

Pour les cellules dont la forme oscille, on observe les *blebs* de manière alternée, d'un pôle à l'autre, suivant la contraction du petit lobe. Or la formation de *blebs* a pour effet de relâcher la tension du cortex et diminuer la pression qui en résulte [12]. Il est donc plausible qu'ils contribuent par leur apparition à tempérer une augmentation de tension d'un lobe qui viendrait déstabiliser la cellule en division. Nous avons montré que si l'on bloque l'apparition des *blebs* en stabilisant le cortex d'actine de cellules contrôles par l'ajout de différentes lectines (*wheat germ agglutinin* et concanavaline A), la proportion de cellules qui oscillent et dont la division échoue augmente. De plus, l'induction de *blebs* dans des cellules oscillantes, par ablation au laser d'un pôle en train de se contracter, stoppe la contraction du pôle et inverse la direction de l'oscillation. Ces observations nous permettent de proposer un nouveau rôle pour les *blebs* lors de la division cellulaire : ils joueraient le rôle de valves de pression, relâchant la tension polaire dès que celle-ci dépasse un seuil risquant de déclencher des instabilités de forme (Figure 1D).

Conclusion

Lors de la cytokinèse, la cellule maintient une tension à ses pôles, peut-être pour conserver une forme sphérique et contrôler le volume des futures cellules filles. Cependant, les forces générées par la cellule pour maintenir sa forme peuvent aussi entraîner des instabilités mécaniques pouvant mener à l'échec de la division. Il paraît naturel que l'évolution ait introduit des mécanismes de contrôle pour éviter à la cellule ce type d'erreur. En plus du rôle stabilisant joué par le fuseau mitotique qui contrôle la contractilité corticale lors de la division, il est possible que l'interaction entre la membrane et le cortex, à travers la formation de *blebs* capables de relâcher la tension du cortex, fournisse un mécanisme capable de stabiliser la forme cellulaire. Lorsque les divers mécanismes de stabilisation échouent, la cellule présente des instabilités de forme qui peuvent se manifester par des oscillations de forme. Notre modèle suggère que de telles oscillations sont un comportement dynamique intrinsèque d'un cortex contractile et dynamique agissant contre un milieu élastique. ♦

The mechanics of the cellular division or how to split a sphere into two?

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Rappaport R. *Cytokinesis in animal cells*. Cambridge : Cambridge University Press, 1996.
2. Robinson DN, Spudich JA. Mechanics and regulation of cytokinesis. *Curr Opin Cell Biol* 2004 ; 16 : 182-8.
3. Stewart MP, Helenius J, Toyoda Y, et al. Opposing activities of hydrostatic pressure and the actomyosin cortex drive mitotic cell rounding. *Nature* 2011 ; 469 : 226-30.
4. Bray D, White JG. Cortical flow in animal cells. *Science* 1988 ; 239 : 883-8.
5. Mayer M, Depken M, Bois J, et al. Anisotropies in cortical tension reveal the physical basis of cortical flow in polarising *C. elegans* zygotes. *Nature* 2010 ; 467 : 617-21.
6. Pollard TD. Mechanics of cytokinesis in eukaryotes. *Curr Opin Cell Biol* 2010 ; 22 : 50-6.
7. Zhang W, Robinson DN. Balance of actively generated contractile and resistive forces controls cytokinesis dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 7186-91.
8. Sedzinski J, Biro M, Oswald A, et al. Polar actomyosin contractility destabilises the position of the cytokinetic furrow. *Nature* 2011 ; 476 : 462-6.
9. Croft DR, Coleman ML, Li S, et al. Actin-myosin-based contraction is responsible for apoptotic nuclear disintegration. *J Cell Biol* 2005 ; 168 : 245-55.
10. Strangeways T. Observations on the changes seen in living cells during growth and division. *Proc R Soc Lond Ser B* 1922 ; 94 : 137-41.
11. Charras G, Paluch E. Blebs lead the way: how to migrate without lamellipodia. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008 ; 9 : 730-6.
12. Tinevez JJ, Schulze U, Salbreux G, et al. Role of cortical tension in bleb growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 18581-6.

NOUVELLE

Cellules épithéliales médullaires thymiques exprimant Aire

Acteurs clés dans l'induction de la tolérance des cellules T

Magali Irla

Département de pathologie et immunologie, centre médical universitaire de Genève, 1, rue Michel Servet, 1211 Genève, Suisse.

Magali.Irla@unige.ch

Nouvelle adresse : centre d'immunologie de Marseille Luminy, CNRS-Inserm-université de la Méditerranée, parc scientifique et technologique de Luminy, Case 906, 13288 Marseille Cedex 09, France.

► Le thymus, organe lymphoïde primaire, est le site majeur de la production des lymphocytes T dont le rôle est essentiel dans la réponse immunitaire aux agents pathogènes et aux cellules tumorales. Cet organe coordonne les événements de sélection conduisant au développement d'un répertoire de lymphocytes T

fonctionnels non réactifs vis-à-vis de soi. Ces événements de sélection sont essentiels pour éviter la génération de cellules T autoréactives, responsables du développement de maladies auto-immunes. Lors de leur différenciation dans le thymus, les cellules T dont le TCR (*T cell receptor*) réagit avec les antigènes

(Ag) du soi (cellules autoréactives) sont éliminées dans une région anatomique spécifique, appelée médulla. Les cellules épithéliales médullaires thymiques (mTEC) jouent un rôle clé dans l'élimination des cellules T autoréactives grâce à leur propriété unique d'exprimer une grande diversité d'Ag spécifiques de



tissus périphériques [1]. Les thymocytes dont le TCR a une forte affinité pour ces Ag sont éliminés par apoptose. Des études récentes ont permis d'appréhender les mécanismes moléculaires et cellulaires contrôlant l'homéostasie et l'état de différenciation des mTEC nécessaires à l'induction de la tolérance au soi des cellules T.

La médulla thymique : un microenvironnement spécialisé dans l'élimination des cellules T autoréactives

Les thymocytes CD4⁺ ou CD8⁺ (dits simple positifs [SP]) qui ont été sélectionnés positivement dans le cortex thymique sont capables de reconnaître, *via* leur TCR, un complexe CMH (complexe majeur d'histocompatibilité)/peptide présenté par les cellules thymiques présentatrices de l'Ag. Ces thymocytes SP migrent ensuite dans la médulla où ceux dont le TCR a une forte affinité pour des Ag du soi sont éliminés par sélection négative. La médulla est composée d'un dense réseau de cellules dendritiques (DC) et de mTEC (Figure 1A). Ces dernières jouent un rôle essentiel dans l'élimination des cellules T autoréactives grâce à leur propriété unique d'exprimer une grande diversité d'Ag spécifiques de tissus périphériques [1]. Les mTEC sont hétérogènes et seule une fraction d'entre elles (environ 25 %), dites matures, expriment le facteur de transcription AIRE (*autoimmune regulator element*), responsable de l'expression de plusieurs centaines d'Ag du soi¹ (Figure 1B) (→). Ces Ag exprimés par les mTEC sont soit

(→) Voir la Brève de Magali Irla, page 160 de ce numéro

directement présentés par les mTEC, soit cross-présentés par les cellules dendritiques aux thymocytes SP [2]. La médulla constitue donc un microenvironnement spécialisé dans l'élimination des cellules T autoréactives *via* une

collaboration étroite entre les mTEC et les cellules dendritiques.

Les interactions entre les thymocytes SP et les mTEC contrôlent le développement de la médulla

La sélection des thymocytes SP, et donc l'induction de la tolérance au soi, sont étroitement contrôlées par les mTEC grâce à la capacité de ces dernières à exprimer

de nombreux Ag du soi. Ces interactions sont bidirectionnelles car le développement et l'organisation des mTEC sont à leur tour contrôlés par la présence des thymocytes SP [3] (Figure 1C). Les souris présentant une absence totale de thymocytes SP, par exemple les souris déficientes pour la protéine tyrosine kinase Zap70 ou pour la chaîne α du TCR, ont une altération du développement

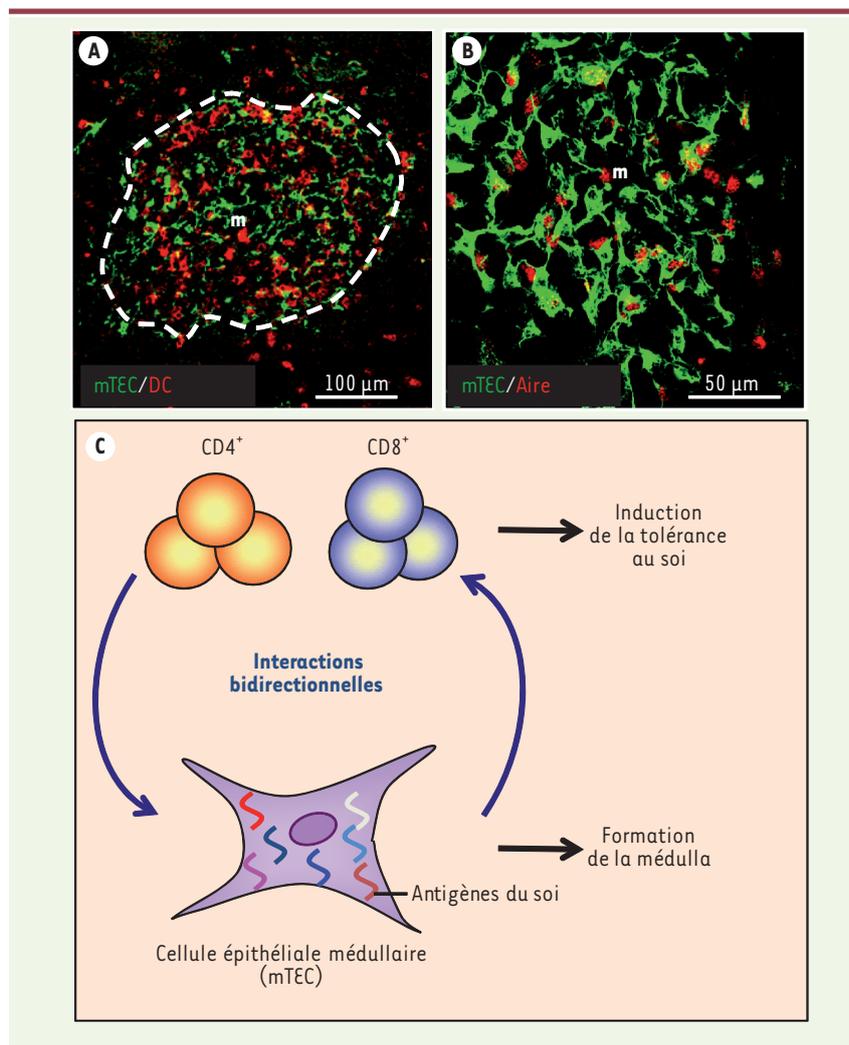


Figure 1. Composition et contrôle de l'épithélium médullaire thymique. **A.** Aspect en microscopie confocale d'une préparation de coupe de thymus d'une souris C57BL/6 sauvage, marquée avec des anticorps anti-kératine 14 qui détectent les mTEC (vert) et des anticorps anti-CD11c détectant les cellules dendritiques (rouge). **B.** Aspect en microscopie confocale d'une préparation de coupe de thymus de souris C57BL/6 sauvage, marquée avec des anticorps anti-kératine 14 détectant les mTEC (vert) et des anticorps anti-AIRE détectant le facteur de transcription AIRE (rouge). **C.** Les thymocytes CD4⁺ et CD8⁺ agissent sur le développement et l'organisation des mTEC, permettant ainsi la formation de la médulla thymique. En retour, les mTEC, par leur expression de nombreux antigènes du soi, jouent un rôle essentiel dans l'induction de la tolérance au soi des thymocytes CD4⁺ et CD8⁺. m, médulla.

¹ Tous les antigènes du soi ne sont pas exprimés par une même mTEC. Certaines études laissent penser que l'expression se fait de manière relativement stochastique.

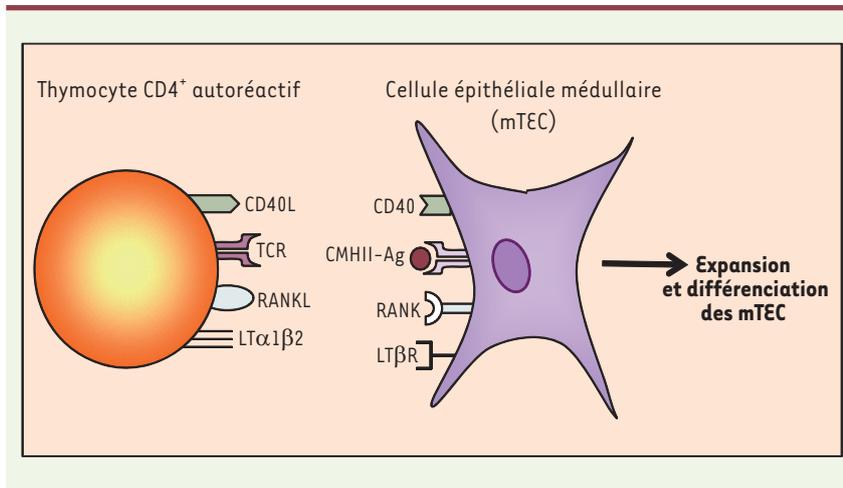


Figure 2. Signaux moléculaires intervenant dans l'interaction entre les thymocytes CD4+ autoréactifs et les mTEC. Les signaux de la superfamille TNF, LTβR-LTα1β2, RANK-RANKL et CD40-CD40L, responsables de l'expansion et de la différenciation des cellules épithéliales médullaires thymiques (mTEC) sont délivrés lors d'interactions cellulaires spécifiques de l'antigène entre les mTEC et les thymocytes CD4+ autoréactifs. Les thymocytes CD4+ expriment les ligands LTα1β2, RANKL et CD40L dont les récepteurs respectifs, LTβR, RANK et CD40 sont exprimés par les mTEC. Ces signaux cellulaires sont délivrés lors d'interactions cellulaires spécifiques de l'Ag entre les thymocytes CD4+, via leur TCR, et les mTEC, via leurs molécules de CMHII. Ag : antigène ; CMHII : complexe majeur d'histocompatibilité de classe II ; TCR : T cell receptor.

médullaire. Les médullas sont désorganisées et leur cellularité en mTEC est réduite [4]. La réintroduction de cellules T matures chez les souris SCID (*severe combined immunodeficient*), présentant le même défaut médullaire que les souris mutantes *Zap70^{-/-}* ou *Tcrα^{-/-}*, permet la reconstitution des régions médullaires [3]. Par conséquent le développement des mTEC, et donc de la médulla, requiert la présence de thymocytes SP.

Les thymocytes CD4+ autoréactifs contrôlent l'homéostasie et la différenciation des mTEC

Bien que le rôle critique des mTEC exprimant le facteur de transcription AIRE dans l'élimination des thymocytes autoréactifs soit démontré, l'identification du sous-type de thymocytes SP et des acteurs moléculaires régulant la différenciation et la richesse en mTEC n'a été appréhendée que récemment. Le développement des mTEC AIRE+ requiert la présence des thymocytes CD4+ et non des thymocytes CD8+. Notre laboratoire a en effet démontré l'absence quasi-totale des mTEC AIRE+ chez les souris dépourvues de thymocytes CD4+, tandis que chez les souris dépourvues de thymocytes CD8+, leur nombre est similaire à celui qui est observé chez des souris sauvages [5]. De plus, seuls les thymocytes CD4+ autoréactifs sont capables de contrôler le développement des mTEC AIRE+ [5]. En effet,

comme c'était le cas chez les souris dépourvues de thymocytes CD4+, si on abolit sélectivement chez des souris l'expression des molécules de CMH de classe II (CMHII) à la surface des mTEC, le nombre des mTEC AIRE+ est fortement réduit. Cela démontre qu'une interaction entre le TCR des thymocytes CD4+ et le CMH de classe II des mTEC est nécessaire au développement des mTEC AIRE+. Par ailleurs, le développement des mTEC AIRE+ nécessite des interactions spécifiques de l'Ag qu'elles présentent [5]. Le nombre de mTEC AIRE+ est ainsi fortement réduit chez les souris transgéniques *OT-II:Rag2^{-/-}*, qui possèdent uniquement des thymocytes CD4+ exprimant un TCR reconnaissant un peptide dérivé de l'ovalbumine qui n'est pas exprimé par les mTEC. En revanche, le phénotype normal est restauré chez les souris transgéniques *Rip-mOVA:OT-II:Rag2^{-/-}*, qui possèdent comme précédemment uniquement des thymocytes CD4+ exprimant un TCR reconnaissant un peptide dérivé de l'ovalbumine. Cependant, chez ces souris, cet antigène est spécifiquement exprimé par les mTEC. Par conséquent, pour assurer un développement normal des mTEC exprimant le facteur de transcription AIRE, il faut qu'il y ait une interaction spécifique de l'Ag avec les thymocytes CD4+ via leur TCR et les molécules de CMHII exprimées par les mTEC [6] (Figure 2).

Des études récentes ont identifié les acteurs moléculaires impliqués lors de ces interactions spécifiques de l'Ag entre les thymocytes CD4+ autoréactifs et les mTEC. Trois couples ligand-récepteur membres de la superfamille TNFR/TNF (*tumor necrosis factor receptor/tumor necrosis factor*), LTβR (*lymphotoxin β receptor*)-LTα1β2, RANK-RANKL (*receptor activator of nuclear factor κB* et son ligand) et CD40-CD40L, ont été impliqués dans l'organisation et la différenciation des mTEC [4, 5, 7-9]. Les récepteurs RANK, CD40 et LTβR sont exprimés à la surface des mTEC alors que leurs ligands respectifs RANKL, CD40L et LTα1β2 sont exprimés à la surface des thymocytes CD4+ (Figure 2). L'absence de chacun de ces récepteurs et ligands entraîne, chez les souris déficientes, des défauts d'organisation et de différenciation des mTEC à des degrés divers. Les signaux RANK-RANKL et CD40-CD40L agissent en synergie pour contrôler le nombre des mTEC AIRE+ tandis que le signal LTβR-LTα1β2 est impliqué préférentiellement dans l'organisation et la



richesse globale en mTEC [7, 8]. Enfin, la combinaison de ces trois signaux LT β R-LT α 1 β 2, RANK-RANKL et CD40-CD40L, déclenchés uniquement dans le contexte d'une interaction spécifique de l'Ag entre les mTEC et les thymocytes CD4⁺, est nécessaire à l'organisation et à la différenciation correctes des mTEC (Figure 2).

Conclusion

Les mTEC exprimant AIRE sont nécessaires à l'induction de la tolérance au soi des cellules T. Leur différenciation est contrôlée en retour par les thymocytes autoréactifs CD4⁺ via l'expression spécifique de CD40L et RANKL. Ces interactions bidirectionnelles constituent un mécanisme de régulation qui permet au thymus d'adapter sa capacité à éliminer de façon optimale les cellules T autoréactives. ♦

Medullary thymic epithelial cells expressing Aire, key mediators in the induction of T-cell tolerance

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

REMERCIEMENTS

Je remercie le Pr W. Reith (université de Genève) pour m'avoir donné l'opportunité de développer cette thématique. Je remercie les Pr S. Hugues, Dr A. Sergé et Dr Y. Emre (université de Genève) pour la relecture de cette Nouvelle. Ce travail a été financé par un subside Ambizione (grant PZ00P3-131945) du Fonds national suisse.

RÉFÉRENCES

1. Derbinski J, Schulte A, Kyewski B, Klein L. Promiscuous gene expression in medullary thymic epithelial cells mirrors the peripheral self. *Nat Immunol* 2001; 2 : 1032-9.

2. Klein L, Hinterberger M, von Rohrscheidt J, Aichinger M. Autonomous versus dendritic cell-dependent contributions of medullary thymic epithelial cells to central tolerance. *Trends Immunol* 2011; 32 : 188-93.
3. Surh CD, Ernst B, Sprent J. Growth of epithelial cells in the thymic medulla is under the control of mature T cells. *J Exp Med* 1992; 176 : 611-6.
4. Hikosaka Y, Nitta T, Ohigashi I, et al. The cytokine RANKL produced by positively selected thymocytes fosters medullary thymic epithelial cells that express autoimmune regulator. *Immunity* 2008; 29 : 438-50.
5. Irla M, Hugues S, Gill J, et al. Autoantigen-specific interactions with CD4⁺ thymocytes control mature medullary thymic epithelial cell cellularity. *Immunity* 2008; 29 : 451-63.
6. Irla M, Hollander G, Reith W. Control of central self-tolerance induction by autoreactive CD4⁺ thymocytes. *Trends Immunol* 2010; 31 : 71-9.
7. Boehm T, Scheu S, Pfeffer K, Bleul CC. Thymic medullary epithelial cell differentiation, thymocyte emigration, and the control of autoimmunity require lympho-epithelial cross talk via LTbetaR. *J Exp Med* 2003; 198 : 757-69.
8. Akiyama T, Shimo Y, Yanai H, et al. The tumor necrosis factor family receptors RANK and CD40 cooperatively establish the thymic medullary microenvironment and self-tolerance. *Immunity* 2008; 29 : 423-37.
9. Rossi SW, Kim MY, Leibbrandt A, et al. RANK signals from CD4⁺3⁺ inducer cells regulate development of aire-expressing epithelial cells in the thymic medulla. *J Exp Med* 2007; 204 : 1267-72.

NOUVELLE

Cellules bêta pancréatiques La première lignée humaine fonctionnelle

Philippe Ravassard¹, Paul Czernichow², Raphaël Scharfmann³

► Le pancréas est un organe complexe exerçant des fonctions exocrines et endocrines. Le pancréas exocrine est composé de cellules acinaires produisant et sécrétant les enzymes de la digestion qui seront acheminées vers l'intestin via le système des canaux pancréatiques. Le pancréas endocrine, qui contrôle l'homéostasie du glucose, est organisé en microorganes, les îlots de Langerhans, dispersés dans l'ensemble du tissu pancréatique et composés de cinq types cellulaires, α , β , δ , ϵ et PP sécrétant respectivement le glucagon, l'insuline, la somatostatine, la ghréline et le polypeptide pancréatique, les

cellules insulino-sécrétrices étant de loin les plus nombreuses. Le diabète de type I est la conséquence d'une destruction auto-immune des cellules β alors que le diabète de type II résulte de la combinaison d'une résistance à l'insuline et d'une sécrétion d'insuline inadéquate. Ainsi, pour les deux formes de diabète, la masse fonctionnelle de cellules β n'est pas suffisante pour le contrôle de la glycémie. Ces deux pathologies touchent aujourd'hui près de 200 millions de personnes dans le monde. L'étude des cellules bêta humaines est importante pour comprendre non seulement leur fonctionnement mais aussi la

¹ Institut du cerveau et de la moelle, CRICM CNRS UMR7225, Inserm, université Pierre et Marie Curie, hôpital Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'hôpital, 75013 Paris ;

² Endocells, Paris* ;

³ Inserm U845, centre de recherche croissance et signalisation, Paris, France.

philippe.ravassard@icm-institute.org

* www.endocells.fr

physiopathologie des diabètes. L'accès à des cellules bêta humaines primaires est cependant extrêmement difficile. Il est donc nécessaire de disposer d'une source illimitée de telles cellules, ce que permet par exemple la production de lignées immortalisées. Ces lignées seront utiles pour le développement de nouvelles thérapies, soit pharmacologiques soit basées sur la transplantation de cellules. Au cours des trente dernières années, de nombreux groupes de recherche ont tenté de dériver des lignées de cellules bêta humaines, sans succès. Nous avons récemment développé une technologie originale qui nous a permis de générer la