pour la formation de cellules mémoires conventionnelles, ce qui suggère des voies de régulation indépendantes. Notre équipe tente à présent de définir les mécanismes épigénétiques possible-ment impliqués dans cette conversion en cellules mémoires sous l'effet d'Eomes.

Perspectives

Le rôle de ces cellules mémoires « non conventionnelles » et leur contribution à la réponse immunitaire (protectrice ou pathologique) ne sont pas encore clairs. Comparés aux cellules naïves, les lymphocytes de mémoire virtuelle répondent plus rapidement et plus efficacement à une stimulation antigénique. En revanche, cette capacité est réduite par rapport à celle des lymphocytes T de mémoire conventionnelle. À côté de leur rôle important dans la réponse adaptative, les cellules mémoires, qu'elles soient conventionnelles ou non conventionnelles, peuvent être activées par des cytokines inflammatoires, acquérir des fonctions cytotoxiques et produire de larges quantités d'IFN γ [9]. Elles contribuent ainsi à la première ligne de défense de l'organisme au même titre que d'autres sous-populations lymphoïdes dites « innées », comme les cellules NK (*natural killer*) ou les lymphocytes T $\gamma\delta$. Elles pourraient participer

également aux réponses immunitaires en début et en fin de vie, deux périodes de susceptibilité accrue aux infections. L'existence de ces cellules non conventionnelles chez l'homme n'est pas encore formellement démontrée, mais plusieurs études ont mis en évidence une population de lymphocytes T CD8⁺ de phénotype mémoire dans les rates et le sang de cordon de fœtus humains [10]. Une sous-population de cellules mémoires, exprimant fortement Eomes et les marqueurs de cellules NK, KIR (*Killer cell Ig-like receptor*) et NKG2A (aussi appelé KLRC1, *killer cell lectine-like receptor C1*), s'observe également dans le sang de cordon d'enfants nés à terme ainsi que dans du sang d'adulte [11]. Ces observations suggèrent donc la présence de lymphocytes T CD8⁺ mémoires innés chez l'homme. Il sera intéressant d'identifier des marqueurs permettant de caractériser avec certitude ces populations de lymphocytes T mémoires non conventionnels chez l'homme, ainsi que de déterminer leur origine et leurs fonctions, afin d'évaluer leur rôle dans des contextes cliniques. ♦

Virtual memory of cytotoxic T lymphocytes

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Walzer T, Arpin C, Belœil L, Marvel J. Phénotype et fonctions des lymphocytes T CD8⁺ mémoire. *Med Sci (Paris)* 2001 ; 17 : 1105-11.
2. Haluszczak C, Akue AD, Hamilton SE, et al. The antigen-specific CD8⁺ T cell repertoire in unimmunized mice includes memory phenotype cells bearing markers of homeostatic expansion. *J Exp Med* 2009 ; 206 : 435-48.
3. Chiu BC, Martin BE, Stolberg VR, Chensue SW. Cutting edge: central memory CD8 T cells in aged mice are virtual memory cells. *J Immunol* 2013 ; 191 : 5793-6.
4. Weinreich MA, Odumade OA, Jameson SC, Kristin A. PLZF⁺ T cells regulate memory-like CD8⁺ T cell development. *Nat Immunol* 2011 ; 11 : 709-16.
5. Intlekofer AM, Takemoto N, Wherry EJ, et al. Effector and memory CD8⁺ T cell fate coupled by T-bet and eomesodermin. *Nat Immunol* 2005 ; 6 : 1236-44.
6. Banerjee A, Gordon SM, Intlekofer AM, et al. Cutting edge: the transcription factor eomesodermin enables CD8⁺ T cells to compete for the memory cell niche. *J Immunol* 2010 ; 185 : 4988-92.
7. Gordon SM, Carty SA, Kim JS, et al. Requirements for eomesodermin and promyelocytic leukemia zinc finger in the development of innate-like CD8⁺ T cells. *J Immunol* 2011 ; 186 : 4573-8.
8. Martinet V, Tonon S, Torres D, et al. Type I interferons regulate eomesodermin expression and the development of unconventional memory CD8⁺ T cells. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 7089.
9. Soudja SMH, Ruiz AL, Marie JC, Lauvau G. Inflammatory monocytes activate memory CD8⁺ T and innate NK lymphocytes independent of cognate antigen during microbial pathogen invasion. *Immunity* 2012 ; 37 : 549-62.
10. Min HS, Lee YJ, Jeon YK, et al. MHC class II-restricted interaction between thymocytes plays an essential role in the production of innate CD8⁺ T cells. *J Immunol* 2011 ; 186 : 5749-57.
11. Jacomet F, Cayssials E, Basbous S, et al. Evidence for eomesodermin-expressing innate-like CD8⁺ KIR/NKG2A⁺ T cells in human adults and cord blood samples. *Eur J Immunol* 2015 ; 45 : 1926-33.

NOUVELLE

Régulation de l'immunopathogénèse du virus de l'hépatite B par des cellules myéloïdes suppressives

Suzanne Faure-Dupuy, Julie Lucifora

Inserm U1052, CNRS UMR_5286, centre de recherche en cancérologie de Lyon (CRCL), 151, cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France ; université de Lyon, université Claude Bernard (UCBL), UMR_51052, 69008 Lyon, France.
julie.lucifora@inserm.fr

► Le virus de l'hépatite B (VHB) est communément considéré comme un virus non cytopathique, c'est-à-dire n'altérant pas les fonctions métaboliques, biochimiques ou morphologiques des cellules

infectées. Les dommages au foie qui sont observés à la suite de l'infection par le VHB sont en fait probablement la conséquence de la réponse immunitaire adaptative de l'hôte. La sévérité

de la maladie hépatique varie selon les individus. Dans plus de 90 % des cas, les adultes infectés par le VHB développent une hépatite aiguë et sont capables de contrôler et d'éliminer le virus sans effets

Phases de l'hépatite B chronique	Réplication du VHB	Dommages au foie (transaminases élevées)	Traitement indiqué
Immunotolérante (IT)	Forte	Non	Non
Immunoactive (eAg+ active)	Forte	Oui	Oui
Inactive (IN)	Faible	Non	Non
Réactivation (eAg- active)	Faible/moyenne	Oui	Oui

Tableau 1. Caractéristiques des phases d'une infection chronique par le virus de l'hépatite B.

indésirables à long terme. En revanche, certains individus ne parviennent pas à éliminer le virus mais restent infectés de façon chronique [11] (→). Ils présentent alors un risque accru de développer des maladies du foie sévères telles que

(→) Voir la Nouvelle de J. Lucifora *et al.*, *m/s* n° 8-9, août-septembre 2014, page 724

la cirrhose ou le carcinome hépatocellulaire [1]. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), 240 millions d'individus seraient porteurs chroniques du VHB à travers le monde. Ces patients souffrent d'une hépatite B chronique (HBC) généralement divisée en 4 phases dont la durée et l'ordre peuvent varier (Tableau 1) : la phase d'immunotolérance (IT), la phase immuno-active (eAg+ [hepatitis B e-antigen] active), la phase inactive (IN) et la phase de réactivation virale (eAg- active). Lors de la phase immuno-active, une réponse lymphocytaire T inadéquate peut conduire à d'importants dommages hépatiques dus à l'infiltration de lymphocytes T non spécifiques [2]. *A contrario*, au cours de la phase d'immunotolérance, une forte charge virale ne conduit pas nécessairement à une forte réponse immunitaire. Dans une étude très intéressante, Pallet *et al.* ont cherché à comprendre les raisons de ce paradoxe, c'est-à-dire à déterminer comment se réalisent les immunorégulations lors d'une hépatite chronique.

Le rôle central du milieu métabolique dans la régulation de l'immunité et, notamment, le besoin accru en acides

aminés pour mettre en place une réponse immunitaire efficace, a été récemment mis en évidence [4]. Précédemment, l'équipe dirigée par Mala Maini avait décrit, chez les patients atteints d'une hépatite B chronique, un défaut de prolifération des lymphocytes T qui était concomitant avec une perte de l'expression de CD3- ζ , une des sous-unités constituant le TCR-CD3 (*T cell receptor*) [5]. Cette perte d'expression avait été décrite comme un marqueur caractéristique d'une privation en L-arginine (un acide aminé qui joue un rôle important dans la réponse des macrophages). Faisant suite à ces travaux, et pour comprendre les mécanismes sous-jacents, Pallet *et al.* ont étudié une population hétérogène de cellules immunitaires suppressives myéloïdes (MDSC, *myeloid-derived suppressor cell*) impliquées dans les régulations métaboliques. De façon intéressante, les auteurs ont montré que ces MDSC étaient impliquées dans l'inhibition de la réponse lymphocytaire T contre le VHB [3]. Les MDSC, et plus précisément les gMDSC (*granulocytic MDSC*, des MDSC qui possèdent des caractéristiques de granulocyte immature et qui expriment l'arginase¹), sont retrouvés en plus grand nombre dans le sérum et le foie des patients présentant une hépatite B chronique. Cette augmentation, plus prononcée dans le foie [3], est spécifiquement observée chez les patients dont la maladie se situe dans des phases non inflammatoires (phases IT et IN, Tableau 1) et elle est

inversement corrélée avec le score de nécro-inflammation hépatique. Chez les patients infectés de façon aiguë par le virus, le nombre de gMDSC est inversement proportionnel au niveau de transaminases sériques (marqueurs de dommages hépatiques). Ces données suggèrent que les gMDSC pourraient supprimer l'inflammation et donc avoir un rôle de protection contre les dommages hépatiques lors d'une infection par le VHB.

Le (ou les) mécanisme(s) impliqué(s) dans la prolifération des gMDSC lors de ces phases, ainsi que les facteurs et les récepteurs responsables de leur recrutement au niveau hépatique, restent cependant à identifier. Pallet *et al.* ont comparé, sur les gMDSC sériques et les gMDSC hépatiques, l'expression de différents chimiorécepteurs pouvant intervenir dans le recrutement hépatique de ces cellules. La relocalisation hépatique des gMDSC pourrait ainsi résulter de multiples modifications : une diminution de CXCR4 (*chemokine [C-X-C motif] receptor 4*), ce qui induit une mobilisation des cellules en dehors de la moelle osseuse, et une augmentation de CXCR3 (*chemokine [C-X-C motif] receptor 3*), conduisant à une interaction avec les cellules hépatiques étoilées² [3]. Un facteur viral pourrait également participer au recrutement des gMDSC. Auquel cas, le traitement des patients immunotolérants (qui n'est pas préconisé à l'heure actuelle), visant à la réduction

¹ L'arginase hydrolyse l'arginine en ornithine et urée.

² Les cellules étoilées acquièrent, après activation, des propriétés myofibroblastiques et synthétisent du collagène.

Figure 1. Les gMDSC régulent l'immunopathogenèse liée au virus de l'hépatite B grâce à des changements métaboliques. En phase active, les lymphocytes T CD8 détruisent les cellules infectées. En phase immunotolérante, le VHB active la prolifération des gMDSC et les recrute dans le foie, conduisant à une augmentation des taux sérique et hépatique de l'arginase I. Cette augmentation a pour conséquence une déplétion en L-arginine, carençant les lymphocytes T en cet acide aminé, les rendant ainsi inactifs. En compensation, le niveau d'expression de CD98 augmente sur les lymphocytes T. gMDSC : *granulocytic myeloid-derived suppressor cells* ; VHB : virus de l'hépatite B ; LT : lymphocyte T ; CD98 : transporteur neutre des acides aminés.

des facteurs viraux sanguins, pourrait permettre d'empêcher le recrutement des gMDSC et donc de maintenir une réponse antivirale active.

Plusieurs études avaient montré que les MDSC pouvaient inhiber les réponses immunitaires par la production d'arginase I, enzyme dégradant la L-arginine, privant ainsi les cellules immunitaires de cet acide aminé, dans les infiltrats tumoraux [6]. Par une série d'expériences élégantes, Pallet *et al.* ont montré que l'augmentation des gMDSC est associée à une accumulation de l'arginase I et à une diminution de la L-arginine sérique. *A contrario*, un ajout de L-arginine permet de supprimer les symptômes associés à la réplication virale (c'est-à-dire une diminution des transaminases sériques) [3]. Parallèlement, une corrélation inverse est observée entre le nombre de gMDSC et l'expression du récepteur CD3- ζ sur les cellules lymphocytaires T. Ce qui démontre, de façon indirecte, qu'une carence en L-arginine inhibe effectivement la fonction des

lymphocytes T [3]. Par ailleurs, compensant la déplétion en L-arginine, une augmentation de l'expression de CD98 (transporteur neutre d'acides aminés) est observée sur les lymphocytes T CD8 hépatiques, ce qui permet d'améliorer le transport des acides aminés en défaut [3]. Dans ce contexte, il serait intéressant de tester *in vitro*, dans des expériences de co-culture avec les gMDSC, l'effet d'un inhibiteur de l'arginase I sur la fonction des lymphocytes T. En effet, si un inhibiteur de l'arginase I permet de restaurer les fonctions des lymphocytes T, un traitement pourrait alors être envisagé *in vivo*. Bien que les données obtenues semblent robustes, il ne faut pas oublier que les MDSC pourraient avoir d'autres fonctions aux niveaux sérique et hépatique lors de l'infection par le VHB. Une étude a en effet montré que les MDSC hépatiques pouvaient inhiber la production d'interféron gamma (IFN- γ) par les lymphocytes T et ainsi inhiber l'expression de CD40-L (le ligand de CD40) sur les lymphocytes [7]. Or, cette

molécule participe à la formation de la synapse immunologique entre lymphocytes et cellules présentatrices d'antigènes. Elle est, en particulier, nécessaire au changement de la classe d'immunoglobuline [7].

De façon intrigante, Pallet *et al.* ont montré que l'inhibition immunitaire qu'ils avaient mise en évidence n'était pas spécifique des lymphocytes T dirigés contre le VHB mais qu'elle pouvait être également observée, *in vitro*, sur des lymphocytes T dirigés contre d'autres virus comme le virus d'Epstein-Barr ou le cytomégalovirus [3]. Si la carence en L-arginine entraînait une inhibition de tous les lymphocytes T activés, une immunodépression devrait donc être observée lors d'une hépatite B chronique. Or, le système immunitaire des patients infectés reste fonctionnel [8]. L'inhibition des lymphocytes T *in vivo* reste donc, au moins partiellement, spécifique des lymphocytes T dirigés contre le VHB, le mécanisme sous-jacent restant cependant à déterminer. La compréhension de ce(s) mécanisme(s) est donc nécessaire pour parvenir à induire une réactivation de la réponse T chez les patients chroniquement infectés.

En conclusion, Pallet *et al.* ont montré que le nombre de gMDSC exprimant l'arginase I est accru lors d'une hépatite B chronique. Ceci entraîne une augmentation de l'arginase I sérique et hépatique, conduisant à une déplétion en L-arginine et donc à l'inhibition de l'activité des lymphocytes T (Figure 1). Ce travail a permis d'identifier une nouvelle population de cellules immunitaires impliquée dans la régulation des réponses immunitaires chez des patients chroniquement infectés par le VHB, les gMDSC, et d'expliquer un mécanisme d'inhibition de la réponse lymphocytaire T. Cette étude suggère que la phase d'immunotolérance est due à une inhibition forte des réponses inflammatoires plutôt qu'à une inaptitude du système immunitaire à induire une réponse T fonctionnelle. Or, le VHB a longtemps été considéré comme un virus silencieux [9] contre

lequel aucune réponse immunitaire n'était mise en place puisque le système immunitaire du patient était supposé incapable de détecter ce virus. Depuis quelques années, de plus en plus d'études montrent que, plutôt que d'être un virus silencieux, le VHB peut mettre en place de nombreux mécanismes d'inhibition de l'immunité, à la fois innée et adaptative [10]. Les cellules immunitaires des patients infectés par le VHB seraient donc capables de détecter le virus et pourraient, en cas de levée de l'inhibition induite par le virus, mettre en place une réponse immunitaire efficace. Les données obtenues par Pallet et al. sont encourageantes pour le développement de thérapies innovantes visant

la réactivation du système immunitaire chez les patients infectés. ♦

gMDSs act as metabolic regulators of hepatitis B virus immunopathology

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Lavanchy D. Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention. *J Clin Virol* 2005 ; 34 (suppl 1) : S1-3.
2. Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol* 2006 ; 1 : 23-61.
3. Pallett LJ, Gill US, Quaglia A, et al. Metabolic regulation of hepatitis B immunopathology by myeloid-derived suppressor cells. *Nat Med* 2015 ; 21 : 591-600.

4. Sinclair LV, Rolf J, Emslie E, et al. Control of amino-acid transport by antigen receptors coordinates the metabolic reprogramming essential for T cell differentiation. *Nat Immunol* 2013 ; 14 : 500-8.
5. Das A, Hoare M, Davies N, et al. Functional skewing of the global CD8 T cell population in chronic hepatitis B virus infection. *J Exp Med* 2008 ; 205 : 2111-24.
6. Gabrilovich DI, Ostrand-Rosenberg S, Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol* 2012 ; 12 : 253-68.
7. Chen S, Akbar SMF, Abe M, et al. Immunosuppressive functions of hepatic myeloid-derived suppressor cells of normal mice and in a murine model of chronic hepatitis B virus. *Clin Exp Immunol* 2011 ; 166 : 134-42.
8. Ferrari C. HBV and the immune response. *Liver Int* 2015 ; 35 (suppl 1) : 121-8.
9. Wieland S, Thimme R, Purcell RH, et al. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 6669-74.
10. Busca A, Kumar A. Innate immune responses in hepatitis B virus (HBV) infection. *Virol J* 2014 ; 11 : 22.
11. Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, et al. Dégradation spécifique de l'ADN nucléaire responsable de la persistance du virus de l'hépatite B. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 724-6.

NOUVELLE

Le facteur nétrine-1 régule la reprogrammation cellulaire vers l'état pluripotent

Patrick Mehlen¹, Fabrice Laval²

► En 2006, l'équipe de Shynia Yamanaka a présenté un protocole de génération de cellules souches pluripotentes induites (iPS) [1]. Ces chercheurs ont démontré que l'expression exogène de quatre facteurs de transcription, le cocktail OSKM (Oct4, *octamer-binding transcription factor 4* ; Sox2, *SRY [sex determining region Y]-box 2* ; Klf4, *Kruppel-like factor 4* ; c-Myc), dans une cellule somatique différenciée, est suffisante pour induire une reprogrammation épigénétique globale conduisant à l'émergence de cellules, les cellules iPS, OSKM ayant éteint le génome somatique et réactivé le circuit pluripotent [12] (→). Au delà de la prouesse technique, ce procédé ouvre d'incroyables perspectives en terme de médecine régénérative. Dans le cas de pathologies tissulaires

(→) Voir la Nouvelle de L. Lapasset et al., *m/s* n° 11, novembre 2010, page 902

dégénératives, des cellules iPS peuvent être générées *in vitro* de manière autologue à partir de cellules isolées des patients (sang, peau, etc.) et induites à se redifférencier dans le lignage endomagé avant leur transplantation. Il est même possible de combiner cette approche avec la correction d'une anomalie génétique dans les cellules iPS. Cependant, le processus est encore limité par sa très faible efficacité et par la qualité hétérogène des clones de cellules iPS obtenus, notamment en terme de potentiel de différenciation.

Identifier les mécanismes protégeant la cellule somatique contre la dédifférenciation et la reprogrammation

La reprogrammation pluripotente est un processus stochastique complexe qui nécessite, entre autres, d'effacer

¹ Laboratoire Apoptose, Cancer et Développement – équipe labellisée La Ligue, LabEx DEVweCAN, centre de recherche en cancérologie de Lyon, Inserm U1052-CNRS UMR5286, université de Lyon, centre Léon Bérard, 28, rue Laennec, 69008 Lyon, France.

² Laboratoire Reprogrammation cellulaire et oncogénèse – équipe ATIP/Avenir, centre de recherche en cancérologie de Lyon, Inserm U1052-CNRS UMR5286, université de Lyon, centre Léon Bérard, 69008 Lyon, France. patrick.mehlen@lyon.unicancer.fr fabrice.laval@lyon.unicancer.fr

la signature épigénétique de la cellule somatique et d'établir l'épigénome pluripotent, divisant le processus en deux grandes phases (Figure 1) [13] (→). La phase tardive, principalement caractérisée par la réactivation des réseaux moléculaires de pluripotence, est bien caractérisée. Les mécanismes responsables de l'initiation de la dédifférenciation de la cellule somatique restent en revanche mal connus. Pourtant, cette étape de perte d'identité des cellules somatiques peut être considérée comme le socle commun à un certain nombre de stratégies de reprogrammation développées pour générer des cellules souches

(→) Voir la Synthèse de L. David et J. De Vos, *m/s* n° 4, avril 2013, page 405