

Le développement des lymphocytes B (LB) dans la moelle osseuse (MO) procède par des étapes finement contrôlées et produit des LB immatures: leurs spécificités sont variées et ils tolèrent les antigènes (Ag) du soi. Une telle diversité repose sur la multiplicité des clones, chacun ayant l'exclusivité d'un récepteur d'Ag. Ce *B cell receptor* (BCR) comporte une immunoglobuline de surface (Ig) flanquée de plusieurs co-récepteurs (Figure 1). Le raccordement aléatoire d'un des gènes V et d'un des gènes J pour le domaine variable des chaînes légères et, d'un



Sophie Hillion vient de soutenir une thèse sur la régulation des enzymes de recombinaison des gènes d'immunoglobulines dans les lymphocytes B matures sous la direction du Dr Christophe Jamin dans l'EA2216 « Immunologie et Pathologie » dirigée par le Pr Pierre Youinou au Centre Hospitalier Universitaire de Brest.

des gènes V, d'un des gènes D et d'un des gènes J pour celui des chaînes lourdes engendre une prodigieuse diversité. Ces réarrangements requièrent l'intervention des deux enzymes codés par les *Recombination Activating Genes* (RAG)-1 et RAG2 (1). Elles sont indispensables aux cassures ciblées dans les gènes d'Ig au cours du processus de recombinaison.

La tolérance aux auto-Ag et la réponse aux exo-Ag dépend évidemment de la spécificité du BCR. La recombinaison des gènes d'Ig dont le produit reconnaît l'Ag se fait au hasard et peut générer des récepteurs auto-réactifs. L'élimination de ces LB, potentiellement dangereux est le défi que doit relever la tolérance. Dans la MO, il y a plusieurs mécanismes pour débarrasser l'organisme de ces LB néfastes: la délétion qui se fait par apoptose, l'anergie qui plonge les cellules dans un état d'« hibernation fonctionnelle » et l'édition qui, en permettant de nouveaux réarrangements des gènes d'Ig compose un BCR nouveau et dont la spécificité est donc nouvelle (2). La tolérance doit être également maintenue en périphérie dans les

Les enzymes de recombinaison des gènes d'immunoglobulines sont mobilisées dans les lymphocytes B matures pour lutter contre l'auto-immunité

Sophie Hillion, Pierre Youinou et Christophe Jamin

EA Immunologie et pathologie, Faculté de Médecine, Brest

organes lymphoïdes secondaires (OLS) pour autoriser une réaction immunitaire spécifique et empêcher l'activation des LB auto-réactifs. Celle-ci est indésirable car susceptible d'induire une maladie auto-immune.

La révision du récepteur consiste en la production d'un nouveau BCR par l'induction de réarrangements des gènes d'Ig dans les LB matures. La particularité de ce phénomène tient dans la ré-expression des enzymes RAG-1 et RAG-2 qui avaient été réprimées à la sortie de la MO (3). Ce mécanisme est mal connu et son influence sur les différents processus d'immunité ou de tolérance reste incomprise.

● La révision dans les OLS

Une fois jetés dans la circulation, les LB migrent dans les OLS. Ils vont y subir une série de transformations donnant issue, en fin de maturation, soit à des plasmocytes sécréteurs d'anticorps (Ac), soit à des LB mémoires (4).

Les OLS sont organisés sous la forme de follicules lymphoïdes (FL). Ceux-ci abritent des LB (en majorité), mais également des lymphocytes T et des cellules dendritiques. Deux zones partagent les FL: le manteau folliculaire externe et le centre germinatif (CG) interne. La formation d'un CG peut se concevoir de la façon suivante. Les LB matures (Bm) 1, dits naïfs, sont activés par leur Ag et en présence des LT, et donnent les cellules Bm2 (Figure 2). Ces cellules activées évoluent elles-mêmes en cellules Bm2' fondatrices du CG. Dès lors, elles quittent le

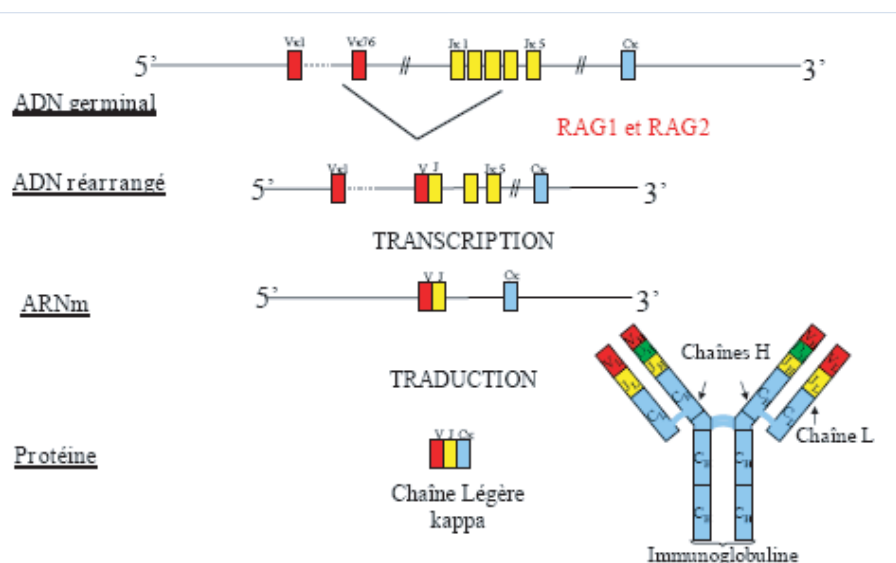


Figure 1: Réarrangement des gènes codant la chaîne légère kappa. Représentation de la jonction V-J catalysée par les enzymes RAG-1 et RAG-2, transcription et traduction de cet ADN réarrangé afin de produire une protéine chaîne L Kappa. Schématisation d'une immunoglobuline constituant le récepteur d'antigène du lymphocyte B: Le domaine variable des chaînes H est codé par le réarrangement des gènes VH, DH, et JH. Le domaine variable des chaînes légères kappa ou lambda est codé par le réarrangement des gènes VL kappa et JL kappa ou VL Lambda et JL lambda. Les domaines constants sont codés par les gènes CH et CL.

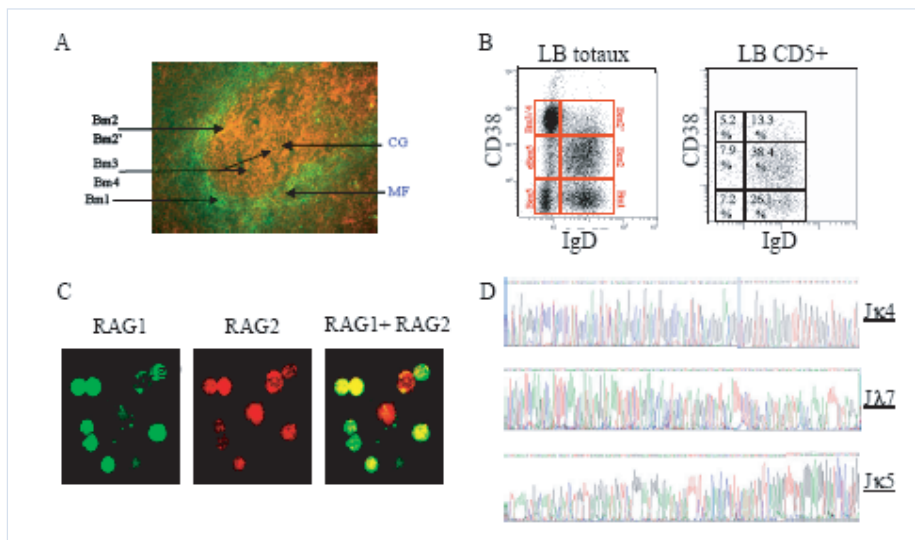


Figure 2: Association de l'expression de la molécule CD5 avec le processus de révision du récepteur à l'extérieur des centres germinatifs. (A) Visualisation par microscopie confocale des différentes populations de LB matures dans un organe lymphoïde secondaire. CG: centre germinatif, MF: manteau folliculaire. (B) Analyse par cytométrie en flux de la distribution des différentes sous-populations de LB matures et de la répartition des LB exprimant la molécule CD5 dans chacune de ces sous-populations. (C) Co-expression des deux protéines RAG-1 et RAG-2 (en jaune) dans les LB Bm2 CD5+ par immunofluorescence indirecte. (D) Mise en évidence d'un processus de révision du récepteur fonctionnel caractéristique des réarrangements secondaires des gènes d'immunoglobuline Jk4, Jk5 et Jλ7 dans les LB Bm2 CD5+ par séquençage de l'ADN.

manteau folliculaire pour proliférer dans le CG, en tant que Bm3 ou centroblastes. Ensuite, elles progressent en Bm4 (centrocytes) qui se plient aux épreuves de la sélection permettant la différenciation terminale vers l'alternative entre Bm5 (ou LB mémoires), et plasmocytes.

Le phénomène de la révision du récepteur, bien que controversé chez la souris par certains auteurs, est avéré chez l'homme (5,6). Cependant, la nature des cellules susceptibles d'en bénéficier n'est pas clairement définie. Les premiers travaux les ont cantonnées au stade centrocyte Bm4 des CGs (6).

Par ailleurs, la molécule CD5, régulatrice négative du BCR (elle freine l'activation des cellules), est exprimée par environ 10% des LB matures. Néanmoins elle est fortement exprimée par les cellules du manteau du FL (7). La justification de cette expression, et par conséquent le rôle dévolu à la molécule, est mal compris.

Nous avons démontré que les LB matures peuvent par vagues successives ré-exprimer les enzymes de recombinaison RAG-1 et RAG-2 à des moments clés de leur maturation. Nous avons également établi (8) que la molécule CD5 est impliquée dans

la révision du récepteur (Figure 2). Cependant, cette association ne se produit que dans les cellules situées à

l'extérieur des CGs. Pour la première fois, un processus de révision du récepteur a donc été décrit à l'extérieur des CGs. Cette ré-expression provoque une nouvelle recombinaison, ce qui suscite l'apparition d'un autre BCR encore et d'une autre spécificité encore.

● La révision: un mécanisme parachevant la tolérance?

Des cellules B sont produites en continu durant toute la vie d'un organisme sain. Les mécanismes de tolérance de la MO contrôlent cette production afin d'éliminer, parmi les LB nouvellement apparus, ceux qui sont auto-réactifs. Néanmoins, une batterie de cellules auto-réactives peut persister à la condition d'être maintenus en anergie. CD5 est une molécule clé dans ces phénomènes d'anergie (9). Les LB CD5+ du manteau représenteraient un échantillon de cellules auto-réactives dont l'inactivation serait assurée par CD5 (Figure 3). Ces LB restent menaçants dans la mesure où leur anergie peut être levée. Les LT pourraient alors offrir une possibilité d'activation à ces LB auto-réactifs.

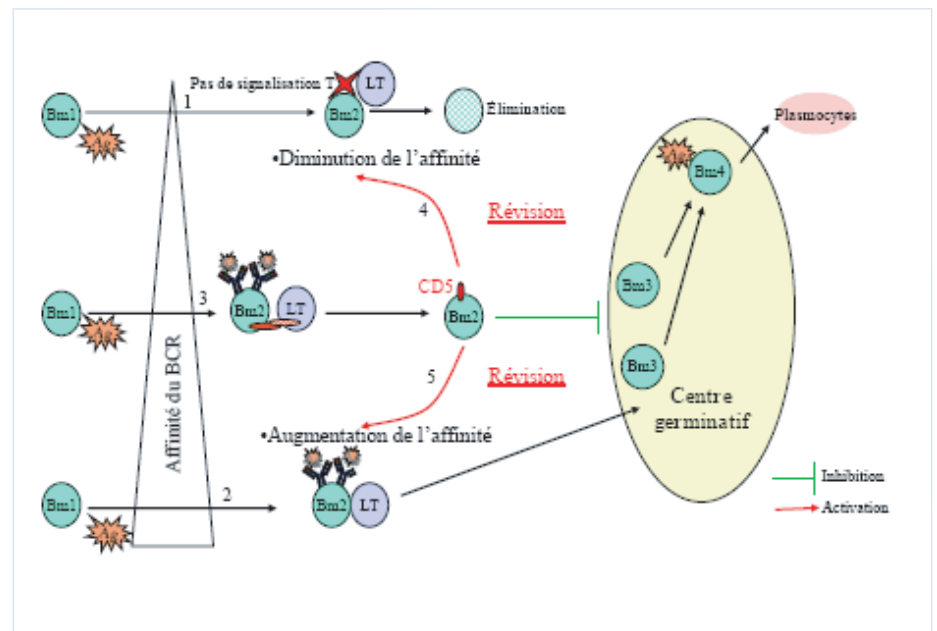


Figure 3: La révision dans les LB Bm2 CD5+: un processus de maturation de l'affinité du BCR? Schématisation du gradient de réponse du LB selon l'affinité du BCR pour l'exo-Ag. Au départ, une faible affinité entraînera l'apoptose (1), alors qu'une forte affinité permettra la différenciation vers les CGs (2). Une affinité intermédiaire (3) suffisante à induire un co-signal T mais insuffisante pour la différenciation vers les CGs va provoquer l'induction de CD5. Selon son degré d'efficacité, la révision succédant, entraînera les LB Bm2 CD5+ vers différentes voies de sélection. Une diminution de l'affinité (4) orientera vers l'élimination, tandis qu'une augmentation de l'affinité (5) autorisera la sélection et la poursuite de la maturation vers le CG et le déclenchement d'une réponse immune compétente.

La révision des cellules Bm2 CD5⁺, permettrait à la cellule d'achever sa maturation. Elle sortirait de son inactivité quand son BCR n'est pas auto-réactif ou subirait l'apoptose quand il le serait.

De ce point de vue, la révision en association avec CD5 est au cœur des phénomènes de la tolérance périphérique. La présence de CD5 peut être considérée comme une protection contre l'éclosion de LB auto-réactifs. Si la révision d'un Bm2 crée un BCR auto-réactif, CD5 en relève le seuil pour l'empêcher de répondre en le rendant anergique. Seuls les LB exprimant un nouveau récepteur non auto-réactif perdraient l'expression de CD5 et seraient alors autorisés à poursuivre leur évolution en présence de l'exo-Ag correspondant à leur BCR.

● La révision: un processus de maturation de l'affinité du BCR?

Les différents modèles d'induction de la révision dans nos résultats expérimentaux indiquent que la co-stimulation T est nécessaire pour induire la révision dans les Bm2 CD5⁺. L'engagement du BCR par son Ag, complété par l'action du LT allume des signaux critiques pour le destin du LB et décisifs pour le déclenchement de la réponse immune.

L'interaction entre le LB et le LT est la clé du développement des CGs. Pour être efficace, elle dépend, elle-même, de l'affinité du BCR pour son exo-Ag. En effet, il existe une forte compétition pour former un CG entre des LB qui sont spécifiques de l'Ag mais dont l'affinité pour celui-ci est variable (10).

On peut dès lors, envisager un gradient de réponse pour les différents acteurs de cette formation de CGs (Figure 4). Les LB exprimant un BCR de très faible affinité pour l'Ag laissent indifférents les LT susceptibles de coopérer. Ils sont donc privés des facteurs de survie essentiels. Ils sont éliminés. Les LB de forte affinité vont bénéficier d'une aide efficace des LT et recevoir les signaux nécessaires à leur différenciation dans les CGs. Quant aux LB avec BCR d'affinité intermédiaire, ils arrivent à susciter la coopération des LT mais celle-ci est trop faible pour que se forme un CG. La stimulation par le LT serait cependant suffisante pour que l'expression de CD5 soit induite sur les cellules activées. L'irruption de CD5 permet à la révision de se dérouler. Mais ce mécanisme est à double tranchant. D'un côté l'affinité du BCR augmente et la différenciation se poursuit, de l'autre, son affinité décroît et la cellule est

poussée vers l'apoptose. Dans ce gradient, la révision transférerait des LB d'un stade d'affinité à un autre.

Dans le meilleur des cas, la révision permet à des cellules Bm2 CD5⁺ d'affinité intermédiaire d'optimiser l'affinité de leur BCR et de s'acheminer vers une réaction immune compétente. Tant que la cellule se trouve au stade Bm2, s'ouvre une fenêtre où CD5 s'exprime, la révision devient possible. La cellule a une deuxième chance.

Ainsi, la révision externe aux CGs pourrait s'avérer un nouveau point de contrôle des cellules à l'entrée des CGs: l'auto-réactivité y est prévenue et en dépend le développement de la réponse immune spécifique.

● REFERENCES

1. Oettinger MA Trends Genet 8, 413, 1992
2. Gay D et al. J Exp Med 177, 999, 1993
3. Han S et al. Science 274, 2094, 1996
4. Liu YJ Arpin C Immunol Rev 156, 111, 1997
5. Giachino C et al. Eur J Immunol 28, 3506, 1998
6. Girschick HJ et al. J Immunol 166, 377, 2001
7. Gagro A et al. Immunology 101, 201, 2000
8. Hillion S et al. J Immunol 174, 5553, 2005
9. Hippen KL et al. J Exp Med 191, 883, 2000
10. Garcia de Vinuesa et al. Eur J Immunol 29, 1314, 1999

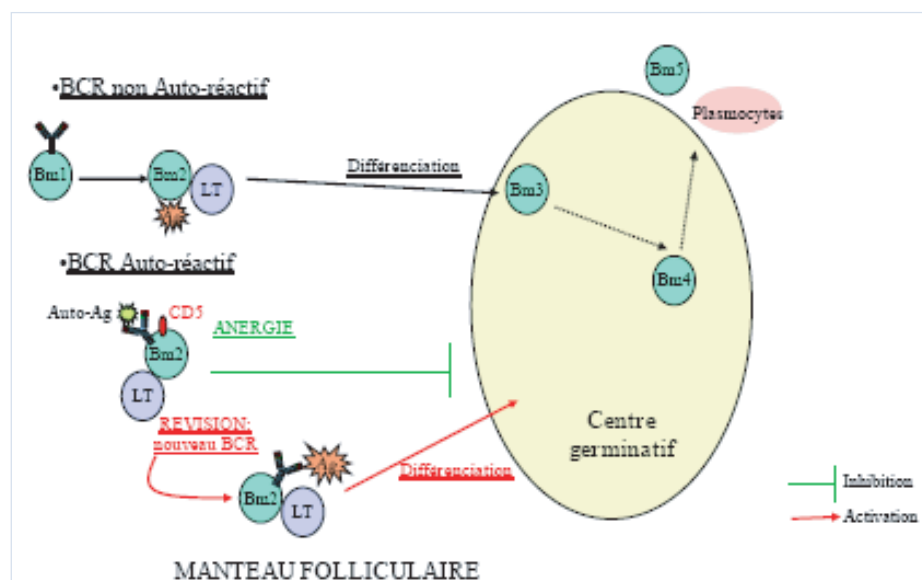


Figure 4: La révision: un processus de tolérance? Lors de la rencontre avec leur exo-Ag, les LB non auto-réactifs vont poursuivre leur différenciation classique dans les CG et déclencher une réaction immunitaire classique. L'expression de CD5 sur les LB auto-réactifs maintient l'anergie des cellules en périphérie, empêchant le déclenchement d'une réaction auto-immune et peut faciliter l'initiation d'un processus de révision. L'expression d'un nouveau récepteur d'antigène permet aux cellules anergiques de sortir de leur état inactif et élimine ainsi les LB auto-réactifs potentiellement néfastes.