

## Le paradoxe de l'exclusion allélique

### Énoncé du paradoxe

Les lymphocytes n'expriment en général qu'un seul récepteur de l'antigène à leur surface. Chacune des chaînes de ce récepteur correspond à l'expression d'un seul gène sur un seul allèle [1]. Sur un plan physiologique, le système immunitaire ne semble pas pouvoir admettre deux unités de reconnaissance différentes à la surface du même lymphocyte, une telle dualité pouvant probablement perturber le système si un récepteur est utile à l'organisme et l'autre est agresseur, c'est-à-dire s'il a une fonction dirigée contre une structure du soi (fonction auto-immune).

Les seuls équivalents connus d'expression mono-allélique (et monogénique) chez les eucaryotes concernent l'expression de certains récepteurs à la surface des cellules NK (cellules cytotoxiques naturelles) [2], l'expression des récepteurs olfactifs [3], l'inactivation du chromosome X [4] ainsi que l'ensemble des gènes soumis au phénomène d'empreinte génétique [5]. L'expression mono-allélique des récepteurs de l'antigène des lymphocytes que l'on nomme exclusion allélique dans le jargon immunologique se distingue des cas précédents par le fait : (1) qu'elle met en jeu un assemblage (mécanisme dit de réarrangement) de segments géniques situés en *cis* sur le même chromosome, ces segments étant dans la plupart des cas séparés par plusieurs centaines de kilobases [6]; (2) que cet assemblage se fait pour les lymphocytes T et B grâce à la même machinerie enzymatique dite recombinaison au cours du développement thymique pour les lymphocytes

T et médullaire pour les lymphocytes B ; (3) que si cet assemblage se fait de manière productive, c'est-à-dire en respectant la phase de lecture de la protéine (un cas sur trois, théoriquement), l'autre allèle doit ensuite être inaccessible au mécanisme de réarrangement ; (4) que si cet assemblage ne se fait pas de manière fonctionnelle sur le premier allèle, il peut être essayé sur l'autre allèle.

Le paradoxe du phénomène d'exclusion allélique, si on peut l'énoncer en termes simples, est : comment contrôler différemment deux gènes identiques. Sur le plan de l'explication moléculaire, il faut donc qu'au moment du déclenchement du réarrangement les deux allèles n'effectuent pas le processus en même temps, ce qui provoquerait la formation dans un certain nombre de cas de cellules pouvant exprimer deux chaînes fonctionnelles différentes. Pour atteindre cela (les cellules doubles productrices n'étant pas présentes), il faut envisager que ne puisse être accessible à la fois qu'un seul allèle, l'autre étant fermé provisoirement, ou bien que, de façon stochastique, une limitation en facteurs/enzymes/temps puisse ne permettre qu'à un seul allèle d'essayer de rapprocher ses segments géniques codant pour le récepteur de l'antigène.

Sur le plan phylogénétique, on a trouvé l'existence d'un système immunitaire complet chez tous les vertébrés étudiés et, en général, en dehors de quelques exceptions, la différenciation T ou B se fait toujours par le processus de l'assemblage des segments géniques du récepteur de l'antigène. Ce processus de réarrangement est donc extrêmement conservé des poissons à l'homme. Il en est de même

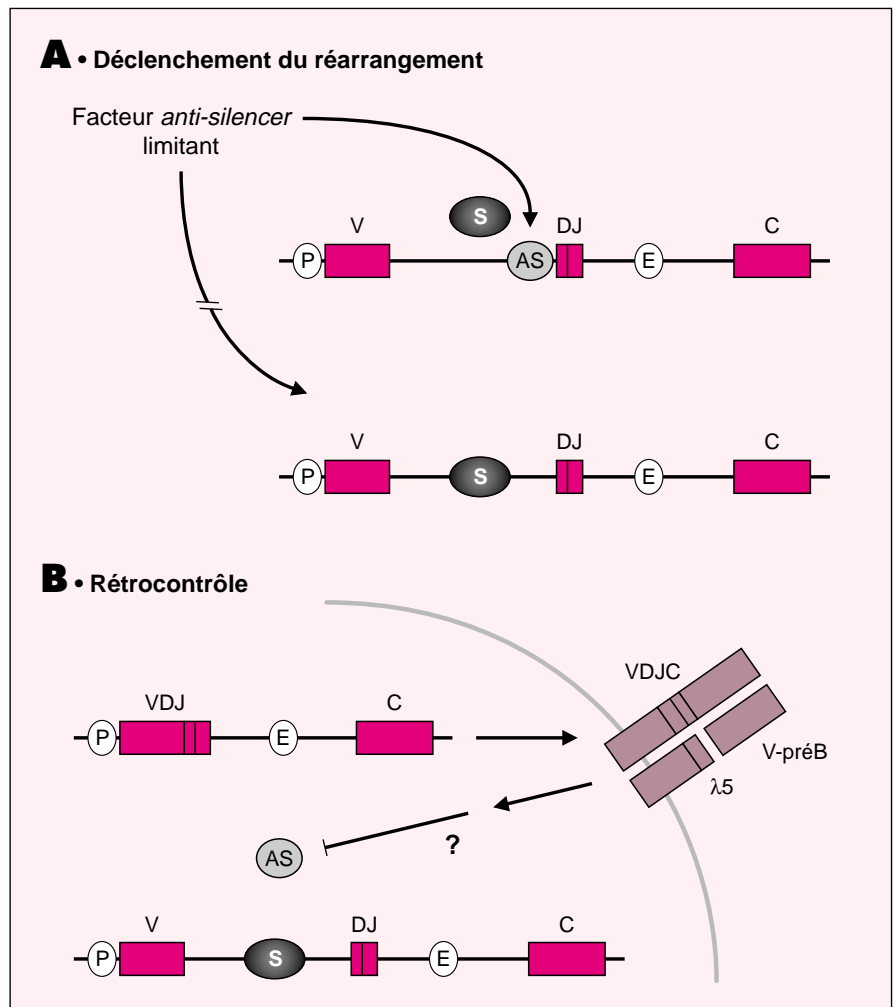
des gènes *RAG1* et *RAG2*, récemment isolés, qui contrôlent l'activité de recombinaison (*m/s n° 8, vol. 6, p. 820*). Il est donc tentant de penser que le réarrangement a été sélectionné pour contrôler ce processus dans la mesure où un allèle réarrangé par délétion a perdu de l'ADN, et donc, éventuellement, une information génétique, et va pouvoir être contrôlé différemment de l'autre allèle qui a conservé cette information [7].

### Faits expérimentaux

Par analogie avec ce qui est connu pour la transcription, Alt *et al.* ont proposé que c'est l'état du locus ou sa configuration chromatiniennne ouverte ou fermée qui confère son accessibilité à la recombinaison [6]. Les études de souris transgéniques pour les substrats de recombinaison et de souris mutantes par recombinaison homologue ont, en effet, montré que les éléments régulateurs de la transcription, promoteurs et *enhancers*, sont nécessaires pour la survenue du réarrangement mais que, très probablement, d'autres éléments doivent intervenir dans ce processus [6]. Cette proposition s'est donc avérée exacte mais insuffisante car elle n'expliquait pas l'exclusion allélique, c'est-à-dire le contrôle interallèle à l'intérieur d'une même cellule. L'analyse de souris transgéniques pour le locus de la chaîne légère de poulet nous a permis d'aborder cette question car, ce locus étant très compact, la région délétée lors du réarrangement, située entre les segments géniques à rapprocher, n'est que de 2 kb [8]. Ainsi, la mutagenèse systématique de cette région nous a permis de voir si celle-ci contenait une information géné-

tique qui lui était propre. Les résultats obtenus ont été frappants. Le segment de 2 kb est composé d'un élément *silencer* de réarrangement et d'un ou deux éléments pouvant contrecarrer cet élément *silencer* que nous avons appelé *anti-silencer* [9]. Cette observation suggérait qu'outre les facteurs de transcription, il fallait déréguler l'effet *silencer* pour permettre le réarrangement, et l'on pouvait imaginer [10] : (1) que cette dérégulation transitoire pouvait devenir le facteur limitant ne permettant qu'à un seul allèle par cellule d'essayer le réarrangement (façon stochastique) (*figure 1A*); (2) qu'une fois cette dérégulation terminée, l'élément répresseur et les facteurs le concernant pouvaient inhiber le réarrangement sur l'autre allèle, tout en laissant présents dans la cellule les facteurs de transcription nécessaires à l'expression de la chaîne réarrangée et les gènes de la recombinase en pleine activité (ce qui est tout particulièrement le cas du locus de la chaîne lourde pour lequel l'exclusion allélique doit être maintenue pendant le réarrangement plus tardif de la chaîne légère) (*figure 1B*); (3) enfin, l'observation que la souris transgénique pouvait contrôler le réarrangement d'un locus de poulet montrait que cette espèce avait probablement conservé les mêmes éléments régulateurs pour son propre compte.

Des résultats préliminaires de notre laboratoire semblent aller dans cette direction. L'une des séquences *anti-silencer* de poulet présente une forte analogie avec deux sites palindromiques situés dans la région à déléter entre V et J sur le locus de la chaîne légère  $\kappa$  de souris. Il a été montré que ces sites fixent une protéine appelée KLP dans les cellules de la lignée B [11]. La mutation par recombinaison homologue de ces sites chez la souris a montré le même phénotype que celui obtenu en réalisant cette même mutation sur le locus du poulet, c'est-à-dire une forte inhibition du réarrangement [12]. Nos expériences actuelles essaient de montrer que cette inhibition est effectivement causée, comme chez le poulet, par l'effet dominant d'un *silencer* de réarrangement adjacent au site *anti-silencer*



**Figure 1. Exclusion allélique de la chaîne lourde des immunoglobulines : hypothèse d'un contrôle par un couple silencer/anti-silencer.** Le couple d'éléments régulateurs silencer/anti-silencer a été décrit pour le locus de la chaîne légère de poulet, ainsi qu'un analogue de l'élément anti-silencer sur le locus de la chaîne légère kappa de souris. Le schéma représenté ici décrit le fonctionnement hypothétique d'une telle régulation sur le locus de la chaîne lourde de souris. **A.** Au moment du déclenchement du réarrangement et de façon conjointe à l'action des éléments régulateurs de la transcription, promoteur (P) et enhancer (E), le caractère limitant du facteur anti-silencer (AS) ne permet la suppression de l'activité silencer (en déplaçant les facteurs responsables (S) par exemple) que sur un allèle qui devient alors accessible à la recombinase. L'autre allèle reste inaccessible du fait de la persistance de l'activité silencer. **B.** Lorsqu'un premier allèle a été réarrangé de manière fonctionnelle, le rétrocontrôle négatif pourrait s'exercer, par l'intermédiaire du récepteur préB (composé de la chaîne lourde associée aux éléments V-préB et  $\lambda 5$ ), en inhibant l'action du facteur anti-silencer. La persistance de l'élément silencer sur l'autre allèle empêche tout réarrangement malgré la présence des facteurs de transcription (nécessaires pour l'expression de l'allèle réarrangé) et la réinduction de l'activité recombinase (nécessaire au réarrangement de la chaîne légère).

cer muté. A nouveau, la présence de ces éléments dans les régions délétées sur le locus de la chaîne légère des immunoglobulines permet d'impliquer les régions excisées par le réarrangement dans le contrôle de l'exclusion allélique. Si ce modèle s'avère exact, il doit pouvoir s'appliquer au réarrangement de la chaîne lourde des immunoglobulines et de la chaîne  $\beta$  du récepteur T, qui lui est analogue en tous points au niveau de sa régulation.

L.F.  
L.C.  
C.-A.R.  
J.-C.W.

1. Pernis B, Chiappino G, Kelus AS, Gell PGH. Cellular localization of immunoglobulins with different allotypic specificities in rabbit lymphoid tissues. *J Exp Med* 1965 ; 122 : 853-76.
2. Held W, Roland J, Raulat DH. Allelic exclusion of *Ly49* family genes encoding class I MHC-specific receptors on NK cells. *Nature* 1995 ; 376 : 355-8.
3. Chess A, Simon I, Cedar H, Axel R. Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression. *Cell* 1994 ; 78 : 823-34.
4. Okada S, Alt FW. The variable region gene assembly mechanism. In: *Immunoglobulin genes*, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Academic Press, 1995 : 205-34.
5. Razin A, Cedar H. DNA methylation and genomic imprinting. *Cell* 1994 ; 77 : 473-6.
6. Okada S, Alt FW. The variable region gene assembly mechanism. In: *Immunoglobulin genes*, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Academic Press, 1995 : 205-34.
7. Weill JC, Reynaud CA. Rearrangement/hypermutation/gene conversion: when, where and why ? *Immunol Today* 1996 ; 17 : 92-7.

8. Bucchini D, Reynaud CA, Ripoche MA, Grimal H, Jami J, Weill JC. Rearrangement of a chicken immunoglobulin gene occurs in the lymphoid lineage of transgenic mice. *Nature* 1987 ; 326 : 409-11.
9. Lauster R, Reynaud CA, Martensson L, Peter A, Bucchini D, Jami J, Weill JC. Promoter, enhancer, and silencer elements regulate rearrangement of an immunoglobulin transgene. *EMBO J* 1993 ; 12 : 4615-23.
10. Ferradini L, Reynaud CA, Lauster R, Weill JC. Rearrangement of the chicken lambda light chain locus: a silencer/antisilencer regulation. *Semin Immunol* 1994 ; 6 : 165-73.
11. Weaver D, Baltimore D. B lymphocyte-specific protein binding near an immunoglobulin  $\kappa$ -chain gene J segment. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 1516-20.
12. Ferradini L, Gu H, De Smet A, Rajewsky K, Reynaud CA, Weill JC. Rearrangement-enhancing element upstream of the mouse immunoglobulin kappa chain J cluster. *Science* 1996 ; 271 : 1416-20.

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Régulation antagoniste de l'activation des lymphocytes T par des tyrosine kinases et des tyrosine phosphatases.** Nous avons déjà rapporté dans *médecine/sciences* que la molécule de coactivation B7 des lymphocytes T interagissait avec deux types de récepteurs à la membrane des lymphocytes T: CD28 et Ctl4. CD28 est une molécule d'activation auxiliaire dont la liaison au ligand B7 coopère avec le signal de l'antigène passant par le complexe récepteur TCR/CD3 dans l'induction d'une cascade de phosphorylations qui mettent en jeu plusieurs tyrosine kinases dénommées Fyn, Lck et ZAP-70 [1]. En revanche, la molécule Ctl4 interagit avec la protéine phosphatase Syp et agit comme un inhibiteur de l'activation lymphocytaire (*m/s n°1, vol. 12, p. 119*). Des souris dont les deux allèles du gène *Ctl4* ont été invalidés par recombinaison homologue ont des signes d'activation lymphocytaire chronique avec manifestations auto-immunes ; l'équipe de Tak W. Mac (Toronto, Canada), à l'origine de ces travaux, montre que ces souris *Ctl4*<sup>-/-</sup> activent en permanence la voie de transmission du signal relayé par les protéine tyrosine kinases précédemment citées et la molécule p21<sup>Ras</sup>. En effet, en l'absence de la molé-

le Ctl4, la protéine phosphatase Syp n'est pas recrutée et ne peut donc pas contrecarrer l'effet des protéine tyrosine kinases activées, et notamment entraîner la déphosphorylation du régulateur de Ras dénommé Shc [2]. Le rôle fondamental d'un rétrocontrôle par les protéines phosphatases est confirmé par une équipe américaine de Saint-Louis (MO, USA) dirigée par Matthew L. Thomas. Ces auteurs montrent en effet que la protéine tyrosine kinase ZAP-70, relayant le signal de l'antigène passant par le récepteur des lymphocytes T, interagit après activation par l'antigène et les molécules auxiliaires avec une autre protéine phosphatase dénommée SHP-1 qui contrecarre l'activité kinasique de ZAP-70. Le caractère inhibiteur de cette interaction est démontré par la sensibilité accrue à l'activation par l'antigène de cellules synthétisant un mutant négatif dominant en *trans* de la protéine tyrosine phosphatase SHP-1 [3]. Ainsi, ces résultats identifient deux voies de transmission d'un signal négatif relayé par des protéine phosphatases : l'activation de Ctl4 survenant après celle de CD28 recrute la tyrosine phosphatase Syp qui inhibe le signal activateur, notamment en déphosphorylant le régulateur de Ras qu'est Shc ; par

ailleurs, l'activation par l'antigène, elle-même relayée, notamment, par ZAP-70, est contrôlée négativement par l'interaction ZAP-70/SHP1 qui limite l'activité de la tyrosine kinase.

- [1. Hivroz C, *et al. médecine/sciences* 1995 ; 11 : 268-72.]  
[2. Marengère LEM, *et al. Science* 1996 ; 272 : 11-70-3.]  
[3. Plas DR, *et al. Science* 1996 ; 272 : 11-73-6.]

## APPEL D'OFFRES 96

Lancé par l'Association



VAINCRE LES  
MALADIES  
LYOSOMALES

Secrétariat de VML  
9, place du 19-Mars-1962,  
91035 Évry Cedex, France  
Tél. : (1) 60.91.75.00 – Fax : (1) 69.36.93.50

**VML**  
**s'associer, c'est gagner**  
**du temps**