

INDUCTION DE L'IFN- γ SUR CULTURE DE CELLULES PÉRIPHÉRIQUES MONONUCLÉES CIRCULANTES DE PATIENTS ATTEINTS D'HYDATIDOSE SOUS L'INFLUENCE DE L'ANTIGÈNE-5. PURIFICATION DE L'ANTIGÈNE-5.

Reçu le 15/02/2000 - Accepté le 18/09/2000

Résumé

L'interféron gamma est produit sur des cultures de cellules mononuclées circulantes stimulées par un antigène parasitaire isolé d'un liquide hydatique hépatique (Antigène-5). L'Antigène-5 est purifié sur SEPHADEX G-200 et identifié comme l'antigène majeur. Notre étude décrit les conditions optimales de production. Le niveau maximal d'interféron est atteint pour une concentration antigénique allant de 2 à 20 $\mu\text{g/ml}$ d'Antigène-5. Les titres obtenus sont de 64 U/ml. Le surnageant est absorbé sur acide silicique, l'activité antivirale est éluee par un tampon de haute force ionique contenant de l'éthylène glycol et soumis à une chromatographie d'affinité: BLEU SEPHAROSE- CL-6B. Ce traitement permet une production d'interféron répondant à une activité spécifique de 561,79 U/mg. Nos résultats montrent l'éventuelle implication de cette cytokine dans la défense immunitaire au cours de cette parasitose.

Mots clés: Hydatidose, Echinococcose, Cytokines, Interféron, Antigène-5.

Abstract

Gamma interferon (IFN- γ) is produced in human PBMC cultures stimulated by parasitic antigen isolated from hepatic hydatid cyst fluid (Antigen-5). The antigen is purified on SEPHADEX G-200 and identified like major antigenic fraction. Our study shows that optimal IFN level is reached for concentration in the range of 2-20 $\mu\text{g/ml}$ of Antigen-5. Titers were in the range of 64 U/ml. Crude gamma interferon was absorbed in silicic acid, from which the antiviral activity was eluted by buffer containing a high salt concentration, ethylene glycol and was further purified by affinity chromatography: BLEU SEPHAROSE CL-6B. This treatment allowed quantitative recovery of IFN- γ with specific activity of 561.79 U/mg. Taken together these results suggest that Interferon gamma contribute to the host defence mechanism against the extracellular parasite.

Keys words: Hydatidosis, Echinococcosis, Cytokines, Interferon, Antigen-5.

Abbreviations: IFN: Interferon, PBMC: Peripheral blood mononuclear cells; IL-6: Interleukine-6; TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α .

C. TOUIL-BOUKOFFA

D. MÉZIOUG

S. AIT AISSA

N. CHABANE

Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Groupe Cytokines et NO Synthase

Faculté des Sciences Biologiques USTHB, Alger, Algérie

J. WIETZERBIN

Unité de Recherche

sur les Interférons et Cytokines

U.365, Institut Curie, Paris, France

ملخص

ينتج الأنترفرون قاما [L'interferon- γ] في أوساط خلوية بشرية أحادية النواة، منتقلة، منبهة بواسطة مولد الضد-5 المعزول من سائل الكيس المائي و المأخوذ من مرضي مصابين بالكيس المائي الكبدي، مصفى على كروماتو غرافيا [sephadex G-200]، و معرف كمولد الضد الأكثر أهمية. أن دراستنا توصلت الشروط الأفضل لإنتاج الأنترفرون، حيث أتضح أن أعلى مستوى لإنتاج هذا البروتين يتطلب كمية من مولدات الضد -5 تتراوح ما بين 2 إلى 20 ميكرو غرام /ملل. المحلول الذي يعتبر مضاد حمي، يكثف على حامض [acide silicique] ونشاط مصفى بواسطة سائل ذو قوة أيونية عالية، يحتوس على الثيلين [L'éthylène glycol] و بعدها يخضع إلى كروماتو غرافيا ملائمة من نوع أزرقالسيفاروز [CL-6-Bleu SEPHAROSE]. هذه المعالجة تسمح بإنتاج أنترفرون يتجاوب لنشاط نوعي بوحدة 561.79 ميكرو/ملغ. أن نتائجنا تبين احتمال تدخل هذا البروتين [Cytokine] في المناعة ضد هذا المرض الطفيلي الذي سببه طفيلي يعرف باسم [Echinococcus Granulosus].

الكلمات المفتاحية: مرض الكيس المائي، إيكينوكوكوز، سيتوكين، أنترفرون، مولد الضد-5.

Les interférons constituent une famille de protéines induites par les cellules animales en réponse à une infection virale ou à d'autres inducteurs [1]. Parmi ces inducteurs, nous pouvons citer: les lectines la phytohaemagglutinine [2-3], la concanavaline-A [4], l'enterotoxine-A des staphylocoques [5], le sérum anti-lymphocytaire [6], les lipopolysaccharides [7]. De même, il est connu à l'heure actuelle que les parasites à multiplication intracellulaire sont capables d'induire la synthèse d'IFN, notamment dans le cas de la malaria [8], la trypanosomiase africaine [9], la maladie de Chagas [10]. Ce sont des cytokines à effet pléiotropique. En plus de leur activité antivirale, de nombreuses activités biologiques leur sont attribuées: un effet inhibiteur sur la multiplication cellulaire, en particulier sur des cellules tumorales [11], l'augmentation des antigènes d'histocompatibilité [12]. Parmi les propriétés physiologiques de l'interféron- γ , il faut signaler son rôle clé dans l'initiation et la modulation de la réponse immunitaire [13-14], l'activation du système Monocyte/Macrophages [15], la sélection isotypique des immunoglobulines et sa participation en interagissant avec d'autres cytokines à l'activation/prolifération et maturation des cellules B [16-17]. Par ailleurs, il est admis à l'heure actuelle que l'IFN- γ confère une résistance à des cellules humaines et murines infectées par divers parasites à multiplication intracellulaire. Parmi ces derniers, nous pouvons citer les parasites suivants: *Toxoplasma gondii* [18], *Leishmania donovani* [19], *Leishmania braziliensis braziliensis* [20] et *Trypanosoma cruzi* [21]. Les travaux de Falcoff [22] et de Murray [23, 24] suggèrent que l'IFN- γ ait sa

