

Le récepteur de la phosphatidyl-sérine, un intermédiaire entre apoptose et réponse immunitaire

Tout organisme vivant est soumis au cours de son développement à des étapes de différenciation, de sélection et de vieillissement cellulaire qui engendrent au quotidien plusieurs centaines de millions de cellules mortes [1]. Cette mort « physiologique » implique un processus actif appelé apoptose, mais silencieux, ce qui l'oppose à la nécrose (lyse cellulaire associée à une forte inflammation). La détection de l'apoptose dans des conditions physiologiques est rendue difficile *in vivo* parce que les cellules apoptotiques sont rapidement et efficacement phagocytées et éliminées par les monocytes circulants, les macrophages tissulaires, et les cellules dendritiques. Or, s'il est plus discret que la nécrose, le processus apoptotique n'en retient pas moins sur les réponses inflammatoires et immunes, notamment lors du contrôle de la phagocytose des cellules apoptotiques par les cellules monocytaires et dendritiques.

Le processus de phagocytose, une des premières réponses de défense de l'organisme, est loin d'être passif. Tout d'abord il met en jeu des récepteurs, et ensuite, l'ingestion entraîne une réaction cellulaire souvent sous forme de relargage de cytokines inflammatoires. Pour être phagocytées, les cellules apoptotiques doivent donc être d'abord reconnues par les cellules phagocytaires. Un des événements les plus précoces survenant dans une cellule apoptotique est une redistribution de lipides membranaires avec, notamment, une externalisation du lipide phosphatidyl-sérine, qui est détectable au niveau de la couche externe de la membrane plasmique [2]. Plusieurs molécules, dont l'expression diffère selon la nature de la cellule phagocytaire et son état d'activation et/ou de diffé-

renciation [3] interviennent dans la reconnaissance des cellules apoptotiques : les intégrines ($\alpha\beta$ 3), seules ou en interaction avec l'antigène CD36 (un récepteur de la thrombospondine), l'antigène CD14, récepteur du LPS (lipopolysaccharide) et caractéristique des monocytes/macrophages, les récepteurs CR3/CR4 de la molécule C3bi du complément, les récepteurs de type SRA et SRB1 (*scavenger receptor class A, et B1*), des récepteurs de type lectines qui reconnaissent des carbohydrates de type mannose ou galactose (*figure 1*). Fadok *et al.* [2], qui, en 1992, avaient identifié la phosphatidyl-sérine comme signal de reconnaissance des cellules apoptotiques par les macrophages, viennent d'identifier, à la surface de macrophages activés par le TGF β (*transforming growth factor*) et le β -glucane, le récepteur de ce lipide [4]. Les auteurs ont produit des anticorps monoclonaux en utilisant comme antigènes des macrophages activés, et ils ont sélectionné ceux qui reconnaissent spécifiquement les macrophages activés, et dont la fixation entraine en compétition avec des liposomes exprimant la phosphatidyl-sérine. Ce récepteur a ensuite été cloné par criblage d'une banque d'expression (technique de *phage display*). Le gène identifié code pour une protéine de 47-48 kDa, conservée au cours de l'évolution puisque des recherches dans les banques génomiques ont révélé l'existence d'homologues chez *Caenorhabditis elegans* et *Drosophila melanogaster*. La protéine serait transmembranaire, O-glycosylée, et comporterait un site de phosphorylation dans son domaine intracytoplasmique. Lorsque l'ADNc est transfecté dans les cellules Jurkat qui n'expriment aucun des récepteurs connus pour la phagocytose et

l'internalisation, ces cellules sont capables de fixer et de phagocyter des cellules apoptotiques, démontrant l'efficacité fonctionnelle de ce récepteur.

Un autre intérêt de cette étude est qu'elle souligne à nouveau la relation qui existe entre la réponse immunitaire et la présence de cellules apoptotiques. Cette notion d'une influence des cellules apoptotiques sur la réponse immunitaire n'est pas nouvelle : en 1996, les premiers travaux avaient montré que l'introduction dans la chambre antérieure de l'oeil, de cellules apoptotiques prétraitées avant leur mort avec un hapène (TNP), entraînait une forme de tolérance systémique [5]. Peu après, le groupe de Fadok révélait que l'ingestion de cellules apoptotiques par les macrophages conduisait à des modifications de la synthèse de cytokines [6]. Ce même groupe caractérise aujourd'hui ce récepteur à la phosphatidyl-sérine qui après stimulation est responsable de la modification du profil de cytokines sécrétées par les cellules phagocytaires, et ce en interférant avec les voies de signalisation intervenant dans le contrôle de la sécrétion de cytokines. Ainsi, en réponse au LPS, la sécrétion de TGF β est stimulée, alors que celle de TNF α (*tumor necrosis factor α*) est inhibée [4]. D'autres récepteurs de la phagocytose sont également capables de moduler la réponse inflammatoire. Ainsi des anticorps anti-CD36 induisent la sécrétion d'IL-10 et inhibent celle du TNF α [7]. De plus, l'apoptose de cellules productrices d'IL-10 participerait à une commutation de la réponse immune vers une réponse de type Th2 [8]. Outre son effet direct sur la réponse inflammatoire et immunitaire, des travaux récents suggèrent également un effet des cel-

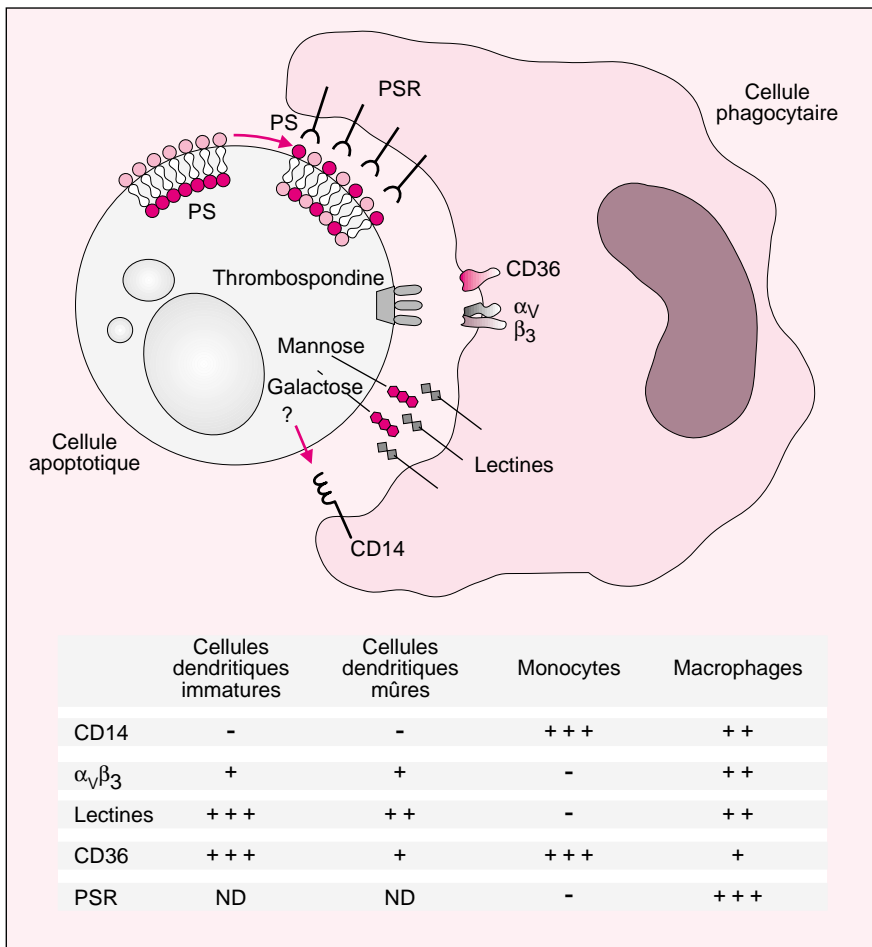


Figure 1. **Molécules impliquées dans la reconnaissance des cellules apoptotiques par les phagocytes.** Les phagocytes expriment à leur surface différents récepteurs qui interviennent dans la reconnaissance des cellules apoptotiques. Le récepteur du lipide phosphatidyl sérine (PSR) reconnaît la phosphatidyl sérine (PS) qui est redistribuée dans la membrane plasmique; les intégrines $\alpha_v\beta_3$, seules ou en association avec l'antigène CD36, reconnaissent la thrombospondine, et les récepteurs de type lectine, les carbohydrates. Le ligand de CD14 est encore inconnu. Le tableau montre l'expression de ces différents récepteurs en fonction du type de phagocyte (ND: non déterminé).

lules apoptotiques vis-à-vis de macrophages infectés par *Trypanosoma cruzi* augmentant la prolifération parasitaire via la production de TGF β [9] (*m/s* 2000, n° 5, p. 691).

L'influence de cellules apoptotiques sur la réponse immune va au-delà de la simple synthèse de cytokines anti-inflammatoires. Un partenaire essentiel de la réponse immunitaire est la cellule dendritique. Si les cellules dendritiques immatures sont capables de phagocytose, seules les cellules dendritiques matures sont capables d'une présentation antigène

efficace aux lymphocytes T. Contrairement aux macrophages, les cellules dendritiques sont capables de présenter aux lymphocytes T CD8 cytotoxiques, en association avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, des structures peptidiques issues de cellules apoptotiques soit préalablement infectés par des virus [10] ou des bactéries [11], soit tumorales [12]. Ce processus peut être bloqué par des inhibiteurs peptidiques des caspases, dont on connaît le rôle prépondérant au cours de l'apoptose. Les fonc-

tions de maturation et de présentation de l'antigène sont affectées par la nature, apoptotique ou nécrotique, des cellules phagocytées. Ainsi, seules les cellules nécrotiques induisent la maturation des cellules dendritiques, ce qui n'est pas le cas s'il s'agit de cellules apoptotiques [13, 14]. Ces travaux suggèrent un scénario dans lequel une présentation antigénique optimale nécessite deux étapes: d'une part, la phagocytose des cellules apoptotiques par les cellules dendritiques immatures permettant la présentation des peptides et d'autre part, un signal de maturation fourni par les cellules nécrotiques.

Qu'en est-il de l'influence du processus apoptotique sur la réponse lymphocytaire T CD4 ? Celle-ci est moins bien étudiée et les résultats obtenus sont parfois contradictoires, ce que peut expliquer la diversité des protocoles utilisés pour induire une apoptose. Ainsi, on a pu observer une activation des lymphocytes T CD4 par des cellules dendritiques phagocytant des cellules apoptotiques issus de macrophages infectés par *Salmonelle* [12], mais aussi une non réponse par l'absence d'induction des molécules co-activatrices des lymphocytes T CD4 [14] lors de l'utilisation de cellules dont l'apoptose avait été induite chimiquement. Ces auteurs montrent également que l'ingestion de cellules nécrotiques agit en tant qu'adjuvant de la réponse immune [14].

Outre les lymphocytes T CD4 et CD8, la réponse des lymphocytes B est également affectée, et peut entraîner une réaction de type auto-immune. En particulier, lors du processus apoptotique, des antigènes du soi sont aggrégés à la surface des cellules apoptotiques, en association avec des antigènes viraux [15]. Ainsi, l'injection par voie intraveineuse de ces cellules chez la souris entraîne le développement d'anticorps reconnaissant l'ADN simple brin, les cardiolipides et des antigènes nucléaires [16], avec le possible déclenchement d'une maladie auto-immune de type lupique (lupus érythémateux disséminé). Des souris déficientes en molécule C1q, et dont les macrophages sont incapables d'éliminer *in vivo* les cellules apoptotiques développent aussi une maladie lupique

[17]. Cependant, les mécanismes moléculaires conduisant à cette activation lymphocytaire B demeurent inconnus.

Ainsi, l'ensemble de ces travaux confirment la complexité des réactions qu'entraîne un processus de mort cellulaire. En effet, non seulement la nature du processus de mort cellulaire, par apoptose ou par nécrose, mais également celle de la cellule présentatrice et des effecteurs lymphocytaires entrent en jeu. La complexité est encore accrue par la dérégulation, lors d'infections virales, parasitaires et bactériennes des processus de mort par apoptose [18].

1. Cohen JJ, Duke RC, Fadok VA, Sellins KS. Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu Rev Immunol* 1992; 10: 267-93.
2. Fadok VA, Voelker DR, Campbell PA, Cohen JJ, Bratton DL, Henson PM. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J Immunol* 1992; 148: 2207-16.
3. Albert ML, Pearce SF, Francisco LM, et al. Immature dendritic cells phagocytose apoptotic cells via alpha5beta1 and CD36, and cross-present antigens to cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med* 1998; 188: 1359-68.
4. Fadok VA, Bratton DL, Rose DM, Pearson A, Ezekewitz RA, Henson PM. A receptor for phos-

phatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature* 2000; 405: 85-90.

5. Griffith TS, Yu X, Herndon JM, Green DR, Ferguson TA. CD95-induced apoptosis of lymphocytes in an immune privileged site induces immunological tolerance. *Immunity* 1996; 5: 7-16.
6. Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM. Macrophages that have ingested apoptotic cells *in vitro* inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* 1998; 101: 890-8.
7. Voll RE, M. Herrmann, Roth EA, Stach C, Kalden JR, Girkontaite I. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997; 390: 350-1.
8. Gao Y, Herndon JM, Zhang H, Griffith TS, Ferguson TA. Antiinflammatory effects of CD95 ligand (FasL)-induced apoptosis. *J Exp Med* 1998; 188: 887-96.
9. Freire-de-Lima CG, Nascimento DO, Soares MB, et al. Uptake of apoptotic cells drives the growth of a pathogenic trypanosome in macrophages. *Nature* 2000; 403: 199-203.
10. Albert M, Sauter B, Bhardwaj N. Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs. *Nature* 1998; 392: 86-9.
11. Yrliid U, Wick MJ. Salmonella-induced apoptosis of infected macrophages results in presentation of a bacteria-encoded antigen after uptake by bystander dendritic cells. *J Exp Med* 2000; 191: 613-24.
12. Henry F, Boisteau O, Breteau L, Lieubeau B, Meflah K, Gregoire M. Antigen-presenting cells that phagocytose apoptotic tumor-derived cells are potent tumor vaccines. *Cancer Res* 1999; 59: 3329-32.
13. Sauter B, Albert ML, Francisco L, Larsson M, Somersan S, Bhardwaj N. Consequences of cell death: exposure to necrotic tumor cells, but not primary tissue cells or apoptotic cells, induces the

maturation of immunostimulatory dendritic cells. *J Exp Med* 2000; 191: 423-34.

14. Gallucci S, Lolkema M, Matzinger P. Natural adjuvants: endogenous activators of dendritic cells. *Nat Med* 1999; 5: 1249-55.
15. Rosen A, Casciola-Rosen L, Ahearn J. Novel packages of viral and self-antigens are generated during apoptosis. *J Exp Med* 1995; 181: 1557-61.
16. Mevorach D, Zhou JL, Song X, Elkouk KB. Systemic exposure to irradiated apoptotic cells induces autoantibody production. *J Exp Med* 1998; 188: 387-92.
17. Taylor PR, Carugati A, Fadok VA, et al. A hierarchical role for classical pathway complement proteins in the clearance of apoptotic cells *in vivo*. *J Exp Med* 2000; 192: 359-66.
18. Ameisen JC, Estaquier J, Idziorek T. From AIDS to parasite infection: pathogen-mediated subversion of programmed cell death as a mechanism for immune dysregulation. *Immunol Rev* 1994; 142: 9-51.

Damien Arnoult
Frédéric Petit
Jean-Daniel Lelièvre
Khalidja Akarid
Jean-Claude Ameisen
Jérôme Estaquier

Inserm EMI-U 9922, Mort cellulaire programmée, pathogenèse du SIDA et interaction hôtes/agents infectieux. Hôpital Bichat-Claude-Bernard, 46, rue Henri Huchard. 75018 Paris, France.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Éosinophiles... non-lieu dans le bronchospasme de l'asthme ?** Le déséquilibre du rapport lymphocytes Th1/Th2 caractérise la maladie asthmatique, et l'excès de lymphocytes CD4⁺ Th2 a été rendu responsable, par leur sécrétion d'interleukine (IL)-5, de l'accumulation locale de polynucléaires éosinophiles et, en partie, de la réponse obstructive lors de l'exposition à un allergène. Les lymphocytes Th2 produisent 4 cytokines: IL-4, 5, 9 et 13 dont le rôle a été récemment souligné (*m/s* 1999, n° 6-7, p. 863). L'IL-5 agit spécifiquement sur la différenciation éosinophile, et l'IL-4 et l'IL-13, qui utilisent la même chaîne α du récepteur de l'IL-4, stimulent la production d'IgE par les lymphocytes B et peut-être l'IL-13 inhibe-t-elle la différenciation Th1. Il était donc logique, ce que

soulignait J. Bousquet dans *médecine/sciences* en 1999 [1], d'espérer rétablir un équilibre Th1/Th2, et diminuer le nombre des éosinophiles en administrant des anticorps anti-IL-5, ou en administrant de l'IL-12, d'origine macrophagique, et inductrice d'une différenciation Th1. Encouragées par les études conduites chez l'animal, et par l'insensibilité des souris *IL-5*^{-/-} à une stimulation allergique, deux équipes ont appliqué à des patients asthmatiques ces stratégies, mais leurs résultats, que publie *Lancet* [2, 3], sont décevants. Que ce soit après injection d'une dose unique d'anticorps anti-IL-5 [2], ou après 4 injections de doses croissantes d'IL-12 [3], une baisse spectaculaire du nombre de polynucléaires éosinophiles a été certes observée dans le sang et les

sécrétions pulmonaires. Mais la réponse à l'allergène, qu'elle soit précoce (quelques minutes) ou tardive (> 8 heures) sous forme d'une bronchoconstriction n'a été améliorée dans aucun des deux protocoles. Si ces études écartent ces deux cytokines de l'arsenal thérapeutique de la maladie asthmatique, ce d'autant plus que l'injection IL-12 s'est avérée mal supportée, elles remettent aussi en cause le rôle prééminent des éosinophiles dans la symptomatologie associée à l'asthme ou à ses équivalents.

- [1. Bousquet J, et al. *Med Sci* 1999; 15: 823-32.]
- [2. Leckie M, et al. *Lancet* 2000; 356: 2144-8.]
- [3. Bryan SA, et al. *Lancet* 2000; 356: 349-53.]