

Rétine et auto-immunité

L'uvéorétinite auto-immune expérimentale est un modèle privilégié des maladies auto-immunes et un outil incomparable pour tester l'efficacité de différents médicaments ou de traitements immunologiques.

Yvonne de Kozak

Chargée de recherche au Cnrs

Massoud Mirshahi

Chargé de recherche au Cnrs

Jean-Pierre Faure

Directeur de recherche au Cnrs

Si l'on injecte dans la patte d'un cobaye un extrait de rétine de cobaye ou d'un autre mammifère mélangé à de l'adjuvant de Freund, on voit apparaître quelques semaines plus tard une inflammation des yeux, que l'on appelle « uvéorétinite auto-immune expérimentale » (UAE). Cette expérience, réalisée par Wacker et Lipton en 1965 [1], est à l'origine de nombreux travaux qui montrent l'intérêt de l'UAE comme modèle de maladie auto-immune spécifique d'organe, et le rôle probable de l'auto-immunité contre la rétine dans les rétinites et uvéites humaines (revues [2,3]).

Nous résumerons dans cet article les progrès récents des connaissances sur les auto-antigènes rétiniens provoquant l'UAE, sur les mécanismes de la réponse immunitaire conduisant aux lésions oculaires, sur les moyens d'orienter l'immunorégulation vers la suppression de la maladie. Ces progrès suscitent des espoirs de traitement d'affections oculaires graves liées à des phénomènes d'auto-immunité contre la rétine.

Auto-antigènes des photorécepteurs

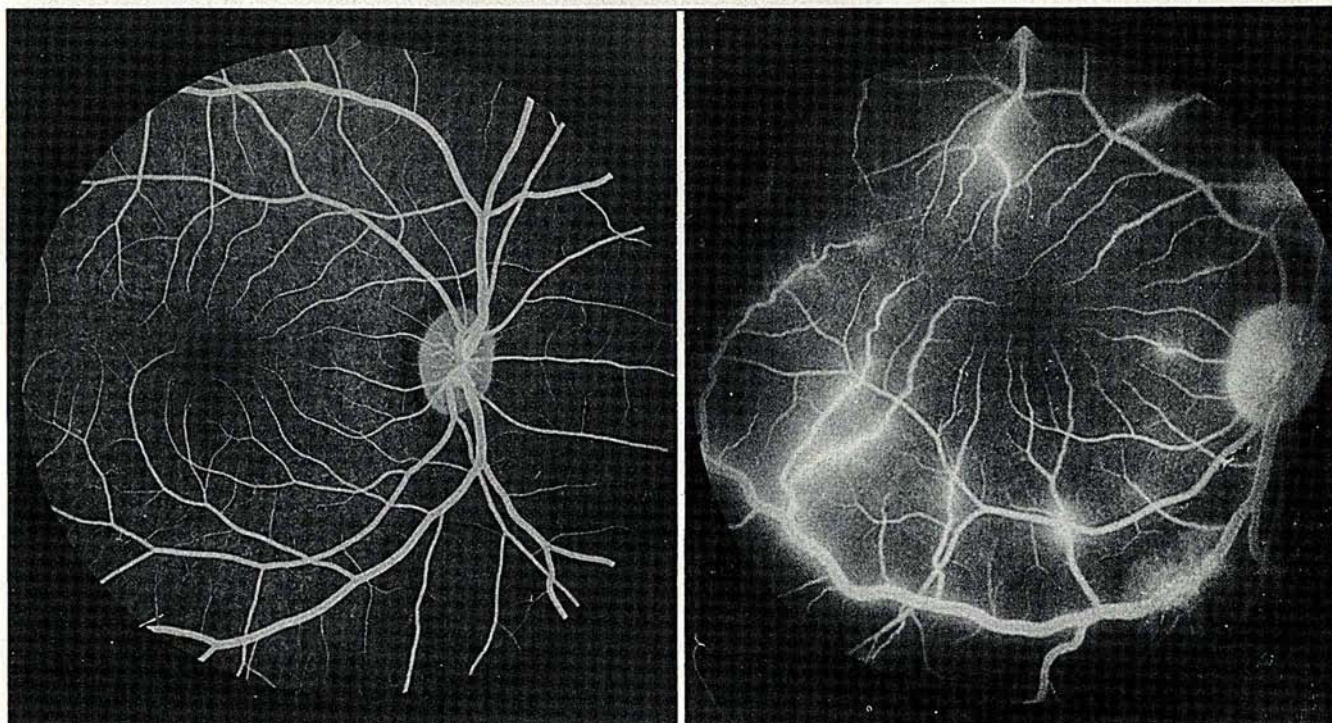
Les photorécepteurs de la rétine sont des cellules très différenciées et spécialisées qui reçoivent le signal lumineux et l'amplifient

pour produire l'influx nerveux visuel. Elles contiennent des protéines spécifiques qui assurent la capture des photons (photopigments) et cette amplification du signal (cascade de la phototransduction) (voir l'article de J. Plouët dans ce numéro). Certaines d'entre elles sont aussi des auto-antigènes qui suscitent des maladies auto-immunes de l'œil.

Le plus connu de ces auto-antigènes, généralement utilisé pour produire l'UAE et pour les tests d'auto-immunité rétinienne chez l'homme, est l'antigène-S (Ag-S), protéine soluble purifiée en 1975 [4,5]. La protéine liant le rétinol de la matrice interphotorecepteurs (IRBP) et la rhodopsine sont également actives pour produire l'UAE chez le rat et le singe [3]. Découvert et isolé comme auto-antigène, l'Ag-S, protéine de poids moléculaire 48 kD, est aujourd'hui connu aussi pour sa fonction régulatrice de la phototransduction [6]. Le gène de cette protéine a été cloné et la séquence d'acides aminés partiellement déterminée [7]. Des anticorps monoclonaux [8] sont utilisés pour analyser les épitopes de l'Ag-S et identifier ceux qui sont impliqués dans l'effet pathogène. Certains anticorps reconnaissent des structures moléculaires communes aux Ag-S de différentes espèces, qui leur confèrent une antigénicité croisée interspécifique. Ainsi l'Ag-S a été détecté par

ADRESSES

Y. de Kozak, M. Mirshahi, J.-P. Faure : laboratoire d'immunopathologie de l'œil, Inserm U 86, Hôtel-Dieu, 1, place du parvis Notre-Dame, 75181 Paris Cedex 04 ; centre biomédical des Cordeliers, 75270 Paris Cedex 06.



A **B**

Figure 1. **Angiographies rétiniennes chez le singe.** L'angiographie après injection intraveineuse de fluorescéine permet d'observer les vaisseaux rétiniens et leur pathologie. **A.** Rétine de singe *Cynomolgus* normale. **B.** Un mois après l'immunisation avec 50 µg d'antigène-S de rétine humaine, il existe une vasculite sévère que traduit la fuite de fluorescéine au niveau de nombreux segments veineux (document des Docteurs M. Sterkers et P. Le Hoang).

immunocytochimie dans les photorécepteurs de tous les vertébrés et de certains invertébrés, prouvant une très grande stabilité phylogénétique de certains épitopes [9]. On peut induire l'UAE chez le cobaye ou le rat par de l'Ag-S purifié à partir de rétines de différents mammifères. On le prépare habituellement à partir de la rétine de bœuf.

L'antigène-S et l'IRBP sont également présents dans les cellules de l'épiphyse (pinéaloctes) [10,11] qui sont des dérivés phylogénétiques des photorécepteurs, mais on ne les décèle dans aucun autre organe. L'immunisation avec l'Ag-S, l'IRBP ou la rétine totale provoque une pinéalite associée à l'uvéorétinite.

Caractères cliniques et histologiques de l'UAE

L'UAE est provoquée par une seule injection par voie sous-cutanée de l'auto-antigène

mélangé à un adjuvant, habituellement l'adjuvant de Freund. On l'a produite chez le cobaye, le lapin, le singe et le rat, espèce la plus utilisée aujourd'hui. Les tentatives d'induire l'UAE chez la souris ont jusqu'à présent échoué : toutes les lignées testées sont réfractaires à la maladie malgré une forte réponse humorale. Des différences de susceptibilité entre les lignées de rats permettent des études génétiques.

Les caractères cliniques et pathologiques varient avec l'espèce, avec le type d'antigène (Ag-S, IRBP, rhodopsine, extraits de rétine xénogénique, allogénique ou autologue*) et le type d'adjuvant. Les lésions initiales sont

localisées dans la région des photorécepteurs, qui apparaissent comme la cible de la réaction auto-immune. Elles sont accompagnées d'une atteinte des vaisseaux rétiniens et suivies d'une uvéite plus ou moins diffuse : infiltrats lymphocytaires discrets avec 1 ou 2 µg d'Ag-S par animal, choroïdite et cyclite modérée avec 10 ou 20 µg, uvéite totale violente et aiguë avec 50 µg. Les couches externes de la rétine sont détruites, sauf dans les formes très minimes. Dans la forme suraiguë, habituelle chez le rat Lewis avec 50 µg d'Ag-S, un décollement rétinien exsudatif et l'infiltration cellulaire intense conduisent à la disparition presque complète du tissu rétinien. L'addition de *B. pertussis* à l'adjuvant de Freund augmente la sévérité de l'inflammation. La date de début de la maladie (10 jours à 2 mois) et sa durée (quelques jours chez des rats avec UAE sévère, à plus d'un an chez le cobaye ou le singe)

* Xénogénique : d'une autre espèce. Allogénique : de la même espèce, génétiquement non identique. Autologue : de l'individu lui-même ; chez le cobaye, l'immunisation contre un extrait de la rétine isolée d'un des yeux provoque l'UAE dans l'autre œil.

dépendent aussi de l'espèce, de la dose d'antigène et de l'adjuvant (figures 1 et 2).

La réponse immunitaire à l'antigène-S

Outre l'atteinte pathologique de l'œil, la réponse immune comporte la production d'anticorps circulants, qui sont déterminés habituellement aujourd'hui par ELISA [12], et une réponse immune cellulaire. Celle-ci peut être mesurée par les tests de lymphoprolifération ou de production de lymphokines (inhibition de migration des macrophages) induites in vitro par l'auto-antigène. Les réponses cellulaire et humorale peuvent être détectées dès la fin de la première semaine après l'immunisation. Elles atteignent un maximum après deux à quatre semaines, puis tendent à décroître. De nombreuses études ont cherché à établir leur rôle respectif dans l'induction des lésions oculaires.

L'activité des cellules T joue un rôle majeur dans la pathogénie de l'UAE. La *T-cell dependance* de la maladie induite par l'Ag-S est aujourd'hui prouvée par les importants travaux du groupe de R.B. Nussenblatt (NIH, Bethesda), ce qui n'exclut pas un rôle accessoire de mécanismes à médiation anticorps. Un argument en ce sens est l'efficacité de la cyclosporine A, drogue qui affecte spécifiquement les lymphocytes T, à supprimer l'UAE [13]. Les rats nude dépourvus de thymocytes sont réfractaires ou très peu sensibles à l'induction de l'UAE par l'Ag-S [14]. Et surtout, les techniques de transfert cellulaire ont permis de démontrer l'efficacité de populations cellulaires T purifiées à transférer l'UAE. Elles seront un outil précieux pour comprendre la régulation de la réponse immune oculaire.

Les premiers succès du transfert adoptif de l'UAE chez le cobaye de souche 13 et le rat Lewis nécessitaient de grandes quantités de cellules. La stimulation in vitro des cellules du donneur avec l'antigène permet de réussir le

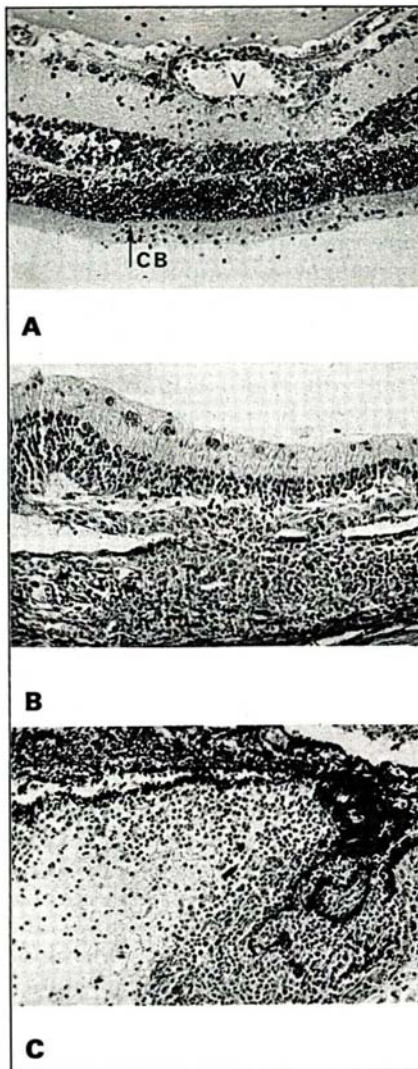


Figure 2. **Aspects histologiques de l'UAE.** A. Stade initial chez un rat Lewis, 13 jours après l'immunisation par 10 µg d'antigène-S de bœuf. Un infiltrat inflammatoire entoure une veine rétinienne (V) et envahit la couche des cônes et bâtonnets (CB). Les couches nucléaires sont dissociées par de l'œdème. B. Stade évolué des lésions chorio-réiniennes chez un cobaye (107 jours après immunisation avec sa propre rétine isolée d'un œil énucléé). La choroïde (en bas) est très épaissie par un infiltrat granulomateux. La rétine, amincie, est réduite à ses couches internes. La couche des photorécepteurs a disparu, remplacée par un tissu cicatriciel qui fait adhérer la choroïde à la rétine atrophiée. C. Infiltrat de l'iris (en haut) et des procès ciliaires envahissant l'humeur aqueuse chez un rat nude (RNU-RNU) après transfert intrapéritonéal de $1,3 \cdot 10^8$ cellules lymphoïdes provenant d'un donneur RNU/ immunisé avec l'antigène-S.

transfert chez la plupart des receveurs avec moins de 10^8 cellules chez le rat Lewis [15] ou chez le rat nude athymique [16] (figure 2C). La purification des lymphocytes T par élimination des cellules adhérentes accroît leur aptitude à transférer la maladie. L'analyse des populations cellulaires responsables se développe chez le rat, grâce à la disponibilité d'anticorps monoclonaux qui reconnaissent les différentes sous-populations lymphocytaires. La séparation des sous-populations *helper/inducer* et *suppresseur/cytotoxique* pour le transfert adoptif de l'UAE a montré que les lymphocytes *helper/inducer* sont inducteurs de la maladie, alors que l'autre sous-population ne l'est pas [15]. Ces populations cellulaires enrichies sont néanmoins hétérogènes : elles ne contiennent qu'une faible proportion de cellules spécifiques de l'Ag-S. Des lignées cellulaires portant le phénotype *helper/inducer* et spécifiques de l'Ag-S ont été alors établies en culture de longue durée [17]. Elles transfèrent l'UAE à des doses inférieures à 10^7 cellules par voie systémique ou 10^6 par voie intra-oculaire. Les lignées de cellules T pathogènes seront clonées. La molécule d'Ag-S porte plusieurs déterminants antigéniques, dont peut-être un petit nombre ou un seul est concerné dans l'effet pathologique. Les lignées cellulaires sont donc encore hétérogènes en ce qui concerne leur spécificité pour les différents épitopes. L'isolement de clones pathogènes sera un puissant outil pour identifier les épitopes pathogènes. Des lignées de cellules suppressives ont également été établies à partir de cellules spléniques de rats immunisés par l'Ag-S dans la chambre antérieure de l'œil. Ces cellules inhibent en co-culture la prolifération des *helper* stimulée par l'Ag-S. In vivo, elles atténuent l'UAE induite par l'immunisation active contre l'Ag-S [18].

L'analyse des populations cellulaires T par leurs marqueurs de surface met en évidence dans les tissus oculaires une prédominance de *helper/inducers* dans la première

RÉFÉRENCES

1. Wacker WB, Lipton MM. Experimental allergic uveitis : homologous retina as uveitogenic antigen. *Nature* 1965 ; 206 : 253-4.
 2. Faure JP. Autoimmunity and the retina. *Curr Top Eye Res* 1980 ; 2 : 215-302.
 3. Gery I, Mochizuki M, Nussenblatt RB. Retinal specific antigens and immunopathogenic processes they provoke. *Progress in Retinal Research* 1986 ; 5 : 75-109.
 4. Dorey C, Faure JP. Isolement et caractérisation partielle d'un antigène rétinien responsable de l'uvéorétinite autoimmune expérimentale. *Ann Immunol (Paris)* 1977 ; 128 C : 229-32.
 5. Wacker WB, Donoso LA, Kalsow CM, Yankeeov JA, Organisciak DT. Experimental allergic uveitis. Isolation, characterization and localization of a soluble uveitopathogenic antigen from bovine retina. *J Immunol* 1977 ; 119 : 1949-58.
 6. Pfister C, Chabre M, Plouët J, et al. Retinal S-antigen identified as the 48 K protein regulating light-dependent phosphodiesterase in rods. *Science* 1985 ; 228 : 891-3.
 7. Wistow GJ, Katial A, Craft C, Shinohara T. Sequence analysis of bovine retinal S-antigen ; relationships with α -transducin and G proteins. *FEBS Lett* 1986 ; 196 : 23-8.
 8. Faure JP, Mirshahi M, Dorey C, Thillaye B, De Kozak Y, Boucheix C. Production and specificity of monoclonal antibodies to retinal S-antigen. *Curr Eye Res* 1984 ; 3 : 867-72.
 9. Mirshahi M, Boucheix C, Collenot G, Thillaye B, Faure JP. Retinal S-antigen epitopes in vertebrate and invertebrate photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985 ; 26 : 1016-21.
- période de la maladie, puis une élévation progressive de la population *suppresseurs/cytotoxiques* à la phase de régression de l'inflammation. Ces variations des populations cellulaires témoignent probablement d'une régulation de la réponse immunopathologique oculaire qui est modulée par le développement des suppresseurs. L'étude des marqueurs de la membrane cellulaire a permis aussi de mettre en évidence dans l'œil du rat immunisé avec l'antigène-S l'expression de l'antigène Ia, antigène du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II. L'expression de cet antigène sur la membrane est associée à la présentation de l'antigène aux lymphocytes T. Dès le 8^e jour après l'immunisation avec l'Ag-S, avant tout infiltrat dans la rétine ou l'uvéa, l'antigène Ia apparaît sur les cellules de l'épithélium pigmentaire puis sur l'endothélium des vaisseaux rétiens. Les cellules gliales rétiennes (cellules de Müller) en culture peuvent exprimer aussi à leur surface l'antigène Ia et présenter l'Ag-S aux cellules *helper* spécifiques de l'Ag-S en lignée continue [19]. Ces différentes cellules rétiennes pourraient jouer un rôle, soit dans l'initiation, soit dans la modulation de la réponse immune locale. Si le rôle de l'immunité à médiation cellulaire est primordial dans la pathogénie de l'UAE, des mécanismes mettant en jeu des anticorps interviennent aussi. L'immunisation avec l'Ag-S provoque une réponse anticorps qui est décelable par ELISA dès le 7^e jour [12,20]. Des lésions semblables à celles de l'UAE dans sa forme modérée ont été produites par injections de sérums immuns par voie locale oculaire chez le cobaye ou par voie systémique chez le rat [21]. La forme aiguë d'UAE provoquée par une forte dose d'Ag-S chez le cobaye ou le rat est à prédominance de polynucléaires et possède les caractéristiques de la réaction d'Arthus interprétée comme une conséquence du dépôt de complexes immuns dans les tissus. L'hypothèse d'un mécanisme à complexes immuns est renforcée par l'effet de la déplétion du complément chez le cobaye (par l'injection de facteur de venin de cobra) qui supprime cette réaction à polynucléaires [22]. Toutefois, l'infiltrat inflammatoire provoqué par les transferts lymphocytaires comporte aussi de nombreux polynucléaires, même s'il n'y a pas d'anticorps circulants (cas du transfert de cellules spléniques stimulées par la concanavaline A. L'inflammation de type « réaction d'Arthus » n'a donc pas nécessairement un mécanisme à médiation anticorps, mais pourrait être due à la présence de facteurs chimiotactiques d'autre origine pour les polynucléaires [3]. La dégranulation des mastocytes de la choroïde qui précède l'inflammation au stade initial de l'UAE chez le rat met probablement en jeu un mécanisme d'hypersensibilité de type immédiat basé sur des anticorps IgE qui se fixent sur les mastocytes. Dès 5-6 jours après l'immunisation, on observe une augmentation du nombre des mastocytes dans la choroïde, puis, le 8^e jour, une dégranulation massive de ces mastocytes. Ce phénomène est bientôt suivi d'un œdème de la rétine, puis du début de l'infiltration cellulaire. Cette séquence suggère que des médiateurs libérés par les mastocytes, agissant sur l'endothélium vasculaire, facilitent l'accès au tissu cible des cellules inflammatoires et des anticorps [20]. En effet, le traitement des rats par des drogues inhibant la dégranulation (Cromoglycate ou Kétotifen), ou provoquant une déplétion de leurs amines vasoactives (Compound 48/80) atténue l'UAE [23]. On sait que la dégranulation des mastocytes peut être induite par des produits des lymphocytes T. Cependant, le rôle des IgE est plus probable. En effet, dès le 6^e jour, les mastocytes du péritoine peuvent être dégranulés *in vitro* en présence d'Ag-S, phénomène qui est supprimé par l'addition d'anticorps anti-IgE. Des IgE spécifiques de l'Ag-S sont détectables dans le sérum par ELISA, et par leur

aptitude à se fixer sur des mastocytes de rat normal (test de dégranulation indirect) [23]. Chez le rat nude, lorsque la réponse est stimulée par un adjuvant contenant du vaccin *pertussis*, on observe quelques lésions oculaires et une réponse IgE démontrée par les tests de dégranulation [14]. Il existe une relation entre la susceptibilité de différentes lignées de rats à l'UAE et le nombre des mastocytes qui sont présents à l'état normal dans leur choroïde [24]. Les lignées bonnes répondeuses à l'UAE (Lewis, CAR) ont beaucoup plus de mastocytes choroïdiens que les lignées de rats BN qui sont réfractaires, et les hybrides Lewis-BN, de susceptibilité moyenne, ont des comptes intermédiaires. Cette observation renforce l'hypothèse du rôle des mastocytes dans l'UAE et fournit une explication possible des variations génétiques de susceptibilité.

Immunorégulation et essais thérapeutiques

La cyclosporine en injections quotidiennes prévient efficacement l'apparition de l'UAE chez le rat lorsqu'elle est injectée quotidiennement à partir du jour de l'immunisation. Elle est beaucoup plus active que d'autres immunodépresseurs ou anti-inflammatoires [13]. Elle permet aussi de traiter efficacement la maladie lorsqu'elle est administrée après le début des symptômes (figure 3). Ce traitement réduit la réponse humorale, mais surtout la réponse immune cellulaire, dans le test de stimulation *in vitro* de la prolifération des lymphocytes par l'Ag-S. Ces données, ainsi que l'analyse des populations lymphocytaires dans les ganglions lymphatiques drainant le site d'injection de l'antigène, suggèrent que le mécanisme d'action de la cyclosporine est d'inhiber le développement des *helper/inducers* spécifiques de l'antigène et, par suite, confirment le rôle majeur de ces cellules dans la pathogénie de l'UAE.

Le modèle de l'UAE est idéal

pour des essais thérapeutiques par voie locale, et pour l'étude de la pénétration des agents anti-inflammatoires administrés en collyre. Il peut servir à tester des formes pharmaceutiques qui augmenteraient la pénétration du médicament et seraient efficaces dans l'œil en évitant la toxicité générale.

D'autres perspectives thérapeutiques sont offertes par les recherches sur les mécanismes naturels d'immunorégulation et par les possibilités d'influencer l'équilibre immunitaire dans le sens de la suppression de la réponse pathogène. Un des mécanismes régulateurs fondamentaux est l'interaction idiotypique (voir encadré, p. 213). L'UAE apparaît être un bon modèle pour des essais thérapeutiques ayant pour but de

supprimer spécifiquement la réponse auto-immune en perturbant le réseau idiotypique.

Un moyen de suppression spécifique est l'administration répétée de l'auto-antigène, qui permet de prévenir la maladie et aussi de la traiter efficacement. Très étudié dans l'encéphalomyélite allergique expérimentale, ce phénomène, que l'on explique par la stimulation de cellules suppressives, a été démontré dans l'UAE [21]. Si seulement certains segments polypeptidiques de l'Ag-S sont à l'origine de l'effet pathogène, on peut espérer que ces peptides, avec éventuellement de petites modifications de leur composition, pourraient protéger contre l'UAE et être utilisés en thérapeutique.

On dispose d'anticorps monoclonaux de souris qui reconnaissent

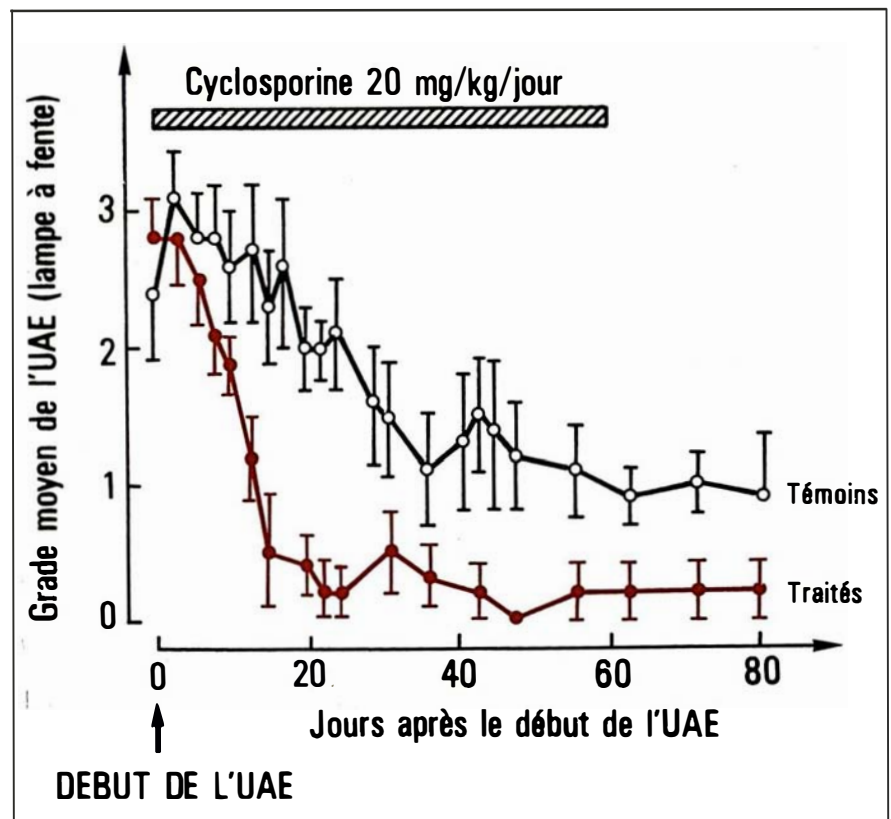


Figure 3. **Traitement de l'UAE par la cyclosporine.** L'inflammation oculaire est chiffrée selon un barème 0 à 4 par l'observation clinique de l'œil à la lampe à fente, qui peut être répétée fréquemment. Ces courbes montrent l'évolution du chiffre moyen (\pm erreur standard) de l'inflammation dans deux séries de cobayes, à partir du début de la maladie. Chez les témoins (-o-o-), elle régresse lentement et est encore notable après plus de deux mois. Le traitement par la cyclosporine en injections quotidiennes (-●-●-) supprime les signes cliniques de l'UAE en deux semaines environ.

RÉFÉRENCES

10. Collin JP, Mirshahi M, Brisson P, Falcon J, Guerlotti J, Faure JP. Pineal-retinal molecular relationships : distribution of « S-antigen » in the pineal complex. *Neuroscience* 1986 ; 19 : 657-66.
11. Rodrigues MM, Hackett J, Gaskins R, et al. Interphotoreceptor retinoid-binding protein in retinal rod cells and pineal gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986 ; 27 : 844-50.
12. Tuyen VV, Faure JP, Thillaye B, De Kozak Y, Fortier B. Antibody determination by ELISA in rats with retinal S-antigen — induced uveoretinitis. *Curr Eye Res* 1982 ; 2 : 7-12.
13. Mochizuki M, Nussenblatt RB, Kuwabara T, Gery I. Effects of cyclosporine and other immunosuppressive drugs on experimental autoimmune uveoretinitis in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985 ; 26 : 226-32.
14. De Kozak Y, Mirshahi M, Sainte-Laudy J, Thillaye B, Faure JP. Experimental autoimmune uveoretinitis in athymic rats : specific IgE response to retinal S-antigen and disease. *Immunol Lett* 1985 ; 9 : 109-15.
15. Mochizuki M, Kuwabara T, McAllister C, Nussenblatt RB, Gery I. Adoptive transfer of experimental autoimmune uveoretinitis in rats : immunopathogenic mechanisms and histological features. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985 ; 26 : 1-9.
16. Salinas-Carmona MC, Nussenblatt RB, Gery I. Experimental autoimmune uveitis in the athymic nude rat. *Eur J Immunol* 1982 ; 12 : 481-4.
17. Caspi RR, Roberge FG, McAllister CG, et al. T cell lines mediating experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in the rat. *J Immunol* 1986 ; 136 : 928-33.
18. Caspi RR, Roberge FG, McAllister CG, et al. Use of T cell lines in the study of induction and regulation of experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in the rat. In : Secchi, ed. *Fourth International Symposium on Immunology and Immunopathology of the Eye*. Milan : Masson Italia Editori, 1986 (sous presse).

* Idiotypic et anti-idiotypic : voir *m/s* n° 5, vol. 1, p. 275.

spécifiquement certains épitopes dans la molécule d'antigène-S. L'injection au rat de l'anticorps monoclonal S2D2 simultanément à l'immunisation avec l'Ag-S empêche complètement l'apparition de l'UAE, celle de l'anticorps S6H8 la supprime incomplètement [25]. Cela suggère que les épitopes reconnus par S2D2 et

S6H8 sont impliqués dans l'activité pathogène. Le mode d'action de ces idiotypes* serait de masquer ces épitopes pathogènes de l'Ag-S, empêchant leur présentation au système immunitaire. Dans ce protocole expérimental, des anticorps anti-idiotypic* anti-S2D2 sont détectés à un taux faible dans les sérums.

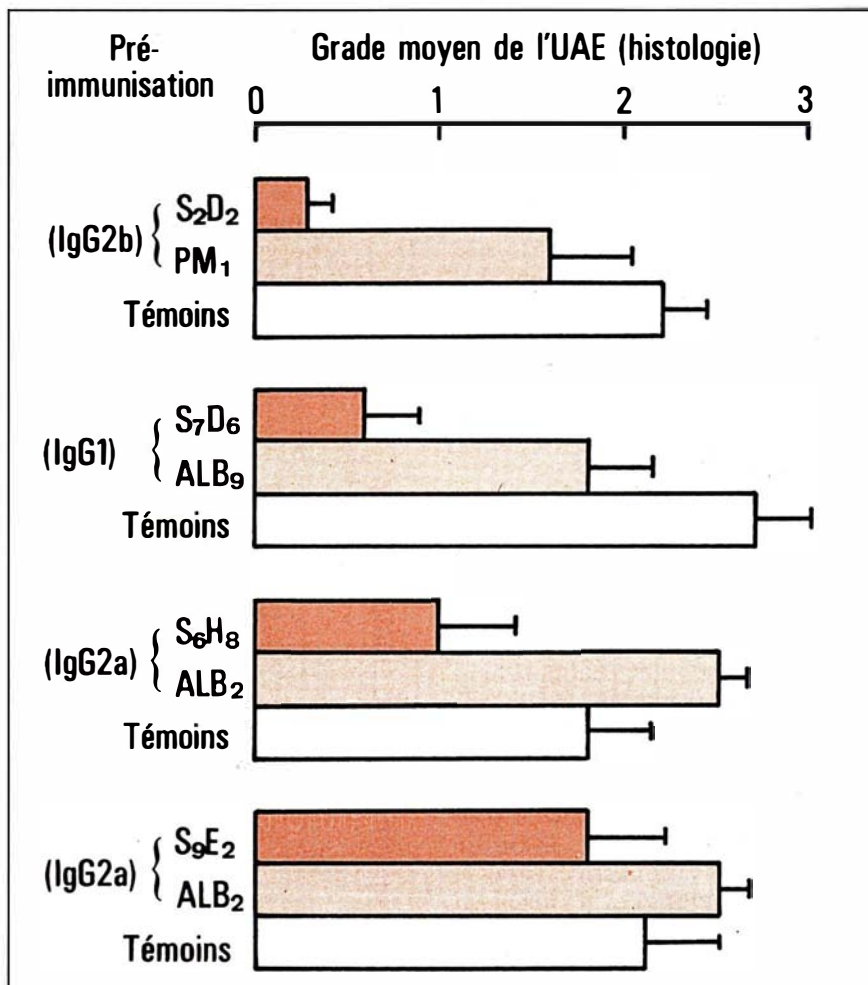


Figure 4. Prévention de l'UAE induite par l'antigène-S de bœuf chez la rat Lewis par immunisation active avec des anticorps monoclonaux dirigés contre l'antigène-S. L'intensité de la maladie est chiffrée selon une échelle 0-3 à l'examen histologique des yeux effectué 60 jours après l'immunisation avec l'Ag-S. Dans cette évaluation, on tient compte de l'importance de l'infiltrat inflammatoire de l'uvée et des milieux transparents de l'œil, et de l'étendue des lésions rétinienne. On a représenté les valeurs moyennes (\pm erreur standard) sur des séries de 5 à 10 rats. Les animaux ayant été pré-immunisés par trois injections des anticorps monoclonaux anti-Ag-S S2D2, S7D6 ou S6H8 avec adjuvant de Freund ont une réponse pathologique oculaire très atténuée par rapport à deux types de témoins : rats pré-immunisés avec des anticorps monoclonaux de même isotype mais d'autres spécificités (PM1, ALB9, ALB2) et rats non pré-immunisés. Les anticorps S2D2, S7D6 et S6H8 reconnaissent l'Ag-S de tous les vertébrés. L'anticorps S9E2, spécifique de l'antigène-S du bœuf, n'a pas d'effet inhibiteur sur l'UAE.

L'hyperimmunisation des rats contre des anticorps monoclonaux anti-Ag-S produit un taux élevé d'anticorps anti-idiotype. Si l'on immunise ensuite ces rats avec l'antigène, la maladie est supprimée ou atténuée, surtout chez ceux pré-immunisés par S2D2 [26] (figure 4). Le mécanisme de cette suppression est hypothétique. Si la réponse anti-idiotypique en est responsable, on peut concevoir qu'elle empêche la production d'auto-anticorps pour l'épitope correspondant de l'Ag-S, ou qu'elle bloque, sur l'auto-anticorps, le site de reconnaissance de cet épitope sous forme de complexe idiotype-anti-idiotype. Des anti-idiotypes image interne portés soit par des immunoglobulines, soit par des cellules T, pourraient aussi interagir avec les récepteurs

pour les épitopes pathogènes, portés par des lymphocytes *helper* (effet bloquant) ou suppresseurs (effet stimulant).

Les résultats de cette « vaccination idiotypique » engagé à orienter les tentatives d'immunorégulation vers le blocage spécifique de la réponse immune à un ou plusieurs épitopes de l'auto-antigène qui seraient particulièrement impliqués dans la production de la maladie. Des protocoles devront être établis pour infléchir l'équilibre immunitaire dans le sens de l'inhibition de la réponse immune.

Uvéo-rétinites humaines et auto-immunité

La production d'une maladie expérimentale par immunisation avec un auto-antigène est un

argument en faveur d'une pathogénie auto-immune d'affections humaines analogues. Il existe des équivalents cliniques de l'UAE, uvéites postérieures (choroïdites, chorio-rétinites), rétinites inflammatoires et rétinopathies dégénératives. De nombreuses entités sont distinguées, d'après leurs circonstances d'apparition, la sévérité de l'inflammation, la localisation et le type des lésions observées au fond de l'œil, leur mode évolutif. Certaines sont rapidement résolutive, d'autres sont subaiguës ou chroniques ou récidivantes. En détruisant les photorécepteurs, cellules sans pouvoir de régénération, les formes chroniques sont une cause fréquente de cécité ; on les traite par les corticostéroïdes, et les cas graves sont l'indication de traitements immunodépresseurs,

RÉGULATION IDIOTYPIQUE ET AUTO-IMMUNITÉ

La réponse immunitaire — et par suite ses conséquences pathologiques — est contrôlée par des mécanismes régulateurs qui sont responsables du choix du type de réponse et du niveau de cette réponse par un équilibre entre des facteurs amplificateurs et inhibiteurs. Ils sont responsables, en particulier, de l'extinction spontanée de la réponse immunitaire. Certains facteurs de régulation agissent de façon non spécifique, mais les plus importants contrôlent spécifiquement la réponse à un antigène particulier. Un effort considérable est consacré à l'analyse des mécanismes immunomodulateurs dans les maladies auto-immunes, dont l'un des objectifs est de proposer des moyens d'immunodépression spécifique.

La théorie du réseau idiotypique (a) rend compte de différents aspects de l'immunorégulation spécifique au niveau cellulaire et humoral. Elle s'applique à la régulation de la réponse auto-immune (« réseau auto-immunitaire » (b,c)).

Les immunoglobulines ont trois niveaux d'hétérogénéité définis par des déterminants antigéniques, les

isotypes, les allotypes et les idiotypes.

Les isotypes et les allotypes sont situés dans la région constante. Les isotypes, qui définissent la classe et la sous-classe de l'immunoglobuline, sont identiques chez tous les individus d'une espèce. Les allotypes présentent des variations entre des groupes d'individus au sein d'une même espèce.

Les idiotypes (Id) sont des déterminants antigéniques exprimés dans la région hypervariable, où se fixe l'antigène. Un antigène stimule la production d'un anticorps (Ac 1). Celui-ci induit la production d'Ac 2 dirigés contre les déterminants antigéniques de l'Ac 1. Les Ac 2 anti-Id sont dirigés contre des déterminants de la région hypervariable de l'Ac 1. Il existe trois types d'idiotypes : α ou publique, β et γ ou privés. Les Id β et γ sont localisés dans le site de liaison avec l'antigène. Les anti-Id β sont appelés aussi « image interne » parce que leur structure reproduit le déterminant antigénique (épitope) de l'antigène. Ils peuvent donc entrer en compétition avec l'antigène au niveau du site de liaison de l'Ac 1. L'inte-

raction des anti-Id avec les idiotypes des immunoglobulines et avec les récepteurs pour l'antigène portés par les lymphocytes T produit un équilibre au sein du système immunitaire. L'équilibre du réseau idiotypique peut être modifié ou déplacé dans le sens de la suppression de la réponse immunitaire.

Dans ce but, différents protocoles sont appliqués à l'inhibition des maladies auto-immunes expérimentales : injections répétées de l'auto-antigène, injection d'anticorps anti-Id, immunisation (vaccination) contre l'idiotype ou contre des lymphocytes spécifiques de l'antigène (revues b-d).

a. Jerne NK. Idiotypic network and other pre-conceived ideas. *Immunol Rev* 1984 ; 79 : 5-24.

b. Zanetti M. Idiotypic regulation of autoantibody production. *Crit Rev Immunol* 1986 ; 6 : 151-83.

c. Zanetti M. Idiotypic network and its relevance to autoimmune diseases ; functional considerations. *Concepts in Immunopathology* 1986 ; 3 : 253-84.

d. Colvin RB, Olson KA. Idiotypes in autoimmune diseases. *Concepts in Immunopathology* 1985 ; 1 : 133-72.

RÉFÉRENCES

19. Roberge FG, Caspi RR, Chan CC, Stein P, Nussenblatt RB. Antigen presentation by retinal glial cells. In : Secchi, ed. *Fourth International Symposium on Immunology and Immunopathology of the Eye*. Milan : Masson Italia Editori, 1986 (sous presse).
20. De Kozak Y, Sainte-Laudy J, Benveniste J, Faure JP. Evidence for immediate hypersensitivity phenomena in experimental autoimmune uveoretinitis. *Eur J Immunol* 1981 ; 11 : 612-7.
21. Faure JP, De Kozak Y. Cellular and humoral reactions to retinal antigen ; specific suppression of experimental uveoretinitis. In : Helmsen RJ, Suran A, Gery I, Nussenblatt RB, eds. *Immunology of the Eye, NIH Workshop 2*, Washington D.C. : Information Retrieval Inc, 1981 : 33-48.
22. Marak GE Jr, Wacker WB, Rao NA, Jack R, Ward PA. Effects of complement depletion on experimental allergic uveitis. *Ophthalmic Res* 1979 ; 11 : 97-107.
23. De Kozak Y, Sainte-Laudy J, Sakai J, Benveniste J, Faure JP. Immediate hypersensitivity in experimental retinal autoimmunity. In : O'Connor GR, Chandler JW, eds. *Advances in Immunology and Immunopathology of the Eye*. New York : Masson, 1985 : 125-30.
24. Mochizuki M, Kuwabara T, Chan C, Nussenblatt RB, Metcalf DD, Gery I. An association between susceptibility to experimental autoimmune uveitis and choroidal mast cell numbers. *J Immunol* 1984 ; 133 : 1699-701.
25. De Kozak Y, Mirshahi M, Boucheix C, Faure JP. Inhibition of experimental autoimmune uveoretinitis in rats with S-antigen-specific monoclonal antibodies. *Eur J Immunol* 1985 ; 15 : 1107-11.
26. De Kozak Y, Mirshahi M, Boucheix C, Faure JP. Prevention of experimental autoimmune uveoretinitis by active immunization with autoantigen-specific monoclonal antibodies. *Eur J Immunol* 1987 (sous presse).
- en particulier par la cyclosporine. Certaines chorio-rétinites ou rétinites ont une cause infectieuse (toxoplasmose, onchocercose), d'autres sont l'un des composants d'une maladie immunologique systémique (maladie de Behçet, sarcoïdose), d'autres associent aux signes oculaires une atteinte neuro-méningée (maladie de Harada, ophtalmie sympathique). La plupart sont isolées et semblent relever d'un processus pathologique purement local. Des anomalies des sous-populations lymphocytaires circulantes, des taux d'immunoglobulines, du complément, la présence de complexes immuns, traduisent des perturbations du système immunitaire. Certaines uvéo-rétinites sont associées à un phénotype HLA particulier, comme la « *birdshot retinochoroidopathy* » où 80 % des patients ont l'antigène HLA-A29 (contre 7,4 % des sujets témoins). Cette maladie a été décrite histologiquement comme identique à l'UAE induite par l'antigène-S chez le singe. L'ophtalmie sympathique, dont les lésions sont également identiques à celles de l'UAE du cobaye, a été considérée comme une maladie auto-immune dès l'origine de la notion d'auto-immunité au début du XX^e siècle. C'est une uvéite chronique d'un œil survenant quelques semaines ou mois après une plaie, et une inflammation de l'autre œil. Dans le modèle expérimental d'UAE, des aspects très divers sont obtenus selon le niveau de l'immunisation, la constitution génétique de l'animal et le stade d'évolution : inflammation massive ou minime, diffuse ou en foyer granulomateux, à résolution rapide ou à évolution chronique. Ce polymorphisme des effets de l'immunisation contre la rétine engage à rechercher cette auto-immunité dans les maladies rétinienne et les uvéites les plus diverses. Près de cent publications sur ce sujet, depuis 1971, montrent en effet que des auto-anticorps et une sensibilisation des lymphocytes des malades contre la rétine sont présents dans 20 à 100 % des cas selon le type de maladie chorio-rétinienne, fréquence significativement supérieure aux séries témoins. Les techniques immunocytochimiques montrent que les sérums des malades réagissent avec les cellules photoréceptrices et quelques autres constituants de la rétine. Par ELISA, on détecte des anticorps contre l'antigène-S. L'utilisation pour les tests en clinique des autres auto-antigènes récemment identifiés sera encore une source de progrès. Les résultats des tests de transformation lymphoblastique (TTL) et d'inhibition de migration des leucocytes (TIML), ainsi que du test de dégranulation des basophiles (TDBH) avec l'antigène-S montrent une certaine corrélation avec les caractères évolutifs de la maladie oculaire, suggérant un rôle pathogénique de processus auto-immunitaires : ils sont plus souvent positifs dans les inflammations actives qu'en période de cicatrisation, dans les récurrences que lors du premier épisode, dans les formes subaiguës, traînantes, évolutives, malignes, ou secondairement bilatéralisées (sympathie). Dans les rétinites parasitaires, dans le décollement de rétine idiopathique ou les vasculopathies rétinienne du diabète, l'auto-immunisation, évidemment secondaire, peut être un facteur d'inflammation. Dans les uvéo-rétinites et dystrophies rétinienne d'étiologie inconnue, qui constituent la grande majorité de ces affections, l'auto-immunité peut être un facteur causal, ou la cause unique de la maladie.

Conclusion

Les caractéristiques de l'UAE confèrent à ce modèle oculaire certains avantages pour analyser les mécanismes responsables de l'auto-immunité organo-spécifique et les moyens d'influencer l'immunorégulation vers la suppression de maladies auto-immunes. L'induction de l'UAE est efficace dans cent pour cent des cas chez certaines espèces ou lignées dans des conditions stan-

dard. Les lésions du tissu cible sont observées directement, et à un fort grandissement, à travers la fenêtre transparente de la cornée et peuvent être photographiées, grâce à la lampe à fente et le rétinographe. Une simple observation clinique, répétée chaque jour, permet de quantifier la réaction pathologique, sans risque de la modifier, et de suivre ainsi, par exemple, l'activité d'une thérapeutique. L'œil, organe double, est très aisément accessible à l'expérimentation et à l'observation.

L'absence de réponse de la souris à la maladie, malgré une bonne réponse humorale à l'antigène-S, limite actuellement les recherches en immunogénétique et en immunologie cellulaire. Toutefois, elle ouvre elle-même la voie à des travaux sur la tolérance naturelle aux antigènes rétiens. Mais plusieurs lignées de rats pour lesquelles on possède aussi des marqueurs des antigènes d'histocompatibilité et des sous-populations lymphocytaires, sont très susceptibles.

Les auto-antigènes actuellement identifiés et purifiés sont des protéines spécifiques des cellules photoréceptrices de la rétine et de leurs équivalents dans l'épiphyse (pinéalocytes). L'uvéïte-rétinite expérimentale s'accompagne d'une pinéalite qui sera utile pour explorer la fonction neuro-endocrinienne et la pathologie de la glande pinéale. Ces mêmes protéines sont l'objet d'études biochimiques très poussées dans le but de déchiffrer les mécanismes moléculaires de la phototransduction (voir l'article de J. Plouët dans ce numéro). L'identification des séquences impliquées dans la fonction visuelle et de celles responsables de l'auto-antigénicité est menée parallèlement. Des anticorps monoclonaux reconnaissant différents épitopes sur la molécule d'antigène-S sont utilisés pour identifier les épitopes pathogènes, notamment in vivo par l'intermédiaire de la réponse anti-idiotypique suppressive. Un épitope, reconnu par l'anticorps monoclonal S2D2, est particuliè-

rement impliqué dans la réaction auto-immune. Ce même épitope, présent dans divers groupes d'invertébrés comme chez tous les vertébrés, a été particulièrement conservé durant l'évolution, ce qui suggère une fonction importante. Ce paradoxe signifie-t-il que la propriété d'auto-antigénicité que possèdent certaines structures moléculaires est elle-même en rapport avec une fonction physiologique ?

Les ophtalmologistes attendent des recherches sur l'UAE qu'elles apportent des moyens thérapeutiques dans les maladies humaines équivalentes. Dans ces rétinites et uvéites, on observe souvent que le système immunitaire est sensibilisé contre des substances de la rétine, et l'auto-immunité est considérée comme une étiologie probable. Devant la toxicité et les effets secondaires des traitements immunodépresseurs dont on dispose, l'espoir réside en la découverte de moyens d'immunorégulation dirigés spécifiquement contre le processus pathologique intra-oculaire ■

GLOSSAIRE

Uvéite : maladie inflammatoire de l'uvéa, ensemble de tissus vascularisés et pigmentés de l'œil (voir figure 1 de l'éditorial). Elle peut être localisée à la choroïde (choroïdite), au corps ciliaire (cyclite), à l'iris (iritis). Quel que soit son point de départ (rétine, cristallin...), toute inflammation endoculaire donne lieu à une uvéite.

Épithélium pigmentaire de la rétine : feuillet externe de la rétine, qui sépare la neuro-rétine de la choroïde. Une de ses fonctions essentielles est la phagocytose de l'extrémité des segments externes des cellules photoréceptrices (bâtonnets et cônes). Cette phagocytose équilibre une synthèse très active, par ces cellules, des protéines constitutives des segments externes, la rhodopsine, photopigment des bâtonnets et les protéines de la phototransduction. Les segments externes sont ainsi constamment renouvelés.

Summary

Autoimmune mechanisms are thought to play a major role in inflammatory diseases of the retina and uvea and seem to be involved also in retinal degenerations. Several proteins specifically located in retinal photoreceptor cells (and, for some of them, in the pineal gland) are autoantigens inducing « experimental autoimmune uveoretinitis » (EAU) in laboratory animals. This model is convenient for analyzing immune mechanisms that lead to organ-specific autoimmune disease, for testing immunosuppressive therapy and for influencing immunoregulation toward disease suppression. Monoclonal antibodies to « S-antigen », the principal retinal autoantigen, allow epitope analysis of this molecule. Injections of some of these antibodies stimulate an anti-idiotypic response and suppress S-antigen induced EAU in rats.

Identification of the epitopes of the autoantigen involved in disease production, and modulation of the idiotypic network for these epitopes can lead to future therapeutic resources in autoimmune disease.

TIRÉS A PART

Y. de Kozak, M. Mirshahi, J.-P. Faure : laboratoire d'immunopathologie de l'œil, Inserm U 86, Hôtel-Dieu, 1, place du Parvis Notre-Dame, 75181 Paris Cedex 04.