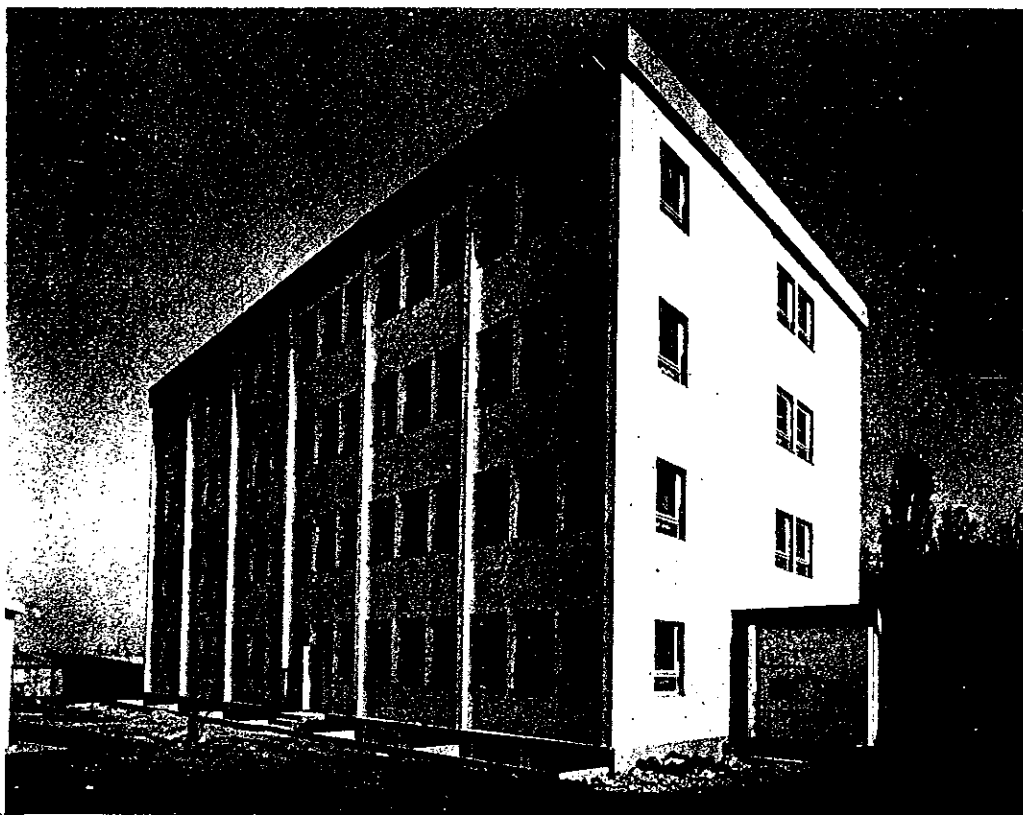


III

HEB.
Travaux Scientifiques
1955-1965

Centre de cancérologie
et d'immunogénétique

Professeur ag. Georges MATHÉ
Directeur



Bâtiment principal de l'Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique.

HOPITAL PAUL BROUSSE
116 avenue Paul-Vaillant-Couturier Villejuif Seine

PERSONNEL SCIENTIFIQUE

Directeur

M. le Professeur Agrégé MATHÉ, Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine, Chef du Service d'Hématologie à l'Institut Gustave-Roussy.

Directeur adjoint

M. le Docteur AMIEL, Assistant d'Hématologie à l'Institut Gustave-Roussy.

Assistants de recherches

M. le Docteur SCHNEIDER

M. le Docteur SCHWARZENBERG

Techniciens

Mlle LEBLOND

Mme MATHÉ

Mlle NEUKIRCH

Mlle PERSIC

Mme VALY

Secrétaires

Mme BAÏS

Mme LABROUSSE

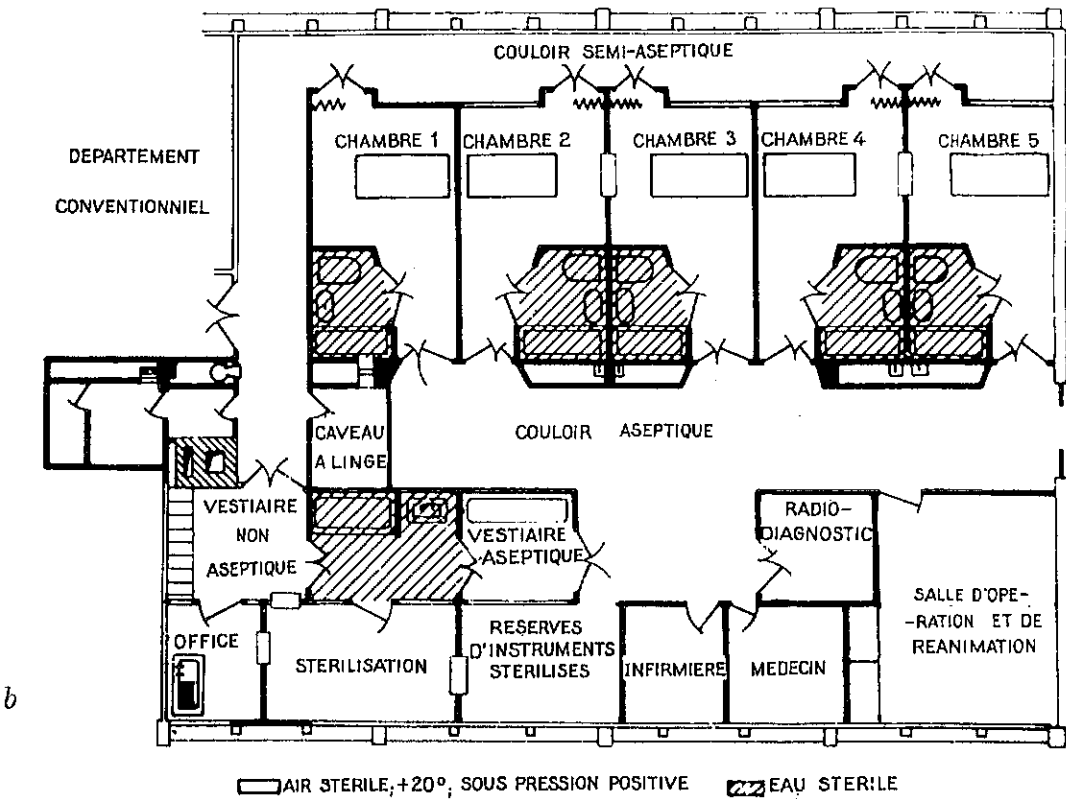
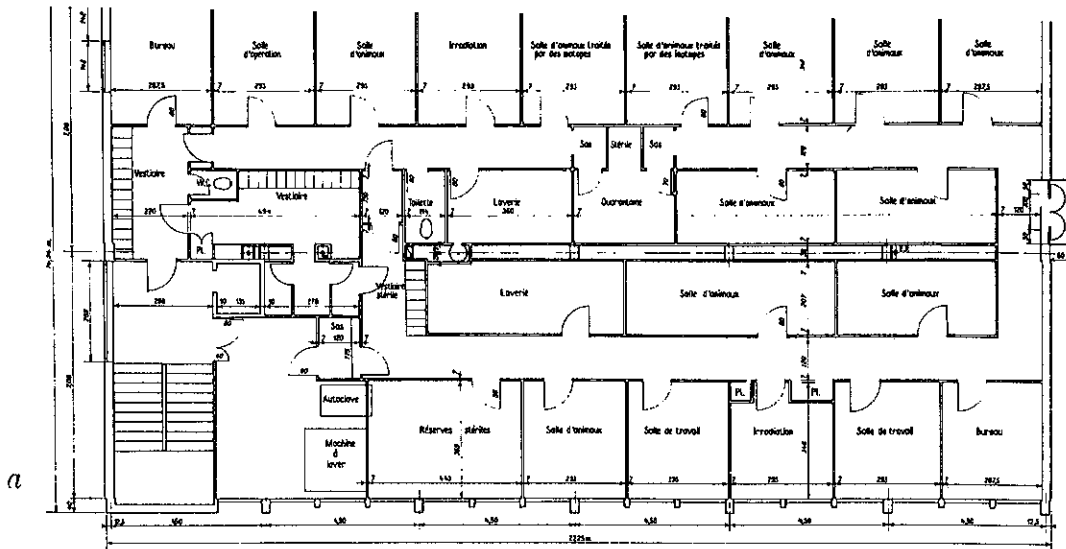
INTRODUCTION

1. Le groupe du centre de cancérologie et d'immunogénétique consacre l'essentiel de ses efforts à la *greffe des cellules hématopoïétiques* et à ses *applications au traitement de sujets irradiés accidentellement* d'une part, au *traitement des leucémies* et éventuellement d'autres cancers d'autre part, à la *transplantation d'organes* enfin.

Ceci l'a conduit à entreprendre diverses recherches dans le domaine de l'immunogénétique fondamentale, concernant en particulier les problèmes des cellules souches hématopoïétiques, des cellules immunologiquement compétentes, de la tolérance, des antigènes de greffes, de la réaction d'un greffon contre son hôte. Les réactions immunologiques des greffons hématopoïétiques lui ont permis d'ouvrir une nouvelle voie d'immunothérapie, dite « immunothérapie adoptive », des leucémies et des cancers. Enfin, l'application de la tolérance spécifique liée au chimérisme est envisagée dans le domaine des transplantations allogéniques d'organes.

2. Le groupe conduit par ailleurs des recherches sur les *substances chimiques* antimitotiques, s'intéressant particulièrement à leurs effets anticancéreux et inhibiteur des réactions immunitaires. Des tentatives de consommation élective des produits chimiothérapeutiques par les cellules cancéreuses, ou de transport sélectif de ces produits à ces cellules ont été particulièrement suivies de succès et sont poursuivies (2, 10).

3. Divers problèmes de *cancérologie* (classification des diverses leucémies et hématosarcomes) et de *radiopathologie* (effets de l'irradiation totale) sont encore l'objet de son intérêt.



Installations « exemptes de germes pathogènes ». (a) Plan du troisième étage : cet étage est essentiellement occupé par le département de médecine et chirurgie expérimentales. (b) Plan du département de recherches cliniques.

LA GREFFE
DE CELLULES HÉMATOPOIÉTIQUES ALLOGÉNIQUES
ET SES APPLICATIONS
EN PARTICULIER AU TRAITEMENT DES LEUCÉMIES

On sait que des animaux soumis à une irradiation totale meurent d'aplasie myélo-lymphoïde, selon une fréquence qui dépend de la dose. Si celle-ci est voisine de la dose létale, il est possible de leur greffer des cellules de moelle osseuse allogénique qui, en repeuplant par leur prolifération la moelle et le sang, les protègent contre les complications infectieuses et hémostatiques de l'aplasie. Mais les cellules immunologiquement compétentes du greffon médullaire réagissent contre les antigènes de l'hôte, ce qui détermine une complication fréquente, le syndrome secondaire. Les travaux expérimentaux du groupe ont porté sur l'étude des facteurs qui déterminent la prise de la greffe d'une part, sur la physiopathologie et le traitement du syndrome secondaire d'autre part. Il a montré que la greffe de moelle osseuse allogénique est possible chez des nouveau-nés non conditionnés (3, 5), comme elle l'est chez l'adulte après irradiation à dose 100 % létale et à des doses voisines de celle-ci. Il a observé que des transfusions de sang administrées avant l'irradiation peuvent immuniser le donneur et faire ainsi échouer la greffe (40). Il a montré que les transfusions d'un mélange de cellules médullaires de plusieurs donneurs aboutit généralement à la greffe du donneur le plus proche du receveur par l'histocompatibilité (47).

Etudiant le rôle de la réaction du greffon contre l'hôte à l'origine du syndrome secondaire, il a précisé l'existence de deux temps : le premier que caractérise une prolifération histiocytomonocytaire qu'accompagne une importante hypergamma-globulinémie, le second qui se manifeste par une aplasie lymphoïde et entraîne une perte de la mémoire immunitaire (11, 16, 19, 20, 21, 23). Il a montré que la gravité du syndrome secondaire peut être réduite par certains traitements curatifs (administration de certains antimétabolites chimiques, singulièrement l'A-méthoptérine et la cyclophosphamide) et par certaines mesures préventives (conservation de la moelle osseuse pendant deux heures à 37° C dans un liquide aprotéique, utilisation d'un mélange de moelle osseuse de plusieurs donneurs) (25, 28, 36).

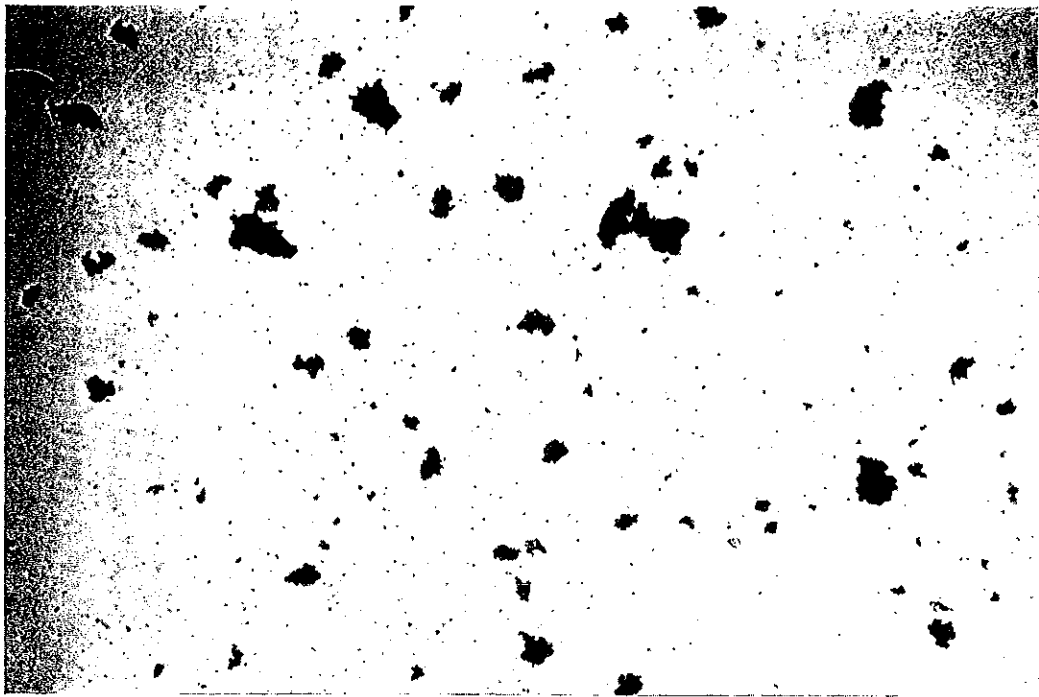
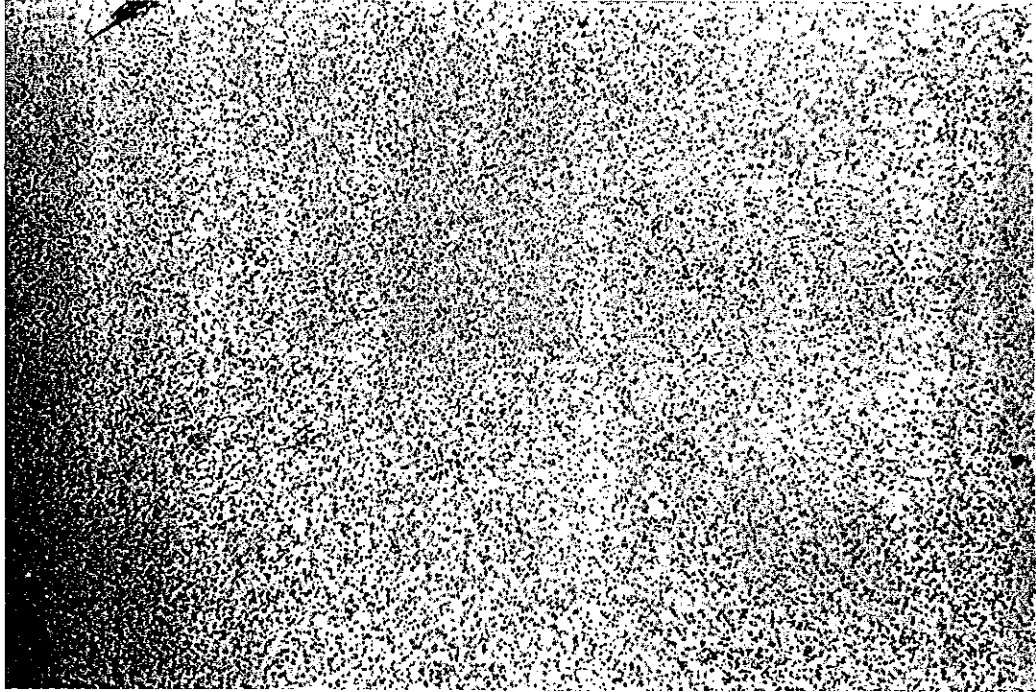


FIGURE 1. Une preuve de la greffe de moelle osseuse chez l'Homme : le sujet était s—, il a été pendant vingt mois, s+.

Le groupe est le seul dans le monde à avoir actuellement réalisé chez l'Homme des greffes de moelle osseuse allogéniques. Il a traité, en 1958, les cinq sujets irradiés accidentellement en totalité à Vinca (Yougoslavie) par un mélange de rayons gamma et de neutrons, à des doses de 75 à 100 % létales : le greffon de moelle osseuse transitoire réalisé a permis à quatre sujets sur cinq de survivre (le cinquième est décédé d'une complication intestinale apparue malgré la prise de la greffe) (4, 8).

Depuis, le groupe tente d'appliquer la greffe de moelle osseuse allogénique au traitement des leucémies selon le principe suivant : soit un sujet « A », porteur de cellules leucémiques « a », l'affection étant éventuellement, due à un virus « alpha ». Une irradiation totale à dose létale est appliquée, qui réduit très notablement le nombre des cellules leucémiques et permet une greffe de moelle osseuse d'un sujet « B ». Tandis que les cellules myéloïdes de ce greffon repeuplent le tissu myéloïde et le sang, ses cellules lymphoïdes repeuplent le tissu lymphoïde : parmi elles, les cellules immunologiquement compétentes réagissent contre les divers éléments antigéniques à leur égard qu'elles rencontrent, les cellules leucémiques « a » et le virus « alpha ». Le groupe a montré chez la Souris que cette réaction peut éradiquer la population des cellules leucémiques (travaux effectués sur des leucémies greffées et sur des leucémies spontanées) (1, 6, 12, 13, 50) et qu'elles peuvent également éradiquer le virus leucémigène du sang (travaux effectués sur la leucémie virale de Ch. Friend) (30, 44). Il est envisagé que, si la greffe fonctionne à 100 pour 100 et est définitive, le virus « alpha », s'il est spécifique de lignée, peut ne pas être capable d'induire une nouvelle leucémie « b » à partir des cellules « B ».

Tenant d'appliquer ces résultats expérimentaux chez l'Homme, le groupe a été amené à soumettre une dizaine de malades à des irradiations totales appliquées à des doses de 800 rads et suivies de transfusions de moelle osseuse allogénique. A côté d'échecs, dus soit à l'absence de prise de la greffe, à l'origine de laquelle il a été amené à accuser les transfusions de sang antérieurement reçues par les sujets et qui les ont immunisés, et au syndrome secondaire, particulièrement sévère chez l'Homme, deux sortes de résultats ont été enregistrés, et cela chez les patients arrivés au bout de leur maladie et qui ne pouvaient plus rien attendre des traitements classiques : des greffes transitoires ayant duré environ trois mois et ayant permis des survies de neuf et douze mois ; une greffe qui a duré vingt mois, le sujet présentant un état hématologique normal (7, 14, 22, 32, 50, 51, 59).

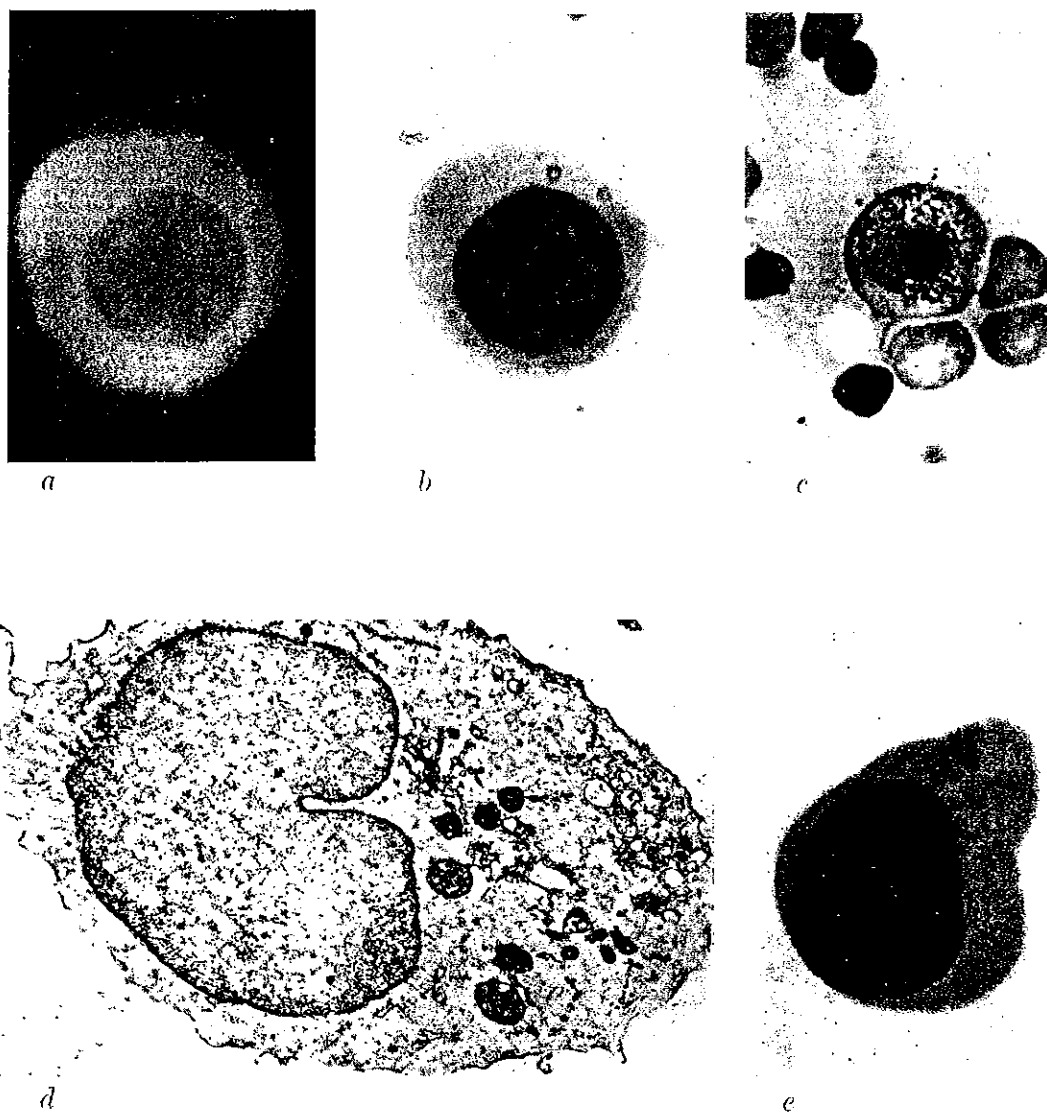


FIGURE 2. Les cellules immunologiques compétentes étudiées par diverses méthodes : (a) et (b) : la même cellule vue en immuno-fluorescence (a), puis colorée par une substance panchromique (b) ; (c) une cellule hyperbasophile en réaction du greffon contre l'hôte, le donneur ayant reçu de la thymidine tritiée, selon des conditions telles que les cellules souches du tissu lymphoïde étaient « marquées » ; (d) un histiomonocyte vu au microscope électronique, au cours de la réaction du greffon contre l'hôte ; (e) cellule hyperbasophile provenant de la « transformation » des cellules lymphoïdes du sang en culture « in vitro » en présence de phytohémagglutinine.

LES CELLULES IMMUNOLOGIQUEMENT COMPÉTENTES

Le groupe a étudié en microscopie conventionnelle et électronique, d'une part, par les techniques d'immuno-fluorescence et d'autoradiographie utilisant la thymidine tritiée, d'autre part, les cellules hyperbasophiles qui prolifèrent dans les centres lymphoïdes au cours des réactions immunologiques, en particulier au cours des réactions de greffe. Il a montré que trois types d'éléments interviennent dans ce processus : les plasmocytes, les lymphocytes et les histiomonocytes. Il s'est attaché particulièrement au rôle de ces derniers et à leur relation physiologique avec les deux autres types (11, 17, 19, 60).

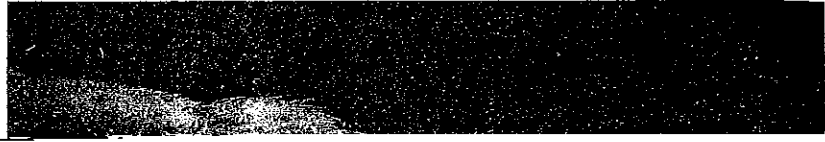
Il a montré que les cellules thymiques possèdent une réactivité immunologique cent fois moindre que les cellules ganglionnaires, mais que le fait de les mélanger à des macrophages leur confère une réactivité sensiblement égale à celle des précédentes (46).

Il a observé que les cellules immunologiquement compétentes se comportent différemment à l'égard de certaines agressions des cellules myéloïdes : ainsi sont-elles beaucoup plus sensibles que ces dernières à une conservation à 37° C ou à -70° C (28, 36).

Il a enfin étudié l'importance du rapport :

$$\frac{\text{volume de l'antigène}}{\text{Nombre de cel. I. C.}}$$

dans le déterminisme du sens des réactions immunitaires (immunisation ou tolérance) : à cet égard, il a observé, pour un même volume d'antigène, la diminution du nombre des cellules immunologiquement compétentes peut être responsable d'un état de tolérance spécifique, que l'on peut transférer d'individu à individu (43).



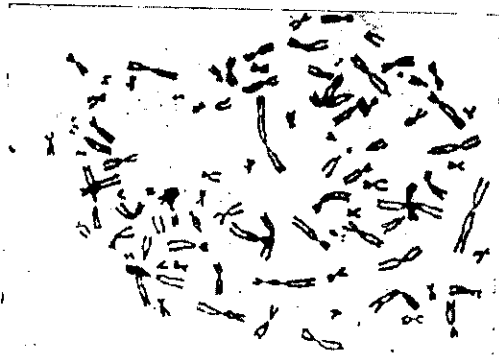
LES ANTIGÈNES DE GREFFE

L'antigénicité de greffe est commune à toutes les cellules nucléées de l'organisme ; l'identification biochimique de ces antigènes est donc une étape capitale dans les progrès de l'immunogénétique des greffes allogéniques. Le groupe a pu aborder ce problème à la fois chez la souris, à partir de cellules tumorales, et chez l'Homme, à partir de rates obtenues par exérèse chirurgicale pour diverses hémopathie. Chaque étape dans la purification de ces antigènes à partir du matériel antigénique est suivie par un test « in vitro », l'inhibition de l'hémagglutination, et par des tests « in vivo », dont le plus sensible est l'immunisation contre une greffe de moelle osseuse allogénique après irradiation totale. A pu être obtenu chez la souris, un enrichissement important en antigénicité puisque 20 de de la substance purifiée obtenue suffit pour inhiber 1 cm³ d'un sérum hémagglutinant au 1/1024. L'étude biochimique révèle que ces produits actifs sont constitués de lipoprotéines (38).

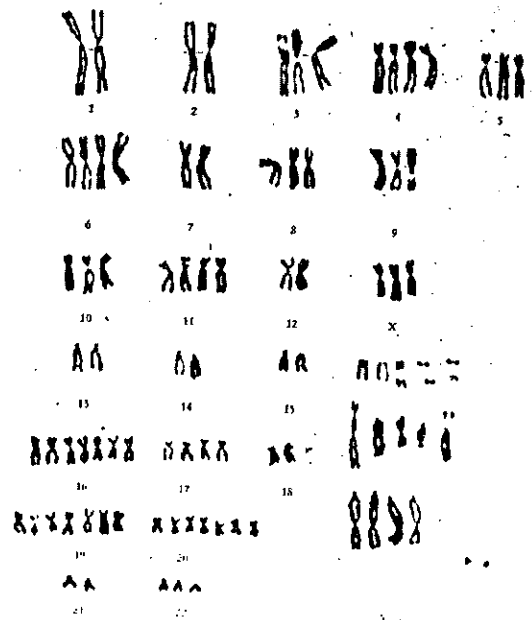
LES GREFFES DE TISSUS ET D'ORGANES ALLOGÉNIQUES

Le groupe poursuit, sur des souris, diverses expériences sur la tolérance des tissus incompatibles, singulièrement de peau, et, en particulier, sur la tolérance induite par les antimétabolites. Il a observé que certains agents chimiques tels que les antimétabolites sont efficaces surtout s'ils sont donnés avant le stimulus antigénique alors que la cyclophosphamide, les méthyl-hydrazines, le sont surtout lorsqu'ils sont donnés après (39, 45, 55).

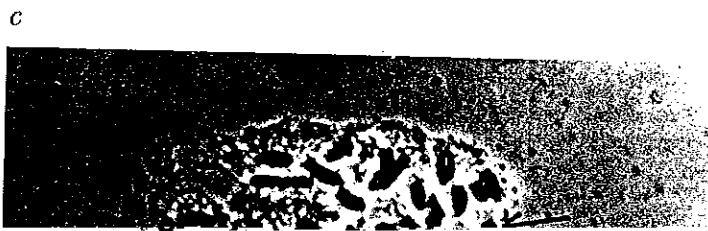
Une collaboration s'est établie entre le groupe et l'équipe de transplantation rénale de l'Hôpital Foch, dirigée par R. Küss et M. Legrain, qui a conduit des essais de transplantation de reins chez l'Homme, après conditionnement par irradiation totale à dose sublétales ou par traitement par



a



b



c

des antimétaboliques chimiques. Certains transplants ont survécu jusqu'à dix-sept mois (15, 18, 29).

Mais c'est dans la tolérance spécifique liée au chimérisme hématopoïétique qu'est envisagé l'avenir des transplantations allogéniques d'organes (24, 25, 52, 56). Le patient porteur pendant vingt mois, d'une greffe de moelle osseuse de son frère, a toléré parfaitement un greffon de peau de celui-ci. Il est donc raisonnable d'espérer que cette tolérance spécifique liée au chimérisme hématopoïétique pourra apporter une solution aux transplantations allogéniques d'organes dès que l'on sera en mesure de contrôler le syndrome secondaire (32, 51).

L'IRRADIATION TOTALE

Divers membres du groupe, ayant participé au traitement des Yougomanifestations cliniques et hématologiques observées : ils ont pu estimer leucémiques à très fortes doses en vue de les traiter par greffe de moelle osseuse, collaboré, enfin, à des essais de transplantation de rein chez des patients irradiés « in toto », a pu acquérir une large expérience des conséquences de l'irradiation totale chez l'Homme, d'autant plus fructueuse qu'elle s'ajoute à une pratique étendue des techniques de la réanimation hématologique. Ils ont pu préciser les corrélations entre la dose et les manifestations clinique et hématologiques observées : ils ont pu estimer la LD 50 chez l'Homme à 400 rads ; ils ont pu préciser les effets hématologiques de l'irradiation totale chez l'Homme selon la dose (9, 35, 37, 41, 42, 49).

Une connaissance précise de ces désordres et des relations entre la dose d'irradiation, d'une part, leur expression et leur évolution, d'autre part, a permis de mettre au point les moyens d'un traitement symptomatique efficace (maintien des sujets dans des conditions d'asepsie auxquelles répondent en particulier les installations du département des recherches cliniques du centre, maniement rationnel des antibiotiques, transfusions de leucocytes pour prévenir ou contrôler les infections, acide epsilon-amino-caproïque, stéroïdes, transfusions de plaquettes pour prévenir et contrôler la tendance hémorragique), et de préciser les indications respectives de ces moyens et de la greffe de moelle osseuse (58).

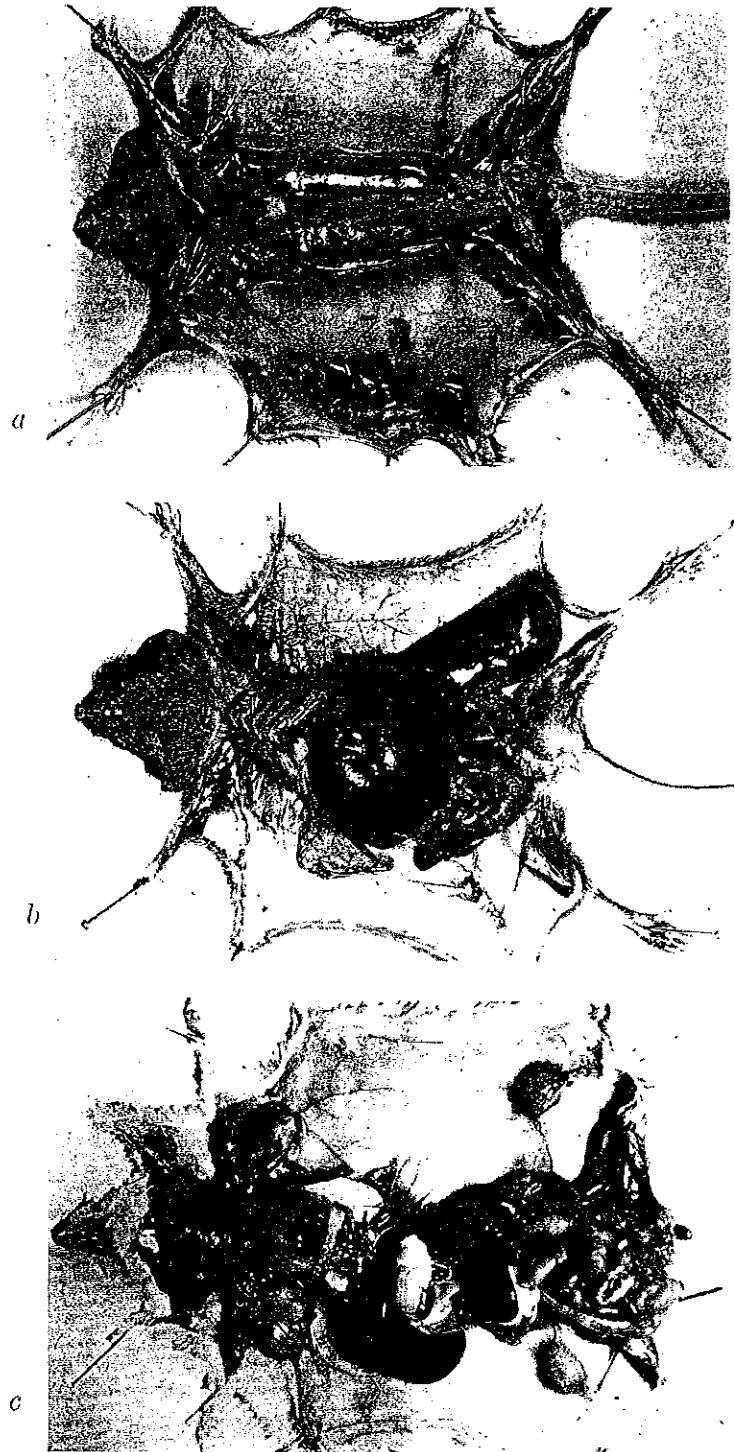


FIGURE 5. Aspect macroscopique des lésions ganglionnaires et spléniques données par trois leucémies couramment utilisées pour les études immunogénétiques et chimiothérapiques : (a) leucémie greffée L1210 ; (b) leucémie virale de Charlotte Friend ; (c) leucémie spontanée Ak.

**ANTIMITOTIQUES ET LEURS APPLICATIONS
A LA CHIMIOTHÉRAPIE DES CANCERS
ET AU CONDITIONNEMENT
POUR LES GREFFES INCOMPATIBLES**

Georges Mathé et Jean-Louis Amiel appartiennent au Groupe Européen de Chimiothérapie Anticancéreuse. Dans le cadre de ce groupe, ils réalisent le « screening » de produits et étudient en particulier leur efficacité sur les leucémies greffées d'une part, sur l'inhibition des réactions immunitaires d'autre part (27, 34, 39).

Les membres du groupe ont pu étudier enfin l'effet thérapeutique de plusieurs produits : la vincaléucoblastine, la leurocristine, la leurosine, la méthyl-glyoxal-bis (guanyl-hydrazone), le dibromomannitol, le chlorhydrate de 1-méthyl-2-p (isopropylcarbamoyl) benzyl-hydrazine et le bromhydrate de 1-méthyl-2-p-allophanoyl-benzyl-hydrazine, et la verrucarine (26, 31, 33, 48, 53, 54).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'originalité essentielle du Centre de Cancérologie et d'Immunogénétique est de rassembler des chercheurs de formation théorique et technique aussi variée que possible pour l'étude d'un sujet unique : la greffe de cellules hématopoïétiques allogéniques et ses applications, en particulier au traitement des leucémies. Ce Centre est pratiquement le seul au monde à pouvoir coordonner dans ce domaine les recherches expérimentales et leurs applications cliniques sous une même direction. Les chercheurs rassemblés dans cette équipe ont déjà montré, par leurs réalisations, l'efficacité que confère l'acceptation d'une telle discipline de pensée dans la poursuite d'une action concertée ; la confiance qui lui a été accordée par l'Association Claude-Bernard confirme le bien-fondé de leur choix ; elle leur est l'assurance de l'intérêt de leur sujet et de la valeur de leurs réalisations.

- 14 MATHÉ G., BERNARD J., DE VRIES M.-J., SCHWARZENBERG L., LARRIEU M.-J., LALANNE C., DUTREIX A., AMIEL J.-L. et SURMONT J. Nouveaux essais de greffe de moelle osseuse homologue après irradiation totale chez des enfants atteints de leucémie aiguë en rémission. Le problème du syndrome secondaire chez l'Homme. *Rev. Hématol.*, 15, 1960, 115.
- 15 KUSS R., LEGRAIN M., MATHÉ G., NEDEY R., TUBIANA M., LALANNE C., CAMEY M., LARRIEU M.-J., SCHWARZENBERG L., VOURCH C., DÉSARMÉNIEN J., MAISONNET M. et ATTALAH F. Prémices d'une homotransplantation rénale entre sœur-frère non jumeaux. *Presse méd.*, 68, 1960, 756.

1961

- 16 AMIEL J.-L., MATHÉ G. et PAYS M. Etude quantitative des gammaglobulines sériques de souris irradiées et restaurées par des cellules hématopoïétiques isologues ou homologues. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 6, 1961, 453.
- 17 BINET J.-L. et MATHÉ G. Etude en microscopie électronique des « cellules immunologiquement compétentes » au cours des réactions de greffe. *C.r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 253, 1961, 1852.
- 18 KUSS R., LEGRAIN M., MATHÉ G., NEDEY R. et DÉSARMÉNIEN J. Deux homotransplantations rénales chez l'Homme. Etude des accidents évolutifs du transplant. 1^{er} Congrès Intern. Néphrologie, Evian 1960, p. 507 in C.R. 1^{er} Congrès Intern. Néphrologie, 1 vol., Bâle, Karger, 1961.
- 19 MATHÉ G. et AMIEL J.-L. Etude sur le tissu lymphoïde des radio-chimères hématopoïétiques. 9, 1961, 894.
- 20 MATHÉ G., AMIEL J.-L. et DAGUET G. Etude des agglutinines sériques contre un antigène bactérien chez des radiochimères hématologiques immunisées contre l'antigène avant irradiation. *Nouv. Revue fr. Hémat.*, 1, 1961, 650.
- 21 RODRIGUEZ A., AMIEL J.-L., MATHÉ G. et BERNARD J. Etude hématologique du sang périphérique de radiochimères allogéniques et radiochimères isogéniques. *Nouv. Revue fr. Hémat.*, 1, 1961, 219.
- 22 MATHÉ G. Secondary syndrome : a stumbling block in the treatment of leukaemia by whole body irradiation and transfusion of allogenic hematopoietic cells, p. 191 in : Diagnosis and treatment of acute radiation injury, 1 vol., Genève, O.M.S., 1961.

1962

- 23 AMIEL J.-L., TENENBAUM R., MERY A.-M., MATSUKURA M. et MATHÉ G. Protection des animaux irradiés par la moelle osseuse allogénique selon le nombre de cellules. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 7, 1962, 970.
- 24 MATHÉ G., AMIEL J.-L. La greffe, aspects cliniques et biologiques. *Masson, Paris*, 1962.
- 25 MATHÉ G., AMIEL J.-L. et NIEMETZ J. Greffe de moelle osseuse après irradiation totale chez des souris leucémiques, suivie de l'administration d'un antimétabolite pour réduire la fréquence du syndrome secondaire et ajouter à l'effet antileucémique. *C.r. Acad. Sci.*, 254, 1962, 3603.
- 26 MATHÉ G., SCHWEISGUTH O., BRULÉ G., AMIEL J.-L., CATTAN A., THOMAS M. et ZAMET P. Essai de traitement de la maladie de Hodgkin et d'autres affections réticulo-histocytaires malignes par la vincalécoblastine. *Presse méd.*, 70, 1962, 1349.
- 27 MATHÉ G. Nomenclature et classification des leucémies et autres affections néoplasiques malignes des cellules hématopoïétiques. *Bull. O.M.S.*, 26, 1962, 585.

1963

- 28 AMIEL J.-L. et MATHÉ G. A comparison of the sensitivity to storage at 37° C in tyrode solution of immunologically competent cells and of myeloid cells. *Nature, Lond.*, 200, 1963, 1224.

- 48 MATHÉ G., AMIEL J.-L., SCHNEIDER M., CATTAN A., SCHWARZENBERG L. et SCHLUMBERGER J.-R. Leurosine in the treatment of acute leukaemia lymphoblastic, lymphoblastosarcome and Hodgkin's disease. *Cancer*, 1964, en préparation.
- 49 MATHÉ G., AMIEL J.-L. et SCHWARZENBERG L. Treatment of total body irradiation in man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 114, 1964, 368.
- 50 MATHÉ G., AMIEL J.-L., SCHWARZENBERG L., CATTAN A. et SCHNEIDER M. Attempt at application of adoptive immunity in the treatment of acute leukaemia. Conf. on Acute leukaemia, Warrenton, 1964, *Cancer Res.*, 1964, sous presse.
- 51 MATHÉ G., AMIEL J.-L., SCHWARZENBERG L., CATTAN A., SCHNEIDER M., DE VRIES M.-J., TUBIANA M., LALANNE CL., BINET J.-L., PAPEIRNIK M., SEMAN G., MATSUKURA M., MÉRY A.-M., SCHWARZMANN V. et FLAISLER A. Hematopoïetic chimerism following allogenic bone marrow transplantation in man. *Blood*, 1964, sous presse.
- 52 MATHÉ G., DAUSSET J., HERVET E., AMIEL J.-L., COLOMBANI J. et BRULÉ G. Immunological studies in patients with placental choriocarcinoma. *J. Nat. Cancer Inst.*, 33, 1964, 193.
- 53 MATHÉ G., SCHNEIDER M., CATTAN A., AMIEL J.-L., SCHWARZENBERG L. et SCHLUMBERGER J.-R. Essai de traitement par le Bromhydrate de 1-méthyl-2-p-allophényl-benzylhydrazine, de la maladie de Hodgkin et de divers hématosarcomes. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 9, 1964.
- 54 MATHÉ G., SCHNEIDER M., CATTAN A., SCHWARZENBERG L. et AMIEL J.-L. Essai de traitement de la leucémie myéloïde chronique par le dibromomannitol. *Presse Méd.*, 37, 1964, 2135.
- 55 MÉRY A.-M., AMIEL J.-L., DAGUET G., SÉKIGUCHI M., BRÉZIN C., FLORENTIN I., GARATTINI S. et MATHÉ G. Dépression des réactions immunitaires par une télephtalanilide. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 1964, sous presse.

1965

- 56 BRÉZIN C., MATSUKURA M., MÉRY A.-M., PAPIERNIK M., SÉKIGUCHI M. et SORIEUL S. Le choix du donneur, in Colloque sur la greffe de cellules hématopoïétiques allogéniques, 1 vol., Paris, C.N.R.S., 1965, sous presse.
- 57 JOLLÈS P., STERNBERG M. et MATHÉ G. A study of lysozyme content of the serum of patients with leukaemia and haematosarcomas. *Israel méd. J.*, 1965, sous presse.
- 58 MATHÉ G., AMIEL J.-L. et SCHWARZENBERG L. L'aplasie myélo-lymphoïde de l'irradiation totale. Expression, applications, traitement. Paris, Gauthier-Villars, 1965.
- 59 MATHÉ G., SCHWARZENBERG L., DE VRIES M.-J., AMIEL J.-L., CATTAN A., SCHNEIDER M., BINET J.-L., TUBIANA M., LALANNE CL., NORDMANN R. et SCHWARZMANN V. Les divers aspects du syndrome secondaire compliquant les transfusions de moelle osseuse ou de leucocytes allogéniques chez des sujets atteints d'hémopathies malignes. *Rev. Europ. Cancer*, 1965, sous presse.
- 60 MATHÉ G., SÉMAN G., TENENBAUM R. et CHOUQUET C. Les divers aspects des cellules intervenant dans la production des anticorps. *Israel. méd. J.*, 1965, sous presse.