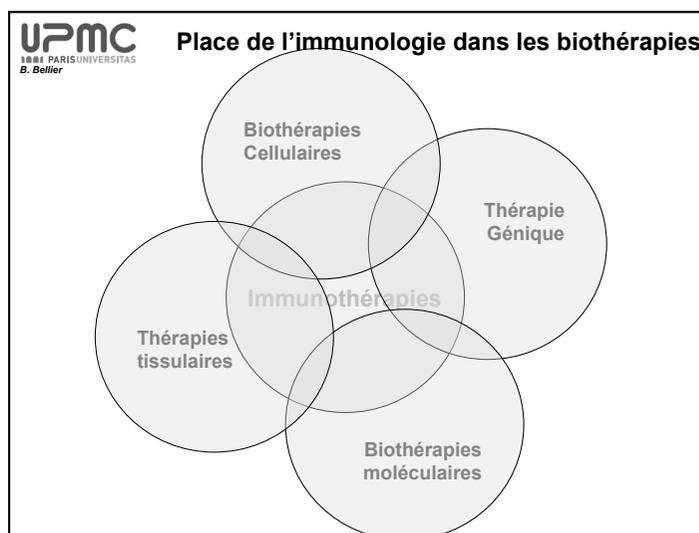
Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Biothérapies aujourd'hui

Les **biothérapies** comprennent:

- Les **biothérapies moléculaires**
- Les **thérapies géniques**
- Les **thérapies cellulaires**
- Les **thérapies tissulaires** (greffes de tissus vivants)
- Les thérapies immunologiques ou **Immunothérapies**



UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Immunothérapies

• Définition:

- Sens strict: Développement d'outils « biologiques » dirigés contre une cible **spécifique de la réaction immunitaire**
- Plus largement, appliqué au développement d'**outils immunologiques à visée thérapeutique**

- Actions des Immunothérapies:

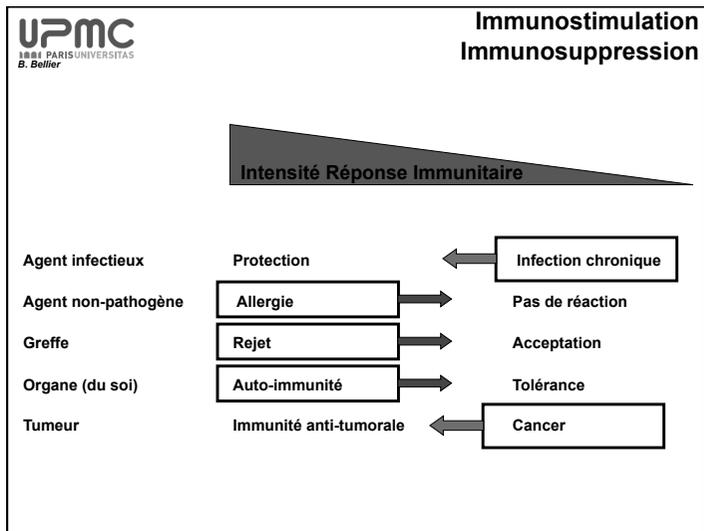
- **Immunostimulation:** activation du système immunitaire
- **Immunosuppression:** suppression du système immunitaire et de l'inflammation

• Types d'Immunothérapies:

- **Immunothérapie adoptive:** injection d'effecteurs (cellules, molécules); substitution du système immunitaire
- **Immunothérapie active:** consiste à intervenir sur le système immunitaire du sujet; par injections de molécules, cellule régulatrices

• Les outils

- Cellules du système immunitaire
- Cellules souche, précurseurs des CS1
- Antigènes
- Cytokines
- Anticorps



UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Spécificité antigénique

Immunostimulation / Immunsuppression:

Ag spécifique: action ciblée

non Ag-spécifique: action générale

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

I. Immunsuppression

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

**Immunsuppression
Principes**

- **Bloquer les réponses immunitaires et/ou limiter les mécanismes inflammatoires**
 - Anti-inflammatoires: corticostéroïdes
- **Bloquer la stimulation antigénique lymphocytaire:**
 - Interactions moléculaires
 - Transduction du signal
- **Inhiber l'activation lymphocytaire/ l'expansion clonale:**
 - Molécules cytotostatiques
 - Système de destruction spécifique et conditionnel (gènes suicide, immunotoxines)
- **Stopper ou dévier les fonctions effectrices**
 - Suppression cellulaire: Treg, Tr1, Th3, Tgd, NKT, Cytokines
 - Déviation immunitaire: TH-1/-2/-3/-17 ; Cytokines

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Immunosuppression non-spécifique

= immunosuppresseurs « classiques » ou « conventionnels »

- Anti-inflammatoires**
Corticostéroïdes = glucocorticoides de la famille des hormones stéroïdes
- agissent via récepteur intracellulaire et déterminent spécifiquement la transcription de certains gènes (cytokines proinflammatoires)
- action sur cellules endothéliales
- Inhibiteurs signal d'activation**
Cyclosporine A, FK506, Rapamycine :
peptides cycliques hydrophobes se lient aux immunophilines (Rcpr intracytoplasmique) et bloquent la calcineurine
-> interdit la transcription, dépendante du calcium, du gène de l'IL-2 et d'autres cytokines: IL-3, IL-4, IFNg
- Action ciblée aux cellules activées
- Molécules cytostatiques**
a) Agent alkylant = Cyclophosphamide
Induit des lésions biochimiques de l'ADN bloquant la réplication de l'ADN
Conduit à la mort des cellules en division
= Antimitotique
b) Antimétabolites: Azathioprine, Méthotrexate
interfèrent avec le métabolisme des purines
MTX inhibe la dihydrofolate réductase impliquée dans la voie de synthèse de la thymidine
=> Inhibent l'expansion clonale des lymphocytes T activés

Activité	Effets
D,L.I, TNF, GM-CSF, IL-3, IL-4, IL-5	(-) inflammation
(-) NOS	(-) production NO Lente stress oxydatif
(-) mol d'adhésion	Lente adhésion Lymphocytose
(+) immunofixants	Apoptose lymphocytes actifs

Limites des immunosuppresseurs classiques:

- Risques de toxicité (néphrotoxicité, effets hépatotoxiques)
- Antimitotiques: risque d'aplasie médullaire, risque oncogène
- Immunosuppression générale: risque de déficit immunitaire chronique, exposit particulièrement aux infections virales chroniques et aux tumeurs

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Immunosuppressions spécifiques

Modalités

Modalités des immunosuppressions spécifiques

- 1) Anticorps monoclonaux: blocages des interactions moléculaires
- 2) Elimination des cellules activées: Immunotoxines
- 3) Cytokines immunosuppressives
- 4) Lymphocytes T régulateurs
- 5) Déviation immunitaire (ex: désensibilisation): Antigène

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

1. Anticorps monoclonaux et thérapies immunosuppressives

- **Elimination des cellules immunocompétentes**
 - Anti-CD3, OKT3 : Muromomab. Traitements immunosuppresseurs: Rejet de greffe, Diabète
 - Anti-CD20: Rituximab. Déplétion des LyB
 - Anti-CD52: lymphopénie profonde et durable (CD52 sur les lymphocytes T, B, monocytes). Alemtuzumab
- **Blocage des molécules de co-stimulation:**
 - Anti-CD28, Anti-CD40L, CTLA4-Ig (compétition avec CD28 pour B7) : bloquer signal 2
- **Blocage des autres signaux activateurs**
 - Anti-CD25: Daclizumab. Antagonistes compétitifs bloquant la liaison de l'IL-2 à son récepteur: bloquer signal 3
 - Anti-cytokines inflammatoires
 - Infliximab (Anti-TNF)
- **Blocage de la migration cellulaire**
 - Anti-intégrine α4: Natalizumab

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

2. Immunotoxines

- **Immunotoxines: AC conjugués**
molécule hybride formée à partir d'un anticorps et d'une toxine protéique
ex: CD3-toxine diphtérique
- **Ac conjugués à des molécules de chimiothérapie**
Ac anti-CD 33+ calichéamicine (gentuzumab-ozogamicin, Mylotarg®)
 - internalisation de l'Ac conjugué après liaison au CD 33
 - dissociation intra-lysosomale de l'Ac et de la calichéamicine
 - diffusion intra nucléaire de la chimiothérapie
 - liaison à l'ADN responsable de cassures irréversibles double brin: mort par apoptose
- **Ac conjugués à des radio-isotopes: la radio immunothérapie**
 - ²¹³Bi, ²¹⁷Bi, ²¹¹At, ²²⁵Ac
 - ¹³¹I, ⁹⁰Y, ¹⁸⁸Re : conjugués à l'anti-CD20
 - ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (Zevalin®)
 - ¹³¹I-tositumomab (Bexxar®)

internalisée par les endosomes puis libérée dans le cytoplasme après protéolyse révélant son activité enzymatique ADP-ribosylase. La cible de l'ADP-ribosylase est le facteur EF-2 d'élongation, une petite G-protéine qui permet la translocation du peptidyl-tRNA du site A au site P des ribosomes en présence de GTP.

EF-2 est inactivé, ce qui bloque l'élongation des chaînes peptiques et inhibe de la synthèse protéique cellulaire.

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

3. Cytokines

- Cytokines** : molécules polypeptidiques solubles de faible masse moléculaire libérées par de très nombreuses cellules activées au cours des processus immunitaires et inflammatoires. Exercent leur activité biologique à des concentrations très faibles de l'ordre de 10-10 mol, grâce à des récepteurs de haute affinité situés à la surface de cellules très variées au sein de l'organisme.
- « Hormones cellulaires »
Protéines de médiation et de régulation de la communication cellulaire

Ex: Découverte de l'IL-2 (Gallo, Science 1976)

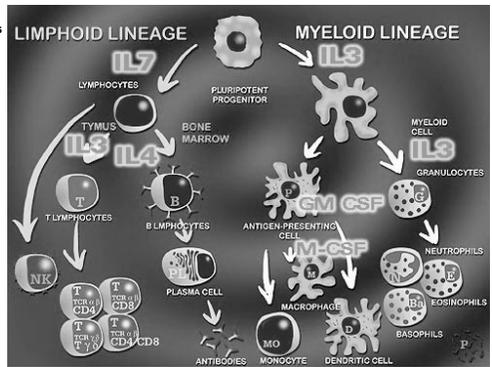


- Protéines sécrétées de 6-60kDa
- Production inductible et transitoire
- Demi-vie brève (1à 3h après injection)
➔ Action transitoire

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

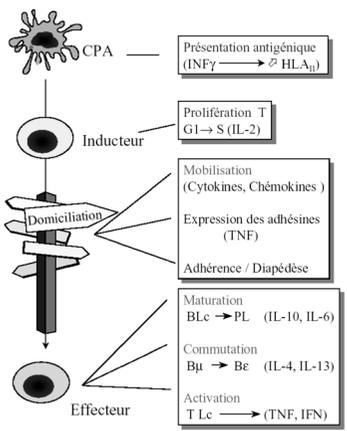
Cytokine et hématopoïèse

- IL-7** : produite pas cellules stromales de MO et Thymus
- IL-3 et Cell Stem Factor (CSF)** : activation des cellules totipotentes. Différenciation par facteurs spécifiques
 - EPO
 - GM-CSF
- IL-5**: Eosino-CSF
- IL-11**: plaquettes



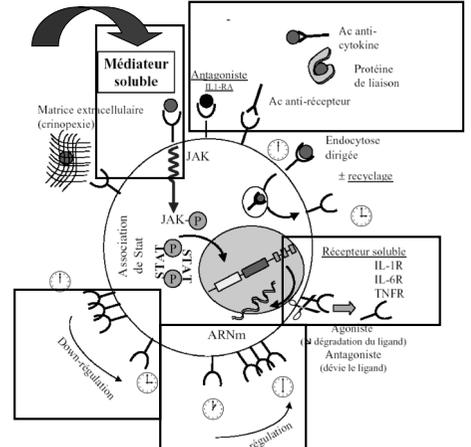
UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Rôle des cytokines au cours de la réponse immunitaire



UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Cytokines-Récepteurs : les cibles thérapeutiques



UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Actions thérapeutiques

- (+) injection de cytokines recombinantes
- (-) neutralisation d'une cytokine
 - Anticorps monoclonal (Anti-IL6; Anti-TNF α -Polyarthrite rhumatoïde)
 - Récepteur soluble anti-TNF
- (-) neutralisation du récepteur cytokinique
 - Anti-récepteur
 - Agoniste du Rr cytokinique: IL-1Ra

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Bloquer l'IL-1 pour limiter l'inflammation

- Interventions thérapeutiques

Current Opinion in Pharmacology

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

IL-1: cible thérapeutique de l'arthrite rhumatoïde

IL-1

- Activates monocytes/macrophages
- Induces fibroblast proliferation
- Activates chondrocytes
- Activates osteoclasts

↓

Inflammation Synovial pannus formation Cartilage breakdown Bone resorption

Collagen-Induced Arthritis: Treatment Effects on Histological Scores

IL-1Ra [mg/kg/h]	Inflammation Score	Cartilage Score	Pannus Score	Bone Damage Score
0	~3.5	~3.5	~3.5	~3.5
0.04	~2.5	~2.5	~2.5	~2.5
0.2	~1.5	~1.5	~1.5	~1.5
1	~0.5	~0.5	~0.5	~0.5
5	~0.2	~0.2	~0.2	~0.2

Bendele et al. Arthritis Rheum 42:498, 1999 p 0.05, 2-tailed t-test to vehicle control

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Bloquer le TNF-a pour limiter l'inflammation

- TNF α :**
 - Produits par M
 - Sécrété ou en surface
 - Actions:
 - Cytotoxicité (Tumor necrosis factor)
 - Recrutement des PMN, Mono
 - (+) endothélium: chimiotiques
 - Systémique (fièvre)
 - Protéine de phase aigüe
- Anti-TNF α**
 - Anticorps
 - Récepteurs solubles
 - Inhibiteurs de synthèse du TNF α

Anti-TNF α trials

Rheumatoid Arthritis
GVHD
Crohn disease
Lupus Nephritis
Uveitis
Spondylarthropathies
Lumbar spinal fibrosis

Table 1 | Protein-based injectable anti-TNF α therapies in clinical use

Drug	Status	Biological form
Etanercept	Approved	Soluble TNFR2 coupled to Fc portion of IgG
Infliximab	Approved	Mouse human chimeric anti-human TNF- α antibody
Adalimumab	Approved	Human anti-human TNF- α antibody
PEG-etanercept	Clinical	Polyglucated form of soluble TNFR1
CCP-571	Clinical	Polyglucated Fc of humanized antibody CCP-571

Fc, fragment antibody binding; Fc, fragment constant; IgG, immunoglobulin G; TNF, tumor-necrosis factor; TNFR1, TNF receptor type 1; TNFR2, TNF receptor type 2.

Table 2 | TNF- α synthesis inhibitors in clinical use

Class of inhibitor	Product	Company	Clinical status
p38 kinase	BRE796	Boehringer Ingelheim	Phase I
	681303	GlaxoSmithKline	Phase I
	SCD-405	Scios	Phase I
	SC-202025	Scios	Phase I
	SB-203580	Schering-Plough	Discontinued
	SB-203580	Schering-Plough	Discontinued
	WX-102	Vertex	Phase II
	WX-142	Vertex	Discontinued
TACE	TACE inhibitor	BiogenIdec	Phase II
	Marmesit	British Biotech	Discontinued
Thapsigargin	Thapsigargin	Celgene	Phase II
Rationally designed	RDPS6	Sangart Medical	Phase II
Latent acid peptide			

Anti-TNF α Treatment Reduces the Severity of Collagen Induced Arthritis

Control of signs of arthritis Prevention of structural damage

Williams, Feldmann, Maini Proc Natl Acad Sci USA 89:9734 (1992)

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Cytokines immunosuppressives IL-10, TGFβ

- Production**
 - IL-10: Mono, Macro, LyB, LyT Tr1
 - TGFβ: tout type cellulaire, Th3
- Actions:**
 - Inhibition de production des cytokines pro-inflammatoires
 - Inhibition activité microbienne du Macro, PNeuro
 - Induit baisse d'expression MHC II et B7, ICAM-1
- Génération de Lymphocytes suppresseurs:**
 - Treg induits: Tr1
 - Th3
- Cytokines anti-Th1:**
 - IL-10
 - IL-4

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Complexité du réseau cytokinique: ex: réponse inflammatoire

Quelle cible ?

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Complexité du réseau cytokinique: Actions multiples

- pleiotrope**
 - Activated T_H cells → IL-4 → B cell (Activation, Proliferation, Differentiation)
 - Activated T_H cells → IL-4 → Thymocyte (Proliferation)
 - Activated T_H cells → IL-4 → Mast cell (Proliferation)
- redondante**
 - Activated T_H cells → IL-2, IL-4, IL-5 → B cell (Proliferation)
- synergique**
 - Activated T_H cells → IL-4, IL-5 → B cell (Induces class switch to IgE)
- antagoniste**
 - Activated T_H cells → IL-4 → B cell (Blocks class switch to IgE induced by IL-4)
 - Activated T_H cells → IFN-γ → B cell (Blocks class switch to IgE induced by IL-4)

(b) CASCADE INDUCTION

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

4. Thérapies cellulaires immunosuppressives Lymphocytes T suppresseurs

- Ly T suppresseurs:**
 - Définis par leur fonction
 - Plusieurs populations :
- Treg naturels CD25hi**
Tr1=IL-10+, Th3=TGFβ+
- Principe des Immunothérapies**
 - Changer le ratio Teff/Treg

	Th1	Th2	Th3	Th1	CD25 ^{high}
Interferon gamma	+++	-	+/-	+	+/-
IL-4	-	+++	+/-	-	+/-
TGF-beta	+/-	+/-	+++	++	+/-
IL-10	-	++	+/-	+++	+/-
Growth	IL-2	IL-2/IL-4	IL-4/TGF-β	IL-10, IFNα	IL2+++
B helper	IgG2a	IgG1/IgE	IgA	-	-
Suppression	Th2	Th1	Th1 ou 2	Th1	Th1 or 2
Proliferation	+++	-	+/- (IL-15)	IL-2	-
Affinity for self	+/-	+/-	+	+	++++

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Treg en Immunothérapie

- **Génération des Treg**
 - Amplification des Treg naturels
 - Induction de T suppresseurs
- **Rapport Effecteurs/Reg:**
 - Quantités
 - Thérapie précoce
- **Induction in situ (bloquer costim) vs Transfert adoptif**
- **Action Ag-spécifique ?**
- **Application lors des protocoles de:**
 - Transplantation d'organe, LyT reg du donneur
 - Transplantation de MO
 - MAI

« Polyclonal »

« Ag-spécifique »

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

II. Immunostimulation

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Immunostimulation

Agent infectieux	Protection	←	Infection chronique
Agent non-pathogène	Allergie	→	Pas de réaction
Greffe	Rejet	→	Acceptation
Organe (du soi)	Auto-immunité	→	Tolérance
Tumeur	Immunité anti-tumorale	←	Cancer

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Immunostimulation: modalités

- **Passif:**
 - Sérothérapie
 - Thérapie cellulaire
- **Actif:**
 - Vaccination, Immunisation thérapeutique
 - Potentialisation de l'activation lymphocytaire
 - Stimulation hématopoïèse, lymphopoïèse

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

1. Sérothérapie

- Administration d'un sérum immunisant d'origine animale ou humaine
- Cas d'urgence (action immédiate)
- Avantage:
 - Protection immédiate
- Limites:
 - Protection de courtes durée
 - Coût élevé
 - Sécurité contestée

Donneur (sujet immun) Sujet immunisé passivement

Immunoglobulines provenant d'un sujet immun

Immunoglobulines administrées à un sujet non-immun

Concentration en anticorps

Injection de Ig

4 8 12 16 20 semaines

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

2. Immunostimulation adoptive

- Transfert des cellules effectrices
- TIL: Tumor-Infiltrating Lymphocytes
- Lympho T extraits des tumeurs, réactivés in vitro (IL-2), réinjectés

Immunothérapie adoptive par TILs activés ex vivo

Petit fragment de tumeur 2 mm

1

Extraction des lymphocytes Environ 1 000 000

2

Première amplification en IL-2 2 à 4 semaines

3

Amplification des Cellules spécifiques en 2 semaines

sélection des lymphocytes T spécifiques de la tumeur

Environ 50.10⁶

4

Transfusion chez un patient dont les lymphocytes ont été fortement diminués

Transfusion des lymphocytes spécifiques

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

Autres modalités d'immunothérapies passives

A. Autologous TIL isolation Preconditioning: irradiation/chemotherapy

B. Allogeneic Tumor excision TILs Test against tumor and rapid expansion Tumor excision Cytokines

PBL Allorestricted tumor-specific T cells

C. Engineered TCR cloning Transduction of PBL HSC

Humanized xenogeneic donor Viral vector

Possible applications of adoptive cell transfer using a preconditioning lymphodepleting regimen consisting of chemotherapy and the use of different types of donor T cells in conjunction with administration of exogenous cytokines (A). The approach used by Dudley et al. in their recent trial. Autologous TILs were isolated from the tumor samples harvested from the patient, tested, expanded and reinfused. (B) The allogeneic cells transferred into the patient could be derived from TILs harvested from another patient (a good responder to autologous adoptive cell transfer) or generated in vitro from peripheral blood lymphocytes of an allogeneic healthy donor and selected for their ability to recognize tumor epitopes in the context of the recipient's major histocompatibility complex. (C) Effector T cells generated by gene therapy methods using lentiviral or retroviral vectors. TCR sequences can be derived from either allogeneic or xenogeneic sources. In the case of xenogeneic source, donor animals must express human restriction element (i.e. human leukocyte antigen allele presents in the patient). In order to be able to recognize human antigens on human tissues. Xenogeneic donors have a T-cell repertoire not influenced by negative selection against human self-peptides; thus, it may be easier to generate cells with high-avidity TCR for human tumor antigens. In the case of an allogeneic donor a clone expressing a TCR reactive against the patient's tumor can be generated either in vitro from a healthy donor (i.e. allogeneic allorestricted tumor-specific T cells) or from the TILs of another patient (see B). After isolation of tumor-reactive cells, the TCR is cloned and inserted into a viral vector and used to transduce either autologous or allogeneic PBL, peripheral or cord blood HSC, or even an immortalized T-cell line; the cells are then selected, matured and expanded as needed, and reinfused. In all these scenarios it is also possible to further manipulate cells before transfer by genetic means. This process may include insertion of sequences encoding for cytokines (e.g. interleukins 2 or 15), adhesion molecules, antiapoptotic or suicide genes, and so on. Abbreviations: HSC

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bollier

3. Vaccination ou Immunisation thérapeutique

- Objectifs:
 - Déclencher une réponse effectrice «primaire» Ag-spécifique
 - Générer une mémoire immunologique
- Modalités:
 - Injection d'antigènes
 - Injection de lysats tumoraux
 - Injection de peptides TAA
 - Immunostimulation - levée de tolérance
 - Injection d'adjuvants seuls
 - Cytokines
 - BCG, virus: 1960; tumeur vessie BCG mais efficacité limitée: 25%
 - Levée d'anergie
 - Cytokine
 - Molécules de costimulation

Ganglions lymphatiques Vaccins Transfert adoptif

Lymphocytes Culture in vitro des CD4+/CD8+ Biopsie tumorale

Lymphocytes infiltrant la tumeur (TIL) Lyse des cellules tumorales

1. Immune System Stimulant

2. T Cell Stimulation

3. Recognition Of Cancer Cell

4. Attachment & Attack

5. Death & Destruction

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. BOLLIER

Adiuvants

« **adjuvare** » : aider, assister

- Substance capable d'augmenter la réponse immunitaire dirigée contre un Ag administré simultanément.
- Multiples / classification complexe (selon mode d'action - effets)

- **Adjuvants huileux :**
 - émulsion eau-huile, IFA (Adjuvant Incomplet de Freund), MF59
- **Adjuvant minéraux :**
 - Précipité insoluble; Alum (Hydroxyde ou Phosphate d'Alu)
- **Constituants bactériens:**
 - Mycobactérie inactivée (Mycob tuberculosis) ou constituants (Mycob bovis, BCG) : CFA
- **Toxines bactériennes**
 - Toxine cholérique (CT) ou ss-u B purifiée (CTB), Toxine pertussique (PT)
- **Oligodésoxynucléotides CpG**
 - Séquence ADN bactérien non-méthylée (ODN CpG) ; interaction avec TLR-9

- **Saponines**
 - Agent tensioactifs ; Quil-A®
- **ImmunoStimulating COMplexes (ISCOM)**
- **Adjuvants vésiculaires**
 - Bicouche lipidique, liposomes - virosomes
- **Cytokines**
 - Médiateurs des RI: IL-2, IL-12, IFN-g, GM-CSF
- **Imidazoquinolones**
 - Imiquinol, Interaction Rr des APC, Σ cytokines
- **Polysaccharides**
 - Dextranes, glucanes, perméabilisent les muqueuses

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. BOLLIER

Potentialisation de la réponse immunitaire cas des immunothérapies anti-tumorales

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. BOLLIER

4. Ajout de molécules immunostimulatrices

a) **Signal 1: Allomolécule**
Réponse allogénique >>
Fréquence de IyT allo

b) **Signal 2: Molécules de costimulation**
Transfection des cellules tumorales par les gènes de molécule de co-stimulation B7
Tumeur = APC

c) **Signal 3: Cytokines**
Favorise activation lymphocytaire initiale
Amplification phase effectrice de la RIC et RIH
Switch des Ig
Maintien de la mémoire immunologique

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. BOLLIER

Cytokines pro-inflammatoires

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Production des cytokines recombinantes

- Clonage gène
- Systèmes d'expression
 - E.Coli, baculovirus, levure, CHO
 - Problème de glycosylation
- Techniques de purification
- Cytokines AMM: IL-2, IFN, EPO, GM-CSF, ...
- Intérêt stratégique et économique remis en question par de nombreuses compagnies industrielles Importance des biotech's
- Développement des kits de détection

CLONED CYTOKINES

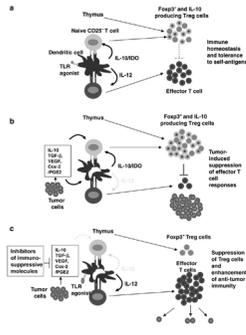
TNF- α (1989)	TGF β 2 (1993)
IL-1- α (1990)	TGF β 3 (1988)
IL-1- β (1993)	AMCF-II (1992)
IL-2 (1991)	IL-12 (1997)
IL-4 (1993,1994)	IL-15 (1998)
IL-6 (1991,-1994)	GSC-F (1995)
IL-8 (1994,1992)	VEG-F (1995)
TGF β 1 (1992)	GM-CSF (1995)



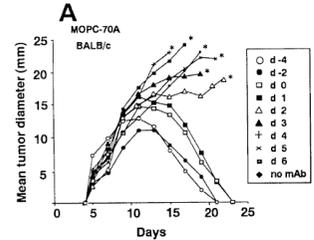
UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

5. Bloquer l'immunosuppression

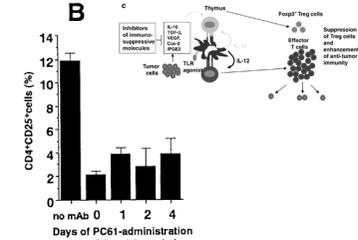
- Elimination des LyT reg (CD4+ CD25+)
 - In vivo : Anticorps anti-CD25
 - Ex vivo
- Bloquer l'activité suppressive des Treg



A



B



UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Efficacité thérapeutique de l'immunostimulation: stratégies combinées

Stimulation de la RI	Stratégie
Reconstitut* Syst imm	GMO, ThG Cytokines : GM-SCF
Présentation Ag	APC: DC matures Ag particulaires
Activation lymph	Mol costim B7.1, B7.2 Cytokines: IL-12, 18
Phase Effectrice	Cytokines: IL-2, IFN γ
Limiter la suppression	Bloquer mol suppressives Déplétion des T reg (CD4+ CD25+)
Maintien immunité	Rappels Ag Cytokines IL-15