



5. Gilbert C, Kristjuhan A, Winkler GS, Sveistrup JQ. Elongator interactions with nascent mRNA revealed by RNA immunoprecipitation. *Mol Cell* 2004 ; 14 : 457-64.
6. Huang B, Johansson MJ, Bystrom AS. An early step in wobble uridine tRNA modification requires the Elongator complex. *RNA* 2005 ; 11 : 424-36.
7. Rahl PB, Chen CZ, Collins RN. E1p1p, the yeast homolog of the FD disease syndrome protein, negatively regulates exocytosis independently of transcriptional elongation. *Mol Cell* 2005 ; 17 : 841-53.
8. Creppe C, Malinouskaya L, Volvert ML, et al. Elongator controls the migration and differentiation of cortical neurons through acetylation of alpha-tubulin. *Cell* 2009 ; 136 : 551-64.
9. Dompierre JP, Godin JD, Charrin BC, et al. Histone deacetylase 6 inhibition compensates for the transport deficit in Huntington's disease by increasing tubulin acetylation. *J Neurosci* 2007 ; 27 : 3571-83.
10. Reed NA, Cai D, Blasius TL, et al. Microtubule acetylation promotes kinesin-1 binding and transport. *Curr Biol* 2006 ; 16 : 2166-72.
11. Millicamps S, Julien JP. Dysfunction of axonal transport in neuropathies and motor neuron diseases. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 65-71.

## NOUVELLE

### Une cytokine chimérique au secours des maladies auto-immunes

Mouthi Rafei, Jacques Galipeau

#### Bifonctionnalité synergique d'une cytokine chimérique GM-CSF - IL-2

Les cytokines, notamment le *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF) et le *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF), l'interféron (IFN)- $\alpha$  et l'interleukine-(IL) 2, sont régulièrement utilisées à des fins thérapeutiques en oncologie et, plus particulièrement, dans le traitement du mélanome et de l'hypernéphrome (ou cancer du rein à cellules claires) [1]. Par ailleurs, les interférons et les interleukines sont prisés pour leurs propriétés immunostimulatrices, utiles pour bloquer le développement des tumeurs et pouvant, à l'occasion, entraîner leur régression. Ces données nous ont amenés à proposer le concept selon lequel une cytokine chimérique née de la fusion de deux protéines immunostimulatrices distinctes - une fusokine douée d'une bifonctionnalité synergique - serait capable de stimuler simultanément les réponses immunes innées et adaptatives. En effet, nous avons déjà démontré que la fusion du GM-CSF à l'IL-2 (GIFT2) confère à cette protéine chimérique des propriétés pro-inflammatoires [2]. Forts de ce succès, nous avons produit une fusokine GIFT de seconde génération mariant le GM-CSF à l'IL-15 (GIFT15). Comme l'IL-15 a été décrite comme stimulant fortement l'immunité innée, nous nous attendions

à ce que GIFT15 soit pro-inflammatoire. À notre grande surprise, son action s'est avérée plutôt fortement immunosuppressive [3]. En effet, une analyse de la fonctionnalité de GIFT15 a démontré que cette fusokine se lie au récepteur de l'IL-15 et déclenche une signalisation aberrante en aval caractérisée par une hyperactivation de STAT3 [3]. Toutes les cellules ayant un rôle dans l'immunité, qu'elles soient lymphoïdes ou myéloïdes, qui arborent le récepteur de l'IL-15 perdent leur capacité à participer à une réaction immune normale quand elles sont exposées à GIFT15. Ces effets ont été testés chez des souris possédant un système immunitaire intact et chez lesquelles des cellules tumorales humaines ont été greffées. Contrairement aux souris qui n'ont pas reçu de GIFT15, qui ont rejeté le greffon cellulaire, les animaux traités avec la fusokine ont toléré la greffe tumorale [3]. Ces résultats suggèrent que GIFT15 exerce une fonction suppressive de l'alloréactivité lors de greffes tissulaires non apparentées, voire permet même de tolérer des xénogreffes.

#### Effet thérapeutique de la fusokine GM-CSF - IL-15 dans les maladies auto-immunes

Ce résultat prometteur nous a incités à tester l'effet de GIFT15 dans le traitement de maladies auto-immunes

M. Rafei : Institut de recherche en immunothérapie du cancer, Université de Montréal, CP 6128, Succursale centre-ville, Montréal, Québec, H3C 3J7 Canada.

J. Galipeau :

Division d'hématologie/oncologie, Hôpital général juif, Université McGill, 3755, chemin de la Côte Sainte-Catherine, Montréal, Québec, H3T 1E2 Canada.

[jacques.galipeau@mcgill.ca](mailto:jacques.galipeau@mcgill.ca).

associées causées par l'activation de cellules T autoréactives. Tel est le cas de la sclérose en plaques [4]. Plusieurs stratégies sont utilisées dans le traitement de cette maladie : l'interféron  $\beta$  (IFN- $\beta$ ), l'acétate de glatiramère, le mitoxantrone et le natalizumab<sup>1</sup> [4, 11]. Toutefois, en dépit des résultats encourageants chez les patients, l'efficacité de ces thérapies est partielle, atténuant la progression de la maladie. Une approche de thérapie cellulaire (testée dans des modèles animaux) consiste à administrer des cellules suppressives telles que les cellules T régulatrices [5], qui peuvent exercer un effet suppressif persistant en provoquant la sécrétion, chez l'hôte, de facteurs inhibiteurs sans induire d'effets secondaires [5]. Les lymphocytes B suppresseurs (désignés aujourd'hui sous le nom de cellules B reg) possèdent aussi une excellente capacité à inhiber l'inflammation due à leur sécrétion d'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire [6]. Par exemple, l'induction d'une encéphalite allergique expérimentale (EAE), un modèle animal

<sup>1</sup> Le glatiramère est un copolymère synthétique qui agirait sur les cellules de l'immunité, le mitoxantrone un immunosuppresseur, et le natalizumab ou Tysabri® un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre la chaîne  $\alpha 4$  des intégrines et bloquant la migration des lymphocytes via la barrière hématoencéphalique.

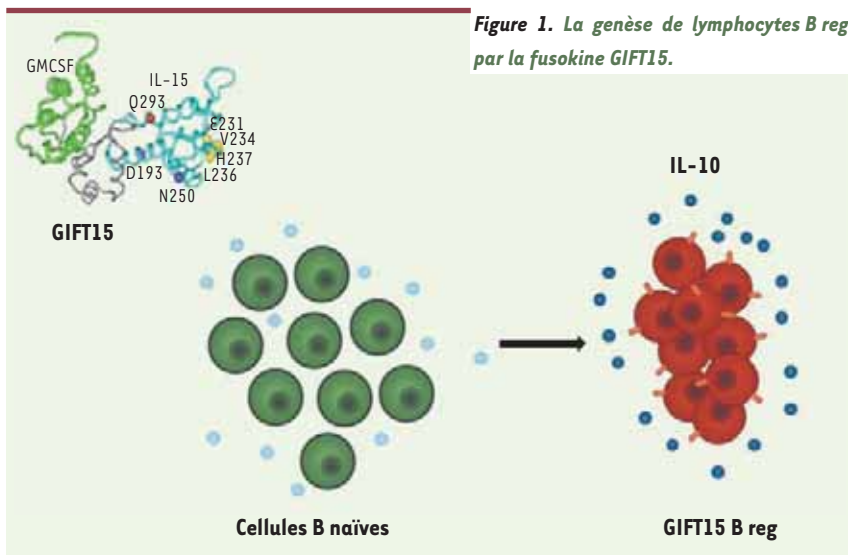


Figure 1. La genèse de lymphocytes B reg par la fusokine GIFT15.

de sclérose en plaques, chez des souris déficientes en lymphocytes B, entraîne une pathologie plus sévère que celle qui est observée chez des souris dont le nombre de lymphocytes B est normal [7]. Dans ce dernier cas, le transfert adoptif de lymphocytes B normaux chez ces souris a amélioré leur état clinique tandis que le transfert de cellules B déficientes en IL-10 n'a eu aucun effet thérapeutique [7]. Malheureusement, l'utilisation de cellules B reg chez l'homme est difficile car ces cellules sont présentes en très faible nombre chez l'humain. De plus, il n'existe actuellement aucune méthode permettant de les amplifier *in vitro* [8]. Nous avons observé que la fusokine chimère GIFT15 transforme les lymphocytes B naïfs en

cellules suppressives B reg (Figure 1). Les cellules B reg exercent, comme les cellules T reg mieux connues, un rôle immunosuppresseur, mais elles s'en distinguent par leur abondante production d'IL-10 [9]. L'idée d'utiliser GIFT15 pour amplifier une population de B reg pourrait être ensuite être administrée comme une thérapie cellulaire autologue nous paraissait séduisante, et nous avons testé cette stratégie et l'effet pharmacologique des B reg ainsi obtenus dans un modèle murin de sclérose en plaques [9]. Une seule injection par voie intraveineuse d'un million de cellules B reg chez des souris souffrant d'encéphalite allergique entraîne une rémission complète et durable chez virtuellement toutes les souris traitées (Figure 2). Cet

effet clinique est toutefois dépendant à la fois de la production d'IL-10 et de l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II par les B reg [9].

### Conclusion et perspectives

Nous avons montré que GIFT15 stimule la genèse *ex vivo* d'un produit cellulaire autologue dérivé de lymphocytes B qui possède un effet immunosuppresseur important dans un modèle murin de sclérose en plaques. Rien n'interdit d'envisager que cette même plateforme pharmaceutique de thérapie cellulaire pourrait être fort utile en vue des traitements d'autres pathologies hyper-immunes comme le lupus, la maladie de Crohn, l'arthrite inflammatoire (polyarthrite rhumatoïde) et le rejet immun d'allogreffes. Une avancée conceptuelle importante réside dans l'observation que la création d'une fusokine chimérique résultant du mariage forcé de deux cytokines dotées de propriétés biochimiques distinctes aboutit à une protéine dont les effets biochimiques sont inattendus et contre-intuitifs ; d'autres molécules de ce type sont en cours de développement [10]. Ce type d'approche pharmacologique visant à confondre Dame Nature pourrait être fructueux pour la conceptualisation et la mise au point de molécules consœurs susceptibles de moduler l'immunité à des fins thérapeutiques. ♦

### A chimeric cytokine for autoimmune diseases

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

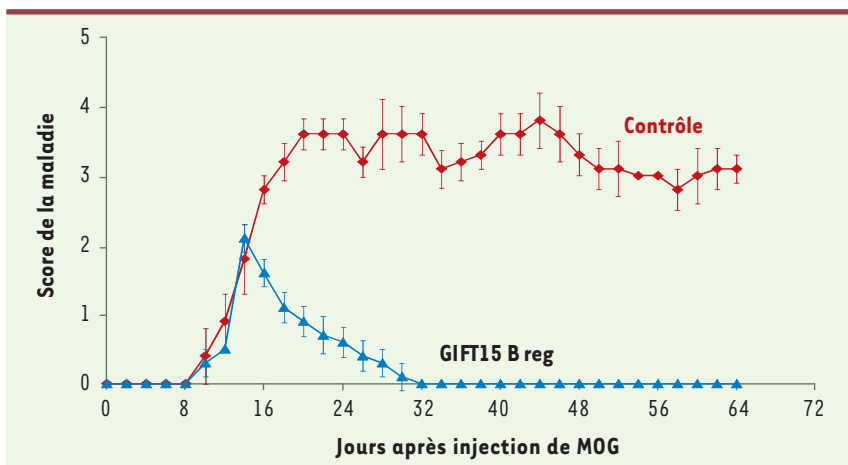


Figure 2. Effet thérapeutique des lymphocytes B reg. L'injection par voie intraveineuse de cellules B reg amplifiées *in vitro* par la fusokine GIFT15 bloque le développement de la pathologie immune dans un modèle animal de sclérose en plaques. MOG : myelin oligodendrocyte glycoprotein.



## RÉFÉRENCES

1. McDermott DF. Immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 2009 ; 115 (suppl 10) : 2298-305.
2. Stagg J, Wu JH, Bougamin N, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 fusion of cDNA for cancer gene immunotherapy. *Cancer Res* 2004 ; 64 : 8795-99.
3. Rafei M, Wu JH, Annabi B, et al. A GM-CSF and IL15 fusokine Leads to paradoxical immunosuppression *in vivo* via asymmetrical JAK/STAT signaling through the IL15 receptor complex. *Blood* 2007 ; 109 : 2234-42.
4. Hartung HP, Bar-Or A, Zoukos Y. What do we know about the mechanism of action of disease-modifying treatments in MS? *J Neurol* 2004 ; 251 (suppl 5) : v12-29.
5. Stern JN, Keskin DB, Zhang H, et al. Amino acid copolymerspecific IL-10-secreting regulatory T-cells that ameliorate autoimmune diseases in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 5172-6.
6. Neta R, Salvin SB. Specific suppression of delayed hypersensitivity: the possible presence of a suppressor B cell in the regulation of delayed hypersensitivity. *J Immunol* 1974 ; 113 : 1716-25.
7. Fillatreau S, Sweeney CH, McGeachy MJ, et al. B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. *Nat Immunol* 2002 ; 3 : 944-50.
8. Bouaziz JD, Yanaba K, Tedder TF. Regulatory B cells as inhibitors of immune responses and inflammation. *Immunol Rev* 2008 ; 224 : 201-14.
9. Rafei M, Hsieh J, Zehntner S, et al. A granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-15 fusokine induces a regulatory B cell population with immune suppressive properties. *Nat Med* 2009 ; 15 : 1038-45.
10. Rafei M, Campeau PM, Wu JH, et al. Selective inhibition of CCR2 expressing lymphomyeloid cells in experimental autoimmune encephalomyelitis by a GM-CSF-MCP1 fusokine. *J Immunol* 2009 ; 182 : 2620-7.
11. Papeix C, Lubetzki C. Anticorps monoclonaux dans la sclérose en plaques. *Med Sci* 2009 ; 25 : 1113-5.

## NOUVELLE

### La chromatine façonne le fuseau mitotique

Céline Pugieux, François Nédélec

Laboratoire Européen de biologie moléculaire (EMBL),  
Meyerhofstrasse 1,  
69117 Heidelberg, Allemagne.  
[nedelec@embl.de](mailto:nedelec@embl.de)

> Les microtubules (fibres de tubuline) sont l'un des constituants majeurs du squelette de la cellule. Leur autoassemblage présente une dynamique particulière qui permet à la cellule de répondre rapidement aux signaux intra- et extracellulaires. Ils sont nécessaires, entre autres, au transport cytoplasmique, à la migration et à la division. Des composés, comme le taxol ou le docetaxel, sont utilisés en chimiothérapie contre certains cancers, car, en perturbant la dynamique des microtubules, ils permettent de cibler les cellules qui se divisent.

#### Fuseau mitotique : symétrie en miroir mais forme variable

Pour se diviser, la cellule eucaryote génère et organise des microtubules en une structure symétrique bipolaire, appelée fuseau mitotique [1]. Le rôle d'un tel fuseau est de répartir les chromosomes équitablement afin de prévenir toute aneuploïdie (un nombre anormal de chromosomes) dans les cellules filles. Pour accomplir cette tâche, un fuseau doit être symétrique : il faut qu'il soit invariant par une symétrie miroir suivant un plan qui le partage en son milieu. Au plan moléculaire, cette symétrie correspond à des chevauchements

antiparallèles entre microtubules dans la région centrale du fuseau, créés par des molécules qui organisent et lient les microtubules entre eux. Si – sauf rares exceptions – tous les fuseaux sont bien symétriques, leur forme est par contre variable. Chez les animaux, les fuseaux mitotiques ressemblent à des losanges ; les deux extrémités pointues, appelées pôles, sont situées symétriquement de chaque côté du plan de symétrie. Les pôles sont, en partie, organisés par les centrosomes, mais ces organites ne sont pas essentiels à la formation d'un fuseau mitotique. Quant aux fuseaux de cellules végétales, ils ont une forme rectangulaire, sans pôles et sans centrosomes. Enfin, en plus de ces considérations de symétrie et de forme, un fuseau mitotique est aussi caractérisé par sa taille (longueur, largeur) qui varie d'un organisme à un autre, ou d'un type cellulaire à un autre.

#### Le rôle de la chromatine dans la nucléation des microtubules

Les recherches récentes ont permis d'éclairer les mécanismes de formation du fuseau mitotique. On comprend mieux comment les microtubules sont générés lorsque la cellule entre en phase mitotique, et les protéines qui organisent les microtubules ont été identifiées. Parmi celles-ci, les moteurs moléculaires comme les kinésines et la dynéine sont des acteurs essentiels. Ce sont des motrices miniatures qui se déplacent de manière directionnelle le long des microtubules en utilisant l'ATP comme source d'énergie. En particulier, une kinésine importante appelée Eg5 forme les ponts qui organisent les chevauchements antiparallèles des microtubules. La dynéine est aussi une motrice, mais elle se déplace sur les microtubules dans le sens opposé par rapport à Eg5. Elle participe à l'organisation des pôles du fuseau dans les cellules animales. Les ovocytes matures non fertilisés (communément appelés oeufs) de la grenouille *Xenopus laevis* sont naturellement arrêtés en métaphase 2 de la méiose et organisent leurs fuseaux en l'absence de centrosomes [2]. Ce système a permis de démontrer que le fuseau se forme autour de l'ADN car la chromatine génère la majorité des microtubules [3]. Cette nucléation spatialement restreinte est la conséquence de la phosphorylation locale d'une petite protéine appelé Ran par une kinase associée à la chromatine [4]. Pour obtenir leurs résultats,

Les ovocytes matures non fertilisés (communément appelés oeufs) de la grenouille *Xenopus laevis* sont naturellement arrêtés en métaphase 2 de la méiose et organisent leurs fuseaux en l'absence de centrosomes [2]. Ce système a permis de démontrer que le fuseau se forme autour de l'ADN car la chromatine génère la majorité des microtubules [3]. Cette nucléation spatialement restreinte est la conséquence de la phosphorylation locale d'une petite protéine appelé Ran par une kinase associée à la chromatine [4]. Pour obtenir leurs résultats,