

Académie des sciences

Séance solennelle de réception des Membres élus en 2003
15 juin 2004

**"Reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T :
un déchiffrement moléculaire et structural"
Bernard Malissen**

Avant toute chose, je voudrais vous remercier pour l'honneur que vous me faites en m'acceptant dans votre Compagnie.

Dans le début des années 70, très peu de prises expérimentales étaient disponibles pour étudier les extraordinaires propriétés d'organismes vivants complexes tels que la souris. Quelques généticiens, auréolés de leur succès dans l'étude de microorganismes modèles, commençaient à s'intéresser à une région du chromosome 17 de la souris, dite complexe Tt, et ce dans la mesure où elle semblait contrôler le développement embryonnaire de la souris. A quelques centimorgans de cette région se trouvait le complexe majeur d'histocompatibilité de la souris. Ce dernier était responsable du rejet de greffes par le système immunitaire. Le hasard d'obligations militaires effectuées à l'Institut de médecine tropicale du Pharo à Marseille m'amena à suivre le cours d'Immunologie fondamentale de Michel Fougereau. Après tout le complexe T-t n'était pas localisé si loin que cela du complexe H-2 ! Après quelques mois, fasciné par les cours de Michel Fougereau et les nombreuses questions en suspens, je savais que dorénavant, je m'attacherai à comprendre quelle était la structure de reconnaissance synthétisée par les lymphocytes T afin de reconnaître de manière spécifique des antigènes d'origine virale, microbienne, ou parasitaire. Michel Fougereau me convainquit aisément que le Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy, alors dans sa première année d'existence, constituait le lieu idéal pour de telles recherches.

Sur les conseils de Claude Mawas, je portais alors mon intérêt sur la mise au point de techniques permettant de réduire la complexité des populations de lymphocytes T en les clonant, puis en les propageant *in vitro* à l'aide de facteurs de croissance spécifiques. Ce matériel constituait l'outil idéal pour mettre en place un crible différentiel permettant de tenter d'identifier le récepteur pour l'antigène des lymphocytes T, le "TCR" dans le jargon des immunologistes. Avec l'aide de François Kourilsky, la technique des anticorps monoclonaux, alors balbutiante, me permit d'identifier quelques structures moléculaires exprimées à la surface de ces lymphocytes T et impliquées dans la fonction de ces derniers. Cependant, il semblait clair que l'identification du TCR ne constituerait qu'une étape intermédiaire. Il fallait dorénavant développer de nouvelles approches permettant d'exprimer des gènes dans des lymphocytes T afin de pouvoir les reprogrammer et, à terme, reconstruire de novo la cascade d'événements permettant à ces derniers de convertir un signal de reconnaissance antigénique extracellulaire en une cascade de signaux intracellulaires. Je développais les grandes lignes de ces techniques de transfert génique durant mon stage post-doctoral à Caltech. Après avoir ajouté cette nouvelle corde à mon arc, je choisis de retourner au Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy pour y développer, avec l'aide de Marie Malissen, une équipe de recherche.

Nous avons alors démontré quels produits géniques suffisaient à reprogrammer un lymphocyte T et lui permettre de reconnaître spécifiquement des molécules du système majeur d'histocompatibilité (CMH). Ces résultats ouvraient la voie à la reconstruction par

transfert génique des édifices multi-moléculaires plus complexes impliqués dans les phénomènes d'activation lymphocytaire T. Ainsi partant d'un lymphocyte T mutant dénué de toute structure de reconnaissance, nous avons pu y transférer successivement cinq gènes et démontrer que le TCR était associé à plusieurs modules de transduction autonomes. Sur cette base expérimentale, ainsi qu'à partir d'arguments évolutifs basés sur l'organisation exon-intron des gènes codant pour les unités de transduction du TCR, nous avons pu unifier les modalités de transduction mise en oeuvre par le TCR, à récepteur pour l'antigène des lymphocytes B et certains récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines.

Les travaux précédents utilisaient essentiellement des cellules maintenues en culture. Compte tenu de leur caractère "transformé", ces cellules ne reflétaient que partiellement les propriétés fonctionnelles de lymphocytes T rencontrés *in vivo*. De ce fait, une partie de nos recherches s'est alors orientée vers la construction de souris "KO/KI" présentant des déficiences pour des molécules impliquées dans l'arborescence de transduction utilisée par le TCR. Parmi la quinzaine de lignée KO/KI engendrées, il semble important de souligner les résultats obtenus lors de la construction d'une série allélique comportant des mutations graduelles des tyrosines présentes au niveau de l'adaptateur LAT. LAT constitue une sorte de détecteur de coïncidence intégrant de nombreux signaux en provenance de la surface du lymphocyte T. L'étude de ces souris mutantes nous a permis de décrire une nouvelle pathologie qui se traduit par la mise en place, avec une cinétique extraordinairement précoce, d'une prolifération à cellules CD4, produisant électivement des cytokines de type TH2. Ces résultats démontrent ainsi que LAT constitue un "noeud de communication" particulièrement vulnérable de la cassette de transduction opérée par le TCR, et joue un rôle déterminant dans l'homéostasie et la différenciation terminale des lymphocytes T.

Plus récemment, en collaboration avec Dominique Housset, nous avons déterminé la première structure tridimensionnelle d'un complexe impliquant un TCR alloréactif et son ligand peptide/MHC. L'alloréactivité est la réaction immunitaire qui se développe lorsqu'un organe est greffé à un individu dont le CMH diffère de celui du greffon. Cette réaction est à la base de manifestations cliniques telles que les rejets de greffe ou les réactions du greffon contre l'hôte. De manière surprenante ces résultats ont montré que les TCRs alloréactifs exploitaient les similitudes de structure entre les molécules de CMH du "soi" et les molécules CMH allogéniques. En permettant de comprendre les bases moléculaires rendant compte de l'intensité de l'alloréactivité, ces résultats inattendus nous ont conduit à une proposition permettant de diminuer l'intensité de telles réactions. Par ailleurs, nous avons pu pour la première fois étudier l'amplitude des réorganisations structurales se déroulant au niveau du site de reconnaissance antigénique d'un TCR suite à son engagement avec un ligand spécifique. Nous avons montré qu'un tel site de reconnaissance antigénique était malléable et subissait des mécanismes d'"induced fit" tels que prédits par Linus Pauling dans la seconde moitié du XXe siècle. Ces réarrangements structuraux permettent au TCR de s'adapter à la surface relativement rigide que présente son ligand peptide-CMH, et rendent compte au niveau moléculaire de la dégénérescence du site de reconnaissance antigénique du TCR. Cette propriété semble cruciale dans la mesure où elle permet d'étendre le répertoire de reconnaissance antigénique des lymphocytes T présents à un moment donné au niveau d'un individu.

En conclusion, l'ensemble de nos travaux a donc non seulement permis de contribuer à l'élucidation des mécanismes fondamentaux permettant aux lymphocytes T de détecter la présence d'antigènes étrangers, mais également conduit à forger un certain nombre d'outils facilitant le suivi et l'isolement de populations de lymphocytes T en clinique humaine.

Notre objectif actuel est de décrypter au niveau moléculaire les modalités permettant à un lymphocyte T d'intégrer à un moment donné une constellation de signaux provenant de son microenvironnement et *in fine* de "prendre une décision" qui retentira sur le fait qu'une réaction immunitaire se déroule de manière appropriée ou donne lieu à une pathologie.

Je ne puis terminer sans remercier mes collaboratrices, au tout premier rang desquelles Marie Malissen, mes collaborateurs, nos étudiants chercheurs post-doctoraux, ingénieurs et techniciens. Tout ce travail n'aurait pu se faire sans leur aide.