

tanée en neurones (MAP 2 $\alpha\beta$ +), oligodendrocytes (RIP+, GalC+) et astrocytes (GFAP+), dans une très faible proportion: 1 à 2 % des cellules. Cette proportion peut atteindre 5 % si les conditions de culture incluent la laminine, l'acide rétinoïque et le sérum de veau fœtal. Mais plus de 10 % de neurones ou d'astrocytes sont détectables si les cellules souches sont cultivées en milieu défini sur une monocouche d'astrocytes et de neurones prélevés sur des animaux nouveau-nés. La substitution des astrocytes par des fibroblastes est inefficace. Curieusement, une monocouche constituée seulement de neurones stimule la différenciation en oligodendrocytes, tandis qu'une monocouche uniquement composée d'astrocytes de l'hippocampe reproduit l'effet inducteur neurogénique. Les astrocytes produisent donc un ensemble de facteurs solubles et transmembranaires qui favorisent la différenciation des cellules souches adultes en neurones. De plus, cet effet est dépendant

du stade de développement, les astrocytes issus d'animaux nouveau-nés ayant un effet plus marqué que les astrocytes adultes. Il existe également une spécificité régionale: en effet, s'il existe des cellules souches isolées dans de multiples endroits du système nerveux central, y compris la moelle épinière, seuls les astrocytes de l'hippocampe sont capables de stimuler la neurogenèse. Les auteurs indiquent même que les astrocytes de la moelle épinière stimulent préférentiellement la différenciation en astrocytes et en oligodendrocytes, sans toutefois détailler les données.

Une nouvelle voie est donc ouverte vers la caractérisation des facteurs qui, probablement en combinaison, induisent la sortie du cycle cellulaire des cellules souches et leur engagement dans un lignage spécifique. Une voie importante pour la médecine régénérative du système nerveux central. ♦

Astrocytes control neurogenesis in the adult central nervous system

RÉFÉRENCES

1. Castellano-Lopez B, Nieto-Sampedro M. Glial cell function. *Prog Brain Res* 2001; 132.
2. Rakic PJ. Adult neurogenesis in mammals: an identity crisis. *Neuroscience* 2002; 22: 614-8.
3. Haydon PG. Glia: listening and talking to the synapse. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 185-93.
4. Oliet S, Piet R, Poulain D. Control of glutamate clearance and synaptic efficacy by glial coverage of neurons. *Science* 2001; 292: 923-6.
5. Song H, Stevens CF, Gage F. Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature* 2002; 417: 39-44.

NOUVELLE

Les lymphocytes T régulateurs CD4⁺CD25⁺ : vers une immunomodulation thérapeutique ?

Benoît Salomon

► Le thymus produit des lymphocytes T (Ly T) présentant un répertoire très large de spécificités pour les antigènes. Certains de ces Ly T ont un rôle déterminant dans l'élimination spécifique des agents infectieux. D'autres, spécifiques d'antigènes du soi, seront éliminés (délétion clonale) ou leur fonction sera neutralisée; dans ce dernier cas, on parle alors d'anergie. Toutefois, malgré ces « garde-fous » il persiste des Ly T fonctionnels qui reconnaissent des antigènes du soi. Ces Ly T « auto-réactifs », s'ils sont activés, exposent au risque de

maladies auto-immunes. Ce processus est contrôlé par des Ly T dits régulateurs qui empêchent l'action des Ly T auto-réactifs potentiellement pathogènes, prévenant ainsi l'émergence de maladies auto-immunes, ce que l'on désigne par le terme de « tolérance dominante ». Des données récentes montrent que les Ly T CD4⁺ exprimant de façon constitutive la chaîne α du récepteur de l'interleukine-2 (CD25) (soit 7-10 % des Ly T CD4⁺) jouent un rôle majeur dans la prévention des maladies auto-immunes. En effet,

lorsque l'on provoque un déficit spécifique en Ly T régulateurs CD4⁺CD25⁺ (Ly T_{reg}) chez des rongeurs qui ne développent pas normalement de maladies auto-immunes, un syndrome auto-immun touchant de nombreux organes apparaît [1]. Par ailleurs, un déficit en Ly T_{reg} aggrave considéra-

blement le diabète auto-immun des souris NOD (*non-obese diabetic*) qui développent de façon spontanée cette maladie [2]. Ces données indiquent que les Ly T_{reg} exercent en permanence un contrôle de l'auto-immunité, ce qui leur a parfois valu la dénomination de *natural suppressors*.

Les mécanismes par lesquels les Ly T_{reg} contrôlent l'émergence de maladies auto-immunes sont très mal connus. Des expériences récentes réalisées *in vivo*

Cnrs UMR 7087, CERVI,
Hôpital de la Pitié-
Salpêtrière,
83, boulevard de l'Hôpital,
75651 Paris Cedex 13, France.



montrent que ces cellules pourraient bloquer l'activation des Ly T auto-réactifs et inhiber ainsi leur prolifération et/ou leur différenciation en cellules effectrices pathogènes [3, 4]. Des expériences *in vitro* ont également montré que les Ly T_{reg} sont des cellules suppressives très puissantes capables d'inhiber l'activation des Ly T CD4⁺ et CD8⁺ en bloquant leur prolifération et leur différenciation [5]. Plusieurs mécanismes d'action pourraient donc être impliqués dans la prévention, par les Ly T_{reg}, de maladies auto-immunes.

L'origine thymique des Ly T_{reg} est clairement établie par deux types d'arguments: d'une part ces cellules sont présentes dans ce tissu, et d'autre part l'ablation du thymus chez des souris nouveau-nées entraîne un déficit permanent en Ly T_{reg} [5]. Ces cellules feraient partie d'une lignée cellulaire distincte de celle des lymphocytes T conventionnels, dans la mesure où il ne semble pas être possible de faire se différencier des Ly T_{reg} CD4⁺ CD25⁺ en Ly T CD4⁺ conventionnels et *vice-versa*. Même après activation, les Ly T CD4⁺ conventionnels (qui expriment alors également le marqueur CD25 en

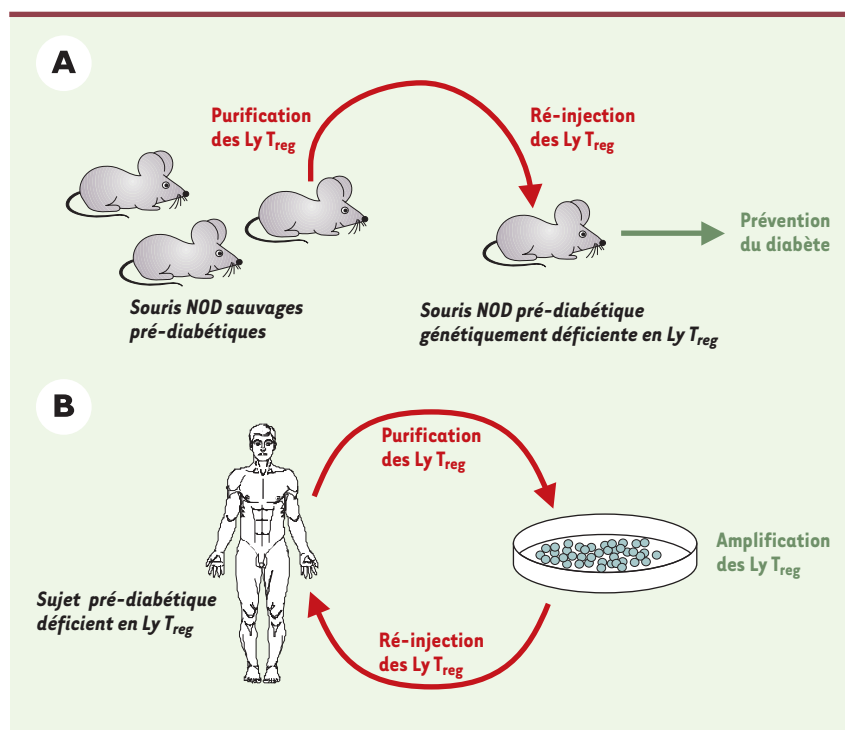
réponse à cette activation) se distinguent des Ly T_{reg} sur des critères phénotypiques (perte de l'expression de CD62L par exemple) ou sur des critères fonctionnels (absence d'acquisition de fonctions suppressives) [6]. Des résultats récents indiquent que, au cours de leur développement, seuls sont produits les Ly T_{reg} qui sont spécifiques d'antigènes exprimés dans le thymus, donc d'auto-antigènes. Contrairement à la majorité des Ly T conventionnels, les Ly T_{reg} seraient des cellules auto-réactives capables donc de reconnaître de façon spécifique les antigènes tissulaires de l'organisme [4, 7]. Par ailleurs, on sait que l'effet suppresseur des Ly T_{reg} est strictement dépendant de l'engagement de leur récepteur à l'antigène [5]. Ainsi, si dans un organe, un processus auto-immun associé à une lyse cellulaire apparaît, l'augmentation de la présentation des antigènes tissulaires pourrait favoriser localement l'activation de Ly T_{reg} auto-réactifs spécifiques de ces antigènes. Ces derniers pourraient alors exercer une régulation de l'activation des Ly T conventionnels auto-réactifs dans ce tissu, jouant ainsi leur rôle de

contrôle des maladies auto-immunes.

Les Ly T_{reg} ont récemment été décrits chez l'homme où ils présentent des propriétés remarquablement similaires à celles qui ont été caractérisées initialement chez les rongeurs [8]. On peut donc espérer traiter certaines maladies auto-immunes en induisant une tolérance immune grâce à l'administration de Ly T_{reg}. C'est effectivement ce qui se produit chez l'animal: ainsi, nous avons montré que chez des souris NOD (*non obese diabetic*) développant un diabète exacerbé par la création d'un déficit en Ly T_{reg}, l'administration de ces cellules avant l'apparition du diabète clinique en retarde l'expression voire prévient la maladie (Figure 1A) [2]. La pertinence clinique de ces résultats se trouve renforcée par l'observation récente que des patients atteints de diabète auto-immun ont un déficit en Ly T_{reg} [9]. Dès lors, l'injection de fortes doses de Ly T_{reg} autologues chez des personnes pré-diabétiques pourraient arrêter le processus auto-immun, bloquer la destruction des cellules sécrétrices d'insuline et prévenir le diabète. De grandes quantités de cellules pourraient être obtenues par la

Figure 1. Perspective de thérapie cellulaire du diabète auto-immun par transfert de Ly T_{reg}.

A. Dans une expérience précédente, des Ly T_{reg} étaient purifiés à partir de souris NOD sauvages puis ré-injectés en grandes quantités chez des souris NOD génétiquement déficientes en Ly T_{reg} obtenues par recombinaison homologe. Le transfert de ces cellules prévenait ou retardait efficacement l'apparition du diabète. Dans le groupe témoin, les souris qui ne recevaient pas d'injection de Ly T_{reg} développaient un diabète sévère [2]. **B.** Une approche similaire pourrait être envisagée chez des sujets pré-diabétiques (le risque de diabète est suspecté par la présence de différents auto-anticorps spécifiques d'antigènes d'îlots de Langerhans) présentant un déficit en Ly T_{reg}. Leurs Ly T_{reg} résiduels seraient purifiés, cultivés *ex vivo* en présence d'interleukine-2 pour induire leur prolifération, puis seraient ré-injectés au même patient.



multiplication abondante *ex vivo* des Ly T_{reg}, prélevés au préalable chez le patient (Figure 1B). Une telle expansion cellulaire s'avère possible chez la souris puisque nous avons obtenu une amplification du nombre des Ly T_{reg} d'un facteur 1 000 après 25 jours de culture sans perte de fonction régulatrice.

Les Ly T_{reg} pourraient avoir d'autres indications thérapeutiques que le seul traitement des maladies auto-immunes. En effet, leur participation a été démontrée dans l'acquisition de la tolérance aux allogreffes d'organes solides [10, 11]. Il

serait donc possible d'envisager une thérapie cellulaire par les Ly T_{reg} dans les greffes d'organes. Par ailleurs, nous avons récemment étudié le rôle des Ly T_{reg} dans la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) après greffe de moelle osseuse allogénique chez la souris. Les Ly T_{reg} naturellement présents dans le greffon médullaire retardent spontanément l'apparition de la GVH. L'administration, au moment de la greffe, d'un grand nombre de Ly T_{reg} syngéniques permet de prévenir ou de retarder considérablement la survenue d'une GVH. Cet effet est

obtenu aussi bien avec des Ly T_{reg} fraîchement purifiés qu'avec des cellules obtenues après leur multiplication *in vitro* [12]. La découverte des Ly T_{reg} ouvre donc un vaste champ non seulement d'investigations expérimentales, mais probablement de perspectives thérapeutiques. Il est probable que dans les années à venir, des essais cliniques utilisant ces populations seront réalisés dans le traitement des maladies auto-immunes et en transplantation. ♦

CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells: towards therapeutic immunomodulation?

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier José Cohen et Olivier Boyer pour leurs précieux conseils dans la préparation de ce manuscrit.

RÉFÉRENCES

1. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-64.
2. Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, et al. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity* 2000; 12: 431-40.
3. Green EA, Choi Y, Flavell RA. Pancreatic lymph node-derived CD4⁺CD25⁺ Treg cells: highly potent regulators of diabetes that require TRANCE-RANK signals. *Immunity* 2002; 16: 183-91.
4. Apostolou I, Sarukhan A, Klein L, von Boehmer H. Origin of regulatory T cells with known specificity for antigen. *Nat Immunol* 2002; 3: 756-63.
5. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, et al. Immunologic tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev* 2001; 182: 18-32.
6. Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, et al. Thymus and autoimmunity: production of CD25⁺CD4⁺ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J Immunol* 1999; 162: 5317-26.
7. Jordan MS, Boesteanu A, Reed AJ, et al. Thymic selection of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells induced by an agonist self-peptide. *Nat Immunol* 2001; 2: 301-6.
8. Jonuleit H, Schmitt E, Stassen M, Tuettenberg A, Knop J, Enk AH. Identification and functional characterization of human CD4⁺CD25⁺ T cells with regulatory properties isolated from peripheral blood. *J Exp Med* 2001; 193: 1285-94.
9. Kukreja A, Cost G, Marker J, et al. Multiple immunoregulatory defects in type-1 diabetes. *J Clin Invest* 2002; 109: 131-40.
10. Gregori S, Casorati M, Amuchastegui S, Smiroldo S, Cavalli AM, Adorini L. Regulatory T cells induced by 1alpha, 25-dihydroxyvitamin d (3) and mycophenolate mofetil treatment mediate transplantation tolerance. *J Immunol* 2001; 167: 1945-53.
11. Hara M, Kingsley CI, Niimi M, et al. IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens in vivo. *J Immunol* 2001; 166: 3789-96.
12. Cohen JL, Trenado A, Vasey D, Klatzmann D, Salomon BL. CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells: new therapeutics for graft-versus-host disease. *J Exp Med* 2002; 196: 401-6.