



développant une LAM, PyQ permet de bloquer le développement leucémique. Les souris recevant deux injections de PyQ survivent significativement plus longtemps que le groupe de souris non traitées. Trois semaines après l'injection de PyQ, moins de 5 % de blastes leucémiques sont retrouvés dans le sang des souris traitées et une reprise d'une hématopoïèse normale est observée. À l'inverse, plus de 80 % de blastes leucémiques sont retrouvés chez les souris non traitées qui succombent rapidement à la maladie. PyQ augmente également significativement la survie de souris immunodéficientes xéno greffées avec des blastes leucémiques humains, par rapport aux souris non traitées qui développent plus rapidement une leucémie.

PyQ apparaît donc être une molécule d'intérêt avec un potentiel pharmacologique pour le traitement des LAM. ♦

CD45 phosphatase, a relevant target for the treatment of acute myeloid leukemia

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Shearer WT, Rosenwasser LJ, Bochner BS, et al. Biology of common β receptor-signaling cytokines: IL-3, IL-5, and GM-CSF. *J Allergy Clin Immunol* 2003 ; 112 : 653-65.
2. Hercus TR, Thomas D, Guthridge MA, et al. The granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor: linking its structure to cell signaling and its role in disease. *Blood* 2009 ; 114 : 1289-98.
3. Birnbaum RA, O'Marcaigh A, Wardak Z, et al. Nf1 and Gmcsf interact in myeloid leukemogenesis. *Mol Cell* 2000 ; 5 : 189-95.

4. Jakupovic I, Grandage VL, Linch DC, et al. Lack of effect of the human GM-CSF analog E21R on the survival of primary human acute myeloid leukemia cells. *Blood* 2004 ; 103 : 3230-2.
5. Mathew M, Zaineb KC, Verma RS. GM-CSF-DFF40: a novel humanized immunotoxin induces apoptosis in acute myeloid leukemia cells. *Apoptosis* 2013 ; 18 : 882-95.
6. Hibbs ML, Harder KW. The duplicitous nature of the Lyn tyrosine kinase in growth factor signaling. *Growth Factors* 2006 ; 24 : 137-49.
7. Scapini P, Pereira S, Zhang H, et al. Multiple roles of Lyn kinase in myeloid cell signaling and function. *Immunol Rev* 2009 ; 228 : 23-40.
8. Wei S, Liu JH, Epling-Burnette PK, et al. Critical role of Lyn kinase in inhibition of neutrophil apoptosis by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Immunol* 1996 ; 157 : 5155-62.
9. Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000 ; 1 : 31-9.
10. Saint-Paul L, Nguyen CH, Buffière A, et al. CD45 phosphatase is crucial for human and murine acute myeloid leukemia maintenance through its localization in lipid rafts. *Oncotarget* 2016 ; doi: 10.18632/oncotarget.11622.

NOUVELLE

L'antisynapse : présynapse et garde-fou de l'activation lymphocytaire ?

Chloé Guedj¹, Nicolas Abraham, Clotilde Randriamampita

Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR 8104, Université Paris-Descartes, Sorbonne Paris Cité, 22, rue Méchain, 75014 Paris, France.

¹Adresse actuelle : ImagoSeine, Institut Jacques Monod, Université Paris Diderot/CNRS, 15, rue Hélène Brion, 75205 Paris Cedex 13, France.

chloe.guedj@gmail.com

nicolas.abraham@inserm.fr

clotilde.randriamampita@inserm.fr

> Le lymphocyte T (L_T) est un acteur majeur de la réponse immunitaire adaptative. Son activation a lieu au sein des ganglions lorsqu'il reconnaît, à la surface d'une cellule présentatrice d'antigène (CPA) comme une cellule dendritique, l'antigène dont il est spécifique. L'activation des récepteurs à l'antigène (TCR) déclenche alors la relocalisation de nombreux éléments vers la zone de contact établie entre le L_T et la CPA, formant ainsi une structure appelée synapse immunologique. Cette plateforme de signalisation est composée de microagrégats, ou *nanoclusters*, organisés autour des TCR et

(→) Voir la Synthèse de J. Bouchet et

A. Alcover, *m/s* n° 6-7, juin-juillet 2014, page 665

On y retrouve de nombreuses protéines telles que les tyrosines kinases Lck (*lymphocyte-specific protein tyrosine kinase*) et ZAP-70 (*70-kDa zeta-associated protein*) ou la protéine adaptatrice LAT (*linker for activation of T cells*). La formation de cette synapse immunologique est généralement perçue comme la première étape de l'activation lymphocytaire. Nos travaux ont cependant mis en évidence que, préalablement à la constitution de cette synapse, une structure transitoire, l'antisynapse, se formait au pôle opposé du contact entre L_T et CPA [2, 3].

L'antisynapse, un pôle de signalisation actif

Par des expériences de vidéo-microscopie et d'immunofluorescence, nous

avons montré que tous les éléments classiquement décrits au sein de la synapse s'accumulaient également au niveau de l'antisynapse. C'est le cas par exemple des kinases Lck, ZAP-70, PI3K (phosphoinositide 3-kinase), de l'adaptateur LAT (*Figure 1*), mais aussi des radeaux lipidiques¹ et des phospholipides PIP2 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate) et PIP3 (phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate). Plus étonnant, la chaîne zeta du CD3 associé au TCR s'accumule également à ce pôle, mais cela de manière moins fréquente

¹ Un radeau lipidique ou *raft* lipidique est un microdomaine de la membrane plasmique, riche en sphingolipides, constituant un site privilégié pour l'activité de certaines protéines.

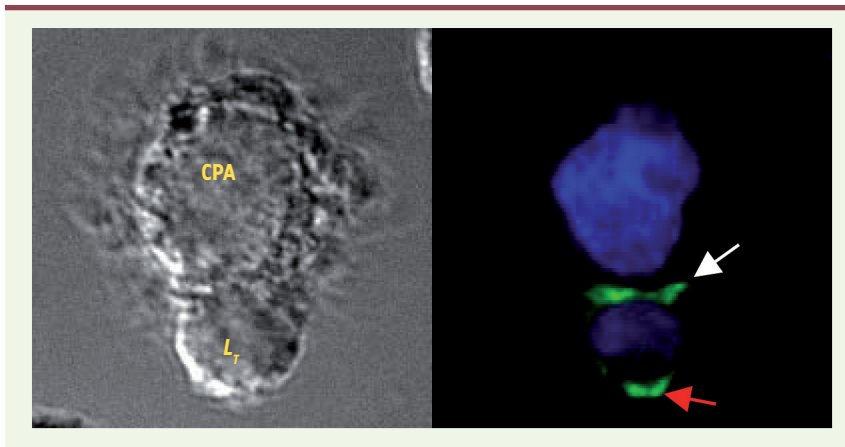


Figure 1. Synapse immunologique et antisynapse. Le contact d'un lymphocyte T (L_T) avec une cellule présentatrice d'antigène (CPA) présentant un antigène, induit la relocalisation de la protéine adaptatrice LAT (*linker for activation of T-cells*; en vert) au niveau de la zone de contact (synapse immunologique; flèche blanche) mais également au pôle opposé (antisynapse; flèche rouge).

(dans 35 % des conjugués productifs² au lieu des 70 % environ, pour les autres marqueurs). Ces observations conduisent donc à la conclusion inattendue que les différentes protéines de signalisation peuvent s'organiser en signalosomes indépendamment du CD3. Il faut noter que les tyrosines kinases ZAP-70 et Lck sont fonctionnellement actives à l'antisynapse, comme nous avons pu le montrer avec le biosenseur ROZA (*reporter of Zap-70 activity*) [2] ou avec des anticorps spécifiques. L'antisynapse constitue donc réellement un pôle de signalisation actif.

L'antisynapse, une structure éphémère qui apparaît avant la synapse

La distribution des protéines de Lck ou LAT, couplées à des protéines fluorescentes GFP (*green fluorescent protein*) afin de les localiser, a pu être suivie par vidéo-microscopie au cours du contact L_T -CPA. Nous avons ainsi observé que l'antisynapse se formait très rapidement (environ 30 secondes après le premier contact physique entre une CPA et une cellule T primaire humaine) et, de

façon surprenante, dans la plupart des cas, avant même que la synapse ne soit détectable. Toutefois, son existence n'est qu'éphémère : après quelques minutes, l'antisynapse a totalement disparu, ne subsiste que la synapse. Mais que sont devenues les protéines accumulées à l'antisynapse ? Se sont-elles dispersées ou ont-elles migré vers la synapse ?

L'antisynapse, un réservoir de protéines pour la synapse

Pour suivre le destin des protéines composant l'antisynapse, nous avons couplé un marqueur de l'antisynapse (la kinase Lck) à une protéine photo-convertible (Dendra2)³: après photo-conversion par un flash de lumière ultraviolette, ce fluorophore « converti » n'émet plus de fluorescence dans le vert mais dans le rouge. Nous avons photo-converti les protéines accumulées à l'antisynapse et suivi le devenir de ces protéines devenues rouges. Nous avons ainsi montré que les protéines situées initialement à l'antisynapse se retrouvent ensuite au niveau de la synapse. Par quel mécanisme ce transfert a-t-il lieu ? Une étude récente ayant

montré que le cytosquelette de microtubules était essentiel pour le transport protéique lors de la formation de la synapse [4], nous avons testé l'importance de ce réseau dans le transfert des composants de l'antisynapse vers la synapse. En inhibant par du nocodazole⁴ la polymérisation des microtubules, nous avons montré que les protéines photo-converties restaient effectivement bloquées à l'antisynapse et que leur translocation vers la synapse était abolie. Ces résultats suggèrent donc que l'antisynapse pourrait représenter un réservoir de protéines de signalisation prêtes à être recrutées au niveau de la synapse grâce au réseau de microtubules.

Un signal d'adhésion est suffisant pour la formation de l'antisynapse

Quel signal déclenche la formation de l'antisynapse ? L'activation du TCR est-elle nécessaire ? De façon surprenante, il semble que ce ne soit pas le cas. En effet, des cellules déficientes en TCR sont tout autant capables de former des antisynapses que des cellules T présentant ce récepteur. Pour mieux caractériser le signal à l'origine de la formation de cette structure distale, nous avons utilisé des conjugués modèles en remplaçant les CPA par des billes recouvertes de différentes molécules. Des billes recouvertes d'anticorps spécifiques de LFA-1 (*lymphocyte function-associated antigen 1*) ou d'ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule*) qui ciblent des molécules d'adhésion, ou encore du CMH-I (complexe majeur d'histocompatibilité de classe I), induisent des antisynapses avec une fréquence similaire à celle induite par des billes recouvertes d'anticorps reconnaissant les protéines CD3/CD28 (des protéines cibles des CPA, les anticorps permettant de mimer les interactions entre des L_T et CPA). En fait, le seul contact entre des L_T et des billes recouvertes de polylysine suffit à déclencher la formation d'antisynapses ! Quel est donc le signal commun induit

² Dans notre étude, un conjugué productif correspond au cas où un contact entre deux cellules mène à la formation d'une synapse et/ou d'un signal calcique dans le lymphocyte T.

³ Les protéines fluorescentes photo-convertibles ont deux états de fluorescence. Il est possible de passer du premier au second grâce à une illumination à une longueur d'onde donnée. Dendra2, issue du corail *Dendronephthya*, peut ainsi passer du vert au rouge.

⁴ Le nocodazole entraîne une déstabilisation des microtubules.

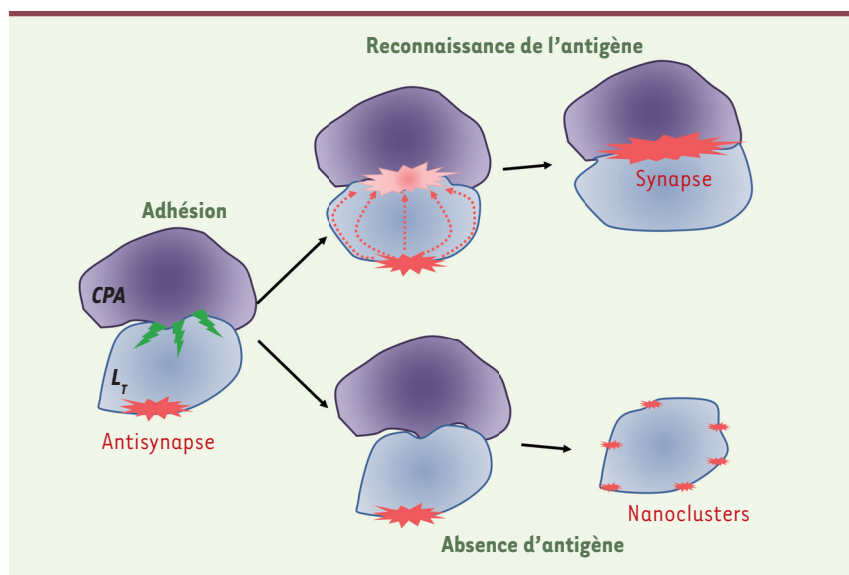


Figure 2. Rôles possibles de l'antisynapse. L'adhérence d'un lymphocyte T (L_T) à une cellule présentatrice d'antigène (CPA) induit la formation d'une antisynapse. Les composants de celle-ci sont capables de rejoindre la synapse, ce qui favorise l'activation du L_T . En absence d'antigène, l'antisynapse pourrait au contraire séquestrer les molécules de signalisation et empêcher ainsi l'activation incontrôlée du L_T . Lors de la dissociation de ce contact non productif, la dispersion de l'antisynapse pourrait conduire à la formation de *nanoclusters*, favorables à une activation ultérieure.

par l'adhésion des L_T à ces différentes billes qui est capable de déclencher la formation de ces antisynapses ? Une des possibilités serait que ce signal soit en fait mécanique : la contrainte physique exercée sur le L_T par la CPA (ou la bille) au niveau de la zone de contact pourrait en effet entraîner des variations locales de tension de la membrane cellulaire, comme c'est le cas pour les neutrophiles [5]. Certains de nos résultats apparaissent cohérents avec cette hypothèse : en induisant un contact avec une surface plane couverte d'anticorps, à la place d'une bille (présentant une surface de contact bien plus faible), et donc en changeant la contrainte mécanique induite par le contact, la fréquence des antisynapses se trouve très fortement réduite.

Antisynapse et activation lymphocytaire

Quel peut être le rôle de cette structure inattendue ? Favorise-t-elle l'activation lymphocytaire ? Il est difficile à

l'heure actuelle de répondre à ces questions car nous sommes incapables de bloquer spécifiquement sa formation. Toutefois, en utilisant la réponse calcique comme un témoin de l'activation précoce du lymphocyte, nous avons pu obtenir certains résultats nous permettant de formuler des hypothèses (Figure 2). Tout d'abord, lorsque l'antisynapse est stabilisée dans le temps par l'inhibition des microtubules cellulaires, une réduction de la réponse calcique est observée, en parallèle à la diminution de la fréquence d'apparition des synapses. Ce résultat suggère que le transfert des composants de l'antisynapse vers la synapse serait nécessaire pour obtenir une activation optimale. L'antisynapse pourrait donc être considérée comme une présynapse. Nous avons, d'autre part, pu comparer les réponses calciques induites dans les L_T présentant des antisynapses à celles de L_T n'en présentant pas. En présence d'antigène, l'amplitude moyenne des réponses calciques observées pour les

deux populations de lymphocytes est identique. En revanche, en absence d'antigène, les cellules développant une antisynapse ont une réponse calcique fortement réduite. Dans ces conditions, l'antisynapse pourrait donc avoir un effet de régulation négative sur l'activation, peut-être en séquestrant les acteurs importants, loin de la synapse, évitant ainsi qu'une activation intempestive ait lieu en absence de l'antigène.

On peut enfin imaginer que, dans le cas d'un contact non productif, les agrégats de molécules de signalisation formés au niveau de l'antisynapse ne se défont pas totalement mais restent sous la forme de « *nanoclusters* », ce qui favoriserait une activation ultérieure en permettant la formation plus rapide des complexes de signalisation lors d'un futur contact.

Conclusion

Des structures distales (localisées au pôle opposé de la synapse) avaient été préalablement décrites lors d'un contact entre un lymphocyte T et une CPA. C'est notamment le cas du *distal pole complex* (DPC), structure tardive accumulant des facteurs inhibiteurs de l'activation lymphocytaire [6]. Notre étude a mis en évidence, au niveau de ce même pôle, une structure bien différente : l'antisynapse qui inclut un signalosome activateur, précoce et transitoire. Si son implication précise lors de l'activation lymphocytaire reste incertaine, nos résultats suggèrent qu'elle pourrait tout à la fois jouer un rôle de structure facilitatrice lors d'une réponse immune spécifique de l'antigène en pré-assemblant rapidement le signalosome dès le stade d'adhésion, mais également de garde-fou en attente de la confirmation d'un signal provenant du TCR activé pour former la synapse, ce qui empêcherait des activations intempestives lors des nombreux contacts qu'établissent lymphocytes T et CPA en absence d'antigène. ♦

The antisynapse: a presynapse or a safeguard for T cell activation?

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Alain Trautmann pour la relecture de cette nouvelle. Les travaux décrits ici ont été financés par le CNRS, l'Inserm, l'université Paris Descartes, la Fondation ARC pour la recherche sur le cancer et la Ligue contre le cancer.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. 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.
2. Randriamampita C, Mouchacca P, Malissen B, et al. A novel ZAP-70 dependent FRET based biosensor reveals kinase activity at both the immunological synapse and the antisynapse. *PLoS One* 2008 ; 3 : e1521.
3. Guedj C, Abraham N, Jullie D, Randriamampita C. T cell adhesion triggers an early signaling pole distal to the immune synapse. *J Cell Sci* 2016 ; 129 : 2526-37.
4. Hashimoto-Tane A, Yokosuka T, Sakata-Sogawa K, et al. Dynein-driven transport of T cell receptor microclusters regulates immune synapse formation and T cell activation. *Immunity* 2011 ; 34 : 919-31.
5. Houk AR, Jilkine A, Mejean CO, et al. Membrane tension maintains cell polarity by confining signals to the leading edge during neutrophil migration. *Cell* 2012 ; 148 : 175-88.
6. Allenspach EJ, Cullinan P, Tong J, et al. ERM-dependent movement of CD43 defines a novel protein complex distal to the immunological synapse. *Immunity* 2001 ; 15 : 739-50.

NOUVELLE

La molécule antivirale arbidol inhibe des virus pathogènes de prévalence mondiale

Ève-Isabelle Pécheur¹, Stephen J. Polyak²

¹ Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Inserm 1052, CNRS 5286, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, 151, cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France.

² Departments of Laboratory Medicine and Global Health, University of Washington, Seattle, Washington, États-Unis. eve-isabelle.pecheur@inserm.fr

➤ À l'heure actuelle, il reste de nombreux virus de prévalence mondiale contre lesquels il n'existe ni traitement antiviral, ni vaccin. Certains de ces virus, comme le virus Ebola¹ ou les membres du genre des Arenavirus², à l'origine d'infections aiguës, causent des maladies hémorragiques sévères pouvant être fatales. D'autres, comme le virus de l'hépatite B (VHB) ou certains herpès virus, établissent des infections persistantes pouvant évoluer en maladies chroniques, dont le cancer. Afin de contrer ces virus, il apparaît donc nécessaire de pouvoir identifier une molécule à action antivirale qui soit abordable, efficace et sûre.

¹ Le virus Ebola appartient à la famille des *Filoviridae*, comprenant également le virus Marburg. Ce sont des virus à ARN simple brin de polarité négative, causant tous deux des fièvres hémorragiques. Plusieurs espèces de virus Ebola existent : Forêt Tai, Soudan, Zaïre, Reston et Bundidugyo.

² Les Arenavirus sont un genre viral appartenant à la famille des *Arenaviridae*, comprenant notamment le virus de la fièvre de Lassa, les virus Tacaribe, Junin, Machupo, Guanarito, Sabia, Lujo et Chapare (virus du Nouveau Monde) et le virus de la chorioménigite lymphocytaire (virus de l'Ancien Monde). Les réservoirs sont la chauve-souris pour Tacaribe, et les rongeurs pour les autres virus. Tous ces virus sont responsables de fièvres hémorragiques parfois létales.

L'arbidol, un antiviral qui est déjà utilisé en clinique dans plusieurs pays comme traitement anti-grippal, pourrait être un candidat.

L'arbidol : un agent antiviral à large spectre

L'arbidol a été initialement synthétisé dans les années 1970, en URSS³ (voir *Figure 1A* pour sa structure chimique). Il y est commercialisé depuis plus de 20 ans pour la prophylaxie et le traitement de maladies pulmonaires humaines dues aux virus A et B de la grippe, ainsi que d'autres virus respiratoires pathogènes [1, 2]. Il est également utilisé en clinique en Chine depuis 2006 pour les mêmes indications ainsi que pour la prévention d'épidémies de grippe aviaire en médecine vétérinaire [3]. Son innocuité a été démontrée sur des périodes de traitement allant d'une semaine à quelques mois.

Des études récentes ont montré l'efficacité de l'arbidol *in vivo* contre des virus responsables d'infections respiratoires

(virus respiratoire syncytial, virus Cox-sackie B5) ou contre le virus Hantaan qui cause une fièvre hémorragique accompagnée d'un syndrome rénal d'issue souvent fatale [3]. Ces études ayant été effectuées sur un petit nombre d'animaux, leur interprétation doit cependant rester prudente. Une étude récente fait en effet état d'une absence d'activité antivirale, à la dose utilisée *in vivo*, contre le virus de la fièvre hémorragique Crimée-Congo⁴. La réplication de ce virus est toutefois inhibée par l'arbidol *in vitro* [4]. Le spectre antiviral de l'arbidol *in vitro* s'élargit donc à des pathogènes émergents comme le coronavirus causant le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS), le virus Chikungunya, ainsi qu'aux virus des hépatites virales B et C [3]. Ces virus sont différents d'un point de vue structural (virus enveloppés ou non, à ADN ou ARN) et leurs cycles réplicatifs sont différents.

Nous avons émis l'hypothèse que l'arbidol pourrait présenter une activité

³ Union des républiques socialistes soviétiques ou Union soviétique.

⁴ Le virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo provoque des flambées de fièvre hémorragique virale sévère avec un taux de létalité pouvant atteindre 40 %.