

Transgénèse et auto-immunité : quels enseignements récents ?

Les répertoires des lymphocytes B et T doivent être sélectionnés pour prévenir l'expansion de clones autoréactifs. Cette tolérance aux antigènes du *soi* est induite par plusieurs mécanismes complémentaires. Le plus radical est l'élimination définitive des clones autoréactifs par délétion alors que l'anergie et la suppression autorisent la survie des lymphocytes autoréactifs devenus fonctionnellement inactifs. Enfin, la régulation négative de l'expression des récepteurs aux antigènes du *soi* peut aussi induire un état de tolérance. La technique de transgénèse a permis d'établir des lignées de souris ayant un système immunitaire simplifié et/ou une expression modifiée des caractères du *soi*. Malgré l'apparition de nouvelles controverses, l'étude de ces lignées a considérablement amélioré la compréhension des mécanismes de tolérance et d'auto-immunité. Trois lignées de souris transgéniques, qui apportent des éclaircissements très importants sur ces phénomènes et posent de nouvelles questions, viennent d'être créées.

L'auto-immunité est fréquemment étudiée à partir de systèmes expérimentaux animaux qui possèdent des caractéristiques pathologiques communes avec les maladies humaines qu'elles représentent. Dans ces modèles animaux, les réactions auto-immunes sont souvent provoquées par injection d'agents infectieux, d'antigènes ou de clones de lymphocytes T spécifiques de l'organe cible. L'encéphalite allergique expérimentale (EAE), modèle de la sclérose en plaques, est induite par injection de myéline et de toxine pertussique ou par transfert de clones T auxiliaires CD4⁺ spécifiques de la myéline [1]. L'EAE est une maladie inflammatoire démyélinisante avec paralysie éventuelle. Ce modèle est imparfait, en particulier parce que la diversité du répertoire T aux sites de lésion semble plus grande dans la sclé-

rose en plaques que dans l'EAE. La réaction auto-immune observée dans la sclérose en plaques pourrait être ciblée sur une série d'épitopes, compromettant ainsi l'immunothérapie spécifique dirigée contre certains récepteurs T. Il est possible, cependant, que la diversité du répertoire T soit la conséquence d'une migration généralisée de lymphocytes T vers le site d'inflammation. De plus, les modèles classiques d'EAE ne prennent pas en compte les facteurs environnementaux qui contribuent au développement de la sclérose en plaques. Goverman *et al.* présentent maintenant un modèle de souris transgéniques permettant d'étudier à la fois les facteurs génétiques et environnementaux qui participent au déclenchement d'une activité auto-immune spontanée [2]. La transgénèse a été réalisée avec des gènes réarrangés du récepteur T spécifique d'un épitope dominant de la protéine basique de la myéline (MBP). Grâce au phénomène d'exclusion allélique, l'essentiel de la population T est constitué de ces lymphocytes « autoréactifs » CD4⁺ qui ne sont pas délétés, faute d'avoir rencontré l'auto-antigène uniquement localisé dans le système nerveux. Ces lymphocytes T transgéniques sont fonctionnels puisqu'ils prolifèrent et sécrètent des lymphokines au contact de la myéline *in vitro* et fournissent l'aide aux lymphocytes B pour la production d'anticorps anti-MBP après immunisation. Dans ces lignées transgéniques, les lymphocytes T spécifiques de MBP sont donc potentiellement autoréactifs mais ne sont pas activés systématiquement. La toxine pertussique provoque une réaction auto-immune chez ces souris, probablement en favorisant le franchissement de la barrière hémato-encéphalique par les lymphocytes T dont certains s'activent au contact de la myéline. La fréquence et la gravité de la maladie, induite par immunisa-

tion de ces souris avec MBP et injection intraveineuse de toxine pertussique, sont très accentuées par rapport aux souris normales. En revanche, l'immunisation des transgéniques avec MBP seule n'est pas directement responsable de l'apparition de la maladie mais semble être un facteur facilitant dans certaines conditions environnementales. L'impact de l'environnement sur la susceptibilité à la maladie est particulièrement déterminant puisque ces souris transgéniques déclenchent spontanément une activité anti-MBP auto-immune lorsqu'elles sont maintenues dans une animalerie non stérile alors qu'elles restent saines dans une animalerie stérile. Ces souris transgéniques fournissent donc un modèle unique de travail dans lequel l'association d'un haplotype du complexe majeur d'histocompatibilité et d'une spécificité T peut engendrer une maladie auto-immune dans des conditions particulières d'environnement. Ce modèle se rapproche étroitement de la sclérose en plaques et son étude permettra sans doute d'identifier la succession d'événements aboutissant au développement d'une activité auto-immune spontanée.

La souris NOD est spontanément diabétique et sert de modèle pour le diabète auto-immun insulino-dépendant humain (DID) [3]. Cette maladie se caractérise par une invasion lymphocytaire T des îlots pancréatiques et une destruction des cellules β produisant l'insuline. Les antigènes cibles de cette destruction ne sont pas caractérisés, mais, si leur nombre est faible, leur reconnaissance doit dépendre de quelques spécificités T qui peuvent être éliminées par exclusion allélique lors de la transgénèse. Cette hypothèse a maintenant été testée. Des lignées de souris NOD transgéniques pour les chaînes α et β d'un récepteur T ont été créées pour supprimer ou réduire

l'expression du répertoire T endogène ([4], *m/s* n° 3, vol. 9, p. 475). Les transgènes, qui ne sont pas associés à la maladie, sont très majoritairement exprimés à la surface des lymphocytes T périphériques. L'étude, par PCR, du répertoire T au niveau des lésions confirme une infiltration polyclonale des îlots par les lymphocytes T chez la souris NOD non transgénique, alors que les réarrangements endogènes V β -J β dans les lésions des lignées transgéniques sont absents ou considérablement réduits. Cependant, malgré une expression très limitée du répertoire T endogène, il n'y a pas de modifications significatives de l'apparition et du développement de la maladie. Les lymphocytes T porteurs des transgènes et des rares spécificités endogènes suffisent à maintenir une évolution classique de la maladie. La spécificité antigénique des lymphocytes T ne semble donc pas essentielle au développement de l'auto-immunité qui pourrait être engendrée par des mécanismes plus généraux d'activation immunitaire faisant intervenir la production de cytokines et la modification de l'expression des molécules d'adhérence. La sélection d'une famille de lymphocytes T est cependant suggérée par les expériences de transfert de la maladie qui montrent une utilisation préférentielle de l'élément V β du récepteur T des lymphocytes diabétogènes [5]. Quoi qu'il en soit, les souris transgéniques NOD de Lipes *et al.* [4] montrent qu'une importante réduction du répertoire T n'est pas suffisante pour protéger ces animaux de l'apparition du diabète. Par conséquent, comme l'ont suggéré Böhme *et al.* [6], l'effet protecteur observé chez des souris NOD exprimant un transgène codant pour une sous-unité α HLA de classe II ne peut probablement pas être attribué à une délétion clonale de lymphocytes T autoréactifs.

Des souris transgéniques pour les Ig du lysozyme d'œuf de poule (souris anti-HEL) possèdent des lymphocytes B, essentiellement spécifiques de HEL, qui se différencient normalement et colonisent les organes lymphoïdes périphériques [7]. Le croisement de ces souris avec une lignée transgénique pour une forme membranaire de HEL provoque la disparition des cellules B périphériques car la reconnaissance du

soi par les IgM des lymphocytes B immatures de la moelle osseuse conduit à leur élimination. Pourtant, bien que le phénotype de ces lymphocytes B immatures indique qu'ils ont été en contact avec l'auto-antigène HEL, leur nombre et leur morphologie ne sont pas modifiés [8]. La mort cellulaire n'est donc pas une conséquence immédiate de la reconnaissance de l'auto-antigène par les B immatures et l'apoptose n'est observée qu'après 1 à 3 jours. C'est le contact continu de l'auto-antigène avec les IgM de surface qui maintient les cellules B dans leur état d'immaturité. Cet arrêt du développement est à dissocier du déclenchement du suicide cellulaire puisqu'il est réversible par élimination de l'auto-antigène. Pour étudier la relation entre les deux événements, les souris anti-HEL ont été croisées avec des lignées porteuses du transgène bcl-2. La présence de bcl-2 retarde l'élimination des lymphocytes B immatures qui peuvent ainsi sortir de la moelle osseuse, mais le blocage de la différenciation est maintenu. Il semble donc que l'élimination de cellules B autoréactives résulte de deux événements indépendants, l'arrêt de la maturation cellulaire précédant l'engagement du processus d'apoptose. L'arrêt de la maturation inhibe l'acquisition de nouveaux récepteurs et de molécules d'adhérence, et empêche ainsi l'activation et la migration des lymphocytes B autoréactifs. Des mécanismes semblables pourraient intervenir lors de l'élimination des lymphocytes B à d'autres stades de leur développement. Enfin, la production d'auto-anticorps dans les maladies auto-immunes pourrait être liée au caractère réversible de l'arrêt de maturation des clones B autoréactifs. Une anomalie de régulation de l'apoptose, la présence intermittente de l'auto-antigène, la capacité à répondre à des lymphokines T à un stade précis du développement, pourraient ainsi permettre à un clone autoréactif d'échapper à la sélection négative.

De nombreuses lignées de souris transgéniques ont été créées pour étudier le système immunitaire et presque toutes ont contribué à l'élaboration d'hypothèses sérieuses et parfois controversées sur l'établissement et la rupture de tolérance aux antigènes du *soi* (*m/s* n° 7, vol. 7, p. 738 et n° 4, vol. 8,

p. 393). L'accumulation de ces informations permettra peut-être un jour de créer un modèle animal reproduisant exactement une maladie auto-immune humaine.

V.L.

1. Zamvil SS, Steinman L. The T lymphocytes in experimental allergic encephalomyelitis. *Annu Rev Immunol* 1990 ; 8 : 579-621.
2. Goverman J, Woods A, Larson L, Weiner L, Hood L, Zalter DM. Transgenic mice that express a myelin basic protein-specific T cell receptor develop spontaneous autoimmunity. *Cell* 1993 ; 72 : 551-60.
3. Castano L, Eisenbarth GS. Type-1 diabetes : a chronic autoimmune disease of human, mouse and rat. *Annu Rev Immunol* 1990 ; 8 : 647-79.
4. Lipes MA, Rosenzweig A, Tan KN, Tanigawa G, Ladd D, Seidman JG, Eisenbarth GS. Progression to diabetes in non-obese diabetic (NOD) mice with transgenic T cell receptors. *Science* 1993 ; 259 : 1165-9.
5. Edouard P, Thivolet C, Bedossa P, Olivi M, Legrand R, Bendelac A, Bach JF, Carnaud C. Evidence for a preferential V β usage by the T cells which adoptively transfer diabetes in NOD mice. *Eur J Immunol* 1993 ; 23 : 727-33.
6. Böhme J, Schuhbauer B, Kanagawa O, Benoist C, Mathis D. MHC-linked protection from diabetes dissociated from clonal deletion of T cells. *Science* 1990 ; 249 : 293-5.
7. Hartley SB, Crosbie J, Brink R, Kantor AA, Basten A, Goodnow CC. Elimination from peripheral lymphoid tissues of self reactive B lymphocytes recognizing membrane-bound antigens. *Nature* 1991 ; 353 : 765-9.
8. Hartley SB, Cooke MP, Fulcher DA, Harris AW, Cory S, Basten A, Goodnow CC. Elimination of self-reactive B lymphocytes proceeds in two stages : arrested development and cell death. *Cell* 1993 ; 72 : 325-35.