

Délétion de gènes de la région constante des chaînes lourdes des immunoglobulines humaines

Des délétions considérables des gènes codant pour les régions constantes des chaînes lourdes d'immunoglobuline sont observées chez des sujets normaux. Probablement secondaires à des phénomènes de recombinaison inégale dans une famille multigénique, ces délétions témoignent de la flexibilité évolutive de ce système génétique.

Marie-Paule Lefranc
Gérard Lefranc
Professeurs à l'Université de Montpellier-II

RÉFÉRENCES

1. Natvig JB, Kunkel HG. Human immunoglobulins: classes, subclasses, genetic variants and idiotypes. *Adv Immunol* 1973; 16: 1-59.
2. W. H. O. Review of the notation for the allotypic and related markers of human immunoglobulins. W. H. O. meeting on human immunoglobulin allotypic markers. *J Immunogenetics* 1976; 3: 357-62.
3. Løghem E van, Aalberse RC, Matsumoto H. A genetic marker of human IgE heavy chains, Em(1). *Vox Sang* 1984; 46: 195-206.

ADRESSE

M.-P. Lefranc, G. Lefranc : laboratoire d'immunogénétique, U.A. Cnrs 1191 génétique moléculaire, université des sciences et techniques du Languedoc, Place E. Bataillon, 34060 Montpellier Cedex.

Chez l'homme, il existe 5 classes d'immunoglobulines (IgM, IgD, IgG, IgE et IgA) définies par les déterminants antigéniques isotypiques, les propriétés physico-chimiques et les activités biologiques de leurs chaînes lourdes (μ , δ , γ , ϵ et α , respectivement). De plus, des sous-classes ont été décrites pour les IgG (IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4) et les IgA (IgA1 et IgA2) [1]. Les régions constantes (CH) des chaînes lourdes γ_1 , γ_2 , γ_3 , α_2 et ϵ peuvent aussi être identifiées par des déterminants antigéniques allotypiques*, véritables marqueurs des IgG1, IgG2, IgG3, IgA2 et IgE, dénommés pour cette raison allotypes G1m, G2m, G3m, A2m et Em [2, 3]. Ils représentent également de précieux marqueurs utilisés pour caractériser les populations

humaines [4, 5] et pour la génétique des immunoglobulines [6-9]. En particulier, la transmission de groupes inhabituels d'allotypes permet de révéler des événements génétiques (mutations ponctuelles, duplications, délétions, échanges d'exons, conversions géniques, recombinaisons inégales intragéniques à l'origine de gènes hybrides...) qui se sont produits au niveau des régions codantes [6-9]. Grâce aux sondes moléculaires spécifiques, ces événements génétiques qui affectent les gènes CH des immunoglobulines humaines (localisés sur le chromosome 14 [10] au niveau de la bande q32 [11]) sont maintenant étudiés au niveau de l'ADN. Récemment, des délétions importantes englobant plusieurs gènes CH ont été décrites.

Gènes CH et sondes spécifiques

Gènes C μ et C δ . Lorsque l'ADN humain est digéré avec une enzyme de restriction telle que BamHI et

* Allotypes, déterminants antigéniques allotypiques = déterminants codés par des allèles, c'est-à-dire par des variants d'un même gène. Tous les allèles correspondent à un même « locus » génétique.

hybridé, selon la méthode de Southern, avec une sonde $C\mu$ [12], on observe un unique fragment de 17 kilobases (kb) correspondant à ce gène, tandis qu'une sonde $C\delta$ révèle un fragment de 11 kb [13].

Gènes $C\gamma$. Une sonde $C\gamma_3$ ou $C\gamma_4$ [14] révèle tous les gènes $C\gamma$ par suite de l'homologie très importante, de l'ordre de 95 % [15], entre les différents gènes $C\gamma$ humains. Par ailleurs, le nombre des fragments détectés est variable (de 5 à 8 si l'ADN est digéré par Bam HI), d'un groupe d'individus à un autre, par suite de l'existence d'un polymorphisme de longueur des fragments de restriction [13] (*figure 1-N*).

Gènes $C\epsilon$. Une sonde $C\epsilon$ [16] révèle trois fragments Bam HI de 2,7 kb, 6 kb et 9 kb [16-18] (*figure 2-N*). Le fragment de 2,7 kb correspond au gène $C\epsilon$ actif [16-18], tandis que les deux autres de 6 et 9 kb représentent des pseudogènes appelés respectivement $\psi\epsilon_1$ et $\psi\epsilon_2$ [17, 19]. Le pseudogène $\psi\epsilon_1$ est situé sur le chromosome 14 entre les gènes $C\gamma_1$ et $C\alpha_1$ [19], le pseudogène $\psi\epsilon_2$ est un gène ayant perdu ses introns et localisé sur le chromosome 9 [20].

Gènes $C\alpha$. Pour étudier les gènes $C\alpha$, l'ADN est coupé par une autre enzyme de restriction Pst I. Une sonde $C\alpha$ [19] révèle un fragment de 1,2 kb pour α_1 et un autre de 2 kb pour α_2 [13, 19] (*fig. 3-N*).

Délétion des gènes $C\gamma_1$, $C\gamma_2$, $C\gamma_4$, $\psi\gamma$, $\psi\epsilon_1$, $C\alpha_1$

La présence des seuls allotypes des IgG_3 et l'absence des autres marqueurs allotypiques ainsi que celle des déterminants isotypiques des autres sous-classes d' IgG et des IgA_1 ont permis de déceler une absence simultanée des IgG_1 , IgG_2 , IgG_4 et IgA_1 chez une Tunisienne de 75 ans, en bonne santé (désignée TAK3, famille Hass) [21]. Seules les classes et sous-classes IgM , IgD , IgG_3 , IgE et IgA_2 étaient présentes.

L'ADN a été préparé à partir des leucocytes du sang, digéré par Bam HI (ou Pst I comme indiqué plus haut) et hybridé avec les sondes $C\mu$, $C\delta$, $C\gamma$, $C\epsilon$ et $C\alpha$. Ces hybridations ont révélé la présence des seuls gènes $C\mu$, $C\delta$, $C\gamma_3$, $C\epsilon$ et $C\alpha_2$ et,

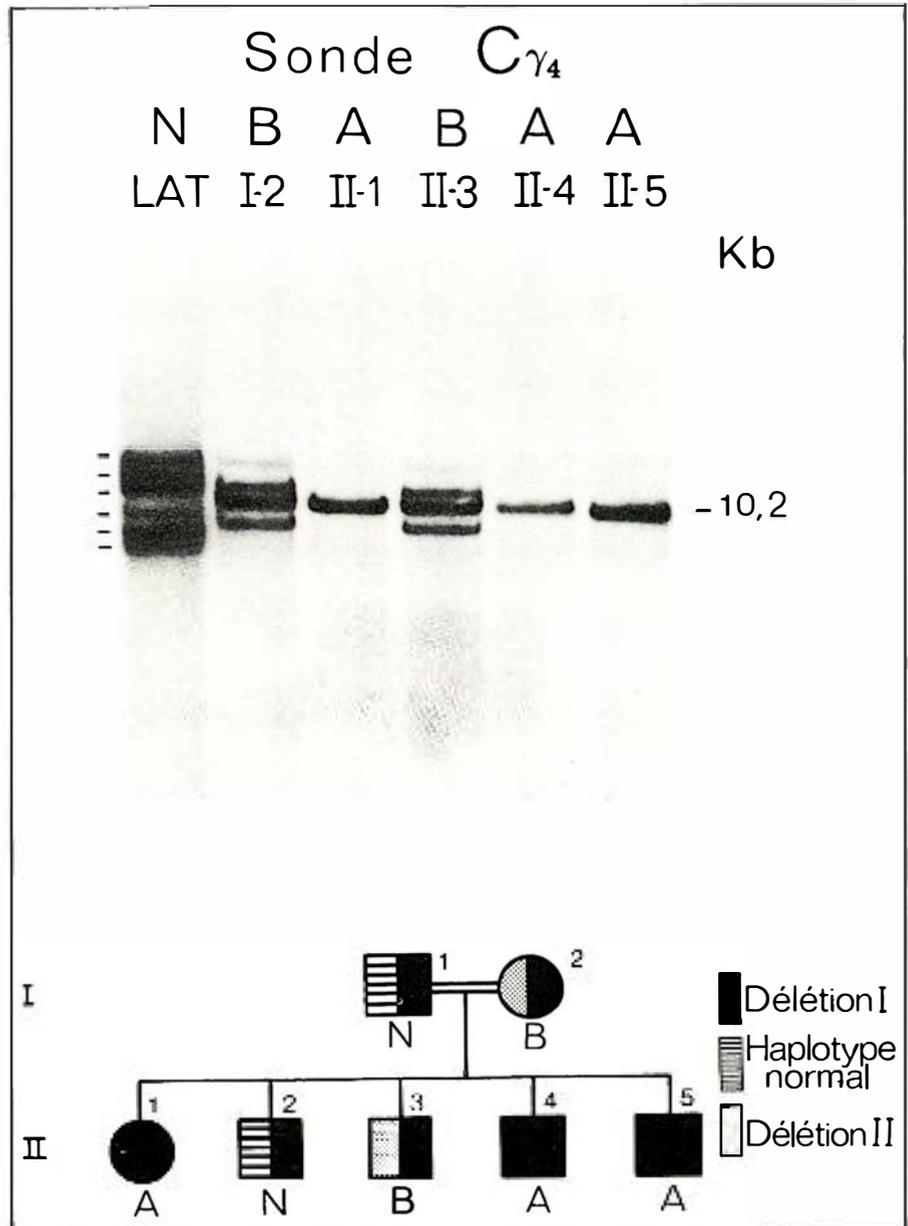


Figure 1. Hybridation, avec une sonde $C\gamma$, des ADN génomiques préalablement digérés par Bam HI [22].

N: ADN génomique normal

A: ADN des membres de la famille Tou, homozygotes pour la délétion I

B: ADN des membres de la famille Tou, présentant la délétion I sur un chromosome 14 et la délétion II sur l'autre chromosome 14.

RÉFÉRENCES

4. Steinberg AG. Contribution of the Gm and Inv allotypes to the characterization of human populations. *Isr J Med Sci* 1973; 9: 1249-56.
5. Lefranc G, de Lange G, Rivat L *et al.* Gm, Am and Km immunoglobulin allotypes of two populations in Tunisia. *Hum Genet* 1979; 50: 199-211.
6. Lefranc G, Dumitresco SM, Salier JP *et al.* Familial lack of the IgG3 subclass: gene elimination or turning off expression and neutral evolution in the immune system. *J Immunogenet* 1979; 6: 215-21.
7. Loghem E, Sukernik RI, Osipova LP *et al.* Gene deletion and gene duplication within the cluster of human heavy chain genes. Selective absence of IgG subclasses. *J Immunogenet* 1980; 7: 285-99.
8. Lefranc G, Lefranc MP, Helal AN *et al.* Unusual heavy chains of human IgG immunoglobulins: rearrangements of the CH domain exons. *J Immunogenet* 1982; 9: 1-9.
9. Lefranc MP, Helal AN, de Lange G, Chaabani H, van Loghem E, Lefranc G. Gene conversion in human immunoglobulin locus shown by unusual location of IgG allotypes. *FEBS Letters* 1986; 196: 96-102.
10. Croce CM, Shander M, Martinis J *et al.* Chromosomal location of the genes for human immunoglobulin heavy chains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 3416-9.
11. Kirsch IR, Morton CC, Nakahara K, Leder P. Human immunoglobulin heavy chain genes map to a region of translocations in malignant B lymphocytes. *Science* 1982; 216: 301-3.
12. Rabbitts TH, Forster A, Milstein CP. Human immunoglobulin heavy chain genes: Evolutionary comparisons of C μ , C δ and C γ genes and associated switch sequences. *Nucleic Acids Res* 1981; 9: 4509-24.
13. Lefranc MP, Lefranc G, Rabbitts TH. Inherited deletion of immunoglobulin heavy chain constant region genes in normal human individuals. *Nature* 1982; 300: 760-2.
14. Krawinkel U, Rabbitts TH. Comparison of the hinge-coding segments in human immunoglobulin gamma heavy chain genes and the linkage of the gamma 2 and gamma 4 subclass genes. *EMBO J* 1982; 1: 403-7.
15. Huck S, Fort P, Crawford D, Lefranc MP, Lefranc G. Sequence of a human immunoglobulin γ 3 heavy chain constant region gene. Comparison with the other C γ human genes. *Nucleic Acids Res* 1986; 14: 1779-89.
16. Flanagan JG, Rabbitts TH. The sequence of human immunoglobulin epsilon heavy chain constant region gene, and evidence for three non-allelic genes. *EMBO J* 1982; 1: 655-60.
17. Max EE, Battey J, Ney R, Kirsch IR, Leder P. Duplication and deletion in the human immunoglobulin ϵ genes. *Cell* 1982; 29: 691-9.

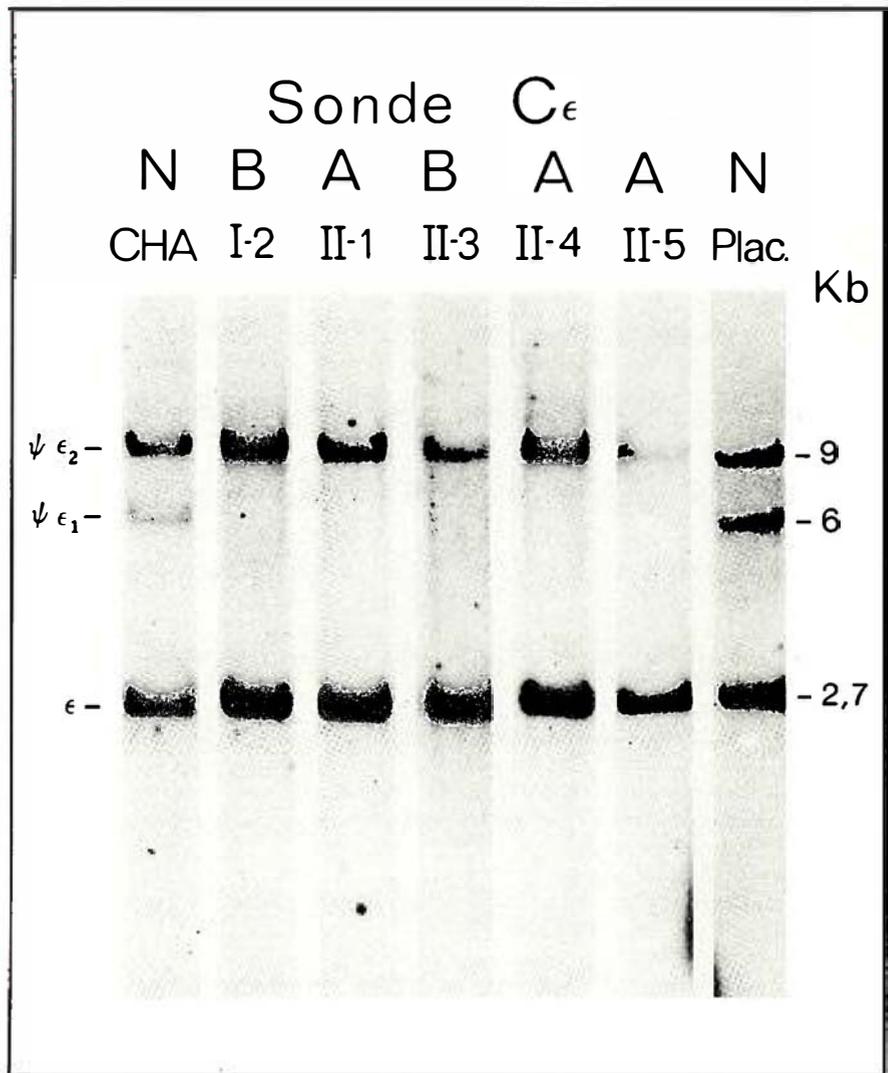


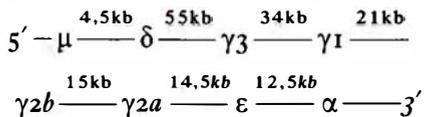
Figure 2. Hybridation, avec une sonde C ϵ , des ADN génomiques préalablement digérés par Bam HI [22]. Pour la signification de N, A, B, se reporter à la légende de la figure 1.

par conséquent, démontré l'absence des gènes C γ 1, C γ 2, C γ 4 et C α 1 ainsi que celle des pseudogènes $\psi\gamma$ et $\psi\epsilon$ 1 [13]. Une délétion semblable a été trouvée chez trois autres personnes appartenant à une seconde famille tunisienne (famille Tou) [22] (figure 1-A) et, plus récemment, chez deux petits-fils de TAK3 (M.P.L. et G.L., résultats non publiés). Pour ces six personnes, l'hybridation avec une sonde C γ montre une seule bande de 10.2 kb représentant le gène C γ 3, les fragments correspondant aux gènes C γ 1, C γ 2, C γ 4 et $\psi\gamma$ étant absents [13, 22]. La sonde C ϵ révèle les fragments de 2,7 et 9 kb correspon-

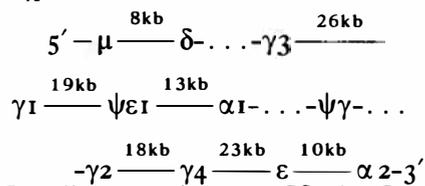
dant respectivement aux gènes C ϵ et $\psi\epsilon$ 2; l'absence du fragment de 6 kb traduit celle du pseudogène $\psi\epsilon$ 1 (figure 2-A). L'ADN digéré par Pst I et hybridé avec la sonde C α révèle la seule bande de 2 kb du gène C α 2, celle de 1,2 kb du gène C α 1 étant absente [13, 22] (figure 3-A). Ainsi, une délétion d'une importante région du chromosome 14, comprenant les gènes C γ 1, C γ 2, C γ 4, $\psi\gamma$, $\psi\epsilon$ 1 et C α 1, existe à l'état homozygote chez ces six personnes en bonne santé. Au delà des implications immunologiques qui seront discutées plus loin, une telle délétion a permis d'établir l'ordre des gènes CH chez l'homme.

Ordre des gènes CH humains

Alors que chez la souris, l'ordre des gènes CH est le suivant [23] :



la présence, chez l'homme, de pseudogènes ($\psi\gamma$ et $\psi\varepsilon$) et de deux gènes $C\alpha$, laissait prévoir une organisation différente. Deux groupes de gènes CH ont été identifiés γ_3 - γ_1 - $\psi\varepsilon$ - α_1 (région A, figure 4, p. 513), d'une part, et γ_2 - γ_4 - ε - α_2 (région B), d'autre part [19]. L'existence de la délétion précédente (délétion I dans la figure 4) a permis de situer la région A en 5' de la région B, la délétion débutant en aval (en 3') du gène $C\gamma_3$ et se terminant en amont (en 5') du gène fonctionnel $C\varepsilon$ [13, 19]. De plus, la délétion I englobant également le pseudogène $\psi\gamma$, il devenait possible de localiser celui-ci entre les gènes $C\alpha_1$ et $C\gamma_2$ [22]. Sachant que $C\mu$ et $C\delta$, distants l'un de l'autre de 8 kb [24], sont situés en amont du groupe A, l'ordre des gènes CH chez l'homme, est le suivant [13, 19, 22, 24] :



La distance séparant $C\delta$ de $C\gamma_3$ n'est pas encore connue avec précision; il en est de même pour la distance entre $C\alpha_2$ et $C\gamma_2$ probablement supérieure à 45 kb [19].

Délétion des gènes $\psi\varepsilon$ - $C\alpha_1$ - $\psi\gamma$

Normalement, le nombre et la taille des fragments de restriction de l'ADN des personnes hétérozygotes pour la délétion précédente auraient dû être ceux rencontrés chez toute personne possédant l'ensemble des gènes CH en raison de la présence supposée d'un chromosome 14 intact. D'une manière surprenante, l'ADN de deux personnes hétérozygotes de la famille Tou a montré l'absence des gènes $\psi\gamma$, $\psi\varepsilon$ et $C\alpha_1$ [22] (figures 1-B, 2-B, 3-B). Ces

résultats ne pouvaient s'expliquer qu'en admettant l'existence d'une deuxième délétion englobant ces gènes (délétion II dans la figure 4). Deux délétions étaient donc rencontrées dans cette famille : l'une particulièrement importante, puisque s'étendant probablement sur plus de cent kilobases, caractérisée par l'absence des gènes γ_1 , $\psi\varepsilon$, α_1 , $\psi\gamma$, γ_2 et γ_4 (délétion I, figure 4), l'autre plus réduite, bien que de taille encore respectable car supérieure à une cinquantaine de kilobases, couvrant les gènes $\psi\varepsilon$, α_1 et $\psi\gamma$ (délétion II, figure 4). Ces personnes hétérozygotes ont une absence sélective en IgA_1 [22]. Cette observation est intéressante à noter puisque, dans tous les cas d'absence simultanée des deux sous-classes IgA_1 et IgA_2 étudiés

par ailleurs, aucune délétion de gènes $C\alpha$ n'a été observée (M.P.L. et T.H. Rabbitts, résultats non publiés).

Autres délétions multigéniques

Plus récemment, deux autres délétions multigéniques affectant des gènes CH ont été décrites, également chez des personnes en bonne santé. La première, trouvée à l'état homozygote chez une personne de 51 ans du Sud de l'Italie, englobe les gènes α_1 , $\psi\gamma$, γ_2 , γ_4 et ε [25]. Cette délétion (délétion III, figure 4) est différente de la délétion I en ce qu'elle n'inclut pas le gène $C\gamma_1$ mais, en revanche, comprend le gène $C\varepsilon$ et entraîne par conséquent une absence des IgE . Une personne

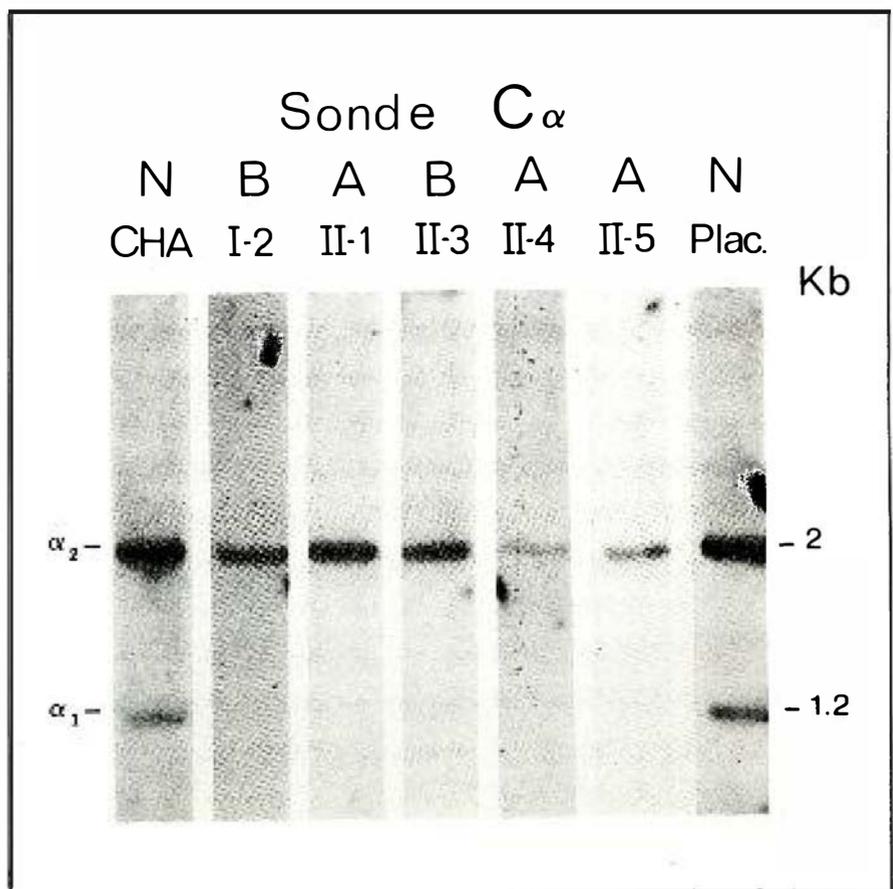


Figure 3. Hybridation, avec une sonde $C\alpha$, des ADN génomiques préalablement digérés par Pst I [22]. Pour la signification de N, A, B, se reporter à la légende de la figure 1.

RÉFÉRENCES

18. Nishida Y, Miki T, Hisajima H, Honjo T. Cloning of human immunoglobulin ϵ chain genes: Evidence for multiple C ϵ genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 3833-7.
19. Flanagan JG, Rabbitts TH. Arrangement of human immunoglobulin heavy chain constant region genes implies evolutionary duplication of a segment containing γ , ϵ and α genes. *Nature* 1982; 300: 709-13.
20. Battey J, Max EE, McBride WO, Swan D, Leder P. A processed human immunoglobulin ϵ gene has moved to chromosome 9. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 5956-60.
21. Lefranc G, Chaabani H, van Loghem E, Lefranc MP, de Lange G, Helal AN. Simultaneous absence of the human IgG1, IgG2, IgG4 and IgA1 subclasses: immunological and immunogenetical considerations. *Eur J Immunol* 1983; 13: 240-4.
22. Lefranc MP, Lefranc G, de Lange G *et al.* Instability of the human immunoglobulin heavy chain constant region locus indicated by different inherited chromosomal deletions. *Mol Biol Med* 1983; 1: 207-17.
23. Shimizu A, Takahashi N, Yaoita Y, Honjo T. Organisation of the constant region gene family of the mouse immunoglobulin heavy chain. *Cell* 1982; 28: 499-506.
24. Milstein CP, Deverson EV, Rabbitts TH. The sequence of the human immunoglobulin μ - δ intron reveals possible vestigial switch segments. *Nucleic Acids Res* 1984; 12: 6523-35.
25. Migone N, Oliviero S, de Lange G *et al.* Multiple gene deletions within the human immunoglobulin heavy chain cluster. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 5811-5.
26. Chaabani H, Bech-Hansen NT, Cox D. A multigene deletion within the immunoglobulin heavy chain region. *Am J Hum Genet* 1985; 37: 1164-71.
27. Hammarström L, Lefranc G, Lefranc MP, Persson MAA, Smith CIE. Aberrant pattern of anti-carbohydrate antibodies in immunoglobulin class or subclass deficient donors. In: Hanson LA, Söderström T, Oxelius V, eds. *Immunoglobulin Subclass Deficiencies*. Basel: Karger AG (in press).
28. Hammarström L, Carbonara A, De Marchi M, Lefranc G, Lefranc MP, Smith CIE. Generation of the antibody repertoire in individuals with multiple immunoglobulin heavy chain constant region gene deletions (submitted).
29. Rabbitts TH, Flanagan JG, Lefranc MP. Flexibility and change within the human immunoglobulin gene locus. In: Chater KF, Cullis CA, Hopwood A, Johnston AWB, Woolhouse HW, eds. *Biological consequences of DNA structure and genome arrangement*. London and Canberra: Croom Helm, 1983: 143-54.

de 80 ans, originaire de Sardaigne a été trouvée, quant à elle, hétérozygote pour cette délétion, et pour un quatrième type de délétion affectant les gènes $\psi\epsilon 1$, $\alpha 1$, $\psi\gamma$, $\gamma 2$ et $\gamma 4$ [25] (délétion IV, figure 4). Cette délétion a été récemment trouvée à l'état homozygote, mais associée à un haplotype différent, chez une autre personne, tunisienne [26] (voir Tableau I).

Implications immunologiques

Sur le plan de l'immunité humorale, ces déficiences sont bien supportées et ne donnent lieu à aucune affection particulière, même en l'absence d'IgG1, IgG2, IgG4 et IgA1 [13, 22] qui représentent environ 90% des IgG et des IgA totales dans un sérum normal. Des études réalisées

sur les spécificités anticorps des IgG3, seule sous-classe d'IgG présente dans ce cas là, ont montré que le répertoire était normal contre les épitopes protéiques (spécificités principalement portées par les IgG1 dans un sérum « normal ») et contre les épitopes glucidiques tels que l'acide teichoïque, le dextran et les polysaccharides de la capsule du pneumocoque (spécificités restreintes à la sous-classe IgG2 chez l'adulte « normal ») [27, 28]. Ceci pourrait être dû à un usage, par les gènes C $\gamma 3$ et C $\alpha 2$ restants, du répertoire des gènes codant les régions variables des chaînes lourdes (VH) et ce, sans restriction d'isotype. L'absence des IgE [25] n'a apparemment aucun effet néfaste dans le contexte où vit la personne concernée. Par ailleurs, deux personnes homozygotes pour

Tableau I DÉLÉTIONS AFFECTANT LES GÈNES DE LA RÉGION CONSTANTE DES CHAÎNES LOURDES DES IMMUNOGLOBULINES, CHEZ DES PERSONNES EN BONNE SANTÉ				
Origine	Nombre de cas	Immunoglobulines absentes	Types de délétions (voir fig. 4)	Références
Famille Hass Tunisie	3 (dont TAK3*)	IgG1, IgG2, IgG4, IgA1	I/I	13
Famille Tou Tunisie	3	IgG1, IgG2, IgG4, IgA1	I/I	13,22 A**
	2	IgA1	I/II	22 B**
Italie du Sud	1	IgG2, IgG4, IgA1, IgE	III/III	25
Sardaigne	1	IgG2, IgG4, IgA1	III/IV	25
Tunisie	1	IgG2, IgG4, IgA1	IV/IV	26

* 2 petits-fils de TAK3 (famille Hass) ont été également trouvés homozygotes pour la même délétion (M.P.Lefranc et G.Lefranc, résultats non publiés).

** A et B correspondent aux résultats des hybridations des figures 1, 2 et 3. Les différents types de délétions comprennent respectivement les gènes suivants, comme schématisé par ailleurs dans la figure 4.

délétion I : C $\gamma 1$, $\psi\epsilon 1$, C $\alpha 1$, $\psi\gamma$, C $\gamma 2$, C $\gamma 4$

délétion II : $\psi\epsilon 1$, C $\alpha 1$, $\psi\gamma$

délétion III : C $\alpha 1$, $\psi\gamma$, C $\gamma 2$, C $\gamma 4$, C ϵ

délétion IV : $\psi\epsilon 1$, C $\alpha 1$, $\psi\gamma$, C $\gamma 2$, C $\gamma 4$.

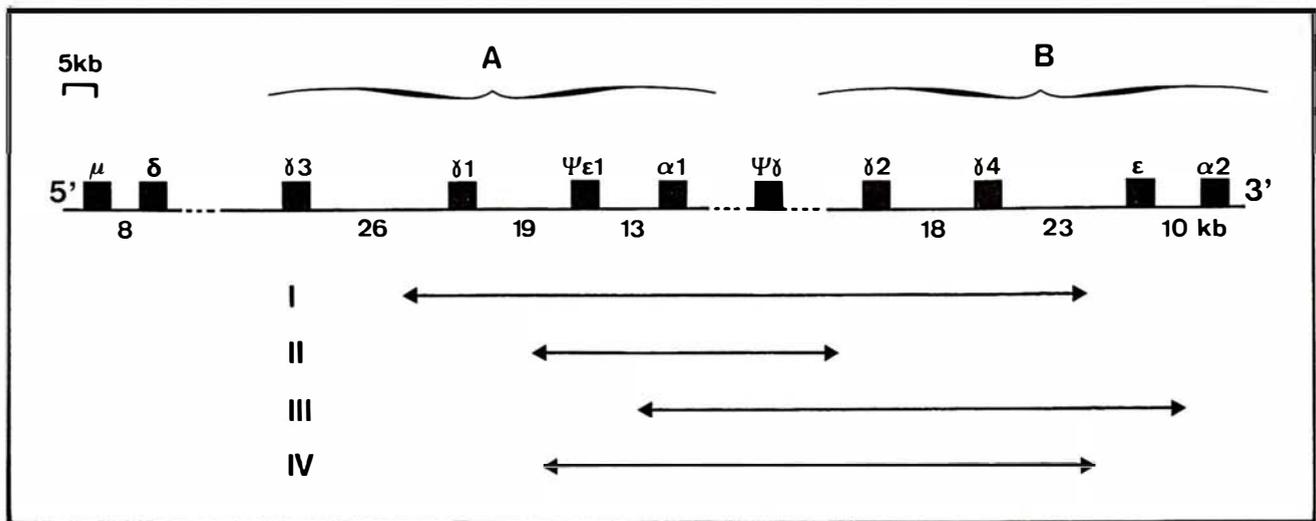


Figure 4. *Délétions de gènes de la région constante des chaînes lourdes des immunoglobulines humaines.* Ces délétions ont été observées chez des personnes en bonne santé, soit homozygotes pour ces délétions, soit hétérozygotes pour deux délétions différentes (voir Tableau I). Ces délétions I (13, 22), II (22), III (25), IV (25, 26) sont décrites dans le texte. L'étendue exacte et le point de jonction de ces différentes délétions restent à déterminer.

la délétion I ont eu cinq grossesses normales donnant naissance à cinq enfants en bonne santé [21]. Le taux élevé d'IgG₃, sous-classe d'IgG la plus facilement transportée à travers le placenta, a permis aux foetus et aux nouveau-nés de survivre jusqu'à ce qu'ils aient synthétisé leurs propres immunoglobulines. Il est probable également que le taux des IgA₂ dans le colostrum et le lait maternel ait été plus élevé que la normale permettant ainsi une protection immunologique suffisante dans le tube digestif des jeunes enfants.

Implications immunogénétiques

La perte d'un ou de plusieurs gènes CH résulte vraisemblablement soit de recombinaisons inégales au sein de cette famille multigénique *, soit de la formation, chez les hétérozygotes, de boucles de délétion. Il est vraisemblable que de telles délé-

tions, plus ou moins étendues, affectent avec une fréquence non négligeable (0,02 à 0,04), le génome CH et que le polymorphisme est plus important qu'on ne l'avait imaginé. Mais ces délétions, le plus souvent à l'état hétérozygote, ne peuvent être décelées. Seule la consanguinité élevée régnant dans certaines populations, en augmentant la fréquence des homozygotes pour des haplotypes rares, les rend perceptibles au niveau du phénotype et décelables au niveau moléculaire. Le locus CH semble posséder une remarquable flexibilité évolutive [29], des délétions et duplications (produits réciproques des recombinaisons inégales) contribuant à modifier le nombre de ses gènes (contraction et expansion). Vraisemblablement les mêmes événements génétiques influent sur la taille des familles de gènes codant pour les régions variables des chaînes légères (VL) et des chaînes lourdes (VH), et par voie de conséquence, sur le répertoire potentiel d'anticorps ■

Summary

Extensive multigene deletions have been described in the human immunoglobulin heavy-chain constant region genes, some of them encompassing more than 100 kilobases. These deletions have all been observed in healthy individuals although these individuals lacked several immunoglobulin subclasses, being either homozygous for one deletion or heterozygous for two different deletions. High frequency of consanguinity in Tunisian population accounts for the increased frequency of individuals displaying one or the other of these deletions in a homozygous state.

TIRÉS A PART

M.-P. Lefranc : laboratoire d'immunogénétique, université des sciences et techniques du Languedoc, place E. Bataillon, 34060 Montpellier Cedex.

* Voir *m/s* 1985, vol. 1, n° 4, p. 214-5.