

## ***L* Le syndrome d'hyper-IgM de transmission autosomique récessive est dû à un défaut de la protéine AID (activation-induced cytidine deaminase)**

**L**e syndrome d'hyper-IgM (HIGM) est un déficit immunitaire héréditaire caractérisé par un taux normal ou élevé d'IgM associé à une absence d'IgG, d'IgA et d'IgE, avec pour conséquence une susceptibilité particulière aux infections bactériennes. Une première forme de ce syndrome, de transmission liée au chromosome X (HIGM1), a été caractérisée: elle est causée par un défaut du gène codant pour le ligand de CD40 (CD40-L) porté par le chromosome X (*m/s* 1993, n° 4, p. 456). Le ligand de CD40 est exprimé à la surface des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> activés et permet une étroite collaboration entre lymphocytes T et B puisque les lymphocytes B expriment de façon constitutive le récepteur de CD40-L, la molécule CD40. Le rôle de l'interaction CD40/CD40-L dans la maturation terminale des lymphocytes B au sein des organes lymphoïdes secondaires a été clairement démontré par l'étude de souris dont le gène codant pour CD40 ou CD40-L a été inactivé (*m/s* 1996, n° 12, p. 261). De même, chez l'homme, le défaut de commutation isotypique et l'absence de centres germinatifs observés chez les patients atteints du syndrome HIGM1 démontrent le rôle indispensable de la coopération CD40-L/CD40 dans la différenciation terminale des lymphocytes B. Le défaut affecte les lymphocytes T, comme en témoigne la fréquence des infections par germes opportunistes, tandis que les lymphocytes B sont normalement activables *in vitro* par les agonistes de CD40.

Une autre forme du syndrome d'hyper-IgM, de transmission autosomique récessive, a été décrite

(HIGM2) [1-3]. Elle est également responsable d'une susceptibilité accrue aux infections bactériennes – touchant essentiellement l'appareil respiratoire – mais non aux infections par germes opportunistes. Contrairement aux patients affectés par la forme de transmission liée au chromosome X, l'analyse de la séquence et de l'expression membranaire de CD40-L est normale; le défaut affecte ici les lymphocytes B comme le montre leur incapacité à subir une commutation isotypique lorsqu'ils sont stimulés *in vitro* par les agonistes de CD40 associés à des cytokines. En revanche, les monocytes et les cellules dendritiques des patients HIGM2 sont normalement activés par cette voie [4]. De même, on observe chez ces patients une hyperplasie lymphoïde (ganglions cervicaux, mésentériques, amygdales) qui n'existe pas chez les patients atteints du syndrome d'HIGM1. Ces résultats suggèrent donc fortement que le défaut responsable du syndrome d'HIGM2 affecte, non pas les lymphocytes T, mais les lymphocytes B. Nous rapportons ici que des mutations du gène codant pour une enzyme exprimée spécifiquement dans les lymphocytes B, l'*activation-induced cytidine deaminase* (AID), sont responsables de ce syndrome [5]. Un autre article publié dans ce même numéro de *Cell* complète l'histoire par la description du phénotype des souris dont le gène a été invalidé [6].

### **La protéine AID (activation-induced cytidine deaminase)**

L'AID a été initialement décrite chez la souris. Elle est exprimée spécifiquement dans les lymphocytes B des

centres germinatifs des organes lymphoïdes secondaires et dans les lymphocytes B engagés *in vitro* vers une commutation isotypique [7]. Elle permet de transformer une cytidine en uridine sur l'ARN, activité appelée cytidine désaminase, et appartient à la même famille de cytidine désaminase qu'APOBEC-1 (*apolipoprotein B mRNA editing cytidine deaminase*). Cette dernière enzyme possède une activité dite de *RNA-editing*: en effet, en transformant une cytidine en une uridine à une position précise de l'ARN messager codant pour l'apolipoprotéine B, elle introduit un codon stop et ainsi, à partir du même gène, permet la synthèse de deux protéines de taille, de fonction et d'expression différentes. La séquence de AID présente des homologies avec celle d'APOBEC-1, ce qui suggère qu'elle pourrait, elle aussi, avoir une activité de *RNA-editing*. Enfin, le gène codant pour AID a été localisé sur le chromosome 6 chez la souris, puis dans la région p13 du chromosome 12 chez l'homme [8].

### **Les mutations du gène codant pour AID sont responsables du syndrome d'HIGM2**

L'étude de ségrégation génétique, réalisée dans 12 familles atteintes de syndrome d'HIGM2 dont 9 consanguines, a permis de mettre en évidence une très forte liaison génétique entre le locus morbide et la région 12p13, faisant de AID un gène candidat fort pour cette maladie. Effectivement, le séquençage du gène AID a révélé des mutations chez les 18 patients étudiés. Ces mutations se situent dans les exons 2, 3 et 4 du gène

qui en contient 5. Certaines induisent la formation de codons stop ou de délétions entraînant la production de protéines tronquées; d'autres sont situées dans le domaine enzymatique cytidine désaminase et sont probablement responsables de perturbations de l'activité de cette enzyme. Malgré l'impossibilité de valider les conséquences fonctionnelles de ces mutations, leur présence chez les patients atteints de syndrome d'HIGM2 ainsi que l'observation d'un phénotype identique chez la souris dont le gène codant pour AID a été inactivé [6] démontrent que le défaut de AID est responsable du syndrome d'HIGM2. Les résultats obtenus montrent que cette protéine joue un rôle essentiel dans les processus de commutation isotypique et d'hypermutation somatique et, peut-être de façon indirecte, dans la prolifération des lymphocytes B des centres germinatifs.

### Rôle de AID dans la commutation isotypique

La commutation isotypique est un processus de recombinaison des gènes codant pour les immunoglobulines qui permet aux lymphocytes B de produire des Ig diversifiées et non pas exclusivement de type IgM (figure 1); ce processus est aussi communément appelé *switch*. Le fait que le syndrome d'HIGM2 soit caractérisé par une absence de commutation isotypique aussi bien *in vivo* (absence d'IgG et d'IgA sériques) qu'*in vitro*, met en évidence le rôle de AID dans ce processus. Si les mécanismes impliqués dans la commutation isotypique sont encore mal connus, il semble cependant que la production d'un transcrit dit stérile (c'est-à-dire ne codant pour aucune protéine) soit impliqué. Il est fort probable que l'action d'AID se situe en aval de cette étape de transcription puisque nous avons pu observer que les lymphocytes B des patients, stimulés par des agonistes de CD40 et l'IL4, produisent normalement des transcrits stériles Iε-Cε [3] nécessaires au processus de commutation isotypique. Bien que la fonction de AID ne soit pas encore connue, l'hypothèse la plus probable serait qu'elle modifie un ARN codant impliqué dans ce processus de recombinaison.

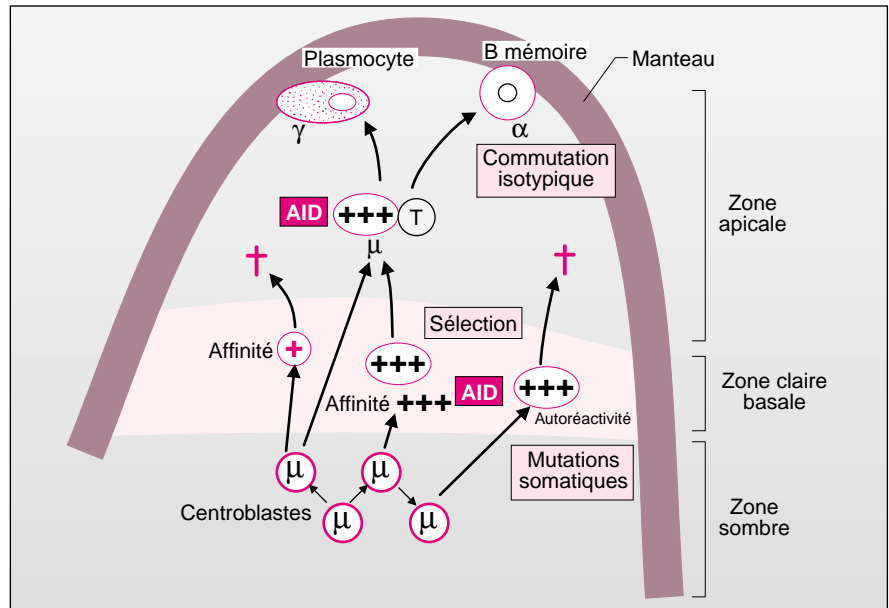


Figure 1. Représentation schématique de la différenciation terminale des lymphocytes B dans un centre germinatif.

### Rôle de AID dans la formation des mutations somatiques

Le processus d'hypermutation somatique de la région des gènes des immunoglobulines codant pour les régions hypervariables (qui sont spécifiques de la reconnaissance de l'antigène) intervient dans les centres germinatifs des organes lymphoïdes secondaires après le contact avec l'antigène (figure 1). Il accroît la diversification des Ig et permet donc la production et la sélection d'anticorps très affins pour l'antigène. Les mécanismes de ce processus restent à l'heure actuelle inconnus. Il semble cependant qu'un « facteur mutateur » puisse en être responsable et agisse pendant la transcription [9]. Chez les patients atteints du syndrome d'HIGM2, on observe une absence ou une très forte diminution de la fréquence des mutations somatiques alors même que le nombre de cellules B CD27<sup>+</sup>, décrit comme un marqueur des cellules « mémoire » [10], est normal. Des résultats identiques sont observés chez les souris dont le gène codant pour AID a été inactivé [6] et mettent donc en évidence le rôle indispensable de cette enzyme dans la formation des mutations somatiques. En outre, il semble que la commutation isotypique et

l'apparition de mutations somatiques soient deux processus indépendants [11], ce qui suggère que AID pourrait exercer une action de *RNA-editing* sur deux ARN distincts.

### Rôle de AID dans le contrôle de la prolifération des lymphocytes B dans les centres germinatifs

Une autre caractéristique très fréquemment observée chez les patients atteints de syndrome d'HIGM2 est l'hyperplasie des organes lymphoïdes (ganglions cervicaux et mésentériques, et amygdales). L'étude histologique a permis de mettre en évidence une prolifération des lymphocytes B porteurs d'IgM et d'IgD membranaires, ainsi que du marqueur CD38 (marqueur des lymphocytes du centre germinatif). Il apparaît donc que ces lymphocytes B en phase de prolifération sont bloqués à un stade précoce de leur différenciation [12]. L'intense prolifération ne semble pas due à un défaut d'apoptose puisque l'expression de la molécule Fas est normale et que les organes lymphoïdes de ces patients contiennent de très nombreux macrophages présentant des inclusions apoptotiques. Il apparaît donc que AID est impliquée dans le contrôle de la prolifération des cellules du centre germinatif.

tif. Ce rôle pourrait en fait être indirect : en effet, l'absence de mutations somatiques est responsable de l'absence d'expression d'un récepteur de haute affinité sur les lymphocytes B qui ne sont donc pas sélectionnés et continuent de proliférer en réponse à l'antigène.

### Conclusions

L'ensemble de ces résultats montre que AID, qui est une protéine de la famille des cytidine désaminases, joue un rôle majeur dans la différenciation terminale des lymphocytes B en participant aux processus de commutation isotypique et d'hypermutations somatiques, et dans la prolifération des lymphocytes B du centre germinatif. L'observation chez un patient d'une dichotomie entre l'absence complète de commutation isotypique et une fréquence diminuée, mais non nulle, de mutations somatiques suggère que cette protéine agit sur des substrats différents. L'étude de patients souffrant d'un syndrome d'hyper-IgM sans anomalie de CD40-L ni d'AID devrait conduire à l'identification d'autres molécules impliquées dans la commutation isotypique et susceptibles de former un complexe multiprotéique avec AID. Enfin, l'identification des substrats de cette enzyme devrait permettre de préciser les mécanismes responsables de la diversification des immunoglobulines ■

### RÉFÉRENCES

1. Conley ME, Larche M, Bonagura VR, *et al.* Hyper IgM syndrome associated with defective CD40-mediated B cell activation. *J Clin Invest* 1994; 94: 1404-9.
2. Callard RE, Smith SH, Herbert J, *et al.* CD40 ligand (CD40L) expression and B cell function in agammaglobulinemia with normal or elevated levels of IgM (HIM). Comparison of X-linked, autosomal recessive, and non-X-linked forms of the disease, and obligate carriers. *J Immunol* 1994; 153: 3295-306.
3. Durandy A, Hivroz C, Mazerolles F, *et al.* Abnormal CD40-mediated activation pathway in B lymphocytes from patients with hyper-IgM syndrome and normal CD40 ligand expression. *J Immunol* 1997; 158: 2576-84.
4. Revy P, Geissmann F, Debré M, Fischer A, Durandy A. Normal CD40-mediated activation of monocytes and dendritic cells from patients with hyper-IgM syndrome due to a CD40 pathway defect in B cells. *Eur J Immunol* 1998; 28: 3648-54.
5. Revy P, Muto T, Lévy Y, *et al.* Activation-induced cytidine deaminase (AID) deficiency causes the autosomal recessive form of the hyper-IgM syndrome (HIGM2). *Cell* 2000; 102: 565-75.
6. Muramatsu M, Kinoshita K, Faragasan F, *et al.* Class switch recombination and somatic hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a member of RNA editing cytidine deaminase family. *Cell* 2000; 102: 553-63.
7. Muramatsu M, Sankaranand VS, Anant S, *et al.* Specific expression of activation-induced cytidine deaminase (AID), a novel member of the RNA-editing deaminase family in germinal center B cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 18470-6.
8. Muto T, Muramatsu M, Taniwaki M, *et al.* Isolation, tissue distribution and chromosomal localization of the human activation-induced cytidine deaminase (hAID) gene. *Genomics* 2000 (sous presse).
9. Peters A, Storb U. Somatic hypermutation of immunoglobulin genes is linked to transcription initiation. *Immunity* 1996; 4: 57-65.
10. Klein U, Rajewsky K, Kuppers R. Human immunoglobulin (Ig)M<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup> peripheral blood B cells expressing the CD27 cell surface antigen carry somatically mutated variable region genes: CD27 as a general marker for somatically mutated (memory) B cells. *J Exp Med* 1998; 188: 1679-89.
11. Jacob J, Kelsoe G. *In situ* studies of the primary immune response to (4-hydroxy-3-nitrophenyl) acetyl II. A common clonal origin for periarteriolar lymphoid sheath-associated foci and germinal centers. *J Exp Med* 1992; 176: 679-87.
12. Lebecque S, de Bouteiller O, Arpin C, *et al.* Germinal center founder cells display propensity for apoptosis before onset of somatic mutation. *J Exp Med* 1997; 185: 563-71.

**Patrick Révy**  
**Anne Durandy**

*Inserm U. 429, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75730 Paris Cedex 15, France.*

**Yves Lévy**

*Inserm U. 474, Maternité Port-Royal, 123, boulevard de Port-Royal, 75014 Paris, France.*

**Frédéric Geissmann**

*Service d'anatomo-pathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75730 Paris Cedex 15, France.*

**Alain Fischer**

*Inserm U. 429 et Unité d'immunologie-hématologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75730 Paris Cedex 15, France.*

**TIRÉS À PART**

A. Durandy.