



Figure 2. Effet du resvératrol dans les cellules de la lignée tumorale humaine SW48. Le resvératrol module le niveau de microARN en ciblant des gènes codant des suppresseurs de tumeur et des effecteurs de la signalisation de TGFβ1 [9].

cancers [9]. L'expression du TGFβ est élevée dans les cancers colorectaux métastatiques et est corrélée avec le grade de la tumeur. Comme le montre la Figure 2, le TGFβ1 a un double effet en fonction du grade de la tumeur : suppresseur de tumeur au stade pré-tumoral et promoteur de métastases à un stade avancé malin. Puisque le resvératrol entraîne une modification de la population cellulaire de miARN de type oncogènes ou suppresseurs de tumeurs, une voie de recherche intéressante pourrait exploiter ces données sur un plan thérapeutique, en fonction du grade de la tumeur. ♦

Resveratrol acts by modulating miRNAs

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993 ; 75 : 843-66.
2. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 2999-3004.
3. Parker JA, Arango M, Abderrahmane S, et al. Neuroprotection par l'activation des sirtuines dans des modèles simplifiés de chorée de Huntington. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 556-7.
4. Delmas D, Lançon A, Colin D, et al. Resveratrol as chemopreventive agent : new concepts to put forward the molecule to fight cancer. *Curr Drug Targets* 2006 ; 7 : 423-42.
5. Tili E, Michaille JJ, Adair B, et al. Resveratrol decreases the levels of miR-155 by upregulating miR-663, a microRNA targeting JunB and JunD. *Carcinogenesis* 2010 ; 31 : 1561-6.
6. Udenigwe CC, Ramprasath VR, Aluko RE, Jones PJ. Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutr Rev* 2008 ; 66 : 445-54.
7. Ruggiero T, Trabucchi M, De Santa F, et al. LPS induces KH-type splicing regulatory protein-dependent processing of microRNA-155 precursors in macrophages. *Faseb J* 2009 ; 23 : 2898-908.
8. Tili E, Michaille JJ, Alder H, et al. Resveratrol modulates the levels of microRNAs targeting genes encoding tumor-suppressors and effectors of TGF beta signaling pathway in SW480 cells. *Biochem Pharmacol* 2010 ; 80 : 2057-65.
9. Akhurst RJ. TGF beta signaling in health and disease. *Nat Genet* 2004 ; 36 : 790-2.

NOUVELLE

Rôle de la molécule CD81 dans le fonctionnement des lymphocytes B chez l'homme

Julie Smet, Menno van Zelm, Liliane Schandené, Brigitte Adams, Mirjam van der Burg, Françoise Mascart

J. Smet, L. Schandené, F. Mascart : Immunobiology clinic and laboratory of vaccinology and mucosal immunity, Hôpital Erasme, Université libre de Bruxelles, Brussels, Belgium, 808, route de Lennik, 1070 Bruxelles, Belgique.
M.C. van Zelm, M. van der Burg : Department of immunology, Erasmus MC, University medical center, Rotterdam, Pays-Bas.
B. Adams : Department of nephrology, Huderf, Université libre de Bruxelles, Belgique.
fmascart@erasme.ulb.ac.be
jsmet@ulb.ac.be

Les hypogammaglobulinémies

Les hypogammaglobulinémies, définies comme un abaissement de la concentration sérique des immunoglobulines, constituent le groupe le plus important de déficits immunitaires primaires. Les patients présentent des infections sino-pulmonaires récurrentes ou chroniques

ainsi que des infections gastro-intestinales. Les symptômes apparaissent généralement entre le 6^e et le 9^e mois de vie, lorsque le taux des anticorps maternels qui ont passé la barrière placentaire diminue. Seuls quelques déficits génétiques sous-jacents ont été identifiés. Il s'agit de déficits intrinsèques aux

lymphocytes B ou de déficits liés à un défaut d'interactions entre les lymphocytes B et T.

Les déficits immunitaires communs variables (CVID) sont les hypogammaglobulinémies les plus fréquentes, avec une prévalence de 1 sur 50 000 en Europe [1]. Des mutations au niveau de différents gènes (ICOS [*inducible costimulator*], BAFFR [*B cell-activating factor receptor*], CD19 et TACI [*transmembrane activator and CAML-interactor*]) ont été identifiées mais elles ne représentent que 10 à 20 % des cas de CVID [2-5]. L'identification de nouveaux déficits et leur exploration permettent de mieux comprendre la physiologie des réponses immunitaires, d'améliorer la prise en charge des patients, de dépister les autres membres de la famille et, éventuellement, de cibler le traitement.

CD81 est un composant du complexe corécepteur du récepteur du lymphocyte B

Certaines hypogammaglobulinémies sont dues à un défaut d'activation des lymphocytes B, acteurs principaux de l'immunité humorale. Leur activation est déclenchée par la liaison d'un antigène à une immunoglobuline de surface, elle-même associée à un hétérodimère Ig α /Ig β pour former le récepteur des cellules B (BCR ou *B cell receptor*). Celui-ci est associé à un corécepteur qui est un complexe de 4 molécules membranaires : CD81 (TAPA-1), CD21 (CR2), CD19 et CD225. Ce complexe agit en amplifiant le signal d'activation transmis par le BCR et en diminuant le seuil d'activation des lymphocytes B [6]. Alors que CD19 et CD21 sont spécifiquement exprimés sur les lymphocytes B, CD81 et CD225 sont aussi exprimés sur d'autres cellules immunitaires (lymphocytes B, T, NK, monocytes, polynucléaires éosinophiles), les hépatocytes et les cellules épithéliales [7]. Chez l'homme, CD81 a aussi été impliqué dans l'entrée du virus de l'hépatite C [8] et du *Plasmodium falciparum* [9, 10] dans l'hépatocyte,

ainsi que dans la réplication du virus de l'immunodéficience humaine dans la cellule T [11].

La caractérisation du déficit immunitaire présent chez la première patiente décrite comme ayant un déficit congénital en CD81 nous a permis d'explorer les fonctions de CD81 dans le système immunitaire chez l'homme.

Mutations au sein du complexe corécepteur chez l'homme

Récemment, des mutations de CD19 ont été identifiées chez des patients présentant un déficit humoral ressemblant à un CVID avec hypogammaglobulinémie et réponse vaccinale diminuée [5, 12]. Nous avons décrit le premier cas d'immunodéficience liée à une mutation de CD81 chez l'homme [13].

Il s'agissait d'une fillette de 6 ans, d'origine marocaine, née de parents consanguins, ayant souffert d'infections respiratoires inférieures à répétition durant les deux premières années de sa vie et ayant par la suite développé une insuffisance rénale rapidement terminale. Cette enfant a également présenté des épisodes de thrombocytopenie récurrente associés à la présence d'anticorps anti-plaquettes, et un syndrome inflammatoire persistant. Une hypogammaglobulinémie profonde fut mise en évidence, touchant surtout les IgG alors que les concentrations d'IgA étaient subnormales, et que celles d'IgM étaient normales. Aucune réponse vaccinale ne fut mise en évidence, ni après injection du vaccin polysaccharidique contre le pneumocoque (antigène T-indépendant), ni après administration d'un rappel de vaccin contre le tétanos (antigène T-dépendant). Par ailleurs, le titre des allo-hémagglutinines, anticorps naturels dirigés contre des antigènes polysaccharidiques présents à la surface des globules rouges, était bas. Un phénotypage des lymphocytes circulants par cytométrie de flux montrait un taux normal de lymphocytes B, T, NK, T régulateurs et Th17. Cependant les lymphocytes B n'exprimaient pas le CD19 et

les sous-populations de lymphocytes B mémoires étaient diminuées.

Études moléculaires chez une patiente porteuse d'une mutation homozygote de CD81

Le séquençage de l'ADN génomique du CD81 de cette patiente a révélé une substitution homozygote G>A directement en aval de l'exon 6, provoquant un décalage du cadre de lecture et un codon stop prématuré. Les deux parents de la fillette et son frère sont porteurs hétérozygotes de cette mutation mais ne présentent aucun signe d'immunodéficience.

Des PCR quantitatives en temps réel ont montré que l'allèle mutant produisait uniquement des produits d'épissage alternatif et ce, à un taux normal. L'expression du CD81 sur les cellules des porteurs hétérozygotes de la mutation était cependant diminuée par rapport à celle des contrôles sains si bien qu'il semble que 2 allèles sauvages de CD81 soient nécessaires pour produire des taux normaux de protéine en surface. L'expression de CD19 était également diminuée chez les porteurs hétérozygotes, tandis que celle de CD21, dont l'expression est diminuée chez la patiente, était normale chez les autres membres de la famille. Le CD225 était normalement exprimé chez la malade et les porteurs. Ces résultats montrent donc un rôle important de CD81 essentiellement dans l'expression de CD19 à la surface du lymphocyte B.

Le rôle de la mutation de CD81 dans l'absence d'expression de CD19 et de CD81 a été confirmé en transfectant des lignées EBV (lignées lymphoblastoïdes obtenues après infection des lymphocytes B par le virus Epstein Barr) de la patiente avec l'ADN codant le CD81 sauvage. Tant l'expression de CD81 que celle de CD19 à la surface des cellules ont été restaurées. Enfin, des expériences d'immunoprécipitation et de digestion par l'endoglycosidase F et H ont montré que l'absence d'expression de CD19 à la surface des lymphocytes B était liée à un défaut



de maturation de CD19, qui, en l'absence de CD81 sauvage, était retenu dans une localisation proche du réticulum endoplasmique/pré-Golgi. Ces travaux démontrent donc pour la première fois que l'expression membranaire de CD19 requiert la présence du CD81 sauvage.

Études fonctionnelles des lymphocytes B porteurs d'une mutation homozygote de CD81

Afin d'identifier l'impact du déficit en CD81 sur la fonction des lymphocytes B, nous avons analysé à l'échelon cellulaire la réponse anticorps induite par des rappels vaccinaux et nous avons par ailleurs recherché les conséquences possibles de ce déficit sur les fonctions de cellules présentatrices d'antigènes des lymphocytes B aux lymphocytes T. Deux vaccins différents ont été administrés, un rappel d'anatoxine tétanique et un vaccin polysaccharidique contre le pneumocoque. Alors que ces vaccins induisent normalement un afflux de cellules sécrétrices d'anticorps dans la circulation 7 à 9 jours après vaccination, ces cellules n'ont pas été détectées par Elispot dans le cas présent, et même le nombre de cellules sécrétrices d'IgG totales était très bas. Ces résultats nous indiquent que le déficit en CD81 est responsable d'une absence de réponse anticorps après vaccination, tant vis-à-vis des antigènes T-dépendants que des antigènes T-indépendants. Par ailleurs, ce déficit est associé à un faible taux de lymphocytes B mémoires circulants. La fréquence de mutations hypersomatiques dans les segments V_H du gène de ces cellules B mémoires était en outre significativement moindre que pour des sujets contrôles appariés pour l'âge. De plus, alors qu'une stimulation du BCR induisait un influx intracellulaire de Ca²⁺ moindre que chez des sujets contrôles, une stimulation de la voie du CD40L induisait quant à elle une prolifération et une commutation de classe des Ig comparables à celles des contrôles. Ces résultats démontrent que l'hypogammaglobulinémie associée au déficit en

CD81 résulte d'un déficit intrinsèque du lymphocyte B et non d'un défaut de réponses des lymphocytes T auxiliaires. Par ailleurs, les lymphocytes T proliféraient et sécrétaient de l'interféron-gamma en réponse à une stimulation des cellules mononucléées circulantes par de l'anatoxine tétanique, confirmant l'absence probable de déficit au niveau des lymphocytes T. Nous avons cependant montré que, contrairement aux sujets contrôles, les lymphocytes T de cette patiente ne sécrétaient que de faibles concentrations d'interféron-gamma en l'absence de monocytes et de cellules dendritiques, situation dans laquelle la présentation de l'antigène se fait par le lymphocyte B. L'absence d'expression de CD81 à la surface des lymphocytes B altère donc profondément leur fonctionnement alors que celui des lymphocytes T semble intact même si, normalement, ces cellules expriment aussi CD81. Les répercussions du déficit en CD81 sur la fonction du lymphocyte B pourraient peut-être expliquer les manifestations auto-immunes présentes chez cet enfant (thrombopénie auto-immune et néphropathie à IgA) par défaut d'élimination des BCR autoréactifs. Concernant les lymphocytes T, il faut noter qu'aucune anomalie dans la répartition de leurs sous-populations CD4/CD8, T régulatrices et Th17 n'a été mise en évidence, n'apportant aucune explication à la persistance du syndrome inflammatoire.

En conclusion

L'analyse détaillée des réponses immunitaires de cette patiente présentant le premier cas décrit de déficit en CD81 chez l'homme nous a permis de mettre en évidence le rôle fondamental de cette molécule dans le fonctionnement du lymphocyte B. En revanche, l'absence d'expression de cette molécule à la surface d'autres cellules ne semble pas avoir de conséquences pathologiques chez l'homme. ♦

CD81 has a key role in B lymphocyte function

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué avec le soutien du Fonds Erasme pour la Recherche Médicale (J. Smet), de Erasmus University Rotterdam (M.-C. van Zelm) et de la Dutch Organization for Scientific Research (M. van der Burg).

RÉFÉRENCES

1. Eades-Perner AM, Gathmann B, Knerr V, et al. ESID registry working party. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2004-06. *Clin Exp Immunol* 2007; 147 : 306-12.
2. Grimbacher B, Hutloff A, Schlesier M, et al. Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. *Nat Immunol* 2003; 4 : 261-8.
3. Castigli E, Wilson SA, Garibyan L, et al. TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency. *Nat Genet* 2005; 37 : 829-34.
4. Castigli E, Geha RS. Molecular basis of common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117 : 740-46.
5. Van Zelm MC, Reisli I, Van der Burg M, et al. An antibody-deficiency syndrome due to mutation in the CD19 gene. *N Engl J Med* 2006; 354 : 1901-12.
6. Carter RH, Fearon DT. CD19: lowering the threshold for antigen receptor stimulation of B lymphocytes. *Science* 1992; 256 : 105-7.
7. Levy S, Todd SC, Maecker HT. CD81 (TAPA-1): a molecule involved in signal transduction and cell adhesion in the immune system. *Annu Rev Immunol* 1998; 16 : 89-109.
8. Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 1998; 282 : 938-41.
9. Silvie O, Rubinstein E, Franetich JF, et al. Hepatocyte CD81 is required for *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium yoelii* sporozoite infectivity. *Nat Med* 2003; 9 : 93-6.
10. Silvie O, Rubinstein E, Boucheix C, Mazier D. CD81: une tétraspanine impliquée dans l'infection par *Plasmodium*. *Med Sci (Paris)* 2003; 19 : 169-71.
11. Grigorov B, Attuill-Audenis V, Perugi F, et al. A role for CD81 on the late steps of HIV-1 replication in a chronically infected T cell line. *Retrovirology* 2009; 6 : 28-43.
12. Kanegane H, Agematsu K, Futatani T, et al. Novel mutations in a Japanese patient with CD19 deficiency. *Genes Immun* 2007; 8 : 663-70.
13. van Zelm MC, Smet J, Adams B, et al. CD81 gene defect in humans disrupts CD19 complex formation and leads to antibody deficiency. *J Clin Invest* 2010; 120 : 1265-74.