

## Structure et fonction du complexe CD16 : $\zeta$ : $\gamma$ des cellules NK

Nathalie Rochet  
Paul Anderson  
Éric Vivier

Les cellules *natural killer* sont de grands lymphocytes granuleux impliqués dans les mécanismes de défense contre les cellules tumorales et les cellules infectées par les virus. Outre une cytotoxicité directe indépendante du CMH, elles peuvent aussi induire la lyse de cellules cibles recouvertes d'anticorps (ADCC) grâce au seul récepteur Fc exprimé à leur surface, Fc $\gamma$ RIIIA $\alpha$  ou CD16. CD16 est associé à des dimères formés de deux sous-unités transmembranaires homologues,  $\zeta$  et  $\gamma$ . En fait,  $\zeta$  et  $\gamma$  sont aussi des sous-unités de transduction associées au récepteur de l'antigène des lymphocytes T (CD3:TCR) et au récepteur des IgE (Fc $\epsilon$ RI) des basophiles et des mastocytes. Cela démontre que des récepteurs de surface distincts peuvent utiliser des éléments de transduction communs. Néanmoins, le dimère  $\gamma$ - $\gamma$  est préférentiellement associé à CD16 et à Fc $\epsilon$ RI, suggérant que des combinaisons spécifiques de ces sous-unités de transduction pourraient être à l'origine de voies de signalisation différentes et de l'hétérogénéité fonctionnelle existant au sein de ces différentes cellules.

### ADRESSE

N. Rochet : docteur en médecine, docteur ès sciences. P. Anderson : docteur en médecine, docteur ès sciences. E. Vivier : docteur vétérinaire, docteur ès sciences. Division of tumor immunology, Dana Farber Cancer Institute and department of rheumatology and immunology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA.

**L**es cellules *natural killer* (NK) représentent 5 à 15 % des lymphocytes du sang périphérique humain et sont principalement impliquées dans la surveillance immunitaire antitumorale et antivirale.

### Les cellules NK sont de grands lymphocytes granuleux cytotoxiques

Les cellules NK exercent, en effet, une activité cytotoxique contre de nombreux types de cellules tumora-

les et de cellules infectées par certains virus [1, 2]. Leur effet antitumoral est potentialisé par l'interleukine 2 (IL-2), et l'injection de cellules NK cultivées en présence d'IL-2 (*lymphokine activated killer cells* : cellules LAK) à des patients atteints de carcinome rénal ou de mélanome a permis d'induire des régressions tumorales [3, 4]. Leur rôle dans la défense antivirale a été étayé par l'apparition d'infections virales opportunistes chez des patients présentant un déficit sélectif en cellules NK [5].

Les cellules NK exercent deux types

## RÉFÉRENCES

- Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol* 1989 ; 47 : 187-376.
- Ritz J. The role of natural killer cells in immune surveillance. *N Engl J Med* 1989 ; 320 : 1748-9.
- Rosenberg SA, Lotze MT, Mule JJ. New approaches to the immunotherapy of cancer using interleukin-2. *Ann Intern Med* 1988 ; 108 : 853-64.
- Robertson MJ, Ritz J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells. *Blood* 1990 ; 76 : 2421-38.
- Biron CA, Byron KS, Sullivan JL. Severe herpes virus infections in an adolescent without natural killer cells. *N Engl J Med* 1989 ; 320 : 1731-5.
- Hercend T, Schmidt RE. Characteristics and uses of natural killer cells. *Immunol Today* 1988 ; 9 : 291-3.
- Robertson MJ, Caligiuri MA, Manley TJ, Levine H, Ritz J. Human natural killer cell adhesion molecules: differential expression after activation and participation in cytolysis. *J Immunol* 1990 ; 145 : 3194-201.
- Ravetch JV, Kinet JP. Fc receptors. *Annu Rev Immunol* 1991 ; 9 : 457-92.
- Lynch RG, Sandor M, Waldschmidt TJ, et al. Lymphocyte Fc receptors: expression, regulation and function. *Mol Immunol* 1990 ; 27 : 1167-79.
- Fanger MW, Shen L, Graziano RF, Guyre PM. Cytotoxicity mediated by human Fc receptors for IgG. *Immunol Today* 1989 ; 10 : 92-7.
- Ravetch JV, Perussia B. Alternative membrane forms of FcγRIII (CD16) on human natural killer cells and neutrophils: cell type-specific expression of two genes that differ in single nucleotide substitutions. *J Exp Med* 1989 ; 170 : 481-97.
- Perussia B, Ravetch JV. FcγRIII (CD16) on human macrophages is a functional product of the FcγRIII-2 gene. *Eur J Immunol* 1991 ; 21 : 425-9.
- Lanier LL, Cwirla S, Yu G, Testi R, Philips JH. Membrane anchoring of a human IgG Fc receptor (CD16) determined by a single amino-acid. *Science* 1989 ; 246 : 1611-3.
- Kurosaki T, Ravetch JV. A single amino-acid in the glycosyl phosphatidylinositol attachment domain determines the membrane topology of RcγRIII. *Nature* 1989 ; 342 : 805-8.
- Hibbs M, Selvaraj P, Carpén O, et al. Mechanisms for regulating expression of membrane isoforms of FcγRIII (CD16). *Science* 1989 ; 246 : 1608-11.

d'activité cytotoxique complémentaires [1]. Premièrement, la cytotoxicité naturelle ou directe, non restreinte par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), qui permet l'élimination rapide des éléments pathogènes avant l'établissement de l'immunité spécifique liée aux lymphocytes B et T. Deuxièmement, la cytotoxicité dépendante des anticorps (*antibody-dependent cell cytotoxicity*: ADCC) qui leur permet de reconnaître et de tuer des cellules cibles recouvertes d'anticorps, après induction de la réponse spécifique de l'antigène [1].

Alors que l'analyse des mécanismes cellulaires à l'origine de la cytolyse a beaucoup évolué (libération de protéases et de perforine, induction de l'apoptose des cellules cibles), les interactions moléculaires responsables

de la reconnaissance des cellules cibles et de la transduction du signal cytotolytique à l'intérieur des cellules NK sont encore très mal connues [1]. Notre but est de présenter une synthèse des résultats récents contribuant à l'élucidation des bases moléculaires de la transduction des signaux d'activation dans les cellules NK.

## Phénotype

Les cellules NK sont de grands lymphocytes granuleux qui n'expriment aucune des chaînes du récepteur T de l'antigène (TCR $\alpha$ - $\beta$ : CD3 $\gamma\delta\epsilon$ ) mais expriment, en revanche, les marqueurs de surface CD16 et CD56 (NKH-1) (Tableau I) [6]. Elles expriment aussi des molécules d'adhérence contribuant à la formation de conjugués entre elles et leurs

Tableau I  
COMPARAISON DES CELLULES NK ET DES LYMPHOCYTES T

	Cellules NK	Lymphocytes T
<b>Phénotype</b> <sup>(1)</sup>	CD3:TCR <sup>-</sup> (pas de réarrangements) CD2 <sup>+</sup> (70-80 %) CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup> (15-20 %) CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> <sup>(3)</sup>	CD3:TCR <sup>+</sup> (réarrangements du TCR) CD2 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (55-60 %) CD8 <sup>+</sup> (35-45 %) CD16 <sup>-</sup> <sup>(2)</sup> CD56 <sup>-</sup> <sup>(2)</sup>
<b>Morphologie</b>	Grands lymphocytes granuleux Rapport C/N élevé <sup>(4)</sup> Présence de tubules parallèles	Petits lymphocytes non granuleux Rapport C/N bas
<b>Fonction</b>	Cytotoxicité non restreinte au CMH  ADCC Réponse proliférative faible	Reconnaissance de l'antigène dans le contexte du CMH ( <i>helper/cytotoxiques</i> )  Réponse proliférative forte

(1) Pourcentages d'expression des antigènes obtenus par immunofluorescence et cytométrie en flux: nuls (-), ou > 90 % (+), ou indiqués.

(2) A l'exception de la sous-population des lymphocytes T cytotoxiques non restreints au CMH, de phénotype CD2<sup>+</sup>, CD3:TCR<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, et qui expriment CD16 chez certains individus.

(3) CD56, aussi appelée NKH1, est une molécule d'adhérence (N-CAM: neural cell adhesion molecule) présente aussi sur les cellules du système nerveux central et sur les cellules musculaires.

(4) Rapport cytoplasme/noyau.

Tableau II  
RÉCEPTEURS Fc $\gamma$  ET Fc $\epsilon$  HUMAINS

	Fc $\gamma$ RI CD64	Fc $\gamma$ RII CD32	Fc $\gamma$ RIII CD16	Fc $\epsilon$ RI
<b>Distribution cellulaire</b>	Monocytes Macrophages Neutrophiles activés	Monocytes Macrophages Neutrophiles (IIA) Lymphocytes B (IIB)	Monocytes Macrophages (IIIA) Cellules NK Neutrophiles (IIIB)	Mastocytes Basophiles
<b>Spécificité</b> (Ig humaines)	IgG1 = 3 > 4 >> 2	IgG1 = 3 >> 2,4	IgG1,3 >> 2,4	IgGE
<b>Affinité</b> (K <sub>a</sub> , M <sup>-1</sup> )	10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup>	< 10 <sup>7</sup>	< 10 <sup>7</sup>	10 <sup>10</sup>
<b>Localisation</b> <b>chromosomique</b>	1q23	1q23	1q23	1q23
<b>Poids moléculaire</b> <b>apparent (kDa)</b>	72	40	50-70 ( $\alpha$ ) 16 7-12 ( $\beta$ ) 7-12 ( $\gamma$ )	45-65 ( $\alpha$ ) 32 ( $\beta$ ) 7-12 ( $\gamma$ )
<b>Forme moléculaire</b>	une chaîne TM	une chaîne TM	IIIA : chaîne TM IIIB : ancrage PIG	
<b>Chaînes associées</b>	—	—	$\alpha$ : $\gamma$ - $\gamma$ : $\gamma$ - $\zeta$ : $\zeta$ - $\zeta$	$\alpha$ : $\beta$ : $\gamma$ - $\gamma$

TM : transmembranaire, PIG : phosphatidyl-inositol glycane.

cibles : CD18/CD11a (LFA-1), CD54 (ICAM-1), CD2 et CD58 (LFA3) [7]. Cependant, aucune de ces molécules ne semble jouer le rôle de récepteur responsable de la cytotoxicité naturelle. Dans l'ADCC, au contraire, les cellules cibles recouvertes d'anticorps sont reconnues par le seul récepteur du fragment Fc (FcR) des IgG présent à la surface des cellules NK : CD16 [8].

### La famille des FcR et la molécule CD16

Les récepteurs du fragment Fc des immunoglobulines (Fc) forment une famille de récepteurs présents à la surface de nombreuses cellules hématopoïétiques (Tableau II). Ils sont impliqués dans une multitude de fonctions cellulaires dont la phagocytose, l'activation et la différenciation des cellules B, les adhérences intercellulaires et l'ADCC [8-10]. Ces FcR sont caractérisés par la classe d'immunoglobulines (Ig) qui se lie spécifiquement à eux. Les Fc $\gamma$ R (récepteur des IgG) et Fc $\epsilon$ RI (récepteur des IgE) ont été particulièrement étudiés : ils présentent des différences d'expression cellulaire et d'affinité pour les fragments Fc des Ig, mais aussi beaucoup de similitudes (Tableau II). Ils sont tous codés par

des gènes appartenant à la super-famille des gènes des Ig et présents sur le chromosome 1 chez l'homme [8]. Au sein des Fc $\gamma$ R humains, il existe trois sous-groupes : Fc $\gamma$ RI (CD64), Fc $\gamma$ RII (CD32) et Fc $\gamma$ RIII (CD16). Fc $\gamma$ RI est le récepteur de haute affinité (K<sub>a</sub> = 10<sup>8</sup> à 10<sup>9</sup> M<sup>-1</sup>) pour les IgG, présent sur les macrophages et les polynucléaires neutrophiles activés. C'est le seul Fc $\gamma$ R auquel se lie les IgG monomériques. Fc $\gamma$ RII est exprimé beaucoup plus largement, puisqu'il est présent sur toutes les cellules Fc $\gamma$ R<sup>+</sup> à l'exception des cellules NK. Son affinité pour les IgG monomériques est faible, mais il se lie aux complexes immuns. Enfin, le récepteur Fc $\gamma$ RIII ou CD16 est exprimé par les cellules NK, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. C'est aussi un récepteur de basse affinité (K<sub>a</sub> < 10<sup>7</sup> M<sup>-1</sup>) qui se lie aux IgG surtout sous forme de complexes immuns à antigènes solubles ou insolubles (cellules recouvertes d'anticorps). Il possède deux isoformes codées par deux gènes distincts mais très homologues. Fc $\gamma$ RIIIB, exprimé par les polynucléaires neutrophiles, est lié à la membrane plasmique par un pont phosphatidyl-inositol-glycane (PIG), tandis que Fc $\gamma$ RIIIA $\alpha$ , exprimé sur les NK et les macropha-

ges, est transmembranaire (Tableau II) [11, 12]. La molécule CD16 est une protéine transmembranaire fortement glycosylée de 50-70 kDa, présentant un large segment extracellulaire de 191 acides aminés, un segment transmembranaire de 21 acides aminés et, pour Fc $\gamma$ RIIIA $\alpha$ , un très court segment intracytoplasmique de 25 acides aminés. On sait maintenant que la nature du résidu 203 suffit à déterminer le type d'ancrage de la molécule dans la membrane : Phe<sup>203</sup> pour la forme transmembranaire, et Ser<sup>203</sup> pour l'attachement PIG [13-15].

### CD16 est le récepteur NK pour l'ADCC

Les cellules NK n'expriment qu'un seul type de récepteur Fc, CD16, et l'ensemble des résultats actuels indique qu'il est le récepteur de surface utilisé dans l'ADCC. L'ADCC est en effet inhibée lorsque l'on induit l'internalisation de CD16 après traitement par les esters de phorbol ou par des complexes immuns [1]. On sait aussi que l'efficacité de l'ADCC est fonction de l'affinité de CD16 pour l'isotype de l'IgG recouvrant la cellule cible [1]. Par ailleurs, CD16, avec CD2, est une des seules molécules connues capable de transmettre des modifications biochimiques liées

## RÉFÉRENCES

16. Anasetti C, Martin PJ, June CH, *et al.* Induction of  $Ca^{++}$  flux and enhancement of cytolytic activity in NK cells by cross-linking of the sheep erythrocyte binding protein (CD2) and the FcR (CD16). *J Immunol* 1987 ; 139 : 1772-9.
17. Werfel T, Uciechowski P, Tetteroo P, Kurrle R, Deicher H, Schmidt RE. Activation of cloned human natural killer cells via Fc $\gamma$ RIII. *J Immunol* 1989 ; 142 : 1102-6.
18. Lanier LL, Ruitenberg JJ, Phillips JH. Functional and biochemical analysis of CD16 antigen on natural killer cells and granulocytes. *J Immunol* 1988 ; 141 : 3478-85.
19. Siliciano RF, Pratt JC, Schmidt RE, Ritz J, Reinherz EL. Activation of cytolytic T lymphocyte and natural killer cell function through the T11 sheep erythrocyte binding protein. *Nature* 1985 ; 317 : 428-30.
20. O'Shea JJ, Weissman AM, Kennedy ICS, Ortaldo JR. Engagement of the natural killer cell IgG Fc receptor results in tyrosine phosphorylation of the  $\zeta$  chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 350-4.
21. Vivier E, Morin P, O'Brien C, Schlossman SF, Anderson P. CD2 is functionally linked to the  $\zeta$ :NK complex. *Eur J Immunol* 1991 ; 21 : 1077-81.
22. Vivier E, Morin P, O'Brien C, Drucker B, Schlossman SF, Anderson P. Tyrosine phosphorylation of the Fc $\gamma$ RIII (CD16): $\zeta$  complex in human natural killer cells : induction by antibody dependent cytotoxicity but not by natural killing. *J Immunol* 1991 ; 146 : 206-10.
23. Lanier LL, Yu G, Phillips JH. Co-association of CD3  $\zeta$  with a receptor (CD16) for IgG Fc on human natural killer cells. *Nature* 1989 ; 342 : 803-5.
24. Anderson P, Caligiuri M, Ritz J, Schlossman SF. CD3 negative natural killer cells express  $\zeta$ TCR as part of a novel molecular complex. *Nature* 1989 ; 341 : 159-62.
25. Anderson P, Caligiuri M, O'Brien C, Manley T, Ritz J, Schlossman SF. Fc $\gamma$  receptor type III (CD16) is included in the  $\zeta$  NK receptor complex expressed by human killer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 2274-8.
26. Anderson P, Vivier E. Structure and function of the CD16: $\zeta$  NK receptor complex. In : Lotzova E, ed. *NK Cell Mediated Cytotoxicity : Receptors, Signalling and Mechanisms*. New York : CRC press 1992 (sous presse).
27. Lanier LL, Yu G, Phillips JH. Analysis of Fc $\gamma$ RIII (CD16) membrane expression and association with CD3 $\zeta$  and Fc $\epsilon$ RI- $\gamma$  by site-directed mutation. *J Immunol* 1991 ; 146 : 1571-6.
28. Kurosaki T, Gander I, Ravetch JV. A subunit to an IgG Fc receptor and the T-cell receptor mediates assembly through different interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 3837-41.
29. Vivier E, Rochet N, Kochan JP, Schlossman SF, Anderson P. Structural similarities between Fc receptors and T-cell receptors : expression of the  $\gamma$  subunit of Fc $\epsilon$ RI in human T cells, NK cells and thymocytes. *J Immunol* 1991 ; 147 : 4263-70.

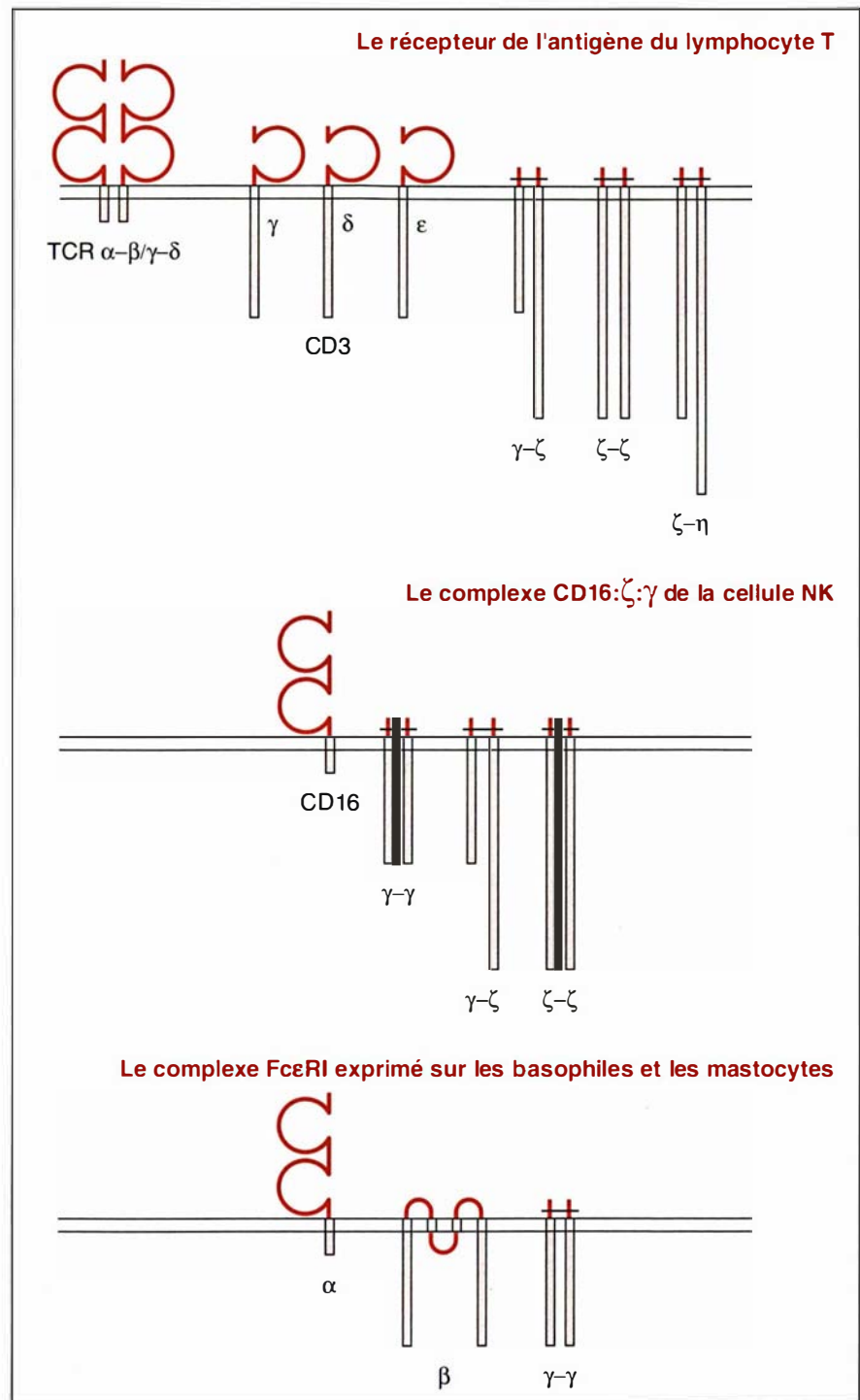


Figure 1. **Homologies structurales entre le récepteur de l'antigène CD3:TCR des lymphocytes T, le complexe CD16(Fc $\gamma$ RIII $\alpha$ ): $\zeta$ : $\gamma$  des cellules NK et le complexe Fc $\epsilon$ RI exprimé par les basophiles et les mastocytes.**

	EC	TM	IC
H TCRζ	QSFGLLDPK	[CYLLDGI LFIYGVILTALFL]	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
M TCRζ	.....	.....I::Y::	A:::TA:NL:DP:.....
M TCRη	.....	.....I::Y::	A:::TA:NL:DP:.....
H FcεRIγ	----:GE:Q	:::I::A::L::IV::L:YC	:L:IQVRKAAITSYE-----
M FcεRIγ	----:GE:Q	:::I::AV::L::IV::L:YC	:L:IQVRKAAIASRE-----
			* . * . . *
H TCRζ	EYDVLDKRRGRDPEMGGKP	-RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK	GHGHDGL
M TCRζ	.....E:K:A:.....	QQ::R:::V:A:.....	T:.....
M TCRη	.....E:K:A:.....	QQ::R:::V:A:.....	T:.....
H FcεRIγ	-----	-----	-----KS::V
M FcεRIγ	-----	-----	-----KA:AV
			* . * . . *
H TCRζ	YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	/142	
M TCRζ	.....T:A:..	/143	
M TCRη	: :DSHFQAVQFGNRRREREGSELTRTLGLRARPKGESTQQSSQSCASVFSIPTLWSPWPPS		
H FcεRIγ	:T:::RNQE::ET:K/62		
M FcεRIγ	:T::N:RSQE::ET:K/62		
M TCRη	SSSQL/185		

Figure 2. **Alignement des séquences protéiques des chaînes ζ (zeta) et η (eta) associées au complexe CD3:TCR et de la chaîne γ du complexe FcεRI.** Les séquences protéiques de ζ (TCR), η (TCR) et FcεRIγ mûres sont alignées. Les acides aminés sont représentés par le code à une lettre. Le nombre total d'acides aminés est indiqué en caractères gras. Les acides aminés conservés sont indiqués par (:). Les (-) sont des interruptions fictives de la séquence et n'ont été représentés que pour permettre l'alignement des séquences selon leur homologie maximale. Abréviations : H : homme, M : souris, EC : domaine extracellulaire, TM : domaine transmembranaire, IC : domaine intracellulaire. Dans la séquence de ζ, l'enchaînement de résidus glycine (\*) Gly-x-Gly-x-x-Gly-x-x-x-Gly-x-x-x-x-Lys situé entre les Gly 113 et Lys 128 est un motif caractéristique pouvant se lier de façon spécifique au GTP ou à l'ATP.

à l'activation du programme cytotolytique des cellules NK [16-22]. En effet, l'agrégation de CD16 par des anticorps monoclonaux augmente l'activité cytotoxique des cellules NK et induit parallèlement l'apparition de flux calciques, l'hydrolyse des phospho-inositides membranaires et la production d'inositol phosphates, l'expression de certains antigènes d'activation (CD25, CD71 et CMH de classe II) ainsi que la transcription des gènes du TNFα (*tumor necrosis factor* α) et de l'interféron γ [1]. Cependant, la taille extrêmement réduite du domaine intracytoplasmique de CD16 ne lui permet pas de transmettre seul ces signaux intracellulaires. C'est pourquoi la mise en évidence, à la surface des cellules NK, de son association aux deux sous-unités de transduction, ζ et γ, a permis de progresser dans l'étude des mécanismes de signalisation de l'ADCC [23-25].

### Les molécules homologues ζ et γ associées à CD16

CD16, ζ et γ forment un complexe multimérique au sein duquel ζ et γ peuvent s'apparier par des ponts disulfures et former différentes combinaisons covalentes d'homomères ζ-ζ, ζ-γ et γ-γ (figure 1, p. 362) [25-30].

La molécule ζ a été décrite en 1986 par le groupe de R. Klausner comme étant une sous-unité associée au récepteur de l'antigène CD3:TCR des lymphocytes T. C'est une protéine transmembranaire de 16 kDa possédant une très petite partie amino-terminale extracellulaire de 9 acides aminés, un segment transmembranaire de 21 acides aminés et un long domaine carboxy-terminal intracytoplasmique de 112 acides aminés (figures 1 et 2) [31]. Elle est nécessaire à l'expression du complexe CD3:TCR puisque sa présence dans

le réticulum endoplasmique granuleux permet au complexe pentamérique TCRα-β:CD3γδε d'être épargné par la dégradation lysosomiale et d'être exporté vers la membrane plasmique [32]. Pour cela, on sait que ζ s'associe aux autres sous-unités du complexe CD3:TCR grâce au seul résidu chargé, Asp<sup>15</sup>, situé dans sa région transmembranaire [33].

La molécule ζ joue aussi un rôle central dans la transduction des signaux d'activation du lymphocyte T. En effet, elle est phosphorylée sur des résidus tyrosine après activation par l'antigène ou par des anticorps monoclonaux anti-CD3 [34]. Cette phosphorylation est cruciale puisque la délétion des résidus tyrosine intracytoplasmiques se traduit par une inhibition du signal donné par l'antigène [35]. Le rôle de ζ dans la transduction des signaux d'activation a été récemment confirmé par des études montrant que les molécules chiméri-

## RÉFÉRENCES

30. Letourneur O, Kennedy ISC, Brini AT, Ortaldo JR, O'Shea JJ, Kinet JP. Characterization of the family of dimers associated with Fc receptors (FcεRI and FcγRIII). *J Immunol* 1991 ; 147 : 2652-6.
31. Weissman AM, Hou D, Orloff DG, et al. Molecular cloning and chromosomal localization of the human T-cell receptor ζ chain : distinction from the molecular CD3 complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 9709-13.
32. Klausner RD, Lippincott-Schwartz J, Bonifacino J. The T-cell antigen receptor : insights into organelle biology. *Ann Rev Cell Biol* 1990 ; 6 : 403-31.
33. Cosson P, Lankford S, Bonifacino JS, Klausner RD. Membrane protein association by potential intramembrane charge pairs. *Nature* 1991 ; 351 : 414-6.
34. Ashwell J, Klausner R. Genetic and mutational analysis of the T-cell antigen receptor. *Annu Rev Immunol* 1990 ; 8 : 139-72.
35. Frank SJ, Niklinska BB, Orloff DG, Mercep M, Ashwell JD, Klausner RD. Structural mutations of the T-cell receptor ζ chain and its role in T-cell activation. *Science* 1990 ; 249 : 174-7.
36. Irving BA, Weiss A. The cytoplasmic domain of the T-cell receptor ζ chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways. *Cell* 1991 ; 64 : 891-901.
37. Romeo C, Seed B. Cellular immunity to HIV activated by CD4 fused to T-cell of Fc receptor polypeptides. *Cell* 1991 ; 64 : 1037-46.
38. Letourneur F, Klausner RD. T-cell and basophil activation through the cytoplasmic tail of T-cell-receptor ζ family proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 8905-9.
39. Paolini R, Jouvin MH, Kinet JP. Phosphorylation and dephosphorylation of the high-affinity receptor for immunoglobulin E immediately after receptor engagement and disengagement. *Nature* 1991 ; 353 : 855-8.
40. Capron A, Dessein JP. Présent et futur de l'allergie. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 958-64.
41. Blank U, Ra C, Miller L, White K, Metzger H, Kinet JP. Complete structure and expression in transfected cells of high affinity IgE receptor. *Nature* 1989 ; 337 : 187-9.
42. Jin YJ, Clayton LK, Howard FD, et al. Molecular cloning of the CD3η subunit identifies a CD3ζ-related product in thymus-derived cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 3319-23.
43. 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 Fc receptors. *Nature* 1990 ; 347 : 189-91.
- ques CD4/ζ, CD8/ζ et CD25/ζ composées des domaines extracellulaires de CD4, de CD8 ou de CD25, et de la partie cytoplasmique de ζ sont suffisantes pour transmettre des signaux d'activation aux cellules T [36-38]. Ces deux fonctions de la molécule ζ, à savoir ses rôles dans l'expression du complexe CD3:TCR et dans la signalisation intracellulaire, semblent pouvoir être attribuées à des domaines différents de la molécule puisque la délétion de 40 % de la partie intracytoplasmique de ζ permet encore l'expression du complexe CD3:TCR tandis que la capacité de l'antigène à induire une activation est inhibée [35].
- La deuxième molécule associée à CD16 est la sous-unité γ du récepteur de haute affinité pour les IgE (FcεRIγ). Ce récepteur FcεRI exprimé par les mastocytes et les polynucléaires basophiles, a une structure tétramérique α:β:γ-γ (figure 1) [39]. La chaîne α est presque totalement extracellulaire et possède le site de liaison pour le fragment Fc des IgE. Les chaînes β et γ, majoritairement intracytoplasmiques, sont phosphorylées après agrégation de la chaîne α, et sont donc responsables de la transduction du signal [40]. γ est une petite molécule de 68 acides aminés (≈ 10 kDa) possédant un court segment extracellulaire de 5 acides aminés, un domaine transmembranaire de 21 acides aminés et une région intracytoplasmique de 42 acides aminés (figures 1 et 2) [41]. L'étude de sa séquence nucléotidique a montré qu'elle présente une très forte analogie avec celle de la molécule ζ ainsi qu'avec celle de la sous-unité η du complexe CD3:TCR (figure 2) [31, 42]. Ces trois protéines sont codées par deux gènes présents sur le chromosome 11 chez l'homme. η et ζ sont les produits d'épissages alternatifs d'un même gène, tandis que γ est codée par 5 exons d'un gène analogue mais distinct. Alors que la molécule ζ n'est exprimée que dans les lymphocytes T et les cellules NK, la molécule γ est plus largement représentée dans des cellules hématopoïétiques qui n'expriment pas le récepteur FcεRI, telles que les macrophages [9]. Des résultats récents montrent qu'elle est présente également dans les lymphocytes T et les thymocytes humains où elle s'associe sous la forme de dimères avec ζ et η au sein du complexe CD3:TCR (figure 1) [29, 43].

### Rôle des sous-unités ζ et γ au sein du complexe CD16:ζ:γ

La présence des molécules de la famille ζ, η, γ, associées au récepteur de l'antigène dans les lymphocytes T, à CD16 dans les cellules NK et à FcεRI dans les polynucléaires basophiles et les mastocytes, souligne la similarité existant entre ces différents complexes moléculaires (figure 1). Cette homologie n'est pas seulement structurale : les membres de la famille ζ, η, γ exercent des fonctions similaires au sein de ces différents récepteurs multimériques. Ils sont en effet nécessaires à l'expression des récepteurs à la surface de la cellule, ainsi qu'à la transduction du signal émis lors de son activation [8]. Ainsi, de manière similaire au rôle de ζ dans l'expression de surface du complexe CD3:TCR dans les lymphocytes T, les molécules ζ et γ sont nécessaires à l'expression de surface de CD16 [27, 28]. De même que la sous-unité ζ est phosphorylée sur tyrosine en réponse à l'agrégation du complexe CD3:TCR, elle est aussi phosphorylée sur tyrosine en réponse à l'agrégation de CD16 dans les cellules NK [20, 22].

Néanmoins, la nature des dimères de la famille ζ, η, γ présente une certaine spécificité au sein de ces complexes multimériques. Ainsi, dans les cellules lymphoïdes, CD16 s'associe aux dimères ζ-ζ, ζ-γ ou γ-γ, alors que la majorité des récepteurs CD3:TCR est associée aux dimères ζ-ζ, ζ-γ et ζ-η (figure 1) [29, 43]. Puisqu'il a aussi été montré, dans un clone T cytotoxique, que le complexe CD3:TCR est associé à γ-γ, il semble que cet homodimère est préférentiellement exprimé dans les cellules à activité cytolytique, et qu'il peut représenter une voie de signalisation spécifique impliquée dans les mécanismes de cytotoxicité [29, 43]. De même, au sein des cellules NK elles-mêmes, il semble qu'existent deux sortes de complexes isomorphes (CD16:ζ-γ:ζ-ζ et CD16:ζ-γ:γ-γ), qui contribueraient à l'hétérogénéité fonctionnelle de ces cellules [29].

Il est certain que la spécialisation fonctionnelle des cellules dépend de la présence de récepteurs de surface spécifiques. Ceux-ci sont couplés à des mécanismes de transduction très conservés d'un type cellulaire à l'autre. L'étude de la famille des dimères  $\zeta$ ,  $\eta$ ,  $\gamma$ , fait cependant apparaître maintenant que la nature des dimères de transduction associés à certains récepteurs de surface pourrait représenter un deuxième niveau de spécialisation. Ainsi, des combinaisons spécifiques de ces sous-unités de transduction pourraient être à l'origine de voies de signalisation différentes et contribuer à l'hétérogénéité fonctionnelle existant au sein des cellules hématopoïétiques ■

## Summary

### Structure and function of the CD16: $\zeta$ : $\gamma$ NK receptor complex

Natural killer cells are large granular lymphocytes involved in host defence against tumor cells and virally-infected cells. Besides a natural non MHC-restricted cytotoxicity, NK cells can also effect an antibody-dependent cytotoxicity (ADCC) mediated by Fc $\gamma$ RIIIA $\alpha$  (CD16). It has been recently shown that CD16 is associated with disulfide-linked dimers composed of two homologous subunits,  $\zeta$  and  $\gamma$ . These transducing molecules are also associated with the T-cell antigen receptor (CD3:TCR) and the IgE receptor (Fc $\epsilon$ RI) expressed on basophils and mast cells. These results show that distinct cell surface receptors utilize common transducing subunits, and emphasize the homology between the CD16, Fc $\epsilon$ RI and CD3:TCR complexes. However, the  $\gamma$ - $\gamma$  homodimer is preferentially expressed in NK cells, suggesting that specific combinations of these transducing subunits might subserve distinct signal transducing functions, and contribute to the heterogeneity of these cellular populations.

#### TIRÉS A PART

N. Rochet.

*m/s* n° 4, vol. 8, avril 92