



HAL
open science

Contribution à l'histoire de la recherche médicale : autour des travaux de Jean Bernard et de ses collaborateurs sur la leucémie aiguë, 1940-1970

Christelle Rigal

► To cite this version:

Christelle Rigal. Contribution à l'histoire de la recherche médicale : autour des travaux de Jean Bernard et de ses collaborateurs sur la leucémie aiguë, 1940-1970. Philosophie. Université Paris-Diderot - Paris VII, 2003. Français. NNT : . tel-00004194

HAL Id: tel-00004194

<https://theses.hal.science/tel-00004194v1>

Submitted on 16 Jan 2004

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE PARIS 7 – DENIS DIDEROT
UFR Géographie, Histoire et Sciences Sociales

DOCTORAT
Epistémologie, histoire des sciences et des techniques

Christelle RIGAL

*Contribution à l'histoire de la recherche médicale :
autour des travaux de Jean Bernard et de ses
collaborateurs sur la leucémie aiguë, 1940-1970*

Thèse dirigée par Anne-Marie MOULIN
Soutenue le 19 décembre 2003

JURY

Laurent DEGOS, Université Paris 7 - Hôpital Saint-Louis (président)
Jean-Paul GAUDILLIERE, CERMES (rapporteur)
Anne-Marie MOULIN, CNRS - CEDEJ
Jean-François PICARD, CNRS
Christiane SINDING, CERMES
Patrick TRIADOU, Université Paris 5 - Hôpital Necker (rapporteur)

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier tous les enseignants du DEA d'épistémologie et d'histoire des sciences et des techniques de l'Université Paris 7 qui ont stimulé mon intérêt pour cette discipline en m'en faisant découvrir l'étendue et la diversité.

Mon attrait pour l'histoire de l'hématologie trouve son origine dans ma formation initiale et dans la suggestion de Denise Ogilvie, alors conservatrice des Archives de l'Institut Pasteur, de me pencher sur les travaux scientifiques de Marcel Bessis. Les archives de ce dernier avaient été conservées par Georgette Delpech, qui m'en a expliqué l'organisation et le contenu, et étaient entreposées au Centre d'écologie cellulaire (Centre hospitalier de la Pitié-Salpêtrière, Paris) dont Jacques-Louis Binet m'a ouvert les portes. Claude Debru m'a fait part de ses connaissances dans le domaine. Anne-Marie Moulin a inspiré et dirigé mon mémoire.

La préparation de ma thèse a été grandement facilitée par l'obtention d'un poste de chargée de recherches documentaires. A ce titre, ma reconnaissance va à la Sous-direction des bibliothèques et de la documentation de la Direction de l'enseignement supérieur, à Jean Fournié qui m'a permis d'enseigner l'histoire des sciences et la biologie à l'UFR de biologie de l'Université Paris 7, ainsi qu'à Arlette Pailley-Katz, directrice de la bibliothèque de l'Université Paris 7, qui m'a tout d'abord donné la possibilité de travailler à la Bibliothèque de l'Institut universitaire d'hématologie et qui a ensuite accepté mon transfert aux Archives nationales pour le traitement des archives de cet institut. L'accès à ces documents, qui sont à la base de mon travail de recherche, a été possible grâce au soutien de Denise Ogilvie et à la bienveillance des directeurs successifs de l'institut, Jean Bernard, Michel Boiron et Laurent Degos, de Joëlle Claud, la directrice du Bureau de la coordination documentaire, et de Christine Pétilat, la directrice du Centre des archives contemporaines des Archives nationales.

Ma formation en histoire de la recherche médicale doit beaucoup aux séminaires organisés au Centre Koyré par Ilana Löwy, Jean-Paul Gaudillière et Christiane Sinding, ainsi qu'à mes discussions avec Jean-François Picard et Patrick Triadou.

M'ont fait bénéficier de leur connaissance de l'hématologie et de son histoire : Jean Bernard, Jacques-Louis Binet, Jacques Caen, Anne Combrison, Laurent Degos, Guillaume Dighiero, André Eyquem, Georges Flandrin, Georges Mathé, Yves Najean, Jean-Didier Rain, Maxime Seligmann, Joseph Tanzer et Robert Zittoun.

Une aide précieuse m'a été apportée par les bibliothécaires et archivistes de l'Université Paris 7, des Archives nationales, de la Bibliothèque interuniversitaire de médecine, de l'Académie de médecine, de l'Institut Pasteur, des Archives de l'Assistance publique des hôpitaux de Paris, de la Bibliothèque d'histoire de la médecine de l'Institut des Cordeliers et de la Médiathèque d'histoire des sciences de La Villette.

Mes remerciements s'adressent également aux nombreuses personnes que j'ai eu le plaisir de côtoyer à l'UFR de biologie de l'Université Paris 7, à l'Institut universitaire

d'hématologie, aux Archives nationales, ainsi qu'au sein de mon laboratoire, l'équipe REHSEIS (UMR 7596), avec une pensée particulière pour ses directeurs succesifs, Michel Paty et Karine Chemla.

Je remercie tout spécialement ma directrice de thèse, Anne-Marie Moulin, qui a su faire preuve de patience et m'encourager dans les périodes de doute.

Ma reconnaissance s'adresse enfin à ma famille, mes amis, ma belle-famille et surtout à mon compagnon pour leur soutien affectif, matériel et technique.

Table des matières

REMERCIEMENTS	2
TABLE DES MATIERES	4
INTRODUCTION.....	8
PROLOGUE. LA DESCRIPTION DE LA LEUCEMIE ET SA DEFINITION ACTUELLE.....	19
NAISSANCE D'UNE MALADIE.....	19
LA « LEUCEMIE » AVANT 1840	19
UN NOUVEAU CADRE CONCEPTUEL	21
LA LEUCEMIE COMME ENTITE AUTONOME	24
LA LEUCEMIE ET LA NAISSANCE DE L'HEMATOLOGIE.....	24
TERMINOLOGIE ET THEORIE	25
LA LEUCEMIE AIGUË AUJOURD'HUI	28
CHAPITRE 1. JEAN BERNARD ET LA LEUCEMIE : DE SA THESE A LA CREATION DE L'IRLMS (1936-1960).....	30
SA THESE SUR UNE LEUCEMIE EXPERIMENTALE CHIMIO-INDUITE.....	31
EN ATTENDANT L'UNITE DE LIEU	33
RECHERCHES SUR LA PATHOLOGIE DES LEUCEMIES AIGUËS	34
ETUDES CYTOLOGIQUES.....	35
ETUDES BIOCHIMIQUES	38
ETUDES ISOTOPIQUES.....	38
<i>La circulation des leucocytes dans l'organisme</i>	<i>38</i>
<i>L'anémie des leucémies</i>	<i>39</i>
<i>Le fonctionnement de la glande thyroïde.....</i>	<i>41</i>
ETUDES IMMUNOLOGIQUES.....	41
ETUDES DE FORMES CLINIQUES PARTICULIERES.....	44
<i>Leucoses des très jeunes enfants</i>	<i>44</i>
<i>Leucose dysarchique</i>	<i>44</i>
RECHERCHES SUR L'ETIOLOGIE DES LEUCEMIES	45
LEUCEMIES BENZENIQUES.....	45
LEUCEMIES NON TOXIQUES	46
ESSAIS DE TRAITEMENT	47
LA COLCHICINE.....	47
L'EXSANGUINO-TRANSFUSION	48
<i>Du lit d'hôpital au laboratoire.....</i>	<i>48</i>
<i>Les efforts d'identification de la substance active</i>	<i>55</i>
<i>Epilogue</i>	<i>58</i>
LES ANTAGONISTES DE L'ACIDE FOLIQUE.....	60
<i>Origine des antifoliques et de leur utilisation dans la leucémie aiguë.....</i>	<i>61</i>
<i>L'introduction des antifoliques en France.....</i>	<i>63</i>
<i>Vers la mise en place de protocoles chimiothérapeutiques</i>	<i>65</i>
TRAITEMENTS ENDOCRINES	69

<i>Origine de la cortisone</i>	70
<i>Données expérimentales</i>	71
<i>Données thérapeutiques</i>	71
<i>Recherches sur la conduite du traitement</i>	74
<i>Recherches sur le mécanisme d'action de ces hormones</i>	75
Hypothèses tirées des essais thérapeutiques.....	75
Etude de la glutathionémie.....	75
Etude des principaux métabolites et électrolytes.....	76
Etude des stéroïdes urinaires.....	77
Traitements régulateurs et traitements destructeurs.....	78
L'ASSOCIATION ANTIFOLIQUES-CORTISONE.....	79
LA 6-MERCAPTOPYRINE.....	82
LE COLLOQUE INTERNATIONAL DE CHIMIOThERAPIE DES CANCERS ET LEUCEMIES.....	86
LA GREFFE DE MOELLE OSSEUSE.....	92
<i>De la radioprotection à la greffe de moelle osseuse</i>	93
<i>Essais de traitement des leucémies animales</i>	96
<i>Essais de traitement de la leucémie humaine</i>	99
Les tentatives américaines.....	99
L'accident de Vinca.....	105
Les premiers essais en France.....	107
<i>Etude expérimentale de la maladie secondaire</i>	111
LA CREATION D'UN CENTRE DE RECHERCHES.....	116
CHAPITRE 2. RECHERCHES MENEES A L'IRLMS (1960-1970).....	119
TRAVAUX DU DEPARTEMENT D'HEMATOLOGIE EXPERIMENTALE.....	119
PREAMBULE : VIRUS, CANCER ET LEUCEMIE (1900-1960).....	119
<i>Une étiologie virale n'est envisageable que chez les oiseaux (1900-1950)</i>	119
<i>L'hypothèse virale gagne les mammifères (1950-1960)</i>	123
<i>La mise en évidence de virus leucémogènes murins par inoculation au nouveau-né</i>	123
<i>Les nouveaux outils d'étude des virus</i>	124
<i>L'influence de la lysogénie</i>	129
L'ETUDE DES LEUCEMIES VIRALES DES MAMMIFERES.....	131
<i>La mise au point d'un système de culture in vitro de virus leucémogène murin</i>	132
Le choix du virus de Rauscher.....	132
Des cultures <i>in vitro</i> réussies.....	134
...Mais un virus indétectable.....	136
Le choix d'un virus détectable : le virus du sarcome de Moloney.....	138
<i>Etude des propriétés des virus leucémogènes murins</i>	140
Purification des virions.....	141
Microscopie électronique et morphologie virale.....	142
Etude de l'ARN des virus leucémigènes.....	142
<i>Etude du cycle reproductif viral</i>	144
Les modèles de 1964.....	144
Les hybrides ARN-ADN.....	145
La consécration du provirus.....	148
La cinétique de la production virale et de la transformation cellulaire.....	150
<i>Préparation d'un vaccin contre le virus de Rauscher</i>	151
LA RECHERCHE D'UN VIRUS LEUCEMOGENE HUMAIN.....	152
<i>La détection d'éléments viraux ex vivo par microscopie électronique</i>	152
<i>L'inoculation d'extraits leucémiques humains à l'animal</i>	154
<i>La culture de cellules leucémiques humaines</i>	155
Essais d'induction par la phytohémagglutinine.....	157
Essais de démasquage par un virus murin.....	158
Essais de détection par coculture avec des cellules animales.....	159
TRAVAUX DES LABORATOIRES D'IMMUNOLOGIE.....	160
PRESENTATION DES EQUIPES.....	160
L'ETUDE DES LEUCEMIES EXPERIMENTALES.....	160
<i>Les antigènes des virions du groupe leucémies-sarcomes</i>	161
Les antigènes de l'enveloppe.....	161

Les antigènes de la nucléocapside.....	161
Les antigènes des virions dans l'étude du cycle viral.....	162
<i>Les antigènes de la membrane des cellules leucémiques.....</i>	<i>163</i>
Le système FMRCi.....	163
Les antigènes L et E' du virus latent de la souche L.....	165
<i>L'immunité anti-leucémique.....</i>	<i>166</i>
<i>L'action de l'infection virale sur le système immunitaire.....</i>	<i>168</i>
L'ETUDE DES LEUCEMIES HUMAINES.....	168
<i>Les antigènes des globules blancs des leucémiques.....</i>	<i>168</i>
Les antigènes d'histocompatibilité.....	168
Jean Dausset et le système HLA (1945-1962).....	168
HLA et leucémie aiguë.....	173
Localisation des antigènes sur la membrane plasmique.....	175
Des antigènes spécifiques des tumeurs et leucémies humaines ?.....	175
<i>L'état immunologique des patients atteints de leucémie aiguë.....</i>	<i>177</i>
<i>L'étude de l'immunité anti-leucémique.....</i>	<i>178</i>
Recherche d'anticorps anti-leucoblastiques circulants.....	179
Recherche de réactions immunologiques de type cellulaire.....	180
Stimulation de l'antigénicité des cellules leucémiques humaines.....	181
Intradermo-réactions avec des extraits de blastes ayant stimulé des lymphocytes.....	182
<i>Recherches immunologiques à visée étiologique.....</i>	<i>182</i>
Les virus des maladies infantiles et la leucémie.....	182
Le virus d'Epstein-Barr et la leucémie.....	183
TRAVAUX DES UNITES DE RECHERCHE CLINIQUE.....	185
RECHERCHES THERAPEUTIQUES.....	185
<i>Bilan des premières chimiothérapies (1961-1964).....</i>	<i>186</i>
Caractérisation de la rémission complète.....	186
Mécanisme de la rechute.....	187
Evaluation des traitements.....	188
Leucémies aiguës lymphoblastiques.....	188
Leucémies aiguës myéloblastiques.....	188
Complications neuro-méningées.....	188
Les leucoses au long cours.....	190
<i>Nouveaux agents chimiothérapeutiques (1963-1968).....</i>	<i>191</i>
La vincristine.....	191
Le méthylgag.....	195
La cytosine arabinoside.....	195
La rubidomycine.....	196
L'asparaginase.....	200
<i>Associations thérapeutiques incluant les nouveaux agents.....</i>	<i>201</i>
Dans les leucémies aiguës lymphoblastiques.....	201
Théories thérapeutiques.....	203
Dans les leucémies aiguës granuleuses.....	205
Survie et vie des leucémiques aigus en 1970.....	207
<i>Recherches sur les traitements symptomatiques.....</i>	<i>209</i>
Greffe de moelle osseuse.....	210
Transfusions de globules blancs.....	211
<i>Suivi psychologique des patients et du personnel soignant.....</i>	<i>212</i>
CLASSIFICATION ET PHYSIOPATHOLOGIE DES LEUCEMIES.....	216
<i>Cytologie, cytochimie et cytopathologie des cellules leucémiques.....</i>	<i>216</i>
Cytochimie des leucémies aiguës.....	217
Cytochimie des leucémies à cellules monocytoides.....	219
Cytologie et cytochimie des leucémies traitées par la rubidomycine.....	220
<i>Caractérisation de formes particulières de leucémie.....</i>	<i>220</i>
Les leucémies à promyélocytes.....	220
Les leucémies du nouveau-né.....	221
<i>Caractérisation de périodes de l'évolution leucémique.....</i>	<i>222</i>
Stades initiaux.....	222
La mort des leucémiques.....	222
RECHERCHES ETIOLOGIQUES ET EPIDEMIOLOGIQUES.....	222
<i>Cytogénétique.....</i>	<i>223</i>
<i>Epidémiologie.....</i>	<i>227</i>
Radiations.....	227

Benzène.....	227
Chromosomes	229
Contagion.....	229
Géographie.....	231
CHAPITRE 3. JEAN BERNARD ET SES COLLABORATEURS : TEMOINS ET ACTEURS DES TRANSFORMATIONS DE LA RECHERCHE MEDICALE FRANÇAISE	233
POUR UNE MEDECINE SCIENTIFIQUE.....	233
LA MOLECULARISATION DES TRAVAUX	238
LES OUTILS DE LA MOLECULARISATION	238
L'IMBRICATION DES RECHERCHES BIOLOGIQUES ET MEDICALES.....	239
LA NAISSANCE DE LA BIOETHIQUE	244
LA STANDARDISATION DES PRATIQUES	247
LE MATERIEL BIOLOGIQUE	247
L'EMPLOI DES STATISTIQUES	252
LES ESSAIS CLINIQUES CONTROLES	254
LE DEVELOPPEMENT DES LIENS AVEC L'INDUSTRIE	257
LE RENFORCEMENT DE LA COOPERATION.....	259
L'AUGMENTATION DES FINANCEMENTS, DANS UN NOUVEAU CADRE INSTITUTIONNEL.....	262
L'ASSOCIATION CLAUDE BERNARD	264
LE COMITE « CANCER ET LEUCEMIE » DE LA DGRST	265
LA REFORME HOSPITALO-UNIVERSITAIRE	270
L'INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE	272
LES FINANCEMENTS DU CRLMS ET DE L'IRLMS.....	281
CONCLUSION	284
BIBLIOGRAPHIE.....	290
ANNEXES	320

Introduction

L'histoire des sciences et celle de la médecine ont connu, au cours du 20^{ième} siècle, d'importantes transformations. L'histoire de la médecine fut longtemps le domaine réservé des médecins : alors que l'histoire ne devint une discipline de l'enseignement secondaire qu'en 1818, une chaire d'histoire de la médecine fut créée à la Faculté de médecine de Paris dès 1795¹. Elle fut supprimée en 1822 mais réapparut en 1870. L'opinion des médecins était partagée à l'égard de l'utilité de cette discipline. Certains lui trouvaient une valeur heuristique, d'autres y voyaient un simple passe-temps². Quoi qu'il en fût, elle se trouva souvent réduite, comme l'histoire des sciences, à une succession de découvertes et de précurseurs jalonnant la marche sans fin du progrès médical et inscrivant ses auteurs dans une glorieuse tradition³.

La science est encore souvent décrite comme une activité de révélation de la Nature, essentiellement intellectuelle, réalisée par des universitaires oeuvrant dans le seul but de faire progresser les connaissances, sans contrôle étatique, sans lien avec le commerce et l'industrie mais dont les découvertes sont utilisées par d'autres domaines de la société et contribuent, par leurs applications techniques, à l'amélioration des conditions de vie. La science continue aussi à être présentée comme productrice de connaissances qui n'ont pas à être remises en question parce qu'elles sont basées sur l'observation et l'expérience ; il suffit pour s'en convaincre de porter attention à l'argumentation publicitaire. Pourtant, de nombreux intellectuels – personnes, qui selon Jean-Paul Sartre, se mêlent de ce qui ne les regardent pas – ont mis en doute ces conceptions de la science qui trouvent leur origine au 17^{ième} siècle dans les écrits de Francis Bacon.

Dans les années 1930, Karl Popper (1902-1994) décrivit la progression de la connaissance scientifique comme non linéaire, comme une succession d'essais et d'erreurs, de conjectures et de réfutations, dans laquelle on ne peut jamais dire d'une théorie qu'elle est vraie mais qu'elle est la meilleure disponible à un moment donné⁴. Le médecin et bactériologiste polonais Ludwik Fleck (1896-1961) écrivit une histoire de la réaction de Wassermann pour la syphilis dans laquelle il attira l'attention sur l'existence de cultures ou manières de faire et de penser locales, spécifiques d'un groupe, ainsi que sur les aspects sociaux de la biologie et de la médecine. Il concevait la création scientifique et la création artistique comme des ensembles de contraintes et de liberté, la principale différence entre les

¹ Wohnlich-Despaigne I., *Les historiens français de la médecine au XIXe siècle et leur bibliographie*, Vrin, Paris, 1987.

² Lellouch A., *La chaire française d'histoire de la médecine : cent ans d'histoire (1795-1898)*, Hist. Sci. Méd., 25 (4) : 251, 1991.

³ Poirier J., Salaün F., *Médecin ou malade ? La médecine en France au XIXe et XXe siècles*, Masson, Paris, 2001.

⁴ Popper K., *Logik der Forschung*, Springer Verlag, Vienna, 1935, trad. anglaise, *The logic of scientific discovery*, Hutchinson, London, 1959.

deux résidant dans le plus grand nombre de contraintes matérielles et intellectuelles du domaine scientifique¹. Gaston Bachelard (1884-1962) critiqua également la vision positiviste de la science, à la progression cumulative, jalonnée d'instruments et productrice d'une histoire anachronique. Il privilégia les ruptures, montrant qu'à chaque moment de l'Histoire, on en sait moins par certains aspects et plus par d'autres que dans le cadre des théories antérieures². Durant cette période, certains historiens de la médecine, comme Henry Sigerist (1891-1957), concevaient leur discipline comme une partie de la médecine ; d'autres, comme Charles Singer (1876-1960) ou George Sarton (1884-1956), le fondateur de la revue *Isis*, la percevaient comme une branche de l'histoire des sciences. Selon Henry Sigerist, la « science » était un aspect important de l'histoire médicale mais au même titre que l'économie, la religion, la sociologie et la politique³.

Dans les années 1960, l'histoire des aspects sociaux de la médecine l'emporta sur l'étude des concepts et des techniques médicales⁴. Le philosophe et médecin Georges Canguilhem (1904-1995) accorda beaucoup d'importance au contexte historique et aux pratiques, dont il montra qu'elles pouvaient renouveler les concepts. Cet épistémologue se pencha sur la distinction entre le normal et le pathologique, laquelle paraît souvent évidente pour le profane. Or, la norme est une notion ambiguë, à la fois constat - valeur moyenne - et jugement de valeur, qui s'inscrit dans les institutions. Michel Foucault (1926-1984) chercha lui aussi à savoir d'où la norme tient sa légitimité en s'appuyant sur l'Histoire. Georges Canguilhem critiqua la conception quantitative de la maladie de Claude Bernard, pour qui la maladie était un état physiologique diminué ou exagéré, alors qu'auparavant les maladies existaient par elles-mêmes et entraient dans le corps (« conception ontologique du mal »). La conception quantitative ouvre des perspectives thérapeutiques mais fait disparaître le vécu du malade, sa propre définition de la maladie, laquelle est pourtant à l'origine de toute démarche médicale. Le pathologique n'est jamais totalement mesurable parce qu'en partie subjectif ; c'est en premier lieu le malade qui dit qu'il est malade. De plus, des constantes physiologiques éloignées de la norme statistique ne sont pas systématiquement perçues comme des maladies ; elles peuvent apparaître comme des aptitudes ou des adaptations exceptionnelles. Les périodes de changement sont propices à la caractérisation des normes sociales, qui sont l'expression d'exigences collectives. Le fonctionnement de tout groupe social est régi par un système cohérent et coordonné de normes ; la modification de l'une d'entre-elles provoque une remise en cause des autres. Michel Foucault appela « archéologie du savoir » la mise à jour des règles silencieuses qui gouvernent une époque⁵.

La neutralité de l'observation scientifique fut ébranlée par Norwood Hanson, qui montra que l'observation et la description de phénomènes naturels dépendaient de la formation, de l'environnement culturel, des expériences personnelles, des théories admises et des hypothèses de l'observateur⁶. Thomas Kuhn (1922-1996) mit en évidence l'existence de règles implicites qui déterminent, pour un groupe de chercheurs et à un moment donné, ce qui est digne d'étude et la façon de mener cette étude. Il nomma « paradigme » l'ensemble des

¹ Fleck L., *Entstehung und Entwicklung einer wissenschaftlichen Tatsache: Einfuehrung in die Lehre vom Denkstil und Denkkollektiv about the genesis of a scientific fact*, Benno Schwabe Co., Basel, 1935, trad. anglaise *Genesis and Development of a Scientific Fact*, University of Chicago Press, Chicago, 1979.

² Bachelard G., *La formation de l'esprit scientifique : contribution à la psychanalyse de la connaissance objective*, Vrin, Paris, 1934.

³ Webster C., « The historiography of medicine », in Corsi P., Weindling P., eds., *Information sources in the history of science and medicine*, Butterworth & co, 1983, p. 29-43.

⁴ Warner J., *Science in medicine*, Osiris, 2nd series, 1 : 37-58, 1985.

⁵ Canguilhem G., *Le normal et le pathologique*, PUF, Paris, 1966. Foucault M., *Naissance de la clinique*, PUF, Paris, 1963.

⁶ Hanson N., *Patterns of discovery : an inquiry into the conceptual foundations of science*, Cambridge University Press, Cambridge, 1958.

hypothèses, des lois et des techniques qu'utilise une communauté scientifique donnée. Il assimila les changements de paradigmes à des révolutions ou des conversions religieuses, les paradigmes successifs correspondant à des visions du monde si différentes qu'il n'est pas logiquement possible d'affirmer la supériorité de l'un d'entre eux¹.

Cependant, l'histoire des sciences et de la médecine, désormais éloignée de l'hagiographie, resta principalement conceptuelle jusque dans les années 1970 où elle devint « sociale » en ce sens qu'elle associa à l'histoire des théories, celle des aspects matériels, techniques, idéologiques, culturels, professionnels, économiques et politiques de l'activité scientifique². A partir de cette période, le savoir scientifique fut beaucoup plus largement étudié comme une création humaine, faite avec le matériel et les ressources disponibles, plutôt que la simple révélation d'un ordre naturel préexistant et indépendant des actions humaines. Cette approche fut défendue par de jeunes sociologues, anthropologues, philosophes et historiens, pour la plupart britanniques³. Les « analyses de controverses », dans le cadre du programme fort de la sociologie de la connaissance, visèrent à déterminer l'influence des circonstances sociales sur l'évolution des connaissances, à expliquer l'émergence des idées scientifiques nouvelles sans parti pris pour les chercheurs, les théories et les pratiques qui ont résisté à l'épreuve du temps, considérant qu'une théorie ne peut être jugée bonne ou mauvaise qu'à la lumière des résultats ultérieurs⁴. Les théories et les pratiques furent rapportées à leur contexte social, économique et politique ; les influences réciproques furent analysées en terme d'intérêt, au sens large et sans connotation péjorative. Une approche plus sociologique, initiée par Harry Collins, chercha à rendre compte de « la science telle qu'elle se fait » à partir d'interviews et de l'observation des pratiques au sein du laboratoire. La construction quotidienne des faits scientifiques fut étudiée avec un intérêt particulier pour les gestes et les savoirs tacites. Cette microsociologie des sciences réaffirma le caractère local, contextuel et hétérogène des pratiques scientifiques avant leur stabilisation, leur universalisation⁵. Le laboratoire de recherche fut présenté comme un système d'inscription littéraire dont le but est de convaincre qu'un énoncé est un fait. Certaines de ces études ethnographiques ne s'intéressèrent même pas aux connaissances produites⁶. La science perdit ainsi son caractère purement intellectuel, la frontière entre sciences fondamentales et appliquées s'estompa. Science, découverte, preuve, argument, expérience, fait, spécialiste, laboratoire, instrument, image, reproductibilité, loi, etc. s'analysent désormais dans leur situation historique.

De nombreux travaux ont depuis confirmé et enrichi ces résultats. Ils ont permis de définir, d'une part, des processus généraux du fonctionnement de la science et de la médecine, d'autre part, de grandes tendances de leur évolution, propres à une période.

Les conclusions et hypothèses relatives à la production des connaissances scientifiques et médicales sont actuellement les suivantes. Les sites d'élaboration de la connaissance ne se limitent pas aux laboratoires universitaires mais comprennent aussi l'industrie, l'hôpital, l'agriculture, etc. La production scientifique a d'abord un caractère local ; l'argumentation est propre à chaque équipe, les résultats ne sont jamais parfaitement comparables ni reproductibles par d'autres. Les communautés de chercheurs sont donc caractérisées par un

¹ Kuhn T., *The structure of scientific revolutions*, University of Chicago Press, Chicago, 1962.

² Warner J., *Science in medicine*, Osiris, 2nd series, 1 : 37-58, 1985.

³ Golinsky J., *Making natural knowledge, Constructivism and the history of science*, Cambridge University Press, Cambridge, 1998.

⁴ Barnes B., *Scientific knowledge and social theory*, Routledge and Kegan Paul, Henley-on-Thames, 1974. Bloor D., *Knowledge and social imagery*, Routledge and Kegan Paul, Henley-on-Thames, 1976.

⁵ Collins H., Pinch T., *Frames of Meaning: The social construction of extraordinary science*, Routledge and Kegan Paul, Henley-on-Thames, 1982.

⁶ Latour B., Woolgar S., *Laboratory life: the social construction of scientific facts*, Sage, Los Angeles and London, 1979.

« style de recherche », englobant les phénomènes dignes d'étude, les façons d'observer, de manipuler, d'évaluer, de transmettre, dont l'originalité se situe dans la combinaison singulière de caractéristiques partagées avec divers autres groupes, avec lesquels ils forment des « réseaux ». Ces caractéristiques dépendent de divers facteurs : les instruments, la discipline, le lieu, les méthodes de collecte des données, la formation et l'histoire personnelle des acteurs, les coûts, etc. Les instruments ne sont pas de simples outils ; ils participent à la construction des notions scientifiques bâties sur les objets de leur analyse, comme les macromolécules. Le passage du local au général se fait par des processus de diffusion des résultats, des procédures, du matériel ; le transfert de savoir-faire nécessite souvent le déplacement des personnes. Des modifications, des réarrangements se produisent en cours de déplacement géographique ou disciplinaire, en fonction des lieux et des dates de passage.

Le déroulement logique du savoir médical, qui comprend successivement la classification de la maladie, l'identification de la lésion, celle de la ou des causes, la compréhension des mécanismes par lesquels la cause conduit à la lésion et, en dernier lieu, le traitement, ne correspond que très rarement à l'ordre suivi par les processus historiques. Les maladies sont perçues comme des groupes arbitraires, des conventions ou types idéaux facilitant la prise en charge de malades tous différents et permettant la transmission du savoir. La définition de la maladie n'est jamais définitive, même lorsque sa cause est connue et qu'un traitement efficace est disponible. La définition de nouvelles entités médicales ne dépend pas uniquement des apports scientifiques et techniques ; les réponses aux traitements, autrement dit l'individualité biologique interviennent aussi. De plus, à un moment donné, coexistent toujours plusieurs niveaux de définition d'une même maladie. Les points de vue du médecin, du patient, du biologiste sont difficilement comparables ; ils ont chacun une cohérence propre. Les diverses définitions d'une pathologie influent sur son vécu. Par ailleurs, les problèmes médicaux ne sont pas indépendants de toute influence sociétale. Les changements dans les représentations d'une maladie et les politiques de lutte contre celle-ci sont liés. Il existe des points de rencontre entre les différentes représentations de la maladie, des « objets frontières » créant un espace d'échanges. Il peut s'agir d'un test, d'un concept, d'un instrument, etc. Ces éléments sont autant de continuités contrastant avec les discontinuités fondamentales (objectifs, formation, institutions) qui séparent la médecine de la biologie, la connaissance du soin. Voir la médecine comme une science biologique appliquée est un présupposé idéologique, de même que la percevoir comme un art.

Quant à l'innovation thérapeutique, la définition de l'amélioration ou de la guérison est délicate, surtout pour les maladies chroniques. La validation d'une thérapeutique nouvelle peut s'appuyer sur l'expérimentation animale, sur des arguments théoriques ou sur des arguments cliniques statistiques, la ligne directrice étant dans tous les cas le soulagement des patients. Un traitement efficace est rarement inoffensif. Une contribution est rétrospectivement perçue comme empirique ou conceptuelle en fonction du contexte intellectuel dans lequel elle est intégrée plus tard. La généralisation de l'implantation de nouveaux traitements dépend de facteurs économiques, des compétences techniques et des traditions locales. Les innovations médicales ne s'imposent pas d'elles-mêmes, passant au travers des incompétences supposées de certains médecins et institutions ; il y a toujours concurrence avec les méthodes thérapeutiques préexistantes. Les innovations médicales changent l'organisation de la médecine en sous-disciplines ; ce faisant, elles rencontrent des résistances, chaque spécialiste cherchant, au moins dans un premier temps, à préserver l'autonomie de son domaine. Le transfert d'un appareil ou d'une technique du laboratoire vers l'hôpital modifie les savoirs, les pratiques et parfois les spécialités médicales ainsi que les activités voire les conceptions du laboratoire d'origine. Par exemple, l'introduction en médecine de l'appareil à rayons X nécessita des adaptations à la fois des industriels et des

médecins, modifia le diagnostic de certaines pathologies et donna naissance à une nouvelle spécialité médicale, la radiologie¹.

Les recherches sur la médecine du 20^{ième} siècle ont mis l'accent sur l'analyse des caractéristiques propres à cette période², que sont la biologisation³ et la technologisation de la médecine⁴, une généralisation des travaux à l'échelle moléculaire⁵, une standardisation et un contrôle plus poussé des pratiques⁶, le développement des échanges nationaux et internationaux, la multiplication des institutions de recherche, l'implication accrue de l'état dans la lutte contre la maladie, l'augmentation des financements privés et publics⁷, ainsi que des liens plus étroits entre les biologistes, les médecins, les industriels et l'Etat⁸.

D'autres spécificités, peut-être un peu moins générales, ont été dégagées. La logique combinatoire du clinicien, qui associe des critères variés, a eu du mal à s'accommoder avec la

¹ Sinding C., *Le clinicien et le chercheur : des grandes maladies de carence à la médecine moléculaire, 1880-1980*, PUF, Paris, 1991. Pickstone J., ed., *Medical innovations in historical perspective*, Macmillan, London, 1992. Löwy I., ed., *Medicine and Change : Historical and Sociological Studies of Medical Innovation*, John Libbey-Editions INSERM, London, Paris, 1993. Löwy I., *Between Bench and Bedside : Science, healing, and Interleukine-2 in a Cancer Ward*, Harvard University Press, Harvard, 1996. Aronowitz R., *The meaning of illness*, Cambridge University Press, Cambridge, 1997.

² Certaines publications abordent plusieurs de ces aspects : Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds., *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994. Lawrence C., « Clinical Research » in Krige J., Pestre D., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 439-459. Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine : la France, l'Amérique et la production des savoirs du vivant (1945-1965)*, La Découverte, Paris, 2002. Voir également les références de la note précédente.

³ Moulin A.M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au Sida*, PUF, Paris, 1991. Gaudillière J.P., « Biologists at work. Experimental practices in the twentieth century life sciences », in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 683-700. Keating P., Cambrosio A., *Biomedical platforms : (Re)aligning the normal and the pathological in late twentieth century medicine*, MIT Press, Cambridge, 2003.

⁴ Reiser S., *Medicine and the reign of technology*, Cambridge University Press, Cambridge, 1978. Blume S., *Insight and industry : on the dynamics of technological change in medicine*, MIT Press, Cambridge, 1991. Howell J., *Technology in the hospital. Transforming patient care in the early twentieth century*, Johns Hopkins University Press, Baltimore, London, 1995. Wailoo K., *Drawing blood : technology and disease identity in twentieth-century America*, The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1997.

⁵ Olby R., « The molecular revolution in biology », in Olby R., Cantor G., Christie J., Hodge J., eds, *Companion to the history of modern science*, Routledge, London/New York, 1990, p. 503-520. Kay L., *The molecular vision of life : Caltech, the Rockefeller Foundation, and the rise of the new biology*, Oxford University Press, Oxford, 1993. Rheinberger H.J., *Beyond nature and culture: a note on medicine in the age of molecular biology*, *Science in context*, 8: 249-263, 1995. Chadarevian S. de, Kamminga H., eds, *Molecularizing biology and medicine. New practices and alliances, 1910s-1970s*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998, p. 1-16.

⁶ Wright S., *Molecular politics : developing american and british regulatory policy for genetic engineering, 1972-1982*, University of Chicago Press, Chicago, 1994. Marks H., *The Progress of Experiment, Science and Therapeutic Reform in the United States 1900-1990*, Cambridge University Press, Cambridge, 1997. Keating P., Cambrosio A., *From screening to clinical research : the cure of leukemia and the early development of the cooperative oncology groups 1955-1966*, *Bull. Hist. Med.*, 76 : 299-334, 2002.

⁷ Strickland S., *Politics, science and the dread disease*, Harvard University Press, Cambridge, 1972. Picard J.F., *La république des savants. Le CNRS et la recherche française*, Flammarion, Paris, 1990. Picard J.F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, *Sciences Sociales et Santé*, 10 (4) : 47-106, 1992. Picard J.F., « De la médecine expérimentale (1865) à l'INSERM (1964) », in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds, *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994.

⁸ Galambos L., Sturchio J., « The transformation of the pharmaceutical industry in the 20th century », in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 227-252. Löwy I., « Cancer : the century of the transformed cell » in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 461-477. Angela Creager, « Producing molecular therapeutics from human blood: Edwin Cohn's wartime enterprise », Chadarevian S. de, Kamminga H., eds, *Molecularizing biology and medicine. New practices and alliances, 1910s-1970s*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998, 107-138.

logique simplificatrice des sciences fondamentales privilégiant la recherche d'une cause unique et d'un traitement spécifique. Le statut du patient, à la fois être malade et entité biologique, s'est modifié. Sa constitution biologique est devenue plus importante que son histoire personnelle. En même temps, il a acquis un certain nombre de droits, une autonomie plus grande. L'expérience du sujet a changé également, en relation avec une objectivation de la maladie à travers la science. Les controverses médicales sont devenues accessibles au public. Celles-ci diminuent la confiance des patients et l'autorité des médecins. D'où une recherche de consensus mettant en exergue les problèmes d'évaluation. La dimension normative de la biologie et de la médecine a augmenté par la centralisation des données liée à la coopération nationale et internationale et également au développement de l'informatique médicale, tendant à l'institution d'une police médicale des populations et des individus. Les thérapeutiques empiriques, ne pouvant être améliorées par une recherche fondamentale, ont perdu de leur intérêt au profit de celles qui le peuvent et pour lesquelles il est permis d'espérer des développements industriels. Les aspects économiques et légaux des innovations ont pris de l'importance. Les patients et les professionnels de santé non médecins (infirmières, travailleurs sociaux, techniciens) ont un rôle plus important dans l'implantation et la diffusion des nouvelles pratiques. Les politiques de recherche, lieux de mise en question et de confrontation entre science et société, ont un impact indéniable sur le devenir économique, politique et social des communautés contemporaines. Les savants, intellectuels producteurs de savoir au statut social proche de celui des philosophes, sont devenus des entrepreneurs du savoir ayant des liens avec l'industrie, passant une partie de leur temps à rassembler les moyens de son travail (financement, machines, matériaux). Biologistes et médecins ont recours à une utilisation rhétorique des « liens entre le laboratoire et la clinique » dans un but de légitimation professionnelle. Ce souci se traduit parfois voire souvent par un écart, dans le discours, entre l'origine officielle et le fondement réel des innovations médicales¹.

Récemment, plusieurs auteurs souhaitent rapprocher encore davantage l'histoire des sciences, des techniques et de la médecine (HSTM), de l'histoire sociale, économique, culturelle et politique, en étudiant l'articulation entre les sciences, les techniques et la médecine en termes de synchronicité et d'interdépendance plutôt que de franchissement de frontières. Cette approche historique globale des STM, formant un tout en relation avec les autres activités humaines, est notamment défendue par John Pickstone. Elle montre que les modes de production des connaissances, dont il définit 5 grands types², sont liés à des façons de fabriquer les objets matériels, de bricoler et de contraindre la Nature. Ce courant historique vise à comprendre comment le savoir est transformé en produits pharmaceutiques, militaires, etc. Les expériences de Pasteur, par exemple, ne montraient pas que la génération spontanée

¹ Sinding C., *Le clinicien et le chercheur : des grandes maladies de carence à la médecine moléculaire, 1880-1980*, PUF, Paris, 1991. Pickstone J. (ed.), *Medical innovations in historical perspective*, Macmillan, London, 1992. Löwy I. ed., *Medicine and Change : Historical and Sociological Studies of Medical Innovation*, John Libbey-Editions INSERM, London, Paris, 1993. Löwy I., *Between Bench and Bedside : Science, healing, and Interleukine-2 in a Cancer Ward*, Harvard University Press, Harvard, 1996.

² John Pickstone distingue 5 modes de production de connaissances : 1) l'herméneutique, lecture du monde spontanée, contemplative. 2) l'histoire naturelle, description et classement des objets naturels. 3) l'analyse, recherche d'un ordre par la dissection, la séparation des objets en leurs composants, comme celle du sel en NaCl. 4) l'expérimentalisme, réarrangement des éléments issus de l'analyse pour reproduire les phénomènes naturels et en produire de nouveaux. 5) la technoscience, état d'interdépendance entre la science et la technologie, caractérisé par l'utilisation des produits de laboratoire comme matières premières pour l'industrie et l'Armée et par l'étroite association des intérêts gouvernementaux, universitaires et industriels. Ces modes de production de connaissances apparaissent l'un après l'autre au cours du temps mais ne se succèdent pas ; ils se mélangent et se hiérarchisent selon les époques et les domaines de recherche. Ils sont à mettre en relation avec trois types de façons de produire des objets : les travaux manuels, la production rationalisée, qui reconstruit le travail manuel en machines, et l'invention expérimentale.

n'existait pas mais que la fermentation pouvait être contrôlée, ce qui intéressait les chimistes, les brasseurs, les hygiénistes et les médecins. Ce projet vise aussi à comparer la signification des objets technologiques pour leurs concepteurs et leurs utilisateurs, à relier les langages ésotérique, technique et commun. Dans cette perspective, la maladie est plutôt un objet de science pour le biologiste et le médecin, une punition divine ou une conséquence du style de vie pour le patient, un risque pour l'état et les assurances. Il est à noter que les conceptions communes du « naturel » se façonnent souvent par opposition à la science officielle. Pour résumer, cette histoire des STM cherche à briser les frontières entre disciplines et entre la science et la vie quotidienne, à raisonner en termes de processus co-évolutifs¹.

En étudiant les travaux de Jean Bernard et de ses collaborateurs sur la leucémie aiguë j'ai tenté une approche globale, alliant une étude microhistorique et une étude macrohistorique, susceptible de compléter les données existantes.

Né en 1907 à Paris, Jean Bernard grandit dans un environnement cultivé où se côtoyaient scientifiques et hommes de lettres. Il choisit la médecine, tout en fréquentant la librairie d'Adrienne Monnier où se retrouvaient alors James Joyce, Valéry Larbaud, Paul Valéry et Jules Romain. La carrière médicale de Jean Bernard combine des activités de soin, de recherche, d'administration de la recherche, d'enseignement et de vulgarisation scientifique.

Chef de service en pédiatrie en 1954, il obtint la chaire de cancérologie médicale et sociale en 1956 et la chaire de clinique des maladies du sang en 1962. Il consacra la majeure partie de son temps à l'hématologie et, en particulier, à la leucémie aiguë de l'enfant. Il créa vers 1960 et dirigea pendant 20 ans l'Institut de recherches sur les leucémies et les maladies du sang, à l'Hôpital Saint-Louis, à Paris. Cet institut fut parmi les premiers mondiaux à obtenir des guérisons de la leucémie aiguë de l'enfant. Les autres recherches qui y furent menées contribuèrent à la compréhension de nombreux phénomènes biologiques, normaux et pathologiques, notamment dans le domaine de la leucémie et du cancer. Jean Dausset y obtint en 1980 le prix Nobel de physiologie et de médecine, pour ses travaux sur le système majeur d'histocompatibilité humain.

Parallèlement, Jean Bernard siégea dans de nombreux conseils scientifiques et d'administration d'instituts et d'organismes centraux de recherche (Association Claude Bernard, Centre national de la recherche scientifique, Institut national de la santé et de la recherche médicale, Institut Pasteur, etc.). Il fit également partie de comités consultatifs et de groupes de travail ministériels (Comité consultatif de la recherche scientifique et technique, Délégation générale à la recherche scientifique et technique, Haut conseil médical de la santé publique, Comité consultatif des universités, Haut comité médical de la Sécurité sociale, etc.). Il exerça aussi des fonctions administratives à l'Université Paris 7, à l'Hôpital Saint-Louis et à l'Assistance publique des hôpitaux de Paris. A ces fonctions, s'ajoutaient de nombreuses missions scientifiques et d'enseignement à l'étranger. Par ailleurs, ses interventions dans la presse écrite, à la radio ou à la télévision, tantôt dans un but de vulgarisation, tantôt dans celui de récolter des fonds pour la recherche, le firent connaître du grand public². Membre de nombreuses sociétés savantes françaises et étrangères, Jean Bernard entra à l'Académie des sciences en 1972, à l'Académie de médecine en 1973 et à l'Académie française en 1975³.

¹ Pickstone J., *Ways of knowing : a new history of science, technology and medicine*, Manchester University Press, Manchester, 2000.

² Pour un aperçu de ses interventions dans la presse de vulgarisation scientifique, la presse généraliste, les émissions radiodiffusées et télévisées, voir Fonds IUH, article 181.

³ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956. Figures de l'année, *Jean Bernard*, Encyclopaedia Universalis, Paris, 1977. Archives de l'APHP, cote 773 Foss 2. Archives nationales, Fonds IUH, articles 2, 44 et 181.

La notoriété de Jean Bernard débuta à la fin des années 1950 et culmina dans les années 1970 et 1980. En voici quelques témoignages, empruntés au monde médical, au milieu littéraire et à l'histoire de la médecine.

La présentation que fit Charles Gernez-Rieux de Jean Bernard, aux Assises Nationales de Médecine à Lille en 1967, donne une idée du prestige de ce dernier. Avant de qualifier Jean Bernard de chef d'école, de savant de réputation mondiale, de prestigieux conférencier et de grand patron, il déclara : « Je ne vous ferai pas l'offense, mes chers Confrères, de vous présenter le Professeur Jean Bernard. Vous savez que, grâce à lui, l'Hôpital Saint-Louis a reconquis cette renommée internationale que lui avaient donnée les grands Dermatologues qui l'ont illustré. Vous savez que, grâce au remarquable Centre de Recherches Hématologiques qu'il dirige, et où s'allient si heureusement le Laboratoire et la Clinique, Saint-Louis est redevenu le Creuset où se fondent les plus hardies spéculations de la Science et les réalités impératives de la Clinique, d'où sont sorties tant de découvertes. »¹. L'hématologiste américain Maxwell Wintrobe, dans son histoire de l'hématologie publiée en 1985, fit de Jean Bernard un « hématologiste de premier plan », « chef de l'hématologie française »².

En 1974, Mirko Grmek écrivit pour la *Revue de synthèse*, un compte rendu fort élogieux du livre de Jean Bernard intitulé *Grandeur et tentations de la médecine*³ : « Un autre grand patron de la médecine française, le Pr. Jean Bernard, vient de publier ses réflexions sur la situation de la médecine moderne (...) Cet exposé est un modèle de bonne vulgarisation scientifique. La maîtrise parfaite du sujet et une pensée rigoureuse et claire impriment à ce récit une allure de simplicité attrayante, fascinante, convaincante. Quand cette présentation didactique de quelques grandes victoires de la médecine moderne a complètement capté la bienveillance du lecteur, le Pr. Bernard rappelle, dans la seconde partie de son livre, quelques conséquences sociales, économiques et morales du progrès. On voit combien la difficulté côtoie le succès : chaque réalisation nouvelle pose des problèmes, exige des adaptations. Sans parti pris, avec une honnêteté intellectuelle remarquable, l'auteur cherche à dégager le bon du mauvais, l'utile du néfaste, le pérenne du caduc. (...) Le Pr. Bernard évoque les tentations administrative, politique, psychologique, sociologique, humaniste, et scientifique. Autant de pièges dont l'auteur démonte habilement le mécanisme. Ses conclusions devraient être lues et méditées par tous les médecins, par tous les sociologues, et, non pas en dernier lieu, par tous les politiciens et administrateurs de notre société. Le Pr. Bernard trace une voie de salut. Ses critiques et ses suggestions méritent toute l'attention aussi bien par la compétence et la forte personnalité de l'auteur que par l'extrême gravité du sujet. L'avenir biologique de l'homme est aujourd'hui en jeu. »⁴.

Quelques années plus tard, lorsque Bernard Pivot, pour la revue *Lire*, demanda à Charles Ronsac, le directeur de la collection « Vécu » des Editions Robert Laffont, de nommer trois intellectuels vivants, de langue française, dont les écrits lui semblaient exercer le plus d'influence sur l'évolution des idées, des lettres, des arts, des sciences, etc., il cita Simone de Beauvoir, Raymond Aron et Jean Bernard⁵.

Joignant à « une intelligence rare, une rare sensibilité », selon une formule empruntée à son ami Jean Hamburger⁶, et ayant un discours sur l'individu à un moment où la médecine,

¹ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967.

² Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1985, p. 519-521.

³ Bernard J., *Grandeur et tentations de la médecine*, Editions Buchet-Chastel, Paris, 1973.

⁴ Grmek M., *Les mythologies et les réalités de la médecine moderne*, *Revue de synthèse*, 3^{ème} série, 75-76 : 283-293, 1974.

⁵ Bernard J., *Médecin dans le siècle*, Editions Robert Laffont, Paris, 1994, p.7.

⁶ Hamburger J., *Courte note qui n'a rien d'hématologique sur Jean Bernard*, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 18 (2) : 425-427, 1977.

de plus en plus quantitative, dépersonnalisait le patient¹, Jean Bernard fascina au point de devenir un personnage presque mythique. Si, comme tout grand patron, il a pu susciter des critiques radicales, elles ne se sont pas exprimées publiquement.

Son combat contre la leucémie, Jean Bernard ne l'a pas mené seul mais, dans un premier temps, avec l'aide de médecins de son service et de différentes équipes parisiennes, puis avec les membres de son institut de recherches. Si dans l'intitulé de ma thèse, je parle de « Jean Bernard et de ses collaborateurs » et non de « l'équipe de Jean Bernard » ou de « l'école de Jean Bernard », c'est, d'une part, pour distinguer deux périodes de sa carrière, avant et après la constitution de sa propre « école », d'autre part, parce qu'il m'a semblé que les directeurs des départements de l'Institut de recherches sur les leucémies et les maladies du sang jouissaient d'une grande autonomie scientifique.

L'expression « école de recherche » désigne habituellement des institutions étroitement localisées, dépendant généralement de « patrons » entourés de plusieurs générations d'élèves, bénéficiant d'une certaine autonomie financière, disposant de moyens de diffusion de ses théories et résultats, et entrant en concurrence avec des unités semblables pour toutes ces ressources. Cette notion est généralement associée à celle de « style de recherche », l'« école de recherche » étant perçue comme le niveau élémentaire de structuration des communautés scientifiques et de production des connaissances scientifiques, et étant caractérisée par un contexte intellectuel, matériel, technique et institutionnel².

Lorsque Jean Bernard commença ses études de médecine, l'hématologie parisienne comprenait deux écoles rivales, celle de Paul Chevallier (1884-1960) et celle d'Arnault Tzanck (1886-1954), deux médecins des hôpitaux dermatologues. Malgré leur profonde amitié, les deux hommes s'affrontaient fréquemment sur le plan scientifique³. Paul Chevallier, obtint en 1948, la première chaire de clinique des maladies du sang, à l'Hôpital Broussais. Il eut notamment pour élèves Jean Bernard, Georges Marchal, Georges Bilsky-Pasquier et Georges Mathé⁴. Il fut le rédacteur en chef de *Le sang*, la revue de la Société française d'hématologie, créée en 1927. Quant à Arnault Tzanck, il fit construire en 1937 à l'Hôpital Saint-Antoine, le Centre national de transfusion sanguine et de recherches hématologiques (CNTS), lequel déménagea en 1949, rue Alexandre Cabanel⁵. Robert André, Bernard Dreyfus, Marcel Bessis, Jean-Pierre Soulier et Jean Dausset furent ses élèves. Le laboratoire de recherches du CNTS publiait la *Revue d'hématologie*.

Avant qu'il ne fonde son institut de recherches, Jean Bernard faisait donc partie de l'« école Chevallier ». Toutefois, la seconde guerre mondiale atténua vraisemblablement la rivalité entre les deux groupes, lesquels furent définitivement réconciliés par diverses collaborations et par la fusion, réalisée par Jean Bernard et Marcel Bessis, des deux premières revues françaises d'hématologie, fusion qui donna naissance, en 1961, à la *Nouvelle revue française d'hématologie*⁶.

Avant 1960, on peut également rattacher Jean Bernard à une autre « école », celle de Robert Debré (1882-1978), professeur de bactériologie puis pédiatre, que Jean Bernard

¹ Fonds IUH, article 27, Correspondance avec Rogeon J.

² Gayon J., « De l'usage de la notion de style en histoire des sciences » in Gayon J., Gens J.C., Poirier J. (dir.), *La rhétorique : enjeux de ses résurgences*, Editions OUSIA, 1998, p. 162-181.

³ Entretien avec J. Bernard, 25.09.1998.

⁴ Bertrand-Fontaine T., *Paul Chevallier (1884-1960)*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 4^{ième} série, 76 : 1326-1330, 1960.

⁵ Soulier J.P., *Arnault Tzanck (1886-1954)*, Sem. Hôp. Paris, 3027-3028, 1954. Charles G., *Arnault Tzanck (1886-1954)*, Presse Méd., 62 (28) : 595-596, 1954.

⁶ Binet J.L., Delpech G., *Les revues d'hématologie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 23 : 71-74, 1981.

connaissait depuis l'enfance et avec qui il travailla, à l'Hôpital Hérold puis à l'Hôpital des Enfants-Malades¹.

Vers 1960, Jean Bernard devint à son tour un « grand patron » dont le service hospitalier et le centre de recherches accueillirent de très nombreux médecins et biologistes, français et étrangers. Ces personnes forment-elles une « école Jean Bernard » ? Incontestablement, par le nombre de ses élèves et par leur essaimage dans l'espace de la recherche et des hôpitaux publics français. Avant la réforme hospitalo-universitaire initiée par Robert Debré, l'agrégation de spécialité et le médicament des hôpitaux étaient deux concours séparés. Le concours des hôpitaux était aux mains de quelques « super-patrons » et l'avis de Jean Bernard y avait peu de poids. Lorsque l'agrégation devint, à partir de 1966, l'unique concours, Jean Bernard fut « maître de son Royaume », l'hématologie. Il eut beaucoup plus de facilités à assurer l'avenir de ses élèves². Sur les 70 médecins ou biologistes des hôpitaux nommés en hématologie entre 1946 et 1980, 19 (27%) avaient, à ma connaissance, travaillé avec Jean Bernard. De plus, quelques uns furent nommés plus tard, comme Yves Najean ou Marie-Thérèse Daniel³. D'autres furent nommés en cancérologie. D'autres encore, dirigèrent des unités de recherche à l'INSERM ou au CNRS. Enfin, parmi les premiers directeurs de départements de l'Institut de recherches sur les leucémies et les maladies du sang, Philippe Kourilsky installa à Marseille, en 1976, le Centre d'Immunologie INSERM-CNRS ; Michel Boiron succéda à Jean Bernard en 1980 ; Jean Dausset créa le Centre d'étude du polymorphisme humain en 1982 ; Jean-Paul Lévy dirigea l'Agence nationale de recherches sur le Sida, à partir de 1988, et créa deux ans plus tard l'Institut Cochin de génétique moléculaire ; et Jacques Caen fonda en 1989, à l'Hôpital Lariboisière, l'Institut des vaisseaux et du sang.

Le terme d'école convient également à l'équipe de Jean Bernard dans la mesure où celle-ci constituant une unité temporelle et spatiale de production de connaissances, elle a généré un « style de recherche » dont les composantes apparaissent par comparaison avec les théories et les pratiques d'autres hématologistes français ou étrangers. De telles orientations existent toujours, même lorsqu'elles ne sont pas formulées explicitement ni imposées par le « patron » comme cela était de règle avant la seconde guerre mondiale. Je précise ce point parce que, dans la correspondance de Jean Bernard avec ses collaborateurs, je n'ai pas vu le « tabou du patron »⁴. En outre, chaque département m'a paru autonome scientifiquement. Jean Bernard avait pour habitude de prendre avis auprès de ses collaborateurs, lorsqu'une collaboration extérieure était proposée, lorsqu'on lui demandait des informations sur une découverte récente ou sur un chercheur, etc. Par exemple, quand, en 1977, Robert Gallo, chercheur au National Cancer Institute américain, proposa à Jean Bernard de discuter ses résultats, ce dernier s'adressa à Jorge Périès : « J'ai entendu à plusieurs reprises discuter ses travaux, je sais qu'il est l'objet de controverses. J'aimerais avoir de vous des informations récentes de façon à répondre dans le sens que vous m'indiquerez. ». La réponse de Jorge Périès ayant été la suivante : « R. Gallo est un bon chercheur et un ami de notre maison. Nous entretenons avec lui d'excellentes relations personnelles et scientifiques. Il est vrai que ses travaux sont controversés. Cependant, il a l'énorme mérite de s'accrocher au problème humain, et je pense qu'il ne faut pas négliger la possibilité qu'un jour il trouve quelque chose de très important. Les exemples de Gross et de Temin obligent à être prudents... Je crois que

¹ Huguet F., « Debré Anselme Robert » in *Les professeurs de la faculté de médecine de Paris (1794-1939)*, INRP-CNRS Editions, 1991.

² Entretien de J.P. Lévy avec J.F. Picard, décembre 2001.

³ Archives de l'APHP, Logiciel Miramiom.

⁴ En 1948, Jean Dausset, qui racontait à Marcel Bessis son séjour chez Alexander Wiener, à l'Université de New York, écrivit : « j'ai vu leur système d'enseignement qui est sensiblement meilleur que le nôtre, et réellement démocratique. Il n'y a pas le Tabou du patron ! » (Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 23.10.1948).

le mieux serait de l'inviter à visiter l'Institut et peut-être faire un séminaire. », Jean Bernard invita Robert Gallo à leur rendre visite¹. De plus, Jean-Paul Lévy raconte avoir eu carte blanche côté recherche².

Il me reste à préciser quelques termes particuliers de l'intitulé de ma thèse. Le prologue permet de se familiariser avec la leucémie aiguë, qui a été choisie pour sa place centrale dans les activités de Jean Bernard. Mon récit commence vers 1940, en fait un peu plus tôt, au moment où Jean Bernard commence sa thèse et se termine vers 1970. Il aurait pu se poursuivre un peu plus avant, jusqu'en 1980, date à laquelle Jean Bernard quitta la direction de son institut et prit sa retraite. Toutefois, j'ai préféré arrêter mon enquête autour de 1970, par souci de cohérence et de précision, cette période s'avérant cumuler des changements importants dans les différents domaines de recherches étudiés. Je laisse ainsi la virologie et la biologie moléculaire à la découverte des oncogènes et juste avant l'étude de la différenciation cellulaire, l'immunologie à un tournant plus physiologique que structural, et la thérapeutique à la fin de la seconde période d'introduction d'agents chimiothérapeutiques et à l'aube du développement de l'immunothérapie. En outre, l'institut connut dans les années 1970, une réorganisation de ses laboratoires et une extension de ses domaines de recherche à la cancérologie non hématologique. Par ailleurs, je me présente comme historienne de la « recherche médicale » et non de la médecine, d'une part, pour souligner qu'au 20^{ème} siècle, alors que la plupart des biologistes furent des chercheurs, la plupart des médecins furent des praticiens, d'autre part, parce que je n'aborde que très peu le vécu des patients et les mesures de santé publique.

Les résultats de mon étude sont exposés de la façon suivante. Le premier chapitre, qui fait suite à une présentation de la maladie, porte sur les recherches de Jean Bernard sur la leucémie, de sa thèse à la création de l'Institut de recherches sur la leucémie et les maladies du sang de l'Hôpital Saint-Louis à Paris. Le second chapitre fait état des travaux réalisés dans cet institut, dont l'organisation se reflète dans le découpage en sous-chapitres : études de virologie et de biologie moléculaire, immunologie et immunothérapie, recherches cliniques, principalement cytologiques et chimiothérapeutiques. Le troisième et dernier chapitre reprend de manière thématique les éléments des chapitres précédents, y recherche les caractéristiques attribuées par d'autres auteurs à l'évolution de la recherche médicale dans la période considérée, et précise le rôle de Jean Bernard et de ses collaborateurs dans ces transformations.

¹ Fonds IUH, article 32, correspondance avec Gallo R., 01.06.1977, 08.06.1977, 24.06.1977.

² Entretien de J.P. Lévy avec J.F. Picard, décembre 2001.

Prologue. La description de la leucémie et sa définition actuelle

Naissance d'une maladie

La « leucémie » fit son entrée dans le langage médical français en 1856 : « La découverte d'une maladie nouvelle est toujours un événement dans le monde médical, aussi les esprits sont-ils assez vivement préoccupés dans ce moment d'une communication qui a été faite dernièrement à l'Académie de médecine par M. Blache, et des discussions qui l'ont suivie, soit dans la presse, soit devant les sociétés médicales. Il ne s'agit de rien moins que d'une affection que nous ne connaissions point en France, mais qui depuis plusieurs années avait été signalée en Allemagne et en Angleterre par MM. Virchow, Vogel et Bennett. A une maladie nouvelle, il faut bien un nom nouveau, et celle-ci a été appelée leukémie, leucémie ou leucocythémie »¹.

Les premières descriptions de cas présentant les patients comme atteints d'une maladie nouvelle se produisirent simultanément et indépendamment en France, en Allemagne et en Grande Bretagne vers 1850. Les médecins qui les réalisèrent, l'écossais David Craigie, le français Alfred Donné (1801-1878) et, de manière plus explicite, l'écossais John Bennett (1822-1875) et l'allemand Rudolf Virchow (1821-1902), définissaient la leucémie par l'association d'un excès de globules blancs et d'une hypertrophie de la rate et du foie ou de ganglions lymphatiques².

La leucémie étant aujourd'hui classée parmi les cancers, et les premières descriptions de cancer datant de l'antiquité, il semble fortement probable que la maladie ait longuement préexisté à sa caractérisation. Par ailleurs, les signes qui furent utilisés pour la définir étaient observables un siècle plus tôt. Son autonomisation nosologique résulta de la rencontre du microscope, de la théorie cellulaire et de l'intérêt pour le sang de certains cliniciens.

La « leucémie » avant 1840

Les hypertrophies de la rate, du foie et des ganglions lymphatiques étaient décelables depuis longtemps, si ce n'est à la palpation, du moins à l'autopsie. Notre attention s'est donc portée sur l'excès de globules blancs, sur la possibilité de sa détection, directe ou indirecte,

¹ Anonyme, Article 5171 : leucémie, leucocythémie, J. Méd. Chir. Prat., 27 : 145-147, 1856.

² Piller G., *Leukemia - A brief historical review from ancient times to 1950*, Brit. J. Haemat., 112 : 2828-292, 2001. Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1985, p. 15-16.

avant le milieu du 19^{ième} siècle, par des pratiques telles que la saignée, l'autopsie et l'examen au microscope.

La saignée, pratiquée depuis l'Antiquité afin d'évacuer l'excès de sang dans le cadre de la théorie des humeurs, était devenue un véritable outil de comparaison entre le sang du malade et le sang normal. On regardait le sang recueilli dans une cuvette, on le sentait, on le goûtait. Contrairement à ce que suggère l'étymologie, le sang des leucémiques n'est pas blanc, les globules blancs étant incolores. Il peut cependant présenter une légère différence de couleur, il est alors davantage teinté de gris, de marron ou de violet que le sang normal, mais cette nuance n'est pas suffisamment marquée ni suffisamment constante pour qu'on y ait prêté attention. On savait déjà en revanche que, dans les conditions physiologiques, le sang veineux est plus sombre que le sang artériel. Ceci avait conduit l'abbé Spallanzani, au 18^{ième} siècle, à affirmer que les teintes blanchâtres, luisantes, jaunâtres, etc., qui avaient été attribuées au sang, n'étaient qu'illusions d'optique¹. Signalée dans le dictionnaire de médecine de Nysten en 1858, la couleur « lie de vin » du sang leucémique n'apparaît plus par la suite comme un élément caractéristique². Dans les années 1870, on disait simplement du sang leucémique qu'il était de couleur rouge, plus ou moins altérée³.

Lors de la saignée, les médecins s'intéressaient non seulement à la couleur du sang mais également à sa coagulation. On savait de longue date que du sang normal abandonné dans un récipient donne une partie rouge et opaque, le caillot qui en se rétractant libère une partie jaunâtre et limpide, le sérum. C'est au début du 18^{ième} siècle, que Ruysch aurait empêché le sang de coaguler en le fouettant et aurait ainsi isolé les filaments impliqués dans la coagulation ou « fibrine », car ces fibres s'attachent à l'ustensile utilisé pour battre le sang⁴. Dans les années 1840, il était communément admis que le caillot était constitué de fibrine et de « globules sanguins », autrement dit de fibrine et de globules rouges⁵.

Dès la fin du 17^{ième} siècle, un troisième type de constituant du sang coagulé fut observé : la « couenne ». Elle était considérée par Thomas Sydenham (1624-1689) et Hermann Boerhaave (1668-1738) comme une sorte d'artéfact qui ne se formait que lorsqu'on extrayait le sang d'une certaine façon et qu'on le recueillait dans certains vases. Dans un *Mémoire sur les maladies du sang*, écrit pendant la Révolution par Nicolas Deyeux et Parmentier, et paru dans le *Journal de la Société des pharmaciens de Paris*, la couenne fut décrite comme une membrane plus ou moins molle et élastique, de couleur blanche, jaune, grise, verte, ou rose, présente lors d'inflammations du poumon avec fièvre⁶. Dans les années 1810, elle était présentée comme un élément caractéristique des maladies inflammatoires et des états pré-inflammatoires et était attribuée à un excès de fibrine : « malgré les anomalies que présente la couenne du sang, les praticiens les plus distingués de tous les temps, ont cru trouver dans cette production membraneuse, quelques rapports qui semblent rattacher ses caractères à ceux de certaines maladies. La couenne blanche ou d'un blanc jaunâtre, épaisse, dure, compacte, rétractée en forme de cupule, se trouve presque constamment dans les maladies inflammatoires aiguës, et même quelquefois chroniques, mais plus particulièrement

¹ Adelon, ed., « sang » in *Dictionnaire des sciences médicales*, C.L.F. Panckoucke Editeur, Paris, 1820.

² Nysten P.-H., « leucocythémie » in *Dictionnaire de médecine, chirurgie et pharmacie*, J.B. Baillière et fils, Paris, 1858.

³ Dechambre A., ed., « leucocythémie » in *Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales*, G. Masson, Asselin et Cie, Paris, 1876.

⁴ Larousse P., « coagulation » in *Grand dictionnaire universel du XIXe siècle*, Lacour s.a., Paris, 1991, réimpression de l'édition 1866-1876. Jolly J., *Le sang dans la vie de l'organisme*, Flammarion, Paris, 1946, p. 119-120.

⁵ « coagulation » in *Dictionnaire de médecine ou répertoire général des sciences médicales*, Librairie de la Faculté de médecine de Paris, 1844.

⁶ Adelon, ed., « couenne (inflammatoire) » in *Dictionnaire des sciences médicales*, C.L.F. Panckoucke Editeur, Paris, 1813.

dans les infections de la plèvre et du poumon, d'où lui est venu le nom de pleurétique (...) on l'observe assez fréquemment, comme nous l'avons déjà indiqué dans beaucoup d'autres maladies, où il n'est pas possible de soupçonner des phlegmasies : on la voit même quelquefois dans l'état de santé (...) Il est probable alors que la couenne dépende d'un état commun des parties constituantes du sang qui dispose prochainement ce fluide aux inflammations »¹. Par ailleurs, dans un texte de 1830, J. Denis distingua quatre types de sang, de l'anémie à la pléthore, en fonctions des proportions relatives de globules (rouges) et de fibrine. Le sang anémique y était qualifié de peu foncé et de couenneux.

L'excès de globules blancs dans le sang fut donc décelé indirectement, par l'excès de couenne, dès le début du 18^{ième} siècle. Il était relié à des pathologies connues telles que l'anémie et surtout l'inflammation.

A l'autopsie, la coagulation est observable dans les vaisseaux douze à vingt-quatre heures après la mort. Là aussi des différences d'aspect furent observées. La présence de caillots blanc jaunâtre dans les vaisseaux des cadavres était perçue comme une conséquence de l'inflammation. On trouve ceci notamment dans les travaux d'Alexis Legroux, à la fin des années 1820².

Concernant l'observation des globules blancs du sang au microscope, ceux-ci ont probablement été vus, par Antonj van Leeuwenhoek (1632-1723) et Marcello Malpighi (1628-1694), dès le milieu du 17^{ième} siècle. Ce dernier lavait les caillots pour récupérer les globules et vit même des fibres³. Ils ont été décrits vers 1750 par le français Joseph Lieutaud, au moment où son compatriote J.B. de Senac décrivait les globules blancs du pus, puis par le britannique William Hewson (1739-1774) au cours de ses travaux sur le système lymphatique⁴.

Techniquement, la leucémie aurait donc pu être décrite environ un siècle plus tôt. Les obstacles à sa caractérisation étaient essentiellement d'ordre conceptuel. Avant 1845, les modifications liées à la surabondance de leucocytes dans le sang étaient systématiquement rattachées au cadre des maladies infectieuses.

Un nouveau cadre conceptuel

En 1841, David Craigie intrigué par la maladie d'un patient présentant une hypertrophie de la rate, demanda au pathologiste de l'Hôpital Royal d'Edinbourg d'examiner son sang. John Reid y trouva de la « matière purulente ». Ils en conclurent probablement qu'il s'agissait d'une inflammation un peu particulière⁵.

Le syndrome associant maladie mortelle, hypertrophie d'organes (rate, foie, ganglions) et excès de globules blancs dans le sang fut présenté comme une maladie nouvelle indépendante de l'inflammation par Alfred Donné, John Bennett et Rudolph Virchow en 1844 et 1845.

¹ Guersent, « couenne (inflammatoire) » in Adelon, ed., *Dictionnaire des sciences médicales*, C.L.F. Panckoucke Editeur, Paris, 1813, p. 185.

² « coagulation » in *Dictionnaire de médecine ou répertoire général des sciences médicales*, Librairie de la Faculté de médecine de Paris, 1844.

³ Wintrobe M., *Blood, pure and eloquent*, Mc Graw-Hill, 1980, p. 2-13 et 601.

⁴ Piller G., *Leukemia - A brief historical review from ancient times to 1950*, Brit. J. Haemat., 112 : 2828-292, 2001.

⁵ Jaccoud, ed., « leucocythémie » in *Nouveau dictionnaire de médecine et chirurgie pratiques*, J.B. Baillièrre et fils, Paris, 1875. Piller G., *Leukemia - A brief historical review from ancient times to 1950*, Brit. J. Hemat., 112 : 282-292, 2001.

En 1844, Alfred Donné écrivit avoir souvent observé « des cas dans lesquels les globules blancs paraissent en excès dans le sang » chez « des individus chez lesquels on ne pouvait pas soupçonner la présence du pus » et qui étaient « affectés de lésions profondes, affaiblis, détériorés par un travail morbide prolongé, qui jette le trouble dans toute l'économie, mais surtout dans la nutrition et l'assimilation »¹.

L'année suivante, le *Journal médical et chirurgical d'Edimbourg* publia deux articles rendant compte de l'observation de deux patients décédés dans un tableau clinique associant une hypertrophie de la rate à la présence de pus dans le sang. Il s'agissait du patient vu par David Craigie en 1841 et d'un patient admis dans le même hôpital en 1844. John Bennett pratiqua l'autopsie de ce dernier et examina son sang au microscope. Malgré l'emploi du mot « pus » pour le sang, il insista sur l'absence d'inflammation et l'absence de pus dans les tissus. Surtout, il supposa l'existence d'un lien entre l'état du foie et de la rate et celui du sang².

La même année, Rudolf Virchow décrivit une patiente décédée avec une hypertrophie de la rate et un excès de globules blancs dans le sang³.

Pour que la leucémie soit décrite, il fallait donc que des médecins des hôpitaux s'intéressent au sang, qu'ils connaissent l'état du sang dans divers états physiologiques et pathologiques, de manière à dissocier l'excès de globules de l'inflammation et à l'associer à d'autres signes.

De l'Antiquité au dix-huitième siècle, le sang occupa une place fondamentale en médecine, dans la cadre de la théorie des humeurs. Son importance se trouva réduite par le développement de l'anatomo-clinique, laquelle proposa une vision très différente des maladies, vision basée non sur les liquides de l'organisme mais sur les organes et les tissus. En France, cette approche atteignit son apogée avec la publication en 1800 par Xavier Bichat de *Considérations sur la vie et la mort - Traité des membranes*, ouvrage dans lequel il disait l'organisme formé d'une vingtaine de tissus élémentaires et proposait de classer les maladies en fonction du tissu lésé. L'anatomo-clinique offrait de repenser les maladies à partir du recueil de données cliniques et d'autopsies. Une partie importante de la valeur de ces travaux était liée à la dextérité des médecins à manier le scalpel. De ce fait, le sang, liquide indisséparable, était négligé par la majeure partie de l'élite médicale⁴.

Toutefois, l'étude des liquides de l'organisme n'était pas jugée rétrograde par tous ; certains y voyaient un outil de diagnostic complémentaire de l'étude des tissus. Dans son article sur la couenne, rédigé en 1813 pour le *Dictionnaire de médecine*, Guersent écrivit : « Le peu qu'on a obtenu prouve qu'il ne faut pas négliger de l'observer, et qu'elle pourra, tout aussi bien que les autres parties du sang, les urines et les différentes humeurs, donner un jour quelques signes à l'appui de ceux que les solides vivans fournissent à la séméiotique. »⁵.

Les personnes intéressées par les liquides et les cellules étaient des médecins et des naturalistes empreints de réductionnisme physico-chimique, sinon méthodologique du moins constitutif. Ils nourrissaient l'espoir d'expliquer le vivant par les techniques issues de la physique et de la chimie, d'où leur recours au microscope et aux dosages de molécules dans les humeurs. Ces physiologistes accordaient une faible valeur heuristique aux cadavres ; ils

¹ Donné A., *Cours de microscopie complémentaire des études médicales*, J.B. Baillière, Paris, 1844, p. 135-136.

² Craigie D., *Case of disease and enlargement of the spleen in which death took place from the presence of purulent matter in the blood*, *Edinburgh Medical and Surgical Journal*, 64 : 400-413, 1845. Bennett J., *Case of hypertrophy of the spleen and liver in which death took place from suppuration of the blood*, *Edinburgh Medical and Surgical Journal*, 64 : 413-423, 1845.

³ Virchow R., *Weisses blut*, *Froriep's Notizen*, 36 : 151-156, 1845 cité Piller G., *Leukemia - A brief historical review from ancient times to 1950*, *Brit. J. Hemat.*, 112 : 282-292, 2001.

⁴ Foucault M., *Naissance de la clinique*, PUF, Paris, 1963.

⁵ Guersent, « couenne (inflammatoire) », in Adelon, ed., *Dictionnaire des sciences médicales*, C.L.F. Panckoucke Editeur, Paris, 1813, p. 187.

avaient aussi tendance à percevoir les maladies davantage comme des variations quantitatives que des éléments extérieurs au corps sain.

L'apothéose de ce courant de pensée fut l'énoncé de la théorie cellulaire. Lorsque des cellules furent observées pour la première fois au microscope au milieu du dix-septième siècle, elles furent perçues comme des unités morphologiques mais pas comme le constituant élémentaire de l'organisme. Dans la seconde moitié du dix-huitième siècle, c'est la fibre qui fut proposée comme unité structurale et fonctionnelle des êtres vivants. Selon cette conception, chaque tissu était formé d'un type de fibre, défini en fonction de ses propriétés, par exemple l'irritabilité. Mais l'origine de ces différents types de fibres était inexplicée. Vers 1830, des anatomistes végétaux et animaux, aidés des premiers microscopes achromatiques qui corrigèrent les aberrations sphériques et les halos, recherchèrent le plus petit élément vivant de l'organisme, le microorganisme élémentaire des Philosophes de la Nature allemands, bref une structure élémentaire capable d'expliquer l'organisation et la mise en place de toutes les structures complexes. L'embryologie faisait des utricules, saccules ou globules des premiers microscopistes de bons candidats. En 1838 et 1839, Matthias Schleiden (1804-1881) et Theodor Schwann (1810-1882) publièrent les résultats de leurs nombreuses observations : ils firent état de l'omniprésence des cellules dans les tissus. Deux autres élèves du physiologiste allemand Johannes Müller (1801-1858), Robert Remak (1815-1865) et Rudolph Virchow (1821-1902), affirmèrent entre 1852 et 1858 que toute cellule provient d'une autre cellule par division. Le concept de cellule, dans son acception finale, offrait une nouvelle vision théorique de l'organisme, sain ou malade. Il en faisait une association de cellules en interaction structurale et fonctionnelle. Biologie et médecine avaient à leur disposition un nouveau programme de recherche consistant à expliquer la formation des structures d'ordre supérieur et les fonctions vitales ainsi que leurs anomalies par des processus physico-chimiques cellulaires¹.

Outre sa valeur symbolique, le sang, par sa composante liquide, par ses éléments figurés et par sa position centrale au contact de toutes les cellules de l'organisme, ne pouvait pas ne pas trouver grâce auprès de médecins sensibles à la physiologie. Parmi eux, Gabriel Andral (1797-1876) mit en relation, au début des années 1840, la couenne et les globules blancs. Ne voyant pas ces globules dans le sang défibriné par le battage, il en conclut que la fibrine était le constituant des globules incolores dans le sang frais et qu'elle formait la couenne et la trame du caillot dans le sang coagulé². Johannes Müller, qui s'intéressait aussi à la question, montra que la fibrine ne provenait pas des globules en délayant du sang de grenouille dans un peu d'eau sucrée et en le filtrant sur papier : l'observation du contenu du filtre au microscope révéla des globules intacts et le filtrat coagula en une gelée incolore³. L'expérience de Johannes Müller et ses propres observations amenèrent Alfred Donné à affirmer que « la couenne se forme au dépens de la fibrine dissoute » et que « cette couche renferme les globules que nous décrivons sous le nom de globules blancs du sang »⁴.

¹ Canguilhem G., « La théorie cellulaire » in *La connaissance de la vie*, Vrin, Paris, 1965. Duchesneau F., *Genèse de la théorie cellulaire*, Paris, Vrin, 1987.

² « coagulation » in *Dictionnaire de médecine ou répertoire général des sciences médicales*, Librairie de la Faculté de médecine de Paris, 1844.

³ Jolly J., *Le sang dans la vie de l'organisme*, Flammarion, Paris, 1946, p.121.

⁴ Donné A., *Cours de microscopie complémentaire des études médicales*, J.B. Baillière, Paris, 1844, p. 41 et 47.

La leucémie comme entité autonome

En 1855 et 1856, une série de débats furent organisés à la Société médicale des Hôpitaux de Paris sur la place nosologique de la leucémie. Ceux qui en faisaient une entité autonome étaient minoritaires¹.

L'autonomisation de la leucémie dut faire face à deux principaux obstacles : la prédominance de l'anatomo-clinique et l'acceptation du microscope comme source valable de connaissance. Ainsi, pour beaucoup de médecins, les seuls globules blancs d'intérêt médical étaient les globules du pus, résidents des tissus infectés. L'excès de leucocytes dans le sang des malades dits leucémiques ne reflétait selon eux qu'une infection de grande ampleur.

Concernant l'usage du microscope, Alfred Donné écrivit en 1844 : « non seulement les médecins sont restés longtemps étrangers aux observations microscopiques, mais ils les repoussaient comme ne donnant lieu qu'à des visions chimériques ; le mot *illusion microscopique*, par lequel ils accueillaient tout ce qu'on leur disait de cette science, était à peu près le seul qu'ils connussent de son vocabulaire. (...) La microscopie a été retardée de dix ans par ce mot de ses applications aux études médicales, tandis qu'elle s'étendait et rendait tant de services aux autres branches des sciences naturelles »².

Il faut se rappeler qu'au dix-septième et dix-huitième siècles, l'optique de l'illusionniste occupait dans la société une place au moins aussi importante que l'optique instrumentale. L'image, qui par nature comprend une part de réel et une part d'illusion, ne fut généralement acceptée comme moyen de connaissance qu'au vingtième siècle³. Au dix-neuvième siècle, la validation des données fournies par le microscope résidait dans l'explication physique de son fonctionnement, lequel faisait appel aux mêmes principes que ceux de la vision. Or peu de médecins connaissaient la physique ou y voyaient un intérêt pour l'étude du vivant.

C'est ainsi, qu'en 1900, Georges Hayem (1841-1935) écrivit à propos de la leucémie : « Le diagnostic dans des cas de ce genre ne présente réellement aucune difficulté, et, cependant, l'examen du sang est si communément dédaigné que les médecins ne le font pas toujours. Il n'y a pas longtemps, j'étais appelé à voir une malade atteinte de leucémie très avancée, avec splénomégalie énorme. L'examen du sang n'avait pas été pratiqué, mais un chirurgien des hôpitaux, appelé en consultation, avait ouvert le ventre pour voir quelle était la nature de la tumeur occupant la région de la rate. »⁴. L'examen était effectivement très simple et sans danger pour le patient, puisqu'il se faisait à partir d'une goutte de sang recueillie par piqûre au bout du doigt et déposée entre lame et lamelle⁵.

La leucémie et la naissance de l'hématologie

Si l'autonomisation de la leucémie eut peu de conséquences pour les patients, elle participa en revanche à la constitution d'une nouvelle spécialité médicale : l'hématologie.

¹ Piller G., *Leukemia - A brief historical review from ancient times to 1950*, Brit. J. Haemat., 112 : 282-292, 2001.

² Donné A., *Cours de microscopie complémentaire des études médicales*, J.B. Baillière, Paris, 1844, p. 3.

³ Simon G., « Image » in Lecourt D., ed., *Dictionnaire d'histoire et philosophie des sciences*, PUF, Paris, 1999. Moulin A.-M., « Instrument » in Lecourt D., ed., *Dictionnaire d'histoire et philosophie des sciences*, PUF, Paris, 1999.

⁴ Hayem G., *Leçons sur les maladies du sang*, Masson, Paris, 1900, p. 485.

⁵ Donné A., *Cours de microscopie complémentaire des études médicales*, J.B. Baillière, Paris, 1844. Jaccoud, ed., « leucocythémie » in *Nouveau dictionnaire de médecine et chirurgie pratiques*, J.B. Baillière et fils, 1875.

Cette entité pathologique étant une maladie constamment et assez rapidement mortelle, sa caractérisation eut peu de conséquences sur la prise en charge des patients. Le malade, arrivant à l'hôpital dans un état grave, ne recevait que quelques soins palliatifs, qu'on lui diagnostiquait une septicémie, un cancer ou une leucémie. Dans tous les cas, il entrait dans la catégorie des incurables. A ceci près que, dans le cas où une tumeur était présente, un chirurgien pouvait tenter de l'extraire.

La répartition des pouvoirs entre les médecins était remise en cause par ce point. En effet, sans la leucémie, l'ablation constituait la seule thérapeutique potentiellement active chez ces patients. La décision thérapeutique appartenait exclusivement aux chirurgiens. Une fois la leucémie reconnue, l'examen clinique du patient devait conduire à un examen de sang ; la décision thérapeutique passait dans les mains d'un hématologiste, qui pouvait éventuellement confier son patient à un chirurgien s'il jugeait qu'une ablation d'organe pouvait temporairement soulager le malade. Cet enjeu apparaît dans la citation de Georges Hayem et permet de comprendre que la constitution de l'hématologie comme spécialité médicale se soit étalée sur un siècle. La place centrale du sang dans l'organisme obligea cette discipline à rivaliser avec presque toutes les spécialités préexistantes.

En France, l'institutionnalisation de l'hématologie commença vers 1920 avec la généralisation de la pratique des examens de sang dans les laboratoires des hôpitaux et s'acheva en 1948 par la création de la Chaire de clinique des maladies du sang¹. Entre temps, Prosper-Emile Weil (1873-1963), Noël Fiessinger (1881-1946), Jacques Roskam (1890-1977) et Paul Chevallier (1884-1960) avaient créé la Société française d'hématologie, qui était présidée par Georges Hayem (1841-1933) et publiait ses travaux dans la revue *Le sang*.

Signalons que les instruments et les techniques occupèrent une place importante dans la coconstruction de l'identité des maladies du sang et de l'identité professionnelle des hématologistes².

Terminologie et théorie

Les maladies sont nommées en fonction de leurs symptômes, de leur localisation, de leur mécanisme ou de leur cause. En général, le critère le plus restrictif est choisi pour former un mot d'étymologie grecque ou latine.

Le terme allemand « leukämie », du grec *leukos* qui signifie « blanc lumineux, blanc éclatant » et *aima* qui veut dire « sang », fut introduit dans le vocabulaire médical par l'allemand Rudolf Virchow en 1847. Son premier article sur le sujet était intitulé « sang blanc ». Le mot fut d'abord traduit en français par « leukémie », puis rapidement francisé en « leucémie » ou « leucohémie »³.

Ce terme avait un inconvénient ; il risquait de faire confondre la nouvelle maladie avec un état très différent. Premièrement, le sang des leucémiques n'était pas blanc mais rouge. Deuxièmement, divers auteurs avaient observé, à la saignée, du sang réellement blanc, appelé

¹ Service d'histoire de la médecine de la Bibliothèque interuniversitaire de médecine, Fiche biographique de Paul Chevallier.

² Wailoo K., *Drawing blood : technology and disease identity in twentieth-century America*, The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1997.

³ Rey A., ed., *Dictionnaire historique de la langue française*, Le Robert, Paris, 1992, p. 1120-1121. Virchow R., *Zur pathologischen Physiologie des Blutes*, Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin, 1 : 563-572, 1847 cité par Debru C., « Les leucémies et l'inclassable » in *Philosophie de l'inconnu : le vivant et la recherche*, PUF, Paris, 1998, p. 197.

« sang blanc », « sang laiteux », « sang chyleux » ou « sang à sérum lactescent », lequel était mis en relation avec un excès de matières grasses dans le sérum¹.

Pour Rudolf Vichow, le mot leucémie était pertinent parce qu'il reflétait sa théorie physiopathologique. En effet, il expliquait la leucémie par un excès de précurseurs des globules rouges : les globules blancs². La leucémie était selon lui une maladie du sang lui-même, de ses cellules, et non la conséquence d'une maladie d'organe. Il souhaitait donc que le terme choisi pour désigner cette maladie rende compte de cette modification interne au sang à savoir son blanchissement relatif. Cette conception était également celle d'Alfred Donné : « En me rappelant que j'avais fréquemment observé un état analogue dans le sang d'individus chez lesquels on ne pouvait pas soupçonner la présence du pus, je suis plus porté à croire aujourd'hui que l'excès des globules blancs tient plutôt au défaut de transformation de ces globules en globules rouges, à une sorte d'arrêt dans l'évolution du sang, qu'à la présence de globules d'une nature étrangère, comme ceux du pus »³.

En 1851, John Bennett proposa de remplacer « leukaemia » par « leucocythemia », qui signifiait « excès de globules blancs dans le sang »⁴. Ce terme dérivait du mot « leucocyte », apparu dans les dictionnaires médicaux en 1855. Il s'écrivait en français avec ou sans la lettre « h »⁵.

John Bennett préférait leucocytémie car ce terme ne préjugait pas de l'origine de cette surabondance de cellules blanches. Il était en effet impossible de savoir si les cellules en surnombre provenaient du sang ou du pus. En 1844, Alfred Donné avait montré qu'il n'était pas possible de distinguer au microscope les deux types de globules : « je n'hésite pas à dire que dans l'état actuel de la microscopie, il ne nous est pas donné de constater l'existence du pus dans le sang d'une manière certaine, au moyen des globules de ce produit pathologique ; en d'autres termes, les globules du pus ne peuvent être distingués avec certitude des globules de forme et de structure analogues qui existent naturellement dans le sang, c'est-à-dire des globules blancs ; les globules du pus, quoique très différents, suivant moi, par leur origine et par leur véritable nature, des globules blancs du sang, ont une forme et une structure tellement semblables à ceux-ci, qu'on ne peut affirmer, en les voyant, à laquelle des deux espèces ils appartiennent. »⁶.

Ce terme avait lui aussi un désavantage ; il autorisait le regroupement de la nouvelle maladie avec des variations bénignes et transitoires du taux de leucocytes. Le même reproche pouvait être adressé à « leucémie ». C'est pour cela que Rudolf Virchow proposa en 1855 d'utiliser le mot « leucocytose » pour désigner les augmentations passagères du nombre de globules blancs du sang, qu'elles soient physiologiques ou pathologiques, et distinguer ainsi clairement cet état de l'altération morbide et permanente du nombre de leucocytes

¹ Nysten P.-H., « leucocythémie » in *Dictionnaire de médecine, chirurgie et pharmacie*, J.B. Baillière et fils, Paris, 1858. Dechambre A., ed., « leukémie » in *Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales*, G. Masson, Asselin et Cie, Paris, 1876.

² Debru C., « Les leucémies et l'inclassable » in *Philosophie de l'inconnu : le vivant et la recherche*, PUF, Paris, 1998, p. 198.

³ Donné A., *Cours de microscopie complémentaire des études médicales*, J.B. Baillière, Paris, 1844, p. 135-136.

⁴ Bennett J., *On leucocythemia, or blood containing an unusual number of blood corpuscles*, Monthly J. Med. Sci., 12 : 18, 1851 cité par Debru C., « Les leucémies et l'inclassable » in *Philosophie de l'inconnu : le vivant et la recherche*, PUF, Paris, 1998, p. 198.

⁵ *Dictionnaire de la langue du 19ième et du 20ième siècle, Trésor de la langue française*, Gallimard-CNRS, Paris, 1960, p. 1120-1122. Rey A., ed., *Dictionnaire historique de la langue française*, Le Robert, Paris, 1992, p. 1120-1121. Nysten P.-H., « leucocythémie » in *Dictionnaire de médecine, chirurgie et pharmacie*, J.B. Baillière et fils, Paris, 1858.

⁶ Donné A., *Cours de microscopie complémentaire des études médicales*, J.B. Baillière, Paris, 1844, p. 132.

caractéristique de la leucémie¹. Il fut rapidement accepté et est toujours utilisé avec la même signification²

Dans cette opposition entre globules du pus et globules du sang, poignait l'une des deux principales questions portant sur la nature et l'origine des cellules leucémiques, la question de savoir si les leucocytes en excès étaient des cellules normales, simplement en surnombre, ou des cellules anormales, c'est à dire, selon les auteurs, soit habituellement absentes du sang mais présentes dans d'autres organes, soit jamais observables dans l'organisme sain. Cette interrogation fut également centrale dans l'étude du cancer. L'autre grande question fut de savoir si celle-ci était une maladie du sang ou une maladie d'organes solides, autrement dit si les lésions du foie, de la rate ou des ganglions étaient responsables de l'augmentation des globules blancs ou consécutives à celle-ci.

Tant que l'on ne savait pas si la leucémie était une maladie d'organe ou du sang, s'il s'agissait de cellules du pus ou du sang, il n'y avait aucune raison objective de préférer l'un des termes à l'autre. Seule la prudence pouvait faire pencher la balance en faveur de « leucocytémie ».

Dans les années 1870, les travaux d'Ernst Neumann (1823-1918) firent de la leucémie une maladie de la moelle osseuse et dissocièrent la formation des globules rouges de celle de leurs homologues blancs³ L'idée d'une anomalie de développement chère à Rudolf Virchow fut conservée mais le déclenchement du mécanisme pathologique ne se situait pas dans le sang. Logiquement, le terme de John Bennett aurait dû alors l'emporter.

Pendant la seconde moitié du dix-neuvième siècle, les traductions des deux mots furent utilisées comme synonymes par les médecins français. L'emploi de « leucocythémie » était plus fréquent. Ce mot avait notamment la faveur des rédacteurs de dictionnaires, probablement parce que John Bennett était venu présenter ses travaux devant la Société française de biologie dès 1851⁴, peut-être aussi un peu par germanophobie au moment du conflit franco-prussien de 1870.

Ce fut pourtant « leucocytémie » qui disparut à la fin du dix-neuvième siècle. Le succès de « leucémie » nous semble lié à une meilleure euphonie et à un plus grand nombre de travaux de la part de l'école allemande. En effet, alors qu'entre 1844 et 1886, les auteurs publiant dans des revues allemandes étaient 1,4 fois plus nombreux que les auteurs publiant dans des revues britanniques, ce rapport passa à 2,1 entre 1887 et 1903 (voir annexe 1). Comme cette comparaison ne tenait pas compte de l'ensemble des publications sur la leucémie au niveau mondial, nous avons réparti les auteurs en deux groupes, dénommés zone d'influence allemande et zone d'influence britannique, regroupant respectivement les médecins les plus susceptibles d'employer le mot « leucémie » et ceux les plus susceptibles d'utiliser « leucocytémie ». C'est à dire que le premier groupe rassemble les auteurs germanophones et les auteurs publiant dans des revues d'Amérique du Nord, beaucoup de médecins américains étant alors formés en Allemagne et que le second groupe comprend les médecins français et ceux du Commonwealth. Alors que les auteurs de la zone d'influence allemande étaient aussi nombreux que ceux de la zone d'influence britannique durant la première période ; ils étaient 1,8 fois plus nombreux durant la seconde. Ce résultat s'accorde avec le précédent. D'une manière générale, les travaux de Rudolph Virchow eurent bien plus d'influence en médecine et biologie que ceux de John Bennett.

¹ Dechambre A., ed., « leucocytose » in *Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales*, G. Masson, Asselin et Cie, Paris, 1876.

² Delamare J., ed., *Dictionnaire des termes de médecine*, Maloine, Paris, 2002.

³ Debru C., « Les leucémies et l'inclassable » in *Philosophie de l'inconnu : le vivant et la recherche*, PUF, Paris, 1998, p. 204-205.

⁴ Bennett J., *De la leucocythémie ou du sang à globules blancs*, C. R. Soc. Biol., 3 : 46-51, 1852.

La leucémie aiguë aujourd'hui

La leucémie se définit aujourd'hui par un excès de cellules dans la moelle osseuse, résultant de la prolifération d'un précurseur des cellules sanguines. Nous ne nous intéresserons qu'aux leucémies aiguës, qui sont des « proliférations clonales médullaires d'apparition et d'évolution rapides ». L'adjectif clonal indique que les cellules en excès sont considérées comme provenant d'une seule cellule par division. Les leucémies forment avec les autres proliférations clonales touchant les organes hématopoïétiques (moelle, foie, rate, ganglions, thymus) un ensemble d'entités pathologiques considérées comme malignes qui constituent les objets d'intérêt d'une sous-discipline de l'hématologie : l'onco-hématologie. Les deux autres sous-disciplines de l'hématologie sont centrées, d'une part sur les anémies, d'autre part sur l'hémostase. Anémies et troubles de la coagulation sont généralement moins graves que les hémopathies malignes. Une partie de ces maladies sont soignées par le pédiatre, le gynécologue ou le médecin traitant ; elles nécessitent rarement une hospitalisation, contrairement aux « cancers du sang ». De ce fait, les services d'hématologie accueillent surtout des patients atteints de leucémies et lymphomes, ces derniers affectant les ganglions lymphatiques.

La leucémie aiguë touche 3.5 personnes sur 100 000 par an dans les pays occidentaux ; elle représente 10 % des cancers et constitue la première cause de décès par cancer chez les moins de 35 ans. Elle est mortelle sans chimiothérapie.

Le diagnostic est fortement soupçonné à partir de l'examen clinique. Pâleur, tachycardie, hémorragies et infections sévères révèlent un déficit en cellules sanguines fonctionnelles ou « insuffisance médullaire » ; un gonflement de la rate, des ganglions, du foie, des gencives ou encore des douleurs osseuses suggèrent le développement d'une ou plusieurs tumeurs. La concomitance d'une insuffisance médullaire et d'un syndrome tumoral oriente le diagnostic vers la leucémie aiguë. L'hypothèse est renforcée par l'observation de troubles neurologiques. Deux examens complémentaires de l'examen clinique sont alors pratiqués : un hémogramme et un myélogramme. La réalisation d'un hémogramme nécessite une simple prise de sang et peut être effectuée dans n'importe quel laboratoire d'analyses médicales ; il s'agit de compter le nombre de globules rouges et de globules blancs par unité de volume et de calculer le pourcentage de chaque type de globule blanc. Un excès de globules blancs et/ou la présence de leucocytes immatures renforcent l'hypothèse diagnostique. Généralement, l'hémogramme n'est plus réalisé à partir de frottis sanguins mais par un automate, lequel ne détecte pas les cellules immatures ou blastes mais ceci a peu de conséquences puisque l'appareil indique alors un excès de leucocytes. Le myélogramme, par contre, est réalisé dans un service d'hématologie. Il consiste en une biopsie de moelle osseuse, pratiquée par un médecin sous anesthésie locale. Le prélèvement permet la préparation d'un frottis médullaire qui, examiné par un cytologiste hématologiste, permet le calcul du pourcentage de chaque type cellulaire présent dans la moelle. Lorsque la moelle contient plus de 30 % de blastes, le diagnostic de leucémie aiguë est affirmé.

L'étiologie des leucémies aiguës est considérée comme essentiellement idiopathique. Quelques facteurs favorisants sont actuellement admis : les radiations ionisantes, les chimiothérapies, le benzène, d'autres dysfonctionnements de la moelle osseuse, une anémie hémolytique et la trisomie 21.

La classification des leucémies aiguës est fondée sur la classification des leucocytes normaux (voir annexe 2). Elle combine aujourd'hui des données cytologiques et immunologiques. Elle repose sur l'aspect morphologique des cellules qui prolifèrent et sur les marqueurs de surface qu'elles expriment et qui sont identifiés à l'aide d'anticorps

monoclonaux. Le type de leucémie est lié à la place du trouble dans l'arbre généalogique des cellules sanguines et immunitaires.

Les traitements actuels luttent contre la prolifération des leucoblastes, précurseurs des leucocytes, mais aussi et de façon encore plus urgente, contre les conséquences de l'envahissement de la moelle par ces cellules. Car la moelle ainsi envahie ne produit quasiment plus de cellules sanguines fonctionnelles. Il faut donc dépister anémie, infections, hémorragie, insuffisance rénale liée à la destruction accrue de cellules, et les traiter par des transfusions et l'administration d'antibiotiques, d'antiviraux, etc. On prévient le développement de nouvelles infections en hospitalisant le patient en chambre stérile. L'élimination des cellules cancéreuses se fait d'abord par polychimiothérapie. Celle-ci comprend deux phases : l'« induction » et la « post-induction ». L'induction a pour objectif l'obtention d'une « rémission complète », c'est à dire le retour à un sang et une moelle d'apparence normale. Elle nécessite environ un mois d'hospitalisation. Le choix du traitement, qui combine l'administration de plusieurs molécules différentes, dépend du type de leucémie et de l'âge du patient. La post-induction, qui dure de six mois à trois ans, vise à consolider la rémission et à éviter la rechute. Elle comprend des chimiothérapies « lourdes », semblables à celles de l'induction, des chimiothérapies « légères » pouvant être effectuées à domicile, ainsi que des greffes de moelle osseuse. Le recours à la greffe est réservé aux leucémies de mauvais pronostic et au traitement des rechutes. Il s'agit soit d'une allogreffe, lorsque les cellules proviennent d'un donneur apparenté ou non avec le malade, soit d'une autogreffe à partir de cellules du patient. La classification en mauvais ou bon pronostic dépend de l'âge, du type de leucémie, des anomalies chromosomiques et moléculaires associées, et des traitements précédents. Actuellement, l'induction permet d'obtenir une rémission complète dans 80% des cas et un tiers des patients sont encore en vie 5 ans après leur prise en charge médicale. Les meilleurs résultats concernent les leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant¹.

¹ Choquet S., *MedExpress Hématologie*, Editions ESTEM, Paris, 1999.

Chapitre 1. Jean Bernard et la leucémie : de sa thèse à la création de l'IRLMS (1936-1960)

Jean Bernard est né à Paris en 1907. Après avoir fréquenté le lycée Louis-le-Grand, il se laissa tenter par des études de médecine. Au cours de celles-ci, il fréquenta successivement les services de l'anatomo-pathologiste Fernand Widal à l'Hôpital Cochin, du chirurgien Antonin Gosset et du neurologue Jean-Athanase Sicard à l'Hôpital Necker¹. Nommé interne provisoire en 1928, c'est à dire devant repréparer le concours, il choisit un service proche de son domicile, le service du professeur Paul Chevallier, à l'Hôpital Beaujon, rue du Faubourg Saint-Honoré². Dermatologiste de formation, Paul Chevallier s'était intéressé aux maladies du sang au contact de Justin Jolly et de Prosper-Emile Weil³. Passionné et passionnant pour les uns, excessif et arrogant pour les autres, ce personnage hors du commun plut à Jean Bernard, qui le rejoignit comme interne à l'Hôpital Cochin trois en plus tard, puis comme assistant à l'Hôpital Broussais en 1943. A l'Hôpital Cochin, Paul Chevallier disposait d'une cabane-laboratoire, faite de planches et de toiles, où il élevait rongeurs et oiseaux⁴.

La première publication de Jean Bernard, parue en 1929, portait sur le traitement des anémies par le foie de veau. De 1923 à 1926, George Minot (1885-1950) et William Murphy (né en 1892) à Boston, avaient soumis 45 patients atteints d'anémie pernicieuse à un régime riche en foie et l'état de ces patients condamnés s'était considérablement amélioré⁵.

De 1929 à 1933, Jean Bernard publia surtout avec Paul Chevallier, principalement sur les adénopathies inguinales. Parallèlement, il travailla à partir de 1930 sur un sérum antidiphthérique avec Gaston Ramon et Robert Debré⁶. Ce dernier travaillait alors à l'Hôpital Beaujon, comme Paul Chevallier⁷. Quant à Gaston Ramon, vétérinaire de formation, il était chercheur à l'Institut Pasteur où Jean Bernard avait suivi le « grand cours » de microbiologie⁸.

Ses autres « patrons » d'internat furent successivement le médecin légiste Maurice Duvoir, l'infectiologue André Lemierre, le dermatologue Charles Flandin avec qui il travailla sur les intoxications, Léon Bernard, et les pédiatres Robert Debré et Pierre Lereboullet⁹.

¹ Bernard J., *Médecin dans le siècle*, Robert Laffont, Paris, 1994, p. 31-41.

² Entretien avec Jean Bernard, 25.09.1998.

³ Anonyme, *Paul Chevallier (1884-1960)*, Soc. Méd. Hôp. Paris, 16.12.1960, p. 1326-1330, 1960.

⁴ Bernard J., *Médecin dans le siècle*, Robert Laffont, Paris, 1994, p. 82.

⁵ Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea and Febiger, Philadelphie, 1985, p. 69.

⁶ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

⁷ Archives de l'APHP, logiciel Miramion.

⁸ Bernard J., *Médecin dans le siècle*, Robert Laffont, Paris, 1994, p. 71.

⁹ Bernard J., *Polyglobulies et leucémie provoquées par des injections intramédullaires de goudron*, Thèse de médecine, G. Doin, Paris, 1936. Archives de l'APHP, logiciel Miramion. Huguet F., *Les professeurs de la faculté de médecine de Paris (1794-1939)*, INRP - Editions du CNRS, Paris, 1991.

Sa thèse sur une leucémie expérimentale chimio-induite

Jean Bernard publia en 1936 sa thèse de médecine sur l'effet de l'injection intramédullaire de goudron chez le rat. Inspirées et dirigées par James Reilly, ces recherches furent menées à l'Hôpital Claude Bernard, dans le laboratoire de la chaire de Clinique des maladies infectieuses d'André Lemierre¹.

Les expériences entreprises par Jean Bernard avaient pour objectif de confirmer l'inscription de la leucémie dans le groupe des processus néoplasiques. L'action cancérigène du goudron était soupçonnée de longue date parce que ses utilisateurs souffraient fréquemment de cancers. Elle avait été confirmée, en 1915, par les japonais Yamigawa et Ichigawa, lesquels avaient obtenu des cancers de la peau chez des lapins en leur badigeonnant les oreilles avec du goudron. Au cours des années 1920, de nombreux oncologues décrivent d'autres tumeurs déclenchées par l'application de goudron sur les muqueuses ou faisant suite à l'injection intrapéritonéale de cette substance. Si des leucémies pouvaient être provoquée par le goudron, cela rapprocherait cette maladie du cancer.

Les caractéristiques cliniques et cytologiques de la leucémie n'ayant pas permis de clore le débat sur son éventuelle nature néoplasique, on attachait dans les années 1930 beaucoup d'importance aux arguments étiologiques et en particulier expérimentaux. Au début du siècle, une étiologie virale avait été démontrée pour une leucémie et un cancer aviaires (voir chapitre 2). Les chercheurs danois qui avaient réussi à transmettre une leucémie des poules par des extraits acellulaires, avaient aussi obtenu quelques sarcomes. L'intrication de leucémies et de sarcomes chez des animaux soumis à un seul agent causal constituait un argument fort en faveur de la nature cancéreuse de la leucémie. Mais les extraits pouvaient aussi contenir deux virus, l'un cancérigène, l'autre leucémogène. D'où l'intérêt de savoir si un cancérigène chimique provoquait également les deux types d'affections. Les chercheurs danois avaient ainsi injecté du goudron dans la moelle osseuse de poulets. Ces injections avaient été à l'origine d'érythroblastoses et de leucoses ; le goudron provoquait donc des leucémies chez la poule. Une expérience similaire avait été menée ailleurs avec succès chez la souris à l'aide de constituants du goudron tels que le benzol ou l'indol. Des leucémies chimio-induites pouvaient donc, comme les cancers, être obtenues chez les Mammifères.

Jean Bernard eut pour mission de reproduire cette expérience. Il utilisa du goudron, beaucoup plus facile à obtenir que ses extraits cancérigènes, et des rats blancs de laboratoire, plus gros que des souris et donc plus faciles à manipuler. D'autant plus que les rats furent traités jeunes, d'une part, parce qu'ils se montrèrent alors plus sensibles au poison, d'autre part, parce que leur squelette était plus facile à percer. Jean Bernard dut d'ailleurs fabriquer lui-même des aiguilles suffisamment rigides pour traverser le fémur des rats. La ponction de moelle osseuse avait récemment été introduite dans les hôpitaux mais pas dans les laboratoires.

Sur les 354 rats traités, 84% développèrent une augmentation notable des globules sanguins. Cependant, cette augmentation affectait toutes les cellules sanguines et touchait préférentiellement les globules rouges. Chez 9 rats seulement, l'état du sang et de la moelle correspondit aux critères habituels de la leucémie. De plus, le tableau clinique était moins marqué chez le rat que chez l'homme. Les rats leucémiques n'avaient pas de fièvre et ni leur rate ni leurs ganglions n'étaient gonflés.

Jean Bernard fit aussi quelques essais avec d'autres Mammifères. Il obtint des syndromes comparables chez le rat sauvage et la souris, ainsi que des troubles d'interprétation plus difficile chez le cobaye, le poulet et un singe. En revanche, rien de particulier ne fut constaté chez le chat, le chien ou le lapin. Malgré la diversité des résultats obtenus, ces

¹ Bernard J., *Médecin dans le siècle*, Robert Laffont, Paris, 1994, p. 86.

expériences constituèrent un argument supplémentaire en faveur de la nature néoplasique des leucémies.

Cherchant à savoir si cette leucémie chimio-induite faisait intervenir un agent infectieux, Jean Bernard essaya également de transmettre de rat à rat la leucémie provoquée par le goudron. Ce dernier s'était montré leucémogène chez des poules connues pour leur leucémie transmissible par un extrait acellulaire. La présence de goudron provoquait donc peut-être l'apparition ou l'activation d'un principe cancérogène. Les résultats de ces tentatives furent négatifs : « Nous avons à différentes reprises tenté de transmettre de rat à rat la myélopathie provoquée par le goudron : que l'on injectât le sang, des émulsions de moelle ou de rate, les tentatives conduisirent à autant d'échecs. Ces insuccès semblent s'inscrire assez formellement contre l'hypothèse de la nature infectieuse de la maladie des rats ; tout au moins ils permettent d'exclure l'intervention d'un germe banal »¹.

Initialement, Jean Bernard pensait, comme son maître Paul Chevallier, que la leucémie était une maladie infectieuse et non un cancer. Sa thèse le conduisit à séparer la nature des leucémies de leur étiologie, laquelle pouvait faire intervenir différents agents. Il écrit : « conception néoplasique et conception toxi-infectieuse des leucémies ne sont pas inconciliables. (...) Il semble légitime de concevoir les leucémies comme un sarcome spécial du tissu conjonctif sanguin reconnaissant habituellement une origine infectieuse, parfois une cause toxique. »².

Sur le plan pratique, deux applications de ce travail furent envisagées. La première concernait la mise au point d'un modèle animal de la maladie humaine : « on peut espérer, en modifiant les conditions expérimentales, approcher plus encore des caractères des leucémies humaines et un jour peut-être reproduire chez le rat avec le goudron une maladie en tout identique à la polyglobulie ou à la leucémie de l'homme »³. La seconde conséquence pratique était inattendue vis à vis des objectifs de la thèse ; elle avait trait à la recherche d'un traitement de l'aplasie médullaire, une insuffisance de la production de cellules sanguines par la moelle osseuse. On savait qu'à doses minimales le benzol provoquait chez l'animal des hyperplasies et qu'à doses importantes il déclenchait des aplasies. L'utiliser chez l'homme pour remédier à l'aplasie, signifiait donc risquer d'aggraver cette maladie. Or, avec le goudron, Jean Bernard n'observa que des hyperplasies. Il n'appliqua cependant pas ce nouveau traitement pendant sa thèse car il ne rencontra pas, au cours de celle-ci, de « cas désespéré »⁴. Un tel cas se présenta peu de temps après, mais l'injection de goudron n'en modifia pas l'évolution⁵.

Cette technique s'étant révélée sans danger, à la fois pour le rat et pour l'homme, elle servit ensuite, non seulement à porter au contact de la moelle des substances actives, mais aussi à administrer des produits variés dans des cas où les veines étaient difficilement accessibles, essentiellement chez les jeunes enfants et les brûlés.

¹ Bernard J., *Polyglobulies et leucémie provoquées par des injections intramédullaires de goudron*, Thèse de médecine, G. Doin, Paris, 1936, p. 163.

² Bernard J., *Polyglobulies et leucémie provoquées par des injections intramédullaires de goudron*, Thèse de médecine, G. Doin, Paris, 1936, p. 162.

³ Bernard J., *Polyglobulies et leucémie provoquées par des injections intramédullaires de goudron*, Thèse de médecine, G. Doin, Paris, 1936, p. 159.

⁴ Bernard J., *Polyglobulies et leucémie provoquées par des injections intramédullaires de goudron*, Thèse de médecine, G. Doin, Paris, 1936.

⁵ Bernard J., Codvelle, Guichene, *Aleucémie hémorragique. Essai de traitement par les injections intramédullaires de goudron*, *Le sang*, 10 : 777, 1936.

En attendant l'unité de lieu

De 1935 au début de la guerre, Jean Bernard publia surtout sur les maladies des enfants, avec les pédiatres de l'Hôpital Hérold, Robert Debré, Maurice Lamy et Julien Marie, puis avec leurs confrères de l'Hôpital Saint-Vincent de Paul, Pierre Lereboullet et Marcel Lelong¹.

Pendant la guerre, Jean Bernard fit partie de plusieurs ambulances chirurgicales, dont celle de son ami Jean Gosset, avec qui il utilisa les sulfamides pour traiter les plaies des soldats. Résistant, arrêté par la Gestapo, il passa une grande partie de l'année 1943 à la prison de Fresnes, avant de rejoindre Paul Chevallier à l'Hôpital Broussais. Puis il servit comme médecin dans l'armée de l'Atlantique².

En 1946, Jean Bernard réussit le concours de Médecin des Hôpitaux et fut chargé de consultation dans le service de Julien Marie, successeur de Robert Debré à l'Hôpital Hérold, place Rhin et Danube. Les activités de ce service de pédiatrie avaient considérablement changé pendant la guerre ; l'introduction de la pénicilline et des sulfamides permettait de soigner nombre d'enfants atteints de maladies infectieuses, lesquels étaient auparavant condamnés par une infection intestinale, une méningite, etc... La situation des petits leucémiques contrastait désormais fortement avec celle des autres enfants malades. Jean Bernard décida alors de consacrer ses travaux à cette maladie³.

En plus de sa consultation à l'Hôpital Hérold, Jean Bernard exerça la fonction de chef de clinique dans le service de Robert Debré, à l'Hôpital des Enfants-Malades, jusqu'à ce qu'il soit nommé chef de service en 1954⁴.

Parallèlement, Marcel Bessis (1917-1994) lui obtint un petit laboratoire, une laborantine à mi-temps, un garçon pour les lapins et les souris, et du matériel, au Centre national de transfusion sanguine et de recherches hématologiques, créé en 1937 par Arnault Tzanck à l'Hôpital Saint-Antoine⁵. Les deux hommes se connaissaient depuis peu. Recruté en 1939 par Arnault Tzanck, Marcel Bessis s'était engagé dans le corps de l'armée française africaine⁶. A son retour des Campagnes d'Italie et de France, il obtint son diplôme de médecine et demanda conseil à Jean Bernard pour son orientation en hématologie. Leurs discussions les conduisirent à envisager un travail commun sur les leucémies animales⁷.

Ils eurent de grandes difficultés à se procurer des animaux d'expériences qu'ils jugeassent adéquats. Ils hésitèrent entre les « leucoses génotypiques » des souris et les « leucoses toxiques » des rats. Pour les études étiologiques, Jean Bernard suggéra de faire venir de l'étranger une « vraie leucémie » de la souris ; les syndromes des souris de Maurice Guérin, chercheur à l'Institut du cancer à Villejuif, lui semblant ambigus⁸. Ce dernier venait d'obtenir, par l'injection d'extraits filtrés de foie de souris présentant une réticulo-endothéliose, le développement, chez les souris inoculées, de plusieurs maladies apparentées : granulomatose pseudo-leucémique, sarcome sous-cutané et réticulo-endothéliose⁹. Ces termes

¹ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

² Bernard J., *Médecin dans le siècle*, Robert Laffont, Paris, 1994, p. 105-117.

³ Bernard J., *Médecin dans le siècle*, Robert Laffont, Paris, 1994, p. 126-129.

⁴ Archives de l'APHP, cote 773 Foss 2, Personnels médecins. Archives de l'APHP, logiciel Miramion.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 01.10.1946. Soulier J.P., *Arnault Tzanck (1884-1954)*, Sem. Hôp. Paris, 26-30 août 1954, p. 3027-3028.

⁶ Fonds Bessis, *Titres et travaux de Marcel Bessis*, 1976.

⁷ Entretien avec Jean Bernard, 19.02.1999.

⁸ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 04.10.46.

⁹ Guérin M., *Recherches expérimentales sur les leucémies et les tumeurs du système réticulo-endothélial*, Rev. Hémat., 2 (1) : 13-36, 1947.

méritaient quelques explications. Vers 1910, fut décrit un nouveau type de globule blanc, le monocyte, distinct des lymphocytes et des granulocytes. Le monocyte possédait deux caractéristiques communes avec les histiocytes, cellules de la paroi des vaisseaux sanguins et des organes hématopoïétiques : la fonction phagocytaire et la fixation d'un colorant. Ceci conduisit Ludwig Ashoff (1866-1942), en 1924, à rassembler ces cellules, histiocytes et monocytes, sous l'expression de « système réticulo-endothélial ». La « réticulo-endothéliose » fut décrite comme une augmentation dans le sang ou la moelle de cellules monocytaires. Mais selon les auteurs, il s'agissait soit d'une leucémie, soit d'une réaction du système d'Aschoff à une infection aiguë, d'où l'embarras de Jean Bernard¹.

Ce dernier contacta le danois Julius Engelbreth-Holm, qui avait réussi la transmission par des extraits acellulaires de la leucémie murine Ak² et Marcel Bessis écrivit au docteur K. Randall, du Guy's Hospital de Londres³. Son collègue Peter Gorer, avait obtenu une leucémie transmissible en inoculant des extraits d'un sarcome de souris albinos à des souris noires de la lignée C57, lignée à faible taux de leucémie spontanée⁴. En 1947, K. Randall envoya 6 femelles et 3 mâles sains C57, de manière à créer à Paris un élevage. Il fut convenu que lorsque la lignée serait établie, il enverrait des « souris inoculées de leucoses » et des « détails expérimentaux »⁵. Malheureusement, l'année suivante Julius Engelbreth-Holm soupçonna fortement tous les extraits dits acellulaires, utilisés dans les expériences de transmission de la leucémie murine, d'être contaminés par des cellules vivantes⁶. Quant aux rats permettant d'étudier les leucémies provoquées indépendamment des leucémies familiales, ils ne parvinrent pas à s'en procurer⁷.

En 1947, la Transfusion sanguine projeta de construire à l'Hôpital Saint-Antoine, une annexe dédiée aux recherches. Marcel Bessis y avait prévu trois petits laboratoires s'occupant des leucémies : un pour Jean Bernard, un pour les cultures de tissus leucémiques, et un pour l'étude de l'immunité dans les leucémies⁸.

Recherches sur la pathologie des leucémies aiguës

Dans les années 1940, la leucémie aiguë était soupçonnée à partir des signes cliniques : principalement, l'hypertrophie d'organes hématopoïétiques (ganglions, rate, foie), des hémorragies, la pâleur et des infections. Mais c'était l'examen du sang qui fondait le diagnostic. Il y avait leucémie aiguë lorsque le sang contenait un nombre anormalement élevé de globules blancs et, parmi eux, un nombre anormalement élevé de formes immatures. La leucémie était donc caractérisée au niveau histologique et cytologique, par des anomalies quantitatives. Le type de leucémie dépendait de la classification des globules blancs normaux, laquelle reposait sur leur aspect au microscope (forme et taille du noyau, couleur et densité des granulations) après coloration et fixation.

¹ Debru C., *Philosophie de l'inconnu : le vivant et la recherche*, PUF, Paris, 1998, p. 232-239.

² Engelbreth-Holm J., Frederiksen O., *Transmission de la leucose des souris à des animaux neufs au moyen d'une substance exempte de cellules*, C. R. Soc. Biol., 129 : 101-104, 1938.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 03.12.1946.

⁴ Engelbreth-Holm J., *Is it possible to transmit or accelerate the development of mouse leukemia by tissue extracts ?*, Blood, 3 : 862-866, 1948.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., lettre de Randall K.J. à Bernard J., 14.01.1947.

⁶ Engelbreth-Holm J., *Is it possible to transmit or accelerate the development of mouse leukemia by tissue extracts ?*, Blood, 3 : 862-866, 1948.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 07.02.1947.

⁸ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 05.05.1947.

Etudes cytologiques

Le diagnostic n'était pas encore systématiquement basé sur l'analyse de frottis médullaires. La ponction sternale avait été mise au point vers 1930 et s'était rapidement répandue dans les hôpitaux¹. Cependant, la biopsie de moelle osseuse ou de rate était réservée aux cas ne présentant pas de modifications sanguines².

Les frottis médullaires n'étaient pas faciles à interpréter parce que les prélèvements contenaient un mélange de sang et de moelle. En 1942, Jean Bernard utilisa la méthode d'Eduardo Storti. Ce dernier séparait la moelle du sang après ponction en déposant l'échantillon sur un verre de montre et en aspirant le sang avec un buvard, puis il récupérait de petits fragments médullaires. Jean Bernard obtint des myélogrammes comparables à ceux de son collègue italien. Il publia une note dans *Le sang* sous le nom de son épouse pendant son emprisonnement à Fresnes³.

La pratique plus fréquente des ponctions médullaires montra que la maladie était dépourvue de manifestations sanguines plus souvent et pendant des périodes plus longues qu'on ne le pensait précédemment. Dans une conférence donnée en décembre 1947 à l'Hôpital des Enfants malades, Jean Bernard déclara : « La leucémie aiguë, depuis que nous savons mieux la reconnaître, assez souvent n'est pas leucémique (ce qui a conduit à préférer le terme plus compréhensif de leucose à celui de leucémie) et parfois n'est pas même aiguë, étendant son évolution sur plusieurs mois. »⁴.

En douze ans, il avait personnellement étudié 150 cas, ce qui faisait de la leucémie aiguë une affection relativement fréquente. Concernant le diagnostic, il tira de son expérience les conclusions suivantes. Dans 30% des cas, le diagnostic avait été facile ; les symptômes formant le « syndrome hémopathie aiguë » suffisant à identifier la maladie. Dans 40% des cas, elle s'était manifestée par des signes isolés et avait été confirmée par l'examen du sang et de la moelle. Pour les 30% restants, la maladie avait commencé par des troubles peu évocateurs tels qu'une fatigue modérée ou une rhinopharyngite. L'examen du sang de ces 150 patients avait montré l'association, la plupart du temps, d'une leucocytose (augmentation du nombre de globules blancs d'aspect mûr) et d'une leucoblastose (augmentation du nombre de globules blancs d'aspect immature), accompagnées d'une anémie.

Les leucoblastes, globules blancs de grande taille, au noyau volumineux et quasiment dépourvus de granulations, représentaient généralement plus de 50% des globules blancs, les autres étaient des leucocytes apparemment normaux. L'absence d'intermédiaires entre ces cellules jeunes et ces cellules adultes était appelée « hiatus leucémique ». Les leucoblastes, à l'observation, étaient généralement anormaux : tantôt leur cytoplasme était réduit, tantôt il contenait des vacuoles ou des inclusions inhabituelles mais surtout leur noyau était fissuré ou possédait des prolongements ou de volumineux nucléoles. Ceci était en accord avec les travaux de Paul Chevallier, de Marcel Bessis et de Jacques Mallarmé. Par comparaison avec les leucoblastes normaux, l'état du noyau et du cytoplasme de leurs homologues leucémiques donnaient l'impression d'un « asynchronisme de développement nucléoplasmique ».

Comme ses collègues, Jean Bernard essaya de distinguer les leucoblastes. Il ne parvint à différencier avec certitude que les « hémocytoblastes », sans aucune granulation, et les « myéloblastes », contenant quelques granules fixant le colorant bleu. La catégorie « lymphoblastes », proposée par P. Cazal de la Faculté de médecine de Montpellier, et la catégorie « leucoblastes monocytoïdes » ne lui semblaient pas devoir être retenues, car il

¹ Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1985, p. 58.

² Jolly J., *Le sang dans la vie de l'organisme*, Flammarion, Paris, 1946, p. 223.

³ Bernard-Pichon A., *A propos du myélogramme*, *Le sang*, 15 : 360, 1942-1943.

⁴ Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, *Sem. Hôp. Paris*, 24 (23) : 730-736, 1948, p730.

craignait qu'on ne prenne certaines altérations pour des éléments de leucocytes matures. Le petit nombre de critères cytologiques ou cytochimiques disponibles n'avait pas permis aux hématologistes de déterminer avec certitude les liens de parenté unissant les cellules sanguines (voir annexe 3.).

La principale conclusion de ce bilan fut que le diagnostic de la leucémie aiguë devait reposer sur l'examen de la moelle, lequel révélait dans la grande majorité des cas une leucoblastose comprise entre 90 et 95%. Les exceptions étaient de trois types : les débuts à leucoblastose plus faible ou à point de départ extramédullaire, les leucémies aiguës à cellules adultes dont il n'avait observé que deux cas, et les débuts identiques à des insuffisances médullaires récemment décrits par Georges Marchal (né en 1892). Il était de ce fait difficile de prendre une décision thérapeutique vis-à-vis de ces dernières car un traitement visant à stimuler l'hématopoïèse risquait d'aggraver une éventuelle leucémie.

Jean Bernard attira aussi l'attention sur le fait qu'un myélogramme normal pouvait correspondre à une moelle normale mais aussi à une rémission ou à un prélèvement dans une zone non encore envahie par les cellules leucémiques¹. Ces remarques prirent une importance considérable avec la multiplication des essais de traitement, à partir de 1948. Avant que l'on ne sache provoquer des rémissions, il était rare d'obtenir un myélogramme normal à partir d'une moelle pathologique. Par contre, pour savoir si les rémissions provoquées permettaient le retour à une moelle normale, il fallait être sûr qu'un myélogramme normal corresponde à une moelle normale.

En 1951, Georges Mathé et Jean Bernard entreprirent l'étude de ponctions osseuses réalisées simultanément dans différents os chez 20 leucémiques en rémission et 15 leucémiques non encore traités. Georges Mathé (né en 1922) avait fait ses études de médecine à Paris après avoir fréquenté le Lycée Banville de Moulins dans l'Allier². Il avait été l'interne de Paul Chevallier quand Jean Bernard était son assistant³. Titulaire d'un certificat de biochimie, il avait ensuite travaillé pendant son internat sur le métabolisme de l'eau avec Jean Hamburger, à l'Hôpital Broussais ; parallèlement, il avait officié à mi-temps dans le service du physiologiste Léon Binet (1891-1971). En 1951, il obtint une quatrième année d'internat, qu'il passa chez Robert Debré et où il retrouva Jean Bernard⁴.

Les ponctions osseuses multiples réalisées par Georges Mathé et Jean Bernard montrèrent dans la plupart des cas un envahissement leucémique comparable d'une zone à l'autre. Mais, dans deux cas, ils observèrent d'importantes différences entre les divers secteurs médullaires d'un même individu et nommèrent ce phénomène « discordance des moelles leucémiques ». Un seul myélogramme normal ne permettait donc ni d'éliminer le diagnostic de leucémie, ni d'affirmer la rémission « complète » clinique, sanguine et médullaire⁵. Toutefois, l'étude ultérieure des organes de deux patients morts accidentellement en rémission thérapeutique complète, ne révéla aucune lésion leucémique dans la moelle, la rate, les ganglions ou le foie. Un myélogramme normal semblait donc correspondre à la disparition de l'organisme de la majeure partie des cellules leucémiques.

L'étude systématique des myélogrammes et des hémogrammes fut également mise à profit pour analyser les relations entre les cellules de la lignée rouge et les cellules de la lignée

¹ Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 24 (23) : 730-736, 1948.

² Who's who in France.

³ Entretien avec Georges Flandrin, 1999.

⁴ Mathé G., autobiographie non publiée, 24.02.2001. Fonds IUH, article 16, Georges Mathé : titres et travaux, 1978.

⁵ Bernard J., Mathé G., *La discordance des moelles au cours des leucoses aiguës*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, (29-30) : 1285, 1951.

blanche, en cours d'évolution, de rémission et de rechute. Jean Bernard compara la quantité d'érythroblastes médullaires et le nombre de globules rouges circulants. Il constata l'absence de relation entre ces quantités pendant la phase évolutive et nomma ce phénomène « discordance érythrocytaire ». Il chercha aussi à relier le degré de leucoblastose médullaire et le taux sanguin d'hématies. Là encore, il y avait « discordance ». En effet, alors que la période évolutive initiale était toujours accompagnée voire précédée d'une anémie, celle-ci était rare pendant les rechutes¹. L'étude des autres lignées cellulaires sanguines pouvait donc aider à caractériser des périodes de l'évolution de la maladie.

Le développement des essais thérapeutiques eut pour autre conséquence de rendre nécessaire la classification des leucoblastes. Auparavant, cette classification était jugée trop peu précise pour être digne d'intérêt, d'autant plus qu'il n'y avait pas de lien évident entre les formes cliniques et les types cellulaires. Or l'efficacité des premiers médicaments de la leucémie aiguë semblait dépendre de la forme cytologique de la maladie. Le regroupement des patients en fonction des cellules impliquées devenait donc nécessaire à l'évaluation des traitements. Par ailleurs, la comparaison des résultats des essais réalisés dans différents services d'hématologie impliquait l'emploi d'une unique méthode d'examen et de détermination des leucoblastes.

En 1953, Jean Bernard écrivait au sujet des relations entre cytologie et thérapeutique : « L'inégale sensibilité des leucémies aiguës aux tentatives thérapeutiques est pour une part fonction de la cytologie. Il est souvent difficile d'identifier la nature myéloblastique, lymphoblastique ou monocytaire d'une leucémie aiguë. A ce classement histogénétique on doit préférer un classement purement morphologique »². Il distinguait les « leucémies à leucoblastes moyens sans grains » pour lesquelles on obtenait très fréquemment des rémissions, les « leucémies à grands leucoblastes sans grains » donnant des rémissions fréquentes, les « leucémies à petits leucoblastes » à rémissions assez fréquentes, les « leucémies à grands leucoblastes avec grains » et les « leucémies à leucoblastes monocytoïdes » pour lesquelles les rémissions faisaient exception, ainsi que les « leucémies à monocytes » et les « leucémies à cellules réticulaires » insensibles aux traitements disponibles³. Cette classification provisoire était destinée à faciliter rapidement la prise en charge médicale des patients leucémiques.

A partir de 1954, les techniciens du service d'hématologie de l'Hôpital Hérold furent chargés de classer chaque « cellule leucosique » de frottis dans l'une des six variétés suivantes : hémocytoblaste, lymphoblaste, promyélocyte, monoblaste et cellule leucosique monocytoïde. Ils utilisèrent la méthode d'Artur Pappenheim basée sur les colorations de May, Grünwald et Giemsa, couramment utilisée. Cinq ans plus tard, le sang et la moelle de 100 patients, 80 enfants et 20 adultes arrivés sans traitement et d'évolution terminée, avaient été examinés. Georges Mathé, Jean Bernard et J. Meaume en analysèrent les résultats. De 1952 à 1954, Georges Mathé avait travaillé avec Joseph Burchenal et David Karnofsky, au Sloan-Kettering Institute de New York, grâce à une bourse du National Institute of Health américain. A son retour, il avait rejoint Jean Bernard à l'Hôpital Hérold⁴. Cette étude montra la coexistence quasi-systématique, chez un même malade, des six types de cellules. En regroupant les cas en fonction du leucoblaste majoritaire, cinq formes de leucémies aiguës furent mises en évidence, l'hémocytoblaste n'étant jamais dominant. Ces cinq formes se présentèrent avec la même fréquence chez l'adulte ; par contre, les enfants souffraient

¹ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

² Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953, p.83.

³ Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953.

⁴ Mathé G., autobiographie non publiée, 24.02.2001. Fonds IUH, article 16, Georges Mathé : titres et travaux, 1978.

généralement de leucémie aiguë lymphoblastique. Pour trois variétés cytologiques, une correspondance put être établie avec une forme clinique : la variété lymphoblastique était plus fréquemment que les autres associée à des hypertrophies ganglionnaires, la variété monoblastique à une atteinte des gencives et la variété promyélocytaire à des hémorragies. Seule la forme lymphoblastique se montrait sensible aux traitements. L'analyse de ce groupe de patients permit en outre de dégager un facteur de pronostic : plus la leucocytose initiale était importante, plus l'évolution de la maladie était rapide¹.

Etudes biochimiques

Tant que la cause d'une maladie n'est pas connue et n'oriente pas les recherches sur le mécanisme pathologique, toute nouvelle technique ou concept susceptible de révéler des anomalies est digne d'intérêt. Ce qui n'empêche pas les recherches menées au laboratoire d'être orientées par les essais de traitement, comme le montrera le sous-chapitre consacré à ces derniers.

Sous la direction de Léon Binet et avec Georges Mathé et G. Wellers, Jean Bernard étudia la glutathionémie² de 53 cas de leucémies aiguës, pendant et après leur traitement. Dans tous les cas de leucémies aiguës non traitées, ils constatèrent une forte augmentation du rapport entre le nombre d'érythrocytes et la concentration en glutathion total, comme cela avait été montré dans d'autres cancers. Ils cherchèrent sans succès une relation entre l'élévation de ce rapport et le taux de leucocytes du sang ou de leucoblastes de la moelle. Dans tous les cas également, ils constatèrent une forte augmentation du rapport entre la quantité de glutathion oxydé et celle de glutathion total (0,40 contre 0,135), qui s'observait aussi dans certains cas d'insuffisance surrénale et hypophysaire³.

Etudes isotopiques

La circulation des leucocytes dans l'organisme

Divers phénomènes physiologiques furent explorés à l'aide de marqueurs radioactifs. Les premiers travaux de Jean Bernard dans ce domaine furent réalisés avec le médecin-colonel Julliard, responsable du service de Santé militaire, et ses collaborateurs. Ils transfusèrent des hommes leucémiques et des volontaires sains avec des leucocytes marqués *in vitro* au phosphore radioactif, de manière à comparer la circulation des leucocytes dans l'organisme sain et malade. Des quantités équivalentes de l'isotope radioactif furent injectées en solution à d'autres leucémiques, afin de s'assurer que le phosphore 32 des globules blancs marqués *in vitro* restait bien fixé à ces cellules.

L'expérimentation fut menée en parallèle chez le lapin, chez qui ils montrèrent que les leucocytes s'arrêtaient dans le poumon dès les premières minutes et que les plaquettes faisaient de même dans la rate. Des recherches sur la circulation des leucocytes avaient été réalisées par d'autres équipes mais avec des cellules ne provenant pas du receveur. Du fait des

¹ Mathé G., Bernard J., Meaume J., *Les variétés cytologiques des leucoses aiguës*, Rev. Hématol., 14 (1) : 41-61, 1959.

² Le glutathion est considéré aujourd'hui comme un tripeptide à rôle antioxydant, présent en concentrations élevées dans presque toutes les cellules.

³ Bernard J., Binet L., Wellers G., Mathé G., *La glutathionémie au cours des leucoses aiguës*, Presse médicale, 60 : 961-964, 1952.

incompatibilités tissulaires entre individus, il était difficile d'en inférer sans réserves la physiologie normale¹.

Quelques années plus tard, des expériences comparables furent menées chez l'animal par Georges Mathé, Jean Bernard et Jacques Lissac, du Centre de réanimation respiratoire de l'Hôpital Claude Bernard. Ils marquèrent les leucocytes à l'aide d'un marqueur fluorescent : la quinacrine. Les doses utilisées étaient jugées non toxiques pour les leucocytes parce qu'elles ne modifiaient ni le chimiotactisme ni la phagocytose. Le marquage persistait au moins 48 heures, *in vitro* ou *in vivo*, et résistait au lavage des cellules. Le marquage de tous les globules pouvait en outre être vérifié au microscope à fluorescence. Les lapins auto-transfusés avec leurs leucocytes marqués *in vitro* étaient sacrifiés à des délais variables, entre dix minutes et 48 heures après l'injection. Un prélèvement sanguin effectué juste après la transfusion et suivi de numération permettait de calculer le pourcentage de leucocytes fluorescents présents dans le sang au début de l'expérience. Des biopsies étaient ensuite réalisées sur tous les viscères pour y déterminer le nombre de leucocytes marqués. Au cas où les globules auraient été altérés *in vitro*, la même expérience était reproduite en injectant directement la quinacrine dans la moelle tibiale. Ces expériences montrèrent que 80% des leucocytes marqués, polynucléaires et lymphocytes, quittaient le sang périphérique dans les quinze premières minutes. Ils se retrouvaient ensuite au niveau des poumons puis de la rate et un peu dans d'autres organes. D'autres auteurs avaient fait du poumon un important réservoir leucocytaire ; leurs travaux indiquaient que le séjour des globules blancs dans les poumons était temporaire².

L'anémie des leucémies

Jean Bernard et Georges Mathé s'intéressèrent à l'anémie des leucémies aiguës. Était-elle due à une production insuffisante de globules rouges, à leur destruction précoce ou à un autre dysfonctionnement ?

Ces recherches furent menées en collaboration avec Georges Schapira³, ancien interne de Robert Debré, et Jacques Kruh, du Service de biochimie de l'Hôpital des Enfants-Malades. Ce dernier venait d'entreprendre l'étude de la synthèse de l'hémoglobine à l'aide du fer radioactif. Participèrent également à ces travaux, Maurice Tubiana, chef du Laboratoire des isotopes de l'Hôpital Necker, Claude Paoletti et Michel Boiron, de l'Institut Gustave Roussy, l'hématologiste Bernard Dreyfus, Jean Dausset, du Centre national de la transfusion sanguine, ainsi que J. Leprat. L'anémie des leucoses aiguës fut le sujet de la thèse de médecine de Michel Boiron, qui devint par la suite l'un des plus proches collaborateurs de Jean Bernard⁴.

Ce dernier avait déjà travaillé avec Georges Schapira. En 1947, il lui avait demandé de comparer chimiquement les lymphocytes et les lymphoblastes normaux, puis les lymphoblastes normaux et leucémiques. Marcel Bessis lui avait fourni du sang et des détails sur sa méthode de séparation des lymphocytes. L'objectif était la mise au point d'une méthode qualitative ou quantitative de détection des cellules leucémiques qui soit applicable aux leucoses de la souris⁵.

¹ Bernard J., Julliard J., Maupin B., Loverdo A., Calvez P., Leconte M., *Premiers essais de transfusion à l'homme de leucocytes et de plaquettes marqués au radio-phosphore*, Presse Méd., 60 : 518-520, 1952.

² Lissac J., Bernard J., Mathé G., *Etude du séjour vasculaire des polynucléaires par une méthode utilisant un indicateur fluorescent*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 1 : 631-642, 1956.

³ Sur Georges Schapira et son laboratoire voir Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, Editions La Découverte, 2002, p. 321-341.

⁴ Fonds IUH, article 44, Directeurs, Michel Boiron.

⁵ Fonds Bessis, Correspondance avec Bernard J., 07.02.1947.

Concernant l'anémie des leucémies, ils commencèrent par étudier la cinétique de synthèse des globules rouges. La méthode consistait en l'injection intraveineuse de fer radioactif, suivi de son dosage dans le plasma et les cellules de la moelle et du sang, à différents temps après l'administration du produit. Du fait de la longueur et de la complexité des techniques, trois patients seulement, présentant une anémie importante et une leucoblastose typique, purent participer à l'expérience avant de recevoir un traitement. Par rapport aux sujets sains, ils constatèrent un renouvellement normal du fer plasmatisé, une vitesse d'utilisation du fer par les centres érythroformateurs normale ou accélérée, et une diminution modérée de la dose de fer incorporée dans les hématies. L'érythropoïèse des leucémiques était donc normale voire accélérée. L'aplasie médullaire ne semblait donc pas responsable de l'anémie.

L'hypothèse d'une destruction accélérée des érythrocytes chez les patients leucémiques fut alors testée. La durée de vie des hématies des leucémiques fut étudiée dans leur propre organisme à l'aide de glycine marquée au carbone 14, le fer 59 se désintégrant trop rapidement par rapport à la durée de vie normale d'un érythrocyte. Les deux cas de leucémie aiguë étudiés montrèrent une diminution de la durée de vie des hématies. Cette anomalie ne fut retrouvée ni chez les deux cas de leucémie chronique examinés, ni dans un cas de leucémie aiguë étudié en rémission. La survie d'hématies normales transfusées à des leucémiques fut également déterminée, avec Jean Dausset, par la méthode d'agglutination différentielle d'Ashby. Leur destruction se montra toujours accélérée.

Jean Dausset avait préparé l'externat des hôpitaux en compagnie de Marcel Bessis. Mobilisé à Rennes au début de la seconde guerre mondiale, il regagna Paris sous l'Occupation où il fut interne à l'Hôpital Saint-Louis, puis se joignit à l'ambulance médico-chirurgicale de la Comtesse du Luart, stationnée au Maroc. En 1942, celle-ci s'engagea aux côtés des forces armées anglo-américaines dans la campagne de Tunisie. Jean Dausset fut ensuite affecté au Maroc jusqu'à la fin des combats puis au Centre national de transfusion sanguine (CNTS) à l'Hôpital Saint-Antoine à Paris. Dans le cadre du plan Marshall, il bénéficia d'une bourse d'études aux Etats-Unis en 1948. A son retour en France, il continua à travailler à l'Hôpital Saint-Antoine¹, comme médecin-transfuseur et chercheur².

Afin de préciser le mécanisme de destruction des érythrocytes chez les leucémiques, ils testèrent la résistance des globules aux solutions hypotoniques, à la chaleur, à l'agitation, aux solutions acides. Celle-ci se montra normale, les facteurs de destruction semblaient donc être extérieurs aux hématies des leucémiques.

L'observation de la rate chez plusieurs leucémiques anémiques fit soupçonner son intervention dans la destruction précoce des globules rouges parce que la zone appelée « pulpe rouge », connue pour son rôle dans l'élimination normale des érythrocytes, avait un aspect inhabituel. Cependant, les signes classiques de l'hémolyse à savoir réticulocytose, sphérocytose, élévation du fer sérique et élévation de la bilirubine indirecte étaient absents.

Ils se lancèrent enfin dans l'analyse de l'hémoglobine et de sa synthèse, selon la méthode mise au point par l'équipe de Jean Roche, le titulaire de la chaire de biochimie générale et comparée du Collège de France. Le pigment lui-même était normal. Une réduction marquée de la « fraction a1 » fut observée. Cette modification semblait caractéristique des leucémies aiguës et chroniques. Deux hémoglobines furent séparées par fractionnement sur albumine après marquage au radio-fer. Le rapport de l'activité spécifique des fractions, normalement supérieur à un y était très inférieur chez les leucémiques même en rémission. La

¹ Le CNTS ayant déménagé rue Alexandre Cabanel en 1949, dans les locaux de l'ancien centre militaire de production de pénicilline, le centre de l'Hôpital Saint-Antoine devint un centre régional de transfusion sanguine.

² Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 21-60.

synthèse du pigment se rapprochait donc de celle des réticulocytes en l'absence d'effecteurs hématopoïétiques. Il existait donc une anomalie de l'hémoglobino-génèse chez les leucémiques anémiques mais elle pouvait aussi bien être la conséquence que la cause de la destruction accrue de leurs globules rouges¹.

Le fonctionnement de la glande thyroïde

Toujours avec Maurice Tubiana et J. Leprat, Jean Bernard étudia la fixation thyroïdienne de l'iode 131 chez onze patients leucémiques aigus, 6 à 24 heures après l'injection d'une dose traçante de 30 à 40 microcuries. Les résultats furent les suivants : huit cas normaux dont quatre à la limite supérieure et trois cas de fixation excessive d'iode. Certains leucémiques présentaient donc un hyperfonctionnement modéré de la glande thyroïde mais celui-ci ne semblait pas spécifique de cette maladie².

Etudes immunologiques

Avec Pierre Grabar et Maxime Seligmann (né en 1927), de l'Institut Pasteur, Jean Bernard utilisa les méthodes immuno-chimiques, pour étudier la constitution antigénique des leucocytes et rechercher des anticorps anti-leucocytaires. Ce travail fut l'objet de la thèse de Maxime Seligmann, *Contribution à l'étude immunologique des leucémies*, qu'il soutint en 1955³.

Afin de savoir si les leucocytes leucémiques contenaient des antigènes différents des leucocytes normaux, ils firent appel à la méthode mise au point en 1948 par le suédois Örjan Outcherlony. Celle-ci permet de déterminer le nombre d'antigènes présents dans un mélange. Les réactifs, antigènes et anticorps sont déposés dans des puits creusés dans la gélose dans une boîte de Petrie. Ils migrent par diffusion dans la gélose et forment des lignes de précipités qui matérialisent leur lieu de rencontre. Autour du puits contenant le mélange d'antigènes, il y a autant d'arcs de précipitation que d'antigènes différents reconnus par les anticorps utilisés⁴.

Ils préparèrent les antigènes leucocytaires à partir de suspensions très riches en globules blancs lysés par les ultrasons. Ils obtinrent des sérums contenant des anticorps dirigés contre ces antigènes en immunisant des lapins avec les suspensions de globules blancs lysés, selon la méthode de Freund, c'est-à-dire par l'injection sous-cutanée avec des adjuvants, méthode jugée plus efficace que l'injection intraveineuse d'antigènes seuls.

La confrontation entre les leucocytes normaux et les sérums de lapin correspondants permit la mise en évidence de trois à quatre systèmes antigéniques. Par contre, la mise en contact de lysats de leucoblastes et de lymphocytes leucémiques avec du sérum de lapin anti-leucocytes normaux ou leucémiques ne donna que deux traits de précipités. Les globules

¹ Bernard J., Tubiana M., Kruh J., Mathé G., Leprat J., *La physio-pathologie de l'anémie des leucoses aiguës*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 68 : 973-980, 1952. Bernard J., Schapira G., Tubiana M., Dreyfus B., Kruh J., Boiron M., *Recherches sur l'anémie des leucoses aiguës. Métabolisme du fer dans la leucose aiguë étudié à l'aide du fer 59*, Rev. Hémat., 9 : 3-27, 1954. Bernard J., Boiron M., Paoletti C., Tubiana M., Schapira G., Dausset J., *L'anémie des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 31 : 1123-1135, 1955.

² Leprat J., Bernard J., *Désordres sanguins et troubles endocriniens, revue critique des acquisitions physiologiques, cliniques et thérapeutiques récentes*, Le sang, 27 (8) : 779-818, 1956.

³ Fonds IUH, article 41, Suisse, W.H. Hitzig : curriculum vitae de M. Seligmann, 1977.

⁴ Moulin A.-M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au SIDA*, PUF, Paris, 1991, p. 329.

blancs des leucémiques semblaient donc contenir une partie seulement des antigènes leucocytaires normaux et pas d'antigènes propres.

Toutefois, cette conclusion fut mise en doute par d'autres tests aux résultats inattendus. Deux lysats de globules blancs provenant de patients atteints de leucémie lymphoïde chronique réagirent avec du sérum d'âne anti-protéines du sérum humain normal. Il ne s'agissait pas d'une contamination par le sérum des malades puisqu'il n'y avait pas de réaction avec le milieu de suspension des leucocytes avant leur lyse. Ils avaient donc affaire à des constituants présents à l'intérieur des globules blancs. Le problème fut encore compliqué par le fait que le sérum de ces deux patients ne réagissait pas avec le sérum de lapin dirigé contre les lysats de leurs propres leucocytes, dans lesquels avaient été trouvées des protéines du sérum normal. Ces « mauvais » résultats furent attribués à des difficultés techniques : réponses différentes d'un lapin à l'autre, contamination des suspensions par les plaquettes, hétérogénéité des types cellulaires dans les préparations de leucoblastes, présence de leucocytes normaux. Ils espéraient préciser ces faits en améliorant les techniques de préparation des leucocytes, en séparant noyaux et cytoplasmes, en fractionnant chimiquement les lysats et par de nombreux épuisements croisés¹.

Parallèlement, ils cherchèrent dans le sérum et les tissus des leucémiques des substances anti-leucocytaires. Pour ce faire, ils employèrent la « méthode du disque » décrite en 1946 par le pasteurien Jacques Oudin². Elle consistait à déposer dans un tube de deux à trois millimètres de diamètre le sérum puis le lysat, rendus limpides par centrifugation à grande vitesse. Une réaction positive produisait à l'interface un précipité visible à l'œil nu.

En présence de lysats de leucocytes normaux, les 100 sérums de sujets normaux d'âge et de groupe sanguin divers testés donnèrent une réaction négative. Avec les 45 sérums de patients leucémiques aigus en évolution, également testés avec des lysats de leucocytes normaux, ils obtinrent 37 réactions négatives, 3 faiblement positives et 5 fortement positives. Ils appelèrent « leuco-précipitines » les anticorps précipitants anti-leucocytaires trouvés dans quelques sérums leucémiques. Il ne pouvait s'agir d'iso-anticorps naturels, reflétant des différences génétiques au sein de l'espèce humaine, puisque les lysats étaient préparés à partir d'un mélange de leucocytes de 15 donneurs, ni d'iso-anticorps immuns puisque parmi les donneurs de sérums normaux, certains avaient été plusieurs fois transfusés. De plus, aucune leuco-précipitine ne fut trouvée chez les leucémiques en rémission et ceux dont le sérum contenait des leuco-précipitines n'avaient jamais reçu de transfusion. Ils les rattachèrent au groupe des auto-anticorps.

Ces leuco-précipitines firent l'objet d'études physico-chimiques. Elles restaient réactives après conservation, congélation et chauffage. Ce dernier point indiquait que la réaction ne nécessitait pas la présence du complément. L'électrophorèse des sérums très positifs montra une élévation nette des gamma ou bêta-globulines. Les leuco-précipitines semblaient donc être des anticorps.

Afin de savoir si les leuco-précipitines s'attaquaient à tous les antigènes leucocytaires, ils firent réagir les sérums leuco-précipitants avec des lysats leucocytaires normaux et éliminèrent les précipités formés. Puis, les lysats ainsi débarrassés des antigènes reconnus par les sérums pathologiques furent mis en contact avec du sérum anti-leucocyttaire de lapin. La

¹ Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Recherches immuno-chimiques sur la constitution antigénique des leucocytes normaux et leucémiques*, C. R. Acad. Sci., 239 : 920-922, 1954. Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Etudes sur la constitution antigénique des leucocytes normaux et leucémiques par la méthode de précipitation spécifique en milieu gélifié*, Le sang, 26 : 52-70, 1955. Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Méthodes de préparation d'extraits leucocytaires et de sérums anti-leucocytaires susceptibles d'être utilisés pour des études immuno-chimiques*, Ann. Inst. Pasteur, 88 : 548-563, 1955.

² Moulin A.-M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au SIDA*, PUF, Paris, 1991, p. 328-329.

réaction étant positive, ils en conclurent que les leuco-précipitines n'avaient pour cible qu'une partie des antigènes leucocytaires normaux.

Pouvait-on préciser leur cible ? Les sérums leuco-précipitants furent aussi mis en contact avec des lysats de cellules « leucémiques ». Ils réagirent fortement avec les leucocytes de leucémies myéloïdes chroniques mais pas avec les leucocytes de leucémies lymphoïdes chroniques ni avec les leucoblastes de leucémies aiguës. Les leuco-précipitines semblaient donc dirigées contre un constituant propre aux granulocytes. Ils élaborèrent l'hypothèse suivante : les leuco-précipitines, qui pourraient être des produits des leucoblastes, ne s'attaqueraient qu'aux précurseurs des granulocytes ce qui expliquerait à la fois l'absence d'éléments granuleux jeunes dans la moelle des patients et l'absence de neutropénie sanguine¹.

Enfin, les leucocytes des lysats ayant été lavés, ils supposèrent que les leuco-précipitines reconnaissent un constituant endocellulaire. Dans ce cas, leur mode d'action était peut-être différent de celui des anticorps anti-leucocytaires décelés par d'autres méthodes et dont on pensait qu'ils se combinaient à un antigène de surface. Ils échangèrent alors des sérums avec Jean Dausset, qui recherchait des anticorps anti-leucocytaires par la méthode d'agglutination (voir chapitre 2). La recherche de leuco-agglutinines et de leuco-précipitines dans un même sérum pathologique ne donna pas de résultats concordants ; ces substances semblaient bien avoir des spécificités différentes².

Par ailleurs, des « anticorps anti-leucocytaires non circulants » furent recherchés à l'aide d'intradermo-réactions à des lysats leucocytaires normaux et leucémiques. La réaction fut jugée positive lorsqu'elle était retardée d'environ 24 heures, qu'elle était forte au point de former une papule ou un nodule, et qu'elle était durable. L'injection de leucocytes normaux n'eut pas d'effet notable chez les témoins ni chez la majeure partie des leucémiques en rémission. En revanche, elle fut souvent positive chez les leucémiques en période évolutive. La même expérience fut réalisée avec des leucoblastes. La réaction tissulaire aux lysats fut négative chez la plupart des leucémiques en poussée et positive chez 6 sur 13 leucémiques en rémission.

Ces résultats suggéraient l'existence, pendant la phase évolutive, d'une immunité dirigée contre les globules blancs adultes expliquant la prolifération des cellules immatures et, pendant la rémission, d'une réaction tissulaire anti-leucoblastique responsable de l'amélioration de l'état du patient. Toutefois, ces résultats ne concernaient pas tous les malades. De plus, il n'y avait pas de parallélisme entre l'intensité de la réaction et la qualité de la rémission, la thérapeutique ou le type cytologique des leucoblastes³.

¹ Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Présence d'anticorps précipitants antileucocytaires (leucoprécipitines) dans le sérum de sujets atteints de leucoses aiguës*, Presse Méd., 62 : 1700-1702, 1954. Bernard J., Seligmann M., *Quelques données apportées par l'électrophorèse du sérum en hématologie avec étude particulière de 34 leucémies*, Gazette Méd. France, 61 : 543-549, 1954. Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Mise en évidence d'anticorps précipitants antileucocytaires (leucoprécipitines) dans le sérum de sujets atteints de leucoses aiguës*, C. R. Acad. Sci., 22 nov 1954.

² Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

³ Bernard J., Grabar P., Seligmann M., Badillet M., *Intra-dermo réactions à des extraits de leucocytes normaux et leucémiques chez des sujets atteints de leucémie aiguë*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 70 : 1169-1180, 1954.

Etudes de formes cliniques particulières

Leucoses des très jeunes enfants

En 1955, Jean Bernard, Georges Mathé et les pédiatres J.C. Delorme et O. Barnouda, firent le bilan de dix observations personnelles de leucoses aiguës du nouveau-né et du nourrisson de moins de six mois.

Ces leucémies s'étaient toutes montrées d'une très grande gravité. Les hémorragies, la splénomégalie, la fièvre, l'hyper-leucocytose, la leucoblastose sanguines étaient toujours importantes. Un autre point commun à ces cas était la brièveté de l'évolution de la maladie, laquelle les plaça dans la catégorie des « leucoses à stade pré-clinique court ». L'étude des survivants japonais de la bombe atomique venait de montrer que la période de latence précédant la révélation d'une leucémie pouvait être très longue, s'étalant sur plusieurs années.

Le caractère fulgurant de ces leucémies fut attribué à une plus grande sensibilité des tissus jeunes au processus leucémique. Les tissus hématopoïétiques des très jeunes animaux étaient alors tenus pour être beaucoup plus labiles que ceux des adultes. Quant à la rareté des leucoses à cet âge, ces auteurs l'expliquèrent par un temps d'incubation moyen de la maladie supérieur à six mois et/ou à un risque leucémigène moindre pour cette tranche de la population¹.

Leucose dysarchique

Ce syndrome fut rapporté par Paul Chevallier et ses élèves Georges Bilski-Pasquier, S. Lebovici et Jean Bernard en 1944. Il combinait un aspect clinique de leucose adénomégalique aiguë avec un sang et une moelle caractéristiques des leucoses myéloïdes chroniques communes. L'examen histo-pathologique des ganglions et de la rate montrait l'envahissement de ces organes par diverses cellules de la lignée blanche. Contrairement au cas des leucémies habituelles, « mono-archiques », la prolifération, dans les « leucoses dysarchiques », ne concernait pas majoritairement un type cellulaire mais plusieurs, comme dans les érythro-leucoses animales².

En 1960, ces auteurs avaient rencontré quelque nouveaux cas similaires. Chez certains patients, non seulement la prolifération portait sur des cellules différentes mais l'aspect des tumeurs différait d'un organe à l'autre. Ceci leur fit présenter ce syndrome comme résultant de l'association de deux processus néoplasiques distincts³.

¹ Bernard J., Mathé G., Delorme J.C., Barnouda O., *Les leucémies des très jeunes enfants*, Arch. Franç. Pédiatr., 12 : 470, 1955.

² Chevallier P., Bernard J., Lebovici S., Bilski-Pasquier G., *Leucose dysarchique aiguë*, Le sang, 16 : 373, 1944-1945.

³ Chevallier P., Bernard J., Lebovici S., Bilski-Pasquier G., *Leucose aiguë dysarchique (leucémie adénopathique aiguë avec myélocytose medullo-sanguine sévère et apparence maligne lympho-éosino-hystiocyttaire des ganglions et de la rate*, Le sang, 31 : 659-662, 1960.

Recherches sur l'étiologie des leucémies

Leucémies benzéniques

« Entre les leucémies animales expérimentalement provoquées et les leucémies humaines communes, les leucémies benzéniques établissent une sorte de transition. »¹. Jean Bernard s'intéressa à ce type de leucémies dans l'espoir de disposer d'une leucémie humaine de cause connue, la connaissance de l'étiologie pouvant faciliter la compréhension du mécanisme physiopathologique.

Les « ouvriers du benzol » semblaient souffrir de maladies du sang plus fréquemment que le reste de la population active. Ces « hémopathies benzéniques » étaient soit des aplasies soit des hyperplasies, tantôt bénignes tantôt malignes. En 1951 et 1952, Jean Bernard étudia cinq cas de leucémie « benzénique » affectant des utilisateurs de benzol. Il s'agissait principalement de leucémies leucoblastiques aiguës ou subaiguës. Certaines se distinguaient cliniquement des leucémies communes par une leucoblastose médullaire moins intense, des territoires médullaires normaux et des lésions leucoblastiques extra-médullaires moins étendues².

Pendant plusieurs années, Jean Bernard suivit médicalement plus d'un millier d'ouvriers du benzol, en tant qu'expert pour la Sécurité sociale. Il connaissait son fondateur, Pierre Laroque. Ce dernier avait appartenu au début de sa carrière au cabinet d'Adolphe Landry, dont Jean Bernard avait épousé la nièce³. Pour la Sécurité sociale, il importait de savoir si la leucémie devait être considérée comme une maladie professionnelle et, si oui, dans quelles conditions. Il s'agissait également d'en améliorer la prophylaxie.

Pour établir une relation de cause à effet entre le benzène et la leucémie, l'expérimentation animale ne fut d'aucun secours. Les expériences anciennes de G. Lignac avaient porté sur un petit nombre d'animaux et n'avaient pas pu être reproduites⁴. Tous les efforts faits depuis pour provoquer chez l'animal une leucose benzénique s'étaient soldés par des échecs. Pour Jean Bernard, cela ne signifiait pas que le benzène n'était pas leucémogène : « il est très difficile de réaliser chez l'animal des conditions qui se rapprochent de la si lente et si particulière intoxication professionnelle humaine. Peut-être aussi faut-il tenir compte de la sensibilité particulière de certaines espèces à un poison donné que tous les chercheurs qui se sont occupés de leucose expérimentale ont observée. Ces difficultés expérimentales donnent plus de prix encore à l'étude des leucoses benzéniques humaines. »⁵.

Sur ce sujet, la littérature offrit à son tour peu de données exploitables. L'essentiel des informations furent fournies par une étude clinique. Jean Bernard, Braïer et Basset dosèrent le benzène sanguin et pratiquèrent des examens de sang chez les ouvriers et les ouvrières d'une usine de pneumatiques de la région parisienne. La grande fréquence de leucocytose leucoblastique et la présence de benzène dans le sang des ouvriers constituaient, selon eux, un argument fort en faveur d'un rôle de ce produit dans le déclenchement de ces leucémies.

Toutefois, chez les ouvriers fortement et également exposés, la benzénémie variait d'un individu à l'autre. De ce fait, certains hématologistes doutaient de l'action leucémogène du benzène. Pour Jean Bernard, l'inégalité des réponses individuelles avait une autre

¹ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956, p. 61.

² Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

³ Laroque P., *Au service de l'homme et du droit, Souvenirs et Réflexions, Association pour l'étude de l'histoire de la Sécurité sociale*, Paris, 1993, p. 338.

⁴ Lignac G., *Die Benzol-leukämie bei Menschen und weissen Mäusen*, *Krankheitsforschung*, 9 : 403-454, 1931.

⁵ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956, p. 65.

explication ; elle était basée sur une inégale capacité à fixer ou éliminer le benzène. Ceci était suggéré par des études comparées du taux de benzène dans la moelle, le plasma, ainsi que les érythrocytes et les leucocytes circulants. Ces dosages montrèrent par ailleurs que le benzène était plus abondant au niveau des cellules que dans le plasma. Pour cette raison, Jean Bernard pensait que le benzène était un poison direct de la cellule, sans pouvoir cependant écarter l'hypothèse d'une action indirecte favorisant le développement d'un virus ou provoquant un trouble métabolique.

Concernant la prévention du benzénisme, cette étude montra que les examens de sang rendaient mal compte du degré d'intoxication de l'utilisateur. Soixante pourcent des ouvriers exposés présentaient de manière plus ou moins continue des troubles sanguins dont il n'était pas possible de savoir s'ils conduiraient ou non à des hémopathies graves. L'exclusion des ateliers ne pouvait donc pas se baser de manière fiable sur la numération et la formule sanguine. Ce travail révéla en outre que des contacts brefs et intermittents pouvaient être dangereux. Jean Bernard conseilla d'associer voire de substituer le dosage du benzène sanguin à l'examen cytologique¹.

A la suite de ces recherches, les leucémies des ouvriers du benzol furent reconnues par la législation française comme maladies professionnelles, et ce jusqu'à trois ans après l'arrêt du travail, la benzénémie témoignant de l'intoxication longtemps après l'éloignement de la substance incriminée². Jean Bernard continua jusqu'en 1981 à expertiser, pour la Sécurité sociale, des dossiers de malades ayant utilisé des hydrocarbures benzéniques dans le cadre de leur activité professionnelle³.

Leucémies non toxiques

En 1956, différentes observations d'ordre étiologique relatives aux leucémies humaines avaient fourni des arguments en faveur de l'intervention de facteurs génétiques et d'altérations chromosomiques, ainsi que des arguments contradictoires concernant le rôle d'agents contagieux.

Dans ses Titres et travaux, Jean Bernard fit ainsi référence à un cas, décrit par Robert Debré et S. Buhot, de leucémie aiguë quasi-simultanée chez une fillette de deux ans et son père, avec des cellules sanguines et médullaires de mêmes caractéristiques cytologiques et cytochimiques : cellules indifférenciées et altérées, même cytoplasme granuleux, même incisures dans le noyau irrégulier, réaction des peroxydases négative et nucléoles assez nombreux. La ressemblance des cellules faisait soupçonner l'existence d'une prédisposition familiale constitutionnelle, comme chez les souris spontanément leucémiques. Mais la simultanéité du déclenchement suggérait une contagion, d'autant plus que l'enfant avait été soignée neuf mois chez et par ses parents⁴.

Cependant, on savait que l'administration volontaire ou non de cellules leucémiques à des hommes sains ne provoquait pas de leucémie. Dans les années 1940, Jean Bernard et Paul Chevallier avaient injecté quelques centimètres cube de moelle leucémique dans les os de sujets atteints de cancers avancés et de patients aleuciques sans que cela n'entraînât de modifications sanguines ou médullaires⁵. La leucémie ne semblait donc pas transmissible, à moins que la proportion d'humains aptes à contracter cette maladie soit faible ou, comme Ludwik Gross l'avait montré chez l'animal (voir Chapitre 2), que seuls les nouveaux-nés soient sensibles à l'inoculation.

¹ Bernard J., *Les leucémies benzéniques*, Entretiens de Bichat, 231-234, 1951.

² Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

³ Fonds IUH, article 124, *Dossiers d'expertises médicales*, 1959-1981.

⁴ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

⁵ Bernard J. *Les injections intra-médullaires chez l'homme*, *Le sang*, 17 : 61-65, 1946.

On savait aussi que des malformations congénitales avaient été découvertes, fréquentes et diverses, chez certaines leucoses du tout jeune enfant, ce qui avait conduit certains auteurs à concevoir la leucose congénitale comme une embryopathie.

Dans l'espoir d'éclairer l'étiologie des leucémies humaines, alors jugée fort obscure, Jean Bernard et ses collaborateurs retracèrent, pour leurs dix cas de leucoses des très jeunes enfants, les événements survenus entre la naissance de l'enfant et l'apparition de la maladie. Ils y recherchèrent en vain des informations faisant penser à une contamination néonatale¹.

Essais de traitement

Au 19^{ième} siècle, les traitements utilisés étaient purement palliatifs, ils combinaient des fortifiants et des analgésiques. Au début du siècle suivant, le développement de la radiothérapie introduisit l'irradiation des organes hypertrophiés ou du corps entier, laquelle stabilisait parfois momentanément les formes chroniques. L'arsenic se montra aussi capable de soulager temporairement certains leucémiques.

Après la description des groupes sanguins par Karl Landsteiner en 1901, les transfusions de sang furent progressivement utilisées pour lutter contre l'anémie et les hémorragies dans les leucémies aiguës. Dans les années 1930, l'irradiation externe fut complétée par l'administration de composés radioactifs, tels le mésothorium ou le phosphore 32. Quelques améliorations temporaires continuèrent à être signalées mais elles restèrent très rares².

Les considérations sur la leucémie de deux hématologistes polonais, apparaissant dans un article sur les progrès de leur discipline écrit en 1936, montrent à quel point les moyens de lutte contre cette maladie étaient limités : « Etant donné qu'en général, pas une des méthodes thérapeutiques actuelles ne prolonge la vie des leucémiques, le seul fait que, grâce à la radiothérapie, le malade n'est pas un invalide, mais qu'au contraire, son énergie vitale est quelquefois rétablie pour de longues années, a déjà une valeur notable. »³. Telle était la situation lorsque Jean Bernard commença à exercer et à tenter d'améliorer l'état des patients leucémiques.

La colchicine

Entre 1939 et 1944, Jean Bernard traita sept leucoses aiguës par des injections intramédullaires de colchicine. La colchicine, extraite des semences du colchique en 1884, était connue depuis l'Antiquité comme médicament de la goutte⁴. Vers 1935, Pierre Dustin, de l'Université libre de Bruxelles, avait découvert que cette substance exerçait une action inhibitrice sur les mitoses végétales, d'où son utilisation contre la prolifération des cellules cancéreuses⁵.

Jean Bernard recourut à l'injection intramédullaire de colchicine à raison de 1 à 3 mg en 6 à 12 injections espacées de 2 jours en moyenne. L'opération était réalisée à l'aide d'un trocart mis au point par Jacques Mallarmé. Dans cinq cas, ce traitement n'eut aucun effet. Dans les deux autres, une rémission fut observée, une d'un mois, l'autre de plusieurs : « Il

¹ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

² Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1985. Index catalogue, Index medicus.

³ Itelson J., Kocen M., *Les progrès de l'hématologie dans les dix dernières années*, Le Sang, 10 : 602-616, 1936.

⁴ Chast F., *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, Paris, 1995, p. 290.

⁵ Fonds IUH, article 18, correspondance avec Occelli R., texte de Jean Bernard sur les médicaments de la leucémie, 1978.

s'agissait d'une jeune fille de 20 ans suivie avec M. Jean Paraf. La leucose, qui se présentait sous une forme aiguë, prit un cours subaigu. Sans que le retour à la santé ait jamais été complet, la malade put se lever, vaquer à quelques occupations avant qu'une rechute l'emportât. Il est bien difficile de discerner si cette rémission fut spontanée ou si on peut en attribuer le mérite à la thérapeutique. »¹. Dans six des sept cas traités, la moelle fut nettement modifiée une dizaine de jours après les premières injections : la leucoblastose diminua et quelques myélocytes firent leur apparition. La formule rouge montra aussi une légère évolution dans le sens d'un comblement du hiatus leucémique. Enfin, des modifications sanguines ne se manifestèrent que dans deux cas.

Malgré l'échec thérapeutique, les effets de cette substance sur l'état général et les cellules médullaires furent jugés prometteurs. Ils permettaient d'envisager des résultats plus heureux, soit en modifiant la posologie soit avec d'autres produits. Mais la colchicine présentait un inconvénient important : son administration buccale ou intraveineuse ne provoquait pas de modifications semblables à celles obtenues par la voie médullaire². La disproportion entre la difficulté de réalisation et la faiblesse des résultats freina probablement la multiplication des essais. Une telle expérience n'a à ma connaissance été reproduite qu'une fois en France, en 1945, par des médecins lyonnais. Elle porta sur deux cas de leucémie aiguë et ne se traduisit que par une légère baisse de la leucocytose et de la leucoblastose sanguines³.

L'exsanguino-transfusion

Du lit d'hôpital au laboratoire

A l'automne 1947, Marcel Bessis et Jean Bernard traitèrent pour la première fois un enfant atteint de leucémie aiguë par exsanguino-transfusion. Le résultat fut spectaculaire : « Michel, six ans, est admis à l'Hôpital Hérold à Paris en octobre 1947. La fièvre, les douleurs osseuses, l'extrême fatigue, les hémorragies, les gros ganglions sont les principaux symptômes. Le sang et la moelle osseuse contiennent de nombreuses cellules leucémiques. (...) Le sang de l'enfant est retiré et remplacé par le sang de plusieurs donneurs sains. Le grand échange de sang est bien toléré. Il est efficace. Quelques jours plus tard, l'enfant est transformé. Il est rose, vif, alerte. Tous les troubles sont corrigés. Les cellules leucémiques diminuent puis disparaissent. Le sang et la moelle osseuse redeviennent normaux. »⁴.

L'exsanguino-transfusion associe transfusion et saignée, de manière à ce que la masse sanguine reste à peu près constante. C'est ainsi qu'avaient été pratiquées les premières transfusions au 17^{ième} siècle⁵.

La transfusion sanguine, interdite à la fin du 17^{ième} siècle, reprit dans les années 1920 après la découverte des groupes sanguins. Elle excédait alors rarement un demi-litre de sang et n'était pas accompagnée de saignée. L'exsanguino-transfusion n'était pratiquée que dans

¹ Bernard J. *Les injections intra-médullaires chez l'homme*, Le sang, 17 : 61-65, 1946, p. 63.

² Bernard J., *Leucémie aiguë. Essai de traitement par des injections intramédullaires de colchicine. Modifications médullaires et sanguines*, Le sang, 13 : 434, 1939. Bernard J., *Les injections intra-médullaires chez l'homme*, Le sang, 17 : 61-65, 1946.

³ Guichard A., Brette R., Philippe L., *Essai de traitement de deux cas de leucémie aiguë par la colchicine intra-médullaire*, Le sang, 17 (4) : 247-249, 1946.

⁴ Bernard J., *L'enfant, le sang et l'espoir*, Editions Buchet/Chastel, Paris, 1984, p. 23-24.

⁵ Jeanneney G., Ringenbach G., *Traité de la transfusion sanguine*, Masson, 1940 cité par Bessis M., « L'exsanguino-transfusion en dehors de la maladie hémolytique du nouveau-né » in *Les acquisitions médicales récentes*, Editions médicales Flammarion, Paris, 1948.

quelques cas d'intoxication et se limitait à une saignée et à un apport d'au maximum un litre de sang.

Dans les années 1940, la méthode fut reprise et modifiée, simultanément aux Etats-Unis et en France, pour traiter les nourrissons souffrant de la maladie hémolytique du nouveau-né, maladie au cours de laquelle des anticorps maternels provoquent la destruction des globules rouges de l'enfant. Il s'agissait désormais de remplacer 85 à 95% du sang du malade par celui de donneurs, de réaliser une véritable « substitution sanguine ». Aux Etats-Unis, il s'agissait des travaux des équipes d'Alexander Wiener (1907-1976) à l'Université de New York, de Ralph Wallerstein (né en 1922) au Memorial Hospital de Boston et de Louis Diamond (1902-1999) au Children's hospital de Boston¹. En France, la technique fut mise au point, chez le chien puis l'enfant, par Arnault Tzanck, Marcel Bessis et Michel Burstein, au Centre national de la transfusion sanguine².

Cette période fut caractérisée par diverses améliorations techniques visant à limiter la coagulation du sang en cours de transfusion. Alexander Wiener introduisit l'utilisation d'héparine et Louis Diamond celle de cathéters issus de l'industrie des matières plastiques. Le métacrylate de méthyle et le polyéthylène possédaient en effet la propriété intéressante de doubler le temps de coagulation du sang. Les tubes souples que ces matériaux permettaient de fabriquer facilitèrent en outre grandement les injections et les prélèvements. Auparavant, le sang était injecté par une veine du bras pendant qu'une saignée était pratiquée par la veine du sinus longitudinal supérieur, juste au-dessous des os du crâne. Or les veines sont difficilement accessibles chez les nouveaux-nés. Louis Diamond introduisait un cathéter dans la veine ombilicale et, à l'aide d'une seringue, pratiquait à ce niveau plusieurs séries d'aspirations suivies d'injections (voir annexe 4).

Ces cathéters, également très pratiques pour les expériences sur les animaux, étaient convoités en Europe. Marcel Bessis trouva un fabricant potentiel mais celui-ci ne parvenait pas à fabriquer des cathéters de la longueur et du diamètre de ceux utilisés par Louis Diamond. C'est finalement ce dernier qui en fournit au Centre national de la transfusion sanguine³. Marcel Bessis avait fait sa connaissance par l'intermédiaire de Jean-Pierre Soulier (né en 1915), un ami du Centre national de la transfusion sanguine qui venait de passer un an à Boston dans le laboratoire du spécialiste de l'anémie pernicieuse Georges Minot (1855-1950). En 1947, Louis Diamond avait aidé Marcel Bessis à préparer une visite des laboratoires de la côte Est, en contactant les spécialistes du cancer, Cornelius Rhoads, directeur du Memorial hospital de New York, et Schields Warren, pathologiste en Chef du Deaconess Hospital⁴. Pour en revenir aux difficultés d'approvisionnement en cathéters, signalons qu'André Eyquem, un médecin immunologiste de l'Institut Pasteur qui mit au point un test de dépistage de la maladie hémolytique du nouveau-né, s'en procura par l'intermédiaire de son oncle, lequel travaillait en Grande Bretagne dans une firme productrice de fibres électriques⁵.

En 1947, le traitement par exsanguino-transfusion avait fait ses preuves dans le cas de la maladie hémolytique du nouveau-né ; il permettait de sauver plusieurs milliers de nourrissons chaque année. Il commençait également à être utilisé avec succès dans les anuries, des intoxications par défaut de fonctionnement du rein. Son application à la leucémie aiguë découla d'observations cliniques et d'hypothèses sur le mode d'action du remplacement du

¹ Bessis M., « L'exsanguino-transfusion en dehors de la maladie hémolytique du nouveau-né » in *Les acquisitions médicales récentes*, Editions médicales Flammarion, Paris, 1948.

² Tzanck A., Bessis M., Burstein M., *Recherches sur le remplacement de sang circulant par du sang frais, du sang conservé et du plasma*, C. R. Acad. Sci., 22 : 822-824, 1946.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Diamond L., 18.07.1947.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Diamond L., 23.06.1947.

⁵ Entretien avec André Eyquem, 19.03.1999.

sang. Différents médecins parisiens avaient récemment décrit des rémissions transitoires cliniques, sanguines et médullaires chez des patients leucémiques. Les unes étaient attribuées aux transfusions de sang destinées à limiter les hémorragies, d'autres à la survenue d'infections, d'autres encore étaient qualifiées de spontanées. Ces observations avaient conduit à admettre la possibilité de phases d'arrêt voire de recul dans l'évolution de la maladie. L'observation de rémissions consécutives à des transfusions de sang, en particulier lorsque de grandes quantités de sang étaient administrées, poussa Marcel Bessis à envisager le traitement de patients leucémiques par la technique d'exsanguino-transfusion. Il obtint l'aval du directeur du Centre national de la transfusion sanguine, Arnault Tzanck, qui avait lui-même eu, à plusieurs reprises depuis 1927, l'occasion de pratiquer chez des leucémiques des transfusions « massives » de sang, c'est à dire de 0,5 à 1 litre contre 0,25 habituellement. Jean Bernard, qui travaillait alors dans le service de pédiatrie de Julien Marie à l'Hôpital Hérold, fournit le premier patient¹. La technique fut adaptée du nourrisson à l'enfant avec l'aide de S. Buhot². Le sang fut prélevé sur des donneurs réguliers du Centre national de la transfusion sanguine de même groupe sanguin que le receveur.

Le 31 octobre 1947, Marcel Bessis et Jean Bernard présentèrent le cas du petit Michel à la Société médicale des hôpitaux de Paris : « Nous avons l'honneur de relater les premiers résultats du traitement de la leucémie aiguë par une nouvelle méthode : l'exsanguino-transfusion. Chez un enfant de six ans, une leucémie aiguë, dont les signes cliniques, sanguins et médullaires sont typiques, est parvenue au stade ultime de son évolution, lorsque le traitement est entrepris. Les exsanguino-transfusion transforment la situation ; la santé de l'enfant est actuellement excellente, son sang et sa moelle son normaux »³. Ils ne pensaient pas avoir guéri ce jeune garçon : « Si nous souhaitons beaucoup avoir guéri cet enfant, nous n'oserions bien entendu l'affirmer, mais nous estimons que ces premiers résultats permettent un espoir raisonnable. »⁴. L'enfant avait reçu trois exsanguino-transfusions, une première incomplète à cause d'un choc transfusionnel bénin, suivie de deux remplacements de son sang à 95 %. Jean Bernard et Marcel Bessis attirèrent l'attention sur la rapidité et l'ampleur de l'amélioration, laquelle, à la fois immédiate et retardée, avait abouti à une totale disparition apparente de la maladie après la troisième opération. Ils avancèrent deux hypothèses pour expliquer ce résultat, d'une part l'élimination de substances nocives, d'autre part l'apport de substances anti-leucosiques déficientes chez le malade et normalement actives contre les leucoblastes ou contre l'hypothétique agent de la leucose. La deuxième explication avait leur préférence pour deux raisons. Tout d'abord, s'il paraissait logique que l'élimination d'un composé puisse stabiliser les lésions, leur réparation était dans cette perspective difficile à comprendre. Ensuite, l'intervention de principes anti-leucosiques leur permettait d'interpréter l'inégale efficacité des exsanguino-transfusions. Ceci moyennant une hypothèse supplémentaire : le sang des sujets normaux pourrait ne pas contenir la même quantité de ces substances d'un individu à l'autre. Ils pensaient que la transfusion de plusieurs litres de sang augmentait, par le nombre de donneurs, les chances de fournir un sang riche en éléments anti-

¹ Bessis M., Bernard J., *Remarquables résultats du traitement par l'exsanguino-transfusion d'un cas de leucémie aiguë*, Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 63 : 871-877, 1947.

² Buhot S., *Technique de l'exsanguino-transfusion*, Rev. Hémat., 3 : 92-188, 1948.

³ Bessis M., Bernard J., *Remarquables résultats du traitement par l'exsanguino-transfusion d'un cas de leucémie aiguë*, Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 63 : 871-877, 1947, p. 871.

⁴ Bessis M., Bernard J., *Remarquables résultats du traitement par l'exsanguino-transfusion d'un cas de leucémie aiguë*, Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 63 : 871-877, 1947, p. 875.

leucosiques. Cette hypothèse s'accordait en outre avec le remarquable effet bénéfique qu'avaient eu chez certains leucémiques des transfusions massives de sang¹.

L'accueil de cette présentation fut plutôt froid. Prosper-Emile Weil, l'un des fondateurs de la Société française d'hématologie déclara, après avoir observé les lames apportées par ses confrères, que certes ces cellules ressemblaient beaucoup à des cellules leucémiques mais que, puisqu'il y avait une rémission, le diagnostic était sûrement erroné².

La présentation suivante, faite le 4 novembre à l'Académie nationale de médecine, fut accueillie par des applaudissements et par les commentaires élogieux du cardiologue et ami d'Arnault Tzanck, Charles Laubry : « L'approbation flatteuse que vous venez de manifester à l'égard de la communication présentée par MM. Bessis et Jean Bernard pourrait me dispenser de la commenter. Mais je ne puis résister au désir d'en souligner l'importance et, par la même occasion, le mérite de celui que j'ai conduit à cette tribune, M. Bessis. Pour la première fois, dans cette redoutable maladie qu'est la leucémie aiguë, rebelle jusqu'ici à toute thérapeutique, on nous apporte la preuve manifeste d'un traitement actif et on met un terme à notre impuissance. (...) Je n'ignore pas que d'autres, avant lui, avaient eu recours à la transfusion sanguine au cours des leucémies en général. Mais ils cherchaient à lutter simplement contre l'anémie ; ils avaient obtenu des résultats intéressants, peut-être suggestifs, mais transitoires et incomplets. (...) Au bout d'un mois, le résultat vous le connaissez : une formule sanguine absolument normale et un enfant rétabli. On ne saurait préjuger de l'avenir, mais le présent suffit pour se déclarer satisfait. »³.

Dix jours plus tard, les résultats du traitement de deux patients supplémentaires, une jeune fille de seize ans et une femme de vingt-six ans, furent présentés à la Société française d'hématologie. Ces essais montraient que les exsanguino-transfusions, bien tolérées, permettaient de provoquer une « rémission complète », clinique, sanguine et médullaire : « Les conditions dans lesquelles ces rémissions ont été observées, leur fréquence (qui s'oppose à l'extrême rareté des rémissions spontanées complètes dont l'existence est même douteuse) permettent d'exclure formellement l'hypothèse d'une coïncidence. »⁴. A ce sujet, leur confrère Bernard Dreyfus venait de terminer une étude rétrospective sur les rémissions des leucoses aiguës. Il y distinguait les « détentes » et les « rémissions » et montrait que, contrairement aux détentes qui étaient fréquentes, les rémissions avec disparition de tous les désordres cliniques, hématologiques et médullaires étaient très rares. Il n'en avait trouvé que 22 cas dans la littérature dont 15 chez des patients ayant été transfusés. Parmi ces 15 derniers cas, deux rémissions étaient porteuses d'espoir : une de deux ans et une en cours de 20 mois⁵.

Cette séance fut aussi pour eux l'occasion de préciser leurs hypothèses relatives au mécanisme d'action de leur traitement. Ils accordèrent davantage de place à la soustraction du sang leucémique, qui agissait certainement par l'élimination des leucoblastes et peut-être aussi par celle de « principes blastogènes ». Mais la principale action restait selon eux liée à l'apport de substances utiles. Il pouvait s'agir d'une hormone ou d'une vitamine, comme dans la maladie de Biermer ou anémie pernicieuse. Des travaux récents tendaient à prouver l'origine carencielle de cette maladie, laquelle évoluait spontanément vers un cancer de l'estomac. Une autre hypothèse, inspirée des hémolyses dues aux incompatibilités érythrocytaires, supposait

¹ Bessis M., Bernard J., *Remarquables résultats du traitement par l'exsanguino-transfusion d'un cas de leucémie aiguë*, Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 63 : 871-877, 1947. Bessis M., Bernard J., *A propos du traitement la leucémie aiguë par exsanguino-transfusion*, Bull. Acad. Méd., 131 : 615-619, 1947.

² Entretien avec Jean Bernard, 19.02.1999.

³ Bessis M., Bernard J., *A propos du traitement la leucémie aiguë par exsanguino-transfusion*, Bull. Acad. Méd., 131 : 615-619, 1947, p.618-619.

⁴ Bernard J., Bessis M., *Réflexions sur le traitement des leucoses aiguës par l'exsanguino-transfusion*, Le sang, 19 (1) : 45-50, 1948, p. 46.

⁵ Dreyfus B., *Les rémissions des leucoses aiguës*, Le sang, 19 (1) : 35-39, 1948.

l'existence dans le sang des donneurs d'anticorps « anti-leucoblastiques ». La présence d'anticorps dirigés contre un éventuel virus de la leucose aiguë humaine fut également évoquée.

A la mi-novembre le petit Michel allait toujours bien mais d'autres patients avaient rechuté, au moins un des leurs et une patiente traitée de la même façon par leur confrère Roger Cattan. En l'état, l'exsanguino-transfusion ne paraissait pas pouvoir guérir les leucémiques. Cependant ses auteurs n'étaient pas prêts à l'abandonner. Ils espéraient la perfectionner et, surtout, ils y voyaient un intérêt autre que thérapeutique : « nous disposons, avec l'exsanguino-transfusion, d'une méthode expérimentale d'étude des leucoses humaines. Il semble possible désormais de modifier l'évolution des leucoses, d'analyser ces modifications, d'analyser par des essais différentiels le rôle que jouent à l'origine de ces modifications les différents éléments intervenants dans l'exsanguino-transfusion. Il n'est pas interdit d'espérer que cette méthode va permettre de faire progresser la connaissance de l'étiologie, de la physiopathologie des leucoses aiguës, et peut-être aussi d'autres maladies malignes. »¹.

Jean Bernard et Marcel Bessis venaient de commencer des recherches *in vitro* et en projetaient *in vivo*. Afin de mettre en évidence des substances anti-leucosiques, ils avaient mis en contact des leucoblastes et du sang de sujets sains. Mais le développement des blastes n'avait pas paru perturbé. Par ailleurs, ils entreprirent, premièrement, de sélectionner les « bons » donneurs et si possible d'élaborer un test permettant d'en repérer de nouveaux ; deuxièmement, de préciser si la partie active du sang était une fraction du plasma ou un type de cellules².

En janvier 1948, le petit Michel rechuta et fut rendu à sa famille. L'espoir de guérir s'éteignit avec lui, mais resta la volonté de comprendre³.

Au mois de mars, l'expérience de 15 cas personnels permit à Jean Bernard et Marcel Bessis de conclure à l'innocuité de l'exsanguino-transfusion y compris chez l'adulte. Ils avaient recouru 50 fois à cette méthode sans observer d'accident. Ils en furent d'ailleurs surpris car ils s'attendaient à ce que les patients fabriquaient de nombreux anticorps contre les antigènes des sous-groupes sanguins et les protéines plasmatiques des nombreux donneurs. Cette bonne tolérance des leucémiques pour ce traitement fut soulignée parce qu'il était alors généralement admis que les leucémiques aigus supportaient mal les transfusions abondantes⁴. Par exemple, en 1946, Jacques Mallarmé écrivit « le malade, comme souvent ceux atteints de leucémie aiguë, ne tolérait pas le sang frais » à propos d'un patient qu'il avait soigné en 1944 lorsqu'il dirigeait le centre de transfusion sanguine de l'Hôpital Laennec⁵. L'année suivante, dans un article faisant le bilan de dix années d'observation de leucémies aiguës, soit environ 200 cas, il précisa sa position : « Les transfusions massives doivent être refusées »⁶. Selon Jean Bernard, l'injection de grandes quantités de sang était tenue pour périlleuse par la plupart des hématologistes à l'exception d'Arnault Tzanck, des italiens Adolfo Ferrata (1880-1946) et Edoardo Storti (né en 1909), et de l'américain Maxwell Wintrobe⁷.

¹ Bernard J., Bessis M., *Réflexions sur le traitement des leucoses aiguës par l'exsanguino-transfusion*, Le sang, 19 (1) : 45-50, 1948, p. 49-50.

² Bernard J., Bessis M., *Réflexions sur le traitement des leucoses aiguës par l'exsanguino-transfusion*, Le sang, 19 (1) : 45-50, 1948.

³ Bessis M., Bernard J., *A propos du traitement de la leucose aiguë par l'exsanguino-transfusion*, Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 64 : 14-15, 1948.

⁴ Tzanck A., Bessis M., Bernard J., *Le traitement des leucémies aiguës de l'enfance par l'exsanguino-transfusion*, Arch. Franç. Pédiat., 5 : 269-273, 1948.

⁵ Bénard R., Mallarmé J., *Un cas d'érythroleucémie aiguë remarquablement amélioré par le sang de conserve*, Le sang, 17 (3) : 186-191, 1946.

⁶ Mallarmé J., *Etude d'ensemble sur les leucoses humaines dites aiguës*, Rev. Hémat., 2 : 60-103, 1947.

⁷ Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 24 (23) : 730-736, 1948.

Concernant l'évolution des leucémies traitées par exsanguino-transfusion, l'étude de nouveaux cas montrait que leur effet était variable, exceptionnellement nul, responsable de rémissions parfois incomplètes, parfois complètes. Les rechutes semblaient systématiques et surtout étaient de moins en moins sensibles à ce traitement.

Parallèlement, l'intérêt physiopathologique de la méthode se confirmait. L'exsanguino-transfusion avait en effet permis des découvertes cliniques et pronostiques. Tout d'abord, ce traitement donnait à des manifestations jusque là inconnues le loisir d'apparaître. Par exemple, un des enfants traités succomba avec une tumeur osseuse du fémur gauche. Ensuite, l'augmentation progressive du nombre des globules rouges, à distance de l'intervention, et son maintien à un niveau élevé malgré l'aggravation d'autres désordres, traduisaient à leurs yeux une action érythropoïétique, en plus de l'action anti-leucoblastique. Enfin, ils avaient constaté que l'évolution vers la rémission s'accompagnait généralement d'une élévation du taux de neutrophiles et que la persistance d'un taux très bas était de fâcheux pronostic¹.

Six mois après la première présentation de leurs travaux, pour lesquels la communauté des hématologues français témoignait essentiellement de l'indifférence, Jean Bernard et Marcel Bessis firent l'objet d'une attaque véhémente de la part de Jacques Mallarmé, René Fauvert et P. Petit, sous la forme d'un article paru dans *La presse médicale* le 24 avril 1948. Ces derniers reprochaient à leurs confrères de laisser espérer une guérison de « la plus effroyable des maladies ». Le délai était trop court pour en juger, disaient-ils, puisqu'il existait de rares rémissions spontanées plus ou moins totales et pouvant durer un peu plus d'un an. Par ailleurs, ils considéraient comme impossible d'attribuer une amélioration de l'état du patient à une quelconque thérapeutique, du fait de l'absence de relation entre l'état clinique, celui du sang, celui de la moelle et l'évolution de la maladie. Un argument leur était fourni par la radiothérapie qui, chez les leucémiques aigus, éliminait les cellules souches du sang mais ne retardait pas la mort. A défaut de démonstration, ils soupçonnaient les transfusions simples, et dans une moindre mesure la pénicilline, de pouvoir induire des rémissions. Mais ils insistèrent sur le caractère symptomatique de ces traitements². Jacques Mallarmé pensait que la leucémie, comme les autres cancers, ne pourrait être guérie qu'en agissant à un stade précoce : « Actuellement, la leucose aiguë ne présente pas de *thérapeutique curative*. Et s'il advient que des thérapeutiques puissent l'être un jour, ce sera à son *stade prémonitoire, réversible*, que la leucose devra être traitée pour guérir. »³. Finalement, l'exsanguino-transfusion ne présentait à leurs yeux aucun avantage et deux inconvénients par rapport aux transfusions simples : un risque de choc et, comme l'avait déjà fait remarquer Georges Marchal, des difficultés techniques⁴.

Effectivement, divers facteurs rendaient difficilement envisageable la généralisation de cette technique de soin : elle nécessitait une dizaine de litres de sang pour un enfant, plusieurs dizaines de litres pour un adulte, ce qui posait indéniablement des problèmes d'approvisionnement. De plus, en raison du nombre de donneurs, de la difficulté de la saignée, et de la nécessaire surveillance du malade, elle ne pouvait être pratiquée qu'en milieu hospitalier et par un transfuseur entraîné.

Le 15 mai, Marcel Bessis répondit qu'il n'avait jamais affirmé avoir guéri des leucémies. Il prit soin de distinguer les « détentes », simples améliorations souvent déterminées par les transfusions, des « rémissions vraies » avec disparition de tous les signes de la maladie. Il reprocha à ses confrères de ne pas avoir fait cette distinction et d'avoir ainsi laissé entendre que les rémissions complètes étaient fréquentes. Car c'était justement la

¹ Tzanck A., Bessis M., Bernard J., *Le traitement des leucémies aiguës de l'enfance par l'exsanguino-transfusion*, Arch. Franç. Pédiat., 5 : 269-273, 1948.

² Fauvert R., Mallarmé J., Petit P., *La « guérison » de la leucémie dite aiguë*, La presse médicale, 28 : 302, 1948.

³ Mallarmé J., *Etude d'ensemble sur les leucoses humaines dites aiguës*, Rev. Hémat., 2 : 60-103, 1947, p. 101.

⁴ Fauvert R., Mallarmé J., Petit P., *La « guérison » de la leucémie dite aiguë*, La presse médicale, 28 : 302, 1948.

fréquence des rémissions totales faisant suite aux exsanguino-transfusions qui, pour Marcel Bessis, établissait le lien de causalité. Il en avait obtenu trois sur une vingtaine de cas, alors que la littérature faisait état d'au mieux 25 rémissions complètes sur plusieurs milliers de patients. Pour Marcel Bessis, la supériorité de l'exsanguino-transfusion sur la transfusion était liée à la quantité de sang apportée. Par ces deux critères, fréquence et quantité, et en demandant à MM. Fauvert, Mallarmé et Petit sur quels « chiffres statistiques » ils se fondaient, il afficha sa volonté de situer le débat entre experts au niveau quantitatif. Enfin, il refusa de considérer la pénicilline comme susceptible de provoquer des rémissions vraies, d'une part, parce que le patient cité en exemple par ses détracteurs avait aussi reçu dix litres de sang¹, d'autre part, parce que Jean Bernard qui l'avait prescrite à dose très élevée (trois cent mille à un million d'unités par jour) n'avait observé qu'une action positive sur les lésions buccales et parfois sur la fièvre².

Au delà du désaccord, qui portait principalement sur la tolérance aux transfusions des leucémiques aigus, cette confrontation traduisait un malentendu. Jacques Mallarmé rejetait l'exsanguino-transfusion en tant que traitement curatif, alors que Jean Bernard et Marcel Bessis n'y voyaient plus qu'une voie de recherche. Dans ce contexte, il était logique que Jacques Mallarmé qui fut parmi les premiers à signaler des améliorations consécutives à des transfusions répétées³, ait été agacé par les publications de Jean Bernard et Marcel Bessis. D'autant plus, qu'il avait avec ces derniers d'autres différends scientifiques relatifs aux leucémies aiguës. Contrairement à Jean Bernard, il pensait que la leucopénie était aussi fréquente que l'hyperleucocytose. Contrairement à Marcel Bessis, il ne croyait pas que les cellules leucémiques soient toujours des cellules souches, ni que leur malignité soit toujours liée à leur immaturité⁴.

Cet épisode encouragea probablement Marcel Bessis et Jean Bernard à étendre leur expérience. En mai, celle-ci portait sur 30 cas et cent cinquante exsanguino-transfusions, presque toutes réalisées par S. Buhot. Le bilan était le suivant : « Dans plus de la moitié des cas, on a assisté, dans les jours qui suivent, à l'atténuation ou à la disparition des signes cliniques de la maladie (douleurs, fièvre, adénopathies, splénomégalie, hémorragies) ; ces rémissions cliniques se sont accompagnées presque toujours d'une normalisation de la leucocytose sanguine et, dans les trois quart des cas, d'un retour à la normale de la formule médullaire. »⁵.

Les raisons de la bonne tolérance aux exsanguino-transfusions sont probablement à rechercher dans leur méthode. Ils utilisaient du sang frais, transfusé de bras à bras au début, puis prélevé en bouteilles sur une solution anti-coagulante de citrate de soude et parfois d'héparine. L'élément déterminant était probablement l'administration de calcium pour compenser la fixation de celui-ci par le citrate de soude. Les donneurs étaient presque toujours de même groupe ABO et Rh que le patient. Dans quelques cas, ils utilisèrent cependant du sang O dont les agglutinines furent neutralisées par des substances de Witebsky. Lorsqu'on transfuse une petite quantité de sang, ceci n'est pas nécessaire parce que la transfusion apporte peu d'anticorps du donneur ; la menace est donc faible pour les cellules du receveur. Dans le cas d'un apport massif de sang, il était indispensable d'inactiver les anticorps anti-A et anti-B

¹ Bessis M., *Sur les exsanguino-transfusions dans les leucémies aiguës*, La presse médicale, 29 : 360, 1948.

² Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 24 (23) : 730-736, 1948.

³ Lemaire A., Mallarmé J., *Données actuelles sur la leucose aiguë*, Paris Méd., 2, 1939. Bénard R., Mallarmé J., *Un cas d'érythroleucémie aiguë remarquablement amélioré par le sang de conserve*, Le sang, 17 (3) : 186-191, 1946.

⁴ Mallarmé J., *Etude d'ensemble sur les leucoses humaines dites aiguës*, Rev. Hémat., 2 : 60-103, 1947. Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 24 (23) : 730-736, 1948.

⁵ Bessis M., « L'exsanguino-transfusion en dehors de la maladie hémolytique du nouveau-né » in *Les acquisitions médicales récentes*, Editions médicales Flammarion, Paris, 1948.

du donneur. Cela était possible parce qu'Ernest Witebsky (1901-1969), de l'Université de New York à Buffalo, avait mis au point une méthode d'extraction des antigènes de groupe sanguin¹. Ces substances leur furent données par le Docteur Witebsky et les Laboratoires Sharp et Döhme².

Les efforts d'identification de la substance active

Le meilleur moyen de parvenir rapidement à l'identification du principe actif était de commencer par tester l'effet des différentes fractions de plasma disponibles sur la leucémie ou les cellules leucémiques.

En décembre 1947, les chercheurs du Centre national de la transfusion sanguine contactèrent les Laboratoires Roussel et leur proposèrent de s'associer pour fractionner du plasma humain, c'est à dire en extraire l'albumine, les « ferments » de coagulation, le fibrinogène, les hémagglutinines, et d'éventuelles substances anti-leucosiques. Ils souhaitaient en outre extraire les substances de Witebsky de la salive de cheval, du liquide amniotique humain et de l'urine. Le fractionnement du plasma n'était pas réalisable à une échelle suffisante au Centre national de la transfusion sanguine ; par contre, ils pouvaient fournir le sang, tester les fractions par électrophorèse et tester leur action biologique.

Les Laboratoires Roussel ne semblaient pas opposés à cette idée mais ils n'étaient pas outillés pour le fractionnement du plasma et ils ne pensaient pas pouvoir l'être avant un an³.

Ne parvenant pas à se procurer des fractions de plasma en France, Marcel Bessis chercha de l'aide aux Etats-Unis. Dès la mi-novembre 1947, il avait écrit à Louis Diamond pour lui raconter le cas du petit Michel : « En 3 semaines, nous avons vu tous les signes cliniques (y compris la splénomégalie et les adénopathies) disparaître, les formules sanguines et médullaires redevenir entièrement normales. Nous arrivons à cette conclusion, qui nous paraît indiscutable, qu'il existe dans le sang des sujets normaux (ou de certains sujets normaux) des substances anti-leucémiques (ceci étant pris dans un sens très large). ». Louis Diamond avait répondu qu'il venait lui-même de tester l'exsanguino-transfusion dans des cas de leucémie aiguë. Au début, les rémissions obtenues étaient moins brillantes qu'en France mais en décembre il obtint une amélioration inhabituelle⁴. Pendant la guerre, Louis Diamond avait participé, dans l'équipe d'Edwin Cohn (1892-1953) à l'isolement des protéines du plasma humain⁵. Ce dernier dirigeait désormais un programme fédéral de fractionnement du surplus de plasma humain déshydraté de la Marine, rendu à la vie civile par la Croix Rouge américaine. Ce programme comprenait également la distribution des fractions aux hôpitaux américains⁶. Marcel Bessis pensait pouvoir obtenir des fractions plasmatiques grâce à Louis Diamond mais ce dernier était plutôt pessimiste à ce sujet : « Je doute que le Dr Cohn et ses collaborateurs soient intéressés, ou même soient en mesure de fractionner du sang pour nos expériences d'exsanguino-transfusion en ce moment. Le groupe tout entier est extrêmement occupé par une série d'études sur les nombreuses fractions de plasma obtenues de la Croix Rouge pendant la guerre, et leurs étagères sont remplies de produits d'une telle priorité

¹ Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1985, p. 336.

² Bessis M., « L'exsanguino-transfusion en dehors de la maladie hémolytique du nouveau-né » in *Les acquisitions médicales récentes*, Editions médicales Flammarion, Paris, 1948.

³ Fonds Bessis, correspondance avec « Laboratoires pharmaceutiques », Laboratoires Roussel, 10.12.1947, 26.01.1948

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Diamond L., 15.11.1947, 28.11.1947, 19.12.1947.

⁵ Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1985, p. 335.

⁶ Massachusetts Department of Public Health, *Blood and blood derivatives program*, New England J. Med., 234 (11) : 389-390, 1946.

qu'aucun des projets que nous pourrions leur soumettre ne pourrait être réalisé avant au moins un an. Cependant j'espère finir par les intéresser et peut-être découvrir la fraction qui améliore l'état des patients atteints de leucémie. »¹.

Pour obtenir ces fractions, il allait falloir convaincre d'autres médecins de l'existence de substances anti-leucosiques. Pour cela, Marcel Bessis disposait d'un seul moyen, persuader les américains de l'efficacité de l'exsanguino-transfusion. Il mit en œuvre une double stratégie consistant à communiquer ses résultats et à inciter ses collègues à utiliser sa technique.

En janvier 1948, il envoya au fondateur de la revue *Blood*, William Dameshek (1900-1969) du Tuft's Hospital à Boston, un tiré-à-part sur l'exsanguino-transfusion dans la leucémie aiguë et essaya de l'intéresser à la question du mécanisme d'action. William Dameshek se montra enthousiaste mais se contenta de proposer à Marcel Bessis l'écriture d'un article².

En août 1948, Marcel Bessis présenta ses résultats, portant sur 38 cas, au congrès de la Société internationale d'hématologie tenu à Buffalo, soit 30 rémissions cliniques, 15 rémissions du sang périphérique et six rémissions complètes³. C'est à cette période que Jean Dausset arriva aux Etats-Unis, avec pour principal objectif d'identifier la partie du sang active contre la leucémie aiguë⁴.

Jean Dausset résida d'abord chez Nathan Rosenthal (1890-1955), au Mount Sinai Hospital de New York. Son service recevait de nombreux leucémiques ; on y diagnostiquait environ une leucémie par jour. En septembre et octobre 1948, cinq exsanguino-transfusions y furent pratiquées avec des résultats modestes : des rémissions cliniques furent obtenues, dont une de un mois, mais pas de rémission hématologique⁵. Afin de l'encourager à continuer, Marcel Bessis lui écrivit qu'il obtenait des rémissions cliniques dans plus de 60% des cas, allant jusqu'à quatre mois, et des rémissions hématologiques dans 15% des cas après quatre ou cinq opérations consécutives⁶. Mais ceci ne fut pas suivi d'effet.

Jean Dausset séjourna ensuite au Children's Hospital de Boston où travaillaient Sidney Farber et Louis Diamond, lesquels voyaient environ trois nouvelles leucémies par semaine⁷. A son arrivée, il était déjà trop tard, les bostoniens étaient plus que sceptiques : « A Boston, le ton est au pessimisme et au découragement. L'heure de l'exsanguino-transfusion a sonné. Ils ont eu récemment de grosses pertes »⁸. L'unique tentative de William Dameshek s'étant aussi soldée par un décès, il ne renouvela pas l'expérience⁹. Jean Dausset pratiqua une exsanguino-transfusion dans un autre hôpital de Boston, laquelle donna une rémission hématologique, mais personne ne s'en émut¹⁰. A Philadelphie enfin, F. Miller à qui Jean Dausset avait rendu visite abandonna aussi la méthode¹¹.

Globalement, les résultats d'exsanguino-transfusion étaient moins brillants outre-atlantique. Toutefois, l'indifférence des médecins américains - exception faite de Louis Diamond qui proposa à Marcel Bessis d'élaborer un programme de recherche commun¹² - avait d'autres explications. Premièrement, leur réticence s'enracinait dans le même malentendu qu'avec Jacques Mallarmé. La plupart n'attribuaient à l'exsanguino-transfusion qu'un intérêt

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Diamond L., 19.12.1947.

² Fonds Bessis, correspondance avec Dameshek W., 02.01.48, 28.01.1948.

³ Bessis M., *The use of replacement transfusion in diseases other than hemolytic disease of the newborn*, *Blood*, 4 (4) : 324-337, 1949.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 03.12.1948.

⁵ Fonds Bessis, correspondance Dausset J., 26.09.1948, 08.10.1948, 23.10.1948.

⁶ Fonds Bessis, correspondance avec Rosenthal N., 29.10.1948.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 12.11.1948.

⁸ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., sans date mais classé en novembre 1948.

⁹ Fonds Bessis, correspondance avec Dameshek W., 26.09.1948.

¹⁰ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 12.11.1948.

¹¹ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., sans date mais classé en novembre 1948.

¹² Fonds Bessis, correspondance avec Diamond L., 22.03.1948.

anti-hémorragique. Or pour limiter les hémorragies, ils pouvaient tout à fait se contenter de transfusions plus simples. Nathan Rosenthal, par exemple, avait pris l'habitude de pratiquer en ambulatoire des transfusions de un à deux litres suivies de saignée, qu'il appelait exsanguino-transfusions¹. De plus, le sang frais était difficile à obtenir en quantité importante dans leurs hôpitaux, par manque de donateurs, et ils devaient le payer 25 dollars la bouteille².

La deuxième raison eut probablement encore plus de poids : ils avaient mieux que l'exsanguino-transfusion. Un autre moyen de provoquer des rémissions dans les leucémies aiguës venait d'être testé. Il s'agissait de molécules synthétiques, les antifoliques (voir le sous-chapitre suivant). A efficacité égale pour induire des rémissions, les antifoliques étaient voués d'entrée à supplanter l'exsanguino-transfusion. On connaissait le principe actif. Le fait que la molécule soit synthétisée rendait les différents essais comparables ; les problèmes de standardisation liés à l'utilisation de substances purifiées ne se posaient pas. Et les questions d'approvisionnement se limitaient à la taille de l'unité de production. Enfin, leur administration par voie veineuse ou orale paraissait plus simple, bref cette méthode était plus riche de promesses.

Marcel Bessis, Jean Bernard et Jean Dausset devaient continuer seuls ou presque la recherche des substances anti-leucoblastiques. Plusieurs pistes furent explorées.

Connaissant les essais menés avec un antagoniste de l'acide folique par Léo Meyer à New York, Marcel Bessis lui fit parvenir ses résultats d'exsanguino-transfusion. Son action était peut-être due à des anti-foliques naturels. Il suggéra de créer un groupe de travail sur la question mais cette proposition ne semble pas avoir eu d'écho³.

Vers juin 1948, un article de R. Barnard relatait le traitement heureux d'une leucémie aiguë par des fractions de globuline, effet que l'auteur attribuait à la cholinestérase⁴. D'après Louis Diamond, ces fractions avaient été achetées aux Laboratoires Cutter. Ils en vendaient toujours mais ils n'avaient pas toutes les fractions et les prix étaient excessifs⁵.

Début décembre 1948, lors d'une conférence sur les hémorragies des leucémies réunissant à Boston une trentaine de médecins, un hématologue de Cambridge suggéra la présence en excès d'une substance proche de l'héparine dans le sang des leucémiques⁶. Mais à Paris, Jean-Pierre Soulier, qui avait étudié un grand nombre de sangs leucémiques, pensait que c'était rare⁷.

Louis Diamond proposa à cette époque à Jean Dausset de traiter quelques leucémiques par des transfusions de sang fractionné ; il disait avoir trouvé un moyen d'isoler les globules blancs sans les traumatiser. Marcel Bessis avait essayé de le faire mais n'y était pas parvenu⁸.

En mars 1949, Jean Dausset entreprit à Boston des cultures de moelles leucémiques dans du plasma normal ou provenant du malade, auquel il prévoyait d'ajouter différentes fractions sanguines. Il s'inspira de la méthode utilisée dans le laboratoire de parasitologie voisin pour cultiver le sang de singes paludéens. Il lui suffisait de remplacer le milieu artificiel par du plasma. Il pensait ramener au Centre national de la transfusion sanguine les flacons et les fractions, et remplacer la pièce chauffée par une boîte hermétiquement fermée⁹. Il rentra à Paris en décembre.

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 23.10.1948.

² Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 03.12.1948.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Meyer L., 24.03.1948

⁴ Barnard R., *Massive plasma transfusion and the pathodynamics of acute leukemia*, Med. Rec., 160 (10) : 610-612, 1947.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Diamond L., 14.06.1948, 23.06.1948.

⁶ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 03.12.1948.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 21.12.1948.

⁸ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 03.12.1948.

⁹ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 12.03.1949.

Epilogue

En 1950, Marcel Bessis et Jean Dausset publièrent un dernier article sur l'exsanguino-transfusion et son action sur la leucémie aiguë. Cette étude rassemblait les observations de 60 cas traités par le Centre national de la transfusion sanguine, certains centres de province, ainsi que par les hématologistes A. Piney, de Londres, et L. Revol, de Lyon. Une vingtaine de ces patients provenaient du service de Jean Bernard. Le bilan était le suivant (voir Annexe 5). Lors d'une première exsanguino-transfusion, l'état général était amélioré dans 90% des cas, les organes hypertrophiés diminuaient de volume dans 63% des cas et la leucoblastose chutait dans 79% des cas. Cependant ces améliorations ne duraient pas longtemps ; au bout d'une vingtaine de jours, ces chiffres tombaient respectivement à 55%, 31% et 31%. Toujours après ce délai, l'état clinique ne semblait normal que dans 8% des cas et la leucoblastose n'avait disparu que chez 4% des patients. Quant à la moelle osseuse, elle présentait une image normale dans huit cas seulement. Le cas du petit Michel était rare. De ce fait, le retour à un aspect normal de la moelle devint un critère d'efficacité trop restrictif : « on doit interpréter comme dû à la thérapeutique, n'importe quel signe, même minime mais authentique, indiquant la diminution du processus leucémique, s'il suit immédiatement et fréquemment cette thérapeutique, autrement dit, il n'est pas nécessaire, pour se convaincre de l'action anti-leucémique du sang normal, d'attendre la *normalisation* de la moelle ou même du sang. »¹.

Cette synthèse montrait également que les patients répondaient moins bien à une seconde exsanguino-transfusion et quasiment pas à une troisième, que la durée moyenne de vie des patients ainsi traités était de 4,8 mois, que le sang normal était leucopéniant, qu'il n'y avait pas de parallélisme évident entre la quantité de sang reçue et la durée de vie, et qu'il ne semblait pas y avoir de « bons » donneurs.

Concernant la durée de vie, il était difficile d'affirmer que l'exsanguino-transfusion la prolongeait parce que les spécialistes n'étaient pas d'accord sur la durée de vie moyenne des leucémiques non traités (voir annexe 6).

L'action leucopéniante du sang était prouvée, selon les auteurs, par le calcul théorique des concentrations globulaires résultant d'une simple substitution. Pour les érythrocytes, les valeurs mesurées correspondaient aux valeurs calculées, mais ce n'était pas le cas pour les leucocytes. La chute de la leucocytose était toujours plus grande que prévue et augmentait les jours suivant l'opération. Par quel mécanisme cette action « leucopénisante » pouvait-elle s'exercer ? Une expérience de circulation croisée entre un volontaire sain et une fillette leucémique, réalisée par Ralph Wallerstein, ainsi que les travaux sur la transfusion de globules blancs effectués par George Minot (1885-1950) et Raphaël Isaacs (1891-1965), à l'Hôpital Collis P. Huntington, et par Bernard Dreyfus, avaient montré la disparition quasi-immédiate des leucocytes injectés. L'effet anti-leucémique ne semblait donc pas lié aux cellules mais au plasma. Marcel Bessis et Jean Dausset suspectaient l'existence d'anticorps anti-leucocytes.

Ils se demandèrent si la substance active détruisait ou faisait mûrir les cellules leucémiques. Un auteur avait vu mûrir des cellules leucémiques cultivées dans du sang normal, un autre avait obtenu une rémission en transfusant du plasma, un troisième avait isolé de l'urine des leucémiques des substances leucopoïétiques, mais eux-mêmes avaient observé un décalage d'environ trois semaines entre la disparition dans le sang périphérique des cellules leucémiques et l'apparition de cellules adultes. Ce phénomène s'accordait mieux avec l'hypothèse d'une destruction des cellules leucémiques laissant place à une reprise de la

¹ Bessis M., Dausset J., *Etude critique des rémissions au cours des leucémies aiguës traitées par exsanguino-transfusion*, Rev. Hémat., 5 : 188-225, 1950, p. 190.

leucopoïèse. Les rechutes auraient alors été dues à la persistance de cellules malades ou d' « éléments virusiens ».

Ils émirent aussi des hypothèses pour expliquer la perte d'efficacité des exsanguino-transfusions successives. Peut-être la carence des patients en substance anti-leucémique augmentait-elle au cours de l'évolution de la maladie. Dans le cas où la leucémie serait due à un virus, Bernard Dreyfus avait suggéré la mise en place d'une chimiorésistance. Enfin, le sang ne fournissait peut-être qu'un stimulus agissant sur un organe dont la capacité à libérer ou à produire la substance anti-leucémique diminuerait au cours du processus pathologique.

Enfin, Marcel Bessis et Jean Dausset comparèrent les rémissions provoquées par leur technique à celles résultant de l'administration d'antagonistes de l'acide folique. Ils écrivirent que le taux de rémissions complètes était le même et que les taux d'amélioration clinique et hématologique semblaient légèrement supérieurs avec leur méthode, bien qu'il ait été très difficile de comparer les résultats publiés par les différentes équipes (voir le sous-chapitre suivant). Ils attirèrent l'attention sur la forte toxicité des antifoliques, responsable de décès précoces. Par ailleurs, la rare capacité des antifoliques à provoquer une seconde rémission, la suppression de l'effet des antifoliques chez le rat surrénalectomisé, et la possibilité d'induire une rémission avec un traitement par la cortisone ou l'hormone adrénocorticotrope, les amenèrent à envisager une action de l'exsanguino-transfusion et des antifoliques sur l'hypophyse ou la glande surrénale¹. A l'époque, William Dameshek jugeait également possible que les rémissions provoquées par les exsanguino-transfusions soient dues à l'ACTH ou à la cortisone².

L'incapacité de l'exsanguino-transfusion à ouvrir une voie de recherche provoqua sa répudiation. Elle revint en grâce au milieu des années 1970, au gré des découvertes immunologiques et de l'essoufflement de la voie chimiothérapeutique. En 1974, Marcel Bessis écrivit à Robert Kassel, qui travaillait au Sloan-Kettering Institute de New York sur le complément et le cancer, pour le remercier d'avoir cité ses travaux sur l'exsanguino-transfusion dans une interview et lui dire qu'il avait abandonné provisoirement cette voie de recherche parce que les cliniciens croyaient fermement au progrès de la chimiothérapie mais qu'il souhaitait à présent reprendre ces recherches. Robert Kassel répondit qu'il avait été impressionné par « l'explication immunologique » proposée dans les articles de 1948 et dont, pensait-il, les fondements étaient en train d'apparaître³.

Robert Kassel et Marcel Bessis entreprirent de réaliser des expériences comparables chez l'animal et si possible chez l'homme. Deux types de difficultés se présentèrent : trouver un financement et trouver des malades. Non seulement, Robert Kassel ne réussissait pas à débloquer des fonds, mais il avait beaucoup de mal à convaincre les cliniciens de l'institut de tenter des transfusions de plasma chez l'homme. Son collègue Barney avait accepté d'injecter du plasma frais héparinisé à un patient chimiorésistant⁴ mais il ne semblait pas décidé à renouveler l'expérience. Ceci fit écrire à Robert Kassel : « Je suis confronté au même problème qui vous conduisit à l'abandon de l'exsanguino-transfusion en 1949, les protocoles de chimiothérapie occupent une telle place que personne ne semble enthousiaste à l'idée de tester une méthode biologique, non toxique »⁵.

Contrairement à ce que l'on pourrait imaginer à ce stade, les positions théoriques de Robert Kassel et Marcel Bessis divergeaient. Ce dernier rejetait l'intervention d'une immunité, du moins spécifique : « Il y a une action spécifique de l'environnement normal sur les cellules

¹ Bessis M., Dausset J., *Etude critique des rémissions au cours des leucémies aiguës traitées par exsanguino-transfusion*, Rev. Hémat., 5 : 188-225, 1950.

² Fonds Bessis, correspondance avec Dameshek W., 14.03.1950.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Kassel R., 06.05.1974, 22.05.1974, 05.09.1974, 11.03.1974.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Kassel R., sans date entre avril et août 1976.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Kassel R., 16.08.1976.

leucémiques, ou, si l'on veut, une sorte de « immunosurveillance » bien que, à mon avis, ceci n'ait aucun rapport avec l'immunité. »¹. Le cancérologue français Lucien Israël était du même avis : « Il est évident pour moi qu'à côté des facteurs bloquants spécifiques de l'immunité antitumorale existent des facteurs plasmatiques non spécifiques, qui jouent un très grand rôle en annihilant les réponses lymphocytaires et macrophagiques. Je me suis en effet demandé si les résultats de vos exsanguino-transfusions n'avaient pas été dus à la suppression de ces facteurs plutôt qu'à l'introduction d'un agent antileucémique. »². Par contre, Robert Kassel pensait que l'exsanguino-transfusion avait apporté la preuve de la destruction immunologique des cellules leucémiques chez l'homme, tout comme il considérait que les chercheurs du Sloan-Kettering Institute l'avaient démontré chez les souris à leucémie spontanée AKR et C58, ainsi que chez le chat. Il attendait beaucoup des traitements basés sur l'immunologie : « Je suis toujours convaincu que vos observations originales sont jusqu'à présent la preuve la plus convaincante du fait que l'immunothérapie est le moyen le plus prometteur d'aboutir à la guérison définitive et non destructive du cancer. »³. Ces différences de point de vue eurent toutefois peu d'influence sur leur projet commun.

Robert Kassel obtint finalement un contrat et Marcel Bessis quelques résultats en 1977. Mais le problème restait de convaincre les cliniciens⁴. La même année, Joseph Burchenal, lui aussi du Sloan-Kettering Institute, demanda à Jean Bernard des tirés-à-part sur l'exsanguino-transfusion pour son collègue Phillip Livingston, lequel s'intéressait également au traitement des leucémies par le plasma⁵. Ils réalisèrent quelques essais cliniques, avec les docteurs H. Teitelbaum et H. Oettgen. Mais, alors que les animaux leucémiques semblaient manquer d'un facteur du complément, cela ne paraissait pas vrai pour l'homme, le traitement de quelques patients avec du plasma et des fractions plasmatiques n'ayant pas eu d'effet appréciable sur leur leucémie⁶.

En 1983, Jean Bernard et Marcel Bessis soumièrent les résultats des exsanguino-transfusions à un réexamen lors d'une réunion internationale sur la prolifération des cellules normales et leucémiques. Eugene Cronkite (né en 1914), du Brookhaven National Laboratory, pensa à une réaction modérée du greffon contre l'hôte (voir le sous-chapitre sur la greffe de moelle osseuse). Preisler, de l'Hôpital Mont Sinai de New York, se montra intéressé parce qu'il supervisait une étude visant à montrer que l'extraction des cellules leucémiques par leucophorèse rendait les patients plus sensibles aux agents chimiothérapeutiques. Pour Broxmeyer et Theodore Fliedner (né en 1929), de l'Université d'Ulm, il s'agissait plutôt de facteurs de régulation. Le groupe auquel appartenait ce dernier avait mis en évidence un effet inhibiteur des granulocytes mûrs sur la croissance des cellules souches⁷.

Le phénomène, peut-être trop complexe, échappe toujours à l'analyse.

Les antagonistes de l'acide folique

Les historiens et les cancérologues font généralement débiter la chimiothérapie des leucémies aiguës en juin 1948, lorsque Sidney Farber (1903-1973) et ses collaborateurs du Children's Hospital de Boston, annoncèrent des rémissions temporaires chez des enfants traités avec de l'aminoptérine, un antagoniste de l'acide folique. Sans rejeter cette

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Gross L., 20.05.1974.

² Fonds Bessis, correspondance avec Israël L., 20.02.1976.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Kassel R., 16.08.1976, 14.04.1977.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Kassel R., 22.11.1977, 27.12.1977.

⁵ Fonds IUH, article 31, Etats-Unis, correspondance avec Burchenal J., 17.06.1977.

⁶ Fonds Bessis, correspondance avec Burchenal J., 28.07.1977, 22.04.1981.

⁷ Bessis M., Bernard J., *Remissions after exchange transfusions in acute leukemia*, Blood Cells, 9 : 75-82, 1983.

simplification rétrospective, nous souhaitons attirer l'attention du lecteur sur des éléments contextuels qui sont ainsi passés sous silence. Tout d'abord, si l'on considère le terme chimiothérapie dans son acception actuelle, laquelle désigne les substances utilisées pour détruire les cellules cancéreuses, les antifoliques furent certes les premières à se montrer efficaces, mais d'autres avaient été essayées auparavant : les moutardes azotées et l'uréthane. De plus, l'efficacité des anti-foliques resta quelque temps incertaine. Par ailleurs, les anti-foliques ne furent pas immédiatement perçus comme des agents destructeurs mais plutôt comme des agents régulateurs. La classification des traitements en « destructeurs », pour les molécules de synthèse, et « régulateurs », pour l'exsanguino-transfusion et l'hormonothérapie, apparut dans les écrits de Jean Bernard en 1953. Cette opposition entre chimiothérapie et « biothérapie » fut particulièrement marquée dans les périodes de déception vis-à-vis des traitements chimiothérapeutiques.

Enfin, dans l'immédiat après-guerre, le terme chimiothérapie se rapportait à tout type de traitement moléculaire, que les produits actifs aient été extraits d'organismes vivants, comme la pénicilline, ou synthétisés, et sans restriction de maladie.

Origine des antifoliques et de leur utilisation dans la leucémie aiguë

Le terme « acide folique », du latin *folium* qui signifie feuille, fut introduit en 1941 par des chercheurs de l'Université du Wisconsin qui avaient extrait des feuilles d'épinard, une substance nécessaire à la croissance des bactéries *Lactobacillus casei* et *Streptococcus faecalis*. De nombreux autres facteurs ayant des propriétés proches, et rassemblés par la suite dans la famille des vitamines B, furent préparés à partir du foie, de la levure de bière et du lait, entre 1941 et 1945. Trois au moins furent obtenus sous forme cristallisée. En 1944, des médecins de l'Université de l'Arkansas montrèrent que ces substances étaient capables de corriger une anémie expérimentale du singe. L'année suivante, ce résultat fut confirmé chez le rat et le poulet¹.

Les animaux carencés présentaient, outre une anémie macrocytaire, une leucopénie et une thrombopénie relatives, à l'image des anémies humaines correspondantes. Or le traitement de ces modèles animaux par des extraits de foie et des facteurs *L. casei* faisait disparaître leucopénie et thrombopénie. L'acide folique semblait donc pouvoir aussi corriger ces troubles sanguins. En 1945, il fut utilisé chez l'homme pour améliorer des leucopénies succédant à la radiothérapie².

La même année, des chercheurs des Laboratoires Lederle de New-York, en collaboration avec la Division Chimique Calco, deux filiales de la firme American Cyanamid Company, produisirent un acide folique synthétique et le nommèrent acide ptéroyl-glutamique (voir annexe 7)³. Des essais cliniques chez des patients anémiques furent immédiatement entrepris par les équipes de Tom Spies (1902-1960), de l'Hôpital Hillman et de l'Université de Cincinnati (Birmingham, Alabama), de W. Darby de l'Université Vanderbilt et de Carl Vernon (1908-1972) de l'Université de Washington. L'action bénéfique de l'acide folique sur les anémies macrocytaires humaines fut jugée indiscutable : le chiffre des érythrocytes et des leucocytes augmentait de façon marquée et l'état général était nettement amélioré⁴.

¹ Soulier J.-P., *Nouveautés hématologiques américaines*, Le sang, 17 (5), 1946, p. 338-344. Editorial, *Folic acid therapy*, J. Am. Med. Ass., 130 (8) : 456-457, 1946.

² Soulier J.-P., *Nouveautés hématologiques américaines*, Le sang, 17 (5), 1946, p. 338-344.

³ Angier R. et coll., *The structure and synthesis of the liver L. casei factor*, Science, 103 : 667-669, 1946.

⁴ Soulier J.-P., *Nouveautés hématologiques américaines*, Le sang, 17 (5), 1946, p. 338-344. Editorial, *Folic acid therapy*, J. Am. Med. Ass., 130 (8) : 456-457, 1946.

Les essais furent étendus à d'autres anémies dont des anémies associées à des leucémies, en particulier chez Tom Spies et ses collaborateurs dont les travaux étaient financés par les Laboratoires Lederle et le Fonds Edward Mason Williams. En février 1946, Tom Spies écrivait, après avoir traité trois patients leucémiques, que l'administration d'acide folique n'entraînait aucune amélioration dans les leucémies : « Il convient de souligner qu'aucun des patients souffrant d'anémie aplastique, d'anémie par carence en fer ou d'anémie associée à une leucémie n'a présenté d'amélioration. Nous avons montré que l'acide folique corrige certaines leucopénies nutritionnelles mais ne corrige pas les leucopénies de nombre de maladies infectieuses ou d'états idiopathiques. »¹.

Cependant, quelques mois plus tard, les éditorialistes du *Journal of American Medical Association* insistèrent sur le rôle de l'acide folique dans la leucopoïèse en général : « Ces études mettent l'accent sur le rôle fondamental de l'acide folique dans l'hématopoïèse et la leucopoïèse et appellent de nouvelles recherches sur le mode d'action de cette substance dans la formation du sang. ». Les études en question étaient celles de l'équipe de Kenneth Endicott sur des rats carencés en acide folique et présentant plus fréquemment des leucopénies et granulocytopénies que des anémies².

La même année, C. Leuchtenberger et ses collaborateurs du Département de pathologie de l'Hôpital Mont Sinaï à New York obtinrent la régression de tumeurs mammaires spontanées, dans un tiers des cas et chez trois souches différentes de souris, avec un analogue de l'acide folique, l'acide pteroyltriglutamique. Ce composé fut synthétisé par les laboratoires Lederle et administré, en 1947, à des patients souffrant de cancers incurables, au nombre desquels 11 enfants leucémiques traités par Sidney Farber, au Children's Hospital de Boston. L'observation d'un « phénomène d'accélération » du processus leucémique amena les médecins à envisager d'une part l'utilisation du produit en prétraitement de la radiothérapie ou des moutardes azotées, d'autre part la synthèse de nouveaux dérivés dans l'espoir d'obtenir des substances antagonistes, ralentissant l'évolution cancéreuse³.

En 1947 et 1948, une trentaine d'analogues de synthèse de l'acide folique se montrèrent avoir une action antagoniste de ce dernier chez les bactéries, le poulet, les rongeurs, le chien et le porc normaux. Ils furent ensuite testés sur le sarcome de Rous, puis sur la leucémie aviaire et diverses néoplasies humaines greffées dans la chambre antérieure de l'œil de poulet. La majeure partie de ces travaux furent réalisés par trois groupes : l'équipe d'Yves Subbarow des Laboratoires Lederle, celle de Gustav Martin des Laboratoires de recherche de la Compagnie nationale du médicament à Philadelphie, et des chercheurs de l'Université du Michigan à Ann Arbor.

Durant cette période, les chercheurs des Laboratoires Lederle montrèrent que quatre antagonistes de l'acide folique prévenaient efficacement le développement du sarcome de Rous. Le traitement débutait le jour de l'inoculation de l'agent responsable de ce cancer. Ces essais montrèrent également la forte toxicité de ces produits. Le plus efficace, l'aminoptérine, tua tous les poulets de moins de trois jours. Cependant, il était possible de définir pour chaque substance la voie d'administration et la posologie optimales par rapport à l'efficacité et à la toxicité. Ainsi ils purent obtenir chez le poulet adulte traité par l'aminoptérine l'absence de décès et l'apparition de tumeurs chez seulement 40 à 60% des animaux, contre 100% chez les

¹ Spies T., *Effect of folic acid on persons with macrocytic anemia in relapse*, J. Am. Med. Ass., 130 (8) : 474-477, 1946, p. 476.

² Editorials, *The bone marrow in experimental folic acid deficiency*, JAMA, 130 (17) : 1224-1225, 1946.

³ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949.

animaux témoins. Dans le cas de cancers déjà installés, l'expérimentation animale laissait espérer un arrêt de la croissance tumorale mais pas l'éradication du processus cancéreux¹.

Le premier essai d'un antifolique chez l'homme eut lieu le 28 mars 1947 à Boston. Sidney Farber et ses collaborateurs traitèrent une fillette atteinte de leucémie aiguë myéloïde avec de l'acide pteroyl-aspartique. L'évolution clinique ne fut pas modifiée mais l'autopsie révéla une hypoplasie médullaire contrastant avec les résultats de la biopsie pratiquée 15 jours plus tôt, avant le début du traitement. Sidney Farber, qui avait réalisé environ 200 autopsies d'enfants leucémiques, n'avait jamais eu l'occasion d'observer ce type de phénomène. Cette observation les conduisit à utiliser l'acide pteroyl-aspartique chez 14 jeunes leucémiques aigus et l'acide méthyl-ptéroïque chez sept autres patients atteints de cancers incurables. Puis, de novembre 1947 à mi-avril 1948, 16 autres patients du Children's Hospital de Boston reçurent un nouvel antagoniste apparemment plus puissant, l'acide 4-aminopteroyl-glutamique, commercialisé par la firme Lederle sous le nom d'aminoptérine®².

L'introduction des antifoliques en France

Jean Bernard et Marcel Bessis avaient déjà utilisé de l'acide folique. En 1947, Marcel Bessis avait obtenu des Laboratoires Lederle des échantillons gratuits pour des expériences de laboratoire ainsi que des essais cliniques, en échange de l'envoi de ses résultats³. Jean Bernard en avait prescrit comme antihémorragique général, mais il n'y avait trouvé aucun avantage par rapport à la transfusion⁴.

L'aminoptérine fut semble-t-il le premier anti-folique à franchir l'océan atlantique. En mars 1948, Léo Meyer (né en 1906), de l'Université de New York, fit parvenir de l'aminoptérine à Marcel Bessis pour un patient qu'il suivait en collaboration avec Roger Cattán. Léo Meyer envoya également des indications très précises sur la façon d'utiliser ce produit. En contre partie, il demanda à recevoir quotidiennement les frottis sanguins des patients ainsi traités⁵. En septembre, Marcel Bessis s'adressa au directeur médical des Laboratoires Lederle, Stanton Hardy, lequel lui répondit que l'aminoptérine n'était pas encore disponible⁶. En attendant, Marcel Bessis accomplit les démarches nécessaires auprès de la Food and Drug Administration et de l'ambassade de France à New York. Deux mois plus tard, les laboratoires Lederle disaient n'être toujours pas en mesure de fournir de l'aminoptérine, toutefois ils envoyèrent les consignes d'utilisation et les conclusions tirées des premiers essais cliniques.

Dans les derniers jours de l'année 1948, Marcel Bessis disposait finalement de 100 mg d'aminoptérine, la moitié envoyée par Jean Dausset, l'autre par les Laboratoires Lederle. De son côté, Jean Bernard en avait reçu à peu près autant⁷.

Huit mois plus tard, lorsque Marcel Bessis demanda aux Laboratoires Lederle, l'envoi de 100 mg d'aminoptérine supplémentaire ou d'amino-an-fol, le responsable des exportations, Monsieur Linton, le chargea de la distribution avisée du produit dans l'hexagone : « Au cours des dernières semaines, nous avons reçu de France à plusieurs reprises des demandes de

¹ Messerschmitt J., *Les antagonistes de l'acide pteroylglutamique (acide folique)*, Rev. Hémat., 4 (2) : 194-245, 1949.

² Farber S., Diamond L., Mercer R., Sylvester R., Wolff J., *Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-Aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin)*, New England J. Med., 238 (23): 787-793, 1948.

³ Fonds Bessis, correspondance avec « Laboratoires pharmaceutiques », Laboratoires Lederle, 12.11.1946, 05.02.1947.

⁴ Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 24 (23) : 730-736, 1948.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Meyer L., 10.03.1948, 24.03.1948.

⁶ Fonds IUH, correspondance avec « Laboratoires pharmaceutiques », Lederle, 10.09.1948.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 21.12.1948.

renseignements au sujet de l'aminoptérine, et nous avons pris la liberté de mentionner votre nom, en tant que personne expérimentée dans l'utilisation de ce médicament et qui en dispose. J'espère que ces renvois ne vous auront pas embarrassé. Vous comprenez bien sûr que seuls des médecins confirmés doivent utiliser l'aminoptérine, du fait de sa toxicité et de la nécessité d'une constante vigilance. »¹. Parallèlement, Marcel Bessis recevait toujours des antifoliques par Léo Meyer, en échange de ses résultats².

Le rôle de principal distributeur de l'aminoptérine pour la France mettait Marcel Bessis dans une situation délicate. Certes il fournissait depuis longtemps des antifoliques à d'autres médecins mais il en utilisait aussi pour des études chez l'animal visant à comprendre son action et à améliorer son utilisation. Ces substances faisant de plus en plus figure de médicament miracle, et face à la pénurie organisée par Lederle, les cliniciens acceptaient de plus en plus mal que, par ses recherches, Marcel Bessis prive leurs patients de traitement. Afin d'éviter que les choses ne s'enveniment, il encouragea ses confrères à s'adresser directement à Stanton Hardy mais les Laboratoires Lederle ne semblaient pas disposés à se passer de leur intermédiaire, pas plus qu'à vendre leur molécule. Cette situation dura au moins jusqu'en 1951³.

Fournir le médicament à titre gracieux était un bon moyen d'obtenir en retour un résumé des cas traités et de contrôler ainsi son utilisation. Les Laboratoires Lederle avaient intérêt à étendre l'utilisation de leur produit pour en préciser les effets. Mais celui-ci étant très toxique, il leur fallait des spécialistes. Dans la brochure envoyée à Marcel Bessis, le caractère temporaire des rémissions et la dangerosité du produit - celui-ci ayant provoqué plusieurs décès par aplasie - étaient soulignés tant au sens figuré qu'au sens propre⁴.

Jean Dausset tenait Marcel Bessis régulièrement informé des résultats et opinions des médecins américains. Pendant environ un an, Jean Bernard et Marcel Bessis employèrent les antifoliques avec parcimonie. Ils hésitaient à s'en servir à cause des risques pour les patients et parce qu'ils n'étaient pas convaincus de leur efficacité, autrement dit, ils n'étaient pas certains que les bénéfices potentiels l'emportassent sur les désagréments.

Leurs doutes étaient alimentés par la diversité des résultats obtenus aux Etats-Unis ; en octobre 1948, les médecins de New-York obtenaient des réponses au traitement nettement moins bonnes que ceux de Boston⁵. Par ailleurs, les travaux qui avaient conduit à l'utilisation des antifoliques chez l'homme furent remis en question. Le danois Julius Engelbreth-Holm ne parvint pas à reproduire l'inhibition de la croissance du sarcome de Rous. De plus, plusieurs cliniciens obtinrent avec l'acide folique une amélioration, et non une aggravation, de l'état de certains leucémiques. Jean Bernard ne nota, lui-même, rien de particulier dans l'évolution des trois patients qu'il traita à forte dose (100 mg/j) pendant un à deux mois⁶. C'est probablement pour cette raison que Marcel Bessis entreprit d'étudier l'action des antifoliques sur la leucémie des poules. Enfin, ils n'osaient pas donner d'aminoptérine sans faire d'exasanguino-transfusions ou de transfusions répétées, du fait du risque d'aplasie mortelle⁷. Jean Bernard avait essayé contre les hémorragies les extraits de foie, de rate, la vitamine B, l'acide folique et les

¹ Fonds Bessis, correspondance avec « Laboratoires pharmaceutiques », Lederle, 03.08.1949, 17.08.1949.

² Fonds Bessis, correspondance avec Meyer L., 05.10.1949, 12.11.1949.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Meyer L., 12.11.1949 ; Lamy M., 02.02.1950, 19.07.1950 ; Lederle 23.03.1951.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec « Laboratoires pharmaceutiques », Lederle, 23.11.1948.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 08.10.1948.

⁶ Bernard J., *Les essais de traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 26 (65) : 3322-3335, 1950.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 21.12.1948.

hormones, mais ces traitements étaient, selon lui, moins efficaces que la transfusion¹. Or l'association des transfusions et des antifoliques compliquait l'évaluation de ces molécules².

En France comme aux Etats-Unis, les premiers essais cliniques suscitèrent tour à tour enthousiasme et déception. Jean Bernard obtint pour la première fois une nette amélioration de la moelle osseuse et du sang en décembre 1948³. Marcel Bessis n'avait alors utilisé qu'une seule fois l'aminoptérine. Le taux de leucoblastes avait chuté de manière considérable et la splénomégalie avait disparu mais cela n'avait pas empêché le patient de succomber⁴. Il écrivit à Jean Dausset : « Je me méfie tellement de l'aminoptérine que je t'avoue ne l'avoir employée qu'une fois, bien que je sois maintenant à la tête de plus de 100 mg de cette drogue. »⁵.

Six mois plus tard, Jean Bernard qualifiait l'aminoptérine de « décevante et excitante à la fois »⁶. Marcel Bessis, qui avait traité quatre patients, avait obtenu une très belle rémission de leucémie lymphoïde, une moins belle et deux échecs⁷.

La capacité des antifoliques à provoquer des rémissions dans un nombre non négligeable de cas fut admise par l'ensemble des spécialistes vers 1950. Jean Dausset assista à un congrès organisé par l'Armée et la Croix rouge au cours duquel une journée fut consacrée à l'aminoptérine. Tous les hôpitaux disaient obtenir à peu près les mêmes résultats que Sidney Farber, soit 25% de rémissions complètes et 25% de rémissions partielles⁸. A l'automne, les expériences de Marcel Bessis sur la leucémie des poules montrèrent que la drogue était capable de prévenir l'apparition de la maladie dans un très grand pourcentage de cas⁹. Enfin, Jean Bernard, qui avait traité 31 leucémiques aigus, avait obtenu des résultats très encourageants : huit rémissions complètes et treize rémissions partielles.

Comparant l'exsanguino-transfusion et les antifoliques, il écrivit qu'il s'agissait de deux traitements à action anti-leucoblastique, provoquant non pas le mûrissement mais la destruction massive des leucoblastes circulants, laquelle laissait ensuite place à une reprise de la leucopoïèse normale dans les « centres nettoyés »¹⁰.

Vers la mise en place de protocoles chimiothérapeutiques

Les tableaux de l'annexe 8 rendent compte des premiers essais de traitement des leucémies aiguës humaines par les antifoliques. Assez rapidement, on sut que ces substances ne guérissaient pas la leucémie, qu'elles provoquaient parfois des rémissions et qu'elles avaient des effets toxiques. Cependant on pouvait espérer, d'une part, prolonger ces rémissions et en augmenter la fréquence en modifiant les modalités thérapeutiques, d'autre part, synthétiser des composés plus efficaces et moins toxiques.

Pour que ces espoirs gagnent l'ensemble de la communauté médicale puis l'opinion publique, il fallait être sûr de l'efficacité des antifoliques. Or, définir l'efficacité d'un médicament qui ne guérit pas n'est pas chose facile. L'augmentation de la durée de vie est dans ce cas perçue comme le meilleur critère. Mais, dans le cas qui nous occupe, la durée moyenne de vie sans traitement n'était pas connue avec précision (voir annexe 6) et les premiers résultats ne montraient pas de modification notable (voir annexe 8). Le seul critère

¹ Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 24 (23) : 730-736, 1948.

² Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 21.12.1948.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 30.11.1948, 11.01.1949.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Rosenthal N., 31.12.1948.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 25.01.1949.

⁶ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 07.06.1949.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec « Laboratoires pharmaceutiques », Lederle, 03.08.1949.

⁸ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 11.12.1949.

⁹ Fonds Bessis, correspondance avec Meyer L., 26.09.1950, correspondance avec « Laboratoires pharmaceutiques », Laboratoires Lederle, 03.11.1950.

¹⁰ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41^e année (20-26), 1951.

disponible restait, comme pour l'exsanguino-transfusion, la capacité à provoquer des rémissions.

Les antifoliques furent confrontés aux mêmes réticences que celles que rencontrait l'exsanguino-transfusion. L'éditorial qui accompagnait la première publication des travaux de Sidney Farber et de ses collaborateurs, rappelait les rémissions qu'avait obtenues dans les années 1930 H. Jackson et qui n'avaient pas été suivies de guérison¹. Il attirait en outre l'attention sur l'existence de rémissions spontanées faisant suite à des infections et la survenue de telles manifestations dans deux des cinq cas présentés par Sidney Farber. Enfin, il mettait en garde contre les fausses guérisons pouvant résulter d'erreurs de diagnostic : « le diagnostic formel de la leucémie aiguë n'est pas toujours facile. Des médecins de réputation internationale s'y sont déjà trompés. »². Les partisans des antifoliques durent adopter la même attitude que ceux de l'exsanguino-transfusion. Ils montrèrent que les rémissions spontanées étaient peu fréquentes : sur les 300 patients de Louis Diamond, 10% seulement en avaient connu. Ils présentèrent ces substances non comme un traitement mais comme une voie de recherche prometteuse. Pour Sidney Farber, les antifoliques avaient un effet plus profond, plus subtil que la simple déficience en acide folique ; ils interféraient avec des systèmes biochimiques³. Pour William Dameshek, il s'agissait peut-être de facteurs de croissance de la lignée blanche⁴.

Une fois la capacité des antifoliques à provoquer des rémissions admise, les plus gros problèmes étaient de lutter contre la toxicité qui risquait de précipiter le décès des malades et d'uniformiser les résultats.

La toxicité se manifestait cliniquement par une stomatite, des ulcérations de la bouche, une diarrhée et des hémorragies. Elle avait aussi une expression cellulaire ; on observait des polynucléaires hypersegmentés dans le sang et des mégakaryoblastes dans la moelle. La vie des patients était surtout menacée par les saignements. L'extrait de foie, la vitamine B et l'acide folique faisant mal fonction d'antidote, il fut décidé d'interrompre le traitement dès les premiers signes toxiques, et ce jusqu'à ce que les paramètres sanguins se stabilisent, c'est à dire pendant quatre à sept jours⁵.

Concernant la reproduction des résultats, l'annexe 8 montre que ceux-ci n'étaient initialement ni semblables ni comparables. Produire des résultats comparables était pourtant nécessaire pour progresser c'est à dire pour détecter une augmentation de fréquence et éventuellement de durée des rémissions. Il devint impératif de définir des normes d'utilisation, de s'accorder sur les personnes sensibles, la molécule à utiliser, les doses et la durée du traitement. Mais voyons d'abord où résidaient les divergences.

Parmi les trois premières molécules disponibles, Sidney Farber et William Dameshek jugeaient l'a-méthoptérine et l'amino-an-fol moins toxiques que l'aminoptérine mais aussi moins intéressantes parce que moins efficaces. Sidney Farber avait la même opinion de l'aminoptérine mais pas William Dameshek, qui la trouvait moins toxique et presque aussi

¹ Robert Sylvester raconte que la presse généraliste parla de « leucémie guérie à Boston » lorsqu'ils présentèrent leur travaux en avril 1948 voir Wolff J., Sylvester R., Mercer R., Ravindranath Y., *Chronicle : Dawn of chemotherapy*, Med. Ped. Oncol., 33 : 405-410, 1999.

² Editorial, *Acute leukemia : present and future*, New Engl. J. Med., 238 (23) : 814-815, 1948.

³ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949.

⁴ Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949.

⁵ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949. Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949.

efficace¹. Par ailleurs, les médecins de Philadelphie pensaient que l'a-méthoptérine agissait davantage sur les blastes que l'aminoptérine². Quelques années plus tard, Louis Diamond écrivit à Marcel Bessis que l'a-méthoptérine était le composé le plus efficace et le moins toxique par voie orale³. Cette molécule devint par la suite l'antifolique de référence et fut commercialisée sous le nom de méthotrexate®.

Les doses utilisées variaient aussi d'une équipe à l'autre. William Dameshek utilisait de fortes doses d'antifoliques, ce qui lui valut de vives critiques, notamment de la part de Maxwell Wintrobe⁴. Au cours de ses premiers essais, 8 sur 35 de ses patients étaient décédés durant les cinq premiers jours de traitement⁵. Léo Meyer, comme la plupart des utilisateurs, commençait par une dose faible et l'augmentait progressivement⁶. Comparativement, la voie d'administration fut peu discutée ; la voie orale se montra aux yeux de tous aussi efficace que la voie intramusculaire.

Concernant la durée du traitement, les rechutes amenèrent Sidney Farber à préconiser de continuer le médicament pendant les rémissions mais en diminuant les doses⁷. Pour William Dameshek, le traitement initial devait durer jusqu'à l'obtention d'un taux de leucocytes de 6000 par millimètre cube et un « traitement d'entretien » devait être entrepris dès que ce taux aurait commencé à augmenter⁸.

D'autres désaccords portèrent sur la sensibilité au traitement en fonction de l'âge des patients. F. Miller de Philadelphie, Sidney Farber et les Laboratoires Lederle disaient que les antifoliques n'agissaient que chez l'enfant, alors que, pour John Dacie (né en 1912) du King's College Hospital de Londres, Jean Dausset, les collaborateurs de Sidney Farber et William Dameshek, leur effet était le même chez l'enfant que chez l'adulte⁹.

Dans l'analyse des résultats, Sidney Farber ainsi qu'une partie de ses compatriotes ne tenaient pas compte du type cellulaire des leucémies aiguës. Jugeant leur diagnostic cytologique très difficile et donc peu fiable ; il proposa d'utiliser la réponse des patients aux antifoliques pour améliorer la classification cytologique des leucémies et la remplacer par une classification cyto-biochimique¹⁰. Ceci était choquant pour les médecins français ; Jean Dausset parlait de « l'ignorance américaine des lois de la cytologie »¹¹. Par contre, William Dameshek s'intéressa à la sensibilité au traitement en fonction du type cytologique et cytochimique. Il en déduisit l'existence d'une spécificité d'action des antifoliques sur les

¹ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949. Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949.

² Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., sans date mais classé en novembre 1948.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Diamond L., 27.10.1952.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 03.12.1948, 11.12.1949.

⁵ Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949.

⁶ Fonds Bessis, correspondance avec Meyer L., 05.10.1949.

⁷ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949.

⁸ Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune and Stratton, New York, 1949.

⁹ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., sans date mais classé en novembre 1948, 03.12.1948. Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 30.11.1948. Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune and Stratton, New York, 1949.

¹⁰ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949.

¹¹ Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 20.11.1948, 03.12.1948.

formes lymphoïdes et myéloïdes. Pour les formes à monocytes, il jugeait préférable d'utiliser la moutarde azotée SK-136¹.

En admettant qu'un accord soit trouvé quant à la façon de conduire le traitement, les protagonistes auraient aussi à définir des critères communs d'évaluation des résultats. La question de la définition du concept de rémission était fort épineuse car la disparition de tous les signes de la maladie était très rare. A la fin de l'année 1949, tous les spécialistes considéraient que la moelle ne redevenait jamais complètement normale². La comparaison des résultats obtenus par différentes équipes portait donc sur des améliorations. L'amélioration des signes cliniques était difficilement quantifiable ; il n'était pas possible par exemple de mesurer précisément la taille de la rate ou du foie. Par contre, le comptage des cellules sanguines et médullaires était relativement facile. Toutefois, ces taux variaient considérablement d'un leucémique à l'autre en l'absence de traitement. Fallait-il alors prendre pour référence les valeurs moyennes de la population saine ? Dans ce cas, le problème serait de savoir s'il faudrait se référer au taux de leucocytes, de leucoblastes, ou aussi de plaquettes et d'érythrocytes ; il faudrait savoir au bout de combien de temps considérer le retour à la normale comme une rémission. Ajoutons que Sidney Farber et William Dameshek ne prenaient pas en compte dans l'évaluation de leurs résultats, les patients décédés respectivement au cours des trois et des quatre premières semaines après le début du traitement, considérant que les antifoliques n'avaient pas eu le temps d'agir³.

La durée de vie constituait un bien meilleur critère d'évaluation, d'une part pour les raisons qui viennent d'être énoncées, d'autre part du fait de son intérêt nettement supérieur pour les patients. De plus, les utilisateurs d'antifoliques avaient de bonnes raisons de penser que ces substances prolongeaient la vie puisqu'ils avaient vu des enfants admis dans leur service dans un état critique retourner à l'école. Ce critère avait ainsi la faveur de Sidney Farber et de William Dameshek⁴. Cependant, l'enregistrement des durées de vie prend davantage de temps que celui des rémissions. Ceci pose un problème éthique lorsqu'il s'agit de comparer une nouvelle molécule avec une molécule déjà jugée efficace. De plus, certains patients risquent d'être perdus de vue.

A la nécessité de l'observation sur de longues périodes de temps, la nature de la maladie ajouta celle de l'étude d'un grand nombre de cas. Le recours aux statistiques était le seul moyen envisageable de contrebalancer la grande diversité des leucémies et l'individualité des schémas thérapeutiques. En effet, il n'y avait pas deux leucémies identiques, ni du point de vue de l'infiltration de la moelle et des organes, ni du point de vue de l'évolution, un patient pouvant bénéficier de cinq rémissions, un autre périssant en quinze jours. En outre, il était impossible de définir un schéma thérapeutique précis, du type de celui qui était disponible pour le traitement du diabète par l'insuline, car le dosage et la fréquence d'administration devaient être guidés par un examen clinique et sanguin quotidien⁵.

¹ Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949. Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune et Stratton, New York, 1949.

² Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 11.12.1949.

³ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949. Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949.

⁴ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949. Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune et Stratton, New York, 1949.

⁵ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949. Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949.

Ces diverses considérations aboutirent à la création, au sein du National Cancer Institute américain, du groupe coopératif ALGB (Acute Leukemia Group B), lequel mit en place en 1954 un premier essai randomisé. La première réunion du groupe, organisée par Sidney Farber, se tint à Boston l'année suivante¹. La mise en place de ce groupe et la participation de l'équipe de Jean Bernard sont traitées dans le chapitre 3. Ce qui suit se contente de présenter les fondements de l'immense espoir que suscita la chimiothérapie des leucémies.

Dans la lutte anticancéreuse en général, la chimiothérapie pouvait espérer dépasser la radiothérapie grâce à sa spécificité d'action. Elle avait en outre l'avantage de ne nécessiter aucun instrument particulier. En chimiothérapie anticancéreuse, la leucémie disposait d'atouts qui faisaient défaut aux autres formes de cancer. Premièrement, il n'y avait pas de problème éthique à utiliser ses substances puisque la radiothérapie et aucun autre traitement n'étaient efficaces. Deuxièmement, la leucémie aiguë pouvait facilement fournir des cellules néoplasiques primitives pour les études expérimentales et cliniques.

Ces arguments furent exposés par William Dameshek dans une monographie publiée en 1949 : « le contrôle définitif des proliférations leucocytaires réside dans la chimiothérapie » parce que « des produits chimiques spécifiques tuent des cellules spécifiques ». Les moutardes azotées agissent préférentiellement sur le système réticulo-endothélial, l'uréthane sur les cellules de la moelle et les antagonistes de l'acide folique sur le tissu lymphoïde, disait-il (voir annexe 9). Le ton du discours, le choix des termes relevaient de la propagande : « Bien que les rayons X restent la référence, la chimiothérapie offre davantage pour l'avenir », « un poison bien contrôlé devient un médicament utile », « les antagonistes de l'acide folique, premières substances à produire régulièrement (le terme anglais « consistently » peut aussi être traduit par « immanquablement ») des rémissions », ou encore « le contrôle définitif de la leucémie et du lymphome viendra des efforts intégrés du chimiste, de l'enzymologiste, du morphologiste et du clinicien »².

Traitements endocrines

L'hypothèse d'une régulation neuro-endocrinienne de la leucopoïèse était ancienne. Elle avait conduit à rechercher des lésions et des désordres de fonctionnement des glandes endocrines dans la leucémie, mais sans grand succès. Des lésions de l'hypophyse, des corps thyroïdes, des surrénales, des ovaires et des testicules avaient été signalées mais semblaient toutes peu fréquentes³. Jean Bernard et Daniel Christol (né en 1920) recherchèrent dans le passé de leurs patients leucémiques des signes de maladies endocriniennes, mais ils n'en trouvèrent que dans quatre cas⁴. De plus, d'autres auteurs avaient montré que les troubles hormonaux étaient également rares au cours de la leucémie.

Parallèlement, quelques cliniciens avaient traité des leucémiques par « l'opothérapie » c'est-à-dire avec des extraits glandulaires, par des hormones de synthèse ou par l'ablation d'une glande endocrine. En 1952, Jean Bernard et Marcel Bessis classèrent ces essais thérapeutiques en trois groupes : les tentatives vaines, les essais d'action très inconstante et les essais d'action plus fréquente. Le premier groupe comprenait les extraits thyroïdiens, thymiques et anté-hypophysaires. Jean Bernard y avait lui-même eu recours, depuis 1937, dans une dizaine de cas de leucémie aiguë de l'enfant, sans jamais observer d'effet appréciable.

¹ Lowy I., *Between Bench and Bedside*, Harvard University Press, 1996. Keating P., Cambrosio A., *Biomedical Platforms*, Config., 8 : 337-387, 2000.

² Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune and Stratton, New York, 1949.

³ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 22 : 205-233, 1952.

⁴ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

Concernant l'hypophyse, il avait utilisé, d'une part, des extraits du lobe antérieur, contenant surtout l'hormone gonadotrope, d'autre part, de la paraoxypropionophénone, un composé de synthèse également nommé H365, aux propriétés de « frénateur hypophysaire ».

Les quelques résultats obtenus avec les hormones sexuelles, la thymectomie et la désoxycorticostérone avaient été variables. Chez l'animal, l'ablation des gonades et l'injection d'hormones sexuelles furent étudiées, entre 1944 et 1950, par James Murphy, au Rockefeller Institute, par Lloyd Law au National Cancer Institute, par Jacob Furth (1896-1979) au Oak Ridge National Laboratory, ainsi que par Henry Kaplan (1918-1984) à l'Université Stanford. Ces pratiques eurent des effets tantôt favorables tantôt défavorables sur l'évolution des leucémies du rat et de la souris. Chez l'homme, André Lemaire observa l'amélioration d'une leucémie aiguë après l'administration de stilboestrol et, en 1948, Ludwig Heilmeyer (1899-1969) de l'Université de Fribourg provoqua une rémission complète par de très fortes doses de progynon. Deux améliorations furent également notées à l'Hôpital Saint-Antoine avec de la testostérone. En revanche, Jean Bernard avait traité de « nombreux » cas de leucémies aiguës avec des oestrogènes ou de la testostérone sans que cela n'influât sur l'état de ses patients. Enfin, un argument indirect tendait à exclure l'intervention des hormones sexuelles : les pics de fréquence de la leucémie ne coïncidaient ni avec la puberté ni avec la ménopause.

Par ailleurs, Jacob Furth montra en 1946 que l'ablation du thymus diminuait la fréquence des leucémies dans certaines souches murines. Quatre ans plus tard, G. Dean et ses collaborateurs, en Afrique du Sud, thymectomisèrent quatre enfants et enregistrèrent une amélioration clinique et sanguine. Cependant, ces enfants ayant reçu peu de temps après de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH), ce résultat fut difficile à interpréter. Enfin, l'Argentin F. Jimenez de Asua nota des modifications sanguines chez des patients traités par la désoxycorticostérone associée à de la vitamine C. Mais l'équipe d'Albert Gordon (né en 1910), à New York, n'obtint que des échecs avec la même méthode.

Dans le domaine de l'hormonothérapie, seules la cortisone et l'ACTH se montrèrent plus efficaces¹.

Origine de la cortisone

Dans les années 1930, Taddeus Reichstein (né en 1897), de la Faculté de pharmacie de Bâle, isola une vingtaine d'hormones à partir de glandes surrénales animales. La firme Ciba, installée à proximité de son laboratoire, commercialisa rapidement la désoxycorticostérone, appelée alors « Doca ». Simultanément, à la Fondation Mayo à Rochester, Edward Kendall (1886-1972) et ses collaborateurs isolèrent du cortex de la glande surrénale, des hormones stéroïdes apparentées, au nombre desquelles figuraient le « composé A » (11-déhydrocorticostérone) et le « composé E », appelé « cortisone » en 1949. Philip Hench (1896-1965), de la Clinique Mayo, utilisa avec succès la cortisone dans le rhumatisme articulaire aigu. Cette réussite fut couronnée en 1950 par l'attribution du prix Nobel de médecine à ces trois hommes. Elle amena de nombreux laboratoires pharmaceutiques à s'engager dans la production de stéroïdes.

Entre-temps, des chercheurs des Laboratoires Merck, à Rahway (New Jersey), avaient réussi en 1948 à produire de la cortisone par un long processus de synthèse chimique. Quatre ans plus tard, Robert Woodward (1917-1979), un chimiste de l'Université Harvard, synthétisa de la cortisone selon un nouveau procédé beaucoup plus simple. Parallèlement, l'hémisynthèse, c'est-à-dire la transformation chimique de précurseurs de la cortisone extraits

¹ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 22 : 205-233, 1952.

de glandes animales, permit la production en grande quantité d'hydrocortisone. Certaines hémisynthèses, comme celle de l'hydroxycortisone, firent intervenir des microorganismes.

A partir de 1954, arrivèrent sur le marché des dérivés halogénés de la cortisone, plus actifs. Suivirent des produits de fermentation, la prednisone et la prednisolone, ainsi que leurs dérivés méthylés ou hydroxylés. Deux composés, surtout connus pour leur activité anti-inflammatoire puissante, connurent un développement commercial considérable : la dexaméthasone et la bêtaméthasone¹.

L'importance prise dans la pharmacopée par les corticostéroïdes se mesure notamment par la densité des annonces publicitaires. En 1959, par exemple, la *Revue française d'études cliniques et biologiques* ne comptait pas moins de trois publicités - sur une dizaine au total - pour des produits de corticothérapie : une des Laboratoires Upjohn, une des Laboratoires Roussel et une de la firme Specia². Celle des Laboratoires Roussel, qui se présentaient comme « le laboratoire français des stéroïdes », comprenait un historique des corticostéroïdes commercialisés par cette entreprise, de la cortisone à la dexaméthasone (voir annexe 10).

Données expérimentales

En 1944, Thomas Dougherty (1915-1974) et Abraham White, à l'Université Yale, étudiaient l'effet de l'ACTH et des hormones corticoïdes sur les cellules sanguines et le tissu lymphoïde. Ils mirent en évidence l'action lymphopénisante de l'hormone corticotrope. Celle-ci provoquait une aplasie des organes lymphoïdes, une chute du taux de lymphocytes circulants et une augmentation du taux sanguin d'anticorps.

Ce résultat amena d'autres équipes à étudier l'effet de ces hormones sur les leucémies animales. James Murphy et E. Sturm montrèrent que l'ablation de la surrénale provoquait une augmentation de fréquence d'une leucémie greffée du rat et que l'injection d'extraits surrénaux ou la greffe d'une glande surrénale supplémentaire prévenaient le développement de la maladie. En 1947, Lloyd Law obtint des résultats semblables avec des souris spontanément leucémiques C58 et des rats RIL. Trois ans plus tard, Joseph Burchenal et ses collaborateurs, au Sloan-Kettering Institute, à New York, traitèrent des souris à leucémie greffées Ak avec de l'ACTH et de la cortisone et notèrent une baisse du taux de globules blancs dans le sang et les organes³.

Données thérapeutiques

De 1943 à 1949, les premières tentatives de traitement de la leucémie humaine par ces hormones échouèrent. La tendance s'inversa en 1950, lorsque les équipes de William Dameshek, de Sidney Farber, à Boston, et de Joseph Burchenal, à New York, annoncèrent avoir obtenu des rémissions cliniques, sanguines et médullaires chez l'enfant. De nombreux essais furent alors entrepris dans divers pays⁴.

En janvier 1950, Nathan Rosenthal écrivit à Marcel Bessis pour l'informer des résultats obtenus dans ce domaine : « Vous êtes certainement au courant du travail en cours concernant la cortisone et l'ACTH. Elles ne sont distribuées qu'à un petit nombre d'hôpitaux. Le Memorial Hospital (associé au Sloan-Kettering Institute) les utilise dans des cas de

¹ Chast F., *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, Paris, 1995, p. 67-73, 146.

² Pages publicitaires, *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.*, 4 : 294, 318, 536, 1959.

³ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, *Le sang*, 22 : 205-233, 1952.

⁴ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, *Le sang*, 22 : 205-233, 1952.

leucémie avec quelques résultats remarquablement bons. Le docteur Baehr, au Mont Sinai Hospital, n'est autorisé à les employer que dans le lupus érythémateux, un cas dans lequel ces substances font aussi des miracles. »¹.

En mars, Marcel Bessis, qui disait suivre avec un immense intérêt les expériences faites avec l'ACTH et la cortisone, regrettait de n'être informé par aucune publication directe². Il demanda à Nathan Rosenthal et William Dameshek leur opinion personnelle sur l'effet de ces substances sur la leucémie aiguë³. William Dameshek répondit qu'il était quelque peu enthousiasmé par ses résultats dans la leucémie lymphoïde et en particulier chez l'enfant. Par contre, il ne voyait pas d'effet positif et constatait même des aggravations dans la leucémie myéloïde⁴.

En septembre, Jean Bernard venait de commencer à utiliser le « composé E de Kendall » et l'ACTH. Ses premiers résultats semblaient confirmer les observations américaines à savoir que les leucémies lymphoïdes étaient sensibles mais pas les leucémies myéloïdes⁵. L'origine de ces produits nous est inconnue. Peut-être venaient-ils du Centre national de la transfusion sanguine, son directeur Arnault Tzanck ayant chargé Bernard Halpern, qui devait se rendre à New York, de se procurer de l'ACTH et de la cortisone auprès de Nathan Rosenthal⁶. Peut-être avait-il déjà accès à la cortisone donnée par les Laboratoires Merck à l'Institut national d'hygiène et qu'il employa en 1951⁷.

Au printemps 1951, Jean Bernard avait traité plusieurs patients leucémiques avec de la cortisone ou de l'ACTH sur de longues périodes. Il obtenait des résultats comparables à ceux publiés en 1950 par Tom Spies et à ceux présentés la même année lors de la troisième réunion annuelle du Club du sang⁸, par les équipes de Sidney Farber, Joseph Burchenal, William Dameshek, Maxwell Wintrobe, John Stickney et George Thorn. Ces hématologistes avaient chacun traité une à deux dizaines de patients et obtenu 25 à 30% de rémissions. Ce relativement bon pourcentage de rémissions était contrebalancé par les conséquences du traitement hormonal. Certes, il était caractérisé par une innocuité immédiate, mais également par la survenue de désordres tardifs. Parmi ces derniers, certains étaient graves mais rares ; c'était le cas des oedèmes cérébraux et pulmonaires. D'autres tels que l'obésité et le gonflement du cou des patients, lequel leur donnait un « aspect porcin », ne menaçaient pas les processus vitaux mais affectaient profondément leur moral. Ces effets secondaires n'étaient que légèrement atténués par le suivi d'un régime déchloruré strict⁹. Ceci était surtout gênant pour les adultes, la physionomie des enfants étant paradoxalement un peu améliorée : « Rien n'est plus frappant que les changements survenus dans l'aspect des services d'enfants leucémiques. Au lieu des visages blêmes, amaigris de jadis, on ne voit que figures poupines, traits à peine dessinés, noyés dans la graisse ou l'oedème. »¹⁰.

L'année suivante, environ 250 patients avaient été traités de par le monde. Les deux principaux centres expérimentateurs, en nombre de patients, étaient le Sloan-Kettering Institute et l'Hôpital Hérold (voir annexe 11). Comme pour les traitements précédents, les méthodes et les résultats étaient difficilement comparables et variables d'une équipe à l'autre, tout en s'accordant sur certains aspects.

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Rosenthal N., 19.01.1950.

² Fonds Bessis, correspondance avec Rosenthal N., 07.03.1950.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Rosenthal N., 13.03.1950.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Dameshek W., 14.03.1950.

⁵ Bernard J., *Les essais de traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 26 (65) : 3322-3335, 1950.

⁶ Fonds Bessis, correspondance avec Halpern B., 13.03.1950.

⁷ Bernard J., Mathé G., *Etude des leucoses aiguës de l'enfance traitées par l'association antifoliques-cortisone*, Le sang, 23 : 12-27, 1952.

⁸ Le « Blood Club » fondé par William Dameshek.

⁹ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41 : 285-287, 1951.

¹⁰ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 22 : 205-233, 1952.

Les points communs étaient l'absence de différence entre l'ACTH et la cortisone, la voie d'administration, les principales complications, l'utilité du régime déchloruré, la plus grande sensibilité des enfants et une fréquence de rémissions comparable à celle obtenue avec les antifoliques.

Les doses de cortisone utilisées étaient comprises entre 100 et 300 mg/jour pour les adultes, entre 50 et 100 mg/jour pour les enfants ; les doses d'ACTH entre 50 et 150 mg/jour pour les adultes, 25 et 75 mg/jour pour les enfants. Ces quantités dépendaient à la fois du clinicien et de la réponse du patient. Après avoir essayé différents dosages, Jean Bernard donnait alors la préférence aux doses modérées.

La durée du traitement était généralement arbitrairement fixée. Jean Bernard employait les mêmes doses jusqu'à l'obtention d'une rémission. Mais celle-ci survenant entre le cinquième et le trente-cinquième jour de traitement, il poursuivait toujours ce dernier au moins jusqu'au vingtième jour. Lorsque la rémission était obtenue très rapidement, il avait des « scrupules à arrêter », il préférait continuer bien qu'il fût « malaisé de justifier scientifiquement cette pratique ». Quand la rémission était incomplète, il poursuivait le traitement. Mais en général, après un mois, l'échec total ou partiel était définitif.

Concernant les signes d'excès hormonal, Maxwell Wintrobe voyait un lien entre le degré d'infiltration tégumentaire et l'obtention d'une rémission. Mais Jean Bernard n'était pas de cet avis. D'autres effets secondaires avaient été signalés, en particulier des infections. Pour Jean Bernard, elles ne présentaient pas un grand danger à condition de les dépister et de les traiter précocément. Par contre, la survenue d'une toux coqueluchoïde, annonciatrice d'un œdème pulmonaire, devait conduire à interrompre le traitement, de même que l'apparition de désordres psychiques, d'agitation et d'excitation, ces manifestations révélant un œdème cérébral. William Dameshek avait en outre observé dans quelques cas des troubles de la régulation glucidique et Jean Bernard un cas d'azotémie grave avec anurie.

Les résultats, quant à eux, indiquaient dans tous les cas que la cortisone et l'ACTH étaient capables de provoquer des rémissions avec une fréquence appréciable (voir annexe 10). Par rapport aux antifoliques, les rémissions semblaient moins souvent complètes et moins durables, mais un peu plus fréquentes. La capacité des hormones à induire une nouvelle rémission après une rechute était identique à celle des antifoliques pour Jean Bernard, supérieure pour William Dameshek et inférieure pour Joseph Burchenal. Il était difficile de pousser la comparaison des résultats plus avant, essentiellement pour deux raisons. Premièrement, la définition de la notion de rémission était encore très variable : « indulgente pour les uns, rigoureuse pour les autres. Sous le nom d'amélioration ou « d'improvement » sont souvent attribués aux hormones des changements évolutifs de faible ampleur qui sont peut-être spontanés. ». Ceci donnait peu de valeur aux statistiques globales, comme celle de la deuxième conférence de l'ACTH. Deuxièmement, les résultats étaient d'abord rassemblés en fonction de l'âge des patients mais ensuite selon des critères différents d'une équipe à l'autre. Jean Bernard distinguait trois catégories de rémissions : clinique et sanguine, médullaire incomplète et médullaire complète. William Dameshek et Maxwell Wintrobe organisaient leurs résultats en fonction du type cytologique de la leucémie aiguë. De ce point de vue, tous trouvaient les leucémies aiguës lymphoïdes plus sensibles à la thérapeutique mais l'effet de cette dernière sur les autres types de leucémie aiguë était diversement apprécié. Certains n'observaient aucun effet, d'autres une rémission, d'autres encore une aggravation¹.

¹ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 22 : 205-233, 1952.

Recherches sur la conduite du traitement

Jean Bernard et Marcel Bessis s'interrogèrent sur l'utilité d'un traitement d'entretien : « Une fois survenue la rémission, faut-il traiter le leucémique comme un diabétique ou myxoedémateux, constamment soumis à la thérapeutique hormonale, ou faut-il - ainsi qu'on s'accorde à le faire chez les hodgkiniens soumis à la radiothérapie par exemple - éviter les cures d'entretien de crainte qu'elles affaiblissent l'action d'un nouveau traitement d'attaque en cas de rechute ? ». Pour essayer de répondre à cette question, ils comparèrent trois séries d'enfants parvenus à la période de rémission. Dans la première série, le traitement d'attaque fut poursuivi aux mêmes doses sans interruption. Dans la seconde, le traitement d'attaque fut remplacé par un traitement d'entretien à doses faibles (12,5 mg/j de cortisone). Dans la troisième, le traitement hormonal fut suspendu pendant la rémission. Dans ces trois situations, le nombre et la qualité des rémissions semblèrent équivalents.

Par ailleurs, alors que la cortisone était prescrite quotidiennement, ils essayèrent un traitement discontinu consistant en l'administration d'une forte dose (400 à 500 mg chez l'enfant, 600 à 1000 mg chez l'adulte) tous les cinq à sept jours¹. Des rémissions complètes ayant été obtenues, l'essai fut étendu à 15 enfants et 18 adultes. Les premiers reçurent 500 mg de cortisone, les seconds 1 gramme, deux fois par semaine pendant quatre à six semaines. Malgré une hypertension avec insuffisance cardiaque, le traitement fut globalement bien toléré. Par rapport au traitement continu, ils trouvèrent cette méthode un peu moins efficace chez l'enfant et un peu plus chez l'adulte².

Enfin, à partir de 1952, Jean Bernard et Georges Bilski-Pasquier (né en 1916) de l'Hôpital Broussais, traitèrent cinq leucémies aiguës de l'adulte et un cancer utérin, non améliorés par les doses habituelles avec de très fortes doses de cortisone. Ces patients reçurent en tout 5 à 30 grammes de cortisone en un à dix jours. Des rémissions complètes furent obtenues chez quatre leucémiques et le cinquième eut une rémission incomplète. En plus de ces résultats étonnants, le traitement fut bien supporté. L'efficacité et l'innocuité des doses massives furent confirmées par Joseph Hill à Dallas. Mais le nombre d'essais étant encore très réduit, ils conseillèrent de réserver ce traitement aux leucémiques chez lesquels on n'espérait plus d'amélioration et de l'accompagner d'une étroite surveillance clinique, hématologique et biochimique³. L'expérience fut poursuivie par des injections de 3 grammes de cortisone chez des malades à un stade très avancé, résistant à toute autre thérapeutique et en situation désespérée. Chez l'un d'eux, la première injection provoqua une rémission complète d'un mois, la deuxième une rémission complète de dix jours seulement et la troisième fut suivie du décès du patient. Les résultats furent considérés comme médiocres. Ils permettaient cependant d'espérer obtenir une rémission chez tous les leucémiques aigus au cas où l'on trouverait un moyen d'atténuer les effets néfastes de la cortisone : « Il n'est pas question de généraliser cette méthode massive, encore à l'étude. Il est pourtant important de noter que la médiocrité des résultats des traitements hormonaux des leucoses tient peut-être pour une part à l'insuffisance des doses actuellement permises. »⁴.

¹ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

² Bernard J., Deltour G., *Les nouveaux traitements des leucoses*, Sem. Hôp. Paris, 29 (67) : 3430-3431, 1953.

³ Deltour G., Weinmann S., Bilsky-Pasquier G., Bernard J., *Les effets des doses massives de cortisone. Etude du métabolisme et des propriétés biologiques de la cortisone chez les leucosiques traités par les doses massives de cortisone*, Sem. Hôp. Paris, 31 (20) : 1141-1149, 1955.

⁴ Bernard J., Deltour G., *Les nouveaux traitements des leucoses*, Sem. Hôp. Paris, 29 (67) : 3430-3431, 1953.

Recherches sur le mécanisme d'action de ces hormones

Hypothèses tirées des essais thérapeutiques

Par comparaison avec l'effet de la cortisone sur les leucocytes des sujets sains, on pensait que la cortisone agissait sur la cellule leucémique elle-même et non sur les troubles cellulaires ou cliniques secondaires à l'atteinte par la leucémie d'une lignée cellulaire. On admettait généralement que l'action anti-leucémique de la cortisone était purement lymphocytolytique et éventuellement éosinolytique. Mais la grande rareté de son efficacité dans les leucémies lymphoïdes chroniques et ses effets variables sur les leucémies myéloïdes amenèrent Jean Bernard et Marcel Bessis à rejeter cette hypothèse.

Par ailleurs, le fait que seuls certains enfants répondaient positivement au traitement leur faisait penser à une action indirecte de la cortisone, laquelle rétablirait momentanément la sécrétion d'une autre substance de nature inconnue.

Les hypothèses sur le mode d'action des traitements de la leucémie devaient aussi tenir compte de leur perte progressive d'efficacité au fur et à mesure des rechutes, phénomène pour lequel le terme de « résistance » était désormais employé. Jean Bernard et Marcel Bessis envisagèrent deux possibilités. La première faisait appel à la résistance d'un virus. La résistance des microorganismes aux antibiotiques était bien connue. Cependant, on ne disposait pas chez la poule de souches virales résistantes aux traitements antileucémiques. La seconde impliquait une résistance d'origine cellulaire. Elle était en accord, selon eux, avec les expériences des équipes de Joseph Burchenal et de Lloyd Law qui avaient obtenu des souches de souris à leucémie résistante aux antifoliques et transmissible par greffe de cellules¹. Précisons que les leucémies murines n'étaient pas alors considérées comme pouvant être d'origine virale.

Ces hypothèses n'étaient pas immédiatement testables. Le mécanisme d'action de la cortisone fut exploré par des méthodes biochimiques². Sachant que la cortisone modifiait chez les sujets sains le métabolisme général, Jean Bernard et ses collaborateurs recherchèrent chez les sujets leucémiques la coïncidence des rémissions induites par la cortisone avec des modifications quantitatives en métabolites. Ils étudièrent également la dégradation de cette molécule par l'analyse des stéroïdes urinaires.

Etude de la glutathionémie

Sous la direction de Léon Binet, alors doyen de la Faculté de médecine, et avec son collaborateur G. Weller, Jean Bernard et Georges Mathé étudièrent la glutathionémie de 53 cas de leucémies aiguës, pendant et après leur traitement.

Les travaux de F. Hammet, dans les années 1930, avaient amené ce chercheur à considérer le glutathion comme une « hormone mitogénétique » stimulant la multiplication cellulaire. Peu de temps après, Léon Binet et G. Weller avaient observé, d'une part, une exagération du taux sanguin de glutathion oxydé chez des patients addisoniens, souffrant d'une insuffisance surrénale, d'autre part, une élévation du rapport Glutathion total/Nombre d'hématies chez des patients cancéreux.

¹ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

² L'étude cytologique de l'effet de cette hormone sur les cellules du sarcome de Rous, des leucémies murines, aviaires et humaines figurait parmi les projets de recherches de Marcel Bessis pour l'année 1952 au sein du laboratoire d'Antoine Lacassagne au Collège de France (Fonds Bessis, correspondance avec Lacassagne A., 1952). Mais les résultats de cette étude ne furent pas publiés.

Chez les leucémiques aigus non traités, ils constatèrent en général pendant la première période évolutive une augmentation du rapport Glutathion total/Nombre d'érythrocytes parfois considérable. Ce rapport était normal chez les patients très anémiques mais il s'élevait lorsqu'une transfusion ramenait à la normale leur taux de globules rouges¹. Dans un premier temps, il leur sembla que l'élévation de ce rapport était d'autant plus importante que les taux de leucocytes et de leucoblastes du sang ou de leucoblastes de la moelle étaient élevés². Mais cette relation ne fut pas confirmée lorsqu'ils augmentèrent leur échantillon de patients.

Toujours dans les cas de leucémies aiguës non traitées, ils trouvèrent aussi très souvent un rapport Glutathion oxydé/Glutathion total très élevé (0,400 contre 0,135). Cependant l'élévation de ce rapport semblait liée à l'anémie puisqu'il était normal quand le taux d'hématies était lui-même normal.

Enfin, le rapport Glutathion total/Nombre d'érythrocytes se montra inégalement influencé par les thérapeutiques. D'une manière générale, il était moins fréquemment élevé pendant les périodes de rémission et de rechute. Et ce phénomène était plus marqué chez les patients traités par l'ACTH ou la cortisone que ceux traités par l'aminoptérine³.

Etude des principaux métabolites et électrolytes

Les principaux métabolites et électrolytes choisis comme paramètres furent étudiés par G. Deltour et S. Weinmann, du Laboratoire de biochimie de l'Hôpital Broussais, chez les patients traités par des doses massives de cortisone par Jean Bernard et Georges Bilski-Pasquier.

Ils dosèrent quotidiennement la kaliémie et la natrémie avant, pendant et après l'administration de cortisone. Ils dosèrent également le potassium et le sodium dans les urines. On savait de la cortisone qu'elle était responsable chez les sujets sains d'une rétention d'eau et de sodium et qu'elle provoquait une diminution de la concentration du potassium extracellulaire et sanguin ainsi qu'une forte augmentation de son excrétion urinaire. Selon Edward Kendall et ses collaborateurs, cette élimination accrue de potassium était liée à une accélération du catabolisme protéique provoquée par la cortisone.

Les dosages furent effectués par spectrophotométrie de flamme. La natrémie se montra remarquablement stable. Ces données biochimiques s'accordaient avec les données cliniques. Ils n'observèrent en effet aucun œdème ni aucune prise de poids chez les six patients étudiés. La diminution de l'excrétion urinaire du sodium fut mise en relation avec l'instauration d'un régime désodé, destiné à limiter la rétention d'eau dans les liquides extracellulaires. Cette faible influence des doses massives de cortisone chez les sujets leucémiques leur fit penser que la cortisone exerçait à ce dosage une action inhibitrice du fonctionnement cortico-surrénalien, ceci par analogie avec l'influence modeste des doses modérées de cortisone chez les patients à corticosurrénale non fonctionnelle et aux animaux surrénalectomisés. Cependant, la cessation brusque du traitement massif n'était jamais suivie de signes d'insuffisance cortico-surrénalienne.

La kaliémie, qui se situait le plus souvent à la limite inférieure des valeurs normales chez les patients non traités, augmenta légèrement lors des premières injections de fortes

¹ Binet L., Weller G., Mathé G., Bernard J., *La glutathionémie au cours des leucoses aiguës*, Presse méd., 60 : 961-964, 1952.

² Bernard J., Mathé G., *Etude des leucoses aiguës de l'enfance traitées par l'association antifoliques-cortisone*, Le sang, 23 (1) : 12-27, 1952.

³ Binet L., Weller G., Mathé G., Bernard J., *La glutathionémie au cours des leucoses aiguës*, Presse méd., 60 : 961-964, 1952.

doses de cortisone puis regagna sa valeur initiale. En revanche, l'excrétion urinaire du potassium augmenta brusquement au cours du traitement. Cette élévation étant parallèle à la disparition des tumeurs ganglionnaires et splénique, Jean Bernard et ses confrères l'attribuèrent à un intense catabolisme protidique au niveau des tissus en régression, conformément à l'explication d'Edward Kendall.

Ils étudièrent le métabolisme des glucides en mesurant la glycémie par la technique de Baudouin et Lewin, les taux sanguins de corps cétoniques et d'acide pyruvique par la technique de Frieden, la « réserve alcaline » par la technique de Van Slyke, ainsi qu'en recherchant dans les urines la présence d'oses réducteurs par la liqueur de Fehling et d'acétone ou d'acide acétylacétique par la réaction de Legall.

L'intervention du cortex surrénalien dans le métabolisme des glucides était bien établie mais l'administration de doses modérées de cortisone à des malades ne présentant pas de troubles de ce tissu avait des effets variables, allant de perturbations discrètes à un effet diabétogène marqué. Chez cinq des six patients traités par des doses massives, ils constatèrent une augmentation de la glycémie dès le lendemain de l'administration de la cortisone, le maintien à une valeur constante durant tout le traitement et le retour à un chiffre normal, en un à trois jours après l'arrêt de cette thérapeutique. La pyruvicémie augmenta de manière extrêmement nette dans tous les cas. Les autres paramètres ne furent pas modifiés de façon notable. Leur conclusion fut que la cortisone à dose massive provoquait une augmentation rapide et fugace des métabolites de la série glucidique. Ils furent heureusement surpris de l'absence d'accumulation des corps cétoniques, lesquels sont toxiques pour les neurones ; ils avaient en effet craint d'observer les manifestations cliniques de leur excès chez les patients ainsi traités.

En ce qui concerne les protéines sériques, ils suivirent les variations des proportions des divers types de protéines dans deux cas au moyen de l'électrophorèse. La plupart des auteurs admettaient que la cortisonothérapie augmentait le taux des albumines et abaissait celui des gamma-globulines. Mais des chercheurs de l'Université de New York trouvaient une augmentation des gamma-globulines et une diminution des alpha-globulines. Jean Bernard et ses collaborateurs observèrent, après une huitaine de jours, une baisse des gamma-globulines et une élévation des albumines mais peu significatives. Ils s'étonnèrent d'ailleurs de la faible amplitude de ces variations.

Ils s'intéressèrent enfin à l'action de la cortisone sur la concentration sanguine en cholestérol. Les dosages furent réalisés chez deux patients suivant la technique de Sperry et Schonheimer. Les résultats obtenus par d'autres auteurs étaient très variables : absence de perturbation, augmentation ou diminution. Ils constatèrent dans les deux cas une augmentation transitoire du taux de cholestérol mais chez l'un des deux patients celle-ci ne survint que lors d'un second traitement instauré à l'occasion d'une rechute.

Si cette étude biochimique confirma la grande tolérance des leucémiques aux doses massives de cortisones, elle ne permit pas d'expliquer l'obtention de rémissions chez ces patients insensibles aux doses habituelles.

Etude des stéroïdes urinaires

G. Deltour, S. Weinmann, Georges Bilsky-Pasquier et Jean Bernard étudièrent le catabolisme de la cortisone chez cinq patients leucémiques en suivant la répartition des différentes catégories de stéroïdes dans leurs urines pendant et après le traitement.

D'autres auteurs avaient montré que la dégradation de la cortisone donnait chez les sujets normaux des stéroïdes formaldéhydogènes à 21 atomes de carbone puis quatre types de

cétostéroïdes à 19 atomes de carbone. Les biochimistes de l'Hôpital Broussais dosèrent quotidiennement les stéroïdes formaldéhydogènes par une technique dérivée de celle de Daughaday, les céstéroïdes par la technique de Cahen et Salter, ainsi que les « G.B.S 13 », les « phénolstéroïdes » et les composés du « complexe prégnandiol de Venning » selon des techniques mises au point par Max-Fernand Jayle.

Les résultats furent représentés sous la forme de courbes d'excrétion journalière des céstéroïdes (C.S.), des G.B.S. et des stéroïdes formaldéhydogènes (S.F.), les deux autres groupes de stéroïdes n'ayant pas montré de variations significatives. Les diagrammes obtenus différaient fortement d'un individu à l'autre ; le pourcentage de stéroïdes en C19 récupérés par rapport à la quantité de cortisone administrée variait de 3 à 30%. La recherche de stéroïdes dans les fèces montra que l'absorption intestinale de la cortisone était quasi-totale et n'était donc pas responsable de ces variations. Cette extrême variabilité d'excrétion, n'empêchait pas de constater un maximum d'élimination des stéroïdes en C21 dans les premières 24 heures et un maximum d'élimination des stéroïdes en C19 48 heures après le début du traitement. Ceci signifiait, selon eux, la très rapide transformation des stéroïdes en C21 en stéroïdes en C19 et montrait « la rapidité du catabolisme de la cortisone dans l'organisme leucosique ». G. Deltour et ses collaborateurs venaient d'observer un phénomène de cet ordre en suivant l'élimination urinaire de ces deux groupes de stéroïdes chez un sujet sain ayant reçu de l'ACTH. Par rapport aux valeurs données par R. Dorfman chez l'homme normal, l'excrétion des stéroïdes en C21 était faible et celle des stéroïdes en C19 très élevée chez quatre des cinq leucémiques étudiés. Ainsi, la cortisone était, disaient-ils, « très rapidement engagée dans des réactions biochimiques intenses et accélérées au sein des tissus de l'organisme leucosique ».

Dans un second temps, ils regroupèrent les urines des six jours suivant l'administration de cortisone et en extrayèrent les céstéroïdes suivant la technique de Karl Dobriner, de l'Institut Rockefeller. Ils séparèrent ensuite les différents types de stéroïdes en C19 par chromatographie et identifièrent les différentes fractions par spectrographie infra-rouge. Jean Guy, de la Faculté de pharmacie de Paris, mit à leur disposition son spectrographe infra-rouge et les aida à interpréter les résultats. Ils retrouvèrent les quatre catabolites de la cortisone identifiés chez le sujet sain. Les voies du métabolisme de la cortisone dans l'organisme leucémique ne semblaient donc pas essentiellement différentes de celles admises chez l'homme normal. Le catabolite prédominant n'était cependant pas le même. Toutefois cette différence n'était peut-être pas représentative étant donné le petit nombre de leucémiques étudiés et les fortes variations de l'excrétion stéroïdique selon les individus et les doses¹.

Traitements régulateurs et traitements destructeurs

A partir de 1953, Jean Bernard distingua trois catégories de traitements anti-leucémiques : les traitements étiologiques, encore inconnus, les traitements destructeurs et les traitements régulateurs. Les traitements destructeurs, alors les plus efficaces, correspondaient aux radiations et aux agents chimiques. Ils agissaient, disait-il, en lésant les leucocytes formés en excès par les centres hématopoïétiques. Il les opposait aux traitements régulateurs, l'exsanguino-transfusion et les traitements hormonaux, moins performants mais plus prometteurs : « Leur intérêt vient des perspectives qu'ils ouvrent, des espoirs, qu'ils permettent de concevoir, d'un traitement physiopathologique des leucémies. On peut remarquer, à ce sujet, qu'il n'est pas nécessaire de connaître l'étiologie d'une hémopathie pour la traiter

¹ Deltour G., Weinmann S., Bilsky-Pasquier G., Bernard J., *Les effets des doses massives de cortisone. Etude du métabolisme et des propriétés biologiques de la cortisone chez les leucosiques traités par les doses massives de cortisone*, Sem. Hôp. Paris, 31 (20) : 1141-1149, 1955.

efficacement. Les extraits hépatiques, la vitamine B12 exercent chez le biermérien l'action favorable que l'on sait. L'anémie de Biermer a cessé d'être pernicieuse et nous ignorons sa cause. »¹.

Si l'action cytolytique des radiations et des agents chimiques et l'action hématopoïétique de l'exsanguino-transfusion semblaient admises, il n'en était pas de même de l'action « régulatrice » des hormones adrénocorticoïdes. Rappelons qu'à la suite des travaux de Thomas Dougherty et d'Abraham White, la plupart des spécialistes attribuaient à ces hormones une action leucolytique portant préférentiellement sur les lymphocytes². Ce mécanisme d'action fut notamment rappelé par Jacob Furth, du Oak Ridge National Laboratory (Oak Ridge, Tennessee), lors d'un symposium sur la recherche sur les leucémies organisé en novembre 1953 par la Fondation Ciba³.

Cependant, Jean Bernard avait des raisons de penser que l'effet anti-leucémique de la cortisone et de l'ACTH s'exerçait différemment. Quand Georges Mathé et Albert Netter avaient reproduit en 1949 les expériences de Thomas Dougherty et d'Abraham White, ils avaient compté les cellules en histolyse et recherché des signes d'altérations cellulaires mais ils n'étaient pas parvenus à les relier avec les changements survenus, sous l'influence des extraits glandulaires, dans les proportions relatives des différents types cytologiques de leucocytes⁴. De plus, les résultats cliniques obtenus dans les leucémies lymphoïdes chroniques et les leucémies myéloïdes avaient conduit Jean Bernard et Marcel Bessis à rejeter l'hypothèse d'une action lympholytique de la cortisone⁵.

Le classement de la cortisone dans les traitements régulateurs fut probablement renforcé par le travail que présenta Harold Tivey, de l'Université de l'Oregon à Portland, lors d'une conférence à laquelle Jean Bernard participa en 1954. Harold Tivey, qui avait étudié les leucémies non traitées, attribuait la survenue de rémissions spontanées à une production endogène de cortisone. Ceci pour deux raisons. Premièrement, la durée moyenne des rémissions spontanées (6,6 semaines) était statistiquement comparable à celle des rémissions obtenues avec la cortisone et l'ACTH (5,2 semaines). Deuxièmement, ces rémissions spontanées étaient fréquemment accompagnées de signes cliniques de « stress surrénal »⁶.

L'association antifoliques-cortisone

Parallèlement à l'utilisation de cortisone seule, Jean Bernard, Georges Mathé, Julien Marie et leurs collaborateurs entreprirent, à partir de mars 1950, de traiter les leucoses aiguës de l'enfance par une méthode associant les antifoliques, les hormones et les transfusions abondantes⁷. Leurs motivations étaient les suivantes : « Les essais ont été inspirés par l'espoir de pallier ou d'alterner les insuffisances des traitements actuels, leur inconstance, leur éventuelle nocivité, leur habituelle inefficacité en cas de rechute »⁸.

L'idée de combiner différents traitements était déjà présente. En 1948, Jean Bernard proposait d'associer transfusion et radiothérapie ou chimiothérapie : « Les exsanguino-

¹ Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953, p. 24.

² Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

³ Fonds Bessis, correspondance avec « Ciba Foundation », 1953.

⁴ Netter A., Mathé G., *Etude de la lymphopénie et des modifications parallèles des centres hématopoïétiques produites par la cortine chez le rat*, Le sang, 20 (7) : 442-450, 1949.

⁵ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

⁶ Tivey H., *The natural history of untreated leukemia*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 322-358, 1954.

⁷ Bernard J., Mathé G., *Etude des leucoses aiguës de l'enfance traitées par l'association antifoliques-cortisone*, Le sang, 23 : 12-27, 1952.

⁸ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41 : 285-287, 1951.

transfusions, les transfusions abondantes permettront l'application de certaines thérapeutiques, parfois dangereuses lorsqu'elles sont employées seules, telles la radiothérapie, les sels d'uréthane. Nous nous préoccupons de fixer les indications de ces associations. »¹. Plusieurs équipes avaient aussi employé simultanément des antifoliques différents². Enfin, en 1949, Sidney Farber étudiait les effets de l'association des antifoliques avec les hormones sexuelles ou avec les radiations³.

Le traitement associé des médecins de l'Hôpital Hérold comprenait une période d'attaque et une période d'entretien. Au cours de la première phase, les patients recevaient quotidiennement 1 mg d'aminoptérine (ou 5 mg d'a-méthoptérine) ainsi que 25 à 100 mg de cortisone (ou 25 à 50 mg d'ACTH). La durée de cette période dépendait des résultats obtenus. Les antifoliques étaient donnés à ce rythme jusqu'à l'apparition de manifestations toxiques ou, si possible, de la rémission médullaire. La cortisone était continuée pendant la période de l'éventuelle crise aminoptérinique et donnée à la même dose jusqu'à la rémission. En période évolutive, les patients recevaient en outre une à quatre transfusions par semaine. La période d'entretien commençait sans interruption au moment de la rémission. Elle était caractérisée par l'administration de doses plus faibles : 2 à 3 mg d'aminoptérine par semaine et 12,5 mg de cortisone par jour⁴. Par la suite, les doses d'antifoliques du traitement d'attaque furent légèrement diminuée (0,5 à 1 mg/j d'aminoptérine) et les doses d'hormones augmentées (100 à 150 mg/j de cortisone). La période d'attaque durait en général 12 à 15 jours puis le traitement hormonal était poursuivi 15 à 45 jours supplémentaires. Des essais furent également conduits chez l'adulte. En 1953, Jean Bernard recommandait d'utiliser des doses environ deux fois supérieures à celles prescrites aux enfants, sur des durées équivalentes. Il déconseillait la poursuite du traitement, d'une part parce que la prolongation du traitement d'attaque pendant plusieurs mois n'avait pas toujours été facile et n'avait pas donné de résultats intéressants, d'autre part, parce que sa poursuite à doses faibles n'avait pas empêché les rechutes ni prolongé les rémissions⁵.

En ce qui concerne les résultats, ils constatèrent tout d'abord une bonne tolérance au traitement. La note préliminaire publiée au début de l'année 1951, qui portait sur sept cas traités depuis plus de six mois, ne faisait état que d'un risque hémorragique et signalait l'absence d'œdème viscéral et de grande déformation du visage⁶. Au mois d'octobre, Jean Bernard et Georges Mathé présentèrent à Rome, au troisième congrès de la Société européenne d'hématologie, une étude portant sur 14 malades. L'association antifoliques-hormones faisait baisser considérablement la fréquence et la gravité des accidents thérapeutiques. En particulier, les hémorragies dramatiques de la crise aminoptérinique étaient évitées, ce qui facilitait grandement la conduite du traitement. Sur 30 séries d'attaques, ils avaient enregistré 22 hémorragies graves lors de traitements par l'aminoptérine et aucune avec la combinaison aminoptérine-cortisone ; de même, ils avaient noté respectivement six et trois hémorragies modérées, trois et un érythème, six et trois stomatites, ainsi que trois et une

¹ Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 24 (23) : 730-736, 1948.

² Messerschmitt J., *Les antagonistes de l'acide pteroylglutamique (acide folique)*, Rev. Hémat., 4 (2) : 194-245, 1949.

³ Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949.

⁴ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41 : 285-287, 1951. Bernard J., Mathé G., *Etude des leucoses aiguës de l'enfance traitées par l'association antifoliques-cortisone*, Le sang, 23 : 12-27, 1952.

⁵ Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953.

⁶ Bernard J., Marie J., Salet J., Cruciani, *Essai de traitement des leucoses aiguës de l'enfant par l'association aminoptérine-cortisone*, Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris, 16 (15) : 621, 1951.

alopécie¹. Chez l'animal, Maxwell Wintrobe et ses collaborateurs avaient montré que l'ACTH augmentait les effets toxiques de l'aminoptérine ; pour Jean Bernard, elle en augmentait surtout l'efficacité². Les deux substances semblaient en effet mieux tolérées quand elles étaient données ensemble que séparément. Certes les hormones étaient prescrites à doses plus faibles que lorsqu'elles étaient administrées seules mais pas les antifoliques. Ils en déduisirent un effet protecteur de la cortisone contre « l'intoxication par les antifoliques ». L'association constituait donc un progrès puisqu'elle fournissait un traitement de même efficacité et de moindre toxicité³.

Dès les premiers essais, le taux de rémission se montra en outre supérieur à ceux obtenus précédemment⁴. Ce résultat fut rapidement confirmé. Sur les quatorze premiers enfants ainsi traités, neuf eurent une rémission complète et deux une rémission partielle. Chez les trois autres, l'évolution fut peu modifiée⁵. En 1953, il était question de 40 à 50% de rémissions complètes, le reste correspondant à des rémissions incomplètes. L'échec total était rare chez l'enfant. Par contre chez l'adulte, les rémissions complètes étaient exceptionnelles et l'échec complet fréquent. De ce fait, Jean Bernard conseillait de traiter les leucémiques adultes par des transfusions, lesquelles ne compensaient pas toujours l'anémie mais amélioraient l'état général, et éventuellement de donner aux personnes sensibles de la cortisone par périodes de 20 à 30 jours, celle-ci ayant parfois un effet contre la fièvre, la fatigue et le manque d'appétit⁶.

Chaque rémission durait de un à cinq mois, deux à trois en moyenne. La durée moyenne de la maladie non traitée n'étant pas connue avec précision, il était délicat de parler de prolongation de la durée de vie. La comparaison avec les autres traitements existants n'était guère plus facile. A défaut d'une autre possibilité, ils comparèrent chez les leucémiques traités par l'association antifolique-hormone la durée de vie des patients sensibles à ce traitement avec celle des patients insensibles. Elle était de neuf à dix-sept mois chez les premiers et de un à trois mois chez les seconds⁷. La différence était nette - si l'on jugeait suffisant le nombre de patients engagés dans l'étude - mais on ne pouvait l'attribuer à l'action du traitement ; elle pouvait s'expliquer autrement, notamment par une évolution spontanée plus rapide des leucémies résistantes.

La vitesse d'obtention d'une première rémission semblait également augmentée. La plupart des patients présentaient un myélogramme normal au quinzième jour⁸. Ce délai était toutefois trop long pour les leucémies suraiguës. Dans ce cas, il était préférable de pratiquer quotidiennement une injection intraveineuse d'ACTH accompagnée d'une transfusion ou d'une exsanguino-transfusion⁹.

Comme avec les traitements monomoléculaires, tous les patients rechutèrent. Mais parmi les neuf enfants ayant eu une première rémission complète, six en eurent une seconde, trois une troisième et deux une quatrième, alors que précédemment il était difficile d'en provoquer une deuxième et quasiment impossible d'en obtenir une troisième¹⁰. En cas de rechute et si le même traitement associé s'avérait inefficace, ils augmentaient les doses et la

¹ Bernard J., Mathé G., *Etude des leucoses aiguës de l'enfance traitées par l'association antifoliques-cortisone*, Le sang, 23 : 12-27, 1952.

² Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

³ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

⁴ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41 : 285-287, 1951.

⁵ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

⁶ Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953.

⁷ Bernard J., Mathé G., *Etude des leucoses aiguës de l'enfance traitées par l'association antifoliques-cortisone*, Le sang, 23 : 12-27, 1952.

⁸ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.

⁹ Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953.

¹⁰ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

durée du traitement, mais malheureusement au delà du trente-cinquième jour, il y avait si peu de chances d'amélioration qu'ils jugeaient préférable de s'en tenir à un traitement palliatif¹.

Chez une seconde série de patients, Jean Bernard étudia les effets de l'administration non simultanée mais successive des deux types de substances. Par exemple, un traitement de 25 jours par la cortisone était suivi d'un traitement de 15 jours par l'aminoptérine. Les équipes de Joseph Burchenal, Maxwell Wintrobe et William Dameshek avaient parfois obtenu une rémission en traitant des patients résistants à un produit par une seconde substance². Les deux méthodes parurent aussi efficaces l'une que l'autre. Avec le traitement successif, la seconde molécule ne fut finalement utilisée qu'en cas de rémission incomplète ou lors de la rechute, de manière à retarder au maximum le développement d'une résistance à son égard.

Le traitement par les hormones et les antifoliques était encore amélioré par des traitements adjuvants et symptomatiques. Ayant constaté que l'association médicamenteuse n'avait un effet net que lorsque le nombre de globules rouges était supérieur ou égal à trois millions par cm³, Jean Bernard considérait les transfusions comme un complément thérapeutique indispensable. Il préconisait des transfusions isogroupes de sang frais de 150 à 200 ml tous les jours ou tous les deux jours chez l'enfant, de 300 à 500 ml chez l'adulte environ trois fois par semaine, jusqu'à ce que le taux d'érythrocytes soit normal. La surveillance comprenait un examen hématologique complet tous les deux jours et une ponction sternale tous les dix à quinze jours. Dans les formes fébriles, il semblait de plus utile de prescrire des antibiotiques à fortes doses (pénicilline, chloramphénicol ou terramycine), sans attendre le diagnostic d'infection. Quant aux traitements symptomatiques, furent retenus l'arsenic, les antibiotiques et la thrombine pour les manifestations buccales, les transfusions pour l'anémie et les hémorragies, ainsi que la radiothérapie à faible dose pour les douleurs osseuses et les opiacés et les barbituriques pour les douleurs récalcitrantes³.

Jean Bernard expliquait les relativement bons résultats de l'association par l'intervention de mécanismes d'action différents. Cette hypothèse était en accord avec des résultats expérimentaux fraîchement obtenus par Joseph Burchenal et dont Marcel Bessis lui avait fait part⁴. Le traitement par la cortisone de souris leucémiques Ak4 et Ak4 R, une souche résistante aux antifoliques, provoquait dans les deux cas une chute du taux sanguin de leucoblastes. Un autre argument en faveur de cette hypothèse provenait des travaux de Jean Bernard et de ses collaborateurs sur l'hyperglutathionémie des leucémies : la cortisone l'abaissait alors que l'aminoptérine ne la modifiait pas⁵.

La 6-mercaptopurine

En 1942, les laboratoires de recherche pharmaceutique Wellcome, à Tuckahoe dans l'état de New York, commencèrent un programme de synthèse et d'étude d'analogues des bases puriques et pyrimidiques, dans le but d'étudier le métabolisme des acides nucléiques et avec l'espoir de produire des agents chimiothérapeutiques. Cet espoir était fondé, d'une part sur les besoins variés des microorganismes en bases azotées, démontrés à la fin des années 1930 et suggérant l'existence d'une spécificité fonctionnelle de chaque base, d'autre part sur le lien entre l'acide folique et le métabolisme des bases mis en évidence au début des années

¹ Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953.

² Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

³ Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 11.11.1951.

⁵ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

1940. George Hitchings (né en 1905) et Gertrud Elion (née en 1918)¹, choisirent de tester leurs produits de synthèse sur *Lactobacillus casei* car l'acide folique, la thymine et la purine avaient des effets différents sur la croissance de cette bactérie. Un seul test permettait donc de savoir simultanément si le nouveau composé avait un effet agoniste ou antagoniste de ces trois molécules. Modifiant les bases atome par atome, ils réalisèrent une étude systématique des relations entre la structure chimique des analogues des bases et leur activité biologique. Ils identifièrent ainsi des groupes fonctionnels, au niveau desquels le remplacement d'un atome d'oxygène par un atome d'azote ou de soufre produisait souvent des antimétabolites. En 1945, ils synthétisèrent des antagonistes compétitifs de l'uracile et de la thymine, le thiouracile et la thiothymine, puis de nombreux analogues dont la thioguanine et la 6-mercaptopurine (voir annexe 12) en 1951². Ces molécules étaient testées chez l'animal en collaboration avec la Division de chimiothérapie expérimentale du Sloan-Kettering Institute, division dirigée par Joseph Burchenal³. Au cours des premières études expérimentales, la thioguanine se montra très toxique et la 6-mercaptopurine inefficace contre les tumeurs murines⁴. Lors de nouveaux essais, cette dernière inhiba la croissance du sarcome murin S180⁵. De plus, Lloyd Law et ses collaborateurs, au National Cancer Institute, montrèrent qu'elle empêchait la prise de la leucémie greffée L1210. Les premières études cliniques furent menées par Joseph Burchenal et ses collaborateurs dans le service de chimiothérapie du Memorial Hospital for Cancer and Allied Diseases, étroitement lié au Sloan-Kettering Institute⁶.

Les premiers résultats cliniques de l'équipe de Joseph Burchenal parurent dans la presse médicale en avril 1953. Ils avaient traité par la 6-mercaptopurine seule 39 enfants et 12 adultes atteints de leucémie aiguë. A la suite de quoi, ils avaient obtenu chez l'enfant 38% de « bonnes rémissions cliniques et hématologiques » et 26% de « rémissions partielles », et chez l'adulte, 26% de « rémissions partielles ». Par « bonne rémission clinique et hématologique », ils entendaient un état clinique et un sang normaux ainsi qu'une moelle osseuse contenant moins de 30% de cellules souches et de lymphocytes. Leur expérience des traitements précédents leur permettait d'ajouter que cette molécule provoquait des rémissions avec une fréquence comparable à celle obtenue avec les antifoliques, c'est-à-dire légèrement supérieure à celle atteinte avec les exsanguino-transfusions et les hormones, mais rarement complètes et plus courtes. Par contre, la 6-mercaptopurine était faiblement toxique. Enfin, il semblait ne pas exister de résistance croisée entre cette dernière, la cortisone et les antifoliques ; il y avait donc de fortes chances pour que l'utilisation successive ou simultanée des trois types de molécules prolongeât un peu la durée de vie des leucémiques⁷.

Avant la publication de ces résultats, Joseph Burchenal avait fait part de ses travaux à différents hématologistes et la firme Burroughs-Wellcome avait distribué sa molécule à quelques centres de traitement expérimentés, afin qu'ils entreprissent eux-mêmes des essais cliniques⁸.

¹ Ils reçurent en 1988 le prix Nobel de médecine et de physiologie pour leurs travaux sur les médicaments agissant sur les acides nucléiques.

² Hitchings G., Elion G., *The chemistry and biochemistry of purine analogs*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 195-199, 1954.

³ Chast F., *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, 1995.

⁴ Hitchings G., Elion G., *The chemistry and biochemistry of purine analogs*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 195-199, 1954.

⁵ Clarke D., Philips F., Sternberg S., Stock C., Elion G., *6-mercaptopurine : an inhibitor of mouse sarcoma 180*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 1 : 9, 1952.

⁶ Hitchings G., Elion G., *The chemistry and biochemistry of purine analogs*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 195-199, 1954.

⁷ Burchenal J., Karnofsky D., Murphy C., Ellison R., Rhoads C., *Effects of 6-mercaptopurine in man*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 1 : 7-8, 1953.

⁸ Minor R. Ed., *6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954.

Jean Bernard commença à utiliser la 6-mercaptopurine en février 1953. Auparavant, il avait testé, avec E. Velez et Daniel Christol, le thiouracile chez des leucémiques aigus résistants aux autres thérapeutiques, mais sans succès. En novembre 1953, le traitement de trente patients par la 6-mercaptopurine donnait des résultats en accord avec ceux de Joseph Burchenal¹.

Les 30 avril et 1^{er} mai 1954, la Section de biologie de l'Académie des sciences de New York organisa une conférence consacrée à la 6-mercaptopurine. Y furent présentés des travaux sur l'effet de la molécule sur des bactéries, des embryons animaux, des cellules tumorales humaines et animales cultivées *in vitro*, des tumeurs et des leucémies expérimentales, ainsi que des études de toxicité, des études pharmacologiques et des essais cliniques réalisés par 22 équipes, dont trois étrangères : une française, une argentine et une anglaise².

Les résultats les plus importants, parmi les recherches menées au laboratoire, étaient au nombre de cinq. Premièrement, une action préférentielle de la 6-mercaptopurine sur les tissus cancéreux en division rapide et relativement indifférenciés fut mise en évidence³. Deuxièmement, l'action inhibitrice de la molécule sur la croissance *in vivo* du sarcome S180 et sur la leucémie L1210 fut confirmée. La 6-mercaptopurine se révéla également active sur d'autres tumeurs et d'autres leucémies lymphoïdes murines. Troisièmement, des souches de cellules leucémiques murines résistantes furent obtenues et se montrèrent sensibles à l'améthoptérine⁴. Quatrièmement, les études de toxicité montrèrent, d'une part, que la 6-mercaptopurine affectait, outre la moelle osseuse, l'épithélium intestinal, la fonction hépatique et, chez le rat Wistar, le poumon, mais seulement à fortes doses⁵, d'autre part, que les cellules tumorales étaient plus ou moins endommagées et ne réagissaient pas selon une loi du tout ou rien⁶. Cinquièmement, l'étude du devenir de la 6-mercaptopurine chez la souris, par marquage au soufre 35, indiqua qu'elle était en partie incorporée dans les acides nucléiques des tissus trois heures après son injection dans la circulation sanguine et qu'une partie de la radioactivité se retrouvait rapidement dans les urines, essentiellement sous forme d'acide thiourique et de produits non identifiés⁷. Chez l'homme, le dosage de la radioactivité dans les urines mit également en évidence une utilisation rapide de la 6-mercaptopurine, ainsi qu'une élimination sous forme de sulfate bien plus importante que chez la souris⁸.

En ce qui concerne les essais cliniques, Joseph Burchenal présenta les résultats du traitement de presque 200 patients. Huit équipes, dont celle de Jean Bernard, parlèrent d'essais portant sur une trentaine à une soixantaine de leucémies aiguës, et 13 autres intervenants rendirent compte d'une expérience concernant au maximum une vingtaine de cas (voir annexe 13.). La conduite du traitement ne présentait pas de grandes variations d'un groupe à l'autre,

¹ Bernard J., Deltour G., *Les nouveaux traitements des leucémies*, Sem. Hôp. Paris, 29 (67) : 3430-3431, 1953.

² Minor R. Ed., *6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954.

³ Bieber S., Bieber R., Hitchings G., *Activities of 6-mercaptopurine and related compounds on embryonic and regenerating tissues of Rana pipiens*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 207-211, 1954. Biesele J., *Effects of 6-mercaptopurine on experimental tumors in tissue culture*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 228-234, 1954.

⁴ Clarke D., Philips F., Sternberg S., Stock C., *Effects of 6-mercaptopurine and analogs on experimental tumors*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 235-243, 1954. Law L., Taormina V., Boyle P., *Response of acute lymphocytic leukemias to the purine antagonist 6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 244-250, 1954. Skipper H., *Effects of 6-mercaptopurine on experimental tumors*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 267-272, 1954.

⁵ Philips F., Sternberg S., Hamilton L., Clarke D., *The toxic effects of 6-mercaptopurine and related compounds*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 283-296, 1954.

⁶ Goldin A., Venditti J., Humphreys S., Dennis D., Mantel N., Greenhouse S., *Studies on the toxicity and antileukemic action of 6-mercaptopurine in mice*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 251-266, 1954.

⁷ Elion G., Bieber S., Hitchings G., *The fate of 6-mercaptopurine in mice*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 297-303, 1954.

⁸ Hamilton L., Elion G., *The fate of 6-mercaptopurine in man*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 304-314, 1954.

contrairement aux résultats et surtout à leur analyse dont la grande variabilité rendait une fois de plus les résultats difficilement comparables.

Tous avaient utilisé la posologie proposée par Joseph Burchenal, à savoir l'administration quotidienne par voie orale de 2,5 mg de 6-mercaptopurine par kg jusqu'à la rémission. Dans les cas où la rémission tardait à apparaître, certains augmentaient les doses jusqu'à les doubler ; lorsque le taux de globules blancs était très bas, d'autres diminuaient les doses.

L'originalité de ce nouveau traitement, décrite par toutes les équipes, résidait dans son action tardive et dans sa faible toxicité. Les rémissions étaient obtenues au bout de 30 à 40 jours en moyenne, contre 10 à 15 pour les antifoliques et 4 à 35 pour la cortisone. De ce fait, Jean Bernard attendait au moins neuf semaines avant d'abandonner le traitement. De plus, n'étaient pris en compte dans l'étude des résultats que les patients ayant eu une rémission après 20 à 30 jours de soins. Quant à la toxicité, étaient surtout signalés des leucopénies, ainsi que quelques troubles digestifs et dermatologiques, pas toujours directement imputables à la 6-mercaptopurine. Jean Bernard disait avoir rencontré moins de problèmes que les autres participants et attribuait ceci au fait qu'il avait prétraité les patients anémiques par des transfusions jusqu'à ce que leur taux de globules rouges atteignît quatre millions par mm³. Par ailleurs, W. Newton signala que l'administration accidentelle d'une dose correspondant à 12,5 mg/kg n'avait pas eu de conséquences fâcheuses.

La comparaison des résultats était délicate essentiellement pour trois raisons : parce que peu d'auteurs indiquèrent si la molécule avait été donnée seule ou non, parce que les différents cas étaient regroupés dans des catégories différentes et parce que tous n'utilisaient pas les mêmes critères d'efficacité (voir annexes 14, 15 et 16).

Quatre équipes donnèrent leurs résultats du traitement de leucémies aiguës uniquement par la 6-mercaptopurine. L'expérience de Joseph Burchenal portant sur un nombre de patients au moins quatre fois supérieur à celui des autres médecins, la comparaison des résultats permet au mieux de conclure que Jean Bernard obtint, comme son ami « Joe », environ 50% de bonnes rémissions chez l'enfant (voir annexe 14).

Lorsque l'on compare les taux de rémissions obtenus par les six équipes ayant détaillé leurs résultats du traitement de la 6-mercaptopurine seule ou associée à d'autres traitements, les valeurs s'accordent un peu mieux. Presque tous obtinrent chez l'enfant un pourcentage de bonnes rémissions d'environ 40% et un pourcentage de rémissions partielles d'environ 30%. Les résultats globaux et ceux portant sur les adultes sont moins comparables, Nathan Rosenthal étant le seul à avoir traité plus d'une dizaine d'adultes (voir annexe 15). On peut néanmoins ajouter que tous les intervenants, à l'exception de F. Bethell et de Quin DeMarsh, trouvaient la 6-mercaptopurine plus efficace chez l'enfant que chez l'adulte. Quant à la durée des rémissions, elle était au minimum de deux à trois semaines, selon les équipes, et au maximum, de quatre à huit mois¹.

La comparaison de la 6-mercaptopurine avec les autres traitements de la leucémie aiguë ne fut abordée de manière quantitative que par quatre équipes et fit appel, selon les auteurs, à des critères différents. Le critère le plus fréquemment utilisé fut le taux de rémissions. Celui-ci était variable, d'une équipe à l'autre, en particulier concernant les hormones. En s'en tenant à la comparaison des résultats au sein d'une même équipe, théoriquement plus fiable, les résultats étaient également différents. Ainsi, pour les équipes de Mila Pierce et de Paul Gaffney, la 6-mercaptopurine était moins efficace que la cortisone et les antifoliques, par contre l'inverse était vrai pour Jean Bernard et ses collaborateurs (voir annexe 16). Ceci les conduisit d'ailleurs à considérer ce traitement comme supérieur aux précédents et à le recommander comme traitement initial des leucémies aiguës communes,

¹ Minor R. Ed., *6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954.

tout en conseillant de lui préférer l'association antifolique-cortisone dans les formes d'évolution rapide et de l'associer à la cortisone dans les formes ambiguës¹. Quant à l'équipe de Joseph Burchenal, elle utilisa comme critère de comparaison le pourcentage de survies supérieures ou égales à un an (voir annexe 16). Signalons qu'à la demande de Cornelius Rhoads, Harold Tivey, de l'Université de l'Oregon à Portland, réalisa pour la conférence une étude rétrospective des leucémies non traitées, pour lesquelles il évalua la durée de vie moyenne des patients à trois mois, entre l'apparition des premiers symptômes et la mort². De plus, les médecins du Memorial Hospital ne comparèrent pas les résultats de la 6-mercaptopurine seule à ceux des autres traitements, mais les résultats de la trithérapie antifolique+cortisone+6-mercaptopurine à ceux des traitements précédents. Ceci montrait que la combinaison des trois types de molécules augmentait nettement la durée de vie des patients traités (voir annexe 16).

Lors d'un symposium sur la recherche sur les leucémies organisé par la Fondation Ciba en novembre 1953, Joseph Burchenal avait déjà présenté le temps de survie comme le critère le plus pertinent pour l'évaluation des agents thérapeutiques. Il avait également parlé de l'intérêt de combiner les traitements agissant par des mécanismes différents de façon à pallier l'apparition de phénomènes de résistance. Il avait été suivi sur ce point par Lloyd Law, pour qui la résistance était une adaptation convertissant les antimétabolites en métabolites³.

Presque tous les intervenants de la conférence sur la 6-mercaptopurine indiquèrent que cette dernière pouvait induire des rémissions chez des patients résistants aux autres thérapeutiques. La 6-mercaptopurine, la cortisone et les antifoliques semblaient donc agir par des mécanismes différents. Seul Sidney Farber doutait de l'intérêt des polychimiothérapies. Précisons que pour les partisans de l'association des différentes substances anti-leucémiques, il restait à déterminer s'il était préférable de les utiliser simultanément ou successivement. Pour Felipe Jiménès de Asua, il valait mieux les employer l'une après l'autre et cesser tout traitement dès l'obtention d'une rémission parce que le traitement des infections par les antibiotiques avait montré que les traitements continus, en particulier à faible dose, favorisaient le développement d'une résistance⁴.

On peut se demander pourquoi les anti-métabolites n'étaient pas testés de manière plus approfondie sur les souris leucémiques. A priori, les modèles expérimentaux auraient pu donner des indications sur la valeur relative des différents traitements disponibles et de leurs associations. La réponse est simple : aucun traitement ne provoquait chez les rongeurs de rémissions aussi importantes que celles observées chez l'homme ; on ne connaissait pas non plus chez l'animal de rémissions spontanées. Ce problème fut notamment abordé par M. Israëls, du Département d'hématologie de l'Université de Manchester, lors du symposium sur la recherche sur les leucémies de 1953⁵.

Le colloque international de chimiothérapie des cancers et leucémies

En mai 1957, Jean Bernard et Georges Mathé organisèrent à Paris, sous l'égide du Centre national de la recherche scientifique, un colloque international sur la chimiothérapie des cancers et des leucémies. Ce colloque, qui rassembla 42 personnes, comportait trois parties. La première traitait des effets et des indications de médicaments déjà connus. La

¹ Bernard J., Seligmann M., *A study of 61 leukemias treated with 6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 385-402, 1954.

² Tivey H., *The natural history of untreated leukemia*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 322-358, 1954.

³ Fonds Bessis, Correspondance avec « Ciba Foundation », 1953.

⁴ Minor R. Ed., *6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954.

⁵ Fonds Bessis, Correspondance avec « Ciba Foundation », 1953.

seconde était consacrée aux nouvelles données fournies par l'expérimentation animale. La troisième portait sur l'avenir de la chimiothérapie¹.

Cet état des lieux de la chimiothérapie anti-cancéreuse, une dizaine d'année après ses débuts, permet avant tout de prendre conscience de la place centrale des maladies du sang dans ce domaine. Cette suprématie résultait de l'omniprésence et de la circulation de ce tissu dans l'organisme. En effet, ces caractéristiques du sang avaient deux conséquences. La première était la grande visibilité des modifications sanguines. L'évolution de l'état du sang était facile à suivre par prise de sang et facile à quantifier par numération. Pour les tumeurs solides, les variations de taille étaient difficiles à mesurer, à part au niveau de la peau. Les tumeurs internes pouvaient être observées par radiographie, mais pas trop souvent à cause de la « leucémie des radiologistes ». Il était également plus facile de réaliser une ponction de moelle, les os servant de repères, qu'une ponction dans un autre tissu. C'est également parce que le sang est facilement accessible que les premiers agents anti-cancéreux, tous découverts de manière fortuite, furent des substances leucopéniantes. La deuxième conséquence du caractère diffus et dynamique du sang était l'absence de traitement des hémopathies malignes. Les seuls cancers considérés comme curables étaient les tumeurs localisées et peu étendues, lesquelles étaient traitées par la chirurgie et la radiothérapie. La maladie de Hodgkin et les leucémies chroniques pouvaient être améliorées par la radiothérapie mais, pour les leucémies aiguës, aucun traitement n'avait jamais montré la moindre efficacité. Les leucémiques aigus étaient donc des cancéreux vierges de tout traitement sur lesquels il était moralement acceptable de tester de nouvelles thérapeutiques anticancéreuses sans attendre que la maladie soit très avancée.

Revenons aux thèmes abordés lors du colloque. Celui-ci commença par des réflexions sur l'évaluation des résultats cliniques. Pierre Denoix, de l'Institut Gustave Roussy, déplora l'incomparabilité des résultats et insista sur la nécessité de définir un langage commun de description et des règles universelles de classification des cas². Jean Bernard et Georges Mathé recensèrent les critères à surveiller chez les patients atteints d'hémopathies malignes. Il s'agissait essentiellement de tests anatomiques macro- et microscopiques. Parmi les tests biologiques, seule la vitesse de sédimentation leur semblait digne d'intérêt. Son augmentation accompagnait la rémission dans la maladie de Hodgkin, mais pas de manière significative dans les leucémies et le myélome. D'autres paramètres biologiques étaient à l'étude : leurs résultats semblaient confirmer la valeur de l'hyperfibrinémie soulignée par P. Cazal, de la Clinique Saint-Eloi à Montpellier, et ils avaient noté, avec Gabriel Richet, des variations du taux de tripeptidase aux stades avancés mais sans pouvoir établir de corrélation certaine. Quels que soient les tests anatomiques et biologiques, ceux-ci devaient permettre de classer les effets des médicaments en quatre catégories : rémission apparemment complète, rémission satisfaisante mais incomplète, simple amélioration et échec. G. Marinone, de la Clinique médicale universitaire de Pavie, objecta qu'il préférerait parler de rémissions satisfaisantes et non satisfaisantes, plutôt que de rémissions complètes et incomplètes, étant donné l'impossibilité de connaître en totalité l'état des organes hématopoïétiques. Jean Bernard répondit que l'autopsie de deux leucémiques lui avait montré qu'il existait des rémissions totales et que la classification de son confrère était trop peu précise. Joseph Burchenal était du même avis ; il ajouta qu'il était pour lui essentiel que tous les chimiothérapeutes utilisent les mêmes termes, sous-entendu les mêmes définitions.

¹ Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958.

² Denoix P., « Critique des méthodes d'évaluation des résultats obtenus par les produits chimiothérapeutiques en cancérologie clinique » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 13-16.

L'évaluation d'un produit devait, selon Jean Bernard et Georges Mathé, se baser non seulement sur la fréquence et la qualité des rémissions mais également sur des données chronologiques telles que la durée de survie des patients (à partir des premiers symptômes, à partir de la date de diagnostic et de l'institution de la chimiothérapie), la durée des rémissions, le nombre de rémissions successives et la « durée de la vie active et utile » correspondant par exemple à une activité professionnelle de cinq à six heures par jour. Bien que la durée de survie soit pour Pierre Denoix, comme pour Joseph Burchenal, le critère le plus précis, personne dans la discussion ne proposa de se passer des autres. A la fin de leur intervention, Jean Bernard et Georges Mathé préconisèrent de comparer toute nouvelle chimiothérapie à la meilleure disponible et de séparer, dans l'analyse des résultats, les malades neufs, les malades traités encore sensibles et les malades traités résistants¹. Dans la pratique, comparer un nouveau produit avec le meilleur traitement disponible n'était pas simple puisque ce dernier était une polychimiothérapie. Le seul moyen était de commencer par le produit à tester puis d'utiliser les autres dans leur combinaison habituelle. Or ce procédé n'était pas forcément le meilleur d'après les données expérimentales. Par exemple, des études menées chez le rat avaient montré que l'association cortisone-anti-cancéreux était plus efficace lorsque la cortisone était administrée en premier. Cependant, chez l'homme, Jean Bernard donnait d'abord l'agent à tester de manière à apprécier ses effets propres².

La partie du colloque réservée aux résultats des essais cliniques dans les leucémies aiguës comprenait la présentation des travaux des équipes de Joseph Burchenal, Jean Bernard et G. Marinone. Les deux premiers comparèrent différentes combinaisons thérapeutiques utilisées chez l'enfant. Chaque groupe avait conservé son mode de présentation habituel des résultats : pourcentage de survie pour Joseph Burchenal, taux et durée des rémissions pour Jean Bernard (voir annexes 17 et 18). Toutefois, ce dernier avait ajouté à sa statistique principale, les résultats de trois modalités différentes de traitement exprimés en pourcentage de rechute à six mois (voir annexe 19), ce qui rapproche du pourcentage de survie, sans cependant lui correspondre tout à fait. Signalons que G. Marinone utilisa les mêmes critères que Jean Bernard, à savoir le taux et la durée des rémissions. Concernant les résultats, on constate dans les deux cas que les meilleurs étaient ceux obtenus lorsque la 6-mercaptopurine et les hormones stéroïdes étaient associées. Les travaux de l'équipe de Jean Bernard montraient de plus que cette double association était préférable à la triple association incluant en outre un antifolique ; cependant la comparaison portait sur peu de cas³.

Joseph Burchenal parla aussi du traitement des rechutes à localisation méningée. Cette nouvelle forme de la maladie était attribuée au faible passage des agents chimiothérapeutiques dans le liquide intrarachidien. Ces cas furent d'abord traités par irradiation de la tête aux rayons X. Puis les chercheurs du Sloan-Kettering Institute essayèrent chez le chien l'injection intrarachidienne de méthotrexate. L'essai mené ensuite sur cinq enfants aboutit à deux

¹ Bernard J., Mathé G., « Critique des méthodes d'évaluation des résultats obtenus par la chimiothérapie des hémopathies malignes » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 17-22.

² Boiron M., Paoletti C., Mathé G., Bernard J., « Protection apportée par les hormones cortico-surrénales contre l'action cytotoxique des rayons X et des agents caryolytiques sur la moelle osseuse » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 287-300.

³ Murphy M., Tan C., Burchenal J., « Résultats du traitement des leucoses aiguës de l'enfant » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 97-100. Bernard J., Mathé G., « Quelles sont les meilleures associations et combinaisons thérapeutiques dans les leucoses aiguës ? » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 101-106.

améliorations cliniques très nettes et fut bien toléré¹. Quant à G. Marinone, il rendit compte du traitement de 128 leucémiques aigus adultes. D'après son expérience, le traitement le plus efficace associait transfusions, cortisone et 6-mercaptopurine².

La séance consacrée au traitement des leucémies aiguës se termina par une discussion sur les corticoïdes. Jean Bernard demanda si d'autres équipes trouvaient aussi la prednisone plus apte à provoquer des rémissions complètes que la cortisone. Pour Joseph Burchenal, il ne s'agissait pas d'une différence qualitative mais quantitative ; la prednisone provoquant une rétention salée moindre que la cortisone, on pouvait la prescrire à plus fortes doses. Jean Bernard souhaita ensuite discuter la posologie des hormones surrénales, laquelle n'était pas codifiée, contrairement à celle des antifoliques et des antipurines. J. Debray, de l'Hôpital Saint-Antoine, ne pensait pas que cela fût possible. Il avait essayé, dans des affections hépatiques et vasculaires, de déterminer des doses valables pour tous les malades mais n'y était pas parvenu ; les résultats avaient été inégaux voire paradoxaux. Joseph Burchenal voulut savoir si les fortes doses de cortisone pouvaient être efficaces chez des patients résistants aux faibles doses. Jean Bernard répondit qu'il avait vu une rémission chez un patient résistant aux doses moyennes. Par ailleurs, P. Croizat, de l'Institut bactériologique de Lyon, proposa de donner de l'ACTH aux malades longtemps traités par les hormones cortico-surrénales, de manière à protéger les glandes surrénales. Joseph Burchenal ne savait pas si cela en valait la peine. Enfin, Bernard Dreyfus demanda si la cortisone pouvait aggraver certaines formes de leucémies. Joseph Burchenal avait connu cette situation avec une leucémie à monocytes et L. Revol avec des leucémies myéloblastiques de l'adulte. Par contre, Jean Bernard et Joseph Burchenal n'avaient vu que des améliorations dans les leucémies myéloblastiques³.

Dans la seconde partie du congrès, Joseph Burchenal présenta les nouvelles méthodes expérimentales du Sloan-Kettering Institute pour l'évaluation des propriétés anticancéreuses des substances chimiques. Ils avaient choisi d'effectuer une première sélection avec le sarcome murin S180 et une deuxième série de tests sur 20 tumeurs du rat et de la souris, 8 leucémies vierges et leurs variantes résistantes, ainsi que des cellules tumorales animales et humaines cultivées *in vitro* pour les premières et sur embryon de poulet ou chez le rat irradié et traité à la cortisone pour les secondes. Il présenta également la méthode de criblage ou « screening », plus simple et donc moins coûteuse, retenue par le Comité de screening du Cancer Chemotherapy National Service Center américain. Celui-ci préconisait de tester successivement les nouvelles molécules sur trois cancers expérimentaux : le carcinome 755 greffé sur les souris C57Bl, le sarcome 180, greffable sur toutes les lignées murines, et la leucémie 1210 de Law. Cet ordre reflétait leur sensibilité décroissante aux agents chimiothérapeutiques⁴. A l'Institut chimiothérapeutique de Milan, A. de Barbieri n'utilisait que deux types de tests : l'étude *in vivo* sur le sarcome de Walker et le naevo-carcinome ascitique d'Ehrlich, permettant un screening très rapide, et l'étude *in vitro*. Jean Bernard demanda si des produits actifs sur la leucémie humaine risquaient de ne pas être correctement appréciés par ces tests. Ce à quoi Joseph Burchenal répondit qu'il existait d'ordinaire une

¹ Whiteside J., Burchenal J., « Administration intra-rachidienne de méthotrexate en cas d'infiltration leucémique des méninges » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 123-127.

² Marinone G., « Les limites actuelles de la thérapeutique cytodestructrice sont-elles le prélude de nouvelles directives dans le traitement des leucoses aiguës » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, 1958, p. 107-122.

³ Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 128-129.

⁴ Burchenal J., « Méthode utilisée pour l'étude des nouveaux agents antitumoraux » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 147-148.

bonne corrélation entre l'efficacité d'un produit sur ces tumeurs et leur action sur la leucémie aiguë des enfants¹.

Toujours au sujet des méthodes expérimentales d'étude des nouveaux produits, Jorgen Bichel (né en 1909), de l'Université d'Arhus au Danemark, parla de la culture des tissus. Certaines leucémies de la souris étaient cultivables *in vitro* avec des fibroblastes. Il pensait que le principal intérêt de la méthode résidait dans la possibilité de déterminer la concentration toxique pour les cellules cancéreuses et la concentration toxique pour les cellules normales².

L'expérimentation animale avait aussi fourni de nouvelles données relatives à la résistance aux agents chimiothérapeutiques. Les travaux de Lloyd Law indiquaient que la résistance aux antifoliques résultait d'une mutation et qu'il existait d'autres formes de résistance instables et réversibles³.

Dans la troisième partie du congrès, relative à l'avenir de la chimiothérapie, il fut question des nouvelles directions de recherche, des dangers potentiels et des intérêts autres que thérapeutiques de ce type de traitements.

Tous les médecins souhaitaient tester les nouveaux agents chimiothérapeutiques *in vitro* sur des cellules humaines avant de les utiliser. En 1957, ceci n'était pas possible. Dans certains cas, des cellules de sarcome ou de carcinome avaient pu être cultivées indéfiniment, comme la souche Hela provenant d'un cancer du col de l'utérus, et l'équipe d'Edwin Osgood (1899-1969) dans l'Orégon venait d'obtenir des cultures continues de cellules leucémiques humaines, mais ceci était exceptionnel. En général, ces cellules se différenciaient, se transformaient en fibroblastes ou mouraient. Une autre voie possible était celle de l'hétéro-transplantation, c'est à dire de la greffe de cellules tumorales humaines à l'animal. Helen Toolan, au Sloan-Kettering Institute, avait réussi à greffer quelques cancers épithéliaux et sarcomes mais pas de cancers des organes hématopoïétiques. Georges Mathé, Joseph Burchenal et Jean Bernard avaient fait plus de 100 essais d'hétérogreffes d'hémopathies malignes humaines chez le hamster ou le rat, dont les défenses immunitaires avaient été abaissées par l'irradiation X, la cortisone ou le zymosan ; mais les quelques prises ne duraient que très peu de temps.

Dans un avenir un peu plus lointain, puisqu'aucun laboratoire n'était à l'époque en mesure de cultiver systématiquement des tumeurs humaines fraîchement prélevées chez un malade quelconque, certains médecins, comme Joseph Burchenal, espéraient pouvoir individualiser les traitements en testant au préalable *in vitro* l'effet des différents anti-cancéreux disponibles sur les cellules du patient, par analogie avec la réalisation d'antibiogrammes dans le traitement des maladies infectieuses. D'autres, comme R. Robineaux, de l'Hôpital Saint-Antoine doutaient de l'intérêt de cette méthode ; ce dernier n'était pas sûr qu'il existât une relation entre la sensibilité des cellules *in vitro* et *in vivo*⁴.

La question de la possibilité de pratiquer une chimiothérapie antivirale, au cas où l'étiologie virale du cancer serait avérée, fut également abordée. M. Welsch, de Liège, dit qu'il n'était pas encore possible de détruire ou d'inactiver un virus, une fois l'infection déclenchée. Il fallait pour l'instant se contenter de la sérothérapie et de la vaccinothérapie préventives. P.

¹ Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 161.

² Bichel J., « La culture des tissus comme méthode d'étude de l'activité anti-cancéreuse de produits » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 149-152.

³ Law L., « Résistance des néoplasmes aux agents chimiques », in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 301-320.

⁴ Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p.321-322.

Atanasiu, de l'Institut Pasteur, ajouta que ceci était confirmé par ses expériences sur la leucémie des poules¹.

Les participants confrontèrent en outre leurs définitions de l'agent thérapeutique idéal. Pour A. de Barbieri et Eliane le Breton, de l'Institut Gustave Roussy, il devait être synthétisé à la lumière de la connaissance des mécanismes biochimiques, ce qui leur semblait fort lointain. Pour David Galton, de l'Institut de recherches Chester Beatty à Londres, il pouvait suffire de trouver une molécule capable de combler une déficience et pouvant être donnée à vie. Tous ceux qui prirent la parole pensaient, comme le dirent Marcel Bessis et G. Marinone, qu'une guérison définitive ne pourrait pas être obtenue par la destruction des cellules cancéreuses². Il semble donc que l'espoir de William Dameshek d'isoler une substance détruisant spécifiquement les cellules leucémiques ait été peu partagé. Remarquons que cet espoir impliquait, pour envisager une guérison, que tous les globules blancs d'un organisme leucémique ne soient pas anormaux. Or cette hypothèse était alors invérifiable. Toutefois, Jean Bernard et Georges Mathé venaient de publier un article sur les principes généraux du traitement du cancer et des leucémies dans lequel la spécificité des anti-cancéreux, le « à chaque cancer, son médicament », étaient présentés comme la principale voie de progrès de la chimiothérapie : « cette spécificité - pour imparfaite qu'elle soit - est une des notions les plus fécondes, les plus chargées d'espoir qu'aient dégagées les recherches récentes. »³.

Quelle qu'ait été leur position par rapport aux recherches futures, tous admettaient implicitement l'intérêt immédiat de la chimiothérapie destructive pour prolonger la vie des patients. A ce sujet, les avis divergeaient sur la nécessité de détruire toutes les cellules cancéreuses ou la majeure partie seulement. Cette question fut abordée dans la discussion sur le traitement de la Maladie de Hodgkin. Henri Tagnon (né en 1911), de l'Institut Jules Bordet à Bruxelles, Pierre Denoix et Georges Mathé pensaient qu'il fallait essayer d'éradiquer toutes les cellules tumorales. Jean Bernard, P. Croizat et J. Courtial, le directeur de la Fondation Curie, n'en étaient pas sûrs puisqu'il était possible d'obtenir des rémissions complètes et longues sans que toutes les lésions ait été détruites⁴.

Les dangers génétiques des produits chimiothérapeutiques furent également discutés lors de ce congrès. Des mutations avaient été observées chez l'animal traité par les moutardes azotées. La 6-mercaptopurine pouvait tuer des fœtus de souris à des doses non toxiques pour la mère ou provoquer des malformations congénitales considérables. Il y avait vraisemblablement un risque pour la descendance des leucémiques. Chez l'homme, l'observation de cellules souches des spermatozoïdes de malades traités avait montré des lésions très importantes. Pierre Dustin, de la Faculté de médecine et de pharmacie de Bruxelles, tint les propos les plus alarmistes. Tous les anti-cancéreux connus risquant d'être mutagènes, il considérait que leur utilisation à grande échelle constituait un risque pour l'humanité⁵.

Enfin, il fut question des applications de la chimiothérapie à la recherche. Alexander Haddow, de l'Institut de recherches Chester Beatty à Londres, pensait que les progrès de la chimiothérapie permettaient une meilleure connaissance du cancer en fournissant des

¹ Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 327-334.

² Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 113, p. 323.

³ Bernard J., Mathé G., *Principes généraux de la chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Sem. Hôp. Paris, 33 (37) : 2357-2358, 1957.

⁴ Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 143.

⁵ Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 335.

informations sur les différences biochimiques entre les cellules normales et les cellules cancéreuses. Par ailleurs, la chimiothérapie pouvait peut-être être utilisée, en remplacement de l'irradiation X, pour préparer des greffes de moelle osseuse homologues. L'effet inhibiteur des substances radiomimétiques sur les anticorps, signalé par divers expérimentateurs, avait conduit Georges Mathé à utiliser la tri-éthylène-mélamine et la moutarde azotée à la place de l'irradiation X. Mais ces produits n'avaient pas permis la réalisation d'une greffe¹.

La greffe de moelle osseuse

Au début de l'année 1959, Jean Bernard, Georges Mathé et leurs collaborateurs traitèrent trois enfants leucémiques aigus par l'irradiation et la greffe de moelle osseuse².

La greffe de tissus et d'organes avait déjà une longue histoire. A la fin du dix-neuvième siècle et au début du vingtième, la greffe de tumeurs et la greffe d'organes avaient été abondamment pratiquées chez l'animal, dans le but, respectivement, de disposer de matériel biologique pour l'étude expérimentale du cancer et de mettre au point des techniques chirurgicales de remplacement des organes vitaux défaillants. Ces essais, bien que très disparates, avaient montré que la greffe de cellules, normales ou cancéreuses, ne se heurtait pas à un obstacle pratique mais à un obstacle biologique. Elle n'était possible que lorsque le donneur était le receveur (greffe autologue) ou son jumeau (greffe isologue). Quand le donneur était un autre individu de la même espèce (greffe homologue ou allogénique) ou un individu d'une autre espèce (greffe hétérologue), le greffon était quasi-systématiquement rejeté. Au cours des années 1930 et 1940, les essais de greffe de peau chez l'homme et les études expérimentales firent du rejet de greffe un phénomène à la fois immunitaire et génétique. Du point de vue immunologique, se côtoyaient des théories faisant intervenir respectivement des anticorps et des cellules telles que les lymphocytes. Du point de vue génétique, George Snell développa des lignées de souris congéniques, ne différant les unes de autres que par le rejet de greffes de peau. Il prouva ainsi l'existence de gènes et d'antigènes d'histocompatibilité³. Pour les collaborateurs de Jean Bernard, Jean-Louis Amiel et Tran Ba Loc, ces travaux avaient rendu scientifique la notion d'histocompatibilité : « La notion d'histocompatibilité ne doit plus être cette notion vague et improductive de l'unicité et de la spécificité de tout être vivant, cette idée générale, comme toute idée générale, peut être tenue pour fautive ». Il s'agit d'un « mécanisme biologique complexe mais qui se prête à l'analyse et que l'on peut donc espérer comprendre et contrôler⁴.

Les essais de traitement de la leucémie par irradiation et greffe de moelle osseuse, réalisés dans les années 1950 chez l'animal puis l'homme, résultèrent principalement des travaux sur les radiations ionisantes.

¹ Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 337-338.

² Mathé G., *Transfusion et greffe de cellules hématopoïétiques normales*, *Le sang*, 30 : 747-761, 1959. Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larriou M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwazmann V., Céora B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.*, 4 (7) : 675-704, 1959.

³ Moulin A.M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au Sida*, PUF, Paris, 1991, p. 179-226. Löwy I., *Experimental Systems and Clinical Practices : Tumor Immunology and Cancer Immunotherapy, 1895-1980*, *J. Hist. Biol.*, 27 (3) : 403-435, 1994.

⁴ Amiel J.L., Tran Ba Loc, *La notion d'histocompatibilité*, *Le sang*, 30 : 705-712, 1959.

De la radioprotection à la greffe de moelle osseuse

Les rayons X, découverts en 1895 par Roentgen, et le radium, découvert en 1898 par Marie Curie, se montrèrent rapidement capables de provoquer des destructions de cellules, des cancers et des mutations. Dès 1905, on sut grâce aux travaux de Jean Bergonié et de Louis Tribondeau sur le rat que les cellules les plus sensibles à l'irradiation X étaient les cellules en multiplication active, autrement dit les cellules souches et les cellules cancéreuses¹. La dangerosité pour les êtres vivants des radiations ionisantes ainsi que l'utilisation croissante des radio-éléments comme outils de recherche, de diagnostic et de soin furent à l'origine de la mise en place progressive de trois disciplines complémentaires : la radiobiologie, qui étudie le mode d'action des radiations sur la matière vivante, la radiopathologie, qui étudie les maladies provoquées par l'irradiation, et la radioprotection, qui s'intéresse aux moyens de prévention et de réparation des effets néfastes des radiations ionisantes².

Pendant la seconde guerre mondiale, des chercheurs de l'Université de Chicago furent impliqués dans le projet Manhattan, dont résulta la première bombe atomique. Leon Jacobson (1911-1992) y fut chargé d'étudier les effets biologiques des radiations ionisantes et des radio-isotopes. En 1943, il observa que le strontium 89 pouvait détruire complètement la moelle osseuse des souris mais que l'érythropoïèse pouvait se poursuivre dans la rate de ces animaux. Une fois la guerre terminée, il entreprit l'étude de cette fonction hématopoïétique substitutive de la rate. En 1948, avec Eric Simmons et Matthew Block, il irradiia à dose létale des souris adultes, dont la rate avait été externalisée et protégée par une boîte en plomb, puis séparée de l'organisme quinze minutes plus tard. Les animaux survécurent ; leur moelle et leurs ganglions lymphatiques reprirent une activité hématopoïétique normale. Ils guérirent également des souris irradiées en leur injectant des extraits de foie foetal et d'embryons. Il était donc possible de soigner une souris totalement irradiée à dose létale par l'administration de tissu hématopoïétique autologue frais³. En 1951, Egon Lorenz (1892-1954) et ses collaborateurs, au National Cancer Institute (Bethesda, Maryland), étendirent ces résultats à la greffe de moelle osseuse de cobaye à des souris léthalement irradiées⁴. Des dizaines de laboratoires se lancèrent alors dans la greffe de moelle osseuse ; huit ans plus tard, plus de 300 publications avaient paru sur ce sujet⁵. Ces travaux soulevèrent de nombreuses questions théoriques et pratiques.

Les plus importantes, pour les protagonistes, portaient sur le mécanisme de la restauration de la moelle osseuse. Leon Jacobson avait initialement expliqué la restauration des tissus hématopoïétiques par un facteur humoral d'origine splénique ; il n'imaginait pas alors que des cellules étrangères pussent survivre dans un autre organisme⁶. Ce sont les

¹ Pinell P., *Naissance d'un fléau. Histoire de la lutte contre le cancer en France (1890-1940)*, Editions Métailié, Paris, 1992, p. 64-65.

² articles « radiobiologie » et « radioprotection », Encyclopédie Universalis, 1995.

³ Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1985, p. 318-320. Johnson F., *Marrow transplantation in the treatment of acute childhood leukemia*, Am. J. Pediatr. Hemat. Oncol., 3 (4) : 389-395, 1981. Lichtman M. Ed., *Hematology : landmarks papers of the twentieth century*, Academic Press, 2000, p. 715-717.

⁴ Lorenz E., Uphoff D., Reid T., Shelton E., *Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections*, J. Nat. Cancer Inst., 12 : 197, 1951. N'ayant pas eu accès aux documents suivants, nous ne savons pas si les équipes de Shields Warren et de J. Talbot avaient pratiqué des greffes de moelles homologues : Rekers P., *Transplantation of bone marrow into dogs that have received total body single dose radiation*, Univ. Rochester Atomic En. Project U. R., 11, 1948. Talbot J., Gerstner H., *Bone marrow implants in the treatment of radiation sickness*, U.S.F. School Aviation Med. Project, 21 : 47, 1951.

⁵ Mathé G., *Bibliography of normal hematopoietic (myeloid and lymphoid) cell transplantation*, Transplantation Bull., 6 : 450, 1959.

⁶ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

travaux des équipes de Shields Warren, Charles Congdon, Leonard Cole, Richmond Prehn, Dirk Van Bekkum et John Loutit qui mirent en évidence, vers 1955, l'intervention des cellules du donneur dans le processus de restauration des organes hématopoïétiques et de rétablissement de la fonction immunitaire. Ces équipes travaillaient respectivement au New England Deaconess Hospital (Boston, Massachusetts), au Oak Ridge National Laboratory (Oak Ridge, Tennessee), au Naval Radiologic Laboratory (San Francisco, Californie), à Seattle (Etat de Washington), à l'Institut de radiobiologie de Rijswijk (Pays Bas) et à la Radiobiological Research Unit de Harwell (Berks, Royaume-Uni)¹. L'irradiation rendait donc possible la greffe de tissus entre individus normalement incompatibles. On commença à parler de « greffe » de moelle osseuse et de « radio-chimères »². La preuve de la greffe fut apportée par l'utilisation de méthodes sérologiques, cytochimiques et cytogénétiques : les chercheurs de Harwell disposaient d'une souche de souris présentant une translocation du chromosome 6, F. Tausche et ses collaborateurs utilisèrent des sérums anti-hématies de souris et de rat, les chercheurs de Rijswijk et de San Francisco exploitèrent la différence d'activité phosphatase alcaline des granulocytes de rat et de souris³.

Le caractère cellulaire de la restauration médullaire fut rapidement admis par tous les spécialistes. Tout au plus, certains se demandèrent si des facteurs cellulaires et humoraux ne coexistaient pas. Ce fut le cas de Leon Jacobson ou de J. Weston, de la firme pharmaceutique Parke Davis, qui s'intéressait à la régénération de la moelle osseuse lésée par le busulfan, un produit de synthèse utilisé dans le traitement des leucémies myéloïdes chroniques, et qui pensait que les deux mécanismes intervenaient parce le nombre de cellules observables dans la moelle quatorze jours après l'injection de cellules hématopoïétiques ne semblait pas dépendre de la quantité administrée.

Une fois admise l'implication de cellules vivantes intactes, se posa la question de savoir si la régénération des organes hématopoïétiques résultait d'une repopulation par des cellules de l'hôte ou d'une colonisation par les cellules du donneur. Pour Charles Congdon, en 1957, la greffe était prouvée pour les granulocytes, les globules rouges, les plaquettes et les thymocytes mais n'était pas clairement démontrée pour les lymphocytes⁴. L'année suivante, Jean-François Duplan, de l'Institut du Radium, ne semblait pas douter de la colonisation des tissus hématopoïétiques par les cellules du donneur : « Au cours des trois dernières années, de multiples preuves ont été fournies que les cellules hémopoïétiques, injectées à des animaux irradiés en totalité avec une dose létale de rayons X, se greffent chez le receveur et repeuplent les organes sanguino-formateurs. »⁵. Toutefois, la multiplication des expériences montra que la persistance des cellules du donneur dans l'organisme receveur et leur présence dans les organes hématopoïétiques n'étaient pas systématiques. Contrairement à la transplantation d'organes, la prise ou le rejet de la greffe de cellules étaient difficiles à déterminer. Il en résulta une confusion terminologique à laquelle certains proposèrent de remédier en donnant au mot greffe un sens très précis : « il convient de respecter la terminologie suivante : on utilisera le terme de transfusion de moelle pour désigner l'injection veineuse de celle-ci sans préjuger de son résultat. On dira que la greffe de cette moelle (tissu dont la fonction

¹ Barnes D., Loutit J., *Treatment of murine leukaemia with X-rays homologous bone marrow II*, Brit. J. Haemat., 3 : 241-252, 1957. Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

² Ce terme aurait été introduit par l'équipe de John Loutit en 1956 selon Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, Ann. Intern. Med., 49 (5) : 987-1003, 1958.

³ Mathé G., Bernard J., *Les acquisitions récentes dans le domaine des hétérogreffes de cellules hématopoïétiques normales et de cellules tumorales*, Rev. Hématol., 12 (4) : 529-564, 1957.

⁴ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁵ Duplan J.F., *Diminution de la leucémogénèse spontanée chez les souris AkR irradiées en totalité et greffées avec des cellules hémopoïétiques homologues*, C. R. Acad. Sci., 247 : 662-664, 1958.

essentielle réside dans la production de cellules) « a pris » lorsque l'on pourra démontrer la survie, la maturation et la division des cellules administrées. Rappelons enfin que le terme de transplantation est réservé aux greffes d'organes avec établissement de connexions vasculaires. Il est souhaitable que cesse l'utilisation de ces divers termes en dehors de leur sens exact. »¹.

La deuxième question jugée cruciale était de savoir si l'immunité restaurée était celle de l'hôte ou celle du donneur. Par immunité, on entendait alors la capacité à produire des anticorps et à rejeter des greffes homo- ou hétérologues ; cette immunité était temporairement réduite par l'irradiation totale. Pour Charles Congdon, c'était la réponse immune de l'hôte qui se rétablissait, après avoir été affectée par l'irradiation et avoir ainsi permis la greffe de cellules étrangères. Mais John Loutit et ses collaborateurs, ainsi que John Trentin, de l'Université Baylor à Houston (Texas), pensaient que le système immunitaire du donneur était transplanté par l'intermédiaire de ses cellules.

La réponse à cette question était en fait étroitement liée à l'interprétation d'un nouveau syndrome décrit par différentes équipes dans certains cas d'homogreffes et d'hétéogreffes². Les animaux qui en étaient victimes mouraient, après avoir guéri de l'irradiation léthale, d'une sorte de dépérissement principalement caractérisé par une forte perte de poids et une atrophie des tissus lymphoïdes. Pour l'équipe de John Loutit, ce syndrome traduisait la destruction des cellules de l'hôte par les cellules greffées³. C'était aussi l'opinion de Leon Jacobson. L'explication de Charles Congdon était différente : « Le mécanisme immunitaire de l'hôte peut tôt ou tard, après s'être rétabli, reconnaître les cellules de la moelle étrangère et commencer à réagir contre elles, menant à la mort secondaire ; c'est ce que nous avons appelé la réaction retardée à la moelle osseuse étrangère. ». Il pensait que le délai entre le rétablissement de l'immunité et l'apparition des symptômes était dû à la localisation nucléaire des antigènes d'histocompatibilité. D'autres enfin, comme L. Tocantins, de la Faculté de médecine Jefferson à Philadelphie (Pennsylvanie), considéraient que, chez un animal donné, l'un ou l'autre des deux mécanismes pouvaient l'emporter.

En 1957, ce syndrome avait été décrit chez les rongeurs et chez le singe. Il fut rapidement appelé « maladie secondaire » ou « maladie homologue », avant de devenir la réaction ou maladie du greffon contre l'hôte. Joseph Ferrebee, du Bassett Hospital (Cooperstown, Etat de New York), pensait que le problème trouverait rapidement une solution, soit par la découverte d'un agent chimique inhibant spécifiquement les cellules responsables de l'immunité tardive, soit parce que les travaux des équipes du zoologiste britannique Peter Medawar (né en 1915), de Charles Congdon et d'Eugene Cronkite (né en 1914), au Brookhaven National Laboratory (Upton, Etat de New York), auraient éclairé d'un jour nouveau ce problème immunologique. En attendant, le taux de maladie secondaire était diminué, selon Joseph Ferrebee et Charles Congdon, par l'administration de cellules de foie fœtal au lieu de cellules d'adultes et, pour Charles Congdon et R. Overman, par l'observation d'un délai de un à trois jours entre l'irradiation et la transfusion de cellules hématopoïétiques⁴.

Du point de vue des pratiques, les interrogations portaient, d'une part, sur la dose d'irradiation, d'autre part, sur la voie d'administration, la quantité et le type histologique des cellules injectées. Concernant l'irradiation, trois types d'unités étaient employées dans les publications : le roentgen (r), unité d'exposition, le « rad », unité de dose absorbée et le

¹ Mathé G., Jammet H., Pendic B., Schwarzenberg L., Duplan J.F., Maupin B., Latarjet R., Larrieu M.J., Kalic D., Djukic Z., Vigne J., *Transfusion et greffe de moelle osseuse homologue chez des humains irradiés à haute dose accidentellement*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 226-238, 1959.

² Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

³ Barnes D., Loutit J., *Treatment of murine leukaemia with X-rays homologous bone marrow II*, Brit. J. Haemat., 3 : 241-252, 1957.

⁴ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

« rem », unité d'équivalent de dose. L' « irradiation léthale » correspondait à la « DL100/30 », définie comme la dose d'irradiation tuant 100% des individus d'une population donnée en moins de 30 jours. Dans le cadre du traitement des animaux sains irradiés, il importait de déterminer la dose en dessous de laquelle tous les animaux survivaient sans greffe et la dose au dessus de laquelle la greffe de tissus hématopoïétiques n'était plus efficace, l'atteinte des autres tissus, en particulier du tube digestif, étant irrémédiable. Pour le traitement des animaux leucémiques, nous verrons qu'il s'agissait de déterminer la dose optimale pour l'élimination des cellules leucémiques et la prise de la greffe. Quant aux modalités d'administration des cellules, on admettait en 1957 la supériorité de la voie veineuse et la nécessité d'injecter 1 à 10 millions de cellules vivantes pour obtenir 100% de survie au trentième jour et compenser ainsi l'irradiation léthale. Ceci pour la souris ; pour le singe, la quantité nécessaire était estimée à un milliard de cellules. Enfin, les essais comparatifs utilisant comme source de cellules les ganglions lymphatiques, le thymus, la rate ou la moelle osseuse, indiquaient que cette dernière était plus efficace¹.

Essais de traitement des leucémies animales

Le premier essai de traitement d'une leucémie animale par irradiation et greffe de moelle osseuse génétiquement incompatible fut publié en 1953. Leon Jacobson, Charles Congdon, Joanne Hollcroft et Egon Lorenz irradièrent à dose léthale des souris porteuses de leucémies greffées et de lymphosarcomes puis leur injectèrent des cellules de moelle osseuse de cobaye. Ils n'obtinrent des guérisons que pour les lymphosarcomes².

Trois ans plus tard, John Loutit et ses collaborateurs traitèrent des souris de la souche CBA porteuses de la leucémie greffée 151/1 ou 151/2 par une irradiation de 1500 r suivie de la greffe de cellules hématopoïétiques murines des lignées A, C57Bl, 101 et C3H³. Certains animaux survécurent plus de huit mois alors que ces souris leucémiques succombaient habituellement au bout de deux à trois semaines⁴. L'objectif des chercheurs de Harwell était la guérison de la leucémie alors que, pour d'autres équipes qui réalisèrent des expériences similaires, dont probablement celles de Chicago, la greffe de moelle était testée comme un moyen parmi d'autres de protéger l'hôte lors d'une radiothérapie anticancéreuse⁵. D. Barnes et John Loutit proposèrent deux modèles explicatifs de l'action antileucémique de ce traitement. Le premier modèle supposait que les cellules leucémiques étaient plus sensibles à l'irradiation que les lymphocytes et les cellules médullaires de souris normales. Dans ce cas, l'irradiation léthale pouvait suffire à éliminer la leucémie, et les greffes isologues devaient être plus efficaces que les greffes incompatibles. Le second modèle était basé sur une observation réalisée en 1937 par Jacob Furth et M. Kahn selon laquelle une seule cellule leucémique pouvait être à l'origine d'un lymphome. Ce résultat les invitait à penser que l'irradiation à dose léthale ne faisait probablement que retarder la rechute. La moelle isologue ne devait pas alors

¹ Barnes D., Loutit J., *Treatment of murine leukemia with X-rays and homologous bone marrow II*, Brit. J. Haematol., 3 : 241-246, 1957. Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

² Hollcroft J., Lorenz E., Congdon C., Jacobson L., *Factors influencing the irradiation treatment of experimental lymphoid tumors*, Rev. Mex. Radiol., 7 : 115, 1953 cité par Barnes D., Loutit J., *Treatment of murine leukemia with X-rays and homologous bone marrow II*, Brit. J. Haematol., 3 : 241-246, 1957.

³ Barnes D., Corp M., Loutit J., Neal F., *Treatment of murine leukemia with X-rays and homologous bone marrow*, Brit. Med. J., 2 : 626, 1956.

⁴ Barnes D., Loutit J., *Treatment of murine leukemia with X-rays*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 2 (3) : 186-187, 1957.

⁵ Voir, par exemple, Ambrus J., Ambrus C., Feltz E., Wenner C., *Transplanted neoplasias*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 2 (3) : 184, 1957.

permettre de prolonger la vie des souris leucémiques. Par contre, la moelle homologue pouvait produire une réaction immunitaire capable de détruire les cellules leucémiques de l'hôte, réaction qui devait être encore plus forte si les cellules transplantées provenaient de donneurs pré-immunisés contre les tissus leucémiques. Ils réalisèrent trois séries d'expériences visant à tester ces deux modèles.

Pour l'irradiation, ils utilisèrent une boîte en aluminium pouvant accueillir cinq souris, posée sur une plateforme placée sur un tube à rayons X. Un dosimètre permettait de connaître la dose d'exposition. Le voltage et l'intensité du courant alimentant le tube à rayons X étaient réglés de manière à produire une irradiation de 950 r. Précédemment, cette dose était 100% létale pour leurs souris CBA. Mais avant cette nouvelle série d'expériences, ils avaient resélectionné leur lignée, de manière à éliminer des ectoparasites, et quelques souris témoins survécurent. De ce fait, ils estimèrent avoir irradiés les animaux à la DL98.

Les souris CBA reçurent un million de cellules de ganglion leucémique et furent irradiées sept jours plus tard. Elles reçurent ensuite des cellules de moelle osseuse, de rate ou de ganglion de souris adultes CBA, C57, A, T6 ou C3H. Chaque expérience porta sur 30 à 50 souris réparties en groupes de 5 subissant exactement le même traitement. Ils notèrent le temps de survie de chaque animal et cherchèrent à déterminer la cause de sa mort. Lorsque l'étude anatomique et cytologique ne permettait pas de diagnostiquer avec certitude une leucémie, ils réalisaient des coupes histologiques. Mais les moelles hyperplasiques étaient difficiles à interpréter : fallait-il attribuer l'immaturité des cellules à la régénération de la moelle ou à la leucémie ? Ils décidèrent de réserver le diagnostic de leucémie aux cas d'« invasion manifeste » par des leucoblastes, bien visible au niveau des fibres musculaires du sternum, de la gaine périnéphrique ou de la capsule ganglionnaire. Dans les cas où la leucémie n'était pas évidente, c'est à dire lorsque les souris étaient mortes soit en bon état apparent soit de dépérissement, ils injectèrent des extraits de rate de ces animaux à des souris CBA saines, afin d'y rechercher ultérieurement des signes de leucémie.

La greffe isologue se montra insuffisante pour éradiquer la maladie ; les animaux moururent au bout d'environ un mois avec, pour la plupart, des signes évidents de leucémie. Les souris restaurées par de la moelle homologue survécurent plus longtemps mais dépérissent sans aucun signe de leucémie. Ceci suggérait « la destruction des cellules leucémiques résiduelles par l'homogreffon » et semblait donc valider le second modèle¹.

L'année suivante, une équipe de chercheurs danois, Jean-François Duplan, ainsi que Jean Bernard et Georges Mathé publièrent leurs résultats dans ce domaine².

Jean Bernard et Georges Mathé entreprirent de traiter des souris leucémiques par irradiation et greffe de moelle osseuse homologue car, pensaient-ils, l'irradiation lésait les cellules leucémiques et « conditionnait » le receveur pour la greffe, c'est à dire qu'elle en permettait la prise, et parce que la greffe réparait les effets de l'irradiation et avait un effet antileucémique lorsqu'elle était incompatible³.

Ils traitèrent d'abord des souris Ak atteintes de leucémie spontanée très avancée. Le diagnostic de l'affection fut porté par le palper d'adénopathies ou de splénomégalie ou par la

¹ Barnes D., Loutit J., *Treatment of murine leukemia with X-rays and homologous bone marrow II*, Br. J. Haematol., 3 : 241-246, 1957.

² Simonsen M., Engelbreth-Holm J., Jensen E., Poulsen H., *Treatment of mouse leukemia with heavy X-irradiation followed by spleen transplantation*, 7^{ième} Congrès international du cancer, Londres, 1958. Duplan J.F., *Diminution de la leucémogénèse spontanée chez les souris AKR irradiées en totalité et greffées avec des cellules hématopoïétiques homologues*, C.R. Acad. Sci., 247 : 662-664, 1958. Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement par l'irradiation X suivie de greffe de cellules myéloïdes homologues de souris AK atteintes de leucémie spontanée très avancée*, Bull. Cancer, 45 : 289-300, 1958.

³ Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement de la leucémie expérimentale par greffe de cellules hématopoïétiques normales*, Le sang, 30 : 789-801, 1959.

constatation de la présence d'un gros thymus sur le cliché radiographique du thorax. Une fois le diagnostic porté, les animaux subirent une irradiation X à différentes doses. Dans les 24 heures suivant l'irradiation, ils reçurent dix millions de cellules myéloïdes provenant soit de la moelle de souris C3H ou C57Bl6, soit de cellules hépatiques embryonnaires de ces lignées¹. Dans le cas de la transfusion de cellules C57Bl6, la preuve de la greffe fut fournie par l'étude électrophorétique de l'hémoglobine, réalisée en collaboration avec le Laboratoire de biochimie de l'Hôpital Necker. L'hémoglobine de la lignée C57Bl6 migrerait différemment de celle des autres lignées². Toutes les souris irradiées et homogreffées moururent rapidement de maladie secondaire ; au delà du trentième jour, le pourcentage de survie était faible, que les souris aient reçu des cellules adultes ou embryonnaires. Celles qui échappèrent à la maladie homologue moururent presque toutes de leucémie³.

Ils utilisèrent ensuite des souris porteuses de la leucémie L1210, initialement induite par le méthylcholanthrène sur une souris DBA2 et propagée par greffe sur des souris DBA2 ou des hybrides DBA2xC57Bl6. Des hybrides furent soumis à une irradiation totale de 850 r quatre heures après l'injection de cellules leucémiques DBA2. Deux heures après l'irradiation, les animaux reçurent dix millions de cellules hématopoïétiques hybrides ou C57Bl6, lymphoïdes ou myéloïdes, adultes ou embryonnaires⁴.

La greffe de cellules médullaires homologues se montra plus efficace que celle de cellules isologues. L'hypothèse d'une action antileucémique des cellules greffées fut ainsi confirmée. D'autre part, l'action antileucémique de la greffe se montra plus efficace lorsqu'un petit nombre de cellules homologues était injecté. Cependant, tous les animaux qui n'étaient pas morts de leucémie furent tués par le syndrome secondaire. De plus, alors que les expériences de John Loutit, de Delta Uphoff au National Cancer Institute (Bethesda, Maryland) et de Jean-François Duplan indiquaient que la greffe de cellules myéloïdes embryonnaires homologues évitait l'apparition d'un syndrome secondaire, le travail de Jean Bernard et Georges Mathé montrait, comme celui de John Trentin à l'Université Baylor (Houston, Texas), que cela n'était pas vrai pour toutes les combinaisons d'histocompatibilité. Ils montrèrent également, comme les chercheurs hollandais, que les cellules lymphoïdes homologues avaient un effet antileucémique plus marqué que les cellules médullaires et que la maladie secondaire était dans ce cas plus aiguë. Enfin, la greffe de cellules C57Bl6 n'eut, chez les hybrides non irradiés, aucun effet sur les cellules leucémiques DBA2, d'où l'idée que l'effet anti-leucémique de la greffe homologue nécessitait pour s'exercer que les cellules leucémiques soit lésées ou peu nombreuses, du fait de l'irradiation.

Une troisième série d'expériences porta sur des souris Ak à leucémie spontanée peu avancée. Le diagnostic de la leucémie étant alors impossible, les souris furent systématiquement traitées à l'âge de six mois. A cet âge, les témoins sacrifiés montraient un pourcentage élevé de leucémies peu ou modérément développées. Les souris furent irradiées à 750 r soit 90% de la dose létale. Cette expérience commencée en 1957 montrait, deux ans plus tard, un pourcentage élevé d'animaux non leucémiques mais la plupart étaient morts de la maladie homologue entre 20 et 120 jours après le traitement, que celui-ci ait été effectué avec

¹ Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement par l'irradiation X suivie de l'administration de cellules médullaires homologues de souris Ak atteintes de leucémie spontanée très avancée*, Bull. Cancer, 45 (3) : 289-300, 1958.

² Rosa J., Shapira G., Dreyfus J.C., De Grouchy J., Mathé G., Bernard J., *Different heterogeneity of mouse haemoglobin according to strains*, Nature, 182 : 947, 1958.

³ Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement de la leucémie expérimentale par greffe de cellules hématopoïétiques normales*, Le sang, 30 : 789-801, 1959.

⁴ Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement de la leucémie greffée L1210 par l'irradiation X suivie de transfusion de cellules hématopoïétiques normales (isologues ou homologues, lymphoïdes ou myéloïdes, adultes ou embryonnaires)*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 (5) : 442-446, 1959.

des cellules adultes ou embryonnaires¹. Ces résultats étaient à la fois décevants et encourageants, décevants parce que le traitement réduisait la durée de vie des animaux mais encourageants parce qu'il était possible d'éliminer la leucémie. Le principal problème à résoudre était désormais celui de la prévention ou du traitement de la maladie secondaire.

Les expériences de Jean Bernard et de Georges Mathé différaient de celles de l'équipe de John Loutit principalement par la dose d'irradiation et le type de leucémie expérimentale. Entre les travaux des deux groupes, l'équipe de Joseph Burchenal avait étudié la dose d'irradiation nécessaire à la « stérilisation » *in vivo* de différentes leucémies murines. Les souris leucémiques avaient été irradiées à différentes doses, sacrifiées 2 à 24 heures après et leurs cellules leucémiques avaient été injectées à des animaux sains de la même lignée. Cette étude avait montré que les cellules leucémiques ne pouvaient être détruites avec certitude que pour des doses allant de 2500 à plus de 3000 r, doses pour lesquelles aucun type de greffe de moelle ne pouvait permettre la survie des animaux sains ou malades². Puisqu'il était confirmé que l'irradiation seule n'avait pas un effet anti-leucémique suffisant pour éliminer définitivement la maladie, il n'était pas nécessaire d'irradier les animaux le plus fortement possible. C'est probablement pour cette raison que Jean Bernard et Georges Mathé utilisèrent la DL90 et non une DL100. D'autant plus, que dans la perspective d'une application clinique, il n'était pas envisageable de pratiquer sur le patient une irradiation très forte qui risquait de s'avérer irréparable. Leur souci de la transposition à l'homme apparaissait également dans le choix des modèles murins. Les résultats obtenus avec L1210 ou d'autres leucémies greffées ne leur semblaient pas suffisants parce que les leucémies humaines étaient spontanées ou induites, et parce que les travaux de chimiothérapie avaient montré, disaient-ils, de grandes différences de comportement entre les leucémies greffées et les leucémies spontanées ou induites³.

Essais de traitement de la leucémie humaine

Les tentatives américaines

En 1957 et 1958, une dizaine de groupes traitèrent des patients leucémiques par irradiation totale et greffe de moelle autologue, isologue ou, le plus souvent, homologue. Parallèlement, ce type de traitement fut aussi utilisé chez l'homme dans d'autres situations pathologiques, telles que certaines anémies⁴, des tumeurs solides métastasées⁵, des irradiations accidentelles⁶ et au moins une greffe de rein¹.

¹ Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement de la leucémie expérimentale par greffe de cellules hématopoïétiques normales*, *Le sang*, 30 : 789-801, 1959.

² Burchenal J., Hemphill S., Holmberg E., Wiegand L., *Sterilizing effects in vivo of large single doses of X-ray on a spectrum of mouse leukemias*, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 2 (4) : 284-285, 1958.

³ Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement de la leucémie expérimentale par greffe de cellules hématopoïétiques normales*, *Le sang*, 30 : 789-801, 1959.

⁴ Travaux du groupe de William Dameshek rapportés par le docteur McFarland, *Bone marrow transplantation conference*, *Blood*, 13 (3) : 288-301, 1958. Humble J., Newton K., *Technique of human bone marrow transplants*, *Lancet*, 1 : 142, 1958.

⁵ Long Beach Veterans Administration Hospital (Los Angeles, Californie) voir Kurnig N., Montano A., Gerdes J., Feder B., *Preliminary observations on the treatment of post-irradiation hematopoietic depression by the infusion of stored autogenous bone marrow*, *Ann. Int. Med.*, 49 : 973, 1958.

⁶ Mathé G., Jammet H., Pendic B., Schwarzenberg L., Duplan J.F., Maupin B., Latarjet R., Larrieu M.J., Kalic D., Djukic Z., Vigne J., *Transfusion et greffe de moelle osseuse homologue chez des humains irradiés à haute dose accidentellement*, *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.*, 4 : 226-238, 1959.

Sous la direction du docteur Tocantins, au Jefferson Hospital de Philadelphie (Pennsylvanie), 16 leucémiques aigus avaient eu accès au traitement en mars 1958, dont au moins une dizaine au cours de l'année précédente. Ils n'observèrent ni réaction immédiate ni retardée. Le cas d'une fillette, chez qui le traitement avait provoqué une remarquable amélioration clinique en 24 heures et une rémission au bout de deux semaines, fut fortement médiatisé. Mais la rémission fut de courte durée. Tous les cas furent considérés comme des échecs, à l'exception de celui d'une leucémique de 16 ans qui eut une rémission complète, médullaire et clinique, de six mois. On lui avait injecté de la moelle osseuse de sa jumelle homozygote après irradiation et elle fut traitée aux corticostéroïdes avant et après la greffe².

E. Donnall Thomas (né en 1920) et Joseph Ferrebee, au Mary Imogene Bassett Hospital de Cooperstown (Etat de New York), traitèrent au moins six patients dont trois leucémiques. La technique d'agglutination d'Ashby montra que les globules rouges du donneur, lesquels différaient de ceux de l'hôte par des antigènes mineurs, constituèrent jusqu'à 50% des érythrocytes circulant d'un des patients et que ceux-ci furent présents dans son sang pendant trois semaines. L'échec de la greffe fut attribué à une insuffisance des doses d'irradiation utilisées. Ils augmentèrent progressivement les doses, de 200 jusqu'à 600 r, et un an plus tard, ils firent état de l'absence d'effet pathogène apparent de ce traitement et de la survenue, dans certains cas, de « rémissions de degré et de durée significatives », et dans d'autres cas, de bénéfices temporaires³.

A Oak Ridge, Gould Andrews et ses collègues traitèrent en 1957 au moins deux enfants atteints de leucémie aiguë. Le premier reçut de la moelle de ses parents et de deux autres donneurs. Il connut une amélioration de cinq semaines, avec un sang non leucémique et une moelle à cellularité normale, puis son état s'aggrava⁴. Un deuxième enfant leucémique, en rechute après un traitement par la cortisone, fut soumis à la même thérapeutique. La baisse du taux sanguin de leucocytes, consécutive à l'irradiation et accompagnée d'un excès d'acide urique dans le sang, fut très mal supportée par le patient. Il reçut, 48 heures plus tard, de nombreuses transfusions et de la moelle de sa mère qui avait le même groupe sanguin que lui, à l'exception d'un antigène mineur. Le sang de l'enfant contient pendant plusieurs mois des cellules du donneur⁵.

En décembre 1957, l'équipe de Carl Moore, au Barnes Hospital⁶ de St Louis (Missouri), traita une femme de 34 ans souffrant de leucémie aiguë. Elle reçut, outre de la prednisone, une irradiation totale de 400 r et, le lendemain, de la moelle osseuse d'une donneuse dont le groupe sanguin ne différait que par un antigène faible. La patiente connut

¹ Travaux de J.P. Merrill à Boston évoqués dans Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, Ann. Intern. Med., 49 (5) : 987-1003, 1958.

² *Bone marrow transplantation conference*, Blood, 13 (3) : 288-301, 1958. Reinhard E., Brittingham T., Holtz S., Harrington W., Moore C., Chaplin, Loeb V., Lessner H., *Total body Radiation in Acute Monocytic Leukemia*, Am. J. Med., 25 : 430-441, 1958. Atkinson J., Mahonet F., Schwartz I., Hesch J., *Therapy of acute leukemia by whole-body irradiation and bone marrow transplantation from an identical twin*, Blood, 14 : 228, 1959.

³ Thomas E., Lochte H., Lu W., Ferrebee J., *Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy*, New Engl. J. Med., 257 : 401, 1957. Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, Ann. Int. Med., 49 (5) : 987-1003, 1958. Thomas D., Lochte H., Cannon J., Sahler O., Ferrebee J., *The treatment of acute leukemia by supra-lethal whole-body irradiation and isologous marrow transplantation*, J. Clin. Investig., oct. 1959. Thomas D., Lochte H., Ferrebee J., *Irradiation of the entire body and marrow transplantation : some observations and comments*, Blood, 14 : 1, 1959.

⁴ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁵ *Bone marrow transplantation conference*, Blood, 13 (3) : 288-301, 1958.

⁶ Cet hôpital fusionna en 1996 avec le Jewish Hospital pour former le Barnes Jewish Hospital.

une amélioration de son état général pendant 9 jours puis une dégradation rapide. Elle décéda le vingtième jour d'infection et d'hémorragies¹.

En 1958, Joseph McGovern et ses collaborateurs de la Faculté de médecine de Harvard et du Massachusetts General Hospital traitèrent, quant à eux, trois enfants atteints de leucémie aiguë par une irradiation totale de 570 à 600 r suivie d'une greffe de moelle autologue prélevée en période de rémission et congelée. Dans deux cas, les tissus hématopoïétiques ne furent pas restaurés ; une greffe homologue fut alors tentée avec des cellules paternelles pour l'un, des cellules de cadavre pour l'autre, mais sans succès. Le troisième enfant connut à partir du trente-cinquième jour après l'irradiation une rémission clinique et hématologique qui dura au moins deux mois².

Enfin, une équipe canadienne irradiia à 683 r un leucémique avant de lui administrer de la moelle homologue mais il décéda cinq jours plus tard³.

Dès 1957, plusieurs réunions furent organisées au sujet de ces premiers essais, en clinique humaine, d'irradiation suivie de greffe de moelle osseuse. Les discussions portèrent principalement sur l'approvisionnement en cellules, les techniques d'irradiation et, bien évidemment, la valeur des résultats.

Plusieurs sources de moelle osseuse avaient été envisagées. L'équipe de Cooperstown, en collaboration avec le Peter Brent Brigham Hospital, le Massachusetts General Hospital, la Children's Cancer Research Foundation, et la maternité (« Lying In ») de Boston, ainsi que les groupes d'Oak Ridge et de Philadelphie, s'étaient particulièrement intéressés à la moelle extraite de cadavres, adultes et fœtaux. Les os des cadavres étaient prélevés en conditions stériles et fractionnés de manière à en extraire la moelle⁴. L'équipe de William Dameshek à Boston, et le docteur Bierman, de Santa Barbara, avaient utilisé de la moelle de donneurs prélevée par aspiration dans les os à l'aide d'une aiguille⁵. L'équipe de Philadelphie, quant à elle, avait eu recours à des côtes prélevées sur des patients à moelle hyperplasique ou des cadavres ; le service de chirurgie thoracique pouvait leur procurer 10 à 15 côtes par semaine. Tocantins jugeait cette méthode préférable parce que la plupart des expériences réalisées chez l'animal avaient été faites avec de la moelle extraite d'os préalablement isolés. Il craignait qu'avec l'aspiration de moelle, qui recueillait aussi un peu de sang, les effets ne fussent pas les mêmes⁶. De plus, il pensait que les cellules stromales de la moelle osseuse pouvaient être d'importants précurseurs⁷.

Ces différentes procédures de collecte de la moelle ne fournissaient pas les mêmes quantités de cellules. Le nombre de cellules nucléées à injecter chez l'homme était, selon les auteurs, compris entre 2 et 40 milliards. Cette évaluation s'appuyait sur les essais menés chez les rongeurs et le singe et reposait, semble-t-il, sur l'existence d'une proportionnalité entre le nombre de cellules nécessaires et la masse corporelle. Un cadavre d'adulte fournissait 40 à 50 milliards de cellules, une biopsie ou une côte un à quatre milliards et un fœtus un milliard

¹ Reinhard E., Brittingham T., Holtz S., Harrington W., Moore C., Chaplin, Loeb V., Lessner H., *Total body Radiation in Acute Monocytic Leukemia*, Am. J. Med., 25 : 430-441, 1958.

² McGovern J., Russel P., Atkins L., Webster E., *Treatment of terminal leukemic relapse by total-body irradiation and intravenous infusion of stored autologous bone marrow obtained during remission*, New England J. Med., 260 : 675, 1959.

³ Meighan S., Bean H., *Attempted homotransplantation of bone marrow in patient with leukemia*, Canad. M. A. J., 78 : 859-862, 1958 cité par McGovern J., Russel P., Atkins L., Webster E., *Treatment of terminal leukemic relapse by total-body irradiation and intravenous infusion of stored autologous bone marrow obtained during remission*, New England J. Med., 260 : 675, 1959.

⁴ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁵ *Bone marrow transplantation conference*, Blood, 13 (3) : 288-301, 1958.

⁶ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁷ Reinhard E., Brittingham T., Holtz S., Harrington W., Moore C., Chaplin, Loeb V., Lessner H., *Total body Radiation in Acute Monocytic Leukemia*, Am. J. Med., 25 : 430-441, 1958.

environ. Concernant les donneurs, l'aspiration semblait plus facile car, comme le disait Donnall Thomas, « il est difficile d'obtenir plus d'une côte sans que le patient ne se plaigne ». Les cadavres donnaient de plus grandes quantités de cellules, mais les conditions de stérilité étaient contraignantes et le décès devait remonter à moins de deux heures pour que les cellules fussent viables. Les interventions ne pouvant donc pas être planifiées, ces cellules devaient être conservées au moins 24 heures, le temps de préparer le receveur.

Le docteur Billen, disait Charles Congdon du Oak Ridge National Laboratory (Tennessee), avait traité des souris irradiées à la DL100 avec de la moelle osseuse cultivée et avait montré que cela fonctionnait à condition que la culture ait duré moins de 24 heures. Joseph Ferrebee avait obtenu les mêmes résultats mais il venait de lire que Howard Bierman à Boston avait observé la transformation maligne de cultures de moelle osseuse humaine normale ; il jugeait donc préférable de ne pas tenter l'expérience chez l'homme¹.

Plusieurs équipes avaient montré que la moelle pouvait être préservée dans du glycérol à -80°C à condition que le refroidissement ait été lent entre +5 et -15°C². Mais les avis étaient partagés quant à l'efficacité de la moelle conservée³. Plusieurs tests de viabilité des cellules *in vitro* avaient été étudiés. D'après Donnall Thomas, la consommation d'oxygène et la production d'acide s'étaient montrées peu utiles. James Tullis, à Boston, avait étudié la motilité et la phagocytose des leucocytes mais ces propriétés appartenaient aux cellules adultes et non aux cellules souches. La mesure de la synthèse d'ADN était jugée plus pertinente : elle était correcte pendant les six premières heures suivant le décès du donneur ainsi qu'après la congélation. C'était un bon test, selon Eugene Cronkite du Brookhaven National Laboratory (Upton, Etat de New York), d'autant plus que la synthèse récente de thymidine tritiée par son collègue, Hughes, permettait une étude par autoradiographie plus simple que les techniques chimiques. Il pensait aussi que l'utilisation de formate, de glycine ou de monoacides marqués au carbone 14 devait apporter des informations utiles. Mais avec les quantités nécessaires pour l'autoradiographie, l'irradiation des cellules risquait de perturber leur fonctionnement ; il faudrait attendre des activités plus faibles ou en rester aux dosages chimiques. Pour Donnall Thomas, il n'existait pas encore vraiment de moyen de savoir si les cellules étaient bien vivantes mais cela ne remettait en pas en cause l'utilité de la Banque de moelle qui était en train de se constituer à Boston⁴.

A St Louis, par contre, les médecins doutaient de l'intérêt d'une telle banque mais pour une autre raison : le problème de la compatibilité. Toutes les équipes recherchaient en effet que le sang des donneurs ne diffère de celui du receveur que par un minimum d'antigènes mineurs et il était jugé préférable, pour limiter au maximum les risques de rejet, de faire appel à un unique volontaire⁵.

Concernant l'irradiation, le débat portait sur la dose optimale et sur l'appareillage. Lors des premiers essais, les doses administrées varièrent entre 40 et 1200 r, se situant généralement entre 200 et 600 r. Les rechutes aussi bien que les travaux expérimentaux du groupe de Joseph Burchenal sur la stérilisation de la leucémie par les rayons X suggéraient que ces doses étaient insuffisantes et qu'il fallait s'approcher au plus près de la dose d'irradiation maximale. Celle-ci pouvait être augmentée par l'utilisation d'agents radioprotecteurs préventifs tels que l'AET mais cela n'avait pas grand intérêt, étant donné que

¹ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

² Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958. *Bone marrow transplantation conference*, Blood, 13 (3) : 288-301, 1958.

³ Reinhard E., Brittingham T., Holtz S., Harrington W., Moore C., Chaplin, Loeb V., Lessner H., *Total body Radiation in Acute Monocytic Leukemia*, Am. J. Med., 25 : 430-441, 1958.

⁴ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁵ Reinhard E., Brittingham T., Holtz S., Harrington W., Moore C., Chaplin, Loeb V., Lessner H., *Total body Radiation in Acute Monocytic Leukemia*, Am. J. Med., 25 : 430-441, 1958.

ces agents protégeaient autant si ce n'est plus les cellules leucémiques que les cellules supposées saines. Le fait que la dose reçue ne soit pas alors connue avec précision ne simplifiait pas la situation¹.

Un autre problème tenait au fait que les installations disponibles, prévues pour de la radiothérapie localisée (généralement une machine à rayons X de 250 kV), n'étaient pas adaptées pour une irradiation totale homogène. Une leucémique de 16 ans, traitée par l'équipe de Cooperstown, fut irradiée par sections en quatre fois. Cette technique limitait fortement les doses administrées puisque les zones frontalières étaient irradiées deux fois. Une autre patiente, à Philadelphie, fut emballée dans du riz et mise en rotation de manière à être uniformément irradiée². A Oak Ridge, Gould Andrews traita un enfant atteint de leucémie lymphoïde aiguë par une irradiation au cobalt de 200 r pendant 6 heures. Seul un enfant pouvait entrer dans le champ du rayon mais l'irradiation ne fut pas homogène : il reçut 190 r à la poitrine et 1300 r au milieu du dos³. L'équipe de St Louis utilisa un béatatron. Contrairement aux machines à rayons X traditionnelles, qui avaient un maximum d'effet près de la surface et dont les rayons étaient davantage absorbés par les os que la graisse ou le muscle et se dispersaient dans tous les sens, le béatatron avait un effet maximum à 4 cm de la surface et émettait un rayonnement X unidirectionnel de haute énergie (9 GeV) dont l'absorption par les différents tissus était homogène⁴. A la fin de l'année 1958, les médecins de Cooperstown projetaient d'installer un équipement permettant une irradiation lente et homogène du corps humain entier. L'administration de faibles doses pendant longtemps, qui étalait dans le temps la destruction des cellules sanguines, était mieux supportée par les patients. Cette installation comprenait deux unités de production de photons de haute énergie à partir de cobalt 60 placées de part et d'autre d'un lit, le tout entouré d'épais murs de béton⁵.

Lors des premières réunions consacrées à la greffe de moelle osseuse, la pertinence de son application à l'homme fut également discutée. Les pathologies concernées étaient, pour tous les spécialistes, les irradiations accidentelles, les anémies par aplasie, les leucémies et éventuellement des tumeurs pour lesquelles l'autogreffe pourrait compléter le traitement local. En mai 1957, Eugene Cronkite et Leon Jacobson appelèrent à poursuivre les études chez l'animal avant de continuer à traiter l'homme. Tant que les conditions optimales de traitement ne seraient pas connues avec précision et tant que les aspects fondamentaux du problème immunitaire ne seraient pas compris, ils jugeaient prématuré de faire courir au patients un double risque, celui de décès par aplasie en cas de non restauration de la moelle et celui de la maladie secondaire en cas de prise de la greffe⁶.

Bien que personne ne s'attendit à des miracles, puisque le résumé de la conférence présidée par Shields Warren et William Dameshek en octobre 1957 qualifiait de douteux le succès de la méthode dans les leucémies, certains jugeaient le passage à l'homme nécessaire au perfectionnement de ce type de traitement⁷. Telle était la position de Joseph Ferrebee et de

¹ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, *Blood*, 13 (3) : 266-288, 1958. *Bone marrow transplantation conference*, *Blood*, 13 (3) : 288-301, 1958. Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, *Ann. Int. Med.*, 49 (5) : 987-1003, 1958. Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwaezmann V., Céora B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.*, 4 : 675-704, 1959.

² *Bone marrow transplantation conference*, *Blood*, 13 (3) : 288-301, 1958.

³ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, *Blood*, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁴ Reinhard E., Brittingham T., Holtz S., Harrington W., Moore C., Chaplin, Loeb V., Lessner H., *Total body Radiation in Acute Monocytic Leukemia*, *Am. J. Med.*, 25 : 430-441, 1958.

⁵ Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, *Ann. Int. Med.*, 49 (5) : 987-1003, 1958.

⁶ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, *Blood*, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁷ *Bone marrow transplantation conference*, *Blood*, 13 (3) : 288-301, 1958.

Donnall Thomas, du Bassett Hospital (Cooperstown, Etat de New York), pour qui les espoirs l'emportaient sur les dangers et la poursuite de l'expérimentation animale ne faisait que repousser la prise de risques. Non seulement, pensaient-ils, ces pratiques pourraient bénéficier aux insuffisants médullaires présents et futurs : « à présent ils meurent, et les risques paraissent justifiables », mais elles pourraient, à « l'âge atomique », être utiles à n'importe quel être humain : « en les aidant, nous nous outillerons contre la catastrophe atomique de demain ».

Par ailleurs, ces deux médecins pensaient que davantage de données expérimentales ne les aideraient pas forcément : « la variabilité des espèces est bien connue en biologie des radiations. ». La notion de spécificité des espèces et même des individus avait probablement plus de poids qu'aujourd'hui, en particulier chez les médecins qui s'étaient longtemps attachés à la personne, au « terrain » alors que les biologistes s'intéressaient davantage à l'unicité du vivant, depuis l'acceptation de la théorie cellulaire et de la théorie de l'évolution. De fait, dans les leucémies animales, les aspects cliniques, cytologiques et étiologiques étaient fortement variables d'une espèce à l'autre. De plus, selon Joseph Ferrebee et Donnall Thomas, la réaction secondaire à la greffe était alors moins fréquente chez le singe que chez les rongeurs et ne s'était pas manifestée chez l'homme. Donnall Thomas disait qu'un traitement devait être adapté à chaque individu et à chaque maladie. C'est également parce qu'ils espéraient que cela se passe mieux chez l'homme que chez l'animal que des chirurgiens pratiquèrent, à la même époque, les premières greffes de rein humain. On retrouve cette idée dans les propos de Joseph Ferrebee : « Je suis certain que si l'on commence à irradier des patients atteints de leucémie ou d'autres états pathologiques, on observera des choses étranges et merveilleuses, et je crois que nous devons procéder avec prudence mais qu'il faut agir. »¹.

A la fin de l'année 1958, Donnall Thomas fit valoir un autre argument : « un ensemble croissant de preuves suggèrent que ces transfusions bénéficient aux receveurs qui, dans la plupart des cas, ont été des individus traités pour des dyscrasies sanguines. Il est ainsi devenu évident que ce domaine de traitement, principalement celui du remplacement de la moelle, peut être exploré dans des circonstances avantageuses pour l'individu étudié. Cette préoccupation fondamentale de l'intérêt et du bien-être du patient est importante pour la médecine américaine, et sa présence et sa garantie sont ici fort opportunes ». Il se référait au cas d'une leucémie aiguë de 16 ans qui, disait-il, se déclara satisfaite de son état pendant trois mois et retourna à l'école. Toutefois, les améliorations étaient sinon rares du moins de courte durée².

A Paris, le passage à l'homme résulta d'une expérience pratique de la greffe de moelle osseuse homologue, à la suite d'une irradiation totale accidentelle, et de l'encouragement opéré par les essais de transplantation rénales pratiqués par une dizaine de centres dans le monde depuis 1951³. En France, en 1952, la greffe d'un rein d'une mère à son fils, dont le rein unique avait été détruit par accident, réalisée par le groupe de Jean Hamburger à l'hôpital Necker, fonctionna plus de trois semaines, ce qui était alors relativement long pour une homogreffe⁴. Jean Bernard connaissait bien Jean Hamburger ; en 1947, ils avaient créé, avec René Fauvert, l'Association pour la recherche médicale, devenue en 1962 la Fondation pour la recherche

¹ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

² Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, Ann. Int. Med., 49 (5) : 987-1003, 1958.

³ Moulin A.M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au Sida*, PUF, Paris, 1991, p. 184.

⁴ Delfraissy J.F., *Transplantation d'organes*, Encyclopædia Universalis, 1998.

médicale¹. De plus, Georges Mathé participa, avec l'équipe chirurgicale de R. Kuss, à des essais de greffe de rein après irradiation totale².

L'accident de Vinca

Le 15 octobre 1958, six physiciens du Centre d'études nucléaires de Vinca, en Yougoslavie, furent irradiés accidentellement par des rayons gamma et des neutrons. Ils furent hospitalisés le lendemain dans le Service de radiopathologie de la Fondation Curie et pris en charge par des médecins de l'Hôpital Curie, de l'Hôpital Hérold et du Centre de Transfusion-Réanimation de l'Armée, avec l'aide de médecins yougoslaves. D'autres équipes contribuèrent à certains examens ou traitements : le Laboratoire de radiotoxicologie du Commissariat à l'énergie atomique à Saclay, l'Hôpital Saint-Antoine, le Centre national de la transfusion sanguine et l'Hôpital de la Salpêtrière. Les blessés furent placés dans des conditions d'asepsie et d'antisepsie rigoureuses et reçurent des vitamines, des extraits cortico-surrénaux et hépatiques, certains acides aminés, des antibiotiques, des gamma-globulines ainsi que des transfusions de sang éventuellement enrichies en cellules. Ceci permit à cinq d'entre eux de survivre dans des conditions satisfaisantes.

La décision de la greffe, par analogie avec les études expérimentales, dépendait des doses d'irradiation reçues. Or, les détecteurs individuels portés par les accidentés étaient saturés ; ils ne purent fournir aucun renseignement. Une étude dosimétrique fut donc entreprise. Des mesures physiques, réalisés sur place et portant sur les métaux irradiés, permirent de connaître l'intensité du rayonnement gamma. L'importance du bombardement de neutrons fut déduite de mesures spectrométriques de la quantité de sodium 24 formé dans l'organisme. D'après ces calculs, la dose totale reçue par chaque personne allait de 400 à 1000 rem. Ils avaient donc *a priori* affaire à une irradiation subléthale, quatre irradiations léthales et une irradiation supraléthale. Ce point fut confirmé par les études cliniques.

La symptomatologie se montra en effet conforme au syndrome d'irradiation totale aiguë décrit précédemment chez l'homme dans quatre cas indépendants d'irradiation accidentelle. Ce syndrome débuta par une phase de choc radiologique associant fatigue, dépression, troubles digestifs, paresthésies (fourmillements, picotements des extrémités) des membres supérieurs et sudation. S'installa ensuite une période de latence de deux à trois semaines au cours de laquelle l'état général fut bon malgré la présence de troubles hématologiques, cutanés, viscéraux et de céphalées. A part le patient le moins irradié, les trois semaines suivantes réalisèrent une période de crise caractérisée par un effondrement de l'état général, un état de tymphos (état de stupeur et d'abattement extrême qui caractérise la fièvre typhoïde), une anorexie, des nausées, des sudations nocturnes, une diminution de la diurèse et une aplasie quasi-totale de la moelle osseuse.

De nombreux examens biochimiques furent réalisés de manière à mieux connaître l'évolution métabolique de la maladie et à guider la thérapeutique. Une étude complète ne fut cependant pas réalisée car elle aurait nécessité trop de sang. Les concentrations sanguines en protéines, albumine, globulines, urée, chlore, potassium et phosphate présentèrent peu de variations. Le laboratoire de la Pharmacie de l'Hôpital de la Salpêtrière étudia par chromatographie la composition en acides aminés de l'urine des patients. Cette étude mit en évidence une excrétion anormalement élevée d'acides aminés normaux et l'apparition d'acides aminés anormaux.

¹ Site officiel de la Fondation pour la recherche médicale, www.frm.org/Fondation/Dates.htm

² Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1960.

La phase critique annonçant une issue fatale, il fut procédé pour les cinq patients concernés à une transfusion de cellules de moelle osseuse. Un premier essai eut lieu le quatorzième jour après l'accident, avec les cellules du foie d'un prématuré mort quelques heures après sa naissance. Mais ce traitement n'eut aucun effet. Les malades reçurent alors des transfusions de moelle osseuse prélevée par ponctions intra-osseuses chez un donneur adulte de groupe sanguin aussi voisin que possible de celui du receveur. Les phénotypes sanguins de sept systèmes antigéniques érythrocytaires furent déterminés par la méthode d'agglutination mixte, sous la direction de Charles Salmon, à l'Hôpital Saint-Antoine. La greffe fut réalisée au cours de la cinquième semaine après l'irradiation. Malheureusement, le patient le plus touché ne put en bénéficier ; il décéda à ce moment-là de complications viscérales malgré une exsanguino-transfusion et l'utilisation d'un rein et d'un poumon artificiels.

Une nette amélioration fut observée dans la semaine qui suivit le traitement, le myélogramme se normalisa en quinze jours et les paramètres sanguins au bout de deux mois, à l'exception du taux de lymphocytes. La restauration de l'état général fut même plus rapide que chez le patient non greffé. Les cinq physiciens survivants regagnèrent leur pays le 15 février 1959.

Cet accident permit de préciser les signes cliniques, sanguins et biochimiques dépendant de la dose reçue et déterminant de ce fait les indications thérapeutiques. De plus, ces dernières furent confirmées. Dans le cas d'une irradiation supraléthale, il leur apparut impérieux de tenter une greffe le plus tôt possible de manière à pallier les complications viscérales. Pour une irradiation léthale, la greffe leur parut le seul moyen d'attendre la restauration de la moelle du patient ; il était toutefois possible d'attendre la crise, de manière à s'assurer de la nécessité de la greffe. Enfin, pour les irradiations sub-léthales, il leur semblait injustifié de tenter une intervention « incertaine et peut-être dangereuse ». Ils craignaient en effet que ne se développe chez les greffés une « maladie secondaire ». C'est pour cette raison que leur première tentative avait été faite avec des cellules de foie fœtal, en se fiant aux résultats expérimentaux de John Loutit, de la Radiobiological Research Unit (Harwell, Royaume-Uni), et de Delta Uphoff, du National Cancer Institute (Bethesda, Maryland).

La prise de la greffe fut démontrée par un faisceau d'arguments directs et indirects. La dose d'irradiation reçue était toujours mortelle chez l'animal. L'augmentation du taux de réticulocytes, granulocytes et plaquettes fut rapide alors que celle du taux de lymphocytes fut peu marquée. L'état du patient non traité s'améliora plus lentement. Enfin, les hématies de type donneur atteignirent chez le receveur un nombre supérieur à celui administré et les hématies de type receveur ne furent décelées qu'un mois après la greffe, quand les cheveux commencèrent à repousser.

La greffe fut dans tous les cas temporaire. Les hématies de type donneur disparurent progressivement après que celles du receveur aient été de nouveau produites. Aucun signe de maladie secondaire ne fut décelé¹. Les chercheurs yougoslaves furent tous guéris². L'accident de Vinca leur fournit l'expérience des gestes thérapeutiques et de la surveillance des malades. Cet épisode montra également que l'apparition d'une maladie secondaire n'était pas systématique chez l'homme.

Eugène Cronkite, comme probablement beaucoup d'autres spécialistes des radiations, se montra extrêmement intéressé par le cas des physiciens yougoslaves. Il demanda à Marcel

¹ Jammet H., Mathé G., Pendic B., Duplan J.F., Maupin B., Latarjet R., Kalic J., Schwarzenberg L., Djukic Z., Vigne J., *Etude de six cas d'irradiation totale aigue accidentelle*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 210-225, 1959. Mathé G., Jammet H., Pendic B., Schwarzenberg L., Duplan J.F., Maupin B., Latarjet R., Larrieu M.J., Kalic D., Djukic Z., Vigne J., *Transfusion et greffe de moelle osseuse homologue chez des humains irradiés à haute dose accidentellement*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 226-238, 1959.

² Schwartz R., *A half-century retrospective of transplantation as viewed by the protagonists*, Transpl. Proceed., 31 (1-2) : 40-42, 1999.

Bessis des informations sur l'évolution clinique et la prise en charge des patients puis se rendit à Paris pour rencontrer Georges Mathé, Bernard Maupin et Raymond Latarjet¹. Membre du corps médical de la Marine américaine de 1946 à 1954, il avait participé en tant qu'hématologiste aux essais nucléaires de Bikini en 1946, avait étudié ensuite l'effet de l'irradiation totale chez les grands mammifères et avait été confronté aux personnes irradiées lors de l'accident des îles Marshall en 1954².

Les premiers essais en France

Les données fournies par l'expérimentation animale invitèrent l'équipe de Jean Bernard à tenter chez l'homme une homogreffe de cellules médullaires en période de rémission et, en premier lieu, pour une leucémie de type lymphoïde. Leurs expériences menées chez la souris avaient en effet montré ou confirmé que seule la greffe homologue de cellules adultes avait un effet anti-leucémique, que cet effet était plus efficace lorsque le sang contenait peu de cellules leucémiques et que les lymphoblastes étaient les cellules hématopoïétiques les plus sensibles à l'irradiation³.

Lors des premiers essais, réalisés par Jean Bernard, Georges Mathé, Léon Schwarzenberg, Marie-Josée Larrieu et Yves Najean, les patients furent irradiés à moins de 500 rad. Cette phase du traitement eut lieu à l'Institut Gustave Roussy sous la direction de Bernard Pierquin et Maurice Tubiana. A l'exception d'un cas traité par Joseph Ferreeb et Donnall Thomas, tous les essais de greffe de moelle osseuse homologue conduits sur des patients leucémiques irradiés avec des doses sub-léthales inférieures à 500 rad avaient échoué. Il en fut de même à Paris ; les cellules injectées furent rapidement éliminées de l'organisme receveur. Lors des essais suivants, réalisés en collaboration avec l'Institut Gustave Roussy, les patients furent irradiés à 850-900 r⁴.

Contrairement à Joseph Ferreeb, qui cherchait à obtenir une greffe permanente des cellules du donneur⁵ ; l'équipe de Jean Bernard visait une greffe temporaire parce que les médecins yougoslaves, chez qui la greffe avait été momentanée, n'avaient toujours pas développé de maladie secondaire⁶. Ils accordèrent ainsi davantage de poids à l'expérience clinique qu'aux résultats expérimentaux qu'elle contredisait. En effet, en 1956, John Trentin avait montré que, chez les rongeurs, une faible irradiation permettait une greffe temporaire et la régénération de l'hôte, qu'une forte irradiation permettait une greffe permanente sans régénération de l'hôte et surtout qu'entre les deux, c'est à dire vers 500 r, il était fréquent que ni les cellules du donneur ni celles du receveur ne parvinssent à repeupler la moelle osseuse⁷. Citant ce travail, Donnall Thomas et Joseph Ferreeb écrivirent, dans un article publié

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Cronkite E., 29.12.1958, 24.06.1959.

² Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1985, p. 301.

³ Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwarzmann V., Céara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959.

⁴ Mathé G., *Transfusion et greffe de cellules hématopoïétiques*, Le sang, 30 : 747-761, 1959. Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwarzmann V., Céara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959.

⁵ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁶ Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwarzmann V., Céara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959.

⁷ Trentin J., *Mortality and skin transplantability in X-irradiated mice receiving isologous, homologous and heterologous bone marrow*, Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 92 : 688, 1956.

quelques mois avant les essais avec irradiation à forte dose de l'équipe de Jean Bernard, que la dose à éviter chez l'homme se situait aussi probablement vers 500 r¹. Pour obtenir une greffe temporaire, les résultats expérimentaux incitaient donc à pratiquer une irradiation à faible dose et non à 850-900 r. Ajoutons que Jean Bernard et Georges Mathé connaissaient les travaux de John Trentin puisqu'ils les avaient cités dans un article de 1957². Toutefois, les patients yougoslaves, fortement irradiés, avaient bénéficié d'une greffe temporaire.

Des chercheurs américains avaient montré que la maladie secondaire était rare chez le lapin et le singe, des animaux dont la moelle osseuse, comme celle de l'homme, renferme beaucoup moins de cellules lymphoïdes que la moelle des rongeurs. Malgré cette observation encourageante, l'équipe de Jean Bernard essaya de prévenir l'apparition de la maladie secondaire par l'obtention d'une greffe temporaire. Paradoxalement, leur but était de détruire les cellules leucémiques ayant échappé à l'irradiation par une action des cellules greffées contre les cellules leucémiques de l'hôte, autrement dit en provoquant une maladie secondaire puisque, selon eux, la maladie secondaire semblait liée à « une immunisation du greffon contre l'hôte »³. L'objectif était donc en fait d'obtenir chez les patients leucémiques une maladie homologue transitoire.

Deux fillettes de cinq ans et une adolescente de treize ans furent irradiées, à l'Institut Gustave Roussy de Villejuif, par une source au Cobalt 60. La pédiatre Odile Schweisguth prit soin des enfants pendant cette phase du traitement. Leur abdomen fut en partie protégé par du plomb. Les trois patientes réagirent de la même façon ; au bout de la quatrième heure se manifestèrent nausées, vomissements, pâleur, angoisse et tachycardie. L'irradiation put cependant être poursuivie⁴.

La moelle osseuse fut prélevée chez les donneurs sous anesthésie générale par aspiration dans différents secteurs osseux. Les cellules furent injectées aux patientes par voie veineuse immédiatement et sans filtration, contrairement à la plupart des auteurs, semble-t-il parce qu'ils utilisèrent des trocards de plus petit calibre. Ils injectèrent une dizaine de milliards de cellules nucléées. L'opération provoqua parfois des quintes de toux, lesquelles cédèrent à l'injection d'anti-allergiques, la phénothiazine et la prométhazine⁵. Les donneurs étaient du même groupe ABO que le receveur et avaient le même phénotype pour trois des cinq sous-groupes sanguins étudiés (voir annexe 20). Les patientes furent placées en conditions aseptiques pendant l'aplasie et les deux mois suivants.

L'une des fillettes succomba d'infection pulmonaire sans aucun signe de repeuplement cellulaire. Les deux autres patientes restèrent à l'hôpital une trentaine de jours après l'irradiation, le temps de la restauration médullaire, laquelle fut plus lente que chez les physiciens yougoslaves. Puis, bénéficiant d'un bon état général, elles retournèrent dans leurs familles. Malheureusement, quinze jours plus tard, survint chez les deux enfants un syndrome secondaire qui dura un mois et demi et se manifesta par des infections et des troubles digestifs, en particulier une capacité digestive très réduite responsable d'un amaigrissement rapide. L'étude des phénotypes érythrocytaires, réalisée par les chercheurs du Centre national

¹ Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, Ann. Intern. Med., 49 (5) : 987-1003, 1958.

² Mathé G., Bernard J., *Les acquisitions récentes dans le domaine des hétérogreffes de cellules hématopoïétiques normales et de cellules tumorales*, Rev. Hematol., 12 (4) : 529-564, 1957.

³ Mathé G., Jammet H., Pendic B., Schwarzenberg L., Duplan J.F., Maupin B., Latarjet R., Larrieu M.J., Kalic D., Djukic Z., Vigne J., *Transfusion et greffe de moelle osseuse homologue chez des humains irradiés à haute dose accidentellement*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 226-238, 1959.

⁴ Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwarzmann V., Céoara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959.

⁵ Mathé G., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., *Transfusion et greffe de moelle osseuse chez l'homme : technique*, Le sang, 30 : 784-788, 1959.

de la transfusion sanguine, montra qu'il y avait eu greffe de la moelle transfusée - du moins des cellules érythropoïétiques - et qu'elle fut transitoire. La disparition des hématies de type donneur dans le sang périphérique coïncida avec celle des signes de la maladie secondaire. La leucémie se redéploya progressivement et emporta les enfants deux à trois mois plus tard¹.

Les travaux de l'équipe de Jean Bernard sur la maladie secondaire chez l'animal, ainsi que ceux des équipes d'Oak Ridge et de Cooperstown, avaient mis en évidence, outre les infections et les problèmes digestifs, des nécroses notamment du foie et une insuffisance lymphoïde. Ils recherchèrent ces signes chez les enfants. Le dosage des aldolases et des transaminases révéla des taux anormalement élevés, témoignant d'une atteinte hépatique. Un ganglion lymphatique fut prélevé sur chaque malade. L'un des deux présentait une aplasie lymphoïde considérable coïncidant avec taux sanguin très bas de gamma-globulines. L'autre, prélevé alors que les érythrocytes du donneur avaient presque disparu du sang de la receveuse, montra un début de régénération. Cette patiente montra une importante gamma-globulinémie pendant sa maladie secondaire, phénomène inattendu et inexplicable, qu'ils attribuèrent à une immunisation croisée entre les cellules de ses deux donneurs. Ils furent frappés par la proximité de l'évolution et des symptômes cliniques de la maladie homologue chez les deux enfants et chez l'animal : « la signification de ce syndrome secondaire est encore impossible à préciser. Il mérite certainement d'être individualisé, car il est de traduction clinique et biologique nette, et son aspect est semblable chez les deux patients ; il est séparé de la période d'aplasie par une phase d'état normal et son début est précis ».²

Ce syndrome n'avait jamais été décrit chez l'homme. On savait seulement d'une greffe homologue précédemment réussie qu'elle avait été temporaire et que le patient, qui présentait des « défauts immunologiques », était mort huit mois plus tard non pas de leucémie mais d'une infection à levures³. Georges Mathé et Jean Bernard se demandèrent pourquoi les médecins yougoslaves avaient échappé à cette maladie ; ils pensèrent que la survenue de la maladie secondaire pouvait être liée à l'âge des patients : « les raisons pour lesquelles les sujets irradiés accidentellement et restaurés par de la moelle homologue n'ont pas présenté de syndrome secondaire, contrairement à ces deux patients, n'apparaissent pas, d'autant que les courbes des hématies de type donneur ne sont pas très différentes dans les deux groupes : il faut noter cependant que la descente de ces courbes a été plus rapide chez les sujets accidentés que chez les patients leucémiques. Soulignons enfin les différences d'âge entre les deux groupes de patients : ceux du premier étaient des adultes, ceux du second des enfants ; or, l'on sait que la maladie homologue est induite plus facilement chez l'animal jeune que chez l'adulte ». C'est en tout cas ce que leur avait dit John Trentin de l'Université Baylor à Houston.

La durée des rémissions fut jugée encourageante étant donné que ces patientes avaient déjà connu une à trois rechutes. Ils envisagèrent de recommencer l'expérience au moment de la première rémission de manière à vérifier l'amélioration du pronostic et à déterminer si les résultats obtenus justifiaient les risques et les difficultés pratiques de ce procédé⁴.

¹ Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwarzmann V., Céoara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959. Mathé G., *Transfusion et greffe de cellules hématopoïétiques normales*, Le sang, 30 : 747-761, 1959.

² Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwarzmann V., Céoara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959.

³ Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, Ann. Intern. Med., 49 (5) : 987-1003, 1958.

⁴ Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwarzmann V., Céoara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959.

Lorsque leurs travaux furent rendus publics, certains journaux confondirent espoirs et résultats, au point que des demandes d'information affluèrent du monde entier. Par exemple, Ludwig Heilmeyer (1899-1969) de Fribourg demanda si l'un de ses collaborateurs pouvait venir s'exercer à la technique¹. Le docteur R. B. Levy de Johannesburg envoya même un patient à Paris².

En juin 1959, ils traitèrent trois autres enfants atteints de leucémie aiguë lymphoblastique par la greffe de moelle osseuse, toujours en collaboration avec l'Institut Gustave Roussy, et avec cette fois la participation de M. De Vries de l'Institut de radiobiologie de Rijswijk (Pays Bas).

L'irradiation produisit les mêmes symptômes cliniques : vomissements pendant le traitement, anorexie les jours suivants et alopecie 20 jours plus tard. Elle provoqua la même évolution hématologique : une cytopénie d'abord bien tolérée puis compliquée. L'étude des très importants désordres de l'hémostase montra qu'ils étaient essentiellement dus à l'insuffisance plaquettaire.

Deux patients reçurent de la moelle de leur mère, le troisième reçut de la moelle de sept donneurs différents, toujours sans filtration afin de ne pas endommager les cellules. La plupart des équipes étrangères préféraient éliminer les amas de cellules, de graisse et les fragments osseux, de peur qu'ils ne bouchent des vaisseaux sanguins, provoquant leur rupture et la formation d'oedèmes. Pour l'équipe française, ce risque était négligeable. Certes, une embolie pulmonaire et un oedème hémorragique avaient été observés lors des essais précédents, mais la filtration n'aurait pas forcément prévenu ces accidents : dans le premier cas, le poumon était endommagé par une mycose ; dans tous les cas, l'injection d'extraits médullaires augmentait le volume sanguin donc la pression exercée sur les vaisseaux.

La preuve de la réussite de la greffe fut apportée non plus seulement par l'étude des groupes sanguins, comme dans les essais antérieurs, mais aussi par l'étude de la chromatine sexuelle lorsque donneur et receveur étaient de sexe différent. W. Kosenov venait de décrire trois types d'appendices du noyau des granulocytes, dont certains n'étaient présents que dans l'un des deux sexes (voir annexe 21). La greffe échoua dans un cas. Cet échec fut mis en relation avec les transfusions de sang reçues par le patient avant la greffe. Ce patient avait également reçu du sang de plusieurs donneurs, d'où peut-être des immunisations des cellules greffées les unes contre les autres. De plus, la greffe avait été étalée dans le temps or certains, en particulier Dirk Van Bekkum, pensaient qu'il y avait une période optimale après l'irradiation pour que la greffe prît. Chez les deux autres enfants, le succès de la greffe fut attesté par les méthodes sérologiques et cytologiques.

La moelle osseuse fut restaurée plus vite que la fois précédente. Cette rapidité de la restauration fut attribuée à une « facilitation mère-enfant », d'autres équipes ayant mis en évidence la circulation de cellules maternelles chez le fœtus et le rejet plus lent des greffons de peau d'origine maternelle que paternelle.

La greffe fut confirmée par l'apparition d'un syndrome secondaire marqué ; la mort des deux enfants survint un mois après irradiation, par insuffisance hépatique pour l'un et par septicémie pour l'autre. Entre les deux séries d'essais, la caractérisation du syndrome secondaire avait progressé chez l'animal, en particulier grâce aux travaux de l'équipe hollandaise. Sa définition était plus précise : troubles digestifs, amaigrissement, infections, dermatoses et aplasie lymphoïde contrastant avec la restauration myéloïde et l'hyperplasie réticulo-endothéliale et plasmocytaire. Jean Bernard et ses collaborateurs se demandèrent si les dermatoses observées chez l'homme étaient bien liées à la maladie secondaire. Des dermatoses de ce type avaient été observées après irradiation mais à des doses beaucoup plus

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 13.05.1959.

² Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., 05.04.1959.

élevées. De plus, les lésions ne ressemblaient pas à celles d'une réaction allergique aux antibiotiques. Par contre, elles avaient le même aspect que celles des singes irradiés et homogreffés. Par ailleurs, la nécrose du foie responsable de la mort d'un des patients leur sembla peu spécifique, plutôt liée à une hépatite présente avant le traitement et à l'anorexie. Enfin, ils trouvèrent à l'autopsie de nombreux signes d'infection, notamment des lésions de la glande cortico-surrénale rappelant celles de la « maladie des inclusions cytomégaliqes ». Ils attirèrent l'attention sur la gravité et la fréquence des infections fongiques et virales, comme chez le singe. Chez leurs deux patients, le parasitologue F. Mariat identifia deux champignons et, sans parler des inclusions cytomégaliqes, une pneumonie et une hépatite virales. La principale conclusion de cette nouvelle série d'essais fut que le syndrome secondaire humain était très proche de la maladie homologue des animaux.

Une pré-immunisation des cellules de la mère contre celles de son enfant fut invoquée pour expliquer la sévérité de la maladie secondaire et le décès rapide des deux enfants. Lors de l'injection de cellules médullaires de sa mère à un enfant aplasique ainsi que lors de la transfusion de sang de sa mère à un autre enfant, l'équipe de Jean Bernard avait observé des éruptions rubéoliformes rappelant les dermatoses du syndrome secondaire. Quant à l'absence de maladie secondaire chez les patients yougoslaves, une nouvelle hypothèse fut formulée. Les équipes de Dirk Van Bekkum, au Pays Bas, et celle de Leonard Cole, à San Francisco, ayant montré que la fréquence et l'intensité de la maladie homologue animale dépendait des conditions bactériologiques, ils pensèrent que la différence entre les irradiés accidentels et les leucémiques pouvait provenir du fait que les premiers avaient été hospitalisés dans un service de traitement par les isotopes et les seconds dans un service d'hématologie infantile où les infections sont fréquentes. Cependant, dans les premiers essais, le syndrome secondaire avait commencé deux semaines après que les patients étaient retournés chez leurs parents. La différence leur semblait donc surtout liée à l'âge. Rappelons que, selon les travaux de John Trentin, la maladie homologue était plus facile à induire chez les animaux jeunes que chez les adultes¹.

L'échec de ce mode de traitement et la gravité du syndrome secondaire aboutirent à l'arrêt de son emploi chez l'homme. Les essais se poursuivirent chez l'animal, puis de nouveau chez l'homme à partir de 1969².

L'équipe de Jean Bernard s'attacha alors à comprendre et à maîtriser la maladie homologue chez l'animal.

Etude expérimentale de la maladie secondaire

En 1960, le syndrome secondaire était, selon Georges Mathé et Jean-Louis Amiel, « généralement interprété comme le résultat de réactions immunitaires du greffon contre les antigènes du receveur ». L'argument principal de cette hypothèse avait été fourni par la découverte d'un système génétique particulier dans lequel des souris hybrides F1 irradiées à dose létale et restaurées par de la moelle d'animaux des lignées parentales présentaient un syndrome secondaire tandis que les souris d'une des lignées parentales identiquement irradiées et restaurées par de la moelle de donneurs F1 en souffraient rarement. Il s'agissait de la lignée parentale C57B16 et des hybrides F1 (C57B16xDBA2). Les antigènes propres à la

¹ Mathé G., Bernard J., De Vries M.J., Schwartzberg L., Larriue M.J., Lalanne C., Dutreix A., Amiel J.L., 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*, Revue d'hématologie, 15: 115-161, avril-juil. 1960.

² Johnson F., *Marrow transplantation in the treatment of acute childhood leukemia*, Am. J. Pediatr. Hemat. Oncol., 3 (4) : 389-395, 1981.

lignée parentale ne réagissaient avec les antigènes DBA2 de l'hybride que dans la situation de donneur et non de receveur. La maladie secondaire semblait donc due aux cellules du donneur et non de l'hôte. Ce phénomène avait été décrit par John Trentin en 1956 et confirmé par Delta Uphoff et Lloyd Law, ainsi que l'équipe de Dirk Van Bekkum.

Les autres arguments relevaient de la mise en évidence, dans les « radiochimères » (les animaux porteurs de cellules étrangères), de cellules et d'anticorps de type donneur et de l'absence de cellules lymphoïdes de type receveur. Plusieurs équipes avaient montré l'appartenance au type donneur des cellules du tissu lymphoïde des radiochimères allogéniques et la tolérance spécifique des chimères homologues ou hétérologues pour les tissus du donneur. Pierre Grabar, de l'Institut Pasteur, en collaboration avec le Britannique John Loutit, J.P. Merrill, de Boston, et le groupe hollandais, avaient étudié les gamma-globulines de souris restaurées par de la moelle osseuse de rat et montré qu'elles avaient des propriétés immunologiques de gamma-globulines de rat.

L'aplasie lymphoïde et la lymphopénie tardives de la maladie secondaire contredisaient la présence de cellules lymphoïdes du greffon chez l'hôte ; ils s'attendaient en effet à un repeuplement des organes lymphoïdes par le greffon. Ils s'étaient déjà demandés si la quantité de cellules lymphoïdes administrées n'était pas trop faible. Mais différents auteurs avaient constaté que l'administration d'un mélange de cellules médullaires et lymphoïdes homologues provoquait non seulement un syndrome secondaire mais en hâtait l'apparition¹.

A partir de 1959, Georges Mathé et Jean-Louis Amiel étudièrent le syndrome secondaire en comparant la « restauration lymphoïde » chez des radiochimères non-leucémiques compatibles et incompatibles, par des méthodes sérologiques et histologiques².

Ils s'intéressèrent au devenir de la « mémoire immunologique » d'animaux immunisés avant l'irradiation et la greffe. Avec G. Daguet, ils immunisèrent des souris F1 (C57Bl6xDBA2) contre *Salmonella typhi* R2 par quatre injections intraveineuses, puis les irradièrent à 750 r et leur transfusèrent soit de la moelle isologue de donneur non immunisé soit de la moelle de souris C57Bl6 non immunisées. Il retrouvèrent, chez les chimères isogéniques, un taux d'anticorps peu différent de celui d'avant l'irradiation et, chez les chimères allogéniques, un taux nul ou presque. Cela confirmait la présence de cellules lymphoïdes du greffon et l'absence de cellules de l'hôte chez les radiochimères homologues. Ce résultat s'accordait en outre avec la grande sensibilité aux infections des animaux et des patients atteints de syndrome secondaire, qu'ils aient ou non été immunisés auparavant ; l'une des patientes, qui avait guéri d'une hépatite un mois avant l'irradiation, avait présenté au cours de la maladie secondaire une rechute sévère. Une autre conclusion fut tirée de cette expérience. Celle-ci conduisit à réviser la notion selon laquelle la greffe de moelle allogénique persistait grâce à la seule irradiation à dose léthale, puisque la persistance de la mémoire immunologique chez les animaux isogreffés montrait que l'irradiation n'empêchait pas les cellules du receveur de repeupler leur propre tissu : « On peut donc se demander si la réaction du greffon contre l'hôte n'est pas nécessaire à la persistance de l'aplasie des cellules lymphoïdes de celui-ci, et partant de l'inhibition de leurs fonctions immunitaires contre les cellules transfusées, donc de la persistance du greffon. »³.

D'autres travaux portèrent sur l'évolution de la gamma-globulinémie après la greffe. Avec M. Pays, ils étudièrent cette évolution chez quatre groupes d'animaux. : des souris C57Br restaurés par des cellules médullaires ou un mélange de cellules médullaires et

¹ Mathé G., Amiel J.L., *Etude sur le tissu lymphoïde des radiochimères hématopoïétiques*, Path. Biol., 9 : 894-901, 1961.

² Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1960.

³ Mathé G., Amiel J.L., Daguet G., *Etude des agglutinines sériques contre un antigène bactérien chez des radiochimères hématologiques immunisées contre l'antigène avant l'irradiation*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 : 6, 1961.

lymphoïdes, isologues ou homologues DBA2. Le taux des gamma-globulines, effondré par l'irradiation, remonta plus rapidement chez les chimères homologues mais diminua ensuite, alors que l'augmentation fut régulière chez les chimères isologues. Chez ces dernières, la gamma-globulinémie se releva plus rapidement en présence de cellules ganglionnaires. Chez les chimères homologues, elle diminua plus rapidement (voir annexe 22). L'hypogammaglobulinémie tardive des radiochimères allogéniques par rapport aux radiochimères isogéniques fut attribuée à une réaction du greffon contre l'hôte. L'hypergammaglobulinémie relative précoce des chimères homologues pouvait par contre être due à une réaction de l'hôte contre le greffon, l'inverse ou les deux¹.

Cherchant à préciser ce dernier point, ils utilisèrent le système génétique particulier précédemment décrit. Ils mesurèrent la gamma-globulinémie dix et vingt jours après la restauration, d'une part, chez des souris C57Bl6 transfusées avec de la moelle de souris F1, d'autre part, chez des souris F1 ayant reçu de la moelle de souris C57Bl6. Ces chimères furent respectivement qualifiées de semi-isologues et semi-homologues. En situation semi-isologue, seule la réaction de l'hôte contre le greffon pouvait se manifester ; en situation semi-homologue, c'était l'inverse. Le taux de gamma-globulines se montra deux fois plus important chez les chimères semi-isologues que chez les chimères semi-homologues (voir annexe 23). Il semblait donc que l'hypergammaglobulinémie précoce des chimères homologues fût principalement due à une immunisation de l'hôte contre le greffon. Ceci n'excluait pas la réaction inverse, d'autant plus que les anticorps produits par le greffon ne se retrouvaient probablement pas dans la circulation générale mais étaient plutôt fixés par les cellules de l'hôte omniprésentes.

Une troisième série d'expériences, réalisées avec l'aide du médecin-général Jaulmes et du médecin-colonel Genaud de la Section technique de recherches et d'études des Services de santé des Armées, visa à comprendre pourquoi, chez les chimères allogéniques, les cellules lymphoïdes du greffon ne corrigeaient pas l'aplasie de l'hôte comme les cellules myéloïdes. Ils donnèrent à des souris F1 (C57Bl6xDBA2) irradiées totalement de la moelle d'un donneur de la lignée parentale C57Bl6, de manière à n'étudier que la réaction du donneur contre l'hôte. Une intense prolifération des cellules lymphoïdes fut observée, suivie une semaine plus tard d'une aplasie. Ceci leur fit penser à une immunisation des cellules greffées contre celles de l'hôte suivie d'un épuisement de ces cellules du donneur dans leur combat contre les bien plus nombreuses cellules du receveur ou, plus précisément, d'une action nocive des antigènes tissulaires de l'hôte s'exerçant sur les cellules lymphoïdes du donneur : « Les auteurs proposent pour expliquer cette évolution en deux temps, l'hypothèse d'une action lytique des antigènes du receveur sur les cellules immunologiquement compétentes du greffon ». Cette hypothèse était renforcée par des résultats obtenus par d'autres équipes de recherche. Le groupe de Peter Medawar avait montré que la destruction des cellules de l'hôte qui infiltraient une greffe de peau homologue se produisait en même temps que celle des cellules du greffon et que le rejet de greffe homologue avait des points communs avec la « sensibilité retardée ». D'autres auteurs avaient observé, en culture de tissu, la destruction par l'antigène de cellules sensibilisées à la tuberculine. Enfin, J. Weaver avait mis en contact des cellules lymphoïdes d'animaux pré-immunisés par une homogreffe et des cellules du donneur dont les tissus avaient au préalable été rejetés par le receveur. Les deux types de cellules s'étaient accolées et avaient été détruites².

¹ Amiel J.L., Pays P., Mathé G., *Etude quantitative des gamma-globulines sériques de souris irradiées et restaurées par des cellules hématopoïétiques isologues ou homologues*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 6 : 453, 1961.

² Mathé G., Amiel J.L., *Etude sur le tissu lymphoïde des radiochimères hématopoïétiques*, Path. Biol., 9 : 894-901, 1961.

La même expérience fut mise en oeuvre avec un mélange de cellules médullaires et ganglionnaires C57Bl6. Dans ce cas, le nombre de décès par maladie secondaire était plus important qu'avec des cellules médullaires seules. La rate et les ganglions étaient plus volumineux et les cellules lymphoïdes y proliféraient davantage : ils observèrent de nombreuses mitoses et une prolifération singulière tendant à l'uniformisation de la structure de l'organe, avec la disparition des nodules et des follicules. Ces cellules étaient d'abord des cellules souches inclassables mais cependant caractérisées par une intense basophilie cytoplasmique. Elles faisaient place, vers le septième jour, à des plasmocytes matures puis ces organes étaient caractérisés par une raréfaction cellulaire et parfois des nécroses fibroïdes (voir annexe 24)¹.

Ces observations confirmaient la nature lymphoïde des cellules immunologiquement compétentes du greffon. La maladie secondaire étant perçue comme une réaction immunitaire, les hypothèses relatives à son mécanisme étaient calquées sur celles qui expliquaient la défense de l'organisme contre les greffes incompatibles. En 1957, Jean Bernard et Georges Mathé avaient fait le bilan des connaissances acquises dans ce domaine. Trois agents de défense contre les cellules étrangères semblaient alors être impliqués. De nombreuses observations mettaient en cause les anticorps et des arguments indirects plaidaient en faveur de l'intervention de la properdine, une globuline isolée en 1954 par L. Pillemer. Toutefois, ce type d'immunité n'était transmissible d'un individu à l'autre que par l'administration de cellules vivantes, lesquelles produisaient probablement les molécules plasmatiques précédemment citées. Or les cellules productrices des anticorps n'étaient pas encore clairement identifiées. On considérait comme démontré que la production des anticorps avait lieu dans les cellules du tissu lymphoïde². Une étude menée deux ans plus tard par Georges Mathé et ses collaborateurs sur soixante-six souris C57Bl6 irradiées à 500, 750 ou 1000 r, confirma d'ailleurs une forte corrélation entre la baisse du taux sanguin de gamma-globulines et l'atrophie de la rate et des ganglions lymphatiques³. On admettait aussi généralement, en 1957, que les cellules réticulo-endothéliales et les histiocytes ne produisaient pas de gamma-globulines. On hésitait en fait entre les lymphocytes et les plasmocytes ; dans les deux cas, on ne disposait que de preuves indirectes. Enfin, pour expliquer l'absence de transmission humorale de cette immunité de greffe, Peter Medawar avait, en 1956, émit l'hypothèse d'une réponse immunologique différente de la réponse aux antigènes des hématies. Cette différence aurait été liée à la localisation des antigènes : cytoplasmique pour les hématies, nucléaire pour les antigènes de cellules vivantes greffées⁴.

D'après les travaux de l'équipe de Jean Bernard, il existait, dans les divers tissus hématopoïétiques, des plasmocytes et des cellules lymphoïdes de divers types morphologiques qui, dans le tissu lymphoïde, empêchaient la restauration par les cellules lymphoïdes du receveur, en s'immunisant contre elles. La présence successive de cellules lymphoïdes indifférenciées et de plasmocytes au cours de la maladie secondaire leur fit envisager l'existence d'une filiation entre ces deux types cellulaires : « S'agit-il des cellules de la lignée plasmocytaire ou de plusieurs variétés de « cellules lymphoïdes » ? Les plasmocytes

¹ Mathé G., Amiel J.L., *Aspects histologiques des lésions induites dans les organes hématopoïétiques par l'injection à des hybrides F1 irradiés de cellules ganglionnaires d'une des lignées parentales*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 5 : 20-30, 1960.

² Mathé G., Bernard J., *Les acquisitions récentes dans le domaine des hétérogreffes de cellules hématopoïétiques normales et de cellules tumorales*, Rev. Hématol., 12 (4) : 529-564, 1957.

³ Mathé G., Pays P., Bourdon R., Maroteaux P., *Effets comparés sur les gamma-globulines sériques de doses sublétales et létales d'irradiation X*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 272, 1959.

⁴ Mathé G., Bernard J., *Les acquisitions récentes dans le domaine des hétérogreffes de cellules hématopoïétiques normales et de cellules tumorales*, Rev. Hématol., 12 (4) : 529-564, 1957.

peuvent-ils provenir de divers types de cellules lymphoïdes ? Ce sont là des questions sans réponse. »¹.

Indépendamment des recherches physiopathologiques sur le syndrome secondaire, les collaborateurs de Jean Bernard tentèrent également de le prévenir et de le guérir.

Concernant l'utilisation de cellules fœtales, les résultats différaient toujours d'un laboratoire à l'autre. Rappelons que vers 1958 celle-ci était jugée efficace pour prévenir la maladie par les équipes de John Loutit, Jean-François Duplan et Delta Uphoff, et inefficace par John Trentin et eux. Depuis, A. Lengerova, de l'Institut de biologie de l'académie des sciences tchécoslovaque à Prague, avait accru le nombre des partisans de la greffe fœtale et B. Crouch, de l'Université du Tennessee à Memphis, celui de ceux pour qui il n'y avait pas d'avantage par rapport aux greffes de cellules adultes². Par ailleurs, divers traitements leucopénisants voire lymphopénisants furent testés à titre préventif et curatif. En 1955, Leonard Cole traita par la cortisone des souris irradiées et hétérogreffées ; le taux de maladies secondaires s'en trouva un peu abaissé. Trois ans plus tard, Delta Uphoff parvint à prévenir l'apparition du syndrome chez des rongeurs avec de l'améthoptérine³. La même année, Clara Ambrus et Elmer Feltz, de l'Institut du parc mémorial Roswell à Buffalo (Etat de New-York) prétraient des donneurs et traitèrent des receveurs par la cortisone et/ou une moutarde azotée. Ces traitements augmentèrent le taux et le temps de survie des animaux homogreffés⁴. Par contre, l'équipe de Charles Congdon avait tenté en vain de traiter la maladie secondaire par les corticoïdes, les antihistaminiques, les antibiotiques et les vitamines⁵. Les essais de traitement du syndrome menés à Paris chez l'animal, avec des antibiotiques et de la cortisone, échouèrent également⁶.

En 1960, Georges Mathé entreprit de créer son propre centre de recherches, plus orienté vers la cancérologie générale. Il envisagea de s'installer à Villejuif, d'une part, parce que Marcel Bessis était présenté pour succéder à Charles Oberling (1895-1960) à la tête de l'Institut de recherches scientifiques sur le cancer, d'autre part, parce que Pierre Denoix, le directeur de l'Institut Gustave Roussy, accepta de le prendre à mi-temps pour un an, ce qui lui permit de se familiariser avec les tumeurs solides tout en poursuivant ses recherches sur la leucémie. De plus, Jean Bernard le laissa poursuivre ses recherches expérimentales dans ses locaux jusqu'à ce qu'il dispose de laboratoires propres. Marcel Bessis le mit en contact avec Louis Bugnard, le directeur de l'Institut national d'hygiène, ce qui facilita semble-t-il la création du Centre de recherches cancérologiques et radiopathologiques de l'Association Claude Bernard⁷. Georges Mathé prit la direction de ce centre en 1961 et fut nommé chef de service d'hématologie de l'Institut Gustave Roussy. En 1965, ce centre de l'Association Claude Bernard devint l'Institut de cancérologie et d'immunogénétique⁸.

¹ Mathé G., Amiel J.L., *Etude sur le tissu lymphoïde des radiochimères hématopoïétiques*, Path. Biol., 9 : 894-901, 1961.

² Mathé G., Amiel J.L., *Etude sur le tissu lymphoïde des radiochimères hématopoïétiques*, Path. Biol., 9 : 894-901, 1961.

³ Uphoff D., *Alternation of homograft reaction by amethopterin in lethally irradiated mice treated with homologous marrow*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 99 : 651-653, 1958 cité par Johnson F., *Marrow transplantation in the treatment of acute childhood leukemia*, Am. J. Pediatr. Hemat. Oncol., 3 (4) : 389-395, 1981.

⁴ Ambrus C., Feltz E., *Late disease in lethally radiated mice protected with homologous bone marrow and its mitigation by pretreatment of the donor with cortisone and nitrogen mustard, or cortisone treatment of the host*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 2 (4) : 276, 1958.

⁵ Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.

⁶ Fonds IUH Article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1960.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., 25.05.1960, 22.06.1960, 05.07.1960, 11.07.60, 05.08.60, 15.11.60.

⁸ Who's who in France. Fonds IUH, article 162, Association Claude Bernard, brochure de présentation des travaux pour 1955-1970.

Suite au départ de Georges Mathé et d'une partie de ses collaborateurs, l'étude des greffes de moelle cessa momentanément dans le service de Jean Bernard.

La création d'un centre de recherches

En 1953, fut créée l'Association Claude Bernard pour le développement des recherches biologiques et médicales dans les hôpitaux de l'Assistance publique à Paris (voir Chapitre 3). Sept centres de recherches virent le jour le premier février 1955, dont le Centre de recherches sur les leucémies et les maladies du sang dirigé par le professeur Jean Bernard, et localisé à l'Hôpital Hérold¹.

En janvier 1957, lorsque Jean Bernard fut nommé chef du service de pédiatrie à l'Hôpital Saint-Louis, le centre de recherches occupa encore pendant un an et demi les caves-laboratoires du pavillon Grancher, construit pour le successeur de Jean Bernard à l'Hôpital Hérold².

A l'Hôpital Saint-Louis, une partie des laboratoires de recherche fut hébergée par le service de pédiatrie ; l'autre partie, comprenant une animalerie et le laboratoire des isotopes bénéficia d'un bâtiment préfabriqué, construit à l'aide de dons privés. En 1960, commença la construction, qui s'achèva un an plus tard, d'un bâtiment dédié à l'hématologie, le Centre Hayem³.

L'histoire de son financement débuta par une pratique encore peu répandue, l'appel à l'ensemble de la population, et s'appuya sur la médiatisation de Jean Bernard. En 1956, ce dernier, appelé en consultation à Moscou, dut décommander un diner chez des amis, auquel le journaliste et écrivain Raymond Aron était également convié, ce qui lui valut quelques lignes dans le journal *L'Aurore* du lendemain. Peu de temps après, il joua un rôle important à la Ligue contre le cancer pour l'organisation de sa journée annuelle de « biomendicité » - selon le terme de Jean Bernard - à laquelle se rendirent de nombreux journalistes attirés par l'épisode moscovite. Le 8 mars 1957, le journal *L'Aurore* publia une interview du professeur, par le journaliste François Mennelet, attirant l'attention sur les espoirs suscités par la chimiothérapie et sur l'insuffisance des moyens financiers⁴. A cette occasion, le rédacteur en chef, Robert Lazurick, lança une souscription pour la recherche sur les leucémies⁵. La souscription rapporta plus de 63 millions de francs⁶.

Après s'être entretenu avec son conseiller pour la réforme hospitalo-universitaire, Jean Dausset⁷, le Ministre de l'Education nationale, René Billières, convoqua Jean Bernard et lui accorda, en quelques jours, 318 millions supplémentaires pour la construction et le fonctionnement de son institut de recherche. Cette somme fut complétée par 47 millions de francs provenant de l'Assistance Publique⁸. La participation de l'Education nationale aurait été

¹ Fonds IUH, article 162, Association Claude Bernard : statuts, 1956 ; brochure de présentation des travaux pour 1955-1970.

² Fonds IUH, article 16, correspondance avec Robert Mallet, 22.04.1959.

³ Fonds IUH, article 45, Bâtiment provisoire, Centre Hayem.

⁴ Degos L., *Le don reçu*, Plon, Paris, 1990, p. 28-29.

⁵ Entretien avec Jean Bernard, 25.09.1998.

⁶ *L'Aurore*, 29-30 juin 1957.

⁷ Au milieu des années 1950, Jean Dausset s'engagea très activement dans la réforme hospitalo-universitaire, d'abord au sein de l'Amicale des médecins radicaux, ce qui lui valut le poste de conseiller du Ministre de l'Education nationale, puis aux côtés de Robert Debré dans le Comité interministériel d'étude des problèmes de l'enseignement médical, de la structure hospitalière et de l'action sanitaire et sociale (Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 61-70).

⁸ Fonds IUH, article 1, mémoire au Conseil de surveillance de l'administration générale de l'APHP relatif à la construction du bâtiment Hayem, 1957.

précipitée par la présentation du budget de ce ministère à l'Assemblée nationale, la semaine suivant l'appel de *L'Aurore*, et la crainte d'une interpellation relative au financement de la recherche médicale¹.

Une grande partie des dons fut immédiatement employée pour organiser des animaleries et acheter des microscopes et des compteurs à scintillation. La priorité fut donnée à la mise en place d'animaleries à l'américaine : « Deux leucémies animales sont utilisées, la leucémie de la poule et surtout la leucémie de la souris. Les souris leucémiques qui appartiennent à des souches sélectionnées spéciales (qu'il est en l'état actuel, nécessaire de faire venir de d'Amérique) sont des animaux très fragiles dont l'élevage nécessite de très grandes précautions et se révèle être très couteux. Chaque expérience porte sur au moins cent (et souvent plusieurs centaines) de souris et dure plusieurs mois, souvent un an ou plus d'un an. (...) Les sommes recueillies par *L'Aurore* ont été en première ligne employées à la création de nouvelles animaleries à souris et à l'achat des coûteux équipements de climatisation qui permettent l'élevage correct, à l'abri de l'infection accidentelle qui peut brusquement interrompre une expérience longuement méditée et retarder d'un an le progrès espéré. Les 30 millions figurant à ce poste permettront l'organisation de nouvelles animaleries qui pourront recevoir 10.000 souris leucémiques ; les centres américains correspondant ont des élevages de 20.000 à 50.000 souris. »².

Finalement, le bâtiment coûta environ 500 millions de francs, le matériel 250 millions, et l'institut se vit allouer un budget annuel de l'ordre de 175 millions pour le fonctionnement et les salaires des personnels³.

En 1960, la Direction générale de l'enseignement supérieur créa l'Institut de recherches sur les leucémies et les maladies du sang, centre de formation et de recherche spécialisé, rattaché à la Faculté de médecine de l'Université de Paris⁴. Il cohabita avec le centre de recherches de l'Association Claude Bernard, dont le personnel fut réparti dans les différents laboratoires. L'entrée dans les locaux commença l'année suivante. Au sous-sol, se trouvaient l'administration et les archives. Le rez-de-chaussée était réservé à l'hospitalisation des adultes. Au premier étage, se trouvaient le laboratoire d'hémostase et le laboratoire des isotopes. Le deuxième étage était consacré à l'immunologie et le troisième à la recherche en virologie. L'animalerie se trouvait au quatrième et dernier étage. La hauteur du bâtiment fut limitée parce que l'hôpital était classé parmi les monuments historiques. Le laboratoire de cytologie resta localisé dans le service de pédiatrie⁵.

En 1968, L'Institut de recherches sur les leucémies et les maladies du sang (IRLMS) devint l'Unité d'enseignement et de recherches (UER) d'hématologie de l'Université Paris 7, nouvellement créée⁶. Michel Boiron (né en 1925) remplaça Jean Bernard à la direction de l'institut en 1980.

L'UER, devenue Unité de formation et de recherche en 1983, prit en 1985, l'appellation d'Institut universitaire d'hématologie (IUH). L'actuel directeur, Laurent Degos succéda à Michel Boiron en 1994⁷.

Dans les années 1950, les principaux collaborateurs de Jean Bernard étaient, côté paillasse, Georges Mathé, Michel Boiron, Jean-Louis Beaumont, Maxime Seligmann, Jacques Lissac, Lucien Israël et Jacques Caen, et côté clinique, Francis Chavelet, Raymond Gérard et Melle Guinebert. Ce groupe entretenait des liens scientifiques et amicaux avec les équipes de

¹ Entretien avec Jean Bernard, 25.09.1998.

² *L'Aurore*, 29-30 juin 1957.

³ Fonds IUH, article 1, note concernant l'institut, 1961.

⁴ Fonds IUH, article 1, arrêté du 02.08.1960.

⁵ Fonds IUH, article 1, notes concernant l'institut, 1961.

⁶ Fonds IUH, article 1, arrêté du 31.12.1968.

⁷ Fonds IUH, article 1, demande de statut d'institut universitaire, 1984 ; note Michel Boiron, 1993.

Marcel Bessis, Jean-Pierre Soulier, Jean Dausset, Bernard Dreyfus, Maurice Tubiana, Georges Schapira, Eliane Lebreton et Pierre Grabar¹.

A partir de 1960, les laboratoires de l'IRLMS furent dirigés par Michel Boiron pour la virologie, Maxime Seligmann et Jean Dausset pour l'immunologie, Jacques Caen pour la coagulation et Yves Najean pour les isotopes. Dans le service de Jean Bernard, Michel Boiron, Claude Jacquillat et Maryse Weil supervisèrent les essais chimiothérapeutiques.

¹ Bernard J., *Leçon inaugurale de la Chaire de cancérologie médicale et sociale*, Presse méd., 15 septembre 1956, p. 24.

Chapitre 2. Recherches menées à l'IRLMS (1960-1970)

Travaux du département d'hématologie expérimentale

Michel Boiron, chef de clinique dans le service de Jean Bernard depuis 1954, prit la tête du Département d'hématologie expérimentale de l'IRLMS. Créé en 1961, ce laboratoire commença à fonctionner à la fin de l'année suivante. Son objectif initial était la démonstration de l'étiologie virale de la leucémie humaine. Il associa deux types de travaux : la recherche de virus leucémogènes potentiels chez les patients leucémiques et l'étude de virus leucémiques animaux. Concernant ces derniers, il s'agissait de mettre au point des techniques de détection et de neutralisation de ces virus, qui seraient ensuite appliquées aux éventuels virus leucémiques humains.

L'intitulé du laboratoire peut aujourd'hui surprendre, d'une part, par l'absence des mots « virus » ou « virologie », d'autre part, parce que les autres laboratoires de l'institut pratiquaient également des expérimentations dans le domaine hématologique et relevaient donc aussi de l'hématologie expérimentale. On peut difficilement invoquer une certaine frilosité vis à vis de l'hypothèse virale du cancer. En 1964, Jean Bernard décrivait les virus comme les responsables les plus probables des cancers et leucémies humaines : « Parmi les facteurs capables de cancériser la cellule, les virus tiennent une place toute particulière : ils associent ou plus souvent « intègrent » au génome cellulaire leur propre acide nucléique ; ils sont actifs *in vitro* en culture de tissus ; ils représentent les agents de nombreuses leucémies et cancers animaux ; il paraît logique de les incriminer à l'origine de certaines leucémies et cancers humains »¹. Plus simplement, dans l'intitulé du laboratoire, l'adjectif « expérimental » avait le même sens que dans l'expression « médecine expérimentale » utilisée au siècle précédent par Claude Bernard pour désigner le recours à l'expérimentation animale. Le laboratoire d'hématologie expérimentale était en effet le principal sinon le seul de l'institut à utiliser des animaux, les autres travaillant sur des produits humains.

Avant d'entrer dans le détail des travaux du Département d'hématologie expérimentale, voyons où en étaient les travaux sur l'étiologie virale du cancer et de la leucémie en 1960.

Préambule : virus, cancer et leucémie (1900-1960)

Une étiologie virale n'est envisageable que chez les oiseaux (1900-1950)

¹ Fonds IUH, article 162, projet de brochure pour les dix ans de l'Association Claude Bernard, 1964.

A la fin du 19^{ième} siècle, l'étude anatomique et clinique de la leucémie avait conduit à rapprocher cette maladie des sarcomes, cancers du tissu conjonctif. Mais la description, à cette époque, des premiers cas humains de leucémie aiguë eut pour conséquence le développement d'une hypothèse étiologique infectieuse de la leucémie¹. Celle-ci était suggérée par l'évolution parfois très rapide de la maladie et la présence fréquente de microbes dans les lésions². Cette hypothèse fut renforcée par la description de foyers géographiques de leucémies ; le premier cas, comprenant 4 adultes souffrant de leucémie aiguë myéloïde, fut décrit en 1923 près de l'Hôpital Saint-Louis à Paris³.

Le répertoire des autres causes possibles de la leucémie était alors le même que pour le cancer, associant, en fait, toutes les causes connues de maladie : hérédité, infection, traumatismes, agents toxiques ou même émotions. En 1900, Georges Hayem, dans ses leçons de clinique des maladies du sang, données à l'Hôpital Saint-Antoine, résumait ainsi la situation : « Dans son ensemble la maladie se comporte comme une affection néoplasique de mauvaise nature. On tend, cependant, à en faire une maladie infectieuse et la forme aiguë, récemment reconnue et étudiée, semble donner un certain poids à cette opinion. (...) Enfin, il est possible que l'état leucémique du sang soit simplement un syndrome relevant de processus divers, notamment des processus toxi-infectieux »⁴.

Parmi les hématologistes, la théorie infectieuse de la leucémie fut notamment défendue par Prosper-Emile Weil et Paul Chevallier. En 1936, Jean Bernard écrivait que « de nombreux auteurs - quelque conception qu'ils aient des relations des leucémies et des sarcomes - admittent la nature infectieuse des leucémies »⁵. Mais au cours des années 1930, cette hypothèse étiologique perdit de son importance. De nouveaux faits cliniques et expérimentaux valurent à la théorie de la nature néoplasique des leucémies un regain de faveur. Or, nombreux étaient les spécialistes qui, contrairement à Jean Bernard, tenaient le cancer et l'infection pour deux notions incompatibles.

Le principal point faible de l'hypothèse infectieuse résidait dans l'absence d'arguments expérimentaux en sa faveur. En effet, la mise en culture de cellules leucémiques n'avait pas permis d'isoler un micro-organisme particulier. Jusqu'en 1908, les chercheurs n'eurent à leur disposition aucun agent potentiel de la leucémie à soumettre à l'épreuve du postulat de Koch. Cette année-là, Wilhelm Ellermann (1871-1924) et Oluf Bang (1881-1917), de l'Ecole Royale Vétérinaire de Copenhague, montrèrent que l'érythro-leucémie aviaire pouvait être transmise entre poulets par l'injection d'extraits acellulaires contenant un micro-organisme ultra-filtrant, autrement dit un virus selon la terminologie actuelle. Ils avaient utilisé la technique de filtration-inoculation mise au point par les bactériologistes, à la fin du siècle précédent, pour caractériser les micro-organismes pathogènes invisibles au microscope. Les broyats de cellules étaient déposés sur des filtres suffisamment fins pour retenir les bactéries. L'agent pathogène ainsi filtré ne pouvait être une toxine parce que l'effet de l'extrait ne s'amenuisait pas au cours des passages dans des animaux successifs, ce qui signifiait qu'il s'y reproduisait⁶.

L'expérience de Wilhelm Ellerman et d'Oluf Bang fut reproduite en 1933 par Jacob Furth, à la faculté de médecine de l'Université Cornell à New York : il transmit la leucémie

¹ Piller G.J., *Leukaemia - A brief historical review from ancient times to 1950*, Brit. J. Haemat., 112 : 282-292, 2001.

² Engelbreth-Holm J., *Spontaneous and experimental leukaemia in animals*, trad. C. Heel, Oliver and Boyd, London, 1942, p. 195.

³ Piller G.J., *Leukaemia - A brief historical review from ancient times to 1950*, Brit. J. Haemat., 112 : 282-292, 2001.

⁴ Hayem G., *Leçons sur les maladies du sang*, Masson, Paris, 1900, p. 506.

⁵ Bernard J., *Polyglobulies et leucémie provoquées par des injections intramédullaires de goudron*, Thèse de médecine, G. Doin, Paris, 1936, p. 159.

⁶ Ellermann V., Bang O., *Experimentelle Leukämie bei Hühnern*, Centralbl. F. Bakt., Abt. I, 46 : 595-609, 1908 cité par Gross L., *Oncogenic viruses*, Pergamon Press, London, 1970, p. 10.

lymphoïde ou « lymphomatose viscérale » du poulet par des filtrats acellulaires¹. Par contre, toutes les tentatives effectuées chez les mammifères se soldèrent par des échecs². S'installa alors une distinction entre les leucémies aviaires, que l'on attribuait à des virus, et les leucémies des mammifères dont l'étiologie demeurait inconnue. De ce fait, la leucémogénèse virale intéressait surtout les vétérinaires, et éventuellement les bactériologistes, mais peu les hématologistes.

Parallèlement, se forgea de la même façon une opposition entre les cancers des oiseaux et les cancers des mammifères. En 1911, Peyton Rous, qui travaillait au Rockefeller Institute à New York, réalisa une expérience similaire à celle d'Oluf Bang et Wilhelm Ellerman avec un sarcome de la poule³. Il s'agissait du premier cas de transmission d'une tumeur cancéreuse par un virus. En 1932, Richard Shope, également chercheur au Rockefeller Institute, mit en évidence un second agent filtrant inducteur de tumeur, cette fois chez un mammifère. Il parvint à transmettre le papillome à des lapins domestiques en leur injectant des extraits filtrés de tumeurs prélevées sur des lapins sauvages⁴. Mais ces extraits n'induisaient pas toujours de tumeurs et celles-ci n'étaient pas toujours cancéreuses. En outre, le délai entre l'inoculation et l'apparition de la maladie était de plusieurs mois⁵. Ces éléments faisaient douter de l'existence d'une relation de cause à effet entre l'injection de virus et l'apparition d'un cancer.

Jusqu'au milieu des années 1950, la majorité des hématologistes et des cancérologistes reconnurent une origine virale aux leucémies et aux cancers aviaires mais jugèrent cette cause peu probable pour les affections malignes des mammifères. Non seulement, les nombreuses tentatives de transmission de tumeurs par des extraits acellulaires avaient échoué chez le rat et la souris, mais d'autres arguments faisaient apparaître la théorie virale du cancer comme purement spéculative aux yeux de la majorité des spécialistes. Tout d'abord, la maladie était connue depuis longtemps dans les hôpitaux et les animaleries sans jamais s'être révélée contagieuse, et sans que l'on observe de processus inflammatoire au niveau des lésions, autrement dit elle ne ressemblait pas aux autres maladies virales. Ensuite, diverses observations et expériences montraient que le cancer pouvait être provoqué par des facteurs physiques, comme les radiations, et chimiques, comme le goudron. Enfin, des études d'incidence familiale et les recherches menées sur des souris consanguines avaient révélé une susceptibilité génétique à la maladie. Les trois exemples suivants témoignent de l'existence d'une distinction, plus ou moins marquée selon les auteurs entre, d'une part, les leucémies et les cancers des oiseaux et, d'autre part, les leucémies et cancers des mammifères.

Ainsi, en 1937, Jean Verne, responsable des cultures de cellules à l'Institut du cancer de Villejuif, distinguait le sarcome de Rous, dû à un virus, de ce qu'il nommait les sarcomes « ordinaires » et pour lesquels il citait en exemple des sarcomes de souris, de rat, de cobaye et des sarcomes humains : « Il est certain qu'il faut établir une différence nette entre les tumeurs dont le sarcome de Rous est le type et les autres cancers. Le sarcome de Rous est nettement dû à un virus filtrant, c'est un sarcome infectieux. Le virus de Rous privé de tout élément cellulaire détermine la transformation cancéreuse d'éléments conjonctifs en culture et spécialement de monocytes. Il se comporte à ce point de vue comme les autres virus »⁶.

¹ Gross L., *Oncogenic viruses*, Pergamon Press, London, 1970, p. 11.

² Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea et Febiger, Philadelphia, 1985, p. 485.

³ Rous P., *Transmission of a malignant new growth by means of a cell-free filtrate*, J. Am. Med. Ass., 56 : 198, 1911.

⁴ Shope R.E., *A filtrable virus causing tumor-like condition in rabbits and its relationship to virus myxomatousum*, J. Exp. Med., 56 : 803-822, 1932.

⁵ Creager A., Gaudillière J.-P., « Experimental arrangements and technologies of visualisation : cancer as a viral epidemic », in Gaudillière J.-P., Löwy I., eds., *Heredity and infection*, Routledge, Londres, 2000, p. 208-212.

⁶ Verne J., *La vie cellulaire hors de l'organisme, la culture des tissus*, Doin, Paris, 1937, p. 182.

Trois ans plus tard, Julius Engelbreth-Holm (1904-1961), directeur du laboratoire de recherches de la Ligue contre le cancer danoise, écrivait que l'agent causal des leucémies et des sarcomes était un virus chez les Oiseaux et demeurait un mystère chez les Mammifères, mais il soulignait la communauté de nature de l'ensemble de ces maladies : « La différence entre les leucémies myéloïdes aviaires et les leucémies des mammifères, à savoir la présence d'un virus chez les uns et son absence chez les autres, est la même que celle qui existe entre les sarcomes aviaires viraux et les sarcomes des mammifères de même type histologique. Nous ne savons pas encore à quel point cette différence est fondamentale. (...) De plus en plus de chercheurs semblent considérer que les virus mis en évidence dans les tumeurs d'origine mésoenchymateuse ne les séparent pas catégoriquement de leurs équivalents chez les mammifères, cependant cette question ne peut être considérée comme résolue. ». Au cours des décennies précédentes, les nombreux travaux portant sur les leucémies et les cancers des animaux et des hommes avaient en effet conduit à rassembler ces affections sur la base des caractéristiques cytologiques des cellules impliquées et de l'association fréquente, spontanée ou provoquée expérimentalement, de leucémies et de tumeurs malignes¹.

Enfin, en 1946, l'hématologue du Collège de France Justin Jolly (1870-1953) présentait la leucémie des poules comme étant due à un virus mais n'admettait pas qu'un micro-organisme puisse être à l'origine d'un cancer ou d'une leucémie de mammifère : « On ne connaît pas la cause des leucémies. On a observé, chez les animaux, des maladies de ce genre, et en particulier la leucémie des poules qui a tous les caractères d'une maladie infectieuse. Les travaux d'Ellermann et Bang ont montré qu'elle était due à un ultra-virus. Mais les leucémies qu'on observe chez les mammifères ne semblent pas dues à un virus filtrant ; le filtrat est inactif et la maladie ne peut être transmise que par l'inoculation de cellules vivantes. On a même pu provoquer des leucémies chez les petits rongeurs avec des carbures synthétiques. Les observations et les expériences qui ont été faites sur les leucémies de l'homme et des mammifères tendent donc plutôt à rapprocher ces maladies des tumeurs malignes ; elles seraient des cancers particuliers des tissus hématopoïétiques ; c'est l'idée qu'exprime le terme de leucosarcomatose par lequel on les désigne souvent aujourd'hui. »².

Cependant, quelques auteurs, rares avant la seconde guerre mondiale, voyaient en l'étiologie virale du cancer un phénomène général. Tel était le cas, aux Etats-Unis, de l'équipe de Peyton Rous et, en France, de Charles Oberling (1895-1960) et de ses collaborateurs à l'Institut du Cancer de Villejuif. En 1941, Peyton Rous proposa une théorie virale du cancer, selon laquelle tous les organismes hébergeaient des « virus masqués », héréditaires, inoffensifs donc non repérables mais qui, soumis à l'action d'un carcinogène, pouvaient muter et rendre les cellules auxquelles ils étaient associés cancéreuses³. Six ans plus tard, Maurice Guérin, de l'Institut du cancer, affirmait que des virus étaient impliqués dans tous les cancers humains et animaux : « la seule différence entre les leucémies ou les tumeurs de l'oiseau et celles des mammifères, c'est que, chez le premier, l'agent déterminant peut être isolé de la cellule sous forme de virus, tandis que, chez les seconds, il est intimement lié à la cellule leucémique ou tumorale et ne peut en être séparé par filtration. »⁴.

¹ Engelbreth-Holm J., *Spontaneous and experimental leukaemia in animals*, trad. C. Heel, Oliver and Boyd, London, 1942, p. 27-28.

² Jolly J., *Le sang dans la vie de l'organisme*, Flammarion, Paris, 1946, p. 222.

³ Creager A., Gaudillière J.-P., « Experimental arrangements and technologies of visualisation : cancer as a viral epidemic », in Gaudillière J.-P., Löwy I., eds., *Heredity and infection*, Routledge, Londres, 2000, p. 213.

⁴ Guérin M., *Recherches expérimentales sur les leucémies et les tumeurs du système réticulo-endothélial*, Rev. Hématol., 2 (1) : p.13-36, 1947, p.34.

L'hypothèse virale gagne les mammifères (1950-1960)

A partir de 1950 et en quelques années seulement, les virus des leucémies et des cancers devinrent l'un des principaux axes de la recherche cancérologique. Raymond Latarjet, directeur du Laboratoire de biologie de l'Institut du Radium, en faisait le constat en 1957 : « Si l'on juge de l'actualité d'un problème scientifique, par l'attraction qu'il exerce sur les jeunes chercheurs, et même sur les chercheurs plus âgés qu'il détourne de leur voie antérieure, ou par le nombre des réunions et publications qui lui sont consacrées, alors le problème de l'étiologie virale de certains cancers est assurément d'actualité. Parmi les néoplasies expérimentales utilisées dans ces recherches, la leucémie lymphoïde de la souris occupe une place de plus en plus importante. »¹.

Trois types d'événements favorisèrent ces recherches. Tout d'abord, la mise en évidence de virus leucémogènes chez la souris par la méthode d'inoculation ouvrit la voie à la découverte de nombreux virus cancérogènes chez les mammifères. Ensuite, la virologie bénéficia de nouvelles techniques physico-chimiques, mises au point au cours des années 1930 et 1940. Elles permirent non seulement de connaître la taille, la masse, la forme et même la structure interne des virions, mais également de démontrer leur rôle étiologique. Enfin, les microbiologistes travaillant sur l'infection des bactéries par les bactériophages formulèrent un nouveau concept sur les relations entre virus et cellules, la lysogénie, qui rendait bien mieux compte du comportement des virus leucémogènes que le concept « classique » de virus.

Indépendamment de ces faits, la piste virale était séduisante parce qu'elle laissait espérer la mise au point rapide d'une thérapeutique anticancéreuse efficace et inoffensive : un vaccin.

La mise en évidence de virus leucémogènes murins par inoculation au nouveau-né

En 1950, Ludwik Gross, du Veterans Administration Hospital à New York, réussit à transmettre une leucémie à des souris de la souche C3H ne présentant pas de leucémies spontanées, en injectant à des nouveaux-nés des extraits d'organes de souris de la souche Ak à fort taux de leucémie spontanée². L'idée d'utiliser des souriceaux nouveaux-nés lui vint de Gilbert Dalldorf, du Département de la santé de l'Etat de New York à Albany, qui lors d'une conférence à laquelle Ludwik Gross assistait, déclara que l'injection du virus Coxsackie ne provoquait une paralysie chez la souris que si elle avait été pratiquée moins de 48 heures après la naissance. L'expérience de Ludwik Gross semblait plus intéressante que celle de Richard Shope puisque le lien entre inoculation et cancer était direct : les souriceaux développaient une leucémie au bout de 15 jours. Cependant, il n'avait pas inoculé un ultra-filtrat mais des cellules. Rien ne permettait donc d'affirmer qu'un virus était impliqué. Ludwik Gross reprit ses manipulations avec des extraits acellulaires. Au bout de 10 à 18 mois, les souris inoculées étaient assez nombreuses à présenter une leucémie pour que les résultats soient significatifs. Ils furent publiés en 1953³.

Ludwik Gross reçut quelques encouragements mais la plupart des cancérologistes ne prirent pas son travail au sérieux, d'autant moins que les tentatives de reproduction de ses expériences, menées au National Cancer Institute (Bethesda, Washington D.C.), à l'Université

¹ Latarjet R., *Leucémie de la souris et virus. La récolte de 1956*, Rev. Hémat., 12 (1) : 7-10, 1957.

² Gross L., *Susceptibility of newborn mice of an otherwise apparently « resistant » strain to inoculation with leukemia*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73 : 26-248, 1950.

³ Gross L., *Biological properties of the mouse leukemia agent*, Cancer, 6 : 153-158, 1953.

de Columbia (New York) et au Jackson Memorial Laboratory (Bar Harbor, Maine), échouèrent : les inoculations aux souriceaux ne changeaient que marginalement l'incidence des leucémies. Ludwik Gross ne s'en étonna pas parce que sur les 80 extraits qu'il avait préparés, il n'avait pu en transmettre que deux de manière stable. L'un des deux étant très actif et supportant le transport, congelé à -70°C , il s'attacha à convaincre ses collègues en leur fournissant souris, filtres et virus¹. Ces résultats furent confirmés à partir de 1955-1956 par Sarah Stewart, du National Cancer Institute, George Woolley, du Sloan-Kettering Institute à New York, et Jacob Furth, le père de la lignée Ak, au Oak Ridge National Laboratory dans le Tennessee².

La technique d'inoculation au nouveau-né permit au cours des années 1950 de montrer l'existence de nombreux autres virus leucémogènes chez les mammifères et en particulier chez la souris. En 1955, Arnold Graffi et ses collaborateurs, de l'Institut de recherches médicales et biologiques de l'Académie allemande des sciences à Berlin, isolèrent un virus leucémogène à partir de tumeurs transplantables non leucémiques³. L'année suivante, Charlotte Friend, au Sloan-Kettering Institute, mit en évidence un virus provoquant des érythroleucémies dans des tumeurs cancéreuses transmises par greffe chez les souris de la souche Swiss⁴. En 1957, l'équipe de S. Schwartz, au Hektoen Institute de Chicago, parvint à extraire un virus à partir de leucémies spontanées de la souris Swiss⁵. Deux ans plus tard, John Moloney, au National Cancer Institute, isola d'un sarcome un nouveau virus leucémogène⁶. Enfin, toujours en 1959, deux virus furent extraits de radioleucémies : le virus de Henry Kaplan, chercheur à l'Université de Stanford en Californie⁷, et le « virus de passage X » de Ludwik Gross⁸.

Les nouveaux outils d'étude des virus

De la fin du 19^{ième} siècle au deuxième quart du 20^{ième} siècle, les deux seules techniques disponibles pour l'étude des virus étaient l'inoculation et la filtration. L'inoculation à des sujets appartenant à une espèce sensible permettait de déceler l'existence d'un virus dans des sécrétions, des humeurs ou des tissus. C'était aussi une méthode de dosage basée sur l'existence d'une quantité minimale de virus, ou plutôt d'une dilution maximale des extraits au delà de laquelle l'infection ne s'établissait plus de façon régulière. Elle indiquait en outre que l'agent de la maladie était un être vivant puisqu'il se multipliait dans son hôte, un être parasite car on ne parvenait pas à le cultiver dans les milieux habituellement utilisés pour les bactéries.

¹ Gross L., *Oncogenic viruses*, Pergamon Press, London, 1970, p. 324-361. Bessis M., *How the mouse leukemia virus was discovered. A talk with Ludwik Gross*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 16 (2) : 287-304, 1976.

² Stewart S., *Neoplasms in mice inoculated with cell-free extracts or filtrates of leukemic mouse tissues. II. Leukemia in hybrid mice produced by cell-free filtrates*, J. Nat. Cancer Inst., 16 : 41-53, 1955. Woolley G., *Small M., Experiments on cell-free transmission of mouse leukemia*, Cancer, 9 : 1102-1106, 1955. Furth J., Buffett R., Banasiewicz-Rodriguez M., Upton A., *Character of agent inducing leukemia in newborn mice*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 93 : 165-172, 1956.

³ Graffi A., Bielka H., Fey F., Scharsach F. Weiss R., *Gehäuftes Auftreten von Leukämien nach injection von Sarkom-filtraten*, Wiener Med. Wsch., 105 : 61-64, 1955.

⁴ Friend C., *The isolation of a virus causing a malignant disease of the hematopoietic system in adult swiss mice*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 2 : 106, 1956.

⁵ Schoolman H., Spurrier W., Schwartz S., Szanto P., *Studies in leukemia. VII- The induction of leukemia in swiss mice by means of cell-free filtrates of leukemic mouse strain*, Blood, 12 : 694-700, 1957.

⁶ Moloney J., *Preliminary studies on a mouse lymphoid leukemia virus extracted from sarcome 37*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 3 : 44, 1959.

⁷ Lieberman M., Kaplan H., *Leukemogenic activity of filtrates from radiation induced lymphoid tumors of mice*, Science, 130 : 387-388, 1959.

⁸ Gross L., *Serial cell-free passage of a radiation activated mouse leukemia agent*, Proc. Soc. Exp. Biol., 100 : 102-105, 1959.

La filtration, quant à elle, permit, dès la fin du 19^{ième} siècle, d'isoler des agents infectieux ultrafiltrables, c'est à dire passant à travers les filtres de porcelaine utilisés pour recueillir les bactéries et invisibles au microscope optique. Ces agents ne furent pas immédiatement appelés « virus », mot latin synonyme de « poison » : Pasteur les nommait « infrabactéries », d'autres qualifiaient de virus des microorganismes plus gros, d'où les expressions « virus filtrants » ou « virus ultrafiltrants ». A partir des années 1920, la filtration permit de déterminer la taille des virus. Les filtres en porcelaine furent remplacés par des filtres en collodion qui, contrairement aux premiers, adsorbaient peu de molécules et étaient donc de perméabilité constante. On évaluait la taille des particules avec une gamme de filtres en collodion dont le diamètre moyen des pores avait été établi par des mesures de vitesse de passage de l'eau à travers le filtre. Vers 1925, la définition d'un virus était devenue un agent responsable d'une maladie infectieuse, parasite, de nature particulière et de taille comprise entre 0.3 et 0.01 microns¹.

Au cours des années 1930 et 1940, furent mises au point de nombreuses techniques d'étude des macromolécules applicables à l'étude des virus : l'électrophorèse, l'étude aux rayons X de molécules cristallisées, l'analyse biochimique, enzymatique, immunologique, l'ultracentrifugation, la culture *in vitro* et le microscope électronique. De l'utilisation simultanée de ces techniques émergea à la fois une définition beaucoup plus précise de la notion de virus et leur légitimation en tant qu'outils d'analyse des macromolécules.

L'électrophorèse fut utilisée dès 1936, en milieu liquide puis sur support solide, pour séparer des particules en fonction de leur masse, de leur forme, de leur charge électrique et de leurs propriétés antigéniques².

Les premiers diagrammes de diffraction aux rayons X de molécules cristallisées datent de la même période. Cette technique fournissait des informations sur la taille et la forme des molécules. Le virus de la mosaïque du tabac, cristallisé grâce à des précipitations fractionnées et des actions enzymatiques ménagées, fut observé aux rayons X en 1936.

Deux types d'ultracentrifugeuses furent mises au point. Premièrement, l'ultracentrifugeuse analytique, de maniement complexe, destinée à la détermination de la masse des macromolécules à partir de la mesure de leur coefficient de sédimentation et de la connaissance préalable de leur volume. En 1937, la masse du virus de la mosaïque du tabac fut ainsi déterminée. Deuxièmement, l'ultracentrifugeuse préparative, d'usage courant dans les laboratoires de biochimie à la fin des années 1950, permit de préparer de grandes quantités de virus³.

Une fois les corpuscules isolés en quantités suffisamment grandes, par voie chimique, par filtration ou centrifugation, il devenait possible d'étudier leur nature chimique et leurs propriétés enzymatiques et antigéniques. Les premiers travaux de ce type portèrent sur de gros virus, comme celui de la vaccine, qui se révélèrent formés de nucléoprotéines et de petites quantités de glucides et de lipides. Les premiers petits virus à avoir été étudiés chimiquement, vers 1935, furent le virus de Shope, celui de la mosaïque du tabac et le bactériophage. Ils étaient aussi formés de nucléoprotéines de grande taille moléculaire. Quant aux études enzymatiques, bien que limitées par les quantités de virus isolé disponibles, elles indiquaient, au début des années 1940, que les virus n'avaient pas de métabolisme propre. En effet, les solutions virales ne contenaient pas de produits de la respiration ni de la fermentation du glucose. La présence d'une phosphatase, enzyme libérant de l'acide phosphorique à partir d'esters phosphorés, avait été signalée, mais aucune des nombreuses déshydrogénases bactériennes n'avait été détectée. Il s'agissait donc d'une forme de parasitisme très poussée, ce

¹ Boivin A., *Bactéries et virus*, PUF, Paris, 1941, p. 115-116.

² Morange M., *Histoire de la biologie moléculaire*, La Découverte, Paris, 1994, p. 124.

³ Gaudillière J.P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002, p. 120-130.

qui s'accordait avec le fait que les virus ne puissent se multiplier qu'en présence de cellules hôtes¹.

L'idée de cultiver des tissus se fit jour à la fin du 19^{ième} siècle chez des anatomistes et des embryologistes. Au début du 20^{ième} siècle, les bactériologistes s'occupant de virus ultrafiltrants, n'ayant pas réussi à les cultiver sur les milieux artificiels classiques, s'intéressèrent également à la culture de tissus. Les premiers essais portèrent sur les virus de la rage et de la vaccine. En 1924, Alexis Carrel, chercheur au Rockefeller Institute, fit proliférer le virus du sarcome de Rous dans des leucocytes. La culture de très nombreux virus se montra possible mais elle avait peu d'intérêt tant que la production était faible et irrégulière. Cette technique ne devint vraiment efficace qu'au début des années 1950, grâce à la trypsination des tissus, une méthode qui permit de séparer les cellules les unes des autres, et à l'utilisation des antibiotiques contre les contaminations bactériennes. Cette nouvelle ère s'ouvrit avec la culture du virus de la polyomyélite, laquelle aboutit à la préparation d'un vaccin². Puis, en 1953, au Caltech, Harry Rubin réussit à cultiver *in vitro* le virus du sarcome de Rous. Et avec son collègue Howard Temin, il montra qu'on pouvait titrer des préparations virales en les étalant dans une boîte de Pétri sur une couche de cellules sensibles et en comptant le nombre de colonies de cellules cancéreuses, chaque colonie étant issue de la transformation d'une cellule par un virion³.

Par ailleurs, à la fin des années 1930, s'ajouta à la panoplie des outils physico-chimiques, le microscope électronique. Cet appareil fournissait des informations sur la taille, la forme et la quantité des particules virales observées. Le premier microscope électronique, très rudimentaire, fut construit en 1930 en Allemagne. A la suite de quoi différents appareils furent développés en Allemagne, en Belgique, en France, aux Pays-Bas, en Suède, au Canada et aux Etats-Unis. Le microscope électronique, de maniement plus complexe que les appareils précédemment cités, se répandit plus lentement dans les laboratoires, restant un instrument de spécialistes. Dans un premier temps, les électronographies de bactéries et de gros virus furent comparés aux résultats de l'observation au microscope optique⁴. En 1939, le grossissement atteignit 25.000 fois et permit d'obtenir des images du virus de la mosaïque du tabac, qui confirmèrent les résultats obtenus par filtration et centrifugation concernant la détermination du diamètre des corpuscules. Les images suscitant des émotions plus fortes que les chiffres et matérialisant les objets, les bactériologistes s'enthousiasmèrent pour ce nouvel appareil. En 1941, André Boivin, chef de service à l'Institut Pasteur, écrivait : « Les résultats précédents, concernant la forme et la taille des molécules du virus de la mosaïque du tabac, viennent de recevoir (1939) la plus brillante des confirmations de la part des savants allemands Kausche, Pfankuch et Ruska, travaillant avec ce merveilleux instrument qu'est le microscope électronique (übermikroskop de Siemens). Les auteurs sont parvenus à voir et à photographier les molécules isolées du virus, sous la forme de bâtonnets ayant les dimensions indiquées plus haut. Il ne paraît pas douteux que le microscope électronique soit appelé à révolutionner toutes nos méthodes d'étude des virus. »⁵.

Par la suite, la microscopie électronique connut de nombreuses améliorations : fixation et déshydratation des échantillons, inclusion dans des résines synthétiques, ombrage métallique qui améliore le contraste, etc. La technique des coupes ultrafines, d'une dizaine de nanomètres, fut élaborée entre 1950 et 1953. Elle permit de connaître l'organisation interne des virus et des cellules, de réaliser des réactions chimiques, enzymatiques ou

¹ Boivin A., *Bactéries et virus*, PUF, Paris, 1941, p. 121-123.

² Waterson A., Wilkinson L., *An introduction to the history of virology*, Cambridge University Press, Cambridge, 1978, p. 67-77. Chastel C., *Histoire des virus, de la variole au Sida*, Editions Boubée, Paris, 1992, p. 69-92.

³ Galperin C., *Virus, provirus et cancer*, Rev. Hist. Sci., 47 (1) : 7-56, 1994.

⁴ Bradbury S., *The evolution of the microscope*, Pergamon Press, 1967.

⁵ Boivin A., *Bactéries et virus*, PUF, Paris, 1941, p. 131.

immunologiques, de localiser les particules virales dans les compartiments cellulaires et de comprendre leur formation¹.

La recherche de virus cancérigènes et leucémogènes au microscope électronique démarra en 1947 lorsque Albert Claude et ses collaborateurs du Rockefeller Institute (New York) observèrent des particules d'aspect viral, c'est à dire des corps ovoïdes d'environ 70 nm de diamètre, dans le cytoplasme de cellules de sarcome de Rous (voir annexe 25)². Les principales équipes à s'engager dans ces travaux furent celles de Keith Porter au Rockefeller Institute, d'Albert Dalton et H. Andervont au National Cancer Institute, de Joseph Beard à l'Université Duke (Durham, Caroline du Nord), de Leon Dmochowski à l'Hôpital Anderson (Houston, Texas), de Ludwik Gross au Veterans Administration Hospital, de Charlotte Friend au Sloan-Kettering Institute, de Shigeyasu Amano à l'Institut de recherche sur les virus de l'Université de Kyoto, de Wilhelm Bernhard à l'Institut du cancer de Villejuif, de Françoise Hagenau au Collège de France, et de Marcel Bessis au Centre national de la transfusion sanguine. Quelques particules d'aspect viral, c'est-à-dire de forme et de taille comparables à des virus purifiés connus, furent décrites dans des cellules de tumeurs mammaires murines et humaines, dans le plasma de poules leucémiques et dans des cellules de patients leucémiques. Cependant les chercheurs n'étaient pas sûrs de la nature virale de ces particules, en particulier parce que les cellules trop épaisses ne laissaient passer les électrons que dans les zones les plus minces de leur cytoplasme, à la périphérie de la cellule. Ces corpuscules pouvaient tout aussi bien être des constituants cellulaires normaux³.

Un nouvel élan fut donné à ces travaux en 1953. D'une part, l'équipe de Wilhelm Bernhard (1920-1978) parvint à reproduire les observations d'Albert Claude⁴. D'autre part, R. Kinoshita et ses collaborateurs observèrent des particules d'aspect viral dans des coupes ultrafines de tumeurs mammaires de souris⁵. Ce dernier résultat fut rapidement confirmé par les équipes d'H. Andervont, Leon Dmochowski et Wilhelm Bernhard.

Une autre étape marquante fut la démonstration en 1955 par l'équipe de Joseph Beard d'une corrélation entre la quantité de particules et l'intensité de la maladie dans la leucémie aviaire. Le même résultat fut obtenu l'année suivante avec le virus de Rous⁶.

Entre 1955 et 1958, la technique des coupes fines et l'augmentation de la résolution des microscopes permirent d'obtenir des images beaucoup plus précises de particules dans le sarcome de Rous, les leucémies aviaires et murines, ainsi que dans le cancer du sein et la leucémie chez l'homme. La multiplication des travaux dans ce domaine aboutit en 1958 à la publication de deux articles de synthèse, dans lesquels la morphologie des différentes particules décrites fut comparée et leur nature virale discutée⁷.

Vers 1960, les virus cancérigènes ou supposés tels avaient la morphologie suivante. En général sphériques, ces corpuscules présentaient un noyau, de densité aux électrons, de forme, de taille et de centralité variables, entouré d'une région plus claire, puis d'une ou plusieurs

¹ Rasmussen N., *Picture control : the electron microscope and the transformation of biology in America, 1940-1960*, Stanford University Press, Stanford, 1997.

² Claude A., Porter K., Pickels E., *Electron microscope study of chicken tumor cells*, Cancer res., 7 (7) : 421-430, 1947.

³ Gross L., *Oncogenic viruses*, Pergamon Press, London, 1970.

⁴ Bernhard W., Dontchieff A., Oberling C., Vigier P., *Corpuscules d'aspect viral dans les cellules de sarcome de Rous*, Bull. cancer, 40 : 311-321, 1953.

⁵ Kinoshita R., Erickson J., Armen D., Dolch M., Ward J., *Electron microscope study of mouse mammary carcinoma tissue*, Exp. Cell. Res., 4 : 353-361, 1953.

⁶ Epstein M., *The identification of the Rous virus ; a morphological and biological study*, Brit. J. Cancer, 10 : 33-40, 1956.

⁷ Bernhard W., *Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses. A review*, Cancer Res., 18 : 491-513, 1958. Dmochowski D., Grey C.E., *Studies on submicroscopic structures of leukemias of known or suspected viral origin. A review*, Blood, 13 : 1017-1042, 1958.

membranes. Leur taille variait de 40 à 500 nm. Ils étaient localisés dans le noyau ou le cytoplasme des cellules et dans les espaces extracellulaires. Enfin, la taille de certains virus et/ou leur structure interne pouvaient varier selon leur localisation cellulaire et leur stade de développement¹. A partir de coupes de tumeurs mammaires murines, Wilhem Bernhard définit plusieurs types de particules : les particules intracytoplasmiques de type A, formées d'un noyau clair et d'une membrane, et les particules extracellulaires de type B, semblables à des particules A entourées d'un peu de cytoplasme et d'un morceau de la membrane cellulaire. L'observation de figures de bourgeonnement lui fit considérer les particules B comme correspondant à un stade de maturation plus avancé que les particules A². Deux ans plus tard, Wilhem Bernhard affina sa classification. Le type A continua à désigner les particules intracellulaires non enveloppées. Le type B fut employé pour les particules extracellulaires enveloppées à nucléocapside excentrée des tumeurs mammaires de la souris. Et les particules extracellulaires enveloppées à nucléocapside centrée des autres tumeurs et leucémies virales furent appelées de type C³.

Au début des années 1950, la plupart des biologistes étaient convaincus que les particules ressemblant à des virus connus décrites par les chercheurs du Rockefeller Institute étaient le virus du sarcome de Rous parce que l'existence de ce virus avait été démontrée par d'autres techniques ; mais rien ne permettait de l'affirmer. Chez les mammifères, l'existence de virus cancérogènes n'était pas une certitude ; on doutait donc de la nature virale des particules observées même si la ressemblance avec les particules du sarcome de Rous les rendait crédibles. Toutefois, ce critère était peu sélectif, d'une part, parce que le calibrage n'était précis qu'à plus ou moins 10%, d'autre part, parce que les techniques de fixation pouvaient modifier légèrement la taille initiale des particules. Les particules d'aspect viral ne pouvaient donc accéder qu'au statut de virus potentiel.

Les électro-microscopistes se trouvèrent en outre confrontés à une situation inattendue : les particules étaient rares chez les sujets malades et on en trouvait aussi chez les sujets sains. En supposant qu'il s'agisse bien d'un agent causal de maladie, il fallait donc aussi envisager l'existence de porteurs sains ou de pré-malades ainsi que la présence de peu de particules dans l'organisme au cours de la maladie. Cette rareté des particules rendait très difficile leur extraction pour inoculation et leur préparation pour le microscope électronique à partir d'un même échantillon, seul moyen de résoudre le problème.

La première association entre une image et un virus cancérogène fut obtenue avec une leucémie aviaire par l'équipe de Joseph Beard en 1955. Dans les années 1950, les recherches sur les leucémies des poules avaient un intérêt vétérinaire non négligeable, en particulier aux Etats-Unis. La « maladie du gros foie » ou lymphomatose aviaire, une leucémie lymphoïde, y était très fréquente dans les élevages industriels de volaille alors en pleine expansion, et représentait pour ce secteur une perte annuelle de plus de 60 millions de dollars⁴. Les leucémies aviaires pouvaient aussi servir de modèle pour l'étude des leucémies et des cancers viraux murins par rapport auxquels elles présentaient plusieurs avantages pratiques. Elles étaient spontanément beaucoup plus fréquentes, la quantité de particules virales présentes dans le sang et les organes était beaucoup plus importante, le temps de latence entre l'inoculation du virus et l'apparition de la maladie était beaucoup plus court (une dizaine de

¹ Dmochowski D., Grey C.E., *Studies on submicroscopic structures of leukemias of known or suspected viral origin. A review*, Blood, 13 : 1017-1042, 1958.

² Bernhard W., *Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses. A review*, Cancer Res., 18 : 491-513, 1958.

³ Bernhard W., *The detection and study of tumor viruses with the electron microscope*, Cancer Res., 20 : 712-727, 1960.

⁴ Rapport du Département américain de l'agriculture, 1955, cité par Gross L., *Oncogenic viruses*, Pergamon Press, London, 1970, p. 163.

jours contre une dizaine de mois chez la souris), et l'âge le plus sensible pour l'inoculation de l'érythroblastose aviaire se situait entre deux et trois semaines, ce qui facilitait grandement l'injection intraveineuse des extraits. Ainsi, Julius Engelbreth-Holm, qui n'avait pas travaillé sur la leucémie de la poule depuis 1936, entreprit de nouvelles recherches en 1951¹. La même année, Joseph Beard publia ses premiers travaux sur la leucose aviaire².

Joseph Beard et ses collaborateurs parvinrent à prouver que les particules isolées à partir du plasma de poulets atteints d'érythromyéloblastose étaient responsables de la leucémie. Cette démonstration combinait le comptage des particules - au microscope électronique ou par une méthode enzymatique - avec des tests d'inoculation et la précipitation des particules par un sérum antiviral spécifique³. Cependant, il fallut encore trois ans et une collaboration avec l'Institut du cancer de Villejuif pour connaître avec précision la structure interne du virus (voir annexe 26)⁴.

Les méthodes des chercheurs de l'Université Duke firent référence. A la fin des années 1950, la preuve de la nature virale des images d'aspect viral nécessitait une corrélation quantitative avec des tests biologiques. Par exemple, en 1956, Leon Dmochowski expliqua à Marcel Bessis qu'il avait étudié la corrélation entre les tests biologiques et les images de tumeurs mammaires murines et que ses expériences ne permettaient pas de conclure que « l'agent du lait » était responsable de ces tumeurs. Il pouvait s'agir, disait-il, d'un virus n'ayant aucun rapport avec le cancer⁵.

Dans leurs revues de synthèse publiées indépendamment en 1958, Leon Dmochowski et Wilhelm Bernhard incitaient à la prudence en termes d'interprétation des images. Le premier écrivait que « l'observation de particules d'aspect viral dans des tissus tumoraux n'implique absolument pas que ces particules soient des agents spécifiquement liés avec ce type de cancer »⁶ et le second recommandait de réserver le terme « virus » aux quelques particules ayant été identifiées expérimentalement comme étant des agents cancérigènes et de qualifier par l'expression déjà largement utilisée de « particules d'aspect viral » les nombreux autres éléments vus dans toutes sortes de tumeurs. Il ajoutait : « Souvenons-nous du nombre de bactéries extraites de cancers par le passé et dont on pensait qu'elles avaient directement à voir avec la maladie. »⁷.

L'influence de la lysogénie

Dans les années 1920, une forme d'infection virale héréditaire fut mise en évidence. Premièrement, certaines bactéries se montrèrent capables de produire un virus responsable de leur lyse, le bactériophage, sans qu'il y en ait eu auparavant dans leur milieu de culture. Cette propriété était transmissible par division cellulaire. Le phénomène fut baptisé « lysogénie ». Deuxièmement, le virus de la mosaïque du tabac pouvait se comporter comme un gène une fois entré dans les cellules végétales.

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Engelbreth-Holm J., 24.01.1951.

² Creager A., Gaudillière J.-P., « Experimental arrangements and technologies of visualisation : cancer as a viral epidemic », in Gaudillière J.-P., Löwy I., Eds., *Heredity and infection*, Routledge, Londres, 2000, p.220.

³ Pour un résumé des nombreuses publications voir Beard J., *Etiology of avian leukosis*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 68 : 473-486, 1957.

⁴ Bernhard W., Bonar R., Beard D., Beard J., *Ultrastructure of the viruses of myeloblastosis and erythroblastosis isolated from the plasma of leukemic chickens*, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 97 : 48-52, 1958.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Dmochowski L., 28.05.1956.

⁶ Dmochowski L., Grey C.E., *Studies on submicroscopic structures of leukemias of known or suspected viral origin. A review*, Blood, 13 : 1017-1042, 1958, p. 1020.

⁷ Bernhard W., *Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses. A review*, Cancer Res., 18 : 491-513, 1958, p. 505.

Au cours des années 1930 et 1940, on chercha à savoir si les bactériophages se multipliaient lentement dans les cellules ou s'ils y résidaient sous une forme indécélable jusqu'à ce qu'ils soient produits par la machinerie cellulaire. Dans ce dernier cas, la forme intracellulaire du bactériophage, qui serait bientôt appelée « probactériophage » puis « prophage », pouvait être un gène exprimé par la bactérie¹. Dans un ouvrage de haute vulgarisation en microbiologie, André Boivin, de l'Institut Pasteur, envisageait que certains virus puissent correspondre à des gènes. Après avoir expliqué que les plus petits des virus semblaient tous constitués de nucléoprotéines pures, qu'ils avaient des dimensions comparables aux gènes de la drosophile, et qu'ils étaient capables de mettre en action à leur profit des chantiers cellulaires où ne s'édifiaient habituellement que des protéines normales, il concluait : « Vivant au contact intime de la machinerie de la cellule-hôte et l'utilisant à son profit, le micro-organisme ne pourra-t-il pas subir une dégradation ayant pour ultime terme la seule persistance d'une nucléoprotéine-gène devenant, par la même, une nucléoprotéine-virus ? La capacité qu'ont les nucléoprotéines-virus de pouvoir se modifier quelque peu dans leur constitution et dans leurs propriétés (virulence, etc.) se rattacherait alors à la capacité de variation que possèdent les gènes et qui est à l'origine des mutations des êtres supérieurs. (...) Pures théories que tout cela, dira-t-on ! C'est absolument évident. Mais en faisant des hypothèses et même des hypothèses très hardies, pour tenter d'expliquer ce qu'il est donné d'observer, on ne sort nullement de la Science. »².

Par ailleurs, Richard Shope introduisit, en 1937, la notion de « virus masqué » à propos de son agent dont la présence dans les tumeurs n'était pas attestée par les tests d'inoculation mais par des méthodes immunologiques. Plus précisément, les extraits de tumeurs de lapin sauvage provoquaient des tumeurs chez le lapin domestique mais des extraits de ses dernières n'induisaient pas de tumeurs lors du passage à un nouveau lot de lapins domestiques. Toutefois l'administration d'extraits de tumeurs de lapins sauvages à ce second lot de lapins n'avait pas non plus d'effet ; ils semblaient immunisés contre l'agent cancérogène³.

En 1949, le terme « provirus » fut introduit pour désigner les virus qui, comme le virus de Shope ou l'agent du sarcome de Rous, étaient transmissibles de cellule à cellule par division et dont l'effet pathogène ne s'exprimait pas toujours.

Dans les années 1950, les microbiologistes cherchèrent à savoir si le prophage était intégré au matériel génétique de la bactérie ou s'il s'agissait plutôt d'une forme d'hérédité cytoplasmique. Ils se demandèrent aussi comment était déclenchée la production des virions. Pour répondre à ces questions, ils avaient recours à l'analyse génétique des croisements entre bactéries de souches différentes.

Concernant les provirus, par contre, on en était toujours au stade des hypothèses. En 1953, André Lwoff, de l'Institut Pasteur, jugeait possible que, dans des cellules potentiellement malignes, le déclenchement du développement de l'agent cancéreux soit comparable au déclenchement de la formation des phages à partir du prophage chez les bactéries lysogènes⁴. Mais six ans plus tard, ses collègues Elie Wollman et François Jacob faisaient état de la faiblesse des recherches dans ce domaine : « Les affections latentes à virus constituent l'un des domaines les plus intéressants de la virologie, mais aussi l'un des moins connus. »⁵.

¹ Galperin C., *Virus, provirus et cancer*, Rev. Hist. Sci., 47 (1) : 7-56, 1994.

² Boivin A., *Bactéries et virus*, PUF, Paris, 1941, p. 142-143.

³ Creager A., Gaudillière J.-P., « Experimental arrangements and technologies of visualisation : cancer as a viral epidemic », in Gaudillière J.-P., Löwy I., eds., *Heredity and infection*, Routledge, Londres, 2000, p. 203-241.

⁴ Galperin C., *Virus, provirus et cancer*, Rev. Hist. Sci., 47 (1) : 7-56, 1994.

⁵ Wollman E., Jacob F., *La sexualité des bactéries*, Masson, Paris, 1959, p. 221.

Chez les cancérologues, les avis étaient partagés quant à l'existence de virus cancérigènes latents, cachés ou « masqués », selon le terme proposé par Richard Shope en 1932.

En 1950, Charles Oberling, de l'Institut du cancer de Villejuif, jugeait probable l'intervention d'un phénomène de latence virale dans la leucémie : « Si l'on admet l'ubiquité des virus, l'existence d'infections virusiennes latentes, - et de plus en plus on est obligés de l'admettre, - la présence de corpuscules virus dans des cellules normales n'a rien de particulièrement choquant. »¹.

Joseph Beard, par contre, s'opposa en 1956 à la théorie du virus masqué. Selon lui, la détection du virus et le déclenchement de la cancérisation dépendaient simplement de la quantité de virus présents dans l'organisme².

Leon Dmochowski semblait indécis en 1958. Après avoir dit que les leucémies de la poule et de la souris semblaient transmises à l'embryon et que des leucémies venaient d'être induites par l'injection d'extraits acellulaires provenant de tissus normaux de souris à fort taux de leucémies spontanées, il ajoutait : « Il reste toujours à prouver que ces observations résultent de la stimulation d'un virus latent. »³.

La même année, Ludwik Gross attribuait l'initiation de la cancérogénèse à l'activation de virus oncogènes latents par des radiations, des hormones ou des agents chimiques et comparait ce phénomène au déclenchement de la lyse des bactéries par activation du prophage⁴.

Enfin, Marcel Bessis, après avoir ignoré pendant dix ans l'hypothèse du virus masqué dans ses publications, l'évoqua finalement à propos de la leucémie de la souris Ak : « Les particules virales se trouvent dans les espaces intercellulaires ou dans le cytoplasme de cellules en voie de lyse. Nos observations cadrent avec celles de Amano, selon qui certains types de virus cancérogènes ne seraient vus que sur la surface des cellules. Ces virus seraient inapparents lorsqu'ils se trouvent à l'intérieur de la cellule. (...) L'absence de particules virales visibles dans les cellules au microscope électronique n'a pas grande signification, puisque nous avons vu que chez la souris Ak, où l'on est certain de l'intervention d'un virus, cet agent n'est pratiquement jamais vu dans les cellules. »⁵.

L'étude des leucémies virales des mammifères

Pour pouvoir détecter un virus, il fallait commencer par le caractériser, c'est à dire lui attribuer des propriétés morphologiques, biochimiques, immunologiques, etc., et les relier à son effet sur les cellules ou l'organisme cible, de manière à s'assurer que les particules décrites par différents tests soient bien l'agent responsable de la maladie. La comparaison des caractéristiques des différents virus leucémiques murins permettrait de dégager des propriétés communes utilisables pour la recherche de virus leucémiques chez d'autres mammifères.

Dans le but de neutraliser le virus, deux types de travaux étaient envisageables : l'étude de sa sensibilité à différents facteurs physico-chimiques, utile pour l'élimination du virus hors

¹ Bernhard W., Braunsteiner H., Febvre H.-L., Harel J., Klein R., Oberling C., *Morphologie des cellules leucémiques au microscope électronique*, Rev. Hématol., 5 : 746-763, 1950, p. 750.

² Beard J., *The Fallacy of the Concept of Virus "Masking": A Review*, Cancer Res., 16: 279-291, 1956.

³ Dmochowski D., Grey C.E., *Studies on submicroscopic structures of leukemias of known or suspected viral origin. A review*, Blood, 13 : 1017-1042, 1958, p. 1018.

⁴ Galperin C., *Virus, provirus et cancer*, Rev. Hist. Sci., 47 (1) : 7-56, 1994.

⁵ Bessis M., Thiery J.P., *Etudes au microscope électronique sur les leucémies humaines II- les leucémies lymphocytaires. Comparaison avec la leucémie de la souris de souche Ak*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (3) : 387-414, 1962, p. 411-412.

de l'organisme, et l'étude de son cycle de développement cellulaire, de manière à chercher des facteurs bloquant l'action du virus chez l'animal. Dans les deux cas, il était nécessaire de disposer de grandes quantités de virus. L'analyse du cycle du virus requérait en outre de travailler au niveau cellulaire. La première tâche du laboratoire consista à trouver au moins un virus leucémogène, des cellules sensibles à ce virus et à obtenir une production régulière et suffisante de virions.

Trois virus leucémogènes aviaires, très souvent associés au virus du sarcome de Rous, étaient disponibles, ainsi qu'une dizaine de virus murins¹. L'équipe de Michel Boiron avait tout intérêt à travailler sur les virus murins. Il paraissait difficile de rivaliser avec les groupes américains ayant déjà une longue expérience des virus aviaires. Et surtout, les virus de la souris étaient sûrement plus proches des éventuels virus humains que les virus de la poule.

La mise au point d'un système de culture *in vitro* de virus leucémogène murin

Le choix du virus de Rauscher

D'août à décembre 1962, Michel Boiron se rendit aux Etats-Unis afin de s'informer des progrès dans le domaine des virus cancérigènes. Il séjourna au National Cancer Institute, d'où il ramena le virus que venait d'isoler Frank Rauscher, puis chez Charlotte Friend au Sloan-Kettering Institute².

Le virus de Rauscher se répandit rapidement dans les laboratoires, non parce que la maladie qu'il provoquait était très proche de la leucémie humaine, mais parce qu'il était bien plus maniable que les autres virus leucémiques murins disponibles. P. Jullien, de l'Institut du Radium (Paris), le décrivait ainsi : ce virus « est remarquable par la régularité de son pouvoir pathogène, par la brièveté du temps de latence s'écoulant entre l'inoculation à l'animal et l'apparition de signes cliniques permettant le diagnostic de la leucose, et aussi par le titre infectieux très élevé du plasma des animaux infectés et des filtrats de tissus leucosiques. C'est en quelque sorte un outil de travail plus maniable que les virus leucémiques déjà connus »³. Les trois caractéristiques décrites par P. Jullien furent en effet les raisons du choix de ce virus par Michel Boiron : « la maladie causée par ce virus est très caractéristique par son évolution en deux temps dont le premier est marqué par une hypertrophie splénique considérable. C'est la précocité d'apparition de cette splénomégalie et la haute virulence de la souche que nous possédons qui ont déterminé à choisir le virus de Rauscher pour ce travail. Le test biologique est en effet beaucoup plus rapide avec lui qu'avec les virus de Gross, Moloney etc. »⁴.

Dans un premier temps, Michel Boiron et ses collaborateurs s'attachèrent à cultiver le virus *in vivo*, selon la méthode mise au point par Ludwik Gross (voir annexe 27), et à élaborer une méthode de titration *in vivo* qui servirait plus tard à évaluer la production virale *in vitro* et à établir une méthode de titration *in vitro*.

¹ Lévy J.P., Périès J., *La culture in vitro des virus leucémigènes*, Path. Biol., 12 : 1158-1161, 1964.

² Fonds Bessis, correspondance avec Boiron M., 09.05.1962. Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, correspondance de J. Bernard avec M. Boiron, 1962. Rauscher F., *A virus induced disease of mice characterized by erythrocytopoiesis and lymphoid leukemia*, J. Nat. Cancer Inst., 29 : 515-543, 1962.

³ P. Jullien, *Les virus leucémiques en France*, Concours méd., 86 (48) : 6803-6809, 28.11.1964, p. 6806.

⁴ Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, « Etude virologique de l'agent responsable de la leucémie murine de Rauscher », 1964.

Michel Boiron s'était déjà essayé à l'inoculation d'extraits acellulaires à des souriceaux nouveaux-nés lorsqu'il travaillait sur le déclenchement par irradiation totale du « principe leucémogène » à transmission verticale des souris RF¹.

Le virus de Rauscher fut inoculé à des rats Wistar CF et à des souris Balb/c, C3H et C57Bl, chez les deux sexes et à des âges différents. Ces expériences montrèrent que le type d'hémopathie maligne provoquée par ce virus dépendait de la souche de souris ou de rat à laquelle il était inoculé : chez la souris Balb/c, il provoquait une érythroleucémie typique à point de départ hépato-splénique, chez la souris C57Bl, une leucémie myéloblastique à début médullaire et, chez le rat, une leucémie lymphoïde à point de départ thymique². Les souris Balb/c d'un jour furent les plus sensibles à l'inoculation du virus, et ce quel que soit leur sexe.

Une description précise de la maladie fut réalisée : 120 souris de cette souche inoculées par le virus de Rauscher furent sacrifiées à intervalle régulier entre le troisième jour et le cinquième mois de la maladie. Chaque animal fit l'objet d'une étude cytologique complète, comprenant une numération des cellules sanguines et la réalisation de frottis de moelle, de rate, de ganglions et de thymus. Une étude histologique de tous les organes de chaque animal fut également pratiquée. La mise en évidence d'une phase initiale érythropoïétique, que les chercheurs qualifièrent d'état préleucémique, permit de déceler plus précocément la maladie chez l'animal.

Une étude au microscope électronique du cycle reproductif du virus de Rauscher au niveau de l'organisme montra que toutes les cellules de cette souche de souris étaient sensibles à l'infection et pouvaient donc être utilisées *in vitro*. L'observation systématique de coupes d'organes et de cellules sanguines fut réalisée sur des animaux sacrifiés à différents temps après l'inoculation du virus. Ils montrèrent que le virus était tout d'abord produit préférentiellement par les mégacaryocytes et les cellules réticulaires ainsi que, plus accessoirement, par les érythroblastes. On pouvait l'observer, dans le sang et la rate, quatre à cinq jours après l'inoculation. Puis, il était visible dans le foie, le thymus et les ganglions. Enfin, après trois semaines, il était présent dans tous les organes³.

Pour mettre au point la technique de titration, ils utilisèrent 10 animaux, pour chaque dilution de virus inoculée, et déterminèrent le niveau d'infection à la fois par une étude histologique et par la palpation et la mesure du poids de la rate de l'animal, au 28^{ième} ou au 90^{ième} jour après l'inoculation. Les résultats indiquèrent qu'il suffisait d'utiliser des femelles de souris Balb/c de 35 à 42 jours, de poids homogénéisés et de baser la titration uniquement sur la pesée des rates, 28 jours après l'inoculation. Le résultat du dosage par inoculation prenait pour valeur la dilution maximale provoquant encore 100% de leucémie chez Balb/c⁴. Puis, ils utilisèrent la méthode, dite de Reed et Muench, basée sur la détermination de la dose efficace 50 (DE50) définie comme étant la dose de virus provoquant une splénomégalie d'au moins 160 mg chez 50% de femelles Balb/c inoculées à 1 mois et sacrifiées 28 jours plus tard⁵.

Indépendamment de son intérêt pour le dosage du virus, l'étude approfondie de la leucémie de Rauscher permit quelques expériences visant à mieux comprendre le phénomène

¹ Gosse C., Bernard C., Paoletti C., Boiron M., *Fréquence des lymphosarcomes thymiques dans la descendance de souris RF irradiées avant l'accouplement*, C. R. Acad. Sci., 251 : 2254, 1960.

² Lévy J.P., Boiron M., Lasneret J., Oppenheim S., *Histogénèse des leucémies induites par le virus de Rauscher*, C. R. Acad. Sci., 260 : 3511-3514, 1965. Boiron M., Lévy J.P., Lasneret J., Oppenheim S., Bernard J., *Pathogenesis of Rauscher Leukemia*, J. Nat. Cancer Inst., 35 : 865-884, 1965.

³ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1964. Silvestre D., Lévy J.P., Leclerc J.C., Boiron M., *Etude ultrastructurale du cycle du virus de Rauscher chez la souris*, Path. Biol., 14 : 559-564, 1966.

⁴ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1964.

⁵ Bernard C., Silvestre D., Tanzer J., Périès J., Boiron M., *Analyse d'une lignée cellulaire produisant de façon continue le virus leucémique de Rauscher in vitro*, Exp. Cell. Res., 40 : 513-526, 1965.

leucémique en général ; l'étude des animaux splénectomisés permit notamment d'affirmer le caractère primitif de l'atteinte hépatique¹.

La quantité de virions présents dans du plasma de souris leucémiques fut évaluée à la fois par inoculation et par numération au microscope électronique. Ils mirent en évidence une relation de proportionnalité entre le nombre de particules et le titre des échantillons. Ceci constituait une confirmation de leur méthode de titration *in vivo* et permettait en outre de comparer la virulence de différents virus ou souches de virus en rapportant le titre de l'extrait au nombre de particules. L'association de la microscopie électronique et de la titration *in vivo* fut ensuite utilisée pour comparer la virulence des virus cultivés *in vivo* à celle des virus cultivés *in vitro*².

Des cultures *in vitro* réussies...

Les premières cultures *in vitro* de virus leucémiques murins avaient été obtenues vers 1960 avec le virus de Moloney, par l'équipe de Robert Manaker, au National Cancer Institute³, et indépendamment par H. Ginsburg et Leo Sachs, à l'Institut des sciences Weizmann de Rehovoth en Israël⁴. En 1962, l'équipe de Jacob Furth réussit quant à elle à cultiver le virus de Gross⁵.

Michel Boiron et ses collaborateurs avaient déjà cultivé des virus *in vitro*, en collaboration avec des chercheurs de l'Institut Pasteur. En 1960, ils avaient utilisé l'adénovirus 4, cultivé dans des cellules de la lignée humaine cancéreuse Hela, pour mettre au point des techniques d'extraction, de dosage, d'analyse et d'injection à l'animal d'acides nucléiques⁶. L'année suivante, ils avaient recommencé avec le virus SV40 dans des cellules de rein de singe et avec le virus polyome dans des cellules de rein de rongeur⁷.

Pour le virus de Rauscher, ils essayèrent les deux types de culture *in vitro* disponibles. Les virus étaient cultivés soit dans des cellules prélevées sur des animaux malades soit dans des cellules saines, infectées après leur mise en culture. Dans le but d'obtenir une production de virus rapide, importante et constante, le premier type de culture ne présentait pas d'intérêt puisqu'il était nécessaire d'infecter puis de sacrifier des animaux. Il ne permettait donc ni un gain de temps, la maladie mettant un certain temps à se manifester chez l'animal, ni une multiplication du virus supérieure à celle obtenue *in vivo*, le nombre de cellules productrices prélevées étant nécessairement inférieur au nombre total de cellules productrices de l'organisme malade. L'emploi de cellules saines représentait par contre une double économie, en temps et en animaux. En animaux, parce qu'on savait multiplier *in vitro* les cellules elles-mêmes. En temps, parce que quelques jours suffisaient pour qu'un virus se multiplie et puisse être « passé » (ensemencé) sur un autre lot de cellules et s'y reproduire.

¹ Lasneret J., Oppenheim S., Lévy J.P., Boiron M., *Influence de la splénectomie sur l'évolution de la leucémie de Rauscher chez la souris*, Path. Biol., 14 : 1178-1184, 1966.

² Lévy J.P., Silvestre D., Leclerc J.C., Boiron M., *Quantitative electron microscope investigations on Rauscher virus*, Virology, 29 : 681, 1966.

³ Manaker R., Strother P., Miller A., Piczak C., *Behavior in vitro of a mouse lymphoid leukemia virus*, J. Nat. Cancer Inst., 25 : 1411-1419, 1960.

⁴ Ginsburg H., Sachs L., *In vitro culture of a mammalian leukemia virus*, Virology, 13 : 380-382, 1961.

⁵ Iaochim A., Furth J., *Intrareticular cell multiplication of leukaemic lymphoblast in thymic tissue cultures*, J. Nat. Cancer Inst., 32 : 339, 1962.

⁶ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapports d'activité du CRLMS pour 1960 et 1961.

⁷ Boiron M., Paoletti C., Thomas M., Rebière J.P., Bernard J., *Acide désoxyribonucléique infectieux extrait de cultures de cellules de rein de singe Babouin infectées par le virus SV40*, C.R. Acad. Sci., 254 : 2097, 1962. Paoletti C., Orth G., Boiron M., Lamonthezie N., Atanasiu P., *Etude sur l'extraction et le pouvoir infectieux in vitro de l'acide désoxyribonucléique du virus polyome*, Ann. Inst. Pasteur, 104 : 717, 1963.

Les chercheurs du laboratoire utilisèrent des cellules de reins de souris et des cellules de fibroblastes embryonnaires, déjà infectées lors du sacrifice de l'animal et provenant de souris de souche C3H et Balb/c¹. Parallèlement, ils inoculèrent *in vitro* des cellules saines de reins de souris et des fibroblastes sains embryonnaires. La quantité de virus produit en culture fut évaluée par l'injection du surnageant à des souris sensibles et l'observation de l'apparition de leucémies. Le virus de Rauscher se multiplia dans les cellules de rein saines mais la quantité de particules rejetées dans le milieu de culture fut plus faible que lors de la mise en culture de cellules déjà virosées². Ce résultat ne répondait pas aux objectifs initiaux, à savoir la mise au point d'un système virus-cellule expérimentalement exploitable. Ils tentèrent d'améliorer le rendement viral des cultures en modifiant la composition du milieu, la température, la date des inoculations ainsi qu'en y ajoutant divers extraits tissulaires³. Mais ces essais ne furent pas couronnés de succès. La production virale n'était ni assez durable ni assez abondante pour pouvoir « passer le virus », autrement dit récupérer de quoi infecter d'autres cellules⁴.

En 1964, le Dr Wright et Mme Lasfargues, du John Smith Memorial for Cancer Research (Maywood, New Jersey), établirent une lignée cellulaire, la lignée JLS V6, à partir d'une co-culture de cellules de rate et de thymus de souris Balb/c normales. Cette lignée fut infectée à son sixième passage par le virus de Rauscher et se mit alors à le produire en grande quantité et de façon continue, donnant ainsi naissance à la lignée JLS V5⁵.

Les deux lignées furent confiées par leurs auteurs à Michel Boiron en avril 1964. Elles subirent dans le Département d'hématologie expérimentale une étude approfondie : cytologique, caryotypique, ultrastructurale, cinétique, immunologique, etc. La lignée JLS V6 se montra capable de produire le virus après inoculation mais en faible quantité, comme les cellules qu'ils avaient utilisées auparavant. La lignée JLS V5 continua à produire le virus. L'observation au microscope électronique des cellules et des surnageants de culture révéla une production virale abondante et continue. Cette lignée cellulaire avait cependant un défaut ; elle contenait une souche de virus d'« infectiosité »⁶ réduite par rapport au virus extrait du sang de souris leucémiques. Ces deux souches virales étaient par ailleurs semblables. Les particules présentaient le même aspect en microscopie électronique, avaient la même densité, la même constante de sédimentation et le même pouvoir antigénique. Mais pour deux extraits ayant la même richesse en virions, le titre mesuré *in vivo* était très différent⁷. Le virus cultivé *in vitro* était 1000 à 10.000 fois moins leucémogène que le virus propagé *in vivo*⁸.

Cette différence de virulence devint un objet d'investigation, non seulement parce qu'elle représentait un frein à la culture *in vitro* du virus, mais également parce que les

¹ Périès J., Lévy J.P., Boiron M., Bernard J., *Multiplication of Rauscher Virus in cultures of mouse kidney cells*, Nature, 203 : 672-673, 1964.

² Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS en 1963. Lévy J.P., Bernard C., Chenaille P., Boiron M., *Comparaison du virus de Rauscher obtenu en culture de tissus et de ce même virus extrait du sang de souris leucémiques*, C. R. Acad. Sci., 1964.

³ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1964.

⁴ Lévy J.P., Périès J., *La culture in vitro des virus leucémigènes*, Path. Biol., 12 : 1158-1161, 1964.

⁵ Wright B., Lasfargues J., *Multiplication of the Rauscher leukemia virus in a mixed culture of mouse spleen and thymic cells*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 5 : 70, 1964.

⁶ Ce terme semble toujours avoir été utilisé avec un sens très vague, désignant simplement la capacité à produire une progéniture virale. Il aurait la même signification que l'adjectif infectieux employé dans les expressions « virus infectieux » et « ADN infectieux ». Par contre, on qualifiait de cellules « infectées » des cellules dans lesquelles un virus a pénétré, sans qu'il s'y soit forcément reproduit.

⁷ Bernard C., Sivestre D., Tanzer J., Périès J., Boiron M., *Analyse d'une lignée cellulaire produisant de façon continue le virus leucémique de Rauscher in vitro*, Exp. Cell. Res., 40 : 513-526, 1965. Silvestre D., Lévy J.P., Bernard C., Boiron M., *Etude au microscope électronique d'une souche cellulaire chroniquement infectée par le virus de Rauscher*, Journal de microscopie, 4 : 705-713, 1965.

⁸ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1966.

chercheurs soupçonnaient la présence, dans le milieu de culture, d'un inhibiteur de la multiplication, à partir duquel des applications médicales pourraient être envisagées. Une autre explication possible était la production d'un virus de type incomplet¹. L'intervention d'un inhibiteur était suggérée par le fait que les surnageants prélevés au deuxième jour de culture avaient dans certains cas un titre viral nettement supérieur aux surnageants récoltés au cinquième ou sixième jour².

...Mais un virus indétectable

Des cultures *in vitro* furent obtenues, entre 1957 et 1964, pour presque tous les virus leucémigènes. Cependant, les résultats n'étaient jugés satisfaisants que dans le cas de la myéloblastose aviaire : la production virale, importante, durait plusieurs mois et le virus pouvait être titré grâce à la transformation maligne des cellules infectées, à son action déphosphorylante sur l'ATP, à l'interférence avec le virus de Rous, et par immunofluorescence³. Grâce à ces marqueurs du virus en culture, le cycle viral, la cible, les conditions de multiplication *in vitro* et *in vivo*, les propriétés physico-chimiques et les courbes d'inactivation avaient été déterminées pour le virus de Rous et celui de la myéloblastose aviaire⁴.

Les marqueurs viraux recherchés par l'équipe de Michel Boiron, parfois en collaboration avec les immunologistes de l'institut, furent l'effet cytopathogène, l'effet transformant, l'hémagglutination, l'hémadsorption, l'interférence avec des virus banaux, la production d'interféron et la présence d'antigènes spécifiques.

Le moyen le plus simple de détecter le virus en culture aurait été l'observation de modifications morphologiques des cellules infectées, par analogie avec les modifications histologiques utilisées pour déceler la multiplication du virus *in vivo*. Deux types de modifications morphologiques étaient distinguées. L'effet cytopathogène, caractéristique des virus banaux, correspondait à des modifications structurales conduisant à la mort de la cellule. L'effet transformant, décrit pour le virus de Rous, désignait la croissance rapide et multidirectionnelle, assimilée à une transformation maligne, des cellules infectées. Habituellement, les cellules en culture dans une boîte de Pétri ne se divisaient qu'horizontalement et dans les directions où elles n'étaient pas en contact avec d'autres cellules. Avec le virus de Rauscher, aucune modification morphologique des cellules infectées ne fut observée *in vitro*⁵. Le virus de Rauscher adoptait avec ses cellules cibles un « état d'équilibre »⁶. Ce type de relations entre un virus et ses cellules hôtes avait été décrit en 1955 par Renato Dulbecco, du Laboratoire des virus de l'Université de Californie à Berkeley⁷.

En 1963, les chercheurs du laboratoire s'attachèrent alors à reproduire les expériences de Ludwik Gross et de l'équipe de Charlotte Friend révélant des propriétés hémagglutinantes

¹ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1964.

² Bernard C., Silvestre D., Tanzer J., Périès J., Boiron M., *Analyse d'une lignée cellulaire produisant de façon continue le virus leucémique de Rauscher in vitro*, Exp. Cell. Res., 40 : 513-526, 1965.

³ Vogt P., Rubin H., *Studies on the assay and multiplication of avian myeloblastosis virus*, Virology, 19 : 92-104, 1963.

⁴ Lévy J.P., Périès J., *La culture in vitro des virus leucémigènes*, Path. Biol., 12 : 1158-1161, 1964.

⁵ Périès J., Lévy J.P., Boiron M., Bernard J., *Multiplication of Rauscher Virus in cultures of mouse kidney cells*, Nature, 203 : 672-673, 1964.

⁶ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1966, p. 15.

⁷ Dulbecco R., *Characteristics of virus-cell complexes*, Am. J. Med., 38 : 669, 1955.

de leurs virus respectifs¹. Ils testèrent en outre les virus de Rauscher et de Moloney. Ce test de détection reposait sur l'agglutination de globules rouges, formant alors des amas rouges visibles à l'œil nu, au contact de certains virus. Jorge Périès connaissait bien ce type d'expériences puisqu'en 1960, au cours d'un séjour dans le laboratoire du professeur C. Chany, à l'Institut Pasteur, il avait décrit les propriétés hémagglutinantes du virus de la rougeole². Concernant les virus leucémogènes murins, les hémagglutinations furent confirmées par les chercheurs de l'IRLMS. Cependant, ils montrèrent que cette propriété n'était pas spécifique des cellules virosées³. Non seulement, le phénomène était imprévisible, mais il pouvait être obtenu avec des extraits chauffés de tissus normaux. Il n'était donc pas possible d'utiliser ce test pour détecter le virus en culture. Il semble avoir été assez rapidement exclu de la panoplie de détection des virus⁴.

Un autre test faisait appel aux globules rouges : l'hémadsorption. Ce test était lié à la capacité de fixation des globules rouges de certaines espèces sur certaines cellules productrices de virions. L'équipe de Michel Boiron étudia ce phénomène sur des cellules de rein de souris infectées par le virus de Rauscher, avec des globules rouges de souris et de rat⁵, puis sur les cellules JLS V5, avec des érythrocytes de hamster, de cobaye, de poule et d'homme, à différents pH et différentes températures. Aucune hémadsorption ne fut observée⁶.

La technique d'interférence virale consistait, quant à elle, à mettre en évidence la présence d'un virus par sa capacité à entraver la multiplication d'un autre virus, ce dernier ayant, lorsqu'il est seul, un effet morphologique sur les cellules dans lesquelles on s'apprête à rechercher le premier. Ce procédé avait permis en 1961 la détection de virus leucémogènes aviaires par interférence avec le virus du sarcome de Rous⁷. En 1964, les chercheurs de l'IRLMS avaient traqué en vain une interférence entre, d'une part, le virus de Rauscher et, d'autre part, le virus de la vaccine, le virus Sindbis ou le virus de l'encéphalomyocardite⁸.

Un autre moyen de détection du virus reposait sur la recherche d'une production d'interféron par les cellules infectées. Le terme « interféron » avait été introduit en 1957 par A. Isaacs et J. Lindenmann pour désigner une substance produite par des œufs embryonnés de poule, infectés par le virus de la grippe inactivé par la chaleur. Cette substance était capable de prévenir la multiplication d'autres virus infectieux dans des cellules aviaires, à condition que ces cellules aient été mises en contact avec l'interféron avant que le virus ne leur soit administré⁹. Les chercheurs de l'IRLMS se demandèrent si les cellules infectées par le virus de Rauscher produisaient de l'interféron. Ils ne décelèrent aucune substance antivirale de ce

¹ Gross L., *Agglutinating action of heat-inactivated passage A mouse leukemia filtrates on mouse red blood cells*, Proc. Soc. Exp. Bio. Med., 101 : 113-117, 1959. Rapp F., Steinglass M., Friend C., *Hemagglutination by Swiss mouse leukemia virus*, Bact. Proc., V21 : 134, 1962.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, Echange d'informations entre le directeur de l'institut et J. Périès, note de Jean Bernard, 06.03.1963.

³ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1963 et 1964.

⁴ Boiron M., Lévy J.P., Périès J., *In vitro investigations on murine leukemia viruses*, Progr. Med. Virol., 9 : 347-391, 1967.

⁵ Périès J., Lévy J.P., Boiron M., Bernard J., *Multiplication of Rauscher Virus in cultures of mouse kidney cells*, Nature, 203 : 672-673, 1964.

⁶ Boiron M., Lévy J.P., Périès J., *In vitro investigations on murine leukemia viruses*, Progr. Med. Virol., 9 : 347-391, 1967.

⁷ Rubin H., *The nature of a virus-induced cellular resistance to Rous sarcoma virus*, Virology, 13 : 200-206, 1961.

⁸ Fonds IUH, article 162, projet de brochure pour les dix ans de l'Association Claude Bernard, 1964. Périès J., Boiron M., Canivet M., *Recherche d'une production d'interféron et d'une interférence virale hétérologue dans une lignée cellulaire chroniquement infectée par le virus de Rauscher*, Ann. Inst. Pasteur, 109 : 595-600, 1965.

⁹ Isaacs A., Lindenmann J., *Virus interference. I : The interferon*, Proc. Roy. Soc., 147 : 258-267, 1957.

type, ni dans le surnageant de cellules leucémiques extraites d'animaux malades¹, ni dans la lignée JLS V5².

Quant à la détection d'antigènes viraux, elle fit appel à l'immunofluorescence. Il s'agissait d'immuniser un lapin avec le virus leucémique murin, de concentrer les anticorps du sérum du lapin, de les coupler à un corps fluorescent puis de mettre ces anticorps au contact des cellules en culture et, après rinçage, de les observer au microscope à fluorescence. Cette technique fut utilisée en 1962, par les chercheurs de l'Institut pour la recherche sur les virus de l'Université de Kyoto, avec le virus leucémique murin SL³. Elle fut appliquée l'année suivante avec succès à la détection du virus de la myéloblastose aviaire par les chercheurs du Laboratoire des virus de l'Université de Californie à Berkeley⁴. Les virus leucémigènes de Rauscher et de Friend furent également mis en évidence par immunofluorescence⁵, cependant la difficulté à purifier ces virus faisait douter de la spécificité anti-virale des anticorps fluorescents⁶. Les chercheurs de l'IRLMS s'attachèrent à révéler des antigènes viraux sur les leucoblastes de souris en culture par cette méthode à partir de 1965. Ces travaux seront étudiés dans le sous-chapitre suivant.

Le choix d'un virus détectable : le virus du sarcome de Moloney

L'absence de procédé valable et rapide de détection et de titration du virus de Rauscher *in vitro* limitait grandement l'étude du cycle de reproduction du virus. Il fallait se résigner à utiliser d'autres virus. Le laboratoire disposait aussi des virus de Friend, de Gross, de Moloney et de Graffi⁷ ; quelques travaux leur avaient même été consacrés⁸. Malheureusement, tous les virus leucémogènes murins se comportaient comme le virus de Rauscher⁹.

En 1964, au Département de recherches sur le cancer de la Faculté de médecine des Hôpitaux de Londres, Jennifer Harvey observa, chez des souris Balb/c inoculées un mois auparavant avec du plasma de rats porteurs du virus leucémogène de Moloney, l'apparition de sarcomes à proximité du point d'injection¹⁰. Deux ans plus tard, John Moloney isola lui aussi un virus inducteur de sarcomes à partir d'extraits acellulaires de sarcomes induits chez la souris Balb/c par l'injection de fortes doses du virus leucémogène de Moloney¹¹.

¹ Périès J., Lévy J.P., Boiron M., Bernard J., *Multiplication of Rauscher Virus in cultures of mouse kidney cells*, Nature, 203 : 672-673, 1964.

² Périès J., Boiron M., Canivet M., *Recherche d'une production d'interféron et d'une interférence virale hétérologue dans une lignée cellulaire chroniquement infectée par le virus de Rauscher*, Ann. Inst. Pasteur, 109 : 595-600, 1965.

³ Ichikawa Y., Notake K., *Study on the mouse leukemia virus by the fluorescence antibody technique*, Jap. J. Cancer Clin., 8 : 655-663, 1962.

⁴ Vogt P., Rubin H., *Studies on the assay and multiplication of avian myeloblastosis virus*, Virology, 19 : 92-104, 1963.

⁵ Fink M., Malmgren R., *Fluorescent antibody studies of the viral antigen in a murine leukemia (Rauscher)*, J. Nat. Cancer Inst., 31 : 1111-1121, 1963. Rapp F., Friend C., *Early detection and localization of swiss mouse leukemia virus*, Acta UICC, 19 : 348-350, 1963.

⁶ Lévy J.P., Périès J., *La culture in vitro des virus leucémigènes*, Path. Biol., 12 : 1158-1161, 1964.

⁷ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1964.

⁸ Lévy J.P., Lasneret J., Périès J., Boiron M., *Paralysies révélatrices de la leucémie de Gross chez le rat*, Experimentia, 20 : 627-628, 1964.

⁹ Boiron M., Lévy J.P., Périès J., *In vitro investigations on murine leukemia viruses*, Progr. Med. Virol., 9 : 347-391, 1967.

¹⁰ Harvey J., *An unidentified virus which causes the rapid production of tumors in mice*, Nature, 204 : 1104-1105, 1964.

¹¹ Moloney J., *A virus-induced rhabdomyosarcoma of mice*, J. Nat. Cancer Inst., 1967.

La souche isolée par John Moloney fut jugée plus intéressante que celle de Jennifer Harvey parce qu'elle n'induisait que des sarcomes et non un mélange de sarcomes, de splénomégalies et de leucémies. Ce virus avait les mêmes caractéristiques physiques et morphologiques que le virus leucémogène de Moloney. Il était facile à cultiver sur des cellules embryonnaires normales de souris ou de rat et, surtout, il était repérable et titrable en culture car il provoquait des plages de cellules transformées. Ce virus avait un autre intérêt. Des chercheurs du Laboratoire des maladies infectieuses du National Institute of Health (Bethesda, Washington D.C.) avaient montré qu'une souche du virus du sarcome murin ne provoquait la transformation des cellules *in vitro* qu'en présence du virus de la leucémie de Moloney¹. On pensa alors que la souche de Moloney contenait deux virus : un virus sarcomatogène défectif et un virus leucémogène. Elle fut notée VSM-M (VLM) pour « Virus du Sarcome Murin - souche Moloney (contenant le Virus de la Leucémie de Moloney) ».

Le virus du sarcome murin fut fourni aux chercheurs de l'IRLMS par John Moloney en 1967². Il fut entretenu par passages intramusculaires d'extraits acellulaires de la souris nouveau-née Balb/c et C57Bl/6³. Son étude *in vivo* confirma l'induction chez le rat et la souris de rhabdomyosarcomes⁴. Ils le cultivèrent également *in vitro* sur des fibroblastes embryonnaires de souris Balb/c ou C57Bl/6 et des fibroblastes embryonnaires de rat Wistar CF. Les cellules, en suspension ou en monocouche dans du milieu de culture Eagle additionné de sérum de veau et d'antibiotiques, étaient soumises à l'action du VSM extrait des tumeurs par centrifugation différentielle et resuspendu dans du milieu Eagle sans sérum pour une utilisation immédiate ou dans une solution de sucrose à pH 7,2 pour le stocker à -170°C. Avant l'inoculation des cultures, le virus était filtré en présence d'une souche d'*Escherichia coli* résistante aux antibiotiques permettant de valider la filtration. L'incubation, à 37°C, durait de 1 à 6 heures. Après lavage, les cellules étaient cultivées en monocouche dans des flacons de 250 ml ; le milieu était changé tous les 4 jours. La présence de virions dans le surnageant était attestée par microscopie électronique et par inoculation aux souris. Le premier passage s'effectuait vers le quizième jour⁵. Ils obtinrent ainsi une lignée de cellules de rat chroniquement infectée et productrice continue du virus du sarcome de Moloney : la lignée 78A1⁶.

Lors de ces cultures *in vitro* du VSM, ils observèrent une « conversion cellulaire », autrement dit des modifications morphologiques de la monocouche qu'ils étudièrent au microscope à contraste de phase. Tantôt les modifications affectaient précocément toute la monocouche, dont les cellules étaient alors fusiformes, réfringentes et entrecroisées de façon désordonnée. Tantôt apparaissaient des « foyers » groupant des cellules fusiformes réfringentes et des cellules rondes (voir annexe 28). Le premier cas semblait se produire lorsque les inoculums contenaient de grandes quantités de virus. Chez le rat, cette conversion fut attribuée à une transformation maligne parce que les cellules converties étaient rondes et réfringentes, parce qu'elles poussaient en trois dimensions dans la gélose molle et parce que, greffées au rat Wistar, elles provoquaient des tumeurs chez tous les animaux en une semaine. Chez la souris, l'interprétation de la conversion était plus délicate, d'autant plus qu'un effet

¹ Hartley J., Rowe W., *Production of altered cell foci in tissue culture by defective Moloney sarcoma virus particles*, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 55 : 780-786, 1966.

² Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1967.

³ Boiron M., Thomas M., Périès J., Bernard C., *Conversions cellulaires produites in vitro par le virus du sarcome de Moloney*, Nouv. Rev. Franç. Hémat., 7 : 625-632, 1967.

⁴ Lasneret J., *Etude des tumeurs provoquées chez le rat par le virus du sarcome de Moloney*, Bull cancer, 54: 193-200, 1967.

⁵ Boiron M., Thomas M., Périès J., Bernard C., *Conversions cellulaires produites in vitro par le virus du sarcome de Moloney*, Nouv. Rev. Franç. Hémat., 7 : 625-632, 1967.

⁶ Bernard C., Boiron M., Lasneret J., *Transformation et infection chronique de cellules embryonnaires de rat par le virus du sarcome de Moloney*, C. R. Acad. Sci., 264 : 2170-2173, 1967.

lytique semblait coexister aux stades précoces de l'infection¹. Par la suite, les chercheurs de l'IRLMS vérifièrent que l'apparition de foyers était effectivement liée à la quantité de virus inoculée et ils montrèrent que l'ensemencement de cellules en boîte de Pétri permettait la titration du virus par le comptage des foyers convertis².

Le virus du sarcome de Moloney put aussi être propagé sur des cellules de peau embryonnaire bovine. Pendant la première semaine, les cellules des cultures inoculées gardaient le même aspect que celles des cultures témoins. Puis, des foyers de cellules « en navette », parallèles entre elles et séparées par des espaces vides, apparaissaient. Ces cellules converties étaient facilement repiquées et libéraient des virions dans le surnageant mais le bioessai chez la souris montra que le virus perdait rapidement son pouvoir tumorigène au cours des passages successifs. Les cellules bovines produisaient donc un VSM non infectieux, à moins qu'il ne s'agisse d'un autre virus, inattendu et non cancérigène³.

Le caractère défectif pour la transformation cellulaire du VSM produit par les cellules bovines fut étudié de 1968 à 1970. L'équipe de Robert Huebner, au Laboratoire des maladies infectieuses du National Institute of Health américain, avait montré que, dans les cellules de hamster, le VSM persistait sans produire de virions complets. De tels virions ne se formaient que lorsque les cellules de hamster étaient fusionnées avec des cellules de souris et que le virus de la leucémie de Moloney était ajouté. Il existait donc aussi des virions défectifs, non pour la transformation, mais pour la réplication⁴. Michel Boiron et ses collaborateurs confirmèrent ces résultats⁵.

Par ailleurs, ils montrèrent que tous les virions de la souche Moloney du virus du sarcome murin n'étaient pas défectifs pour la transformation⁶. Ce résultat annihila l'espoir d'utiliser le virus du sarcome pour détecter le virus murin, puisqu'on risquait en fait de détecter les virions non-défectifs du sarcome.

Etude des propriétés des virus leucémogènes murins

En dépit de l'absence d'un système facilement exploitable de culture *in vitro* du virus de Rauscher, l'équipe de Michel Boiron put, dès 1962, contribuer au progrès de la connaissance des leucémies murines virales, grâce à l'étude des propriétés physico-chimiques des virus produits *in vivo* et à la microscopie électronique. Ces travaux nécessitaient de purifier les virions extraits de tissus ou du sang d'animaux leucémiques.

¹ Boiron M., Thomas M., Périès J., Bernard C., *Conversions cellulaires produites in vitro par le virus du sarcome de Moloney*, Nouv. Rev. Franç. Hémat., 7 : 625-632, 1967.

² Bernard C., Guillemain B., Périès J., Boiron M., *Conversion cellulaire provoquée in vitro par le virus du sarcome murin (Moloney). Analyse de la courbe dose-réponse*, Int. J. Cancer, 3 : 558-565, 1968.

³ Thomas M., Boiron M., Lasneret J., Bernard J., *Réplication du virus du sarcome murin (souche de Moloney) sur des cellules embryonnaires bovines in vitro*, C. R. Acad. Sci., 266 : 1537-1539, 1968.

⁴ Huebner R., *The murine leukemia-sarcoma virus complex*, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 58 : 835-842, 1967.

⁵ Bernard C., Guillemain B., Périès J., Boiron M., *Conversion cellulaire provoquée in vitro par le virus du sarcome murin (Moloney). Analyse de la courbe dose-réponse*, Int. J. Cancer, 3 : 558-565, 1968.

⁶ Guillemain B., Bernard C., Périès J., Boiron M., *Présence dans les stocks du virus de sarcome murin (souche Moloney) d'une population virale capable d'initier isolément une conversion cellulaire*, C. R. Acad. Sci., série D, 266 : 1088-1090, 1968. Boiron M., Guillemain B., Bernard C., Périès J., Chuat J.C., *Presence in murine sarcoma virus stocks of a third component which alone initiates cellular conversion*, Nature, 219 : 748-749, 1968. Guillemain B., Hampe A., Boiron M., *Nature des particules virales compétentes contenues dans les stocks du virus du sarcome murin isolat Moloney*, C. R. Acad. Sci., série D, 269 : 2283-2286, 1969.

Purification des virions

La purification des virus leucémiques était basée sur la combinaison de l'ultracentrifugation et d'autres techniques d'analyse moléculaire. Ces travaux furent réalisés en collaboration avec le Département de Biochimie physique, lequel, dirigé par Roland Van Rapenbusch et équipé d'une ultracentrifugeuse analytique Spinco, s'occupait d'ultracentrifugation pour l'ensemble de l'institut (voir annexe 29). Lorsque ce département commença à fonctionner en mars 1962, l'ultracentrifugeuse n'avait pas de dispositif lumineux ; son amélioration résulta de travaux menés avec des biophysiciens du CNRS et de l'Institut Pasteur.

L'ultracentrifugation des extraits acellulaires leucémiques individualisait plusieurs « bandes » de corpuscules parmi lesquelles on localisait les particules virales en observant chaque groupe de particules au microscope électronique. Les virus étant essentiellement de nature nucléoprotéique, on pouvait aussi enregistrer le spectre d'absorption des ultraviolets des éléments de chaque bande et comparer les résultats au spectre d'une solution d'acides nucléiques. Pour que la purification soit jugée valable, deux conditions devaient être remplies. Tout d'abord, le degré de purification devait être important ; son évaluation reposait sur l'ajout d'une quantité connue d'éléments radioactifs à l'extrait brut, suivi de la mesure de la radioactivité de l'extrait purifié. Ensuite, le titre de l'extrait purifié, calculé par inoculation à l'animal, devait être presque aussi élevé que le titre de l'extrait brut.

Les chercheurs du laboratoire utilisèrent d'abord la méthode d'extraction mise au point par John Moloney. La purification du virus de la leucémie de Moloney fut entreprise en 1964, à partir du sang d'animaux malades et de surnageant de cultures. L'ultracentrifugation donna deux pics de sédimentation. L'observation au microscope électronique des éléments de la première bande révéla des particules de même morphologie que le virus de Rauscher, celle de la seconde bande de rares particules arrondies, irrégulières, sans queue, uniformément contrastées, de 50 à 70 nm, considérées comme des particules altérées ou des nucléoïdes nus mélangés à de nombreux débris. Le bioessai montra que la deuxième bande n'était pas infectieuse. Enfin, le spectre d'absorption des ultra-violets par la bande 1 était de type nucléoprotéique alors que celui de la bande 2 était de type protéique. La conclusion fut que la première bande correspondait au virus de Moloney mais la purification ne les satisfaisait pas. La perte d'« infectiosité » entre l'extrait brut et l'extrait purifié était importante. Et la méthode des contaminants radioactifs indiquait que le gradient utilisé ne permettait pas un grand degré de purification : il y avait environ 5% de phosphore 32 dans l'extrait purifié, la purification était donc de l'ordre de 95%.

Pour améliorer la purification, ils abandonnèrent l'extraction de type Moloney au profit d'une centrifugation différentielle, en gradient de chlorure de césium, dans lequel les particules migrent en fonction de leur densité. Le degré de purification ainsi obtenu fut jugé suffisant pour l'étude du poids moléculaire des virions, de la composition en bases de l'ARN viral et de l'inactivation physico-chimique du virus, ainsi que pour l'analyse des protéines capsidiales¹. La même méthode fut utilisée pour concentrer le virus de Rauscher². Trois ans plus tard, l'équipe de Michel Boiron obtint du virus de Rauscher purifié à 97% avec un pouvoir leucémogène intact³.

¹ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1964.

² Chenaille P., Levy J.P., Boiron M., Bernard J., *Isolement du virus de la leucémie murine de Rauscher dans un gradient de densité de chlorure de césium*, C.R. Acad. Sci., 258 : 3129-3132, 1964.

³ Chenaille P., Lévy J.P., Tavitian A., Boiron M., *A routine method for concentration and partial purification of a murine leukemia virus (Rauscher)*, Nature, 213 : 107-108, 1967. Chenaille P., Tavitian A., Boiron M.,

L'étude de l'inactivation du virus de Rauscher par la chaleur, l'agitation mécanique, les ultraviolets, le formol, etc. montra qu'il était extrêmement sensible à toute une variété de facteurs¹.

Microscopie électronique et morphologie virale

Les virus leucémogènes furent examinés avec un microscope électronique Elmiskoop II de la marque Siemens (voir annexe 30) acheté en 1963². Le virus de Rauscher, non encore décrit, fut l'objet d'une attention particulière.

Dans les tissus de souris infectées, observés en coupe, le virus ne présenta pas de particularité morphologique comparativement aux autres virus leucémiques³. La coloration négative, par traitement à l'acide phosphotungstique, révéla un « nucléoïde central dense » contenant une structure filamenteuse dans un espace translucide délimité par une « membrane ». Ils évaluèrent le diamètre total de la particule à 90 nm. En milieu hypertonique, il fut noté que la membrane formait une déformation caudée caractéristique. Le virus de Rauscher avait alors l'aspect d'un bactériophage, avec une tête hexagonale et un prolongement caudé (voir annexe 30). Le virus de la leucémie de Moloney avait été décrit comme ayant le même aspect. Ils retrouvèrent cet aspect pour les virus de Gross et de Graffi et montrèrent qu'il s'agissait d'un artéfact lié à la tonicité du milieu d'extraction et non à la centrifugation ou à la nature chimique du milieu⁴.

Le virus du sarcome de Moloney, étudié deux ans plus tard, présenta la même morphologie que les virus leucémiques murins⁵.

Etude de l'ARN des virus leucémigènes

En 1965, l'équipe de Michel Boiron isola du virus de Rauscher un ARN monocaténaire de 10 millions de Dalton et de coefficient de sédimentation 70S. Pour ce faire, ils cultivèrent des cellules de la lignée JLSV5 en présence de phosphore radioactif, de manière à marquer les acides nucléiques synthétisés par ces cellules. Les virions furent purifiés à partir du surnageant selon la méthode mise au point par John Moloney en 1962. Ils furent déprotéinisés par des traitements phénoliques et leur ARN fut précipité à l'éthanol absolu. Cet ARN viral fut soumis à une centrifugation en gradient de sucrose, qui sépare les particules en fonction de leur vitesse de sédimentation laquelle dépend de leur taille et de leur forme. La constante de sédimentation des bandes ainsi obtenues fut calculée selon une méthode publiée en 1961 par R. Martin et Bernard Amos.

Pour chaque fraction issue de la sédimentation, un échantillon fut déposé sur une membrane de nitrocellulose de façon à mesurer sa radioactivité à l'aide d'un compteur à scintillation en phase gazeuse (voir annexe 32). Deux pics de radioactivité furent ainsi

Preservation of the leukemogenic activity and elimination of contaminants during purification of Rauscher virus, Europ. J. Cancer, 3 : 511-518, 1968.

¹ Lévy J.P., Oppenheim S., Chenaille P., Silvestre D., Tavitian A., Boiron M., *Quantitative study of Rauscher virus inactivation by various physical and chemical agents*, J. Nat. Cancer Inst., 38 : 553-565, 1967.

² Fonds Bessis, correspondance avec Boiron M., projet d'association scientifique IRLMS-Institut Mérieux, 1967.

³ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1963.

⁴ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1963 et 1964. Lévy J.P., Boiron M., Silvestre D., Bernard J., *The ultrastructure of Rauscher Virus*, Virology, 26 : 146-150, 1965.

⁵ Leclerc J.C., Silvestre D., Lévy J.P., Oppenheim S., Varet B., *Etude ultrastructurale d'un virus murin sarcomatogène*, Inter. J. Cancer, 2 : 475-488, 1967.

révélés. L'un dans la fraction de coefficient de sédimentation 4-5S, l'autre correspondant à un coefficient de 70S. Des échantillons de ces deux fractions se montrèrent sensibles à la RNase, enzyme dégradant les ARN, ce qui confirma leur contenu : de l'ARN viral marqué. L'ARN 4-5S fut jugé trop petit pour correspondre à l'ARN viral intact. Selon Michel Boiron et ses collaborateurs, il pouvait s'agir de sous-unités de l'ARN 70S, d'ARN de transfert, de fragments d'ARN ribosomiaux (28S, 18S, 4S) ou de produits de dégradation de l'ARN viral natif. Cette dernière hypothèse avait été suggérée par P. Mora et V. McFarland en 1965.

Le poids moléculaire de l'ARN 70S, calculé selon la formule empirique établie en 1963 par A. Spirin pour les ARN ribosomiaux, était de l'ordre de 10^7 daltons. Cette valeur était proche de celles obtenues la même année pour le virus du sarcome de Rous et le virus de la myéloblastose aviaire, respectivement par l'équipe de Harry Rubin, du Laboratoire des virus de l'Université de Californie, et celle de J. Harel, de l'Institut Gustave Roussy. Cependant P. Mora et ses collaborateurs avaient trouvé pour l'ARN du virus de Rauscher un poids moléculaire de $13 \cdot 10^6$.

Concernant cet ARN 70S, l'équipe de l'IRLMS chercha à répondre aux trois questions suivantes : est-il lié à des protéines, formant ainsi une ribonucléoprotéine ? Est-ce une seule molécule ou un agrégat ? Est-il mono- ou bicaténaire ? Pour répondre à la première question, un lot de cellules JLSV5 fut cultivé en présence d'un nucléotide – constituant des acides nucléiques - marqué au phosphore 32 et d'un acide aminé – constituant des protéines - marqué au carbone 14. Les virions ainsi obtenus étaient marqués au carbone radioactif, mais pas leur ARN. Ce dernier n'était donc pas associé à des protéines, du moins en quantité importante. De plus, un lot d'ARN viral avait été fractionné sur une colonne d'albumine méthylée ou colonne « MAK » selon une technique proposée en 1960. Une des propriétés de cette colonne était de fixer les protéines. L'ARN 70S n'ayant pas été retenu sur celle-ci, il ne semblait pas contenir de protéines.

Afin de savoir si l'ARN 70S était un agrégat non covalent de plusieurs molécules, il fut traité à l'EDTA et au PVS, des composés dits dénaturants parce qu'ils perturbent les liaisons chimiques faibles. L'ARN ainsi traité sédimenta avec à peu près la même constante de sédimentation que l'ARN non traité. Il ne semblait donc pas constitué de plusieurs molécules.

Enfin, il était probable que l'ARN 70S soit monocaténaire, parce que l'équipe de Joseph Beard et des chercheurs de l'Hôpital vétérinaire de l'Université de Glasgow, avaient montré en 1959 et 1961 que les ARN natifs des virus du sarcome de Rous et de la myéloblastose aviaire étaient monocaténaires. Or l'ARN lourd (70S) du virus de Rauscher ayant à peu près le même poids moléculaire, il aurait contenu, s'il avait été bicaténaire, deux fois moins d'information génétique.

Pour déterminer si l'ARN était simple ou double brin, ils s'intéressèrent à sa composition en bases azotées et à sa sensibilité à la ribonucléase ou RNase, enzyme dégradant les ARN. La composition en bases fut étudiée à l'IRLMS selon une méthode mise au point en 1963 par une autre équipe. Lorsque l'ARN est bicaténaire, les bases A et U d'une part, C et G d'autre part étant appariées, les rapports A/U et C/G sont égaux à un. Si l'un au moins de ces rapports est différent de 1, on est sûr que l'ARN est monocaténaire, s'ils sont tous deux proches de 1, on ne peut pas conclure. C'est ce qui se produisit. Par ailleurs, l'ARN 70S fut soumis à l'action de différentes RNases, fournies par la Nutritional Biochemical Corporation, à différentes concentrations. Dans tous les cas, il présenta un fort degré de dégradation, ce qui constituait un argument en faveur de sa nature simple brin. Cependant, cette dégradation n'était jamais complète ; cette observation était alors inexpiquée¹.

¹ Galibert F., Bernard C., Chenaille P., Boiron M., *Acide ribonucléique de haut poids moléculaire isolé du virus leucémique de Rauscher*, C. R. Acad. Sci., 261 : 1771, 1965. Galibert F., Bernard C., Chenaille P., Boiron M., *Investigation of Rauscher virus ribonucleic acid*, Nature, 209 : 680-682, 1966.

En 1968, l'équipe de Michel Boiron réussit à extraire un ARN de la souche VSM-M (MLV) contenant le virus du sarcome et le virus de la leucémie de Moloney. La sédimentation, en gradient de chlorure de césium, mit en évidence deux fractions : un ARN 73S, considéré comme l'ARN viral natif, et un ARN 4S, attribué à des produits de dégradation de l'ARN lourd et/ou à des ARN cellulaires contaminants. La dégradation par les RNases, quasi-complète, permit d'affirmer que la structure de l'ARN 73S était monocaténaire. La chromatographie sur colonne MAK (voir annexe 33) donna un rendement de 60%, jugé en accord avec une structure de type ARN messenger de cellules d'organismes supérieurs, ces molécules monocaténaires étant fortement retenues par une telle colonne. Enfin, la densité de cet ARN (1,675 g/ml) correspondait à celle de l'ARN du virus de Rauscher. Les propriétés de cet ARN 73S étaient donc très proches de celles de l'ARN du virus de Rauscher. Une différence de composition en bases fut notée mais sans être interprétée : le virus du sarcome de Moloney se montra plus riche en CMP (cytosine), le virus de Rauscher plus riche en GMP (guanine)¹.

En 1971, on admettait que le génome des « ribovirus » (virus à ARN) oncogènes des oiseaux et des mammifères était une molécule de très haut poids moléculaire et de coefficient de sédimentation 67-70S².

Etude du cycle reproductif viral

Les modèles de 1964

Jusqu'en 1964, on pensait que les virus oncogènes à ARN se répliquaient comme les virus lytiques à ARN. Le mécanisme proposé par Luc Montagnier et ses collaborateurs de l'Institut Pasteur pour le virus de l'encéphalomyocardite murine comprenait deux étapes³. Tout d'abord, un ARN complémentaire de l'ARN viral natif était synthétisé par une ARNpolyméraseARNdépendante. Ensuite, l'ARN bicaténaire ainsi formé était transcrit en ARN monocaténaires par une autre ou la même ARNpolyméraseARNdépendante. Ces ARN étaient alors traduits en protéines ou intégrés dans les virions (voir annexe 34).

En 1964, la nécessité pour assurer la multiplication virale d'une synthèse précoce d'ADN dans les cellules infectées - synthèse bloquée par l'Actinomycine D - et une homologie partielle constatée entre l'ADN cellulaire et l'ARN viral, amenèrent Howard Temin à postuler l'existence d'un provirus ADN intégré au génome cellulaire⁴.

La première hypothèse avait l'avantage de la simplicité et était conforme au dogme central de la biologie moléculaire mais, concernant les virus oncogènes, on ne disposait alors d'aucun argument expérimental. L'hypothèse d'Howard Temin était basée sur deux preuves indirectes de l'existence d'un provirus intégré dans le génome cellulaire, ce qui était peu, compte tenu de la complexité du modèle proposé. Mais surtout, elle constituait une entorse au dogme central, alors bien établi. Ce dernier point semble lui avoir valu de nombreuses critiques, puisque Christian Larsen écrivit quelques années plus tard que l'idée d'un provirus

¹ Emanoil-Ravicovitch R., Bernard C., Larsen C., *Acide ribonucléique de haut poids moléculaire isolé à partir du virus du sarcome (souche Moloney)*, C. R. Acad. Sci., 266 : 1802-1805, 1968.

² Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1973.

³ Montagnier L., Sanders F., *Replicative form of encephalomyocarditis virus ribonucleic acid*, Nature, 199 : 664-667, 1963.

⁴ Temin H., *Homology between RNA from Rous sarcoma virus and DNA from Rous sarcoma virus-infected cells*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 52 : 323-329, 1964.

intégré au génome cellulaire était une « idée qui remettait en cause, ainsi qu'on a pu l'écrire peut-être de façon exagérée l'un des dogmes de la biologie moléculaire »¹.

Les hybrides ARN-ADN

Une fois caractérisé, l'ARN viral 70S devint un marqueur biochimique pour l'étude du cycle reproductif des virus leucémogènes murins. Encore fallait-il réussir à le détecter au sein des cellules infectées et s'assurer que les cellules saines ne produisent pas, pour leur propre métabolisme, des ARN semblables.

La technique permettant de détecter ce marqueur moléculaire fut élaborée entre 1960 et 1965. Vers 1960, les deux brins complémentaires de l'ADN avaient été séparés par des procédés physiques ou chimiques, tels que la chaleur ou le formol, et les conditions de leur réappariement avaient été spécifiées. Il était très rapidement apparu que l'on pouvait obtenir par cette méthode des complexes hybrides associant un brin d'ARN et un brin d'ADN complémentaires.

La détection des complexes ADN-ADN était facile parce que la double hélice présentait des propriétés très différentes de celles de l'ADN dénaturé, en particulier une densité nettement plus faible. Pour les hybrides ARN-ADN, l'importante différence de taille entre les molécules d'ADN cellulaires ou chromosomes et les molécules d'ARN viral posait un problème. Les techniques d'extraction utilisées en 1965, fournissaient des molécules d'ADN de poids moléculaire 13 à 100 fois plus grand que les molécules d'ARN étudiées. Un hybride ARN-ADN avait donc à peu près la même densité que l'ADN dénaturé ; ces deux éléments ne pouvaient pas être séparés par centrifugation. La solution adoptée fut le marquage de l'ARN en cours de synthèse par un précurseur radioactif. Mais l'obtention d'un ARN à forte activité spécifique (100.000 cpm/g), nécessaire à la détection des homologies faibles, était difficile chez les mammifères, contrairement aux microorganismes.

Concernant la formation de l'hybride, les conditions de force ionique et de température permettant d'obtenir des complexes stables, donc significatifs sur le plan biologique, furent publiées en 1964. Les monobrins d'ADN et les ARN non ou partiellement fixés étaient éliminés par un traitement à la phosphodiesterase et à la ribonucléase. Trois techniques de détection des complexes ARN-ADN marqués étaient utilisées : l'ultracentrifugation différentielle, la chromatographie sur colonne d'agar ou de phosphocellulose imprégnée d'ADN dénaturé, ainsi que la filtration sur une membrane de nitrocellulose.

L'« hybridation » (hybridation) ARN-ADN fit ses preuves chez les bactéries, en confirmant le dogme central de la biologie moléculaire et le mécanisme de la lysogénie. Chez les organismes supérieurs, les premiers résultats furent obtenus en 1963. D'une part, des hybrides d'ARN messager ou ribosomal et d'ADN furent obtenus avec des cellules de la lignée Hela. D'autre part, l'hybridation entre des ARN messagers extraits d'hépatocytes murins et l'ADN extrait d'autres organes du même animal montra qu'au cours de la différenciation cellulaire, il n'y avait pas perte mais répression de l'information génétique initiale. L'année suivante, une homologie fut mise en évidence entre l'ADN des adénovirus 12 et 18. Par ailleurs, Howard Temin publia ses travaux sur l'ARN du virus de Rous et l'ADN des cellules infectées². Ces résultats firent dire à Christian Larsen en 1965 que la technique d'hybridation des acides nucléiques était très prometteuse : « Pour toute une série de raisons, dont les

¹ Larsen C., *Acquisitions nouvelles dans la biochimie des ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (9-10) : 523-530, 1971, p. 523-524.

² Temin H., *Homology between RNA from Rous sarcoma virus and DNA from Rous sarcoma virus-infected cells*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 52 : 323-329, 1964.

principales sont la complexité du matériel manipulé, aucun travail ne présentait jusqu'à ces derniers mois d'intérêt comparable à celui des résultats obtenus à l'aide de micro-organismes bactériens. Depuis, plusieurs équipes travaillant sur des matériels variés tels que des cellules en culture ou des cellules d'organes de divers animaux, ont obtenu des résultats fort encourageants. Nous reprendrons brièvement ces travaux, dont certains peuvent, s'ils sont confirmés, apporter des solutions très intéressantes à certains problèmes fondamentaux de la biologie cellulaire tels que la différenciation cellulaire et la carcinogénèse virale. (...) Après avoir été un système expérimental permettant la confirmation des théories fondamentales de Jacob et Monod, la technique d'hybridation entre ADN et ARN, est devenue un instrument extrêmement précis dans l'étude des mécanismes moléculaires dont les cellules sont le siège. A ce titre son intérêt est considérable, d'autant plus que son champ d'action est très vaste. »¹.

Michel Boiron s'intéressait aux acides nucléiques depuis la fin des années 1950². La mise au point de techniques de marquage, d'extraction, de dosage, d'analyse physico-chimique et d'inoculation d'ADN fit partie, sous l'intitulé « rôle biologique de l'ADN », des premiers sujets de recherche du CRLMS. Le premier modèle d'étude fut l'adénovirus 4 cultivé sur des cellules humaines. Ces travaux devaient par la suite être appliqués aux virus à ADN cancérogènes et aux ADN des cellules leucémiques³.

En 1963, l'équipe de Michel Boiron avait extrait l'ADN du virus polyome, étudié le pouvoir cancérogène de l'ADN du virus SV40, et s'était essayée, avec des cellules normales murines KB cultivées *in vitro* et des cellules fraîches de foie de rat, à l'extraction, la séparation et la caractérisation de toutes les classes d'acides nucléiques alors décrites, à savoir ADN, ARN ribosomiaux 23S et 16S, ARN solubles 4S, ARN messenger 30-40S⁴. L'année suivante, les chercheurs du laboratoire perfectionnèrent leurs techniques d'étude des acides nucléiques cellulaires et réalisèrent des tentatives d'hybridation entre l'ADN et les ARN messagers, ribosomiaux et de transfert. La comparaison des acides nucléiques cellulaires et viraux allait être possible : « Ultérieurement, le même fractionnement sera appliqué aux cellules infectées par des virus. Nous comptons en particulier rechercher certains messagers spécifiques de l'infection virale et rechercher, au niveau de l'ADN de cellules infectées par certains virus, un segment hybridable avec l'acide nucléique de ce virus. »⁵. Autrement dit, les chercheurs de l'IRLMS allaient essayer de reproduire les expériences d'Howard Temin.

Les expériences d'hybridation de l'ARN natif du virus de Rauscher avec l'ADN des cellules infectées par ce virus, donnèrent des résultats positifs dès 1966⁶. Les résultats étaient exprimés sous la forme d'une courbe d'hybridation, obtenue en mettant en contact une quantité fixe d'ARN avec des quantités croissantes d'ADN de manière à déterminer un plateau de saturation, permettant de connaître la quantité relative de séquences homologues. Le premier article, publié en 1968, faisait état d'un plateau de saturation à 0,02 %, que l'expérience ait lieu avec l'ADN total ou avec l'ADN nucléaire des cellules JLS V5⁷. Ce résultat confirmait l'homologie entre l'ARN du virus de Rauscher et l'ADN de cellules infectées mise en évidence

¹ Larsen C., *Les hybrides ADN-ARN*, Path. Biol., 13 (11-14) : 671-675, 1965, p. 674.

² Boiron M., Moule Y., Tubiana M., Bernard J., Lebreton E., *Etude dynamique de l'incorporation du phosphore radio-actif dans l'acide désoxyribonucléique des cellules de la moelle osseuse du rat*, Rev. Hémat., 14 : 266, 1959.

³ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1960.

⁴ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, Rapport du CRLMS pour 1963.

⁵ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, Rapport du CRLMS pour 1964, p. 16.

⁶ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1966.

⁷ Hampe A., Galibert F., Peraudeau L., Boiron M., *Mise en évidence d'un ARN viral dans des cellules chroniquement infectées par le virus de Rauscher*, C. R. Acad. Sci., série D, 267 (9) : 908-910, 1968.

par des chercheurs de l'Institut Gustave Roussy en 1967¹. L'hypothèse du provirus semblait donc valable pour les virus murins : « dans ces conditions l'ARN Rauscher pourrait être entièrement intégré dans le génome cellulaire »².

De manière à localiser une zone préférentielle d'hybridation, l'ADN cellulaire fut fractionné par centrifugation dans un gradient de densité. L'appariement fut observé tout au long du gradient, mais le pourcentage d'ARN fixé à l'ADN cellulaire présenta deux maximums : un en zone lourde 69S, l'autre en zone légère 18S. Il s'agissait bien d'ARN 18S viral, parce qu'aucun hybride n'était détecté avec l'ARN 18S de fibroblastes normaux³. Ces travaux furent présentés au Congrès de Cold Spring Harbor de 1969 sur les virus de tumeurs⁴.

Il convenait également de rechercher une hybridation entre l'ARN viral et l'ADN de cellules saines. Les cellules normales utilisées furent des cellules de foie de souris Balb/c, de souris C57Bl et de rat Wistar. L'ADN de la bactérie *Escherichia coli* fut utilisé comme contrôle. L'hybridation de l'ARN viral avec l'ADN cellulaire fut réalisée selon deux techniques d'incubation différentes : celle décrite par l'équipe de Sol Spiegelman en 1965 et une communiquée par Philippe Kourilsky, dans les deux cas sur des filtres millipores dissous après arrêt de la réaction et comptage radioactif, ce qui permettait de déterminer la quantité d'ADN présente selon une méthode publiée en 1968 par Brown et Weber. En prenant pour référence le taux d'hybridation de l'ARN extrait du virus de Rauscher à l'ADN des cellules chroniquement infectées JLS V5 (100%), l'ARN viral hybridait à 50% avec l'ADN des cellules de foie normal de souris Balb/c, à 35% avec l'ADN des hépatocytes de rats Wistar normaux et à 13% avec l'ADN des hépatocytes de souris C57Bl normales. Le taux d'hybridation avec l'ADN d'*Escherichia coli* était nul.

Les résultats de l'IRLMS concordaient avec ceux obtenus par M. Baluda. Ce dernier avait montré que le taux d'hybridation entre l'ARN extrait du virus de la myéloblastose aviaire et l'ADN de cellules embryonnaires de poulet saines n'était pas nul mais beaucoup plus faible que le taux d'hybridation entre l'ARN viral et l'ADN de cellules embryonnaires de poulet infectées. L'équipe de Michel Boiron et M. Baluda apportaient des arguments en faveur de l'hypothèse de Témin selon laquelle « la réplication du RNA des virus leucémogènes se ferait par une forme intermédiaire liée au DNA ». Plus précisément, ces résultats furent mis en relation avec une plus grande susceptibilité à l'infection par le virus de Rauscher des souris Balb/c que des rats Wistar et des souris C57Bl : « Tout en considérant nos résultats dans ce domaine comme préliminaires, ils pourraient suggérer l'existence d'un parallélisme entre le taux d'hybridation du RNA viral au DNA cellulaire et la susceptibilité à l'infection par le virus de Rauscher d'une souche donnée de souris »⁵. Il semble que, pour les auteurs, l'hybridation révélait des sites potentiels d'intégration du génome viral et non le génome viral lui-même ou « provirus intégré ».

Pendant que les chercheurs de l'IRLMS fournissaient des arguments en faveur de l'hypothèse de Témin, les résultats d'autres équipes apportèrent leur soutien au modèle classique. Premièrement, une ARNpolyméraseARNdépendante fut mise en évidence, dans des

¹ Harel L., Harel J., Huppert J., *Partial homology between RNA from rauscher mouse leukemia virus and cellular DNA*, Biophys. Biochem. Res. Comm., 28 (1) : 44-49, 1967.

² Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1968, p.3.

³ Emanoil-Ravicovitch R., Larsen C., Boiron M., *Recherche d'une homologie entre le RNA du virus leucémogène de Rauscher et certaines fractions spécifiques de DNA de la cellule hôte*, C. R. Acad. Sci., série D, 268: 1137-1140, 1969.

⁴ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1969.

⁵ Emanoil-Ravicovitch R., Baudelaire M.F., Boiron M., *Etude du taux d'hybridation entre le RNA du virus leucémogène de Rauscher et le DNA de différentes cellules murines*, C. R. Acad. Sci., série D, 269 : 1903-1905, 1969, p. 1905.

cellules infectées par le virus de la myéloblastose aviaire, par I. Watanabe et I. Haruna ainsi que K. Watson et Beaudreau. Deuxièmement, de l'ARN bicaténaire fut extrait de cellules chroniquement infectées par le virus du sarcome murin par S. Biswal et M. Benyesh-Melnick. Cet ARN double brin n'était peut-être pas viral ; Luc Montagnier, à l'Institut Pasteur, en avait trouvé dans des cellules non infectées. Toutefois, dans ces cellules saines, l'ARN bicaténaire était présent à un taux beaucoup plus faible¹.

Au moment où l'hypothèse classique devenait ainsi la plus probable, Robert Huebner et George Todaro proposèrent un modèle de cancérisation basé sur une réplication de type Temin. Ils appelèrent « virogène » le génome viral intégré aux chromosomes cellulaires et « oncogène » la partie du virogène capable de transformer la cellule sans lui faire produire de virus. Selon cette hypothèse, le virogène était présent dans tous les génomes et donc transmis verticalement ; la cancérisation était provoquée par l'activation, par des cancérogènes divers, de l'oncogène hérité et silencieux².

La consécration du provirus

Au printemps 1970, Howard Temin et Satoshi Mizutani, de l'Université du Wisconsin, ainsi que David Baltimore, du Massachusetts Institute of Technology, mirent en évidence une ADNpolyméraseARNdépendante dans le virus du sarcome de Rous et le virus de Rauscher³. Cette enzyme fut baptisée « transcriptase inverse » (reverse transcriptase) par John Tooze, l'éditorialiste de la revue *Nature*⁴. Elle fut retrouvée la même année chez presque tous les oncornavirus connus par les équipes de Sol Spiegelman (1915-1983), à l'Université de l'Illinois, de Robert Huebner (1914-1998), au National Cancer Institute, et par Maurice Green, à l'Université du Wisconsin. Cette activité enzymatique était liée à une protéine ; elle était en effet sensible aux enzymes protéolytiques. L'enzyme décrite incorporait des désoxyribonucléotides triphosphates marqués et pas de ribonucléotides. La réaction était arrêtée par la RNase A et/ou T1 ; la présence d'ARN était donc nécessaire à son fonctionnement. Le produit de la réaction était un ADN de petite taille, lié à de l'ARN en début de synthèse. Les expériences d'hybridation moléculaire montrèrent que l'ADN synthétisé était complémentaire de l'ARN viral : le mélange migrerait en une seule bande.

Selon le schéma proposé par Howard Temin, l'ADN monocaténaire synthétisé à partir du génome viral devenait une matrice pour la synthèse de son brin complémentaire, afin d'obtenir un ADN bicaténaire. Si ce schéma était valable, il devait y avoir dans le virion une ADNpolyméraseARNdépendante. Cette enzyme fut mise en évidence, toujours en 1970, par les équipes de Sol Spiegelman et Howard Temin dans cinq virus oncogènes à ARN⁵.

De plus, de l'ADN bicaténaire fut mis en évidence, en 1970, dans les virions du sarcome de Rous, du sarcome de Moloney et de la myéloblastose aviaire par J. Michael Bishop (né en 1936), à l'Université de Californie (San Francisco), Maurice Green, J. Riman et N. Biswal. Le risque de contamination par de l'ADN cellulaire avait été éliminé en traitant les

¹ Larsen C., *Acquisitions nouvelles dans la biochimie des ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (9-10) : 523-530, 1971.

² Huebner R., Todaro G., *Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 64 : 1087-1094, 1969.

³ Baltimore D., *RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumor viruses*, Nature, 226 : 1209-1211, 1970. Temin H., Mizutani S., *RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus*, Nature, 226 : 1211-1213, 1970.

⁴ Gallo Robert, *Chasseur de virus*, Editions Robert Laffont, Paris, 1991, p. 110-111.

⁵ Larsen C., *Acquisitions nouvelles dans la biochimie des ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (9-10) : 523-530, 1971.

virions à la DNase avant d'en extraire le contenu et en vérifiant au microscope électronique l'absence de mycoplasmes dans les préparations. Certains doutaient tout de même de la nature virale de cet ADN et y voyait plutôt un constituant cellulaire intégré au hasard dans les virions, d'une part, parce qu'il n'était pas « homogène », il sédimentait en bandes très larges, ce qui s'accordait mal, pensait-on, avec une information génétique commune à tous les virions ; d'autre part, parce qu'il ne représentait que 2,5 % environ des acides nucléiques totaux. Cependant, le fait que l'ADN extrait des virions sans traitement et que l'ADN synthétisé *in vitro* à partir de l'ARN viral aient le même coefficient de sédimentation (7S) plaide en faveur de leur identité¹.

Une autre observation s'accordait avec l'hypothèse du provirus. En 1970, Howard Temin mit en évidence la dégradation de l'ADN natif du phage T7 dans les virions de Rous. Cette endonucléase pouvait intervenir dans l'intégration au génome cellulaire de l'ADN viral bicaténaire : « les deux polymérasés (ou la polymérase unique travaillant successivement avec le RNA et le DNA) catalysent la synthèse d'un double brin de DNA qui est une réplique exacte du génome viral. (...) Le double brin de DNA est ensuite intégré au DNA cellulaire. Si on a affaire à plusieurs molécules, cette intégration peut intervenir à plusieurs places. (...) En effet, si on admet que le DNA viral s'intègre à certains sites précis et non au hasard, il est nécessaire que l'endonucléase (si telle est sa fonction) reconnaisse des séquences caractéristiques du DNA. Après son intégration, le génome viral peut être copié autant de fois qu'il est nécessaire par l'une des RNA polymérasés cellulaires normalement présentes dans le noyau. »².

Pendant qu'émergeaient ces nouveaux arguments expérimentaux en faveur du modèle d'Howard Temin, les chercheurs de l'IRLMS confirmèrent la présence d'un élément du modèle classique. Ils extrayèrent de l'ARN bicaténaire de cellules chroniquement infectées par le virus du sarcome de Moloney. Cet ARN 11S, résistant aux nucléases, était absent des cellules témoins non virosées³.

Les chercheurs de l'IRLMS ayant apporté des éléments pouvant s'insérer dans les deux modèles, ils évoquent, comme N. Biswal, la possibilité d'un système à deux voies. R. Emanoil-Ravicovitch se prononça « en faveur d'un schéma de répllication virale à double voie, une sous-unité du RNA viral répliquant en présence d'une répllicase par l'intermédiaire d'une forme double brin RNA et une autre sous-unité nécessitant une transcription en DNA à l'aide d'une DNA polymérase. »⁴. Christian Larsen en parla également, tout en ne cachant pas sa préférence pour le modèle du provirus : « En principe on a donc là tous les éléments nécessaires à la répllication [classique] du RNA viral. Le premier schéma [Temin] l'emporte cependant sur celui-ci en ce sens que la nécessité d'une synthèse de DNA (hors la phase S) est expérimentalement démontrée. Mais il est tout de même nécessaire de discuter ces faits, car l'hypothèse d'un double mécanisme répllicatif utilisant les deux voies DNA et RNA n'est pas exclue. »⁵.

¹ Emanoil-Ravicovitch R., *Présence de DNA dans les ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (21) : 1003-1006, 1971, p. 1003 et 1005.

² Larsen C., *Acquisitions nouvelles dans la biochimie des ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (9-10) : 523-530, 1971, p. 527-528.

³ Van Griensven L., Emanoil-Ravicovitch R., Boiron M., *Mise en évidence d'un ARN bicaténaire dans une lignée cellulaire transformée et chroniquement infectée par le virus du sarcome murin*, C. R. Acad. Sci., 270: 1723-1726, 1970.

⁴ Emanoil-Ravicovitch R., *Présence de DNA dans les ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (21) : 1003-1006, 1971, p. 1005.

⁵ Larsen C., *Acquisitions nouvelles dans la biochimie des ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (9-10) : 523-530, 1971, p. 528.

De son côté, Howard Temin engloba son modèle de réplication virale dans un schéma général du fonctionnement cellulaire¹. Il considérait les provirus, qu'il appelait désormais « protovirus », comme des dérivés pathologiques d'un système transcriptase inverse cellulaire normal, destiné à modifier l'information génétique d'une cellule en fonction de son fonctionnement à un moment donné. Il ne se contentait donc pas de voir dans la réplication des rétrovirus, une exception au dogme central de la biologie moléculaire ; il s'opposait à ce dernier en affirmant l'inscription dans le génome des caractères acquis par la cellule. Cette vision lamarckienne du fonctionnement cellulaire fut vivement critiquée². Mais elle n'eut pas le temps d'entraîner dans sa chute le schéma réplcatif. Des chercheurs de l'Institut de cancérologie et d'immuno-génétique, dirigé par Georges Mathé, apportèrent une preuve directe de l'intégration aux chromosomes du génome viral. Ils montrèrent que l'introduction dans des fibroblastes murins d'ADN viral extrait de cellules de rat transformées par le virus du sarcome de Rous provoquait la production de virions. Un fragment de 6.10^6 daltons suffisait, l'information génétique du virus n'était donc pas plus grande. Le phénomène fut appelé « transfection » pour tenir compte du fait que la cellule était infectée par un ADN et non par un virus. L'hypothèse du protovirus était vérifiée : « La transformation maligne de la cellule est la conséquence de la pénétration d'un certain RNA ou DNA exogène dans la cellule et de son intégration sous forme de DNA dans le génome cellulaire. »³.

La cinétique de la production virale et de la transformation cellulaire

L'équipe de Michel Boiron utilisa également le marqueur viral qu'était l'ARN 70S pour étudier, d'une part, la vitesse de synthèse de l'ARN viral dans les cellules infectées, d'autre part, les relations entre transformation cellulaire et synthèse de l'ARN viral.

En 1966, les chercheurs de l'IRLMS essayèrent d'isoler l'ARN des cellules infectées, par des marquages radioactifs plus ou moins longs, en présence ou non d'actinomycine D, une substance capable d'empêcher la division cellulaire mais peut-être pas la multiplication virale. Ces premières tentatives furent jugées infructueuses⁴. Leur technique de séparation des ARN cellulaires, par une série de centrifugations en gradient de concentration en saccharose, fut tenue pour responsable de cet échec et ils s'attachèrent à mettre au point de nouvelles méthodes d'extraction des ARN de grande taille⁵. En 1968, ils parvinrent à isoler de l'ARN 70S des cellules de la lignée JLS V5 par électrophorèse sur gel de polyacrylamide⁶.

Par la suite, ils étudièrent l'effet d'analogues des nucléotides sur des cellules habituellement productrices du virus du sarcome de Moloney. Le 5-fluorouracile ajouté à des cellules embryonnaires de souris infectées par le VSM-M provoqua une conversion morphologique totale de ces cellules et une absence complète de réplication du virus. Il en fut déduit que la conversion morphologique de la cellule précédait la réplication du virus⁷. L'effet de la toyocamycine sur les cellules de la lignée 78A1, des cellules embryonnaires de rat

¹ Temin H., *The protovirus hypothesis*, J. Natl. Cancer Inst., 46 : III-VIII, 1971.

² Morange M., *Histoire de la biologie moléculaire*, Editions La Découverte, Paris, 1994, p. 221 et 289.

³ Hill M., Hillova J., *Production virale dans les fibroblastes de Poule traités avec par l'acide désoxyribonucléique de cellules XC de Rat transformées par le virus de Rous*, C. R. Acad. Sci., 272 : 3094-3097, 1971, p. 184.

⁴ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1966.

⁵ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1967.

⁶ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1968.

⁷ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1970. Guillemain B., Laumond J., Godard C., Boiron M., *Dissociation between cell conversion induced by MSV and production of infectious virus in presence of 5-FU*, J. Gen. Virology, 10 (part1): 91-93, 1971.

chroniquement infectées et productrices de VSM-M, fut également exploré. Cette molécule était connue pour sa capacité à inhiber la synthèse des ARN ribosomiaux. La toyocamycine provoqua des lésions nucléolaires mais ne modifia pas la production virale¹.

Préparation d'un vaccin contre le virus de Rauscher

En 1964, la vaccination avait été étudiée de façon extensive dans les leucémies aviaires ; elle s'y heurtait encore à certaines difficultés tenant en particulier à la transmission verticale fréquente de ces virus chez les oiseaux. Les premiers essais concernant les leucémies murines donnèrent des résultats très encourageants avec les virus de Friend et de Rauscher. Charlotte Friend d'une part, Fink et Malmgren d'autre part réussirent à vacciner 80% des souris contre la maladie de Friend ou de Rauscher en leur injectant du virus formolé puis du virus normal.

Les chercheurs du Département d'hématologie expérimentale entreprirent alors leurs propres essais de vaccination contre les virus de Rauscher et de Moloney². A cette occasion, ils entamèrent une collaboration avec l'Institut Mérieux. Jean-Paul Lévy se rendit à Lyon pour s'instruire des différentes techniques de vaccination appliquées dans les laboratoires de recherche de cette firme pharmaceutique³. Les chercheurs de l'IRLMS montrèrent qu'avec le virus de Rauscher produit en culture de tissus, dont l'infectiosité était faible, il était néanmoins possible de protéger quelques animaux contre une injection de virus virulent provenant de plasma de souris.

En 1967, le Laboratoire d'hématologie expérimentale de l'IRLMS et l'Institut Français de Virologie, un laboratoire de recherches du groupe Mérieux, élaborèrent un projet de recherche coopérative sur la vaccination anti-leucémique. Cette collaboration concernait Jean-Paul Lévy, Jorge Périès et Jean-Claude Chuat pour l'IRLMS, E. Lefthérotis pour l'Institut Mérieux. Elle avait pour principal objectif la mise au point d'une technique de préparation de vaccins contre les leucémies virales murines, de façon à pouvoir rapidement fabriquer un vaccin contre la leucémie humaine, au cas où un virus leucémogène humain serait isolé : « En ce qui concerne les leucémies des mammifères supérieurs et de l'homme, il n'est évidemment pas question de parler de vaccination à l'heure actuelle. Mais si les progrès des études en cours aboutissent à l'isolement des virus responsables, nul doute que le contrôle de ces leucémies sera tenté par vaccination préventive. C'est dire l'importance des travaux de base qui auront pu être faits antérieurement sur des modèles plus accessibles (leucémies murines par exemple) et qui pourront servir de guide. »⁴. Le fait que les différents virus leucémogènes aient beaucoup de points communs laissait penser que les techniques de préparation de vaccin élaborées avec les virus de la souris seraient facilement transposées au virus humain.

Cette association trouvait son origine dans les compétences complémentaires des deux parties. Le laboratoire de l'Institut Mérieux était spécialisé dans la production de vaccins antiviraux, le Département d'hématologie expérimentale disposait de lignées cellulaires chroniquement infectées par le virus de Rauscher (lignée JLS V5) et par le virus du sarcome de Moloney (lignée 78 A1) produisant de grandes quantités de virus. De plus, ces cellules pouvaient dans certaines conditions pousser en suspension. Ce travail commun devait commencer par l'adaptation des cultures cellulaires à la production massive de virus dans des

¹ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1970.

² Fonds IUH, article 41, correspondance avec la Suisse, Fischer, 1964.

³ Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, échanges d'informations entre M. Boiron et J. Bernard, lettre de J. Bernard au Dr Mérieux, 17.02.1965.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Boiron M., projet d'association scientifique « Etude de la vaccination contre certains virus des leucémies murines », 1967, p. 2-3.

« fermentors » et par la mise au point d'un procédé de purification du virus ainsi produit. Plusieurs méthodes d'inactivation devaient ensuite être testées. Les vaccins devaient être évalués sur des souris des lignées Balb/c et C57Bl ainsi que sur des rats de souche pure Fischer ou Wistar-Furth. Le mode d'action, humoral ou cellulaire, des vaccins efficaces devait ensuite être évalué par la recherche d'anticorps dirigés contre le virus et par l'étude du rejet de greffe.

Ce projet commun fit l'objet d'une demande de financement auprès de la Délégation générale à la recherche scientifique et technique. L'IRLMS avait besoin d'un nouveau microscope électronique, les autres étant débordés de demandes émanant d'autres départements de l'institut. Ils proposèrent l'achat d'un microscope Philips ayant une résolution de 5 angströms¹.

La recherche d'un virus leucémogène humain

Celle-ci commença par l'étude au microscope électronique de cellules fraîchement extraites de tissus leucémiques humains. Elle fut rapidement complétée par la recherche d'antigènes viraux par immunofluorescence. Ces deux techniques permettaient de mettre en évidence des virus dans les cellules leucémiques humaines mais ne montraient en rien que ces virus avaient une action leucémogène.

Pour des raisons éthiques évidentes, le bioessai ne pouvait être utilisé chez l'homme. Il était possible d'injecter le supposé virus humain leucémogène à des rongeurs – à défaut d'humains - mais la spécificité d'espèce des virus du complexe leucémies-sarcomes étant très étroite, il semblait très peu probable que le virus humain provoque la maladie chez l'animal. L'expérience méritait toutefois d'être tentée, en particulier chez le singe, évolutivement plus proche. Cependant, elle nécessitait de disposer d'une quantité minimale de virus. Or ce dernier semblait présent en faible quantité chez l'homme. D'où les essais de culture de cellules leucémiques humaines.

La culture de cellules offrait d'autres possibilités : d'une part, rechercher des signes de transformation cellulaire, au cas où l'éventuel virus humain serait transformant, contrairement aux virus leucémogènes animaux connus ; d'autre part, tenter de démasquer d'éventuels virus latents en traitant ces cellules cultivées par différentes méthodes.

La détection d'éléments viraux ex vivo par microscopie électronique

La détection d'éléments viraux dans du matériel biologique fraîchement prélevé comprit, d'une part, la recherche de particules d'aspect viral au microscope électronique, d'autre part, la recherche d'antigènes viraux ou viro-induits par des méthodes immunologiques. Nous ne traiterons ici que de la microscopie électronique. La détection des antigènes d'origine virale s'inscrivant dans le contexte plus large de l'étude des antigènes des cellules des leucémiques, elle sera abordée dans le sous-chapitre suivant consacré aux travaux des laboratoires d'immunologie.

La microphotographie électronique des virus des cellules leucémiques humaines et animales connut un intérêt croissant à partir de 1956². Elle correspondit à une phase

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Boiron M., rapport sur le projet d'association scientifique « Etude de la vaccination contre certains virus des leucémies murines », 30.11.1967.

² Fonds Bessis, correspondance avec Dameshek W., 24.02.1958, 02.06.1958.

d'enthousiasme vis-à-vis de l'étiologie virale des leucémies humaines. William Dameshek, par exemple, pensait que des virus étaient impliqués dans au moins quelques cas de leucémies¹.

Toutefois, en 1960, des particules d'aspect viral n'avaient été trouvées que très rarement dans les leucémies humaines. Leon Dmochowski, Wilhelm Bernhard, Marcel Bessis et Herbert Braunsteiner en avaient observées mais leur aspect n'était pas très caractéristique, malgré leur ressemblance avec des corps décrits dans les leucémies expérimentales ou dans d'autres cancers².

Peu de temps après, la théorie virale fut cependant renforcée par des données épidémiologiques. Tout d'abord, des épizooties de leucémies bovines, liées au déplacement du bétail, furent décrites en Allemagne et au Danemark. Ensuite, une épidémie de lymphomes malins de Burkitt fut enregistrée en Afrique ; elle touchait 150 enfants de 5 à 7 ans et semblait liée à la présence d'un insecte. Enfin, l'apparition de plusieurs cas simultanés de leucémies dans quelques familles et écoles laissait envisager la possibilité d'une contagion interhumaine³.

Le Département d'hématologie expérimentale disposa d'un microscope électronique à partir de 1963. Celui-ci fut immédiatement utilisé pour rechercher des particules d'aspect viral dans les plaquettes de patients leucémiques, en collaboration avec Françoise Haguenau du Collège de France⁴. De telles particules furent ensuite recherchées dans le sang et le liquide céphalo-rachidien par la technique du contraste négatif⁵.

La recherche de particules virales au microscope électronique se fit en collaboration avec le Département de Cytophysiologie, dirigé par Jacques-Louis Binet. Celui-ci disposait d'un microscope à forte résolution et travaillait en étroite liaison avec le laboratoire de Marcel Bessis⁶.

Les essais de détection d'un virus leucémique chez l'homme ainsi menés à l'IRLMS n'aboutirent à rien de significatif. Ils n'observèrent au mieux que quelques particules susceptibles de correspondre. Pour cette raison, Michel Boiron et Jean Bernard pensaient, en 1965, que le virus responsable de la leucémie humaine était plus ou moins « intégré » dans la cellule ou bien était présent « dans un stade incomplet »⁷.

L'année suivante, Michel Boiron et ses collaborateurs écrivirent que le virus de la leucémie humaine - à supposer qu'il existât - était défectif, c'est à dire qu'il n'était pas produit ou qu'il était produit en quantité minime par la cellule qu'il avait transformée. Ceci s'accordait avec l'absence de virémie et avec la très grande difficulté à isoler un virus dans les leucémies ou les sarcomes spontanés de l'animal. De ce fait, ils considéraient la recherche de particules d'aspect viral au microscope électronique comme « une approche très accessoire du problème »⁸.

Pierre Lépine, le responsable du service des virus de l'Institut Pasteur (Paris, France), percevait lui aussi les leucémies expérimentales comme des maladies infectieuses où le virus ne manifestait sa présence que sous l'influence d'un certain nombre de « facteurs démasquants » nutritionnels, hormonaux ou extrinsèques comme les radiations ionisantes. Il

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Dameshek W., 06.06.1958.

² Gross L., *Oncogenic viruses*, Pergamon Press, London, 1970, p. 876-886.

³ Bernard J., *L'épidémiologie des leucémies. A la recherche d'une méthodologie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (1) : 113-118, 1962.

⁴ Fonds IUH, article 161, rapport du CRLMS pour 1963. Haguenau F., Hollmann K., Lévy J.P., Boiron M., *Etude au microscope électronique des plaquettes sanguines dans les leucémies humaines*, J. microscopie, sous presse en 1964.

⁵ Fonds IUH, article 1, plaquette de présentation de l'IRLMS, 1965.

⁶ Fonds IUH, article 1, note concernant l'IRLMS, 1964.

⁷ Fonds IUH, article 1, plaquette de présentation de l'IRLMS, 1965.

⁸ Boiron M., Périès J., Thomas M., *Les leucémies expérimentales, modèle d'étude pour les leucémies humaines*, Bull. Cancer, 53 : 191-198, 1966.

pensait également que la preuve de la nature virale de la leucémie humaine ne serait pas apportée par la microscopie électronique, en raison des artéfacts, de la présence d'autres virus, et bien sûr du masquage des virus leucémogènes. Le seul moyen de preuve était pour lui de cultiver le virus et de montrer que ce virus générait des anticorps chez une autre espèce qui réagissent avec le virus de la même façon que le sérum des malades¹.

L'inoculation d'extraits leucémiques humains à l'animal

A la fin des années 1950, S. Schwartz, du Hektoen Institute de Chicago, et l'équipe de J. Harel, de l'Institut du cancer de Villejuif, annonçèrent avoir provoqué des cancers chez la souris par l'injection d'extraits acellulaires leucémiques humains à des souriceaux nouveaux-nés. S. Schwartz avait traité des souris AKR et noté une augmentation de la fréquence de leucémies chez les souris traitées². J. Harel avait injecté de l'ARN extrait de ganglions leucémiques humains et constaté l'apparition d'un mésothéliome³. Cependant, ces expériences n'avaient pu être reproduites⁴. Signalons, qu'à l'époque, ces résultats ne furent pas systématiquement perçus comme favorables à la théorie virale. Pour certains cancérologistes, ils s'accordaient avec l'autre théorie dominante, celle de l'intoxication chimique lente et chronique. S'il était admis que l'ADN était le support des gènes, l'ARN restait une substance au rôle encore fortement discuté. Selon Marcel Bessis, les manipulations chimiques de préparation des extraits avaient détruit tout ce qui aurait pu y demeurer de « vivant ». Par conséquent, l'agent leucémogène de ces extraits ne pouvait être qu'une substance chimique et non un virus⁵.

Au milieu des années 1960, les virus leucémiques des volatiles, rongeurs, chiens, chats et bovins, passaient très rarement la barrière d'espèce, dans des cas de grande proximité phylogénétique. A une exception près : certaines souches de virus de Rous pouvaient contaminer les Vertébrés de la poule jusqu'au singe⁶. Le bioessai hétérologue avait donc très peu de chances de réussir avec l'homme ; il était cependant justifié par l'immense intérêt théorique et pratique que représentait l'isolement d'un virus leucémogène humain. Les chercheurs de l'IRLMS envisagèrent alors d'inoculer des extraits de cellules leucémiques humaines à des chimpanzés nouveau-nés.

Le premier problème à résoudre était celui de l'élevage des singes. Les chimpanzés se reproduisant très difficilement en France, l'implantation en Afrique d'une annexe de l'institut fut décidée en 1964, mais la réalisation de ce projet prit plusieurs années. En 1970, la reproduction lente des chimpanzés, ne permettait pas encore d'analyser les résultats des inoculations de singes nouveaux-nés avec du matériel leucémique humain⁷.

¹ Séance spéciale de la Société Française d'Hématologie, *Acquisitions récentes sur les leucémies*, 20 mai 1963, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 3 (6) : 816-849, 1963.

² Schwartz S.O., *Editorial. Etiology of leukemia : a case for the virus theory*, *Blood*, 11 : 1045-1047, 1956.

³ Harel J., Huppert J., Lacour F., Lacour J., *Induction de tumeurs malignes chez le souriceau nouveau-né par l'injection d'une préparation d'acide ribonucléique extrait de ganglions leucémiques humains*, *C.R. Acad. Sci.*, 10 : 795-796, 1958.

⁴ Bernard J., Boiron M., Lévy J.P., *Virus et leucémies humaines*, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 5 (4) : 559-564, 1965.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec l'Office français d'informations médicales et chirurgicales, tapuscrits de M. Bessis, 1958.

⁶ Boiron M., Périès J., Thomas M., *Les leucémies expérimentales, modèle d'étude pour les leucémies humaines*, *Bull. Cancer*, 53 : 191-198, 1966.

⁷ Fonds IUH, article 22, correspondance avec Vigny M., Interview pour Le concours médical, 1974.

La culture de cellules leucémiques humaines

Les premières tentatives de culture de cellules sanguines furent le fait de chercheurs isolés, comme l'hématologue français Justin Jolly, qui en 1903 cultiva des leucocytes de triton, ou l'Allemande Rhoda Erdmann, qui en 1910 obtint la multiplication de cellules de moelle osseuse sur boîte de Pétri. Avant la seconde guerre mondiale, les travaux qui eurent le plus d'influence furent ceux de Ross Harrison, au Laboratoire d'anatomie de l'Université John Hopkins (Baltimore), et ceux d'Alexis Carrel, à l'Institut Rockefeller. Ross Harrison mit au point la technique dite de « la goutte pendante », qui consistait à placer un fragment de tissu sur une lamelle de verre, à la retourner sur une lame présentant une dépression en cupule dans laquelle avait été déposée une goutte de lymphes, et à celler le tout avec de la paraffine. Quant à Alexis Carrel, il mit au point la culture en flacons¹. Les cellules sanguines ayant tendance à se différencier au contact du verre, la culture en suspension agitée et la culture sur une couche de cellules nourricières furent préférées à la culture de cellules fixées au verre en couche monocellulaire².

En 1964, afin d'éviter les contaminations virales entre les cultures de cellules animales et de cellules humaines, Jean Bernard décida de séparer géographiquement leurs lieux de culture. Il demanda à l'Assistance Publique l'autorisation d'organiser un laboratoire de virologie dans trois petites pièces venant de se libérer au dessus du service d'hématologie, dans l'Hôpital Saint-Louis. Ce laboratoire eut pour fonctions, non seulement la culture de cellules leucémiques humaines, mais également le diagnostic des pathologies virales des malades du service. Les cultures de cellules et de virus animaux restèrent, quant à elles, dans les laboratoires du Centre Hayem³.

En 1965, des cellules leucémiques, médullaires et sanguines, furent « explantées » (repiquées) sur des monocouches de cellules humaines saines, embryonnaires, médullaires ou thyroïdiennes, de « primo-explantation » (fraîchement prélevées)⁴. Les chercheurs du Département d'hématologie expérimentale voyaient en la culture de tissus la voie d'avenir dans la recherche du facteur causal des leucémies humaines⁵. Il était cependant très difficile d'obtenir des cultures prolongées de cellules leucémiques, contrairement aux cellules de Burkitt. Il était également très difficile pour ne pas dire impossible de savoir si les cellules qui se multipliaient étaient leucémiques ou saines. En 1966, Michel Boiron et ses collaborateurs admettaient l'existence d'une vingtaine de lignées « vraiment leucémiques » provenant de leucémies aiguës ou chroniques et ayant pour la plupart été établies aux Etats-Unis. La même année, ils mirent en culture des cellules embryonnaires humaines saines avec des extraits leucémiques acellulaires⁶. Ni les cocultures de cellules leucémiques et de cellules embryonnaires normales, ni les cellules embryonnaires saines cultivées en présence d'extraits leucémiques ne montrèrent trace de virus.

A cette époque, la théorie virale perdit semble-t-il de son charme. En 1967, Marcel Bessis, qui revenait des Etats-Unis où il avait assisté à un symposium sur les leucémies, écrivit à Antoine Lacassagne : « le virus perd du terrain et l'environnement en gagne ! »⁷. L'enthousiasme aurait pu être relancé l'année suivante par les résultats de Gabriel Seman, de l'Institut de cancérologie et d'immunogénétique (Villejuif, France). Ce dernier observa un

¹ Chastel C., *Histoire des virus, de la variole au Sida*, Editions Boubée, Paris, 1992.

² Lévy J.P., Périès J., *La culture in vitro des virus leucémigènes*, Path. Biol., 12 : 1158-1161, 1964.

³ Fonds IUH, article 136, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, relations avec la direction, 18.01.1964.

⁴ Fonds IUH, article 1, plaquette de présentation de l'IRLMS, 1965.

⁵ Boiron M., Périès J., Thomas M., *Les leucémies expérimentales, modèle d'étude pour les leucémies humaines*, Bull. Cancer, 53 : 191-198, 1966.

⁶ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1966.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec Lacassagne A., 20.10.1967.

grand nombre de particules d'aspect viral dans des cellules leucémiques humaines circulantes¹. Il partit alors pour l'Anderson Hospital et le Tumor Institute de l'Université du Texas (Houston, Etats-Unis), d'où il correspondit avec Marcel Bessis au sujet de ses observations microscopiques². D'après Marcel Bessis, Gabriel Seman était le seul à avoir des images d'une technique irréprochable du point de vue cytologique et qui ne prêtaient pas à discussion du point de vue de la nature virale des particules³. Ludwik Gross, par contre, n'était pas convaincu que ces corpuscules soient des virus en raison de leur localisation exclusivement cytoplasmique et de l'absence de figures de bourgeonnement. Néanmoins, ils ressemblaient à d'autres particules observées dans des cellules cancéreuses animales⁴. Comme l'écrivit à ce moment-là Gabriel Seman, le manque d'intérêt pour son travail était lié au « déluge de virus de toutes sortes » dont avaient été victimes les laboratoires de cancérologie : « Cela résulte, à mon avis, du fait que la microscopie électronique a révélé d'une part trop peu de virus (quantitativement) et d'autre part trop de virus (qualitativement). Et nous voilà en plus avec, sur le dos, les virus herpétiques, depuis le canard jusqu'aux biopsies humaines et aux cultures. Cela ne cadre pas du tout avec cette sorte de monolithisme des virus murins, maintenant retrouvés chez le chat, le chien, le cochon d'Inde, etc. Aucune tentative d'enrichissement de virus leucémigènes par culture de matériel humain n'a réussi jusqu'à présent. Enfin, les cultures ont le grave inconvénient de finir invariablement en cultures bactériennes, plus ou moins à la longue, ou de révéler des virus dont on ne sait que faire. »⁵.

En plus des bactéries, champignons et virus, les cultures pouvaient aussi être contaminées par des mycoplasmes ou PPLO (pleuropneumonia like organisms). Ces corps avaient été isolés de manière répétée à partir de sang ou de tissus leucémiques humains. Ces organismes étaient présentés comme étant des parasites cellulaires facultatifs proches des bactéries et des virus. Très fréquents dans les élevages de rats et les cultures de tissus, les mycoplasmes avaient un effet cytopathogène proche de celui des virus. Seule la culture sur agar en milieu spécial permettait de les identifier avec certitude. Ils formaient dans ces conditions des colonies de formes particulières, la plus typique étant celle « d'œuf frit ». En microscopie électronique, leur aspect n'était pas toujours caractéristique ; ils présentaient un grand polymorphisme. Leur seul point commun sur les coupes était la présence d'une « membrane limitante à triple couche » (de structure analogue à la membrane cellulaire)⁶. Les coupes ultraminces en contraste négatif permirent de distinguer trois aspects différents : des corps élémentaires ronds très denses d'environ 100 nm de diamètre, des formes ressemblant à des cellules, de 500 nm de diamètre, et contenant des corps élémentaires, ainsi que des filaments (voir annexe 35). Leur première observation dans des tissus leucémiques avait été réalisée en 1957 par Leon Dmochowski dans un ganglion de leucémique aigu. En 1964, Negroni, qui avait ensemencé des cellules rénales d'embryon humain avec des extraits de moelle osseuse de patients leucémiques, constata après plusieurs passages « aveugles » l'apparition d'un effet cytopathogène toujours absent des témoins et transmissible en série. Il pensa avoir isolé un virus leucémogène. Mais il fut montré par la suite qu'il s'agissait de mycoplasmes. L'étude de l'association des mycoplasmes et des leucémies humaines mit en évidence la fréquence de celle-ci. Toutefois, le taux d'anticorps anti-mycoplasmes n'était pas

¹ Fonds Bessis, Association Claude Bernard, Rapport d'activité des centres, 1968.

² Fonds Bessis, correspondance avec Seman G., 11.09.1968.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Seman G., 10.01.1969.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Gross L., 22.03.1968 ; correspondance avec Seman G., 21.02.1969.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Seman G., 11.09.1968.

⁶ La membrane plasmique est aujourd'hui décrite comme une bicouche lipoprotéique. La structure trilamellaire observée au microscope électronique à transmission est aujourd'hui interprétée comme un artefact lié aux techniques de fixation des échantillons, qui provoqueraient la sortie des protéines entre les deux couches de lipides.

plus élevé chez les leucémiques que chez les sujets sains. Des mycoplasmes avaient également été trouvés dans le sérum de leucémiques. La description de ces microorganismes mit en doute tous les résultats précédemment obtenus par microscopie électronique et par culture *in vitro*. Leur grande ubiquité et la sensibilité des leucémiques aux infections faisaient qu'il était difficile de leur accorder un rôle étiologique¹.

L'espoir placé dans les cultures de cellules leucémiques humaines reflourit en 1969, avec l'observation, par l'équipe de George Todaro, au National Cancer Institute, de la libération spontanée de particules virales dans des cultures à long terme de cellules embryonnaires murines².

En 1971, les chercheurs de l'IRLMS avaient passé régulièrement 22 cocultures à long terme de cellules sanguines leucémiques et de cellules humaines normales. Les cellules-supports étaient soit des fibroblastes, soit des cellules embryonnaires de rein et de foie obtenues à partir d'un avortement thérapeutique, soit des cellules de la lignée WI38. La moitié au moins des cellules provenaient de patients atteints de leucémies aiguës, lymphoblastiques ou myéloblastiques. Ces cultures n'avaient toujours pas permis d'identifier de particules virales de type C, pas plus qu'un antigène spécifique commun. Il n'avait pas non plus été mis en évidence de pouvoir transformant des surnageants³.

Essais d'induction par la phytohémagglutinine

En 1949, Osgood avait réussi la culture de globules blancs humains en ajoutant à ses suspensions cellulaires immobiles de l'extrait aqueux de graines de haricot. L'ajout de cette « phaséoline » ou « phytohémagglutinine » provoquait de nombreuses mitoses au bout de 3 ou 4 jours⁴. Michel Boiron et ses collaborateurs l'avaient utilisée, en 1964, pour comparer son action *in vitro* sur les lymphocytes de 13 sujets normaux et de 15 sujets atteints de leucémie lymphoïde chronique ; ils avaient observé des mitoses dans les deux cas⁵. L'année suivante, Bernard Dreyfus, au Centre départemental de la transfusion sanguine (Paris), avait montré que la phytohémagglutinine provoquait des mitoses des lymphocytes⁶.

En 1970, une autre équipe ayant montré que la phytohémagglutinine augmentait la multiplication virale dans les leucocytes en culture, les chercheurs du Département d'hématologie expérimentale l'utilisèrent sur des cultures de cellules sanguines provenant de 15 patients atteints de leucémies aiguës ou chroniques. Les cellules prélevées furent cultivées pendant 3 à 5 jours en présence de cette glycoprotéine puis photographiées au microscope électronique. Sur les 250 cellules examinées par échantillon, de rares particules de type C

¹ Leclerc J.C., Silvestre D., *Mycoplasmes et hémopathies humaines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (2) : 215-230, 1967.

² Aaronson S., Hartley J., Todaro G., *Mouse L virus : spontaneous release by mouse embryo cells after long term in vitro cultivation*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 64 : 87-94, 1969.

³ Fonds IUH, article 1, rapport d'activité de l'UER pour 1971 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1971.

⁴ Osgood, Blood, 4 : 670, 1949 cité par Favier Y., Viette M., Saint-Paul M., Duplan J.F., *Méthode simplifiée de culture de leucocytes à partir du sang humain. Influence de la phaséoline*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (6) : 872-879, 1961.

⁵ Bernard C., Geraldès A., Boiron M., *Action de la phytohémagglutinine in vitro sur les lymphocytes de leucémies lymphoïdes chroniques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 : 69-76, 1964. Bernard C., Geraldès A., Boiron M., *Effects of phytohemagglutinin on blood cultures of chronic myelocytic leukaemias*, Lancet, 1 : 667-668, 1964.

⁶ Dreyfus B., *Phytohémagglutinine et multiplication cellulaire*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (3) : 393-396, 1965.

furent observées, bourgeonnant à la membrane dans un cas de leucémie aiguë myéloblastique¹.

Essais de démasquage par un virus murin

Pensant que l'infection par d'autres virus cancérigènes pouvait peut-être démasquer le virus des cellules leucémiques humaines en stimulant sa multiplication, les chercheurs de l'IRLMS envisagèrent de cultiver le virus du sarcome de Moloney et son « auxiliaire » le virus de la leucémie de Moloney sur des cellules issues de patients. Ils commencèrent par cultiver ces virus sur des cellules bovines. Cette tentative réussit : les virus se répliquèrent et transformèrent les cellules de veau². Ils pouvaient dès lors espérer cultiver les virus de Moloney sur des cellules de l'homme, cet autre Mammifère supérieur.

En 1968, Jean-Claude Chuat réussit à cultiver le virus du sarcome de Moloney sur des cellules humaines de la lignée WI38³. Au cours des deux années suivantes, ils cultivèrent également cette souche virale sur des cellules embryonnaires humaines d'explantation récente. Ces dernières se montrèrent de meilleures productrices de virus, en quantité et en temps, que les cellules de la lignée WI38. De plus, leur conversion morphologique était constamment observée. Au microscope électronique, les virions se révélèrent très abondants, en bourgeonnement et dans les espaces intercellulaires. Les antigènes spécifiques des virus leucémogènes murins étaient décelables dès le septième jour. La technique étant au point pour les cellules humaines provenant de sujets sains ; ils envisagèrent de l'appliquer aux cellules leucémiques. Mais, ils souhaitèrent auparavant comprendre un résultat inattendu : le virus produit en culture « hétérologue » était peu pathogène pour la souris. S'agissait-il de virions humains démasqués ? Non, l'étude immunologique montra que ces virions portaient des antigènes viraux de type murin⁴.

Une autre voie de démasquage de l'éventuel virus humain à l'aide d'un virus animal reposait sur l'hypothèse selon laquelle ce virus humain pourrait servir de helper au VSM déficient. Le virus leucémogène du chat venait d'être utilisé par une autre équipe comme virus helper. Afin de tester cette hypothèse, ils cultivèrent des cellules P25 de hamster, sensibles au VSM et résistantes à son virus helper habituel le VLM, avec des cellules embryonnaires et des cellules leucémiques humaines. Le virus Sendaï, inactivé par les ultra-violets, fut ajouté à ces cultures en raison de sa capacité à induire des fusions cellulaires et donc à permettre l'obtention de cellules hybrides homme-hamster. La production de VSM fut recherchée de

¹ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1970. Auger M.A. et coll., *Influence de certaines glycoprotéines sur la croissance d'une lignée lymphoïde en culture continue in vitro*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 16 (2) : 130-135, 1971.

² Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1967. Thomas M., Boiron M., Lasneret J., Bernard J., *Réplication du virus du sarcome murin (souche de Moloney) sur cellules embryonnaires bovines in vitro*, C. R. Acad. Sci., 266 : 1537-1539, 1968. Thomas M., Boiron M., Lasneret J., Stoitchov Y., *In vitro replication of mouse sarcoma virus (Moloney strain) on bovine embryo skin cells*, Virology, 36 : 514-518, 1968.

³ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1968. Bernard C., Lasneret J., Boucher M., Boiron M., *Conversion cellulaire morphologique et réplication virale après infection in vitro de cellules humaines par le virus du sarcome murin, souche Moloney*, C. R. Acad. Sci., 268 : 624-627, 1969. Boiron M., Bernard C., Chuat J.C., *Replication of mouse sarcoma virus Moloney strain (MSV-M) in human cells*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 10 : 8, 1969.

⁴ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1970. Chuat J.C. et al, *Studies of mouse sarcoma virus : II detection of group specific antigens by immunofluorescence*, Int. J. Cancer, 7: 101-111, 1971. Bernard C., Chuat J.C., Laprevotte I., Boiron M., *Further studies on mouse sarcoma virus (Moloney) replication in human cells. Partial host range shift of progeny virus*, Int. J. Cancer, 10 : 518-526, 1972.

trois façons différentes. Les surnageants des co-cultures furent déposés sur des cellules embryonnaires d'homme ou de souris chez lesquelles le virus provoquait habituellement une conversion morphologique. Des particules de type C furent recherchées au microscope électronique par examen des surnageants et des cellules. L'immunofluorescence fut utilisée pour mettre en évidence l'antigène GS de la nucléocapside.

Trois cocultures, réalisées en 1970, donnèrent des résultats positifs. Dans le premier cas, des cellules embryonnaires humaines ayant incubé dans du surnageant de co-culture prirent un aspect de transformation : « des cellules allongées et une housse désordonnée ». Dans le second cas, de nombreuses particules de type C, bourgeonnantes et extracellulaires, furent observées au quatorzième jour de culture. De plus, le test d'immunofluorescence fut positif. Dans le dernier cas, ils trouvèrent quelques rares particules de type C¹.

Essais de détection par coculture avec des cellules animales

Des cellules leucémiques humaines furent cultivées sur des cellules animales normales, au cas où les cellules permissives pour la multiplication de l'agent viral recherché ne seraient pas les cellules humaines. Le virus SV40 avait été mis en évidence par la culture de tissus d'un singe asiatique sur des tissus d'un singe africain².

Des cellules embryonnaires de veau, de chat et de chien furent utilisées. En 1971, cinq lignées, créées à l'IRLMS à partir de leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques, avaient été mises en culture avec des cellules animales. Dans un cas, une nette modification de la monocouche, avec l'apparition de cellules en navettes à bord nets et très réfringentes, fut observée au sixième passage. Mais il était trop tôt pour en tirer la moindre conclusion³.

Malgré la faiblesse des résultats obtenus dans le domaine en 1970, les chercheurs de l'IRLMS restaient persuadés de l'étiologie virale des leucémies humaines : « Les virus jouent un grand rôle dans les leucémies humaines, cela semble aujourd'hui un fait acquis (...) La théorie de plus en plus répandue parmi les chercheurs est celle d'un virus latent, réactivé par un facteur endogène ou exogène (infection, produits chimiques, irradiations), fait déjà observé chez la souris. ». Cette conviction reposait toujours, d'une part, sur une analogie avec les espèces animales, l'étiologie virale ayant été démontrée par bioessai chez la poule, la souris, le chat et le chien, et étant fortement soupçonnée chez les bovins, d'autre part, sur la présence chez certains patients leucémiques de particules ressemblant aux particules de type C de la leucémie murine⁴.

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs CNRS LA 47, rapport d'activité pour 1970.

² Séance spéciale de la Société Française d'Hématologie, Acquisitions récentes sur les leucémies, 20 mai 1963, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 3 (6) : 816-849, 1963.

³ Fonds IUH, article 1, rapport d'activité de l'UER pour 1971 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1971.

⁴ Fonds IUH, article 162, plaquette de l'Association Claude Bernard, 1955-1970, p22.

Travaux des laboratoires d'immunologie

Présentation des équipes

Au moment de sa création, l'IRLMS comptait deux départements d'immunologie : le Département d'immuno-hématologie, dirigé par Jean Dausset, et le Département d'immuno-chimie, dirigé par Maxime Seligmann. A ce découpage disciplinaire, basé sur la biologie, s'ajoutèrent des départements ou laboratoires transversaux regroupant des activités centrées sur une maladie.

Ainsi, en 1965, Jean Bernard demanda au CNRS la création d'un « laboratoire associé » consacré à l'étude immunologique des leucémies expérimentales et humaines¹. Cette structure (LA CNRS 47) regroupa les travaux de membres du Département d'immuno-hématologie, dont François Kourilsky (né en 1934), et du Département d'hématologie expérimentale, dont Jean-Paul Lévy (né en 1934). Rapidement, leurs recherches s'étendirent aux sarcomes murins et humains, en particulier aux tumeurs des organes lymphoïdes. Le laboratoire changea alors d'intitulé ; il devint le laboratoire d'immunologie des tumeurs².

En 1969, ce dernier était formé de trois équipes : le laboratoire des leucémies expérimentales (J.P. Lévy, J.C. Leclerc, D. Silvestre, A. Senik, B. Varet, T. Heuneman), le laboratoire d'hématologie expérimentale (M. Boiron, J. Periès, A. Canivet, J.C. Chuat, C. Bernard) et le laboratoire d'immunologie des leucémies (F. Kourilsky, J. Fischer, S. Oppenheim, C. Sautes, W.H. Fridman)³.

Parallèlement, l'IRLMS s'enrichit d'un Département d'immunologie des tumeurs, co-dirigé par François Kourilsky et Jean-Paul Lévy.

L'étude des leucémies expérimentales

Au milieu des années 1960, les hypothèses de travail de l'immunologie des cancers et des leucémies n'avaient pas varié depuis le début du siècle. On considérait qu'il existait une différence d'antigénicité entre la cellule normale et la cellule leucémique, que cette différence était à l'origine d'une réaction immune de l'hôte contre ses cellules leucémiques, que cette réaction était efficace chez le sujet sain et inefficace chez le sujet leucémique. L'inefficacité de la réaction immunologique anti-leucoblastique en clinique était attribuée à un déficit des fonctions immunitaires, un processus de facilitation immunologique ou un excès d'antigènes en circulation⁴. Pour ces raisons, les études menées chez l'animal comme chez l'homme portèrent sur les antigènes des cellules leucémiques et des virus leucémogènes animaux, sur les défenses immunitaires générales des leucémiques, sur la réaction de l'hôte contre la leucémie, ainsi que, pour l'homme, sur la recherche de virus potentiellement leucémogènes.

¹ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et J. Dausset, 24.07.1965.

² Pour une histoire générale de l'immunologie des tumeurs et de l'immunothérapie anti-cancéreuse voir Lowy I., *Experimental Systems and Clinical Practices : Tumor Immunology and Cancer Immunotherapy*, 1895-1980, J. Hist. Biol., 27 (3) : 403-435, 1994.

³ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs CNRS LA 47, demande de renouvellement pour 1970.

⁴ Kourilsky F., Dausset J., *Immunologie des leucémies*, Actualités hématologiques, 1 : 171-188, 1967.

Les antigènes des virions du groupe leucémies-sarcomes

La différence d'antigénicité entre les cellules leucémiques et les cellules normales était liée, pensait-on, soit à la présence d'antigènes supplémentaires, tels des antigènes viraux et cellulaires viro-induits, soit à l'absence qualitative ou quantitative d'antigènes des globules blancs normaux.

Les antigènes de l'enveloppe

Pour caractériser les antigènes de l'enveloppe des virus leucémogènes, plusieurs équipes immunisèrent des souris et d'autres rongeurs avec les virus du groupe leucémies-sarcomes. Les sérums ainsi préparés contre chaque type de virus furent ensuite testés pour leur capacité à reconnaître les différents virus leucémogènes et sarcomatogènes. Des anticorps anti-virus furent recherchés dans ces sérums par les techniques de neutralisation du bioessai et de cytotoxicité vis à vis de cellules infectées. Chaque sérum anti-virus fut ensuite testé sur tous les virus du groupe.

Ces réactions croisées montrèrent que les virus de Friend, de Moloney, de Rauscher et de Graffi avait plusieurs antigènes d'enveloppe en commun, associés de façon variable selon les souches virales. Ces antigènes reçurent le nom de « système FMRGi »¹.

La détection au microscope électronique de ces antigènes de l'enveloppe des virus leucémogènes avait été envisagée dès 1967. Mais les laboratoires d'immunologie de l'IRLMS ne disposaient pas d'un microscope électronique et celui du Département d'hématologie expérimentale, un microscope Siemens Elmiskoop II, tombait régulièrement en panne pendant plusieurs mois et, surtout, ne permettait pas de détecter les anticorps marqués par la ferritine². Cette technique se heurta aussi à la difficulté d'obtenir des anticorps hautement purifiés et concentrés. L'acquisition d'un nouvel appareil de résolution suffisante pour les études immuno-ultrastructurales et l'obtention de sérums plus spécifiques, leur permit, en 1968, de mettre en évidence plusieurs composants antigéniques sur l'enveloppe des virus leucémogènes³.

Par des réactions de neutralisation à l'aide de sérums anti-H2, les chercheurs de l'IRLMS détectèrent également des antigènes cellulaires d'histocompatibilité sur l'enveloppe du VSM souche Moloney. Cela confirmait les résultats antérieurs de J. Tennant mais était en désaccord avec les travaux d'autres équipes qui, selon eux, avaient probablement utilisé des sérums anti-H2 de moindre puissance⁴.

Les antigènes de la nucléocapside

Les chercheurs de l'institut s'intéressèrent aux « antigènes profonds » du virion VSM. Pour les caractériser, ils utilisèrent les sérums d'animaux porteurs de sarcomes de Moloney et, en particulier, de ceux chez qui la tumeur s'était développée longtemps et s'était nécrosée, ce qui rendait plus probable la formation d'anticorps contre des éléments intra-viraux et intracytoplasmiques. Les sérums de rats W/CF et W/Fu porteurs de tumeurs « transplantées » par

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, demande de renouvellement pour 1970.

² Fonds Bessis, correspondance avec Boiron M., projet d'association scientifique entre l'IRLMS et l'Institut Mérieux, p. 6.

³ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968.

⁴ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

l'injection de faibles doses de cellules de sarcomes de Moloney semblaient de bons candidats. Pour démontrer que les anticorps des sérums de rats W/CF et W/Fu étaient spécifiques d'un ou des antigènes de la nucléocapside, ils utilisèrent l'immunodiffusion en milieu gélifié. Le sérum fut déposé, d'une part, face à « l'antigène intracytoplasmique » (la nucléocapside purifiée), d'autre part, face à « l'antigène viral » (virion), produit chez la souris et traité ou non à l'éther anesthésique. La nucléocapside avait été purifiée à partir de cellules de rat W/CF 78A1, grandes productrices de VSM, qui avait été lavées, cassées par trois cycles de congélation-décongélation et centrifugées. Les nucléocapsides avaient ensuite été extraites du surnageant par centrifugation et concentrées par dialyse. Une ligne de précipitation, unique en général, fut observée uniquement avec l'antigène cytoplasmique de la lignée 78A1 et avec l'antigène libéré par l'éther, connu pour endommager l'enveloppe virale. Ainsi, fut démontrée la spécificité anti-nucléocapsidique des sérums des rats W/CF et W/Fu¹.

Cet antigène de la nucléocapside, appelé « SG » pour « spécifique de groupe », fut retrouvé dans tous les virus du groupe leucémies-sarcomes².

Les antigènes des virions dans l'étude du cycle viral

La cinétique d'apparition de l'antigène SG fut étudiée dans des cellules infectées par le VSM isolat Moloney, par immunofluorescence en utilisant du sérum de rats W/CF ou W/Fu porteurs de tumeurs transplantables induites par le VSM. Ce sérum fut rendu monospécifique par adsorption des anticorps dirigés contre les antigènes d'enveloppe en présence de virions intacts.

On distingue l'immunofluorescence directe et indirecte. Dans l'immunofluorescence directe, l'anticorps est couplé de façon covalente à la fluorescéine, une molécule fluorescente, puis incubé avec les cellules ou la section de tissu à examiner. Les anticorps liés à l'antigène sont visualisés par microscopie sous une lumière ultraviolette. Dans l'immunofluorescence indirecte, l'anticorps étudié est révélé par un second anticorps anti-gammaglobulines fluorescent. L'immunofluorescence indirecte fut élaborée en 1950 par A. Coons et M. Kaplan³. Elle fut utilisée en 1963 pour caractériser le virus de la myéloblastose aviaire⁴.

Les chercheurs de l'IRLMS suivirent d'abord la synthèse de l'antigène SG dans les cellules de la lignée 8828 provenant de souris balb/c très sensibles à l'infection par VSM-M et permissives pour sa réplication. L'antigène SG fut détecté dans le cytoplasme des cellules 15 heures après l'infection. La fluorescence devint nette à partir de 24 heures et maximale à 40 heures.

La présence de l'antigène SG fut aussi recherchée dans deux lignées de cellules de hamster infectées par le VSM-M mais non productrices (HT1(8303), P25), de manière à préciser le niveau du blocage de la réplication du virus chez cet hôte. L'antigène SG ne put être mis en évidence dans ces cellules.

De plus, sachant que dans les cellules de souris permissives pour le virus de la leucémie de Moloney (VLM), ce virus permettait la production de virions VSM, ils firent fusionner, au moyen du virus Sendaï irradié, des cellules P25 et des cellules de souris. Si cette fusion suffisait à faire apparaître l'antigène GS, en l'absence du virus helper, cela signifierait

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

² Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport scientifique du CRLMS pour 1970.

³ Coons A., Kaplan M., *Localization of antigen in tissue cells. II Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody*, J. Exp. Med., 91 : 1, 1950.

⁴ Vogt P., Rubin H., *Studies on the assay and multiplication of avian myeloblastosis virus*, Virology, 19 : 92-104, 1963.

que le VLM permettait l'habillage du génome VSM mais n'était pas nécessaire à la synthèse de l'antigène SG. Ces expériences ne semblent pas avoir donné de résultats exploitables¹.

Les antigènes de la membrane des cellules leucémiques

Les travaux consacrés aux antigènes des cellules leucémiques furent de trois sortes : leur mise en évidence, la comparaison de ces antigènes avec ceux de l'enveloppe des virions et, pour les leucémies virales, la détermination de la nature virale ou cellulaire des antigènes viro-induits.

Depuis une publication de E. Foley en 1953, on admettait que les cellules cancéreuses portaient des « antigènes associés aux tumeurs »². De tels antigènes furent décrits aussi bien dans des tumeurs chimio-induites³ que viro-induites⁴. En 1967, plusieurs antigènes (X, E, MV, TL, etc.) avaient déjà été décrits dans les leucémies expérimentales. L'antigène « TL » pour « Thymus Leukemia », découvert et étudié par l'équipe de Lloyd Old, au Sloan-Kettering Institute, avait conduit à s'interroger sur l'origine virale ou cellulaire des antigènes induits à la surface membranaire par l'infection virale. Cet antigène TL était présent sur des cellules leucémiques de la souche de souris C57BL/6 et sur les cellules normales thymiques de la souche A. Cet antigène fut considéré comme l'expression d'un gène normal de la souris ne s'exprimant chez le sujet sain que dans certains types cellulaires⁵.

Le système FMRGi

Les chercheurs de l'IRLMS étudièrent les antigènes spécifiques des leucémies murines par des techniques sérologiques et d'immunité de greffe. Un antigène commun aux leucémies de Friend, de Moloney, de Rauscher et de Graffi, le « système FMRGi », fut défini. Le « système FMR » était déjà connu ; l'équipe de Jean-Paul Lévy le modifia en y intégrant l'antigène de membrane induit par le virus de Graffi. Les cellules porteuses du système FMRGi n'arboraient pas l'antigène G, caractéristique des cellules infectées par le virus de Gross⁶.

Afin de compléter l'étude de ce système, les chercheurs de l'IRLMS recherchèrent un éventuel antigène spécifique du VSM. Des lots de hamsters, de même âge et de même sexe, reçurent des cellules transformées par le VSM (cellules Messor ou HT1-P25) ou des cellules témoins (fibroblastes de hamster, tumeur spontanée de Fortner, BHK 21, clone 13, tumeur de Rous (SR-RSV)). Ces cellules avaient été recueillies sans trypsine, de manière à ne pas altérer la structure antigénique de leur membrane, et irradiées à 10.000 r pour inhiber leur croissance,

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapports d'activité pour 1969 et 1970 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1970. Chuat J.C., Lasquelléc F., L'Hirondel A.M., Boiron M., *Studies on murine sarcoma virus : II- Detection of group specific antigens by immunofluorescence*, Int. J. Cancer, 7 : 101-111, 1971.

² Foley E., *Antigenic properties of methyl-cholanthene induced tumors in mice of the strain of origin*, Cancer Res., 13 : 835, 1953.

³ Prehn R., *Tumor specific immunity to non viral tumors*, Canad. Cancer Conf., 5 : 387, 1963.

⁴ Old L., Boyse E., *Immunology of experimental tumors*, Ann. Rev. Med., 15 : 167, 1964. Klein G., Recent trends in tumor immunity, J. Med. Soc., 2 : 135, 1966.

⁵ Kourilsky F., Dausset J., *Immunologie des leucémies*, Actualités hématologiques, 1 : 171-188, 1967.

⁶ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968 et 1969. Lévy J.P., Leclerc J.C., Varet B., Oppenheim E., *Study of the antigenic specificity of Graffi leukemic cells*, J. Nat. Cancer Inst., 41 : 743-750, 1968. Lévy J.P., Varet B., Oppenheim E. Leclerc J.C., *Antisera and identification of murine leukemia virus*, Nature, 224 : 606-609, 1969.

la plupart étant tumorigènes aux doses utilisées. Un mois plus tard, ces animaux se virent injecter des doses graduées de cellules tumorales HT1-P25. L'évaluation d'une éventuelle augmentation, suite à l'immunisation préalable, de la résistance à la greffe de cellules tumorales HT1-P25, se fit par la détermination de la dose de cellules P25 nécessaires à la production d'une tumeur.

Le pré-traitement par les cellules transformées par le VSM provoqua un net effet protecteur. Un bruit de fond important fut observé avec les cellules fibroblastiques de leur élevage mais pas avec la tumeur de Fortner ; les fibroblastes étaient donc peut-être contaminés. La spécificité VSM de l'antigène de transplantation ainsi mis en évidence n'était cependant pas assurée. Il pouvait s'agir d'une réaction allogénique, car les tumeurs transplantées portaient des allo-antigènes différents de ceux des hamsters « immunisés », ces animaux n'étant pas consanguins. Ils décidèrent donc d'utiliser d'autres tumeurs témoins, disant que plus le nombre de combinaisons serait élevé, moins ces effets pourraient être attribués à des allo-antigènes. Les antigènes induits par le VSM furent comparés avec ceux décrits par l'équipe de Robert Huebner au National Cancer Institute¹.

Le VSM fut en outre utilisé pour comparer les antigènes de l'enveloppe des virus du groupe leucémies-sarcomes et les antigènes induits à la membrane cellulaire par l'infection virale. Rappelons que la détection du virus du sarcome de Moloney (VSM) dans les cellules non productrices de hamster se faisait par coculture avec des cellules de souris sensibles ou par l'adjonction de virus leucémogènes helpers. Dans ces conditions, étaient produits dans le surnageant des virions « pseudotypes » du VSM, ayant l'information génétique du VSM et l'enveloppe d'un virus leucémogène. Le premier pseudotype du VSM, préparé en 1969 par les chercheurs de l'institut, avait pour enveloppe celle du virus de Graffi². En 1970, ils préparèrent de nouveaux pseudotypes du VSM, portant les enveloppes des virus de Gross, de Moloney, de Rauscher, de Kaplan, de Friend et du virus de Gross. L'infection de cellules permissives pour la réplication du VSM par ces pseudotypes devait permettre de différencier, sur la membrane des cellules infectées, les antigènes membranaires provenant de l'enveloppe virale et donc d'un virus leucémogène de ceux liés à l'expression du génome du VSM. Mais la question fut compliquée par l'existence d'antigènes communs sur les virus du groupe leucémies-sarcomes³.

Ils purent par contre étudier le lien entre l'expression de l'antigène cellulaire « ML » induit par le VLM et la libération du VSM. La présence de l'antigène ML fut recherchée par la greffe de cellules et la mise en évidence d'une immunité de transplantation chez la souris, seul animal pour lequel on disposait de souches consanguines. Chez les autres rongeurs, l'antigène membranaire fut détecté directement par immunofluorescence à l'aide d'un anticorps anti-ML liés à une molécule fluorescente. La détection indirecte fut aussi pratiquée, par absorption de sérums anti-VLM. L'antigène ML fut ainsi mis en évidence en concentration élevée sur la membrane des cellules de souris et de rat produisant du virus infectieux et en concentration faible sur les cellules de hamster transformées mais ne produisant pas de virus infectieux. S'attendant à ne pas trouver du tout d'antigène ML sur les cellules de hamster, ils

¹ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968 et rapport d'activité pour 1969 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1968. Chuat J.C., Berman L., Gunven P., Klein E., *Studies on murine sarcoma virus : antigenic characterization of murine sarcoma virus induced tumor cells*, Int. J. Cancer, 4 : 465-479, 1969.

² Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969. Oppenheim E., Lévy J.P., Leclerc J.C., *Propriétés antigéniques d'un pseudotype « Graffi » du virus du rhabdomyosarcome murin*, C. R. Acad. Sci., 268 : 620-623, 1969.

³ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, demande de renouvellement pour 1970.

soupçonnèrent les sérums utilisés de contenir quelques anticorps dirigés contre un antigène propre au VSM ou induit par ce dernier¹.

Les antigènes L et E' du virus latent de la souche L

Les chercheurs de l'IRLMS étudièrent également les antigènes du virus L. Ce virus latent, hôte naturel de la souris C3H, n'était pas leucémogène mais avait tous les caractères ultrastructuraux des virus leucémogènes murins et portait l'antigène de groupe FMRGi. Il était en outre hautement antigénique pour la souris, y compris pour son hôte naturel.

Ils décrivirent l'antigène « L » sur les cellules infectées par le virus L. En 1968, trois antigènes de la membrane des cellules leucémiques murines semblaient donc largement répandus : l'antigène G des leucémies induites par le virus de Gross, l'antigène FMRGi dont ils avaient montré qu'il était présent dans toutes les leucémies virales G-, et enfin l'antigène L, qui existait isolément, dans certaines leucémies chimio-induites, ou associé à l'un des deux autres.

Ils étudièrent la répartition de cet antigène dans quelques leucémies expérimentales et révélèrent sa présence dans un grand nombre d'entre elles ainsi que chez des souris saines de la souche C3H/He. Par contre, les souris de la souche C3H/eb, laquelle dérivait de la souche C3H/He par l'élimination du virus de Bittner et des virus leucémogènes, étaient dépourvues de l'antigène L et capables de s'immuniser contre lui. Cet antigène semblait donc sous la dépendance du génome viral plutôt que du génome cellulaire².

La détection de l'antigène L fut ensuite étendue à d'autres cellules, fraîches ou cultivées, de leucémies primaires et transplantées. Ces études furent retardées sinon bloquées par la difficulté à obtenir des quantités suffisantes d'anticorps anti-L, la leucémie EL4 étant la seule à fournir un sérum monospécifique anti-L. A la fin de 1970, il n'était toujours pas possible de conclure définitivement à la nature virale ou non de l'antigène. On pouvait seulement dire que son origine virale paraissait vraisemblable du fait de son association constante à l'infection par toute une série de virus leucémogènes. Cet antigène fut soupçonné d'être soit un précurseur structural précoce commun aux différents virus leucémogènes soit un facteur précoce du cycle de ces virus³.

L'étude du virus L montra, en outre, qu'il provoquait, dans les cellules qu'il infectait, l'apparition d'un antigène supplémentaire, non encore décrit dans les leucémies virales murines et présent dans la leucémie chimio-induite EL4⁴.

Ce nouvel antigène de membrane décrit par Jean-Claude Leclerc et Jean-Paul Lévy fut baptisé antigène « E' »⁵. Un crédit de mission fut demandé pour que l'un d'entre eux se rende

¹ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, LA CNRS 47, rapport 01.07.1967-01.07.1968 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1968. Chuat J.C., Berman L., Gunven P., Klein E., *Studies on murine sarcoma virus : antigenic characterization of murine sarcoma virus induced tumor cells*, Int. J. Cancer, 4 : 465-479, 1969.

² Leclerc J.C., Lévy J.P., Varet B., Oppenheim S., *Communauté antigénique entre la souche L et certaines leucémies murines*, C. R. Acad. Sci., 266 : 2206-2209, 1968.

³ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970. Leclerc J.C., Lévy J.P., Varet B., Oppenheim S., Senik A., *Antigenic analysis of L strain cells : A new murine leukemia associated antigen : « L »*, Cancer Res., 30: 2073-2079, 1970.

⁴ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968. Leclerc J.C., Lévy J.P., Varet B., Oppenheim S., *Communauté antigénique entre la souche L et certaines leucémies murines*, C. R. Acad. Sci., 266 : 2206-2209, 1968.

⁵ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

en 1970 au Sloan Kettering Institute, dans le laboratoire de Lloyd Old, afin de comparer cet antigène E' avec les antigènes décrits dans ce laboratoire américain¹.

Ils se demandèrent si l'antigène E' était de nature virale, c'est à dire codé par le génome du virus, ou d'origine cellulaire, c'est à dire codé par un gène cellulaire dérégulé à l'occasion de la transformation néoplasique. Le second cas avait l'avantage d'expliquer l'expression commune de cet antigène dans la leucémie virale et la leucémie chimio-induite.

Enfin, ils s'intéressèrent aux relations entre l'antigène E' et le système FMRGi au cours de l'infection virale, dans les leucémies spontanées et transplantées. Ils projetèrent de comparer quantitativement l'expression de ces antigènes par un dosage radio-immunologique, à l'aide d'anticorps marqués par l'iode radioactif².

Le typage immunologique des virus du groupe leucémies-sarcomes fut poursuivi notamment en collaboration avec l'équipe du docteur Steeves du Roswell Park Memorial Institut, à Buffalo. La collaboration consistait en l'échange régulier de sérums et de résultats³.

L'immunité anti-leucémique

L'existence d'une réaction immunologique spécifiquement anti-leucémique put être démontrée grâce à l'utilisation de souches de souris consanguines. Les animaux immunisés par les virus des leucémies murines, inactivés ou donnés à des doses insuffisantes pour déclencher la maladie, ainsi que les animaux immunisés avec des cellules leucémiques, résistaient en partie à la greffe de cellules isologues leucémiques.

Toutefois, cette réaction immune anti-leucémique n'avait qu'une efficacité préventive. Et, surtout, les tumeurs chimio-induites et spontanées n'étaient pas antigéniques. Les souris AKR toléraient toujours le virus de Gross et les cellules leucémiques⁴.

L'absence ou l'inefficacité de l'immunité anti-leucémique dans les leucémies spontanées pouvait s'expliquer par un phénomène de tolérance lié à la présence du virus et des antigènes viraux G avant l'apparition de la maladie dans les souches de souris à haute incidence de leucémie⁵. Les chercheurs de l'IRLMS explorèrent deux autres hypothèses : celle d'une densité trop faible ou d'une répartition particulière des antigènes tumoraux membranaires et celle de la facilitation immunologique.

Ils comparèrent la densité et la répartition des antigènes tumoraux à celle des antigènes d'histocompatibilité H2, ces derniers étant capables de provoquer des réactions immunologiques efficaces. Les antigènes H2 furent localisés par autoradiographie avec des anticorps marqués au radio-iode. La répartition membranaire des antigènes tumoraux fut étudiée au microscope électronique à l'aide d'anticorps marqués à la ferritine. Ils utilisèrent les antigènes FMRGi et E' des cellules des leucémies induites par les virus de Graffi et de Moloney chez les souris C57Bl/6 et Balb/c, ainsi que l'antigène G des cellules de la leucémie de Gross. Ces travaux ne montrèrent pas de différences significatives.

Concernant la facilitation, ils constatèrent que, contrairement à l'antigène FMRGi, l'antigène E' ne provoquait aucune réaction de rejet chez l'hôte primaire. Il semblait au contraire y favoriser la croissance tumorale. Ils essayèrent de savoir si ce phénomène était lié

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, demande de renouvellement pour 1970.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

³ Fonds IUH, article 1, rapport d'activité de l'UER pour 1971 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1971.

⁴ Kourilsky F., Dausset J., *Immunologie des leucémies*, Actualités hématologiques, 1 : 171-188, 1967. Lévy J.P., *Données générales sur la leucémogénèse*, Actualités hématologiques, 3 : 200-209, 1969.

⁵ Kourilsky F., Dausset J., *Immunologie des leucémies*, Actualités hématologiques, 1 : 171-188, 1967.

au sérum ou aux lymphocytes des animaux immunisés¹. Ils s'intéressèrent également au rôle de l'antigène L dans les réactions immunitaires de l'hôte contre les leucémies porteuses de cet antigène. Des souris furent immunisées soit contre l'antigène L pur, soit contre l'antigène L et l'antigène FMRGi. L'immunisation des souris C57Bl/6 n'entraîna aucun rejet de la leucémie EL4 même lorsque les souris montraient un titre élevé d'anticorps anti-L circulants. L'immunisation des souris Balb/c, avec l'antigène L pur, entraîna constamment une facilitation considérable de l'évolution de la leucémie EL4, alors que l'immunisation des mêmes souris avec les deux antigènes permit d'obtenir une protection franche contre la même tumeur. Cet effet facilitant était facilement transmis par le sérum ; les essais de transmission par les lymphocytes donnèrent des résultats complexes².

D'autres expériences visèrent à déterminer la nature, humorale ou cellulaire, de l'immunité anti-tumorale dans les leucémies et les sarcomes viraux de la souris. Ces recherches auraient été entreprises à la suite d'une observation réalisée dans le cadre d'études similaires menées chez l'homme à l'Hôpital Saint-Louis : « La mise en évidence d'une stimulation *in vitro* des lymphocytes des sujets porteurs de tumeurs par les cellules tumorales autologues chez l'homme a poussé à l'étude d'un modèle expérimental plus précis. »³.

Lors de la vaccination de souris contre les leucémies virales, des anticorps circulants réagissant avec le virus et les cellules leucémiques avaient été détectées par d'autres équipes. De plus, l'inoculation du sérum des animaux immunisés transmettait l'immunité de greffe. L'existence d'une immunité humorale était donc admise⁴.

Les travaux des chercheurs de l'IRLMS privilégièrent l'immunité à médiation cellulaire et furent centrés sur le sarcome et la leucémie de Moloney. La tumeur due au VSM était habituellement rejetée lorsqu'elle était greffée à des souris adultes. Elle ne pouvait se développer que lorsqu'elle était greffée à des souriceaux nouveaux-nés. Ils attribuèrent ce rejet de greffe à l'action directe des lymphocytes parce que ces derniers transmettaient l'immunité et étaient directement actifs *in vitro* contre les cellules tumorales VSM et les cellules de la leucémie de Moloney. De plus, les animaux immunisés avaient dans leur sérum des anticorps neutralisant le virus mais peu ou pas d'anticorps « cytotoxiques » détruisant les cellules virosées.

L'étude fut complétée par l'emploi de sérum anti-lymphocytaire. Chez les souris adultes, le rejet de tumeurs induites par le VSM fut bloqué par du sérum anti-lymphocytes de souris préparé chez le lapin : 100% des animaux traités avec ce sérum et ayant reçu des cellules tumorales furent atteints de tumeurs. Ceci confirma l'implication des lymphocytes dans le rejet des tumeurs.

Signalons qu'au cours de ces expériences d'immunisation contre le sarcome de Moloney, ils réalisèrent une observation inattendue. Certains des animaux qui avaient rejeté le sarcome et qu'ils croyaient de ce fait immunisés contre la leucémie de Moloney développèrent néanmoins cette leucémie quelques mois plus tard. Cette observation fut jugée d'autant plus curieuse qu'elle contredisait les résultats obtenus *in vitro* puisque les lymphocytes réagissaient aussi bien contre les cellules issues de leucémies que de sarcomes⁵.

Les sérums anti-lymphocytes furent également utilisés pour essayer de mettre en évidence, en la déprimant, une immunité anti-leucémique naturelle. Dans toutes les leucémies

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

³ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1971-1972.

⁴ Kourilsky F., Dausset J., *Immunologie des leucémies*, Actualités hématologiques, 1 : 171-188, 1967.

⁵ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968. Varet B., Lévy J.P., Leclerc J.C., Senik A., *Rôle de l'immunité dans le rejet des tumeurs induites par le virus MSV : effet des sérums anti-thymocytes*, Int. J. Cancer, 3 : 727-733, 1968. Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs CNRS LA 47, rapport d'activité pour 1969.

expérimentales dont ils disposaient, les sérums facilitèrent l'apparition d'une hémopathie maligne. Des leucémies furent même induites chez les souris C57Bl/6 susceptibles de leucémies radio-induites mais pas spontanées. Des érythroblastoses furent également observées, non seulement avec les virus de Friend et de Rauscher, qui donnaient les réactions les plus marquées, mais également avec le VLM et le VSM. Toutefois, le phénomène était plus discret pour les leucémies, en particulier pour la leucémie lymphoblastique de Moloney, que pour les autres formes de cancer¹.

L'action de l'infection virale sur le système immunitaire

Parmi les hypothèses sur le mode d'action des virus leucémogènes, circulait celle de leur effet inhibant sur les défenses immunitaires. Un argument allant dans ce sens résulta de l'étude conjointe de l'évolution de la leucémie et de l'immunité chez des souris à leucémie viro-induite présentant une maladie allogénique atténuée. Il s'agissait de souris hybrides C57Bl/6-Balb/c F1 ayant reçu à la naissance des cellules parentales et, pour certaines, le virus de Graffi, très efficace sur l'une des souches parentales et pas l'autre et susceptible de déclencher de bonnes réactions immunitaires chez les hybrides. La maladie allogénique fut suivie par l'apparition d'anticorps anti-nucléaires. L'apparition d'anticorps anti-nucléaires, importante chez les hybrides n'ayant pas reçu le virus, fut considérablement diminuée par l'infection par le virus de Graffi. Ce dernier fut considéré comme un puissant immunosuppresseur².

L'étude des leucémies humaines

Les antigènes des globules blancs des leucémiques

Les antigènes d'histocompatibilité

Jean Dausset et le système HLA (1945-1962)

En 1945, on admettait que certains anticorps reconnaissant les globules rouges provoquaient l'agglutination de ces cellules. Le Britannique Robins Coombs mit au point une technique permettant de révéler la présence d'anticorps fixés sur des globules rouges mais n'entraînant pas leur agglutination. Il s'agissait d'un test indirect : l'agglutination était obtenue par l'ajout d'un sérum anti-anticorps préparé chez un animal d'une autre espèce³. Cette technique fut utilisée l'année suivante par John Loutit et ses collaborateurs pour mettre en évidence des anticorps anti-érythrocytaires sur des globules rouges de patients anémiques. Ce travail fit soupçonner l'existence d'anémies à étiologie auto-immune⁴. L'immunologie fit ainsi son entrée dans la nosologie hématologique.

Clinicien et transfuseur, autrement dit « immuno-hématologue », Jean Dausset transfusait fréquemment de nombreux malades anémiques. Le fait que beaucoup de ces

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970 ; article 1, rapport d'activité de l'UER pour 1971 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1971.

³ Coombs R., Mourant A., Race R., *A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins*, Brit. J. Exp. Path., 26 : 255-266, 1945.

⁴ Boorman K., Dood B., Loutit J., *Haemolytic icterus (Acholuric jaundice) congenital and acquired*, Lancet, 812-814, 1946.

malades manquent non seulement de globules rouges mais également de globules blancs et de plaquettes, l'amena à rechercher chez les patients leucopéniques et/ou thrombopéniques des anticorps anti-leucocytaires et anti-plaquettaires.

Dans un coin du sous-sol du Centre régional de la transfusion sanguine (CRTS), sur une table de cuisine, Jean Dausset mélangeait une goutte de sang, enrichie en globules blancs par agitation en cours de coagulation, et une gouttelette de sérum anti-immunoglobulines humaines. Puis, il déposait ce mélange sur une lame dans l'espoir d'y observer des agglutinats de leucocytes. Les premiers essais ne furent pas concluants. Il ne semblait pas y avoir d'anticorps anti-leucocytaires fixés sur les leucocytes des patients. Cela n'excluait cependant pas l'intervention de tels anticorps dans le développement de la maladie. Ceux-ci pouvaient agir dans la moelle osseuse ou conduire rapidement à la destruction des leucocytes dans le sang ce qui rendrait peu probable leur détection à l'état fixé sur les leucocytes circulants. Concernant l'origine de tels anticorps, deux hypothèses étaient envisagées : selon la première, il s'agissait d'auto-anticorps ; selon la seconde, d'allo-anticorps qui par analogie avec le système ABO décrit par Karl Landsteiner en 1905 étaient supposés être « naturels » et non « immuns », c'est à dire préexistants à une immunisation par transfusion.

C'est dans un bâtiment voisin du CRTS, dans les laboratoires abandonnés du professeur Fernand Widal que Jean Dausset réquisitionna en 1952, qu'il obtint les premiers résultats positifs tendant à prouver l'existence d'anticorps anti-leucocytaires. Il avait mis en contact les leucocytes d'un donneur avec le sérum d'une malade polytransfusée et très leucopénique. De gros amas visibles à l'œil nu s'étaient rapidement formés. Le sérum de cette patiente contenait donc des anticorps capables de reconnaître des antigènes des leucocytes du donneur. L'hypothèse de la nature allogénique de ces anticorps semblait valable, d'autant plus que le sérum de la malade était inactif *in vitro* contre ses propres leucocytes ce qui rendait l'hypothèse des auto-anticorps moins probable sans toutefois l'éliminer complètement. En effet, on pouvait aussi penser que les rares leucocytes circulants de la patiente correspondaient à une population non-sensible aux auto-anticorps¹.

De 1952 à 1955, Jean Dausset et ses collaborateurs étudièrent le pouvoir leuco-agglutinant de 800 sérums normaux et pathologiques. Cette propriété fut mise en évidence dans le sérum de six patients souffrant de pancytopenie, une affection caractérisée par un nombre insuffisant de globules rouges, globules blancs et plaquettes. L'agglutination fut observée avec les leucocytes de 50 donneurs choisis au hasard. Il paraissait possible de définir des groupes leucocytaires comparables aux groupes sanguins. Cependant, contrairement aux anticorps anti-érythrocytaires du système ABO, les anticorps anti-leucocytaires ne semblaient pas naturels puisqu'on en trouvait fréquemment dans le sérum de polytransfusés et jamais dans les sérums normaux. Des résultats identiques furent obtenus concernant les plaquettes².

Au milieu des années 1950, Jean Dausset fut engagé comme chercheur au CNTS. Avec Gilbert Malinvaud et Jacques et Monique Colombani, il s'attacha à caractériser des groupes leucocytaires et à identifier leur transmission héréditaire. Parallèlement, il travailla avec l'équipe de Jean Bernard à la recherche de modèles animaux de déficiences en cellules sanguines³.

¹ Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 83-92.

² Dausset J., Malinvaud G., Lesueur G., Bernard J., *Anémies, leucopénies, thrombopénies immunologiques. Association d'anticorps dirigés contre les trois lignées cellulaires du sang*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 70 : 659-667, 1952. Dausset J., *Immuno-hématologie des plaquettes et des leucocytes*, Presse Méd., 61 : 1533-1535, 1953. Bernard J., Boiron M., Paoletti C., Tubiana M., Schapira G., Dausset J., *Les anémies des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 31 : 1123-1135, 1955.

³ Mathé G., Bernard J., Dausset J., *Les cytopénies expérimentales d'origine splénique*, Sem. Hôp. Paris, 31 : 1135-1141, 1955.

L'isolement d'un premier groupe leucocytaire, c'est à dire la démonstration de l'existence d'un antigène de la membrane des globules blancs présent uniquement dans une partie de la population fut achevé en 1957. Jusque là, Jean Dausset et ses collaborateurs avaient mis en contact des sérums de malades - seuls susceptibles de contenir des anticorps anti-leucocytaires - avec des globules blancs dits de référence, provenant d'employés du CNTS volontaires pour donner régulièrement un peu de sang. Les résultats des tests avaient été rassemblés dans des tableaux donnant pour chaque sérum le degré d'agglutination obtenu avec chaque lot de leucocytes, degré représenté par un signe - ou par 1 à 4 signes +. Sur la centaine de sérums de malades testés, peu de réactions nettes, positives ou négatives, avaient été obtenues ; la plupart étaient intermédiaires ou « faibles » ce qui rendait l'interprétation difficile. Les sérums provenant de patients polytransfusés, ils contenaient probablement des anticorps dirigés contre différents antigènes leucocytaires. De manière à obtenir un sérum « pur » ne contenant des anticorps que contre un type d'antigène, Jean Dausset immunisa un patient masculin, dont l'état de santé nécessitait des transfusions hebdomadaires, avec le sang d'un unique donneur. Le fait que le patient soit de sexe masculin éliminait le risque d'immunisation contre des leucocytes étrangers en cours d'accouchement, risque dont on pouvait supposer l'existence par analogie avec l'immunisation anti-Rh responsable de la maladie hémolytique du nouveau-né. Le patient développa des anticorps contre les leucocytes du donneur, provoquant une agglutination de plus en plus forte au fur et à mesure des transfusions. Le sérum du patient fut testé sur les leucocytes des donneurs de référence. Jean Dausset décrivit ainsi le premier antigène leucocytaire, qu'il nomma « antigène MAC » d'après les initiales des noms des trois donneurs de sang dont les globules blancs ne furent pas agglutinés par le sérum de ce malade¹.

D'autres groupes leucocytaires furent caractérisés indépendamment à la même époque par le Hollandais J. Van Rood, de la Banque de sang de l'Hôpital universitaire de Leiden, qui utilisa un plus grand nombre de sérums et un ordinateur, et par Rose Payne, du laboratoire d'immunogénétique de l'Université de Stanford à San Francisco². La première application médicale du groupage leucocytaire fut l'appauvrissement en leucocytes du sang à transfuser, de manière à limiter les chocs transfusionnels³.

Au début des années 1960, Jean Dausset, qui se préoccupait toujours de définir des groupes leucocytaires, se demandait en outre si les antigènes décelés par ses réactions d'agglutination étaient identiques aux antigènes responsables du rejet de greffe. Si tel était le cas, sa technique de groupage leucocytaire permettrait de sélectionner facilement des donneurs et probablement d'augmenter les taux de réussite des greffes d'organes ou de tissus.

La question des relations entre groupes sanguins et rejet de greffe ou groupes tissulaires s'était déjà posée après la description du système ABO mais on s'était rapidement aperçu que la compatibilité ABO n'empêchait pas le rejet d'organes ou de peau greffés à un autre individu⁴. Le problème avait ressurgi à la fin des années 1930, avec les travaux menés à Londres par Peter Gorer. Ce dernier avait observé un lien entre le rejet de tumeurs greffées, chez la souris albinos, et l'absence, détectée par hémagglutination, d'un antigène sur les érythrocytes des souris donneuses. Il avait appelé cet antigène l'« antigène II »⁵. Son

¹ Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 80-88. Dausset J., *Iso-leuco anticorps*, Acta Haemat., 20 : 156-166, 1958.

² Moulin A.M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au Sida*, PUF, Paris, 1991, p. 210.

³ Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 90.

⁴ Moulin A.M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au Sida*, PUF, Paris, 1991, p. 196.

⁵ Gorer P., *The genetic and antigenetic basis of tumor transplantation*, J. Pathol. Bacteriol., 44 : 691, 1937.

compatriote Peter Medawar s'était également intéressé aux relations entre les antigènes du sang et de la peau¹.

Jean Dausset ne connaissait pas ces travaux². C'est la concomitance, dans les années 1950, de ses efforts de mise au point d'une méthode de groupage leucocytaire et de la pratique de la greffe d'organes ou de tissus chez l'homme par des médecins qu'il connaissait, qui l'amena sur cette voie. C'est en effet à partir de 1951 que des équipes françaises et américaines pratiquèrent la greffe de rein chez l'homme, dans l'espoir d'obtenir de meilleurs résultats que ne le laissaient prévoir les innombrables expériences de transplantation chez l'animal³. Et c'est en 1959 que Georges Mathé et Jean Bernard tentèrent des greffes de moelle osseuse chez des patients souffrant de leucémie aiguë⁴.

Jean Hamburger, qui pratiquait des greffes de rein à l'Hôpital Necker, autorisa Jean Dausset à étudier sérologiquement le sang des donneurs et des receveurs de greffe. En comparant l'effet de ses sérums anti-leucocytaires sur les globules blancs des receveurs et des donneurs, il mit en évidence une corrélation entre la possibilité d'immunisation des receveurs et la tolérance au greffon. Si un ou plusieurs sérums de référence agglutinaient les cellules du donneur mais pas celles du receveur, cela signifiait que les premières portaient un antigène dont les secondes étaient dépourvues et contre lequel le receveur était susceptible de réagir. Un même comportement des leucocytes du receveur et de ceux du donneur vis-à-vis des sérums anti-leucocytaires favorisait la prise de la greffe. Ces résultats furent présentés par Jean Hamburger lors d'un congrès sur la transplantation organisé à New York en 1959⁵.

La même année, Jean Dausset demanda une bourse à la Leukemia Society de New York pour l'étude et la comparaison des antigènes des globules blancs « leucémiques » et normaux⁶.

En décembre 1961, après avoir pris avis auprès du Directeur de la Santé Publique et du Conseil national de l'ordre des médecins, Jean Dausset envoya à la presse un appel à des volontaires donneurs de peau : « Les études actuelles sur les greffes de moelle osseuse dans le traitement des leucémies et sur les greffes de rein dans le traitement des affections rénales sont ralenties par l'insuffisance de nos connaissances sur les greffes. En vue de poursuivre et d'étendre ces études il est fait appel à des donneurs volontaires de peau. ». Il fallait constituer un groupe de 200 à 300 personnes acceptant de donner quelques centimètres cube de sang pour l'étude des antigènes présents sur leurs globules blancs et susceptibles de donner ensuite environ un centimètre de leur peau pour la greffer sur un autre volontaire dont le groupe leucocytaire aurait également été déterminé⁷. Des donneurs de sang se portèrent volontaires, en particulier ceux de l'Association des cheminots donneurs de sang⁸. Malheureusement, la technique chirurgicale utilisée ne permit pas de savoir si le rejet était immunologique ou lié à une mauvaise cicatrisation⁹.

¹ Medawar P., *Immunity to homologous grafted skin. II : The relationship between the antigens of blood and skin*, Brit. J. Exp. Path., 27 : 15, 1946.

² Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 81-83.

³ Moulin A.M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au Sida*, PUF, Paris, 1991, p. 184.

⁴ Mathé G. et coll., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Franç. Etudes Clin. Biol., 4 : 675, 1959.

⁵ Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 92.

⁶ Fonds Bessis, Correspondance avec Dausset J., 28.12.1959.

⁷ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et J. Dausset, 08.12.1961.

⁸ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et J. Dausset, 03.10.1963.

⁹ Picard J.-F., Schneider W., *L'histoire de la transfusion sanguine dans sa relation à la recherche médicale*, Vingtième siècle, revue d'histoire, 49 : 3-17, 1996, p. 14.

De 1962 à 1964, différentes équipes identifièrent, par différentes méthodes, une dizaine d'« antigènes d'histocompatibilité ». Tel était le nom que leur avait donné en 1948 George Snell, qui avait développé les élevages de souris « congéniques » ne différant que par le rejet de greffe de peau entre individus¹.

A l'initiative de Bernard Amos, chirurgiens et immunologistes se réunirent en 1964 à Durham (Caroline du Nord) pour confronter leurs méthodes et leurs résultats. Parmi les méthodes utilisées par les chirurgiens, la greffe de peau ainsi que l'injection sous-cutanée chez un volontaire de leucocytes du receveur et de donneurs potentiels étaient difficilement utilisables en routine. Une troisième méthode, qui prit le nom de culture lymphocytaire mixte, fut proposée par Fritz Bach. Elle avait pour avantage d'être réalisable *in vitro*. Elle consistait en la mise en culture de leucocytes du receveur et de leucocytes du donneur potentiel et en l'évaluation de la prolifération des cellules, témoin du degré d'incompatibilité entre les deux lots, par l'incorporation de thymidine tritiée. De leur côté, les immunologistes disposaient de la leuco-agglutination, améliorée par l'utilisation de sérums de femmes multipares puis de pères immunisés contre les leucocytes de leurs enfants, de la technique de fixation du complément sur les plaquettes élaborée par Jacques Colombani, et de la technique de lymphocytotoxicité de Paul Terasaki. Cette dernière mettait en contact le sérum et les leucocytes en présence de complément et d'un colorant bleu ; la présence dans le sérum d'anticorps dirigés contre ces leucocytes provoquait leur lyse et leur coloration en bleu². Quant à la réaction de fixation (ou déviation) du complément, elle consistait en la mise en contact de l'anticorps et de l'antigène en présence de complément, un ensemble de molécules sériques intervenant dans l'inflammation et l'élimination des pathogènes. La présence d'anticorps fixés à l'antigène (complexes immuns) provoquait la fixation du complément sur ces anticorps. L'absence d'anticorps spécifiques permettait de conserver la même quantité de complément disponible. Le complément résiduel était détecté par l'addition de globules rouges ou de plaquettes sensibilisés par des anticorps ; ces derniers étaient lysés en présence de complément.

Pendant deux jours, les différents protagonistes testèrent une panoplie de leucocytes normaux par les différentes techniques. Aucune corrélation ne fut possible. Mais, persuadés de l'importance de ces recherches, les traqueurs d'antigènes d'histocompatibilité décidèrent d'étendre leurs travaux et se donnèrent rendez-vous l'année suivante à Leiden (Pays Bas)³.

Au Centre Hayem, Jean Dausset fit appel à de nouveaux donneurs et réalisa plus d'un millier de réactions de leuco-agglutination, remplissant d'immenses tableaux en compagnie du chercheur tchèque Paul Ivanyi. Malheureusement, les possibilités de traitement informatique des données étaient très limitées. Depuis 1957, l'Institut Blaise Pascal du CNRS s'était donné pour tâche d'effectuer, dans la mesure de ses moyens les calculs indispensables aux différents laboratoires de recherche qui n'avaient pas la possibilité de les effectuer eux-mêmes, dont celui de Jean Dausset. Cependant la machine la plus puissante de l'institut, une calculatrice IBM 704, était saturée de calculs et ne pouvait répondre à toutes les demandes. Cette situation empira l'année suivante, la calculatrice présentant des signes de faiblesse et le Ministère des finances bloquant les crédits destinés à l'achat d'un nouvel ordinateur⁴. L'utilisation de cartes perforées et d'une aiguille à tricoter ou le clignement des yeux devant les tableaux furent leurs seuls moyens d'identification de groupes leucocytaires jusqu'à ce que Paul Ivanyi découpe et rapproche lignes et colonnes.

¹ Snell G., *Methods for the study of histocompatibility genes*, Journal of Genetics, 49 : 87-108, 1948.

² Terasaki P., McClelland J., *Microdroplet assay of human serum cytotoxins*, Nature, 204 : 998, 1964.

³ Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 93-100.

⁴ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et J. Dausset, 15.06.1965.

Un jeune chirurgien américain de Boston, Félix Rapaport vint à Paris pour comparer leuco-agglutination et greffes de peau. Sa technique était jugée satisfaisante : il utilisait un bistouri circulaire qui découpait des morceaux de peau d'un centimètre de diamètre et déterminait le rejet de greffe par l'arrêt de la circulation du sang dans le greffon observé au microscope. Mais, aux Etats-Unis, il avait des difficultés à trouver des volontaires, mêmes rémunérés¹.

Le « workshop » (atelier) de Leiden permit de reconnaître l'identité de l'antigène « MAC » de Jean Dausset, de l'antigène « 8a » de J. Van Rood et l'antigène « LA2 » de Walter Bodmer et Rose Payne, aujourd'hui désignés du nom de « molécule HLA-A2 ». D'autres réunions permirent par la suite de caractériser d'autres antigènes et d'autres systèmes de gènes de ce qu'on appelle aujourd'hui le complexe HLA (human leucocyte antigen) ou complexe majeur d'histocompatibilité humain².

HLA et leucémie aiguë

Jean Dausset et ses collaborateurs s'attachèrent à répondre à trois types de questions : retrouve-t-on les antigènes HLA définis chez les sujets sains chez les patients leucémiques ? Chez un même patient leucémique, les leucoblastes et les leucocytes portent-ils les mêmes antigènes HLA ? Certains antigènes HLA prédisposent-ils à la leucémie ?

Ces travaux furent l'occasion d'échanges avec d'autres équipes. En 1967, François Kourilsky se rendit chez deux spécialistes américains de l'immunologie des leucémies et des cancers : Lloyd Old, au Sloan-Kettering Institute (New-York), et Bernard Amos à Durham (Caroline du Nord). Il fut aussi en contact avec George Klein, responsable du Département de biologie des tumeurs au Karolinska Institutet de Stockholm. En 1966, George et Eva Klein vinrent plusieurs fois se former aux techniques du laboratoire de Jean Dausset afin d'étudier la tumeur de Burkitt et certaines leucémies humaines. Deux ans plus tard, François Kourilsky passa trois semaines dans leur laboratoire³.

Dix groupes d'antigènes HLA, reconnus par 50 immunsérums, furent recherchés par la technique de fixation du complément sur les globules blancs de 30 patients leucémiques. Aucune différence qualitative ne fut révélée par rapport à la population saine. Les globules blancs, adultes et immatures, des leucémiques arboraient des antigènes d'histocompatibilité identiques à ceux des leucocytes normaux⁴.

Pour comparer, chez un même patient leucémique, les antigènes HLA des leucoblastes et des leucocytes, il fallait séparer ces deux types de cellules. Or leur distinction reposait sur leur observation au microscope sur frottis colorés. Il n'était donc pas possible de séparer ces deux types de cellules sans les endommager, puisqu'il aurait fallu en quelque sorte les trier entre lame et lamelle sous le microscope. Mais, la chimiothérapie avait introduit deux périodes dans le cours de la maladie, l'évolution et la rémission, respectivement caractérisées par la prédominance des leucoblastes et des leucocytes. On pouvait étudier les leucoblastes en prélevant du sang en phase évolutive, avant tout traitement, et étudier les leucocytes à partir

¹ Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 92-100. Dausset J., Rapaport F., Ivanyi P., Colombani J., « Tissue alloantigens and transplantation », in *Histocompatibility Testing*, Munksgaard, Copenhagen, p. 63-72, 1965.

² Pour un compte rendu de ces rencontres internationales, de la première (Durham, 1964) à la dixième (New York, 1987), voir Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 93-108 et 119-141.

³ Fonds IUH, article 65, Immuno-hématologie, Echanges entre le directeur de l'institut et F. Kourilsky, 1967-1968.

⁴ Kourilsky F., Dausset J., Bernard J., *A qualitative study of normal leukocyte antigens of human leukemic leukoblasts*, *Cancer Res.*, 28 : 372-377, 1968.

du sang du patient en rémission. L'interprétation des résultats allait cependant se heurter à l'absence de témoin, à l'impossibilité de disposer de leucoblastes normaux que l'on puisse comparer avec les leucocytes normaux d'un même individu sain, et surtout de leucoblastes de sujets normaux que l'on puisse comparer avec ceux des leucémiques. Mais cet inconvénient pouvait momentanément être mis de côté car il donnait paradoxalement de la valeur à cette expérimentation : s'il s'avérait ultérieurement qu'il n'y avait pas de différences antigéniques entre les leucoblastes normaux et les leucoblastes leucémiques, ces derniers pourraient servir à étudier les variations antigéniques au cours de la différenciation des globules blancs. En 1967, l'analyse qualitative des antigènes HLA, par la technique de lymphocytotoxicité, ne montra pas de différence entre les leucoblastes leucémiques et les leucocytes d'un même malade en rémission.

L'année suivante, une approche quantitative du problème fut entreprise. La concentration de certains antigènes HLA à la surface des leucoblastes fut comparée à celle des lymphocytes du même patient en rémission. L'équipe de Jean Dausset employa une méthode d'adsorption de sérums humains anti-leucocytaires cytotoxiques par un nombre croissant de cellules : les leucoblastes ou lymphocytes fixaient les anticorps anti-HLA du sérum, lequel n'était alors plus capable de reconnaître les antigènes HLA de leucocytes témoins et de provoquer leur lyse en présence de complément. Des résultats préliminaires portant sur les antigènes Mac, 4a et 4b, ne montrèrent pas de différence sensible, même après correction des diamètres cellulaires¹.

L'idée d'une éventuelle prédisposition à la leucémie par le système HLA provenait des travaux de Frank Lilly. Ce dernier avait montré une association chez la souris entre des leucémies et certains allèles du système H-2, équivalent murin du système HLA. Jean Dausset, Jean Bernard et François Kourilsky étudièrent, à partir de 1965, les antigènes d'histocompatibilité d'enfants atteints de leucémies aiguës². L'espoir de trouver une relation privilégiée entre des antigènes d'histocompatibilité et la leucémie aiguë fut renforcé, lors du workshop de Turin en 1967, par les résultats d'une autre équipe qui y annonça l'existence d'une corrélation entre la Maladie de Hodgkin - une autre hémopathie maligne - et un antigène d'histocompatibilité.

François Kourilsky et ses collaborateurs étudièrent la répartition des antigènes du système « HL-1 » (HLA-A) chez des malades en rémission de leucémie aiguë. Ils n'observèrent pas de différence dans la distribution des phénotypes entre les sujets sains et les patients leucémiques³.

En 1968, la recherche d'antigènes HLA favorisant la leucémie aiguë suivit une nouvelle piste : les chercheurs de l'IRLMS déterminèrent le groupe leucocytaire des membres des familles dans lesquelles au moins deux personnes avaient été atteintes de leucémie. Mais cette situation était peu fréquente ; ils ne purent étudier que sept familles. Cela ne leur permit pas de conclure à un mode de transmission particulier de ces antigènes chez les leucémiques⁴. Il ne semblait donc pas exister d'antigènes HLA prédisposant à la leucémie. Certains antigènes de ce système furent mis en relation avec une fréquence plus élevée de maladie en 1972, dans le cas du psoriasis et de la sclérose en plaques⁵.

¹ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968.

² Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 103 et 214.

³ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1967. Kourilsky F., Dausset J., Feingold N., Dupuy J.M., Bernard J., *Etude de la répartition des antigènes leucocytaires chez des malades atteints de leucémie aiguë en rémission*, Adv. Transplantation, Munksgaard, Copenhagen, 1967, p. 515-521.

⁴ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968. Kourilsky F., Dausset J., Feingold N., Dupuy J., Bernard J., *Leukocyte groups and Acute Leukemia*, J. Nat. Cancer Inst., 41 : 81-87, 1968.

⁵ Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998, p. 213-214.

Localisation des antigènes sur la membrane plasmique

En 1968, l'utilisation d'anticorps anti-antigènes HLA marqués à la ferritine, une molécule opaque aux électrons, permit, par microscopie électronique, de localiser les antigènes HLA sur la membrane des leucocytes normaux et pathologiques. Les anticorps conjugués chimiquement à la ferritine étaient préparés par la méthode « classique » de couplage par le métaxylilène diisocyanate. Ce travail préliminaire montra une répartition en plaques discontinues des antigènes HLA¹.

L'année 1970 fut consacrée à la mise au point de nouvelles techniques de marquage des anticorps pour le microscope électronique. La méthode « classique » servit à préparer des anticorps conjugués à la peroxydase. Ils préparèrent également des anticorps « hybrides » permettant un marquage direct des antigènes, par un seul anticorps, avec la technique d'hybridation des fragments Fab' d'immunoglobulines mise au point par Hammerling en 1968. Ces anticorps hybrides comprenaient un site spécifique des gammaglobulines humaines et un site spécifique du virus de la mosaïque jaune du navet. Ce virus végétal, non pénétrant dans les cellules humaines, était facilement identifié morphologiquement en microscopie électronique².

La répartition en plaques des antigènes HLA sur la membrane des lymphocytes fut confirmée. L'importance des plaques et le degré total de marquage était variable selon qu'ils utilisaient des sérums monospécifiques (anti-HLA-A2, etc...) ou polyspécifiques. Le marquage de la surface cellulaire était toujours inférieur à 60%. Les prolongements cellulaires des lymphocytes n'étaient jamais marqués par les anticorps anti-HLA, alors qu'ils l'étaient régulièrement par les anticorps des sérums anti-lymphocytaires. Toutes les cellules sanguines et médullaires étudiées se montrèrent porteuses d'antigènes HLA. Ces derniers montrèrent une répartition très semblable sur toutes les populations cellulaires étudiées, provenant aussi bien de sujets sains que leucémiques aigus ou de cultures de tumeur de Burkitt. Toutefois, ces antigènes, particulièrement abondant sur les lymphocytes et les cellules lymphoïdes en culture, était plus rares sur les populations cellulaires jeunes, notamment sur les cellules blastiques, et ils étaient constamment absents sur les globules rouges contrairement aux réticulocytes. Enfin, toutes les spécificités HLA de la population saine furent retrouvées dans les blastes leucémiques par ces méthodes « immuno-ultrastructurales »³.

Des antigènes spécifiques des tumeurs et leucémies humaines ?

La mise en évidence d'antigènes spécifiques des globules blancs leucémiques passait par la recherche de nouveaux anticorps dirigés contre les cellules des patients leucémiques mais ne réagissant pas avec les leucocytes normaux. L'obtention de tels anticorps nécessitait

¹ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1968. Silvestre D., Kourilsky F., Lévy J.P., Senik A., *Localisation des antigènes HLA à la surface des lymphocytes humains à l'aide d'anticorps conjugués à la ferritine*, C. R. Acad. Sci., 268 : 1155-1157, 1969.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

³ Loosfelt Y., Pavie-Fischer J., Kourilsky F., *Technique d'immunofluorescence de membrane appliquée à la détection des antigènes tissulaires sur cellules sanguines humaines*, Path. Biol., 18 : 15-18, 1970. Kourilsky F., Silvestre D., Lévy J.P., Senik A., *Localisation en microscopie électronique des antigènes HLA sur les cellules humaines*, Ann. Inst. Pasteur, 119 : 138, 1970. Sylvestre D., Kourilsky F., Niccolai M.G., Lévy J.P., *Presence of HLA antigens on human reticulocytes as demonstrated by electron microscopy*, Nature, 228: 67-68, 1970. Neauport-Sautes C., Sylvestre D., Kourilsky F., Lévy J.P., Fauquet M., *Utilisation d'anticorps hybrides pour la localisation en microscopie électronique des antigènes d'histocompatibilité HLA de l'homme*, C. R. Acad. Sci., 271: 2440-2443, 1970. Silvestre D., Kourilsky F., Lévy J.P., Senik A., Niccolai M.G., *Immunoferritin study of the distribution of HLA antigens on human blood cells*, J. Immunology, 106 (2) : 454-466, 1971.

d'injecter des cellules leucémiques à des hommes sains ; l'injection à l'animal aurait provoqué la formation d'anticorps dirigés contre les antigènes spécifiques d'espèce. Chez l'homme, il fallait ensuite s'assurer que les antigènes ainsi détectés soient distincts des antigènes HLA.

Pour des raisons éthiques évidentes, l'administration de cellules leucémiques ne pouvait être pratiquée sur des volontaires sains. Ces travaux bénéficièrent d'immunisations croisées, avec des leucoblastes, pratiquées sur des patients leucémiques dans un but d'immunothérapie. Ces études donnèrent quelques résultats positifs mais qui finalement ne furent pas jugés concluants¹.

L'espoir de découvrir des antigènes spécifiques des cellules leucémiques ne disparut cependant pas. Il fut entretenu par la mise en évidence de marqueurs immunologiques sur des tumeurs solides humaines.

En 1968, l'équipe de J. Morton annonça la présence d'un antigène commun aux cellules de nombreux sarcomes humains et l'existence chez les malades d'un anticorps spécifique de cet antigène. Cette spécificité évoquant une dépendance virale, les chercheurs de l'IRLMS étendirent leur programme de recherche aux tumeurs malignes. La collecte des pièces opératoires et des sérums nécessita l'établissement de rapports étroits avec des services de chirurgie. Une sérothèque de plus de 100 sérums prélevés à différents moments de la maladie fut ainsi constituée et 25 tumeurs furent mises en culture à partir de janvier 1970. Neuf purent être passées en série. A chaque passage, des particules de type C furent recherchées au microscope électronique dans les cellules et le surnageant. Ce dernier fut également ajouté à des cultures de cellules embryonnaires humaines (WI38 et 1295) et bovines. Les chercheurs de l'IRLMS essayèrent alors de reproduire les expériences de J. Morton. Les cellules des pièces opératoires furent séparées par trypsination ou lacération mécanique et étalées sur des lamelles. Diverses techniques de fixation furent essayées : l'acétone, l'éthanol et la congélation dans l'isopentane. Ces lamelles furent mises en contact avec le sérum de malades non transfusés. La réaction de détection d'anticorps fixés fut réalisée avec une gamma-globuline anti-globulines humaines marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine ; il s'agissait d'une préparation commerciale de la firme Hyland Laboratories de Los Angeles. Les résultats obtenus furent fragmentaires : un cas d'immunofluorescence avec un sérum autologue, deux cas de surnageants ayant une activité transformante sur des cellules normales et un cas de coculture avec une particule de type C. De plus, ils extrayèrent des virus à partir de leurs cultures de sarcomes et de celle d'une autre équipe et montrèrent que plusieurs de ces virus étaient des contaminants d'origine murine. Les résultats de l'équipe de J. Morton semblaient donc infirmés².

Parallèlement aux sarcomes, la tumeur de Burkitt attira également l'attention des chercheurs de l'IRLMS. Celle-ci avait le double avantage d'affecter des cellules sanguines et de sembler liée à un virus. Un antigène membranaire avait été détecté par immunofluorescence à la fois sur des cellules fraîchement extraites de tumeurs de Burkitt et sur des cellules cultivées hébergeant le virus d'Epstein-Barr (EBV). George Klein avait montré que cet antigène était différent de ceux du virion EBV, l'antigène VCA de la capsid virale et l'antigène membranaire MA, et l'avait baptisé antigène « EB ».

Vers 1968, les équipes de François Kourilsky, George Klein, Peter Clifford à Nairobi et W. Henle à Philadelphie travaillèrent ensemble à la caractérisation des antigènes du lymphome de Burkitt. George Klein fournissait les sérums dirigés contre le virus d'Epstein-Barr et l'IRLMS les sérums anti-HLA³. Les premiers résultats obtenus montrèrent, d'une part,

¹ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1966 et 1968.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1970.

³ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

que des antigènes HLA étaient présents sur l'enveloppe du virus d'Epstein-Barr, à une concentration plus faible que sur la membrane plasmique, d'autre part, que l'antigène MA était plus abondant sur l'enveloppe de la particule que sur la membrane cellulaire. Les liens entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire, ainsi que les modifications de cette dernière induites par le virus restaient à préciser¹.

En 1970, deux chercheurs de l'équipe de Lloyd Old vinrent travailler à l'IRLMS sur un troisième type de tumeur humaine : la tumeur de Kaposi. Il s'agissait de Gaetano Giraldo et de Elke Beth. La tumeur de Kaposi représentait un modèle particulièrement intéressant pour la recherche d'un virus leucémogène humain en raison de la répartition ethnique et géographique des cas comparable à celle de la tumeur de Burkitt, des aspects anatomiques rappelant le sarcome de Moloney de la souris, et de l'évolution clinique lente et susceptible de régression spontanée suggérant un contrôle immunitaire. Les tumeurs de Kaposi et les sérums des patients provenaient de services dermatologiques de Paris, d'Abidjan (Côte-d'Ivoire), de Kampala (Ouganda) et de Kinshasa (Zaïre). Les échantillons biologiques étaient transportées par avion et immédiatement mis en culture à l'IRLMS. Huit cultures de tumeurs de Kaposi vinrent ainsi s'ajouter aux 19 cultures de tumeurs de Burkitt².

La même année, de nouvelles cellules de leucémiques aigus, généralement blastiques, furent testées par immunofluorescence indirecte contre des sérums provenant d'une centaine de malades souffrant de la même maladie. Les résultats furent tous négatifs. Par contre, avec des sérums de patients atteints de leucémies myélocytaires chroniques, une fluorescence fut observée sur 2 à 20 % des cellules blastiques de patients leucémiques aigus. Ces mêmes sérums furent alors analysés par fixation du complément en présence d'extraits de cellules blastiques de leucémies aiguës. Les résultats furent cette fois négatifs³. Les cellules leucémiques ne semblaient donc pas porter d'antigènes originaux.

L'état immunologique des patients atteints de leucémie aiguë

En 1965, Jean Bernard demanda à Jean Dausset et à Claude Jacquillat, responsable de l'unité de chimiothérapie, de mettre au point des tests d'immunologie générale à faire chez les leucémiques en évolution et en rémission, de manière à évaluer leur état immunologique⁴.

Cette étude de la fonction immunologique des leucémiques aigus commença l'année suivante. Elle avait plusieurs objectifs. Premièrement, elle visait à faire correspondre aux tableaux cliniques et hématologiques, un tableau immunologique, à valeur diagnostique et/ou susceptible de guider la thérapeutique. Elle devait permettre notamment de vérifier ce dont faisaient état deux articles publiés en 1953 et 1962, à savoir que les leucémiques aigus non traités ne présentaient pas de déficiences immunologiques. Deuxièmement, ce travail devait préciser l'effet immunosuppresseur des chimiothérapies sur la fonction immunologique et peut-être permettre de mieux combattre les infections chez les patients traités.

Les défenses immunitaires de 146 patients hospitalisés dans le service de Jean Bernard furent testées pour leur capacité à répondre à une immunisation contre cinq lots d'antigènes.

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970. Silvestre D., Kourilsky F., Klein G. Yata Y., Neauport-Sautes C., Lévy J.P., *Relationship between the EBV-associated membrane antigen on Burkitt lymphoma cells and the viral envelope, demonstrated by immunoferritin labeling*, Int. J. Cancer, 8 : 222-233, 1971.

² Fonds IUH, article 1, rapport d'activité de l'UER pour 1971 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1971.

³ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

⁴ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et J. Dausset, 30.07.1965, 05.10.1965.

L'immunité cellulaire fut évaluée par la réaction dite d'hyper-sensibilisation retardée provoquée par l'injection d'antigènes dans le derme. Cette réaction prenait la forme d'une rougeur cutanée, d'une induration et parfois d'un œdème dont on pouvait mesurer l'étendue. Les quatre antigènes utilisés furent de l'extrait du champignon *Candida albicans*, de la tuberculine, de l'ovalbumine et de la streptokinase-streptodornase. Ces produits standardisés provenaient de l'Institut Pasteur, à l'exception de la streptokinase-streptodornase qui était commercialisée par la firme Lederle sous le nom de Varidase®. Pour tester l'immunité humorale, ils utilisèrent le vaccin contre la poliomyélite préparé par l'Institut Pasteur. La réaction du patient fut évaluée en mesurant la quantité d'anticorps produits contre le virus, par neutralisation des effets cytopathogènes de ce virus sur des cellules en culture.

Avant traitement, pendant la phase d'induction et la phase de maintenance en rémission, la réaction d'hyper-sensibilisation retardée se manifesta avec une fréquence normale dans la plupart des cas. Par contre, chez les patients non traités, elle fut quantitativement moins prononcée que chez les sujets sains, en particulier dans les leucémies lymphoblastiques. Le pourcentage de tests positifs était de 53 % contre 69 % dans le groupe témoin et la différence était statistiquement significative ($p < 0,01$). Pour les auteurs, cette diminution de l'immunité cellulaire pouvait s'expliquer par une baisse du nombre de cellules effectrices, probablement les lymphocytes, ou par un effet immunosuppresseur de l'agent causal de la leucémie.

La réaction d'hyper-sensibilisation retardée se montra plus rare en fréquence pendant les aplasies médicamenteuses. Son absence fut perçue comme un élément de mauvais pronostic puisque sept des huit patients concernés périrent rapidement. L'abolition de la réaction en cours d'aplasie pouvait donc être utilisée pour prescrire d'urgence une transfusion de globules blancs.

Quant à la production d'anticorps contre le virus de la poliomyélite, celle-ci fut amoindrie pendant l'induction, quel que soit le tableau clinique, et aussi en traitement d'entretien par la 6-mercaptopurine.

La principale conclusion de ce travail fut que l'étude des réactions de l'hôte contre la leucémie et les tentatives d'immunisation active devaient se faire avant le traitement ou en rémission complète¹.

L'étude de l'immunité anti-leucémique

L'organisme leucémique s'attaque-t-il à ses leucoblastes ? En 1968, le rejet de tumeur était considéré comme un processus immunologique actif chez la souris mais, chez l'homme, ceci restait à prouver : « La certitude de l'existence d'une réaction immunologique du malade contre ses leucoblastes n'est pas totalement acquise chez l'homme, comme elle l'est chez l'animal d'expérience »². Les arguments en faveur de l'intervention de phénomènes immunologiques dans l'évolution des leucémies aiguës étaient, chez l'homme, les rémissions spontanées, faisant suite à une infection aiguë ou à une transfusion, et les rémissions de très longue durée. Ces observations évoquaient une « mise en sommeil du développement néoplasique ». La réaction immunologique de l'hôte contre sa leucémie fut étudiée *in vitro*, par la recherche d'anticorps anti-leucoblastiques circulants et de réactions cellulaires

¹ Fonds IUH, article 65, Immuno-hématologie, échanges entre le directeur de l'institut et F. Kourilsky, 23.07.1969. Dupuy J.M., Kourilsky F., Fradelizzi D., Feingold N., Jacquillat C., Bernard J., Dausset J., *Depression of Immunologic Reactivity of Patients with Acute Leukemia*, Cancer, 27 (2) : 323-331, 1971.

² Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968.

spécifiques. Elle fut également analysée *in vivo*, au cours d'expériences timidement qualifiées de tentatives d'immunothérapie.

Si les chercheurs de l'IRLMS ont hésité à employer ce terme, comme le suggèrent les titres des paragraphes sous lesquels ont été décrits ces travaux dans les rapports d'activité (« Stimulation de l'antigénicité des cellules leucémiques humaines »¹, « Intradermo-réactions avec extraits de blastes ayant stimulé des lymphocytes »²), c'est probablement parce que les membres de l'IRLMS étaient peu optimistes quant aux chances de succès de l'immunothérapie. En 1969, François Kourilsky écrivit que celle-ci n'était pratiquée qu'à petite échelle à l'Hôpital Saint-Louis parce que les résultats à escompter étaient faibles par rapport aux efforts à fournir³. Pour Jean-Paul Lévy, l'immunothérapie était alors une « question de foi », l'antigénicité de la cellule leucémique n'ayant pas été démontrée⁴. Précisons que les chercheurs de l'institut ne s'intéressaient qu'à l'immunothérapie spécifique ; ils considéraient que l'immunothérapie non-spécifique, visant à augmenter globalement les défenses de l'organisme, n'avait jamais donné de résultats spectaculaires⁵. La situation était semblable à celle qu'avaient connue Jean Bernard et Marcel Bessis avec l'exsanguino-transfusion : il s'agissait davantage d'un outil de recherche que d'un véritable traitement. Les risques pour les patients étaient dans les deux cas minimes et l'intérêt scientifique important. Pourquoi alors ne pas oser parler d'immunothérapie ? peut-être pour ne pas donner de faux espoirs aux malades alors que ces essais préliminaires portaient sur quelques cas seulement, peut-être parce que le développement de la réflexion éthique tendait à privilégier les expériences à bénéfice direct pour les patients.

Recherche d'anticorps anti-leucoblastiques circulants

Les sérums de 151 leucémiques en rémission ou en phase aiguë furent testés sur trois à cinq variétés de leucoblastes, venant d'autres malades et conservés à -190°C en présence de DMSO. Les éventuels anticorps anti-leucoblastiques furent recherchés à la surface des leucoblastes par immunofluorescence indirecte. Onze réactions positives seulement ayant été observées, la production d'anticorps anti-leucoblastiques en cours de leucémie ne semblait pas être un phénomène général. Ils cherchèrent alors à mettre en relation la présence de ces anticorps avec une évolution clinique particulière mais aucune corrélation ne fut trouvée. De plus, il restait à vérifier que ces onze sérums réactifs ne contenaient pas d'anticorps anti-leucocytaires post-transfusionnels. Il n'était pas non plus évident que parce qu'un sérum agissait sur les leucoblastes d'autres patients, il ait reconnu les propres leucoblastes du malade fournisseur du sérum avant sa rémission. L'existence d'une réaction anti-leucémique de type humoral était loin d'être démontrée : « Si une réaction immune anti-tumorale existe dans la leucémie aiguë, sa fréquence est plus faible que chez les malades atteints de tumeur de Burkitt. »⁶.

Parallèlement, les sérums de 37 autres patients en rémission complète furent testés sur leurs propres leucoblastes prélevés en phase aiguë et conservés. Les anticorps anti-

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

³ Fonds IUH, article 65, Immuno-hématologie, échanges entre le directeur de l'institut et F. Kourilsky, 1969.

⁴ Lévy J.P., *Données générales sur la leucémogénèse*, Actualités hématologiques, 3 : 200-209, 1969.

⁵ Fonds IUH, article 65, Immuno-hématologie, Echanges entre le directeur de l'institut et F. Kourilsky, 1969.

⁶ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968. Klein G., Clifford P., Klein E., Smith R., Minowada J., Kourilsky F., Burchenal J., *Membrane immunofluorescence reactions of Burkitt lymphoma cells from biopsy specimens and tissue cultures*, J. Nat. Cancer Inst., 39 : 1027-1044, 1967.

leucoblastiques furent recherchés soit par immunofluorescence indirecte soit par la méthode de lymphocytotoxicité. Un seul sérum se montra actif¹.

De tels anticorps furent également recherchés dans des sérums humains présumés anti-leucoblastiques provenant des laboratoires du Karolinska Institutet de Copenhague, du Anderson Memorial Hospital de Houston, et du Sloan-Kettering Institut de New York.

En 1970, les sérums de plus de 200 malades atteints de leucémies aiguës avaient été analysés à l'IRLMS, en situation autologue et allogénique, par les deux techniques précédemment citées. Ces travaux montrèrent la rareté des anticorps circulants anti-leucoblastiques chez les malades : les résultats positifs ne dépassaient pas 2 % des cas étudiés².

Recherche de réactions immunologiques de type cellulaire

Des lymphocytes de malades en rémission complète furent cultivés avec des leucoblastes de ce même malade en phase évolutive congelés à -170°C et traités par la mitomycine C. Dans quatre cas sur huit, une « transformation » des lymphocytes, mesurée par l'incorporation de thymidine tritiée suivie d'autoradiographie, fut obtenue. Le marquage était attribué aux lymphocytes parce que le traitement par la mitomycine C empêchait les leucoblastes d'incorporer la substance marquée. Il semblait donc y avoir une modification de l'activité des lymphocytes consécutive à la rencontre avec les leucoblastes. Cependant, il restait à prouver que cette réaction était de nature immunologique, c'est à dire qu'elle était liée à la reconnaissance des leucoblastes par les lymphocytes et qu'elle ne résultait pas, par exemple, de la libération constitutive, par les globules blancs, de molécules capables de stimuler la prolifération cellulaire³.

Les leucoblastes d'environ 50 % des malades atteints de leucémie aiguë se montrèrent capables de stimuler *in vitro* les lymphocytes du même malade prélevés en rémission⁴. Des résultats semblables furent obtenus par les équipes de F. Bach et de Stjernswärd.

L'étude des propriétés stimulantes de la cellule leucémique sur les lymphocytes autologues *in vitro* fut alors poursuivie chez un plus grand nombre de malades. Les lymphocytes circulants, prélevés en période de rémission, furent concentrés avec un séparateur produit par la firme IBM, appelé plus tard « trieur de cellules par leucophérèse »⁵. Cet appareil (voir annexe 36) faisait passer le sang du patient, prélevé au niveau d'une veine par une centrifugeuse qui séparait les globules blancs des globules rouges et du plasma. Ces deux derniers éléments étaient réchauffés et réinjectés dans la circulation au fur et à mesure. Le fonctionnement de la machine pendant 5 heures fournissait environ 10 milliards de leucocytes, dont 90 à 100 % de lymphocytes⁶.

Cette fois, l'incorporation de thymidine tritiée dans les lymphocytes, révélatrice de la synthèse d'ADN, fut mesurée au compteur à scintillation au cinquième jour d'incubation. Ces mesures montrèrent dans environ 60 % des cas une augmentation importante par rapport à l'incorporation obtenue dans les cultures témoins. Ces résultats furent retrouvés tant chez les malades atteints de leucémie aiguë myéloblastique que lymphoblastique. Les lymphoblastes

¹ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968.

² Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapports d'activité pour 1969 et 1970.

³ Fonds IUH, article 66, Immunologie des tumeurs, rapport 01.07.1967-01.07.1968.

⁴ Fridman H., Kourilsky F., *In vitro reaction between lymphocytes and autologous leukoblasts from patients with acute leukemia*, Nature, 224: 277-278, 1969.

⁵ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

⁶ Schwarzenberg L., Nagi N.S., Pradet-Balade O., Mathé G., *Utilisation pour la séparation des lymphocytes sanguins du séparateur de cellules sanguines à débit continu IBM*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 8 (5) : 579-583, 1968.

irradiés ou altérés par congélation et décongélation répétées étaient toujours capables d'induire *in vitro* la transformation des lymphocytes autologues¹.

Pour Jean Bernard, l'antigénicité ainsi démontrée de la cellule leucémique avait une origine virale : « Tout récemment, il a été démontré dans le Département d'Immunologie des tumeurs que les cellules recueillies pendant la période blastique des leucémies aiguës humaines sont capables d'induire *in vitro* la transformation des lymphocytes autologues, obtenus pendant la rémission complète. Ceci témoigne très fortement en faveur de l'existence d'un antigène particulier, c'est à dire d'un virus éventuel à la surface des cellules de leucémies humaines. »².

L'étude des réactions cellulaires anti-leucémiques fut poursuivie par la recherche *in vitro* de propriétés cytotoxiques des lymphocytes humains sur la cellule tumorale autologue. Un pouvoir cytotoxique des lymphocytes du malade sur la cellule tumorale avait été mis en évidence, en 1968, par l'équipe de Hellstrom dans certaines tumeurs humaines telles que des neuroblastomes et des mélanomes³.

Les propriétés cytotoxiques des lymphocytes contre les leucoblastes furent évaluées par le marquage préalable des blastes au radio-chrome (chrome 51), lequel est capté par les cellules viables, et par la mesure de la radioactivité libérée par cytolysse dans le milieu de culture. Mais il fallut plus d'un an pour obtenir un marquage « correct » par le chrome 51 des leucoblastes congelés. Les expériences de lyse et l'étude de l'effet du sérum allogénique ou autologue sur les réactions, visant à démontrer la nature immunologique de la réaction, ne commencèrent qu'en 1972⁴.

Des essais d'extraction du facteur cellulaire présent sur la membrane des blastes et capable d'induire la réaction furent également entrepris. Le facteur pourrait servir à stimuler des lymphocytes autologues ou à réaliser des tests d'hypersensibilité cutanée chez les leucémiques. Le fractionnement préliminaire des cellules leucémiques, l'homogénéisation cellulaire et une séparation grossière des fractions furent réalisés par l'équipe de François Kourilsky. Le fractionnement fut poursuivi à Londres par l'équipe de D. Davies chez Searle Research Laboratories⁵. Il ne fut pas possible d'isoler un facteur stimulant par cette méthode⁶.

Stimulation de l'antigénicité des cellules leucémiques humaines

George Klein avait démontré que la lyse de cellules cancéreuses par différents types de virus augmentait fortement l'antigénicité de ces cellules et rendait possible la protection des animaux inoculés avec ces lysats contre la greffe d'un nombre habituellement léthal de cellules du même type. Les chercheurs de l'IRLMS pensèrent que ce procédé pourrait extérioriser d'éventuels antigènes spécifiques de la leucémie humaine et provoquer une réponse immune. Pour transposer ces expériences à l'homme, il leur fallait, dans un premier temps, trouver un virus qui soit capable de lyser *in vitro* les cellules leucémiques humaines mais qui ne soit pas pathogène pour l'homme *in vivo*. Ils choisirent le virus de la stomatite vésiculaire et commencèrent par le cultiver avec des lymphocytes humains normaux. Ensuite,

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970. Fridman H., *Réactivité anti-leucoblastique des lymphocytes dans la leucémie aiguë*, thèse de médecine, 1970.

² Fonds IUH, article 1, note sur les travaux de l'UER, 1961-1972.

³ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

⁴ Fridman H., Kouilsky F., *In vitro reaction between lymphocytes and leukaemic cells in human acute leukemia*, Proc. Canad. Fed. Biol. Soc., 14 : 492, 1971. Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1971-1972.

⁵ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

⁶ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1971-1972.

les cellules leucémiques d'un malade donné, prélevées avant tout traitement, furent lysées par le virus puis stockées à -170°C , ainsi que le virus du surnageant. Une fois le malade en rémission, le lysat cellulaire et éventuellement le virus lui furent injectés par voie sous-cutanée. Une réaction immunologique du malade contre ses leucoblastes congelés fut recherchée sous la forme d'anticorps sériques, par les techniques de fixation du complément, de lymphocytotoxicité et d'immunofluorescence, ainsi que par la culture lymphocytaire mixte de lymphocytes de rémission et de leucoblastes initiaux¹. Ces essais ont probablement donné des résultats négatifs.

Intradermo-réactions avec des extraits de blastes ayant stimulé des lymphocytes

Un autre essai d'immunothérapie consista en l'injection, dans le derme, d'extraits cellulaires de blastes autologues. Ceci fut pratiqué chez des malades leucémiques en rémission pour lesquels une réaction positive avait été observée dans le test de transformation *in vitro* des lymphocytes au contact des leucoblastes. Des réactions positives furent observées dans un petit nombre de cas².

Recherches immunologiques à visée étiologique

L'étiologie de la leucémie aiguë fut abordée immunologiquement, d'une part, par des enquêtes épidémiologiques sérologiques, d'autre part, par un essai d'immunothérapie.

Les virus des maladies infantiles et la leucémie

Deux types d'observations s'accordaient avec l'hypothèse du déclenchement de la leucémie par un virus habituel et *a priori* bénin de l'espèce humaine. Premièrement, les virus de la rubéole, de la rougeole, des oreillons, de la varicelle, les adénovirus, etc., étaient connus pour établir des relations étroites avec les cellules sanguines. Deuxièmement, la persistance, dans l'organisme, de certains de ces virus était tenue pour responsable d'affections secondaires graves. Des auteurs anglo-saxons venaient de démontrer qu'une maladie neurologique, la panencéphalite subaiguë sclérosante, était due au virus de la rougeole.

Ils recherchèrent dans le sérum de patients âgés de 6 mois à 3 ans et dans celui de sujets sains du même âge, des anticorps connus pour être spécifiques de ces maladies infantiles. Seule cette tranche d'âge était utilisable parce qu'au delà de trois ans la quasi-totalité des individus ont été en contact avec presque toutes les maladies virales de l'enfance. Deux groupes témoins furent utilisés : le premier comprenait les malades non leucémiques admis dans le service de Jean Bernard à la même époque que les leucémiques entrant dans l'étude, le second était composé d'enfants sains dont le sérum fut prélevé et testé à l'Institut Pasteur durant la même période. La détection des anticorps se fit par les techniques de fixation du complément, d'inhibition de l'hémagglutination, de séroneutralisation et parfois d'immunofluorescence. Les premières études portèrent sur le virus de la rubéole³.

Les sérums de 58 leucémiques et 63 sujets sains furent testés pour les anticorps anti-rubéoleux par l'inhibition de l'hémagglutination : 53 % des sérums de leucémiques

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

³ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1969.

contenaient ces anticorps contre 38 % pour les sujets sains. Cette différence n'était pas significative du point de vue statistique. Il n'y avait pas non plus de différence par tranche d'âge. Jorge Périès poursuivit ces travaux avec d'autres virus. Les pourcentages de positivité et les taux d'anticorps constatés dans les cas positifs se montrèrent strictement comparables dans les trois groupes d'enfants¹.

Le virus d'Epstein-Barr et la leucémie

Le développement des cultures de cellules sanguines, à partir de 1964, conduisit en quelques années à constater la grande fréquence dans ces cellules d'un virus latent, morphologiquement proche de l'herpès, dit EBV du nom de M. Epstein et Y. Barr qui, les premiers, en 1965, le mirent en évidence dans une culture à long terme de cellules issues d'un lymphome de Burkitt².

Dès 1966, des protocoles d'immunisation de malades cancéreux avec des cellules de Burkitt furent mis au point par François Kourilsky en collaboration avec George Klein et Peter Clifford, du Département de chirurgie de la tête et du cou du Kenyatta National Hospital (Nairobi, Kenya).

Ils traitèrent d'abord des malades cancéreux ORL, avec des biopsies fraîches de tumeurs irradiées. Ils ne constatèrent ni amélioration clinique, ni augmentation du titre d'anticorps anti-EBV. Cette tentative fut donc considérée comme un échec.

Un deuxième essai concerna quelques patients leucémiques aigus en rémission. François Kourilsky proposa de leur administrer des cellules de Burkitt obtenues par biopsie et de suivre l'évolution dans leur sang du taux d'anticorps dirigés contre le virus et contre l'antigène de membrane induit par celui-ci. Ce protocole devait permettre de savoir si un malade leucémique aigu était capable, par cette technique, de s'immuniser contre un antigène présent sur des cellules tumorales d'une autre origine. Si tel était le cas, l'immunisation des leucémiques en rémission n'ayant au départ aucun anticorps anti-EBV pourrait être envisagée et faciliterait peut-être la lutte de l'organisme contre la leucémie.

Cette opération n'était pas sans risques pour les patients. La transmission de maladies africaines et la greffe de cellules tumorales furent jugées improbables, du fait de l'irradiation des cellules injectées. Par contre, les malades pouvaient développer une mononucléose infectieuse. J. Grace, au Roswell Park Institute de Buffalo (Etats-Unis) en avait observé un cas chez un leucémique chronique traité avec des préparations de virus EBV. Toutefois, cette infection n'avait pas eu de conséquences fâcheuses. La formation d'anticorps anti-leucocytaires, comme dans toute immunothérapie allogénique, était plus inquiétante mais pas systématique.

A la fin de 1967, George Klein et François Kourilsky entreprirent de nouveaux essais de traitement de patients leucémiques aigus en rémission avec des cellules de Burkitt. Ils projetaient cette fois d'utiliser des cellules en culture et de ne traiter que des malades non immunisés contre l'EBV. Une série de sérums de patients leucémiques fut envoyée à W. Henle, à Philadelphie, qui sélectionna les enfants n'ayant pas d'anticorps anti-EBV.

Dans le même temps, afin de pouvoir après traitement différencier les anticorps anti-leucocytaires et les anticorps dirigés contre l'antigène membranaire induit par l'infection par l'EBV, ils sélectionnèrent cinq souches de tumeurs de Burkitt dont les donneurs étaient encore vivants. François Kourilsky put ainsi établir leur groupe leucocytaire.

¹ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

² Teillet F., Thomas M., Tanzer J., *Cultures de cellules sanguines à long terme*, Actualités hématologiques, 3 : 242-253, 1969.

A Nairobi, Peter Clifford et ses collaborateurs prélevèrent et cultivèrent les fibroblastes des enfants Africains et les envoyèrent à Paris. Malheureusement, en 1968, ces cellules ne se multiplièrent pas suffisamment en culture pour mettre en œuvre les immunisations envisagées¹. Par ailleurs, une étude menée quelques temps plus tard en collaboration avec le laboratoire de W. Henle permit d'éliminer l'intervention d'anticorps anti-EBV dans les réactions de transformation *in vitro* des lymphocytes autologues par les blastes du sujet². On peut penser qu'il sembla dès lors peu probable qu'une immunisation contre l'EBV stimule les défenses anti-leucémiques.

En 1969, un ensemble de preuves indirectes laissait penser que l'EBV était l'agent de la mononucléose infectieuse. Son rôle dans le lymphome de Burkitt restait plus incertain. Dans les deux maladies, le virus était très fréquent dans les cultures cellulaires et le sérum des patients présentait un titre élevé d'anticorps anti-EBV. Dans la mononucléose infectieuse, une corrélation avait été établie, sur un large échantillon de personnes, entre un titre sérique important d'anticorps anti-EBV et l'apparition de la maladie. De plus, des particules virales morphologiquement identiques à celles des cellules de Burkitt étaient systématiquement observées dans les cellules de personnes ayant ou ayant eu la mononucléose infectieuse. Par contre, l'EBV n'avait pas été trouvé dans certaines tumeurs de Burkitt, ce qui le faisait plutôt considérer comme un virus helper de l'agent de la maladie.

Outre son association avec le lymphome de Burkitt, sa présence habituelle dans les lignées cellulaires au long cours et son rôle important dans le succès même de l'établissement de ces cultures faisait attribuer à ce virus des propriétés favorisant la transformation ou la prolifération cellulaire³. Soupçonnant un lien entre le virus EBV et la leucémie, François Kourilsky demanda à Maryse Weil, en 1969, de rechercher des syndromes mononucléosiques dans les dossiers d'enfants leucémiques. Mais elle n'en trouva que quatre⁴.

En 1970, les membres de l'IRLMS, recherchèrent des anticorps anti-EBV dans le sérum d'enfants leucémiques aigus, par immunofluorescence. Une enquête préliminaire portant sur 500 sérums obtenus de sujets sains avait permis de connaître la répartition des anticorps anti-EBV dans la région parisienne. Le pourcentage d'enfants sains ayant des anticorps anti-EBV était de 0 % pour les 1-6 mois, de 34 % pour les enfants de 6 mois à 1 an et de 50 % chez les 2-5 ans. Ces faits étaient inattendus ; une enquête semblable réalisée en Suède avait donné des pourcentages beaucoup plus faibles. La différence fut attribuée à des facteurs socio-économiques, l'échantillon suédois ayant été recueilli dans une ville provinciale. Avec les enfants leucémiques de l'Hôpital Saint-Louis, fut notée une incidence légèrement plus élevée de sujets positifs que chez les enfants sains : 66 % contre 40 % chez les témoins de 1 à 2 ans, 70 % contre 50 % pour les enfants de 2 à 5 ans, et 75 % contre 55 % pour les 6-10 ans. Mais ces résultats étaient d'interprétation délicate étant donné le faible nombre de sujets étudiés et la perturbation de l'homogénéité de l'échantillonnage par les différents traitements reçus par les leucémiques⁵.

¹ Fonds IUH, article 65, Immuno-hématologie, échanges entre le directeur de l'institut et F. Kourilsky, lettre de Kourilsky F. à Boiron M. du 11.12.1968.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

³ Teillet F., Thomas M., Tanzer J., *Cultures de cellules sanguines à long terme*, Actualités hématologiques, 3 : 242-253, 1969.

⁴ Fonds IUH, article 65, Immuno-hématologie, échanges entre le directeur de l'institut et F. Kourilsky, 1969.

⁵ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport d'activité pour 1970.

Travaux des unités de recherche clinique

Au sein des services d'hématologie de l'Hôpital Saint-Louis, destinés à la surveillance et au traitement des malades, certains médecins menaient en outre une activité de recherche, orientée d'une part vers les leucémies et autres hémopathies malignes, d'autre part vers les affections sanguines non malignes. Ces recherches constituaient la « section clinique » de l'IRLMS et se partageaient entre études pathologiques et essais thérapeutiques essentiellement chimiothérapeutiques. Ces recherches étaient permises par le grand nombre de patients hospitalisés au Centre Hayem ou dans d'autres bâtiments. Entre le 1^{er} mai 1960 et le 31 décembre 1961, soit en un peu moins de 2 ans, 232 leucémiques aigus, dont 130 enfants et 102 adultes, furent suivis à l'Hôpital Saint-Louis¹. En 1964, le département d'hématologie adultes comptait 56 lits, celui d'hématologie enfants 74 lits et le nombre de malades consultants externes s'élevait à 60 par jour². Enfin, entre le 1^{er} janvier et le 30 octobre 1971, le service d'hématologie reçut 2660 nouveaux malades, toutes pathologies confondues³.

Recherches thérapeutiques

L'unité chargée d'appliquer les nouvelles chimiothérapies rassemblait Claude Jacquillat, Maryse Weil et Michel Boiron. Ils rédigeaient les protocoles de traitement et les questionnaires de suivi, ils assuraient leur diffusion aux internes et aux médecins du service et ils distribuaient aux malades concernés les médicaments à l'étude⁴. L'homologation et les modifications de ces protocoles étaient soumises au Comité de chimiothérapie, supervisé par Jean Bernard, auquel les médecins du service proposaient des changements. Par exemple, en 1964, François Kourilsky proposa de retarder de deux jours le début du traitement par le Purinéthol après la fin de la corticothérapie⁵. L'année suivante, Jean Bernard demanda à Claude Jacquillat d'interrompre un protocole qui n'avait pas été discuté par le comité⁶.

On peut distinguer plusieurs « ères thérapeutiques », selon l'expression de Jean Bernard, dans l'histoire du traitement de la leucémie aiguë. La première période s'étend de 1947 à 1954. En 7 ans, 5 types de traitements furent successivement proposés : l'exsanguino-transfusion et les antifoliques, l'ACTH et la cortisone, la 6-mercaptopurine. Ils furent testés seuls et associés. La deuxième période, 1954-1962, au cours de laquelle aucune substance nouvelle ne fut employée, fut consacrée à l'amélioration des modalités thérapeutiques (dose, voie d'administration, type et chronologie des combinaisons). En 1965, Jean Bernard qualifiait ces huit années de « période de déceptions, de stagnation »⁷. En 1963, s'ouvrit une nouvelle période marquée par l'apparition de nouvelles médications : vincristine, méthylgag, rubidomycine, cytosine arabinoside et asparaginase. Celles-ci donnèrent lieu à des associations différentes selon le type cellulaire, à la fois plus complexes et plus agressives,

¹ Bernard J., Seligmann M., Tanzer J., Lapresle J., Boiron M., Najean Y., *Les localisations neuro-méningées des leucémies aiguës et leur traitement par les injections intrarachidiennes d'améthoptérine*, *Nouv. Rev. Fr. Hemat.*, 2 : 812-852, 1962.

² Fonds IUH, article 1, note concernant l'IRLMS, 1964.

³ Fonds IUH, article 1, rapport de l'IRLMS pour 1970-1971.

⁴ Fonds IUH, article 1, note concernant l'IRLMS, 1964 ; article 80, Chimiothérapie, demande d'attribution de locaux supplémentaires, octobre 1977.

⁵ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de Jean Bernard à Claude Jacquillat, 17.12.1964.

⁶ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de Jean Bernard à Claude Jacquillat, 23.02.1965.

⁷ Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, *L'omnipraticien français*, 31 (8) : 539-542, 1965.

impliquant l'amélioration des traitements symptomatiques et du soutien psycho-affectif des malades. Durant cette période, la vision du progrès vers la guérison fut modifiée, du moins pour l'équipe de Jean Bernard et en partie à la suite de l'étude des très longues rémissions. Il leur sembla nécessaire d'associer chimiothérapie et immunothérapie. Au cours des années 1970, aucune nouvelle série chimique ne fit son entrée dans l'arsenal anti-leucémique¹.

Bilan des premières chimiothérapies (1961-1964)

Caractérisation de la rémission complète

En 1961, les chercheurs du Service d'hématologie de l'Hôpital Saint-Louis étudièrent la rémission complète chez 300 enfants atteints de leucémie aiguë, traités entre le mois de janvier 1956 et le mois de décembre 1960.

La définition de la rémission complète utilisée par l'équipe de Jean Bernard dans les années 1960 était devenue beaucoup plus précise que celle des années 1950 (voir annexes 14 et 37). Jean Bernard trouvait trop élevés, trop éloignés de la normalité, les critères choisis en 1956 par le Panel des études cliniques (Clinical Studies Panel) du Centre national de chimiothérapie anticancéreuse américain (Cancer Chemotherapy National Service Center). Ce comité prenait comme limite supérieure 10 % d'hémoblastes et 20 % de lymphocytes dans la moelle des enfants.

Jean Bernard et ses collaborateurs s'intéressèrent, d'une part, à l'influence sur le taux de rémissions complètes, de l'âge, du sexe, des signes cliniques, de l'hémogramme initial et du délai entre les premiers symptômes et le début du traitement. D'autre part, ils étudièrent la chronologie des modifications sanguines et médullaires au cours des rémissions complètes. Le premier travail avait un intérêt pronostique, le second, un intérêt pour la conduite du traitement et l'évaluation de son efficacité.

L'équipe de Jean Bernard confirma que la rémission complète était fréquente dans la leucémie lymphoblastique (62 % de 180 cas) et rare dans les leucémies granuleuses, c'est à dire la leucémie myéloblastique (12,5 % de 80 cas), la leucémie promyélocytaire (12% de 25 cas) et la leucémie histiomonoblastique (6 % de 15 cas). Ceci était principalement lié à l'inégale répartition des types cytologiques selon l'âge, les enfants ayant beaucoup plus fréquemment des leucémies lymphoblastiques et les adultes des leucémies myéloblastiques. Toutefois, ils constatèrent que, dans la leucémie aiguë lymphoblastique, la fréquence de la rémission était aussi fonction de l'âge. La plus grande fréquence des rémissions complètes chez l'enfant n'était donc pas uniquement due à la prédominance du type cellulaire lymphoblastique dans cette tranche d'âge. Ils vérifièrent, par ailleurs, que les rémissions complètes étaient moins fréquentes dans les formes très leucémiques, avec un taux initial de globules blancs dans le sang supérieur à 10.000/mm³.

L'installation de la rémission complète fut étudiée au niveau clinique, sanguin et médullaire. Cet état, d'apparence normal, était atteint en 5 jours à 9 semaines selon le traitement utilisé. Les signes cliniques disparaissaient généralement très vite. Dans le sang, ils retrouvèrent ce que d'autres auteurs avaient déjà constaté, que les hémoblastes disparaissaient d'abord, puis, « fait curieux », que le taux des lymphocytes augmentait temporairement, que s'élevait ensuite celui des polynucléaires et, en dernier lieu, celui des plaquettes (voir annexe 38).

L'étude de la chronologie des modifications médullaires en cours de rémission complète nécessitait d'imposer aux enfants des ponctions toutes les 48 heures. Après une

¹ Schaison G., *Le traitement des leucémies aiguës*, Fascicule Eli Lilly France S.A., 1981.

période d'hésitation due au caractère douloureux de l'opération, les chercheurs de l'Hôpital Saint-Louis menèrent cette étude chez 30 enfants traités par des tranquillisants et des antalgiques. Ils constatèrent la disparition très rapide des hémoblastes, suivie d'une érythroblastose et d'une augmentation des lymphocytes. S'élevait ensuite le taux des granulocytes puis des mégacaryocytes, les précurseurs des plaquettes (voir annexe 38). Cette étude de l'évolution cytologique de la moelle pendant la rémission complète eut une conséquence théorique et une conclusion pratique. Premièrement, la lymphocytose demandait une explication, des études utilisant la thymidine tritiée ayant indiqué que ces lymphocytes ne provenaient pas de la transformation de lymphoblastes. Deuxièmement, il était inutile, une fois la rémission initiée, de faire d'autres ponctions médullaires tant que le taux de plaquettes n'était pas revenu à la normale.

Enfin, Jean Bernard et ses collaborateurs cherchèrent des signes annonciateurs de la rechute. Sur 86 rechutes de leucémie aiguë lymphoblastique, 63 furent médullaires, totales et du type cellulaire de la première phase évolutive. 23 se firent par une atteinte médullaire isolée et/ou dans des territoires localisés, généralement dans les méninges, les testicules ou la rate¹.

Mécanisme de la rechute

En 1962, Jean Bernard et ses collaborateurs jugeaient la persistance de cellules leucémiques probable, bien qu'ils n'en eussent jamais observées à l'autopsie de patients morts accidentellement en rémission. Ils admettaient trois hypothèses expliquant la rechute : celle d'une simple progression géométrique, celle de la « quiescence » des cellules cancéreuses et celle de la progression géométrique compensée par des mécanismes anti-leucémiques efficaces tant que le nombre de cellules leucémiques restait en dessous d'un certain seuil. La grande variabilité de la durée des rémissions rendait douteuse la première hypothèse. La fréquence des mutations spontanées dans la moelle normale et les rechutes méningées, survenant dans des territoires échappant aux réactions immunitaires accréditaient la troisième². L'inégale tolérance de l'organisme à des infiltrations leucémiques apparemment identiques s'inscrivait dans le cadre de ce qui était alors appelé la question de la « compensation » ou de la « décompensation » des hémopathies malignes³. Dans tous les cas, un traitement d'entretien était théoriquement utile.

En 1964, Jean Bernard ajouta une autre hypothèse à celles déjà proposées pour expliquer les rechutes. Cette hypothèse, qui avait alors sa préférence, disait que toutes les cellules leucémiques avaient été détruites par les agents chimiothérapeutiques mais qu'il persistait dans l'organisme un trouble viral, endocrinien ou autre qui générerait de nouvelles cellules malignes⁴.

¹ Bernard J., Seligmann M., Weil M., *Les « leucoses aiguës » au long cours*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 : 172-201, 1961. Bernard J., Boiron M., Weil M., Lévy J.P., Seligmann M., Najean Y., *Etude de la rémission complète de la leucémie aiguë (analyse de 300 cas)*, Nouv. Rev. Fr. Hématol., 2 : 195-222, 1962. Bernard J., *Complete remissions in acute leukemia*, Israel J. Med. Sci., 1 (6) : 1316-1322, 1965.

² Bernard J., Boiron M., Weil M., Lévy J.P., Seligmann M., Najean Y., *Etude de la rémission complète de la leucémie aiguë (analyse de 300 cas)*, Nouv. Rev. Fr. Hématol., 2 : 195-222, 1962.

³ Bernard J., Seligmann M., Weil M., *Les « leucoses aiguës » au long cours*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 : 172-201, 1961.

⁴ Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964, p. 1-15.

Evaluation des traitements

Leucémies aiguës lymphoblastiques

L'administration simultanée d'aminoptérine et de cortisone, proposée en 1950 par Jean Bernard, avait permis, sur une première série « restreinte » de patients, d'obtenir 64 % de rémissions complètes. Ce taux était très supérieur à celui enregistré avec les antifoliques employés seuls. Mais, comme il n'était pas supérieur à celui obtenu avec la Δ -cortisone (prednisone®) seule, l'association fut abandonnée pour les leucémies aiguës lymphoblastiques. L'association d'emblée de la cortisone et de la 6-mercaptopurine ne donna pas non plus de résultats supérieurs à ceux obtenus avec la Δ -cortisone seule à forte dose. Il en fut de même pour la triple association antifolique-antipurine-corticoïde. Par contre, lorsque les chercheurs de l'Unité de chimiothérapie prescrivirent un traitement d'attaque (ou d'induction, par francisation du terme anglosaxon) par la prednisone suivi d'un traitement d'entretien par la 6-mercaptopurine, les résultats furent meilleurs. Alors que précédemment, la durée de vie médiane était de 3 mois, elle atteignit ainsi 7,5 mois (voir annexes 39 et 40).

Leucémies aiguës myéloblastiques

Les leucémies myéloblastiques étaient moins sensibles aux traitements disponibles. En 1961, la durée de vie médiane dans ce type de leucémie, calculée à partir de 80 cas traités à l'Hôpital Saint-Louis, était de 4,5 mois.

L'association antifolique-cortisone, utilisée à partir de 1950 par l'équipe de Jean Bernard, fut utilisée plus longtemps dans les leucémies granuleuses parce qu'elle donnait un pourcentage de rémission complète plus élevé que les corticoïdes seuls, y compris la Δ -cortisone¹. Elle fut remplacée par l'association triple de 6-mercaptopurine, d'a-méthoptérine et de cortisone, qui était considérée par Jean Bernard, en 1964, comme le meilleur traitement alors disponible².

Complications neuro-méningées

L'emploi des agents chimiothérapeutiques favorisa des localisations leucémiques inhabituelles avant l'ère thérapeutique et, en particulier, l'infiltration du cerveau. Les maigres progrès dus à la chimiothérapie étaient contrebalancés par cette forme de rechute de la maladie : « En dehors du risque mortel, il faut insister sur la cruelle menace que représente pour un leucémique l'atteinte neuro-méningée : céphalées atroces, cécité, troubles sphinctériens, etc. C'est dire qu'une thérapeutique aussi précoce que possible est nécessaire et légitime, même si elle n'augmente pas la durée de survie. ».

Cette nouvelle forme de la maladie était liée au faible passage des agents chimiothérapeutiques dans le liquide intrarachidien. Divers traitements furent testés. La ponction lombaire provoquait une amélioration mais de courte durée. Les rechutes neuro-méningées furent généralement traitées par irradiation de la tête aux rayons X jusqu'à ce que fussent employés les molécules anti-cancéreuses. Les premières injections intrarachidiennes furent pratiquées, au milieu des années 1950, avec de l'aminoptérine, chez des enfants présentant un grave syndrome d'hypertension intracrânienne. Elles donnèrent de bons résultats. Un peu plus tard, les chercheurs du Sloan-Kettering Institute (New York) utilisèrent

¹ Bernard J., Boiron M., Weil M., Lévy J.P., Seligmann M., Najean Y., *Etude de la rémission complète de la leucémie aiguë (analyse de 300 cas)*, Nouv. Rev. Fr. Hématol., 2 : 195-222, 1962.

² Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964, p. 1-15.

avec succès l'a-méthoptérine. Les hématologistes de l'Hôpital Saint-Louis essayèrent, par ailleurs, l'injection intrarachidienne d'hydrocortisone chez 2 patients ; l'un d'eux eut une rémission mais elle fut jugée inférieure à celles obtenues avec le l'a-méthoptérine ; l'essai fut alors stoppé. D'après l'expérience de l'équipe de Jean Bernard, la radiothérapie pouvait être très bénéfique mais elle avait des effets inconstants et souvent brefs ; ceux du traitement chimique étaient plus réguliers et plus durables.

A la fin de l'année 1961, Jean Bernard et ses collaborateurs s'intéressèrent à cette forme d'expression de la maladie. L'étude porta sur l'observation pendant 20 mois de 41 leucémies aiguës, 35 vues à l'Hôpital Saint-Louis et 6 suivies par l'un des auteurs dans trois services de pédiatrie parisiens, lesquels avaient pris en charge au total 29 leucémiques aigus durant cette période. A cette date, 71 observations de leucémiques traités par l'a-méthoptérine intrarachidienne avaient été publiées. Les 37 patients traités par l'équipe de Jean Bernard avaient reçu une injection de 0,1 à 0,3 mg/kg tous les 2 jours jusqu'à disparition des signes cliniques et biologiques ou apparition de signes toxiques. La dose totale administrée fut en moyenne de 2,1 mg/kg. L'analyse des résultats porta sur 32 cas de premier épisode neuro-méningé, 5 patients étant décédés précocement ou ayant été perdus de vue. Dans 53 % des cas, la rémission, déterminée par l'état clinique, l'état du liquide céphalo-rachidien et du fond de l'œil, fut complète. Les cliniciens de l'IRLMS n'enregistrèrent que 12,5 % d'échecs, ce qui était relativement encourageant. Par contre, les rechutes neuro-méningées ultérieures étaient très fréquentes. Toutefois, elles étaient généralement sensibles à de nouvelles injections d'a-méthoptérine, même lorsque celle-ci n'agissait plus sur les manifestations sanguines.

Cette étude montra, par ailleurs, que la fréquence des localisations neuro-méningées décelées cliniquement était de 15,7 %. Quatre études précédentes, réalisées par d'autres équipes et portant sur des séries de patients comparables, avaient donné des valeurs comprises entre 9,9 et 25 %. De plus, les chercheurs de l'IRLMS confirmèrent la fréquence nettement plus grande de ces complications dans les formes lymphoblastiques ($\chi^2 = 3,95$; $0,02 < p < 0,05$).

Les signes révélateurs furent examinés, de manière à faciliter la détection précoce. Les 102 épisodes neuro-méningés étudiés furent décelés le plus souvent par des céphalées (20 cas) ou des vomissements (18 cas), un peu moins souvent par une paralysie des nerfs crâniens, des signes médullaires ou radiculaires, des troubles visuels ou une somnolence (7 à 9 cas), plus rarement par des vertiges, des troubles psychiques, des convulsions, une baisse de l'audition, un coma, une hémiplégie ou des troubles de la parole (5 à 2 cas). Enfin, 4 cas furent soupçonnés respectivement à partir d'une chorée, d'un syndrome cérébelleux, d'un diabète insipide et d'une boulimie avec obésité. Dans 7 cas, ce furent les examens complémentaires qui établirent le diagnostic de neuro-méningite leucémique. Ils consistaient en un examen du fonds d'œil, un examen du liquide céphalo-rachidien, une radiographie du cerveau et un électroencéphalogramme. L'équipe de Jean Bernard attira l'attention sur l'œdème papillaire, témoignant très souvent d'une hypertension intracrânienne, ainsi que sur la leucoblastose souvent très élevée du liquide céphalo-rachidien, laquelle rendait utile l'examen systématique de ce dernier.

Enfin, Jean Bernard et ses collaborateurs montrèrent que la durée de survie des malades semblait liée au délai entre la première rechute méningée et le début de la maladie¹.

Au milieu des années 1960, la fréquence des localisations méningées était estimée à une valeur 2 fois plus importante (30-40%) ; parallèlement, l'injection intra-rachidienne d'a-

¹ Bernard J., Seligmann M., Tanzer J., Lapresle J., Boiron M., Najean Y., *Les localisations neuro-méningées des leucémies aiguës et leur traitement par les injections intrarachidiennes d'améthoptérine*, *Nouv. Rev. Fr. Hemat.*, 2 : 812-852, 1962.

méthoptérine était plus efficace : elle permettait dans 75 % des cas de guérir les méningites leucémiques¹.

Les leucoses au long cours

En 1961, la chimiothérapie avait permis d'augmenter un peu la durée de vie des malades. Les morts rapides et les leucoses « au long cours » générant une grande dispersion autour de la moyenne, la durée des rémissions était désormais exprimée en médiane. Alors que la durée de vie médiane des malades non traités variait, selon les études, entre 2,7 et 4,5 mois, celle des enfants traités atteignait, selon les auteurs, 8 à 11,5 mois.

Cette année-là, Jean Bernard et ses collaborateurs recherchèrent, parmi 300 dossiers personnels de leucémies aiguës diagnostiquées à partir de 1956, des leucoses dont l'évolution avait duré au moins 20 mois, dans l'espoir d'y trouver des points communs. 31 observations furent retenues. Ce chiffre était en accord avec les résultats de Sidney Farber qui, en 1957, avait enregistré 10 % de survie supérieure à 21 mois. Si ces données allaient dans le bon sens, les résultats restaient modestes. Parmi les patients de l'Hôpital Saint-Louis, un seul était encore en vie au moment de la rédaction de l'article.

Afin de démasquer des éléments communs permettant d'expliquer et de prévoir la longue durée, l'équipe de Jean Bernard s'intéressa à l'âge, au sexe, au groupe sanguin, à l'état initial clinique et hématologique des malades, ainsi qu'au traitement suivi et à la durée de la première rémission. Aucun point commun ne put être dégagé. Ils notèrent simplement la rareté des formes hyperleucocytaires et la grande fréquence des premières rémissions complètes de plus de 10 mois. Parmi celles-ci, quatre furent très prolongées ; elles concernèrent des leucémies aiguës lymphoblastiques et atteignirent 22, 23, 25 et 28 mois. Paradoxalement, ces très longues rémissions complètes furent suivies de rechutes rapidement fatales quel que fût le traitement employé. En 1961, seulement cinq autres observations de ce type avaient été publiées².

La deuxième rémission complète était toujours beaucoup plus difficile à obtenir. En 1962, sur 87 enfants en rechute de leucémie aiguë lymphoblastique, 36 % présentèrent une seconde rémission complète³. Deux ans plus tard, ce taux passa à 42 %, sur 88 cas ayant bénéficié d'une première rémission de ce type. Un seul patient en eut une troisième.

En 1964, la plus longue rémission complète obtenue par l'équipe de Jean Bernard était de six ans et se poursuivait. Cet enfant avait au départ une leucémie aiguë typique⁴. De très longues rémissions avaient également été obtenues dans la maladie de Hodgkin, une hémopathie maligne à début régional⁵. Cette même année, Joseph Burchenal, au Sloan-Kettering Institute (New York), rassembla les données venant des différents centres mondiaux spécialisés dans le traitement des leucémies aiguës ; les résultats étaient partout similaires⁶.

Deux ans plus tard, le nombre de cas de « rémissions complètes de très longue durée », c'est à dire de plus de quatre ans, observés à l'Hôpital Saint-Louis, était de 14. Chez 12 de ces patients, la première rémission avait duré plus de 3 ans. Le diagnostic de leucémie aiguë fut

¹ Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964, p. 1-15.
Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965.

² Bernard J., Seligmann M., Weil M., *Les leucoses aiguës au long cours*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (2) : 172-201, 1961.

³ Bernard J., Boiron M., Weil M., Lévy J.P., Seligmann M., Najean Y., *Etude de la rémission complète de la leucémie aiguë (analyse de 300 cas)*, Nouv. Rev. Fr. Hématol., 2 : 195-222, 1962.

⁴ Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964, p. 1-15.

⁵ Bernard J., Bessis M., *Peut-on guérir les leucémies ?*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (2) : 209-212, 1965.

⁶ Burchenal J., *Long terms remissions in acute leukemia spontaneous and induced*, Proc. 10th Cong. Int. Soc. Haemat., Stockholm, 1964.

confirmé par plusieurs cytologistes qui réexaminèrent à l'aveugle les lames datant du début de la maladie. Le fait le plus encourageant était que sept de ces malades étaient toujours en rémission complète. La plus longue durait alors depuis 8 ans¹. Ailleurs, le record était détenu par un patient de Wolf Zuelzer (né en 1909), du Children's Hospital de Détroit, lequel connaissait une rémission complète depuis 12 ans².

En 1965, l'augmentation du nombre de cas de leucoses au long cours ne permettait toujours pas de dégager d'éléments de pronostic favorables, hormis peut-être la rareté des hémorragies, un taux normal de plaquettes, une leucocytose initiale modérée et l'absence d'aplasie toxique grave. Le plus suprenant était qu'une part importante de ces leucémies étaient initialement de mauvais pronostic pour l'obtention d'une première rémission complète. En effet, les 14 patients de l'équipe de Jean Bernard étaient âgés de deux et demi à 65 ans au moment du traitement, cinq d'entre eux souffraient de leucémies myéloblastiques et certains avaient déjà été traités sans succès. Certes, dans la plupart des cas, la première rémission résulta d'un traitement séquentiel par la Δ -cortisone et la 6-mercaptopurine, mais un patient n'avait pas eu de traitement d'entretien et un autre avait simplement reçu de nombreuses transfusions³. Ailleurs, les patients à longue rémission complète avaient également été traités de diverses façons⁴. Le cas le plus remarquable, celui de Wolf Zuelzer, avait pris de l'aminoptérine seule et uniquement pendant un an⁵.

La variété des formes cliniques, la grande proportion relative des leucémies myéloïdes et la douceur de la thérapie constituaient, pour Jean Bernard, des arguments en faveur de l'intervention de mécanismes de défense⁶. Il soupçonnait les traitements très agressifs de détruire les cellules immunocompétentes et proposa de comparer l'évolution à long terme et le taux des très longues rémissions dans deux séries, l'une traitée initialement par des thérapeutiques fortement destructives, l'autre traitée par des médicaments plus mesurés. Il jugeait également important de mieux apprécier et, éventuellement, d'appuyer les efforts de défense fournis par certains organismes malades⁷.

Nouveaux agents chimiothérapeutiques (1963-1968)

La vincristine

Dans les années 1950, Ralph Noble, de l'Université de l'Ontario, prépara des extraits de la pervenche de Madagascar, *Catharanthus roseus*, utilisée pour traiter le diabète dans des médecines populaires d'Afrique et d'Asie, de manière à tester chez l'animal leur effet anti-diabétique. Ces extraits provoquant une aplasie médullaire, ils furent testés sur des tumeurs animales en 1955. Avec Charles Beer, Ralph Noble isola la vinblastine (Velbe®), initialement appelée vincalécoblastine, en 1958. Gordon Svoboda, de la firme Eli Lilly à Minneapolis, isola indépendamment en 1961 un autre alcaloïde de la pervenche *Vinca rosea* : la vincristine

¹ Bernard J., Bessis M., *Peut-on guérir les leucémies ?*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (2) : 209-212, 1965.

² Zuelzer W., *Implication of long term survival in acute stem cell leukemia of childhood treated with composite cyclic therapy*, Blood, 24 : 477, 1964.

³ Bernard J., *Complete remissions in acute leukemia*, Israel J. Med. Sci., 1 (6) : 1316-1322, 1965. Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965.

⁴ Burchenal J., *Long terms remissions in acute leukemia spontaneous and induced*, Proc. 10th Cong. Int. Soc. Haemat., Stockholm, 1964.

⁵ Zuelzer W., *Implication of long term survival in acute stem cell leukemia of childhood treated with composite cyclic therapy*, Blood, 24 : 477, 1964.

⁶ Bernard J., *Long duration of complete remissions in acute leukemia*, Cancer Res., 25 (9) : 1673-1674, 1965.

⁷ Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965.

(Oncovin®. Voir annexe 41)¹. La souris DBA2 inoculée avec la leucémie P-1534, utilisée par les Laboratoires Eli Lilly, se montra très sensible à la vincristine².

Les premiers essais de traitement de la leucémie aiguë par le sulfate de leurocristine furent menés à partir de 1961 à la Lilly Clinic, au National Cancer Institute, au Sloan-Kettering Institute, au Roswell Park Memorial Institute, au Boston Children's Hospital et à l'Université de Chicago³. Cette molécule fut rapidement rebaptisée « vincristine ». Myron Karon, Emil Freireich et Emil Frei, du National Cancer Institute, publièrent leurs premiers résultats en novembre 1962. Ceux-ci portaient sur le traitement de 15 leucémiques aigus de moins de 16 ans, ayant déjà été traités par corticothérapie et devenus résistants à la 6-mercaptopurine et à l'a-méthoptérine. Ces patients reçurent au début 0,04 mg de vincristine par jour et par kg. Les doses furent augmentées de 0,05 mg par 0,05 mg jusqu'à ce que le taux sanguin de globules blancs descendît à 3000 par mm³ ; la dose maximale fut de 0,15 mg. Ensuite, le produit fut donné une fois par semaine à un dosage permettant de maintenir le taux de leucocytes entre 1000 et 3000 par mm³. Dans les cas où le nombre de globules blancs baissa davantage, le maintien du dosage en cours ou sa diminution dépendirent de l'amélioration ou de l'absence d'amélioration de l'état de la moelle. Des transfusions de sang, de plaquettes ou de leucocytes furent pratiquées en fonction des besoins. La surveillance des malades comprenait la mesure quotidienne des taux d'hémoglobine, de globules blancs et de plaquettes, ainsi que la réalisation d'un myélogramme tous les 15 jours.

Les résultats du National Cancer Institute furent enregistrés selon les critères de rémission proposés par le Panel d'études cliniques du Centre national américain de chimiothérapie anti-cancéreuse (Clinical Studies Panel of the Cancer Chemotherapy National Service Center) puis modifiés, en 1956, par le CALGB (Cooperative Acute Leukemia Group B), un groupe international d'études sur le traitement de la leucémie aiguë également basé au National Cancer Institute. Le système de description défini par ce groupe faisait correspondre la lettre A à l'état de la moelle, la lettre B à celui du sang, la lettre C à l'état clinique (« physical findings ») et la lettre D à l'état général (« performance »). La rémission complète était symbolisée par la notation A1B1C1D1, la rechute complète par A3B3C3D3. La date de début de rémission correspondait à l'atteinte de l'état A1 ; la durée de la rémission correspondait au délai entre son début et le passage à l'état A2. Les auteurs américains parlaient de rémission partielle lorsque les lettres de chaque catégorie étaient assorties de l'indice 1 ou 2. Dans les autres cas, ils employaient le terme d'amélioration.

Tous les patients présentaient une moelle A3 avant le traitement par la vincristine et huit d'entre-eux souffraient d'une localisation méningée, laquelle fut traitée avec succès par l'aminoptérine. Deux enfants furent exclus de l'analyse des résultats ; ils décédèrent avant la deuxième injection. Des manifestations toxiques furent enregistrées. Il s'agissait principalement d'alopécie, de troubles digestifs et de douleurs, mais aucune ne nécessita d'interrompre le traitement ; la réduction de la dose administrée les atténua. Des troubles neurologiques sérieux furent toutefois signalés chez trois malades ayant reçu plus de 0,1 mg/kg pendant une longue période.

¹ Chast F., *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, Paris, 1995, p. 289-290. Karon M., Freireich E., Frei E., *A preliminary report on vincristine sulfate - A new active agent for the treatment of acute leukemia*, Pediatrics, 30 (5) : 791-796, 1962.

² Chast François, *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, Paris, 1995, p. 275.

³ Bernard J., Jacquillat C., *Essai de traitement des leucémies aiguës par la leurocristine. Remarques préliminaires*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (4) : 476-477, 1963. Mathé G., Schweisguth O., Brulé G., Brezin C., Amiel J.L., Schwarzenberg L., Schneider M., Cattan A., Jasmin C., Smadja R., *Essai de traitement par la leurocristine de la leucémie aiguë lymphoblastique et du lymphoblastosarcome*, Presse Méd., 71 (10) : 529-532, 1963.

Neuf des 15 leucémiques traités au National Cancer Institute eurent une rémission complète, au bout de 29 jours en moyenne, 24 jours en médiane. Toutefois, 2 patients ayant reçu simultanément des stéroïdes, leur rémission ne put être attribuée avec certitude à la vincristine. Il y eut également une rémission partielle, une amélioration et deux échecs. Ces résultats étaient meilleurs que ceux obtenus avec la vinblastine, une étude non publiée du CALGB faisant état d'une seule rémission sur un échantillon de 29 personnes. L'étude de la durée de la rémission, en cours au CALGB en 1962, était encourageante. Elle montrait, au 5^{ème} mois, 60 % de survie contre environ 10 % pour les autres produits testés sur les leucémies aiguës avancées et réfractaires aux traitements habituels¹.

En France, un premier essai fut réalisé à l'Institut Gustave Roussy par Georges Mathé et ses collaborateurs avec de la vincristine fournie par les Etablissements Lilly. L'essai porta sur 25 leucémies aiguës lymphoblastiques. Le produit fut administré par voie veineuse à raison de 0,04 à 0,1 mg/kg et par semaine pour les enfants, 0,025 à 0,05 mg pour les adultes. Ils observèrent les mêmes troubles toxiques qu'au National Cancer Institute. Dans deux cas, des problèmes digestifs conduisirent à l'arrêt du traitement. La toxicité ne semblait pas liée à la dose et était mieux tolérée par les enfants. Ils obtinrent les résultats suivants : six rémissions complètes, trois rémissions incomplètes, sept échecs partiels et neuf échecs totaux. La molécule se montra efficace de la première à la cinquième phase évolutive et chez des patients résistants à la cortisone ou à la 6-mercaptopurine. Mais la durée des rémissions semblait courte aux Français. Leurs résultats étaient moins bons que ceux des médecins américains, contrairement à ce à quoi l'on pouvait s'attendre au vu de leur mode de sélection des patients. Alors qu'outre-atlantique, les essais n'avaient porté que sur des patients résistants aux traitements disponibles, l'équipe de Georges Mathé en avait fait bénéficier les 25 premiers malades à s'être présentés dans son service depuis qu'il disposait de vincristine. Cette différence était peut-être due à la posologie².

La vincristine fut employée à l'Hôpital Saint-Louis en 1963. Jean Bernard en donna ponctuellement à des collègues étrangers, comme à J. Van Rossum de Bruxelles : « Ultérieurement et lorsque les thérapeutiques dont nous disposons actuellement (6-mercaptopurine, cortisone et méthotrexate) ne sont plus suffisamment efficaces, peut-être pourra-t-on envisager le recours au nouveau médicament de la leucémie aiguë, telle la vincristine, alcaloïde de la pervenche qui est actuellement à l'étude aux Etats-Unis et également dans notre Centre, et qui donne parfois des résultats intéressants. Les résultats naturellement sont toujours de l'ordre de ceux que nous obtenons à l'heure actuelle, c'est à dire partiels et passagers. »³.

Jean Bernard et Claude Jacquillat publièrent leurs premiers résultats au cours de l'été 1963. Les premiers patients traités étaient résistants à la Δ -cortisone à forte dose, à la 6-mercaptopurine et à l'a-méthoptérine. La leurocristine fut donnée à la dose « habituelle » hebdomadaire de 0,025 à 0,05 mg par kg, la dose totale variant de 0,3 à 0,5 mg par kg. Des rémissions complètes furent observées, de courte durée, jusqu'à 2 mois au moment de la rédaction de l'article. La leurocristine fut dans l'ensemble bien supportée mais un cas de paralysie fut jugé inquiétant. Les troubles disparurent trois semaines après l'arrêt du traitement, mais firent initialement craindre une méningo-encéphalite leucémique. Jean Bernard et Claude Jacquillat signalèrent en outre un phénomène non encore décrit : presque

¹ Karon M., Freireich E., Frei E., *A preliminary report on vincristine sulfate - A new active agent for the treatment of acute leukemia*, Pediatrics, 30 (5) : 791-796, 1962.

² Mathé G., Schweisguth O., Brulé G., Brezin C., Amiel J.L., Schwarzenberg L., Schneider M., Cattan A., Jasmin C., Smadja R., *Essai de traitement par la leurocristine de la leucémie aiguë lymphoblastique et du lymphoblastosarcome*, Presse médicale, 71 (10) : 529-532, 1963.

³ Fonds IUH, article 40, Belgique, Correspondance avec Van Rossum J., sans date mais classé entre mai et novembre 1963.

tous leurs patients présentèrent après la première injection une toux de quelques jours rappelant la coqueluche. Enfin, la fréquence croissante des méningites leucémiques leur fit prêter une attention particulière à l'effet de la molécule sur cette localisation de la maladie. Très peu de cas avaient été traités. Ils pouvaient cependant faire état de la disparition, chez deux patients, d'une infiltration importante de la paupière et d'une diminution passagère du nombre de blastes dans le liquide céphalo-rachidien¹.

Les études ultérieures modifièrent peu les données. En 1965, la posologie moyenne était de 2 mg/m² une fois par semaine et les patients recevaient 4 à 6 injections au total. Les posologies étaient désormais exprimées en fonction de la surface corporelle car elles étaient considérées comme plus précises que celles calculées en fonction de la masse (voir annexe 42). Dans ces conditions, la vincristine était capable de provoquer la rémission complète d'une leucémie aiguë lymphoïde dans 60 à 70 % des cas. La durée de la rémission, lorsque la molécule était employée seule, était de l'ordre de 2 mois et 1 semaine. L'intérêt de la substance résidait donc surtout dans son utilisation combinée avec les médicaments habituels. Enfin, deux types d'accidents toxiques furent confirmés : des cytopénies touchant toutes les lignées sanguines et des accidents nerveux importants mais ne laissant pas de séquelles. Ces derniers étaient, d'une part, des paralysies, dont la prévention nécessitait l'examen quotidien des réflexes tendineux et pouvait conduire à l'arrêt du traitement, d'autre part, des douleurs abdominales très vives s'accompagnant d'une constipation opiniâtre².

Deux ans plus tard, l'équipe de Jean Bernard attira l'attention sur les accidents neurologiques centraux dus à la vincristine. Contrairement à la toxicité de cette molécule pour le système nerveux périphérique, qui avait été signalée très tôt, l'atteinte du système nerveux central avait rarement été rapportée. La littérature faisait bien état de quelques crises convulsives et de troubles psychiques, mais les modalités du traitement qui les avait provoqués n'étaient généralement pas indiquées. Les troubles psychiques variaient de la dépression au coma, en passant par la confusion mentale, l'aphasie, l'amnésie, le délire et les hallucinations. Ils apparaissaient vers la sixième semaine de traitement et ne disparaissaient pas toujours. Chez l'animal, quelques cas de convulsions avaient été observés chez le rat et le chat mais pour des doses 3 à 5 fois supérieures à celles habituellement prescrites chez l'homme.

En 1967, les membres de l'unité de chimiothérapie de l'IRLMS recherchèrent des accidents neurologiques centraux dans les dossiers des 230 leucémies aiguës lymphoblastiques qu'ils avaient traitées par la vincristine. Ils estimèrent à 4,5 % le taux d'accidents convulsifs imputables à cette « drogue ». Il s'agissait de crises convulsives généralisées souvent résistantes aux anticonvulsivants usuels. Elles s'accompagnaient toujours d'importantes anomalies de l'électroencéphalogramme et, dans un tiers des cas, d'une hémiplégie qui persistait une fois sur deux. Ces crises affectaient généralement des enfants âgés de 3 à 12 ans et ayant reçu une dose totale supérieure ou égale à 10 mg/m². Un tel dosage avait presque toujours été utilisé en rechute ; dans un cas, une dose de 10 mg/m² avait été administrée par erreur au patient. Le délai d'apparition des troubles variait de quelques heures à 9 jours après la dernière injection.

Jean Bernard et ses collaborateurs analysèrent les circonstances ayant pu favoriser ces crises convulsives. Ils s'enquirent des médications associées, de la présence ou non d'une localisation méningée et du « terrain » : comitialité ancienne (épilepsie), troubles psychiques antérieurs, arrêt des barbituriques (utilisés dans le traitement de l'épilepsie, leur arrêt provoquait un syndrome de sevrage avec des crises convulsives). Seul un éventuel terrain

¹ Bernard J., Jacquillat C., *Essai de traitement des leucémies aiguës par la leurocristine. Remarques préliminaires*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (4) : 476-477, 1963.

² Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965.

prédisposant fut retrouvé chez trois patients ayant des antécédents neurologiques ou neuropsychiques déjà aggravés par une corticothérapie. L'arrêt des barbituriques parut avoir joué un rôle déclenchant à deux reprises¹.

Le méthylgag

A la fin des années 1950, le méthylglyoxal-bis-méthyl-hydrazone, appelé « méthylgag » par les chimiothérapeutes, montra une activité anti-tumorale contre la leucémie murine L1210 et l'adénocarcinome 755. Ce composé de synthèse du groupe des tri-guanidines (voir annexe 41) avait une structure proche d'un hypoglycémiant également actif sur des tumeurs transplantées des rongeurs. En 1961, Emil Freireich, Emil Frei et Myron Karon, du National Cancer Institute (Bethesda, Washington D.C.) montrèrent que le méthylgag était inefficace dans les leucémies aiguës lymphoblastiques mais pouvait provoquer 50 % de rémissions complètes de courte durée dans les leucémies aiguës myéloblastiques, et ce malgré sa toxicité digestive. Cependant, James Holland et W. Regelson, au Roswell Park Memorial Hospital (Buffalo, Etat de New York), dans les mêmes indications et sur une série comparable de 18 patients, n'obtenaient, en 1963, que 15 à 20 % de rémissions incomplètes et de nombreux signes toxiques nécessitant parfois l'arrêt du traitement.

Ces résultats incitèrent Jean Bernard et ses collaborateurs, en 1964, à étudier l'association du méthylgag et de la 6-mercaptopurine dans le traitement des leucémies aiguës granuleuses. Il en sera question plus loin, dans la partie consacrée aux nouvelles associations thérapeutiques².

La cytosine arabinoside

La cytosine arabinoside est un nucléoside qui diffère de la cytidine par son sucre : le ribose est remplacé par une autre sucre à cinq atomes de carbone, l'arabinose. Elle fut découverte par Werner Bergman et Robert Feeney, en 1951, dans des éponges de Floride et des Bahamas. John Evans, des Laboratoires Upjohn à Kalamazoo (Michigan, Etats-Unis) montra qu'elle était active sur le sarcome 180 de la souris³. Les premiers essais thérapeutiques eurent lieu chez l'homme en 1962, dans 13 cas de cancers avancés. Deux ans plus tard, E. Henderson et P. Burke traitèrent une vingtaine de cas de leucémie aiguë et obtinrent 11 rémissions complètes. Des rémissions complètes de leucémies aiguës furent également obtenues au National Cancer Institute (Bethesda, Washington D.C.), au Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, Etat de New York) et au Sloan-Kettering Institute (New York).

La cytosine arabinoside fut employée à l'IRLMS en 1965, dans le cadre du protocole 6503 de l'ALGB, dirigé par James Holland et R. Ellison. De mars à décembre 1965, les chimiothérapeutes de l'IRLMS traitèrent par la cytosine arabinoside seule 62 leucémiques

¹ Kleinknecht D., Jacquillat C., Weil M., Najean Y., Tanzer J., Boiron M., Bernard J., *Les accidents neurologiques centraux de la vincristine*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (1) : 132-136, 1967.

² Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Weil M., *Premiers résultats de l'association du méthylglyoxal bis (Guanylhydrazone) et de la 6-mercaptopurine dans le traitement des leucémies aiguës de la série granulocytaire*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (3) : 448-453, 1964. Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, Presse Méd., 74 (24) : 1241-1245, 1966.

³ Chast François, *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, Paris, 1995, p. 283. Bernard J., *Treatment of leukemias, Hodgkin's disease and allied diseases by natural products*, Lloydia, 30 (4) : 291-323, 1967.

aigus ; 47 de ces patients, des adultes atteints de formes myéloblastiques ou indifférenciées résistantes aux médicaments classiques, furent effectivement inclus dans le protocole. Le même régime thérapeutique fut étendu à 11 enfants souffrant de leucémies aiguës myéloblastiques ou indifférenciées à différents stades de l'évolution ainsi qu'à 4 enfants ayant une leucémie aiguë lymphoblastique résistante aux traitements habituels.

Au départ, les patients du protocole ALGB 6503 furent « randomisés » (répartis au hasard) en deux groupes, l'un recevant 10 mg/m² par jour de cytosine arabinoside, l'autre 30 mg/m². Mais, comme il devint rapidement évident que le traitement à forte dose était plus efficace, le protocole fut modifié. A l'IRLMS, dix adultes avaient alors été traités avec une faible dose. Tous les nouveaux cas reçurent, en période d'induction, 30 à 50 mg/m² par jour, en perfusion lente de 12 heures, et 30 à 60 mg/m² par semaine, en période d'entretien. La phase d'attaque dura 18 jours moyenne, 16 jours en médiane.

Ils obtinrent, selon les critères du CCNSC, 25 à 30 % (62 cas) de rémission complète, en tenant compte ou non des 9 malades décédés avant le septième jour de traitement. Dans les leucémies aiguës myéloblastiques en première phase évolutive, le taux de rémission complète fut de 30 % (29 cas). Dans les leucémies aiguës myéloblastiques en rechute, il fut de 33 % (10 cas). En décembre 1967, la plus longue rémission complète durait depuis 4 mois. Enfin, 3 des 6 enfants en deuxième rechute de leucémie aiguë lymphoïde et résistants aux autres médicaments bénéficièrent d'une rémission complète.

La cytosine arabinoside fut particulièrement bien tolérée sur le plan clinique. Le seul effet toxique préoccupant était l'aplasie, l'IRLMS ayant eu à déplorer 2 cas mortels. Elle se manifestait généralement après 10 à 20 jours de traitement et durait en moyenne 13 jours¹.

A partir de 1966, les chercheurs de l'IRLMS utilisèrent la cytosine arabinoside en association avec la 6-mercaptopurine, le méthylgag et l'a-méthoptérine.

La rubidomycine

Cette molécule (voir annexe 41), de la famille des antibiotiques anthracyclines, fut isolée indépendamment, en 1962, par les laboratoires de recherche de deux firmes pharmaceutiques. A Vitry-sur-Seine, les chercheurs de la Société des usines chimiques Rhône-Poulenc, isolèrent la rubidomycine du champignon *Streptomyces caeruleorubidus*. A Milan, l'équipe d'Aurelio Di Marco de l'Institut de recherche Farmitalia isola la daunorubicine de *Streptomyces peucetius*. Rapidement, la comparaison de ces deux substances montra qu'elles étaient identiques². A l'état cristallisé, la rubidomycine était de couleur rouge orangée.

Chez l'animal, la rubidomycine se montra active contre de nombreuses tumeurs solides murines et contre les leucémies AKR, C1498, X et L1210³.

En 1965, les premiers essais thérapeutiques chez l'homme furent réalisés, pour la rubidomycine, à l'IRLMS⁴ et, pour la daunomycine, au Sloan-Kettering Institute (New York)⁵ et à l'Institut national des tumeurs Mario Negri (Milan)¹.

¹ Bernard J., *Treatment of leukemias, hodgkin's disease and allied diseases by natural products*, Lloydia, 30 (4) : 291-323, décembre 1967.

² Chast F., *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, Paris, 1995, p. 287-288. Bernard J., *La rubidomycine*, Actualités hématologiques, 2 : 3-11, 1968.

³ Bernard J., Paul R., Boiron M., Jacquillat C., Maral R., *Rubidomycin. A new agent against cancer*, Recent Results Cancer Res., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969.

⁴ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de Jean Bernard à Claude Jacquillat, 17.01.1966. Jacquillat C., Boiron M., Weil M., Tanzer J., Najean Y., Bernard J., *Rubidomycin, a new agent active in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia*, Lancet, 2 : 27, 1966.

⁵ Tan C., Tasaka M., *Daunomycin remissions in acute leukemia*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 7 : 70, 1966.

La comparaison de l'isolat italien et de l'isolat français commença vraisemblablement en 1966. Charlotte Tan, du Sloan-Kettering Institute, s'enquérit, auprès de Jean Bernard, de la formule exacte du produit et L. Hamilton, du Brookhaven National Laboratory, souhaita en recevoir des échantillons². Deux ans plus tôt, un autre composé, la rubomycine, avait été préparé à Moscou et son action anti-tumorale y avait été mise en évidence. Il s'avéra que la fraction C de cet extrait correspondait à la rubidomycine-daunorubicine³.

Le 20 juin 1966, Claude Jacquillat présenta à la Société française d'hématologie les résultats de l'IRLMS concernant le traitement de la leucémie aiguë myéloblastique par la rubidomycine. Les dix patients engagés dans l'essai étaient résistants aux autres thérapeutiques et tous étaient en rechute franche, pour la première à la quatrième fois. Ils reçurent quotidiennement 1 mg/kg en traitement d'attaque. Celui-ci dura 5 jours et fut suivi d'un traitement d'entretien consistant en une injection hebdomadaire de la même dose. Quatre malades, lesquels étaient en très mauvais état clinique et hématologique décédèrent en aplasie au tout début du traitement. Chez les six autres patients, il y eut trois rémissions complètes, deux rémissions incomplètes et un échec partiel. Au moment de la présentation, deux des trois rémissions complètes duraient depuis 2 mois⁴.

Les membres de l'Unité de chimiothérapie de l'IRLMS avaient également entrepris des essais dans les leucémies lymphoblastiques et, pour un nombre très réduit de patients, dans des formes cytologiques plus rares. De mars à décembre 1966, 61 malades avaient été traités avec la rubidomycine, 40 cas de leucémie aiguë lymphoblastique ou à cellules indifférenciées et 21 cas de leucémie aiguë myéloblastique ou promyélocytaire. Tous présentaient des formes graves, étaient en rechute et étaient parfois résistants à d'autres thérapeutiques.

Avec les formes lymphoblastiques, ils obtinrent 53 à 58 % de rémission complète, selon qu'ils tenaient compte ou non des patients décédés après les premières injections. Les résultats furent meilleurs, premièrement, lors de la première rechute que lors des suivantes, deuxièmement, lorsque la rubidomycine était le premier médicament de la rechute. La durée de la rémission complète n'avait pas dépassé 4 mois mais toutes les évolutions n'étaient pas terminées. Pour les formes myéloblastiques, le taux de rémission complète était de 44 % et la plus longue durait depuis 7 mois. Enfin, sur les trois cas de leucémie promyélocytaire, il y eut une rémission complète. Ainsi cette substance se distinguait-elle des autres médicaments de la leucémie aiguë par son activité beaucoup plus étendue ; elle était également active sur de nombreux lymphomes et sur les leucémies myéloïdes chroniques.

Parmi les atouts de la rubidomycine, figurait aussi l'absence de résistance croisée avec la cortisone, les antifoliques, les antipurines, la vincristine et la cytosine arabinoside.

Au cours de ces essais, l'examen quotidien du sang et celui de la moelle, pratiqué deux à trois fois par semaine, mit en évidence la grande rapidité d'action de la rubidomycine. Elle débarrassait le sang et la moelle des blastes en moins d'une semaine. Son activité était plus rapide et plus violente que celles des traitements antérieurs. Elle avait l'avantage d'entraver les leucémies « très évolutives ». Mais ceci avait un inconvénient majeur : l'apparition systématique d'une aplasie médullaire, entre le dixième et le vingtième jour, pour une durée médiane de 10 jours. Cette aplasie était fréquemment profonde, avec une leucopénie pouvant atteindre 200 leucocytes par mm³, nécessitant des perfusions d'antibiotiques à fortes doses, des transfusions de sang et de plaquettes et, dans les cas les plus critiques, des transfusions de

¹ Chast F., *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, Paris, 1995, p. 287-288.

² Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de Jean Bernard à Claude Jacquillat, 12.07.1966.

³ Bernard J., Paul R., Boiron M., Jacquillat C., Maral R., *Rubidomycin. A new agent against cancer*, Recent Results Cancer Res., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969.

⁴ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de Jean Bernard à Claude Jacquillat, 12.07.1966. Lortholary P., Boiron M., Ripault J., Teillet F., Levacher A., Bernard J., *Modifications cellulaires au cours de l'évolution des hémopathies malignes lymphocytaires*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (4) : 536-543, 1967.

leucocytes de leucémies myéloïdes chroniques. Elle fut mortelle dans 19 cas (31 %), généralement par septicémie.

Les chercheurs de l'IRLMS observèrent, de plus, des accidents cardio-vasculaires. Ils eurent à faire face à deux cas d'insuffisance cardiaque brutale, précédée pendant quelques jours par une tachycardie légère à 110-120 pulsations par minute, une fatigue générale et une anorexie. Ces patients ressentirent une très violente douleur de l'hypochondre accompagnée de dyspnée, de cyanose, de vomissements, d'un reflux hépato-jugulaire et d'une tension artérielle basse. Leur pouls dépassa les 200 pulsations par minute. Les dérivés de la digitaline et les diurétiques ne procurèrent qu'une amélioration passagère. Un des patients décéda brutalement dans un tableau associant collapsus et bradycardie, l'autre souffrait toujours d'insuffisance cardiaque un mois après l'arrêt de la rubidomycine. Tous deux avaient reçu au total 40 mg/kg de ce produit, le premier en 3 mois et demi, le second en 7 mois. Il n'était pas possible de savoir si ces accidents étaient dus à des troubles de commande ou à des lésions toxiques du muscle cardiaque, comme cela avait parfois été observé chez l'animal¹. A ce propos, signalons que ce phénomène intéressa les cardiologues parce qu'ils avaient beaucoup de mal à réaliser expérimentalement des insuffisances cardiaques². Jean Bernard et ses collaborateurs déconseillèrent en revanche l'emploi de ce médicament chez les patients ayant des antécédents cardiaques. Ils recommandèrent, d'une part, la réalisation fréquente d'électrocardiogrammes et de radiographies, d'autre part, de ne pas dépasser la dose totale de 25 mg/kg. Sur les 168 premiers malades traités à l'IRLMS, cinq accidents cardiaques mortels furent observés pour des doses totales supérieures à 30 mg/kg, cinq autres accidents mortels se produisirent pour des doses plus faibles mais ne purent être attribués avec certitude à la rubidomycine³.

A ces manifestations toxiques préoccupantes, s'ajoutaient peu d'autres troubles toxiques : l'alopécie, des ulcérations buccales très douloureuses mais temporaires et trois crises convulsives en cours de septicémie.

Par ailleurs, l'examen de la moelle à intervalles brefs au cours de ce traitement montra à neuf reprises des modifications des lymphoblastes et des cellules des lignées normales. Tout d'abord, les myéloblastes étaient de grande taille comme dans l'anémie mégalo-blastique. Ensuite, la quasi-totalité des lymphoblastes avaient une taille deux à trois fois supérieure à leur taille normale. Une augmentation de taille avait déjà été observée, mais à un moindre degré, chez les lymphoblastes « traités » qui étaient décrits comme des blastes à noyau typique, mais à cytoplasme un petit peu plus grand qu'à l'ordinaire et très bleu. Le point le plus important était que l'apparition de ces « giganto-lymphoblastes » précédait de peu l'aplasie ; l'examen cytologique des myélogrammes pouvait donc aider à apprécier l'action de la thérapeutique et, par conséquent, permettre de prescrire à chaque individu la posologie optimale. Toutefois ce phénomène pouvait aussi compliquer la conduite du traitement quand il succédait à l'aplasie car il pouvait alors aussi bien correspondre à une rechute qu'à une réparation médullaire imparfaite due à la présence du produit. Pour que la première injection d'entretien ne soit faite ni trop tôt, avant la réparation de l'aplasie, ni trop tard, pour ne pas

¹ Bernard J., Jacquillat C., Boiron M., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., Lortholary P., *Essais de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau : la rubidomycine (13057 RP). Etude de 61 observations*, Presse Méd., 75 (19) : 951-955, 1967. Lortholary P., Boiron M., Ripault J., Teillet F., Levacher A., Bernard J., *Modifications cellulaires au cours de l'évolution des hémopathies malignes lymphocytaires*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (4) : 536-543, 1967. Bernard J., Jacquillat C., *La rubidomycine*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (3) : 317-320, 1967.

² Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967.

³ Bernard J., *Progrès récents dans le traitement des leucémies aiguës*, Atti 2e Giornate Ematologica degli Ospedali Riuniti di Napoli, Casa editrice V. Idelson, Napoli, 1968, p. 87-106.

compromettre la rémission, l'équipe de Jean Bernard résolut de la donner lorsque le taux de globules blancs serait remonté à 1200-1500/mm³. Autre fait nouveau : la moelle contenait un grand nombre de noyaux « nus » paraissant provenir de blastes détruits. Enfin, la majorité des érythroblastes présentaient aussi des anomalies et donnaient des hématies à corps de Jolly¹.

Les chimiothérapeutes de l'IRLMS trouvèrent globalement très positifs les résultats de cette première série d'essais : « La rubidomycine prend place dès maintenant parmi les médicaments majeurs de la leucémie aiguë »². Au printemps 1967, ils commencèrent à l'utiliser en association avec la vincristine, la prednisone, le méthotrexate et la 6-mercaptopurine dans les leucémies aiguës lymphoblastiques, avec l'espoir d'augmenter la durée des rémissions complètes. Dans les leucémies aiguës myéoblastiques, elle fut associée au méthylgag et à la cytosine arabinoside, dans le but d'augmenter la fréquence des rémissions complètes. Etant donné le risque cardiaque lié à l'accumulation du produit, la rubidomycine fut employée comme traitement d'induction et non d'entretien³.

La même année, en collaboration avec l'ALGB (protocole 6706), ils cherchèrent à préciser le nombre d'injections de rubidomycine nécessaires au traitement des leucémies aiguës myéloblastiques. Les malades étaient répartis en séries où le traitement d'attaque devait comporter trois, cinq ou sept injections consécutives. Le plus souvent, il ne fut possible de faire que trois ou quatre injections consécutives, éventuellement complétées ultérieurement par une ou deux injections ; en général, 6 injections étaient donc pratiquées. Dans cette étude portant sur 131 patients, provenant de divers hôpitaux, le taux de rémission complète fut de 30 %. Une seconde étude permit de comparer les résultats de 5 injections consécutives de 60 mg/m² à un rythme de 1 ou 2 fois par semaine. L'étude de 211 malades montra la supériorité du traitement continu (34 % de rémissions complètes) sur les séries à deux injections hebdomadaires (21 %) et à une injection hebdomadaire (16 %). L'étalement du traitement entraînait une augmentation des cas résistance. Toutefois, avec les injections continues, le risque d'arrêter trop tard le traitement en cas d'aplasie était plus grand⁴.

L'étude plus approfondie des particularités cytologiques montra que les « gigantoblastes » ou « rubidoblastes » n'étaient pas des lymphoblastes mais des myéloblastes, interprétés comme résultant de troubles de maturation dus à la rubidomycine. La question de savoir s'il s'agissait de cellules issues de la restauration médullaire ou de la rechute ne se posait donc plus que pour les leucémies myéloblastiques⁵.

En 1969, les doses utilisées étaient un peu moins fortes que celles initialement administrées à l'IRLMS. La dose moyenne était 0,5-2 mg/kg (15-70 mg/m²) par jour et la dose maximale recommandée était 25-30 mg/kg (750-900 mg/m²).

Au total, 800 patients furent traités par la rubidomycine entre 1965 et 1968⁶. L'année suivante, les chimiothérapeutes de l'IRLMS avaient étudié 1023 malades, 580 traités à

¹ Bernard J., Jacquillat C., Boiron M., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., Lortholary P., *Essais de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau : la rubidomycine (13057 RP). Etude de 61 observations*, Presse Méd., 75 (19) : 951-955, 1967. Lortholary P., Boiron M., Ripault J., Teillet F., Levacher A., Bernard J., *Modifications cellulaires au cours de l'évolution des hémopathies malignes lymphocytaires*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (4) : 536-543, 1967. Bernard J., Jacquillat C., *La rubidomycine*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (3) : 317-320, 1967.

² Bernard J., Jacquillat C., Boiron M., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., Lortholary P., *Essais de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau : la rubidomycine (13057 RP). Etude de 61 observations*, Presse Méd., 75 (19) : 951-955, 1967.

³ Bernard J., Jacquillat C., *La rubidomycine*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (3) : 317-320, 1967.

⁴ Bernard J., Weil M., Jacquillat C., *Traitement des leucémies aiguës myéloblastiques*, Haematologia, 3 (3) : 265-276, 1969.

⁵ Bernard J., *La rubidomycine*, Actualités hématologiques, 2 : 3-11, 1968.

⁶ Bernard J., Paul R., Boiron M., Jacquillat C., Maral R., *Rubidomycin. A new agent against cancer*, Recent Results Cancer Res., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969.

l'Hôpital Saint-Louis, 443 suivis aux Etats-Unis, en France et au Canada en collaboration avec l'ALGB. La quasi-totalité de ses malades (1001) étaient atteints de leucémie aiguë. La rubidomycine avait été utilisée seule dans environ 600 cas et en combinaison dans 400 cas¹.

Enfin, l'étude de 80 dossiers de leucémies aiguës à promyélocytes, traitées entre 1964 et 1970, permit à l'équipe de Jean Bernard de constater le « bouleversement introduit par la daunorubicine dans l'évolution de cette maladie ». Le pourcentage de rémissions complètes était en effet passé de 13 à 55 % grâce à ce médicament. De plus, alors qu'avant 1967, la survie dans cette forme sur-aiguë de leucémie ne dépassait pas trois semaines, les malades ayant bénéficié d'une rémission complète avaient eu une durée de survie médiane d'environ 30 mois².

L'asparaginase

Dans les années 1950, John Kidd à New York chercha à savoir si du sérum de lapin immunisé contre des cellules leucémiques de souris pouvait aider ces souris à se débarrasser de tumeurs dues à la greffe de ces cellules malignes. Le sérum de lapin fut inoculé avec du sérum de cobaye, réputé pour être riche en complément. Or, les tumeurs des souris témoins n'ayant reçu que le sérum de cobaye régressèrent. Le sérum d'autres animaux fut inactif. Peu de temps après, McCoy montra que certaines cellules tumorales de rat ne pouvaient être cultivées *in vitro* qu'en présence d'asparagine, un acide aminé. Au début des années 1960, Broome à New York chercha à caractériser ce qui différenciait le sérum de cobaye du sérum d'autres rongeurs. Il s'aperçut qu'en 1920, Clémenti, de l'Université de Rome, avait mis en évidence une enzyme détruisant l'asparagine dans le sérum de cobaye. Broome démontra l'identité du facteur anti-leucémique de Kidd et de l'asparaginase. En 1964, Mashburn utilisa avec succès l'asparaginase extraite de la bactérie *Escherichia coli* contre des leucémies murines. Les premiers essais chez l'homme débutèrent l'année suivante. Leur étendue fut pendant plusieurs années limitée par la quantité d'enzyme disponible.

En 1969, les études menées chez l'animal avaient montré que seules certaines leucémies murines étaient sensibles à l'asparaginase : environ 50 % des leucémies radio-induites, environ 30 % des leucémies apparaissant dans les souches à faible taux de leucémies spontanées mais pas les leucémies des souches à haute incidence ni les leucémies viro-induites. Chez les animaux sensibles, l'efficacité de l'asparaginase était nettement supérieure à celle des agents thérapeutiques connus ; il était en effet possible de guérir une grande partie des souris. Ceci était d'autant plus remarquable que l'enzyme ne semblait pas du tout toxique aux doses utilisées. De plus, elle agissait sur les cellules leucémiques du cerveau tout en étant administrée par la voie générale. Le lymphosarcome du chien s'était également montré sensible³. Un test *in vitro* utilisant la leucine marquée au tritium permettait en général de reconnaître la sensibilité ou l'insensibilité des leucoblastes à l'enzyme⁴.

Chez l'homme, le premier essai eut lieu à l'Université de Recife (Brésil). Un patient atteint de leucémie aiguë reçut du sérum d'agouti, un grand rongeur des forêts humides d'Amérique du Sud. En 1966, Dolowy et ses collaborateurs traitèrent un cas de leucémie aiguë de l'enfant avec un extrait de sérum de cobaye. Ces deux premiers essais furent infructueux, le

¹ Bernard J., *Chimiothérapie des leucémies et des hématosarcomes*, C. R. 37^{ième} Congr. Fr. Méd., Masson, Paris, 1969, p. 45-67.

² Fonds IUH, article 1, rapport de l'IRLMS pour 1970-1971 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport CRLMS pour 1971.

³ Boiron M., Jacquillat C., Bernard J., *L'asparaginase*, Actualités hématologiques, 3 : 115-123, 1969.

⁴ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies aiguës*, Méd. Int., 4 (6-7) : 533-539, 1969.

sérum hétérologue ayant été très mal supporté. L'année suivante, Joseph Hill de l'Institut Wadley à Dallas (Texas) utilisa de l'asparaginase d'*Escherichia coli* chez trois malades souffrant de leucémie aiguë lymphoblastique. Il obtint une rémission complète de courte durée et deux améliorations. La purification par l'industrie américaine de plus grandes quantités d'asparaginase permit à deux équipes américaines, celle de Joseph Hill et celle de Joseph Burchenal à New York, de tester cette enzyme sur une centaine de leucémiques. Les chercheurs de l'Institut Sloan-Kettering obtinrent, dans les leucémies aiguës lymphoblastiques, 36 % de rémission complète (42 cas) chez l'enfant et 33 % chez l'adulte (10 cas), et dans les leucémies aiguës myéloblastiques, 4 % (25 cas). Les chercheurs de Dallas eurent des résultats similaires : 27 % de rémission complète dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (11 cas) et 11 % dans les leucémies aiguës myéloblastiques (9 cas)¹. La rémission était obtenue en moyenne au bout de trois semaines². Certains patients devinrent résistants au traitement, par la formation d'anticorps anti-asparaginase, mais ce phénomène semblait rare ; l'Institut Sloan-Kettering ne comptabilisa que trois cas.

En 1969, les doses utilisées avaient varié de 5 à 4000 U/kg par jour, une unité internationale (U) d'asparaginase correspondant à la quantité d'enzyme qui dégrade une micromole d'asparaginase par minute à la vitesse maximale de la réaction. Les meilleurs résultats avaient été obtenus avec des doses supérieures à 1000 U/kg pendant 15 à 30 jours. L'instauration d'un traitement d'entretien, à plus faible dose, s'était montrée utile.

Le traitement avait dans l'ensemble été assez bien supporté. Avaient toutefois été notés de la fièvre, des nausées, des pertes de poids, des diminutions du taux sanguin de cholestérol, des lipides, de la fibrine et de l'albumine, ainsi que des anémies et des accidents de sensibilisation³. Des insuffisances hépatiques graves furent également signalées⁴.

Les chimiothérapeutes de l'IRLMS commencèrent à employer l'asparaginase au cours de l'été 1968⁵. En octobre 1969, ils avaient traité une centaine de patients. Leur expérience leur permettait d'affirmer que l'asparaginase était surtout efficace dans les formes lymphoblastiques mais ne suffisait pas pour entrevoir la place que prendrait l'asparaginase dans le traitement des leucémies aiguës⁶.

En novembre 1970, Jean Bernard et Michel Boiron, avec l'aide de Claude Jacquillat, Maryse Weil et Daniel Lévy, organisèrent, sous les auspices du Centre national de la recherche scientifique, un symposium international sur l'asparaginase⁷.

Associations thérapeutiques incluant les nouveaux agents

Dans les leucémies aiguës lymphoblastiques

L'équipe de Jean Bernard conçut et testa, à partir de 1964, le schéma thérapeutique suivant : un traitement d'attaque combinant la Δ -cortisone et la vincristine était suivi d'un traitement d'entretien par la 6-mercaptopurine et l'a-méthoptérine, lequel était lui-même suivi d'une « réinduction » périodique, au cours de la rémission, par le traitement d'attaque initial (voir annexe 43).

¹ Boiron M., Jacquillat C., Bernard J., *L'asparaginase*, Actualités hématologiques, 3 : 115-123, 1969.

² Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies aiguës*, Méd. Int., 4 (6-7) : 533-539, 1969.

³ Boiron M., Jacquillat C., Bernard J., *L'asparaginase*, Actualités hématologiques, 3 : 115-123, 1969.

⁴ Bernard J., *Traitement des leucémies aiguës de l'enfant*, Rev. Prat., 19 (27) : 3915-3919, 1969.

⁵ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies aiguës*, Méd. Int., 4 (6-7) : 533-539, 1969.

⁶ Bernard J., *Traitement des leucémies aiguës de l'enfant*, Rev. Prat., 19 (27) : 3915-3919, 1969.

⁷ Fonds Bessis, correspondance avec Bernard J., juin 1970.

D'autres protocoles basés sur l'association de la Δ -cortisone et de la vincristine en traitement d'attaque furent appliqués à l'IRLMS. Les variations, par rapport au protocole 02LA64 portèrent sur la quantité de Δ -cortisone (90, 100 ou 120 mg/m²/j), de vincristine (1 ou 2 mg/m²/s), d'a-méthoptérine (15 ou 30 mg/m²/s) et de 6-mercaptopurine (75, 90 ou 100 mg/m²/j). La dose totale et la durée de la phase d'attaque dépendaient de la réponse hématologique ; la durée était en général de une à cinq semaines. Les doses des divers agents étaient ponctuellement réduites voire supprimées lors de l'apparition de signes toxiques. Différents schémas de réinduction furent également testés : tous les 6 mois (protocole 02LA64), les mois N_i avec N_i = N_{i-1} + i et N₀=1 (protocole 04LA65), les mois 2, 4, 7, 11 puis tous les 6 mois, les mois 2, 4, 7, 11 et 16, ou encore tous les 3 mois. L'administration intermittente de Δ -cortisone (90 mg/m² 3 fois par semaine pendant 15 jours) en réinduction fut aussi essayée. Enfin, certains patients reçurent un traitement préventif des rechutes méningées par l'a-méthoptérine intrarachidienne à raison de 0,2 à 0,3 mg/kg lors de chaque réinduction. Le traitement méningé curatif consistait quant à lui en l'administration intrarachidienne de la même quantité tous les 2 jours jusqu'à la disparition des blastes méningés puis une fois par mois¹.

En 1965, la méthode de réinduction avait permis d'obtenir chez 35 patients atteints de leucémie aiguë lymphoblastique en première phase évolutive, 34 rémissions dont 33 rémissions complètes soit 94 % et, lors de la première rechute, 68 % (19 cas) de rémissions complètes².

En 1966, 82 patients avaient été traités en première poussée évolutive, 95 % avaient eu une rémission complète, en comptant les deux malades morts les premiers jours du traitement. Les résultats ne semblaient pas beaucoup varier en fonction de l'âge des patients. Chez les deux malades les plus hyperleucocytaires, une exsanguino-transfusion avait été pratiquée pour limiter les conséquences de la lyse cellulaire. L'année précédente, les membres de l'ALGB n'avaient obtenu, avec la même association mais avec des doses de corticoïdes plus faibles (40 au lieu de 100 mg/m²) que 84 % de rémissions complètes chez 63 enfants. Les membres de l'IRLMS essayèrent également d'administrer successivement la Δ -cortisone et la vincristine mais cette méthode fut rapidement abandonnée, quatre échecs ayant été enregistrés parmi les sept premiers cas traités³.

L'année suivante, les chimiothérapeutes de l'IRLMS commencèrent à utiliser en traitement d'attaque la triple association de la Δ -cortisone, de la vincristine et de la rubidomycine dans l'espoir d'augmenter la durée des rémissions complètes. Elle fut d'abord

¹ Bernard J., *Progrès récents dans le traitement des hémopathies malignes*, Méd. Hyg., 24 (733) : 463-467, 1966. Bernard J. et coll., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, Presse Méd., 74 (24) : 1241-1245, 1966. Bernard J., *Some remarks on the treatment of acute leukemias*, UICC Monograph Series, vol. 8, Springer-Verlag, Berlin, 1967, p. 136-139. Jacquillat C. et coll., *Effets de la méthode de réinduction au cours du traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 677-682, 1967. Bernard J., *Treatment of leukemias, hodgkin's disease and allied diseases by natural products*, Lloydia, 30 (4) : 291-323, décembre 1967. Bernard J., *Acute leukemia Treatment*, Cancer Res., 27 (1) : 2565-2569, 1967. Bernard J., *Progrès récents dans le traitement des leucémies aiguës*, Atti 2e Giornate Ematologica degli Ospedali Riuniti di Napoli, Casa editrice V. Idelson, Napoli, 1968, p. 87-106. Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies aiguës*, Méd. Int., 4 (6-7) : 533-539, 1969. Bernard J., *Traitement des leucémies aiguës de l'enfant*, Rev. Prat., 19 (27) : 3915-3919, 1969. Bernard J., *Chimiothérapie des leucémies et des hématosarcomes*, C. R. 37^{ième} Congr. Fr. Méd., Masson, Paris, 1969, p. 45-67. Bernard J., *Espoir de vie des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 251-252, 1970. Fonds IUH, article 11, correspondance avec Flamant R., 26.02.1973, 13 mars 1973.

² Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965.

³ Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, Presse Méd., 74 (24) : 1241-1245, 1966.

employée dans les formes rapides et en rechute. Le traitement d'entretien comprenait de la 6-mercaptopurine et de l'a-méthoptérine¹.

Un an plus tard, la double association de la Δ -cortisone et de la vincristine donnait 88 % de rémissions complètes (95 cas, 79 enfants et 16 adultes). Le premier protocole semblait meilleur que le second; ils donnaient environ 50 % de rechutes hématologiques respectivement à 2 ans et à un an et demi. Toutefois, la prise en compte des rechutes méningées donnait des résultats moins bons².

A la fin de l'année 1968, sur une série de 50 leucémies aiguës lymphoblastiques traitées entre 1964 et 1965 par le protocole 02LA64, 14 patients étaient en rémission complète depuis 3 à 4 ans et demi. Certains étaient en rechute méningée. Mais, même sans les compter, ce taux de rémission complète d'environ 25 % à 3 ans était suffisamment inhabituel pour être jugé très encourageant³.

En 1969, la triple association permettait d'obtenir 97 % de rémissions complètes chez l'enfant (87 cas) et 74% (43 cas) chez l'adulte, soit 90 % au total⁴.

En 1970, les chimiothérapeutes de l'IRLMS analysèrent l'ensemble des dossiers de leucémie aiguë lymphoblastique suivis dans le service entre 1964 et 1970, soit 490 dossiers. Tous les protocoles utilisés depuis 1964 se révélèrent équivalents du point de vue du taux de rémission. Autrement dit, l'adjonction à la perfusion hebdomadaire de vincristine, de la daunorubicine, n'augmentait pas la fréquence des rémissions complètes. L'analyse du protocole 06LA66 (ou « Paris LA 66 »), portant sur 224 sujets, montra une différence de pronostic entre les enfants et les adultes, ainsi qu'entre les hommes et les femmes. Elle montra également que la durée des rémissions complètes ainsi que la survie étaient plus faibles que la moyenne pour les patients ayant un chiffre initial de leucocytes supérieur à 50.000 et encore plus faible pour une valeur supérieure à 100.000. Ceci les conduisit à envisager, pour les protocoles à venir, la modulation des indications thérapeutiques, en fonction de l'âge et du chiffre initial des leucocytes, en plus du type cytologique⁵.

Théories thérapeutiques

Au cours des années 1950, l'expérience clinique de la résistance aux traitements et les travaux d'A. Goldin sur la souris traitée par l'aminoptérine montrant que le traitement n'agissait que sur une proportion constante de cellules malignes invitèrent l'ensemble des chimiothérapeutes à ne pas prolonger l'administration du médicament ayant induit la rémission⁶.

En revanche, les avis et les pratiques divergèrent au sujet de la prolongation du traitement par d'autres molécules. Les membres du National Cancer Institute employèrent le protocole « VAMP » comprenant uniquement un traitement d'attaque de cinq cures

¹ Bernard J., Jacquillat C., Boiron M., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., Lortholary P., *Essais de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau : la rubidomycine (13057 RP). Etude de 61 observations*, Presse Méd., 75 (19) : 951-955, 1967.

² Jacquillat C., Weil M., Boiron M., *Effets de la méthode de réinduction au cours du traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 677-682, 1967.

³ Schaison G., Najean Y., Seligmann M., Flandrin G., Jacquillat C., Weil M., Cannat A., Ripault J., Dreyfus B., Bernard J., *Leucémie aiguë à évolution prolongée et syndrome lupique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 9 (3) : 419-434, 1969.

⁴ Bernard J., Paul R., Boiron M., Jacquillat C., Maral R., *Rubidomycin. A new agent against cancer*, Recent Results Cancer Res., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969.

⁵ Fonds IUH, article 1, rapport de l'IRLMS pour 1970-1971.

⁶ Goldin A. et al., *Modification of treatment schedules in the managements of advanced mouse leukemia with amethopterin*, J. Nat., Cancer Inst., 17 : 203, 1956.

successives, espacées de 10 à 30 jours, de la quadruple association : vincristine (2 mg/m²/s), 6-mercaptopurine (60 mg/m²/j), a-méthoptérine (20 mg/m²/j), Δ-cortisone (40 mg/m²/j). Ce protocole permit d'obtenir un pourcentage élevé de rémissions complètes (88 %) mais celles-ci avaient une durée médiane limitée (4 mois) et faisait courir aux patients un important risque aplasique¹.

Selon Jean Bernard, ce type de protocole s'inspirait des travaux expérimentaux d'Howard Skipper et visait à l'éradication de toutes les cellules leucémiques. Howard Skipper, qui travaillait au Kettering-Meyer Laboratory à Birmingham (Alabama), un laboratoire de recherches affilié au Sloan-Kettering Institute, testait des schémas thérapeutiques chez la souris et liait leur efficacité au nombre de cellules détruites de la leucémie greffée L1210².

Jean Bernard choisit une autre voie, il chercha à prolonger la rémission complète par « un traitement d'induction vigoureux, mais sans visée éradicatrice, un traitement d'entretien destiné à contenir au moins partiellement le nombre des cellules leucémiques, et un traitement de réinductions utilisant périodiquement en cures brèves les médicaments de l'induction »³. Pour Jean Bernard, la destruction de toutes les cellules leucémiques n'était ni nécessaire, ni suffisante, ni innocente. Un nombre non négligeable de cancéreux vivaient en état apparent de guérison pendant de longues années, ce qui signifiait selon lui que l'on pouvait vivre en bonne santé avec quelques cellules cancéreuses pendant très longtemps. Il cita le cas de femmes opérées d'un cancer du sein et présentant 10 à 15 ans plus tard des métastases médullaires. D'autres observations extrêmement rares montraient, à ses yeux, que l'organisme leucémique était capable de lutter contre la maladie. A propos d'un enfant atteint d'une très grave leucémie à tumeurs et qui entra en rémission complète après 5 jours de traitement par l'ACTH, il écrivit : « l'ACTH n'est rien d'autre qu'une stimuline, elle n'apporte rien. Il faut donc bien admettre que cet enfant portait en lui le pouvoir caché, mais présent de se débarrasser momentanément certes, mais de se débarrasser tout de même de son cancer. ». Avec Marcel Bessis, il proposa d'appeler cellules « quiescentes » ces cellules dormantes, pour l'instant impossibles à identifier, en empruntant à Ernest Renan un adjectif qu'il employa pour désigner une lettre arabe qui ne se prononçait pas. Par ailleurs, l'éradication de toutes les cellules leucémiques ne serait jamais suffisante si l'hypothèse virale de l'étiologie des leucémies humaines se confirmait. Enfin, Jean Bernard ne jugeait pas les chimiothérapies intensives innocentes car elles étaient fatales à trop de patients⁴.

L'opposition de Jean Bernard aux chimiothérapies intensives fut renforcée par les résultats d'une étude comparative réalisée par l'équipe de James Holland, au Roswell Park Memorial Institute à Buffalo (Etat de New York), avec le cyclophosphamide. Cette étude avait montré que la durée et le nombre des rémissions étaient plus élevés chez les patients traités à dose modérée (600mg/m²) que chez les patients traités à forte dose (1000 mg/m²)⁵.

Indépendamment des travaux du NCI et de l'IRLMS, Wolf Zuelzer, au Children's Hospital de Détroit, emprunta une troisième voie : la méthode des « séquences thérapeutiques » ou « méthode itérative ». Les patients recevaient de l'a-méthoptérine (1,25-5 mg/kg/j) et de la 6-mercaptopurine (2,5 mg/kg/j) en alternance tous les 3 mois. En 1964, la

¹ Freireich E., Karon M., Frei E., *Quadruple association therapy (VAMP) for acute lymphocytic leukemia of childhood*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 5, 20, 76, 1964.

² Skipper H., Schabel F., Wilcox W., *Experimental evaluation of potential anticancer agents, XIII. On the criteria and kinetics associated with curability of experimental leukemias*, Cancer Chemother. Rep., 35, 1964.

³ Jacquillat C., Weil M., Boiron M., *Effets de la méthode de réinduction au cours du traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 677-682, 1967.

⁴ Bernard J., *Progrès récents dans le traitement des hémopathies malignes*, Méd. Hyg., 24 (733) : 463-467, 1966.

⁵ Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, Presse Méd., 74 (24) : 1241-1245, 1966.

durée médiane des rémissions complètes ainsi obtenues était de 11 mois¹. Cette méthode fut également utilisée avec toutes les molécules disponibles par l'équipe de Georges Mathé, à l'Institut Gustave Roussy, à partir de 1966.

La mise en doute par Jean Bernard de la toute-puissance de la chimiothérapie le conduisit à envisager sa combinaison avec l'immunothérapie : « l'espoir secret et l'objet véritable des tentatives actuelles sont que la prolongation de la rémission complète, c'est à dire le maintien prolongé d'un taux faible de cellules leucémiques, permettra à l'hôte de lutter définitivement contre sa maladie. »² ; dans l'avenir, « on demandera aux méthodes chimiothérapeutiques de détruire 90 % des cellules leucémiques et à l'immunothérapie de faire le reste. »³. Il appuyait aussi son raisonnement sur deux études expérimentales suggérant une synergie entre la chimiothérapie et les défenses immunitaires⁴.

A partir de 1966, furent mis en place à l'IRLMS des essais randomisés d'immunothérapie complémentaire de la chimiothérapie. Le protocole 06LA66 prévoyait l'arrêt de la réinduction au 52^{ième} mois et la répartition des patients en deux groupes, les uns recevant une immunothérapie, les autres servant de témoins⁵. Le traitement, inspiré par Raymond Latarjet, consistait en l'injection de cellules leucémiques prélevées pendant la période évolutive et irradiées *in vitro*. Ces essais s'inscrivaient dans la catégorie de l'immunothérapie active spécifique, qui se distinguait de l'immunothérapie active non spécifique, comme la vaccination par le BCG pratiquée par Georges Mathé, de l'immunothérapie passive, comme l'administration de sérum ou de sang qui avait provoqué des rémissions dans la maladie de Burkitt, et de l'immunothérapie adoptive ou greffe de cellules hématopoïétiques vivantes⁶.

Dans les leucémies aiguës granuleuses

L'annexe 44 présente les principales associations thérapeutiques utilisées à l'IRLMS contre les leucémies aiguës granuleuses. Les résultats de ces essais n'ont, semble-t-il, pas toujours été publiés.

En 1964, des études américaines suggérant un effet du méthylgag sur les leucémies aiguës myéloblastiques amenèrent Jean Bernard et ses collaborateurs à étudier l'association du méthylgag et de la 6-mercaptopurine. Ils espéraient réduire la toxicité du méthylgag par l'emploi de doses plus faibles et prolonger les rémissions par la 6-mercaptopurine. Le produit leur fut fourni par le Centre national de chimiothérapie anti-cancéreuse américain (Cancer Chemotherapy National Service Center). Les 42 patients qui entrèrent dans cette étude se répartissaient de la façon suivante : 36 cas de leucémie aiguë myéloblastique dont dix enfants de moins de 15 ans, deux adultes atteints de leucémie aiguë à promyélocytes et quatre adultes en transformation aiguë de leucémie myéloïde chronique. Il s'agissait pour tous du premier traitement reçu, à l'exception de trois enfants en première rechute de leucémie aiguë

¹ Zuelzer W., *Implication of long term survival in acute stem cell leukemia of childhood treated with composite cyclic therapy*, Blood, 24 : 477, 1964.

² Jacquillat C., Weil M., Boiron M., *Effets de la méthode de réinduction au cours du traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 677-682, 1967.

³ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967.

⁴ Mihich E., *Chimiothérapie antitumorale. Considérations sur le rôle potentiel de l'immunité*, Pathol. Biol., 15 : 3, 1967. Old L., Boyse E., *Immunology of experimental tumors*, Amer. Rev. Med., 15 : 167, 1964.

⁵ Fonds IUH, article 11, correspondance avec Flamant R., 26.02.1973, 13 mars 1973.

⁶ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967.

myéloblastique. Au début, les doses de dihydrochlorure de méthylgag variaient de 180 mg/m² deux fois par semaine à 350 mg/m² trois fois par semaine ; il fut administré le plus souvent par voie intramusculaire. Le traitement d'attaque fut poursuivi jusqu'à ce que le taux de leucoblastes médullaires devînt inférieur à 10% ou jusqu'à l'apparition de signes toxiques, soit 30 à 40 jours.

La rémission complète apparaissait en général vers la quatrième semaine de traitement. La plus longue rémission complète en cours en 1964 atteignait 7 mois et demi dans la leucémie aiguë myéloblastique. Parmi les échecs, 25 cas ne furent pas ou peu sensibles au traitement et quatre succombèrent dans un tableau d'insuffisance médullaire compliquée d'infection. Les autres signes toxiques étaient digestifs et cutanéomuqueux. Les patients souffraient d'ulcérations du visage, du dos ou de la plante des pieds, qui régressaient à l'arrêt du traitement. Les insuffisances médullaires n'étaient pas citées dans la littérature comme un danger majeur, pourtant elles emportèrent cinq des huit patients qui en présentèrent une. Elles étaient d'autant plus pernicieuses qu'elles apparaissaient, en médiane, au même moment que les rémissions. Elles étaient toutes apparues chez des patients traités à forte dose. Les médecins de l'IRLMS considérèrent leurs résultats préliminaires comme un progrès car le taux de rémission complète passait avec ce traitement à 25 % alors qu'il était de 12 % avec la combinaison de la Δ -cortisone, de l'a-méthoptérine et de la 6-mercaptopurine. Une série de traitement par la 6-mercaptopurine seule fut lancée de manière à préciser le rôle du méthylgag. Contrairement à ce qu'ils avaient espéré, les meilleurs résultats avaient été obtenus avec de fortes doses, comme aux Etats-Unis, toutefois, le caractère continu des injections semblait diminuer les manifestations toxiques¹. Deux ans plus tard, cette combinaison donnait 33% (42 cas) de rémissions complètes².

La triple association de 6-mercaptopurine, de méthylgag et d'améthoptérine, appliquée à 24 malades donna, en 1965, neuf rémissions complètes soit 38 %. Malheureusement, ce traitement provoquait fréquemment des troubles sanguins et digestifs ; il devait souvent être accompagné de transfusions de cellules sanguines³.

Au printemps 1967, les chimiothérapeutes de l'IRLMS commencèrent à utiliser la rubidomycine combinée à d'autres agents chimiothérapeutiques⁴. Utilisée seule, elle permettait alors d'obtenir 50 % de rémissions complètes, c'est à dire un taux supérieur à celui obtenu avec la cytosine arabinoside seule (33%) ou avec l'association de méthylgag et de 6-mercaptopurine (35 %) et équivalent à celui de la quadruple associant impliquant la 6-mercaptopurine, le méthylgag, la Δ -cortisone et la cytosine arabinoside (50 %)⁵. Ils essayèrent l'association successive ou simultanée de la rubidomycine avec tous les autres agents anti-leucémiques connus pour leur action sur les formes granuleuses. Celle-ci semblait *a priori* particulièrement intéressante avec l'améthoptérine, la 6-mercaptopurine et la cytosine arabinoside, spécifiques de la phase de synthèse de l'ADN, la rubidomycine n'étant pas un médicament spécifique d'une phase particulière du cycle cellulaire⁶.

¹ Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Weil M., *Premiers résultats de l'association du méthylglyoxal bis (Guanylhydrazone) et de la 6-mercaptopurine dans le traitement des leucémies aiguës de la série granulocytaire*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (3) : 448-453, 1964.

² Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, Presse Méd., 74 (24) : 1241-1245, 1966.

³ Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965.

⁴ Bernard J., Jacquillat C., *La rubidomycine*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (3) : 317-320, 1967.

⁵ Bernard J., Jacquillat C., Boiron M., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., Lortholary P., *Essais de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau : la rubidomycine (13057 RP). Etude de 61 observations*, Presse Méd., 75 (19) : 951-955, 1967.

⁶ Bernard J., Weil M., Jacquillat C., *Traitement des leucémies aiguës myéloblastiques*, Haematologia, 3 (3) : 265-276, 1969.

En juin 1969, alors que le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques était relativement bien codifié, qu'il permettait d'obtenir presque 100% de rémissions complètes de longue durée, celui des leucémies aiguës granuleuses avoisinait les 50 % de rémissions complètes mais la durée de ces rémissions restait dans l'ensemble courte et le choix entre les nombreux protocoles testés s'avérait difficile, comme en témoigne l'annexe 45.

La plupart de ces traitements étaient agressifs, provoquant des aplasies graves et parfois des désordres viscéraux importants. Par conséquent, Jean Bernard et ses collaborateurs recommandaient de remplacer les traitements vigoureux, à base de rubidomycine ou de méthylgag, par des traitements modérés, par exemple la cytosine arabinoside seule ou l'association de 6-mercaptopurine et de Δ -cortisone, pour les malades fatigués ou très âgés ainsi que dans les centres hospitaliers ne disposant pas d'infrastructure pour les transfusions de plaquettes et de sang frais¹.

Survie et vie des leucémiques aigus en 1970

En 1970, les médicaments introduits au cours de la décennie précédente avaient permis, pour les leucémies aiguës lymphoblastiques, d'atteindre une durée de vie médiane supérieure à 2 ans et demi et de bénéficier en moyenne de deux à trois rémissions successives². C'était peu dans l'absolu, mais beaucoup par rapport à la durée moyenne de vie des leucémiques aigus en 1947 qui était alors de 2,4 mois. La durée de vie moyenne des leucémies aiguës myéloblastiques avait aussi augmenté mais elle restait inférieure à un an. La leucémie promyélocytaire, une des formes les plus graves de leucémie aiguë, avec en 1965 une durée de vie moyenne de 29 jours, avait vu son évolution allongée par la rubidomycine. D'une manière générale, les leucémies aiguës étaient les moins défavorables à l'âge où elles étaient les plus fréquentes, entre 18 mois et 5 ans. Les leucémies des femmes semblaient un peu moins graves que celles des hommes. Et les leucémies de cause connue, benzéniques ou radio-induites, étaient d'évolution spontanée plus lente, mais elles étaient moins sensibles aux médicaments.

Ainsi, Jean Bernard pouvait écrire « Bien que l'évolution générale de la maladie demeure très grave, des changements importants sont survenus. Les traitements actuels permettent à de nombreux leucémiques de survivre, à quelques uns de vivre. »³.

Pour ces quelques patients, c'est en 1968 que « le mot de guérison commence dans certains cas d'être murmuré »⁴. Cette année-là, 20 malades traités dans le service de Jean Bernard étaient en rémission complète depuis cinq à douze ans⁵. Joseph Burchenal venait de rassembler, au niveau mondial, près de 200 observations de leucémies aiguës de ce type, dont la durée avait dépassé cinq ans. Son travail montrait, en outre, que les rechutes devenaient de

¹ Bernard J., Weil M., Jacquillat C., *Traitement des leucémies aiguës myéloblastiques*, Haematologia, 3 (3) : 265-276, 1969.

² Jacquillat C., Weil M., Tanzer J., Bussel A., Loisel J.P., Goguel A., Schaison G., Najean Y., Goudemand M., Seligmann M., Boiron M., Bernard J., *Les très longues rémissions complètes des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 253-256, 31 1970.

³ Bernard J., *Espoir de vie des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 251-252, 1970.

⁴ Fonds IUH, article 1, Annales de l'Université de Paris, n°4, 1968.

⁵ Schaison G., Najean Y., Seligmann M., Flandrin G., Jacquillat C., Weil M., Cannat A., Ripault J., Dreyfus B., Bernard J., *Leucémie aiguë à évolution prolongée et syndrome lupique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 9 (3) : 419-434, 1969.

plus en plus rares au fur et à mesure que les années passaient et qu'après sept ans de rémission complète, il était rare d'observer une rechute¹.

En janvier 1970, Jean Bernard et ses collaborateurs examinèrent 65 observations de rémissions complètes de leucémie aiguë s'étant prolongées ou se prolongeant au-delà de quatre ans. 46 patients avaient été entièrement suivis par les hématologues de l'Hôpital Saint-Louis, quatre par M. Goudemand à Lille, trois par J. Porin à Caen, trois par A. Orsini à Marseille et neuf d'entre-eux avaient fréquenté différents centres d'hématologie. Toutes les lames de sang et de moelle avaient été examinées par l'unité de cytologie de l'Hôpital Saint-Louis.

Treize patients étaient décédés entre la quatrième et la sixième année, les 52 autres, 45 leucémies lymphoblastiques et sept leucémies myéloblastiques, étaient toujours en rémission complète et menaient pour la plupart une vie normale.

Parmi les 58 patients ayant dépassé quatre ans de survie, les chercheurs de l'IRLMS distinguèrent trois catégories : les 13 patients décédés après une ou plusieurs rémissions, 10 patients en rémission complète après une ou plusieurs rechutes, 22 patients toujours en première rémission complète. La répartition des malades dans ces trois groupes indiquait l'importance de la durée de la première rémission pour la durée de survie. Pour cette raison, leurs protocoles en cours utilisaient tous les médicaments disponibles dès la première phase évolutive.

Parmi les 22 cas toujours en première rémission complète, 11 dépassaient 8 ans de survie et six dépassaient 10 ans. Le cas le plus spectaculaire était celui d'une enfant traitée en 1956, qui 13 ans plus tard, devenue adulte et mère, vivait dans un état « analogue à la guérison ». Une autre enfant avait battu un record de natation au cours de sa quatrième année de rémission et gagné un concours hippique deux ans plus tard.

L'augmentation du nombre de cas de longue survie permit aux chercheurs de l'IRLMS de dégager des éléments de pronostic : ces patients avaient en général, au moment du diagnostic, un taux de globules blancs modérément élevé et un taux de plaquettes à peu près normal. Les 32 patients toujours en rémission avaient reçu divers traitements : dix avaient été traités par la Δ -cortisone seule, 12 par l'association d'emblée de la Δ -cortisone et de l'a-méthoptérine et 16 par l'association de la Δ -cortisone et de la vincristine avec un traitement d'entretien combinant 6-mercaptopurine et a-méthoptérine.

Le point crucial dans la recherche du traitement optimal résida dans l'analyse des résultats du protocole 02LA64 commencé en juillet 1964. Ce protocole inclut 50 malades, trois adultes et 49 enfants. Or, 5 ans et demi plus tard, 12 des 13 patients qui avaient bénéficié d'une rémission complète menaient une vie « normale ». Cependant, cinq d'entre-eux avaient présenté au cours de la rémission hématologique des localisations méningées, et parfois oculaires et testiculaires, heureusement sensibles à l'injection intrarachidienne d'améthoptérine. Ce protocole avait donc permis d'obtenir 23 % de survie supérieure à 4 ans et demi pour les leucémies aiguës lymphoblastiques (voir annexe 46 et 47)². Les protocoles ultérieurs ne semblaient pas plus efficaces que le protocole 02LA64 (voir annexe 48)³.

Le bilan de ce dernier amena les chercheurs de l'IRLMS à distinguer 2 types de très longues rémissions : les unes, « très rares, fortuites, inexplicables », les autres « moins rares,

¹ Bernard J., *Progrès récents dans le traitement des leucémies aiguës*, Atti 2e Giornate Ematologiche degli Ospedali Riuniti di Napoli, Casa editrice V. Idelson, Napoli, 1968, p. 87-106.

² Jacquillat C., Weil M., Tanzer J., Bussel A., Loisel J.P., Goguel A., Schaison G., Najean Y., Goudemand M., Seligmann M., Boiron M., Bernard J., *Les très longues rémissions complètes des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 253-256, 31 1970.

³ Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Weil M., *Augmentation de l'espoir de vie des leucémies aiguës lymphoblastiques soumises à un protocole de polychimiothérapie*, C. R. Acad. Sci., série D, 271 : 1919-1921, 1970.

espérées et liées à un effort thérapeutique particulier». Celles du premier groupe correspondaient aux cas publiés au milieu des années 1960. Sur la base de l'étude réalisée par Joseph Burchenal à cette époque, ils estimèrent leur fréquence à 1 %. De plus, selon une autre étude, publiée en 1969 par M. Pierce et ses collaborateurs, du Bobs Roberts Children's Hospital de Chicago (Illinois), et portant sur 1770 enfants traités entre 1957 et 1967, les pourcentages de survie étaient de 5 % à 3 ans et de moins de 1 % à 5 ans. Celles du second groupe incluaient les malades traités entre 1964 et 1965 à l'Hôpital Saint-Louis suivant le protocole de réinductions systématiques 02LA64. Jean Bernard et ses collaborateurs pensaient que les traitements séquentiels et les traitements intensifs de type VAMP étaient également capables de provoquer un fort taux de très longues rémissions. Leur méthode leur semblait donner des résultats supérieurs mais ce fait restait à vérifier. Les résultats du protocole ALGB 6601, auquel ils participaient et au cours duquel la thérapeutique était arrêtée au bout de 8 mois après un traitement d'attaque vigoureux, devaient apporter des précisions sur ce point.

Concernant les leucémies aiguës myéloblastiques, cinq adultes et deux enfants étaient toujours en rémission complète 5 à 9 ans après le début de la maladie. Ils avaient reçu divers traitements, généralement des associations à base de Δ -cortisone, de 6-mercaptopurine, d'aminéthoptérine et de méthylgag. Une patiente ayant arrêté la 6-mercaptopurine au bout d'un an de rémission avait deux enfants de 2 et 5 ans et menait une « vie normale », 7 ans après le début de la maladie.

Pour les patients en très longue rémission, les chimiothérapeutes de l'IRLMS se demandèrent s'il y avait lieu d'arrêter définitivement le traitement, en particulier pour les 27 sujets n'ayant jamais rechuté. Une étude comparée était en cours au Sloan-Kettering Institute sur l'opportunité de prolonger le traitement au delà de 5 ans de rémission complète. En attendant les résultats de ce travail, il leur parut préférable de ne cesser le traitement d'entretien qu'après 7 ans de rémission complète, tout en surveillant régulièrement l'état de la moelle osseuse¹.

Pour ces « long term survivors », selon l'expression actuelle, la guérison devenait « possible après 5 ans, probable après 7 ans, à peu près certaine après 10 ans. »². Le fait que la fin de la courbe de survie ne fût pas en plateau à 5 ans laissait en effet prévoir d'autres rechutes³.

En 1971, les leucémies traitées « au long cours » représentaient 146 patients dont la survie s'étalait entre 4 et 15 ans à partir du diagnostic. Leur analyse confirma que les rechutes, même suivies de nouvelles rémissions, étaient de très mauvais pronostic, la survie étant alors inférieure à 2 ans pour la plupart des malades⁴.

Recherches sur les traitements symptomatiques

Les recherches sur les traitements symptomatiques, promues notamment par Jean Bernard, par Angelo Baserga, de l'Institut de pathologie médicale de l'Université de Ferrare

¹ Jacquillat C., Weil M., Tanzer J., Bussel A., Loisel J.P., Goguel A., Schaison G., Najean Y., Goudemand M., Seligmann M., Boiron M., Bernard J., *Les très longues rémissions complètes des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 253-256, 31 1970.

² Bernard J., *Espoir de vie des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 251-252, 1970.

³ Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Weil M., *Augmentation de l'espoir de vie des leucémies aiguës lymphoblastiques soumises à un protocole de polychimiothérapie*, C. R. Acad. Sci., série D, 271 : 1919-1921, 1970.

⁴ Fonds IUH, article 1, rapport de l'IRLMS pour 1970-1971.

(Italie)¹ et par Emil (Jay) Freireich, au National Cancer Institute (NCI), ne jouissaient que d'un faible prestige. C'est ce que raconte dans sa biographie, Robert Gallo, qui entra au NCI en 1965 : « Malheureusement, cette sorte de recherche pratique, trop orientée vers des solutions directes pour être considérée comme un travail intellectuel par certains puristes, ne jouissait pas d'un grand respect dans la communauté scientifique. On m'avait même plus d'une fois conseillé d'éviter, à tout prix, de participer à ce type de travaux. »².

Ces traitements symptomatiques regroupaient les thérapeutiques visant à lutter contre les conséquences de l'aplasie (hémorragies, infections, anémie), mais également les traitements visant à soulager des troubles locaux, par exemple des manifestations toxiques dermatologiques.

Leur amélioration résulta donc, d'une part, de progrès enregistrés dans diverses spécialités médicales extérieures à l'hématologie (maladies infectieuses, gastro-entérologie, ORL, dermatologie, etc.), d'autre part, des avancées de ce qu'on appela plus tard la réanimation hématologique et qui correspondait aux transfusions de plasma et de cellules sanguines, ainsi qu'à l'administration de facteurs de la coagulation.

En ce qui concerne l'IRLMS, les patients leucémiques bénéficièrent des nombreux travaux du Laboratoire dirigé par Jacques Caen sur les troubles de la coagulation sanguine et la physiologie des plaquettes. N'étant pas spécifiques de la leucémie aiguë, ils ne seront pas traités ici. Nous n'aborderons que l'apport de cellules visant à compenser la granulopénie responsable des infections.

Greffe de moelle osseuse

La greffe de cellules hématopoïétiques avait donné des résultats encourageants chez la souris mais pas chez le singe, après conservation des cellules à 37°C. La greffe de cellules provenant de plusieurs donneurs, visant à l'élimination spontanée des donneurs incompatibles par le receveur, avait diminué la gravité du syndrome secondaire chez la souris et chez l'homme mais pas chez le singe. Georges Mathé et ses collaborateurs avaient ainsi obtenu une rémission complète qui durait depuis 18 mois chez un jeune leucémique aigu lymphoblastique. Les chimiothérapies préparatoires à la greffe avaient également paru favorables chez le chien, la souris, le singe et l'homme. Quant à la greffe de tissus fœtaux, elle ne donnait toujours pas les résultats escomptés. Tel était le bilan dressé par Jean Bernard en 1965, soit 5 ans après l'arrêt des greffes de moelle osseuse dans son service³.

En 1970, de nouveaux essais de greffe de moelle osseuse allogénique furent entrepris à l'IRLMS. Contrairement aux premiers essais, ces greffes visaient davantage à traiter les aplasies très graves qu'à guérir la leucémie ; elles concernaient également des aplasies non leucémiques. Le donneur fut choisi après l'étude de ses antigènes d'histocompatibilité dans le laboratoire de Jean Dausset et l'étude de la culture mixte des lymphocytes. Le receveur fut « conditionné » par l'administration de sérum anti-lymphocytaire et de cyclophosphamide. La fragilité extrême des patients ainsi traités nécessitait leur hospitalisation dans un secteur aseptique, avec du personnel formé à ces techniques. La greffe nécessitait des prélèvements multiples faits par des médecins hématologistes sous anesthésie générale et en salle d'intervention. Quatre essais furent ainsi réalisés chez des leucémiques aigus. Ils aboutirent à une excellente récupération médullaire après deux greffes et avec un recul de 18 mois, à deux

¹ Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielolinfoproliferative, Milan, 1966.

² Gallo R., *Chasseur de virus*, Editions Robert Laffont, Paris, 1991, p.66.

³ Bernard J., *La greffe de cellules hématopoïétiques allogéniques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (1) : 11-16, 1965.

échecs avec décès des malades par septicémie au dixième jour et à une greffe rejetée au treizième jour. Ces pratiques furent jugées peu efficaces pour rétablir une hématopoïèse satisfaisante chez les patients leucémiques aigus : « Quelques résultats récents de notre équipe et d'autres auteurs, nous encouragent à poursuivre ces tentatives pour les aplasies médullaires idiopathiques. L'intérêt semble beaucoup moins important dans les hémopathies malignes (leucémies aiguës notamment) où, même en supposant la prise de la greffe, celle-ci n'empêche pas la rechute de la maladie et où l'on a observé même une transformation leucémique des cellules greffées. Nous avons volontairement éliminé ces tentatives actuellement »¹.

En vue d'éventuelles tentatives ultérieures, Annette Bussel, Janine Dumont et Jacques Hors tinrent à jour un dossier sur tous les aspects techniques de la greffe de moelle et leurs améliorations successives : préparation du donneur et du receveur, isolement du malade, bactériologie, techniques de prélèvement, etc².

Transfusions de globules blancs

Malgré une quinzaine d'années de tentatives infructueuses, les transfusions de globules blancs restaient, aux yeux des spécialistes de la leucémie, un remède majeur aux effets de la chimiothérapie des cancers, du fait des complications infectieuses, souvent léthales, dues à la granulopénie. En 1970, Annette Bussel essaya de pallier le déficit de patients atteints de septicémie résistante à l'antibiothérapie par la transfusion de granulocytes frais. Les leucocytes injectés provenaient soit de donneurs en phase myélocytaire de leucémie myéloïde chronique, soit de donneurs sains. Dans le premier cas, ils étaient préparés par « sédimentation sur plasmagel » puis centrifugation ; dans le second cas, ils étaient préparés avec un séparateur de cellules sanguines de la firme IBM (voir annexe 36).

L'expérience porta sur 1000 transfusions, la majorité ayant été pratiquée chez des leucémiques aigus. Le succès de la première méthode, déjà démontré par de nombreuses équipes, fut confirmé. Il fut projeté de standardiser cette technique, c'est-à-dire de résoudre les problèmes posés : le recrutement de donneurs réguliers, l'appariement systématique du donneur et du receveur, l'irradiation éventuelle des concentrés leucocytaires – afin d'empêcher leur multiplication chez les receveurs - et l'étude fonctionnelle des polynucléaires transfusés par des tests enzymatiques. Avec les donneurs sains, les résultats s'avérèrent nettement moins bons. Les 38 premières transfusions échouèrent. Cet échec fut expliqué par une trop faible quantité de cellules injectées. Le séparateur IBM ne permettait d'extraire que de faibles quantités de granulocytes : environ 5 milliards par m² de surface corporelle contre 100 milliards avec l'autre technique soit 20 fois moins.

Différentes méthodes furent alors employées pour améliorer le rendement de la machine : la stimulation de l'hématopoïèse du donneur par la cortisone, le prélèvement d'une quantité de sang plus importante avec séparation et réinjection des hématies, ainsi que l'injection de plasmagel dans le bol centrifugeur. L'association de ces techniques permit d'atteindre une extraction de 45 milliards de granulocytes en moyenne. De nouveaux essais furent alors prévus chez des patients montrant une septicémie débutante sans foyer infectieux détectable³.

¹ Fonds IUH, article 1, rapport de l'IRLMS pour 1970-1971.

² Fonds IUH, article 1, rapport de l'Unité de recherche clinique, 1971.

³ Fonds IUH, article 1, rapport de l'IRLMS pour 1970-1971.

Suivi psychologique des patients et du personnel soignant

A la fin des années 1940, la plupart des médecins, y compris les spécialistes du sang, se montraient réticents à tenter le traitement des incurables. Il convenait de « laisser ces malades mourir en paix ». Lorsque Sidney Farber et ses collaborateurs entreprirent de traiter quelques enfants leucémiques en 1947, ils durent faire face à une résistance considérable de la part des internes et des infirmières du Children's Hospital de Boston, qui n'étaient pas habitués à soigner des enfants si gravement atteints et trouvaient cruelles les ponctions médullaires qui leur étaient infligées. Charles Janeway, qui dirigeait le service où les enfants leucémiques étaient hospitalisés, réussit à obtenir l'adhésion des pathologistes de l'École de médecine de Harvard. Pour ces derniers, les conditions de travail étaient également difficiles. Chaque échec, chaque décès, chaque autopsie entraînaient chez eux une grande souffrance. Aux problèmes psychologiques s'ajoutaient, de plus, des difficultés matérielles : ils fabriquaient eux-mêmes les trocards et étudiaient les lames dans le vestibule du Bâtiment de recherches sur les tumeurs¹.

A Paris, la situation était comparable et dura au moins une dizaine d'années. Georges Flandrin raconte que Georges Marchal, de l'Hôpital Broussais, qualifiait ses collègues de l'Hôpital Saint-Louis de fous parce qu'ils traitaient les leucémies². L'incompréhension de certains était cependant bien plus facile à supporter que le contact des petits leucémiques : « l'arbre de Noël des enfants malades était un crève-cœur. Ils étaient chauves et bouffis, et on était sûr de ne pas les voir l'année suivante. » se souvient Yves Najean³. Pour Jean Bernard, contribuer à la recherche contre la leucémie aidait à supporter les souffrances des malades. En 1956, lors de la leçon inaugurale de la Chaire de cancérologie médicale et sociale qui venait de lui être attribuée, il déclara : « Le médecin, qui lutte contre le cancer, trouve sa force dans l'espérance des progrès de la recherche, sa justification dans sa propre participation à cette recherche. »⁴.

Parallèlement, au fur à mesure que l'hospitalisation des leucémiques se généralisait et se prolongeait, les médecins prirent conscience de l'intensité des troubles psychologiques des malades et de leurs familles.

La première étude française sur la psychologie des leucémiques, qui était aussi la troisième mondiale, avait été réalisée, en 1955, par Jean-Marc Alby, à la demande de Jean Bernard. Il était probablement encouragé par son épouse, Amy Pichon-Bernard, qui était pédopsychiatre.

Les deux premières études sur le sujet avaient été réalisées à la demande de pédiatres. Celle menée à l'IRLMS aboutit aux conclusions suivantes. Jusqu'à 3 ans, les enfants réagissaient comme dans toute hospitalisation grave ; il convenait alors de prévenir les familles des comportements de refus et de marasme qu'ils auraient à affronter. Après 3 ans, les enfants prenaient rapidement conscience de la gravité de leur situation, de l'angoisse de leurs proches, alors que la compréhension de la mort n'apparaissait normalement que vers 6 ans. Ils faisaient preuve d'une surprenante connaissance des données médicales. Par exemple, « le petit Jacques (4 ans) réclamait « les bonbons blancs du Dr M. » à l'exclusion de toute autre friandise ; il se montrait irrité et anxieux de se les voir refuser ; il s'agissait d'aminoptérine qui avait provoqué chez lui une rémission. Il disait également : « Je vais mieux, on m'a arrêté mes transfusions ». Il refusait avec des hurlements, en disant « ça ne sert

¹ Wolff J., Sylvester R., Mercer R., Ravindranath Y., *Chronicle : Dawn of chemotherapy*, Med. Ped. Oncol., 33 : 405-410, 1999.

² Entretien avec Georges Flandrin, 1999.

³ Entretien avec Yves Najean, 1999.

⁴ Bernard J., *Leçon inaugurale de la Chaire de cancérologie médicale et sociale*, La presse médicale, 15 septembre 1956, p. 22-23.

à rien », des intradermo-réactions aux extraits leucocytaires pratiquées dans un but de recherche. ».

Les enfants plus âgés niaient la gravité de leur état et s'attachaient à un symptôme : Jean, 9 ans, répétait : « je suis venu parce que j'ai trop de globules blancs ». Les infirmières disaient des leucémiques qu'ils étaient des « enfants sages », acceptant relativement facilement les examens douloureux. Pour Jean-Marc Alby, cette sagesse cachait une anxiété profonde, identifiable par les dessins et les tests de Rorschach. Il recommanda d'écourter au maximum les hospitalisations et de permettre aux parents de rester et éventuellement de prendre part aux soins et à l'alimentation. La famille devait aussi veiller à ce que l'enfant ne se sente pas condamné. Un enfant de 13 ans qui avait lu l'article « leucémie » du *Larousse médical* refusait qu'on le quitte le soir et qu'on éteigne la lumière.

Face aux parents, travestir la réalité paraissait néfaste. Les réactions de ces derniers à l'annonce du pronostic allait généralement de la négation à la culpabilité en passant par l'arrêt du traitement, l'abandon de l'enfant ou la recherche de remèdes miracles. Ils étaient encouragés en ce sens par la presse non médicale, qui depuis plusieurs années annonçait périodiquement des découvertes sensationnelles, donnait une audience favorable aux guérisseurs et publiait parfois des photos d'enfants à un stade très avancé de la maladie. Vis à vis du médecin, Jean-Marc Alby constata des attitudes excessives de reconnaissance comme de défiance. Répondre aux questions des parents atténuait généralement leurs angoisses. Enfin, cette étude confirma l'observation américaine selon laquelle la mort de l'enfant était mieux supportée lorsqu'elle n'était pas trop rapide, contrairement à ce qui était communément admis.

Quant au personnel médical, Jean-Marc Alby observa surtout des comportements de rejet dus à la peur de s'attacher aux patients et à leur famille. Les infirmières entraient parfois en conflit avec la mère ou avec le médecin lorsqu'elles avaient le sentiment que celui-ci se livrait à une pratique gratuitement douloureuse. Pour les médecins, la pratique d'une activité de recherche semblait bénéfique en ce qu'elle compensait leurs angoisses¹.

En 1967, les conclusions de l'étude menée une dizaine d'années plus tôt furent réexaminées ; les changements importants survenus dans l'évolution de la maladie et la prise en charge des patients avaient pu modifier le contexte psychologique. Ces changements étaient principalement la prolongation de la survie, l'apparition de traitements plus longs et plus agressifs, et le regroupement des leucémiques dans un bâtiment séparé du Service d'hématologie, le Centre Hayem, où étaient menés la plupart des travaux de laboratoire de l'IRLMS.

De 1965 à 1967, la psychologue Nicole Alby s'entretint, dans le service, avec 30 patients à la demande des médecins ou des infirmières. Des discussions eurent également lieu avec des médecins, surtout des externes et des internes, et avec des infirmières. Les données recueillies par Nicole Alby furent ensuite discutées avec le psychiatre Jean-Marc Alby et le clinicien Jacques Chassigneux. Nicole Alby distingua 3 périodes, dans la prise en charge des patients, caractérisées par des problèmes et des modes de réaction de défense particuliers : l'entrée dans la maladie, l'adaptation à la maladie et la phase terminale.

La période d'établissement du diagnostic et d'entrée dans la maladie était toujours perçue comme une période critique : « l'évolution psychologique du malade, de la famille, l'attitude vis-à-vis du traitement et même, comme le souligne Oakley, la possibilité pour l'entourage de préparer le deuil à venir, dépendent de la façon dont s'engage la relation avec le médecin. ». Lorsque le patient était un enfant, il paraissait préférable d'informer les deux parents. Toutefois, lorsque l'un d'eux s'y opposait, il pouvait être nocif de lui forcer la main.

¹ Bernard J., Alby J.M., *Incidence psychologiques de la leucémie aiguë de l'enfant et de son traitement*, Hygiène mentale, 45 : 241-255, 1956.

Cette honnêteté de départ facilitait l'installation d'une relation de confiance avec l'équipe soignante. Il était cependant essentiel que l'annonce de la gravité de la maladie ne soit pas brutale, que l'hospitalisation ne soit pas précipitée. L'hospitalisation dans le service d'hématologie fut perçue par deux patients comme la première étape d'un processus angoissant d'isolement et de rejet. La révélation en douceur du diagnostic dépendait de la capacité du médecin à faire face à cette situation difficile qui consistait à faire comprendre la gravité de la maladie sans en annoncer l'issue fatale. Mais tenir le secret n'était pas facile pour les équipes soignantes, en particulier, dans les centres spécialisés où les malades se côtoyaient et qui faisaient encore régulièrement la une des magazines. En France, le sentiment général était en effet qu'il valait mieux éviter au patient une angoisse et une souffrance inutiles. Cette position était partagée par Jean Bernard et Georges Mathé ; ils ne communiquaient pas le nom de la maladie. Aux Etats-Unis en revanche le National Institute of Health (Institut national de la santé) avait publié une brochure sur la leucémie de l'enfant, à destination des parents, qui ne cachait aucun aspect de la maladie¹. Il ne faudrait cependant pas croire que tous les médecins américains annonçaient le diagnostic aux patients. Selon l'historien James Patterson, dans les années 1970, tous n'osaient pas. Certains patients venaient à savoir, d'autres non².

Concernant les enfants, la seule différence notable par rapport à la première étude était une prise de conscience de leur état un peu plus tardive, vers 4 ou 5 ans. Ce changement pouvait résulter de l'étude d'un échantillon plus large de patients comme de la mise en pratique des recommandations de la psychologue. Le phénomène était favorisé par le regroupement des petits leucémiques. Leur hospitalisation pouvait être rendue plus supportable en isolant les cas les plus graves et en essayant de procurer aux autres un mode de vie normal par la mise à disposition d'une salle de jeux, d'enseignements et d'un lieu de repos pour les parents.

Pour les adolescents et les jeunes adultes, la souffrance psychologique était plus forte. Ils se doutaient presque toujours de la malignité ou de la gravité de leur état, ce qui pouvait aussi bien les rendre très exigeants que profondément résignés. Ils ressentaient le besoin de parler de leur maladie, laquelle était au centre de leurs préoccupations. Se sentant souvent exclus ou différents, ils étaient soulagés que leur souffrance ne soit pas niée ; pour cette raison, le médecin devait accepter de les entendre évoquer leur propre mort. Ils ne cherchaient pas forcément à connaître le nom de leur maladie ; tant que le doute subsistait, la défense psychologique en était même facilitée. La complicité avec leur médecin, à qui ils vouaient souvent une confiance exclusive était source de protection. Ils percevaient généralement la présence de laboratoires de recherche dans l'hôpital comme un élément rassurant et acceptaient volontier les examens répétés. La crainte de l'abandon rendait les réactions de refus rares et temporaires. Leur prise en charge était particulièrement difficile pour les jeunes médecins, du fait de la faible différence d'âge.

L'adaptation à la maladie, après la première rémission, posait d'autres problèmes. Chez les parents, Nicole Alby nota fréquemment un décalage entre la « compréhension intellectuelle » et la « prise de conscience affective » du diagnostic. Ils se protégeaient généralement en niant la maladie, sans pour autant refuser les soins. Sur les 50 enfants soignés dans le service de Jean Bernard au moment de l'étude, il n'y eut que deux abandons, chez des enfants pour qui les conditions sociales et affectives étaient jugées anormales avant la maladie. La forme la plus courante d'expression de l'angoisse des parents était, durant cette période, la culpabilité. Celle-ci ayant un caractère irrationnel, il était vain de tenter de la

¹ Alby N., Alby J.M., Chassigneux J., *Aspects psychologiques de l'évolution et du traitement des leucémiques, enfants et jeunes adultes, dans un centre spécialisé*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 577-588, 1967.

² Patterson J., *The dread disease : cancer and modern american culture*, Harvard University Press, Cambridge, 1987, p. 270-271.

vaincre par le raisonnement. Elle pouvait se manifester par de l'agressivité à l'égard du médecin ou par une surprotection généralement nuisible à l'enfant. Ces comportements étaient jugés peu modifiables. L'angoisse parentale entraînait aussi parfois un besoin de rationalisation, de maîtrise intellectuelle mais qui pouvait aussi revêtir un caractère pathologique ou « déréel ». L'autodéfense psychologique pouvait enfin prendre la forme d'un égoïsme marqué. Il était déconcertant pour les médecins de se voir réclamer des fortifiants et troublant pour les infirmières de devenir « bonnes » ou « mauvaises » sans raison. Il paraissait utile à la psychologue d'organiser des réunions regroupant les parents et les équipes soignantes. Toutefois, ce projet lui semblait difficilement réalisable compte tenu des conditions d'hospitalisation et des « habitudes françaises ». Les réactions de la famille plus éloignée ou du milieu professionnel ou social augmentait souvent l'isolement et l'angoisse, alors que la rémission permettait le retour à une vie quasi-normale. Les bien-portants manifestaient une agressivité et une peur inconsciente à l'égard des condamnés¹. Aux Etats-Unis, en 1985, un sondage indiqua que 50 % des cols-blancs et 80 % des cols-bleus guéris se disaient rejetés lors de leur reprise du travail, par peur de la contagion².

Pendant la phase terminale, l'angoisse des parents augmentait. Le traumatisme pouvait être atténué par la sédation de la douleur chez l'enfant et par une évolution longue d'au moins 4 mois qui permettait alors un « deuil anticipé », comme l'avait signalé Jean-Marc Alby. L'isolement était recommandé de manière à protéger les autres familles et les autres enfants. Lors de décès rapprochés dans le service, les infirmières étaient généralement fatiguées voire hostiles à leur travail, les médecins expérimentés étaient tendus et repliés sur eux-mêmes, les jeunes médecins étaient anxieux. Ils craignaient de prescrire des traitements à d'autres patients, surtout lorsqu'il s'agissait d'une thérapeutique nouvelle. Les progrès thérapeutiques enregistrés au cours de ces dix années semblaient rendre l'échec plus insupportable, très probablement parce que l'espoir de réussite était plus grand.

Aux Etats-Unis, les leucémiques et leurs familles bénéficiaient d'une « véritable assistance psychologique », collective et individuelle. L'expérience de Nicole Alby montrait que ce besoin existait aussi en France. Au cours des deux années qu'elle passa dans le service de Jean Bernard, la demande d'entretien s'accrut au fur et à mesure, au point de ne plus pouvoir être entièrement satisfaite. Pour certains malades et parents, une psychothérapie fit suite à ces échanges. Mais, les services de cancérologie français ne recrutaient pas de psychiatres ou de psychologues. En l'absence de structures adaptées, c'était à l'hématologue qu'était impartie la lourde tâche du soutien psychologique. Le travail de Nicole Alby pouvait aider les équipes soignantes à mieux comprendre les comportements des patients et ainsi à faciliter leur communication³.

Le témoignage du chercheur américain Robert Gallo (né en 1937) laisse toutefois penser que la situation américaine ne correspondait pas tout à fait à la vision idyllique - ou alarmiste - de Nicole Alby. L'intérêt de Robert Gallo pour la recherche sur le cancer trouvait son origine dans la leucémie de sa sœur cadette. Entré au National Cancer Institute en 1965, il passa six mois dans le service des leucémies pédiatriques : « Non seulement nous ne devons pas exposer nos faiblesses et insuffisances aux parents des patients quand les traitements n'avaient pas d'effet, mais c'était aussi nous qui leur annonçons la terrible nouvelle quand un gamin mourait, ce qui se produisait souvent. Ces expériences nous affectaient tous, certains plus que d'autres. Un collègue se sauvait littéralement du service en courant dès qu'une crise

¹ Alby N., Alby J.M., Chassigneux J., *Aspects psychologiques de l'évolution et du traitement des leucémiques, enfants et jeunes adultes, dans un centre spécialisé*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 577-588, 1967.

² Patterson J., *The dread disease : cancer and modern american culture*, Harvard University Press, Cambridge, 1987, p. 270-271.

³ Alby N., Alby J.M., Chassigneux J., *Aspects psychologiques de l'évolution et du traitement des leucémiques, enfants et jeunes adultes, dans un centre spécialisé*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 577-588, 1967.

paraissait imminente chez un de ses malades et laissait les confrères s'en occuper. Nous le détestions pour cela, mais, d'une certaine façon, le comprenions. Un autre se rendit dans un hôtel proche et se suicida à la morphine. Ce fut ma dernière participation directe à la médecine clinique. »¹.

Classification et physiopathologie des leucémies

Cytologie, cytochimie et cytopathologie des cellules leucémiques

L'unité de cytologie, regroupant en 1964 Jean-Paul Lévy et Pierre Lortholary, avait une double mission de routine et de recherche. D'une part, elle était chargée de l'examen des hémogrammes, myélogrammes, adénogrammes, et splénogrammes prélevés aux malades. D'autre part, elle avait pour tâche d'améliorer le classement des cellules leucémiques, par l'étude des cellules de nouvelles formes cliniques et par le réexamen, à l'aide de nouvelles techniques, de types de leucémies plus classiques². A partir de 1970, ces fonctions furent assurées par une nouvelle équipe formée par Georges Flandrin et Thérèse Daniel³. D'autres membres de l'IRLMS participèrent aux études cytologiques et cytochimiques, en particulier Joseph Tanzer. Quant à l'unité de cytopathologie, chargée de l'examen au microscope électronique des cellules pathologiques, elle était sous la responsabilité de Jacques-Louis Binet, le fils du physiologiste Léon Binet. Il avait choisi l'hématologie au moment de son internat par goût pour le microscope et la morphologie. Après trois ans de service militaire en Algérie, il était entré dans le service de Jean Bernard. Il y travaillait le matin et, tous les après-midi, sauf les jours où il était de garde, il rejoignait le laboratoire de Marcel Bessis. Le soir, il retournait voir ses malades à l'Hôpital Saint-Louis. Sa thèse, réalisée sous la direction de Georges Mathé, avait porté sur la réaction du greffon contre l'hôte. Elle lui valut la médaille d'or, ce qui lui permit de prolonger d'un an son internat. Marcel Bessis l'envoya ensuite à New York chez le morphologiste George Palade. A son retour, il fut nommé chef de clinique chez Jean Bernard et eut sur place son propre laboratoire de recherches, lequel était équipé d'un microscope électronique. Il chercha alors à affiner la classification des leucémies à l'aide de la microscopie électronique. Mais, déçu par la faiblesse des résultats obtenus dans ce domaine, il se spécialisa, vers 1963, dans l'étude des lymphocytes et de la leucémie lymphoïde chronique. En 1968, il fut nommé professeur d'hématologie à l'Hôpital de La Salpêtrière⁴.

En 1964, Jean Bernard s'interrogea de nouveau sur la possibilité de fonder le pronostic et le traitement des leucémies sur un classement cytologique. L'effort de classement était initialement justifié par le fait que le même type cellulaire prédominait généralement tout au long de l'évolution de la maladie. L'intérêt du diagnostic cytologique était cependant limité parce qu'il devenait très difficile à établir lorsqu'un traitement avait déjà été administré et parce que d'assez nombreux leucémiques arrivaient dans les services d'hématologie après quelques jours voire quelques semaines de traitement.

En supposant ce dernier problème résolu par une meilleure information des médecins généralistes, restait à savoir quelle était la fréquence des diagnostics faciles. Selon Jean

¹ Gallo Robert, *Chasseur de virus*, Editions Robert Laffont, Paris, 1991, p. 48 et 65.

² Fonds IUH, article 1, note concernant l'IRLMS, 1964.

³ Fonds IUH, article 1, rapport d'activité de l'UER pour 1971 ; article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1971.

⁴ Entretien avec Jacques-Louis Binet, 26.11.1998.

Bernard, un binôme de cytologistes entraînés utilisant la méthode de coloration classique de May-Grunwald-Giemsa, reconnaissait sans hésitation le type lymphoblastique ou myéloblastique dans 80 % des leucémies aiguës non traitées. Etant donné que les leucémies aiguës lymphoblastiques et les leucémies aiguës myéloblastiques répondaient différemment aux traitements disponibles, l'utilité de leur distinction était désormais établie : « Ni péremptoire, ni sceptique, mais attentif, le cytologiste peut, dans la grande majorité des cas, mais non dans tous, assumer sa responsabilité qui est grande et orienter utilement la thérapeutique. ».

Les 20 % de leucémies aiguës de diagnostic difficile correspondaient à des cellules peu caractéristiques. Les cellules blastiques granuleuses étaient particulièrement difficiles à identifier, surtout les cellules de la lignée monocyttaire. Peu de différences distinguaient les monoblastes des monocytes. Ce problème était renforcé par « les fantaisies de certains langages hématologiques qui permett(ai)ent à chaque auteur d'avoir son monoblaste personnel. ». Le cas des cellules blastiques agranuleuses était encore plus complexe. Selon les auteurs, il s'agissait de lymphoblastes altérés, de cellules indifférenciées ou de myéloblastes « camouflés » (aux granulations cachées). Pour découpler la question de la classification cytologique de celle de la leucopoïèse certains laboratoires avaient d'ailleurs adopté une nomenclature numérique (cellule leucémique de type I, II, III, etc.) indépendante de la classification des cellules « normales ».

Pour augmenter l'efficacité du diagnostic, en s'attaquant aux leucémies de diagnostic ambigu et en définissant des sous-classes de leucémies lymphoblastiques et myéloblastiques, la méthode de coloration classique avait donc atteint ses limites.

L'amélioration de la classification des leucémies nécessitait de recourir à d'autres méthodes. Deux techniques furent utilisées en ce sens. Tout d'abord, l'examen au microscope électronique permit parfois d'observer, dans des cellules peu différenciées, des granulations, petites et peu nombreuses, mais caractéristiques de la lignée myéloblastique. Toutefois, cet appareil était de maniement trop complexe pour être utilisé en routine. L'autre voie était celle de la cytochimie, c'est à dire la recherche d'activités enzymatiques dans les cellules, en général, peroxydase et phosphatase alcaline. Ces méthodes très simples permettaient de reconnaître des « micro-myéloblastes ». Pourtant, elles ne faisaient pas l'unanimité dans la communauté des hématologistes : « les méthodes cytochimiques sont tenues pour fondamentales par les uns, pour absolument inutiles pour les autres. »¹.

Cytochimie des leucémies aiguës

De très nombreuses études avaient été consacrées, depuis le début du siècle, aux enzymes des leucocytes normaux et leucémiques. Entre 1962 et 1965, les chercheurs de l'IRLMS examinèrent les blastes de 100 leucémies aiguës à l'aide de techniques cytochimiques suffisamment simples pour être éventuellement utilisées en routine : la phosphatase alcaline, les peroxydases et l'estérase non spécifique².

¹ Bernard J., Les variétés cellulaires des leucémies aiguës, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 4 (6) : 735-738, 1964.

² Tanzer J., Hampe A., Bensimon P., Boiron M., Bernard J., *L'évaluation cytochimique de la phosphatase alcaline leucocytaire dans la leucémie myéloïde chronique. Son intérêt pratique*, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 5 (6) : 873-879, 1965. Tanzer J., Lortholary P., Lejeune F., Hampe A., Boiron M., Bernard J., *Intérêt des techniques cytochimiques pour l'étude des modifications de l'équipement enzymatique des leucocytes au cours des leucémies*, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 6 (2) : 317-330, 1966.

La technique de mise en évidence de la phosphatase alcaline employée à l'IRLMS était proche de celle utilisée par L. Kaplow en 1955¹ et modifiée par Frank Hayhoe (né en 1920), du Downing College à Cambridge, et Dennis Quaglino, de Modène (Italie), en 1964². Cette méthode consistait à apprécier sur frottis le précipité brun se formant au niveau du cytoplasme des polynucléaires neutrophiles matures. Ce précipité résultait de la réaction entre le naphthol libéré par l'enzyme à partir de l' α -naphtylphosphate de sodium et d'un colorant diazoïque, le « Fast blue ». La coloration des noyaux par le vert de méthyle aidait à reconnaître les diverses variétés cellulaires. Les polynucléaires neutrophiles étaient examinés à l'immersion et l'importance du précipité était « chiffrée » pour chacun d'entre eux entre 0 et 4. La somme des résultats pour 100 polynucléaires constituait l'indice d'activité phosphatasique ou « score » de Kaplow. L'indice pouvait donc varier théoriquement de 0 à 400³. Cette méthode semi-quantitative donnait des résultats concordant avec ceux des techniques de dosage biochimique employées, en 1957, par l'équipe de William Moloney, au Boston City Hospital⁴.

Pour les peroxydases, ils utilisèrent une méthode basée sur les travaux de G. Gomori, en 1953, et évaluant l'activité peroxydase immédiate⁵ ainsi que la méthode de la réaction retardée employée par E. Undritz en 1963⁶. Le principe était le même que pour la phosphatase alcaline : 100 cellules étaient examinées et assorties chacune d'une valeur comprise entre 1 et 3 reflétant l'intensité de la réaction⁷. Quant à l'estérase non spécifique, elle fut testée à l' α -naphtylacétate, suivant une technique utilisée par Frank Hayhoe. Les valeurs attribuées aux 100 cellules observées étaient dans ce cas 1 ou 2⁸.

Par rapport aux scores moyens, retrouvés à l'examen de 50 sujets normaux, les leucoblastes des leucémies aigus conservaient certaines activités enzymatiques typiques des leucocytes normaux, comme l'activité peroxydase dans la lignée granuleuse ou l'activité estérase dans la série « réticulo-histiomonocytaire ». L'interprétation des résultats obtenus avec la phosphatase alcaline était plus délicate. Il semblait que, contrairement à ce qu'avaient annoncé d'autres équipes, cette activité n'était pas systématiquement diminuée dans les leucémies aiguës myéloblastiques ni systématiquement augmentée dans les leucémies aiguës lymphoblastiques⁹.

¹ Kaplow L., *A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow*, Blood, 10 : 1023, 1955.

² Hayhoe F., Quaglino D., Doll R., *The cytology and cytochemistry of acute leukaemias. A study of 140 cases*, HMSO, London, 1964.

³ Tanzer J., *Evaluation cytochimique des phosphatases alcalines des polynucléaires neutrophiles*, Path. Biol., 11 : 242, 1963. Tanzer J., Hampe A., Bensimon P., Boiron M., Bernard J., *L'évaluation cytochimique de la phosphatase alcaline leucocytaire dans la leucémie myéloïde chronique. Son intérêt pratique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (6) : 873-879, 1965.

⁴ Kenny J., Moloney W., *Leukocytic alkaline phosphatase. Behavior during prolonged incubation in normal and leukemic leukocytes*, Blood, 12 : 295, 1957.

⁵ Gomori G., *Chloroacetyl esters as histochemical substrates*, J. Histochem. Cytochem., 1 : 469, 1953.

⁶ Undritz E., *Die Peroxydase-reaktionen und ihre praktische Bedeutung*, Zyto : Histochemie in der Hämatologie, Springer, Berlin, 1963.

⁷ Lortholary P., Lejeune F., Bonhomme J., Teillet F., Tanzer J., Boiron M., *Contribution à l'étude cytochimique des leucémies aiguës dites à cellules monocytoides (A propos de 26 observations)*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 711-720, 1967.

⁸ Tanzer J., Lortholary P., Lejeune F., Hampe A., Boiron M., Bernard J., *Intérêt des techniques cytochimiques pour l'étude des modifications de l'équipement enzymatique des leucocytes au cours des leucémies*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 6 (2) : 317-330, 1966. Lortholary P., Lejeune F., Bonhomme J., Teillet F., Tanzer J., Boiron M., *Contribution à l'étude cytochimique des leucémies aiguës dites à cellules monocytoides (A propos de 26 observations)*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 711-720, 1967.

⁹ Tanzer J., Hampe A., Bensimon P., Boiron M., Bernard J., *L'évaluation cytochimique de la phosphatase alcaline leucocytaire dans la leucémie myéloïde chronique. Son intérêt pratique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (6) : 873-879, 1965. Tanzer J., Lortholary P., Lejeune F., Hampe A., Boiron M., Bernard J., *Intérêt des techniques*

L'étude des enzymes leucocytaires se heurtait à trois types de difficultés. Tout d'abord, la complexité biochimique de ce type de cellules sanguines ne permettait pas d'isoler un enzyme prédominant. Certains auteurs pensaient que les leucocytes renfermaient l'équipement enzymatique le plus complet découvert jusqu'alors dans les cellules vivantes. Toutes les voies métaboliques connues y avaient été retrouvées. Il n'était donc permis d'espérer que des différences quantitatives. Ensuite, il était difficile de séparer entre eux les monocytes, les lymphocytes, les granulocytes, sans parler des leucoblastes, et donc de connaître précisément leurs différences métaboliques. Enfin, l'activité enzymatique de ces cellules variait considérablement suivant leur état physiologique¹. Tous les auteurs obtenaient des résultats très hétérogènes, avec une grande dispersion autour de la moyenne². Pour Jacques Bousser, le chef du Service d'hématologie de l'Hôtel-Dieu (Paris) et ses collaborateurs, la grande variabilité des résultats était liée aux « facteurs subjectifs d'appréciation personnelle », importante source d'erreur que même les méthodes semi-quantitatives d'évaluation des positivités au moyen de « scores » ou index ne suffisaient pas à supprimer. Ces techniques avaient, selon eux, une « reproductibilité médiocre », même lorsqu'elles étaient utilisées deux fois de suite par le même observateur³.

Les chercheurs de l'IRLMS ne semblent pas avoir publié d'autres travaux sur ce sujet au cours des années 1960. Ils ont cependant poursuivi leurs recherches cytochimiques puisque Thérèse Daniel, Georges Flandrin et Janine Dumont écrivirent en 1969 que la réaction des peroxydases et la coloration au PAS de mise en évidence de la phosphatase alcaline s'étaient montrées utiles pour diagnostiquer la forme lymphoblastique ou myéloblastique de certaines leucémies aiguës⁴.

Cytochimie des leucémies à cellules monocytoïdes

En 1967, les membres de l'IRLMS étudièrent 26 cas de leucémies aiguës avec éléments monocytoïdes par la coloration May-Grunwald-Giemsa et par quatre techniques cytochimiques, les trois utilisées précédemment plus la coloration par le Noir Soudan B selon une technique également empruntée à Frank Hayhoe et Dennis Quaglino, avec un indice variant de 0 à 3.

La combinaison des données cytologiques et cytochimiques permit de définir trois groupes. Le premier groupe (6 cas) était caractérisé par une blastose massive, des activités peroxydasique et Soudan B quasi-nulles, une activité estérase non spécifique très élevée, une activité phosphatase alcaline souvent positive avec des granules toujours dispersés et un aspect cytologique de leucémie « monoblastique ». Le deuxième groupe (8 cas) était caractérisé, premièrement, par la présence massive dans la moelle et généralement dans le sang de cellules à activité peroxydase très importante et le demeurant à la réaction retardée de E. Undritz, deuxièmement par l'absence d'activité estérase non spécifique et d'activité phosphatase alcaline. Ces critères correspondaient à ceux admis comme caractéristiques du

cytochimiques pour l'étude des modifications de l'équipement enzymatique des leucocytes au cours des leucémies, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 6 (2) : 317-330, 1966.

¹ Vergnes H., *Les enzymes des leucocytes*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 6 (2) : 301-316, 1966.

² Tanzer J., Hampe A., Bensimon P., Boiron M., Bernard J., *L'évaluation cytochimique de la phosphatase alcaline leucocytaire dans la leucémie myéloïde chronique. Son intérêt pratique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (6) : 873-879, 1965.

³ Guillermin M., Smadja R., Zittoun R., Bilsky-Pasquier G., Bousser J., *Modifications cytochimiques au cours de l'évolution des leucémies aiguës*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (4) : 557-559, 1967.

⁴ Daniel T., Flandrin G., Dumont J., *Modifications cellulaires des leucémies aiguës sous traitement*, Actualités hématologiques, 3 : 183-190, 1969.

myéloblaste. Le troisième groupe (12 cas) était défini par la coexistence des deux types cellulaires précédemment décrits.

Cette étude montra donc que beaucoup des leucémies aiguës dites « à éléments monocytoïdes » étaient des leucémies myéloblastiques « banales ». Elle apporta, en outre, des arguments à l'individualisation cytologique de la leucémie dite « à monoblastes » et à l'existence d'une « monocytose vraie transitoire » au début de certaines leucémies à myéloblastes. Ces résultats avaient peu d'importance pratique, les leucémies granuleuses étant toutes traitées de la même façon. Ils avaient surtout une importance théorique parce que les relations de parenté entre le monoblaste, le myéloblaste, l'histiocyte et le monocyte étaient encore débattues¹.

Cytologie et cytochimie des leucémies traitées par la rubidomycine

En 1969, Thérèse Daniel, Georges Flandrin et Janine Dumont étudièrent 38 leucémies aiguës (10 lymphoblastiques et 28 myéloblastiques) choisies au hasard parmi celles traitées par la rubidomycine seule ou en association. Un examen cytologique et cytochimique du sang et de la moelle fut réalisé avec les prélèvements du suivi thérapeutique. Le but de l'opération était de trouver des critères de distinction entre les deux formes cytologiques de la maladie en cours de traitement. Ceci parce que la rubidomycine provoquait parfois des modifications cytologiques brouillant la distinction établie chez les leucémies aiguës vierges de toute chimiothérapie. Certes une augmentation de taille du cytoplasme et l'apparition de vacuoles, précédant la lyse cellulaire, n'était visible que dans les formes myéloblastiques, mais, dans les deux cas, il était possible d'observer l'apparition de gigantoblastes, avec ou sans granules et parfois éosinophiles.

L'étude des modifications cytochimiques dues au traitement permit seulement de conclure à l'absence de changement dans les leucémies aiguës à blastes non granuleux et faiblement positifs au test des peroxydases (voir annexe 49 et 50).

Si ce travail ne permit pas de trouver des critères universels de distinction entre la leucémie aiguë lymphoblastique et la leucémie aiguë myéloblastique traitées, il confirma l'existence de changements de type cytologique ou cytochimique des globules blancs en cours de traitement².

Caractérisation de formes particulières de leucémie

Les leucémies à promyélocytes

En 1964, Jean Bernard et Michel Boiron apportèrent leur contribution à la définition des leucémies à promyélocytes. Les premières observations de ce nouveau type cytologique de leucémie avaient été rapportées en 1957. Le promyélocyte, caractérisé par un mélange de granulations azurophiles et neutrophiles, était perçu par une partie des hématologistes comme un stade cellulaire marqué par la transformation des granulations azurophiles en granulations neutrophiles. L'abondance des granulations et sa taille généralement plus importante,

¹ Lortholary P., Lejeune F., Bonhomme J., Teillet F., Tanzer J., Boiron M., *Contribution à l'étude cytochimique des leucémies aiguës dites à cellules monocytoïdes (A propos de 26 observations)*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 711-720, 1967.

² Daniel T., Flandrin G., Dumont J., *Modifications cellulaires des leucémies aiguës sous traitement*, Actualités hématologiques, 3 : 183-190, 1969.

distinguaient le promyélocyte leucémique du promyélocyte normal. Pour d'autres spécialistes, ce type cellulaire correspondait à un artéfact de coloration ou à des myéloblastes altérés.

Jean Bernard et Michel Boiron considéraient la leucémie à promyélocytes avérée pour un taux de promyélocytes médullaires de 80 à 100 %, ce qui la distinguait des leucémies aiguës myéloblastiques et des transformations aiguës de leucémie myéloïde chronique. La moelle était généralement riche en promyélocytes dans certaines aplasies médicamenteuses mais il s'agissait alors de cellules saines et d'un phénomène temporaire.

Cette forme cytologique, peu fréquente et apparemment propre à l'espèce humaine, correspondait à une forme clinique très hémorragique, caractérisée en particulier par des ecchymoses très étendues et une grande fibrinopénie, très difficiles à corriger par l'injection de fibrinogène. Ce type de leucémie était également peu sensible aux médicaments spécifiques de la prolifération maligne ; à l'Hôpital Saint-Louis, trois rémissions seulement avait été obtenues¹.

Les leucémies du nouveau-né

En 1964, Jean Bernard, François Chavelet et Claude Jacquillat cherchèrent des points communs entre les leucémies décrites au cours de la première semaine de la vie. Ils en recensèrent 60 cas dans la littérature. La première publication datait de 1905 mais la plupart des cas avaient été décrits entre 1952 et 1964.

La fréquence générale de la leucémie semblait extrêmement faible dans cette tranche d'âge. La maladie n'en était pas moins grave ; il y avait 20 % de décès au cours de la première semaine, 4 % de survie à trois mois et la durée moyenne de la maladie était de trois semaines. Les manifestations cliniques essentielles étaient une hépato-splénomégalie (présente dans 85 % des cas), un purpura généralisé et de petites tumeurs cutanées (dans 80 % des cas). Du point de vue hématologique, ces leucémies du nouveau-né présentaient des désordres leucocytaires assez spéciaux. L'hyperleucocytose était très fréquente et importante, des cellules anormales étaient constamment présentes dans le sang. 60 % des cas étaient des leucémies aiguës myéloblastiques, moins de 10 % étaient des leucémies aiguës lymphoblastiques. Les autres cas, sans hiatus leucémique, ressemblaient à une transformation aiguë de leucémie myéloïde chronique.

Les essais thérapeutiques avaient été peu nombreux ; ils s'étaient limités à de la radiothérapie splénique et à des transfusions. Jean Bernard et ses collaborateurs avaient tenté des exsanguino-transfusions, mais celles-ci parvinrent seulement à abaisser temporairement le taux de leucoblastes. Dix de leurs patients furent ensuite traités avec des corticoïdes, seuls ou associés à la 6-mercaptopurine. Une seule rémission complète, d'un mois, fut obtenue.

Du point de vue étiologique, le fait le plus remarquable était que 15 % de ces leucémies néonatales survenaient chez des mongoliens. Joseph Tanzer rechercha des anomalies chromosomiques chez les quatre derniers nouveaux-nés leucémiques vus à l'Hôpital Saint-Louis. Il n'en trouva pas. Michel Boiron, Jean-Paul Lévy et Carmen Bernard cherchèrent des virus dans leurs cellules, mais là aussi sans succès. Jean Bernard et ses collaborateurs jugeaient important de séparer les leucémies de la première semaine de celles du premier trimestre, premièrement, parce que leur précocité excluait une étiologie post-natale, deuxièmement, parce qu'elles étaient plus rares, troisièmement, parce qu'elles existaient chez les bovins mais pas chez la souris².

¹ Bernard J., Boiron M., *Les leucémies à promyélocytes*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (1) : 11-14, 1964.

² Bernard J., Chavelet F., Jacquillat C., *Les leucémies du nouveau-né. A propos de 4 observations*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (1) : 125-140, 1964.

Caractérisation de périodes de l'évolution leucémique

Stades initiaux

L'étude du début de la leucémie visait à en faciliter le diagnostic précoce. L'expérience accrue de Jean Bernard confirma la possible localisation des premiers désordres anatomiques à des territoires hématopoïétiques restreints. Deux observations recueillies à l'Hôpital Saint-Louis au début des années 1960 illustraient parfaitement ce fait. Un garçon de 12 ans fut soigné pour une tumeur du testicule, un an avant que se manifeste sa leucémie. Une patiente de 13 ans eut un lymphoblastome du cuir chevelu alors que son sang et sa moelle étaient normaux. La tumeur fut enlevée mais il y eut une rechute locale un an plus tard, toujours sans anomalie hématologique. La rechute fut traitée par radiothérapie et ce n'est qu'un an après que la leucémie fut diagnostiquée.

L'autre forme de début ambigu de la leucémie, par une période apparemment non leucémique, fut attestée par de nouvelles observations. Sa fréquence n'était pas négligeable ; Jean Bernard en avait compté 14 sur 340 cas personnels soit 4 %. Cette phase préleucémique pouvait être hémolytique, hypoplasique ou érythroblatique. Elle existait aussi chez l'animal. Parfois, plusieurs épisodes de pancytopenie se succédaient avant que la leucémie ne se déclare. La régression spontanée ou sous corticothérapie d'une cytopénie devait, selon Jean Bernard, faire suspecter une phase préleucémique.

La mort des leucémiques

Les causes immédiates de la mort, qui avait déjà été étudiées chez les leucémiques avant l'ère thérapeutique, firent l'objet d'un nouvel examen chez les malades traités par chimiothérapie au cours des années 1960. L'étude porta sur 69 patients du service de Jean Bernard autopsiés à l'Hôpital Saint-Louis.

Assez souvent, l'autopsie ne permit pas de confirmer le diagnostic. Les lésions leucémiques furent trouvées importantes dans 51 % des cas, modérées dans 30 % et absentes dans 19 %. Jean Bernard distingua 3 types de morts « mystérieuses » : les fièvres mortelles, très élevées, apparemment sans septicémie ni lésions leucémiques, les insuffisances sanguines de nature mal connue et les décès *a priori* tout à fait inexplicables, qui faisaient dire que certains leucémiques mourraient guéris, mais dont l'explication se trouvait parfois dans l'examen anatomique du système nerveux¹.

Recherches étiologiques et épidémiologiques

Au milieu des années 1960, l'étiologie des leucémies se répartissait entre les virus, les chromosomes et la géographie.

¹ Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielolinfoproliferative, Milan, 1966.

Cytogénétique

Les chromosomes devinrent un véritable objet d'étude pour les médecins vers 1960. Des anomalies de la mitose et des variations du nombre de chromosomes étaient connues depuis le 19^{ième} siècle. Mais les généticiens tenaient pour variable le nombre de chromosomes dans les cellules somatiques. Ce n'est qu'à la fin des années 1950 que la constance du nombre et de la forme des chromosomes des cellules somatiques fut établie chez les mammifères. La nomenclature des chromosomes humains fut fixée vers 1960 ; la recherche d'anomalies devint simultanément possible¹.

La cytogénétique des leucémies prit rapidement deux directions, celle de l'étude de la fréquence des leucémies chez les sujets porteurs d'anomalies « chromosomiales » (chromosomiques) et celle de la recherche d'anomalies dans les chromosomes des leucémiques.

En 1959, Jérôme Lejeune et Raymond Turpin², à l'Institut de Progénèse de l'Hôpital Trousseau (Paris), mirent en évidence un lien entre le mongolisme et la présence chez les malades de trois chromosomes 21³. Or, la fréquence élevée des leucémies aiguës chez les mongoliens, soupçonnée par Jean Bernard et Georges Mathé en 1955, commençait à être affirmée statistiquement⁴.

Ces données stimulèrent la recherche d'associations entre la leucémie et d'autres aberrations chromosomiques. En 1961 et 1962, six publications firent état de cas de leucémie chez des patients atteints du syndrome de Klinefelter, dû à une anomalie numérique des chromosomes sexuels et caractérisé par la présence d'un chromosome Y et de plusieurs chromosomes X⁵.

La relation privilégiée entre mongolisme et leucémie favorisa parallèlement l'examen des chromosomes des leucémiques. Les premières anomalies chromosomiques dans les leucémies humaines furent mises en évidence, entre 1958 et 1960, par les équipes de Charles Ford, à la Radiobiological Research Unit de Harwell (Berks, Royaume-Uni), de Laszlo Lajtha (né en 1922), au Radiobiology Laboratory du Churchill Hospital à Oxford, de Peter Nowell à l'Université de Philadelphie, de Raymond Turpin et de Avery Sandberg (né en 1921), au Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, Etat de New York)⁶. Ces équipes avaient examiné

¹ Ford C., *Chromosomes et leucémie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (2) : 165-171, 1961.

² Pour une histoire des travaux de l'équipe de Raymond Turpin sur l'hérédité des maladies voir Gaudillière J.P., *Inventer la biomédecine*, Editions La Découverte, Paris, 2002.

³ Lejeune J., Gauthier M., Turpin R., *Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens*, C. R. Acad. Sci., 248 : 1721, 1959.

⁴ Krivit W., Good R., *Simultaneous occurrence of mongolism and leukemia*, Am. J. Dis. Child., 94 : 289, 1957. Stewart A., Webb J., Hewitt H., *A survey of childhood malignancies*, Brit. Med. J., 1 : 1495, 1958. Wald N., Borges W., Li C., Turner J., Harnois M., *Leukemia associated with mongolism*, Lancet, 1 : 1228, 1961. Articles cités par Bousser J., Tanzer J., *Syndrome de Klinefelter et leucémie aiguë. A propos d'un cas*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (2) : 194-197, 1963.

⁵ Bousser J., Tanzer J., *Syndrome de Klinefelter et leucémie aiguë. A propos d'un cas*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (2) : 194-197, 1963.

⁶ Nowell P., Hungerford D., Brooks C., *Chromosomal characteristics of normal and leukaemic human leucocytes after short-term tissue culture*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 2 : 331, 1958. Ford C., Jacobs P., Lajtha L., *Human somatic chromosomes*, Nature, 181 : 1565, 1958. Baikie A., Court Brown W., Jacobs P., Milne J., *Chromosome studies in human leukaemia*, Lancet, 2 : 425, 1959. Lejeune J., Gautier M., Turpin R., *Etudes des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens*, C. R. Acad. Sci., 248 : 1721, 1959. Baikie A., Court Brown W., Buckton K., Hamden D., Jacobs P., Tough I., *A possible specific chromosome abnormality in human chronic myeloid leukaemia*, Nature, 188 : 1165, 1960. Baikie A., Court Brown W., Jacobs P., *Chromosome studies in leukaemia*, Lancet, 1 : 168, 1960. Bayreuther K., *Chromosomes in primary neoplastic growth*, Nature, 186 : 6, 1960. Ford C., *The chromosomes of normal human somatic and leukaemic cells*, Proc. Royal Soc. Med., 53 : 491, 1960. Nowell P., Hungerford D., *Chromosome studies on normal and leukaemic human leucocytes*, J.

les chromosomes de 43 leucémiques et observé 11 anomalies dans les 24 leucémies aiguës, trois anomalies dans les 12 leucémies myéloïdes chroniques et une anomalie dans les sept leucémies lymphoïdes chroniques concernées. Ces anomalies consistaient en des pertes ou des gains de chromosomes et en des « modifications morphologiques » (translocations, inversions, duplications et délétions). La principale question que se posait Charles Ford en 1961 était de savoir si ces anomalies apparaissaient au hasard ou préférentiellement dans certaines zones de certains chromosomes¹. Deux ans plus tard, les chromosomes d'autres leucémiques avaient été examinés par les équipes déjà citées et une dizaine d'autres, dont deux équipes françaises, celle de Jacques Ruffié, au Centre de Transfusion sanguine du CHU de Purpan à Toulouse, et celle de Jean de Grouchy (né en 1926), à l'Unité de génétique médicale dirigée par Jean Frezal (né en 1922) à l'Hôpital Necker et étroitement liée à la Clinique de génétique médicale de Maurice Lamy². Concernant les leucémies aiguës, les études avaient surtout porté sur la forme myéloblastique. Dans la plupart des cas, aucune anomalie ne fut décelée. Toutefois, des variations du nombre ou de la structure des chromosomes furent trouvés occasionnellement et la perte d'un petit chromosome acrocentrique, appartenant probablement à la paire 21, fut signalée à plusieurs reprises dans une dizaine de cas. Ce type d'anomalie fut aussi décrit à la même époque dans des leucémies myéloïdes chroniques³.

Ces observations suggérèrent des hypothèses physiopathologiques et étiologiques. Dès 1961, les anomalies du chromosome 21 décrites dans des leucémies aiguës et chroniques firent soupçonner l'existence, sur cet autosome, d'un ou plusieurs loci impliqués dans la leucopoïèse⁴. Rapidement, cette hypothèse se nourrit d'autres arguments : la déviation constante à gauche de l'indice d'Arneith de segmentation des granulocytes chez les mongoliens, un taux anormalement élevé de phosphatase alcaline dans les leucocytes des trisomiques, la délétion d'un fragment du chromosome 21 dans la plupart des leucémies chroniques, l'absence complète d'un chromosome 21 dans deux cas de leucémie aiguë myéloblastique et l'existence d'une anomalie de ce chromosome chez les membres d'une famille comprenant plusieurs cas de leucémie lymphoïde chronique⁵.

Jérôme Lejeune pensait que le déclenchement de la leucémie résultait d'un processus chromosomique en deux étapes. La perte d'un chromosome 21 provoquait, selon lui, une « instabilité caryotypique » tendant à provoquer l'accumulation progressive de chromosomes surnuméraires. Jacques Ruffié semblait adhérer à cette hypothèse : « les variations numériques et en apparence non systématisées décrites par divers auteurs dans les leucémies aiguës pourraient constituer en réalité diverses étapes de ce processus d'hyperploïdisation progressive que seule l'étude d'un nombre très élevé de cellules, à un moment donné de

Nat. Cancer Inst., 25 : 85, 1960. Sandberg A., Koepf G., Grosswhite L., Hauschka T., *The chromosome constitution of human marrow in various developmental and blood disorders*, Am. J. Human Genetics, 12 : 231, 1960. Articles cités par Ford C., *Chromosomes et leucémie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (2) : 165-171, 1961.

¹ Ford C., *Chromosomes et leucémie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (2) : 165-171, 1961.

² Archives de l'INSERM, Rapport d'activité de l'unité U12 pour 1960, Cote 9203-24. Pour une histoire des travaux de l'équipe de Maurice Lamy sur l'hérédité des maladies voir Gaudillière J.P., *Inventer la biomédecine*, Editions La Découverte, Paris, 2002.

³ Ruffié J., *Modification des cellules sanguines dans les cellules des leucémies aiguës*, séance de la Société française d'hématologie, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (6) : 830-840, 1963.

⁴ Ford C., *Chromosomes et leucémie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (2) : 165-171, 1961.

⁵ Turpin R., Bernyer G., *De l'influence de l'hérédité sur la formule d'Arneith (cas particulier du mongolisme)*, Rev. Hémat., 2 : 189, 1947. Alter A., Stanley L., Pourfar M., Dobkin G., *Leukocyte alkaline phosphatase in mongolism ; a possible chromosome marker*, J. Clin. Invest., 6 : 1341, 1962. Ruffié J., Lejeune J., *Deux cas de leucémie aiguë myéloblastique avec cellules sanguines normales et cellules haplo 21 (ou 22)*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 7 : 644, 1962. Gunz F., Fitzgerald P., Adams A., *An abnormal chromosome in chronic lymphocytic leukemia*, Brit. Med. J., 2 : 1097, 1962. Articles cités par Bousser J., Tanzer J., *Syndrome de Klinefelter et leucémie aiguë. A propos d'un cas*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (2) : 194-197, 1963.

l'évolution, permet de suivre avec régularité. ». Jean Bernard semblait, quant à lui, en douter en raison de l'absence d'anomalies chromosomiques spécifiques dans les leucémies murines¹. Quant à Jean de Grouchy, il irradija, en 1963, des cellules normales et obtint des remaniements chromosomiques déjà observés dans des cellules cancéreuses, ce qui le conduisit à favoriser l'hypothèse de l'origine chromosomique de la carcinogénèse².

En 1963, Joseph Tanzer, de l'IRLMS, examina les cellules d'un patient de Jacques Bousser, chef du service d'hématologie de l'Hôtel-Dieu (Paris). Plus précisément, il étudia les appendices nucléaires d'un millier de polynucléaires. Il y trouva huit « drumsticks » (baguettes) et six « nodules sessiles », révélant une « aberration gonosomique de type XXY ». D'autres auteurs avaient décrit ces éléments morphologiques, les baguettes et les nodules, comme représentant, dans les cellules à deux chromosomes X, celui qui était génétiquement inactif. Précisons que chez les patients souffrant de ce syndrome, les différences morphologiques ne se manifestent qu'après la puberté.

Devant l'intérêt étiologique et physiopathologique de l'examen des chromosomes dans les leucémies, Joseph Tanzer et Jacques Bousser préconisèrent de s'attacher, lors de l'examen clinique des leucémiques, à l'étude de toutes les anomalies morphologiques ou intellectuelles pouvant faire penser à une anomalie chromosomique constitutionnelle. Il leur paraissait aussi souhaitable de rechercher les causes de décès dans les instituts regroupant des « oligophrènes » (handicapés mentaux) non mongoliens. Ils recommandèrent également de pratiquer, chez ces patients, un examen systématique de la chromatine des cellules buccales. L'examen systématique du caryotype chez les leucémiques représentait à leurs yeux un idéal encore impossible à atteindre, probablement en raison de la lenteur et de la complexité de cette technique³.

En 1963 également, Joseph Tanzer et des membres du Département d'hématologie expérimentale analysèrent les chromosomes de cellules de rein de singe infectées par le virus de l'herpès. Ce virus étant très fréquent chez les sujets atteints d'hémopathies malignes, il était soupçonné de jouer un rôle dans la leucémogénèse. Ils constatèrent la présence de cassures chromosomiques dans 30 % des cellules infectées⁴. L'année suivante, ils examinèrent le caryotype de cellules infectées par les virus leucémogènes murins mais aucune atteinte de l'appareil chromosomal ne semble avoir été décelée⁵.

L'année suivante, le cas d'une leucémie aiguë survenue chez une enfant de 5 mois née d'une mère atteinte de leucémie aiguë au moment de l'accouchement fut signalé aux chercheurs de l'IRLMS. La leucémie aiguë lymphoblastique de la mère avait été diagnostiquée au moment de l'accouchement et l'avait emportée cinq mois plus tard. L'enfant eut un développement normal jusqu'au cinquième mois puis présenta également une leucémie aiguë lymphoblastique qui provoqua son décès à l'âge de 10 mois. La littérature comptait alors huit publications consacrées aux liens entre leucémie et grossesse. Ces études concluaient à la haute mortalité fœtale au cours des grossesses de mères leucémiques mais à

¹ Ruffié J., *Modification des cellules sanguines dans les cellules des leucémies aiguës*, séance de la Société française d'hématologie, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (6) : 830-840, 1963.

² Archives de l'INSERM, Rapport d'activité de l'unité U12 pour 1963, Cote 9203-24.

³ Bousser J., Tanzer J., *Syndrome de Klinefelter et leucémie aiguë. A propos d'un cas*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (2) : 194-197, 1963.

⁴ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapport du CRLMS pour 1963. Tanzer J., Thomas M., Stoitchkov Y., Boiron M., Bernard J., *Altérations chromosomiques observées dans des cellules de rein de singe infectées in vitro par le virus de l'herpès*, Ann. Inst. Pasteur, 107 : 366-373, 1964. Boiron M., Tanzer J., Thomas M., Hampe A., *Early diffuse chromosome alterations in monkey kidney cells infected in vitro with herpes simplex virus*, Nature, 209 : 737-738, 1966.

⁵ Fonds IUH, article 162, Association Claude Bernard, Correspondance avec le secrétaire général, projet de brochure pour les dix ans de l'association, 1964.

l'absence de cette pathologie chez les enfants nés de mères malades. Un seul cas comparable au leur, en fait quasiment identique, avait été publié. Trois hypothèses permettaient d'expliquer ces faits. Soit la mère et l'enfant partageaient une même anomalie génétique, soit l'enfant avait été contaminée à la naissance, par un virus ou par des cellules leucémiques.

Joseph Tanzer réalisa des caryotypes de cellules médullaires de l'enfant. Il photographia 50 cellules en métaphase et compta leur nombre de chromosomes. Une seule cellule avait le nombre de chromosomes caractéristique de l'espèce humaine (46). Les autres cellules contenaient un à quatre chromosomes surnuméraires ; 76 % d'entre-elles en avaient deux en trop. Quinze de ces mitoses purent être caryotypées, bien que leur auteur les jugeât de qualité imparfaite. Les éléments surnuméraires des cellules à 48 chromosomes étaient soit un chromosome des paires 13 à 15 et un chromosome des paires 21 ou 22 (voir annexe 51), soit deux chromosomes des paires 21 et 22, soit un chromosome de la paire 21 ou 22 et un tout petit élément, appelé « minute » - ce qui signifie minuscule - par les Anglo-saxons. Parallèlement, Michel Boiron rechercha des virus dans le sang, la moelle osseuse, le liquide céphalo-rachidien et l'urine de l'enfant, en les inoculant à des cellules amniotiques humaines et à des cellules de reins de singe. Ni les études génétiques, ni l'enquête virologique n'apportèrent d'élément décisif¹.

En 1966, la situation avait peu évolué par rapport à 1960. Les leucémies étaient considérées 20 à 30 fois plus fréquentes chez les mongoliens. Des leucémies avaient été observées chez des patients présentant un syndrome de Klinefelter, mais l'incidence de la leucémie chez ces patients demeurait inconnue. L'association systématique d'une anomalie chromosomique et d'une leucémie n'était admise que pour la leucémie myéloïde chronique. Le minuscule chromosome de la paire 21, décrit en 1960 par Peter Nowell et D. Hungerford et nommé Ph1 d'après les 2 premières lettres de Philadelphie, avait été retrouvé dans presque tous les cas de leucémie myéloïde chronique, dans toutes les cellules myéloïdes (granulocytes, érythrocytes, mégacaryocytes) et à tous les stades de l'évolution, sauf pendant les aplasies médicamenteuses graves. La question de savoir s'il s'agissait d'un épiphénomène ou d'un élément étiologique restait ouverte. Dans les leucémies aiguës, les observations avaient été diverses et inconstantes. La seule conclusion qui pouvait en être tirée était qu'il y avait davantage de cellules anaploïdes et/ou de chromosomes de structure anormale chez les leucémiques aigus que chez les sujets sains².

En 1967, Jean de Grouchy pensait que les aberrations chromosomiques étaient la voie d'action commune des facteurs carcinogénétiques, tant externes qu'internes, et qu'elles étaient directement responsables de la carcinogénèse. Il pensait également que des remaniements chromosomiques se produisaient en permanence dans les cellules somatiques et que les cellules concernées par une évolution néfaste étaient régulièrement éliminées, sauf dans quelques cas rares où le remaniement conduisait à la constitution d'un clone malin. Avec Cristina de Nava (née en 1938), il étudia ce phénomène chez les cellules normales et en évalua la fréquence à 1 pour 10.000 mitoses³.

¹ Bernard J., Jacquillat C., Chavelet F., Boiron M., Stoitchkov Y., Tanzer J., *Leucémie aiguë chez une enfant de 5 mois née d'une mère atteinte de leucémie aiguë au moment de l'accouchement*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (1) : 140-146, 1964.

² Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielolinfoproliferative, Milan, 1966.

³ Archives de l'INSERM, Rapport d'activité de l'unité U12 pour 1967, Cote 9203-24.

Epidémiologie

Les recherches épidémiologiques avaient deux objectifs principaux : premièrement, apporter des arguments aux hypothèses étiologiques, faisant intervenir les radiations, le benzène, les anomalies chromosomiques ou les virus, deuxièmement, détecter de nouvelles inégalités de fréquence des leucémies humaines pouvant suggérer de nouvelles hypothèses étiologiques.

Radiations

L'effet leucémogène des radiations ionisantes fut soupçonné dès le début du 20^{ième} siècle, la fréquence des leucémies semblant nettement plus importante chez les médecins radiologistes et les physiciens atomiques que dans la population générale. Cette hypothèse fut confirmée pendant la seconde guerre mondiale. Les explosions atomiques de Nagasaki et d'Hiroshima constituèrent une expérimentation à grande échelle sur l'espèce humaine qui permit d'affirmer l'effet leucémogène d'une irradiation totale de l'homme. En effet, après les bombardements, la fréquence des leucémies augmenta dans ces villes et se maintint à un taux anormalement élevé jusqu'en 1951¹.

Les études menées au cours des années 1960 visèrent à préciser dans quelles conditions l'irradiation était susceptible d'engendrer une leucémie. Une dose massive de radiations reçue en une fois *in toto* était jugée clairement leucémogène, de même que des doses modérées reçues *in toto* à maintes reprises pendant plusieurs années. Cette situation concernait non seulement les radiologues et les physiciens mais également les cardiologues ou les urologues, lesquels manipulaient fréquemment des isotopes radioactifs. Par contre, les études portant sur de très fortes doses reçues localement, des doses moyennes appliquées sur une zone modérément étendue, ou encore des doses faibles reçues *in toto* donnèrent des résultats moins nets. Il s'agissait d'enquêtes sur la fréquence des leucémies chez les femmes dont le cancer du col de l'utérus avait été traité par radiothérapie, chez des rhumatisants traités par radiothérapie vertébrale et chez des enfants dont la mère avait eu une radioscopie du bassin lorsqu'elle était enceinte. Dans ces situations, l'irradiation augmentait très légèrement la probabilité de développer une leucémie².

Benzène

Au début des années 1960, Jean Bernard et ses collaborateurs complétèrent l'étude des leucémies benzéniques commencée au cours de la décennie précédente. Entre-temps, ni l'expérimentation animale ni les études de cas n'avaient fourni d'informations supplémentaires. L'enquête porta sur 50 observations de leucémies survenues dans les départements de la Seine, de la Seine-et-Oise et de la Seine-et-Marne, entre 1950 et 1965. Le recensement de ces leucémies benzéniques s'appuya sur six observations publiées, sur les archives hospitalières des services de Jean Bernard, de Jacques Bousser et de M. Gaultier, et surtout sur les dossiers de maladies professionnelles. Il bénéficia en outre de l'aide apportée par les médecins hospitaliers, les médecins de la Sécurité sociale et les médecins du travail.

¹ Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966.

² Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966. Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielo-linfoproliferative, Milan, 1966.

Un certain nombre de cas échappèrent cependant à ce recensement, principalement en raison de l'existence d'une population artisanale non assurée sociale. De plus, le passage de 3 à 10 ans du délai de prise en charge par la Sécurité sociale, après l'arrêt de l'exposition au benzène, rendait la détection des cas de leucémie déclarés avant en 1960 plus difficile. Enfin, pour les leucémies aiguës à début dramatique, les hospitalisations avaient souvent lieu dans l'hôpital le plus proche et pas forcément dans un service d'hématologie.

Les 44 observations inédites se répartissaient en 37 hommes et 7 femmes, 13 leucémies myéloïdes chroniques, comparables à celles observées dans la population générale, 8 leucémies lymphoïdes chroniques, également comparables aux types communs à l'exception de deux formes subaiguës et d'un cas à début aplasique évoluant ensuite comme une leucémie aiguë puis comme une leucémie lymphoïde chronique classique, et 23 leucémies aiguës. Les auteurs confirmèrent, pour ces dernières, la relative faiblesse de la leucoblastose médullaire. Ils dégagèrent deux nouvelles caractéristiques de ces leucémies aiguës benzéniques : elles étaient fréquemment (6 cas) précédées de très longues phases initiales non leucémiques, anémiques ou leuconeutropéniques, et deux leucémies évoluèrent, au moins temporairement comme des érythroleucémies, en conjugant une prolifération de la lignée blanche avec une prolifération de la lignée rouge, ce qui était très rare chez l'homme.

L'inégalité des réponses individuelles à une même exposition fut également retrouvée. Sur les 23 leucémies aiguës, 19 avaient été confrontés à un risque benzénique qualifié de massif, avec des expositions intenses ayant duré en moyenne plus de 5 ans mais, pour les 4 autres, le risque avait été limité, soit en intensité soit en durée.

La durée moyenne entre le diagnostic de leucémie aiguë et la mort était passée, grâce aux progrès thérapeutiques de 3,5 mois à 10 mois. La durée moyenne d'évolution, entre les premiers troubles hématologiques et la mort, avait augmenté de 1,9 à 2,6 ans. Les malades semblaient un peu moins sensibles aux traitements que dans les leucémies de cause inconnue ; seules quatre rémissions complètes avaient été obtenues et uniquement lors de la première évolution.

La mesure de la benzénémie n'avait été faite que chez 19 des patients, tous types de leucémies confondus. Elle était très élevée dans sept cas. Cet examen, lorsqu'il était positif témoignait donc d'une exposition au benzène, d'autant plus importante que le taux était élevé. Par contre, un résultat négatif ne permettait pas d'écarter une exposition au produit. Une étude plus détaillée de la signification de la benzénémie fut jugée nécessaire.

Enfin, Jean Bernard et ses collaborateurs discutèrent le rôle leucémigène du benzène, en comparant, dans la population exposée et dans la population générale, l'incidence de la leucémie, la répartition par âge et par sexe, ainsi que la symptomatologie.

Une étude réalisée en Grande-Bretagne par E. Vigliani montrait que la fréquence des leucémies dans population exposée au benzène était 20 fois supérieure à celle observée dans la population générale. En France, la population exposée au benzène était très mal connue. Jean Bernard et ses collaborateurs estimèrent le nombre d'ouvriers du benzène à environ 15.000, en se basant, d'une part, sur le nombre de travailleurs de l'industrie du collage d'imperméables et de tissus caoutchoutés, fourni par l'Institut national des statistiques et des études économiques, d'autre part, sur le nombre de pistolets de peintre vendus annuellement par une entreprise couvrant à elle seule plus de 60 % du marché. Cette estimation ne permit pas d'affirmer une plus grande incidence de leucémies chez les sujets exposés. L'examen de la répartition par âge et par sexe n'apporta pas non plus d'élément décisif. Les meilleurs arguments en faveur du rôle leucémogène du benzène résidaient dans la symptomatologie singulière des leucémies dites benzéniques, en particulier dans les longues périodes préleucémiques. A l'époque, des publications de Bernard Dreyfus et Marcel Bessis, de Georges Marchal et de J. Olmer liaient des aplasies préleucémiques à des intoxications chimiques. Pour Jean Bernard et ses collaborateurs, les premières anomalies hématologiques,

mais aussi parfois digestives et nerveuses, pouvaient n'être que toxiques et pas forcément préleucémiques au sens strict, comme lors d'une irradiation : « le premier [effet] serait un effet antimitotique, radiomimétique, lié aux phénols de dégradation, responsable des hyper et des hypofonctionnements, des aplasies, avec une atteinte hématologique directe, toxique. L'autre, très indirect, et aléatoire, avec une longue chaîne de conséquences atteignant l'intégrité du sujet en tant qu'hôte et facilitant soit un développement viral, soit le développement d'un clone muté. ». Il se pouvait aussi que dans certains cas le benzène ne fût pas responsable de la leucémie mais exacerbât simplement la symptomatologie des leucémies « naturelles ».

Malgré ces réserves et les difficultés de démonstration, Jean Bernard restait convaincu du rôle du benzène dans les leucémies. L'article, publié en 1967 avec A. Goguel et A. Cavigneaux, disait que les résultats de cette enquête paraissaient témoigner en faveur de l'existence d'une relation causale entre le benzène et la leucémie, autrement dit de l'existence de « leucémies benzéniques humaines » et que certaines professions couraient un risque « grave » : autrefois les artisans de l'imperméable et les teinturiers, en 1960, les tôliers-carrossiers peignant au pistolet sans cabine, sans cagoule et sans ventilation¹.

Chromosomes

Au milieu des années 1960, un certain nombre de données relatives aux aberrations chromosomiques étaient tenues pour assurées par les épidémiologistes : les leucémies étaient 20 fois plus fréquentes chez les enfants mongoliens, le mongolisme était plus fréquent chez les enfants leucémiques ou leur fratrie, les leucémiques présentaient plus fréquemment des malformations congénitales majeures que le reste de la population, sans que ce fut le cas pour leur fratrie. La leucémie myéloïde chronique était associée à l'anomalie chromosomique Ph 1 qui n'avait pas d'équivalent pour les leucémies aiguës.

Par ailleurs, les leucémies étaient plus fréquentes chez les enfants nés d'une mère de plus de 40 ans que d'une mère plus jeune et ce fait semblait propre à ce type de cancer².

Contagion

L'hypothèse virale pouvait tirer argument de la mise en évidence de foyers de leucémies évoquant une contagion interhumaine, de la coïncidence temporelle de pics de leucémies et de pics de fréquence de certaines maladies virales évoquant un agent causal commun, ainsi que de la coïncidence spatiale de foyers de leucémie humaine et de foyers de leucémie animale évoquant une contagion interspécifique.

Parmi les observations de foyers de leucémies, la plus spectaculaire était celle de la petite ville de Niles dans l'Illinois où huit enfants avaient été malades quasi-simultanément. Mais, dans cet exemple comme en général, il était statistiquement difficile de savoir si cette concentration de cas était ou non le fruit du hasard, à cause de la faible fréquence générale de la maladie³. De plus, les études portant sur la contagiosité entre mari et femme et la transmission de mère à enfant avaient donné des résultats absolument négatifs.

¹ Goguel A., Cavigneaux A., Bernard J., *Les leucémies benzéniques de la région parisienne entre 1950 et 1965*, *Nouv. Fr. Rev. Hémat.*, 7 (4) : 465-480, 1967.

² Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966, p. 399-408.

³ Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielolinfoproliferative, Milan, 1966.

Par ailleurs, en 1964 et 1965, des auteurs britanniques mirent en évidence deux pics saisonniers pour la manifestation des premiers symptômes de la leucémie : en juin et en décembre¹. Par la suite, fut supposée l'existence d'un lien entre cette fréquence saisonnière des leucémies et la survenue des épidémies de rougeole, mais ce lien ne put être mis en évidence par les études statistiques².

Quant au rapport possible entre leucémie animale et leucémie humaine, il fut étudié chez la volaille, les bovins et les porcs, d'une part, parce que les travaux de laboratoire avaient montré ou suggéré une origine virale pour ces leucémies animales, d'autre part, parce qu'il s'agissait des seules leucémies animales pour lesquelles les services vétérinaires de quelques pays se fussent préoccupés de recueillir des données. Pour la leucémie bovine, ces pays étaient le Danemark, l'Allemagne, la Pologne, les Etats-Unis et la France. Aux Etats-Unis, la leucémie avait une incidence maximale, pour l'homme comme pour les bovins, dans le Minnesota. Mais cette coïncidence ne se manifesta nulle part ailleurs. En France, deux zones épizootiques furent mises en évidence, l'une dans le nord-est et l'autre dans le sud-ouest. Le taux de leucémies bovines était maximal dans le département des Landes (1/1000). Mais ces localisations privilégiées ne furent pas retrouvées dans la géographie des leucémies humaines. Il ne semblait pas non plus y avoir de lien géographique entre les leucémies aviaires et celles de l'homme³.

Jean-Charles Friedmann, le responsable du Département d'expérimentation animale de l'IRLMS, s'employa dès 1962 à rassembler les données relatives aux leucoses animales. En hématologie vétérinaire, ce terme de leucose avait un sens beaucoup plus large qu'en hématologie humaine, il était synonyme d'hémopathie maligne plutôt que de leucémie. Les comités d'experts « Leucémies des Mammifères » et « Leucémies humaines » de l'Organisation mondiale de la santé venaient d'ailleurs d'envisager l'élaboration d'une nomenclature unifiée. L'interprétation des résultats des enquêtes devait aussi tenir compte du fait que, chez l'animal, les ponctions médullaires étaient rares et par conséquent le diagnostic moins raffiné. Les pays les plus touchés par les leucoses bovines étaient l'Allemagne (1,5/100.000 en 1954), le Danemark, la Suède et les Etats-Unis (1,7/100.000 en 1958). Dans ce dernier pays, la fréquence de la maladie avait doublé en dix ans. En France, l'incidence de la leucémie dans les troupeaux de bovins n'était pas connue ; elle semblait surtout présente en Bretagne et en Normandie. Certains vétérinaires voyaient cette affection comme une « maladie de la civilisation animale »⁴. Concernant les animaux de compagnie, d'assez nombreuses données provenaient des vétérinaires praticiens et enseignant-chercheurs. Toutefois, elles ne portaient que sur des animaux malades. La comparaison avec les animaux domestiques destinés à la consommation était aussi rendue difficile par le fait que ces derniers étaient généralement sacrifiés avant d'atteindre l'âge habituel de la maladie. En tenant compte de cette situation et en attribuant arbitrairement à la chèvre, peu sensible aux hémopathies malignes, une fréquence de 1, la fréquence de la maladie était de 2 chez le mouton, 4 chez le cheval, 5 chez le porc, 22 chez le chien et le chat, et 56 chez la vache⁵. En 1966, Jean-Charles Friedmann réalisa, en collaboration avec des vétérinaires des Abattoirs industriels de Montfort-sur-Meu et des Services vétérinaires d'Ile-et-Vilaine ainsi que des médecins de la

¹ Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966.

² Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Mém. Acad. Roy. Méd. (Belgique), Série II, t. 6 : 397-418, 1967.

³ Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966. Bernard J., *Remarks about the geographical distribution of leukemias*, New Zealand Med. J. Suppl., 65 (412) : 875-878, 1966. Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielo-linfoproliferative, Milan, 1966.

⁴ Friedmann J.C., *Les leucoses bovines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (3) : 415-432, 1962.

⁵ Friedmann J.C., *Les leucoses canines et félines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (4) : 435-456, 1963

Faculté et du Centre anticancéreux de Rennes, une enquête statistique portant sur 465.000 porcs élevés dans l'Ouest de la France. Cette étude permit d'établir l'existence de leucémies porcines de type lymphoïde avec une incidence de 0,5 pour 10.000 chez les porcs de 6 mois et une incidence quatre fois plus élevée chez les animaux de plus d'un an, la durée de vie du porc étant de 12 à 15 ans selon les races. Ces cas de leucoses étaient principalement localisés dans la partie Est de la Bretagne (voir annexe 52)¹. Mais ce foyer de leucémies porcines ne put être relié à aucun foyer de leucémie humaine².

Géographie

Dans les années 1960, peu de pays étaient pourvus d'une organisation « d'hygiène » (sanitaire) suffisante pour recueillir des données statistiques comparables. Toutefois, ils étaient suffisamment nombreux pour que fut constatée une inégale répartition géographique des cas à l'échelle mondiale. La fréquence de la mortalité par leucémie était, par million d'habitants, de 66,4 aux Etats-Unis dans la population blanche, 61,5 au Danemark, 58,9 en Israël, 38,9 en France, 36,9 en Finlande, 36 en Italie et 16,2 au Japon³. Les premières études avaient été menées par B. MacMahon aux Etats-Unis et par J. Clemmensen au Danemark⁴. En 1966, les épidémiologistes distinguaient trois types de pays. Les pays à haute fréquence de leucémies (Etats-Unis, Danemark, Israël), les pays à fréquence moyenne (Grande-Bretagne, Italie) et les pays à basse fréquence (Japon)⁵.

La même année, M. Hayat et Robert Flament, de la section Cancer de l'INSERM annoncèrent une augmentation des taux de mortalité par leucémie aux Etats-Unis, au Royaume-Uni et surtout en France où le nombre de cas pour 100.000 habitants avait presque doublé entre 1948 et 1958. Cette augmentation était particulièrement frappante chez les personnes de plus de 60 ans et, parmi celles-ci, chez les hommes⁶. Entre 1955 et 1963, la mortalité par leucémie en France était passée de 5,3 à 6,8 pour 100.000⁷. Z. Georgief, de l'Institut de recherches scientifiques d'hématologie et de transfusion de Sofia, qui avait étudié la fréquence des leucémies en Bulgarie entre 1949 et 1958 (1707 cas), avait constaté durant cette période la multiplication par 2,5 du nombre de cas enregistrés⁸. L'étude des dossiers de 2065 leucémiques hospitalisés dans la région de Cracovie (Pologne) entre 1951 et 1960 montra également une augmentation significative du taux de leucémie⁹.

D'autres études montrèrent une inégale répartition géographique des leucémies selon l'âge. J. Clemmensen avait noté que les différences géographiques étaient particulièrement nettes après 50 ans. De plus, il fut constaté que la haute fréquence des leucémies chez les

¹ Renier F., Chevrel L., Friedmann J.C., Gaquière G., Guelfi J., *Quelques considérations sur les leucoses porcines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 6 (2) : 239-252, 1966.

² Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielolinfoproliferative, Milan, 1966.

³ Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964, p. 1-15.

⁴ MacMahon B., *Geographic variation in leukemia mortality in the United States*, Pub. Health Rep. 72 : 39, 1957. Clemmensen J., *Distribution of leukemia in some european countries compared with USA*, Acta Union Int. Cancer, 16 : 1611, 1960.

⁵ Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Mém. Acad. Roy. Méd. (Belgique), Série II, t. 6 : 397-418, 1967.

⁶ Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966.

⁷ Goguel A., Cavigneaux A., Bernard J., *Les leucémies benzéniques de la région parisienne entre 1950 et 1965*, Nouv. Fr. Rev. Hémat., 7 (4) : 465-480, 1967.

⁸ Georgief Z., *Fréquence des leucoses en Bulgarie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (1) : 143-146, 1962.

⁹ Aleksandrowicz J., Janicki K., *Etude statistique et géographique des leucémies de la région de Cracovie entre 1951 et 1960*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (3) : 374, 1963.

enfants de 3 à 6 ans était limitée à l'Occident, où elle devint vraiment nette à partir de 1940, et à la population blanche. Par ailleurs, en 1966, la fréquence de la leucémie aiguë chez le très jeune enfant était en augmentation en Grande-Bretagne, et celle des leucémies chez les sujets âgés l'était dans plusieurs pays. Toutefois, ces hausses pouvaient résulter, au moins en partie, de meilleures conditions de diagnostic¹.

Certaines études montrèrent un lien avec l'urbanisme en particulier aux Etats-Unis et au Danemark².

Enfin, une inégale répartition géographique des formes cliniques fut mise en évidence : les leucémies lymphoïdes chroniques étaient très rares en Asie et ceci en tenant compte des différences d'espérance de vie entre les pays³.

Parmi les tentatives d'explication de ces données épidémiologiques, on peut citer, premièrement, la comparaison de la fréquence des leucémies lymphoïdes chroniques et des modes de vie chez des japonais vivant au Japon et des japonais vivant aux Etats-Unis⁴, deuxièmement, la recherche d'une corrélation entre le revenu moyen des ménages et la fréquence de la leucémie. Celle-ci fut mise en évidence. Elle s'accordait avec l'hypothèse de M. Hayat et Robert Flamant selon laquelle l'augmentation de la fréquence des leucémies pourrait être liée à un excès d'examen radiologiques ou à un plus grand nombre de radiothérapies dans les familles à niveau de vie élevé, celles-ci ayant plus facilement accès aux soins⁵.

Pour Jean Bernard, l'épidémiologie des leucémies n'était pas suffisamment développée. Il fallait, selon lui, augmenter le nombre d'études rétrospectives, en particulier en interrogeant les familles de leucémiques au moment du diagnostic et en étudiant les populations, l'air, le sol et les animaux des zones de foyers leucémiques. Il fallait surtout mettre en place des études prospectives chez les sujets considérés « à risque » c'est à dire les mongoliens, les jumeaux de leucémiques, les personnes exposés aux radiations ou au benzol. Il proposa de prélever à intervalle régulier et d'examiner ou de stocker du sang, des selles et des prélèvements pharyngés. Pour les trisomiques, l'étude lui paraissait plus facilement réalisable aux Etats-unis et dans certains pays scandinaves où ces patients étaient rassemblés dans des centres spécialisés⁶.

Les principales difficultés auxquelles se heurtait l'étude épidémiologique des leucémies étaient la rareté relative de la maladie, le manque de précision de la terminologie des différents types de leucémies, le manque de codification des données à recueillir et l'absence de système d'enregistrement des leucémies au moment du diagnostic.

¹ Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966. Bernard J., *Remarks about the geographical distribution of leukemias*, New Zealand Med. J. Suppl., 65 (412) : 875-878, 1966. Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielo-linfoproliferative, Milan, 1966.

² Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielo-linfoproliferative, Milan, 1966.

³ Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966.

⁴ Bernard J., *Remarks about the geographical distribution of leukemias*, New Zealand Med. J. Suppl., 65 (412) : 875-878, 1966.

⁵ Archives de l'INSERM, Bulletin de l'INSERM, vol 21, n° 2, 1966.

⁶ Bernard J., *L'épidémiologie des leucémies. A la recherche d'une méthodologie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (1) : 113-118, 1962. Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964, p. 1-15. Bernard J., *Remarks about the geographical distribution of leukemias*, New Zealand Med. J. Suppl., 65 (412) : 875-878, 1966.

Chapitre 3. Jean Bernard et ses collaborateurs : témoins et acteurs des transformations de la recherche médicale française

Les historiens qui se sont intéressés à l'évolution de la recherche médicale entre 1940 et 1970 ont montré que celle-ci était caractérisée par une molécularisation des travaux, une imbrication croissante des recherches biologiques et médicales, appelant une réflexion éthique, un processus de standardisation des essais cliniques et du matériel biologique, l'augmentation des liens avec l'industrie, le développement des échanges internationaux, en particulier franco-américains, la mise en place d'un financement d'Etat et l'augmentation des ressources caritatives, ainsi que l'implantation de laboratoires de biologie à l'Hôpital.

Cette évolution découle en grande partie d'une conception de la médecine scientifique que Jean Bernard partageait avec ceux que les historiens ont appelé les « réformateurs » parce qu'ils ont voulu et/ou su imposer des pratiques et des changements institutionnels conformes à leur vision du progrès médical.

Pour une médecine scientifique

La notion de scientificité, ou de rationalité ou d'objectivité, n'a rien d'évident pour les philosophes : « Si l'on s'en remet au sens courant du mot, peut être dit « objectif » tout ce qui existe indépendamment de toute connaissance ou idée. Peut également être dit objectif ce qui est valable pour tous les esprits, et non seulement pour tel ou tel individu. On caractérise ensuite d'objectif ce qui est indépendant de la volonté. Mais, ultimement, on dit qu'est objectif l'esprit de celui qui voit les choses telles qu'elles sont, sans se laisser influencer par ses préférences ou habitudes. Or, on peut définir l'objectivité de la science à partir de chacune des quatre caractérisations précédentes. »¹.

La scientificité n'est pas non plus univoque pour les historiens. Si l'on s'en tient au domaine de la médecine, il suffit de regarder deux siècles en arrière pour voir que la médecine « scientifique » n'a pas toujours été définie de la même façon.

Au cours de la première moitié du 19^{ième} siècle, dominait dans l'élite médicale parisienne une conception de la recherche médicale centrée sur l'anatomo-pathologie, c'est à dire la mise en relation des symptômes et des lésions anatomiques, et hermétique aux découvertes des autres branches de la science. Erwin Ackerknecht appela « médecine hospitalière » la médecine de cette époque en raison du rôle prépondérant de l'hôpital et la distingua de l'ancienne « médecine au chevet du malade » et de la future « médecine de laboratoire ». Michel Foucault nomma cette nouvelle façon de percevoir la maladie « la

¹ Nadeau R., « Objectivité », in Lecourt D. Ed., *Dictionnaire d'histoire et philosophie des sciences*, P. U. F., Paris, 1999, p. 699.

clinique » et la relia à un nouveau type d'hôpital issu de la Révolution, lieu d'enseignement, de contrat entre riches et pauvres et de comparaison des malades et des cadavres. Cette médecine, qui produisit de nouvelles connaissances pendant une cinquantaine d'année, commença à s'essouffler dans les années 1840, et surtout ne déboucha pas sur des thérapeutiques¹.

Face à cette stagnation, se côtoyèrent, durant la 2^{ème} moitié du 19^{ème} siècle, trois propositions de renouvellement de la recherche médicale, basées respectivement sur l'introduction des mathématiques, de la physique-chimie et de la biologie.

Tout d'abord, Pierre Louis (1787-1872) proposa une « méthode numérique » de recueil des données cliniques qui, selon lui, conférait un statut scientifique au clinicien. En 1840, l'ingénieur militaire devenu médecin, Jules Gavarret, publia les *Principes généraux de statistique médicale*. Le passage des statistiques d'un outil descriptif à une méthode mathématique d'inférence fut ensuite marqué par le britannique Francis Galton (1822-1911). Ses travaux sur l'hérédité l'amènèrent à développer le concept de corrélation. Son élève Karl Pearson (1857-1936) et le major Greenwood (1880-1949), au University College de Londres, oeuvrèrent pour faire des statistiques médicales une profession².

Parallèlement, d'autres médecins, probablement influencés par les iatrochimistes et les iatrophysiciens, entendaient rénover la médecine par l'usage d'outils chimiques et physiques, comme le dosage du glucose ou, plus tard, l'utilisation des rayons X³.

Le troisième courant, représenté par Louis Pasteur et Claude Bernard (1813-1878), ainsi que la plupart des membres de la Société de Biologie, fit de l'expérimentation sur les organismes vivants au laboratoire, ou « médecine expérimentale », la véritable médecine scientifique⁴.

Les maîtres de l'anatomo-clinique du début du siècle s'opposèrent à ces nouvelles approches, reprochant aux mathématiques de nier l'individualité des patients et déniaient aux sciences fondamentales en général la capacité d'appréhender l'homme dans sa complexité, capacité qui, selon eux, relevait davantage de l'art que de la science.

Ces objections ne disparurent pas rapidement, sinon dans la profession, du moins dans l'opinion, comme en témoignent ces interventions publiques de Jean Bernard datant respectivement de 1966 et 1968 : « L'emploi très large en médecine des méthodes statistiques à la fois rationnelles et raisonnables a représenté assurément un très grand progrès. Ceci non seulement dans le domaine de l'étiologie et de l'épidémiologie, mais aussi dans celui de la thérapeutique. (...) Mais ce recours aux méthodes statistiques inquiète de bons esprits. Ils évoquent le fantôme redoutable d'une médecine totalement grégaire et dépersonnalisée ; ils craignent que, selon une tendance qu'ils estiment générale, le malade devienne un numéro, comme déjà nos départements et nos indicatifs de téléphone. »⁵ ; « c'est autour de l'Hôpital que doit assurément s'organiser toute la médecine de demain. Certaines propositions qui refusent à l'Hôpital ce rôle majeur sont peu raisonnables. Certes, il est permis de regretter le temps des sorciers ou le temps des tisanes, mais il n'est pas permis de tenir *a priori* l'Hôpital comme inhumain et inefficace. On retrouve-là, le reflet de la séparation parfois proposée des médecins en deux classes ; d'un côté les médecins à tendance empirique, volontiers bienveillants, penchés sur les misères de leurs patients, de l'autre les savants dogmatiques, indifférents, parfois cruels. Ce classement est absurde. Le grand malheur pour un malade est

¹ Foucault M., *Naissance de la clinique*, PUF, Paris, 1963. Ackerknecht E., *La médecine hospitalière à Paris (1794-1848)*, trad. Bateau F. (1^{ière} ed. 1967), Payot, Paris, 1986.

² Matthews J., *Quantification and the quest for medical certainty*, Princeton University Press, Princeton, 1995.

³ Blume S., *Insight and Industry - On the dynamics of technological change in medicine*, MIT Press, 1991.

⁴ Matthews J., *Quantification and the quest for medical certainty*, Princeton University Press, Princeton, 1995.

⁵ Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C.R. 2^{ème} Congr. Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.

d'être soigné par un médecin ignorant. La conscience sans la science est inutile. La bonté au surplus est-elle le privilège des sots et des ignorants ? Bien au contraire, grâce aux progrès des techniques et des thérapeutiques, l'acte médical prend toute sa grandeur. Rien ne doit être perdu de la bonté, de l'amour du prochain, de la profonde solidarité avec celui qui souffre, sans lesquels il n'est pas de médecine »¹.

A l'aube du 20^{ième} siècle, les instruments de diagnostic (ophtalmoscope, laryngoscope, rayons X, thermomètre, etc.) et les laboratoires d'analyses complémentaires chimiques et microscopiques (bactériologiques et cytologiques) firent timidement leur entrée dans les hôpitaux. Mais la définition des maladies reposait avant tout sur l'examen clinique au sens strict c'est-à-dire pratiqué au chevet du malade. Les examens « paracliniques » et les laboratoires de « sciences accessoires » étaient soumis à l'autorité du clinicien, les personnels recrutés pour ces activités n'avaient ni statut ni espoir de carrière².

Pendant la première moitié du 20^{ième} siècle, les sciences fondamentales restèrent cantonnées au Collège de France, où Claude Bernard avait créé la chaire de physiologie, à la Faculté des sciences, à l'École pratique des hautes études, et à quelques établissements spécialisés tel l'Institut de biologie physico-chimique créé en 1926. Très souvent médecins de formation, la plupart de ces chercheurs, privés de patients, avaient une activité strictement fondamentaliste. Parallèlement, quelques institutions et quelques personnes réussirent à concilier soins et recherches médicales. En premier lieu, l'Institut Pasteur, qui abritait un hôpital depuis 1900, l'Institut du Radium créé en 1919 par l'Université de Paris et l'Institut Pasteur, ainsi que l'Institut du cancer fondé à la fin des années 1930 par Gustave Roussy à Villejuif. D'autres organisations philanthropiques comme l'Institut Alfred Fournier ou le Centre national de la transfusion sanguine, menaient quelques recherches mais leur fonction principale était l'accueil des malades.

Les sciences dites fondamentales trouvèrent donc peu de place dans les Facultés de médecine et les hôpitaux avant la seconde guerre mondiale. Elles finirent par y entrer grâce aux efforts de jeunes médecins brillants et ambitieux qui, tout en réaffirmant l'autonomie de la médecine et l'importance du contact avec le malade donc de l'hôpital, pensaient que le progrès de la médecine passait nécessairement par l'utilisation de toutes les sciences et les techniques disponibles. En France, ce changement fut promu par des médecins de l'Assistance Publique unis autour de leur maîtres, Robert Debré et Louis Pasteur Valéry-Radot, et par leur engagement dans la résistance pendant la guerre. Il s'agissait notamment de Jean Bernard, Marcel Bessis, Jean Hamburger, René Fauvert, Bernard Halpern et Raoul Kourisly³. Jean Bernard connaissait Robert Debré avant d'être son élève ; il était un vieil ami de sa famille⁴.

A l'occasion du 70^{ième} anniversaire de Jean Bernard, Jean Hamburger raconta ce qui forma et inspira ce groupe : « Jean Bernard a toujours été pour moi – et sans doute pour bien d'autres – un modèle. Je remercie la *Nouvelle Revue Française d'Hématologie* de me donner cette occasion unique d'expliquer quelques-unes des raisons pour lesquelles je l'admire tant. La première raison est que Jean Bernard est un médecin convaincu que la médecine ne peut plus se passer de la méthode, de l'humilité, du mode de raisonnement scientifiques. Il a proclamé « La médecine contemporaine... est animée par l'esprit, par la rigueur de la biologie. » « Rien de plus périmé que la dispute scholastique sur la nature de la médecine opposant ceux qui la tiennent pour un art à ceux qui la tiennent pour une science. La médecine est assurément une science. ». La génération à laquelle nous appartenons, lui et moi, avait

¹ Fonds IUH, art. 81, Hôpital Saint-Louis, Hôpital de jour, allocution inaugurale de Jean Bernard, 1968.

² Poirier J., Salaün F., *Médecin ou malade ? La médecine en France aux XIXe et XXe siècles*, Masson, Paris, 2001.

³ Picard J.-F., « De la médecine expérimentale (1865) à l'INSERM (1964) » in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds, *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994.

⁴ Entretien avec Jean Bernard, 6 juin 2003.

trouvé une médecine française hésitant encore sur ce point, boudant l'entrée en force de la chimie, de la physique, de la mathématique dans la recherche médicale. C'était le temps où, avec quelques amis, nous fondions le Club des Treize. Le Club se réunissait presque clandestinement, pour parler de la médecine dont nous rêvions, une médecine dont les problèmes seraient abordés avec la même rigueur que celle des autres disciplines scientifiques. Nous voulions que l'immense progrès des sciences physico-chimiques fécondât pleinement une médecine encore balbutiante. Nous sentions qu'une aventure inouïe pouvait s'ensuivre, d'où sortiraient des images transformées de l'homme, de ses maladies, de la façon de les guérir ou de les prévenir. »¹.

Le Club des treize était constitué exclusivement de médecins de l'Assistance Publique : Jean Hamburger, Jean Bernard, l'hépatologue René Fauvert, les gastro-entérologues André Lambling et Charles Debré, le directeur du Centre national de la transfusion sanguine, Jean-Pierre Soulier, le cardiologue Pierre Soulié, le chirurgien cardiologue Jean Mathey, la cancérologue Eliane Le Breton, le neurologue Castaigne, le néphrologue Gabriel Richet et le cancérologue Maurice Tubiana².

Cette conception de la recherche médicale, Jean Bernard l'exprima lui même à diverses reprises. Par exemple, en 1963 : « Les progrès de la « science médicale » tendent à faire de la médecine une « science exacte »³, ou en 1966 : « Toute science est mesure. (...) Devenant mesure, la médecine cesse d'être magie. ». Il trouvait injustifiée la distinction établie entre les « examens cliniques » et les examens « paracliniques » : « ce qui compte ce n'est pas l'organe qui recueille les anomalies, c'est l'esprit qui les interprète. »⁴.

Créer une médecine scientifique signifiait se débarrasser, d'une part, de la magie et de la religion, d'autre part, du hasard et de ses « traitements empiriques ». A Alexandrie déjà, haut lieu de la médecine vers 300 avant notre ère, les médecins hippocratiques se divisaient en « rationalistes », pour qui il était primordial de trouver les causes de la maladie, et en « empiristes » pour qui il importait avant tout de trouver un traitement⁵. Par « médecine scientifique », les réformateurs entendaient un ensemble de techniques ou de pratiques de soins dont les résultats seraient prévisibles parce qu'on aurait compris le mécanisme par lequel ils conduisent à la guérison, la compréhension de ce mécanisme étant elle-même le résultat de travaux réalisés au laboratoire de recherches. Un traitement empirique n'est que partiellement le fruit du hasard, en ce sens qu'il est tiré d'une observation rendue possible par un contexte théorique. Par contre, il paraît moins contrôlable. Cela ne sous-entendait pas qu'ils jugeaient irrationnel l'emploi de traitements empiriques, mais ils pensaient que les traitements issus de théories biologiques seraient nécessairement meilleurs. En 1950, Raymond Latarjet écrivait : « La chimiothérapie c'est de l'empirisme, l'avenir est dans la recherche biologique »⁶.

Pensaient-ils vraiment qu'on pourrait uniquement comprendre pour agir et se dispenser d'agir pour comprendre ? Peut-être jugeaient-ils simplement préférable, dans le contexte de l'époque, de favoriser la biologie plutôt que les essais thérapeutiques, soit parce

¹ Hamburger J., *Hommages à Jean Bernard. Courte note qui n'a rien d'hématologique sur Jean Bernard*, 18 (2) : 425-428, 1977.

² Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992, 86-87.

³ Fonds IUH, article 146, Ministère des affaires étrangères, rapport de J. Bernard et J. Dausset sur la réforme des études médicales et de la vie hospitalière en France, 1963.

⁴ Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C. R. 2^{ième} Congrès Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.

⁵ Conrad L., Neve M., Nutton V., Porter R., Wear A., *The Western Medical Tradition, 800 BC to AD 1800*, Cambridge University Press, 1995.

⁶ Latarjet R., *Données récentes sur la chimiothérapie du cancer*, Les acquisitions médicales récentes, Editions Flammarion, Paris, 1950, 349-379.

que ces derniers étaient peu nombreux, soit parce que l'industrie pharmaceutique pouvait les financer. Dans ce cas, leur position était davantage pragmatique qu'idéologique.

Notons que dans le cas de la leucémie, et du cancer en général, l'histoire s'employa à leur donner tort au moins jusqu'en 1970, la voie « empirique » se montrant bien plus efficace que la voie « rationnelle ». C'est ce que constatait par exemple P. Jullien, de l'Institut du Radium, en 1964 : « la découverte de virus leucémiques chez la souris est loin d'avoir résolu les problèmes posés par la prophylaxie ou la thérapeutique des leucoses murines. En se référant à cet exemple, on imagine mal que la preuve expérimentale de l'étiologie virale des leucoses humaines pourrait entraîner dans l'immédiat des répercussions sur le plan clinique. Mais on peut espérer confusément qu'il y aurait dans le monde entier un tel afflux de crédits et de chercheurs consacrés à l'étude de ce virus, qu'il en résulterait des acquisitions pathogéniques et thérapeutiques dont on ne soupçonne même pas la nature aujourd'hui. »¹.

Robert Debré a certainement été influencé par Pierre Louis et surtout par Simon Flexner, qu'il avait connu, et qui, par l'intermédiaire de la pression financière exercée par la Fondation Rockefeller sur les universités américaines, avait installé des médecins-chercheurs à plein-temps et des biologistes dans les hôpitaux². Quant à Jean Bernard, il admirait de longue date son homonyme Claude Bernard³ et son intérêt pour la médecine expérimentale fut stimulé par Gaston Ramon et James Reilly : « Ils m'ont donné le goût, qui ensuite demeure, de créer des maladies animales pour tenter de comprendre celles de l'homme. »⁴.

L'intérêt de ces néo-cliniciens pour ces figures du 19^{ième} siècle et leurs idées trouve probablement son origine, en partie du moins, dans les succès des sciences et des techniques, autrement dit dans la manifestation de plus en plus frappante de leur capacité à transformer l'environnement humain. A propos de l'évolution de la médecine entre 1900 et 1930, donc de sept ans avant sa naissance à l'âge de 23 ans, Jean Bernard écrivit : « Les campagnes et les villes se sont transformées avec les tracteurs dans les champs, le téléphone dans les maisons, les automobiles sur les routes et les avions dans le ciel. Les empires se sont écroulés mais la médecine a peu changé. »⁵.

Au cours de la première moitié du 20^{ième} siècle, la confiance en l'approche scientifique de la médecine fut renforcée par les premières applications thérapeutiques de la physique puis de la biologie : la radiothérapie, l'insuline et les vitamines, sans oublier les sérums et vaccins puis, dans les années 1930, les sulfamides de l'Institut Pasteur.

Non seulement, ces « réformateurs » indiquaient comment faire de la recherche médicale : en molécularisant, en standardisant, en biologisant, en contrôlant, en technologisant, en coopérant ; mais ils disaient en outre comment améliorer l'état de santé de leurs concitoyens : en finançant abondamment la recherche médicale et en introduisant des laboratoires de recherche dans les hôpitaux.

¹ P. Jullien, *Les virus leucémiques en France*, Le concours médical, 86 (48) : 6803-6809, 28.11.1964.

² Entretien du sociologue Haroun Jamous avec Robert Debré, le 21.10.1967 in Jamous H., *Sociologie de la décision. La réforme des études médicales et des structures hospitalières*, Editions du CNRS, Paris, 1969, p. 181.

³ Entretien avec Jean Bernard, le 25.09.1998.

⁴ Bernard J., *Leçon inaugurale de la Chaire de cancérologie médicale et sociale*, Presse méd., 15.09.1956, p. 23.

⁵ Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C. R. 2^{ième} Congrès Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.

La molécularisation des travaux

Les outils de la molécularisation

Jean-Paul Gaudillière a défini la « molécularisation » comme le passage de pratiques de dosage des molécules du vivant, suivant les méthodes de la chimie analytique et visant à rechercher des différences quantitatives entre les individus sains et malades, à des procédures de caractérisation des macromolécules issues de la physique (électrophorèse, centrifugeuse, microscope électronique), les inscrivant dans la théorie de l'information génétique et générant une approche fonctionnelle des molécules. Ces nouvelles techniques et ce nouveau cadre conceptuel permirent la naissance d'une pathologie moléculaire, c'est-à-dire la recherche d'anomalies structurales responsables de maladies, ainsi que leur utilisation comme marqueur dans l'étude de phénomènes biologiques¹.

Lorsque l'on compare les recherches menées par l'équipe de Jean Bernard dans les années 1950 et 1960, on constate tout d'abord une augmentation relative des études au niveau moléculaire, la cytologie et les descriptions cliniques restant prédominantes au cours de la première période.

On note également une molécularisation au sens défini ci-dessus. Alors que dans les années 1950, il n'est question que de dosage du glutathion, des stéroïdes, du glucose, des électrolytes et des hormones thyroïdiennes, un changement de perspective s'annonce avec l'étude de la cinétique de la synthèse des globules rouges et de l'hémoglobine, et les années 1960 sont marquées par l'étude des protéines et des acides nucléiques d'origine virale, ainsi que la recherche d'anomalies chromosomiques.

On peut enfin parler de molécularisation des traitements dans la mesure où l'exsanguino-transfusion et la greffe de moelle, qui relèvent surtout du remplacement d'un organe défectueux, cèdent la place à la chimiothérapie, dont le principe actif est réduit à une ou plusieurs molécules.

En 1961, lorsque Jean Bernard et Marcel Bessis fusionnèrent la *Revue d'hématologie* et *Le sang*, donnant ainsi naissance à la *Nouvelle revue française d'hématologie*, ils affirmèrent leur volonté de moléculariser leur discipline : « La période anatomo-clinique est terminée, la pathologie chimique commence. Les Rédacteurs de cette Nouvelle Revue, les uns jeunes et enthousiastes, les autres expérimentés et prudents, sont animés par la même volonté de servir cette hématologie moderne, pilote des autres disciplines médicales. ». Imaginant la recherche hématologique 30 ans plus tard, ils la présentaient riche de pathologie moléculaire : « 1991. - Toute l'hématologie est enzymatique et moléculaire. Pour chaque stade de l'hématopoïèse, pour chaque étape du métabolisme érythrocytaire ou leucocytaire, on connaît l'arrangement moléculaire et l'enzyme spécialisés ; on sait corriger l'absence, l'insuffisance, l'excès de ces enzymes. Cette hématologie apprécie la diversité de chaque personne humaine, les chromosomes de chacun sont analysés. L'histocompatibilité est précisée. Les quelques greffes qui sont encore utiles ne posent aucune difficulté technique. Le malade entrant dans cette Clinique hématologique du futur est soumis à une batterie de tests qui donnent au diagnostic biochimique une rigueur vraiment scientifique. »².

Parce qu'elle demandait des appareils complexes et coûteux et des spécialistes d'autres disciplines, la molécularisation nécessitait un changement d'échelle, évoqué en 1958 par Marcel Bessis et Albert Policard : « En raison du nombre et de la complexité des paramètres intervenant dans les processus pathologiques humains, la recherche médicale peut de moins

¹ Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002.

² Bernard J., Bessis M., *Hématologie* 61, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 1 (1) : 1-2, 1961.

en moins être l'affaire d'un seul. Elle devient l'œuvre d'une Equipe. (...) L'équipe doit réunir des cliniciens, des spécialistes, des expérimentateurs - physiciens, chimistes et biologistes. » et les équipes doivent être groupées en instituts¹.

L'imbrication des recherches biologiques et médicales

Il peut paraître curieux de s'interroger sur un terme aussi commun que celui de « médecine », cependant lorsqu'on essaie d'en tracer les contours, en particulier quand on cherche à analyser ses relations avec la biologie, et lorsqu'on souhaite en délimiter les composantes, aucune définition précise ne semble convenir, à moins de fournir plusieurs définitions, chacune étant valable pour une période donnée de l'Histoire. Le seul élément de définition de cette science-pratique-profession qui semble atemporel est son but : la lutte contre la maladie et la préservation de la santé. Pour le reste, il suffit de rappeler que le mot « science » était au Moyen Age synonyme de savoir ou de culture et que l'art de guérir n'a pas toujours été un métier ni une profession, pour laisser poindre la difficulté. La science de la vie a elle-aussi une histoire ; le terme et la discipline « biologie » ne datent pas que du début du 19^{ième} siècle alors que l'étude du vivant remonte au moins à l'Antiquité². Ce constat rend à mes yeux périlleuse toute tentative d'étude des relations entre le normal et le pathologique, le laboratoire et la clinique, la biologie et la médecine, qui ferait l'économie du contexte et de définitions préalables.

De nombreux philosophes, historiens et sociologues se sont intéressés aux relations entre le laboratoire et la clinique, le normal et le pathologique ou la biologie et la médecine, essentiellement pour deux raisons. Premièrement, il y a, au moins depuis le 19^{ième} siècle, des discours contradictoires, des débats sur le fait de savoir si la médecine est un art, une technique ou une science, s'il y a entre le normal et le pathologique une différence de degré ou de nature, si la connaissance du fonctionnement des organismes vivants normaux est le meilleur moyen, à long terme, de lutter contre la maladie³. Deuxièmement, le terme « biomédecine » a été ajouté à notre vocabulaire au cours de la seconde moitié du 20^{ième} siècle ; il est généralement décrit comme le signe d'un rapprochement de la biologie et de la médecine.

L'étude des liens entre la biologie et la médecine est complexe parce que ces termes se rapportent à la fois à des objectifs, des objets d'étude, des connaissances, des pratiques, des formations, des professions et des institutions.

Si l'on s'en tient à définir ces deux notions par leurs objectifs, l'exercice est relativement facile. La recherche biologique vise à accroître les connaissances relatives à l'organisation et au fonctionnement des êtres vivants. La recherche médicale englobe tous les moyens de renouveler ou de perfectionner les fonctions du médecin ; il s'agit donc de rechercher de nouveaux moyens de diagnostiquer, de soigner et de prévenir les maladies. On peut éventuellement discuter de l'exclusion ou non du dernier point, qui fait partie de la lutte contre la maladie en un sens plus large, à savoir au niveau des populations, avec intervention de l'Etat ou d'associations par la mise en place de mesures, hier « d'hygiène », aujourd'hui de « santé publique », telles que l'information des populations, le dépistage systématique, l'assainissement des zones habitées. Cependant, cette lutte contre la maladie à l'échelle sociale s'appuie sur des connaissances sur la maladie produites par des recherches à l'échelle de

¹ Policard A., Bessis M., « La recherche médicale », in *La méthode dans les sciences modernes* numéro hors série de *Travail et méthodes*, Editions Science et industrie, Paris, 1958, p.2-3.

² Salomon-Bayet C., *L'institution de la science et l'expérience du vivant*, Flammarion, Paris, 1978.

³ Canguilhem, *Le normal et le pathologique*, PUF, Paris, 1966, p. 156-157.

l'individu. Prévenir une maladie implique de dépister les prédispositions ou les rechutes, tâche qui incombe généralement à des médecins et dont l'amélioration relève donc aussi de la recherche médicale.

Il est beaucoup plus difficile de tracer des frontières nettes entre recherche biologique et recherche médicale dès lors que l'on essaie de préciser les objets, les procédés, les acteurs et les lieux de ces recherches, parce que ces éléments sont liés intrinsèquement et historiquement.

Les biologistes étudient le monde vivant, c'est à dire les êtres vivants, les éléments qui les composent et leurs interactions, ainsi que leurs relations. Les chercheurs médicaux s'intéressent aux maladies des humains, à leur caractérisation, à leur traitement et à leur prévention. Depuis que les maladies sont considérées comme des processus biologiques et l'homme comme un être vivant parmi d'autres, c'est à dire depuis la fin du 19^{ième} siècle avec les travaux d'Auguste Comte, de Claude Bernard et de Charles Darwin, on peut affirmer que les deux types de recherche ont en commun la biologie humaine, normale et pathologique¹. Mais l'intérêt de la recherche médicale pour la biologie n'a jamais été limité à la biologie humaine. Depuis l'Antiquité, la médecine considère de son ressort tout ce qui, dans les sciences naturelles, peut lui être utile : les modèles animaux et les plantes médicinales, puis la microbiologie, la biochimie, la génétique, etc. Au 19^{ième} siècle, biologie et médecine se sont donc surtout rapprochées par leurs objets d'étude, puis progressivement par les méthodes de recherche associées à ces objets, mais pas encore du point de vue professionnel et institutionnel.

Au cours du 20^{ième} siècle, de plus en plus de médecins de formation commencèrent à avoir à l'hôpital des activités identiques à celles habituellement réservées aux biologistes de formation, et de plus en plus de biologistes de formation furent attirés par la résolution de problèmes médicaux. Il devint de plus en plus délicat de différencier la biologie de la médecine. Ce processus a principalement été analysé par Alberto Cambrosio, Peter Keating et Jean-Paul Gaudillière. Leurs conclusions sont les suivantes.

Au début du 20^{ième} siècle, les données et les concepts biologiques étaient secondaires, par rapport à l'anatomo-pathologie, dans les connaissances et les pratiques médicales. Seuls quelques médecins s'intéressaient aux concepts biologiques, principalement les anticorps et les antigènes, les enzymes, les hormones et les vitamines².

Après la seconde guerre mondiale, la biologie devint dominante ; il y eut une « inversion du centre de gravité du système, le laboratoire de biologie remplaçant le service hospitalier comme site principal de genèse des savoirs et des innovations à valeur médicale »³. Les principales notions biologiques qui entrèrent en médecine durant cette période furent les concepts de gène et de virus, ainsi que ceux de l'immunologie cellulaire, dans les années 1950, puis du système immunitaire, nouvelle fonction de l'organisme depuis les années 1960⁴.

Ce processus, prôné à la fois par des biologistes et des médecins, fut facilité et entretenu par le développement d'instruments biophysiques d'étude des molécules et

¹ Canguilhem G., *Le normal et le pathologique*, PUF, Paris, 1966. Rey R., *Naissance de la biologie et redistribution des savoirs*, Revue de synthèse, 4^{ième} série, 1-2, 1994.

² Gaudillière J.P., « Biologists at work. Experimental practices in the twentieth century life sciences », in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 683-700.

³ Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002, p.9.

⁴ Gaudillière J.P., « Biologists at work. Experimental practices in the twentieth century life sciences », in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 683-700. Moulin A.M., « A science « dans le siècle » : Immunology, a science of boundaries » in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 683-700. Lawrence C., « Clinical Research » in Krige J., Pestre D., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 439-459.

d'appareils de mesure des variables biologiques. Il fut soutenu par un afflux de crédits privés et publics, particulièrement abondant aux Etats-Unis.

Cette biologisation de la médecine eut pour conséquences une augmentation du prestige social des chercheurs expérimentaux, travaillant au laboratoire, sur des échantillons d'organismes humains, et une diminution relative de celui des chercheurs « cliniciens » travaillant au contact du malade. Ce rapprochement se traduit par l'emploi fréquent à partir des années 1960 du terme « biomédecine »¹.

Ce terme a été repris par les historiens pour désigner cette « nouvelle configuration institutionnelle, matérielle et épistémologique mise en place après la seconde guerre mondiale et caractérisée par une intrication de la biologie et de la médecine telle qu'il est devenu impossible de prévoir si un travail de laboratoire ou une investigation clinique mettra à jour des faits biologiques ou médicaux »². Autrement dit, la biomédecine désigne en histoire des sciences cette « nouvelle façon de construire les savoirs du normal et du pathologique » issue d'un « processus de reconfiguration des rapports entre l'Etat, les savants, les médecins et les industriels de la santé »³. Ces nouvelles relations entre biologie et médecine ont généré des entités hybrides « biomédicales », par exemple les marqueurs de surface cellulaire, existant à la fois en tant qu'entités biologiques normales et comme signes pathologiques. Elles ont également modifié la division du travail en médecine et fait apparaître des biologistes hors du cadre de la recherche, ceux des laboratoires d'analyses médicales⁴.

Peter Keating et Alberto Cambrosio ont enquêté sur l'apparition du vocable « biomédecine » et de l'adjectif correspondant. Il apparut pour la première fois en 1923 dans un dictionnaire médical de langue anglaise avec pour définition : « médecine clinique basée sur les principes de la physiologie et de la biochimie ». Cependant, il fut très rarement employé avant la seconde guerre mondiale. En 1948, la Section de biochimie de la Division santé de l'Atomic Energy Commission américaine fut rebaptisée Groupe de recherche biomédical. Ce terme fut également utilisé par la National Air and Space Administration (NASA) à la fin des années 1950. Son usage se situait ainsi à l'interface entre le normal et le pathologique et était lié au développement de l'instrumentation. Biomédecine apparut en 1970 dans un dictionnaire anglosaxon des néologismes avec pour signification « branche de la médecine qui est combinée à la recherche en biologie » ; un dictionnaire français des mots nouveaux situe son entrée dans le langage commun en 1965. La plupart des dictionnaires anglosaxons donnent actuellement une définition de la biomédecine qui varie entre « la médecine basée sur les principes de la biologie » et « la fusion de la biologie et de la médecine »⁵. L'expression « recherche biomédicale », de l'anglais *biomedical research*, figure depuis l'an 2000 dans un dictionnaire français de médecine d'usage courant avec pour définition « essais ou expérimentations organisés et pratiqués sur l'être humain en vue du développement des connaissances biologiques et médicales »⁶.

¹ Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002. Keating P., Cambrosio A., *Biomedical platforms : (Re)aligning the normal and the pathological in late twentieth century medicine*, MIT Press, Cambridge, 2003.

² Keating P., Cambrosio A., *From screening to clinical research : the cure of leukemia and the early development of the cooperative oncology groups 1955-1966*, Bull. Hist. Med., 76 : 299-334, 2002.

³ Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002, p. 9 et 369.

⁴ Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002. Keating P., Cambrosio A., *Biomedical platforms : (Re)aligning the normal and the pathological in late twentieth century medicine*, MIT Press, Cambridge, 2003.

⁵ Signalons une autre définition du mot que l'on ne trouve pas en français : l'étude des stress environnementaux sur le corps humain. Keating P., Cambrosio A., *Biomedical platforms : (Re)aligning the normal and the pathological in late twentieth century medicine*, MIT Press, Cambridge, 2003.

⁶ Garnier M., Delamare J. (eds), *Dictionnaire des termes en médecine*, 26^{ième} édition, 2000, p. 701.

Par ailleurs, Alberto Cambrosio et Peter Keating, ont écrit que la notion d'essais cliniques s'était étendue, dans les années 1960, au-delà des essais thérapeutiques, à l'étude des marqueurs biologiques et à la recherche étiologique¹.

Le substantif « clinique » fut emprunté en 1586 au latin *clinice*, « médecine exercée près du lit du malade », et au grec *klinikos*, « qui concerne le lit », et *klinikê*, « médecine exercée au chevet du malade ». Ce terme fut employé avec pour définition « méthode médicale consistant à examiner le malade au lit ». L'adjectif fut introduit 70 ans plus tard dans l'expression « médecine clinique ». En 1808, la clinique prit aussi le sens d'« enseignement médical donné par le professeur près du lit du malade » et, en 1814, celui du lieu de cette méthode d'enseignement. Le substantif fut enfin employé, en 1890, pour désigner un lieu de soins².

La difficulté surgit lorsqu'on s'enquiert des définitions actuelles. Les dictionnaires usuels de médecine de langue française s'en tiennent à la définition originelle : « sans recours aux examens complémentaires »³, « qui peut être effectué ou constaté par le médecin, au lit du malade, sans le secours d'appareils ou de méthodes de laboratoire »⁴. Cette affirmation ne s'accorde guère avec la définition de la recherche clinique, donnée en 1999, par la Force d'intervention en recherche clinique de l'Association des facultés de médecine américaines : « un élément de la recherche médicale et de la recherche en santé publique destiné à produire des connaissances essentielles à la compréhension de la pathologie humaine, à la prévention et au traitement des maladies, ainsi qu'à la promotion de la santé. La recherche clinique englobe une série continue d'études impliquant une interaction avec des patients, du matériel ou des données diagnostiques cliniques, ou encore des populations, dans l'une ou l'autre de ces catégories : mécanismes pathologiques ; recherche appliquée ; savoir clinique ; détection, diagnostic et histoire naturelle de la maladie ; interventions thérapeutiques y compris essais cliniques ; prévention et promotion de la santé, recherche comportementale, recherche en soins infirmiers, épidémiologie, recherche sur les structures médico-sociales »⁵.

L'étude des travaux de Jean Bernard et de ses collaborateurs aide, d'une part, à préciser le mécanisme du rapprochement entre les lieux et les pratiques de la biologie et de la médecine, d'autre part, à comprendre la coexistence de définitions différentes de la biomédecine et de la recherche clinique.

Lorsque la pathologie se situait au niveau des organes et des tissus, l'étude des lésions ne pouvait se faire sur l'homme vivant ; elle devait se contenter des autopsies et de l'examen au microscope de fragments de tissus fixés et colorés. Le développement des techniques de culture de cellules et d'instruments d'étude des molécules permit l'entrée dans les laboratoires d'échantillons vivants ou provenant de patients vivants. Auparavant, les biologistes

¹ Keating P., Cambrosio A., *The new genetics and cancer : the contributions of clinical medicine in the era of biomedicine*, J. Hist. Med., 56 : 321-352, 2001.

² Imbs P. (dir.), *Trésor de la langue française. Dictionnaire de la langue du 19^{ième} et 20^{ième} siècle (1789-1960)*, Editions du CNRS-Gallimard, t. 5, 1977, p. 923-924. Rey A. (dir.), *Dictionnaire historique de la langue française*, Dictionnaires Le Robert, Paris, 1992, p. 434.

³ Dictionnaire de médecine, Flammarion, 2^{ième} édition, 1982, p. 176.

⁴ Garnier M., Delamare J. (eds), *Dictionnaire des termes en médecine*, 23^{ième} édition, 1992, p. 190.

⁵ « a component of medical and health research intended to produce knowledge essential for understanding human disease, preventing and treating illness, and promoting health. Clinical research embraces a continuum of studies involving interaction with patients, diagnostic clinical materials or data, or populations, in any of these categories : disease mechanisms ; translational research ; clinical knowledge ; detection ; diagnosis and natural history of disease ; therapeutic interventions including clinical trials ; prevention and health promotion ; behavioral research ; health services research ; epidemiology ; and community-based and managed care-based research », Association of American Medical Colleges Task Force on Clinical Research 2000, 1 : 3, Washington D.C., 1999 cité par Gallin J. (ed.), *Principles and practice of clinical research*, Academic Press, 2002, p. 1.

n'utilisaient rien d'humain, à l'exception des liquides corporels et, pour quelques uns, des cellules sanguines.

Dans le même temps, la mise au point de traitements moléculaires offrit un équivalent cellulaire de la chirurgie, permettant l'entrée à l'hôpital de l'expérimentation bernardienne. En 1956, Jean Bernard écrivait : « l'étude des leucémies aiguës ainsi modifiées [par les traitements] est d'un très haut intérêt. Les leucémies aiguës sont depuis 1947 devenues de véritables maladies expérimentales dont on s'efforce – en faisant varier les conditions – d'analyser les variations et de mieux comprendre la physiopathologie. »¹.

Il est tentant de penser qu'au moment de son introduction, le terme biomédecine fut employé par les médecins-chercheurs hospitalo-universitaires comme synonyme de recherche médicale et comme symbole du succès de leur politique de scientification de la médecine et d'implantation de laboratoires de biologie à l'hôpital. Pourtant, en juin 1967, lorsque le Ministre de la recherche, Maurice Schumann, mit en place un groupe de travail, présidé par Jean Bernard², sur la réforme des structures de la recherche « biomédicale », le terme « biomédical » fit l'objet d'une discussion et fut jugé inadéquat : « Le Groupe a estimé 1°) que sur le plan sémantique et théorique le terme « médical » était bien préférable au terme « biomédical » qui, avec sa tête grecque et sa queue latine, consacre un barbarisme, 2°) mais qu'en pratique on était conduit dans ce rapport à utiliser le terme « biomédical » très largement employé sur le plan international et national. »³.

L'opposition des membres de ce groupe au terme biomédecine repose, à mon avis, sur le rejet de l'idée d'une fusion totale de la biologie et de la médecine. Ce terme ne pouvait convenir aux médecins, d'une part, parce que les médecins sont toujours les seuls à avoir accès aux individus, à l'homme dans sa globalité, d'autre part, parce qu'il suggère que les connaissances et les progrès médicaux dépendent uniquement de la biologie.

Pour Marcel Bessis et Albert Policard, en 1958, la biologie ne restait qu'un élément de la recherche médicale : « La recherche médicale est une recherche utilitaire ; elle s'apparente par là à la recherche industrielle. Cependant, comme pour cette dernière, quand l'application en est lointaine et indéterminée, elle peut alors prendre l'apparence de la recherche pure. Entre recherche pure et recherche appliquée, il n'y a pas de limites tranchées, mais une série d'intermédiaires. Le but utilitaire est quelquefois si éloigné, si mal défini, qu'on est tenté de l'oublier. L'étude de la vie cellulaire, par exemple, peut apparaître à certains comme de la recherche pure. En fait, elle a un objet pratique - l'établissement des bases sur lesquelles peuvent s'établir une thérapeutique ou des moyens de prévention. » (...) « Un chercheur médical peut appartenir à plusieurs catégories : le chercheur clinicien, qui observe les malades, note leurs réactions à la thérapeutique, et qui fait cette recherche à base statistique dont nous venons de parler ; le chercheur de laboratoire qui envisage les problèmes expérimentalement à l'aide des méthodes de la physique, de la chimie et de la biologie. Entre ces deux types de recherches, il n'y a pas de limites nettes, et souvent elles s'imbriquent. »⁴.

Jean Bernard a souvent rappelé la part de la clinique dans le progrès médical. Par exemple, en 1968, il écrivit : « La tâche à laquelle se consacrent les chercheurs de l'Institut de Recherches sur les Leucémies est à la fois rude et belle. Les données recueillies par l'étude des adultes et des enfants si gravement atteints qui leur sont confiés, inspirent leur recherche fondamentale ; et les progrès de cette recherche fondamentale suscitent les progrès de

¹ Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Doin, Paris, 1956, p. 32.

² Ce groupe comprenait Marcel Bessis, M. de Chalendar, inspecteur des finances, René Fauvert, Raymond Latarjet, Jérôme Lejeune, Pierre Royer et Etienne Wolff, administrateur du Collège de France.

³ Fonds IUH, article 146, Ministère de la recherche, Groupe de travail sur la réforme des structures de la recherche biomédicale, 1967-1968.

⁴ Policard A., Bessis M., « La recherche médicale », in *La méthode dans les sciences modernes* numéro hors série de *Travail et méthodes*, Editions Science et industrie, Paris, 1958, p. 1-5.

l'étiologie et de la thérapeutique. Ainsi s'établit le double courant fécond qui définit la recherche médicale, et qui fait appel ici aux disciplines les plus variées de l'observation clinique à la biologie moléculaire, de l'immuno-chimie à la géographie, de la cytogénétique à la chimiothérapie. »¹.

Le terme de biomédecine ne satisfait probablement pas non plus un grand nombre de biologistes, ceux qui ne travaillent pas sur l'homme. Biologistes et médecins s'en sont servi pour valoriser leur discipline auprès du public et des gouvernements, en mettant en avant les retombées - réelles ou potentielles - de leurs propres résultats dans d'autres domaines de la science.

Mais ce terme a connu un tel succès qu'il est devenu gênant, en particulier pour les médecins. Il me semble que l'extension du sens du mot « clinique » dans l'expression « recherche clinique », laquelle se retrouve dans les activités de l'Unité de recherche clinique de l'IRLMS qui se prolongeaient du chevet du malade au laboratoire, correspond à un moyen, pour les médecins, de réaffirmer la spécificité de la médecine, son irréductibilité à la biologie.

La naissance de la bioéthique

L'éthique, du grec *ethos*, « mode de vie », est aujourd'hui définie comme un raisonnement sur ce que l'on doit et peut faire, de façon à respecter la liberté et l'égalité de tous. L'éthique médicale est donc aussi vieille que la médecine. Au 4^{ème} siècle avant notre ère, le Serment d'Hippocrate invitaient les médecins d'abord à ne pas nuire, à traiter tous les patients à égalité, et à respecter le secret médical. Pendant longtemps, les traitements étant peu nombreux, la tâche principale du médecin était l'écoute et le réconfort du malade. Au 20^{ème} siècle, le développement considérable des sciences et des techniques biologiques et médicales souleva de nouveaux problèmes, la réflexion éthique s'étendit à la biologie. En août 1947, le Tribunal militaire international qui jugea les médecins nazis ayant pratiqué des expérimentations sur l'homme énonça dix règles à respecter dans ce domaine, lesquelles furent reprises par l'Association Médicale Mondiale sous le nom de Code de Nuremberg (voir annexe 53). Le terme « bioéthique » fut utilisé pour la première fois aux Etats-Unis en 1971 par un oncologue².

L'évolution de la situation a été marquée par l'introduction de nouveaux dilemmes.

Lors de l'introduction d'une nouvelle thérapeutique, le bien du patient qui se soumet à l'essai est toujours en conflit avec celui des malades à venir, avec le progrès de la médecine. La décision d'entreprendre l'expérience dépend de l'évaluation des espoirs et des risques. Avec l'exsanguino-transfusion se posa en outre un problème de conflit entre le bien des leucémiques et le bien des patients atteints d'autres affections, les services hospitaliers disposant de peu de sang et de peu de personnel.

Dès que la chimiothérapie permit d'augmenter un peu la durée de vie des leucémiques, Jean Bernard considéra comme relevant des devoirs du médecin de connaître et d'appliquer les nouveaux examens et traitements, ainsi que d'instruire les infirmières, tout en prenant soin des malades et de leurs familles³ : « Ainsi on doit poser les indications en évitant : 1°) la conduite presque expérimentale de certains services de recherches ; 2°) l'abstention traditionnelle qui risque de priver le malade du secours modeste, mais certain, que les nouveaux traitements peuvent lui apporter. »⁴.

¹ Fonds IUH, article 1, Annales de l'Université de Paris, n°4, 1968, p. 648.

² Suzanne Rameix, *Fondements philosophiques de l'éthique médicale*, Ellipses, Paris, 1996.

³ Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C. R. 2^{ème} Congrès Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.

⁴ Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953.

Concernant les essais thérapeutiques, ceux-ci ne devaient être pratiqués, selon Jean Bernard, que dans les meilleures conditions possibles : « la surveillance du traitement d'un malade atteint de leucémie aiguë traitée par la rubidomycine suppose toute une infrastructure hospitalière de premier ordre avec des transfusions de sang, de plaquettes et l'isolement des malades en milieu aussi aseptique que possible. On n'a pas le droit de se lancer dans cette thérapeutique, si l'on ne peut pas offrir aux malades la couverture de ces moyens adjuvants »¹. Il est « grave », disait-il, d'envisager un traitement sans avoir diagnostiqué la leucémie par un myélogramme. Il lui paraissait « hautement souhaitable » que le diagnostic et le début du traitement se fissent dans un centre spécialisé avant de se poursuivre au domicile du malade sous la direction de son médecin traitant. Il jugeait aussi « dangereux » d'attaquer trop vigoureusement les formes hyperleucocytaires en raison des risques liés aux destructions cellulaires massives².

Mais le respect de ces recommandations ne suffisait pas à écarter tous les problèmes. Certains avaient traité aux limites à ne pas dépasser. Par exemple, Jean Bernard écrivit en 1951 à propos du traitement par la cortisone et l'ACTH : « leurs conséquences (accidents ou à tout le moins souffrances imposées aux malades) ne doivent pas être sous-estimées. »³.

Se posait aussi la question du choix entre des thérapeutiques reposant sur des bases différentes, comme la chimiothérapie et la greffe de moelle : « La responsabilité de soumettre un enfant leucémique à la redoutable agression d'une irradiation à dose léthale préparant les essais de greffe de moelle était singulièrement lourde. La plupart des hématologistes la refusèrent. Quelques-uns l'assumèrent. Devant les échecs et en dépit des enseignements apportés, la plupart abandonnèrent et il est bien difficile en l'état actuel de discerner si la poursuite des essais est justifiée ou non. »⁴.

Face à un nouveau traitement potentiel, le choix des malades à inclure dans l'étude est également délicat. Jean Bernard choisit de toujours commencer par des malades en rechute « absolument à bout de souffle »⁵. Pour la vincristine, Georges Mathé traita les 25 premiers patients qui se présentèrent dans son service. D'un côté, cela risquait de diminuer leur chance de bénéficier d'une rémission, puisqu'il existait déjà des traitements relativement efficaces. D'un autre côté, les patients en phase terminale répondaient rarement aux agents chimiothérapeutiques, ce qui biaisait l'évaluation de leur efficacité. De plus, cette méthode ne relevait pas d'un choix personnel mais d'une décision prise au sein du Groupe européen de chimiothérapie anticancéreuse.

Par ailleurs, l'augmentation de la durée de survie des patients traités par chimiothérapie rendit plus difficile la classique question de la vérité au patient. Nous avons vu que Jean Bernard trouvait nettement préférable de ne pas informer le patient de la gravité de sa maladie. Mais quelques patients en rémission souhaitèrent se marier et avoir des enfants. Lorsque les leucémiques parlaient de leur projet de mariage à leur médecin, celui-ci se trouvait confronté à deux questions sans réponse évidente : le médecin doit-il déconseiller voire interdire le mariage ? Comment déconseiller le mariage et continuer à cacher le pronostic ? Toute décision était à la fois bonne et mauvaise puisqu'il fallait choisir entre protéger le malade et protéger le futur conjoint.

¹ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967.

² Bernard J., *Traitement des leucémies aiguës de l'enfant*, Rev. Prat., 19 (27) : 3915-3919, 1969.

³ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41 : 285-287, 1951.

⁴ Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C. R. 2^{ième} Congrès Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.

⁵ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967.

En général, les hématologues de l'Hôpital Saint-Louis ne s'opposaient pas au mariage en fin de maladie. Au début, ils essayaient d'obtenir un délai, comme cela se faisait auparavant avec les tuberculeux. La situation était jugée plus complexe lors d'une longue rémission complète. Dans ce cas, les médecins s'entretenaient d'abord avec les parents du malade, pour les convaincre d'informer les parents de l'autre partie, et étaient généralement entendus. Le ou la fiancé(e) était ensuite informé(e) de la gravité de la maladie, avec l'accord des quatre parents. A partir de là, les médecins estimaient ne plus devoir s'opposer au mariage, considérant que l'effort fait pour obtenir des rémissions n'avait de sens que s'il permettait aux malades de mener une vie quasi-normale ; ils y consentaient ainsi une ou deux fois par an, en insistant sur les risques que pourraient représenter une grossesse, pour la mère comme pour l'enfant. En 1969, trois jeunes couples s'étaient formés depuis deux à quatre ans.

Face à un désir d'enfant, la situation était délicate parce que les données étaient peu nombreuses et souvent contradictoires. Les risques étaient donc impossibles à évaluer. Pour la mère, certains auteurs pensaient que la grossesse précipitait l'évolution. Cependant, il y avait eu des cas de grossesse sans aggravation de l'état de la mère et même de rares rémissions spontanées. Pour l'enfant, l'avortement spontané et la prématurité étaient fréquents, mais hériter d'une leucémie était rare. Sur 250 cas publiés de grossesse en cours de leucémie, deux enfants seulement étaient devenus leucémiques quelques mois plus tard.

Concernant l'effet des médicaments, les résultats de l'expérimentation animale ne s'accordaient pas avec l'expérience clinique. Les antifoliques, abortifs chez l'animal et utilisés comme tels en Scandinavie, semblaient tératogènes chez l'homme. Huit cas de malformations du système nerveux avaient été notés chez l'homme pour un traitement au cours du premier semestre de grossesse. La 6-mercaptopurine était tératogène chez l'animal. Mais, sur 21 enfants nés de mères traitées, aucun n'avait présenté de malformation congénitale. Les alcaloïdes de la pervenche étaient également tératogènes chez la souris mais rarement chez l'homme. Enfin, la cytosine arabinoside et la rubidomycine provoquaient aussi des malformations chez l'animal mais aucun cas n'avait été signalé dans l'espèce humaine.

A l'Hôpital Saint-Louis, une grossesse avait été observée dans sept cas de leucémie aiguë. Cinq enfants normaux étaient nés, deux en première phase évolutive, deux en cours de traitement et un pendant une rémission complète. Les deux autres grossesses s'étaient soldées par un avortement spontané et une leucémie du nourrisson au cinquième mois. Pour Jean Bernard, le bon sens recommandait l'avortement mais, à la lumière de ces observations, il n'était pas sûr que le bon sens ait raison¹.

Le développement de la réflexion bioéthique résulte partiellement de la production massive par l'industrie pharmaceutique de molécules actives après la seconde guerre mondiale. Le premier congrès international de « morale médicale » eut lieu à Paris, en 1955. Jean Bernard et le psychiatre Jean-Marc Alby y participèrent. D'une part, les traitements moléculaires facilitèrent les essais d'un point de vue pratique autant que psychologique, d'autre part, ils facilitèrent simultanément les abus car ils pouvaient être employés chez l'homme sain, sinon à son insu, du moins sans qu'il fut pleinement informé des risques. Jean Bernard s'opposa fermement à l'expérimentation humaine sans but thérapeutique, à deux exceptions près : l'auto-expérimentation des médecins et l'expérimentation inoffensive chez des volontaires sains informés, comme dans le cas des greffes de peau de Jean Dausset : « Deux interdictions demeurent absolues : 1) il est interdit d'utiliser des malades innocents pour une expérimentation indirecte ; 2) il est interdit d'utiliser de pseudo-volontaires, prisonniers alléchés par de vagues promesses auxquels on injecte scandaleusement des tissus cancéreux, étudiants alléchés par quelques dollars ou par la promesse d'une indulgence aux

¹ Schaison G. et coll., *Leucémie aiguë à évolution prolongée et syndrome lupique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 9 (3) : 419-434, 1969.

examens et auxquels, de façon également scandaleuse, on injecte du sang leucémique. »¹. En 1958, Chester Southam, au Sloan-Kettering Institute de New York, avait injecté des cellules cancéreuses à des volontaires sains à autonomie réduite, prisonniers et handicapés².

Enfin, les essais de thérapeutiques dangereuses rendirent les médecins plus attentifs au vécu des patients et les amenèrent à porter un regard critique sur le contrat entre charité et pauvreté qui conférait au malade hospitalisé avant les années 1950 un statut de sous-patient. Tant que l'hôpital était un lieu où venaient mourir les pauvres gens et pas un espace attirant les personnes de toute origine sociale désireuses de bénéficier des meilleurs traitements disponibles, l'utilisation des malades dans l'enseignement n'apparaissait pas choquante. Jean Bernard s'y opposa dans les années 1960 : « Il n'est plus moralement possible de se servir des malades comme matériel d'enseignement. On peut même être surpris de la facilité avec laquelle nos aînés ont accepté cet usage de leur patient ; sans doute y avait-il inconsciemment une différence de classe qui intervenait. ». Pour y remédier, il proposa de ne pas enseigner la clinique avant l'externat, c'est à dire avant que l'étudiant n'ait des responsabilités médicales, et de développer les techniques audio-visuelles mais celles-ci ne lui semblaient pas entièrement satisfaisantes. Il lui paraissait primordial de faire en sorte que les étudiants admis à l'enseignement clinique aient terminé leurs études dans 80 à 90 % des cas³.

La standardisation des pratiques

Celle-ci fit l'objet d'efforts particulièrement importants au niveau du matériel biologique, notamment des animaux de laboratoire, de l'emploi des statistiques et de l'évaluation des traitements.

Le matériel biologique

Avant la seconde guerre mondiale, les animaux utilisés pour la recherche étaient, semble-t-il, élevés en petit nombre dans les laboratoires et probablement achetés pour les plus gros. Il s'agissait essentiellement de rats et de souris. Pour sa thèse, à l'Hôpital Claude Bernard, Jean Bernard avait disposé, au milieu des années 1930 de rats blancs et de quelques rats sauvages, souris, cobayes, poulets, chats, chiens et lapins, ainsi que d'un singe. Paul Chevallier avait des lapins et des oiseaux, à l'Hôpital Cochin. Les chercheurs de l'Institut du cancer avaient des rongeurs et des poules.

Il n'y avait pas, en France, de centres de production et d'élevage de lignées « pures » consanguines comme le Jackson Memorial Laboratory américain (Bar Harbor, Maine). Ce laboratoire privé, dirigé par le cancérologue Clarence Little, alliait recherche fondamentale et production de souris. Il avait été créé en 1929 avec pour objectif l'étude de la génétique du cancer⁴.

Juste après la seconde guerre mondiale, la situation française était probablement peu différente de celle de l'entre-deux-guerres. A l'Institut Pasteur, qui restait certainement le plus riche en animaux d'expérience, André Eyquem put utiliser des cobayes que ses amis

¹ Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C. R. 2^{ième} Congrès Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.

² Löwy I., *Experimental Systems and Clinical Practices : Tumor Immunology and Cancer Immunotherapy, 1895-1980*, J. Hist. Biol., 27 (3) : 403-435, 1994.

³ Fonds IUH, article 12, correspondance avec Gosset J., 26.02.1966.

⁴ Gaudillière J.P., « Circulating mice and viruses », in M. Fortun, E. Mendelsohn, eds., *The practices of human genetics*, Kluwer Academic Publishers, Great Britain, 1999, p. 89-124.

américains lui envoyèrent à la fin de la guerre, des lapins qui présentaient l'inconvénient de disparaître pour Noël et Pâques, d'un singe qu'ils avaient réussi à nourrir pendant la guerre, d'un bouc, de chiens que l'Armée lui donnait lorsqu'elle les jugeait trop peu agressifs, et de chèvres de l'Institut national de la recherche agronomique¹. Au Centre national de la transfusion sanguine, Marcel Bessis avait des lapins et des souris. Selon André Eyquem, les centres de transfusion travaillaient peu avec des animaux, par manque de place et parce que ces centres étaient souvent directement liés à un hôpital et que l'opinion publique avait peur d'un éventuel mélange du sang humain avec du sang animal².

Dans les années 1950, il existait, en France, au moins un centre d'élevage privé, le Centre d'élevage d'animaux de laboratoires d'Ardenay (Sarthe) qui produisait des souris, des rats blancs, des cobayes, des hamsters, des lapins, des crapauds et des grenouilles, et avait « la plus forte production française »³.

Lorsque les chercheurs français avaient besoin de souches de souris particulières, comme les souris leucémiques, ils faisaient venir quelques couples de l'étranger et établissaient leur propre élevage. En 1952, Raymond Latarjet et G. Rudali, à l'Institut du Radium, avaient obtenu la reproduction de la souche Ak, établie à partir de souris données par Joseph Burchenal, du Sloan Kettering Institute⁴. Cette lignée avait été sélectionnée vers 1930 par Jacob Furth (1896-1979) à l'Université de Pennsylvanie (Philadelphia, Pennsylvanie)⁵.

En 1957, lorsque le journal *L'Aurore* publia une interview de Jean Bernard dans laquelle ce dernier expliquait à quoi allaient servir les fonds recueillis par ce journal pour la recherche sur la leucémie, il mit l'accent sur les besoins en animaux d'expérience : « Sur les 40 millions d'emploi immédiat, la plus importante partie, de l'ordre de 30 millions de francs sera affectée au développement des animaleries. L'étude des traitements des leucémies humaines dépend en effet pour une large part de l'étude des leucémies animales. Certes les dernières étapes des recherches concernent toujours l'homme mais les premiers essais doivent toujours être faits sur l'animal. »⁶.

Les principaux changements intervinrent dans les années 1960. Le Commissariat général au second plan d'équipement et de modernisation comprenait une Commission de la recherche scientifique et technique, laquelle forma une sous-commission des animaux de laboratoire, en réponse au rapport présenté par Jean Hamburger au Colloque de Caen. Celle-ci envisagea la création d'élevages de chiens, de singes et de chats. Deux ans plus tard, le Comité consultatif de la recherche scientifique et technique, un nouvel organe interministériel, se préoccupa également d'animaleries et d'élevages d'animaux⁷.

Entre 1958 et 1960, le gouvernement mit également en place une Délégation générale à la recherche scientifique et technique (DGRST), laquelle comprenait un Comité « Cancer et leucémie », dont il sera plus longuement question dans le sous-chapitre consacré au financement⁸. L'étude des virus cancérogènes nécessitant l'utilisation d'animaux axéniques (sans microorganismes), la construction d'une animalerie destinée à la production de souris ayant cette propriété fut discutée par le Comité « Cancer et leucémie » en janvier 1961⁹. Se

¹ Entretien avec André Eyquem, le 19.03.1999.

² Entretien avec André Eyquem, le 19.03.1999.

³ Publicité parue dans la *Revue française d'études cliniques et biologiques*, 4 : 12, 1959.

⁴ Bessis M., Thiery J.-P., *Etudes au microscope électronique sur les leucémies humaines II- les leucémies lymphocytaires. Comparaison avec la leucémie de la souris de souche Ak*, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 2 (3) : 387-414, 1962.

⁵ Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1985, p. 484.

⁶ *L'Aurore*, 29-30 juin 1957.

⁷ Bernard J., *Allocution au Colloque sur l'expérimentation animale dans les hôpitaux*, *Expérimentation Animale*, 3 (1) : 17-18, 1970.

⁸ Bidault G., *Les mémoires de la recherche – Etats des versements 1977-1989*, CNRS Editions, 1993.

⁹ Archives nationales, Ministère de la recherche, DGRST, cote 77/321, article 561.

posa alors un problème de concurrence avec le Centre national de la recherche scientifique (CNRS). La DGRST devait participer au financement de la construction par le CNRS d'un centre d'élevage d'animaux de laboratoires, à Fay-les-Nemours (Seine-et-Marne), destiné à approvisionner l'ensemble du territoire, avec deux objectifs, réduire les coûts d'élevage à l'échelle nationale et rendre plus fiables les expériences : « La nécessité d'un tel centre apparaît urgente et impérieuse. La totalité des laboratoires français de biologie cellulaire, physiologie, biologie animale, cancérologie, médecine, ont besoin d'un approvisionnement en animaux d'expérience. Les solutions de fortune actuellement utilisées sont aussi mauvaises qu'onéreuses et ne répondent à aucune des exigences de qualité, régularité et uniformité. Ces exigences qu'entraînent la rigueur et la précision des expériences nécessiteront dans bien des cas, outre des spécimens de lignées pures, des animaux « pathogen free » ou « germ free » que seul un centre spécialement équipé et dirigé par des vétérinaires aidés de généticiens peut procurer. »¹.

Pierre Grabar et Raymond Latarjet rencontrèrent le directeur adjoint du CNRS. Le comité « Cancer et leucémie » et le CNRS s'accordèrent pour étendre cette animalerie et pour qu'elle soit dirigée par un cancérologue ou un vétérinaire proposé par le comité et nommé par le CNRS. Le directeur du centre d'élevage devait être assisté d'un Conseil technique des utilisateurs, chargé de la standardisation des conditions d'élevage dans les instituts et les laboratoires de recherche destinataires des animaux. Il s'agissait de mettre en place des systèmes de filtration de l'air, des autoclaves pour la stérilisation de la nourriture, de la litière et des vêtements, ainsi que des sas de décontamination². Un élevage « Germ-Free » fut installé à l'IRLMS en 1965³. Quatre ans plus tard, l'animalerie de l'IRLMS comprenait une unité conventionnelle d'élevage et d'expérimentation et une unité axénique. L'entrée dans l'unité axénique nécessitait le passage par une zone dite contrôlée, à air filtré, avec douche, vêtements stériles et autoclave. Le fonctionnement du laboratoire nécessitait chaque mois la stérilisation de 4000 cages et 26.000 biberons, de trois tonnes de nourriture et de quatre tonnes de litières. En 1962, la production locale d'animaux (souris, rats, hamsters) était d'environ 10.000 ; en 1969, elle était passée à 60.000 : huit souches de souris, deux de rat et une de hamster. Les sections d'expérimentations hébergeaient en outre des cobayes et des lapins⁴.

En 1962, Pierre Grabar, le directeur de l'Institut de recherches sur le cancer du CNRS, à Villejuif, souhaita y créer une singerie pour des travaux sur le virus SV40. Jean Bernard lui proposa de prévoir une singerie plus importante pouvant approvisionner plusieurs laboratoires et de soumettre ce projet à la DGRST, ce qui fut fait⁵. Les chercheurs de l'IRLMS souhaitaient à ce moment-là disposer de chimpanzés pour leurs essais d'inoculation d'extraits leucémiques humains.

L'idée d'une singerie commune, sous tutelle de la DGRST, ne semble pas avoir été retenue. Les chercheurs de l'IRLMS cherchèrent alors à s'associer avec l'Institut Pasteur. Les chimpanzés se reproduisant très difficilement en France, l'implantation d'une annexe en Afrique fut projetée. En 1963, Jean-Paul Lévy se rendit à l'Institut Pasteur de Kindia, en Guinée, pour y étudier l'élevage des jeunes chimpanzés⁶. L'année suivante, la construction d'une « annexe africaine » fut décidée. Elle devait bénéficier d'une subvention de la DGRST

¹ Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, Commissariat général du plan d'équipement et de la productivité, La recherche scientifique et technique, Rapport du délibéré avec le CCRST, 1961, p.156.

² Archives nationales, Ministère de la recherche, DGRST, cote 77/321, article 561.

³ Fonds IUH, article 1, plaquette de présentation de l'IRLMS, 1965.

⁴ Fonds IUH, article 79, rapport du Département d'expérimentation animale, 1969.

⁵ Fonds IUH, article 12, correspondance avec Grabar P., 19.02.1962. Archives nationales, Ministère de la recherche, DGRST, cote 77/321, article 561.

⁶ Fonds IUH, article 67, Leucémies expérimentales, lettre de J. Bernard au doyen de la Faculté de Médecine, 05.01.1963.

et être située en Côte d'Ivoire, près d'Abidjan, à proximité de l'université et du futur Institut Pasteur¹. Le bâtiment devait comprendre un élevage et un laboratoire d'expérimentation. Le sang, la moelle, les divers matériaux prélevés aux malades leucémiques à Paris devaient y être envoyés par avion et être ainsi inoculés aux singes quelques heures plus tard. Des travaux sur le lymphome de Burkitt devaient en outre y être menés, au contact des malades².

En attendant la mise en service de l'annexe, Michel Boiron rendit visite à Charles Mérieux (1907-2001) et le mit au courant de son projet d'inoculation de matériel leucémique humain à des chimpanzés nouveau-nés. L'Institut Mérieux possédait alors la plus belle singerie d'expérimentation d'Europe et deux chimpanzés y avait déjà été hébergés. Jean Bernard demanda à Charles Mérieux d'héberger des femelles pleines provenant d'une réserve gabonaise ou de pratiquer des inséminations artificielles dans sa singerie, de manière à inoculer les nouveau-nés en France. Ceci impliquait d'étendre la chimpanzerie Mérieux et d'y installer une nurserie³. Charles Mérieux se montra favorable à ce projet⁴. Il semble cependant qu'il n'ait pas abouti.

Une troisième piste fut explorée. Jean Bernard envisagea d'ouvrir dans le Sud-ouest de la France un centre d'élevage de chimpanzés qui soit un service commun de l'INSERM⁵. Jean Bernard présidait alors à l'INSERM un groupe de travail sur les problèmes posés par les animaleries⁶. Edouard Housset, le directeur du Service central de physiologie animale de l'Association Claude Bernard, reçut de M. Caujolle, professeur de toxicologie à Toulouse, une proposition de terrain pour l'installation de l'élevage de singes, à proximité de l'aéroport⁷. En avril 1966, Jean Bernard informa Marcel Bessis, alors membre du Comité consultatif de la recherche scientifique et technique de l'état de la question des animaux de laboratoire : « Je m'apprêtais à vous écrire pour vous parler du problème des animaux de laboratoire du V^o plan. Il viendra probablement assez prochainement devant le Comité Consultatif. Deux solutions, comme nous l'avions envisagé ensemble, étaient possibles : celle de la création d'une action concertée ou d'un organisme comparable, qui aurait sûrement été de beaucoup la meilleure, mais elle n'a pas été acceptée par le Délégué Général. On a donc retenu une deuxième solution : à savoir la répartition des masses budgétaires et l'affectation d'un problème précis à chacun des grands organismes : ainsi l'INSERM est chargé des primates, d'une part, d'un élevage de chiens et d'un élevage de chats d'autre part, le CNRS des chiens, des lapins, etc. Ceci ne serait pas mal, puisqu'il est accepté que la commission, présidée par Housset, (très bien présidée) continuera de fonctionner à titre consultatif, mais le danger est certainement grand qu'au moment des réductions budgétaires de chaque organisme, on détourne une partie des fonds consacrés aux animaux de leur véritable destin »⁸. Le projet de singerie à Toulouse obtint l'accord du Conseil scientifique de l'INSERM et de la Commission

¹ Fonds IUH, article 1, note concernant l'IRLMS, 1964.

² Fonds IUH, article 1, plaquette de présentation de l'institut, 1965 ; article 67, Hématologie expérimentale, Echanges d'informations entre M. Boiron et J. Bernard, 30.11.1965.

³ Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, Echanges d'informations entre M. Boiron et J. Bernard, lettre de J. Bernard au Dr Mérieux, 17.02.1965.

⁴ Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, Echanges d'informations entre M. Boiron et J. Bernard, 24.11.1965.

⁵ Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, Echanges d'informations entre M. Boiron et J. Bernard, lettre de J. Bernard au Dr Jean Darricau, 26.04.1965.

⁶ Archives de l'INSERM, Cote 9440-01, Conseil scientifique de l'INSERM, procès-verbal de la réunion du 23.01.1965.

⁷ Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, Echanges d'informations entre M. Boiron et J. Bernard, 18.02.1966.

⁸ Fonds Bessis, Correspondance avec Bernard J., 25.04.1966.

du Plan ; il fut défendu avec vigueur par le directeur de l'INSERM, Eugène Aujaleu¹. Par contre, M. Maréchal, le Délégué général de la DGRST, se montrait toujours réticent ; il était convaincu que seule l'industrie pouvait prendre en mains le problème des animaux de laboratoire. Jean Bernard et M. Housset, pour qui le secteur public devait exercer un contrôle très rigoureux sur le secteur privé, réussirent à le convaincre de créer une Commission permanente des animaux de laboratoire et un groupe de travail réunissant des représentants de cette commission, des représentants de l'industrie et des représentants de l'administration².

Le siège du Service central de physiologie animale, dirigé par le médecin des hôpitaux Edouard Housset, se trouvait à Paris, rue du Fer-à-Moulin, et les animaleries à Limeil-Brévannes (Val-de-Marne). La mission principale de ce service était l'approvisionnement des centres de l'Association Claude Bernard. Le « complexe de Brévannes » fut construit en 1962 sur une dépendance de l'Hôpital Emile Roux. Il produisit d'abord de petits animaux de laboratoire, cobayes et lapins puis, à partir de 1965, des chiens de race Beagle. Le chenil fut placé sous la responsabilité d'un vétérinaire de l'Institut national de la recherche agronomique³.

La recherche sur la production et l'élevage des animaux de laboratoire fut elle-même encouragée. Entre 1958 et 1967, quatre colloques internationaux furent consacrés aux animaux de laboratoire. En 1966, P. Sabourdy, proposa à Louis Bugnard, le directeur de la Commission « médecine » du CNRS, l'organisation d'un colloque international sur les « mutants pathologiques », mal connus selon lui des chercheurs français⁴. P. Sabourdy dirigeait un Centre de sélection et d'élevage des animaux de laboratoire à Gif-sur-Yvette (Essonne).

A partir de 1958, P. Sabourdy et Jean-Charles Friedmann, le responsable du Département d'expérimentation animale de l'IRLMS, organisèrent, sous l'égide du CNRS, un enseignement de « Zootechnie appliquée aux animaux de laboratoire ». Ils publièrent ensemble la revue *Animaux de laboratoires*, éditée par le CNRS. Jean-Charles Friedmann publia en outre la revue *Expérimentation animale* et, en 1969, il organisa, à l'Hôpital Saint-Louis, un colloque sur l'expérimentation animale dans les hôpitaux⁵.

Les efforts de standardisation du matériel biologique portèrent d'abord sur les animaux de laboratoire mais ils concernèrent aussi les cellules et les anticorps. En 1961, la DGRST envisagea la création d'un Laboratoire central de culture de tumeurs greffables avec pour objectif de fournir aux différents laboratoires de recherche sur le cancer le même matériel expérimental⁶.

¹ Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, Echanges d'informations entre M. Boiron et J. Bernard, 10.12.1966.

² Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, Echanges d'informations entre M. Boiron et J. Bernard, 08.11.1966.

³ Fonds IUH, article 162, brochure de l'Association Claude Bernard, 1970.

⁴ Fonds IUH, art. 28, correspondance avec Sabourdy P., 05.12.1966.

⁵ Fonds IUH, article 79, Expérimentation animale, rapport d'activité, 1969.

⁶ Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, Rapport d'activité des actions concertées de la DGRST, 1961.

L'emploi des statistiques

L'étude des travaux de Jean Bernard montre à partir de 1960, un recours plus fréquent aux expériences portant sur un grand nombre de cas, chez l'homme et chez l'animal, ainsi que l'introduction d'outils d'analyse statistique.

Avant les années 1960, les études menées chez l'animal portaient en général sur des séries d'une vingtaine de souris, à l'exception de la thèse de Jean Bernard, au cours de laquelle il utilisa 350 rats. Les études physiopathologiques (étude de la moelle osseuse, de l'anémie des leucémiques, de la fixation de l'iode, de l'effet biochimique de la cortisone, des substances anti-leucocytaires) impliquaient de 5 à 50 patients selon la difficulté de réalisation. Seules les études rétrospectives (formes cliniques et cytologiques des leucémies aiguës) concernaient plus de 100 personnes, ainsi que les travaux de Jean Dausset sur les sérums normaux. Quant aux essais thérapeutiques, ils portaient au début sur une dizaine de patients (colchicine, exsanguino-transfusion, hormones sexuelles, très fortes doses de cortisone, etc.) et n'étaient poursuivis que s'ils étaient jugés encourageants.

Après 1960, le nombre total de malades traités par une nouvelle molécule dans les premières années de son utilisation s'accrut considérablement (66 patients en 2 ans pour la cortisone, 50 en un an pour la 6-mercaptopurine, 580 en 4 ans pour la rubidomycine, 100 en un an pour l'asparaginase). En 1967, Jean Bernard considérait que tout essai thérapeutique devait porter sur au minimum 50 cas : « Mes hésitations sont dues au fait que lorsqu'on traite des leucémies aiguës depuis plusieurs années comme nous le faisons, on est cruellement habitué aux déceptions, et il n'est pas du tout rare qu'un médicament donne un résultat chez le premier malade traité, voire chez le second et qu'après, tout s'écroule. C'est pourquoi il nous faut faire des chiffres de cet ordre. C'est-à-dire une cinquantaine de malades pour avoir la conviction que réellement un résultat important est obtenu. »¹.

Dans les années 1950 et 1960, les possibilités de traitement informatique étaient très réduites, ce qui limitait dans certains cas le recours aux grands nombres. Jean Dausset fut confronté à ce problème dans le cadre de ses travaux sur les groupes leucocytaires. A partir de 1957, l'Institut Blaise Pascal du CNRS s'était donné pour tâche d'effectuer, dans la mesure de ses moyens, les calculs indispensables aux différents laboratoires de recherche qui n'avaient pas la possibilité de les effectuer eux-mêmes. Il s'agissait principalement de laboratoires de physique ou de chimie, et dans une moindre mesure de sociologie et de psychologie. Dans le domaine médical, l'Institut Blaise Pascal réalisait surtout des calculs pour le Centre de calcul et de statistique de la Faculté de médecine, dirigé par François Grémy, et pour deux laboratoires de l'IRLMS, le laboratoire d'immuno-hématologie et celui des isotopes. En 1965, le fonctionnement de l'Institut Blaise Pascal fut menacé par le blocage par le Ministère des finances des crédits destinés à l'achat d'une nouvelle calculatrice. La machine alors la plus puissante de l'institut était une calculatrice IBM 704 qui, d'une part, présentait des symptômes de mauvais pronostic et, d'autre part, était saturée depuis plus d'un an². M. Cesar, le responsable du gros matériel électrique et électronique de l'Assistance Publique, suggéra à Jean Dausset de proposer l'installation à l'Hôpital Saint-Louis d'un service de statistiques disposant d'une machine électronique³. Cette machine pouvait aussi servir à différents chefs

¹ Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967.

² Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et Jean Dausset, 15.06.1965.

³ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et Jean Dausset, 07.10.1965.

de service, notamment à Jean Bernard pour le classement des observations de leucémies traitées et l'appréciation des résultats. Ce dernier demanda à Marcel Bessis de signaler le problème au Comité consultatif de la recherche scientifique et technique¹.

Alors que les résultats n'étaient auparavant exprimés qu'en pourcentages et en moyennes, les publications de l'IRLMS s'enrichissent à partir de 1961 d'autres notions : dispersion autour de la moyenne et médiane (1961), test du χ^2 (1962), méthode actuarielle (1967), différence significative (1969), homogénéité de l'échantillon (1970).

En 1962, devant préparer un rapport sur la survie des leucémiques et l'influence des traitements, Jean Bernard demanda conseil à Daniel Schwartz (né en 1917), le directeur de l'Unité de recherches statistiques de l'INSERM, que connaissait Michel Boiron². Deux ans plus tard, l'équipe de Daniel Schwartz fournit une collaboration statistique aux recherches du service de Jean Bernard sur le pronostic des leucémies. Depuis sa création en 1960 et du fait de son implantation dans l'Institut Gustave Roussy, cette unité était spécialisée dans l'étude des cancers. En 1965, elle prit en charge l'analyse des essais thérapeutiques relatifs aux « hémolymphopathies » dans le cadre du Groupe européen de chimiothérapie anticancéreuse et organisa, en collaboration avec le Ministère de l'agriculture, une étude épidémiologique comparée de la leucémie humaine et de la leucose bovine. L'année suivante, l'Unité de recherches statistiques de l'INSERM géra une enquête de morbidité sur les leucoses humaines organisée par la Section cancer dans six départements. Elle aida aussi l'IRLMS à analyser les résultats des essais thérapeutiques de la rubidomycine³.

A partir de 1966, une mathématicienne statisticienne, Nicole Feingold, attachée de recherche à l'INSERM, travailla dans le département de Jean Dausset à l'analyse des résultats sérologiques, à la main ou avec la « machine électronique » du CNRS, ainsi qu'avec Jacques Caen sur l'hémophilie⁴.

En amont de l'analyse statistique, les recherches cliniques de l'IRLMS se heurtèrent dans la seconde moitié des années 1960, à un problème de recueil des données. Ce problème fut évoqué en 1958 par Marcel Bessis et Albert Policard : « Les observations cliniques faites sur le malade sont évidemment essentielles à la recherche médicale. (...) Le champ de ces études est vaste : clinique proprement dite, étiologie, épidémiologie, etc., et aussi l'immense domaine des essais thérapeutiques, à base empirique ou scientifique. Or le plus grand nombre de ces observations sont perdues, parce qu'elles ne sont pas publiées, ou parce qu'elles ne sont pas recueillies d'une manière standardisée et facile à consulter. »⁵.

En 1970, les difficultés de gestion du matériel clinique, composé en grande partie de documents de l'Assistance Publique, paralysaient les travaux de l'Unité de recherche clinique de l'IRLMS. Le premier problème résidait dans le fait que l'Assistance publique n'affectait pas suffisamment de locaux, matériel et personnel pour le stockage et la mise à disposition des dossiers médicaux. Cette dernière correspondait à la mobilisation quotidienne de 15 à 20 dossiers pour l'hospitalisation et de 100 à 150 dossiers pour la consultation, ainsi qu'à l'archivage de 2500 à 3000 nouveaux dossiers par an. L'institut dut acheter du matériel de rangement et trouver des financements pour deux des trois personnes qui s'occupaient des

¹ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et J. Dausset, 09.10.1965, 16.10.1965.

² Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, lettre de J. Bernard à D. Schwartz, 09.07.1962 ; Bernard et coll., *Factors influencing survival time in patients with acute leukemia*, NCI Monograph, 15 : 359, 1964.

³ Archives de l'INSERM, Cote 9203, article 42, Rapports d'activité de l'unité U21.

⁴ Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, échanges d'informations entre le directeur de l'institut et Nicole Feingold.

⁵ Policard A., Bessis M., « La recherche médicale », in *La méthode dans les sciences modernes* numéro hors série de *Travail et méthodes*, Editions Science et industrie, Paris, 1958, p. 5.

archives médicales du service d'hématologie. L'une fut rémunérée par l'Association Claude Bernard, l'autre par l'Education nationale.

Durant la seconde moitié des années 1960, l'utilisation des données cliniques fut, pour cette raison, très inférieure à ce qu'elle aurait pu être. En effet, pour les recherches cliniques et en particulier thérapeutiques, il fallait au moins un fichier classant les patients par maladie. Maryse Weil se chargea de son remplissage jusqu'en 1965 mais personne ne la remplaça. Plus de 10.000 dossiers se retrouvèrent ainsi inutilisables cinq ans plus tard. Vers 1970, leur classement rétrospectif fut confié à une archiviste, Josette Zimmermann, engagée à mi-temps par l'Université Paris 7, et fut réalisé avec l'aide de médecins du service. Un deuxième problème était le manque de coopération de la part des cliniciens non chercheurs. A la consultation, les fiches de diagnostic et de surveillance élaborées par l'Unité de recherches cliniques n'étaient remplies qu'une fois sur dix. Enfin, le projet de l'Assistance Publique de centraliser les dossiers médicaux et de les enregistrer sur ordinateur était source d'inquiétude car il ne prévoyait pas d'inclure les dossiers de consultation¹.

Les essais cliniques contrôlés

Au cours du 20^{ième} siècle, des médecins désireux de réduire la part de subjectivité dans l'évaluation des traitements, plus ou moins associés à des statisticiens, ont successivement introduit la coopération, le contrôle, la randomisation et le double-aveugle.

La « coopération » peut être définie comme la mise en commun des patients, destinée à augmenter le nombre de cas étudiés pour permettre l'analyse statistique ; plus l'efficacité d'un médicament est faible, plus le nombre de patients impliqués dans l'essai doit être important. On parle d'essai « multicentrique » lorsque la coopération concerne des lieux de soins géographiquement distincts et que, par conséquent, l'essai est sous la responsabilité de plusieurs cliniciens. Dans les années 1930 et 1940, des enquêtes appelées « investigations en coopération » eurent pour objectif de rassembler les résultats obtenus par des chercheurs isolés. Au cours de la seconde moitié du 20^{ième} siècle, la notion de coopération prit, dans le contexte des essais thérapeutiques, une définition plus précise que celle d'une participation à une œuvre commune. Elle engloba l'idée d'un contrôle réciproque des pratiques. Vers 1930, John Stokes, un dermatologue de l'Université de Pennsylvanie (Philadelphie, Pennsylvanie), invita un petit nombre de ses collègues à participer à un essai multicentrique sur le traitement de la syphilis. Les membres du Cooperative Clinical Group ainsi formé exigèrent, pour la première fois, de s'accorder entre eux sur la méthodologie. Cependant, l'essai fut surtout basé sur l'expertise individuelle, la recherche d'un consensus et le respect des règles édictées en commun s'étant avérés très difficiles.

Les essais sont dits « contrôlés » quand le clinicien suit un schéma ou protocole thérapeutique préétabli, comprenant des critères de sélection des patients, une posologie, un mode et une chronologie d'administration du médicament, des critères d'évaluation de son efficacité thérapeutique et un mode d'enregistrement des résultats. Les résultats sont comparés à ceux obtenus avec des malades témoins non traités ou traités avec un placebo. Pour les maladies rapidement mortelles, on utilise un « contrôle historique », c'est à dire des données recueillies avant l'introduction d'un traitement.

Pendant la seconde guerre mondiale, le tirage au sort ou « randomisation » fut introduit pour répartir les patients dans le groupe traité ou le groupe témoin, de manière à éviter que les médecins choisissent plus ou moins consciemment de ne traiter que les patients

¹ Fonds IUH, article 1, rapport IRLMS pour 1970-1971. Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de J. Bernard à C. Jacquillat, 03.05.1965.

ayant le plus de chances de répondre favorablement au médicament. Le tirage au sort fut également employé pour les essais « comparatifs », visant à confronter au moins deux traitements concurrents. Les premiers essais vraiment coordonnés et randomisés furent réalisés aux Etats-Unis, sous la tutelle du CMR (Comittee for Medical Research) de l'OSRD (Office of Scientific Research and Development). Ces essais portèrent sur la pénicilline et la streptomycine dans les maladies infectieuses. Leurs résultats, dépourvus d'ambiguïté, favorisèrent la diffusion de la méthode. A la fin de la guerre, le Conseil américain de la pharmacie et de la chimie établit un Comité des essais thérapeutiques pour promouvoir l'évaluation coopérative des nouveaux traitements, en coordonnant l'action des industriels et des chercheurs des Ecoles de médecine et des hôpitaux. Cette initiative fut soutenue par l'Association médicale américaine : « Les avantages des programmes de recherche coordonnés ont été reconnus depuis longtemps par un petit nombre de chercheurs, cependant une catastrophe telle qu'une guerre globale était, semble-t-il, nécessaire pour que ce projet se réalise. »¹. La recherche coopérative à grande échelle se maintint grâce à des entités centralisées telles que le MRC (Medical Research Council) en Grande Bretagne, la Veterans Administration et le National Cancer Institute aux Etats-Unis.

Le dernier élément d'objectivisation employé dans les essais thérapeutiques fut le « double-aveugle » ; dans ce cas, ni le patient, ni le médecin ne savent si le produit reçu est une substance potentiellement active ou un placebo. En fait, aucun essai de chimiothérapie anticancéreuse n'utilisa de placebo total, ce procédé étant jugé moralement inacceptable. La méthode du double-aveugle ne fut pas non plus employée, la connaissance des effets secondaires du médicament facilitant le traitement de ces manifestations toxiques parfois très dangereuses pour le patient².

D'une manière générale, les statistiques permirent de répartir les tâches et de neutraliser les conflits, en plus de répondre à un souci d'objectivité. La perte de pouvoir du clinicien était compensée par une perte de mise en cause. Toutefois, la perte de la primauté du jugement clinique dans cette situation ne fut pas facile à accepter, comme en témoigne cet extrait d'un exposé fait par Jean Bernard, en 1966, au deuxième Congrès international de morale médicale : « l'appréciation des nouvelles thérapeutiques est devenue très rigoureuse, exige des comparaisons très scrupuleuses entre les séries témoins très soigneusement établies. Lorsque par exemple dans le traitement d'une leucémie il s'agit de comparer deux combinaisons thérapeutiques dont on ignore l'efficacité, le tirage au sort est licite. Mais d'autres difficultés se présentent, soit que dès le départ l'une des méthodes apparaisse, pour des raisons expérimentales, par exemple franchement supérieure à l'autre, soit encore que très vite après le début de l'essai comparatif, une des deux séries apparaisse très préférable. Le statisticien ici est formel, il est indispensable de continuer. Le feriez-vous si c'était votre fils ? Convient-il de sacrifier ou de risquer de sacrifier le malade présent au bénéfice que les malades futurs pourront tirer de la comparaison en cours ? »³.

Il n'a été question pour l'instant que d'essais thérapeutiques, mais au cours de la deuxième moitié du vingtième siècle, ces principes furent appliqués à d'autres essais « cliniques », destinés à recueillir des données cliniques et biologiques et visant à préciser la définition de la maladie.

Au début de sa carrière, Jean Bernard réalisa des essais thérapeutiques isolés. Nous avons vu que le diagnostic reposait sur l'examen du sang et de la moelle et que les résultats

¹ Current comment, *The therapeutics trials committee*, J. Am. Med. Ass., 131 : 600, 1946.

² Keating P., Cambrosio A., *From screening to clinical research : the cure of leukemia and the early development of the cooperative oncology groups 1955-1966*, Bull. Hist. Med., 76 : 299-334, 2002. Löwy I., *Between Bench and Bedside*, Harvard University Press, 1996, chapitre 1.

³ Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C. R. 2^{ième} Congrès Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.

étaient exprimés en pourcentage de rémission ou d'amélioration. La durée de survie ne pouvait être utilisée comme critère d'efficacité parce que les données historiques à ce sujet divergeaient trop. On peut donc qualifier ces essais de « contrôlés », tout en rappelant que le traitement des leucémies aiguës ne pouvait être entièrement codifié ; la dangerosité des substances testées nécessitant un ajustement permanent des doses et du moment de l'administration en fonction des données hématologiques. Jean Bernard discuta les critères d'évaluation des médicaments avec d'autres spécialistes, mais ceci n'aboutit pas à des pratiques communes avant les années 1960, et celles-ci restèrent limitées aux essais coopératifs. On peut éventuellement parler de coopération au sens de partage des résultats dès lors que ceux-ci furent échangés contre les médicaments à tester.

A partir de 1952, Jean Bernard et ses collaborateurs réalisèrent des essais comparatifs. Le premier, visant à évaluer l'intérêt d'un traitement d'entretien par la cortisone, compara trois séries d'enfants parvenus à la période de rémission. Dans la première série, le traitement d'attaque fut poursuivi aux mêmes doses sans interruption. Dans la seconde, le traitement d'attaque fut remplacé par un traitement d'entretien à doses faibles. Dans la troisième, le traitement hormonal fut suspendu pendant la rémission. Un second essai comparatif concerna l'administration quotidienne ou discontinue de cortisone¹. Les patients étaient probablement répartis au hasard dans les groupes mais sans tirage au sort. Toutefois, ces essais ne correspondaient pas aux exigences statistiques ultérieures ; chaque série comprenait peu de patients (une à plusieurs dizaines)².

L'équipe de Jean Bernard participa à des essais coopératifs au sens strict dans le cadre de l'ALGB, à partir de 1965 semble-t-il. Cet essai randomisé visait à évaluer l'intérêt thérapeutique de la cytosine arabinoside (protocole 6503).

L'ALGB (Acute leukemia group B ; A pour les adultes, B pour les enfants) fut d'abord une structure interne du National Cancer Institute (NCI). En 1954, ce groupe réalisa, sous la direction de James Holland, un premier essai randomisé pour évaluer les bénéfices comparés de la 6-mercaptopurine et du méthotrexate. L'ALGB fut d'abord placé sous la tutelle du Cancer Chemotherapy National Committee (CCNC), établi, en 1954, pour coordonner les relations entre l'industrie, l'Etat et les fondations. Ce comité était dirigé par Sidney Farber.

L'année suivante, sous la pression du Congrès américain et de cancérologues extérieurs, les chercheurs et cliniciens du NCI acceptèrent de partager le contrôle des essais. Le CCNC fut remplacé par le Cancer Chemotherapy National Service Center (CCNSC), dirigé par Kenneth Endicott. Cette structure fut abondamment financée ; le CCNSC disposa de 5,6 millions de dollars en 1956, 20 en 1957 et 28 en 1958. Il supervisait aussi les tests précliniques et pharmacologiques.

Le premier meeting de l'ALGB se tint à Boston en 1955 ; il y fut question des problèmes de standardisation et de définition. Cette année-là, James Holland partit au Roswell Park Memorial Institute à Buffalo. Il fut remplacé à la tête de l'ALGB par Emil Frei qui dirigea le Centre clinique du National Cancer Institute et l'ALGB de 1955 à 1965. Durant cette période, ce dernier devint le groupe coopératif « Cancer et leucémie aiguë groupe B » (Cancer and Acute Leukemia Group B ou CALGB).

Le premier essai clinique coopératif de l'ALGB, organisé en 1958, portait sur deux façons d'administrer ensemble la 6-mercaptopurine et le méthotrexate, de manière continue ou intermittente. L'année suivante, les différents groupes coopératifs du CCNSC se rencontrèrent à Washington. Cette conférence fut centrée sur les critères de diagnostic et la définition de la rémission. Toujours en 1959, l'efficacité de la 6-mercaptopurine en traitement d'entretien fut évaluée contre un placebo, la cortisone étant utilisée dans les deux cas en traitement d'attaque.

¹ Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 23 (3) : 205-233, 1952.

² Bernard J., Deltour G., *Les nouveaux traitements des leucoses*, Sem. Hôp. Paris, 29 (67) : 3430-3431, 1953.

La plus grande durée de la rémission induite par la cortisone en association avec la 6-mercaptopurine étant visible dès 1960, ce protocole fut interrompu.

Le CCNSC connut un développement rapide. En 1960, 150 nouveaux composés étaient à l'essai contre 30 cinq ans plus tôt ; 150 hôpitaux aux Etats-Unis et en Europe participaient, impliquant 16.500 patients au total répartis dans 200 essais différents.

Cette année-là, Kenneth Endicott prit la direction du NCI, et Gordon Zubrod, alors à la tête de la Division de pharmacologie du CCNSC, en devint le directeur scientifique. En 1962, ce dernier réorganisa le CALGB en un « corps expéditionnaire anti-leucémique », l'Acute Leukemia Task Force. Il s'inspira des « task forces » de l'entreprise IBM ; il s'agissait de projets de recherche et développement caractérisés par : un seul objectif, les meilleures personnes, du temps et des ressources. Pour Gordon Zubrod, l'objectif était de trouver la façon d'utiliser les médicaments efficaces disponibles pour détruire toutes les cellules leucémiques résiduelles. Ce nouveau groupe devait s'occuper non seulement de chimiothérapie mais également d'étiologie virale et de cinétique cellulaire¹.

Lors d'un voyage aux Etats-Unis, à l'automne 1962, Michel Boiron prit contact avec Gordon Zubrod et lui proposa la collaboration de l'IRLMS. Dans le compte rendu qu'il fit de leur entretien à Jean Bernard, il dit avoir trouvé Gordon Zubrod très coopérant et très intéressant. Ce dernier devait cependant en référer au directeur du NCI et il restait à discuter des modalités exactes de l'association et du montant de l'aide financière. Trois ans plus tard, Gordon Zubrod se rendit à l'IRLMS, probablement pour fixer les détails de la participation de ce dernier au protocole 6503 de l'ALGB².

En 1966, Kenneth Endicott créa le Comité d'étude des essais cliniques collaboratifs de chimiothérapie anti-cancéreuse (Cancer Chemotherapy Collaborative Clinical Trials Review Committee), composé d'experts extérieurs au programme. Une telle structure n'existait pas auparavant, essentiellement parce que les essais chimiothérapeutiques étaient financés par des contrats. Les essais cliniques acquièrent en outre une autonomie financière par rapport au programme de criblage ou « screening » chez l'animal. A cette occasion, les essais thérapeutiques furent placés sous l'autorité d'une Branche d'évaluation des traitements du cancer (Cancer Therapy Evaluation Branch) ajoutée au Programme chimiothérapie³.

Le développement des liens avec l'industrie

Les relations de l'équipe de Jean Bernard avec l'industrie pharmaceutique devinrent plus nombreuses et changèrent de nature. Nous laisserons de côté les simples achats de réactifs, très difficiles à chiffrer et dont l'augmentation est plus que probable, pour nous pencher sur les associations à bénéfices réciproques.

Ce fut tout d'abord les tests cliniques, initiés en 1948 avec l'aminoptérine produite par les laboratoires Lederle. Dans ce type de relation, le service hospitalier bénéficie gratuitement du produit fini en avant-première et en quasi-exclusivité ; la firme pharmaceutique obtient en échange les résultats, dont la valeur est garantie par le choix d'experts médicaux disposant d'un grand nombre de patients.

¹ Keating P., Cambrosio A., *From screening to clinical research : the cure of leukemia and the early development of the cooperative oncology groups 1955-1966*, Bull. Hist. Med., 76 : 299-334, 2002. Löwy I., *Between Bench and Bedside*, Harvard University Press, 1996, chapitre 1.

² Fonds IUH, article 67, Hématologie expérimentale, lettre de M. Boiron à J. Bernard, 20.11.1962, 1965.

³ Keating P., Cambrosio A., *From screening to clinical research : the cure of leukemia and the early development of the cooperative oncology groups 1955-1966*, Bull. Hist. Med., 76 : 299-334, 2002. Löwy I., *Between Bench and Bedside*, Harvard University Press, 1996, chapitre 1.

Les médicaments utilisés à l'IRLMS contre la leucémie aiguë leur furent fournis soit directement par les industriels, par les Laboratoires Lederle (antifoliques), Merck (cortisone), Burroughs-Wellcome (6-mercaptopurine), Eli Lilly (vincristine) et Rhône Poulenc (rubidomycine), soit par le National Cancer Institute (méthylgag, cytosine arabinoside).

Les relations avec les firmes pharmaceutiques ne furent pas toujours sereines. En 1968, Jean Bernard, très choqué par l'utilisation, probablement publicitaire, faite par Eli Lilly d'un de ses tirés-à-parts, demanda que des sanctions fussent prises contre le ou les responsables : « dans le dur combat que nous menons, une collaboration étroite doit exister entre ceux qui préparent les médicaments antimitotiques et ceux qui les appliquent. Cette collaboration suppose une confiance absolue »¹.

Un problème plus grave était celui de la pénurie d'agent actif entre la fin des tests et la mise sur le marché. En 1971, Jean Bernard, qui rencontrait de grandes difficultés d'approvisionnement en cytosine arabinoside demanda au responsable de la Pharmacie centrale des hôpitaux de l'Assistance publique, M. Leclerc, de faire accélérer sa mise à disposition : « nous sommes dans cette période que nous connaissons bien où les firmes pharmaceutiques qui nous délivraient le médicament bénévolement pendant la période où ce médicament n'était pas introduit en France, cessent de le faire. »².

En 1961, le Ministère de la santé autorisa les brevets sur les médicaments et réforma le système d'attribution des visas de commercialisation des spécialités par la Direction centrale de la pharmacie, dans le but de favoriser l'industrie pharmaceutique française³. Jean Bernard devint expert clinicien auprès du Ministère de la Santé à partir de décembre 1963 et au moins jusqu'en 1967. En 1967, il rédigea un rapport sur l'Oncovin® à la demande de la Société Lilly, après avoir pris connaissance de l'expertise analytique réalisée par Jean Le Men, à Reims, et du rapport d'expertise pharmacologique et toxicologique établi par Gérard Milhaud⁴.

Au type d'association symbiotique dont nous venons de parler, s'ajoutèrent à partir de 1964, des échanges mettant en jeu d'autres compétences ou matériaux. En 1964, la préparation d'un vaccin contre la leucémie murine reposait sur la mise en commun de matériel biologique et de techniques d'expérimentation animale, apportés par le Département d'hématologie expérimentale, et d'une infrastructure et de techniques de production de masse de vaccins anti-viraux, fournis par l'Institut Mérieux.

Trois ans plus tard, Jean Bernard et Maryse Weil contactèrent la Société d'études et d'applications biochimiques ainsi que les Etablissements Clin-Byla, pour leur demander de préparer de l'asparaginase. Un technicien des Etablissements Clin-Byla ayant mis au point une méthode de fabrication de l'enzyme, l'entreprise proposa à Jean Bernard d'en entreprendre la fabrication sur le plan artisanal et d'effectuer une étude toxicologique de manière à ce que l'IRLMS puisse traiter un dizaine de patients, étant entendu que l'IRLMS se chargerait de tester chez l'animal l'activité biologique du produit⁵.

L'IRLMS collabora également, en 1969, avec la firme IBM à la mise au point du séparateur de cellules, et avec les Laboratoires Searle au fractionnement des cellules leucémiques, l'institut fournissant les cellules pathologiques grossièrement fractionnées et les Laboratoires Searle des techniques plus fines de fractionnement.

Ce type de collaboration plus étroite avec l'industrie que les tests de médicaments était pratiqué par le CNTS dans l'immédiat après-guerre. De 1946 à 1948, Marcel Bessis travailla à

¹ Fonds IUH, article 19, correspondance avec P. Rehfeld, 17.12.1968.

² Fonds IUH, article 15, correspondance avec M. Leclerc, 28.10.1971.

³ Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002, p. 308.

⁴ Fonds IUH, article 89, Chimiothérapie, 1967.

⁵ Fonds IUH, article 12, correspondance avec Laboureur P., 16.11.1967, 20.11.1967, 13.07.1971 ; article 17, correspondance Weill J., 31.10.1967, 24.01.1968, 26.01.1968, 27.02.1968.

la mise au point d'un microscope électronique électrostatique avec la Compagnie générale de télégraphie sans fil (CSF) ; en 1947, le CNTS proposa aux Laboratoires Roussel de s'associer pour fractionner du plasma humain. Dans les travaux de Jean Bernard et ses collaborateurs, ce type de relations avec l'industrie apparaît plus tardivement. Cette différence nous semble résulter de la plus grande importance relative des travaux de laboratoire après la création de l'IRLMS.

Les chercheurs de l'IRLMS privilégiaient les firmes françaises ou européennes. Toutefois, les molécules anti-leucémiques qu'ils testèrent furent presque toutes (6 sur 8) produites par des entreprises américaines. Aux Etats-Unis, l'industrie pharmaceutique fut encouragée par les investisseurs, avant même la fin de la seconde guerre mondiale. Un article du *Foreign Commerce Weekly* paru en 1946 disait que les médicaments fabriqués aux Etats-Unis avaient acquis une nouvelle renommée ces dernières années et qu'il existait une énorme demande étrangère pour ces produits. En 1945, les exportations américaines de médicaments s'étaient élevées à 116 millions de dollars, soit deux fois plus que ce qui était attendu. L'article invitait les industriels américains à se lancer dans cette voie au plus vite, de manière à laisser un minimum d'opportunités à la concurrence qui ne manquerait pas de se développer dans d'autres nations¹.

Malgré les difficultés économiques liées à la reconstruction, la situation de l'industrie pharmaceutique française fut jugée satisfaisante par le Commissariat général au plan en 1961. Elle occupait alors la cinquième place mondiale par le volume de ses exportations².

Le renforcement de la coopération

Les informations, non exhaustives, dont nous disposons sur les collaborations extérieures de Jean Bernard et de ses collaborateurs concernant les recherches sur la leucémie aiguë (voir annexe 54), indiquent de fréquentes relations avec des laboratoires de recherche parisiens, principalement universitaires, à la fin des années 1940 et dans les années 1950. Jean Bernard fournissait ses patients ou des échantillons biologiques humains et allait chercher les appareils et techniques nécessaires à leur étude là où elles étaient disponibles. Cette période, donna lieu, en outre, à des échanges épistolaires avec des hématologistes américains au sujet des méthodes et des résultats des chimiothérapies. Certains collaborateurs de Jean Bernard effectuèrent de longs stages aux Etats-Unis, dans le but d'apprendre de nouvelles techniques.

En 1945 et 1946, Raymond Latarjet s'était rendu aux Etats-Unis afin d'y étudier l'organisation de la recherche sur le cancer ; il avait été frappé par les différences de ressources dans ce domaine entre ce pays et la France : « le cancer expérimental dispose aux Etats-Unis d'instituts nombreux et de fonds considérables, alors qu'en France, deux ou trois laboratoires seulement s'y consacrent ». Il avait alors suggéré d'envoyer des « missionnaires » dans les meilleurs laboratoires américains de cytologie expérimentale, ceux d'Albert Claude, à l'Institut Rockefeller de New-York, de Van Potter, à l'Université du Wisconsin, de G. Wislocky, à l'Université Harvard de Boston, ainsi que dans les meilleurs laboratoires de culture de tissus, à savoir ceux de Warren et Margaret Lewis, à l'Institut Wistar de Philadelphie, de Robert Chambers à l'Université de New-York, de Georges Gye à l'Université John Hopkins de Baltimore et de Wilton Earle, spécialiste des tissus cancéreux au National Cancer Institute. Les missions à l'étranger devaient, selon lui, viser à acquérir des

¹ Current comment, *World drug needs*, J. Am. Med. Ass., 131 : 600, 1946.

² Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, Commissariat général au plan d'équipement et de la productivité, *La recherche scientifique et technique*, Rapport du délibéré avec le CCRST, 1961.

connaissances techniques : « l'un des premiers résultats de toute mission est l'acquisition de nouvelles techniques, mettant en jeu de nouveaux appareils »¹.

A partir des années 1960, les échanges avec les pays étrangers, au premier rang desquels les Etats-Unis, devinrent prédominants. Il s'agissait toujours d'apprendre de nouvelles techniques et d'échanger des résultats de traitement mais également du matériel biologique, en particulier des virus, des lignées cellulaires et des anticorps. Dans les années 1960, les séjours de courte durée, pour lesquels j'ai utilisé le terme de « visite », se banalisèrent pour les chercheurs confirmés, les jeunes chercheurs continuant à compléter leur formation initiale par un séjour d'environ un an dans un laboratoire étranger.

Les relations franco-américaines concernèrent aussi bien les virus leucémogènes que l'immunologie des leucémies ou la chimiothérapie. L'IRLMS fut surtout en contact avec l'Institut Sloan-Kettering et le National Cancer Institute. Dans sa participation au CALGB, l'IRLMS ne se contenta pas d'appliquer les protocoles établis outre-atlantique ; il menait en parallèle ses propres protocoles, lesquels s'inspiraient davantage des résultats cliniques précédents que de l'expérimentation animale, contrairement aux essais du CALGB².

Certaines associations utilisées par l'Unité de chimiothérapie de l'IRLMS ont peut-être même été exportées aux Etats-Unis. En 1967, Gordon Svoboda, des Etablissements Eli Lilly, écrivit à Jean Bernard que son association de vincristine et de rubidomycine pourrait être appliquée aux Etats-Unis³.

Depuis la fin de la guerre, les membres de l'IRLMS s'efforcèrent de lutter contre la suprématie scientifique américaine, non seulement en faisant connaître leurs travaux aux Américains mais également en formant de nombreux médecins-chercheurs étrangers et en organisant des rencontres bilatérales, en particulier avec les pays de l'Est. Au sujet d'un Colloque tenu en Afrique les 4 et 5 janvier 1966, Jean Bernard écrivit à Claude Jacquillat : « la plupart des Américains importants, Holland, Burchenal, etc..., seront présents ; c'est une occasion de faire de la bonne propagande. »⁴. On retrouve, concernant les recherches biologiques, le souci de faire connaître aux Etats-Unis les travaux français voire européens chez de nombreux scientifiques français après-guerre. Cette lutte contre la suprématie américaine pourrait expliquer en partie l'attachement de Jean Bernard et de Marcel Bessis à l'histoire de leur discipline. En 1954, alors que ce dernier était en mission aux Etats-Unis, son collègue Bernard Dreyfus lui avait écrit « J'espère que ton voyage est fructueux et que tu glanes les informations valables en même temps que tu étonnes les américains. »⁵. Onze ans plus tard, Marcel Bessis s'attira les foudres de Wilhem Bernhard en ne mentionnant pas Charles Oberling dans son film « Virus et cancer ». L'envoi de la brochure du film, dans laquelle l'Institut de Villejuif était cité à plusieurs reprises, ne suffit pas à apaiser totalement Wilhem Bernhard, qui, à cette occasion, écrivit « Puisque les Américains citent rarement les travaux faits en Europe, au moins que les Européens s'en chargent. Une fois de plus le grand public aura l'impression que tout nous vient d'Amérique. »⁶.

Les médecins qui avaient séjourné à l'IRLMS et à l'Hôpital Saint-Louis gardaient généralement contact avec Jean Bernard, tantôt demandant des conseils sur le traitement d'un patient ou l'envoi de nouveaux agents chimiothérapeutiques, tantôt envoyant leurs propres résultats. Par exemple, en 1965, le médecin argentin Braïer, avec qui Jean Bernard avait travaillé sur les leucémies benzéniques, demanda une copie d'un de leur « petits carnets de

¹ Archives de l'Institut Pasteur, Dossier Raymond Latarjet, Rapport de mission aux Etats-Unis, 1945-1946.

² Keating P., Cambrosio A., *From screening to clinical research : the cure of leukemia and the early development of the cooperative oncology groups 1955-1966*, Bull. Hist. Med., 76 : 299-334, 2002.

³ Fonds IUH, article 33, Etats-Unis, correspondance avec Svoboda G., 1967.

⁴ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de J. Bernard à C. Jacquillat, 07.12.1965.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Dreyfus B., 27.04.1954.

⁶ Fonds Bessis, correspondance avec W. Bernhard, 01.02.1965.

chimiothérapie»¹. En 1967, Jean Bernard envoya à Raul Etchevery, au Chili, de la rubidomycine et un protocole de traitement des leucémies aiguës granuleuses². En 1969, Jean-Marie Delage, de Québec, qui souhaitait suivre un protocole de Jean Bernard, et qui n'était pas parvenu à se procurer de méthylgag et ni de cytosine arabinoside aux Etats-Unis et au Canada, demanda s'il pouvait en acheter en France³. La même année, Stanoje Stefanovic, de la Faculté de médecine de Belgrade, vint apprendre les protocoles de traitement des leucémies aiguës à l'Hôpital Saint-Louis pour les appliquer en Yougoslavie⁴. La réputation de l'institut de recherche et du service de Jean Bernard attirait des patients du monde entier. La politique du service était de les recevoir en consultation puis de les renvoyer dans leur pays en confiant leur traitement à un collègue local qu'ils jugeaient compétent. Néanmoins, ils déconseillaient souvent de faire voyager le patient, surtout s'il habitait un pays lointain⁵. Ceci avait le triple avantage de ne pas couper le malade de sa famille, de diffuser les méthodes de soin de l'Hôpital Saint-Louis, et de ne pas encombrer le service. Le fait que beaucoup de médecins étrangers aient effectué des stages dans le service ou dans l'institut facilitait l'inclusion de patients étrangers dans les protocoles élaborés par l'équipe de Jean Bernard⁶.

Concernant les relations avec les pays de l'Est, des échanges médicaux furent organisés en 1960 entre la France et la Pologne, à la suite de la signature d'un accord culturel. Mais, il n'y eut pas de candidats⁷. L'année suivante, la Délégation générale à la recherche scientifique et technique organisa des échanges franco-soviétiques consistant en l'envoi dans chaque pays de 5 à 6 chercheurs et en l'organisation d'un colloque sur les lésions provoquées par les rayonnements ionisants. Maxime Seligmann se rendit à Moscou et une délégation russe fut reçue à Paris. En 1965, un autre colloque franco-soviétique se tint à Moscou⁸. Pendant la Guerre froide, les nouveaux agents chimiothérapeutiques américains n'étaient pas accessibles aux médecins soviétiques. En 1968, Jean Bernard envoya à Léninegrad un protocole de traitement pour un malade souffrant d'une grave hémopathie maligne. Cette chimiothérapie associait la vincristine, la caryolysine, le natulan et la prednisone. Les deux derniers médicaments étaient disponibles en Union soviétique. Jean Bernard pensait que la caryolysine, une moutarde azotée, s'y trouvait sous d'autres noms. En revanche, il ne croyait pas que ce fut le cas pour la vincristine, qu'il conseilla donc de demander à la Pharmacie Centrale des Hôpitaux à Paris⁹.

En Europe, les membres de l'IRLMS collaborèrent surtout avec le Royaume-Uni et la Suède, pour des travaux de laboratoire.

Enfin, les relations franco-françaises de l'équipe de Jean Bernard changèrent de nature dans les années 1960. Alors qu'auparavant, elles concernaient principalement des recherches expérimentales, elles se recentrèrent sur la quête de patients et de matériel biologique humain. Ainsi, en 1965, Lucien Israël, de l'Hôpital Laennec, demanda à Jean Bernard de lui adresser si possible des patients pour un essai contrôlé sur le traitement du cancer du poumon opérable¹⁰. En 1969, Jean Bernard, qui manquait de malades pour un protocole de traitement des leucémies myéloïdes chroniques, supervisé par Joseph Tanzer et Claude Jacquillat, contacta Louis Vincent à Nice et Robert Waitz à Strasbourg. Louis Vincent avait travaillé à l'Hôpital

¹ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de J. Bernard à C. Jacquillat, 30.08.1965.

² Fonds IUH, article 35, Chili, correspondance avec R. Etchevery, 09.06.1967.

³ Fonds IUH, article 31, Canada, correspondance avec J.M. Delage, 05.02.1969, 10.02.1969.

⁴ Fonds IUH, article 44, Yougoslavie, correspondance avec S. Stefanovic, 01.12.1969.

⁵ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de J. Bernard à C. Jacquillat, 02.07.1965. Fonds IUH, article 44, Australie, correspondance avec I. Epstein, 03.12.1967, 12.12.1967.

⁶ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de J. Bernard à C. Jacquillat, 30.08.1965.

⁷ Fonds IUH, article 162, Association Claude Bernard, correspondance avec le secrétaire général, 1960.

⁸ Archives nationales, Ministère de la recherche, DGRST, cote 77/321, article 561.

⁹ Fonds IUH, article 17, correspondance avec M. Motchane, 03.10.1968.

¹⁰ Fonds IUH, article 13, correspondance avec L. Israël, 03.11.1965.

Saint-Louis puis chez Joseph Hill à Dallas¹. Le recrutement de patients sur le territoire national fut progressivement facilité par l'essaimage des élèves de Jean Bernard : « Nous avons suivi depuis quelques années une politique centrifuge en envoyant plusieurs de nos agrégés dans d'autres facultés parisiennes ou en province. »².

Cependant, la coopération avec d'autres équipes françaises ne se limitait pas au recueil de données et d'échantillons biologiques. En 1965, l'Unité de chimiothérapie accepta d'essayer un traitement proposé par M. Chany³. En 1969, Robert Waitz envoya un élève se former aux leucémies expérimentales⁴.

L'augmentation des financements, dans un nouveau cadre institutionnel

Nous disposons de peu d'informations sur les sources de financement des travaux réalisés par Jean Bernard avant la création de l'Association Claude Bernard. Avant la seconde guerre mondiale, la recherche médicale française était globalement maigrement financée. Les médecins-chercheurs du système hospitalo-universitaire se débrouillaient avec l'argent des laboratoires des chaires de la Faculté de médecine, un peu d'argent du CNRS et des dons de patients fortunés. Les appareils et le petit matériel, lesquels servaient aussi pour le diagnostic et la thérapeutique, passaient sur le budget de l'hôpital. Les laboratoires de biochimie de l'Hôpital Broussais et de l'Hôpital Necker faisaient des électrophorèses, la pharmacie de l'Hôpital de la Salpêtrière des chromatographies, les laboratoires de cytologie avaient des microscopes, les souris étaient irradiées dans les services de radiothérapie, etc.

Les universitaires recevaient un salaire de la Faculté de médecine. Les laborantines étaient principalement payées par l'hôpital ou la faculté⁵. L'activité hospitalière était quasiment bénévole et compensée par une clientèle privée⁶. Au CNTS, Marcel Bessis était d'une famille très fortunée mais Jean Dausset percevait un salaire de médecin-transfuseur.

Les recherches sur l'exsanguino-transfusion furent en partie financées par la Fondation Lady Tata⁷. Créé en 1932 à Bombay, le Lady Tata Memorial Trust attribuait des bourses et des prix pour des recherches sur les hémopathies et en particulier sur la leucémie. Entre 1932 et 1942, une quinzaine de chercheurs travaillant sur les leucémies animales bénéficièrent de ces subventions. Il s'agissait des Danois Engelbreth-Holm, Doljanski, Kaalund-Jorgensen et Bichel, des Français Oberling et Guérin, des Anglais Gorer, Israëls et McIntosh, du Hongrois Jarmai, de l'Italien Storti, et des Américains Opie et Furth⁸.

La Ligue franco-américaine contre le cancer, créée en 1918, finança principalement l'achat de radium et la mise en place de Centres de lutte anticancéreuse⁹. La Fondation Rockefeller attribuait des bourses à des médecins, pour des séjours à l'étranger¹.

¹ Fonds IUH, article 29, correspondance avec Vincent L. et Waitz R., 1969.

² Fonds IUH, article 144, Ministère de la santé, Direction générale, 20.03.1970.

³ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de J. Bernard à C. Jacquillat, 08.09.1965.

⁴ Fonds IUH, article 29, correspondance avec Vincent L. et Waitz R., 1969.

⁵ Entretien avec Jean Bernard, 06.06.2003.

⁶ Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992.

⁷ Fonds Bessis, Correspondance avec Dausset J., 19.03.1949. Bessis M., Dausset J., *Etude critique des émissions au cours des leucémies aiguës traitées par exsanguino-transfusion*, Rev. Hémat., 5 : 188-225, 1950.

⁸ Engelbreth-Holm J., *Spontaneous and experimental leukaemia in animals*, trad. C. Heel, Oliver and Boyd, London, 1942.

⁹ Pinell P., *Naissance d'un fléau. Histoire de la lutte contre le cancer en France (1890-1940)*, Editions Métailié, Paris, 1992.

Au début du 20^{ième} siècle, l'Etat organisa quelques structures destinées à lutter contre les grandes maladies sociales qu'étaient la tuberculose, la syphilis et le cancer. Cependant, la recherche médicale fut peu soutenue. Le Ministère de l'Hygiène, de l'Assistance et de la Prévoyance, qui devint le Ministère de la Santé Publique en 1930, s'occupa de lutte antituberculeuse, en particulier par la création, avec le soutien de la Fondation Rockefeller, d'un Office national d'hygiène sociale qui disparut dans les années 1930. Le physicien Jean Perrin et le physiologiste André Mayer, du Collège de France, obtinrent la création, au Ministère de l'Education nationale, d'un Conseil supérieur de la recherche scientifique. Le cancérologue Gustave Roussy y fit introduire une section de « médecine expérimentale » en 1938. Parmi ses membres, se trouvaient Robert Debré, Louis Bugnard, futur directeur de l'Institut national d'hygiène, et l'hématologue Noël Fiessinger. Le conseil supérieur de la recherche scientifique créa un Centre national de la recherche scientifique (CNRS), qui subventionna des recherches d'intérêt stratégique et militaire. Dans le domaine médical, ce furent des études sur le sang et le plasma, les vitamines et les produits alimentaires.

En 1941, le Ministère de la Santé créa l'Institut national d'hygiène (INH), chargé d'étudier l'état sanitaire du pays. Dirigé par le biophysicien André Chevalier, cet institut commença par s'intéresser à la tuberculose, aux maladies vénériennes et à d'autres maladies infectieuses assez courantes, comme la poliomyélite ou la typhoïde, ainsi qu'au cancer. La section « cancer », dirigée par Pierre Denoix, réalisa des enquêtes de morbidité et soutint les premiers essais de chimiothérapie, effectués à Lyon et à Orléans².

Au sortir de la seconde guerre mondiale, le CNRS constitua en son sein des commissions chargées de définir les domaines de recherche à encourager. Les pasteurien, fortement représentés dans les commissions de médecine et de biologie, étaient hostiles à l'installation de laboratoires de biologie dans les hôpitaux, d'une part, parce qu'ils étaient depuis longtemps autonomes vis-à-vis des hôpitaux et de la Faculté de médecine, d'autre part, parce que l'Assistance Publique y était elle-même réticente. En effet, selon Antoine Lacassagne, le directeur du Laboratoire de radiobiologie de l'Institut du Radium, ses dirigeants pensaient que la présence d'activités de recherche serait mal perçue par l'opinion publique. Quant à la Faculté de médecine, elle s'occupait essentiellement de l'enseignement, et les disciplines de prédilection des pasteurien (microbiologie, biochimie, biologie des radiations, génétique et biophysique) y étaient traitées avec le mépris dû aux sciences « annexes ».

Le CNRS créa quelques structures de recherche dans des domaines pouvant intéresser les médecins mais n'étant pas spécialement destinées à proposer des traitements et les confia à des personnes ne faisant pas partie de l'« élite » médicale : un Institut de génétique à Gif-sur-Yvette (Seine-et-Oise) en 1946, un Laboratoire de chimiothérapie et de pharmacodynamie, en 1947 et l'Institut de recherches scientifiques sur le cancer en 1948³. Le Laboratoire de chimiothérapie et de pharmacodynamie était dirigé par Jeanne Lévy qui considérait que les disciplines biologiques pouvant apporter au médecin des connaissances sur le vivant, comme la biochimie, la physiologie, la bactériologie, relevaient du CNRS et des facultés de science⁴.

¹ Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992.

² Picard J.-F., « De la médecine expérimentale (1865) à l'INSERM (1964) » in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds., *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994, p. 334-335.

³ Picard J.-F., « De la médecine expérimentale (1865) à l'INSERM (1964) » in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds., *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994, p. 335-337.

⁴ Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002, p. 8.

De leur côté, Louis Pasteur Valléry-Radot, Jean Hamburger, René Fauvert, et Jean Bernard créèrent l'Association pour la recherche médicale française, qui devint en 1962 la Fondation pour la recherche médicale française¹.

A la fin de la guerre, l'Institut national d'hygiène bénéficia de subventions de la Sécurité sociale et soutint notamment les recherches menées dans le service de Jean Hamburger. Mais le budget de l'INH était très inférieur à celui du Commissariat à l'énergie atomique (CEA) et du CNRS². En 1947, son nouveau directeur, Louis Bugnard mit en place un système de bourses destinées aux médecins-chercheurs travaillant en France et un autre leur permettant de se rendre aux Etats-Unis ou en Grande-Bretagne³. Les bourses permettant les séjours à l'étranger furent financées par la Fondation Rockefeller, la Fondation Fullbright et la Fondation CIBA⁴. Georges Mathé fut parmi les premiers à partir⁵. Il y avait peu de candidats au début ; les jeunes médecins parlant une langue étrangère et habitués à voyager étaient rares⁶.

Par ailleurs, l'INH reçut et distribua des éléments radioactifs de l'Université Columbia, avant que le CEA n'en produise, puis co-organisa avec ce dernier un enseignement destiné aux utilisateurs de radioéléments⁷. Yves Najean suivit cet enseignement⁸.

L'Association Claude Bernard

L'Association Claude Bernard pour le développement des recherches biologiques et médicales dans les hôpitaux de l'Assistance publique à Paris fut créée en 1953. Ses membres fondateurs étaient la Ville de Paris, le Département de la Seine, le CNRS, l'INH, la Caisse nationale de sécurité sociale⁹, l'Administration générale de l'Assistance publique à Paris et l'Association pour le développement de la recherche médicale française.

Une première proposition avait été présentée au Conseil municipal de Paris dès 1942. Dans le souci d'améliorer la médecine parisienne, le Conseil municipal et le Conseil général de la Seine attribuaient alors des crédits spéciaux destinés à l'achat d'appareils pour les laboratoires des hôpitaux.

Dix ans plus tard, les initiateurs du projet considéraient que, depuis le milieu des années 1940, les progrès scientifiques avaient été tels, notamment en biologie, que la médecine ne pouvait plus attendre des applications venues de l'extérieur. Il était temps, disaient-ils, d'appliquer les principes de Claude Bernard qui, à la fin du 19^{ème} siècle, encourageait les médecins à entreprendre des recherches sur les maladies dont ils

¹ www.frm.org/Fondation/Dates.htm. Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992.

² Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992, p.79.

³ Picard J.-F., « De la médecine expérimentale (1865) à l'INSERM (1964) » in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds., *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994, p. 337.

⁴ Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992.

⁵ Entretien avec Georges Mathé, 13.02.2001.

⁶ Entretien avec Anne Combrisson, 26.02.1999.

⁷ Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992 p. 77-78.

⁸ Entretien avec Anne Combrisson, 26.02.1999.

⁹ La Caisse de sécurité sociale finançait aussi des recherches menées au CNTS et à l'Institut national de prévention (Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, Commissariat général du plan d'équipement et de la productivité, La recherche scientifique et technique, Rapport du délibéré avec le CCRST, 1961).

s'occupaient. L'activité scientifique médicale ne devait plus, selon eux, se limiter au diagnostic et au traitement.

Au début des années 1950, les pays qui avaient introduit la recherche à l'hôpital disposaient déjà de nouveaux moyens de lutte contre la maladie. En France, ce phénomène était jugé très marginal. Le CNRS, l'INH et le Ministère des affaires étrangères avaient certes permis, à partir de 1945, à quelques jeunes médecins d'aller se former à la recherche aux Etats-Unis mais, à leur retour, ils ne pouvaient ni être au laboratoire à plein temps ni même à l'hôpital à plein temps (ou presque si l'on tient compte des enseignements). Faute de rémunération jugée suffisante, la quasi-totalité des médecins-chercheurs avaient, hors de l'hôpital, une clientèle privée. D'où l'idée d'utiliser les locaux de l'Assistance Publique et de créer un fonds spécial permettant de rétribuer le personnel et de prendre en charge le matériel et les frais de fonctionnement grâce à la gestion commune de sommes allouées par l'INH, le CNRS et la Ville de Paris.

Sept centres de recherches virent ainsi le jour le premier février 1955, dont le Centre de recherches sur les leucémies et les maladies du sang dirigé par le professeur Jean Bernard, et localisé à l'Hôpital Hérold¹.

La création de l'Association Claude Bernard fut rendue possible par la nomination à la tête de l'Assistance Publique, d'un médecin de santé publique, Xavier Leclainche. Le projet fut soutenu par Raoul Kourilsky, le chef du Service de pneumologie de l'Hôpital Saint-Antoine et par Louis Bugnard². Jean Bernard leur rendit hommage, en 1956, lors de la leçon inaugurale de sa chaire de cancérologie et de médecine sociale : « La création de l'Association Claude Bernard, heureusement inspirée par M. Xavier Leclainche, a donné à nos centres un statut, une existence régulière. Un grand administrateur a, pour la première fois, installé officiellement la recherche à l'hôpital. » (...) « j'ai pu reprendre l'étude des leucémies et des sarcomes des rongeurs grâce à l'appui constant, actif, généreux de M. Louis Bugnard. Combattant pour nous, témoignant pour nous, recevant les coups, ne rendant que des bien-faits, M. Bugnard accomplit une œuvre admirable. L'organisation de la Recherche médicale, qui avant lui n'était rien, est par lui devenue quelque chose. »³.

Le Comité « Cancer et leucémie » de la DGRST

Après la seconde guerre mondiale, la reconstruction fut rythmée et orientée par les plans d'équipement et de modernisation. Le premier plan, qui permit une amélioration de la situation économique, ne s'occupa pas de la recherche. Celle-ci fut concernée à partir du second plan. Le Commissariat général au plan créa une Commission de la recherche scientifique et technique, présidée par M. Laugier. En novembre 1954, M. Champetier, directeur adjoint du CNRS, et M. Schwob, inspecteur général au Ministère de l'industrie et du commerce, présentèrent le rapport général de la commission devant la présidence du Conseil. Ce rapport dressait le bilan des ressources et des besoins de la recherche, et proposait des réformes. Il faisait état d'une baisse du niveau scientifique de la France et l'attribuait à la combinaison de trois facteurs : les deux guerres mondiales, le désintéressement progressif des pouvoirs publics et une incompréhension mutuelle des savants et des techniciens.

¹ Fonds IUH, article 162, Association Claude Bernard : statuts, 1956 ; brochure de présentation des travaux pour 1955-1970.

² Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992.

³ Bernard J., *Leçon inaugurale de la Chaire de cancérologie médicale et sociale*, Presse Méd., 15 septembre 1956.

Pour y remédier, il était préconisé d'augmenter les financements, tout en se préoccupant du rendement de la recherche. Puisqu'il était impossible de débloquer des crédits de l'importance de ceux alloués à la recherche par les Etats-Unis, l'effort devait porter sur « des domaines particuliers ressortissant à notre génie propre et à des aspects particuliers à notre économie nationale ». Il fallait aussi veiller à rapprocher recherche pure et recherche appliquée.

Enfin, il convenait de moderniser l'enseignement supérieur, dans lequel « la recherche fondamentale trouve incontestablement ses racines ». Les enseignants des universités étaient jugés trop peu payés. Le système des chaires, basé sur l'autorité du « patron » stérilisait la recherche ; il fallait, selon eux, créer de véritables équipes d'enseignement et de recherche.

Dans le domaine de la biologie et de la médecine, qui suscitait alors beaucoup d'espoirs, notamment en sérologie et en physico-chimie du sang, les mots d'ordres étaient extension, coordination et standardisation. L'Institut Pasteur était décrit comme un cas trop rare de recherche médicale liée à l'industrie. Pour améliorer la situation, la commission proposa, premièrement, d'étendre et de mieux équiper les centres de recherche, de former et de recruter du personnel. Deuxièmement, bien qu'elle jugeât bonnes les relations entre les différents organismes, la commission déplora le manque de coordination générale et suggéra la création d'une structure analogue au Conseil de la recherche médicale britannique (Medical Research Council). Enfin, elle affirma la nécessité de standardiser les animaux de laboratoire et les produits « très actifs » tels que les hormones et les antibiotiques.

Revenons sur la formation des chercheurs. Un troisième cycle d'enseignement venait d'être créé (décret 54.770 du 20.07.1954) dont la vocation était d'initier à la recherche. La commission proposa d'augmenter le nombre de bourses, en particulier pour des séjours à l'étranger, de prolonger le sursis militaire et d'accroître le nombre de chaires et de grandes écoles. Ces dernières existaient en mécanique, physique et chimie mais pas en biologie ni chimie biologique. La commission proposa également de créer les titres de « Maître ès science », « Ingénieur spécialisé » et « Docteur ès science ».

Un dernier ensemble de propositions concernait les outils de la recherche. Tout d'abord, les centres de documentation étaient jugés trop spécialisés et mal organisés. La firme Rhône Poulenc fut citée en exemple pour son service de documentation extrêmement efficace. Il fut envisagé de créer, au CNRS, un service bibliographique général et de former les étudiants à la recherche documentaire et aux langues étrangères. Par ailleurs, la création d'un Centre national de l'appareillage scientifique fut suggérée, dans le but de faciliter les liens entre concepteurs, constructeurs et utilisateurs d'instruments.

Enfin, la commission ne souhaitait pas que la recherche médicale restât cantonnée aux facultés de médecine et de pharmacie et aux quelques établissements spécialisés existant ; elle devait aussi être poursuivie à l'hôpital, ainsi que sur le lieu de travail et au domicile des patients¹. Les analyses et propositions de la Commission de la recherche du 2^{ième} Plan se retrouvèrent dans les réflexions du Comité « Cancer et leucémie » de la Délégation générale de la recherche scientifique et technique, créé six ans plus tard.

L'idée d'une « politique scientifique » de l'état avait commencé à se répandre, d'une part, après la crise de 1929, d'autre part, après la rédaction par M. Barrée, en 1949, d'un rapport de la cour des comptes sur la recherche scientifique et technique qui concluait à la nécessité de coordonner et de financer la recherche. Celle-ci était devenue une préoccupation gouvernementale parce que son poids économique avait augmenté. La médecine avait acquis une influence sur la démographie et ses applications industrielles avaient trouvé une place dans le paysage économique. L'industrie pharmaceutique française était plutôt bien située au niveau mondial puisqu'elle occupait la cinquième place par le volume de ses exportations.

¹ Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, cote H.C.S.54.448.

En 1954, vit le jour un secrétariat d'Etat à la recherche scientifique ainsi qu'un organe interministériel, le Conseil supérieur de la recherche scientifique et du progrès technique (CSRSPT, décret du 14.09.1954).

De nouvelles structures apparurent en 1958 avec l'arrivée au pouvoir du Général de Gaulle. Le CSRSPT fut remplacé par deux nouvelles structures. Le Comité interministériel de la recherche scientifique et technique (CIRST, décret du 08.04.1961) et le Comité consultatif de la recherche scientifique et technique (CCRST). Le CIRST rassemblait les Ministres des Armées, des Finances, de l'Education nationale, de l'Industrie, de l'Agriculture, de la Santé publique, des Postes et télécommunications, et le Délégué général. Il était présidé par le premier ministre, en l'occurrence Michel Debré puis Georges Pompidou, de mai 1962 à juin 1968. Le CCRST, plus connu sous le nom de « Comité des douze sages », regroupait des personnalités scientifiques. Ces deux comités avaient un secrétariat commun qui se transforma rapidement en Délégation générale à la recherche scientifique et technique (DGRST). Les délégués généraux furent successivement le chimiste Pierre Piganiol et les physiciens André Maréchal (1961-1967), Pierre Aigrain (1968-1969) et Hubert Curien.

Un Fonds de développement de la recherche scientifique et technique fut mis en place en 1959 (décret du 09.12.1959). Doté de 320 millions de nouveaux francs pour la période 1961-1965, il était destiné à financer des équipements et des recherches dans des domaines jugés prioritaires c'est à dire des domaines dans lesquels la France présentait un certain retard sur le plan international. Furent ainsi créés en 1960 et pour cinq ans 9 comités d'actions concertées responsables des domaines prioritaires : la recherche spatiale, la conversion des énergies, la biologie moléculaire, le cancer et la leucémie, l'application de la génétique, la nutrition animale et humaine, les fonctions et maladies du cerveau, l'exploitation des océans, ainsi que l'analyse démographique, économique et sociale, les sciences économiques, les problèmes de développement et la documentation. D'autres actions concertées s'y ajoutèrent en 1963¹.

Pour le quatrième plan (1962-1965), le Délégué général à la recherche scientifique et technique rendit, en 1961, un rapport, délibéré avec le CCRST. Celui-ci apporta des précisions sur la façon dont les plus hautes instances percevaient l'avenir de la recherche biomédicale : « Les recherches fondamentales en biologie sont à la base de tous les succès de la recherche médicale ». En biologie, le principal objectif était de rattraper le retard pris, en biologie cellulaire et moléculaire, par rapport aux Etats-Unis, au Royaume-Uni et aux pays scandinaves. Cela paraissait possible grâce aux compétences qu'avaient pu acquérir dans ce domaine l'Institut Pasteur, l'Institut du Radium et le Commissariat à l'énergie atomique (CEA), en faisant appel à des techniques issues de la physique et de la chimie.

Les auteurs du rapport donnèrent de la recherche médicale une définition très stricte, limitant celle-ci à l'étude des pathologies, de leur détection, de leur prévention et de leur traitement, chez l'homme uniquement : « la recherche médicale est une recherche appliquée dont les objectifs sont bien définis. Elle vise à l'identification des affections pathologiques de l'homme, à la détermination de leurs causes, à la découverte des moyens techniques de les diagnostiquer, de les prévenir ou de les guérir ». Cela ne signifiait pas pour autant que les recherches médicales et les recherches biologiques dussent être réalisés dans des institutions différentes, par des personnes différentes. Le rapport indiquait, en effet, que les recherches fondamentales, faites dans les laboratoires des organismes de recherche appliquée, c'est à dire

¹ Bidault G., *Les mémoires de la recherche – Etats des versements 1977-1989*, CNRS Editions, 1993. Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, Commissariat général du plan d'équipement et de la productivité, La recherche scientifique et technique, Rapport du délibéré avec le CCRST, 1961. Sur les délégués généraux, voir les archives orales du CNRS (<http://picardp1.ivry.cnrs.fr/memoirecnrs.html>) et l'ouvrage Noailles P., Marchandon P., *De Gaulle et la technologie*, Editions Seillans, Paris, 1994 (<http://www.degaulleetlatechnologie.com>).

l'Institut national d'hygiène, l'Institut national de la recherche agronomique et l'Institut scientifique et technique des pêches maritimes, devaient être développées.

Les chiffres des dépenses réalisées par les organismes nationaux de recherche médicale en France, Grande Bretagne et aux Etats-Unis avaient valeur de témoin et d'explication du retard français. En 1959, l'Institut national d'hygiène français avait pour budget 7 millions, le Medical Research Council britannique 49 millions et les National Institutes of Health américains 750 millions de nouveaux francs. Ajustés à la population de chaque nation, ces nombres prenaient respectivement pour valeurs 150.000, 940.000 et 4,16 millions de nouveaux francs par habitant. Ce retard ne fut pas jugé insurmontable parce que les causes des maladies les plus préoccupantes, le cancer et l'athérome, étaient encore inconnues. Dans ce rapport, les sources de financement de la recherche médicale française furent recensées. Les crédits les plus importants étaient incontestablement ceux que l'industrie pharmaceutique affectait à ses propres laboratoires¹.

Le comité « cancer et leucémie » commença à se réunir au mois de janvier 1960. Jean Bernard sut réagir au bon moment pour associer leucémie et cancer. Le lendemain d'une réunion du CCRST, il écrivit à Marcel Bessis : « Je me demande si hier soir notre pureté, notre désintéressement n'ont pas été excessifs. Le mot de leucémie n'est même pas prononcé dans le rapport. On pourrait peut-être, à Cancer, dans la liste des actions à développer ou à encourager, inscrire : Développement d'unités (ou de laboratoires, ou de centres) étudiant l'écologie des cellules leucémiques (ou se consacrant à l'étude des effets de l'environnement sur les cellules) »². Jean Bernard et Marcel Bessis trouvèrent appui en la personne de Raymond Latarjet, troisième spécialiste de la leucémie parmi les oncologues réunis.

Le comité « Cancer et leucémie » rassemblait 11 personnes, 12 si l'on compte le secrétaire scientifique (voir annexe 55). Signalons que trois spécialistes du cancer étaient aussi membres du Comité « Biologie moléculaire » : Marcel Bessis, Raymond Latarjet et Georges Mathé.

Jean Bernard, Marcel Bessis et Jules Driessens se chargèrent d'élaborer le budget du programme du comité³. Les membres du Comité « Cancer et leucémie » se retrouvaient régulièrement chez Marcel Bessis pour préparer les réunions officielles⁴. Les crédits du Fonds de développement de la recherche scientifique et technique commencèrent à être distribués au mois de juillet 1961⁵.

Le comité définit trois axes prioritaires : 1) encourager les recherches sur la cellule cancéreuse, les agents de cancérisation et le développement tumoral, 2) former des chercheurs spécialisés, médecins et biologistes mais aussi chimistes et physiciens, 3) créer et équiper les laboratoires de recherche. Le comité déclara avoir choisi de favoriser les sujets qui semblaient pouvoir fournir rapidement des réponses à des problèmes importants, sans distinguer entre recherche fondamentale et recherche appliquée. Toutefois, les essais de traitement ne figuraient pas au programme. La recherche de substances chimiothérapeutiques fut explicitement écartée car elle nécessitait de grosses structures que seuls les Etats-Unis avaient les moyens de s'offrir.

Le choix des équipes à subventionner reposait sur le principe de la répartition des tâches en fonctions des aptitudes de chaque laboratoire. Cette stratégie permettait de couvrir le champ de recherches le plus vaste possible. Elle fut préférée à la stratégie consistant à

¹ Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, Commissariat général du plan d'équipement et de la productivité, La recherche scientifique et technique, Rapport du délibéré avec le CCRST, 1961.

² Fonds Bessis, Correspondance avec Bernard J., 06.01.1960.

³ Fonds Bessis, Correspondance avec Marois M., 18.02.1960.

⁴ Fonds Bessis, Correspondance avec Driessens J., 05.02.1960.

⁵ Rapport d'activité des actions concertées de la DGRST, 1961. Le rapport du Comité « Cancer et leucémie » a été rédigé par Marcel Bessis (Fonds Bessis, correspondance avec Driessens J., 04.03.1962).

mettre en compétition plusieurs laboratoires sur un domaine de recherche très précis ; celle-ci ne se justifiant, aux yeux du comité, que lorsque l'obtention d'un résultat important était quasiment certaine. Mais, à la fin des années 1950, personne ne savait d'où viendrait la compréhension du cancer. La répartition des tâches limitait en outre les tensions pouvant apparaître entre les différents centres de recherches impliqués et, surtout, elle permettait de ne pas trop modifier les habitudes de travail des différents groupes. Ceci était jugé souhaitable dans la mesure où la recherche française était encore très individualiste¹.

Le cancer étant perçu comme une maladie à point de départ cellulaire, les membres du comité espéraient beaucoup de la comparaison de la cellule normale avec la cellule cancéreuse. Deux ensembles de techniques, celles de biochimie et de microscopie électronique, devaient, pensait-ils, permettre de suivre la cancérisation au niveau cellulaire. Il s'agissait principalement de comparer la synthèse des acides nucléiques et des protéines dans les cellules normales et cancéreuses, de comprendre le contrôle de la multiplication cellulaire et ses troubles. Sept laboratoires recherchèrent des caractères spécifiques des cellules cancéreuses : virus, corps d'inclusion, altérations d'organites, altérations chromosomiques, etc. Quatre équipes comparèrent la structure des acides nucléiques des cellules normales et cancéreuses. Trois autres groupes testèrent le pouvoir cancérogène d'acides nucléiques de tissus cancéreux.

Au début des années 1960, les spécialistes admettaient deux modes d'induction de la cancérisation : des atteintes répétées par un agent physique ou chimique et la contamination par un virus. L'étude de la cancérisation physico-chimique devait permettre de prévenir les cancers « professionnels et toxiques » alors de plus en plus nombreux. L'étude de la cancérisation virale devait conduire à la mise au point de traitements. Cinq laboratoires étudièrent chez l'animal l'interférence virale, l'inhibition et la croissance des virus cancérogènes. Quatre autres s'intéressèrent à l'action de substances chimiques et hormonales sur le développement des tumeurs. Trois laboratoires étudièrent la formation des métastases, principalement d'un point de vue histologique. Quatre autres équipes cherchèrent à caractériser l'immunité tissulaire anti-cancéreuse suggérée par les cas de rémission spontanée et qui, si elle était identifiée pourrait peut-être être accrue. Les antigènes des cellules leucémiques et des acides nucléiques leucémiques firent l'objet d'une attention particulière. Enfin, un laboratoire essaya de sensibiliser les cellules cancéreuses aux radiations avec des substances chimiques.

Pour former rapidement des cancérologues « qualifiés », c'est à dire connaissant les techniques et les méthodes modernes, le comité décida d'envoyer chaque année, à partir de 1962, 20 étudiants de différentes grandes écoles en stage à l'étranger pendant au maximum cinq ans. Il fut aussi prévu de financer pour des chercheurs français plus âgés des stages de perfectionnement à l'étranger ainsi que l'accueil d'enseignants chercheurs étrangers très compétents pour un an ou deux.

L'étude du cancer faisait appel à presque toutes les disciplines biologiques, ce qui posait de gros problèmes d'organisation. Pour des raisons pratiques et économiques, les membres du comité envisagèrent d'organiser des unités de cancérologie dans les instituts de recherche biologique spécialisée existants (instituts de génétique, biologie moléculaire, biochimie, hormonologie, nutrition, immunologie, etc.) et de confier la direction de ces unités à du personnel des instituts du cancer, lesquels seraient alors « développés en conséquence ». Le comité décida de compléter ce dispositif par la création d'unités de pathologie cellulaire, d'un laboratoire central de culture de tumeurs greffables et d'élevages d'animaux de lignée pure et dépourvus d'agents infectieux.

¹ Rapport d'activité des actions concertées de la DGRST, 1961.

En résumé, le comité avait décidé en 1961 d'apporter une aide financière à 13 laboratoires ou centres de recherche, de former 100 chercheurs en cinq ans, et de créer deux instituts et six unités de recherche¹.

La réforme hospitalo-universitaire

Le développement de la recherche médicale et l'installation des laboratoires à l'hôpital se heurtaient au statut des médecins, lequel ne leur permettait pas de passer tout leur temps à l'hôpital, et à leur formation médiocre en biologie, physique, chimie et mathématiques. Une réforme du système hospitalo-universitaire devenait nécessaire aux yeux des « réformateurs ».

En 1956, se tint à Caen un Colloque pour la modernisation de l'université et de la recherche française auquel participèrent notamment Robert Debré, Jean Bernard, Jean Hamburger, Jean Dausset, Paul Milliez et André Lwoff². Robert Debré présidait alors le « Comité interministériel d'étude des problèmes de l'enseignement médical, de la structure hospitalière et de l'action sanitaire et sociale »³. Le retour du Général de Gaulle au pouvoir permit de lancer la réforme proposée par le clan Debré lors du Colloque de Caen⁴.

Avant la réforme, la situation, décrite par Jean Bernard et Jean Dausset, était la suivante. La faculté de médecine s'occupait d'enseignement et peu de recherche. Les hôpitaux municipaux prodiguaient des soins. Les médecins universitaires étaient présents dans les hôpitaux le matin et à la Faculté l'après-midi. Les médecins étaient essentiellement formés à la faculté, et un peu à l'hôpital dans les services des professeurs de clinique, chez qui ils effectuaient des stages. La carrière hospitalière comprenait successivement : l'externat et l'internat, accessibles par concours, puis le médicat ou le chirurgicat.

Dans le service de la chaire de clinique, le stagiaire avait peu de responsabilités et n'apprenait généralement pas grand-chose. De ce fait, l'internat était paradoxalement devenu « l'école supérieure médicale par excellence », la seule voie d'entrée à l'université en tant qu'enseignant éventuellement chercheur. Les examens de la faculté avaient moins d'importance que les concours hospitaliers. Un enseignement parallèle de préparation à ces concours, les « conférences », s'était constitué, organisé par des internes et des anciens internes. L'enseignement de la clinique fut ainsi favorisé mais au détriment des sciences fondamentales. Les médecins connaissaient très peu de biologie, de chimie, de physique et de mathématiques. Ces disciplines entrant de plus en plus dans le raisonnement médical, il fallait réorganiser les études médicales, se tourner vers un enseignement « qui allie à la fois la tradition clinique dont il ne faut rien perdre, et l'espoir scientifique », sous peine non seulement de stériliser la recherche médicale française mais également d'empêcher le progrès des soins par une formation insuffisante des praticiens.

La formation était d'autant plus déficiente que la répartition des étudiants ne correspondait plus à celle des enseignants. En 1959, il y avait en moyenne en France un enseignant pour 9,8 étudiants et, à Paris, un pour 18,3. Le déficit d'enseignants était lié au trou démographique dû à la première guerre mondiale et à la médiocrité des carrières faites à la Faculté de médecine aux professeurs des sciences fondamentales.

¹ Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, Rapport d'activité des actions concertées de la DGRST, 1961.

² Picard J.-F., « De la médecine expérimentale (1865) à l'INSERM (1964) » in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds., *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994, p. 339.

³ Fonds IUH, article 146, Ministère des affaires étrangères, rapport de J. Bernard et J. Dausset sur la réforme des études médicales et de la vie hospitalière en France, 1963.

⁴ Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992, p.84.

Pour régler tous ces problèmes, le comité interministériel dirigé par Robert Debré proposa de supprimer la dualité Faculté-Hôpital et d'introduire du travail à temps plein dans les hôpitaux.

Les textes de la réforme obligeaient les hôpitaux et les écoles de médecine à organiser conjointement l'ensemble de leurs services en centres de soins, d'enseignement et de recherche. Ces centres furent nommés « centres hospitaliers et universitaires » ou CHU.

Les étudiants devaient d'abord recevoir un enseignement purement universitaire, puis un enseignement mixte, avec une participation à la vie hospitalière. Les chaires de sciences fondamentales étaient chargées des examens de laboratoire des malades du CHU, de manière à établir une collaboration avec les cliniciens. Des unités de recherche dépendant de l'INH ou du CNRS devaient s'implanter sur ces sites, ainsi que les centres de transfusion sanguine, les centres anti-cancéreux, les écoles dentaires, les écoles de sages-femmes, d'infirmières, etc. La concentration en un même lieu était au cœur du projet et avait pour objectif de favoriser les liens interdisciplinaires et d'obtenir un rendement maximum.

Les carrières hospitalières et universitaires furent fusionnées. A tous les échelons de la hiérarchie, correspondaient désormais deux titres, universitaires et hospitaliers, et deux fonctions. Les externes étaient recrutés sur la base de leur réussite aux examens de faculté des cinq premiers semestres de formation. Les internes étaient recrutés sur concours et pouvaient être moniteurs. Un autre concours permettait ensuite d'accéder au double titre d'assistant des hôpitaux et de chef de clinique à la faculté. Un troisième concours permettait de devenir chef de service et professeur agrégé. Cette nomination permettait d'obtenir la direction d'un service hospitalier (décret du 24 septembre 1960). Les médecins qui le souhaitaient pouvaient désormais passer tous leur temps à l'hôpital, au contact des malades et des étudiants.

L'enseignement fut réorganisé de manière à être un « enseignement intégré », centré sur un organe ou une maladie, étudié selon toutes les approches possibles : clinique, anatomique, chimique, sociale, etc. L'« enseignement dirigé » (les travaux dirigés), en petits groupes, fut également ajouté aux cours magistraux. Les « examens à choix multiples » (QCM ?) furent également introduits. De plus, les programmes furent modifiés. Le certificat de physique, chimie et biologie, autrefois délivré par les facultés des sciences et nécessaire à l'inscription à la faculté de médecine, fut intégré dans les enseignements de cette dernière et étalé sur plusieurs années en liaison avec la faculté des sciences. Les facultés de médecine prirent aussi en charge l'enseignement scientifique supérieur, par la création d'un cycle de « biologie humaine » qui devait progressivement remplacer la préparation de certificats et de thèses dans les facultés des sciences.

Les textes de la réforme commencèrent à être mis en application en 1963¹.

Cette année-là fut l'occasion d'un premier bilan de l'action concertée « cancer et leucémie ». Les principaux résultats obtenus par les équipes subventionnées portaient sur l'infectiosité des acides nucléiques, le rôle des virus et des radiations dans la cancérogenèse, les phénomènes immunologiques, les relations entre la structure chimique et l'activité cancérogène, les interactions électroniques entre molécules cancérogènes et constituants cellulaires, ainsi que l'ultramicroscopie de la cellule cancéreuse. Lors du congrès international sur le thème « cancer et virus » qui venait de se tenir à Londres, 30 % des communications concernaient des travaux financés par l'action concertée.

La politique générale du Comité « Cancer et leucémie » fut réaffirmée. Celui-ci ne se voulait pas trop dirigiste, d'une part, parce que « la contrainte n'est pas propice à la création scientifique », d'autre part, parce que « le cancer est un objet d'étude qui doit être abordé par toutes les méthodes de la biologie fondamentale ». Les directions privilégiées choisies par le

¹ Fonds IUH, article 146, Ministère des affaires étrangères, rapport de J. Bernard et J. Dausset sur la réforme des études médicales et de la vie hospitalière en France, 1963.

comité ne furent pas remises en cause. Il fut rappelé que, dans le but d'éviter une compétition sans espoir, le comité avait renoncé à la chimiothérapie expérimentale, à cause de l'effort énorme accompli dans ce domaine particulier par les Etats-Unis¹.

L'Institut national de la santé et de la recherche médicale

En 1959, la Cour des comptes proposa la fusion de l'INH dans le CNRS mais le Ministère de la Santé s'y opposa. Georges Mathé, alors conseiller du Ministre de la santé Raymond Marcellin et Jean-Pierre Bader, l'adjoint de Louis Bugnard, préparèrent la transformation de l'INH en Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). Celle-ci fut officialisée en 1964².

Le professeur Cier fut élu président du Conseil scientifique et Jean Bernard en devint vice-président³. L'INSERM créa en son sein 13 commissions scientifiques spécialisées. La première s'intitulait « Pathologie cellulaire et tissulaire, cancérologie, hématocytologie, radiopathologie » et était présidée par Antoine Lacassagne. A partir de 1965, la gestion de l'action concertée « cancer et leucémie » de la DGRST fut confiée à l'INSERM⁴. Le Comité « cancer et leucémie » y fut remplacé par un Intergroupe « cancer et leucémie », formé d'une part des membres de la Commission scientifique spécialisée N°1, d'autre part d'un certain nombre de membres des autres commissions scientifiques spécialisées. Ainsi, une partie des membres du comité initial fut remplacée par Maurice Tubiana, M. Laumonier, Bernard Halpern et André Lwoff. Ce changement engendra des tensions entre certains bénéficiaires de subventions, membres de l'ancien comité, et certains membres de l'intergroupe. Selon Jean Bernard, Eugène Aujaleu, le directeur de l'INSERM, avait eu peur de maintenir un comité de chercheurs non élus⁵.

La deuxième moitié des années 1960 signa la fin des années fastes pour la recherche médicale française. Celle-ci fut confrontée à des problèmes d'ordre financier, des problèmes d'orientation et d'efficacité, ainsi qu'à des difficultés d'installation des laboratoires de recherche dans les hôpitaux.

A partir de 1964, la recherche médicale fut confrontée à une stagnation des crédits d'état, d'autant plus dramatique que les médecins-chercheurs qui avaient désormais des laboratoires équipés, ne disposaient pas encore de crédits de fonctionnement ni de salaires stables. Lors de la préparation du 5^{ème} plan de modernisation et d'équipement, Marcel Bessis préconisa de s'assurer du financement satisfaisant des laboratoires existants avant de les étendre ou d'en créer de nouveaux. Il était lui-même directement concerné par cette question, étant donné qu'il devait s'installer l'année suivante dans le Centre de pathologie cellulaire et de cancérologie expérimentale, créé à l'Hôpital Bicêtre, et que ce centre pouvait accueillir deux fois plus de personnel que le Laboratoire de cytologie sanguine du CNTS. Les frais de fonctionnement de ce centre devaient être pris en charge par l'INH, mais rien n'était encore prévu pour le transfert du personnel ni l'embauche⁶.

¹ Fonds IUH, article 141, Premier Ministre, DGRST, Compte rendu de réunion du Comité « Cancer et leucémie », 12.12.1963.

² Picard J.-F., « De la médecine expérimentale (1865) à l'INSERM (1964) » in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds., *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994, p. 341.

³ Archives de l'INSERM, Cote 9440-01, Conseil scientifique de l'INSERM, procès-verbal de la réunion du 23.01.1965.

⁴ Archives de l'INSERM, Cote 9440-01, procès-verbaux des réunions du Conseil scientifique, 24.10.1964.

⁵ Fonds Bessis, Correspondance avec Bernard J., 16.01.1969.

⁶ Fonds Bessis, Correspondance avec Denoix P., 03.01.1964.

En 1965, le groupe de travail sur l'attaque du cancer par la recherche scientifique réuni par le Ministère de la Santé, fit le même constat. Ce groupe rassemblait Jean-Pierre Bader, Jean Bernard, Marcel Bessis, M. Dargent, Jacques Delarue, Pierre Denoix, Jules Driessens, le vétérinaire M. Ferrando, M. Gallais, Pierre Grabar, François Jacob, Antoine Lacassagne, Raymond Latarjet, Eliane Lebreton, André Lwoff, Georges Mathé, M. Nourry, de la DGRST, et Daniel Schwartz. Le groupe jugea la situation de la France « remarquable et digne de son prestige et de ses ambitions » au niveau de la prévention et du traitement et regretta qu'il n'en soit pas de même dans la recherche. Dans ce domaine, le groupe situait le pays très loin derrière les Etats-Unis, loin derrière le Royaume-Uni, et redoutait d'être bientôt dépassé par la Suède, Israël, l'Allemagne, l'Australie et le Canada. La part de crédits transitoires (DGRST, CEA, Sécu, collectivités locales, EURATOM, NIH...) dans les budgets des laboratoires de recherche médicale fut jugée trop importante, d'autant plus que les institutions américaines étaient sur le point d'interrompre les contrats passés avec les équipes françaises. Les dons privés étaient aussi moins importants en France qu'aux Etats-Unis, au Royaume-Uni ou en Allemagne. L'infrastructure existait (voir annexe 56), les hommes étaient beaucoup mieux formés grâce à la DGRST et cela devait s'améliorer encore avec la création d'un troisième cycle de biologie humaine¹. Les salaires et les crédits de fonctionnement étaient par contre jugés très insuffisants. Le groupe préconisa une augmentation annuelle des crédits de 20%, une augmentation de l'exonération fiscale pour les dons et un regroupement des fondations privées (l'Association Claude Bernard, la Fondation nationale pour la recherche médicale, la Ligue franco-américaine contre le cancer et ses délégations départementales, l'Association pour le développement des recherches sur le cancer à Villejuif, le Groupement des entreprises française dans la lutte contre le cancer, etc.). Les besoins étaient évalués à environ 100 millions de francs².

L'année suivante, Jean Bernard et Georges Mathé s'efforcèrent d'obtenir du gouvernement une augmentation de crédits. En mars 1966, Jean Bernard fit un exposé aux membres du « Cercle Lavoisier », en présence du Ministre de l'économie et des finances Michel Debré. Il distingua trois périodes dans l'histoire des relations en France entre l'Etat et la recherche. La première, avant 1958, fut marquée, dit-il, par de très utiles initiatives, telles la création du CNRS et de l'INH mais manquait de politique d'ensemble. La seconde période, après 1958, apporta un début de coordination, avec la création de la DGRST et du Comité consultatif, et fut caractérisée par d'importants investissements en personnel, en bâtiments et en équipements. La troisième période, ouverte par le 5^{ème} plan, était à ses yeux décevante. Face à la stagnation des crédits, les jeunes chercheurs risquaient de partir à l'étranger. La situation était particulièrement critique parce que la recherche biologique connaissait alors une mutation comparable à celle de la physique dans les années 1920 ; elle nécessitait un appareillage complexe et coûteux. Michel Debré répondit que la recherche scientifique et technique était l'un des quatre points d'action prioritaire retenus par le gouvernement, avec les investissements industriels, la formation professionnelle et les problèmes de logement. Il expliquait le ralentissement récent de la recherche par le fait qu'elle était devenue plus coûteuse dans tous les domaines ; il attribuait les problèmes de recrutement au creux démographique qui touchait à sa fin. Il annonça un budget d'environ 50 milliards de francs pour le cinquième plan et un programme favorisant le rapprochement avec l'industrie, de manière à ce que la recherche scientifique devînt plus rentable financièrement³.

¹ Toutefois, en 1967, Georges Mathé trouvait toujours insuffisante l'offre de chercheurs qualifiés (Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., 13.03.1967).

² Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., rapport du Groupe de travail sur l'attaque du cancer par la recherche scientifique du Ministère de la Santé, 1965.

³ Fonds Bessis, Correspondance avec Bernard J., procès-verbal de séance de travail du Cercle Lavoisier 10.03.1966.

Georges Mathé, pour sa part, chercha le soutien du public ; il interpella le gouvernement par l'intermédiaire d'un article publié dans *Le Monde* et intitulé « La recherche biomédicale et le prestige de la France ». Il déplorait que l'INSERM n'eût pas bénéficié d'augmentation de crédits depuis sa création en 1964 : « Pourquoi les pouvoirs publics refusent-ils donc ce minime effort ? Tenteraient-ils de freiner les progrès de la médecine pour simplement éviter de se trouver devant les difficiles problèmes sociaux que poserait l'allongement de la vie, si le cancer et l'athérosclérose étaient vaincus, avertis qu'ils sont des possibilités de la science qui a, déjà en ce dernier demi-siècle, allongé la vie de 20 ans ? Je ne le pense pas. »¹. Signalons tout de même que les « hommes qui font les plans » avaient averti les médecins que vers 1985, les dépenses de santé seraient trop lourdes pour la collectivité². Georges Mathé ajouta « Mais les hommes d'Etat n'étudient pas le problème eux-mêmes et le confient à des commissions de savants : ces commissions en comportant toutes les variétés, les physiciens, étant donné les nombreuses applications de la physique, y sont en majorité et dirigent vers les activités de cette science l'immense majorité des crédits : en 1961, la France consacrait à la recherche spatiale 26 millions de francs de plus qu'à la recherche médicale. En 1965, la différence n'a pas changé de sens et atteint 242 millions de francs ». Toujours selon Georges Mathé, les équivalents britanniques et suédois de l'INSERM disposaient de budgets plus importants, respectivement 105 et 9 millions de francs contre 7 millions en 1965 pour l'INSERM. La construction des autoroutes coûtait 150.000 F par habitant contre 200 F pour la recherche sur le cancer. « Cette lamentable situation ne cessera que si le public devient pleinement solidaire de ces chercheurs » conclut-il³.

Les interventions de Jean Bernard et de Georges Mathé ne semblent pas avoir atteint leur but. La situation financière de la recherche médicale s'aggrava encore en 1969, avec l'arrivée au pouvoir de Georges Pompidou. Les bénéficiaires de contrats de l'action concertée « cancer et leucémie » reçurent une circulaire annonçant une réduction immédiate des crédits au moment où plusieurs laboratoires, dont celui de Marcel Bessis, comptaient sur une réduction progressive des crédits sur cinq ans, leur permettant de chercher d'autres sources de financement tant pour le matériel que pour le personnel⁴. Les chercheurs et les techniciens de l'IRLMS, devenu l'Unité d'enseignement et de recherche d'hématologie de l'Université Paris 7 en 1968, lors du découpage de la Faculté de Paris en plusieurs universités, se réunirent en assemblée générale extraordinaire et mandatèrent le Conseil de l'Unité d'hématologie pour protester contre les restrictions financières touchant la recherche scientifique. Le gouvernement venait de décider, en plus du blocage sans préavis des budgets en cours d'exercice, l'absence quasi-totale de nouveaux postes de chercheurs pour l'année 1970⁵.

Les années 1965-1970 furent aussi, pour les néocliniciens, le temps du doute vis-à-vis de leur politique scientifique. En 1965, Marcel Bessis et Jean Bernard organisèrent une discussion sur les orientations souhaitables des recherches sur la leucémie, en réunissant des spécialistes de la question : Jean-Louis Amiel, Michel Boiron, Jean-François Duplan, Joseph Tanzer, ainsi qu'un mathématicien, François Le Lionnais, et un physiologiste, Michel Burstein. La nécessité de soutenir la recherche biologique y fut réaffirmée mais ils se demandèrent si celle-ci n'était pas trop tournée vers l'étiologie et insuffisamment vers la physio-pathologie, s'éloignant ainsi des objectifs thérapeutiques. Pour Jean Bernard, la connaissance de l'étiologie n'était pas forcément nécessaire à la mise en place d'un traitement efficace : « un rein tuberculeux enlevé guérit le malade sans avoir tué le bacille ». Marcel

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., 15.03.1966.

² Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C. R. 2^{ième} Congrès Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., 15.03.1966.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Lacassagne A., 09.01.1969.

⁵ Fonds IUH, article 2, Conseil d'unité, 21.10.1969.

Bessis partageait cet avis : « il est possible que tout le monde ait la leucémie mais que certains seulement en meurent. Dans une allergie très grave, il ne servirait à rien d'étudier l'allergène ». Marcel Bessis demanda si le meilleur moyen de lutter contre cette maladie était bien de développer la recherche biologique, raisonnement qui avait été accepté presque partout. Michel Burstein pensait que ce serait les recherches sur la leucémie qui entraîneraient des découvertes importantes dans les sciences fondamentales : « d'une manière générale la pathologie explique mieux la physiologie que l'inverse ». Selon Jean-Louis Amiel, il fallait à la fois une recherche empirique et une recherche rationnelle de traitements : « Vouloir comprendre avant d'agir c'est peut-être se priver d'une manière de comprendre ». Pour Michel Boiron, la grande majorité des recherches en cours sur le cancer concernaient les facteurs étiologiques, parce que ces travaux pouvaient être entrepris facilement, au contraire des recherches de cytologie fondamentale comme celles sur la transformation cancéreuse. Il préconisait d'encourager les recherches techniques, permettant, par exemple, de comparer les acides nucléiques des cellules cancéreuses et normales¹. Ces interrogations étaient d'autant plus légitimes que les progrès dans la compréhension de la maladie humaine venaient alors davantage du renouvellement de la clinique que de l'expérimentation animale : « Il serait erroné de penser que l'anatomie pathologique a épuisé ses facultés de découvertes, tout ayant été décrit : grâce à une plus étroite confrontation des observations cliniques et morphologiques, à l'introduction dans les laboratoires hospitaliers de la microscopie électronique, à l'extension de l'histochimie, au développement des ponctions-biopsies, nos connaissances sur le substratum morphologique de nombreux syndromes et maladies ont été, ces six dernières années, complètement renouvelées : les pathologies rénale, hépatique, myélo-lymphoïde, ont eu leur sémiologie notablement corrigée par les seules études plus approfondies que jadis, des structures pathologiques. »².

Marcel Bessis jugeait toujours préférable, concernant la recherche sur le cancer, de ne négliger aucune piste. Comme cette exigence lui semblait satisfaite, il proposa, pour essayer de faire progresser plus vite les connaissances dans ce domaine, de faire mieux connaître la maladie aux spécialistes des sciences fondamentales et de financer des recherches aux objectifs bien délimités : « Etant donné qu'on ne connaît pas le mécanisme de la cancérisation, il ne semble pas rentable de favoriser une discipline plutôt qu'une autre. Et d'ailleurs les grandes voies auxquelles on peut raisonnablement penser (biologie moléculaire, physiologie cellulaire, virologie, chimiothérapie) sont largement soutenues par les organismes s'occupant de cancérologie. Il apparaît plus efficace, tout en développant autant que possible l'étude de la biologie et de la pathologie générale (ce qui de toutes façons amènera des découvertes importantes) de faire porter un effort particulier sur les deux points suivants : a) faire prendre conscience des problèmes que pose le cancer aux biologistes généraux, aux biochimistes et aux biophysiciens. Par exemple, par une Académie de cancérologie qui serait vivante, sévère et qui disposerait de fonds. b) Faire confiance à quelques hommes sur un programme déterminé, leur donner les moyens qu'ils demandent, sans les épuiser en démarches administratives »³.

Des doutes sur les orientations scientifiques de la recherche française sur le cancer fut aussi exprimés par le Groupe de travail sur l'attaque du cancer par la recherche scientifique du Ministère de la Santé : « On peut également se demander si l'insuffisance de la recherche

¹ Fonds Bessis, Amiel J.-L., Bernard J., Bessis M., Boiron M., Burstein M., Duplan F., Le Lionnais F., Tanzer R., *Orientations souhaitables dans les recherches sur la leucémie*, Confrontations cytologiques (IV), mai-juin 1965, article non publié.

² Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., 13.03.1967.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., 05.07.1965.

cancérologique française n'est pas due à une politique scientifique erronée, périmée ou à une absence de politique. »¹.

En 1967, il ne paraissait plus possible de laisser toute la chimiothérapie aux Américains. Jean Bernard écrivit au Délégué général de la DGRST : « Il est hautement probable que si le Comité Cancer et Leucémie avait pris ses décisions vers 1964 au lieu de 1959, il aurait inclus la chimiothérapie parmi les thèmes principaux de recherches ». Il suggéra, pour le 6^{ième} plan, de créer dans ce domaine une petite action concertée destinée à aider quatre ou cinq équipes menant des recherches originales en chimiothérapie, dont celles de Georges Mathé et de Maurice-Marie Janot, de l'Institut de chimie des substances naturelles (Gif-sur-Yvette, Essonne). Selon Jean Bernard, ce dernier avait vu l'intérêt des alcaloïdes de la pervenche avant les chercheurs de la firme Eli Lilly (Indianapolis, Indiana)².

La même année, dans un projet de rapport de conjoncture pour l'Intergroupe Cancer de l'INSERM, Georges Mathé souligna l'importance prise dans la recherche cancérologique mondiale par la chimiothérapie et insista sur ses retombées en biologie : « La chimiothérapie est actuellement la voie thérapeutique qui suscite le plus de travaux et qui consomme le plus de crédits ; d'abord regardée par beaucoup de biologistes comme une discipline empirique, parce que découverte elle-même par hasard à l'occasion de l'explosion à Pearl Harbour d'un bateau chargé de gaz moutarde, elle est actuellement devenue une discipline majeure et respectée même des biologistes moléculaires auxquels elle a fourni leurs plus subtils outils de dissection physiologiques de la cellule. Environ 100.000 composés sont préparés par synthèse ou extraction chaque année, qui font l'objet de tests *in vitro* et sur l'animal porteur de tumeurs »³.

Toujours dans le souci de redorer le blason de la recherche cancérologique française, les experts commencèrent, dans les années 1960, à penser à l'Europe. En 1965, le groupe de travail du Ministère de la Santé croyait possible de rivaliser avec les Etats-Unis par une alliance européenne. Le Groupe européen de chimiothérapie anti-cancéreuse et l'Organisation européenne pour la biologie moléculaire suscitaient de grands espoirs⁴. La même année, le morphologiste belge Albert Claude, qui travaillait aux Etats-Unis mais était soucieux d'améliorer la recherche en Europe, écrivit à Marcel Bessis que le meilleur moyen d'y parvenir était probablement d'encourager les échanges entre chercheurs : « Dans la situation hésitante où en est la plupart des pays d'Europe, nous sommes sans cesse à refaire notre examen de conscience. Mon récent voyage en Finlande et à Stockholm m'a confirmé que la situation est à peu près la même partout, c'est-à-dire pas meilleure. Le fait positif est qu'il y a, dans chaque pays, quelques laboratoires excellents, pourvus d'hommes et d'équipement scientifique. Mais chacun est un îlot qui, le plus souvent, s'épuise à remettre au point, pour des besoins momentanés, des techniques que quelques autres connaissent et pratiquent bien. A mon avis, la solution, aujourd'hui à portée de la main en Europe, est le billet d'avion ou de chemin de fer, et que nous allions résoudre certains de nos problèmes là où la solution serait la plus rapide et la plus économique. Cette collaboration transitoire pratiquée aux Etats-Unis sur une grande échelle (mais là, le plus souvent de porte à porte) pourrait être, pour de nombreuses années encore, une partie de la solution. »⁵.

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., rapport du Groupe de travail sur l'attaque du cancer par la recherche scientifique du Ministère de la Santé, 1965.

² Fonds IUH, article 141, Premier ministre, DGRST, lettre à M. Maréchal, 22.07.1967.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., 13.03.1967.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., rapport du Groupe de travail sur l'attaque du cancer par la recherche scientifique du Ministère de la Santé, 1965.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Claude A., 06.11.1965.

Pour en revenir aux orientations scientifiques proprement dites, le « dogme biologique du progrès médical »¹, dont le succès avait été assuré par son emploi concomitant par les pasteuriens et les néocliniciens, les premiers pour développer les structures indépendantes du système hospitalo-universitaire, les seconds pour introduire des laboratoires dans l'hôpital, devint encombrant pour les néocliniciens, inquiets qu'ils étaient de la fondamentalisation incessante des recherches cancérologiques.

Les tensions évoquées précédemment entre les membres du Comité « cancer et leucémie » et les membres de l'Intergroupe « cancer », ne traduisent pas uniquement la peur de ne pas voir aboutir les actions engagées mais reflètent aussi le vieux conflit opposant les pasteuriens aux néocliniciens. Précisons que tous les pasteuriens n'étaient pas forcément hostiles à l'installation de laboratoires de biologie dans les hôpitaux ; la position d'Antoine Lacassagne était devenue plus modérée, probablement du fait de ses relations personnelles avec des membres du clan Debré.

Marcel Bessis raconta à ce dernier, qui n'avait pas pu la présider, la première réunion de l'Intergroupe. L'absence d'Antoine Lacassagne avait, semble-t-il, rendu la réunion agitée. Elle aboutit toutefois à la proposition d'un nouveau programme pour la reconduction de l'action concertée : chimiothérapie expérimentale, virus, immunité et développement du cancer².

En 1967, Marcel Bessis démissionna de l'Intergroupe « cancer et leucémie » pour raisons de santé. Jules Driessens, qui deux ans plus tôt l'avait félicité pour sa nomination au Comité des douze sages où, disait-il, le cancer continuerait d'être vigoureusement représenté³, s'en inquiéta vivement : « Soyez sûr que je considère cela comme une très fâcheuse nouvelle pour la Commission et pour moi-même. »⁴. Quelques mois plus tard, il fit part à Marcel Bessis de ses différends avec André Lwoff, de l'Institut Pasteur. En novembre 1967, ce dernier envoya à Antoine Lacassagne une lettre faisant état de son opinion au sujet de la demande de subvention de Jules Driessens et en adressa une copie à l'intéressé. André Lwoff déplorait l'absence de compte-rendu d'activité, l'accord de subventions à des « directeurs d'Institut pour le Cancer qui n'ont jamais fait de recherches fondamentales proprement dites » et de ne pas savoir qui utilisait les trois subventions de Monsieur Driessens. Ce dernier répondit que l'INSERM exigeait un rapport ne dépassant pas quatre pages et en quatre exemplaires seulement et que, ceci lui ayant déjà nui l'année précédente, il avait envoyé un rapport officieux détaillé à tous les membres de la commission, rapport qu'André Lwoff venait probablement de recevoir. Il ajouta « je tiens à souligner que contrairement à ce que vous dites les parties prenantes ne considèrent nullement qu'on doit leur faire confiance et que les subventions leur sont dues quoiqu'il arrive. ». Concernant l'absence de recherches fondamentales, Jules Driessens fit la réponse suivante : « j'ai sûrement fait autant de recherche fondamentale que vous-même, sinon en qualité, tout au moins en quantité. Et, ce qui plus est, mon activité de recherches a toujours été, dès le début, orientée vers le cancer, ce qui est loin d'être votre cas. (...) Alors que vous débutiez à l'Institut Pasteur, j'entrais à Lille au laboratoire de Chimie Biologique de mon Maître Michel Polonoski où j'ai passé huit ans. Quelque temps plus tard, je doublai cette activité biochimique par une autre consacrée à la Médecine Expérimentale, puis à l'Histologie Pathologique du Cancer, d'abord au Centre Anti-Cancéreux de Lille, puis à l'Institut de Recherches sur le Cancer de Lille dont j'assurai, au moment de son ouverture en 1939, la mise sur pied et l'organisation complète, en collaboration étroite avec mes amis le Professeur Paul Boulanger (Biochimie) et le Professeur

¹ Cette expression est empruntée à Jean-Paul Gaudillière (Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine*, La Découverte, Paris, 2002. p. 9).

² Fonds Bessis, correspondance avec Lacassagne A., 18.10.1965.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Driessens J., 01.01.1965.

⁴ Fonds Bessis, correspondance avec Driessens J., 18.01.1967.

Jean Swyngedauw (Biophysique). Dans cet institut, je me suis occupé depuis cette date de tout ce qui concerne la Biologie Cellulaire, entouré de plusieurs équipes, créées entièrement par moi et dont les membres sont mes élèves et non des chercheurs recrutés à droite et à gauche ou arrachés à des collègues à coup d'avantages pécuniaires ou autres. J'ai fait toute ma carrière à la lueur de la recherche fondamentale et quand j'ai eu, par la suite, passé le Concours d'Agrégation des Facultés de Médecine, en Anatomie Pathologique, si j'ai pu forcer l'accès à la responsabilité générale d'un Centre Anti-cancéreux c'est bien à la recherche fondamentale que je le dois, car j'ai fait véritablement scandale à l'époque en prétendant, simple « fondamentaliste » que j'étais, accéder à la direction de cliniciens, tant médecins que chirurgiens, chevronnés.». Restait la question des trois subventions de Monsieur Driessens. Il expliqua que chaque contrat était attaché à des équipes différentes, travaillant sur des sujets validés par la DGRST en 1961 puis resserrés et précisés en fonction des résultats obtenus. En 1961, les responsables de ces équipes débutant leur carrière de chercheur, des subventions demandées en leur nom propre auraient certainement été rejetées¹. L'incident, visiblement basé sur des malentendus, fut rapidement clos². Son intérêt historique réside dans la mise en évidence de divergences d'opinion entre chercheurs biomédicaux quant à la façon de faire progresser la recherche sur le cancer.

Mal perçus par certains biologistes traditionnels - Georges Mathé parlait de « mépris des fondamentalistes pour les médecins »³ – les néocliniciens l'étaient aussi d'une partie des médecins, y compris universitaires. A la faculté de médecine, l'agrégation de carcinologie, détenue notamment par Jean Bernard, Pierre Denoix, Georges Mathé, Michel Boiron et Maxime Seligmann, était classée dans les agrégations de sciences fondamentales et non de clinique⁴. Lorsqu'en 1967, Max-Ferdinand Jayle, le responsable du Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté de médecine, annonça à Jean Bernard qu'il n'y aurait apparemment qu'un seul poste de professeur à titre personnel pour les sciences fondamentales parisiennes, celui-ci répondit que les fondamentalistes étaient, une fois de plus, « scandaleusement défavorisés » et qu'il essaierait d'obtenir deux postes⁵.

Des conflits d'intérêt entre biologistes fondamentaux, néocliniciens et cliniciens traditionnels se manifestèrent aussi dans les difficultés de mise en place de la recherche dans les CHU. En juin 1967, le Comité interministériel de la recherche scientifique et technique, décida l'étude de la « réforme des structures de la recherche biomédicale en vue d'établir un mécanisme efficace de répartition et de coordination des tâches entre C.N.R.S., Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (I.N.S.E.R.M.) et centres hospitaliers universitaires ». Le Ministre de la recherche, Maurice Schumann, confia cette mission à un groupe de travail, présidé par Jean Bernard et comprenant Marcel Bessis, l'inspecteur des finances M. de Chalendar, René Fauvert, Raymond Latarjet, Jérôme Lejeune, Pierre Royer et l'administrateur du Collège de France Etienne Wolff. Le Comité interministériel leur avait donné l'orientation générale de la réforme : centrer les activités biomédicales du CNRS sur la biologie fondamentale, réorganiser les commissions de l'INSERM, augmenter les relations entre les deux organismes de manière à ce que les équipes de recherche eussent des financements stables et que leurs méthodes de travail et leurs résultats fussent contrôlés. Au même moment, le Comité interministériel chargea les Ministres de l'Education et des Affaires Sociales d'étudier la possibilité de classer le personnel des CHU en soins-enseignement, enseignement-recherche et recherche-soins, de donner des vacances hospitalières aux chercheurs du CNRS ou de l'INSERM pour compenser les disparités de salaire, et d'admettre

¹ Fonds Bessis, correspondance avec Driessens J., 11.11.1967.

² Fonds Bessis, correspondance avec Driessens J., 22.11.1967.

³ Fonds Bessis, correspondance avec Mathé G., 13.03.1967.

⁴ Fonds IUH, article 12, correspondance avec Kourilsky R., 19.12.1961.

⁵ Fonds IUH, article 13, correspondance avec Jayle M.-F., 22.11.1967, 23.11.1967.

davantage de scientifiques non médecins dans les CHU. Le Comité interministériel souhaitait enfin que la réforme des études médicales permît aux chercheurs médicaux du CNRS ou de l'INSERM d'accéder à la carrière hospitalo-universitaire au grade de maître de conférence agrégé.

Comme attendu, le groupe de travail formula des recommandations sur l'organisation de la recherche médicale dans les CHU, les instituts de recherche biomédicale hors CHU, la formation, le recrutement et l'emploi des chercheurs, les missions et le fonctionnement des organismes centraux de direction et d'organisation de la recherche biomédicale (CNRS, INSERM, Enseignement Supérieur, DGRST). Dans les CHU, la recherche biomédicale se heurtait à trois difficultés principales : l'insuffisance des crédits de fonctionnement (salaires exclus), l'absence de représentation scientifique et administrative, la pauvreté voire l'absence de services communs de recherche (informatique, gestion administrative, documentation, ateliers de réparation, animaleries, etc.). Les solutions proposées furent, premièrement, le développement de contrats de recherche sur programme, de 3 à 5 ans, pouvant être demandés par un chercheur isolé ou par une équipe, gages de souplesse et de qualité, ainsi que le maintien d'un volume modéré de crédits de fonctionnement réguliers destinés à l'entretien des unités, deuxièmement, l'élection dans chaque CHU d'un Comité scientifique de la recherche biomédicale ayant pour mission de définir une politique scientifique et de coordonner les recherches et qui, assisté d'un fonctionnaire, assurerait la gestion administrative et financière des unités de recherche, troisièmement, l'inscription au budget recherche du Ministère des Affaires Sociales des crédits destinés aux services communs.

A propos des centres de recherche hors CHU (Collège de France, Institut Pasteur, Institut du Radium, Laboratoires du CNRS, etc.), le groupe de travail formula deux recommandations : la possibilité pour ces centres de passer des contrats de recherche sur programme avec les organismes centraux, la possibilité de passer avec les commissions de recherche des CHU des conventions de coopération et de bénéficier dans ce cas d'une part de l'allocation de recherche CHU. Etienne Wolff jugeait cette mesure trop restrictive, il souhaitait que les instituts perçoivent cette allocation à l'occasion de tout contrat de recherche biomédicale.

Concernant les chercheurs biomédicaux, le groupe attira l'attention sur les graves problèmes de personnel, de budget et de locaux que rencontrait la mise en place du cycle d'études biologiques créé dans les Facultés de médecine. Il souhaitait que le Ministère de l'Education nationale accordât rapidement les crédits nécessaires. Il recommanda l'emploi comme moniteurs de chercheurs du CNRS ou de l'INSERM, ce qui devait, d'une part, pallier le déficit d'enseignants, d'autre part, fournir un complément de rémunération à ces chercheurs. Il préconisa, en outre, le maintien des bourses de formation créées par la DGRST en 1960. Pour le recrutement des chercheurs, le groupe préconisa, premièrement, le recrutement direct des stagiaires de recherches engagés à titre provisoire, de manière à écourter leur délai de recrutement, deuxièmement, le maintien de l'approbation au niveau national du recrutement de chercheurs demandés par les unités et le conseil de recherche du CHU, troisièmement, le maintien du recrutement libre à l'échelon national de chercheurs se présentant individuellement, quatrièmement, l'accès à la carrière hospitalo-universitaire de scientifiques non médecins, en utilisant le statut de professeur associé, du moins tant que les médecins ne seraient pas suffisamment bien formés. Au sujet des statuts, le principal problème résidait dans le voisinage, dans les CHU, de médecins possédant la double appartenance, Université et Assistance Publique, et de chercheurs à temps plein, les premiers ayant, à un niveau équivalent, des salaires bien supérieurs aux seconds. Le cumul de revenus avait officieusement été autorisé pour ces derniers, à condition que leur activité complémentaire se fasse sur leur lieu de travail. Ainsi des attachés ou maîtres de recherche de

l'INSERM percevaient des vacances pour la pratique d'examens biologiques. Mais le cumul était interdit pour les directeur de recherches et la tolérance du CNRS et de l'INSERM dans ce domaine était variable. Le groupe proposa de remplacer les vacances par l'octroi d'une allocation CHU figurant sur une ligne spéciale de l'enveloppe recherche du Ministère des Affaires sociales. Pour les futurs chercheurs hospitalo-universitaires, le groupe jugeait hautement souhaitable qu'ils puissent passer facilement, au cours de leur carrière d'un type d'activité à un autre. Le groupe jugeait aussi important de pouvoir inviter des ingénieurs français ou des chercheurs étrangers spécialistes de techniques nouvelles, sur des crédits spéciaux inscrits au budget de l'INSERM et répartis entre les équipes demandeuses.

Le groupe jugea préférable la coordination à la fusion du CNRS, de l'INSERM et des Enseignements supérieurs. Il émit des recommandations quant à la vocation de chaque organisme : « On oppose habituellement la recherche biomédicale fondamentale dont la responsabilité incomberait au CNRS et la recherche biomédicale appliquée, qui serait de la compétence de l'INSERM. En fait, cette distinction est peu claire. D'une manière générale, la recherche biomédicale est une recherche appliquée à l'homme malade et il est difficile de préciser, sur le plan conceptuel, en ce domaine, la limite de ce qui est appliqué et de ce qui est fondamental. En outre, sur le plan pratique, les hasards du recrutement des chercheurs, et des investissements depuis vingt ans font qu'actuellement beaucoup d'équipes de recherches sont mixtes et bénéficient de l'aide du C.N.R.S. et de l'I.N.S.E.R.M. En fait, une équipe aborde successivement ou simultanément les différents types de recherche médicale. Il est cependant possible de mieux préciser les options préférentielles des grands organismes chargés de recherche biomédicale, si on distingue la recherche biomédicale à application lointaine à l'homme malade, la recherche à application rapide à l'homme malade et la recherche combinée au traitement du patient. ». D'où, pour le CNRS, la proposition suivante : le financement sur programme d'études de biologie humaine sans volonté d'application immédiate à la pathologie, une action d'aide en chercheurs ou techniciens formés dans les Facultés des sciences, la construction et la gestion d'unités ne nécessitant pas la proximité d'un service hospitalier et la participation à la solution de problèmes généraux (animaleries, informatique, etc.). Le groupe approuva les réformes récemment survenues dans l'organisation du CNRS et ne suggéra que la création d'un « Comité permanent intersections de la recherche biomédicale » réunissant des représentants de la section de pathologie expérimentale et de pharmacodynamique, et des sections de biologie cellulaire, biologie animale, physiologie, chimie biologique, psychologie et anthropologie.

Pour l'INSERM, le groupe estima qu'une fois les CHU mis en place, l'INSERM devait avoir pour fonctions la signature de contrats avec les équipes des CHU et hors CHU, l'approvisionnement en moyens généraux (animaux, informatique, colloques, etc.), le recrutement et le suivi de carrière à partir du grade d'attaché et la gestion des bourses des jeunes chercheurs en formation. Il lui incomberait en outre d'établir un rapport annuel de conjoncture destiné aux instances de coordination. Dans l'immédiat, le groupe jugea nécessaire d'assouplir les règles administratives et financières de gestion des unités de l'INSERM. Selon René Fauvert, l'INSERM souffrait d'une centralisation excessive : « il faut fermement poser la question de savoir si les chercheurs sont à la disposition de l'INSERM et constituent un corps d'employés plutôt gênant pour le fonctionnement harmonieux de la machine administrative, ou si l'INSERM doit être au service des chercheurs pour faciliter leur tâche avec le plus d'efficacité possible. ». MM. Charpentier et Choussat avaient insisté, dans un rapport antérieur, sur la nécessité de séparer les responsabilités administratives et scientifiques, de remplacer le contrôle *a priori* par le contrôle *a posteriori* des dépenses et d'assouplir l'exécution des budgets. Le groupe proposa de confier un rôle plus important au Conseil Scientifique, de réduire le nombre de membres des commissions scientifiques spécialisées et de ne plus fixer par décret la liste et la composition de ses dernières mais par le

conseil d'administration sur proposition du Conseil Scientifique et avec l'élection de la moitié des membres par les chercheurs.

Enfin, en ce qui concerne la coordination au niveau national, le groupe approuva la proposition de MM. Charpentier et Choussat de créer, auprès de la DGRST, un « Conseil supérieur de la recherche biomédicale », comprenant un petit nombre de scientifiques de grand renom dont le médecin et le biologiste du CCRST. En conclusion, le groupe recommanda qu'une priorité absolue fût donnée à la recherche biomédicale effectuée dans les CHU¹.

Les financements du CRLMS et de l'IRLMS

L'évolution des financements de l'équipe de Jean Bernard illustre les changements politiques et institutionnels que nous venons de décrire.

Entre 1955 et 1970, les trois principales sources de financement de l'institut furent l'Association Claude Bernard, l'Education nationale et la DGRST, auxquelles s'ajoutèrent le CNRS et l'INSERM (voir annexe 57). La souscription lancée par le journal *L'Aurore* joua également un rôle important au moment de la création de l'IRLMS (voir chapitre 1).

De 1961 à 1965, cet institut bénéficia de quatre subventions du Comité « cancer et leucémie » de la DGRST, pour l'étude des acides nucléiques des virus cancérigènes et des cellules leucémiques (contrat 61-FR-137), pour l'étude de la cellule leucémique (61-FR-135), pour l'étude des globulines pathologiques et de la constitution antigénique des cellules leucémiques murines (61-FR-062), ainsi que pour la culture de cellules hématopoïétiques et leur étude caryotypique (61-FR-221). Un autre contrat s'y ajouta en 1962, pour l'installation d'une Unité de microscopie électronique (62-FR-069), et fut renouvelé au moins jusqu'en 1965. Cette année-là, Jean Bernard obtint en outre un financement de 387.600 F pour la construction d'un élevage de chimpanzés à Makokou au Gabon (convention 65-FR-200).

L'Inter groupe « cancer » de l'INSERM accorda ensuite, de 1966 à 1969, trois contrats au Département d'hématologie expérimentale, pour l'étude de la réplication de l'ARN du virus leucémogène de Rauscher (CR-66-218), pour l'étude des rapports entre les virus du groupe « leucémies-sarcomes » et les cellules cultivées (CR-66-219), ainsi que pour l'étude des ARN de faible poids moléculaire (CR-66-220). Un autre contrat fut passé avec Jacques-Louis Binet, pour l'étude des lymphocytes en immunologie et dans les leucémies myéloïdes chroniques (CR/66/217), dont le montant s'élevait en 1968 à 51.667 F pour le personnel et 19.452 F pour le fonctionnement. Un dernier contrat fut signé avec Jean-Paul Lévy, pour l'étude des virus leucémogènes (67-00-739-01). En 1969, l'abattement de 150.000 F sur les actions concertées lié aux économies budgétaires eut une répercussion de 1000 F pour l'institut². Pour la période 1961-1963, le montant de l'aide apportée à l'institut par la DGRST fut de 2.118.000 F en crédits de fonctionnement³. La somme de 1.108.000 F pour 1964-1965 fut calculée sur la base de recommandations formulées par le comité en 1962⁴.

Pour les ressources autres que celles de l'Association Claude Bernard, de l'Education nationale et de la DGRST, je ne dispose que d'informations fragmentaires. Il est même possible que certaines ressources figurant dans la dernière colonne de l'annexe 57 soient déjà

¹ Fonds IUH, art. 146, Ministère de la recherche, Groupe de travail sur la réforme des structures de la recherche biomédicale, 1967-1968.

² Fonds IUH, article 141, Premier Ministre, DGRST, 1961-1969.

³ Fonds IUH, article 141, Premier Ministre, DGRST, janvier 1964.

⁴ Les sommes annoncées pour 1963 et 1964 ont été divisées par 2 et celle annoncée pour 1965 également parce qu'un compte-rendu de réunion ultérieur indiquait que le montant des conventions serait réduit de 50% en 1965 (Archives nationales, Ministère de la recherche, DGRST, cote 77/321, article 561).

comprise dans la somme annoncée par l'Association Claude Bernard puisque cette dernière gérait les dons privés reçus par l'institut. Toutefois, elle fut peut-être relayée dans cette fonction par la Société des amis de l'IRLMS qui fut créée en 1961 pour recueillir des dons et legs destinés à aider les recherches menées à l'IRLMS. Son activité était étroitement coordonnée à celle de la Fondation nationale pour la recherche médicale française. Elle fut reconnue d'utilité publique en 1964. Lors de sa création, le bureau de l'association était présidé par Pierre Chatenet, ancien ministre, et avait pour vice-présidents Jean Cocteau, Lambert Blum-Picard et Jean Bernard¹.

Concernant le CNRS et l'INSERM, les données sont malheureusement limitées aux crédits de fonctionnement du Laboratoire d'immunologie des tumeurs pour 1969 ; il conviendrait d'y ajouter les salaires².

Une partie des financements provenaient de l'industrie pharmaceutique, des Laboratoires Sandoz, en 1959, de la firme SPECIA, au moins de 1962 à 1966³. Par exemple, en 1962, une subvention des Laboratoires SPECIA servit à rémunérer pendant environ un an une collaboratrice de Jean Dausset chargée de recherches bibliographiques sur les médicaments leucopéniants⁴. L'aide financière des laboratoires pharmaceutiques n'était pas propre à l'IRLMS ; de 1955 à 1960, la firme Rhône Poulenc donna au Laboratoire de cytologie de l'École pratique des hautes études le salaire d'une technicienne responsable de l'élevage de souris leucémiques de la souche Ak. Ce financement s'élevait à 40.000 F par an en 1955, 47.000 F en 1957 et 400 NF en 1960⁵.

D'autres financements provenaient d'organismes publics ou semi-publics français ou américains. En 1960, le CRLMS acheta des boîtes à souris sur des crédits des Armées⁶. Pour leurs recherches sur les antigènes leucocytaires de surface et la greffe de peau, Jean Dausset et Jacques Colombani bénéficièrent à partir de 1961 d'une bourse d'étude de la Section Allergie et Immunologie du National Institute of Health américain (Grant C 5573)⁷. L'année suivante, Jean Dausset demanda au CEA une aide financière pour l'achat de Tritium radioactif, afin que son collaborateur K. Takashima fabrique des anticorps marqués destinés à la détection d'anticorps anti-leucocytaires fixés sur les leucocytes⁸. Enfin, de 1962 à 1967, le National Institute of Health fournit à l'institut de quoi acheter du matériel et rémunérer une laborantine pour les travaux de cytochimie et de cytogénétique (NIH-RF-21)⁹.

A ces ressources, s'ajoutaient les aides d'organismes privés et d'associations caritatives. La Mutuelle du pétrole dota l'institut d'une contribution annuelle de 25.000 à 30.000 F¹⁰. La Caisse d'épargne de Dunkerque, la Caisse d'épargne de Paris et un groupement d'Industriels d'Ile-de-France participèrent également¹¹. En 1968, la fondation américaine Talisman fournit une aide puissante à l'institut en lui cédant, via la Fondation pour la

¹ Fonds IUH, article 1, brochure de présentation de l'IRLMS, 1965.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport financier, 1969.

³ Fonds IUH, article 80, Chimiothérapie, lettre de J. Bernard à C. Jacquillat, 26.01.1966.

⁴ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations avec J. Dausset, 29.06.1962, 30.06.1962.

⁵ Fonds Bessis, correspondance avec Rhône Poulenc, 1955-1960.

⁶ Fonds IUH, article 162, Association Claude Bernard, correspondance avec le secrétaire général, 1960.

⁷ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations avec J. Dausset, 10.01.1963, 16.01.1963.

⁸ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations avec J. Dausset, 28.05.1962.

⁹ Publications de Joseph Tanzer citées dans le chapitre 2.

¹⁰ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapports financiers du CRLMS, 1959-1970 ; article 163, Association Claude Bernard, Subvention de la mutuelle de l'industrie du pétrole, 1965-1970.

¹¹ Fonds IUH, article 161, Association Claude Bernard, rapports financiers du CRLMS, 1959-1970.

recherche médicale française, 112.500 \$¹. L'année suivante, la Ligue attribua un crédit de 200.000 F à François Kourilsky, Jean-Paul Lévy et Jorge Périès².

Enfin, lorsque l'on s'intéresse au personnel de l'institut, on constate une augmentation numérique totale importante associée à une augmentation relative des chercheurs de l'INSERM. En 1960, l'IRLMS comptait, en plus du personnel hospitalo-universitaire, trois chercheurs, deux attachés de recherches, au CNRS et à l'INH, et un stagiaire de recherches au CNRS, ainsi que seize aides techniques, sept rémunérées par l'Association Claude Bernard, une par le Laboratoire de la Chaire de cancérologie de la Faculté de médecine et huit sur des fonds privés³. Neuf ans plus tard, l'institut comptait 80 chercheurs et 160 techniciens ou aides techniques⁴, dont au moins une dizaine de chercheurs INSERM.

En attendant un recrutement définitif, certains chercheurs furent employés par l'Association Claude Bernard, comme Joseph Tanzer ou Maxime Seligmann. D'autres, dont Martine Canivet, Jean-Claude Chuat ou Claire Scialom, bénéficièrent de contrats de formation en cancérologie expérimentale de la DGRST⁵. D'autres encore obtinrent des bourses, par exemple du Fonds d'étude de la Société médicale des Hôpitaux de Paris, comme Jean-Paul Levy en 1964⁶, ou du Fond Eleanor Roosevelt⁷.

¹ Fonds IUH, article 169, Fondation pour la recherche médicale française, rapport concernant l'emploi du don fait par la Fondation Talisman, avril 1969.

² Fonds IUH, article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, rapport financier, 1969.

³ Fonds IUH, article 162, Association Claude Bernard, correspondance avec le secrétaire général, 1960.

⁴ Fonds IUH, Fondation pour la recherche médicale française, rapport concernant l'emploi du don fait par la Fondation Talisman, avril 1969.

⁵ Archives nationales, Ministère de la recherche, DGRST, cote 77/321, article 561.

⁶ Bernard J., Tanzer J., Boiron M., Lévy J.-P., Ripault M., Harel P., *Un cas de leucémie à polynucléaires neutrophiles. Etude cytochimique et chromosomique*, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 4 (2) : 253-266, 1964.

⁷ Fonds IUH, article 64, Laboratoire d'immuno-hématologie, Echanges d'informations avec J. Dausset, 21.05.1965.

Conclusion

Ce travail visait à la fois à reconstituer les travaux de Jean Bernard et de ses collaborateurs sur la leucémie aiguë et à rendre compte des transformations de la recherche médicale française entre 1940 et 1970. Il fournit en outre quelques éléments de réponse à la question plus générale du fonctionnement des sciences expérimentales.

Au cours de cet exposé, il fut d'abord montré que l'autonomisation nosologique, vers 1850, de cette maladie très ancienne, la leucémie, résulta de la rencontre du microscope, de la théorie cellulaire et de l'intérêt pour le sang de certains cliniciens. La caractérisation de cette maladie participa à la constitution d'une nouvelle spécialité médicale : l'hématologie.

De l'analyse des travaux de Jean Bernard et de ses collaborateurs, ressortent à la fois des tendances générales liées à la période étudiée, des spécificités nationales et un style de recherche local, composé d'éléments partagés avec d'autres équipes mais formant un ensemble original de caractéristiques.

Au fil de ces chapitres, la leucémie devint définitivement un cancer. Sa définition évolua autant sous l'influence des essais thérapeutiques que des études biologiques (biochimiques, virologiques, immunologiques, etc.), cependant son diagnostic de routine resta basé sur la cytologie classique. Tantôt les observations médicales suscitèrent des hypothèses biologiques, testées au chevet du malade ou au laboratoire, comme lorsque l'exsanguino-transfusion fit soupçonner l'existence chez les sujets sains d'une substance anti-leucémique ; tantôt les données biologiques proposèrent des explications voire des solutions aux problèmes médicaux, par exemple lorsque la mise en évidence d'auto-anticorps dans d'autres maladies fit envisager leur rôle dans la leucémie. Par ailleurs, les recherches sur les leucémies animales aboutirent à des connaissances biologiques fondamentales, telles que la répllication des rétrovirus ou la fluidité membranaire.

L'efficacité des traitements progressa principalement grâce à des recherches sur les modalités d'administration et sur la combinaison des agents chimiothérapeutiques. Elle bénéficia en outre de l'amélioration des traitements symptomatiques. Ces recherches permirent l'obtention de guérisons à la fin des années 1960. Les premiers succès de la chimiothérapie, bien que modestes, transformèrent la définition de la maladie. Son évolution fut découpée en périodes d'évolution, de traitement, de rémission (complète ou incomplète) et de rechute ; elle connut de plus l'introduction d'épisodes à localisation neuro-méningée. Le statut du patient fut également transformé par les essais thérapeutiques ; il passa de la condition d'incurable, exclu de l'hôpital, à celle de patient séjournant plus ou moins longtemps et fréquemment à l'hôpital et participant à la recherche médicale. Son contact plus prolongé avec les médecins et les infirmières façonna et rendit visibles les problèmes psychologiques liés à cette maladie.

A la fin des années 1950, les recherches de Jean Bernard sur la leucémie aiguë changèrent d'échelle, en relation avec l'intérêt de ce dernier pour cette maladie et le fait

qu'elle convienne particulièrement bien aux essais de chimiothérapie, ce à quoi il faut ajouter l'incidence croissante de la leucémie, la représentation du cancer comme fléau social et l'engagement croissant de l'Etat dans la lutte contre les maladies.

Par manque de locaux, de matériel et de personnels formés à la recherche biologique, les travaux expérimentaux de Jean Bernard étaient limités, avant la construction de son institut (l'IRLMS), à des collaborations avec des équipes disposant de ces ressources. La plupart des médecins qu'il recruta pour diriger les différents départements de l'IRLMS préparèrent des certificats ou des thèses de science. Ils allèrent souvent, aux Etats-Unis ou ailleurs, se former aux nouvelles techniques et instruments de la biologie. A la fin des années 1950, les recherches de laboratoire, d'abord cytologiques, biochimiques, isotopiques et immuno-structurales, se recentrèrent sur la virologie et la biologie moléculaire, ainsi que sur une immunologie plus fonctionnelle, associant à la poursuite des travaux sur les antigènes et les anticorps, l'étude de l'état immunologique des sujets et de la stimulation des lymphocytes.

Le travail de paillasse et les essais thérapeutiques connurent, autour de 1960, une standardisation accrue et un contrôle plus poussé des matériels et des méthodes. Ce processus a une double origine : la faible fréquence de la maladie et une vision de la science basée sur le recours aux grands nombres, qui obligèrent conjointement à la mise en commun des patients et des résultats, qui mirent en exergue les problèmes de comparaison des résultats et qui exigèrent l'établissement d'un consensus, une homogénéisation des matériaux et des méthodes. Toutefois, le renforcement de la coopération nationale et internationale ne doit pas tout aux aspects statistiques ; il découle aussi de la spécialisation accrue des équipes, des financements internationaux et de la nécessité, pour acquérir le statut d'innovation, de la diffusion des connaissances ou instruments produits localement. Cette diffusion nécessita souvent le déplacement de personnes, comme lors de la tentative d'introduction de l'exsanguino-transfusion anti-leucémique aux Etats-Unis.

Pour ce qui est des liens plus étroits entre la biologie et la médecine, la molécularisation des travaux, due à la culture de cellules et à l'introduction de nouveaux instruments et techniques issus de la physique, fut au cœur du rapprochement des recherches cliniques et biologiques, amorcé au siècle précédent. Elle contribua dans une moindre mesure au développement de la réflexion éthique. Par ailleurs, de plus en plus de médecins s'intéressèrent à la recherche expérimentale sur les leucémies ; y voyant un nouveau moyen de lutter contre la maladie et d'en affronter la gravité.

Enfin, la mise au point d'appareils complexes, tels que le microscope électronique, puis le développement de la chimiothérapie favorisèrent la recherche de partenariats avec l'industrie.

La comparaison avec les Etats-Unis et la Grande Bretagne suggère deux principales spécificités françaises de la recherche médicale de l'après-guerre. Elle semble avoir été moins soutenue par les pouvoirs publics dans ce pays que dans les autres. Cette faiblesse relative du soutien institutionnel à la recherche médicale s'explique par l'hostilité de l'Assistance publique à l'introduction de laboratoires de recherche à l'hôpital, par une certaine méfiance réciproque entre les médecins hospitalo-universitaires et ceux de l'Institut Pasteur alors très influents, par le faible développement des structures de santé publique, et surtout par l'importance de la place accordée à la physique et au programme nucléaire dans la recherche nationale. L'autre caractéristique est la quasi-absence, du moins dans l'immédiat après-guerre, de la recherche systématique, par l'industrie pharmaceutique, de molécules anti-cancéreuses. Ce phénomène paraît lié, d'une part, à l'absence de perception ou à la perception trop tardive, par les investisseurs, des retombées commerciales potentielles de ce domaine de recherche, d'autre part, à l'absence ou au retard de la demande médicale pour une démarche jugée trop empirique. Une autre hypothèse est envisageable : les firmes pharmaceutiques françaises ne disposaient peut-être pas de laboratoires suffisamment grands pour mener ce type de

recherches. Il ne semble pas y avoir eu de la part des spécialistes du cancer une réticence particulière à établir des liens avec l'industrie.

Venons en aux spécificités des recherches menées à l'IRLMS dans les années 1960. Ce travail permet de dégager deux grandes orientations, que sont le choix des virus et une préférence pour les traitements « physiologiques ».

L'engagement marqué de l'équipe de Jean Bernard dans l'étude des leucémies animales virales et dans la recherche d'un virus leucémique humain a plusieurs explications. Paul Chevallier, dont Jean Bernard fut l'élève, était un fervent défenseur de l'hypothèse virale du cancer. Jean Bernard, en raison de son intérêt plus marqué pour le sang que pour les tumeurs solides, eut peu d'occasions de collaborer avec les spécialistes de la radiothérapie et de la radiobiologie. Il travailla par contre sur les microorganismes, par le biais des maladies infantiles et en liaison avec l'Institut Pasteur. Il connaissait moins bien, de part sa formation, la génétique, les chromosomes, la biochimie ou l'épidémiologie. Les travaux sur les virus paraissaient en outre relativement simples à réaliser. L'hypothèse virale fournissait une explication des rechutes. Elle s'accordait avec l'hypothèse et l'observation d'un dysfonctionnement du système immunitaire. Et, surtout, l'hypothèse virale offrait, avant la « découverte » des oncogènes, des perspectives thérapeutiques très séduisantes : l'éradication de la maladie par vaccino- ou sérothérapie.

Ce que j'appelle l'attrait de Jean Bernard pour les traitements « physiologiques » ou « biologiques » correspond à sa préférence initiale pour l'exsanguino-transfusion par rapport aux antifoliques, à ses essais de mise en évidence d'une action régulatrice plutôt que destructrice de la cortisone, à sa participation aux essais de greffe de moelle puis d'immunothérapie complémentaire de la chimiothérapie et, enfin, à son discours favorable aux « médicaments naturels de la leucémie » (alcaloïdes de la pervenche, anthracyclines et asparaginase). Là aussi, de nombreux facteurs interviennent. Deux d'entre eux me paraissent particulièrement importants. Premièrement, Jean Bernard se méfiait de l'expérimentation animale en matière de traitement et, en particulier, de la recherche de molécules actives par criblage (screening) sur des souches de souris identiques. Il percevait les modèles animaux comme des systèmes performants pour l'étude des phénomènes biologiques généraux, mais trop simplifiés pour évaluer efficacement des traitements destinés à l'homme dans sa grande diversité. Deuxièmement, Jean Bernard classait les traitements selon trois principes : l'ablation de la partie malade, son remplacement et l'élimination de la cause de la maladie. La première de ces trois catégories était perçue comme la moins favorable au patient et la dernière comme la plus profitable. Or l'exsanguino-transfusion, la greffe de moelle, l'hormonothérapie entraient dans la seconde catégorie, alors qu'il rangeait la plupart des agents chimiothérapeutiques dans la première catégorie. Nous avons vu que l'action destructrice ou régulatrice des molécules ne dépendait pas de leur présence dans les êtres vivants à l'état naturel ni de leur mode de préparation, par extraction ou synthèse chimique. Il faut donc voir dans cette classification des traitements, une hiérarchie de valeur entre les productions humaines et celles de la Nature, entretenue ou suggérée par l'observation de rémissions spontanées.

Au cours de ce travail, j'ai rencontré des difficultés d'ordre méthodologique et éthique. Le fait de ne pas travailler sur l'ensemble des activités de Jean Bernard puis de son institut de recherches mais seulement sur la partie concernant la leucémie aiguë m'a rapidement posé un problème de délimitation du sujet : que devais-je considérer comme étant des recherches portant sur la leucémie aiguë, en particulier dans le domaine expérimental ? J'ai pris le parti de me fier principalement aux rapports d'activité, lesquels précisaient généralement les objectifs à long terme des recherches entreprises et par là même leur rapport avec la leucémie aiguë. Quelques incertitudes persistent cependant. Certaines études ont été exclues parce

que je disposais de très peu d'informations les concernant et parce qu'elles ont rapidement été abandonnées ; tel fut le cas de travaux menés vers 1960 sur les leucémies radio-induites de la souris. D'autres recherches ont été passées sous silence parce que, bien qu'ayant été utiles aux travaux de laboratoire ou au traitement des patients, elles avaient une portée beaucoup plus générale. Ainsi n'ont pas été abordées les recherches sur les virus à ADN et les acides nucléiques « normaux », ni celles sur les mécanismes de l'anémie, de la thrombopénie et autres troubles de la coagulation.

Outre la crainte de ne pas avoir fait les « bons » choix méthodologiques, ceux qui dans l'absolu rendraient le mieux compte de la « vérité » historique, je m'inquiétais de la réaction des protagonistes à la lecture de ce texte. Leur étant reconnaissante de m'avoir fourni le matériel nécessaire à mes propres recherches, je nourrissais le secret espoir de les intéresser tout en luttant contre la tentation de les flatter. Or il arrive que les écrits historiques suscitent chez les scientifiques concernés de l'indifférence voire du mépris. Trois raisons à cela. Premièrement, l'analyse historique peut être perçue comme une forme d'évaluation extracommunautaire donc inquiétante voire injuste. Deuxièmement, l'histoire construite est nécessairement différente de l'histoire vécue. Troisièmement, les scientifiques s'intéressent davantage à l'histoire des concepts et des théories, dont l'élaboration est le but ultime de leur travail, qu'à la matérialité des sciences qui fait partie de leur quotidien mais dont l'importance épistémologique n'échappe cependant pas à certains, dont Jean Bernard : « Avec quelque cynisme, je dirais que ce qui nous importe, ce n'est pas tant qu'une réflexion ou qu'une idée soit vraie mais qu'elle soit féconde, c'est-à-dire qu'elle débouche soit sur des expériences qui permettront d'avancer, soit sur des essais thérapeutiques utiles. »¹.

Ces interrogations renvoient à la question du rôle social de l'historien des sciences, qu'il est intéressant d'aborder ici parce qu'elle peut être mise en parallèle avec l'interrogation qui ressort de l'analyse du vocable « biomédecine », celle de la place respective du biologiste et du médecin-chercheur dans la société.

En 2002, un généticien des populations remet en cause la politique scientifique française, trop axée, selon lui, sur la recherche appliquée : « Je m'interroge sur la façon dont la science est actuellement politiquement pilotée. En mettant en avant un rôle sociétal prioritaire, une applicabilité indiscutable, l'établissement de relations avec des PME, les multiples appels d'offre de différents ministères, des EPST² (CNRS, INSERM, INRA, ...) et des sociétés caritatives sont en train de mettre en place un réseau de recherche qui à court terme pourrait effectivement donner quelques résultats importants. A long terme, ce système, s'il doit perdurer, conduira inévitablement à la perte de champs entiers de la recherche scientifique, puis à un assèchement progressif de la pensée limitant ainsi l'avènement de découvertes non prévisibles. On me répondra que la France ne peut pas tout faire et qu'il faut faire des choix car la recherche scientifique coûte cher. Sans doute. Mais je me demande en fait si les choix qui sont faits ne sont pas justement ceux qui coûtent le plus cher car les plus médiatiques. Beaucoup de découvertes fondamentales ont été faites avec peu de moyens mais beaucoup d'imagination. Je ne suis pas sûr que le système actuel laisse encore une place même petite à l'imagination, la nouveauté, le risque. Le soutien financier à des grands projets ne devrait pas occulter la nécessité d'un soutien indispensable à la continuité des champs de recherches classiques qui ont permis l'émergence de ces grands projets. »³.

Ce chercheur soutient l'idée qu'il ne peut y avoir de recherche appliquée sans recherche fondamentale. Ce fut également la position du Comité « cancer et leucémie » de la DGRST, selon lequel, il ne pouvait y avoir de progrès de la médecine sans progrès de la

¹ Fonds IUH, article 13, correspondance avec Hourdin G., 27.11.1972.

² Etablissements publics scientifiques et techniques.

³ Biemont C., *La recherche est-elle fondamentale ?*, Natures, Sciences, Sociétés, 10 (1) : 69, 2002.

biologie. Cela paraît évident si l'on considère la recherche appliquée comme une simple « application », comme la mise en pratique de connaissances issues de la recherche fondamentale. Mais l'expression « recherche appliquée » désigne, me semble-t-il, un domaine d'activité plus vaste, elle correspond à une recherche théorique et pratique, fondamentale et appliquée, tournée vers la résolution d'un problème matériel, la maladie, alors que la « recherche fondamentale » combine aussi des recherches théoriques et pratiques mais dans le but de résoudre des problèmes abstraits. Je ne partage donc que partiellement la définition suivante de la recherche fondamentale et de la recherche appliquée : « deux catégories complémentaires, la première ayant pour objectif la connaissance pour la connaissance et pour principale caractéristique un cheminement qui paraît relativement imprévisible. La seconde a pour finalité l'utilisation de connaissances acquises dans des applications techniques, ce qui la rend moins aléatoire. La première produit des découvertes d'objets ou de lois naturels, la seconde des innovations au sens de nouveaux objets artificiels. La recherche fondamentale est le domaine des chercheurs, la recherche appliquée est celui des ingénieurs et des médecins en « recherche clinique »¹.

La médecine peut progresser indépendamment de la biologie : la découverte des agents chimiothérapeutiques ne doit rien à la compréhension de mécanismes biologiques fondamentaux, au contraire, ceux-ci ont facilité l'étude du cycle cellulaire. Il semble donc que ces deux types de recherche, fondamentale et appliquée ou scientifique et technologique, fonctionnent selon les mêmes principes, s'autofécondent et s'interfécondent. Cette distinction n'a donc pas de valeur épistémologique ; elle ne différencie pas deux modes de production et de validation des connaissances.

Cette dichotomie n'a véritablement de sens que dans l'analyse des relations entre les disciplines, les professions et les institutions de la recherche publique dans leur concurrence pour l'obtention de financements. Alors que les mécènes peuvent trouver un intérêt à subventionner la science « désintéressée » au même titre que les arts plastiques ou la littérature, l'Etat est davantage enclin à financer des recherches susceptibles de modifier l'environnement matériel qu'intellectuel, et à court terme plutôt qu'à long terme. L'Etat français commença d'ailleurs par financer la recherche appliquée. Après la défaite de 1870, il créa une Direction des inventions intéressant la défense nationale puis, au début des années 1920, un Institut de recherche agronomique, un Office national des recherches scientifiques et des inventions, et un Office national d'hygiène sociale². D'où la nécessité, pour les chercheurs de tout type et en particulier fondamentalistes, de « vendre » à l'Etat leurs travaux en leur attribuant une justification sociale immédiate. Cette nécessité est renforcée par le fait que les chercheurs nourrissent des ambitions contradictoires : satisfaire leur curiosité, contribuer si possible au progrès de l'humanité et être reconnus par leurs pairs voire par la société. L'intérêt de la connaissance pour la connaissance va peut-être de soi mais pas son financement.

J'ai beau avoir montré le contraire, j'ai toujours du mal à admettre que la médecine puisse progresser longtemps sans la biologie, la biologie et la géologie sans la physique et la chimie, la chimie sans la physique. Entre la biologie, la chimie et la physique, il y a une différence d'échelle dans les objets d'étude (particules, atome, molécule, cellule, organisme, écosystème) qui légitime cette conception car, bien que le tout soit davantage que la somme des parties, la connaissance du tout s'appuie sur celle de ses composantes. Entre la biologie et la médecine par contre, il n'y a pas de différence d'échelle, de complexité structurale. Si l'on considère la recherche médicale comme la science de l'homme - ou plutôt du corps humain -

¹ Serres M., Farouki N. (dir.), « Recherche fondamentale, recherche appliquée » in *Le livre de la médecine*, Editions Le Pommier, 2001, p. 824-826.

² Picard J.F., Pradoura E., *La longue marche vers le CNRS (1901-1945)*, Cahiers pour l'histoire du CNRS, 1 : 7-40, 1990.

sain et malade, elle est à la biologie ce que le particulier est au général. Il n'y a donc pas lieu de penser que l'une précède nécessairement l'autre. Mais la médecine est aussi la science des maladies ; elle construit donc un « méta-savoir » à partir de connaissances biologiques, psychologiques et socioculturelles. Dans ce cas, il est logique d'attendre des progrès de la biologie des répercussions sur les connaissances médicales, de même que l'on est en droit d'en attendre des avancées en sciences humaines.

L'existence d'une « hiérarchie naturelle » entre biologie et recherche médicale n'est pas si évidente qu'on pourrait le penser. Le succès de la distinction entre recherche fondamentale et appliquée réside, à mon avis, dans sa capacité à promouvoir la conservation d'une hiérarchie entre les disciplines, qui paraît indiscutable et qui donc permet de préserver leur autonomie intellectuelle et financière.

Et l'historien des sciences, à quoi sert-il ? Après avoir fourni des précurseurs aux scientifiques, on lui demande de faire-valoir les connaissances actuelles auprès des étudiants en désaffection pour les études scientifiques. Certes, l'épistémologie a des vertus pédagogiques ; elle permet de prendre conscience du rôle des erreurs, de l'ambiguïté des images, de l'importance des termes, des influences idéologiques, etc. Mais là n'est pas je crois sa mission première. Elle doit rester ce subtil mélange d'histoire et de philosophie et s'assumer en tant que telle. On ne devrait plus lire ce que Jacques Le Goff et Pierre Nora écrivaient il y a 30 ans sur l'historien « classique » et qui me semble convenir à l'épistémologue – au sens large - contemporain : « L'historien moderne est mal à l'aise dans sa peau. De plus en plus spécialisé, il n'a pourtant pas atteint une technicité qui, d'une part, le mette à l'abri de la promiscuité des vulgarisateurs de bas étage, des plumitifs de l'historiette, et, de l'autre, le hisse au prestige des nouveaux héros scientifiques du second XXe siècle, ceux qui manient l'atome, la formule magique, ceux que couronne le prix Nobel (...) il est toujours trop et plus assez un homme de l'art. »¹.

¹ Le Goff J., Nora P. (dir.), *Faire de l'histoire. I-Nouveaux problèmes*, Collection Folio/Histoire, Editions Gallimard, 1974, p. 15.

Bibliographie

Archives

Archives Nationales, Fonds IUH (Institut Universitaire d'Hématologie), versement 2002192 :

- article 1, arrêtés, conventions, protocoles d'accord, notes et rapports d'activité, 1957-1993.
- article 2, conseil d'unité, procès-verbal de réunion, 21.10.1969.
- article 11, correspondance avec Flamant R.
- article 12, correspondance avec Gosset J., Grabar P., Kourilsky R., Laboureur P.
- article 13, correspondance avec Hourdin G., Israël L., Jayle M.-F.
- article 15, correspondance avec M. Leclerc.
- article 16, correspondance avec Mathé G., Mallet R.
- article 17, correspondance Motchane M., Weill J.
- article 18, correspondance avec Occelli R.
- article 19, correspondance avec Rehfeld P.
- article 22, correspondance avec Vigny M.
- article 28, correspondance avec Sabourdy P.
- article 29, correspondance avec Vincent L., Waitz R.
- article 31, Canada, correspondance avec J.M. Delage ; Etats-Unis, correspondance avec Burchenal J.
- article 33, Etats-Unis, correspondance avec Svoboda G.
- article 35, Chili, correspondance avec R. Etchevery.
- article 40, Belgique, correspondance avec Van Rossum J.
- article 41, Suisse, correspondance avec Hitzig W.H., Fischer.
- article 44, Yougoslavie, correspondance avec Stefanovi S.; Australie, correspondance avec Epstein I. ; Directeurs, Michel Boiron.
- article 45, Bâtiment provisoire, Centre Hayem.
- article 64, Immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et J. Dausset.
- article 65, Immuno-hématologie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et F. Kourilsky.
- article 66, Immunologie des tumeurs, rapports d'activité, rapports financiers, échanges d'informations entre le directeur de l'institut et J. Périès, N. Feingold.
- article 67, Hématologie expérimentale, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et M. Boiron.
- article 79, Expérimentation animale, rapport d'activité, 1969.

- article 80, Chimiothérapie, Echanges d'informations entre le directeur de l'institut et C. Jacquillat, M. Weil, 1964-1977.
- article 81, Hôpital Saint-Louis, Hôpital de jour, allocution inaugurale de Jean Bernard, 1968.
- article 124, Dossiers d'expertises médicales.
- article 136, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, relations avec la direction.
- article 141, Premier Ministre, DGRST, 1961-1969.
- article 144, Ministère de la santé, Direction générale.
- article 146, Ministère de la recherche, Groupe de travail sur la réforme des structures de la recherche biomédicale, 1967-1968 ; Ministère des affaires étrangères, rapport de J. Bernard et J. Dausset sur la réforme des études médicales et de la vie hospitalière en France, 1963.
- article 161, Association Claude Bernard, rapports scientifiques et financiers du CRLMS, 1959-1970.
- article 162, Association Claude Bernard, correspondance avec le secrétaire général ; projet de brochure pour les dix ans de l'association, 1964 ; statuts, 1956 ; brochure de l'Association Claude Bernard, 1970 ; plaquette de l'Association Claude Bernard, 1955-1970.
- article 163, Association Claude Bernard, subvention de la mutuelle de l'industrie du pétrole, 1965-1970.
- article 169, Fondation pour la recherche médicale française, rapport concernant l'emploi du don fait par la Fondation Talisman, avril 1969.

Archives nationales, Ministère de la recherche, DGRST, versement 19770321 :

- articles 321-323, réunions du Comité « Cancer et leucémie », 1961-1965.

Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche :

- cote H.C.S.54.448, Présidence du conseil, Commissariat général au plan de modernisation et d'équipement, Commission de la recherche scientifique et technique, rapport général de M. Champetier et M. Schwob, 1954.
- cote H.C.S.54.448, Présidence du conseil, Commissariat général au plan d'équipement et de productivité, travaux de la Commission de la recherche scientifique et technique, rapport de la Délégation générale délibéré avec le CCRST, 1961.
- Cote MA178-182, Rapports d'activité des actions concertées de la DGRST, 1961-1965.

Archives nationales, mission de l'INSERM :

- Cote 9440-01, Conseil scientifique de l'INSERM, procès-verbaux des réunions, 1964-1965.
- Cote 9203-24, Rapports d'activité de l'unité U12.
- Cote 9203-42, Rapports d'activité de l'unité U21.
- Bulletin de l'INSERM, vol. 21, n° 2, 1966.

Académie de médecine, Fonds Marcel Bessis :

- Correspondance avec Association Claude Bernard, Bernard J., Bernhard W., Boiron M., Burchenal J., Ciba Foundation, Claude A., Cronkite E., Dameshek W., Dausset J., Denoix P., Dmochowski L., Dreyfus B., Driessens J., Engelbreth-Holm J., Gross L., Halpern B., Israël L., Kassel R., Laboratoires pharmaceutiques (Lederle, Rhône Poulenc, Roussel), Lacassagne A., Marois M., Mathé G., Meyer L., Office français d'informations médicales et chirurgicales, Rosenthal N., Seman G.
- Leucémies 5, Amiel J.-L., Bernard J., Bessis M., Boiron M., Burstein M., Duplan F., Le Lionnais F., Tanzer R., *Orientations souhaitables dans les recherches sur la leucémie, Confrontations cytologiques (IV)*, mai-juin 1965, article non publié.
- Réflexions, notes en vrac.

Archives de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris :

- cote 773 Foss 2. Personnels médecins.
- Logiciel Miramiom.

Archives de l'Institut Pasteur :

- Dossier Raymond Latarjet, Rapport de mission aux Etats-Unis, 1945-1946.

Entretiens

- Entretien de l'auteur avec Jean Bernard, 25.09.1998.
- Entretien de l'auteur avec Jean Bernard, 06.06.2003.
- Entretien de l'auteur avec Jean Bernard, 19.02.1999.
- Entretien de l'auteur avec Jacques-Louis Binet, 26.11.1998.
- Entretien de l'auteur avec Anne Combrisson, 26.02.1999.
- Entretien de l'auteur avec André Eyquem, 19.03.1999.
- Entretien de l'auteur avec Georges Flandrin, 1999.
- Entretien de l'auteur avec Georges Mathé, 13.02.2001.
- Entretien de l'auteur avec Yves Najean, 1999.
- Entretien du sociologue Haroun Jamous avec Robert Debré, le 21.10.1967 in Jamous H., *Sociologie de la décision. La réforme des études médicales et des structures hospitalières*, Editions du CNRS, Paris, 1969, p. 181.
- Entretien de l'historien Jean-François Picard avec Jean-Paul Lévy, décembre 2001.

Biographies

- Fiches biographiques du Service d'histoire de la médecine de la Bibliothèque interuniversitaire de médecine.
- Huguet F., *Les professeurs de la faculté de médecine de Paris (1794-1939)*, INRP - Editions du CNRS, Paris, 1991.
- Who's who in France.
- Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1985.

Dictionnaires

- Adelon, ed., *Dictionnaire des sciences médicales*, C.L.F. Panckoucke Editeur, Paris, 1813.
- Adelon, ed., *Dictionnaire des sciences médicales*, C.L.F. Panckoucke Editeur, Paris, 1820.
- Dechambre A., ed., *Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales*, G. Masson, Asselin et Cie, Paris, 1876.
- *Dictionnaire de la langue du 19^{ième} et du 20^{ième} siècle, Trésor de la langue française*, Gallimard-CNRS, Paris, 1960.
- *Dictionnaire de médecine*, 1^{ière} édition, Flammarion, Paris, 1975.
- *Dictionnaire de médecine*, 2^{ième} édition, Flammarion, Paris, 1982.
- *Dictionnaire de médecine, chirurgie et pharmacie*, J.B. Baillièrè et fils, Paris, 1858.
- *Dictionnaire de médecine ou répertoire général des sciences médicales*, Librairie de la Faculté de médecine de Paris, 1844.
- Garnier M., Delamare J., eds., *Dictionnaire des termes en médecine*, 23^{ième} édition, 1992.
- Garnier M., Delamare J., eds., *Dictionnaire des termes en médecine*, 26^{ième} édition, 2000.
- Garnier M., Delamare J., eds., *Dictionnaire des termes de médecine*, Maloine, Paris, 2002.
- Imbs P., ed., *Trésor de la langue française. Dictionnaire de la langue du 19^{ième} et 20^{ième} siècle (1789-1960)*, Editions du CNRS-Gallimard, Paris, 1977.
- Jaccoud, ed., *Nouveau dictionnaire de médecine et chirurgie pratiques*, J.B. Baillièrè et fils, Paris, 1875.
- Larousse P., *Grand dictionnaire universel du XIX^e siècle*, Lacour s.a., Paris, 1991, réimpression de l'édition 1866-1876.
- Nysten P.-H., *Dictionnaire de médecine, chirurgie et pharmacie*, J.B. Baillièrè et fils, Paris, 1858.
- Rey A., ed., *Dictionnaire historique de la langue française*, Dictionnaires Le Robert, Paris, 1992.

Documents électroniques

- Archives orales du CNRS, disponibles sur <http://picardp1.ivry.cnrs.fr/memoirecnrs.html>
- Noailles P., Marchandon P., *De Gaulle et la technologie*, Editions Seillans, Paris, 1994, disponible sur <http://www.degaulleetlatechnologie.com>
- Site officiel de la Fondation pour la recherche médicale, <http://www.frm.org/Fondation/Dates.htm>

Sources primaires

- Aaronson S., Hartley J., Todaro G., *Mouse L virus : spontaneous release by mouse embryo cells after long term in vitro cultivation*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 64 : 87-94, 1969.
- *Acquisitions récentes sur les leucémies*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (6) : 816-849, 1963.
- Alby N., Alby J.M., Chassigneux J., *Aspects psychologiques de l'évolution et du traitement des leucémiques, enfants et jeunes adultes, dans un centre spécialisé*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 577-588, 1967.
- Aleksandrowicz J., Janicki K., *Etude statistique et géographique des leucémies de la région de Cracovie entre 1951 et 1960*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (3) : 374, 1963.
- Alter A., Stanley L., Pourfar M., Dobkin G., *Leukocyte alkaline phosphatase in mongolism ; a possible chromosome marker*, J. Clin. Invest., 6 : 1341, 1962.
- Ambrus C., Feltz E., *Late disease in lethally radiated mice protected with homologous bone marrow and its mitigation by pretreatment of the donor with cortisone and nitrogen mustard, or cortisone treatment of the host*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 2 (4) : 276, 1958.
- Ambrus J., Ambrus C., Feltz E., Wenner C., *Transplanted neoplasias*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 2 (3) : 184, 1957.
- Amiel J.L., Pays P., Mathé G., *Etude quantitative des gamma-globulines sériques de souris irradiées et restaurées par des cellules hématopoïétiques isologues ou homologues*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 6 : 453, 1961.
- Amiel J.L., Tran Ba Loc, *La notion d'histocompatibilité*, Le sang, 30 : 705-712, 1959.
- Angier R. et coll., *The structure and synthesis of the liver L. casei factor*, Science, 103 : 667-669, 1946.
- *Article 5171 : leucémie, leucocythémie*, J. Méd. Chir. Prat., 27 : 145-147, 1856.
- Atkinson J., Mahonet F., Schwartz I., Hesch J., *Therapy of acute leukemia by whole-body irradiation and bone marrow transplantation from an identical twin*, Blood, 14 : 228, 1959.
- Auger M.A., Tiollais P., Jayle M.F., *Influence de certaines glycoprotéines sur la croissance d'une lignée lymphoïde en culture continue in vitro*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 16 (2) : 130-135, 1971.
- Baikie A., Court Brown W., Buckton K., Harnden D., Jacobs P., Tough I., *A possible specific chromosome abnormality in human chronic myeloid leukaemia*, Nature, 188 : 1165, 1960. Baikie A., Court Brown W., Jacobs P., *Chromosome studies in leukaemia*, Lancet, 1 : 168, 1960.
- Baikie A., Court Brown W., Jacobs P., Milne J., *Chromosome studies in human leukaemia*, Lancet, 2 : 425, 1959.
- Baltimore D., *RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumor viruses*, Nature, 226 : 1209-1211, 1970.
- Barnard R., *Massive plasma transfusion and the pathodynamics of acute leukemia*, Med. Rec., 160 (10) : 610-612, 1947.
- Barnes D., Corp M., Loutit J., Neal F., *Treatment of murine leukemia with X-rays and homologous bone marrow*, Brit. Med. J., 2 : 626, 1956.
- Barnes D., Loutit J., *Treatment of murine leukaemia with X-rays homologous bone marrow II*, Brit. J. Haemat., 3 : 241-252, 1957.
- Barnes D., Loutit J., *Treatment of murine leukemia with X-rays*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 2 (3) : 186-187, 1957.
- Bayreuther K., *Chromosomes in primary neoplastic growth*, Nature, 186 : 6, 1960.
- Beard J., *Etiology of avian leukosis*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 68 : 473-486, 1957.

- Beard J., *The Fallacy of the Concept of Virus 'Masking': A Review*, Cancer Res., 16: 279-291, 1956.
- Bénard R., Mallarmé J., *Un cas d'érythroleucémie aiguë remarquablement amélioré par le sang de conserve*, Le sang, 17 (3) : 186-191, 1946.
- Bennett J., *Case of hypertrophy of the spleen and liver in which death took place from suppuration of the blood*, Edinburgh Medical and Surgical Journal, 64 : 413-423, 1845.
- Bennett J., *De la leucocythémie ou du sang à globules blancs*, C. R. Soc. Biol., 3 : 46-51, 1852.
- Bennett J., *On leucocythemia, or blood containing an unusual number of blood corpuscles*, Monthly J. Med. Sci., 12 : 18, 1851.
- Bernard C., Boiron M., Lasneret J., *Transformation et infection chronique de cellules embryonnaires de rat par le virus du sarcome de Moloney*, C. R. Acad. Sci., 264 : 2170-2173, 1967.
- Bernard C., Chuat J.C., Laprevotte I., Boiron M., *Further studies on mouse sarcoma virus (Moloney) replication in human cells. Partial host range shift of progeny virus*, Int. J. Cancer, 10 : 518-526, 1972.
- Bernard C., Geraldès A., Boiron M., *Action de la phytohéماغglutinine in vitro sur les lymphocytes de leucémies lymphoïdes chroniques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 : 69-76, 1964.
- Bernard C., Geraldès A., Boiron M., *Effects of phytohemagglutinin on blood cultures of chronic myelocytic leukaemias*, Lancet, 1 : 667-668, 1964.
- Bernard C., Guillemain B., Périès J., Boiron M., *Conversion cellulaire provoquée in vitro par le virus du sarcome murin (Moloney). Analyse de la courbe dose-réponse*, Int. J. Cancer, 3 : 558-565, 1968.
- Bernard C., Lasneret J., Boucher M., Boiron M., *Conversion cellulaire morphologique et réplication virale après infection in vitro de cellules humaines par le virus du sarcome murin, souche Moloney*, C. R. Acad. Sci., 268 : 624-627, 1969.
- Bernard C., Silvestre D., Tanzer J., Périès J., Boiron M., *Analyse d'une lignée cellulaire produisant de façon continue le virus leucémique de Rauscher in vitro*, Exp. Cell. Res., 40 : 513-526, 1965.
- Bernard J., *Acute leukemia Treatment*, Cancer Res., 27 (1) : 2565-2569, 1967.
- Bernard J., *Allocution au Colloque sur l'expérimentation animale dans les hôpitaux*, Expérimentation Animale, 3 (1) : 17-18, 1970.
- Bernard J., *Chimiothérapie des leucémies et des hématosarcomes*, C. R. 37^{ième} Congr. Fr. Méd., Masson, Paris, 1969, p. 45-67.
- Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953.
- Bernard J., *Complete remissions in acute leukemia*, Israel J. Med. Sci., 1 (6) : 1316-1322, 1965.
- Bernard J., *Espoir de vie des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 251-252, 1970.
- Bernard J., *Grandeur et tentations de la médecine*, Editions Buchet-Chastel, Paris, 1973.
- Bernard J., *La greffe de cellules hématopoïétiques allogéniques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (1) : 11-16, 1965.
- Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Corso superiore sulle malattie mielo-linfoproliferative, Milan, 1966.
- Bernard J., *La physiopathologie et l'étiologie des leucémies*, Mém. Acad. Roy. Méd. (Belgique), Série II, t. 6 : 397-418, 1967.

- Bernard J., *La rubidomycine*, Actualités hématologiques, 2 : 3-11, 1968.
- Bernard J., *Le diagnostic et le traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 24 (23) : 730-736, 1948.
- Bernard J., *Leçon inaugurale de la Chaire de cancérologie médicale et sociale*, Presse méd., 15 septembre 1956, p. 24.
- Bernard J., *L'enfant, le sang et l'espoir*, Editions Buchet/Chastel, Paris, 1984.
- Bernard J., *L'épidémiologie des leucémies. A la recherche d'une méthodologie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (1) : 113-118, 1962.
- Bernard J., *Les essais de traitement des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 26 (65) : 3322-3335, 1950.
- Bernard J., *Les injections intra-médullaires chez l'homme*, Le sang, 17 : 61-65, 1946.
- Bernard J., *Les leucémies benzéniques*, Entretiens de Bichat, 231-234, 1951.
- Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, 11-12 : 1-15, 1964.
- Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies aiguës*, Méd. Int., 4 (6-7) : 533-539, 1969.
- Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967.
- Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41 : 285-287, 1951.
- Bernard J., *Les variétés cellulaires des leucémies aiguës*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (6) : 735-738, 1964.
- Bernard J., *Leucémie aiguë. Essai de traitement par des injections intramédullaires de colchicine. Modifications médullaires et sanguines*, Le sang, 13 : 434, 1939.
- Bernard J., *Long duration of complete remissions in acute leukemia*, Cancer Res., 25 (9) : 1673-1674, 1965.
- Bernard J., *Médecin dans le siècle*, Editions Robert Laffont, Paris, 1994.
- Bernard J., *Polyglobulies et leucémie provoquées par des injections intramédullaires de goudron*, Thèse de médecine, G. Doin, Paris, 1936.
- Bernard J., *Progrès de la médecine et responsabilité du médecin*, C.R. 2^{ième} Congr. Int. Morale Médicale, Paris, 24-27 mai 1966.
- Bernard J., *Progrès récents dans le traitement des hémopathies malignes*, Méd. Hyg., 24 (733) : 463-467, 1966.
- Bernard J., *Progrès récents dans le traitement des leucémies aiguës*, Atti 2e Giornate Ematologica degli Ospedali Riuniti di Napoli, Casa editrice V. Idelson, Napoli, 1968, p. 87-106.
- Bernard J., *Remarks about the geographical distribution of leukemias*, New Zealand Med. J. Suppl., 65 (412) : 875-878, 1966.
- Bernard J., *Some remarks on the treatment of acute leukemias*, UICC Monograph Series, vol. 8, Springer-Verlag, Berlin, 1967, p. 136-139.
- Bernard J., *Titres et travaux scientifiques*, Masson, Paris, 1956.
- Bernard J., *Traitement des leucémies aiguës de l'enfant*, Rev. Prat., 19 (27) : 3915-3919, 1969.
- Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965.
- Bernard J., *Treatment of leukemias, hodgkin's disease and allied diseases by natural products*, Lloydia, 30 (4) : 291-323, 1967.

- Bernard J., Alby J.M., *Incidences psychologiques de la leucémie aiguë de l'enfant et de son traitement*, Hygiène mentale, 45 : 241-255, 1956.
- Bernard J., Bessis M., *Hématologie 61*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (1) : 1-2, 1961.
- Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 22 : 205-233, 1952.
- Bernard J., Bessis M., *Peut-on guérir les leucémies ?*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (2) : 209-212, 1965.
- Bernard J., Bessis M., *Réflexions sur le traitement des leucoses aiguës par l'exsanguino-transfusion*, Le sang, 19 (1) : 45-50, 1948.
- Bernard J., Binet L., Wellers G., Mathé G., *La glutathionémie au cours des leucoses aiguës*, Presse Méd., 60 : 961-964, 1952.
- Bernard J., Boiron M., *Les leucémies à promyélocytes*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (1) : 11-14, 1964.
- Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, Presse Méd., 74 (24) : 1241-1245, 1966.
- Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Weil M., *Augmentation de l'espoir de vie des leucémies aiguës lymphoblastiques soumises à un protocole de polychimiothérapie*, C. R. Acad. Sci., série D, 271 : 1919-1921, 1970.
- Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Weil M., *Premiers résultats de l'association du méthylglyoxal bis (Guanylhydrazone) et de la 6-mercaptopurine dans le traitement des leucémies aiguës de la série granulocytaire*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (3) : 448-453, 1964.
- Bernard J., Boiron M., Lévy J.P., *Virus et leucémies humaines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (4) : 559-564, 1965.
- Bernard J., Boiron M., Manus A., Lévy J.P., Lellouch J., *Factors influencing survival time in patients with acute leukemia*, NCI Monograph, 15 : 359, 1964.
- Bernard J., Boiron M., Paoletti C., Tubiana M., Schapira G., Dausset J., *Les anémies des leucoses aiguës*, Sem. Hôp. Paris, 31 : 1123-1135, 1955.
- Bernard J., Boiron M., Weil M., Lévy J.P., Seligmann M., Najean Y., *Etude de la rémission complète de la leucémie aiguë (analyse de 300 cas)*, Nouv. Rev. Fr. Hématol., 2 : 195-222, 1962.
- Bernard J., Chavelet F., Jacquillat C., *Les leucémies du nouveau-né. A propos de 4 observations*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (1) : 125-140, 1964.
- Bernard J., Codvelle, Guichene, *Aleucémie hémorragique. Essai de traitement par les injections intramédullaires de goudron*, Le sang, 10 : 777, 1936.
- Bernard J., Deltour G., *Les nouveaux traitements des leucoses*, Sem. Hôp. Paris, 29 (67) : 3430-3431, 1953.
- Bernard J., Grabar P., Seligmann M., Badillet M., *Intra-dermo réactions à des extraits de leucocytes normaux et leucémiques chez des sujets atteints de leucémie aiguë*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 70 : 1169-1180, 1954.
- Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Etudes sur la constitution antigénique des leucocytes normaux et leucémiques par la méthode de précipitation spécifique en milieu gélifié*, Le sang, 26 : 52-70, 1955.
- Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Méthodes de préparation d'extraits leucocytaires et de sérums anti-leucocytaires susceptibles d'être utilisés pour des études immuno-chimiques*, Ann. Inst. Pasteur, 88 : 548-563, 1955.
- Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Mise en évidence d'anticorps précipitants antileucocytaires (leucoprécipitines) dans le sérum de sujets atteints de leucoses aiguës*, C. R. Acad. Sci., 22 nov 1954.

- Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Présence d'anticorps précipitants antileucocytaires (leucoprécipitines) dans le sérum de sujets atteints de leucoses aiguës*, Presse Méd., 62 : 1700-1702, 1954.
- Bernard J., Grabar P., Seligmann M., *Recherches immuno-chimiques sur la constitution antigénique des leucocytes normaux et leucémiques*, C. R. Acad. Sci., 239 : 920-922, 1954.
- Bernard J., Jacquillat C., *Essai de traitement des leucémies aiguës par la leurocristine. Remarques préliminaires*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (4) : 476-477, 1963.
- Bernard J., Jacquillat C., *La rubidomycine*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (3) : 317-320, 1967.
- Bernard J., Jacquillat C., Boiron M., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., Lortholary P., *Essais de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau : la rubidomycine (13057 RP). Etude de 61 observations*, Presse Méd., 75 (19) : 951-955, 1967.
- Bernard J., Jacquillat C., Chavelet F., Boiron M., Stoitchkov Y., Tanzer J., *Leucémie aiguë chez une enfant de 5 mois née d'une mère atteinte de leucémie aiguë au moment de l'accouchement*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (1) : 140-146, 1964.
- Bernard J., Julliard J., Maupin B., Loverdo A., Calvez P., Leconte M., *Premiers essais de transfusion à l'homme de leucocytes et de plaquettes marqués au radio-phosphore*, Presse Méd., 60 : 518-520, 1952.
- Bernard J., Marie J., Salet J., Cruciani, *Essai de traitement des leucoses aiguës de l'enfant par l'association aminoptérine-cortisone*, Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris, 16 (15) : 621, 1951.
- Bernard J., Mathé G., « Critique des méthodes d'évaluation des résultats obtenus par la chimiothérapie des hémopathies malignes » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 17-22.
- Bernard J., Mathé G., « Quelles sont les meilleures associations et combinaisons thérapeutiques dans les leucoses aiguës ? » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 101-106.
- Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958.
- Bernard J., Mathé G., *Etude des leucoses aiguës de l'enfance traitées par l'association antifoliques-cortisone*, Le sang, 23 : 12-27, 1952.
- Bernard J., Mathé G., *La discordance des moelles au cours des leucoses aiguës*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, (29-30) : 1285, 1951.
- Bernard J., Mathé G., *Principes généraux de la chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Sem. Hôp. Paris, 33 (37) : 2357-2358, 1957.
- Bernard J., Mathé G., Delorme J.C., Barnouda O., *Les leucémies des très jeunes enfants*, Arch. Franç. Pédiatr., 12 : 470, 1955.
- Bernard J., Paul R., Boiron M., Jacquillat C., Maral R., *Rubidomycin. A new agent against cancer*, Recent Results Cancer Res., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969.
- Bernard J., Schapira G., Tubiana M., Dreyfus B., Kruh J., Boiron M., *Recherches sur l'anémie des leucoses aiguës. Métabolisme du fer dans la leucose aiguë étudié à l'aide du fer 59*, Rev. Hémat., 9 : 3-27, 1954.
- Bernard J., Seligmann M., *A study of 61 leukemias treated with 6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 385-402, 1954.

- Bernard J., Seligmann M., *Quelques données apportées par l'électrophorèse du sérum en hématologie avec étude particulière de 34 leucémies*, Gazette Méd. France, 61 : 543-549, 1954.
- Bernard J., Seligmann M., Tanzer J., Lapresle J., Boiron M., Najean Y., *Les localisations neuro-méningées des leucémies aiguës et leur traitement par les injections intrarachidiennes d'améthoptérine*, Nouv. Rev. Fr. Hemat., 2 : 812-852, 1962.
- Bernard J., Seligmann M., Weil M., *Les « leucoses aiguës » au long cours*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 : 172-201, 1961.
- Bernard J., Tanzer J., Boiron M., Lévy J.-P., Ripault M., Harel P., *Un cas de leucémie à polynucléaires neutrophiles. Etude cytochimique et chromosomique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (2) : 253-266, 1964.
- Bernard J., Tubiana M., Kruh J., Mathé G., Leprat J., *La physio-pathologie de l'anémie des leucoses aiguës*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 68 : 973-980, 1952.
- Bernard J., Weil M., Jacquillat C., *Traitement des leucémies aiguës myéloblastiques*, Haematologia, 3 (3) : 265-276, 1969.
- Bernard-Pichon A., *A propos du myélogramme*, Le sang, 15 : 360, 1942-1943.
- Bernhard W., *Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses. A review*, Cancer Res., 18 : 491-513, 1958.
- Bernhard W., *The detection and study of tumor viruses with the electron microscope*, Cancer Res., 20 : 712-727, 1960.
- Bernhard W., Bonar R., Beard D., Beard J., *Ultrastructure of the viruses of myeloblastosis and erythroblastosis isolated from the plasma of leukemic chickens*, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 97 : 48-52, 1958.
- Bernhard W., Braunsteiner H., Febvre H.-L., Harel J., Klein R., Oberling C., *Morphologie des cellules leucémiques au microscope électronique*, Rev. Hématol., 5 : 746-763, 1950, p. 750.
- Bernhard W., Dontchieff A., Oberling C., Vigier P., *Corpuscules d'aspect viral dans les cellules de sarcome de Rous*, Bull. cancer, 40 : 311-321, 1953.
- Bertrand-Fontaine T., *Paul Chevallier (1884-1960)*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 4^{ième} série, 76 : 1326-1330, 1960.
- Bessis M., « L'exsanguino-transfusion en dehors de la maladie hémolytique du nouveau-né » in *Les acquisitions médicales récentes*, Editions médicales Flammarion, Paris, 1948.
- Bessis M., *How the mouse leukemia virus was discovered. A talk with Ludwik Gross*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 16 (2) : 287-304, 1976.
- Bessis M., *Sur les exsanguino-transfusions dans les leucémies aiguës*, Presse Méd., 29 : 360, 1948.
- Bessis M., *The use of replacement transfusion in diseases other than hemolytic disease of the newborn*, Blood, 4 (4) : 324-337, 1949.
- Bessis M., Bernard J., *A propos du traitement la leucémie aiguë par exsanguino-transfusion*, Bull. Acad. Méd., 131 : 615-619, 1947.
- Bessis M., Bernard J., *Remarquables résultats du traitement par l'exsanguino-transfusion d'un cas de leucémie aiguë*, Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 63 : 871-877, 1947.
- Bessis M., Bernard J., *Remissions after exchange transfusions in acute leukemia*, Blood Cells, 9 : 75-82, 1983.

- Bessis M., Dausset J., *Etude critique des rémissions au cours des leucémies aiguës traitées par exsanguino-transfusion*, Rev. Hémat., 5 : 188-225, 1950.
- Bessis M., Thiery J.P., *Etudes au microscope électronique sur les leucémies humaines II- les leucémies lymphocytaires. Comparaison avec la leucémie de la souris de souche Ak*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (3) : 387-414, 1962.
- Bichel J., « La culture des tissus comme méthode d'étude de l'activité anti-cancéreuse de produits » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 149-152.
- Bieber S., Bieber R., Hitchings G., *Activities of 6-mercaptopurine and related compounds on embryonic and regenerating tissues of Rana pipiens*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 207-211, 1954.
- Biemont C., *La recherche est-elle fondamentale ?*, Natures, Sciences, Sociétés, 10 (1) : 69, 2002.
- Biesele J., *Effects of 6-mercaptopurine on experimental tumors in tissue culture*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 228-234, 1954.
- Binet L., Weller G., Mathé G., Bernard J., *La glutathionémie au cours des leucoses aiguës*, Presse méd., 60 : 961-964, 1952.
- Blood Club Meeting, *Transplantation of bone marrow*, Atlantic City, may 1957, Blood, 13 (3) : 266-288, 1958.
- Boiron M., Bernard C., Chuat J.C., *Replication of mouse sarcoma virus Moloney strain (MSV-M) in human cells*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 10 : 8, 1969.
- Boiron M., Guillemain B., Bernard C., Périès J., Chuat J.C., *Presence in murine sarcoma virus stocks of a third component which alone initiates cellular conversion*, Nature, 219 : 748-749, 1968.
- Boiron M., Jacquillat C., Bernard J., *L'asparaginase*, Actualités hématologiques, 3 : 115-123, 1969.
- Boiron M., Lévy J.P., Lasneret J., Oppenheim S., Bernard J., *Pathogenesis of Rauscher Leukemia*, J. Nat. Cancer Inst., 35 : 865-884, 1965.
- Boiron M., Lévy J.P., Périès J., *In vitro investigations on murine leukemia viruses*, Progr. Med. Virol., 9 : 347-391, 1967.
- Boiron M., Moule Y., Tubiana M., Bernard J., Lebreton E., *Etude dynamique de l'incorporation du phosphore radio-actif dans l'acide désoxyribonucléique des cellules de la moelle osseuse du rat*, Rev. Hémat., 14 : 266, 1959.
- Boiron M., Paoletti C., Mathé G., Bernard J., « Protection apportée par les hormones cortico-surrénales contre l'action cytotoxique des rayons X et des agents caryolytiques sur la moelle osseuse » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 287-300.
- Boiron M., Paoletti C., Thomas M., Rebière J.P., Bernard J., *Acide désoxyribonucléique infectieux extrait de cultures de cellules de rein de singe Babouin infectées par le virus SV40*, C.R. Acad. Sci., 254 : 2097, 1962.
- Boiron M., Périès J., Thomas M., *Les leucémies expérimentales, modèle d'étude pour les leucémies humaines*, Bull. Cancer, 53 : 191-198, 1966.
- Boiron M., Tanzer J., Thomas M., Hampe A., *Early diffuse chromosome alterations in monkey kidney cells infected in vitro with herpes simplex virus*, Nature, 209 : 737-738, 1966.
- Boiron M., Thomas M., Périès J., Bernard C., *Conversions cellulaires produites in vitro par le virus du sarcome de Moloney*, Nouv. Rev. Franç. Hémat., 7 : 625-632, 1967.
- Boivin A., *Bactéries et virus*, PUF, Paris, 1941.

- *Bone marrow transplantation conference*, Blood, 13 (3) : 288-301, 1958.
- Boorman K., Dood B., Loutit J., *Haemolytic icterus (Acholuric jaundice) congenital and acquired*, Lancet, 812-814, 1946.
- Bousser J., Tanzer J., *Syndrome de Klinefelter et leucémie aiguë. A propos d'un cas*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (2) : 194-197, 1963.
- Buhot S., *Technique de l'exsanguino-transfusion*, Rev. Hémat., 3 : 92-188, 1948.
- Burchenal J., « Méthode utilisée pour l'étude des nouveaux agents antitumoraux » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 147-148.
- Burchenal J., *Long terms remissions in acute leukemia spontaneous and induced*, Proc. 10th Cong. Int. Soc. Haemat., Stockholm, 1964.
- Burchenal J., Hemphill S., Holmberg E., Wiegand L., *Sterilizing effects in vivo of large single doses of X-ray on a spectrum of mouse leukemias*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 2 (4) : 284-285, 1958.
- Burchenal J., Karnofsky D., Murphy C., Ellison R., Rhoads C., *Effects of 6-mercaptopurin in man*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 1 : 7-8, 1953.
- Charles G., *Arnault Tzanck (1886-1954)*, Presse Méd., 62 (28) : 595-596, 1954.
- Chenaille P., Lévy J.P., Boiron M., Bernard J., *Isolement du virus de la leucémie murine de Rauscher dans un gradient de densité de chlorure de césium*, C.R. Acad. Sci., 258 : 3129-3132, 1964.
- Chenaille P. Lévy J.P., Tavitian A., Boiron M., *A routine method for concentration and partial purification of a murine leukemia virus (Rauscher)*, Nature, 213 : 107-108, 1967.
- Chenaille P., Tavitian A., Boiron M., *Preservation of the leukemogenic activity and elimination of contaminants during purification of Rauscher virus*, Europ. J. Cancer, 3 : 511-518, 1968.
- Chevallier P., Bernard J., Lebovici S., Bilski-Pasquier G., *Leucose aiguë dysarchique (leucémie adéno-pathique aiguë avec myélocytose medullo-sanguine sévère et apparence maligne lympho-éosino-hystiocytaire des ganglions et de la rate)*, Le sang, 31 : 659-662, 1960.
- Chevallier P., Bernard J., Lebovici S., Bilski-Pasquier G., *Leucose dysarchique aiguë*, Le sang, 16 : 373, 1944-1945.
- Choquet S., *MedExpress Hématologie*, Editions ESTEM, Paris, 1999.
- Chuat J.C., Berman L., Gunven P., Klein E., *Studies on murine sarcoma virus : antigenic characterization of murine sarcoma virus induced tumor cells*, Int. J. Cancer, 4 : 465-479, 1969.
- Chuat J.C., Lasquelles F., L'Hirondel A.M., Boiron M., *Studies on murine sarcoma virus : II- Detection of group specific antigens by immunofluorescence*, Int. J. Cancer, 7 : 101-111, 1971.
- Clarke D., Philips F., Sternberg S., Stock C., *Effects of 6-mercaptopurine and analogs on experimental tumors*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 235-243, 1954.
- Clarke D., Philips F., Sternberg S., Stock C., Elion G., *6-mercaptopurine : an inhibitor of mouse sarcoma 180*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res. , 1 : 9, 1952.
- Claude A., Porter K., Pickels E., *Electron microscope study of chicken tumor cells*, Cancer res., 7 (7) : 421-430, 1947.
- Clemmensen J., *Distribution of leukemia in some european countries compared with USA*, Acta Union Int. Cancer, 16 : 1611, 1960.

- Coombs R., Mourant A., Race R., *A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins*, Brit. J. Exp. Path., 26 : 255-266, 1945.
- Coons A., Kaplan M., *Localization of antigen in tissue cells. II Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody*, J. Exp. Med., 91 : 1, 1950.
- Craigie D., *Case of disease and enlargement of the spleen in which death took place from the presence of purulent matter in the blood*, Edinburgh Medical and Surgical Journal, 64 : 400-413, 1845.
- Current comment, *World drug needs*, J. Am. Med. Ass., 131 : 600, 1946.
- Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune and Stratton, New York, 1949.
- Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949.
- Daniel T., Flandrin G., Dumont J., *Modifications cellulaires des leucémies aiguës sous traitement*, Actualités hématologiques, 3 : 183-190, 1969.
- Dausset J., *Clin d'œil à la vie. La grande aventure HLA*, Odile Jacob, Paris, 1998.
- Dausset J., *Immuno-hématologie des plaquettes et des leucocytes*, Presse Méd., 61 : 1533-1535, 1953.
- Dausset J., *Iso-leuco anticorps*, Acta Haemat., 20 : 156-166, 1958.
- Dausset J., Malinvaud G., Lesueur G., Bernard J., *Anémies, leucopénies, thrombopénies immunologiques. Association d'anticorps dirigés contre les trois lignées cellulaires du sang*, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 70 : 659-667, 1952.
- Dausset J., Rapaport F., Ivanyi P., Colombani J., « Tissue alloantigens and transplantation », in *Histocompatibility Testing*, Munksgaard, Copenhagen, p. 63-72, 1965.
- Deltour G., Weinmann S., Bilsky-Pasquier G., Bernard J., *Les effets des doses massives de cortisone. Etude du métabolisme et des propriétés biologiques de la cortisone chez les leucosiques traités par les doses massives de cortisone*, Sem. Hôp. Paris, 31 (20) : 1141-1149, 1955.
- Denoix P., « Critique des méthodes d'évaluation des résultats obtenus par les produits chimiothérapeutiques en cancérologie clinique » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 13-16.
- Dmochowski D., Grey C.E., *Studies on submicroscopic structures of leukemias of known or suspected viral origin. A review*, Blood, 13 : 1017-1042, 1958.
- Donné A., *Cours de microscopie complémentaire des études médicales*, J.B. Baillière, Paris, 1844.
- Dreyfus B., *Les rémissions des leucoses aiguës*, Le sang, 19 (1) : 35-39, 1948.
- Dreyfus B., *Phytohémagglutinine et multiplication cellulaire*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (3) : 393-396, 1965.
- Dulbecco R., *Characteristics of virus-cell complexes*, Am. J. Med., 38 : 669, 1955.
- Duplan J.F., *Diminution de la leucémogénèse spontanée chez les souris AkR irradiées en totalité et greffées avec des cellules hémopoïétiques homologues*, C. R. Acad. Sci., 247 : 662-664, 1958.
- Dupuy J.M., Kourilsky F., Fradelizzi D., Feingold N., Jacquillat C., Bernard J., Dausset J., *Depression of Immunologic Reactivity of Patients with Acute Leukemia*, Cancer, 27 (2) : 323-331, 1971.

- Editorial, *Acute leukemia : present and future*, New Engl. J. Med., 238 (23) : 814-815, 1948.
- Editorial, *Folic acid therapy*, J. Am. Med. Ass., 130 (8) : 456-457, 1946.
- Editorials, *The bone marrow in experimental folic acid deficiency*, JAMA, 130 (17) : 1224-1225, 1946.
- Elion G., Bieber S., Hitchings G., *The fate of 6-mercaptopurine in mice*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 297-303, 1954.
- Ellermann V., Bang O., *Experimentelle Leukämie bei Hühnern*, Centralbl. F. Bakt., Abt. I, 46 : 595-609, 1908.
- Emanoil-Ravicovitch R., *Présence de DNA dans les ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (21) : 1003-1006, 1971.
- Emanoil-Ravicovitch R., Baudelaire M.F., Boiron M., *Etude du taux d'hybridation entre le RNA du virus leucémogène de Rauscher et le DNA de différentes cellules murines*, C. R. Acad. Sci., série D, 269 : 1903-1905, 1969.
- Emanoil-Ravicovitch R., Bernard C., Larsen C., *Acide ribonucléique de haut poids moléculaire isolé à partir du virus du sarcome (souche Moloney)*, C. R. Acad. Sci., 266 : 1802-1805, 1968.
- Emanoil-Ravicovitch R., Larsen C., Boiron M., *Recherche d'une homologie entre le RNA du virus leucémogène de Rauscher et certaines fractions spécifiques de DNA de la cellule hôte*, C. R. Acad. Sci., série D, 268 : 1137-1140, 1969.
- Engelbreth-Holm J., *Is it possible to transmit or accelerate the development of mouse leukemia by tissue extracts ?*, Blood, 3 : 862-866, 1948.
- Engelbreth-Holm J., *Spontaneous and experimental leukaemia in animals*, trad. C. Heel, Oliver and Boyd, London, 1942.
- Engelbreth-Holm J., Frederiksen O., *Transmission de la leucose des souris à des animaux neufs au moyen d'une substance exempte de cellules*, C. R. Soc. Biol., 129 : 101-104, 1938.
- Epstein M., *The identification of the Rous virus ; a morphological and biological study*, Brit. J. Cancer, 10 : 33-40, 1956.
- Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancers*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949.
- Farber S., Diamond L., Mercer R., Sylvester R., Wolff J., *Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-Aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin)*, New England J. Med., 238 (23): 787-793, 1948.
- Fauvert R., Mallarmé J., Petit P., *La « guérison » de la leucémie dite aiguë*, Presse Méd., 28 : 302, 1948.
- Favier Y., Viette M., Saint-Paul M., Duplan J.F., *Méthode simplifiée de culture de leucocytes à partir du sang humain. Influence de la phaséoline*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (6) : 872-879, 1961.
- Ferrebee J., Thomas E., *Radiation injury and marrow replacement : factors affecting survival of the host and the homograft*, Ann. Intern. Med., 49 (5) : 987-1003, 1958.
- Fink M., Malmgren R., *Fluorescent antibody studies of the viral antigen in a murine leukemia (Rauscher)*, J. Nat. Cancer Inst., 31 : 1111-1121, 1963.
- Foley E., *Antigenic properties of methyl-cholanthene induced tumors in mice of the strain of origin*, Cancer Res., 13 : 835, 1953.
- Ford C., *Chromosomes et leucémie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 (2) : 165-171, 1961.
- Ford C., *The chromosomes of normal human somatic and leukaemic cells*, Proc. Royal Soc. Med., 53 : 491, 1960.

- Ford C., Jacobs P., Lajtha L., *Human somatic chromosomes*, Nature, 181 : 1565, 1958.
- Freireich E., Karon M., Frei E., *Quadruple association therapy (VAMP) for acute lymphocytic leukemia of childhood*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 5, 20, 76, 1964.
- Fridman H., *Réactivité anti-leucoblastique des lymphocytes dans la leucémie aiguë, thèse de médecine*, 1970.
- Fridman H., Kouilsky F., *In vitro reaction between lymphocytes and leukaemic cells in human acute leukemia*, Proc. Canad. Fed. Biol. Soc., 14 : 492, 1971.
- Fridman H., Kourilsky F., *In vitro reaction between lymphocytes and autologous leukoblasts from patients with acute leukemia*, Nature, 224: 277-278, 1969.
- Friedmann J.C., *Les leucoses bovines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (3) : 415-432, 1962.
- Friedmann J.C., *Les leucoses canines et félines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (4) : 435-456, 1963.
- Friend C., *The isolation of a virus causing a malignant disease of the hematopoietic system in adult swiss mice*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 2 : 106, 1956.
- Furth J., Buffett R., Banasiewicz-Rodriguez M., Upton A., *Character of agent inducing leukemia in newborn mice*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 93 : 165-172, 1956.
- Galibert F., Bernard C., Chenaille P., Boiron M., *Acide ribonucléique de haut poids moléculaire isolé du virus leucémique de Rauscher*, C. R. Acad. Sci., 261 : 1771, 1965.
- Galibert F., Bernard C., Chenaille P., Boiron M., *Investigation of Rauscher virus ribonucleic acid*, Nature, 209 : 680-682, 1966.
- Gallin J., ed., *Principles and practice of clinical research*, Academic Press, 2002.
- Gallo R., *Chasseur de virus*, Editions Robert Laffont, Paris, 1991.
- Georgief Z., *Fréquence des leucoses en Bulgarie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (1) : 143-146, 1962.
- Ginsburg H., Sachs L., *In vitro culture of a mammalian leukemia virus*, Virology, 13 : 380-382, 1961.
- Goguel A., Cavigneaux A., Bernard J., *Les leucémies benzéniques de la région parisienne entre 1950 et 1965*, Nouv. Fr. Rev. Hémat., 7 (4) : 465-480, 1967.
- Goldin A., Humphreys S., Mantel N., Venditti J., *Modification of treatment schedules in the managements of advanced mouse leukemia with amethopterin*, J. Nat. Cancer Inst., 17 : 203, 1956.
- Goldin A., Venditti J., Humphreys S., Dennis D., Mantel N., Greenhouse S., *Studies on the toxicity and antileukemic action of 6-mercaptopurine in mice*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 251-266, 1954.
- Gomori G., *Chloroacetyl esters as histochemical substrates*, J. Histochem. Cytochem., 1 : 469, 1953.
- Gorer P., *The genetic and antigenetic basis of tumor transplantation*, J. Pathol. Bacteriol., 44 : 691, 1937.
- Gosse C., Bernard C., Paoletti C., Boiron M., *Fréquence des lymphosarcomes thymiques dans la descendance de souris RF irradiées avant l'accouplement*, C. R. Acad. Sci., 251 : 2254, 1960.
- Graffi A., Bielka H., Fey F., Scharsach F. Weiss R., *Gehäuftes Auftreten von leukämien nach injection von Sarkom-filtraten*, Wiener Med. Wsch., 105 : 61-64, 1955.
- Gross L., *Agglutinating action of heat-inactivated passage A mouse leukemia filtrates on mouse red blood cells*, Proc. Soc. Exp. Bio. Med., 101 : 113-117, 1959.

- Gross L., *Biological properties of the mouse leukemia agent*, Cancer, 6 : 153-158, 1953.
- Gross L., *Oncogenic viruses*, Pergamon Press, London, 1970.
- Gross L., *Serial cell-free passage of a radiation activated mouse leukemia agent*, Proc. Soc. Exp. Biol., 100 : 102-105, 1959.
- Gross L., *Susceptibility of newborn mice of an otherwise apparently « resistant » strain to inoculation with leukemia*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73 : 26-248, 1950.
- Guérin M., *Recherches expérimentales sur les leucémies et les tumeurs du système réticulo-endothélial*, Rev. Hémat., 2 (1) : 13-36, 1947.
- Guichard A., Brette R., Philippe L., *Essai de traitement de deux cas de leucémie aiguë par la colchicine intra-médullaire*, Le sang, 17 (4) : 247-249, 1946.
- Guillemain B., Bernard C., Périès J., Boiron M., *Présence dans les stocks du virus de sarcome murin (souche Moloney) d'une population virale capable d'initier isolément une conversion cellulaire*, C. R. Acad. Sci., série D, 266 : 1088-1090, 1968.
- Guillemain B., Hampe A., Boiron M., *Nature des particules virales compétentes contenues dans les stocks du virus du sarcome murin isolat Moloney*, C. R. Acad. Sci., série D, 269 : 2283-2286, 1969.
- Guillemain B., Laumond J., Godard C., Boiron M., *Dissociation between cell conversion induced by MSV and production of infectious virus in presence of 5-FU*, J. Gen. Virology, 10 (part1): 91-93, 1971.
- Guillermin M., Smadja R., Zittoun R., Bilsky-Pasquier G., Bousser J., *Modifications cytochimiques au cours de l'évolution des leucémies aiguës*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (4) : 557-559, 1967.
- Gunz F., Fitzgerald P., Adams A., *An abnormal chromosome in chronic lymphocytic leukemia*, Brit. Med. J., 2 : 1097, 1962.
- Haguenu F., Hollmann K., Lévy J.P., Boiron M., *Etude au microscope électronique des plaquettes sanguines dans les leucémies humaines*, J. microscopie, sous presse en 1964.
- Hamburger J., *Courte note qui n'a rien d'hématologique sur Jean Bernard*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 18 (2) : 425-427, 1977.
- Hamburger J., *Hommages à Jean Bernard. Courte note qui n'a rien d'hématologique sur Jean Bernard*, 18 (2) : 425-428, 1977.
- Hamilton L., Elion G., *The fate of 6-mercaptopurine in man*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 304-314, 1954.
- Hampe A., Galibert F., Peraudeau L., Boiron M., *Mise en évidence d'un ARN viral dans des cellules chroniquement infectées par le virus de Rauscher*, C. R. Acad. Sci., série D, 267 (9) : 908-910, 1968.
- Harel J., Huppert J., Lacour F., Lacour J., *Induction de tumeurs malignes chez le souriceau nouveau-né par l'injection d'une préparation d'acide ribonucléique extrait de ganglions leucémiques humains*, C.R. Acad. Sci., 10 : 795-796, 1958.
- Harel L., Harel J., Huppert J., *Partial homology between RNA from rauscher mouse leukemia virus and cellular DNA*, Biophys. Biochem. Res. Comm., 28 (1) : 44-49, 1967.
- Hartley J., Rowe W., *Production of altered cell foci in tissue culture by defective Moloney sarcoma virus particles*, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 55 : 780-786, 1966.
- Harvey J., *An unidentified virus which causes the rapid production of tumors in mice*, Nature, 204 : 1104-1105, 1964.
- Hayem G., *Leçons sur les maladies du sang*, Masson, Paris, 1900.

- Hayhoe F., Quaglino D., Doll R., *The cytology and cytochemistry of acute leukaemias. A study of 140 cases*, HMSO, London, 1964.
- Hill M., Hillova J., *Production virale dans les fibroblastes de Poule traités avec par l'acide désoxyribonucléique de cellules XC de Rat transformées par le virus de Rous*, C. R. Acad. Sci., 272 : 3094-3097, 1971, p. 184.
- Hitchings G., Elion G., *The chemistry and biochemistry of purine analogs*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 195-199, 1954.
- Hollcroft J., Lorenz E., Congdon C., Jacobson L., *Factors influencing the irradiation treatment of experimental lymphoid tumors*, Rev. Mex. Radiol., 7 : 115, 1953.
- Huebner R., *The murine leukemia-sarcoma virus complex*, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 58 : 835-842, 1967.
- Huebner R., Todaro G., *Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 64 : 1087-1094, 1969.
- Humble J., Newton K., *Technique of human bone marrow transplants*, Lancet, 1 : 142, 1958.
- Iaochim A., Furth J., *Intrareticular cell multiplication of leukaemic lymphoblast in thymic tissue cultures*, J. Nat. Cancer Inst., 32 : 339, 1962.
- Ichikawa Y., Notake K., *Study on the mouse leukemia virus by the fluorescence antibody technique*, Jap. J. Cancer Clin., 8 : 655-663, 1962.
- Isaacs A., Lindenmann J., *Virus interference. I : The interferon*, Proc. Roy. Soc., 147 : 258-267, 1957.
- Itelson J., Kocen M., *Les progrès de l'hématologie dans les dix dernières années*, Le Sang, 10 : 602-616, 1936.
- Jacquillat C., Boiron M., Weil M., Tanzer J., Najean Y., Bernard J., *Rubidomycin, a new agent active in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia*, Lancet, 2 : 27, 1966.
- Jacquillat C., Weil M., Boiron M., *Effets de la méthode de réinduction au cours du traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 677-682, 1967.
- Jacquillat C., Weil M., Tanzer J., Bussel A., Loisel J.P., Goguel A., Schaison G., Najean Y., Goudemand M., Seligmann M., Boiron M., Bernard J., *Les très longues rémissions complètes des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 253-256, 31 1970.
- Jammet H., Mathé G., Pendic B., Duplan J.F., Maupin B., Latarjet R., Kalic J., Schwarzenberg L., Djukic Z., Vigne J., *Etude de six cas d'irradiation totale aigue accidentelle*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 210-225, 1959.
- Jeanneney G., Ringenbach G., *Traité de la transfusion sanguine*, Masson, Paris, 1940.
- Johnson F., *Marrow transplantation in the treatment of acute childhood leukemia*, Am. J. Pediatr. Hemat. Oncol., 3 (4) : 389-395, 1981.
- Jolly J., *Le sang dans la vie de l'organisme*, Flammarion, Paris, 1946, p. 119-120.
- Jullien P., *Les virus leucémiques en France*, Concours méd., 86 (48) : 6803-6809, 28.11.1964, p. 6806.
- Kaplow L., *A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow*, Blood, 10 : 1023, 1955.
- Karon M., Freireich E., Frei E., *A preliminary report on vincristine sulfate - A new active agent for the treatment of acute leukemia*, Pediatrics, 30 (5) : 791-796, 1962.
- Kenny J., Moloney W., *Leukocytic alkaline phosphatase. Behavior during prolonged incubation in normal and leukemic leukocytes*, Blood, 12 : 295, 1957.

- Kinoshita R., Erickson J., Armen D., Dolch M., Ward J., *Electron microscope study of mouse mammary carcinoma tissue*, Exp. Cell. Res., 4 : 353-361, 1953.
- Klein G., *Recent trends in tumor immunity*, J. Med. Soc., 2 : 135, 1966.
- Klein G., Clifford P., Klein E., Smith R., Minowada J., Kourilsky F., Burchenal J., *Membrane immunofluorescence reactions of Burkitt lymphoma cells from biopsy specimens and tissue cultures*, J. Nat. Cancer Inst., 39 : 1027-1044, 1967.
- Kleinknecht D., Jacquillat C., Weil M., Najean Y., Tanzer J., Boiron M., Bernard J., *Les accidents neurologiques centraux de la vincristine*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (1) : 132-136, 1967.
- Kourilsky F., Dausset J., Bernard J., *A qualitative study of normal leukocyte antigens of human leukemic leukoblasts*, Cancer Res., 28 : 372-377, 1968.
- Kourilsky F., Dausset J., Feingold N., Dupuy J., Bernard J., *Leukocyte groups and Acute Leukemia*, J. Nat. Cancer Inst., 41 : 81-87, 1968.
- Kourilsky F., Dausset J., Feingold N., Dupuy J.M., Bernard J., *Etude de la répartition des antigènes leucocytaires chez des malades atteints de leucémie aiguë en rémission*, Adv. Transplantation, Munksgaard, Copenhagen, 1967, p. 515-521.
- Kourilsky F., Dausset J., *Immunologie des leucémies*, Actualités hématologiques, 1 : 171-188, 1967.
- Kourilsky F., Silvestre D., Lévy J.P., Senik A., *Localisation en microscopie électronique des antigènes HLA sur les cellules humaines*, Ann. Inst. Pasteur, 119 : 138, 1970.
- Krivit W., Good R., *Simultaneous occurrence of mongolism and leukemia*, Am. J. Dis. Child., 94 : 289, 1957.
- Kurnig N., Montano A., Gerdes J., Feder B., *Preliminary observations on the treatment of post-irradiation hematopoietic depression by the infusion of stored autogenous bone marrow*, Ann. Int. Med., 49 : 973, 1958.
- Laroque P., *Au service de l'homme et du droit, Souvenirs et Réflexions*, Association pour l'étude de l'histoire de la Sécurité sociale, Paris, 1993.
- Larsen C., *Acquisitions nouvelles dans la biochimie des ribovirus oncogènes*, Path. Biol., 19 (9-10) : 523-530, 1971.
- Larsen C., *Les hybrides ADN-ARN*, Path. Biol., 13 (11-14) : 671-675, 1965.
- Lasneret J., *Etude des tumeurs provoquées chez le rat par le virus du sarcome de Moloney*, Bull cancer, 54: 193-200, 1967.
- Lasneret J., Oppenheim S., Lévy J.P., Boiron M., *Influence de la splénectomie sur l'évolution de la leucémie de Rauscher chez la souris*, Path. Biol., 14 : 1178-1184, 1966.
- Latarjet R., *Données récentes sur la chimiothérapie du cancer, Les acquisitions médicales récentes*, Editions Flammarion, Paris, 1950, 349-379.
- Latarjet R., *Leucémie de la souris et virus. La récolte de 1956*, Rev. Hémat., 12 (1) : 7-10, 1957.
- *L'Aurore*, 29-30 juin 1957.
- Law L., « Résistance des néoplasmes aux agents chimiques », in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 301-320.
- Law L., Taormina V., Boyle P., *Response of acute lymphocytic leukemias to the purine antagonist 6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 244-250, 1954.
- Leclerc J.C., Lévy J.P., Varet B., Oppenheim S., *Communauté antigénique entre la souche L et certaines leucémies murines*, C. R. Acad. Sci., 266 : 2206-2209, 1968.

- Leclerc J.C., Lévy J.P., Varet B., Oppenheim E., Senik A., *Antigenic analysis of L strain cells : A new murine leukemia associated antigen : « L »*, Cancer Res., 30 : 2073-2079, 1970.
- Leclerc J.C., Silvestre D., Lévy J.P., Oppenheim S., Varet B., *Etude ultrastructurale d'un virus murin sarcomatogène*, Inter. J. Cancer, 2 : 475-488, 1967.
- Leclerc J.C., Silvestre D., *Mycoplasmes et hémopathies humaines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (2) : 215-230, 1967.
- Lejeune J., Gauthier M., Turpin R., *Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens*, C. R. Acad. Sci., 248 : 1721, 1959.
- Lemaire A., Mallarmé J., *Données actuelles sur la leucose aiguë*, Paris Méd., 2, 1939.
- Leprat J., Bernard J., *Désordres sanguins et troubles endocriniens, revue critique des acquisitions physiologiques, cliniques et thérapeutiques récentes*, Le sang, 27 (8) : 779-818, 1956.
- Lévy J.P., *Données générales sur la leucémogénèse*, Actualités hématologiques, 3 : 200-209, 1969.
- Lévy J.P., Bernard C., Chenaille P., Boiron M., *Comparaison du virus de Rauscher obtenu en culture de tissus et de ce même virus extrait du sang de souris leucémiques*, C. R. Acad. Sci., 1964.
- Lévy J.P., Boiron M., Lasneret J., Oppenheim S., *Histogénèse des leucémies induites par le virus de Rauscher*, C. R. Acad. Sci, 260 : 3511-3514, 1965.
- Lévy J.P., Boiron M., Silvestre D., Bernard J., *The ultrastructure of Rauscher Virus*, Virology, 26 : 146-150, 1965.
- Lévy J.P., Lasneret J., Périès J., Boiron M., *Paralysies révélatrices de la leucémie de Gross chez le rat*, Experientia, 20 : 627-628, 1964.
- Lévy J.P., Leclerc J.C., Varet B., Oppenheim E., *Study of the antigenic specificity of Graffi leukemic cells*, J. Nat. Cancer Inst., 41 : 743-750, 1968.
- Lévy J.P., Oppenheim S., Chenaille P., Silvestre D., Tavitian A., Boiron M., *Quantitative study of Rauscher virus inactivation by various physical and chemical agents*, J. Nat. Cancer Inst., 38 : 553-565, 1967.
- Lévy J.P., Périès J., *La culture in vitro des virus leucémigènes*, Path. Biol., 12 : 1158-1161, 1964.
- Lévy J.P., Silvestre D., Leclerc J.C., Boiron M., *Quantitative electron microscope investigations on Rauscher virus*, Virology, 29 : 681, 1966.
- Lévy J.P., Varet B., Oppenheim E., Leclerc J.C., *Antisera and identification of murine leukemia virus*, Nature, 224 : 606-609, 1969.
- Lichtman M., ed., *Hematology : landmarks papers of the twentieth century*, Academic Press, 2000, p. 715-717.
- Lieberman M., Kaplan H., *Leukemogenic activity of filtrates from radiation induced lymphoid tumors of mice*, Science, 130 : 387-388, 1959.
- Lignac G., *Die Benzol-leukämie bei Menschen und weissen Mäusen*, Krankheitsforschung, 9 : 403-454, 1931.
- Lissac J., Bernard J., Mathé G., *Etude du séjour vasculaire des polynucléaires par une méthode utilisant un indicateur fluorescent*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 1 : 631-642, 1956.
- Loosfelt Y., Pavie-Fischer J., Kourilsky F., *Technique d'immunofluorescence de membrane appliquée à la détection des antigènes tissulaires sur cellules sanguines humaines*, Path. Biol., 18 : 15-18, 1970.
- Lorenz E., Uphoff D., Reid T., Shelton E., *Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections*, J. Nat. Cancer Inst., 12 : 197, 1951.

- Lortholary P., Boiron M., Ripault J., Teillet F., Levacher A., Bernard J., *Modifications cellulaires au cours de l'évolution des hémopathies malignes lymphocytaires*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (4) : 536-543, 1967.
- Lortholary P., Lejeune F., Bonhomme J., Teillet F., Tanzer J., Boiron M., *Contribution à l'étude cytochimique des leucémies aiguës dites à cellules monocytoïdes (A propos de 26 observations)*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 711-720, 1967.
- MacMahon B., *Geographic variation in leukemia mortality in the United States*, Pub. Health Rep. 72 : 39, 1957.
- Mallarmé J., *Etude d'ensemble sur les leucoses humaines dites aiguës*, Rev. Hémat., 2 : 60-103, 1947.
- Manaker R., Strother P., Miller A., Piczak C., *Behavior in vitro of a mouse lymphoid leukemia virus*, J. Nat. Cancer Inst., 25 : 1411-1419, 1960.
- Marinone G., « Les limites actuelles de la thérapeutique cytotoxique sont-elles le prélude de nouvelles directives dans le traitement des leucoses aiguës » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, 1958, p. 107-122.
- Massachusetts Department of Public Health, *Blood and blood derivatives program*, New England J. Med., 234 (11) : 389-390, 1946.
- Mathé G., *Bibliography of normal hematopoietic (myeloid and lymphoid) cell transplantation*, Transplantation Bull., 6 : 450, 1959.
- Mathé G., *Transfusion et greffe de cellules hématopoïétiques normales*, Le sang, 30 : 747-761, 1959.
- Mathé G., Amiel J.L., *Aspects histologiques des lésions induites dans les organes hématopoïétiques par l'injection à des hybrides F1 irradiés de cellules ganglionnaires d'une des lignées parentales*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 5 : 20-30, 1960.
- Mathé G., Amiel J.L., *Etude sur le tissu lymphoïde des radiochimères hématopoïétiques*, Path. Biol., 9 : 894-901, 1961.
- Mathé G., Amiel J.L., Daguét G., *Etude des agglutinines sériques contre un antigène bactérien chez des radiochimères hématologiques immunisées contre l'antigène avant l'irradiation*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 1 : 6, 1961.
- Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement de la leucémie expérimentale par greffe de cellules hématopoïétiques normales*, Le sang, 30 : 789-801, 1959.
- Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement de la leucémie greffée L1210 par l'irradiation X suivie de transfusion de cellules hématopoïétiques normales (isologues ou homologues, lymphoïdes ou myéloïdes, adultes ou embryonnaires)*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 (5) : 442-446, 1959.
- Mathé G., Bernard J., *Essai de traitement par l'irradiation X suivie de greffe de cellules myéloïdes homologues de souris AK atteintes de leucémie spontanée très avancée*, Bull. Cancer, 45 : 289-300, 1958.
- Mathé G., Bernard J., *Les acquisitions récentes dans le domaine des hétérogreffes de cellules hématopoïétiques normales et de cellules tumorales*, Rev. Hématol., 12 (4) : 529-564, 1957.
- Mathé G., Bernard J., Dausset J., *Les cytopénies expérimentales d'origine splénique*, Sem. Hôp. Paris, 31 : 1135-1141, 1955.
- Mathé G., Bernard J., De Vries M.J., Schwartzberg L., Larriou M.J., Lalanne C., Dutreix A., Amiel J.L., 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, Revue d'hématologie, 15: 115-161, avril-juil. 1960.

- Mathé G., Bernard J., Meaume J., *Les variétés cytologiques des leucoses aiguës*, Rev. Hématol., 14 (1) : 41-61, 1959.
- Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwaezmann V., Céoara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959.
- Mathé G., Jammet H., Pendic B., Schwarzenberg L., Duplan J.F., Maupin B., Latarjet R., Larrieu M.J., Kalic D., Djukic Z., Vigne J., *Transfusion et greffe de moelle osseuse homologue chez des humains irradiés à haute dose accidentellement*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 226-238, 1959.
- Mathé G., Pays P., Bourdon R., Maroteaux P., *Effets comparés sur les gamma-globulines sériques de doses sublétales et létales d'irradiation X*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 272, 1959.
- Mathé G., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., *Transfusion et greffe de moelle osseuse chez l'homme : technique*, Le sang, 30 : 784-788, 1959.
- Mathé G., Schweisguth O., Brulé G., Brezin C., Amiel J.L., Schwarzenberg L., Schneider M., Cattan A., Jasmin C., Smadja R., *Essai de traitement par la leurocristine de la leucémie aiguë lymphoblastique et du lymphoblastosarcome*, Presse médicale, 71 (10) : 529-532, 1963.
- McGovern J., Russel P., Atkins L., Webster E., *Treatment of terminal leukemic relapse by total-body irradiation and intravenous infusion of stored autologous bone marrow obtained during remission*, New England J. Med., 260 : 675, 1959.
- Medawar P., *Immunity to homologous grafted skin. II : The relationship between the antigens of blood and skin*, Brit. J. Exp. Path., 27 : 15, 1946.
- Meighan S., Bean H., *Attempted homotransplantation of bone marrow in patient with leukemia*, Canad. M. A. J., 78 : 859-862, 1958.
- Messerschmitt J., *Les antagonistes de l'acide pteroylglutamique (acide folique)*, Rev. Hémat., 4 (2) : 194-245, 1949.
- Mihich E., *Chimiothérapie antitumorale. Considérations sur le rôle potentiel de l'immunité*, Pathol. Biol., 15 : 3, 1967.
- Minor R., ed., *6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954.
- Moloney J., *A virus-induced rhabdomyosarcoma of mice*, J. Nat. Cancer Inst., 1967.
- Moloney J., *Preliminary studies on a mouse lymphoid leukemia virus extracted from sarcome 37*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 3 : 44, 1959.
- Montagnier L., Sanders F., *Replicative form of encephalomyocarditis virus ribonucleic acid*, Nature, 199 : 664-667, 1963.
- Murphy M., Tan C., Burchenal J., « Résultats du traitement des leucoses aiguës de l'enfant » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 97-100.
- Neauport-Sautes C., Sylvestre D., Kourilsky F., Lévy J.P., Fauquet M., *Utilisation d'anticorps hybrides pour la localisation en microscopie électronique des antigènes d'histocompatibilité HL.A de l'homme*, C. R. Acad. Sci., 271: 2440-2443, 1970.
- Netter A., Mathé G., *Etude de la lymphopénie et des modifications parallèles des centres hématopoïétiques produites par la cortine chez le rat*, Le sang, 20 (7) : 442-450, 1949.
- Nowell P., Hungerford D., *Chromosome studies on normal and leukaemic human leucocytes*, J. Nat. Cancer Inst., 25 : 85, 1960.

- Nowell P., Hungerford D., Brooks C., *Chromosomal characteristics of normal and leukaemic human leucocytes after short-term tissue culture*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 2 : 331, 1958.
- Old L., Boyse E., *Immunology of experimental tumors*, Ann. Rev. Med., 15 : 167, 1964.
- Oppenheim E., Lévy J.P., Leclerc J.C., *Propriétés antigéniques d'un pseudotype « Graffi » du virus du rhabdomyosarcome murin*, C. R. Acad. Sci., 268 : 620-623, 1969.
- Osgood, Blood, 4 : 670, 1949
- Pages publicitaires, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 12, 294, 318, 536, 1959.
- Paoletti C., Orth G., Boiron M., Lamonthézie N., Atanasiu P., *Etude sur l'extraction et le pouvoir infectieux in vitro de l'acide désoxyribonucléique du virus polyome*, Ann. Inst. Pasteur, 104 : 717, 1963.
- *Paul Chevallier (1884-1960)*, Soc. Méd. Hôp. Paris, 16.12.1960, p. 1326-1330, 1960.
- Périès J., Boiron M., Canivet M., *Recherche d'une production d'interféron et d'une interférence virale hétérologue dans une lignée cellulaire chroniquement infectée par le virus de Rauscher*, Ann. Inst. Pasteur, 109 : 595-600, 1965.
- Périès J., Lévy J.P., Boiron M., Bernard J., *Multiplication of Rauscher Virus in cultures of mouse kidney cells*, Nature, 203 : 672-673, 1964.
- Philips F., Sternberg S., Hamilton L., Clarke D., *The toxic effects of 6-mercaptapurine and related compounds*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 283-296, 1954.
- Policard A., Bessis M., « La recherche médicale », in *La méthode dans les sciences modernes*, numéro hors série de Travail et méthodes, Editions Science et industrie, Paris, 1958, p.2-3.
- Prehn R., *Tumor specific immunity to non viral tumors*, Canad. Cancer Conf., 5 : 387, 1963.
- Rapp F., Friend C., *Early detection and localization of swiss mouse leukemia virus*, Acta UICC, 19 : 348-350, 1963.
- Rapp F., Steinglass M., Friend C., *Hemagglutination by Swiss mouse leukemia virus*, Bact. Proc., V21 : 134, 1962.
- Rauscher F., *A virus induced disease of mice characterized by erythrocytopenia and lymphoid leukemia*, J. Nat. Cancer Inst., 29 : 515-543, 1962.
- Reinhard E., Brittingham T., Holtz S., Harrington W., Moore C., Chaplin, Loeb V., Lessner H., *Total body Radiation in Acute Monocytic Leukemia*, Am. J. Med., 25 : 430-441, 1958.
- Renier F., Chevrel L., Friedmann J.C., Gaquière G., Guelfi J., *Quelques considérations sur les leucoses porcines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 6 (2) : 239-252, 1966.
- Rosa J., Shapira G., Dreyfus J.C., De Grouchy J., Mathé G., Bernard J., *Different heterogeneity of mouse haemoglobin according to strains*, Nature, 182 : 947, 1958.
- Rous P., *Transmission of a malignant new growth by means of a cell-free filtrate*, J. Am. Med. Ass., 56 : 198, 1911.
- Rubin H., *The nature of a virus-induced cellular resistance to Rous sarcoma virus*, Virology, 13 : 200-206, 1961.
- Ruffié J., *Modification des cellules sanguines dans les cellules des leucémies aiguës*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 3 (6) : 830-840, 1963.
- Ruffié J., Lejeune J., *Deux cas de leucémie aiguë myéloblastique avec cellules sanguines normales et cellules haplo 21 (ou 22)*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol, 7 : 644, 1962.

- Sandberg A., Koepf G., Grosswhite L., Hauschka T., *The chromosome constitution of human marrow in various developmental and blood disorders*, Am. J. Human Genetics, 12 : 231, 1960.
- Schaison G., *Le traitement des leucémies aiguës*, Fascicule Eli Lilly France S.A., 1981.
- Schaison G., Najean Y., Seligmann M., Flandrin G., Jacquillat C., Weil M., Cannat A., Ripault J., Dreyfus B., Bernard J., *Leucémie aiguë à évolution prolongée et syndrome lupique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 9 (3) : 419-434, 1969.
- Schoolman H., Spurrier W., Schwartz S., Szanto P., *Studies in leukemia. VII- The induction of leukemia in swiss mice by means of cell-free filtrates of leukemic mouse strain*, Blood, 12 : 694-700, 1957.
- Schwartz R., *A half-century retrospective of transplantation as viewed by the protagonists*, Transpl. Proceed., 31 (1-2) : 40-42, 1999.
- Schwartz S.O., *Editorial. Etiology of leukemia : a case for the virus theory*, Blood, 11 : 1045-1047, 1956.
- Schwarzenberg L., Nagi N.S., Pradet-Balade O., Mathé G., *Utilisation pour la séparation des lymphocytes sanguins du séparateur de cellules sanguines à débit continu IBM*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 8 (5) : 579-583, 1968.
- Shope R.E., *A filtrable virus causing tumor-like condition in rabbits and its relationship to virus myxomatosum*, J. Exp. Med., 56 : 803-822, 1932.
- Silvestre D., Kourilsky F., Klein G. Yata Y., Neauport-Sautes C., Lévy J.P., *Relationship between the EBV-associated membrane antigen on Burkitt lymphoma cells and the viral envelope, demonstrated by immunoferritin labeling*, Int. J. Cancer, 8 : 222-233, 1971.
- Silvestre D., Kourilsky F., Lévy J.P., Senik A., *Localisation des antigènes HLA à la surface des lymphocytes humains à l'aide d'anticorps conjugués à la ferritine*, C. R. Acad. Sci., 268 : 1155-1157, 1969.
- Silvestre D., Kourilsky F., Lévy J.P., Senik A., Niccolai M.G., *Immunoferritin study of the distribution of HLA antigens on human blood cells*, J. Immunology, 106 (2) : 454-466, 1971.
- Silvestre D., Lévy J.P., Bernard C., Boiron M., *Etude au microscope électronique d'une souche cellulaire chroniquement infectée par le virus de Rauscher*, Journal de microscopie, 4 : 705-713, 1965.
- Silvestre D., Lévy J.P., Leclerc J.C., Boiron M., *Etude ultrastructurale du cycle du virus de Rauscher chez la souris*, Path. Biol., 14 : 559-564, 1966.
- Simonsen M., Engelbreth-Holm J., Jensen E., Poulsen H., *Treatment of mouse leukemia with heavy X-irradiation followed by spleen transplantation*, 7ième Congrès international du cancer, Londres, 1958.
- Skipper H., *Effects of 6-mercaptopurine on experimental tumors*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 267-272, 1954.
- Skipper H., Schabel F., Wilcox W., *Experimental evaluation of potential anticancer agents, XIII. On the criteria and kinetics associated with curability of experimental leukemias*, Cancer Chemother. Rep., 35, 1964.
- Snell G., *Methods for the study of histocompatibility genes*, Journal of Genetics, 49 : 87-108, 1948.
- Soulier J.-P., *Arnault Tzanck (1886-1954)*, Sem. Hôp. Paris, 26-30 : 3027-3028, 1954.
- Soulier J.-P., *Nouveautés hématologiques américaines*, Le sang, 17 (5) : 338-344, 1946

- Spies T., *Effect of folic acid on persons with macrocytic anemia in relapse*, J. Am. Med. Ass., 130 (8) : 474-477, 1946, p. 476.
- Stewart A., Webb J., Hewitt H., *A survey of childhood malignancies*, Brit. Med. J., 1 : 1495, 1958.
- Stewart S., *Neoplasms in mice inoculated with cell-free extracts or filtrates of leukemic mouse tissues. II. Leukemia in hybrid mice produced by cell-free filtrates*, J. Nat. Cancer Inst., 16 : 41-53, 1955.
- Sylvestre D., Kourilsky F., Niccolai M.G., Lévy J.P., *Presence of HLA antigens on human reticulocytes as demonstrated by electron microscopy*, Nature, 228: 67-68, 1970.
- Tan C., Tasaka M., *Daunomycin remissions in acute leukemia*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 7 : 70, 1966.
- Tanzer J., *Evaluation cytochimique des phosphatases alcalines des polynucléaires neutrophiles*, Path. Biol., 11 : 242, 1963.
- Tanzer J., Hampe A., Bensimon P., Boiron M., Bernard J., *L'évaluation cytochimique de la phosphatase alcaline leucocytaire dans la leucémie myéloïde chronique. Son intérêt pratique*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 5 (6) : 873-879, 1965.
- Tanzer J., Lortholary P., Lejeune F., Hampe A., Boiron M., Bernard J., *Intérêt des techniques cytochimiques pour l'étude des modifications de l'équipement enzymatique des leucocytes au cours des leucémies*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 6 (2) : 317-330, 1966.
- Tanzer J., Thomas M., Stoitchkov Y., Boiron M., Bernard J., *Altérations chromosomiques observées dans des cellules de rein de singe infectées in vitro par le virus de l'herpès*, Ann. Inst. Pasteur, 107 : 366-373, 1964.
- Teillet F., Thomas M., Tanzer J., *Cultures de cellules sanguines à long terme, Actualités hématologiques*, 3 : 242-253, 1969.
- Temin H., *Homology between RNA from Rous sarcoma virus and DNA from Rous sarcoma virus-infected cells*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 52 : 323-329, 1964.
- Temin H., *The provirus hypothesis*, J. Natl. Cancer Inst., 46 : III-VIII, 1971.
- Temin H., Mizutani S., *RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus*, Nature, 226 : 1211-1213, 1970.
- Terasaki P., McClelland J., *Microdroplet assay of human serum cytotoxins*, Nature, 204 : 998, 1964.
- Thomas D., Lochte H., Cannon J., Sahler O., Ferrebee J., *The treatment of acute leukemia by supra-lethal whole-body irradiation and isologous marrow transplantation*, J. Clin. Investig., oct. 1959.
- Thomas D., Lochte H., Ferrebee J., *Irradiation of the entire body and marrow transplantation : some observations and comments*, Blood, 14 : 1, 1959.
- Thomas E., Lochte H., Lu W., Ferrebee J., *Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy*, New Engl. J. Med., 257 : 401, 1957.
- Thomas M., Boiron M., Lasneret J., Bernard J., *Réplication du virus du sarcome murin (souche de Moloney) sur des cellules embryonnaires bovines in vitro*, C. R. Acad. Sci., 266 : 1537-1539, 1968.
- Thomas M., Boiron M., Lasneret J., Stoitchov Y., *In vitro replication of mouse sarcoma virus (Moloney strain) on bovine embryo skin cells*, Virology, 36 : 514-518, 1968.
- Tivey H., *The natural history of untreated leukemia*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 322-358, 1954.

- Trentin J., *Mortality and skin transplantability in X-irradiated mice receiving isologous, homologous and heterologous bone marrow*, Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 92 : 688, 1956.
- Turpin R., Bernyer G., *De l'influence de l'hérédité sur la formule d'Arneth (cas particulier du mongolisme)*, Rev. Hémat., 2 : 189, 1947.
- Tzanck A., Bessis M., Bernard J., *Le traitement des leucémies aiguës de l'enfance par l'exsanguino-transfusion*, Arch. Franç. Pédiat., 5 : 269-273, 1948.
- Tzanck A., Bessis M., Burstein M., *Recherches sur le remplacement de sang circulant par du sang frais, du sang conservé et du plasma*, C. R. Acad. Sci., 22 : 822-824, 1946.
- Undritz E., *Die Peroxydase-reaktionen und ihre praktische Bedeutung*, Zyto : Histochemie in der Hämatologie, Springer, Berlin, 1963.
- Uphoff D., *Alternation of homograft reaction by amethopterin in lethally irradiated mice treated with homologous marrow*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 99 : 651-653, 1958.
- Van Griensven L., Emanoil-Ravicovitch R., Boiron M., *Mise en évidence d'un ARN bicaténaire dans une lignée cellulaire transformée et chroniquement infectée par le virus du sarcome murin*, C. R. Acad. Sci., 270: 1723-1726, 1970.
- Varet B., Lévy J.P., Leclerc J.C., Senik A., *Rôle de l'immunité dans le rejet des tumeurs induites par le virus MSV : effet des sérums anti-thymocytes*, Int. J. Cancer, 3 : 727-733, 1968.
- Vergnes H., *Les enzymes des leucocytes*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 6 (2) : 301-316, 1966.
- Verne J., *La vie cellulaire hors de l'organisme, la culture des tissus*, Doin, Paris, 1937.
- Virchow R., *Weisses blut*, Froriep's Notizen, 36 : 151-156, 1845.
- Virchow R., *Zur pathologischen Physiologie des Blutes*, Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin, 1 : 563-572, 1847.
- Vogt P., Rubin H., *Studies on the assay and multiplication of avian myeloblastosis virus*, Virology, 19 : 92-104, 1963.
- Wald N., Borges W., Li C., Turner J., Harnois M., *Leukemia associated with mongolism*, Lancet, 1 : 1228, 1961.
- Whiteside J., Burchenal J., « Administration intra-rachidienne de méthotrexate en cas d'infiltration leucémique des méninges » in Bernard J., Mathé G., eds., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, Paris, 1958, p. 123-127.
- Wolff J., Sylvester R., Mercer R., Ravindranath Y., *Chronicle : Dawn of chemotherapy*, Med. Ped. Oncol., 33 : 405-410, 1999.
- Wollman E., Jacob F., *La sexualité des bactéries*, Masson, Paris, 1959.
- Woolley G., Small M., *Experiments on cell-free transmission of mouse leukemia*, Cancer, 9 : 1102-1106, 1955.
- Wright B., Lasfargues J., *Multiplication of the Rauscher leukemia virus in a mixed culture of mouse spleen and thymic cells*, Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 5 : 70, 1964.
- Zuelzer W., *Implication of long term survival in acute stem cell leukemia of childhood treated with composite cyclic therapy*, Blood, 24 : 477, 1964.

Sources secondaires

- Ackerknecht E., *La médecine hospitalière à Paris (1794-1848)*, trad. Blateau F., Payot, Paris, 1986.
- Amsterdamska O., « Chemistry in the clinic : the resarch career of Donald Dexter Van Slyke », in De Chadarevian S., Kamminga H., eds, *Molecularizing biology and medicine. New practices and alliances, 1910s-1970s*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998, p. 47-82.
- Aronowitz R., *The meaning of illness*, Cambridge University Press, Cambridge, 1997.
- Bachelard G., *La formation de l'esprit scientifique : contribution à la psychanalyse de la connaissance objective*, Vrin, Paris, 1934.
- Barnes B., *Scientific knowledge and social theory*, Routledge and Kegan Paul, Henley-on-Thames, 1974.
- Bidault G., *Les mémoires de la recherche - Etats des versements 1977-1989*, CNRS Editions, 1993.
- Binet J.L., Delpech G., *Les revues d'hématologie*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 23 : 71-74, 1981.
- Bloor D., *Knowledge and social imagery*, Routledge and Kegan Paul, Henley-on-Thames, 1976.
- Blume S., *Insight and industry : on the dynamics of technological change in medicine*, MIT Press, Cambridge, 1991.
- Bradbury S., *The evolution of the microscope*, Pergamon Press, 1967.
- Canguilhem G., « La théorie cellulaire » in *La connaissance de la vie*, Vrin, Paris, 1965.
- Canguilhem, *Le normal et le pathologique*, PUF, Paris, 1966.
- Chadarevian S. (de), « Following molecules: hemoglobin between the clinic and the laboratory », in De Chadarevian S., Kamminga H., eds, *Molecularizing biology and medicine. New practices and alliances, 1910s-1970s*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998, p. 171-202.
- Chadarevian S. (de), Kamminga H., « introduction », in De Chadarevian S., Kamminga H., eds, *Molecularizing biology and medicine. New practices and alliances, 1910s-1970s*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998.
- Chast F., *Histoire contemporaine des médicaments*, Editions La Découverte, Paris, 1995.
- Chastel C., *Histoire des virus, de la variole au Sida*, Editions Boubée, Paris, 1992.
- Collins H., Pinch T., *Frames of Meaning: The social construction of extraordinary science*, Routledge and Kegan Paul, Henley-on-Thames, 1982.
- Conrad L., Neve M., Nutton V., Porter R., Wear A., *The Western Medical Tradition, 800 BC to AD 1800*, Cambridge University Press, 1995.
- Creager A., « Producing molecular therapeutics from human blood: Edwin Cohn's wartime enterprise », De Chadarevian S., Kamminga H., eds, *Molecularizing biology and medicine. New practices and alliances, 1910s-1970s*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998, p.107-138.
- Creager A., Gaudillière J.-P., « Experimental arrangements and technologies of visualisation : cancer as a viral epidemic », in Gaudillière J.-P., Löwy I., eds., *Heredity and infection*, Routledge, Londres, 2000, p. 208-212.
- Debru C., Gayon J., « Introduction » in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds, *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994.

- Debru C., « Les leucémies et l'inclassable » in *Philosophie de l'inconnu : le vivant et la recherche*, PUF, Paris, 1998.
- Degos L., *Le don reçu*, Plon, Paris, 1990.
- Duchesneau F., *Genèse de la théorie cellulaire*, Paris, Vrin, 1987.
- Feldman S., Tauber A., *Sickle cell anemia. Reexamining the first molecular disease*, Bull. Hist. Med., 71 : 623-650, 1997.
- Fleck L., *Entstehung und Entwicklung einer wissenschaftlichen Tatsache: Einführung in die Lehre vom Denkstil und Denkkollektiv about the genesis of a scientific fact*, Benno Schwabe Co., Basel, 1935, trad. anglaise *Genesis and Development of a Scientific Fact*, University of Chicago Press, Chicago, 1979.
- Foucault M., *Naissance de la clinique*, PUF, Paris, 1963.
- Fujimura J., « Crafting science : standardized packages, boundaries objects and « translation ». A sociohistory of the quest for the genetics of cancer », in Pickering A., ed., *Science as practice and culture*, University of Chicago Press, Chicago, 1992.
- Galambos L., Sturchio J., « The transformation of the pharmaceutical industry in the 20th century », in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997.
- Galperin C., *Virus, provirus et cancer*, Rev. Hist. Sci., 47 (1) : 7-56, 1994.
- Gaudillière J.P., *Biochimistes et biomédecine dans l'après-guerre : deux itinéraires entre laboratoire et hôpital*, *Sciences Sociales et Santé*, 10 (4) : 107-147, 1992.
- Gaudillière J.P., « Oncogenes as metaphors for human cancer : articulating laboratory practices and medical demands », in Löwy I. ed., *Medicine and Change : Historical and Sociological Studies of Medical Innovation*, John Libbey-Editions INSERM, London, Paris, 1993.
- Gaudillière J.P., « Biologists at work. Experimental practices in the twentieth century life sciences », in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 683-700.
- Gaudillière J.P., « Circulating mice and viruses », in M. Fortun, E. Mendelsohn, eds., *The practices of human genetics*, Kluwer Academic Publishers, Great Britain, 1999, p. 89-124.
- Gaudillière J.-P., *Inventer la biomédecine : la France, l'Amérique et la production des savoirs du vivant (1945-1965)*, La Découverte, Paris, 2002.
- Gayon J., « De l'usage de la notion de style en histoire des sciences » in Gayon J., Gens J.C., Poirier J. (dir.), *La rhétorique : enjeux de ses résurgences*, Editions OUSIA, 1998, p. 162-181.
- Golinsky J., *Making natural knowledge, Constructivism and the history of science*, Cambridge University Press, Cambridge, 1998.
- Goodman Jordan, « Plants, cells and bodies: the molecular biography of Colchicine, 1930-1975 », in De Chadarevian S., Kamminga H., eds, *Molecularizing biology and medicine. New practices and alliances, 1910s-1970s*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998, p. 17-46.
- Grmek M., *Les mythologies et les réalités de la médecine moderne*, Revue de synthèse, 3^{ième} série, 75-76 : 283-293, 1974.
- Hanson N., *Patterns of discovery : an inquiry into the conceptual foundations of science*, Cambridge University Press, Cambridge, 1958.
- Howell J., *Technology in the hospital. Transforming patient care in the early twentieth century*, Johns Hopkins University Press, Baltimore, London, 1995.

- Kay L., *The molecular vision of life : Caltech, the Rockefeller Foundation, and the rise of the new biology*, Oxford University Press, Oxford, 1993.
- Keating P., Cambrosio A., *Biomedical Platforms*, Config., 8 : 337-387, 2000.
- Keating P., Cambrosio A., *The new genetics and cancer : the contributions of clinical medicine in the era of biomedicine*, J. Hist. Med., 56 : 321-352, 2001.
- Keating P., Cambrosio A., *From screening to clinical research : the cure of leukemia and the early development of the cooperative oncology groups, 1955-1966*, Bull. Hist. Med., 76 : 299-334, 2002.
- Keating P., Cambrosio A., *Biomedical platforms : (Re)aligning the normal and the pathological in late twentieth century medicine*, MIT Press, Cambridge, 2003.
- Kuhn T., *The structure of scientific revolutions*, University of Chicago Press, Chicago, 1962.
- Latour B., Woolgar S., *Laboratory life: the social construction of scientific facts*, Sage, Los Angeles and London, 1979.
- Lawrence C., « Clinical Research » in Krige J., Pestre D., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 439-459.
- Le Goff J., Nora P., eds., *Faire de l'histoire. I-Nouveaux problèmes*, Collection Folio/Histoire, Editions Gallimard, 1974.
- Lellouch A., *La chaire française d'histoire de la médecine : cent ans d'histoire (1795-1898)*, Hist. Sci. Méd., 25 (4) : 251, 1991.
- Löwy I., (ed.), *Medicine and change : historical and sociological studies of medical innovations*, John Libbey-Editions INSERM, London, Paris, 1993.
- Löwy I., *Experimental systems and clinical practices : Tumor immunology and cancer immunotherapy, 1895-1980*, J. Hist. Biol., 27 : 403-435, 1994.
- Löwy I., *Cancer de chercheurs, cancer de cliniciens. Trajectoire d'une innovation thérapeutique*, Editions des archives contemporaines, Paris, 2002, traduction de *Between Bench and Bedside : Science, healing, and Interleukine-2 in a Cancer Ward*, Harvard University Press, 1996.
- Löwy I., « Cancer : the century of the transformed cell » in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997.
- Marks H., *The Progress of Experiment, Science and Therapeutic Reform in the United States 1900-1990*, Cambridge University Press, Cambridge, 1997.
- Matthews J., *Quantification and the quest for medical certainty*, Princeton University Press, Princeton, 1995.
- Morange M., *La part des gènes*, Odile Jacob, Paris, 1998.
- Moulin A.M., *Le dernier langage de la médecine. Histoire de l'immunologie de Pasteur au Sida*, PUF, Paris, 1991.
- Moulin A.M., « A science « dans le siècle » : Immunology, a science of boundaries » in Krige J., Pestre D., eds., *Science in the twentieth century*, Harwood Academic Publishers, 1997, p. 683-700.
- Moulin A.-M., « Instrument » in Lecourt D., ed., *Dictionnaire d'histoire et philosophie des sciences*, PUF, Paris, 1999.
- Nadeau R., « Objectivité », in Lecourt D., ed., *Dictionnaire d'histoire et philosophie des sciences*, PUF, Paris, 1999, p. 699.
- Noailles P., Marchandon P., *De Gaulle et la technologie*, Editions Seillans, Paris, 1994.

- Olby R., « The molecular revolution in biology », in Olby R., Cantor G., Christie J., Hodge J., eds, *Companion to the history of modern science*, Routledge, London/New York, 1990.
- Patterson J., *The dread disease : cancer and modern american culture*, Harvard University Press, Cambridge, 1987, p. 270-271.
- Picard J.-F., *La république des savants. Le CNRS et la recherche française*, Flammarion, Paris, 1990.
- Picard J.-F., *Poussée scientifique ou demande de médecins ? La recherche médicale en France de l'Institut national d'hygiène à l'INSERM*, Sciences Sociales et Santé, 10 (4) : 47-106, 1992.
- Picard J.-F., « De la médecine expérimentale (1865) à l'INSERM (1964) », in Debru C., Gayon J., Picard J.-F., eds, *Les sciences biologiques et médicales en France, 1920-1950*, CNRS Editions, Paris, 1994.
- Picard J.F., Pradoura E., *La longue marche vers le CNRS (1901-1945)*, Cahiers pour l'histoire du CNRS, 1: 7-40, 1990.
- Picard J.-F., Schneider W., *L'histoire de la transfusion sanguine dans sa relation à la recherche médicale*, Vingtième siècle, revue d'histoire, 49 : 3-17, 1996.
- Pickstone J. (ed.), *Medical innovations in historical perspective*, Macmillan, London, 1992.
- Piller G., *Leukemia - A brief historical review from ancient times to 1950*, Brit. J. Haemat., 112 : 2828-292, 2001.
- Pinell P., *Naissance d'un fléau. Histoire de la lutte contre le cancer en France (1890-1940)*, Editions Métailié, Paris, 1992.
- Poirier J., Salaün F., *Médecin ou malade ? La médecine en France au XIXe et XXe siècles*, Masson, Paris, 2001.
- Popper K., *Logik der Forschung*, Springer Verlag, Vienna, 1935, trad. anglaise, *The logic of scientific discovery*, Hutchinson, London, 1959.
- Rameix S., *Fondements philosophiques de l'éthique médicale*, Ellipses, Paris, 1996.
- Rasmussen N., *Picture control : the electron microscope and the transformation of biology in America, 1940-1960*, Stanford University Press, Stanford, 1997.
- Reiser S., *Medicine and the reign of technology*, Cambridge University Press, Cambridge, 1978.
- Rey R., *Naissance de la biologie et redistribution des savoirs*, Revue de synthèse, 4ième série, 1-2, 1994.
- Rheinberger H.J., *Beyond nature and culture: a note on medicine in the age of molecular biology*, Science in context, 8: 249-263, 1995.
- Rheinberger H.J., *Toward a history of epistemic things : synthesizing proteins in the test tube*, Stanford University Press, Stanford, 1997.
- Serres M., Farouki N., eds., « Recherche fondamentale, recherche appliquée » in *Le livre de la médecine*, Editions Le Pommier, 2001, p. 824-826.
- Simon G., « Image » in Lecourt D., ed., *Dictionnaire d'histoire et philosophie des sciences*, PUF, Paris, 1999.
- Sinding, *Le clinicien et le chercheur : des grandes maladies de carence à la médecine moléculaire, 1880-1980*, PUF, Paris, 1991.
- Strickland S., *Politics, science and the dread disease*, Harvard University Press, Cambridge, 1972.
- Wailoo K., *Drawing blood : technology and disease identity in twentieth-century America*, The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1997.

- Warner J., *Science in medicine*, Osiris, 2nd series, 1 : 37-58, 1985.
- Waterson A., Wilkinson L., *An introduction to the history of virology*, Cambridge University Press, Cambridge, 1978.
- Webster C., « The historiography of medicine », in Corsi P., Weindling P., eds., *Information sources in the history of science and medicine*, Butterworth & co, 1983, p. 29-43.
- Wintrobe M., *Blood, pure and eloquent*, Mc Graw-Hill, 1980.
- Wintrobe M., *Hematology, the blossoming of a science*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1985.
- Wohnlich-Despaigne I., *Les historiens français de la médecine au XIXe siècle et leur bibliographie*, Vrin, Paris, 1987.
- Wright S., *Molecular politics : developping american and british regulatory policy for genetic engineering, 1972-1982*, University of Chicago Press, Chicago, 1994.

Annexes

Annexe 1

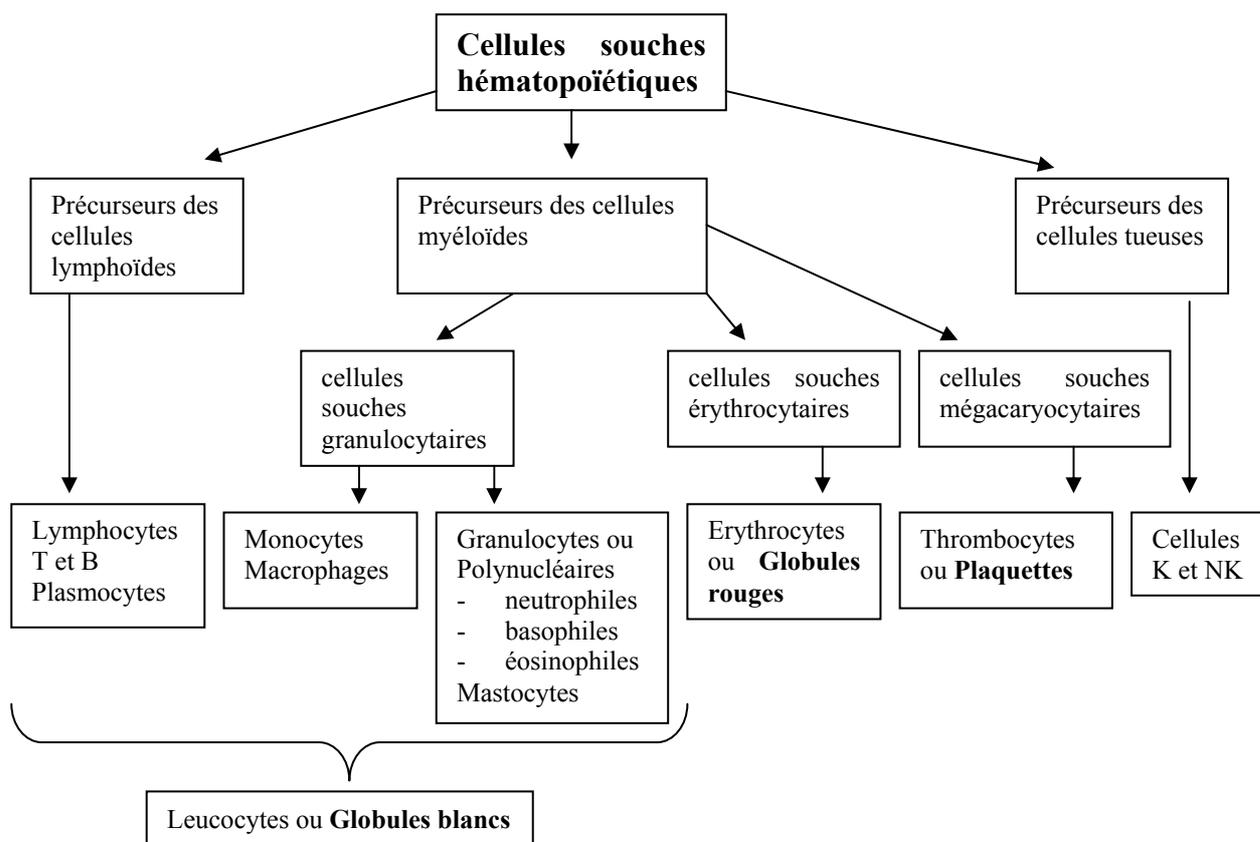
Nombre d'auteurs publiant sur la leucémie	1844-1886	1887-1903
total	380	625
en allemand	107	192
en anglais	117	200
en français	76	94
dans la zone d'influence allemande (1)	156	309
dans la zone d'influence britannique (2)	144	177
dans des revues allemandes	88	154
dans des revues britanniques	64	74

(1) : revues en allemand et revues en anglais d'Amérique du Nord

(2) : revues en français et revues en anglais de Grande Bretagne, Irlande et Australie

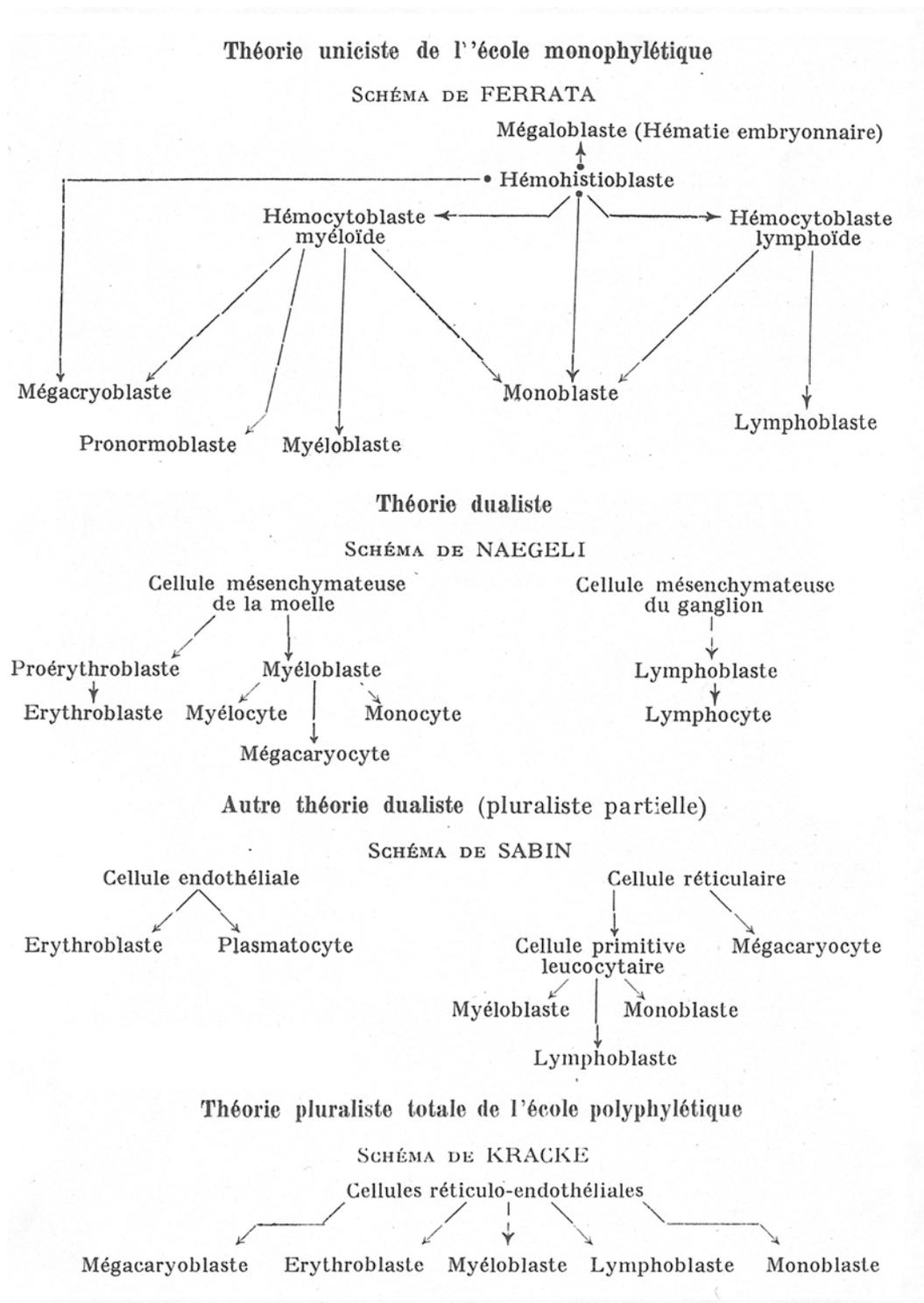
Répartition des auteurs publiant sur la leucémie en fonction de la langue et de la localisation géographique (d'après *Index Catalogue of the Library of the Surgeon-general's Office, US Army, Washington, Government Printing Office, 1^{ière} et 2^{ième} séries*)

Annexe 2



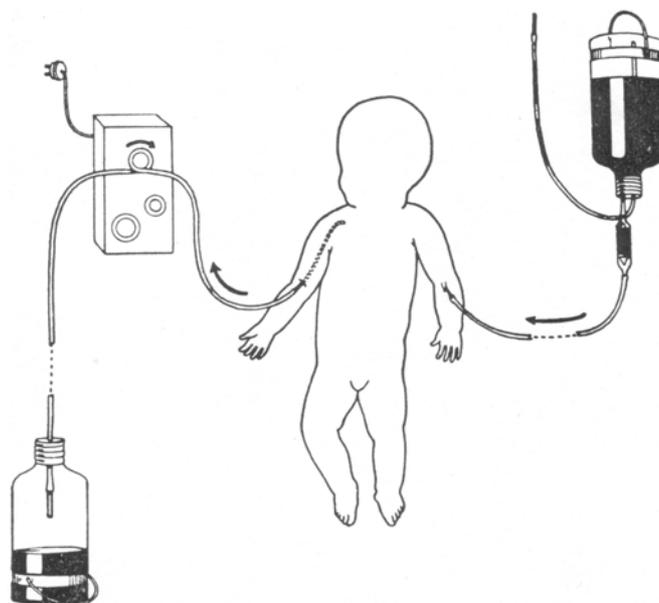
Différenciation des cellules du sang et du système immunitaire

Annexe 3



Schémas récapitulatifs des hématopoïèses suivant les théories et les écoles (Mallarmé J., Messerschmit J., *Le sang normal*, Cahiers d'hématologie, SEDES, Paris, 1948, p. 86-87)

Annexe 4



Exsanguino-transfusion chez le petit enfant (Bessis M., « L'exsanguino-transfusion en dehors de la maladie hémolytique du nouveau-né » in *Les acquisitions médicales récentes*, Editions médicales Flammarion, 1948)

Annexe 5

	1 ^{ère} exsanguino-transfusion				2 ^{ème} exsanguino-transfusion				2 ^{ème} exsanguino-transfusion			
	1	1-8	9-21	22-	1	1-8	9-21	22-	1	1-8	9-21	22-
Etat général												
Amélioration	30/60	34/60	31/60	23/60	21/38	18/38	15/38	8/38	0/18	3/18	0/18	0/18
Normalisation	24/60	20/60	16/60	10/60	2/38	3/38	1/38	2/38	4/18	0/18	0/18	0/18
Hypertrophie des organes (foie, rate, ganglions)												
Diminution	24/52	26/52	21/52	12/52	7/35	6/35	4/35	3/35	1/15	1/15	1/15	0/15
Disparition	9/52	7/52	7/52	4/52	1/35	1/35	1/35	1/35	0/15	0/15	0/15	0/15
Leucoblastose												
Chute nette	28/48	25/48	22/48	13/48	11/27	8/27	4/27	4/27	1/11	2/11	1/11	1/11
Chute très forte	10/48	2/48	1/48	2/48	4/27	1/27	2/27	0/27	1/11	0/11	0/11	0/11

Résultats des exsanguino-transfusions dans les leucémies aiguës (Bessis M., Dausset J., *Etude critique des rémissions au cours des leucémies aiguës traitées par exsanguino-transfusion*, Rev. Hémat., 5 : 188-225, 1950).

Annexe 6

Auteurs	Nombre de cas	Leucose aiguë myéloblastique	Leucose aiguë lymphoblastique	Sans discrimination
Whitby L., Britton C. (1)	-	1 - 2 mois	1,5 mois	-
Kugelmass N. (2)	96	1 mois	3 mois	-
Downey H. (3)	-	3 mois	2 mois	-
Ferrata A., Storti E. (4)	398	-	-	1 - 2 mois
Bernard J. (5)	-	-	-	0,5 – 2 mois
Fowler W. (6)	61	-	-	3,5 mois
Chevallier P. (7)	58	-	-	4,5 mois
Tzanck A., André R. (7)	28	-	-	3 ,3 mois
Lamy M. (7)	25	-	-	3,2 mois
Lamy M. (7)	16 (transfusés)	-	-	4,5 mois

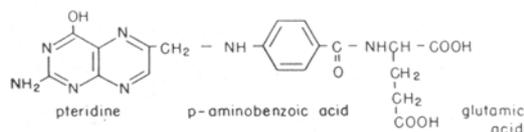
1. Whitby L., Britton C., *Disorders of the blood*, J. and A. Churchill, London, 1946.
2. Kugelmass N., *Blood disorders in children*, Oxford University Press, London, 1941.
3. Downey H., *Handbook of Hematology*, 4, Medical Book Department of Harper and brothers, Paul B. Hoeber Inc., New York, 1938.
4. Ferrata A., Storti E., *Le malattia del sangue*, Società Editrice Libreria, Milan, 1946.
5. Bernard J., *Maladies du sang et des organes hématopoïétiques*, Editions Médicales Flammarion, 1948.
6. Fowler W., *Hematology for students and practitioners*, Medical Book Department of Harper and brothers, Paul B. Hoeber Inc., New York, 1945.
7. Communications personnelles.

Durée de vie moyenne dans les leucémies aiguës (Bessis M., Dausset J., *Etude critique des rémissions au cours des leucémies aiguës traitées par exsanguino-transfusion*, Rev. Hémat., 5 : 188-225, 1950).

Annexe 7

NUTRITIONALLY ACTIVE SUBSTANCES

PTEROYL
GLUTAMIC
ACID (*PGA*,
Folic Acid)



PTEROYL
DIGLUTAMIC
ACID (*PG₂*,
Diapterin)

pteridine - p-aminobenzoic acid - two glutamic acids joined by peptide links

PTEROYL
TRIGLUTAMIC
ACID (*PG₃*,
Triapterin)

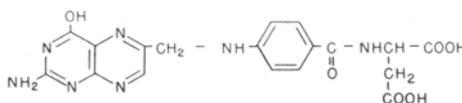
pteridine - p-aminobenzoic acid - three glutamic acids joined by peptide links



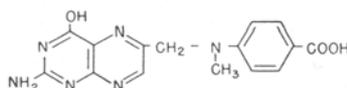
AMINOPTERIN

BIOLOGICAL ANTAGONISTS

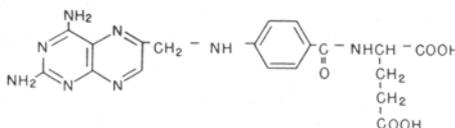
PTEROYL
ASPARTIC
ACID
(*An-Fol A or R*)



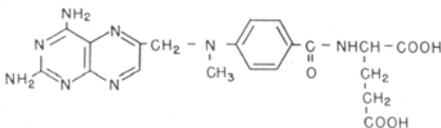
METHYL
PTEROIC
ACID
(*Met-Fol B*)



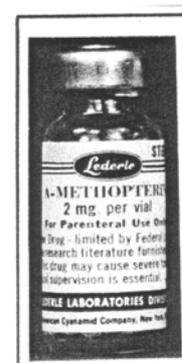
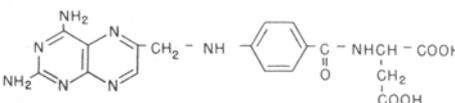
4-AMINO
PTEROYL
GLUTAMIC
ACID
(*Aminopterin*)



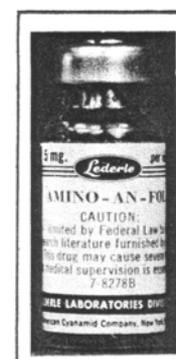
4-AMINO
METHYL
PTEROYL
GLUTAMIC
ACID
(*A-Methopterin*)



4-AMINO
PTEROYL
ASPARTIC
ACID
(*Amino-An-Fol*)



A-METHOPTERIN



AMINO-AN-FOL

Formules chimiques de l'acide folique et de ses dérivés (Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancer*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949).

Produits commercialisés par les Laboratoires Lederle (Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune and Stratton, New York, 1949).

Annexe 8

Equipe	Molécule	Doses (mg/j)	Durée du traitement	Nombre de cas	Age des patients	Type de leucémie
Meyer (1)	acide pteroyl-aspartique	20-40		5	6 – 72 ans	Myéloïde
	acide N ¹⁰ -méthyl-pteroïque	20-80				
Farber (2)	acide pteroyl-aspartique	40	7 jours	1	4 ans	
	acide pteroyl-aspartique			14	enfants	
	acide méthyl-pteroïque			7	enfants	Myéloïde
Farber (3)	aminoptérine	0,5-1	~ 4 mois	16	enfants	
Stickney (4)	aminoptérine			18	divers	
Jacobson (5)	aminoptérine ou méthoptérine	2 mg tous les 2 jours		10	8 enfants 2 adultes	7 lymphoïde 3 monocytes
Pierce (6)	aminoptérine	0,25-1 1-2	1-4 mois	11	10 enfants 1 adulte	

Equipe	Etat clinique	Etat du sang périphérique	Etat de la moelle osseuse	Rémissions		Durée de vie
				Taux	Durée	
Meyer (1)		chute parfois très marquée de la leucoblastose et la leucocytose		4/5	3 rechutes	1 décès
Farber (2)	aucun changement		chute de la leucoblastose			
						Augmentée
Farber (3)	amélioration	amélioration	?	10/16	3 mois	6 sans réponse dont 4 décès
Stickney (4)	amélioration	amélioration	amélioration parfois très marquée	faible		
Jacobson (5)	amélioration	amélioration	?	2/10		3 décès 5 sans réponse
Pierce (6)	8 améliorations	8 améliorations	2 améliorations	8/11	1,5 mois	3 décès

1. Meyer L., *Use of folic acid derivates in the treatment of human leukemia*, Trans. New-York Acad. Sci., série 11-10 : 75-81, 1948 (Académie des sciences de New York, décembre 1947).
2. Farber S., *Some observations on the effect of folic acid antagonists on acute leukemia and other forms of incurable cancer*, Blood, 4 (2) : 160-167, 1949 (Congrès de la Société internationale d'hématologie, Buffalo, août 1948).
3. Farber S. et coll., *Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroylglutamic acid*, New Engl. J. Med., 238 : 787-793, 1948 (Hôpital des enfants de Boston, avril 1948).
4. Stickney J. et coll., *Changes in blood and bone marrow in acute leukemia induced by Aminopterin*, J. Lab. Clin. Med., 33 : 1481, 1948 (Société centrale pour la recherche clinique, fin 1948).
5. Jacobson W. et coll., *Observations on the treatment and of acute leukemias with analogues of folic acid*, J. Lab. Clin. Med., 33 : 1641-1642, 1948 (Société centrale pour la recherche clinique, fin 1948).
6. Pierce M. et coll., *Treatment of acute leukemia with aminopterin*, J. Lab. Clin. Med., 33 : 1642-1643, 1948 (Société centrale pour la recherche clinique, fin 1948).

Premiers essais de traitement de la leucémie aiguë humaine par les antifoliques (1/2)

Equipe	Molécule	Doses (mg/j)	Durée du traitement	Nombre de cas	Age des patients	Type de leucémie
Dameshek (7)	aminoptérine	1-4	aussi longtemps que possible	35	4 enfants	10 lymphoïdes 9 myéloïdes 3 monocytes 4 inclassable
	a-méthoptérine	2-5				
	amino-an-fol	25-75				
	a-ninoptérine	5-15				
Meyer (8)				43		
Farber (9)	aminoptérine seule ou combinée à l'amino-an-fol ou à l'a-méthoptérine			48		
Stickney (10)				54		
Dameshek (11)				40	34 adultes	8 décès
Bernard (12)	aminoptérine	1-2	10-20 j et pendant la rémission (1dose/sem)	44		
	a-méthoptérine	2-4				
	amino-an-fol	25-50				
	a-ninoptérine	5-10				

Equipe	Etat clinique	Etat du sang périphérique	Etat de la moelle osseuse	Rémissions		Durée de vie
				Taux	Durée	
Dameshek (7)	améliorations plus ou moins importantes pendant au moins deux mois.			9/35 5/10 LAL 3/9 LAM 0/3 mono.	2-8,5 mois	9 décès
Meyer (8)				4/43		
Farber (9)	18 améliorations	15 aspect normal	9 aspect normal	18/48	1-5 mois	
Stickney (10)				8/54		
Dameshek (11)				10/44		
Bernard (12)	18 améliorations	?	13 aspect normal	31/44		13 cas sans réponse

7. Dameshek W., *The use of folic acid antagonists in the treatment of acute and subacute leukemia*, Blood, 4 (2) : 168-171, 1949 (Société d'hématologie de New York, novembre 1948).
8. Meyer L. et coll., *Aminopterin in the treatment of leukemia*, Am. J. Clin. Path., 19 (2) : 119-126, 1949 (Académie des sciences de New York, octobre 1948).
9. Farber S., réunion annuelle de la Société américaine du cancer, novembre 1948 (Fonds Bessis, correspondance avec Dausset J., 20.11.1948).
10. Stickney J. et coll., *The treatment of acute leukemia with folic acid antagonists*, Proc. Staff Meet. Mayo Clin., 24 (21) : 525-533, 1949.
11. Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune and Startton, New York, 1949.
12. Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41 : 285-287, 1951.

Premiers essais de traitement de la leucémie aiguë humaine par les antifoliques (2/2)

Annexe 9**THE PREMISE***Specific Chemicals kill Specific Cells***THE HOPE***Ultimate Control of Leukocytic Proliferations Lies in Chemotherapy*

Chimiothérapie des leucémies et des lymphomes (Dameshek W., *Chemotherapy of leukemia and leukosarcoma*, Grune and Stratton, New York, 1949)

Annexe 10

le laboratoire français des stéroïdes

1958 CORTISONE ROUSSEL
 1953 HYDROCORTISONE ROUSSEL
 1955 CORTANCYL
 1957 HYDROCORTANCYL
 1959

DECTANCYL

21-acétate de 16 α -méthyl, 9 α -fluoro-deltahydrocortisone

**Toutes les indications de la
 CORTICOTHÉRAPIE**

Flacon de 30 comprimés, avec barre de cassure,
 dosés à 0,55 mg d'acétate de dexaméthasone
 correspondant à 0,5 mg de dexaméthasone base.

Tableau A.
 Prix : 2.200 Francs.
 Remboursé par la Sécurité Sociale.



**FABRICATION NATIONALE
 DIFFUSION MONDIALE**

LES LABORATOIRES ROUSSEL - 35, Bd des Invalides, Paris 7^e
 laboratoires français de chimiothérapie

59-26

Publicité pour le Dectancyl® (dexaméthasone) des Laboratoires Roussel
 (Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 318, 1959)

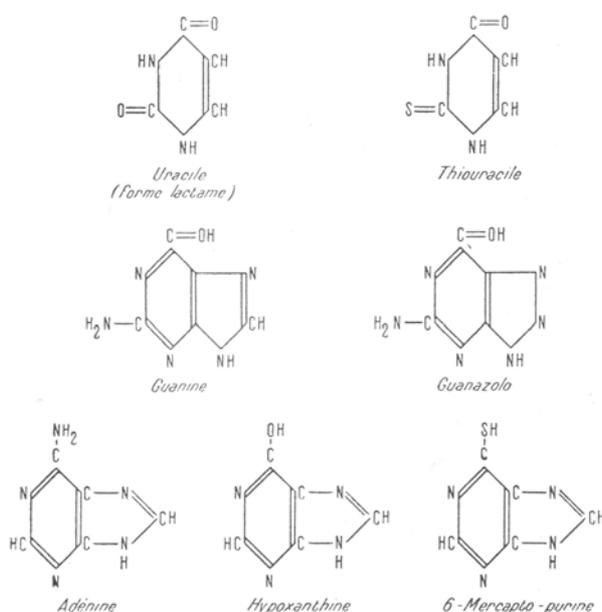
Annexe 11

	enfants		adultes		total	
	Nb de cas	Nb de rémissions	Nb de cas	Nb de rémissions	Nb de cas	Nb de rémissions
2 ^{ème} conférence de l'ACTH (1)	175	80	60	14	235	94
Burchenal J. (2)	60	29	26	3	86	32
Dameshek W. (3)	9	8	11	1	22	9
Wintrobe M. (4)	8	0-4	3	1	11	1-5
Bernard J.	50	17-44	16	2-7	66	19-51

- (1) *Proceedings of the Biological and Clinical Conference on ACTH*, volume 2, Mate J.R., Philadelphia, 1951.
- (2) Burchenal J., *Etat actuel du traitement de la leucémie et des maladies similiaires, par l'hormone corticotrope, la cortisone et les médications antimétaboliques*, C.R. du 3^{ème} Congrès de la Société européenne d'hématologie, 1952.
- (3) Rosenthal M., Saunders R., Schwartz L., Zannos L., Santiago E., Dameshek W., *The use of adrenocorticotrophic hormone and cortisone in the treatment of leukemia and leukosarcoma*, Blood, 6 : 804-824, 1951.
- (4) Wintrobe M., Cartwright G., Palmer J., Kuhno W., Sammels L., *Effects of corticotrophin and cortisone in the blood in various disorders in man*, Arch. of Intern. Med., 88 : 310-336, 1951.

Premiers résultats du traitement de la leucémie aiguë par la cortisone ou l'ACTH (Bernard J., Bessis M., *Leucémies et glandes endocrines*, Le sang, 22 : 205-233, 1952)

Annexe 12



Les bases azotées des acides nucléiques (à gauche) et leurs dérivés (à droite) utilisés en chimiothérapie anticancéreuse (Bernard J., Seligmann M., *Le traitement des leucoses par la 6-mercaptopurine*, Sem. Hôp. Paris, 30 (50-51) : 2971-2977, 1954)

Annexe 13

Equipe	Hôpital	Laboratoire	Ville	Etat	1^{er} essai (1953)	Nb de cas
Burchenal J.	Hôpital mémorial	Institut Sloan-Kettering, Université Cornell	New York	New York		189
Farber S.	Hôpital des enfants	Fondation pour la recherche sur les cancers des enfants	Boston	Massachusetts		60
Bernard J.	Hôpital Hérold		Paris	France	Février	50
Bethell F.	Hôpital universitaire, Institut mémorial Simpson	Université du Michigan	Ann Arbor	Michigan	Février	48 ?
Rosenthal N.	Hôpital de Harlem, Hôpital du Mont Sinaï		New York	New York		47
Doan C.		Université de l'Ohio	Columbus	Ohio	Avril	37
Gaffney P.	Hôpital des enfants de Pittsburgh	Université de Pittsburgh	Pittsburgh	Pennsylvanie		37
Hyman G.	Hôpital Francis Delafield, Hôpital presbytérien	Université Columbia	New York	New York		34
Hill J.	Institut de Wadley, Hôpital universitaire	Université Baylor	Dallas	Texas	Avril	34
Pierce M.	Hôpital pour enfants Bobs Roberts	Université de Chicago	Chicago	Illinois	Janvier	22
Sawitsky A.	Hôpital général de la Reine		New York	New York		~ 20
Rundles W.	Hôpital Duke	Université Duke	Durham	Caroline du Nord	Juin	18
Jiménes de Asúa F.	Centre « Gallego »		Buenos Aires	Argentine		16
DeMarsh Q.		Université de Washington	Seattle	Washington		~ 14
Rice C.	Hôpital des enfants		Washington	District de Columbia		12
Newton W.	Hôpital des enfants	Université de l'Ohio	Columbus	Ohio	Mars	11
Petrakis N.		Institut national du cancer	Bethesda	Maryland	octobre	~ 10
		Université de Californie	San Francisco	Californie		
Wilson S.	Centre médical universitaire	Université du Kansas	Kansas City	Kansas		~ 10
Sydenstricke V.		Faculté de médecine de Géorgie	Augusta	Géorgie		8
Lozner E.	Centre médical du Nord de l'Etat de New York	Université de l'Etat de New York	Syracuse	New York	Mars	6
Dameshek W.	Centre médical de Nouvelle-Angleterre	Laboratoire de recherche sur le sang	Boston	Massachusetts		6
Fountain J.		Université de Leeds	Leeds	Royaume-Uni		?

Liste des équipes ayant présenté des cas de leucémie aiguë traitée par la 6-mercaptopurine lors de la Conférence sur la 6-mercaptopurine de l'Académie des sciences de New York les 30 avril et 1^{er} mai 1954 (d'après Minor R. Ed., 6-mercaptopurine, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954).

Annexe 14

Equipe	Patients	Nombre de cas		Pourcentage de rémissions					
		cas traités	cas non valides	complètes	satisfaisantes	bonnes	partielles	incomplètes	améliorations
Burchenal	Enfants	87	0			47%	18%		
	Adultes	50	0			14%	20%		
	Total	137	0			35%	19%		
Farber	Total	19	?	5%			32%		
Bernard	Enfants	29	6	35%	17%	(52%)	(35%)	13%	22%
	Adultes	5	0	0%	0%	(0%)	(60%)	0%	60%
	Total	34	6	29%	14%	(43%)	(39%)	11%	31%
Jiménès de Asúa	Enfants	6	0	5%					

NB : seuls trois auteurs ont défini les termes employés pour regrouper les résultats :

Auteur	Expression	Etat général	Etat du sang	Etat de la moelle	
				% de blastes	% de blastes et lymphocytes
Burchenal	Rémission bonne	bon	bon		<30%
	Rémission partielle				
Bernard	Rémission complète	normal	normal	<7%	
	Rémission satisfaisante	normal	normal	7-25%	
	Rémission incomplète	correct	% de blastes <1%	25-50%	
	Amélioration	mieux	mieux		
Pierce	Rémission bonne	normal	normal	<10%	

Entre parenthèse, sont rassemblés respectivement pour comparaison les résultats des deux premières et des deux dernières catégories utilisées par Jean Bernard.

Les « cas non valides » correspondaient aux patients traités moins de trente jours pour Sidney Farber et aux patients traités moins de trois semaines pour Jean Bernard, Nathan Rsoenthal, George Hyman et Mila Pierce.

Résultats du traitement des leucémies aiguës par la 6-mercaptopurine seule (d'après Minor R. Ed., 6-mercaptopurine, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954).

Annexe 15

Equipe	Patients	Nombre de cas		Pourcentage de rémissions					
		cas traités	cas non valides	complètes	satisfaisantes	bonnes	partielles	incomplètes	améliorations
Burchenal	Total	189							
Farber	Total	60		15%			31%		7%
Bernard	Enfants	42	8	32%	15%	(47%)	(26%)	9%	18%
	Adultes	8	0	0	13%	(13%)	(38%)	13%	25%
	Total	50	8	26%	14%	(40%)	(26%)	10%	19%
Rosenthal	Enfants	12	1			45%	18%		
	Adultes	35	6			3%	41%		
	Total	47	7			15%	35%		
Gaffney	Total					43%	39%		
Hyman	Enfants	22	3			37%	32%		
	Adultes	12	6			33%	33%		
	Total	34	9			36%	32%		
Pierce	Enfants	22	7			33%	32%		9%

NB : voir annexe 14.

Résultats du traitement des leucémies aiguës par la 6-mercaptopurine seule ou en association avec un antifolique et/ou une hormone (d'après Minor R. Ed., 6-mercaptopurine, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954).

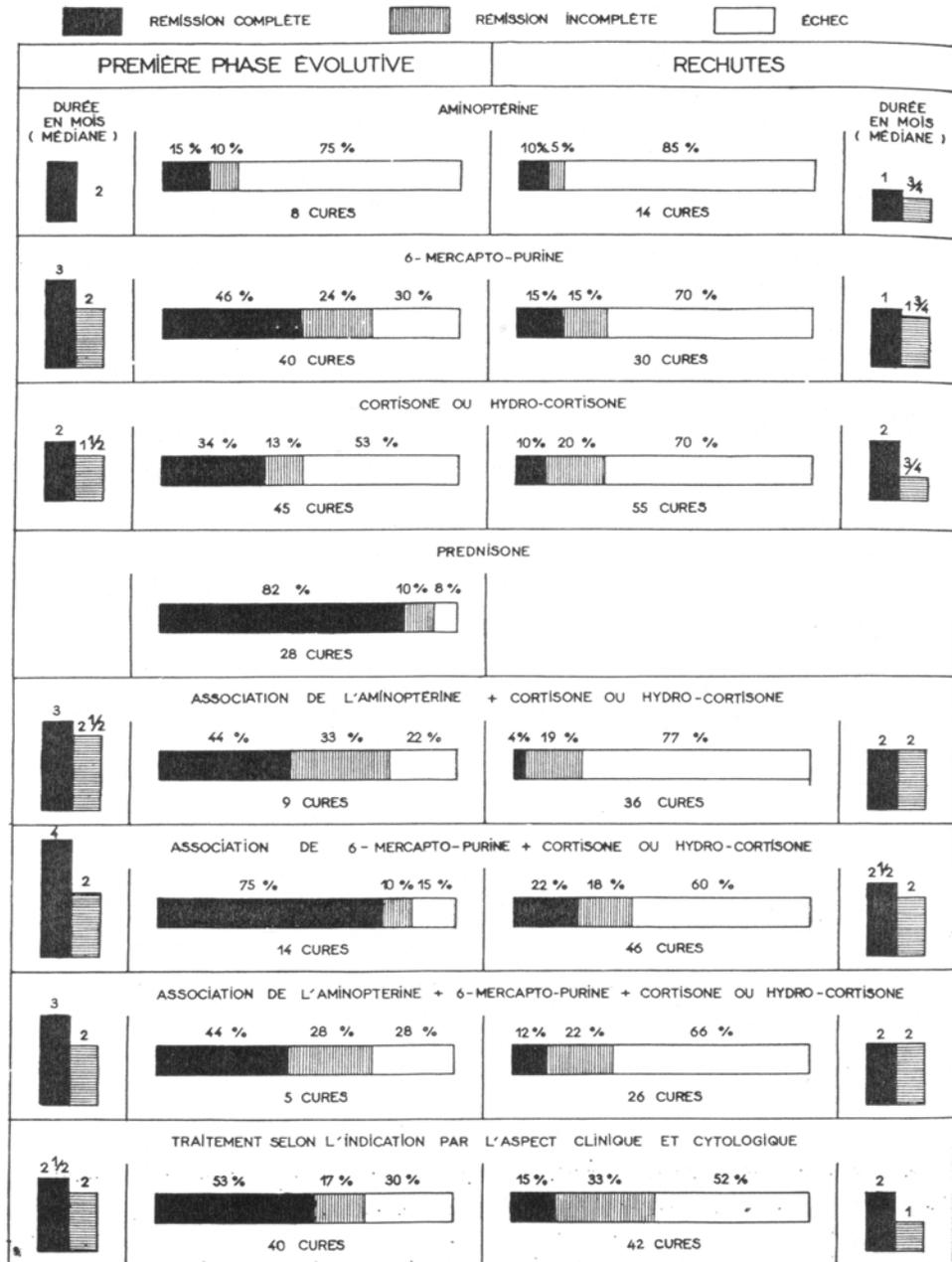
Annexe 16

Equipe	Aucun traitement		Antifoliques ou Cortisone		Antifoliques+cortisone+6-MP	
	Nb de cas	survie > 1 an	Nb de cas	survie > 1 an	Nb de cas	survie > 1 an
Burchenal J.	218	5%	154	29%	52	52%

Equipe	Antifoliques		Cortisone/ACTH		6-MP	
	Nb de cas	% rémissions	Nb de cas	% rémissions	Nb de cas	% rémissions
Bernard J.		30%		30-40%		35%
Pierce M.	33	45%	37	73%	15	33%
Gaffney P.	19	53%	21	62%	23	43%

Comparaison des traitements des leucémies aiguës (d'après Minor R. Ed., 6-mercaptopurine, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954).

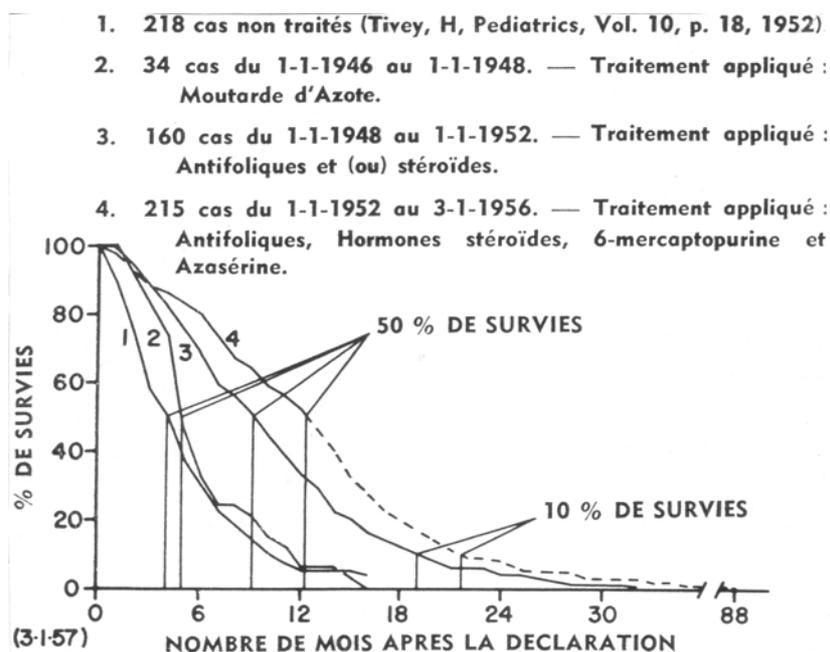
Annexe 17



NB : la prednisonne fut systématiquement utilisée chez les 28 derniers patients.

Leucose aiguë : étude des rémissions obtenues par différentes modalités thérapeutiques chez 189 enfants (Bernard J., Mathé G., « Quelles sont les meilleures associations et combinaisons thérapeutiques dans les leucoses aigus ? » in *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, 1958, p. 102).

Annexe 18



NB : l'azasérine fut utilisée à partir de mai 1953, cet antagoniste de la glutamine s'étant montré capable d'améliorer l'effet de la 6-MP sur la leucémie expérimentale L1210.

Leucose aiguë : survie (en mois) des malades âgés de moins de 15 ans (Murphy M., Tan C., Burchenal J., « Résultats du traitement des leucoses aiguës de l'enfant » in *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, 1958, p. 97-100.)

Annexe 19

Traitement d'attaque	Traitement d'entretien	<u>Nb de cas</u>	Taux de rechutes à six mois
Cortisone	aucun	11	90%
6-MP	aucun	21	95%
Prednisone	6-MP	23	50%

Leucose aiguë : taux de rechutes à six mois en fonction du traitement (d'après Bernard J., Mathé G., « Quelles sont les meilleures associations et combinaisons thérapeutiques dans les leucoses aiguës ? » in *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, 1958, p. 102).

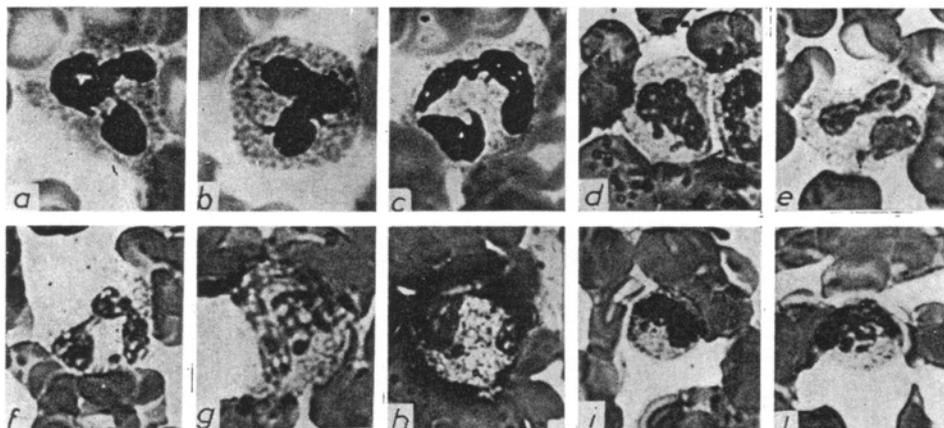
Annexe 20

Patients.	Phénotypes des patients et des donneurs.								Dates.		Quantité de moelle.	
D. V...	D. V.	A ₁	N	Cc	D	Ee	Kell	+				
	1 ^{er} donneur	A ₁	MN	Cc	D	ee	Kell	+	14-1-59	3 ^e jour	300 cm ³ =	10 ¹⁰ cellules nucléées
									15-1-59	4 ^e —	150 cm ³ =	4 · 10 ⁹ — —
	2 ^e donneur	A ₁	MN	Cc	D	Ee	kk		22-1-59	10 ^e —	400 cm ³ =	1,4 · 10 ¹⁰ — —
								24-1-59	12 ^e —	250 cm ³ =	6 · 10 ⁹ — —	
V. L...	V. L.	A ₁	M	CC	D	ee	kk					
	Donneur	A ₁	MN	Cc	D	ee	kk		20-2-59	7 ^e jour	200 cm ³ =	7 · 10 ⁹ cellules nucléées
									24-2-59	11 ^e —	200 cm ³ =	4 · 10 ⁹ — —
F. B...	F. B.	O	M	Cc	D	ee	kk					
	Donneur	O	MN	Cc	D	Ee	kk		20-2-59	7 ^e jour	200 cm ³ =	7 · 10 ⁹ cellules nucléées
									26-2-59	13 ^e —	338 cm ³ =	6,5 · 10 ⁹ — —

N. B. — Le sang injecté en dehors des transfusions de moelle (hématies déplasmatisées, exsanguino-transfusion) ne portait pas l'antigène qui marque les cellules du donneur de moelle.

Données concernant les transfusions de moelle (Mathé G., Bernard J., Schwarzenberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Denoix P., Schwaezmann V., Céoara B., *Essai de traitement de sujets atteints de leucémie aiguë en rémission par irradiation suivie de transfusion de moelle osseuse homologue*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 675-704, 1959).

Annexe 21



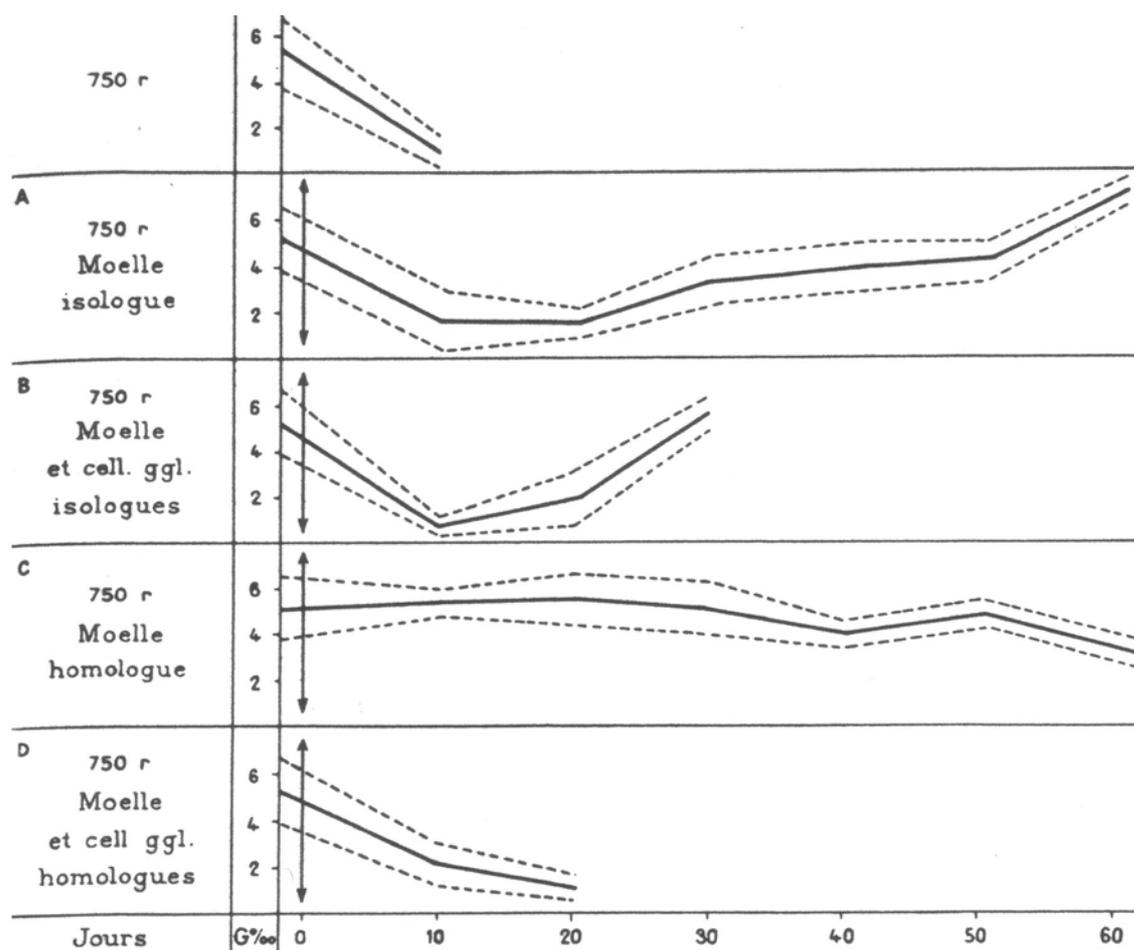
Granulocytes de E. D... photographiés sur frottis de sang prélevés : 1° avant la transfusion de moelle osseuse (fig. a, b et c : cellules avec appendices du type C); 2° après la transfusion (fig. d et e : cellules avec appendices du type B; fig. f, g, h, i et j : cellules avec appendices du type A). (× 1430.)

Dates	Appendices nucléaires			Diagnostic du sexe
	A	B	C	
8-6-1959	0	0	22 (*)	Masculin.
9-6-1959	0	1	28	»
10-6-1959	0	0	30	»
11-6-1959	0	0	11	»
13-6-1959	0	0	8	»
14-6-1959	0	0	13	»
20-6-1959	Transfusion de moelle de la mère.			
23-6-1959	Transfusion de moelle de la mère.			
7-7-1959	5	2	3	Féminin.
13-7-1959	6	1	6	»
18-7-1959	5	1	3	»
21-7-1959	3	0	1 (**)	»

(*) Formule établie à l'examen de 500 cellules.

(**) Formule établie à l'examen de 200 cellules (ces formules ont été faites avec le D^r C. BARROS).

Etude des appendices nucléaires des polynucléaires dans le sang d'un patient leucémique avant et après la transfusion de moelle de sa mère (Mathé G., Bernard J., De Vries M.J., Schwartzberg L., Larrieu M.J., Lalanne C., Dutreix A., Amiel J.L., 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, Revue d'hématologie, 15: 115-161, 1960).

Annexe 22

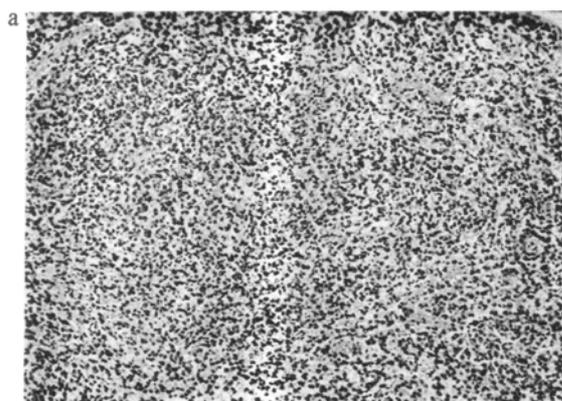
Etude quantitative des gamma-globulines de souris C57Br irradiées à la dose de 750 r et restaurées par des cellules médullaires ou médullaires et ganglionnaires, isologues ou homologues (Amiel J.L., Pays P., Mathé G., *Etude quantitative des gamma-globulines sériques de souris irradiées et restaurées par des cellules hématopoïétiques isologues ou homologues*, Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 6 : 453, 1961).

Annexe 23

	Chimères semi-isologues $C_{57}Bl_6$ recevant de la moelle de $F_1(C_{57}Bl_6 \times DBA_2)$	Chimères semi-homologues $F_1(C_{57}Bl_6 \times DBA_2)$ recevant de la moelle de $C_{57}Bl_6$
10 ^e jour après la restauration	Moyenne = $m = 3,4$ Intervalle de confiance sur la moyenne, au seuil de $P = 0,05$ $P = 1,05 = i = 2,4 - 4,4$	$m = 1,7$ $i = 1,4$ ————— 2,0
20 ^e jour après la restauration	$m = 3,6$ $i = 2,9$ ————— 4,3	$m = 1,6$ $i = 1,1$ ————— 2,1

Gamma-globulinémie des chimères semi-isologues et semi-homologues (Mathé G., Amiel J.L., *Etude sur le tissu lymphoïde des radiochimères hématopoïétiques*, Path. Biol., 9 : 894-901,1961).

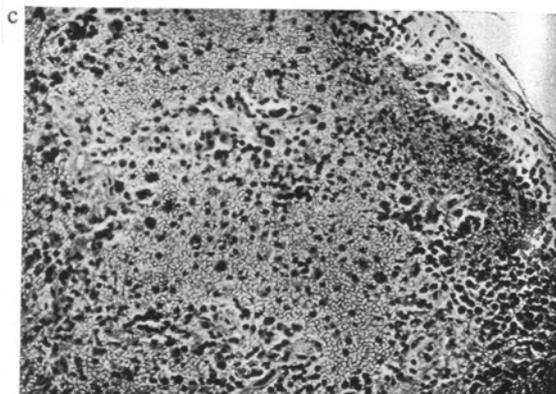
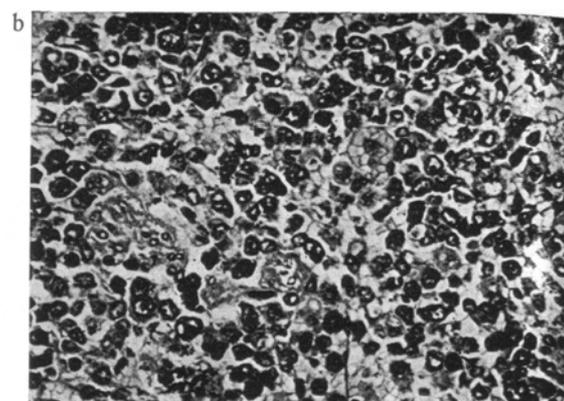
Annexe 24



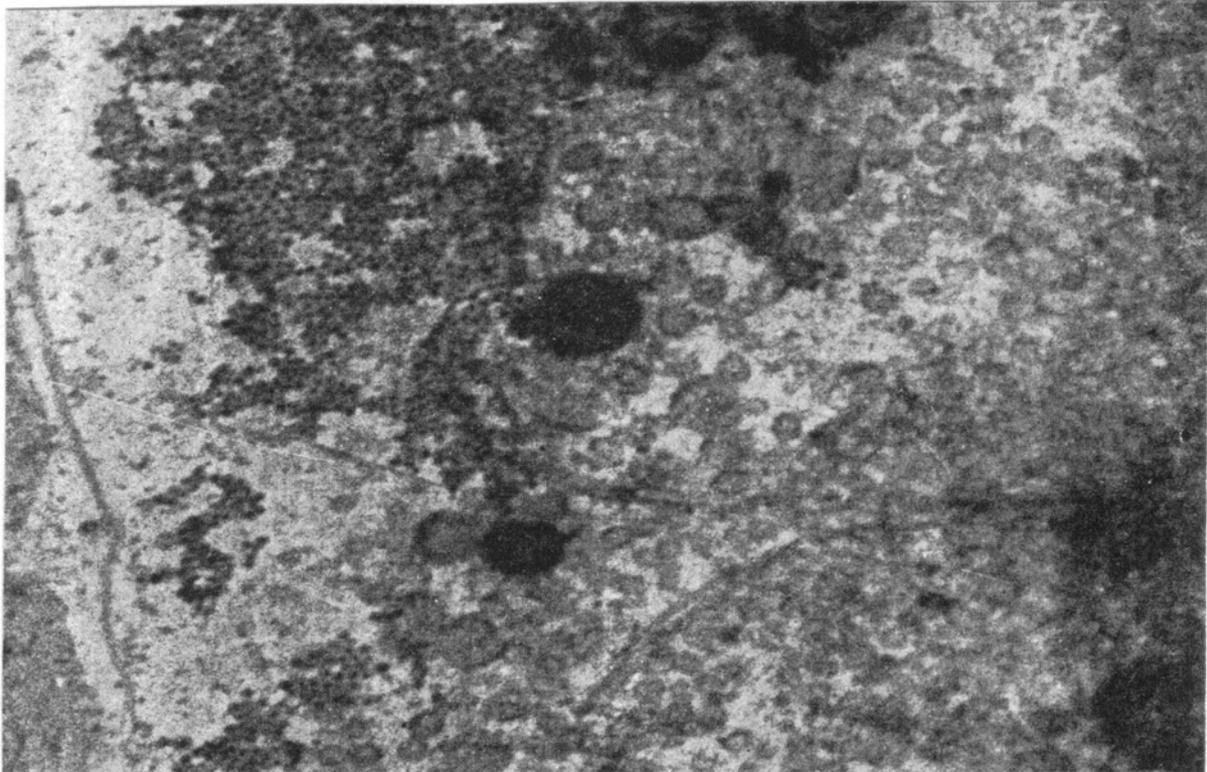
a Souris hybride $F_1 (C_{57}Bl_6 \times DBA_2)$ ayant subi une irradiation totale à la dose de 850 r suivie d'une transfusion de 10^7 cellules de moelle et de 10^7 cellules ganglionnaires de donneurs adultes $C_{57}Bl_6$ et morte cinq jours après. Noter la prolifération lymphoïde dans la rate (hémateïne-éosine).

b Souris hybride $F_1 (C_{57}Bl_6 \times DBA_2)$ ayant subi une irradiation totale de 850 r suivie d'une transfusion de 10^7 cellules de moelle et de $2,5 \times 10^7$ cellules ganglionnaires de donneurs adultes ($C_{57}Bl_6 \times DBA_2$) et morte sept jours après. (hémateïne-éosine). Noter la prolifération lympho-plasmocytaire dans la rate.

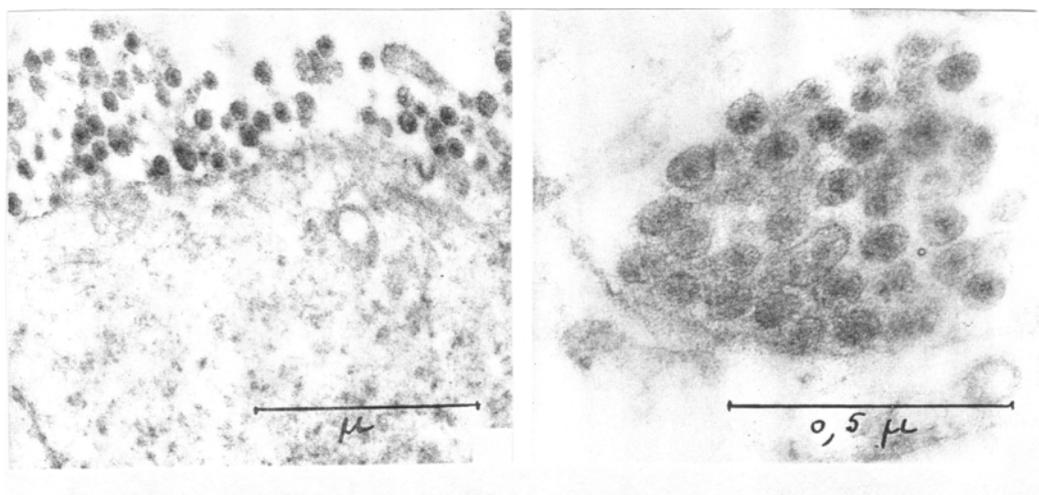
c Souris hybride $F_1 (C_{57}Bl_6 \times DBA_2)$ ayant subi une irradiation de 750 r suivie d'une transfusion de 10^7 cellules de moelle et de $2,5 \times 10^7$ cellules ganglionnaires de donneurs adultes $C_{57}Bl_6$ et morte quinze jours après (hémateïne-éosine). Noter l'aplasie lymphoïde et la congestion des sinus dans la rate.



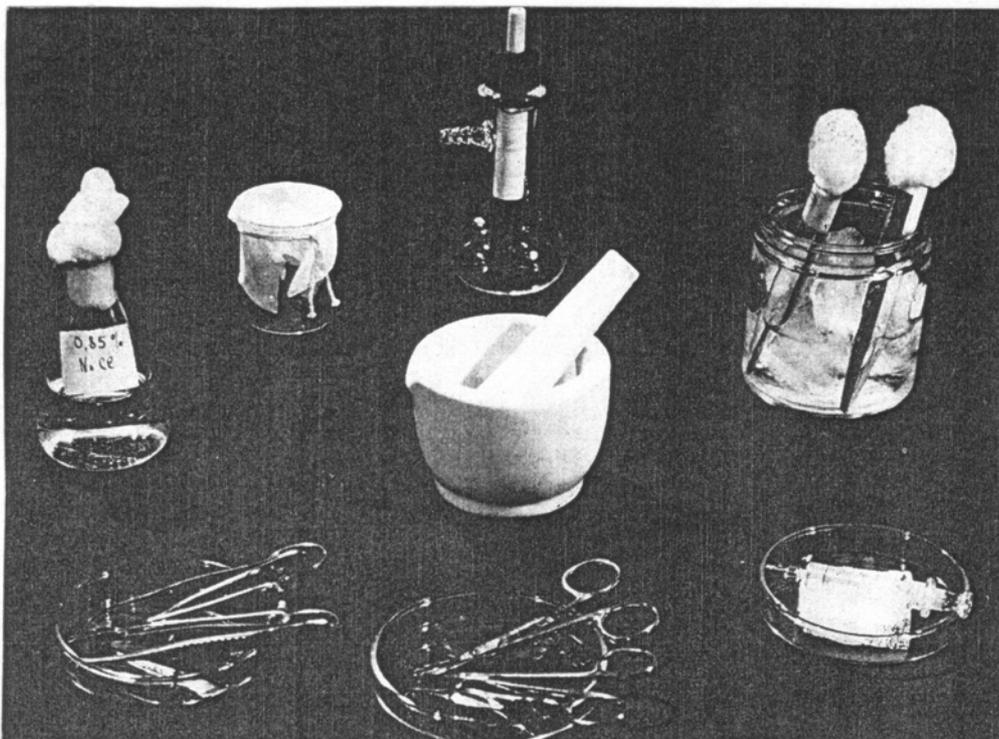
Coupes histologiques de la rate de souris atteintes de syndrome secondaire (Mathé G., Amiel J.L., *Etude sur le tissu lymphoïde des radiochimères hématopoïétiques*, Path. Biol., 9 : 894-901,1961).

Annexe 25

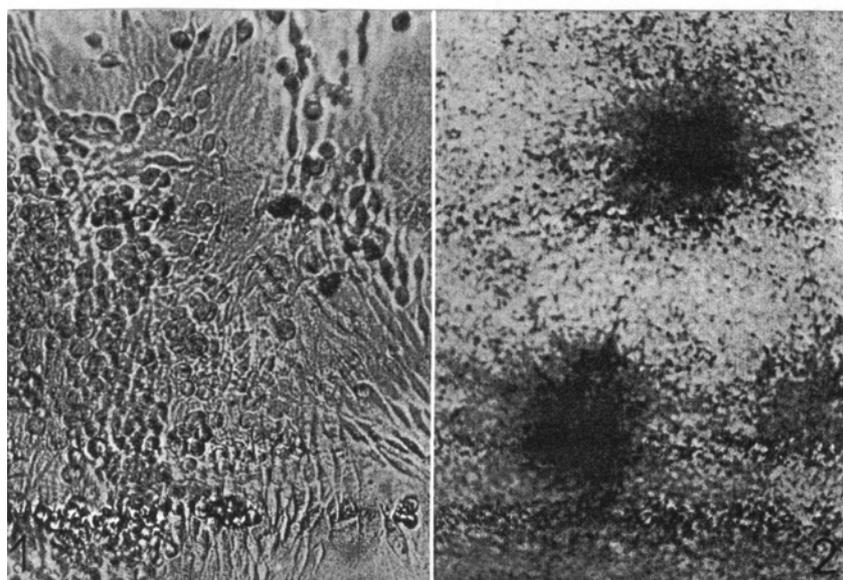
Portion d'une cellule de sarcome de Rous contenant des particules virales $\times 21.000$ (d'après Claude A., Porter K., Pickels E., *Electron microscope study of chicken tumor cells*, *Cancer res.*, 7 (7) : 421-430, 1947).

Annexe 26

Virus de l'érythroblastose aviaire (Bernhard W., *Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses. A review*, *Cancer Res.*, 18 : 491-513, 1958).

Annexe 27

Instruments pour la préparation d'un filtrat leucémique (Gross L., *Oncogenic viruses*, Pergamon Press, London, 1970, p.321)

Annexe 28

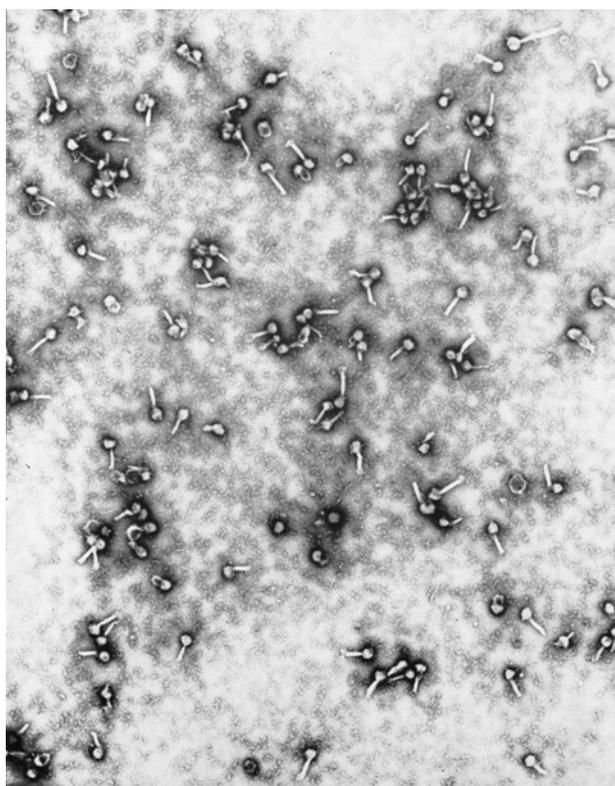
Foyers de cellules embryonnaires converties par le VSM. A gauche : cellules de rat $\times 160$. A droite : cellules de souris Balb/c $\times 80$ (Boiron M., Thomas M., Périès J., Bernard C., *Conversions cellulaires produites in vitro par le virus du sarcome de Moloney*, *Nouv. Rev. Franç. Hémat.*, 7 : 625-632, 1967).

Annexe 29

Ultracentrifugeuse analytique (Fonds IUH, article 1, plaquette de l'IRLMS, 1965).

Annexe 30

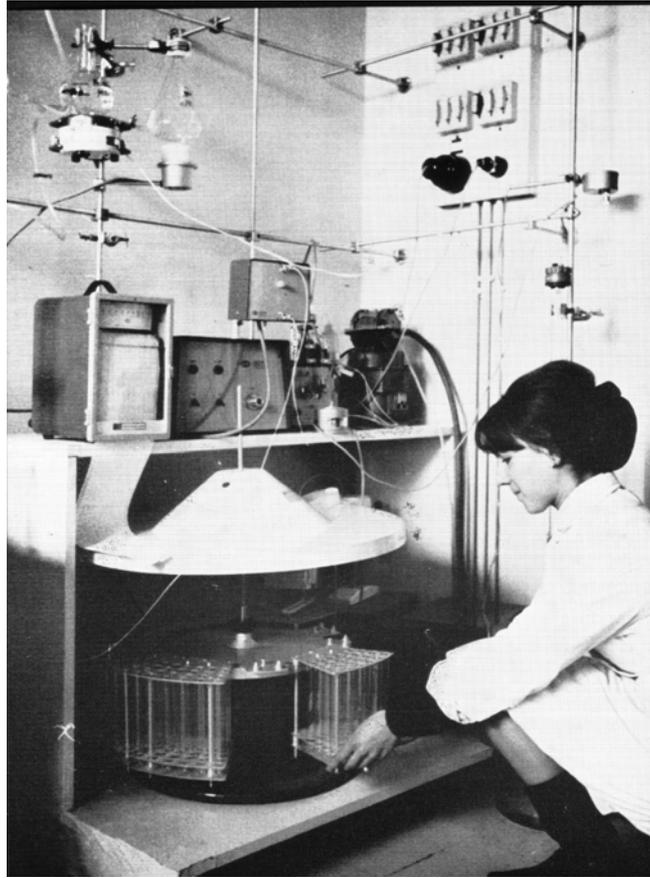
Microscope électronique Siemens (Fonds IUH, article 1, plaquette de l'IRLMS, 1965).

Annexe 31

Virus de la leucémie murine de Rauscher × 60.000 (Fonds IUH, article 1, plaquette de l'IRLMS, 1965).

Annexe 32

Compteur à scintillation liquide pour la mesure du rayonnement β (Fonds IUH, article 1, plaquette de l'IRLMS, 1965).

Annexe 33

Installation de chromatographie sur colonne avec collecteur automatique de fractions (Fonds IUH, article 1, plaquette de l'IRLMS, 1965).

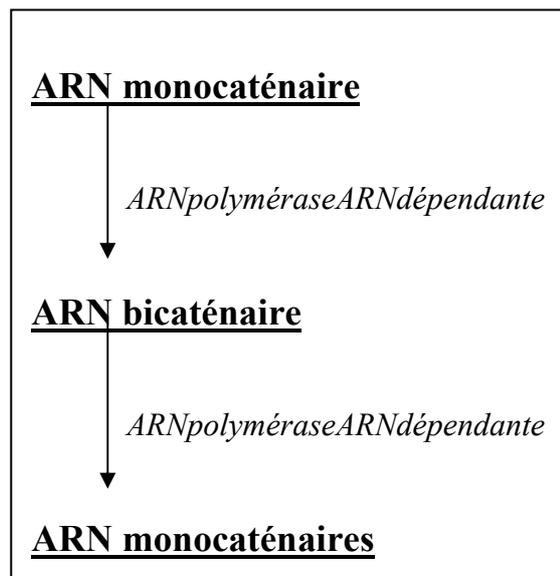
Annexe 34

Schéma de répliation des virus lytiques à ARN.

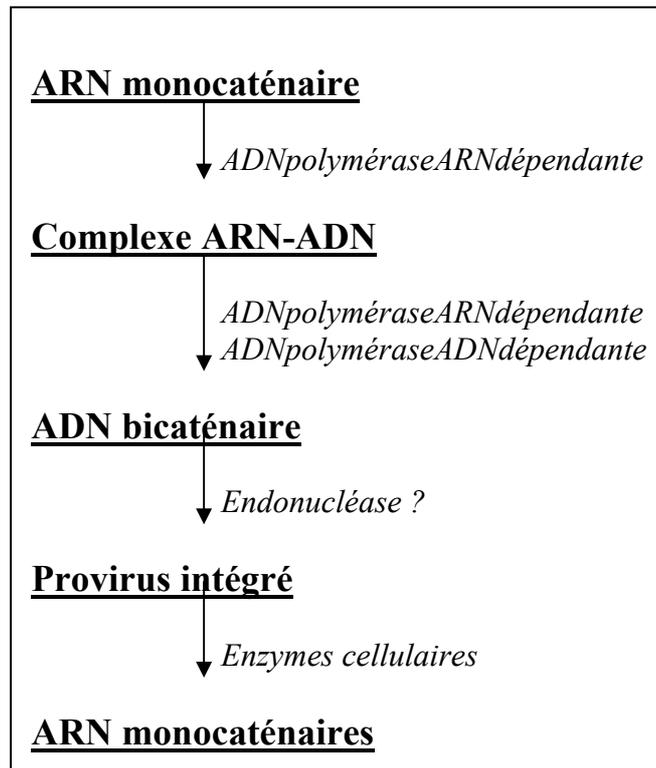
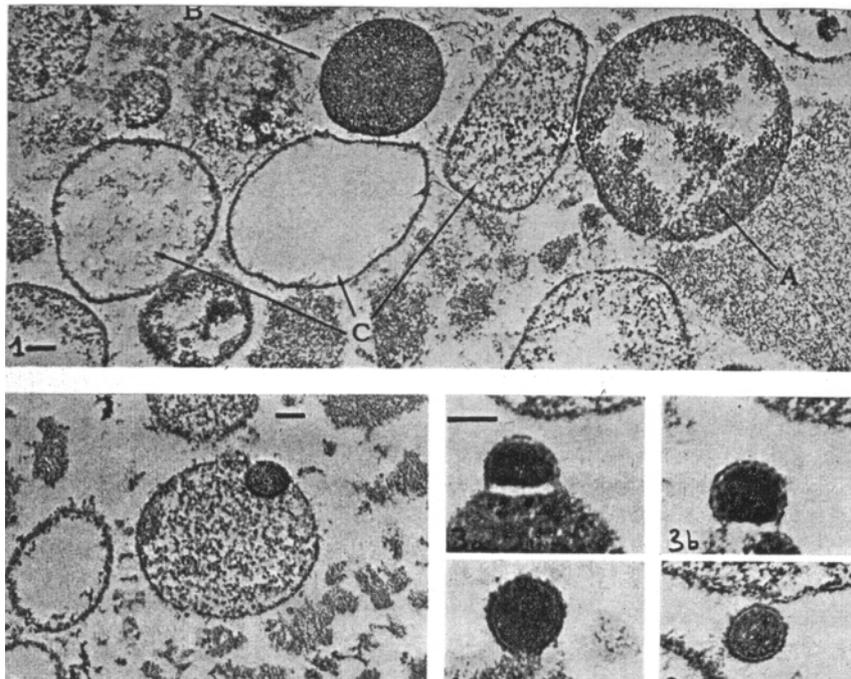


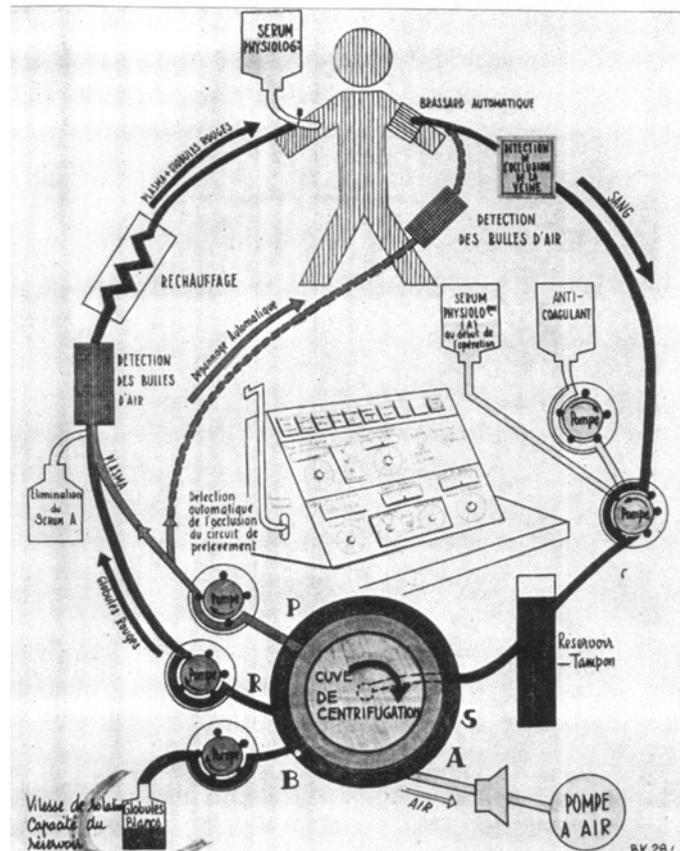
Schéma de répllication des virus oncogènes à ARN selon Howard Temin.

Annexe 35



Souche de mycoplasme Hep 2 : mycoplasmes, bourgeonnement d'un corps élémentaire (Leclerc J.C., Silvestre D., *Mycoplasmes et hémopathies humaines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (2) : 215-230, 1967).

Annexe 36

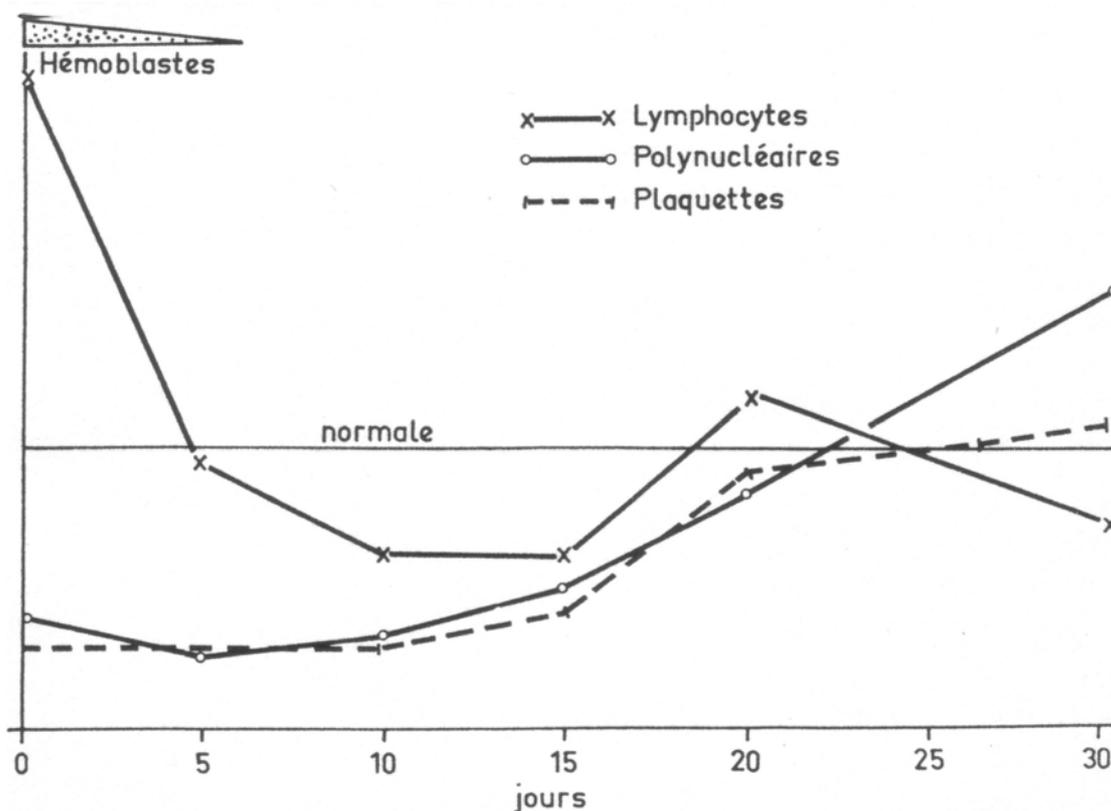


Séparateur de cellules sanguines à débit continu IBM (Schwarzenberg L., Nagi N.S., Pradet-Balade O., Mathé G., Utilisation pour la séparation des lymphocytes sanguins du séparateur de cellules sanguines à débit continu IBM, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 8 (5) : 579-583, 1968).

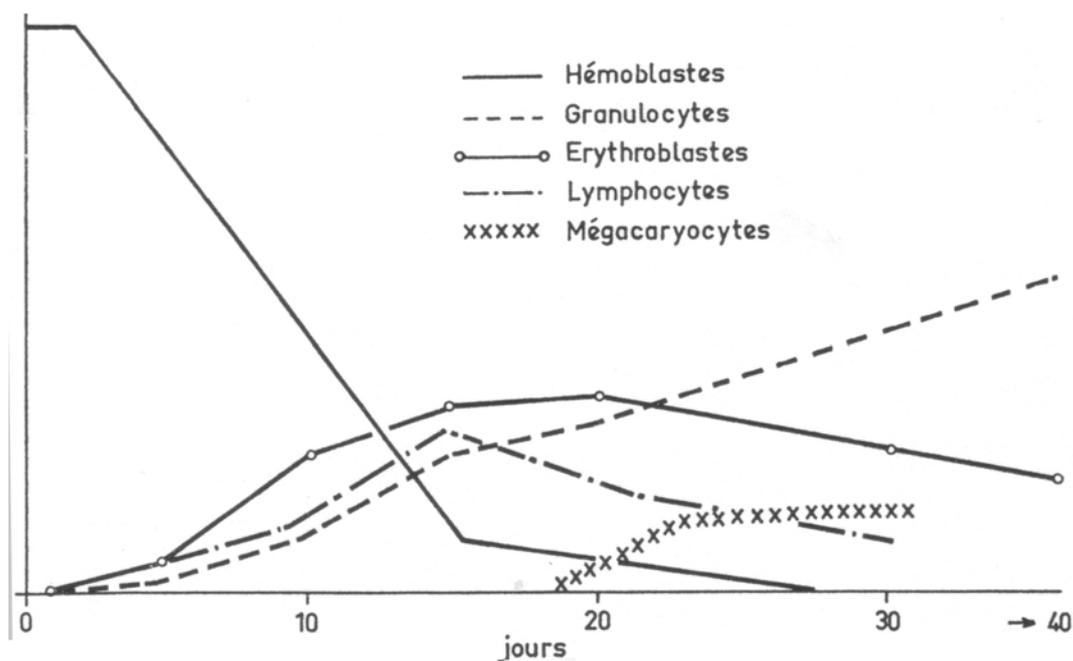
Annexe 37

Paramètres	Sang		Moelle
	Adulte	Enfant < 5 ans	
Hémoglobine	≥ 13 g/100 ml (femme) ≥ 14 g/100 ml (homme)	≥ 12 g/100 ml	Hémoblastes ≤ 5%
Leucocytes	$4000 \leq N \leq 10.000/\text{mm}^3$	$4000 \leq N \leq 12.000/\text{mm}^3$	Cellules mono-nuclées ≤ 15 %
Plaquettes	$N \geq 200.000/\text{mm}^3$	$N \geq 200.000/\text{mm}^3$	Mégacaryocytes ≥ 6/10.000
Granulocytes neutrophiles	$N \geq 2200 /\text{mm}^3$	$N \geq 1600 /\text{mm}^3$	Erythroblastes : 1/3 granulocytes
Durée minimale	1 mois		

Critères hématologiques de la rémission complète (d'après Bernard J., Boiron M., Weil M., Lévy J.P., Seligmann M., Najean Y., *Etude de la rémission complète de la leucémie aiguë (analyse de 300 cas)*, Nouv. Rev. Fr. Hématol., 2 : 195-222, 1962).

Annexe 38

Chronologie des modifications sanguines en cours de rémission complète (extrait de Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964).



Chronologie des modifications médullaires en cours de rémission complète (extrait de Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964).

Annexe 39

Traitement	Posologie	Taux de rémission complète	Durée de la rémission complète	Références
exsanguino-tranfusion		13 %	3 mois	IRLMS (1964, 1968)
a-méthoptérine (méthotrexate®)	2-4 mg/kg/j	5-30 %		IRLMS (1951, 1962) NCI (1961)
delta-cortisone (prednisone®)	1-3 mg/kg/j	57-82 % LAL : 77-85 % LAM : 6 %		IRLMS (1958, 1962, 1964) NCI (1963)
6-mercaptopurine (purinéthol®)	2,5 mg/kg/j	15-47 % LAL : 26 %	3 mois (médiane)	IRLMS (1954, 1958, 1962) SKI (1954), NCI (1961)
vincristine (oncovin®)	1-2 mg/m ² /s	46-57 % LAL : 24-70 %	2 mois (moyenne)	IRLMS (1966) IGR (1963) NCI (1962, 1963, 1966)
méthyl glyoxal bis (méthylgag®)	100-900 mg/m ² /s	15-22 % LAM : 10-22 %		IRLMS (1965, 1966)

cytosine arabinoside (aracytine®)	30-50 mg/m ² /j	25-50 % LAM : 30-33 %		IRLMS (1967, 1969)
daunorubicine (rubidomycine®)	15-70 mg/m ² /j	LAL : 53-60 % LAM : 30-60 %	5 mois (médiane)	IRLMS (1964, 1967, 1969)
asparaginase (kidrolase®)	5-4000 U/kg/j	LAL : 4-36 % LAM : 4-11 %		SKI (1967) WI (1967)

Abréviations

IGR : Institut Gustave Roussy (Villejuif), IRLMS : Institut de recherches sur les leucémies et les maladies du sang (Paris), LAL : leucémie aiguë lymphoblastique, LAM : leucémie aiguë myéloblastique, NCI : National Cancer Institute (Bethesda, Washington D.C.), SKI : Sloan-Kettering Institute (New York), WI : Wadley Institute (Dallas, Texas).

NB : les résultats varient beaucoup d'une publication à l'autre en fonction de la posologie, du nombre de cas traités, du moment de l'évolution, du pourcentage d'enfants et du pourcentage de leucémies aiguës lymphoblastiques inclus dans l'étude. Ces données sont rarement toutes fournies.

Références

Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucoses aiguës*, Paris Médical, 41^e année (20-26), 1951. Résultats du SKI et de l'IRLMS cités par Minor R. Ed., *6-mercaptopurine*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60 : 183-508, 1954. Bernard J., Mathé G., « Quelles sont les meilleures associations et combinaisons thérapeutiques dans les leucoses aiguës ? » in *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, 1958, p. 102. Frei E. et coll. (NCI), *Studies of sequential and combination antimetabolite therapy in acute leukemia : 6-mercaptopurine and methotrexate*, Blood, 18 : 431-454, 1961. Bernard J. et coll., *Etude de la rémission complète des leucémies aiguës (analyse de 300 observations)*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (2) : 195-222, 1962. Karon M. et coll. (NCI), *A preliminary report on vincristine sulfate - A new active agent for the treatment of acute leukemia*, Pediatrics, 30 (5) : 791-796, 1962. Freireich E. et coll. (NCI), *The effect of 6-mercaptopurine on the duration of steroid induced remissions in acute leukemia : a model for evaluation of other potentially useful therapy*, Blood, 21 : 699-716, 1963. Mathé G. et coll. (IGR), *Essai de traitement par la leurocristine de la leucémie aiguë lymphoblastique et du lymphoblastosarcome*, Presse médicale, 71 (10) : 529-532, 1963. Karon M. (NCI), *Preliminary report on vincristine. From acute leukemia group B*, Proc. Am. Ass. Cancer Res., 4 : 127, 1963. Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964, p. 1-15. Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965. Bernard J., *Progrès récents dans le traitement des hémopathies malignes*, Méd. Hyg., 24 (733) : 463-467, 1966. Bernard J. et coll., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, Presse Méd., 74 (24) : 1241-1245, 1966. Lortholary P. et coll. (IRLMS), *Evolution cytologique des leucémies aiguës lymphoblastiques traitées par la rubidomycine (note préliminaire)*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (1) : 130-132, 1967. Oettgen H. et coll. (SKI), *Inhibition of leukemias in man by L-asparaginase*, Cancer Res., 27 : 2619, 1967. Hill J. et coll. (WI), *L-asparaginase therapy for leukemia and other malignant neoplasms. Remission in human leukemia*, J.A.M.A., 202 : 116, 1967. Lortholary P., *Essais de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau : la rubidomycine (13057 RP). Etude de 61 observations*, Presse Méd., 75 (19) : 951-955, 1967. Bernard J., Jacquillat C., *La rubidomycine*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (3) : 317-320, 1967. Bernard J., *Treatment of leukemias, hodgkin's disease and allied diseases by natural products*, Lloydia, 30 (4) : 291-323, décembre 1967. Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises de Médecine, 25 (3) : 279-283, 1967. Bernard J. et coll., *Deux observations de leucémies aiguës du nourrisson très hyperleucocytaire*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 8 (6) : 847-849, 1968. Bernard J. et coll., *Rubidomycin. A new agent against cancer*, Recent Results Cancer Res., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969. Bernard J. et coll., *Traitement des leucémies aiguës myéloblastiques*, Haematologica, 3 (3) : 265-276, 1969.

Résultats des traitements de la leucémie aiguë employés seuls

Annexe 40

Traitement	Taux de rémission complète	Durée de la rémission complète ou durée de survie	Références
Antifolique et cortisone	33-64 %	DRC : 2-3 mois (moyenne)	IRLMS (1951, 1953, 1958, 1962)
Cortisone et 6-mercaptopurine	75 % (14 cas)	DRC : 4 mois	IRLMS (1958)
Aminoptérine puis 6-mercaptopurine	LAM : 5-15 %	DRC : 8 mois	IRLMS (1964, 1970)
Aminoptérine, cortisone et 6-mercaptopurine	33 % (5 cas) LAM : 8-12 %	DRC : 3 mois (5 cas)	IRLMS (1958, 1964, 1968)
Δ -cortisone et 6-mercaptopurine	82 % (154 cas)	50 % de rechute à 6 mois (23 cas)	IRLMS (1958), NCI (1965)
Δ -cortisone puis 6-mercaptopurine	68-94 %	DS : 7,5 mois (médiane)	IRLMS (1962, 1965)

Abréviations

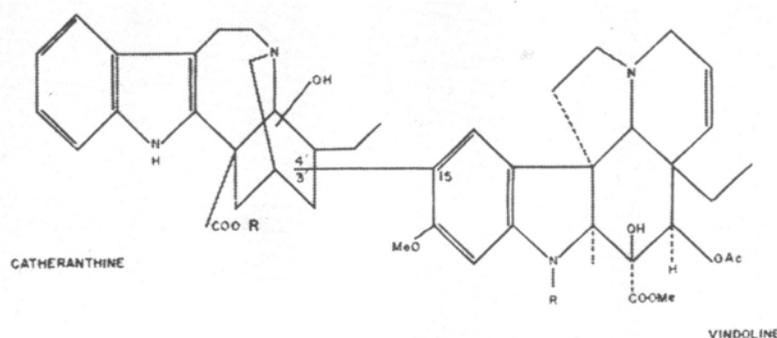
DRC : durée de la rémission complète, DS : durée de survie, IRLMS : Institut de recherches sur les leucémies et les maladies du sang (Paris), LAM : leucémie aiguë myéloblastique, NCI : National Cancer Institute (Bethesda, Washington D.C.).

NB : les résultats varient beaucoup d'une publication à l'autre en fonction de la posologie, du nombre de cas traités, du moment de l'évolution, du pourcentage d'enfants et du pourcentage de leucémies aiguës lymphoblastiques inclus dans l'étude. Ces données sont rarement toutes fournies.

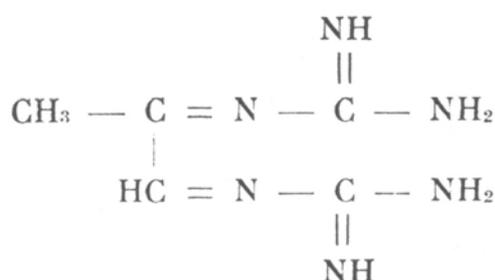
Références

Bernard J. et col., *Essai de traitement des leucoses aiguës de l'enfant par l'association aminoptérine-cortisone*, Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris, 16 (15) : 621, 1951. Bernard J., *Comment traiter les leucémies*, Flammarion, Paris, 1953. Bernard J., Deltour G., *Les nouveaux traitements des leucémies*, Sem. Hôp. Paris, 29 (67) : 3430-3431, 1953. Bernard J., Mathé G. Ed., *Colloque international : La chimiothérapie des cancers et des leucémies*, Editions CNRS, 1958. Bernard J. et col., *Etude de la rémission complète des leucémies aiguës (analyse de 300 observations)*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 2 (2) : 195-222, 1962. Bernard J., *Les leucémies de l'enfant*, Päd. Fortbildungskurse, S. Karger, Bâle, vol. 11-12, 1964, p. 1-15. Bernard J. et col., *Premiers résultats de l'association du méthylglyoxal bis (Guanylhydrazone) et de la 6-mercaptopurine dans le traitement des leucémies aiguës de la série granulocytaire*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (3) : 448-453, 1964. Frei E. et col. (NCI), *The effectiveness of combinations of antileukemic agents in inducing and maintaining remission in children with acute leukemia*, Blood, 26 : 642-656, 1965. Bernard J., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, L'omnipraticien français, 31 (8) : 539-542, 1965. Bernard J., *La rubidomycine*, Actualités hématologiques, 2 : 3-11, 1968. Bernard J., *Espoir de vie des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 251-252, 1970.

Associations thérapeutiques employées à l'IRLMS (1951-1964)

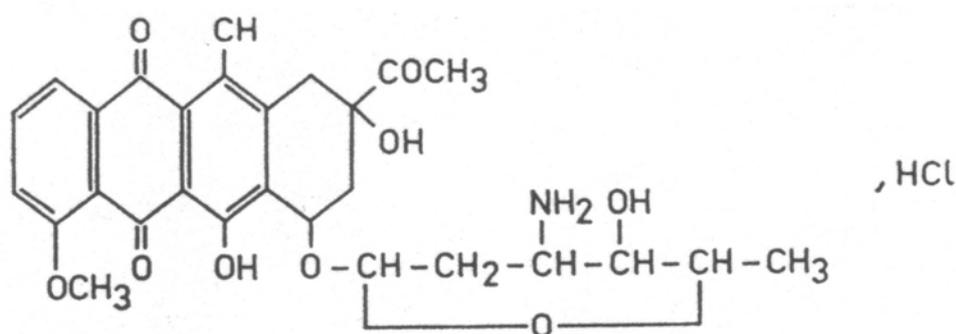
Annexe 41

Formule développée de la leurocristine et de la vincalécoblastine : R = CH₃ (vincalécoblastine) ou CHO (leurocristine).



1,1'-(méthyléthanediyli-denedinitrilo)-diguanidine.

Formule chimique du méthyl G. A. G.



Constitution probable de la rubidomycine d'après Arcamone et coll. (*J. Am. Chem. Soc.*, 86, 5334, 1964).

Formules chimiques de la vincristine, du méthyl glyoxal bis et de la daunorubicine (extraits de Mathé G. et coll., *Essai de traitement par la leurocristine de la leucémie aiguë lymphoblastique et du lymphoblastosarcome*, Presse Méd., 71 (10) : 529-532, 1963. Bernard J. et coll., *Premiers résultats de l'association du guanyl-hydrazone et de la 6-mercaptopurine dans le traitement des leucémies aiguës de la série granulocytaire*, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 4 (3) : 448-453, 1964. Bernard J. et coll., *Essais de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau : la rubidomycine (13057 RP). Etude de 61 observations*, Presse Méd., 75 (19) : 951-955, 1967).

Annexe 42

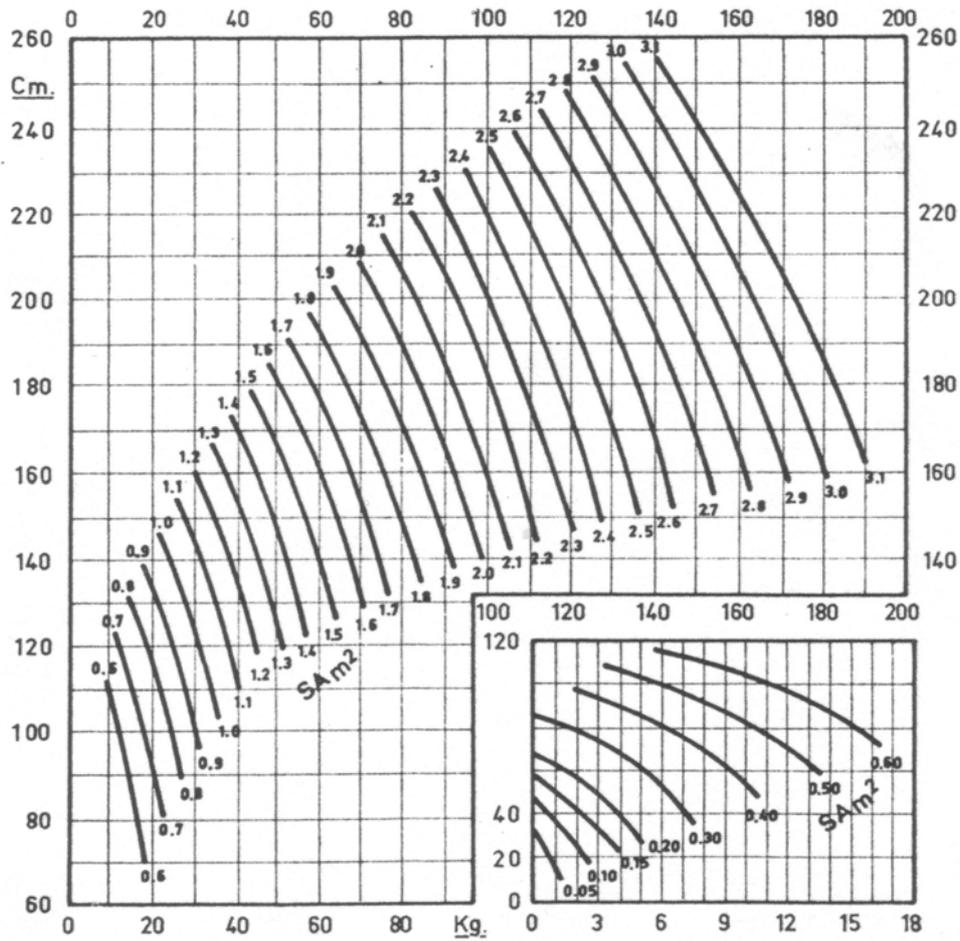


Table de surface corporelle en m² en fonction du poids en kg et de la taille en cm (extrait de Bernard J., Boiron M., Jacquillat C., Najean Y., Seligmann M., Tanzer J., Weil M., *Traitements actuels des leucémies aiguës*, Presse Méd., 74 (24) : 1241-1245, 1966).

Annexe 43

Protocole	Induction	Entretien	Réinduction
02LA64	<p>Δ-cortisone : 120 mg/m²/j p.o.</p> <p>Vincristine : 2 mg/ m²/s i.v.</p>	<p>6-mercaptopurine : 90 mg/m²/j p.o.</p> <p>a-méthoptérine : 15 mg/m²/2 fois par semaine i.m.</p>	<p><i>Tous les 6 mois :</i></p> <p>Δ-cortisone : 120 mg/m²/j x 15</p> <p>Vincristine : 2 mg/ m²/s x 3 (aux jours 1, 8, 15)</p>
04LA65	Id.	Id.	<p><i>A 1, 2, 4, 7, 11, 16, 22, 29 mois, etc. :</i></p> <p>Δ-cortisone : 120 mg/m²/j x 8</p> <p>Vincristine : 2 mg/ m²/s x 2 (aux jours 1, 8)</p>
CALG B 6601	Id.	a-méthoptérine : 60 mg/m ² /s	
06LA66	<p>Δ-cortisone : 100 mg/m²/j p.o.</p> <p>Vincristine : 1 puis 2 mg/m²/s i.v.</p> <p>Daunorubicine : 60 mg/m²/s i.v.</p>	<p>6-mercaptopurine : 90 mg/m²/j p.o.</p> <p>a-méthoptérine : 15 mg/m²/s i.m.</p>	<p><i>A 15 jours :</i> Vincristine et Daunorubicine.</p> <p><i>Aux mois 1, 2, 4 :</i> triple association pendant 1 s.</p> <p><i>Aux mois 7, 12, puis tous les 6 mois :</i> triple association pendant 2 s.</p>
01LA69 (adultes)	<p>Δ-cortisone Vincristine Daunorubicine Asparaginase</p>	6-mercaptopurine	<p>Δ-cortisone Vincristine Daunorubicine Asparaginase</p>

Abréviations

RC : rémission complète

Références02LA64, 04LA65 : Jacquillat C. et coll., *Effets de la méthode de réinduction au cours du traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 7 (5) : 677-682, 1967.CALGB 6601 : Dupuy J. et coll., *Depression of immunologic reactivity of patients with acute leukemia*, Cancer, 27 (2) : 323-331, 1971.06LA66 : Bernard J., *Chimiothérapie des leucémies et des hématosarcomes*, C. R. 37^{ième} Congr. Fr. Méd., Masson, Paris, 1969, p. 45-67.

01LA69 : Fonds IUH, article 11, correspondance avec Flamant R., 26.02.1973, 13 mars 1973.

Associations thérapeutiques employées à l'IRLMS dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (1964-1970)

Annexe 44

Traitement	Réf.
6-mercaptopurine (90 mg/m ² /j) Méthylgag (350 mg/m ² , 3 fois par semaine)	1,2
6-mercaptopurine (90 mg/m ² /j) Méthylgag (350 mg/m ² , 2 fois par semaine) A-méthoptérine (15 mg/m ² , 2 fois par semaine)	2
6-mercaptopurine (90 mg/m ² /j) Méthylgag (250 mg/m ² , 2 fois par semaine) Δ-cortisone (40 mg/m ² /j) Cytosine arabinoside (30 mg/ m ² /j)	3
<i>Induction</i> : Daunorubicine (60 mg/m ² /j) <i>Entretien</i> : 6-mercaptopurine (90 mg/m ² /j), A-méthoptérine (15 mg/m ² /s) <i>Réinduction aux mois 1, 2, 4, 7 et 11</i> : Daunorubicine (30 mg/m ² , 2 fois par semaine), Méthylgag (250 mg/m ² , 2 fois par semaine)	4
6-mercaptopurine (90 mg/m ² /j) Δ-cortisone (40 mg/m ² /j) Méthylgag (250 mg/m ² , 2 fois par semaine) Cytosine arabinoside (30 mg/ m ² /j) Daunorubicine (60 mg/m ² , 1 fois par semaine)	2, 5
6-mercaptopurine (90 mg/m ² /j) Méthylgag (250 mg/m ² , 2 fois par semaine) Daunorubicine (60 mg/m ² /j, 2 jours de suite tous les 3 jours)	2
Daunorubicine (60 mg/m ² /j, tous les 2 jours) en alternance avec A-méthoptérine (30 mg/m ² /j, tous les 2 jours)	2
Daunorubicine (60 mg/m ² /j, tous les 2 jours) en alternance avec A-méthoptérine (30 mg/m ² /j, tous les 2 jours) Asparaginase (1000 U/kg/j)	2

Références

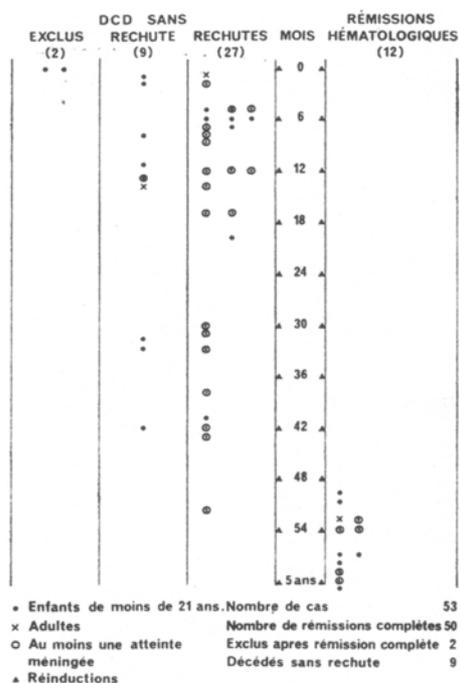
- 1) Bernard J. et coll., *Premiers résultats de l'association guanyldiazotone - 6-mercaptopurine dans le traitement des leucémies aiguës de la série granuleuse*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (3) : 448-453, 1964.
- 2) Bernard J. et coll., *Traitement des leucémies aiguës myéloblastiques*, Haematologia, 3 (3) : 265-276, 1969.
- 3) Bernard J., *Les nouveaux traitements des leucémies et des hémopathies malignes*, Assises Méd., 25 (3) : 279-283, 1967.
- 4) Bernard J., *La rubidomycine*, Actualités hématologiques, 2 : 3-11, 1968.
- 5) Bernard J., Paul R., Boiron M., Jacquillat C., Maral R., *Rubidomycin. A new agent against cancer*, Recent Results Cancer Res., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969.

Associations thérapeutiques employées à l'IRLMS dans les leucémies aiguës granuleuses (1964-1970)

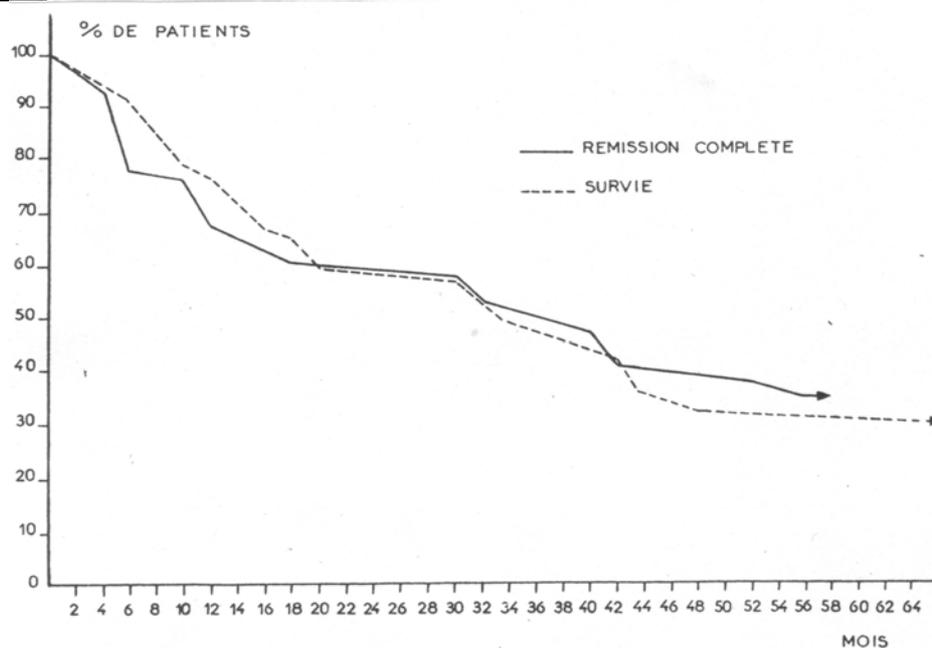
Annexe 45

	Nombre de cas	Nombre de rémissions complètes	Pourcentage de rémissions complètes
6-mercaptopurine + Méthyl GAG	42	14	33
6-mercaptopurine + Méthyl GAG + Méthotrexate	24	9	37
Cytosine-Arabinoside	39	12	30
Cytosine-Arabinoside + Méthyl GAG + 6-mercaptopurine + Prednisone	37	13	35
Rubidomycine seule	64	35	54
ALGB 6706			
A	45	13	29
B	49	11	22
C	31	7	22
ALGB 6706 A			
A	61	21	34
B	62	13	21
C	75	12	16
Cytosine-Arabinoside + Méthyl GAG + 6-mercaptopurine + Prednisone + Rubidomycine	32	13	40
6-mercaptopurine + Méthyl GAG + Prednisone + Rubidomycine	18	6	33
Rubidomycine + Méthotrexate	17	6	35
Rubidomycine + Méthotrexate + Asparaginase	9	5	55
TOTAL	605	190	496

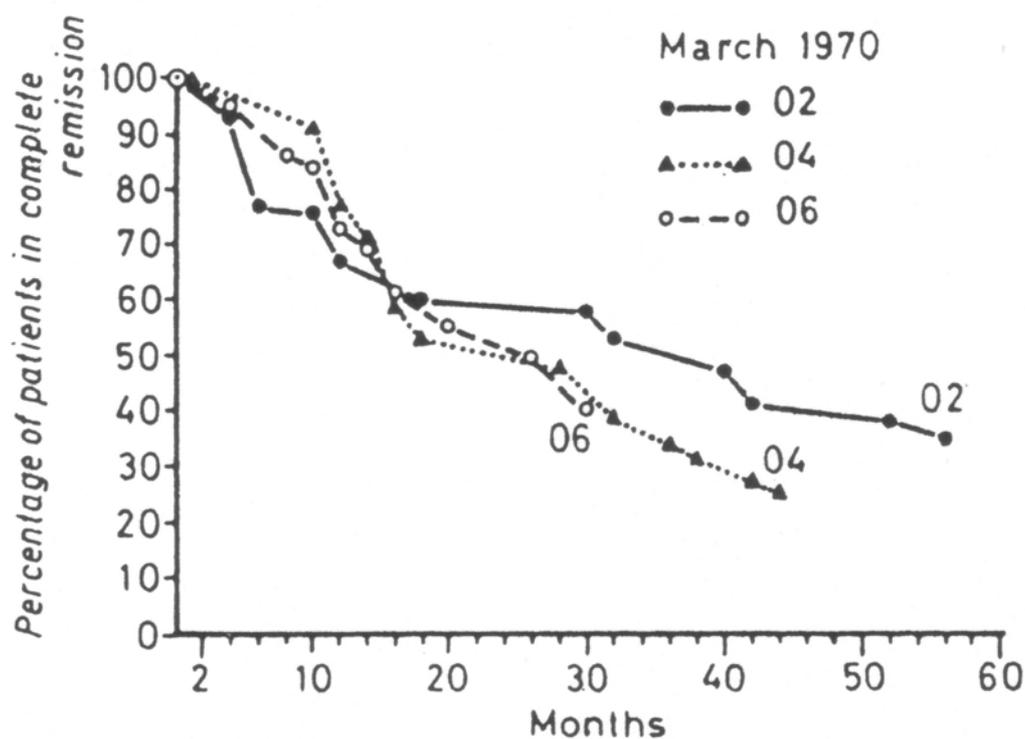
Résultats de différents traitements employés à l'IRLMS dans les leucémies aiguës myéloblastiques (extrait de Bernard J. et coll., *Traitement des leucémies aiguës myéloblastiques*, Haematologia, 3 (3) : 265-276, 1969).

Annexe 46

Résultats du protocole 02LA64 : fréquence et répartition dans le temps des rechutes (extrait de Jacquillat C. et coll., *Les très longues rémissions complètes des leucémies aiguës*, Presse Méd., 78 (6) : 253-256, 1970).

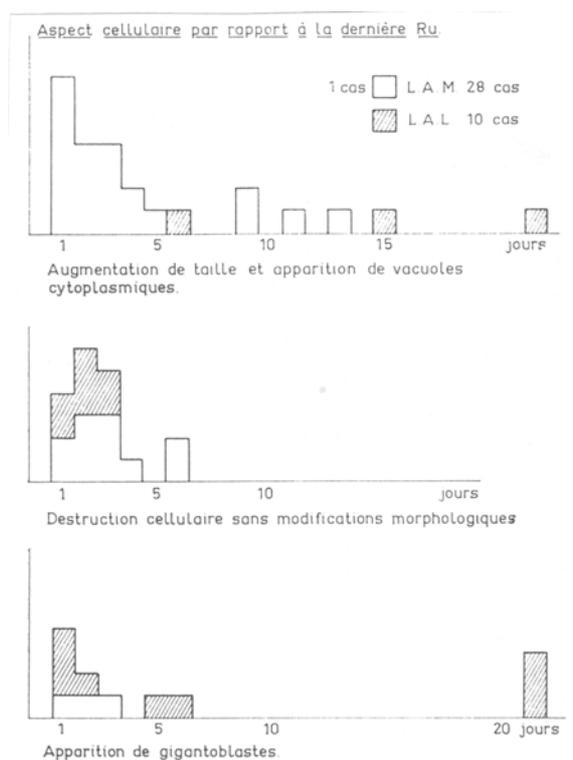
Annexe 47

Résultats du protocole 02LA64 : courbes de durée de la première rémission complète et de la survie (extrait de Bernard J. et coll., *Augmentation de l'espoir de vie des leucémies aiguës lymphoblastiques soumises à un protocole de polychimiothérapie*, C. R. Acad. Sci., série D, 271 : 1919-1921, 1970).

Annexe 48

Comparaison des résultats des protocoles 02LA64, 04LA65 et 06LA66 : courbes de durée de la rémission complète (extrait de Bernard J., Boiron M., *Current status in the treatment of acute leukemia*, Semin. Hematol., 7 (4) : 427-440, 1970).

Annexe 49



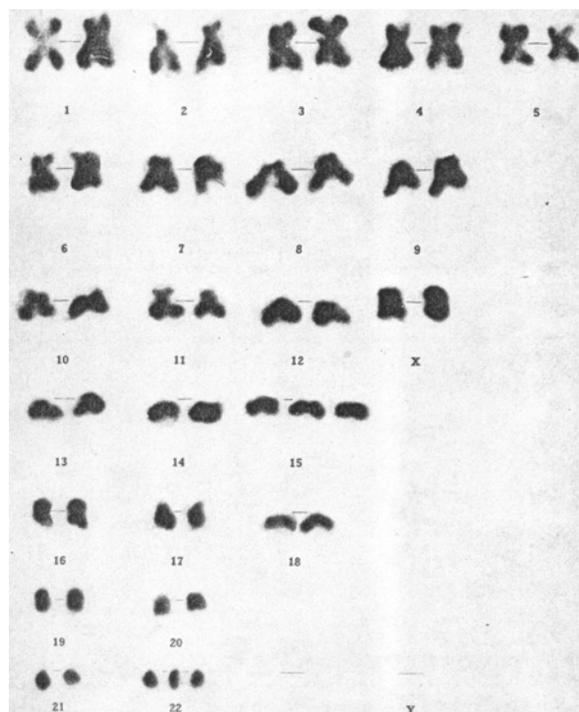
Modifications cellulaires des leucémies aiguës traitées par la rubidomycine (extrait de Daniel T., Flandrin G., Dumont J., *Modifications cellulaires des leucémies aiguës sous traitement*, Actualités Hématol., 3 : 183-190, 1969).

Annexe 50

<i>Avant traitement</i>	<i>Evolution sous traitement</i>	<i>Nombre de cas</i>
Blastes peroxydase +	Pas de changement	6 LAM
	↗ Positivité	7 LAM
	↘ Positivité	9 LAM
Blastes PAS +	PAS —	3 LAM 8 LAL
	↗ PAS + et ↗ du nombre de blastes +	2 LAL
Blastes PAS —	Apparition de PAS	9 LAM
Erythroblastes	Apparition de PAS	8 LAM

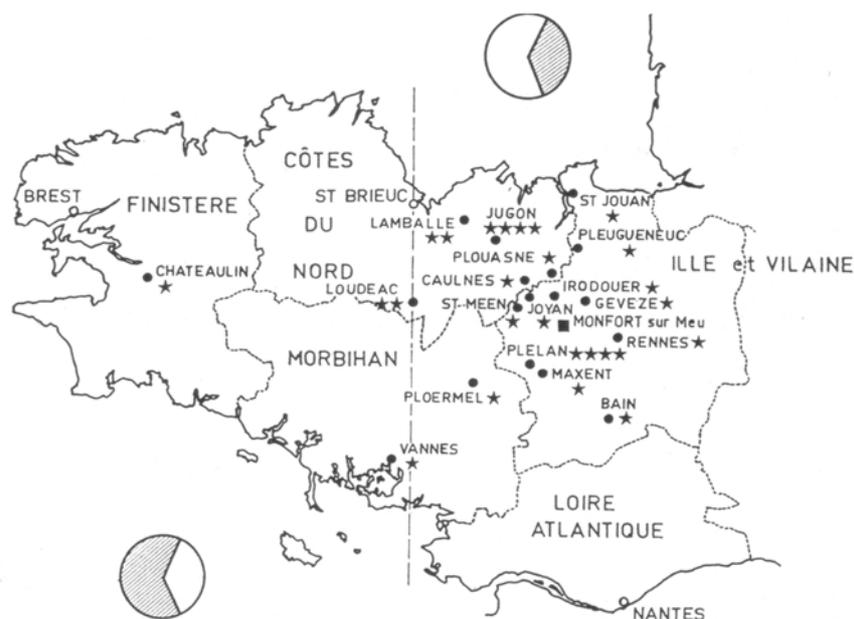
Modifications cytochimiques des leucémies aiguës traitées par la rubidomycine (extrait de Daniel T., Flandrin G., Dumont J., *Modifications cellulaires des leucémies aiguës sous traitement*, Actualités Hématol., 3 : 183-190, 1969).

Annexe 51



Caryotype d'une cellule médullaire à 48 chromosomes (extrait de Bernard J. et coll., *Leucémie aiguë d'une enfant de 5 mois née d'une mère atteinte de leucémie aiguë au moment de l'accouchement*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 4 (1) : 140-146, 1964).

Annexe 52



Localisation géographique des cas de leucose. La partie hachurée des cercles correspond à la part d'animaux examinés sur l'effectif total (extrait de Renier F. et coll., *Quelques considérations sur les leucoses porcines*, Nouv. Rev. Fr. Hémat., 6 (2) : 239-252, 1966).

Annexe 53

1) Le consentement volontaire du sujet humain est absolument essentiel. Cela veut dire que la personne intéressée doit jouir de capacité légale totale pour consentir : qu'elle doit être laissée libre de décider, sans intervention de quelque élément de force, de fraude, de contrainte, de supercherie, de duperie ou d'autres formes de contrainte ou de coercition. Il faut aussi qu'elle soit suffisamment renseignée, et connaisse toute la portée de l'expérience pratiquée sur elle, afin d'être capable de mesurer l'effet de sa décision. Avant que le sujet expérimental accepte, il faut donc le renseigner exactement sur la nature, la durée, et le but de l'expérience, ainsi que sur les méthodes et moyens employés, les dangers et les risques encourus, et les conséquences pour sa santé ou sa personne, qui peuvent résulter de sa participation à cette expérience.

L'obligation et la responsabilité d'apprécier les conditions dans lesquelles le sujet donne son consentement incombent à la personne qui prend l'initiative et la direction de ces expériences ou qui y travaille. Cette obligation et cette responsabilité s'attachent à cette personne, qui ne peut les transmettre à nulle autre sans être poursuivie.

2) L'expérience doit avoir des résultats pratiques pour le bien de la société impossibles à obtenir par d'autres moyens ; elle ne doit pas être pratiquée au hasard et sans nécessité.

3) Les fondements de l'expérience doivent résider dans les résultats d'expériences antérieures faites sur des animaux, et dans la connaissance de la genèse de la maladie ou des questions à l'étude, de façon à justifier par les résultats attendus l'exécution de l'expérience.

4) L'expérience doit être pratiquée de façon à éviter toute souffrance et tout dommage physique ou mental, non nécessaires.

5) L'expérience ne doit pas être tentée lorsqu'il y a une raison *a priori* de croire qu'elle entraînera la mort ou l'invalidité du sujet, à l'exception des cas où les médecins qui font les recherches servent eux-mêmes de sujets à l'expérience.

6) Les risques encourus ne devront jamais excéder l'importance humanitaire du problème que doit résoudre l'expérience envisagée.

7) On doit faire en sorte d'écartier du sujet expérimental toute éventualité, si mince soit-elle, susceptible de provoquer des blessures, l'invalidité ou la mort.

8) Les expériences ne doivent être pratiquées que par des personnes qualifiées. La plus grande aptitude, et une extrême attention sont exigées tout au long de l'expérience, de tous ceux qui la dirigent ou y participent.

9) Le sujet humain doit être libre, pendant l'expérience, de faire interrompre l'expérience, s'il estime avoir atteint le seuil de résistance, mentale ou physique, au-delà duquel il ne peut aller.

10) Le scientifique chargé de l'expérience doit être prêt à l'interrompre à tout moment, s'il a une raison de croire que sa continuation pourrait entraîner des blessures, l'invalidité ou la mort pour le sujet expérimental.

Le Code de Nüremberg (Extrait du jugement du Tribunal Militaire Américain, Nüremberg, 1947, cas K. Brandt, trad. F. Bayle, cité par Ambroselli C., L'éthique médicale, PUF, « Que sais-je ? » n° 2422, Paris, 1988, p. 105).

Annexe 54

Date	Equipe	Motif
1947	G. Schapira	Technique : chimie du sang
1947	CNTS	Technique : exsanguino-tranfusion
1947	L. Diamond	Résultats : exsanguino-tranfusion, antifoliques. Matériel : cathéters
1948	E. Witebsky	Matériel : substances de Witebsky
1948	N. Rosenthal S. Farber	Séjour de Jean Dausset
1952	L. Binet	Technique : glutathionémie
1952	J. Julliard	Technique : isotopes radioactifs (circulation des leucocytes)
1952	G. Schapira	Technique : isotopes radioactifs (durée de vie des érythrocytes, synthèse de l'hémoglobine)
1952	M. Tubiana	Technique : isotopes radioactifs (fixation de l'iode par la thyroïde)
1953	J. Burchenal	Résultats : 6-mercaptopurine
1954	P. Grabar	Technique : leucoprécipitation
1955	G. Deltour J. Guy	Technique : dosages de stéroïdes et électrolytes
1956	J. Dausset	Technique : leucoagglutination
1956	J. Lissac	Technique : marqueur fluorescent (circulation des leucocytes)
1958	E. Osgood	Séjour de Joseph Tanzer. Technique : cultures cellulaires
1958	G. Schapira	Technique : analyse électrophorétique de l'hémoglobine
1958	R. Latarjet B. Maupin	Techniques, expertise médicale : greffe de moelle chez l'homme
1959	P. Denoix M. De Vries	Matériel : bombe au cobalt Techniques, expertise médicale : greffe de moelle chez l'homme
~1960	G. Palade	Séjour de J.L. Binet Technique : microscopie électronique
1961	URSS	Visite de M. Seligmann, accueil d'une délégation
1961	Services d'hématologie	Patients : étude des localisations méningées
1962	Etats-Unis	Visite de M. Seligmann
1962	NCI SKI	Visite de M. Boiron Techniques, matériel : virus de Rauscher et de Friend
1962	CNRS Inst. Pasteur	Collaboration technique : ultracentrifugeuse analytique
1963	Institut Pasteur de Guinée	Visite de J.P. Lévy
1963	SKI	Visite de C. Friend
1964	John Smith Memorial for Cancer Research	Matériel : lignées cellulaires JLS V5, JLS V6
1964	SKI	Résultats cliniques : longues rémissions
1964	M. Bessis	Collaboration technique : microscopie électronique
1965	ALGB	Patients, résultats : protocole 6503
1965	CNRS	Matériel, méthodes : calculateur de l'Institut Blaise Pascal
1965	F. Rapaport	Technique chirurgicale, patients

1965		Visite de G. Zubrod, H. Kaplan, Fortner (Birmingham), G. Hayhoe
1965	M. Stoker	Séjour de M. Thomas (Institut de Virologie, Glasgow) Techniques : ADN du papillome bovin, transformation cellulaire
1965	Argentine	Envoi de protocoles à Braïer
1965	URSS	Visites
1966		Visite de D. Young (Western General Hospital, Edimbourg)
1966	ALGB	Patients, résultats : protocole 6601
1966	Sanger	Séjour de F. Galibert. Technique : séquençage
1966	Etats-Unis	Visite de M. Boiron et J.C. Friedmann
1966- 1967	L. Old B. Amos G. et E. Klein	Visite de F. Kourisky, accueil de G. et E. Klein Techniques, résultats : HLA
1966- 1967	G. Klein P. Clifford W. Henle	Techniques, résultats : Ag de la tumeur de Burkitt
1967	NCI	Matériel : virus de Moloney
1967	ALGB	Patients, résultats : protocole 6706
1967	Chili	Envoi de protocoles à R. Etchevery
1968- 1970	R. Huebner E. Klein SKI Roswell Park Memorial Institute	Visites Résultats, matériel : comparaison des antigènes des leucémies expérimentales, échanges de sérums
1969	Gabon	Visite de M. Boiron et G. Mahouy
1969	Inst. Pasteur	Matériel : sérums d'enfants
1969	R. Waitz	Techniques : étude des leucémies expérimentales
1969	Quebec Yougoslavie	Envoi de protocoles à J.M Delage et S. Stefanovic
1970	Services de chirurgie	Matériel : sérums, tumeurs
1970	Maternités	Matériel : cellules embryonnaires
1970	SKI	Séjour de G. Giraldo et E. Beth : étude de la tumeur de Kaposi
1970	Services de dermatologie	Matériel : sérums, tumeurs
1970	SKI NCI	Visite de J. Périès

Sources : références des chapitres 1 et 2. Fonds IUH, article 29, correspondance avec Waitz R ; article 31, Canada, correspondance avec J.M. Delage ; article 35, Chili, correspondance avec R. Etchevery ; article 38, Royaume-Uni, correspondance avec D. Young ; article 44, Yougoslavie, correspondance avec S. Stefanovic ; article 62, Laboratoire d'immunochimie, échanges d'informations avec M. Seligmann ; article 66, Laboratoire d'immunologie des tumeurs, échanges d'informations avec J. Périès ; article 67, Hématologie expérimentale, échanges d'informations avec M. Boiron ; article 67, Leucémies expérimentales, échanges d'informations avec J.P. Lévy ; article 68, Hématologie expérimentale, échanges d'informations avec M. Thomas article 80, Chimiothérapie, lettre de J. Bernard à C. Jacquillat, 30.08.1965. Archives nationales, Ministère de la recherche, DGRST, cote 77/321, article 561.

Collaborations extérieures de Jean Bernard et de ses collaborateurs concernant les recherches sur la leucémie aiguë (1947-1970)

Annexe 55

Nom	Prénom	Institutions
<u>Président</u>		
Lacassagne	Antoine	Laboratoire de médecine du Collège de France.
<i>Vice-président</i>		
Bessis	Marcel	Centre national de la transfusion sanguine, Paris. Laboratoire de cytologie sanguine de l'Ecole pratique des hautes études. Laboratoire de médecine du Collège de France.
<i>Membres</i>		
Baclesse	François	Laboratoire Pasteur de l'Institut du Radium. Service de radiodiagnostic et de radiothérapie de l'Institut Pasteur.
Bernard	Jean	Chaire de cancérologie médicale et sociale de la Faculté de médecine de Paris. Service de pédiatrie de l'Hôpital Saint-Louis. Institut de recherches sur les leucémies et les maladies du sang.
Delarue	Jacques	Professeur à la Faculté de médecine de Paris.
Denoix	Pierre	Institut Gustave Roussy, Villejuif.
Driessens	Jules	Chaire de cancérologie générale à la Faculté de médecine de Lille. Institut de recherches sur le cancer de Lille.
Fauvert	René	Professeur à la Faculté de médecine de Paris. Centre de recherches biologiques de l'Association Claude Bernard.
Grabar	Pierre	Institut de recherches scientifiques sur le cancer, Villejuif.
Latarjet	Raymond	Institut du Radium, Paris.
Pullman	Bernard	Professeur à la Faculté des sciences de Paris.
<u>Secrétaire scientifique</u>		
Marois	Maurice	Laboratoire du professeur Fourier, Collège de France.

Liste des membres du Comité « Cancer et leucémie » de la DGSRT (Archives nationales, Mission du Ministère de la recherche, Rapport d'activité de la DGRST, 1961).

Annexe 56

Institut ou Unité	Directeur	Surface	Nb chercheurs	Nb techniciens	Orientation principale des recherches
Institut de recherches sur le cancer du CNRS - Villejuif	P. Grabar	3732 m ²	67	74	Virologie, Immunologie
Institut Gustave Roussy - Villejuif	P. Denoix	2300 m ²	61	95	Relation hôte – tumeur
Institut du radium -Paris	R. Latarjet	5200 m ²	58	29	Radiobiologie, Virologie
Institut de recherches sur les leucémies - Paris	J. Bernard	3000 m ²	46	42	Virus cancérigènes, Anomalies des globulines, Etude particulière des leucémies
Centre de recherches sur la cellule normale et cancéreuse du CNRS - Villejuif	E. Lebreton	1850 m ²	41	24	Etude de la cellule hépatique normale et cancéreuse, Mécanismes cellulaires et moléculaires de la carcinogénèse
Institut de recherches sur le cancer - Lille	J. Driessens	2400 m ²	30	22	Diffusion métastatique des cancers et ultra-structure morphologique et fonctionnelle de la cellule cancéreuse
Institut de cancérologie et d'immunogénétique - Villejuif	G. Mathé	2800 m ²	30	23	Immunologie, Immunothérapie, Chimiothérapie, Virologie, Etude particulière des leucémies
Unité de recherche sur la chimie organique de la cancérogénèse -Paris	N.P. Buu Hoi	200 m ²	18	1	Relations entre la structure chimique des molécules et leur activité cancérogène
Laboratoire d'anatomie pathologique de la Faculté de médecine de Paris	J. Delarue	550 m ²	15	10	Mécanismes tissulaires de la croissance et du développement des tumeurs malignes
Centre Léon Bérard - Lyon	M. Dargent	640 m ²	8 + 7*	14*	Diffusion cancéreuse, Endocrinologie
Institut de pathologie cellulaire - Paris	M. Bessis	2000 m ²	10	10	Pathologie cellulaire, Cellule cancéreuse
Unité de recherches statistiques de l'INSERM - Villejuif	D. Schwartz	400 m ²	7 + 16°	9	Epidémiologie, Essais thérapeutiques

* temps partiels

° enquêteurs

Les instituts et unités de recherches français étroitement spécialisés en cancérologie (Fonds Bessis, Correspondance avec Mathé G., Conclusions émises par le groupe de travail sur l'attaque du cancer par la recherche scientifique, 1965).

Annexe 57

	Association Claude Bernard	Education nationale, Université Paris 7	CNRS	INH INSERM	Autre
1956 - 1960	1,4-2,2 MF ¹ /an	0,6 MF ¹			Sandoz : 0,9 MF ¹ (1959) Souscription : 2 MF ¹ (1959) Armées (1960)
1961 - 1965	35-44 KF/an	500-600 KF/an			DGRST : ~2118 KF (1961-1963) DGRST : ~1108 KF (1964-1965) Mut. Ind. Pétrole : 25 KF/an Souscription : 25 KF (1961) C.E.Dunkerque : 1 KF (1961) NIH C-5573 (1961-1964) NIH RF-21 (1962-1967) Laboratoires Spécia (1962) CEA (1962) C.E. Paris : 20 KF (1963) Industriels IdF : 5 KF (1963)
1966 - 1970	48-53 KF/an	660-978 KF/an	195 KF ²	10 KF ²	DGRST Mut. Ind. Pétrole : 30 KF/an Ligue : 200 KF (1969) Fond. Talisman : 112.500 \$ (1968)

1- Anciens francs

2- Cette somme ne concerne que le laboratoire d'Immunologie des tumeurs et l'année 1969

Sources principales :

Fonds IUH, article 47, budget ; article 161, Association Claude Bernard, rapports financiers du CRLMS ; article 66, Immunologie des tumeurs, rapports financiers. Voir aussi les références du chapitre 3.

Principales sources de financement du CRLMS et de l'IRLMS (1956-1970)