

Dans un article publié dans ce numéro (→) [1], Lucette Pelletier et ses collègues défendent l'idée que les canaux calciques $Ca_v1.2$ dépendants du voltage contribueraient à l'influx de Ca dans les lymphocytes. Pour ces auteurs, cette contribution serait même majeure dans la sous-population lymphocytaire Th2 et pour les pathologies liées à ces cellules. Cette conclusion s'appuie sur un ensemble d'observations dont l'interprétation me paraît mériter une discussion approfondie.

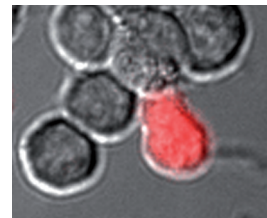
Dans leur membrane plasmique, les lymphocytes T possèdent des canaux calciques de la famille ORAI (comme ORAI1 et ORAI2, coexprimés dans les lymphocytes et dont les fonctions sont redondantes) qui peuvent être ouverts à la suite de leur interaction avec des agrégats de la molécule STIM1 présente dans la membrane du réticulum endoplasmique. L'agrégation de STIM1 est déclenchée par la déplétion en Ca du réticulum (par exemple après l'ouverture des canaux récepteurs à l'IP3) [2]. L'importance de ces canaux ORAI est telle que les patients dont les cellules T expriment un ORAI1 muté non fonctionnel souffrent de ce fait d'un déficit immunitaire combiné si sévère qu'il est rapidement létal [3]. Par ailleurs, les lymphocytes T expriment des canaux Ca dépendants du voltage ($Ca_v1.2$), comprenant en particulier un canal (sous-unité $\alpha1$) et des protéines cytoplasmiques associées (sous-unités β). Dans les lymphocytes, ces canaux ne contribuent pas directement au contrôle du Ca intracellulaire, car ils sont probablement non fonctionnels.

En effet, dans des cellules excitables, l'ouverture des canaux Ca_v est déclenchée par la dépolarisation, alors que dans les lymphocytes, les canaux $Ca_v1.2$ ne s'ouvrent pas en réponse à une dépolarisation forcée. La raison en est qu'en présence d'un excès de STIM1, qui interagit non seulement avec ORAI1 mais aussi avec $Ca_v1.2$, ces canaux sont internalisés et donc fonctionnellement inexistantes [4]. En outre, lors d'une stimulation du TCR (*T cell receptor*, récepteur à l'antigène), non seulement on n'observe pas de dépolarisation notable des lymphocytes, mais si l'on force cette dernière, l'influx de Ca par les canaux

(→) Voir dans ce numéro l'article de V. Robert et al., page 773 et le Débat de L. Pelletier et M. Moreau, page 783

Les canaux calciques dépendants du voltage associés aux lymphocytes sont non fonctionnels

Alain Trautmann



Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR 8104, 22, rue Méchain, 75014 Paris, France.
alain.trautmann@inserm.fr

ORAI1 en est fortement inhibé. Comme les auteurs savent que l'on ne déclenche pas de réponse Ca dans les lymphocytes en les dépolarisant, ils ont résolu le paradoxe de ces canaux $Ca_v1.2$ indépendants du voltage en supposant qu'ils sont dotés d'un autre mécanisme d'ouverture, encore non identifié.

Un des résultats importants sur lesquels se fondent les auteurs réside dans l'effet des dihydropyridines (DHP), présentées comme des ligands spécifiques des canaux Ca dépendants du voltage de type L. Or, on sait que les DHP sont également des ligands des canaux $K_v1.3$ présents dans ces mêmes lymphocytes, qui possèdent donc des canaux potassiques au profil pharmacologique étrange et exceptionnel. Une DHP inhibitrice ne ferme pas seulement des canaux Ca_v putatifs ; en fermant les canaux $K_v1.3$, elle dépolarise les lymphocytes et diminue ainsi l'influx de Ca à travers les canaux ORAI [2, 5, 6]. Ce phénomène est suffisamment notable pour que ces inhibiteurs de canaux K^+ soient envisagés comme des immunodépresseurs potentiels utilisables en clinique [6].

Le groupe de L. Pelletier a publié récemment que la réponse Ca déclenchée dans des lymphocytes Th2 par un anticorps anti-CD3 était totalement abolie après transfection de ces cellules par des oligonucléotides antisens des canaux ($Ca_v1.2 + Ca_v1.3$) [7]. Cela signifierait que ces antisens ont également aboli la réponse Ca passant par les canaux ORAI, qui jouent un rôle majeur et indiscutable dans tous les lymphocytes. Un tel résultat est difficilement compatible avec l'idée que ces antisens seraient bien spécifiques de $Ca_v1.2$, sauf à supposer que

Photo : cellule T chargée avec une sonde fluorescente montrant une élévation intracellulaire de calcium (© Alain Trautmann).

Ce texte nous a été adressé par Alain Trautmann en commentaire de l'article de V. Robert et al. « La signalisation calcique dans les lymphocytes T » [1]. Il sera suivi de la réponse de L. Pelletier et M. Moreau (page 783 de ce numéro).



Ca_v1.2 ne fonctionne pas comme un canal mais comme un modulateur obligatoire des canaux ORAI.

Il reste vrai que les lymphocytes T expriment des niveaux variés de la molécule Ca_v1.2. Cette expression est plus marquée dans les lymphocytes CD4⁺ Th2 que dans les Th1 [8]. Cependant, leur présence est associée (cause ou coïncidence ?) à une inhibition de l'influx de Ca puisque la réponse Ca déclenchée par la vidange des stocks est plus forte dans les Th1 que dans les Th2 [9].

Une autre observation surprenante, est celle d'une réponse Ca à la stimulation du TCR qui est plus faible dans les lymphocytes T des souris déficientes pour les sous-unités β3 et β4 de Ca_v1 – qui sont associées à la sous-unité canal α1 – que celle des cellules de souris sauvages. La production des cytokines Th1 (IFN-γ), mais aussi des cytokines Th2 (IL-4), est réduite chez ces souris déficientes [10]. Dans les lymphocytes de ces souris, la réponse Ca à la vidange des stocks par la thapsigargine (qui provoque indirectement l'interaction STIM1/ORAI1) est normale. L'interprétation la plus probable est que les sous-unités β3 et β4 sont impliquées de façon encore non élucidée dans le couplage entre la stimulation du TCR et la vidange des stocks.

L'idée que Ca_v1 joue un rôle important dans l'entrée de Ca dans les lymphocytes est défendue essentiellement par les groupes de R. Flavell à Yale, de W. Jefferies à Vancouver et de L. Pelletier à Toulouse. Un élément qui paraîtrait utile à la défense de l'importance de canaux Ca_v1 dans les lymphocytes serait une analyse en *patch-clamp* des courants passant par ces canaux. Or, seuls deux articles ont fait l'objet d'une analyse en *patch-clamp*. Le premier [11] a été rapidement rétracté [12]. Le second, qui vient de paraître [13], étudie des cellules T murines naïves et rapporte des informations en totale contradiction avec ce qui a été publié jusque là sur des T murines effectrices ou sur des T humaines naïves ou effectrices. Selon W. Jefferies, l'influx de cations divalents dans les cellules T naïves est accru par la dépolarisation (contrairement à tout ce qui a été montré jusque-là). L'auteur fonde ses conclusions uniquement sur des données électrophysiologiques, sans fournir une information complémentaire attendue et cruciale : la mesure de l'effet de la dépolarisation sur la réponse donnée par une sonde calcique après stimulation de ces cellules. Enfin, si L. Pelletier défend l'idée que la présence de Ca_v1.2 est l'apanage des cellules T Th2 (sécrétrices d'IL-4) [1], pour R. Flavell, les sécrétions d'IL-4 et d'IFN-γ sont également affectées [10], et la survie des lymphocytes CD8 requiert aussi la sous-unité β4 [14]. Ces deux groupes ne sont donc pas d'accord sur l'identité des sous-populations dont la physiologie pourrait être influencée par l'une ou l'autre sous-unité de Ca_v.

En résumé, il n'existe aucun doute sur le fait que les lymphocytes expriment des canaux calciques activés par la vidange des stocks intracellulaires et que ces canaux sont responsables de l'essentiel de l'influx de Ca dans les lymphocytes après stimulation du TCR. Il peut certes exister d'autres canaux perméables au Ca dans les lymphocytes, comme des canaux activés par l'ATP extracellulaire. Ces derniers peuvent venir en complément du contrôle du Ca par les canaux de type ORAI (pour revue voir [15]). Les lymphocytes peuvent aussi exprimer les molécules Ca_v1.2 et Ca_v1.4. Même si ce point reste controversé, il me semble que la plupart des données amènent à conclure que les molécules Ca_v1.2 ne

fonctionnent pas comme des canaux, leur activité étant bloquée par l'interaction avec STIM1. En revanche, le complexe multimoléculaire Ca_v1.2 – qu'il devient difficile d'appeler un canal – pourrait fonctionner comme un modulateur de l'activation par le TCR des canaux activés par la vidange des stocks calciques. Cet effet se situerait en amont de la vidange des stocks, puisque la perturbation de Ca_v1.2 n'affecte pas les réponses déclenchées par la thapsigargine. Si l'on en croit le groupe de W. Jefferies, pour Ca_v1.4, il y aurait aussi un effet en aval de la vidange des stocks [13]. On espère que les groupes actifs sur la question du rôle de Ca_v1 dans les lymphocytes permettront d'élucider les mécanismes de ces mystérieuses modulations. ♦

Lymphocytes are endowed with molecular complexes looking like voltage-dependent calcium channels but that are not channels

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Robert V, Triffaux E, Savignac M, Pelletier L. La signalisation calcique dans les lymphocytes T. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 773-9.
2. Hogan PG, Lewis RS, Rao A. Molecular basis of calcium signaling in lymphocytes: STIM and ORAI. *Annu Rev Immunol* 2010 ; 28 : 491-533.
3. Feske S, Gwack Y, Prakriya M, et al. A mutation in Orail causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function. *Nature* 2006 ; 441 : 179-85.
4. Park CY, Shcheglovitov A, Dolmetsch R. The CRAC channel activator STIM1 binds and inhibits L-type voltage-gated calcium channels. *Science* 2010 ; 330 : 101-5.
5. Randriamampita C, Bismuth G, Debré P, Trautmann A. Nitrendipine-induced inhibition of calcium influx in T lymphocytes is mediated by cell depolarization. *Cell Calcium* 1991 ; 12 : 313-23.
6. Chandy KG, Cahalan M, Pennington M, et al. Potassium channels in T lymphocytes: toxins to therapeutic immunosuppressants. *Toxicol* 2001 ; 39 : 1269-76.
7. Cabral MD, Paulet PE, Robert V, et al. Knocking down Cav1 calcium channels implicated in Th2 cell activation prevents experimental asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2010 ; 181 : 1310-7.
8. Savignac M, Gomes B, Gallard A, et al. Dihydropyridine receptors are selective markers of Th2 cells and can be targeted to prevent Th2-dependent immunopathological disorders. *J Immunol* 2004 ; 172 : 5206-12.
9. Fanger CM, Neben AL, Cahalan MD. Differential Ca²⁺ influx, KCa channel activity, and Ca²⁺ clearance distinguish Th1 and Th2 lymphocytes. *J Immunol* 2000 ; 164 : 1153-60.
10. Badou A, Jha MK, Matza D, et al. Critical role for the beta regulatory subunits of Cav channels in T lymphocyte function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 15529-34.
11. Badou A, Basavappa S, Desai R, et al. Requirement of voltage-gated calcium channel beta4 subunit for T lymphocyte functions. *Science* 2005 ; 307 : 117-21.
12. Flavell RA, Kaczmarek LK, Badou A, et al. Retraction. *Science* 2005 ; 310 : 1903.
13. Omilusik K, Priatel JJ, Chen X, et al. The ca(v)1.4 calcium channel is a critical regulator of T cell receptor signaling and naive T cell homeostasis. *Immunity* 2011 ; 35 : 349-60.
14. Jha MK, Badou A, Meissner M, et al. Defective survival of naive CD8⁺ T lymphocytes in the absence of the beta3 regulatory subunit of voltage-gated calcium channels. *Nat Immunol* 2009 ; 10 : 1275-82.
15. Trautmann A. Extracellular ATP in the immune system: more than just a danger signal. *Sci Signal* 2009 ; 2 : pe6.

TIRÉS À PART

A. Trautmann