

qui, finalement, donnent naissance à des types cellulaires proches mais pas identiques, comme dans le cas des CE du sac vitellin et de celles différenciées dans le cœur. À ce titre, la découverte récente que les îlots sanguins du sac vitellin ont une origine pluriclonale [16, 17] bouscule quelque peu le dogme de l'hémangioblaste unique produisant toutes les CE et les CH dans cet organe bien que son existence à des stades de développement plus précoces ne soit pas infirmée. Ainsi, à défaut d'un hémangioblaste *princeps*, l'existence d'hémangioblastes, présents dans l'embryon ou chez l'adulte, est plus probable. Dans le même ordre d'idée, les CMLV, isolées à partir du somite ont-elles les mêmes caractéristiques que celles produites par le progéniteur cardiovasculaire multipotent ? Affaire à suivre... ♦

Inside cardiac stem cells

## RÉFÉRENCES

- Moretti A, Caron L, Nakano A, et al. Multipotent embryonic isl1<sup>+</sup> progenitor cells lead to cardiac, smooth muscle, and endothelial cell diversification. *Cell* 2006 ; 127 : 1151-65.
- Kattman SJ, Huber TL, Keller GM. Multipotent flk-1<sup>+</sup> cardiovascular progenitor cells give rise to the cardiomyocyte, endothelial, and vascular smooth muscle lineages. *Dev Cell* 2006 ; 11 : 723-32.
- Wu SM, Fujiwara Y, Cibulsky SM, et al. Developmental origin of a bipotential myocardial and smooth muscle cell precursor in the mammalian heart. *Cell* 2006 ; 127 : 1137-50.
- Buckingham M, Meilhac S, Zaffran S. Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. *Nat Rev Genet* 2005 ; 6 : 826-35.
- Meilhac SM, Esner M, Kelly RG, et al. The clonal origin of myocardial cells in different regions of the embryonic mouse heart. *Dev Cell* 2004 ; 6 : 685-98.
- Yamashita J, Itoh H, Hirashima M, et al. Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. *Nature* 2000 ; 408 : 92-6.
- Ema M, Faloon P, Zhang WJ, et al. Combinatorial effects of Flk1 and Tal1 on vascular and hematopoietic development in the mouse. *Genes Dev* 2003 ; 17 : 380-93.
- Esner M, Meilhac SM, Relaix F, et al. Smooth muscle of the dorsal aorta shares a common clonal origin with skeletal muscle of the myotome. *Development* 2006 ; 133 : 737-49.
- Pouget C, Gautier R, Teillet MA, Jaffredo T. Somite-derived cells replace ventral aortic hemangioblasts and provide aortic smooth muscle cells of the trunk. *Development* 2006 ; 133 : 1013-22.
- Iida M, Heike T, Yoshimoto M, et al. Identification of cardiac stem cells with FLK1, CD31, and VE-cadherin expression during embryonic stem cell differentiation. *FASEB J* 2005 ; 19 : 371-8.
- Yamashita JK, Takano M, Hiraoka-Kanie M, et al. Prospective identification of cardiac progenitors by a novel single cell-based cardiomyocyte induction. *FASEB J* 2005 ; 19 : 1534-6.
- Lee RK, Stainier DY, Weinstein BM, Fishman MC. Cardiovascular development in the zebrafish. II. Endocardial progenitors are sequestered within the heart field. *Development* 1994 ; 120 : 3361-6.
- Eisenberg CA, Bader D. QCE-6 : a clonal cell line with cardiac myogenic and endothelial cell potentials. *Dev Biol* 1995 ; 167 : 469-81.
- Cohen-Gould L, Mikawa T. The fate diversity of mesodermal cells within the heart field during chicken early embryogenesis. *Dev Biol* 1996 ; 177 : 265-73.
- Porat Y, Porozov S, Belkin D, et al. Isolation of an adult blood-derived progenitor cell population capable of differentiation into angiogenic, myocardial and neural lineages. *Br J Haematol* 2006 ; 135 : 703-14.
- Ueno H, Weissman IL. Clonal analysis of mouse development reveals a polyclonal origin for yolk sac blood islands. *Dev Cell* 2006 ; 11 : 519-33.
- Furuta C, Ema H, Takayanagi S, et al. Discordant developmental waves of angioblasts and hemangioblasts in the early gastrulating mouse embryo. *Development* 2006 ; 133 : 2771-9.

## NOUVELLE

### La stratégie des lymphocytes T cytotoxiques dans l'élimination d'une tumeur solide

Alexandre Boissonnas, Luc Fetler, Sebastian Amigorena

A. Boissonnas, S. Amigorena : Inserm U653.

L. Fetler : CNRS UMR168. Institut Curie, Centre de Recherche, 26, rue d'Ulm, 75245 Paris Cedex 05, France.

[sebastian.amigorena@curie.fr](mailto:sebastian.amigorena@curie.fr)

► Les tumeurs solides représentent l'immense majorité des cancers chez l'adulte, avec une mortalité due principalement aux rechutes par métastase. Les approches thérapeutiques conventionnelles basées sur la chimiothérapie restent trop souvent inefficaces. Depuis quelques années, l'immunothérapie des cancers se développe [1] et la mise au point de traitements par vaccination est un enjeu majeur pour les années à venir. Le transfert adoptif de cellules effectrices spécifiques de tumeur est une stratégie thérapeutique qui s'est révélée parfois efficace chez l'homme [1]. Il semble que la taille des tumeurs au moment du transfert ainsi que la quantité de cellules

transférées soient critiques dans l'efficacité du rejet [2, 3]. Grâce à la microscopie bi-photonique, certains chercheurs ont pu décrire des différences de mouvement des cellules tumorales, fonction du caractère plus ou moins métastatique du modèle étudié [4]. En revanche, très peu d'informations existent sur la dynamique des cellules T cytotoxiques *in vivo*, alors même que ces cellules jouent un rôle capital dans le rejet des tumeurs. Il est donc important de caractériser le comportement de ces cellules effectrices afin de déterminer quels sont les paramètres qui déterminent leur activité cytotoxique. Nous avons développé pour cela un système

expérimental dans lequel il est possible de suivre par vidéo microscopie bi-photonique la dynamique du rejet *in vivo* d'une tumeur solide par les lymphocytes T après leur transfert adoptif [5]. Nous avons utilisé un modèle murin de réponse immunitaire anti-tumorale, induite par un thymome exprimant un antigène recombinant, l'ovalbumine. Selon que les tumeurs expriment (EG7) ou non (EL4) l'ovalbumine, nous avons suivi la réponse des lymphocytes T cytotoxiques depuis leur activation dans les organes lymphoïdes secondaires jusqu'à leur infiltration dans la tumeur. Après injection sous-cutanée des deux types de tumeur, dans chaque flanc d'une



même souris et après croissance de ces tumeurs, des lymphocytes T transgéniques spécifiques de l'ovalbumine (OT-1) sont transférés dans ces souris. Ces lymphocytes T infiltrent les deux tumeurs, mais ne rejettent que la tumeur exprimant l'antigène ovalbumine. Cette observation montre que l'environnement inflammatoire induit au niveau des tumeurs est suffisant pour permettre l'infiltration des lymphocytes activés et que la présence d'antigènes spécifiques des lymphocytes injectés n'est pas nécessaire. En effet, après activation dans les ganglions, les lymphocytes modifient leur profil d'expression d'un certain nombre de molécules d'adressage dont les récepteurs aux chimioki-

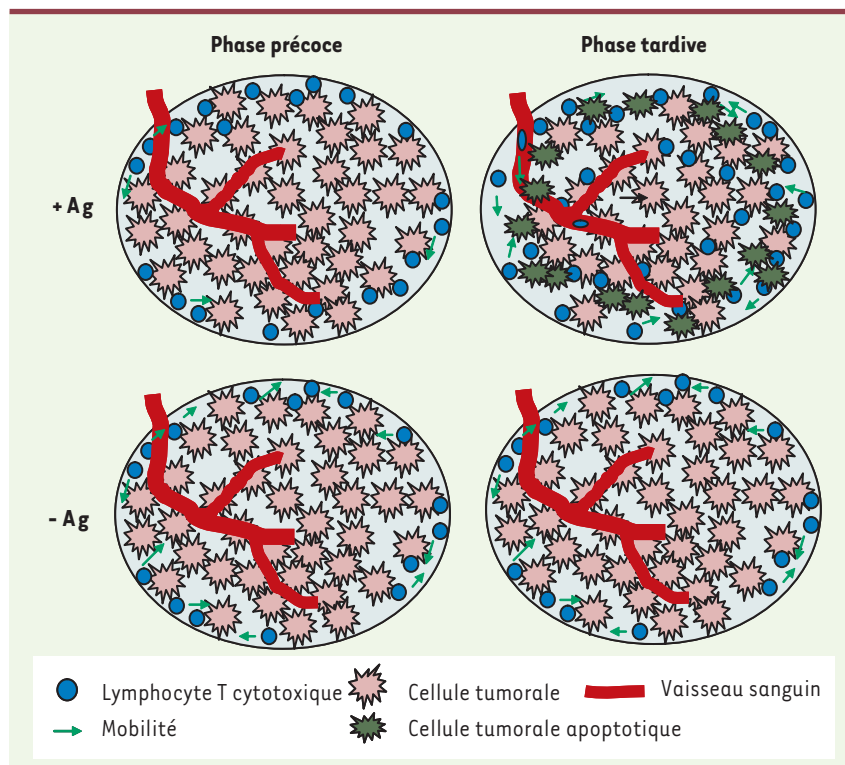
nes qui leur permettent de migrer vers un site inflammatoire [6]. Cependant, la densité de lymphocytes T est plus importante dans la tumeur exprimant l'ovalbumine que dans la tumeur ne l'exprimant pas, suggérant que cet antigène retient les cellules dans le tissu tumoral, et qu'en son absence, les cellules quittent la tumeur ou meurent. Par ailleurs, les lymphocytes T peuvent se diviser, et donc proliférer, au sein de la tumeur, raison supplémentaire de leur accumulation préférentielle dans la tumeur exprimant l'antigène.

Notre approche, à l'échelle cellulaire de l'infiltration tumorale, nous a permis de distinguer deux phases dans le rejet de la tumeur. Une phase précoce qui cor-

respond à l'infiltration des lymphocytes T cytotoxiques sans régression mesurable de la masse tumorale (3 à 4 jours après le transfert adoptif d'OT-1) et une phase plus tardive qui correspond à une période de régression tumorale, mais avant que celle-ci ne soit complète (5 à 6 jours après le transfert adoptif). Durant la phase précoce du rejet de la tumeur, les lymphocytes infiltrants sont peu mobiles, ils s'arrêtent fréquemment et ils n'explorent qu'un espace limité. Ces lymphocytes T établissent des contacts stables et de longue durée avec les cellules tumorales. En revanche, durant la phase tardive, dans les zones où les cellules tumorales ont été détruites et où ne persistent que les corps apoptotiques, les lymphocytes T reprennent une mobilité normale, comparable à celle qui est observée dans la tumeur n'exprimant pas l'ovalbumine.

En analysant *in vivo* les profils de migration des lymphocytes dans la matrice tumorale, nous avons pu confirmer certains résultats obtenus *in vitro* lors de la migration de lymphocytes T dans des matrices de collagène [7]. Les lymphocytes adaptent continuellement leur morphologie aux contraintes du microenvironnement tumoral. C'est ainsi que les lymphocytes recherchent activement des cellules tumorales résiduelles au sein de la matrice tumorale, en se déformant pour passer à travers les mailles denses du réseau de collagène. De façon plus inattendue, nous avons observé que les lymphocytes T présentent une affinité particulière pour les vaisseaux sanguins et qu'ils sont capables de migrer le long des vaisseaux sur des distances importantes (plus de 100  $\mu\text{m}$ ), tout en adoptant une morphologie plus fusiforme.

Afin d'étendre plus en profondeur l'analyse topographique de l'infiltration des lymphocytes, au-delà des limites d'observation par microscopie bi-photonique, nous avons reconstitué le processus d'infiltration des lymphocytes T par des techniques d'immuno-histologie classiques. Cela nous a permis de voir que, durant la phase précoce, les lymphocytes T colonisent la tumeur par la périphé-



**Figure 1. Stratégie d'infiltration des lymphocytes T cytotoxiques dans la tumeur.** Les lymphocytes infiltrent la tumeur par la périphérie durant la phase précoce du rejet. En présence d'antigène (Ag) spécifique des lymphocytes T injectés (ici l'ovalbumine), les lymphocytes T ralentissent leur migration pour interagir avec les cellules tumorales. Lorsque les cellules tumorales dans cette région ont été éliminées, les lymphocytes T reprennent leur migration pour s'immobiliser dans des régions adjacentes où les cellules tumorales sont vivantes. Nos résultats permettent de proposer un nouveau modèle d'infiltration des tumeurs solides par les lymphocytes T. Ces derniers infiltrent progressivement la tumeur de la périphérie vers le centre, par des phases successives de mobilité importante et d'arrêt. En l'absence d'antigène, l'élimination des cellules tumorales n'ayant pas lieu, les lymphocytes T restent cantonnés à la périphérie de la tumeur.

rie, indépendamment de l'expression par les cellules tumorales, de l'antigène spécifique des lymphocytes T. En revanche, l'infiltration en profondeur des tumeurs par les lymphocytes T n'est observée que pour les tumeurs qui expriment l'antigène. Cette infiltration localisée se traduit par une élimination de la masse tumorale débutant par la périphérie.

### En conclusion

Nos résultats suggèrent un modèle complexe décrivant la stratégie d'infiltration des lymphocytes T cytotoxiques dans une tumeur solide (Figure 1). Les lymphocytes T colonisent la tumeur par les vaisseaux périphériques, et ils s'arrêtent au contact

des cellules tumorales dont ils induisent la mort. Lorsque les cellules tumorales dans ces régions périphériques sont éliminées, les lymphocytes T reprennent leur mobilité à la recherche de cellules tumorales vivantes au sein des régions plus profondes de la tumeur. Cette répétition séquentielle « cytotoxicité statique/mobilité » aboutit à l'infiltration et l'élimination progressive de la tumeur, depuis la périphérie vers le centre. ♦

### Stepwise strategy adopted by cytotoxic T cells to eliminate solid tumors

### RÉFÉRENCES

1. Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science* 2002 ; 298 : 850-4.

2. Cordaro TA, de Visser KE, Tirion FH, et al. Tumor size at the time of adoptive transfer determines whether tumor rejection occurs. *Eur J Immunol* 2000 ; 30 : 1297-307.

3. Hanson HL, Donermeyer DL, Ikeda H, et al. Eradication of established tumors by CD8<sup>+</sup> T cell adoptive immunotherapy. *Immunity* 2000 ; 13 : 265-76.

4. Condeelis J, Segall JE. Intravital imaging of cell movement in tumors. *Nat Rev Cancer* 2003 ; 3 : 921-30.

5. Boissonnas A, Fetler L, Zeelenberg IS, et al. In vivo imaging of cytotoxic T cell infiltration and elimination of a solid tumor. *J Exp Med* 2007 ; 204 : 345-56.

6. Boissonnas A, Combadiere C, Lavergne E, et al. Antigen distribution drives programmed antitumor CD8 cell migration and determines its efficiency. *J Immunol* 2004 ; 173 : 222-9.

7. Wolf K, Muller R, Borgmann S, et al. Amoeboid shape change and contact guidance: T-lymphocyte crawling through fibrillar collagen is independent of matrix remodeling by MMPs and other proteases. *Blood* 2003 ; 102 : 3262-9.

## NOUVELLE

### Punaises aquatiques et transmission de *Mycobacterium ulcerans*

Laurent Marsollier, Jacques Aubry, Geneviève Milon, Priscille Brodin

#### L'ulcère de Buruli : une infection à *Mycobacterium ulcerans*

> L'ulcère de Buruli est causé par une mycobactérie environnementale : *Mycobacterium ulcerans*. Cette maladie infectieuse sévit surtout dans les régions tropicales humides en particulier dans l'Afrique de l'Ouest où elle est endémique (Figure 1). C'est la troisième mycobactériose humaine après la lèpre et la tuberculose, mais, dans certaines zones rurales de plusieurs pays (Bénin, Côte d'Ivoire, Ghana), le taux de prévalence de l'ulcère de Buruli est supérieur à celui de la lèpre et de la tuberculose. C'est ce qui a amené l'OMS à agir, et en 1998, à déclarer l'ulcère de Buruli « maladie émergente ». La maladie, qui touche principalement les enfants, évolue d'abord sous forme d'un nodule, ou d'un placard, accompagné souvent d'un œdème. Puis se développe

une ulcération cutanée plus ou moins étendue pouvant atteindre l'os. La destruction tissulaire est due à la production d'une toxine, la mycolactone (d'une famille de macrolides toxiques) qui est le facteur principal de virulence de *M. ulcerans* [1]. La phase ulcéralive aboutit souvent à des invalidités ou des handicaps moteurs avec des conséquences socio-économiques désastreuses. Encore très récemment, le traitement était limité à des soins chirurgicaux par une excision large des parties atteintes jusqu'à la peau saine, nécessitant une greffe cutanée de parage. Le coût élevé de ce traitement limitait l'accès aux soins pour les malades. La démonstration, chez des souris infectées par *M. ulcerans*, de l'efficacité de l'associa-

L. Marsollier : Groupe d'Étude des Interactions Hôtes UPRES-EA 3142, Université d'Angers, Angers, France et Équipe Avenir, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), Institut Pasteur Korea, Séoul, Corée du Sud.

J. Aubry : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), U601, Université de Nantes, France.

G. Milon : Unité d'Immunophysiologie et Parasitisme Intracellulaire, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, 75015 Paris, France.

P. Brodin : Équipe Avenir, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), Institut Pasteur Korea, Séoul, Corée du sud.

[laurentmarsollier@hotmail.com](mailto:laurentmarsollier@hotmail.com)

[pbrodin@ip-korea.org](mailto:pbrodin@ip-korea.org)

tion de deux antibiotiques, la rifampicine et l'amikacine, a contribué à la réalisation de deux études thérapeutiques pilotes qui ont confirmé l'intérêt de cette antibiothérapie puisque la moitié des patients a été guérie sans avoir recours à la chirurgie [2]. À l'heure actuelle, il n'existe pas de vaccin spécifique dirigé contre *M. ulcerans* et l'efficacité de la vaccination BCG est, pour les formes cutanées, fort controversée [3, 4].

#### *M. ulcerans* et système immunitaire

Dans la mesure où *M. ulcerans* a un tropisme principalement cutané, il importe