

## Bases moléculaires de la diversité fonctionnelle des récepteurs des anticorps

Les récepteurs de faible affinité de la portion Fc des IgG (RFcγII et RFcγIII) ne fixent les anticorps que déjà complexés à un antigène. Ils constituent une famille de glycoprotéines membranaires très homologues dans leurs régions extracellulaires mais complètement différentes dans leurs régions transmembranaire et intracytoplasmique. Ces récepteurs relaient les très diverses activités biologiques des anticorps à la surface des cellules du système immunitaire : à la surface des macrophages, des neutrophiles et des cellules NK, les RFcγ déclenchent l'activation cellulaire, intervenant dans des phénomènes de cytotoxicité dépendante d'anticorps ; à la surface des mastocytes, les RFcγ sont capables de déclencher la dégranulation de ces cellules, et donc aussi la libération de médiateurs de l'inflammation, pouvant intervenir dans les phénomènes d'allergie ; à la surface des lymphocytes B, le pontage des immunoglobulines membranaires avec les RFcγII bloque l'activation cellulaire et module ainsi la synthèse d'immunoglobulines. Dans les macrophages, l'interaction des récepteurs RFcγ avec leurs ligands provoque l'internalisation du complexe ; ces récepteurs participent donc à la clairance des complexes immuns et à l'internalisation de l'antigène qu'ils contiennent.

Christian Bonnerot  
Hervé Fridman

### ADRESSE

C. Bonnerot : chargé de recherche à l'Inserm.  
H. Fridman : directeur de recherche à l'Inserm.  
Inserm U.255, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75005 Paris, France.

### TIRÉS A PART

C. Bonnerot.

**L**es anticorps sont le siège d'une double diversité dont l'une permet la reconnaissance d'une multitude d'antigènes et l'autre détermine leur spécificité fonctionnelle. La région variable des anticorps est codée par un ensemble d'une centaine de gènes dont les différentes possibilités de recombinaison sont à l'origine du répertoire des lymphocytes B. Les parties variables s'associent aux régions constantes, elles-mêmes codées par une dizaine de gènes, qui définissent les classes isotypiques d'immu-

noglobulines (Ig) M, D, G, E et A, diversité moléculaire localisée principalement dans la portion Fc des anticorps. A partir de la description des nombreuses activités biologiques des anticorps a émergé la vieille notion d'anticorps cytophile, c'est-à-dire d'anticorps ayant la capacité de se fixer sur les cellules. Beaucoup plus tard, la description à la surface de la plupart des cellules du système immunitaire de récepteurs de la portion Fc des anticorps a permis de mieux connaître les molécules qui assurent la connexion entre immunité cellulaire et immunité humo-

rale. Des récepteurs de la portion Fc de chacune des classes et sous-classes d'immunoglobulines ont ainsi été décrits, mais les mieux connus restent les récepteurs des IgE et des IgG dénommés respectivement RFcε et RFcγ. L'affinité de ces récepteurs pour leurs ligands a abouti à la définition fonctionnelle de deux grands groupes de RFc. Les RFc de forte affinité (ou de type I) fixent les anticorps sous forme monomérique, puis la complexation par l'antigène déclenche les processus d'activation cellulaire. Les RFcεI ou les RFcγI sont des exemples de ce type d'anticorps, le mieux connu étant le RFcεI des mastocytes qui est impliqué dans les phénomènes d'allergie, tandis que le RFcγI des macrophages et des monocytes, appelé CD64 chez l'homme, n'a pas encore de fonction bien caractérisée. A l'opposé, les RFc de faible affinité ne fixent des anticorps que déjà préalablement complexés à un antigène, déclenchant directement les phénomènes d'activation cellulaire. Pour les IgE, le récepteur le mieux connu est la molécule CD23, tandis que pour les IgG, on distingue les récepteurs de type II et de type III appelés aussi CD32 et CD16.

### Structure des RFcγ de faible affinité

Les récepteurs de la portion Fc des IgG sont des glycoprotéines membranaires qui ont une organisation structurale commune. Ils appartiennent à la superfamille des immunoglobulines au même titre que les molécules CD2, CD4, CD8, les antigènes de classe I ou de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), le récepteur du PDGF, le récepteur des IgA polymériques, le récepteur de l'antigène des cellules T (TcR). Ces molécules sont caractérisées par l'organisation de leur région extracellulaire en un ou plusieurs domaines homologues. Les RFcγ de type II (RFcγII) et les RFcγ de type III (RFcγIII) sont très homologues ; ils ont en effet la même spécificité isotypique et sont reconnus par le même anticorps monoclonal [1] chez la souris, tandis que, chez l'homme, un ensemble d'anticorps monoclonaux a permis de les différencier.

### Les RFcγII

Les RFcγII murins sont des molécules membranaires monocaténaires dont on connaît deux isoformes appelées RFcγIIb1 et RFcγIIb2 qui ne diffèrent que par leurs régions intracytoplasmiques. Le RFcγIIb2 est constitué d'un domaine intracytoplasmique de 47 acides aminés alors que le RFcγIIb1 a un domaine intracytoplasmique de 93 acides aminés par insertion de 46 acides aminés supplémentaires au niveau juxta-membranaire [2] (*figure 1*). Chez l'homme, on distingue trois récepteurs de type II dénommés RFcγIIA, RFcγIIB et RFcγIIC. Les RFcγIIB sont les plus proches des RFcγII murins. La conservation de séquence est de l'ordre de 80 % et deux isoformes, B1 et B2, sont engendrées par épissage alternatif du premier exon codant pour le domaine intracytoplasmique comme cela a été décrit chez la souris [3] (*figure 1*). Les RFcγIIA et IIC sont presque identiques puisqu'ils ne diffèrent que par la substitution de quelques acides aminés dans le premier domaine extracellulaire et par la séquence de leurs peptides signals [3]. Leur homologie avec les RFcγIIB est importante dans les régions transmembranaire et extracellulaire mais ils comportent, en revanche, une région intracytoplasmique complètement différente (*figure 1*). Les mêmes 83 acides aminés constituent le domaine intracytoplasmique des RFcγIIA et IIC.

### Les RFcγIII

Chez la souris, les récepteurs de type III ont été définis comme des complexes multimoléculaires où sont associés deux ou trois polypeptides différents en fonction du type cellulaire dans lequel ils s'expriment (*figure 1*). Ces chaînes ont été nommées α, β, γ. La chaîne α est un élément constitutif spécifique du RFcγIII responsable de la liaison des IgG [2]. Elle est composée de deux domaines extracellulaires, un segment transmembranaire et une courte portion intracytoplasmique. Les domaines extracellulaires de la chaîne α et des RFcγII sont homologues à 95 % ; en revanche, les

autres régions des deux récepteurs sont complètement différentes [2]. Les chaînes β et γ rentrent aussi dans la constitution d'autres complexes membranaires comme le RFcεI [4], pour les chaînes β et γ, et le TcR [5], pour la chaîne γ. La chaîne β a été initialement identifiée comme une des chaînes constituant le RFcεI. Son expression étant restreinte au seul mastocyte, elle ne rentre dans la constitution des RFcγIII que pour ce type cellulaire [6].

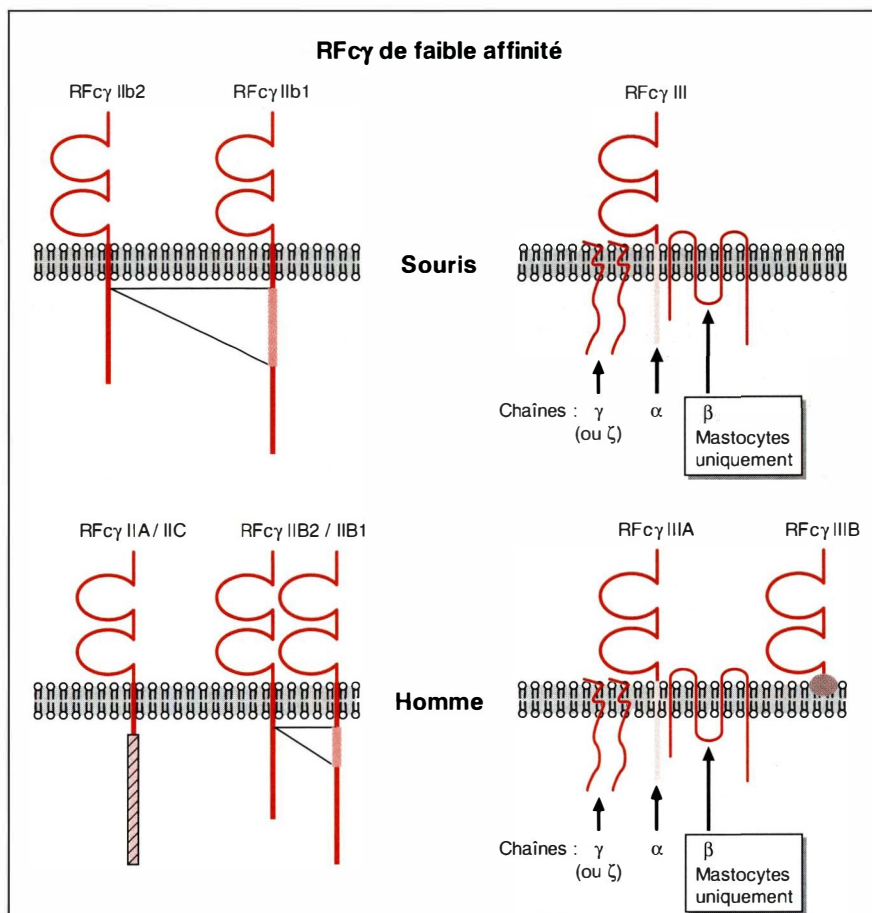
Identifiés dans la nomenclature internationale comme CD16, on distingue chez l'homme deux RFcγ de type III qui diffèrent par leur structure et leur mode d'ancrage membranaire ainsi que par leur distribution tissulaire. Ils ont été dénommés RFcγIIIA et RFcγIIB. Le RFcγIIIA est un complexe transmembranaire qui a la même structure et la même distribution tissulaire que le récepteur de type III murin [7] (*figure 1*). Mais contrairement à ce dernier, il est le siège d'une diversité supplémentaire puisqu'il peut se composer soit d'un homodimère de chaînes γ ou de chaînes ζ du TcR, soit d'un hétérodimère γζ [8]. Par ailleurs, la chaîne β du RFcεI peut aussi s'associer au RFcγIIIA engendrant ainsi un autre niveau de diversité [6] (*figure 1*). Le RFcγIIB n'est présent que chez l'homme et est ancré à la membrane des neutrophiles par un phosphatidylinositol après clivage des domaines transmembranaire et intracytoplasmique [9]. Les chaînes α des RFcγIIB et IIIA sont homologues à 98 % : elles ne comportent que quelques différences ponctuelles [7]. Pour un RFcγIII α, γ2 chez la souris, il existe donc quatre formes de récepteur possibles chez l'homme (RFcγIIIA α, γ2, RFcγIIIA α, ζ2, RFcγIIIA α, γζ, et RFcγIIB) auxquelles viennent s'ajouter les possibilités d'association à la chaîne β à la surface des mastocytes.

### Rôles biologiques des RFcγ II et III

A la surface des cellules du système immunitaire, les RFcγII et III ont une distribution tissulaire différente [10]. Les macrophages, les mastocytes, les neutrophiles et certains

## RÉFÉRENCES

- Weinshank RL, Luster AD, Ravetch JV. Function and regulation of a murine macrophage-specific IgG Fc receptor, FcγR-α. *J Exp Med* 1988; 167: 1909-21.
- Ravetch JV, Luster AD, Weinshank R, Pavlovic A, Portnoy DA, Hulmes J, Pan YCE, Unkeless JC. Structural heterogeneity and functional domains of murine immunoglobulin G Fc receptors. *Science* 1986; 234: 718-23.
- Brooks DG, Qiu WQ, Luster AD, Ravetch JV. Structure and expression of human IgG FcRII (CD32). Functional heterogeneity is encoded by the alternatively spliced products of multiple genes. *J Exp Med* 1989; 170: 1369-82.
- Ra C, Jouvin ME, Kinet J. Complete structure of the mouse mast cell receptor for IgE (FcεRI) and surface expression of chimeric receptors (rat-mouse-human) on transfected cells. *J Biol Chem* 1989; 264: 15323-30.
- Koyasu S, D'Adamio L, Arulanandam ARN, Abraham S, Clayton LK, Reinherz EL. T cell receptor complexes containing FcεRIγ. Homodimers in lieu of CD3 ζ and CD3 η. Components: a novel isoform expressed on large granular lymphocytes. *J Exp Med* 1992; 175: 203-17.
- Kurosaki T, Gander I, Wirthmueller U, Ravetch JV. The β subunit of the FcεRI is associated with the FcγRIII on mast cells. *J Exp Med* 1992; 175: 447-61.
- Ravetch JV, Perussia B. Alternative membrane forms of FcγRIII (CD16) on human NK cells and neutrophils: cell-type specific expression of two genes which differ in single nucleotide substitutions. *J Exp Med* 1989; 170: 481-95.
- Orloff DG, Ra C, Frank SJ, Klausner RD, Kinet JP. Family of disulphide-linked dimers containing the ζ and η chains of the T-cell receptor and the γ chain of the Fc receptors. *Nature* 1990; 347: 189-91.
- Simmons D, Seed B. The Fcγ receptor of natural killer cells is a phospholipid-linked membrane protein. *Nature* 1988; 333: 568-70.
- Daéron M, Sautès C, Bonnerot C, Blank U, Varin N, Even J, Hogarth PM, Fridman WH. Murine type II Fcγ receptors and IgG-binding factors. *Chem Immunol* 1989; 47: 21-50.
- Anderson CL. Structural and functional polymorphism of human Fc receptors for IgG. *Chem Immunol* 1989; 47: 1-27.



**Figure 1. Les récepteurs humains et murins pour la portion Fc des IgG.** Les récepteurs sont représentés de manière schématique afin de montrer la forte homologie des régions extracellulaires par opposition à la diversité des régions transmembranaires et intracytoplasmiques. Les récepteurs RFcγII sont monocaténaires et présentent des homologies très importantes; RFcγIIb1 et RFcγIIb2 ne diffèrent que par une insertion dans le domaine cytoplasmique. Les récepteurs RFcγIII sont des complexes multimoléculaires associant 2 ou 3 polypeptides selon les cellules dans lesquelles ils s'expriment, ce qui leur confère une grande diversité fonctionnelle [31].

lymphocytes pré-B coexpriment les RFcγII et III. En revanche, les lymphocytes T et B n'expriment que les RFcγII b1, tandis que les cellules NK n'expriment que les RFcγII. Les complexes immuns ou les immunoglobulines agrégées sur des particules ou des cellules sont les ligands naturels des RFcγII et III. L'interaction des RFcγ avec leurs ligands déclenche des phénomènes biologiques de deux ordres. Tout d'abord, la liaison des complexes immuns aux RFcγ peut provoquer l'activation de la cellule dont les conséquences biologiques sont varia-

bles en fonction du type cellulaire. Ces mêmes complexes immuns peuvent être internalisés *via* les RFcγ puis dégradés.

## RFcγ et activation cellulaire

Les conséquences de l'interaction des complexes immuns ou d'autres particules recouvertes d'IgG, *via* les RFcγ, avec les cellules du système immunitaire sont variées et dépendent principalement du type cellulaire. Ainsi, à la surface des macrophages, des neutrophiles et des cel-



## Les RFc $\gamma$ III déclenchent l'activation cellulaire

Les mastocytes et les cellules NK sont deux types cellulaires particulièrement intéressants pour essayer de comprendre lequel des RFc $\gamma$ II et RFc $\gamma$ III est impliqué dans le déclenchement des phénomènes d'activation cellulaire.

Tout d'abord les cellules NK, chez l'homme comme chez la souris, n'expriment que le RFc $\gamma$ III. Dans les deux espèces, ces récepteurs déclenchent une rapide mobilisation des stocks calciques, la production d'inositol 1,4,5 triphosphate (IP3) et l'activation d'une protéine kinase C [15], ainsi que l'induction de la transcription des gènes du récepteur de l'interleukine 2 et d'autres lymphokines comme l'interféron  $\gamma$  et le TNF  $\alpha$  [16]. La libération de médiateurs *via* le RFc $\epsilon$ I et les RFc $\gamma$  des mastocytes fournit des indications sur les bases moléculaires de la signalisation intracellulaire *via* les RFc $\gamma$ . En effet, le RFc $\epsilon$ I et le RFc $\gamma$ III ne diffèrent, à la surface des mastocytes, que par la chaîne qui fixe le ligand, la chaîne  $\alpha$  [6, 17]. Ils partagent tous les deux les mêmes chaînes associées : la chaîne  $\beta$  et la chaîne  $\gamma$ , suggérant en conséquence que les voies intracytoplasmiques de transmission d'un signal sont similaires.

Une réponse définitive à la question du rôle respectif des récepteurs de type II et III dans les voies d'activation cellulaire a été apportée grâce à l'utilisation des techniques de biologie moléculaire et cellulaire. Ces différents récepteurs ont été exprimés par transfection à la surface de cellules immunocompétentes comme le lymphome B IIA1.6 [18] et la lignée mastocytaire RBL [19, 20]. Dans les deux modèles expérimentaux, les conclusions ont été les mêmes : seuls les RFc $\gamma$ III sont capables de déclencher des phénomènes d'activation cellulaire dont les conséquences sont variables en fonction du type cellulaire : sécrétion de lymphokines par les lymphocytes [18], libération de sérotonine ou de TNF par les mastocytes [19, 20]. Une analyse moléculaire, utilisant des récepteurs mutants ou chimériques, a établi que la région intracy-

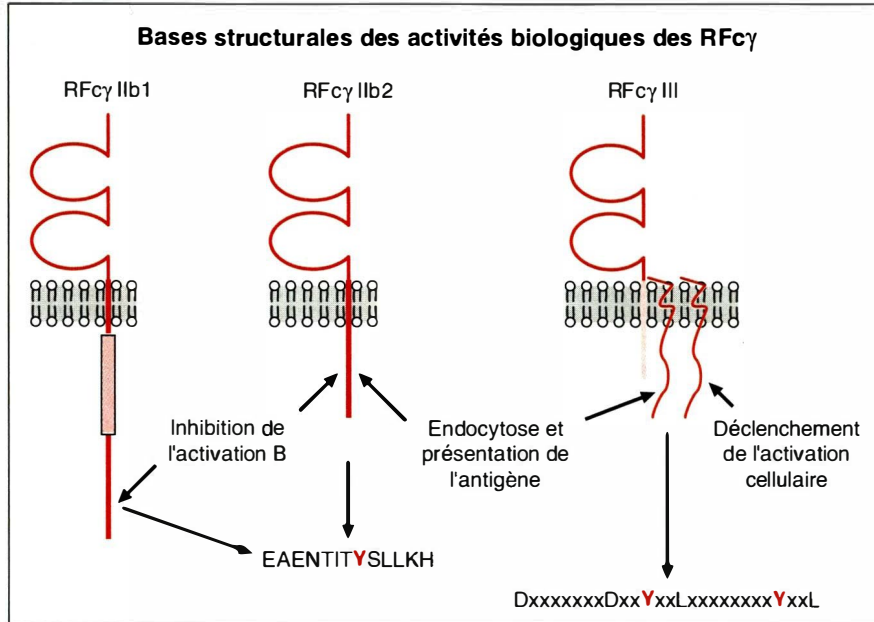


Figure 2. **Bases structurales des activités biologiques des RFc $\gamma$  murins.** Pour chacune des trois formes de récepteurs, sont indiquées les régions responsables des différentes activités biologiques. Les RFc $\gamma$ IIb1 et les immunoglobulines membranaires sont pontés par les complexes immuns sur les lymphocytes B et bloquent leur activation. Une séquence peptidique du domaine cytoplasmique des RFc $\gamma$ II relaie ce processus. Les RFc $\gamma$ IIb2 et RFc $\gamma$ III internalisent des complexes immuns et facilitent la présentation de l'antigène qu'ils contiennent. Ces deux récepteurs sont impliqués aussi dans des phénomènes d'activation cellulaire. Les deux tyrosines présentes dans le domaine cytoplasmique de la chaîne  $\gamma$  de RFc $\gamma$ III déterminent à la fois l'endocytose et l'activation cellulaire. Les séquences peptidiques sont représentées dans le code international à une lettre : A = Ala ; D = Asp ; E = Glu ; H = His ; I = Ile ; K = Lys ; L = Leu ; N = Asn ; S = Ser ; T = Thr ; Y = Tyr ; X = n'importe quel acide aminé.

lules NK, les RFc $\gamma$  interviennent dans des phénomènes de cytotoxicité dépendante d'anticorps (*antibody dependent cellular cytotoxicity*, ADCC) [11]. A la surface des mastocytes, les RFc $\gamma$ , comme les RFc $\epsilon$ I, sont capables de déclencher la dégranulation de ces cellules et donc aussi la libération de médiateurs de l'inflammation pouvant intervenir dans les phénomènes d'allergie [12]. Enfin, à la surface des lymphocytes B, le pontage des immunoglobulines membranaires avec les RFc $\gamma$  bloque l'activation cellulaire et module ainsi la synthèse

d'immunoglobulines par ces cellules [13, 14]. A travers ces quelques exemples, deux situations s'opposent : soit l'agrégation des RFc $\gamma$  seuls déclenche l'activation de la cellule, provoquant des phénomènes de cytotoxicité ou la libération de médiateurs, soit le pontage des RFc $\gamma$  avec les immunoglobulines membranaires bloque l'activation des lymphocytes B.

La mise en place de modèles expérimentaux a permis de comprendre comment des RFc $\gamma$  différents sont à l'origine de ces phénomènes biologiques apparemment opposés.

## RÉFÉRENCES

12. Daéron M, Prouvost-Danon A, Voisin GA. Mast cell membrane antigens and Fc receptors in anaphylaxis. II. Functionally distinct receptors of IgG and IgE on mouse mast cells. *Cell Immunol* 1980; 49: 178-86.
13. Abbas AK, Unanue ER. Interrelationships of surface immunoglobulin and Fc receptors on mouse B lymphocytes. *J Immunol* 1975; 115: 1665-71.
14. Phillips NE, Parker DC. Cross-linking of B lymphocyte Fcγ receptors and membrane immunoglobulin inhibits anti-immunoglobulin-induced blastogenesis. *J Immunol* 1984; 132: 627-35.
15. Carsatella MA, Anegeon I, Cuturi M, Griskey P, Trinchieri G, Perussia B. FcγR (CD16) interaction with ligand induces Ca<sup>2+</sup> mobilization and phosphoinositide turnover in human natural killer cells. Role of Ca<sup>2+</sup> in FcγR (CD16)-induced transcription and expression of lymphokine genes. *J Exp Med* 1989; 169: 549-61.
16. Anegeon I, Cuturi MC, Trinchieri G, Perussia B. Interaction of Fc receptor (CD16) ligands induces transcription of interleukin 2 receptor (CD25) and lymphokine genes and expression of their products in human natural killer cells. *J Exp Med* 1988; 167: 452-65.
17. Kinet JP. Antibody-cell interactions: Fc receptors. *Cell* 1989; 57: 351-4.
18. Bonnerot C, Amigorena S, Choquet D, Choukroun V, Pavlovitch R, Fridman WH. Role of associated γ-chain in tyrosine kinase activation θα murine FcγRIII. *EMBO J* 1992; 11: 2747-57.
19. Daéron M, Bonnerot C, Latour S, Fridman WH. Murine recombinant FcγRIII, but not FcγRII, trigger serotonin release in rat basophilic leukemia cells. *J Immunol* 1992; 149: 1365-72.
20. Latour S, Bonnerot C, Fridman WH, Daéron M. Induction of tumor necrosis factor-α production by mast cells θα FcγR. Role of the FcγRIII γ subunit. *J Immunol* 1992; 149: 2155-62.
21. Amigorena S, Bonnerot C, Choquet D, Fridman WH, Teillaud JL. FcγRII expression in resting and activated B lymphocytes. *Eur J Immunol* 1989; 19: 1379-85.

toplasmique de la chaîne γ du RFcγIII, qui permet son couplage à des tyrosine kinases, était nécessaire et suffisante à cette activité. Le signal moléculaire de reconnaissance a pu être circonscrit par mutagenèse autour de deux résidus tyrosine (figure 2). Au cours d'autres études, le RFcγIIA humain s'est avéré être également un récepteur capable de déclencher l'activation cellulaire.

### **Les RFcγ II bloquent l'activation des lymphocytes B via les immunoglobulines**

Le cas des lymphocytes B est particulièrement intéressant puisque, d'une part, ces cellules n'expriment que des RFcγIb1 [21] et, d'autre part, leurs fonctions à la surface de ces cellules sont spécifiques de ce type cellulaire. Ainsi, la liaison d'un antigène aux immunoglobulines membranaires d'un lymphocyte B déclenche l'activation puis la différenciation de ces cellules, aboutissant à l'apparition de plasmocytes qui sécrètent des immunoglobulines spécifiques de cet antigène. En revanche, si ce même antigène est complexé avec des anticorps, les immunoglobulines de membrane et le RFcγIb1 sont pontés par les complexes immuns, bloquant du même coup l'activation du lymphocyte B [13]. Cette fonction du RFcγIb1 est très importante puisqu'elle permet de contrôler la réponse du système immunitaire contre un antigène donné. Quand les complexes immuns sont en excès par rapport aux antigènes libres, ils peuvent ainsi exercer une régulation négative sur la synthèse des anticorps. *In vitro*, cette interaction bloque certains phénomènes biologiques déclenchés par les immunoglobulines membranaires comme la mobilisation des stocks calciques, la production d'IP3 [22], l'activation de protéine kinases ou encore la sécrétion de lymphokines [23].

L'implication des seuls RFcγII dans l'inhibition de l'activation des lymphocytes B a été, là encore, clairement démontrée en utilisant la même approche associant les techniques de biologie moléculaire et cellulaire. Une séquence peptidique

de quelques acides aminés, localisée dans la région intracytoplasmique des RFcγII, s'est avérée déterminante dans ces processus d'inhibition [24] (figure 2). Ces résultats posent d'une manière générale la question du rôle des RFcγII dans les mécanismes de contrôle des voies d'activation cellulaire. Existe-t-il d'autres molécules membranaires dont les mécanismes de signalisation peuvent être bloqués par le pontage aux RFcγII? Et quel est le rôle du RFcγII dans d'autres types de réponses immunitaires, passant par exemple par le récepteur de l'antigène des lymphocytes T ou encore par le récepteur de forte affinité pour les IgE des mastocytes?

### **RFcγ et endocytose**

L'interaction des RFcγ avec leurs ligands provoque l'internalisation du complexe puis sa dégradation. Les cellules impliquées dans ces phénomènes d'internalisation *via* les RFcγ sont principalement les macrophages qui coexpriment les RFcγII et RFcγIII. Ils déterminent, à la surface de ces cellules, la phagocytose de particules recouvertes d'immunoglobulines ou l'endocytose de particules plus petites, comme des complexes immuns. Ces récepteurs participent donc à la clairance des complexes immuns et à l'internalisation d'un antigène présent dans ces complexes.

La clairance des complexes immuns a surtout été étudiée chez l'homme puisque son dysfonctionnement est associé à certaines maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux disséminé, le syndrome de Gougerot-Sjögren et la dermatite herpétiforme [25]. Dans le cas du lupus érythémateux disséminé, les taux élevés de complexes immuns circulants ont pu être rattachés à une diminution de la phagocytose de ces complexes *via* les RFcγ des macrophages [26]. Dans l'hémoglobulinurie paroxystique nocturne, un déficit en RFcγ à la surface des neutrophiles est corrélé à la sévérité de la maladie et à une susceptibilité accrue à certaines infections bactériennes [27].

La présentation de l'antigène est une autre conséquence biologique



de l'internalisation de complexes immuns. En effet, quand un antigène est internalisé, celui-ci est rapidement dégradé puis les peptides dérivés s'associent aux molécules de classe II du CMH. Les complexes classe II-peptide sont acheminés à la surface de la cellule où ils sont présentés aux cellules T auxiliaires qui les reconnaissent par leur récepteur de l'antigène, le TcR. Les RFc $\gamma$  des macrophages, en facilitant l'internalisation d'un antigène quand il est complexé aux IgG, augmentent l'efficacité de ce phénomène de présentation antigénique aux lymphocytes T [28]. Les conséquences biologiques ou immunologiques de l'internalisation des ligands des RFc $\gamma$  sont donc multiples, mais les mécanismes déterminant l'endocytose de ces récepteurs restent à élucider.

### **Endocytose des complexes immuns via les RFc $\gamma$**

Les cellules ayant une forte capacité phagocytaire comme les macrophages coexpriment les RFc $\gamma$ II et RFc $\gamma$ III [2], ce qui rend impossible leur utilisation pour une étude structurale des différents RFc $\gamma$  impliqués dans l'endocytose de complexes immuns. Il y a quelques années, les seules lignées RFc $\gamma$ II(-) facilement transfectables étaient d'origine fibroblastique. En exprimant les deux isoformes de RFc $\gamma$ II à la surface des cellules L ou des cellules CHO, il a été montré que seul le RFc $\gamma$ IIb2 entraîne l'endocytose des complexes immuns par l'intermédiaire des vésicules recouvertes de clathrine. Au contraire, l'agrégation des RFc $\gamma$ IIb1 par les complexes immuns déclenche la liaison du récepteur au cytosquelette de la cellule, empêchant ainsi son internalisation.

Une analyse systématique du rôle des différentes formes de RFc $\gamma$ , dans les phénomènes d'internalisation et dans la présentation d'un antigène complexé à des anticorps, a pu être réalisée grâce à l'amélioration des techniques de transfection qui a permis d'exprimer ces récepteurs à la surface de cellules immunocompétentes comme les cellules de lymphome B IIA1.6. Nous avons ainsi montré que le RFc $\gamma$ IIb2 et le RFc $\gamma$ III internalisent des complexes

immuns et facilitent la présentation de l'antigène qu'ils contiennent [24, 29]. Si cette propriété commune les rapproche, certaines différences suggèrent que les mécanismes permettant l'endocytose des deux récepteurs sont différents. L'internalisation du RFc $\gamma$ IIb2 requiert un signal localisé dans sa région intracytoplasmique [24] tandis que l'internalisation du RFc $\gamma$ III est indépendante de la région intracytoplasmique de la chaîne qui fixe le ligand [29]. En revanche, l'endocytose du RFc $\gamma$ III requiert la coexpression de la chaîne  $\gamma$  dont le signal d'internalisation est localisé dans sa région intracytoplasmique (figure 2). Les signaux d'internalisation des deux récepteurs sont différents. Le signal présent dans la région intracytoplasmique du RFc $\gamma$ IIb2 ne nécessite qu'une seule tyrosine, alors que celui présent dans la chaîne  $\gamma$  requiert, pour être actif, l'intégrité de deux tyrosines distantes de dix acides aminés.

Globalement, ces deux récepteurs sont impliqués non seulement dans l'endocytose de complexes immuns mais aussi dans des phénomènes d'activation cellulaire. Le RFc $\gamma$ IIb2, ponté aux IgG de membrane, bloque l'activation des cellules *via* ces molécules. A l'opposé, l'agrégation du RFc $\gamma$ III, mais non celle du RFc $\gamma$ IIb2, peut déclencher l'activation de tyrosine kinases. La même séquence peptidique du RFc $\gamma$ IIb2 comporte le signal qui détermine l'internalisation et l'inhibition de l'activation *via* ce récepteur, mais le résidu tyrosine est impliqué uniquement dans les phénomènes d'endocytose. En revanche, les deux tyrosines présentes dans le domaine intracytoplasmique de la chaîne  $\gamma$  déterminent non seulement l'endocytose [29] mais aussi le déclenchement de l'activation cellulaire *via* le RFc $\gamma$ III [18]. Ainsi, un même signal semble responsable de deux activités distinctes du RFc $\gamma$ III dont l'une, au moins, implique l'activation d'une tyrosine kinase. Un signal similaire a été décrit dans la région intracytoplasmique des différentes chaînes du complexe CD3 du TcR [30] mais on ne sait pas encore s'il est responsable de l'internalisation de ce récepteur.

Les deux activités du RFc $\gamma$ III sont-elles reliées ou, au contraire, indépendantes mais déterminées par la même région du domaine intracytoplasmique de la chaîne  $\gamma$ ? Quelle est la participation de l'activation de tyrosine kinases dans le déclenchement de l'endocytose du RFc $\gamma$ III ou le routage du récepteur à l'intérieur de la cellule? Toutes ces questions sont encore sans réponse et mettent en évidence la nécessité de caractériser les différentes étapes de l'internalisation d'un antigène *via* les RFc $\gamma$ .

### **Rôle de la présentation de l'antigène via les RFc $\gamma$**

Quels que soient les mécanismes d'internalisation des RFc $\gamma$ IIb2 et RFc $\gamma$ III, nous avons montré que, globalement, les conséquences de l'endocytose de complexes immuns, *via* ces deux récepteurs, sont les mêmes et permettent une facilitation de la présentation de l'antigène [24, 29]. Les RFc $\gamma$  sont exprimés par deux types cellulaires qui présentent un antigène associé aux molécules de classe II du CMH, les lymphocytes B et les macrophages.

Dans les lymphocytes B, la facilitation de la présentation de l'antigène *via* l'internalisation de complexes immuns par des RFc $\gamma$  pourrait être à l'origine de certaines maladies. Grâce à des complexes immuns, n'importe quel antigène peut être internalisé efficacement puis présenté à la surface d'un lymphocyte B d'une autre spécificité antigénique, dans la mesure où il exprime le RFc $\gamma$ IIb2 ou le RFc $\gamma$ III. Ainsi, l'endocytose d'un complexe immun aboutit à l'activation puis à la différenciation de ce lymphocyte B qui va produire des anticorps contre un autre antigène que celui contenu dans le complexe immun. Si celui-ci est un antigène du soi, les anticorps produits seront des auto-anticorps pouvant être à l'origine de maladies auto-immunes. Heureusement, la plupart des lymphocytes B mûrs expriment uniquement le RFc $\gamma$ IIb1 qui est incapable d'endocytose avec son ligand, et ne permet donc pas ce type de phénomène. Mais nous avons observé que, dans certaines conditions, le RFc $\gamma$ III ou le

## RÉFÉRENCES

22. Cambier JC, Ransom JT. Molecular mechanisms of transmembrane signaling in B lymphocytes. *Ann Rev Immunol* 1987; 5: 175-98.
23. Justement LB, Kreiger J, Cambier JC. Production of multiple lymphokines by the A20.1 B cell lymphoma after cross-linking of membrane Ig by immunobilized anti-Ig. *J Immunol* 1989; 43: 881-8.
24. Amigorena S, Bonnerot C, Drake JR, Choquet D, Hunziker W, Guillet JG, Webster P, Sautes C, Mellman I, Fridman WH. Cytoplasmic domain heterogeneity and functions of IgG Fc receptors in B-lymphocytes. *Science* 1992; 256: 1808-12.
25. Lawley TJ, Hall RP, Fauci AS, Katz SI, Hamburger MI, Frank MM. Defective Fc-receptor functions associated with the HLA-B8/DRw3 haplotype: studies in patients with dermatitis herpetiformis and normal subjects. *N Engl J Med* 1981; 300: 185-200.
26. Salmon JE, Kimberley RP, Gibofsky A, Fotino M. Defective mononuclear phagocyte function in systemic lupus erythematosus: dissociation of Fc receptor-ligand binding and internalization. *J Immunol* 1984; 133: 2525-32.
27. Selvaraj P, Rosse F, Silber R, Springer TA. The major Fc receptor in blood has a phosphatidylinositol anchor and is deficient in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nature* 1988; 333: 565-7.
28. Manca F, Fenoglio D, Li Pira G, Kunkl A, Celada F. Effect of antigen/antibody ratio on macrophage uptake, processing, and presentation to T cells of antigen complexed with polyclonal antibodies. *J Exp Med* 1991; 173: 37-51.
29. Amigorena S, Salamero J, Davoust J, Fridman WH, Bonnerot C. Tyrosine-containing motif that transduces cell activation signals also determines internalization and antigen presentation via type III receptors for IgG. *Nature* 1992; 358: 337-41.
30. Letourneur F, Klausner RD. Activation of T cells by a tyrosine kinase activation. Domain in the cytoplasmic tail of CD3ε. *Science* 1992; 255: 79-81.
31. Rochet N, Anderson P, Vivier E. Structure et fonction du complexe CD16: ζ:γ des cellules NK. *médecine/sciences* 1992; 8: 359-65.

RFcγIIb2 peuvent s'exprimer à la surface de cellules de la lignée B. Le RFcγIII est présent sur certains lymphocytes pré-B [4], et l'interleukine 4 induit l'expression du RFcγIIb2 sur une lignée B. Cela suggère qu'une modification des conditions d'activation de certains lymphocytes B pourrait induire l'expression de l'un ou l'autre de ces récepteurs et donner lieu ainsi à des maladies auto-immunes.

Les macrophages coexpriment le RFcγIIb2 et RFcγIII mais dans une proportion relative qui peut dépendre de l'état d'activation des cellules. Des macrophages péritonéaux expriment majoritairement le RFcγIIb2 mais un traitement par l'interféron γ augmente l'expression du RFcγIII et diminue celle du RFcγIIb2. En fonction de l'état d'activation de la cellule, l'internalisation des complexes immuns va donc passer préférentiellement par un récepteur ou par l'autre. Si, globalement, les deux phénomènes aboutissent à la présentation de l'antigène, il est probable qu'au moment de l'agrégation des récepteurs par la fixation des complexes immuns les phénomènes intracellulaires induits sont différents. En effet, quand le RFcγIII est présent, la phase d'activation, secondaire à la présentation de l'antigène, est précédée d'une étape directe d'activation cellulaire liée à l'agrégation des RFcγIII. La sécrétion de lymphokines induite dans ce cas pourrait intervenir dans les interactions entre le lymphocyte T et le macrophage, ou modifier le devenir de la particule ingérée dans la cellule.

En conclusion, les RFcγII et RFcγIII ont une structure différente et s'expriment à la surface de cellules du système immunitaire où des facteurs variés peuvent avoir des effets opposés sur leur expression. Ainsi, ces résultats semblent indiquer que la fixation d'un même ligand sur chacun des trois RFcγ pourrait avoir des conséquences biologiques différentes, dépendant non seulement du récepteur mais aussi du type cellulaire dans lequel il s'exprime. L'étude de la spécificité fonctionnelle des trois formes de RFcγ, ainsi que l'analyse des bases structurales qui déterminent ces différentes acti-

vités, ont permis de mieux préciser leurs fonctions à la surface de cellules du système immunitaire ■

## Summary

### Structural basis of functional heterogeneity of the Fc receptors

The low-affinity receptors for the Fc portion of IgG (FcγR) are expressed on most of the cells of the immune system. They bind immune complexes but not monomeric IgG. These receptors are a family of surface glycoproteins with homologous extracellular domains and different transmembrane and cytoplasmic portion. They mediate the biological activities of antibodies bound at the surface of all the immune cells: FcγRs activate macrophages, neutrophils and NK cells, participating in antibody-dependent cellular cytotoxicity; FcγRs activate mast cells, resulting in the release of inflammation mediators and the induction of cytokines; in B cells, on the contrary, cross-linking of FcγR and IgM blocks cellular activation, inhibiting IgG production. FcγRs are also involved in ligand internalization and the clearing of immune complexes.

## SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE

Séance du 15 décembre 1993

### Amélioration des plantes

Yves Demarly

**L'amélioration des plantes, stratégie, problèmes actuels, espoirs et réalités**

Yvonne Cauderon (Membre de l'Académie d'Agriculture)

**Cytogénétique et amélioration des plantes: quelques exemples**

Emmanuel Picard

**Haploïdisation et amélioration des plantes**

Michel Caboche (INRA, Versailles)

**Le transfert de gènes: utilisation de la transgénèse pour l'analyse du métabolisme du nitrate chez les plantes supérieures**

Vincent Petiard (Francereco-Nestlé)  
**Biotechnologies végétales, exemples d'application.**

La séance aura lieu à 16 h 30, à l'Hôpital Sainte-Anne, Amphithéâtre du Service du Professeur Loo, 7, rue Cabanis, 75014 Paris