

Pré-exclusion de la phosphatase CD45 de l'extrémité des microvillosités membranaires des lymphocytes T

Rôle dans leur activation

Jehanne Lafargue-Hauret¹, Klervie Lozac'h¹, Bewenden Kabore¹, Pierre Bobé²

¹ M1 Biologie santé, université Paris-Saclay, Orsay, France.

² UMR 996 Inserm-université Paris-Saclay, France.

jehanne.lafargue-hauret@ens-paris-saclay.fr

klervie.lozach@etud.univ-evry.fr

bewenden.kabore@universite-paris-saclay.fr

pierre.bobe@universite-paris-saclay.fr

► Les lymphocytes T (LT) sont des acteurs majeurs de l'immunité adaptative. Leur activation nécessite que leur récepteur de l'antigène, ou TCR (*T-cell receptor*), composé de deux chaînes α et β associées à la molécule CD3 pour former le « complexe TCR », reconnaisse un peptide antigénique lui-même associé aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de la cellule présentatrice d'antigène (CPA) (*Figure 1*, « synapse immunologique »). Lors de cette reconnaissance, une zone de contact étroit entre LT et CPA est donc formée au niveau de ce que l'on nomme la synapse immunologique (SI) dans laquelle est localisé le complexe TCR/CMH mais également des molécules d'adhérence, telles que des intégrines [1], des co-récepteurs (comme CD4) et diverses protéines de signalisation dont la Lck (*lymphocyte-specific protein tyrosine kinase*) [2] (→).

La présence de nombreuses protéines au niveau de la SI est donc nécessaire à la signalisation du TCR, et il semble que l'absence de CD45 de cette zone de contact rapprochée soit également importante.

En effet, CD45, également appelé antigène commun des leucocytes, est une protéine transmembranaire de la famille des protéines tyrosine phosphatases qui,

présente à la surface des cellules hématopoïétiques, régule divers processus cellulaires, dont la signalisation des TCR. Bien que CD45 joue un rôle central dans l'activation du LT, sa localisation précise à la membrane plasmique reste discutée. CD45 est composée de deux domaines tyrosine phosphatase intracellulaires et d'un domaine extracellulaire, dont la taille et la structure varient selon un processus d'épissage alternatif de l'ARNm codant CD45 [3,4]. En effet, en fonction de son état de maturation, d'activation et de différenciation, un LT exprime à sa membrane une isoforme différente de la protéine CD45. À ce jour, aucun ligand activateur n'a été identifié pour CD45, dont le mécanisme d'activation demeure inconnu [4]. On sait, en revanche, que l'exclusion de cette protéine de la SI est nécessaire au contact étroit entre LT et CPA, son domaine extracellulaire étant de taille trop importante par rapport à celle du complexe TCR/CMH-peptide [5]. En conditions physiologiques, la phosphorylation des motifs ITAM (*immune receptor tyrosine based activation motif*) du complexe TCR est à l'origine d'une signalisation intracellulaire [6] et CD45 est capable de déphosphoryler ces motifs, les rendant inactifs [7]. La phosphatase CD45 permet également la déphosphorylation activatrice de la kinase Lck, initiant la signalisation du TCR [6-8]. CD45 empêche donc la

signalisation en absence d'antigène par la déphosphorylation des ITAM, mais elle permet également l'initiation de la signalisation lors de la formation de la SI via l'augmentation de sa distance avec les TCR qui empêche la déphosphorylation des ITAM, et par son rôle dans l'activation de Lck.

Les LT présentent des digitations de leur membrane plasmique qui se créent par le biais de la polymérisation des filaments d'actine à l'extrémité distale de ces microvillosités (EM), au niveau desquelles existe une surconcentration des TCR. Les EM constitueraient donc une surface membranaire privilégiée pour l'activation des LT et la reconnaissance initiale de l'antigène. Cette surface s'aplanirait ensuite, permettant la formation d'une SI stable [5,6,9].

Il a été montré que CD45 est exclue à 95 % de zones plus épaisses de la membrane contenant beaucoup de cholestérol (les radeaux lipidiques) [10]. Or, les zones de courbure forte de membrane (telles que les EM) sont riches en cholestérol [11].

Dans une publication de 2021, Jung *et al.* de l'Institut d'immunologie de La Jolla (San Diego, Californie, États-Unis) ont voulu déterminer si l'exclusion de CD45 des EM des LT se produisait avant (pré-exclusion) ou seulement après la reconnaissance de l'antigène par le LT. Ils ont mis en évidence des mécanismes de pré-

(→) Voir la Synthèse de J. Bouchet et A. Alcover, *m/s* n° 6-7, juin-juillet 2014, page 665

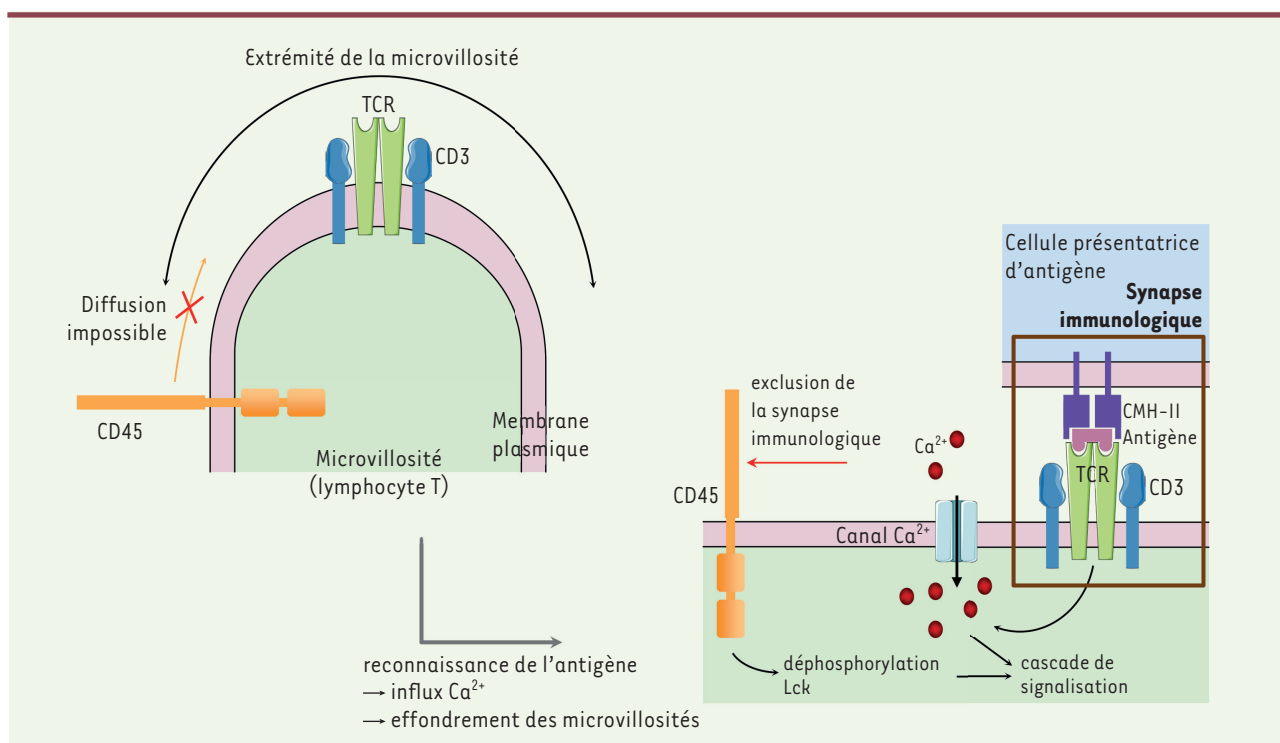


Figure 1. Modèle de pré-exclusion de CD45 de l'extrémité des microvillosités. L'extrémité des microvillosités a une membrane plasmique plus épaisse à cause de l'enrichissement du feuillet interne en cholestérol. Avant la reconnaissance de l'antigène, CD45 est exclu des extrémités de ces microvillosités à cause de sa MIL trop courte, empêchant sa diffusion dans l'extrémité de la microvillosité. Une première reconnaissance entre TCR et CMH-peptide (contact bref) suffit à provoquer un influx calcique et donc à initier la signalisation. La formation de la SI s'accompagne d'une déphosphorylation activatrice de Lck par CD45, exclu de la SI à cause de son domaine extracellulaire de taille trop importante, mais demeurant à proximité de celle-ci.

exclusion et ont étudié ses conséquences sur la signalisation associée aux TCR.

CD45 est pré-exclue des EM alors que CD3 y est concentré

La combinaison de la microscopie de dilatation ou d'expansion ExM¹ [13] (→) à la microscopie confocale à balayage laser (*airyscan laser scanning confocal imaging*) a permis d'augmenter considérablement la résolution effective de l'image de microscopie (la résolution ainsi obtenue est 6,8 fois supérieure à la limite de réfraction : 30-40 nm). Grâce à cette

(→) Voir la Synthèse de M.H. Laporte *et al.*, m/s n° 4, avril 2023, page 351

¹ La méthode ExM implique l'augmentation de la taille des structures observées afin d'augmenter la résolution : les ingrédients nécessaires à la synthèse d'un polymère sont ajoutés à la préparation à observer puis la polymérisation est déclenchée, entraînant une dilatation du polymère responsable d'un agrandissement tridimensionnel des structures d'environ 4 à 5 fois tout en préservant leur anatomie.

amélioration considérable de la résolution en imagerie confocale, les auteurs ont pu montrer l'absence de CD45 dans les EM de la membrane des LT humains [6].

Jung *et al.* ont également étudié la localisation du complexe protéique membranaire CD3, indispensable à l'expression membranaire des chaînes α et β du TCR (récepteur impliqué dans la reconnaissance du complexe CMH-peptide) et à la transduction du signal TCR par ses motifs ITAM. Utilisant la même méthode, les auteurs ont mis en évidence une corrélation inverse entre la localisation de CD3, proche des EM, et de CD45, exclu des EM. Les complexes TCR $\alpha\beta$ /CD3 ne sont donc pas associés à CD45 au niveau des microvillosités [6]. À noter que les lymphocytes B murins et humains présentent également ce phénomène de pré-exclusion de CD45 des EM où sont concentrés les récepteurs de l'antigène de ces cellules, ou BCR (*B-cell receptor*) [6].

Les auteurs ont alors voulu comprendre comment la molécule CD45 était exclue des EM avant la reconnaissance de l'antigène par le LT.

Mécanisme d'exclusion de CD45 des EM

Jung *et al.* ont observé qu'une réduction du taux de cholestérol membranaire des LT par de la méthyl- β -cyclodextrine conduisait à la diffusion de CD45 dans les EM. L'accumulation de cholestérol dans les EM, en causant un épaississement local de la membrane, pourrait être responsable de la pré-exclusion de CD45 de ces zones. En effet, la limite d'intégration membranaire (MIL, ou nombre maximal d'acides aminés entre deux résidus chargés situés de part et d'autre d'une hélice alpha transmembranaire) de CD45 est plus courte que la moyenne des MIL des autres protéines transmembranaires. Par l'étude de la localisation

de mutants de CD45 ayant un domaine extracellulaire réduit et/ou une MIL plus longue, les auteurs ont montré que la MIL, et non la taille du domaine extracellulaire, est responsable de la pré-exclusion de CD45 [6].

Après avoir mis en évidence un mécanisme possible permettant la pré-exclusion de CD45, les auteurs se sont intéressés au rôle de la pré-exclusion dans la signalisation associée au TCR.

Les microvillosités permettent une signalisation calcique avant la formation de la SI

Afin de préciser la signification fonctionnelle de la pré-exclusion de CD45, les auteurs ont recherché si cette reconnaissance initiale des CPA par les microvillosités des LT pouvait déclencher une signalisation du TCR précoce. Jung *et al.* ont observé que les nombreux contacts brefs entre les deux cellules suffisent à provoquer un influx de Ca^{2+} , mis en évidence par imagerie de fluorescence, et ce avant la formation de la SI [6].

Implications fonctionnelles de la pré-exclusion de CD45 des EM

Jung *et al.* ont montré que CD45 était pré-exclue des EM suite à l'épaississement local de la membrane dû au taux élevé de cholestérol et à la MIL courte de CD45. Cette pré-exclusion, qui pourrait permettre à une signalisation d'avoir lieu avant même la formation de la SI, est par ailleurs nécessaire à la formation de la SI ainsi qu'à la transduction du signal associé à la reconnaissance LT/CPA.

Des modèles précédents avaient suggéré que la signalisation initiée par le TCR dépend notamment du temps passé par celui-ci dans une zone dépourvue de CD45 et des contraintes spatiales limitant la surface de contact entre la CPA et le LT [12]. La pré-exclusion de CD45, et de son domaine extracellulaire plus long que celui des complexes TCR/CMH, aiderait la reconnaissance entre les TCR des microvillosités des LT et les complexes CMH-peptide des CPA. L'absence de CD45 et de son activité phosphatase faciliterait aussi l'activation des TCR une fois cette interaction établie [6]. Cependant, la nature du CD45 exprimé par les LT utilisés lors de ces expériences pourrait avoir une influence sur les résultats obtenus : les isoformes de CD45 ayant des domaines extracellulaires très variables, il est envisageable que ces différentes isoformes aient des mécanismes de fonctionnement différents. Bien que CD45 soit exclu des EM, il reste nécessaire pour activer par déphosphorylation les kinases Lck présentes au niveau intracellulaire des microvillosités. Les auteurs supposent que sa localisation proche des EM lui permettrait de déphosphoryler Lck mais les mécanismes permettant à CD45 d'accéder à Lck demeurent inconnus. Il serait intéressant de les élucider puisqu'ils sont susceptibles de déclencher la signalisation permettant l'effondrement des microvillosités, et donc l'aplanissement de l'interface entre la CPA et le LT [6]. ♦

CD45 pre-exclusion from the tips of microvilli : role in their activation

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Martín-Cófreces NB, Vicente-Manzanares M, Sánchez-Madrid F. Adhesive Interactions Delineate the Topography of the Immune Synapse. *Front Cell Dev Biol* 2018 ; 6 : 149.
2. Bouchet J, Alcover A. La synapse immunologique – Une plate-forme de signalisation dynamique pour l'activation des lymphocytes T. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 665-70.
3. Holmes N. CD45 : all is not yet crystal clear. *Immunology* 2006 ; 117 : 145-155.
4. Tchilian EZ, Beverley PCL. Altered CD45 expression and disease. *Trends Immunol* 2006 ; 27 : 146-153.
5. Jung Y, Riven I, Feigelson SW, *et al.* Three-dimensional localization of T-cell receptors in relation to microvilli using a combination of superresolution microscopies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016 ; 113 : E5916-24.
6. Jung Y, Wen L, Altman A, Ley K. CD45 pre-exclusion from the tips of T cell microvilli prior to antigen recognition. *Nat Commun* 2021 ; 12 : 3872.
7. Furlan G, Minowa T, Hanagata N, *et al.* Phosphatase CD45 both positively and negatively regulates T cell receptor phosphorylation in reconstituted membrane protein clusters. *J Biol Chem* 2014 ; 289 : 28514-25.
8. Razvag Y, Neve-Oz Y, Sajman J, *et al.* Nanoscale kinetic segregation of TCR and CD45 in engaged microvilli facilitates early T cell activation. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 732.
9. Sherman E, Barr V, Manley S, *et al.* Functional nanoscale organization of signaling molecules downstream of the T cell antigen receptor. *Immunity* 2011 ; 35 : 705-20.
10. Edmonds SD, Ostergaard HL. Dynamic association of CD45 with detergent-insoluble microdomains in T lymphocytes. *J Immunol* 2002 ; 169 : 5036-42.
11. Yesylevskyy SO, Demchenko AP, Kraszewski S, Ramseyer C. Cholesterol induces uneven curvature of asymmetric lipid bilayers. *ScientificWorldJournal* 2013 ; 2013 : 965230.
12. Fernandes RA, Ganzinger KA, Tzou JC, *et al.* A cell topography-based mechanism for ligand discrimination by the T cell receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019 ; 116 : 14002-10.
13. Laporte MH, Bertiaux E, Hamel V, Guichard P. L'organisation native de la cellule révélée grâce à la cryo-microscopie à expansion. *Med Sci (Paris)* 2023 ; 39 : 351-8.



Tarifs d'abonnement m/s - 2024

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Abonnez-vous sur

www.medecinesciences.org

