

l'efficacité antitumorale des traitements. Ces résultats sont concordants avec les données des travaux issus de la littérature (Tableau 1). Néanmoins, ces premiers résultats, qui rassurent sur l'utilisation de ces traitements chez les patients atteints de maladies auto-immunes ou inflammatoires, doivent inciter la communauté médicale à poursuivre plusieurs axes de recherche. Il s'agit d'identifier des patients à risque, de décrypter les mécanismes de réponse et/ou de toxicité et les effets des traitements immunomodulateurs potentiellement utilisés pour le traitement de ces maladies auto-immunes ou inflammatoires, sur l'efficacité des traitements anti-point de contrôle immunitaire. En conclusion, l'explosion des immunothérapies anti-cancéreuses conduit actuellement à de nouvelles indications, mais aussi à des toxicités inhabituelles en oncologie : des manifestations auto-immunes ou inflammatoires. Les données de surveillance disponibles indiquent que des patients atteints de maladies auto-immunes ou inflammatoires préexis-

tantes stabilisées peuvent bénéficier de ces nouveaux traitements sous réserve d'une surveillance rapprochée. ♦

Is it possible to use immune checkpoint inhibitors in patients with autoimmune or inflammatory disease?

LIENS D'INTÉRÊT

O. Lambotte déclare participer à des interventions ponctuelles pour les entreprises BMS, MSD, Astra Zeneca et Janssen.

F.X. Danlos déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Robert C, Mateus C. Anticorps anti-CTLA-4 : une avancée thérapeutique majeure dans le traitement du mélanome métastatique. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 850-8.
2. Champiat S, Soria JC. Nouvelles pratiques en immunoncologie : une révolution et un immense défi scientifique et médical. *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 563-4.
3. Olive D, le Thi S, Xerri L, Hirsch I, Nunès JA. Rôle de CTLA-4 dans la co-signalisation négative du système immunitaire. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 842-9.
4. Ueda H, Howson JMM, Esposito L, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 2003 ; 423 : 506-11.
5. Prokunina L, Castillejo-López C, Oberg F, et al. A regulatory polymorphism in PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans. *Nat Genet* 2002 ; 32 : 666-9.

6. Kremer JM, Westhovens R, Leon M, et al. Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4Ig. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 1907-15.
7. Vincenti F, Rostaing L, Grinyo J, et al. Belatacept and long-term outcomes in kidney transplantation. *N Engl J Med* 2016 ; 374 : 333-43.
8. Haratani K, Hayashi H, Chiba Y, et al. Association of immune-related adverse events with nivolumab efficacy in non-small-cell lung cancer. *JAMA Oncol* 2018 ; 4 : 374-8.
9. Weber JS, Hodi FS, Wolchok JD, et al. Safety profile of nivolumab monotherapy: a pooled analysis of patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol* 2017 ; 35 : 785-92.
10. Danlos F-X, Voisin A-L, Dyeve V, et al. Safety and efficacy of anti-programmed death 1 antibodies in patients with cancer and pre-existing autoimmune or inflammatory disease. *Eur J Cancer* 2018 ; 91 : 21-9.
11. Abdel-Wahab N, Shah M, Lopez-Olivo MA, Suarez-Almazor ME. Use of immune checkpoint inhibitors in the treatment of patients with cancer and preexisting autoimmune disease: A systematic review. *Ann Intern Med* 2018 ; 168 : 121-30.
12. Johnson DB, Sullivan RJ, Ott PA, et al. Ipilimumab therapy in patients with advanced melanoma and preexisting autoimmune disorders. *JAMA Oncol* 2016 ; 2 : 234-40.
13. Menzies AM, Johnson DB, Ramanujam S, et al. Anti-PD-1 therapy in patients with advanced melanoma and preexisting autoimmune disorders or major toxicity with ipilimumab. *Ann Oncol* 2017 ; 28 : 368-76.
14. Gutzmer R, Koop A, Meier F, et al. Programmed cell death protein-1 (PD-1) inhibitor therapy in patients with advanced melanoma and preexisting autoimmunity or ipilimumab-triggered autoimmunity. *Eur J Cancer* 2017 ; 75 : 24-32.

NOUVELLE

Les cellules MAIT : un lien entre l'intestin et le diabète de type 1

Ophélie Rouxel¹⁻³, Agnès Lehuen¹⁻³

Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune spécifique d'organe, caractérisée par la destruction sélective des cellules β pancréatiques des îlots de Langerhans, et ayant pour conséquence majeure, une insulino-pénie progressive nécessitant un traitement par insulinothérapie à vie [1]. Bien que le DT1 ne soit pas le plus fréquent des diabètes, il est certainement le plus emblématique car il se déclenche, en

majeure partie, chez des enfants et des adolescents. Son incidence n'a cessé de croître au cours de ces dernières décennies et aucun modèle génétique n'est en mesure d'expliquer, à lui seul, une telle augmentation, suggérant l'implication de facteurs environnementaux dans le déclenchement de la maladie. En effet, les études récentes concernant le DT1 chez l'homme et la souris soulignent l'importance de divers facteurs environnementaux, opérant dès le

plus jeune âge, capables d'induire des perturbations du microbiote intestinal [2-4] et une perméabilité intestinale accrue [5, 6]. Ces diverses anomalies pourraient favoriser le processus auto-immun chez des individus génétiquement prédisposés et conduire au déclenchement de la maladie.

Les lymphocytes MAIT

Les mécanismes immunologiques conduisant au DT1 sont complexes et impliquent

¹Inserm U1016, Institut Cochin, université Paris Descartes, 27, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

²CNRS, UMR 8104, 75014 Paris, France.

³Laboratoire d'excellence inflamex, Sorbonne Paris Cité, 75014 Paris, France.

agnes.lehuen@inserm.fr



à la fois les systèmes immunitaires inné et adaptatif [7, 8] (→). Les lymphocytes MAIT (*mucosal-associated invariant T cells*) constituent un type de lymphocytes T innés possédant un phénotype de cellule effectrice, capables de sécréter rapidement d'importantes quantités de cytokines pro-inflammatoires [9]. Leurs capacités cytotoxiques, notamment contre des cellules infectées par des bactéries, les désignent comme des acteurs importants dans la mise en place des réponses antibactériennes [10, 11]. Chez l'homme, les cellules MAIT sont abondantes dans les muqueuses telles que les muqueuses intestinales et pulmonaires. Elles sont également présentes dans le sang où elles peuvent représenter jusqu'à 10 % des lymphocytes T circulants [12]. Les cellules MAIT sont des lymphocytes T non conventionnels car elles expriment un récepteur de reconnaissance des antigènes (TCR) semi-invariant, avec une chaîne TCR α V α 7.2-J α 33 chez l'homme et V α 19-J α 33 chez la souris, associée à un nombre restreint de chaînes β (V β 6, V β 8), et elles sont capables d'interagir, par leur TCR, avec MR1 (*major histocompatibility complex-related protein 1*), une molécule non polymorphe du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe Ib, qui présente aux cellules MAIT des métabolites d'origine bactérienne [13]. Le 5-OP-RU (1-deoxy-1-((2,6-dioxo-5-[($\epsilon\epsilon$)-(2-oxopropylidene)amino]-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-yl)amino)-D-ribitol), par exemple, est un métabolite issu de la voie de biosynthèse de la riboflavine (la vitamine B2) produite par les bactéries et est capable d'activer les cellules MAIT. Bien qu'initialement étudiées pour leurs propriétés antibactériennes, la localisation et les propriétés fonctionnelles des cellules MAIT les désignent comme de potentiels senseurs/acteurs des modifications du microbiote apparaissant lors du développement du DT1, ainsi que dans la mise en place des réponses

(→) Voir la Synthèse de L. Ghazarian et al., m/s, n° 8-9, août-septembre 2013, page 722

immunitaires. Dans notre étude récemment publiée dans la revue *Nature Immunology*, nous nous sommes donc intéressés aux rôles que pouvaient jouer les lymphocytes MAIT dans la physiopathologie du DT1 [14].

Altération des lymphocytes MAIT chez les patients DT1

Des analyses par cytométrie en flux de la fréquence, du phénotype et de la fonction des lymphocytes MAIT ont été réalisées sur le sang d'enfants, au moment de la découverte du DT1, c'est à dire moins de 10 jours après le diagnostic, ou lors du suivi d'enfants DT1 sous insulinothérapie, ou chez des enfants donneurs sains. La fréquence des cellules MAIT dans le sang périphérique des enfants au moment du diagnostic du DT1 est diminuée de manière significative, et est associée à des modifications du phénotype d'activation et d'épuisement des cellules MAIT (révélés par l'augmentation de l'expression de CD25 et de PD-1 [*programmed cell death-1*]). Les mécanismes à l'origine d'une telle diminution des lymphocytes MAIT circulants ne sont pas encore élucidés, mais deux hypothèses sont envisageables. Les cellules MAIT pourraient, dans le contexte du DT1, s'activer et migrer du sang vers les tissus cibles enflammés, comme le suggère la diminution des marqueurs de migration et d'adhérence (comme CCR6 [*C-C motif chemokine receptor 6*] et CD56) à la surface des cellules MAIT circulantes, chez les enfants au moment du diagnostic du DT1. L'activation chronique des cellules MAIT circulantes ainsi que la diminution de l'expression de la molécule anti-apoptotique Bcl-2 (*B-cell lymphoma 2*) pourraient également conduire à une augmentation de la mort des cellules MAIT circulantes chez les enfants au moment du diagnostic du DT1.

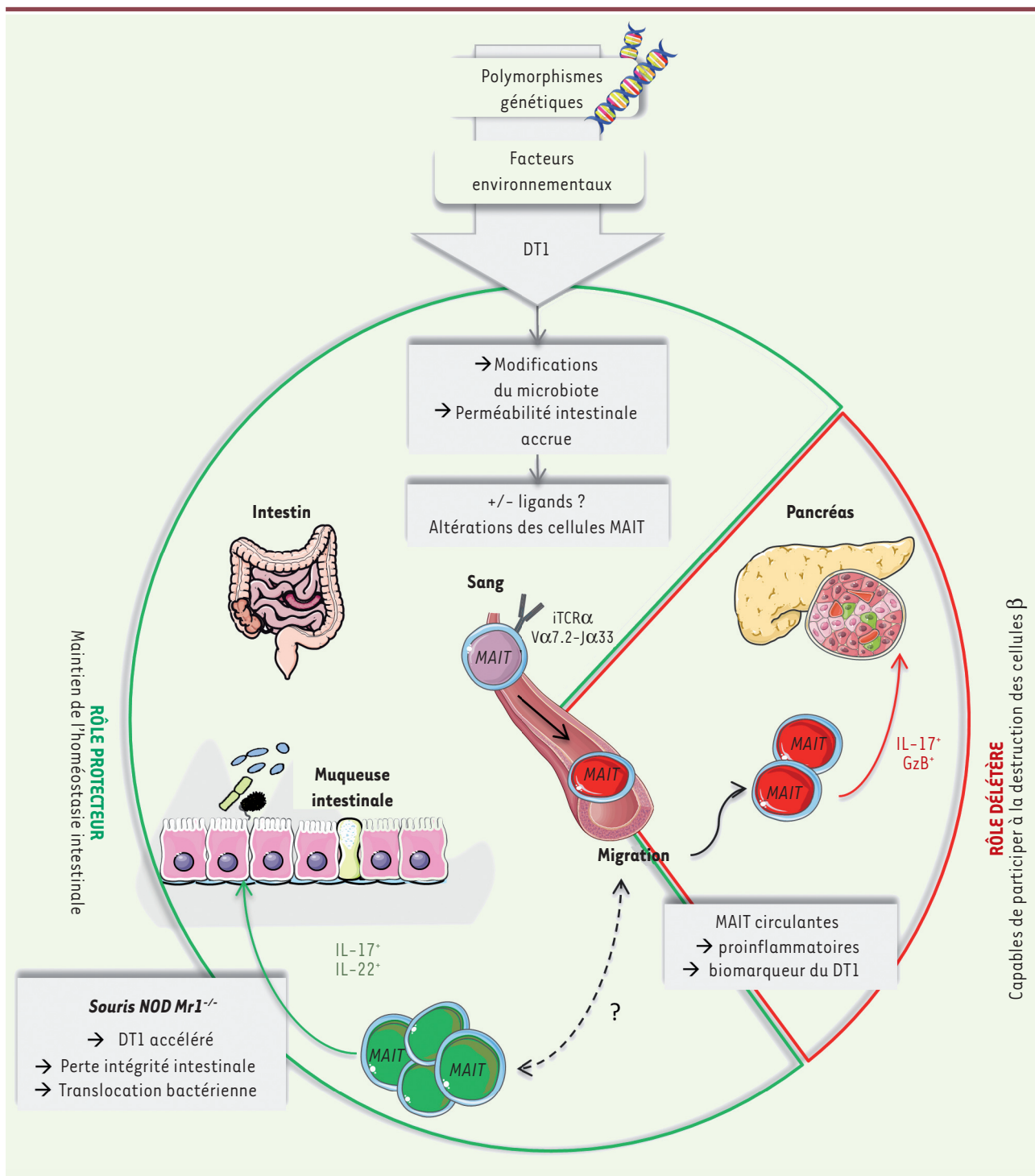
Les lymphocytes MAIT, un nouveau biomarqueur du DT1

Une analyse factorielle discriminante, fondée sur l'expression par les lymphocytes MAIT de molécules intracellulaires

et de surface, permet de différencier les trois populations d'enfants étudiées. L'analyse de quatre molécules de surface (CCR6, CD56, CD25 et PD-1) sur les cellules MAIT est effectivement suffisante pour distinguer un phénotype sain d'un phénotype malade. Ces modifications phénotypiques peuvent être observées en amont du déclenchement de la maladie et de l'apparition des signes cliniques. L'analyse des cellules MAIT chez des individus adultes à risque de développer un DT1, c'est-à-dire possédant au moins deux auto-anticorps contre des antigènes de cellules bêta-pancréatiques, a ainsi révélé des modifications phénotypiques des lymphocytes MAIT similaires à celles observées chez les enfants au moment de la découverte du DT1. Ces résultats prometteurs nécessitent des analyses complémentaires chez les enfants à risque de développer un DT1, mais ils suggèrent que les lymphocytes MAIT constitueraient un nouveau biomarqueur de la maladie et pourraient, à terme, être utilisés en routine afin de prédire l'évolution vers le DT1 chez les sujets à risque.

Potentiel cytotoxique des cellules MAIT

Dans le cadre du DT1, l'augmentation significative de la production de granzyme B par les cellules MAIT circulantes, chez les enfants au moment de la découverte du DT1, suggère leur implication dans la destruction des cellules β -pancréatiques. En effet, dans un contexte inflammatoire, l'expression de la molécule MR1 à la surface d'une lignée de cellules β humaines (EndoC- β H1) est augmentée et permet aux cellules MAIT, en présence de ligand activateur, de les reconnaître. Dans des expériences de co-cultures de cellules MAIT pré-activées et de cellules EndoC- β H1, les cellules MAIT s'activent et libèrent leurs granules induisant de manière dépendante de MR1 la mort des cellules EndoC- β H1. Ces résultats suggèrent que les cellules MAIT pourraient participer à la destruction des cellules β -pancréatiques humaines. Il serait intéressant



d'analyser la présence des cellules MAIT dans le pancréas de patients DT1, ainsi que l'expression de la molécule MR1 à la surface des cellules β -pancréatiques humaines, afin de déterminer *in situ* le potentiel cytotoxique des cellules MAIT chez l'homme.

Rôle majeur des lymphocytes MAIT dans le maintien de l'homéostasie intestinale

Les résultats obtenus chez l'homme ont été approfondis et renforcés par l'analyse des lymphocytes MAIT dans un modèle murin, les sou-

ris NOD (*non-obese diabetic*), ayant la caractéristique de développer un DT1 de manière spontanée. L'analyse des cellules MAIT chez ces souris a ainsi révélé que les lymphocytes MAIT s'accumulaient dans le pancréas des animaux diabétiques.



◀ **Figure 1. Le rôle protecteur des lymphocytes MAIT domine leur action délétère dans le pancréas.** Chez les patients présentant un diabète de type 1 (DT1) et les souris NOD (*non-obese diabetic*) diabétiques, des modifications phénotypiques et fonctionnelles des lymphocytes MAIT (*mucosal-associated invariant T cells*) ont été observées. Ces modifications peuvent également être détectées en amont de l'apparition des signes cliniques de la maladie. Ces résultats suggèrent que les cellules MAIT pourraient représenter un nouveau biomarqueur du DT1. Selon leur localisation tissulaire, les lymphocytes MAIT peuvent exercer différentes fonctions : soit délétère dans le pancréas par leur production de molécules pro-inflammatoires et cytotoxiques (interféron [INF γ] et granzyme [GzB]), soit protectrice dans l'intestin par leur production de cytokines participant au maintien de l'homéostasie intestinale (les interleukines IL-22 et IL-17). Lors de l'évolution vers le diabète, cette fonction protectrice des lymphocytes MAIT est progressivement altérée. De plus, les souris *Mr1*^{-/-} n'exprimant pas le gène codant *Mr1* (*major histocompatibility complex-related protein 1*) et dépourvues de lymphocytes MAIT, présentent une perturbation de l'intégrité intestinale et une augmentation des réponses T anti-îlots associées à une augmentation de l'incidence du DT1. Nos données illustrent ainsi l'importance des cellules MAIT dans le maintien de l'homéostasie intestinale et le contrôle de l'induction des réponses T auto-immunes durant le DT1, ouvrant de nouvelles perspectives pour la mise en place de stratégies thérapeutiques innovantes. iTCR α V α 7.2-J α 33 : chaîne α du récepteur des cellules T.

Des modifications phénotypiques et fonctionnelles précoces des lymphocytes MAIT ont également été observées dans deux tissus : le pancréas et l'iléon. Dans le pancréas des souris NOD, les lymphocytes MAIT pourraient participer à la destruction des cellules β -pancréatiques notamment par leur capacité à produire du granzyme B et des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN γ (interféron gamma), dont les taux de production augmentent significativement chez les souris diabétiques. Ces données, en accord avec celles obtenues chez l'homme, renforcent le rôle pro-inflammatoire et cytotoxique des lymphocytes MAIT dans le pancréas. En revanche dans l'iléon des souris NOD âgées de 10 semaines, les lymphocytes MAIT produisent deux cytokines jouant un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie de la muqueuse intestinale : les interleukines IL-17 et IL-22. Lors du développement de la maladie, la production de ces deux cytokines par les lymphocytes MAIT intestinaux diminue. Les causes exactes de cette diminution restent encore à déterminer, mais il semblerait que celle-ci soit concomitante à la diminution d'IL-23 observée dans l'iléon des souris NOD pré-diabétiques et diabétiques. L'IL-23, notamment produite par les cellules dendritiques et les macrophages, est une cytokine impliquée dans l'induction de la production d'IL-17 et IL-22. Des expériences de gavage par du dextran-FITC (isothiocyanate de fluores-

céine) ont mis en évidence une perméabilité intestinale significativement augmentée chez les souris NOD diabétiques par comparaison à des souris non-diabétiques. Il est donc possible que les altérations des lymphocytes MAIT, observées lors du DT1, soient orchestrées par des signaux bactériens en provenance de l'intestin.

Chez les souris NOD n'exprimant pas le gène *Mr1* (*Mr1*^{-/-}), dépourvues de lymphocytes MAIT, plusieurs altérations intestinales ont été observées par comparaison aux souris NOD contrôles : une augmentation de la perméabilité intestinale, une diminution de l'expression des protéines de jonctions intracellulaires dans les cellules épithéliales intestinales, une distribution anormale du mucus, et une augmentation de l'infiltrat lymphocytaire intestinal. Ces altérations de la barrière et de l'homéostasie intestinale semblent être à l'origine d'une translocation accrue d'ADN bactérien vers les ganglions pancréatiques. Cet ADN bactérien pourrait, par la voie des récepteurs de l'immunité innée (tels les récepteurs *Toll-like*), favoriser l'activation des cellules immunitaires dans les ganglions pancréatiques, comme en témoigne l'augmentation d'expression des molécules de CMH de classe II et de CD86 (ou B7.2) à la surface des cellules dendritiques des souris NOD *Mr1*^{-/-}. Les cellules dendritiques stimulées dans les ganglions pancréatiques pourraient favoriser l'activation des cellules T

auto-réactives dirigées contre les cellules β -pancréatiques, conduisant à un diabète exacerbé chez les souris NOD *Mr1*^{-/-}. Les résultats obtenus chez la souris NOD *Mr1*^{-/-} sont en faveur d'un rôle protecteur dominant des lymphocytes MAIT dans le DT1 et pourraient ouvrir la voie au développement de nouvelles stratégies préventives et thérapeutiques fondées sur une activation locale des lymphocytes MAIT dans les phases initiales de la maladie afin de maintenir l'homéostasie intestinale. En l'absence de lymphocytes MAIT, une aggravation des anomalies intestinales, déjà préexistantes, chez les souris NOD, a, en effet, été observée, favorisant alors le développement de la maladie. Ces résultats montrent également que même si les lymphocytes MAIT sont en mesure de participer à la destruction des cellules β -pancréatiques, ils ne sont pas les principaux acteurs de cette destruction. ♦

Mucosal-associated invariant T cells

REMERCIEMENTS

Nous remercions l'ANR-11-IDEX-0005-02 Laboratoire d'excellence INFLAMEX, l'ANR-17-CE14-0002-01 DIAB1MAIT, la Fondation pour la recherche médicale n° DEQ20140329520, L'université Paris Descartes et EFS/JDRF/Lilly, la région Île-de-France et le département hospitalo-universitaire (DHU) AutHors pour leur soutien financier. Nous remercions les laboratoires Servier pour l'iconographie.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet* 2014 ; 383 : 69-82.
2. Vatanen T, Kostic AD, D'Hennezel E, et al. Variation in microbiome LPS immunogenicity contributes to autoimmunity in humans. *Cell* 2016 ; 165 : 1551.
3. Kostic AD, Gevers D, Siljander H, et al. The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. *Cell Host Microbe* 2015 ; 17 : 260-73.
4. Goffau MC de, Luopajarvi K, Knip M, et al. Fecal microbiota composition differs between children with β -cell autoimmunity and those without. *Diabetes* 2013 ; 62 : 1238-44.
5. Sapone A, Magistris L de, Pietzak M, et al. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes* 2006 ; 55 : 1443-9.
6. Bosi E, Molteni L, Radaelli MG, et al. Increased intestinal permeability precedes clinical onset of type 1 diabetes. *Diabetologia* 2006 ; 49 : 2824-7.
7. Lehuen A, Diana J, Zaccone P, et al. Immune cell crosstalk in type 1 diabetes. *Nat Rev Immunol* 2010 ; 10 : 501-13.
8. Ghazarian L, Simoni Y, Pingris K et al. Rôle régulateur des lymphocytes NKT dans la prévention du diabète de type 1. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 722-8.
9. Dusseaux M, Martin E, Serriari N, et al. Human MAIT cells are xenobiotic-resistant, tissue-targeted, CD161hi IL-17-secreting T cells. *Blood* 2011 ; 117 : 1250-9.
10. Le Bourhis L, Martin E, Péguillet I, et al. Antimicrobial activity of mucosal-associated invariant T cells. *Nat Immunol* 2010 ; 11 : 701-8.
11. Gold MC, Cerri S, Smyk-Pearson S, et al. Human mucosal associated invariant T cells detect bacterially infected cells. *PLoS Biol* 2010 ; 8 : e1000407.
12. Rouxel O, Lehuen A. Mucosal-associated invariant T cells in autoimmune and immune-mediated diseases. *Immunol Cell Biol* 2018 ; doi: 10.1111.
13. Treiner E, Duban L, Bahram S, et al. Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature* 2003 ; 422 : 164-9.
14. Rouxel O, Da Silva J, Beaudoin L, et al. Cytotoxic and regulatory roles of mucosal-associated invariant T cells in type 1 diabetes. *Nat Immunol* 2017 ; 18 : 1321-31.

NOUVELLE

Une endocytose frustrée pour une migration accomplie

Nadia Elkhathib, Guillaume Montagnac

Inserm U1170, Institut Gustave Roussy, université Paris-Saclay, 114, rue Edouard Vaillant, 94805 Villejuif, France.
guillaume.montagnac@gustaveroussy.fr

► L'endocytose est un processus essentiel qui permet à la cellule d'acquérir des éléments qui ne peuvent traverser la membrane cellulaire. Pour internaliser des composants du milieu extérieur, la cellule invagine de petites portions de sa membrane plasmique de façon à former des vésicules qui bourgeonnent dans le cytosol. De telles invaginations ont été identifiées dès 1964 et ont, très tôt, été proposées comme étant les structures assurant l'endocytose des récepteurs membranaires et de leurs ligands [1]. La cellule dispose de différentes machineries pour générer des invaginations de la membrane plasmique à l'origine de la formation de vésicules d'endocytose. Parmi celles-ci, la plus connue et la plus répandue fait intervenir la clathrine. Dans le modèle aujourd'hui largement accepté, la clathrine est recrutée à la membrane plasmique par des adaptateurs spécifiques, dont le plus important est le complexe AP-2 (*adapter protein-2*) [2]. AP-2

recrute également directement, ou indirectement *via* d'autres adaptateurs, les récepteurs destinés à être internaliser. La polymérisation de la clathrine produit ensuite les forces nécessaires à l'invagination progressive de la membrane plasmique. Ces invaginations, dénommées *puits recouverts de clathrine* (PRC), se poursuivent jusqu'à la formation d'une vésicule reliée à la membrane plasmique par un fin cou. La libération de la vésicule d'endocytose dans le cytosol est contrôlée par la dynamine, une protéine qui coupe le cou de la vésicule en formation. Les récepteurs et les ligands ainsi internalisés dans ces vésicules sont soit adressés aux lysosomes pour y être dégradés, soit recyclés vers la membrane plasmique. Ce système permet à la cellule de réguler, dans le temps et dans l'espace, la composition de sa membrane plasmique. Ce processus intervient dans de nombreuses fonctions cellulaires incluant la division, la migration et la polarité cellulaires.

Des fibres dans des puits

Dans le cas de la migration cellulaire, un modèle reconnu propose que les PRC génèrent des vésicules d'endocytose à l'arrière de la cellule. Elles seront ensuite transportées et incorporées à l'avant de celle-ci [3]. Ainsi, la membrane disponible pour l'élongation de la protrusion s'accroît. Des molécules d'adhérence sont internalisées à l'arrière de la cellule puis transportées vers l'avant où elles peuvent participer à la création de nouvelles adhérences cellulaires, nommées adhérences focales, qui stabilisent la protrusion. Ce modèle très élégant ne satisfait pas toutes les observations puisque, par exemple, de nombreuses structures d'endocytose sont en réalité situées à l'avant des cellules [4,5]. Ce modèle est, de plus, essentiellement dérivé d'études réalisées *in vitro* avec des cellules migrant sur des substrats plans, en verre ou en plastique, et donc non physiologiques [6] (→).

(→) Voir la Synthèse de B. Goud et D. Louvard, *m/s* n° 1, janvier 2018, page 63