



HAL
open science

Étude du rôle d'April, membre de la famille du TNF, dans les maladies auto-immunes

Carine de Bettignies

► **To cite this version:**

Carine de Bettignies. Étude du rôle d'April, membre de la famille du TNF, dans les maladies auto-immunes . Biochimie, Biologie Moléculaire. 2008. hal-01462055

HAL Id: hal-01462055

<https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-01462055>

Submitted on 8 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES
Sciences de la Vie et de la Terre

MÉMOIRE présenté par

Carine de Bettignies

pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études

**ÉTUDE DU RÔLE D'APRIL, MEMBRE DE LA FAMILLE DU TNF,
DANS LES MALADIES AUTO-IMMUNES.**

soutenu le 30 janvier 2008, devant le jury suivant:

Dr Thierry DUPRESSOIR
Dr Javier HERNANDEZ
Dr Mireille ROSSEL
Dr Michael HAHNE
Dr Laurent GENESTIER

Président
Examineur extérieur
Tutrice pédagogique
Tuteur scientifique
Examineur rapporteur

Mémoire préparé sous la direction de:

Dr Michael HAHNE, directeur de recherche INSERM, michael.hahne@igmm.cnrs.fr
directeur de l'équipe "Biologie des membres de la famille du TNF"

Laboratoire:

Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier
CNRS UMR 5535
1919 Route de Mende
34293 Montpellier Cedex 5

Directeur: Dr Jean-Marie BLANCHARD

et de

Dr Mireille ROSSEL, Maître de Conférence EPHE, mrossel@univ-montp2.fr

Laboratoire:

Laboratoire de Biologie Cellulaire Quantitative
Université Montpellier II-INSERM EMI 343
Case courrier 103
Place E. Bataillon
34095 Montpellier Cedex 5

Directeur: Dr Norbert KOENIG

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES
SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

**ÉTUDE DU RÔLE D'APRIL, MEMBRE DE LA FAMILLE DU TNF,
DANS LES MALADIES AUTO-IMMUNES**

Carine de Bettignies

Soutenu le 30 janvier 2008

RÉSUMÉ

Les maladies auto-immunes touchent une fraction importante de la population et les traitements actuellement utilisés ne sont pas toujours optimaux du fait, entre autres, de nombreux effets secondaires gênants. Les membres de la famille du TNF sont impliqués dans de nombreuses maladies et particulièrement dans le développement de maladies auto-immunes. APRIL (A Proliferation Inducing Ligand), un des membres de cette famille a été relié au développement de certaines maladies auto-immunes dont la polyarthrite rhumatoïde (PR) et le lupus érythémateux disséminé (LEAD). Le travail présenté ici a ainsi consisté à étudier le rôle de cette cytokine dans ces deux maladies. Dans un premier temps, APRIL a été exprimé à l'aide d'un vecteur adénoviral dans un modèle murin du LEAD, NZBxNZW F1. Malgré plusieurs problèmes techniques rencontrés, des résultats préliminaires, parfois contradictoires, ont été obtenus. En effet, bien qu'APRIL semble avoir des effets positifs de diminution des anticorps anti-ADN responsables de la maladie, cette cytokine paraît avoir un rôle global d'aggravation du LEAD. Une deuxième étude a consisté à analyser le rôle d'APRIL dans la PR en utilisant le modèle murin d'arthrite induite par le collagène dans la souche DBA/1 rendue transgénique pour APRIL. Ici encore, les résultats sont à confirmer mais vont dans le sens d'une amélioration de la maladie en présence d'APRIL malgré l'observation de l'accélération des premiers symptômes inflammatoires. Enfin, une analyse phénotypique des populations lymphocytaires de souris C57/Bl6 APRILtg a permis de mettre en évidence une diminution des populations T régulatrices NKT et Treg CD4⁺CD25⁺/FoxP3⁺ qui pourrait constituer l'un des mécanismes par lesquelles APRIL influence le développement des maladies auto-immunes. Une des causes de la diminution de ces populations est l'augmentation spécifique de leur apoptose. Ainsi APRIL semble avoir un rôle soit bénéfique (PR) soit aggravant (LEAD) en fonction de la maladie auto-immune considérée.

Mots clés:

TNF, APRIL, maladies auto-immunes, polyarthrite rhumatoïde, lupus, souris, NKT, Tregs, vecteur adénoviral.

Table des matières :

I- Introduction.....	5
I-A Introduction générale des projets.....	5
I-B La famille des membres du TNF.....	6
I-B-1 Historique.....	6
I-B-2 Définition.....	7
I-B-3 TNF et dualité de signalisation.....	8

I-B-4 TNF, régulateurs du système immunitaire.....	9
I-C APRIL.....	10
I-C-1 APRIL, ses formes et ses récepteurs.....	10
I-C-2 Les fonctions d'APRIL <i>in vitro/ex-vivo</i>	11
I-C-3 Les souris APRILtg et APRIL KO.....	12
I-C-3-a Les souris APRILtg.....	12
I-C-3-b Les souris APRIL KO.....	13
I-D Les maladies auto-immunes.....	13
I-D-1 Le lupus systémique ou lupus érythémateux disséminé (LEAD).....	14
I-D-1-a Les modèles murins d'étude du Lupus.....	15
I-D-1-b Les modèles de lupus spontané.....	16
Les modèles murin du Lupus NZBxNZW F1 et SWRxNZB F1.....	16
Les modèles MRL/lpr et BXSB/Yaa.....	17
I-D-1-c Les modèles congéniques.....	18
I-D-1-d Les modèles transgéniques.....	18
I-D-2 La polyarthrite rhumatoïde.....	19
I-D-2-a Les modèles murins de PR.....	20
Les premiers modèles animaux de PR.....	20
Le modèle d'arthrite induite par le collagène.....	21
Les nouveaux modèles.....	22
I-E Régulation de l'auto-immunité: rôle des populations T régulatrices.....	23
VI- Bibliographie.....	26

Abréviations :

-
adAPRIL : adénovirus exprimant APRIL
ADNc : acide désoxyribonucléique complémentaire
APRIL : A Proliferation Inducing Ligand
APRIL KO : APRIL Knock-Out
APRILtg : APRIL transgénique
ARNm : acide ribonucléique messenger
BAFF-R : BAFF receptor
BCMA : B cell maturation antigen
BSA : bovine serum albumine
CIA : Collagen-induced arthritis
CMH : classe majeur d'histocompatibilité
CPA : cellules présentatrices d'antigène
DO : densité optique

ELISA : enzyme linked immunosorbent assay

FACS : fluorescence activated cell sorter

Foxp3 : forkhead box protein 3

GFP : Green Fluorescence Protein

IFN-g : interféron g

Ig : immunoglobuline

IL : interleukine

LEAD: Lupus Erythémateux Aigu Disséminé

NZBxNZW F1 : New Zealand Black x New Zealand White

PBS : phosphate buffer saline

PFU : plaque forming unit

PR: polyarthrite rhumatoïde

Sle : systemic lupus erythematosus

TACI : Transmembrane Activator and Calcium modulator ligand Interactor

TCR : T cell receptor

TNF : Tumor Necrosis Factor

TNF-R : TNF Receptor

Tregs : T regulators

Xid : X-linked immunodeficiency

I- Introduction

I-A Introduction générale des projets

Les mammifères sont capables de combattre les infections grâce à leur système immunitaire. Il existe pourtant chez l'homme plusieurs maladies graves associées à une réponse immunitaire dirigée contre un antigène non infectieux. Les maladies auto-immunes en font partie, elles sont provoquées par un défaut de tolérance à des antigènes provenant du soi, appelés auto-antigènes. Ces maladies impliquent une réponse immunitaire adaptative, donc hautement spécifique. À ce jour, les traitements les plus couramment prescrits pour traiter ces maladies font intervenir l'utilisation d'immunosuppresseurs ou d'immunomodulateurs. Ce genre de traitement pose cependant un problème: il inhibe la réponse immunitaire d'une manière globale, c'est-à-dire même dans le cas où le patient contracte un agent infectieux et aurait besoin de le combattre. D'autre part, certains patients ne répondent pas à ces traitements, comme c'est par exemple le cas vis-à-vis de l'utilisation d'un anti-TNF, d'où l'importance de trouver des thérapies plus spécifiques ne ciblant que les tissus endommagés.

Les membres de la famille du TNF (Tumor Necrosis Factor) sont des cytokines qui possèdent un motif structural commun capable de se fixer aux domaines riches en cystéines de leurs récepteurs. Ils exercent des rôles importants dans l'organisation et la fonction du système immunitaire. Ils

induisent une réponse cellulaire en se fixant à des récepteurs spécifiques, membres de la famille des TNF-R (TNF Receptors), qui sont pour la plupart exprimés par des cellules immunitaires. Leur action peut être délétère et entraîner des pathologies mais leur rôle physiologique et de réguler diverses voies de signalisation cellulaire conduisant à la prolifération, la survie, la différenciation ou l'apoptose. Les membres de la famille du TNF ont, à ce jour, été impliqués dans de nombreuses maladies et particulièrement dans le développement de maladies auto-immunes.

La polyarthrite rhumatoïde (PR) et le Lupus Erythémateux Aigu Disséminé (LEAD) sont deux maladies auto-immunes dont l'étiologie n'est pas encore totalement élucidée et pour lesquelles on observe une dérégulation de certains membres de la famille du TNF (Mackay F et Kalled SL 2002). Par exemple, la sévérité de la PR a été associée à une augmentation de la production de TNF α (Suryaprasad AG et Prindiville T, 2003).

Par ailleurs, il a été montré que l'interaction d'un membre de la famille des TNF-R, TACI (Transmembrane Activator and Calcium modulator ligand Interactor), avec au moins l'un de ses ligands était requise dans l'induction de l'arthrite chez la souris (Gross JA *et al.*, 2001; Wang H *et al.*, 2001). Or, APRIL (A Proliferation Inducing Ligand), un des membres de la famille du TNF les plus récemment identifiés (Hahne M *et al.*, 1998), est capable d'interagir avec TACI (Medema JP *et al.*, 2003) qui est exprimé à la surface de lymphocytes. De plus, APRIL est retrouvé à de fortes concentrations au niveau des articulations ainsi que dans le sérum de patients atteints de rhumatismes inflammatoires (Tan SM *et al.*, 2003 ; Vallerskog *et al.*, 2006). Tous ces éléments suggèrent l'implication d'APRIL dans la pathogénie de la PR. L'identification d'APRIL comme acteur important dans la PR pourrait donc mener à la mise au point de nouveaux traitements permettant de lutter plus efficacement contre cette maladie.

En ce qui concerne le LEAD, un lien a été établi entre cette maladie et un polymorphisme du gène codant pour APRIL (Koyama T *et al.*, 2003). De plus, il a été observé que le niveau d'APRIL circulant dans le sérum de patients atteints de LEAD est inférieur à celui de sujets normaux (Stohl W *et al.*, 2004). Ceci suggère qu'un déficit en cette cytokine puisse être lié à la maladie. D'autre part, une cause majeure identifiée de cette maladie est l'expansion, lymphocyte T dépendante, de lymphocytes B qui produisent des auto-anticorps de type Immunoglobuline G (IgG). Or, nous savons qu'APRIL a un rôle de régulateur négatif spécifique des lymphocytes B producteurs d'IgG lors de réponses humorales T dépendantes (Hahne M, non publié et Castigli E *et al.*, 2004). APRIL pourrait donc s'avérer être un facteur réducteur de la production d'IgG par les patients atteints de LEAD et pourrait constituer une molécule candidate dans un traitement de cette maladie.

I-B La famille des membres du TNF

I-B-1 Historique

(d'après la revue de Aggarwal BB, 2003)

-

Bien que les premiers membres de la famille du TNF (TNF α et LT α) aient été caractérisés en 1984 (Gray PW *et al.*, Pennica D *et al.*), leur existence avait été mise en évidence depuis bien

longtemps. En effet, dès 1868, un physicien allemand faisait l'observation que, chez l'humain, certaines tumeurs régressaient après une infection bactérienne (Bruns P). Ceci a donné l'idée à un oncologue américain d'utiliser un extrait bactérien comme traitement des cancers humains, avec un certain succès (Coley WB, 1891). Puis, en 1931, une régression tumorale a pu être observée chez le cobaye après administration d'un extrait bactérien (Gratia A *et al.*). C'est en 1943 que la substance bactérienne responsable de cette régression tumorale a pu être identifiée comme étant le lipopolysaccharide (LPS) (Shear MJ *et al.*). A la suite de quoi, un chercheur français a montré que le LPS provoquait une nécrose hémorragique des tumeurs en induisant une hypotension systémique, des bouchons dans les vascularisations tumorales, l'anoxie des cellules tumorales et la mort cellulaire (Algire G *et al.*, 1952). Quelques années après, O'Malley *et al.* (1962) montrèrent que le LPS n'était pas le facteur directement responsable de la régression tumorale mais que sa présence induisait l'apparition d'un facteur sérique dans l'organisme qu'ils dénommèrent "tumour-necrotizing factor", changé plus tard en « tumour-necrosis factor » (TNF) par le groupe de Old (1975). La lymphotoxine (LTa), quant à elle, a été décrite en 1968 comme étant une protéine produite par les lymphocytes et capable de tuer les cellules tumorales (Williams TW *et al.*, 1968) mais n'a été rapprochée du TNFa qu'en 1984 lors de sa caractérisation. Ces deux cytokines sont à l'origine de la famille de cytokines appelée la superfamille des TNF qui comprend maintenant 19 membres. Certains d'entre eux ont été identifiés par des stratégies de clonage direct en vecteur d'expression mais bien vite des homologies de séquence ont pu être observées et la plupart ont été identifiés grâce à des comparaisons de séquences issues des programmes de séquençage à grande échelle.

I-B-2 Définition

(d'après les revues de Bodmer JL *et al.*, 2002 ; Ware CF, 2003 ; MacEwan DJ, 2002 ; Aggarwal BB, 2003)

-

Le TNF a d'abord été perçu comme un puissant agent anticancéreux mais cette propriété a depuis été modulée par la découverte de sa forte toxicité. De plus, certains membres de la famille des TNF se sont avérés être des facteurs de prolifération plutôt qu'induisant la mort cellulaire. Ces cytokines ont en fait depuis été impliquées dans de nombreux mécanismes cellulaires tels que la prolifération, la survie, la différenciation ou encore l'apoptose. Ce n'est donc pas, comme leur nom pourrait le faire sous-entendre, leur propriété de tueurs de cellules cancéreuses qui regroupe les membres de la famille des TNF mais plutôt une homologie de structure et un mode d'interaction très conservé avec leur récepteur. En effet, les membres de la superfamille des TNF (ligands) sont pour la plupart des protéines transmembranaires de type II (côté N-terminal intracellulaire et côté C-terminal extracellulaire). Ils sont tous caractérisés par un domaine C-terminal conservé appelé « TNF homology domain » (THD). Les THD ont une structure tertiaire commune quasiment identique et s'associent pour former des protéines trimériques. Ce sont des structures de type sandwich b antiparallèle qui contiennent deux ensembles de feuillets b plissés, chacun formé de cinq brins b antiparallèles. Le feuillet interne est impliqué dans les contacts trimériques par l'intermédiaire de liaisons hydrophobes

alors que le feuillet externe est exposé à la surface et présente peu de similarité de séquence au sein des membres de la famille, lui conférant sa spécificité. Le trimère ainsi formé est impliqué dans la fixation au récepteur et présente une identité de séquence entre membres de la famille d'environ 20-30% principalement localisés dans les régions impliquées dans l'assemblage du trimère. La plupart des ligands TNF sont synthétisés sous forme de protéines liées à la membrane mais il en existe aussi sous formes solubles, générés par protéolyse impliquant différentes protéases selon le ligand.

Les TNFs sont principalement produits par des cellules du système immunitaire: macrophages et monocytes activés, lymphocytes B et T, cellules NK mais aussi par d'autres types cellulaires dont des fibroblastes et des cellules endothéliales. Les TNF-R, quant à eux, sont exprimés par une grande variété de types cellulaires.

I-B-3 TNF et dualité de signalisation

(d'après les revues de Aggarwal BB, 2003 ; Gaur U et Aggarwal BB, 2003 ; Locksley RM *et al.*, 2001)

-

L'interaction des ligands de la famille du TNF avec leur(s) récepteur(s) se fait entre le THD du ligand et les domaines riches en cystéines (CRD pour cystein-rich domain) localisés sur la partie extracellulaire du récepteur. Ces CRDs sont constitués de séquences répétées contenant six résidus cystéine engagés dans la formation de trois ponts di-sulfures. Le nombre de CRDs par récepteur varie de un (partiel) à quatre, avec une exception, CD30, où les trois CRDs ont été partiellement dupliqués chez l'humain mais pas chez la souris. L'arrangement régulier des répétitions de CRDs confère aux récepteurs une forme allongée stabilisée par une échelle de ponts di-sulfures légèrement incurvée. Un ligand trimérique se fixe à 3 récepteurs indépendants qui se pré-assemblent juste avant la fixation du ligand. On décompte pour le moment 29 récepteurs regroupés sous l'appellation de superfamille des TNF Receptor (TNF-R). Ces récepteurs sont divisés en deux groupes selon qu'ils possèdent ou non un domaine de mort (death domain, DD). Ceux qui le possèdent sont appelés récepteurs de mort (death receptor, DR).

Après s'être fixés sur leur récepteur, les membres de la superfamille du TNF peuvent médier plusieurs actions différentes dont:

- l'apoptose (comme TNF α , LT α , CD95L, TRAIL, VEGI, CD27L, CD30L, TWEAK, LIGHT)
- la survie (comme RANKL, BAFF)
- la différenciation (comme TNF, RANKL, DR6)
- la prolifération (comme TNF α , LT α , TRAIL, CD27L, CD30L, TWEAK, LIGHT, CD40L, OX40L, 4-1 BBL, APRIL, BAFF) en activant les voies de signalisation faisant intervenir NF-kB, JUN N-terminal Kinase (JNK) et les Mitogen Activated Protein (MAP) kinases p42/44 et p38. Il est à noter que de nombreux membres ont été montrés comme étant à la fois impliqués dans des phénomènes d'apoptose et de prolifération. Ceci est dû entre autre au fait qu'à un ligand correspondent plusieurs (jusqu'à cinq) récepteurs qui peuvent médier différentes actions. Il a également été décrit que le type de réponse induite par la fixation d'un ligand à un récepteur pouvait

être dose dépendante (Audo R *et al.*, 2005).

Il est toutefois à noter qu'une des caractéristiques communes à tous les membres de la superfamille des TNF est qu'ils sont tous capables d'activer NF- κ B, facteur de transcription qui a été impliqué dans de nombreux mécanismes tels que la suppression de l'apoptose, la survie cellulaire, la prolifération, la réplication virale, l'inflammation, la résorption osseuse, la tumorigénèse, et la formation de métastases.

Aucun récepteur de TNF ne possède d'activité enzymatique. Leur court domaine cytoplasmique constitue un site d'ancrage à des molécules de signalisation. Celles-ci sont des protéines adaptatrices cytoplasmiques appartenant à deux classes:

- les « TNF receptor-associated factors » (TRAFs) au nombre de 6 à ce jour
- les molécules à domaine de mort, « death domain », DD (FADD et TRADD).

Les récepteurs de mort recrutent par l'intermédiaire de leur domaine de mort DD des protéines adaptatrices appelées Fas-associated DD protein (FADD) et TNF-R-associated DD protein (TRADD) qui entraînent l'activation des caspases et la mort cellulaire par apoptose.

I-B-4 TNF, régulateurs du système immunitaire

-

La plupart des TNFs sont produits par des cellules du système immunitaire, indiquant leur rôle dans la régulation immune.

Les TNFs jouent des rôles centraux dans l'immunité adaptative (dirigée contre un antigène particulier). En effet, l'établissement de lignées de souris dont un gène codant pour un membre de la famille du TNF ou des TNF-R est délété a permis de mettre en évidence l'importance de ces molécules dans le bon fonctionnement du système immunitaire (voir Locksley RM *et al.* pour revue). Plusieurs TNFs ont d'ailleurs été impliqués dans le développement de pathologies comme des maladies auto-immunes ou des cancers. Et des inhibiteurs de certains TNFs sont déjà utilisés comme traitement de maladies ou en essai clinique.

I-C APRIL

(d'après les revues de Medema JP *et al.*, 2003 et Dillon SR *et al.*, 2006)

I-C-1 APRIL, ses formes et ses récepteurs

-

APRIL (a proliferation inducing ligand) est, avec BAFF (B cell activating factor of the TNF family), l'un des TNFs les plus récemment identifiés (Hahne M *et al.*, 1998) grâce à des recherches comparatives bioinformatiques dans des bases de données de séquences EST (Expressed Sequence Tag). Ces deux membres de la famille des TNFs sont phylogénétiquement proches et présentent 30% d'identité de séquence dans leur THD. Ceci explique le fait qu'ils possèdent deux récepteurs communs: BCMA (B cell maturation antigen) et TACI (Transmembrane Activator and Calcium-

signal modulating cyclophilin Interactor), BAFF en ayant un supplémentaire qui lui est spécifique, BAFF-R (BAFF receptor). De plus, ils sont capables de former des hétérotrimères, ce qui n'avait auparavant été décrit dans la famille du TNF que pour LTa/LTb. Ces hétérotrimères ne pourraient se fixer qu'à TACI.

Contrairement aux autres membres de la famille du TNF, APRIL n'est pas exprimé à la surface des cellules qui le produisent. En effet, APRIL est clivé à l'intérieur de la cellule, et n'existe donc que sous forme sécrétée mais jamais transmembranaire. Le clivage d'APRIL a lieu dans l'appareil de Golgi sous l'action d'une furine, pro-protéine convertase exprimée de façon ubiquitaire. Cette voie de maturation est unique à APRIL au sein de la famille des TNFs mais est retrouvée dans la maturation de nombreux facteurs de croissance.

Il existe tout de même une forme alternative transmembranaire, appelée TWE-PRIL, qui résulte d'un ARNm hybride d'APRIL et de TWEAK, autre membre de la famille du TNF dont le gène est situé non loin de celui d'APRIL. La protéine TWE-PRIL est composée des parties cytoplasmique et transmembranaire de TWEAK fusionnées avec le THD C-terminal d'APRIL. TWE-PRIL est le premier exemple d'une protéine de fusion fonctionnelle entre deux membres de la même famille.

Deux récepteurs, TACI et BCMA, sont donc connus pour APRIL mais il existe plusieurs éléments faisant penser qu'il en existerait un troisième qui lui serait spécifique tout comme BAFF-R est spécifique de BAFF. En effet, APRIL est capable de stimuler la prolifération des lignées cellulaires Jurkat T, NIH-3T3 (fibroblastes), HT-29 (carcinome du colon) et A549 (cellules épithéliales de poumon) mais aucun de ces types cellulaires n'exprime TACI ou BCMA. Par ailleurs, il a été récemment démontré qu'APRIL pouvait se fixer à de l'héparane sulfate protéoglycane (HSPG) sans que l'on ait pour le moment clairement élucidé le rôle de cette interaction.

I-C-2 Les fonctions d'APRIL *in vitro/ex-vivo*

APRIL est exprimé par certaines populations du système immunitaire: monocytes, cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes T mais aussi par d'autres types cellulaires tels que les ostéoclastes et des tissus tumoraux. Cependant, son niveau d'expression reste relativement faible dans les tissus normaux alors qu'il est plus haut dans les tissus tumoraux dans lesquels il est retrouvé.

D'autre part, APRIL est exprimée de façon aberrante par des lymphocytes B malins, alors que les lymphocytes B normaux ne l'expriment pas, ainsi que par diverses cellules au sein du micro environnement de tumeurs à lymphocytes B, incluant les cellules "nurse-like" dérivées de patients atteints de Leucémie Lymphoïde Chronique B (LLC B). L'expression d'APRIL par des ostéoclastes et des cellules stromales de moelle osseuse de patients atteints de myélomes multiples a également été observée. De plus, de hauts niveaux d'ARNm ont été retrouvés dans des lignées cellulaires transformées mais aussi dans les cancers du colon, de la thyroïde, et de tissus lymphoïdes. Ces données suggèrent donc qu'APRIL puisse être lié à la prolifération cellulaire tumorale.

L'étude des effets d'APRIL *in vitro* et *in vivo* est ralentie par la difficulté rencontrée de produire la protéine APRIL recombinante active. Il a cependant pu être montré *in vitro* qu'APRIL, tout comme BAFF, peut entraîner rapidement la production de blastes à partir de lymphocytes B mémoires humains, en se fixant à priori au récepteur BCMA. Il a d'autre part récemment été montré qu'APRIL, en présence d'IL4 et d'IL6, était capable de stimuler les lymphocytes B à présenter l'antigène aux lymphocytes T via BCMA.

I-C-3 Les souris APRILtg et APRIL KO

I-C-3-a Les souris APRILtg

(Stein JV *et al.*, 2002, Planelles L *et al.*, 2004)

Des souris APRILtg surexprimant la forme humaine d'APRIL sous le contrôle du promoteur Lck distal (spécifique des lymphocytes T matures) ont été générées et ont permis de mettre en évidence certains rôles d'APRIL. Tout d'abord, ces souris présentent un pourcentage presque deux fois plus élevé de lymphocytes B dans les ganglions lymphatiques périphériques et une augmentation similaire du taux d'IgM dans le sérum, cela en absence de stimulation antigénique. Concernant les lymphocytes T, une diminution du pourcentage des lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ a été observée dans les ganglions lymphatiques périphériques, résultant en une diminution significative du nombre de lymphocytes T dans ces organes. Une nette augmentation d'une population particulière de lymphocytes T CD62L⁻CD44^{low} a également été observée chez ces souris. Cependant, cette population ne correspond à aucune population de lymphocytes T classique y compris les lymphocytes T activés qui sont effectivement CD62L⁻ mais CD44^{hi}. La molécule CD62L intervenant dans le "homing" des lymphocytes T au niveau des ganglions lymphatiques périphériques, cette augmentation de cellules CD62L⁻ chez les animaux transgéniques pourrait expliquer la diminution des lymphocytes T observée au niveau des ganglions. De plus, les lymphocytes T de souris APRILtg survivent plus longtemps après stimulation antigénique que ce soit *in vivo* ou *in vitro*. Ceci semble être dû à une expression accrue du facteur anti-apoptotique Bcl2 par les lymphocytes T transgéniques.

Les souris APRILtg ont une réponse humorale T dépendante plus importante que des souris normales, se traduisant par une augmentation d'environ deux fois des IgM spécifiques d'un antigène mais pas des IgG. Ceci corrèle bien avec le fait qu'il a été récemment montré qu'APRIL augmenterait la présentation de l'antigène par les lymphocytes B aux lymphocytes T. Les souris APRILtg présentent d'autre part une réponse élevée aux antigènes T-indépendants de type 2 (TI-2), résultant en une augmentation significative des IgM et IgG spécifiques de l'antigène. Pour finir, des taux d'IgA sériques élevés ont été retrouvés chez les souris APRILtg âgées.

Enfin, environ 40% des souris APRILtg âgées développent une néoplasie associée aux

lymphocytes B-1.

I-C-3-b Les souris APRIL KO

Deux groupes différents ont construit une lignée murine dont le gène codant pour APRIL est délété. L'un n'a détecté aucun phénotype (Varfolomeev E *et al.*, 2004) alors que le second a pu montrer quelques phénotypes dus à la délétion d'APRIL (Castigli, E *et al.*, 2004). La société Genentech avait, de plus, également construit une souris APRIL KO qui s'était avérée être létale.

Bien qu'ayant un développement lymphocytaire T et B ainsi qu'une prolifération T et B *in vitro* normaux, la souris APRIL KO de Castigli *et al.* (la seule à être considérée par la suite) possède un nombre plus élevé de lymphocytes T mémoire effecteurs (CD62L^{lo}CD44^{hi}), des centres germinatifs plus gros, une réponse IgG à des antigènes T-dépendants plus importante mais une réponse IgA à des antigènes de type TI-1 moindre. Cette souris possède d'ailleurs un taux réduit d'IgA sériques. De plus, ce groupe a montré *ex vivo* qu'APRIL induisait le changement d'isotype de lymphocytes B IgM⁺IgD⁺ en IgA et en IgG1 dans des souris dont le gène codant pour CD40 est délété (déficiences pour le changement d'isotype). Ces résultats suggèrent donc qu'APRIL puisse atténuer la réponse humorale à un antigène T-dépendant et participe au changement d'isotype en IgA et IgG1.

I-D Les maladies auto-immunes

La réponse immunitaire adaptative joue un rôle très important dans la réponse de l'hôte à l'infection et est donc essentielle. Il arrive cependant qu'elle se fasse contre un antigène non associé à un agent infectieux, provenant par exemple du soi, et engendrant dans ce cas une maladie auto-immune. Ce phénomène est normalement évité par des mécanismes de tolérance du soi qui interviennent principalement lors du développement lymphocytaire. La tolérance du soi requiert que le système immunitaire soit capable de distinguer les lymphocytes réagissant contre le soi au cours de leur développement. Ainsi, au niveau du thymus, un lymphocyte immature dont le récepteur présente une trop forte affinité pour un antigène sera considéré comme étant dirigé contre le soi et sera pris en charge par des mécanismes impliqués dans la tolérance du soi. Ces mécanismes incluent la suppression clonale par mort cellulaire, le "receptor editing", l'inactivation fonctionnelle (anergie) ou encore la suppression de leur activation par les lymphocytes T régulateurs. Certains de ces lymphocytes arrivent malgré tout à maturer et peuvent donc être activés donnant lieu à une maladie auto-immune. Ceci est en partie dû au fait que la détermination de la reconnaissance du soi est indirecte et de ce fait imparfaite. De plus, il y a tout de même des chances que les lymphocytes qui présentent un certain degré de reconnaissance du soi aient également la capacité de reconnaître un antigène étranger. Ainsi, si tous les lymphocytes dirigés contre le soi étaient éliminés, le système

immunitaire serait biaisé.

I-D-1 Le lupus systémique ou lupus érythémateux disséminé (LEAD)

-

Le LEAD est une maladie auto-immune inflammatoire chronique affectant essentiellement les femmes, avec un ratio de 9:1, entre 15 et 50 ans. Il atteint en moyenne une personne sur 2000 dans le monde. Mais il existe une influence de l'ethnie sur l'incidence de la maladie: les Afro-Américains et les Asiatiques sont 2 à 4 fois plus susceptibles de la contracter que les Caucasiens. Le lupus doit son nom au fait que l'une de ses manifestations cutanées s'étend en ailes de papillon de chaque côté du nez, formant un "masque de loup".

Le lupus est une maladie d'étiologie non encore complètement élucidée mais on lui connaît diverses origines:

- multigénique: de nombreux gènes ont été impliqués dans le développement de la maladie grâce à l'étude de modèles animaux
- hormonale: elle est attestée par la prédominance féminine de la maladie ainsi que par sa recrudescence au moment de la grossesse et sa régression au moment de la ménopause
- environnementale: le lupus peut être induit par certains médicaments ou l'exposition au soleil
- immunologique: le lupus se caractérise par une hyperactivité des lymphocytes B et la forte production d'auto-anticorps, majoritairement anti-ADN double brin de type IgG, qui s'attaquent potentiellement à tous les organes. Ces auto-anticorps, en se liant aux antigènes dont ils sont spécifiques, donnent naissance à des complexes immuns circulants (CIC) dont la taille importante va engendrer l'obstruction des petits vaisseaux des tissus, en particulier du rein, provoquant une glomérulonéphrite. De plus, à ces CIC s'ajoute une infiltration lymphocytaire.

Un déficit en certains composants précoces de la cascade du complément (C1 et C4) a également pu être relié au développement du LEAD.

Les manifestations cliniques peuvent donc prendre différentes formes: dermatologiques (lésions cutanées, sensibilité accrue aux UV), rhumatologiques (douleurs articulaires), cardiovasculaires (péricardites, thromboses), neurologiques (poussées psychotiques) ou rénales (syndromes néphrétiques). L'ensemble de ces symptômes fait du LEAD une maladie très lourde à gérer d'autant que les traitements existants interviennent en situation de crise pour soulager les symptômes mais ne guérissent pas la maladie. Ces traitements sont lourds, empiriques et surtout non spécifiques c'est à dire affectant la globalité du système immunitaire, ce qui expose les patients à la merci d'infections multiples. De nombreuses études sont donc en cours pour développer des thérapies spécifiques ciblant les cellules auto-réactives.

I-D-1-a Les modèles murins d'étude du Lupus

(d'après la revue de Liu K & Mohan C, 2006)

-

Chez l'homme, l'identification de facteurs génétiques qui permettraient de diagnostiquer la susceptibilité d'un patient de développer le LEAD est rendue difficile entre autre à cause de l'hétérogénéité de la maladie et des interactions complexes entre facteurs hormonaux, génétiques et environnementaux. L'existence de modèles animaux développant spontanément des signes de la maladie assez proches de ceux observés chez l'homme (glomérulonéphrite fatale due à l'accumulation d'immuno-complexes, associée à une forte production d'auto-anticorps) permet de relier directement les découvertes faites chez l'animal à l'homme. En effet, des analyses croisées utilisant la technique SSLP (Single Sequence Length Polymorphism) sur des animaux issus de backcross et d'intercross impliquant des souches lupiques et des souches normales ont permis d'identifier environ 30 loci de susceptibilité au lupus liés à différents phénotypes de la maladie. Les efforts sont maintenant concentrés sur l'identification de gènes candidats au sein de ces loci en analysant les phénotypes auto-immuns de souris transgéniques et congéniques.

Durant les 30 dernières années, les modèles murins ont donc permis de mieux comprendre la physiopathologie du lupus. En se basant sur la manière dont ces modèles ont été élaborés, on peut les diviser en trois groupes: les modèles de lupus spontané, les modèles congéniques et les modèles transgéniques.

I-D-1-b Les modèles de lupus spontané

Les modèles murins de lupus spontané sont les premiers que l'on rencontre dans la littérature. En effet, des symptômes très proches de ceux retrouvés dans le LEAD humain ont été observés chez plusieurs souches d'élevage ainsi que certaines issues de croisements hybrides. Ainsi, tous les modèles murins de lupus spontané développent des hauts titres d'IgG anti-ADN double brin et d'anticorps anti-glomérule, ainsi qu'une glomérulonéphrite sévère.

Les modèles les mieux caractérisés génétiquement sont l'hybride NZBxNZW F1 ainsi que la souche recombinante NZM2410. De nombreux loci liés à la maladie ont pu être mis en évidence grâce à ces souches. En ce qui concerne la recherche de molécules thérapeutiques, ce sont plutôt les modèles NZBxNZW F1 et MRL/lpr qui sont le plus utilisés.

Les modèles murin du Lupus NZBxNZW F1 et SWRxNZB F1 (d'après la revue Santiago-Raber ML *et al.*, 2004)

Le modèle murin développant spontanément le lupus le plus utilisé est la souche NZBxNZW F1. Il s'agit de souris issues du croisement entre deux souches (New Zealand Black x New Zealand White) développant individuellement peu de symptômes liés au lupus mais dont la génération descendante directe F1, et plus particulièrement les femelles, présente des symptômes très similaires

au lupus humain. En effet, chez les femelles NZB/W F1, la production d'anticorps antinucléaires de type IgG, incluant des anticorps dirigés contre l'ADN double brin, est associée au développement d'une glomérulonéphrite sévère engendrée par des complexes immuns qui aboutit à la mort de la quasi-totalité des animaux avant l'âge de 12 mois.

Ces souris commencent à l'âge de 25 semaines à présenter des taux élevés de protéinurie et d'anticorps anti-ADN. Une forte protéinurie atteint 50% des animaux à l'âge de 32-35 semaines. Ces problèmes rénaux conduisent à la mort des premiers animaux à l'âge de 30 semaines et de 50% d'entre eux à l'âge de 38-40 semaines. Il est cependant à noter que le développement de la maladie se fait de façon très hétérogène d'un individu à l'autre.

Les souris hybrides (SWRxNZB)F1 (ou SNF1) développent une glomérulonéphrite lupique avec des signes cliniques très semblables à ceux observés chez les souris NZB/W F1 dû à l'accumulation de gènes liés à la maladie. Les modèles NZB/W F1 et SNF1 présentent la même prévalence que le LEAD humain à atteindre les femelles plutôt que les mâles alors que ce n'est pas le cas de la plupart des autres souches.

Les modèles MRL/lpr et BXSB/Yaa

(d'après les revues de Reilly CM & Gilkeson GS, 2002 et Furukawa F & Yoshimasu T, 2005)

D'autres modèles murins connus pour développer le Lupus sont les souches MRL/lpr et BXSB/Yaa. Les souris MRL/lpr portent la mutation lpr (lymph proliferation) sur le gène codant pour Fas dans le fond lupique MRL alors que les souris BXSB/Yaa sont porteuses d'un gène accélérateur d'auto-immunité lié à l'Y (Yaa pour Y-linked auto-immune accelerator) dans le fond lupique BXSB. Les modèles MRL/lpr et BXSB/Yaa sont les seuls qui dépendent de gènes accélérateurs. De plus, ces souches présentent un fort degré de lymphoprolifération, ce qui n'est pas une caractéristique retrouvée chez le LEAD humain ni chez les autres souches murines. Par contre, le modèle MRL/lpr développe des problèmes articulaires et dermatologiques similaires à ceux observés chez les patients atteints de LEAD mais rarement observés chez les autres modèles murins. D'autre part, le lupus murin est causé par une dérégulation de la fonction ou du nombre de cellules de certaines populations lymphocytaires et les souris MRL/lpr sont décrites comme développant un lupus T alors que les souris NZ et BXSB comme développant un lupus B. La souche BXSB a plutôt tendance à développer la maladie chez les mâles.

Le modèle MRL/lpr, très utilisé en recherche de traitement contre le lupus, est caractérisé par un syndrome auto-immun accéléré. La maladie commence vers l'âge de 8 semaines avec une activation de lymphocytes B polyclonaux et des niveaux élevés d'IgM sériques. A l'âge de 12 à 16 semaines, les souris MRL/lpr commencent à produire différents auto-anticorps dont des anti-ADN double brin et des anti-ADN simple brin. Puis, à partir de 16 à 24 semaines, elles développent une

glomérulonéphrite proliférative engendrée par des complexes immuns, une inflammation vasculaire, une arthrite et une lymphadénopathie massive qui engendre des problèmes rénaux et la mort chez 50% des souris à l'âge de 24 semaines. La mutation autosomale récessive *lpr* induit une prolifération massive de cellules CD3⁺CD4⁻CD8⁻ (lymphocytes T double négatifs) chez ces souris. Cette prolifération est due au déficit en récepteur Fas (CD95), médiateur de l'apoptose. Ce déficit en Fas serait donc à l'origine de l'accélération de l'auto-immunité chez ces souris.

D'autres loci liés au LEAD ont pu être mis en évidence grâce à ces souches.

I-D-1-c Les modèles congéniques

(d'après la revue de Rogner UC & Avner P, 2003)

Les modèles murins de lupus spontané ont permis de relier plusieurs loci à la maladie mais il restait à établir la relation entre un locus et phénotype donné.

La dissection congénique est une stratégie qui consiste à introduire un segment chromosomique contenant un locus identifié comme intervenant dans une maladie polygénique (telle que le lupus, en utilisant les loci identifiés comme étant responsable du développement spontané de la maladie chez certaines souches de souris) dans une souche de souris consanguine ne présentant pas de signe de la maladie (telle que C57BL/6). Les phénotypes d'une telle souris sont alors étudiés et mis en rapport avec les loci qui les engendrent.

Cette méthode a permis d'étudier de nombreux loci associés au lupus chez la souris. Ainsi, un locus situé sur le chromosome 1, nommé *Sle1*, a été montré comme étant fortement relié à la maladie. C'est d'ailleurs le locus le plus susceptible de causer la maladie dans la souche NZM2410 (New Zealand mixed) qui est issue de la génération F2 d'un croisement NZBxNZW (NZBxNZW F1 croisées entre elles). Sa dérivation dans la souris congénique C56BL/6.*Sle1* a engendré la production de fortes concentrations d'IgG anti-chromatine, de lymphocytes T spécifiques des histones, ainsi qu'une activation augmentée des lymphocytes B et T. Un autre locus, *Sle2*, fait baisser le seuil d'activation des lymphocytes B tandis qu'un troisième, *Sle3*, entraîne la dérégulation des lymphocytes T CD4⁺. De plus, une analyse génétique plus détaillée du locus *Sle1* chez la souris C56BL/6.*Sle1* a montré qu'il s'agit en fait de trois loci différents, *Sle1a*, *Sle1b*, *Sle1c*, localisés dans le même intervalle congénique, qui peuvent chacun entraîner une perte de tolérance vis à vis de la chromatine.

I-D-1-d Les modèles transgéniques

Les modèles transgéniques permettent d'affiner la recherche de gènes responsables de la maladie au sein des loci identifiés dans les modèles spontanés ou congéniques. En effet, un locus introduit dans une souris congénique peut très bien contenir plusieurs gènes responsables des

phénotypes observés liés à la maladie. Certaines souris transgéniques ont donc permis de relier un gène particulier à la maladie sans que ça ait été forcément le but recherché lors de l'établissement de la souris transgénique.

Les modèles congéniques et transgéniques interviennent donc principalement dans la recherche de gènes impliqués dans la maladie du lupus alors que les modèles spontanés sont utilisés afin d'étudier l'impact d'une molécule particulière, comme un membre de la famille du TNF, sur le développement de la maladie.

I-D-2 La polyarthrite rhumatoïde

(d'après la revue de Klareskog L *et al.*, 2006)

Le terme « arthrite » (du grec arthron: articulation) désigne toutes les affections inflammatoires qui touchent les articulations de manière aiguë ou chronique. L'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde (PR) sont les formes les plus communes d'arthrite.

Environ 1% de la population occidentale est affecté par la PR avec encore une fois un déséquilibre en défaveur de la femme puisqu'elle atteint trois fois plus souvent la femme que l'homme. Cette maladie peut apparaître à n'importe quel âge mais commence généralement son développement au début de l'âge adulte et les symptômes deviennent apparents entre 25 et 55 ans. Elle se manifeste par une inflammation chronique de la membrane qui entoure les articulations, la membrane synoviale. La membrane enflammée forme alors un panus qui recouvre et s'attaque au cartilage, aux ligaments, aux muscles et à l'os, provoquant à la longue une déformation des articulations pouvant devenir invalidante.

La PR est une maladie auto-immune d'origine encore inconnue. Cependant, plusieurs facteurs favorisants ont pu être identifiés:

- hormonaux: mis en évidence par la prédominance féminine. Et il semblerait également que la grossesse ait une influence sur la maladie, les symptômes étant diminués pendant cette période.
- génétiques: le développement de la maladie a été relié dans environ 60% des cas à la présence d'allèles particuliers de gènes codant pour des protéines du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe II. De plus, il semble y avoir une prédisposition familiale pour la maladie. Une contribution du polymorphisme de gènes codant pour certaines cytokines a également pu être mise en évidence ces dernières années.

Les manifestations immunologiques de la PR sont nombreuses: une infiltration d'un grand nombre de lymphocytes T, principalement CD4⁺, à des stades variés d'activation est observée et est habituellement associée à des cellules dendritiques et à des macrophages. Des amas de plasmocytes sont souvent présents et des follicules secondaires avec centre germinatif sont même parfois retrouvés comme si la synoviale était devenue un ganglion lymphatique actif. De nombreuses cytokines sont sécrétées dont l'IL-1 et le TNF α et l'un des traitements actuels consiste à administrer des agents anti-TNF α aux patients. Cependant, non seulement l'effet est temporaire mais certains patients ne répondent pas à ce genre de traitement et d'autres développent des effets secondaires, ils

développent en particuliers des infections opportunistes. Des auto-anticorps de différentes spécificité ont également pu être retrouvés chez les patients comme des anticorps dirigés contre les Ig (RF pour Rhumatoid Factor), le collagène de type II, la filaggrine citrullinée, la kératine, la RA33, l'antigène chondrocyte gp39, la protéine de choc thermique HSP60 et de façon controversée, la glucose-6-phosphate isomérase (G6PI). Ces anticorps ne sont toutefois retrouvés que dans certains groupes de patients et il est très difficile de trouver une corrélation entre la spécificité d'anticorps et la durée, l'activité ou la sévérité de la maladie. Il est donc important de continuer les recherches afin de trouver un traitement plus satisfaisant.

I-D-2-a Les modèles murins de PR

(d'après Williams RO, 1998; Ditzel HJ, 2003, Wooley PH, 2003)

Les premiers modèles animaux de PR

De nombreux modèles animaux de la PR ont été établis durant les dernières décennies.

Le premier modèle décrit était l'induction de la maladie chez le rat par une injection unique d'adjuvant de Freund contenant du *Mycobacterium tuberculosis*. L'arthrite serait dans ce cas induite par un composant de la paroi cellulaire de la mycobactérie, le muramyl dipeptide, qui possède des propriétés immuno-stimulatrices mais ne provoque pas une réponse immune spécifique. De plus, d'autres adjuvants n'ayant pas de propriétés immunogéniques peuvent induire une arthrite chez certaines souches de rats: l'adjuvant incomplet de Freund, l'avridine ou le pristane. Une arthrite très similaire à la PR peut d'ailleurs être observée chez la souris après administration de pristane. Cependant, la nature immunologique de la maladie ainsi induite a été remise en question par plusieurs publications. Le mécanisme impliqué dans ce genre d'arthrite n'est pas vraiment connu mais il est possible qu'après immunisation, il y ait une augmentation de l'activité de cellules présentatrices d'antigène (CPA), menant à la présentation d'un antigène endogène par les lymphocytes T auto-réactifs.

Une autre façon d'induire l'arthrite chez les souris, les rats ou les lapins est de leur injecter une protéine antigénique (comme de l'albumine méthylée de sérum bovin) dans l'articulation des genoux des animaux pré-immunisés avec le même antigène. Cette méthode est appelée « Antigen-induced arthritis » (AIA). Le problème de ce modèle est que l'arthrite n'atteint alors que les articulations traitées, ce qui n'est pas représentatif de la propriété systémique de la PR. L'arthrite induite par AIA n'est pas restreinte au CMH de classe II, ce qui en fait un modèle intéressant pour les études impliquant l'utilisation de souris transgéniques ou Knock-out.

D'autre part, une injection intra-péritonéale d'une suspension de paroi de streptocoque (SCW pour Streptococcal cell wall) soniquée peut causer l'arthrite chez des rats et des souris.

Le modèle d'arthrite induite par le collagène

Depuis la fin des années 1970, c'est le modèle d'arthrite induite par le collagène (CIA pour Collagen-induced arthritis) qui est le plus utilisé que ce soit chez le rat, la souris ou le primate. Il s'agit d'une arthrite induite par une immunisation avec du collagène de type II, protéine abondante dans l'articulation, dans de l'adjuvant. Une forte réponse lymphocytaire B et T contre cet antigène articulaire est alors induite. Les modifications physiopathologiques incluent une inflammation synoviale avec infiltration de cellules polynucléaires et mononucléaires, la formation d'un panus, l'érosion de l'os et du cartilage ainsi qu'une fibrose. Chez la souris, la souche la plus utilisée de ce modèle est la souche DBA/1 car elle est prédisposée à développer de l'arthrite en réponse au collagène. L'immunisation de ces souris avec du collagène de type II bovin, ovin ou de rat engendre une forme relativement aiguë d'arthrite. A l'inverse, l'immunisation avec du collagène de même espèce (murin) entraîne une arthrite plutôt chronique et progressive.

Ce modèle CIA est restreint aux souches murines portant les CMH de types I-A^q et I-A^r, analogues aux sous-types de CMH DR4 et DR1 associés à la PR chez l'homme. Des études ont suggéré que des épitopes de collagène de type II similaires puissent être impliqués dans la PR et dans la CIA.

Le rôle de l'auto-immunité contre le collagène n'a pas encore été réellement démontré chez les patients atteints de PR. C'est pourquoi la recherche d'autres antigènes potentiels responsables de l'auto-immunité chez ces patients est poursuivie.

Les nouveaux modèles

Un nouveau modèle d'arthrite a été décrit chez le rat utilisant une immunisation avec une protéine du cartilage: COMP (cartilage oligomeric matrix protein). Comme dans le cas de la CIA, l'arthrite induite par COMP est contrôlée par des gènes du CMH, plus particulièrement par les haplotypes RT1u et RT1l.

L'application de la technologie des souris transgéniques dans le domaine de la biologie des cytokines a généré plusieurs nouveaux modèles d'arthrite dont les souris transgéniques pour TNF α et IL1-a.

Le dernier modèle en date est la souris K/BxN. Cette souris résulte du croisement de la souris transgénique KRN-C57BL/6 transgénique pour un TCR spécifique d'un peptide de ribonucléase bovine présentée par la molécule I-A^k du CMH de classe II avec la souris auto-immune NOD (Non Obese Diabetes). Ce croisement permet d'introduire une mutation nulle dans la chaîne TCR-a. Il a alors été observé que les descendants de ce croisement développaient une arthrite agressive, spontanée et symétrique dans les articulations périphériques avec une physiopathologie semblable à la PR. Les symptômes observés incluent une infiltration synoviale, la formation d'un panus, l'érosion

de l'os et du cartilage. La réactivité auto-immune impliquée réside dans la spécificité du récepteur des cellules T KRN Vb6. En effet, dans le contexte de la molécule de CMH de classe II A^{g7} dérivée de NOD, le KRN TCR reconnaît un second peptide dérivé d'une protéine ubiquitaire: la glucose-6-phosphate isomérase (G6PI). Il y a donc production d'anticorps anti-G6PI qui semblent provoquer des problèmes au niveau des articulations. En revanche, la relevance physiopathologique d'une réponse immune contre G6PI dans l'étiologie de l'arthrite reste à prouver car la protéine G6PI est exprimée de façon ubiquitaire dans toutes les cellules. Le transfert de sérum provenant de souris K/BxN provoque une arthrite rapide (24 heures après transfert) et transitoire, disparaissant après 15 à 30 jours, dans n'importe quel type de souris. Ces éléments en font un modèle d'arthrite très prometteur, pouvant être utilisé dans des souris transgéniques par exemple. Une arthrite persistante peut d'ailleurs être obtenue en administrant le sérum de façon répétée.

I-E Régulation de l'auto-immunité: rôle des populations T régulatrices

(d'après Bluestone JA & Tang Q, 2005; Bluestone JA & Abbas AK, 2003; Coppieters K *et al.*, 2007; Godfrey DI & Kronenberg M, 2004)

Depuis quelques années, une famille de cellules T régulatrices auto-réactives a été mise en évidence comme intervenant dans le maintien de l'homéostasie immune et donc dans le contrôle de l'auto-immunité. Elle comprend les lymphocytes T_{gd}, les cellules NKT et les Tregs CD4⁺CD25⁺. Les NKT ainsi que les Tregs sont diminués en nombre de cellules et/ou déficients dans plusieurs maladies auto-immunes dont la PR et le LEAD.

Les Tregs sont dérivés du thymus et portent alors le marqueur CD25. Ce sont des cellules à longue durée de vie. Cette lignée de cellules T utilise un large répertoire TCR ayant un penchant pour la reconnaissance d'auto antigènes. Elle agit au niveau de la périphérie dans le contrôle de l'auto-immunité et de la régulation des réponses immunitaires courantes. Les Tregs CD4⁺CD25⁺ ne possèdent pas un phénotype impliquant des marqueurs de surface qui leur soient spécifiques mais expriment un panel de protéines qui permettent leur étude: CTLA-4, CD25, GITR... Il est cependant à noter que l'importance fonctionnelle de ces protéines reste à être élucidée. Par contre, les Tregs, qu'ils soient humains ou murins, expriment un facteur de transcription qui leur est spécifique et qui contrôle à la fois leur développement et leur fonction: Foxp3 (forkhead box protein 3).

Il semblerait que l'on puisse séparer les Tregs en deux populations:

- les Tregs naturels (nTreg) qui apparaissent très tôt dans le thymus au cours du développement et en sortent matures. Ils seraient particulièrement dirigés contre des antigènes du soi dès le thymus. Ils expriment fortement le marqueur CD25 à leur surface. Ils agiraient sans sécréter de cytokines.
- les Tregs adaptatifs (aTreg) qui, une fois sortis du thymus, continuent de se différencier en périphérie au cours d'une réponse immune contre un antigène tissu spécifique ou un antigène étranger. Par exemple, lorsqu'un TCR est engagé par une petite quantité d'antigène ou un

antigène présenté dans un contexte inapproprié, les lymphocytes T helper (Th) CD25⁻CD4⁺ peuvent exprimer Foxp3 et se différencier en population régulatrice. D'autre part, les aTregs produisent des cytokines immunosuppressives telles que l'IL-10 et le TGF- β . Les aTregs sont également appelés Th3 ou Tr1.

Les cellules NKT, quant à elles, doivent leur nom au fait qu'elles expriment à la fois un TCR et un marqueur de cellules NK tel que NK1.1 et Ly49 chez la souris ou CD161 et NKR-P1 chez l'homme. Les NKT peuvent également être divisés en deux sous-populations selon qu'ils expriment CD4 ou non à leur surface (ils sont CD8⁻). Cependant, contrairement aux lymphocytes CD4⁺ conventionnels, dont le TCR reconnaît un antigène peptidique présenté par une molécule de CMH de classe II exprimée à la surface d'une cellule présentatrice d'antigène (CPA), les cellules NKT reconnaissent des antigènes glycolipidiques présentés par CD1d, molécule apparentée aux molécules de CMH de classe I. Les cellules NKT classiquement étudiées sont appelées de type 1 ou iNKT car elles expriment un TCR dont la chaîne alpha est invariante et codée par un réarrangement V α 14-J α 18 chez la souris et V α 24-J α 18 chez l'homme. Ces cellules reconnaissent le glycosphingolipide alpha-galactosylceramide (alpha-GalCer) qui est capable de les activer. Il existe une autre population de cellules NKT, dites de type 2 qui ne possède pas un répertoire TCR aussi biaisé et qui sont donc bien moins caractérisées car beaucoup moins faciles à étudier. A l'origine, alpha-GalCer avait été isolé par une compagnie japonaise comme agent inhibant la croissance de tumeurs métastatiques chez la souris, à partir d'une éponge marine. Puis, il fut par la suite démontré qu'alpha-GalCer était un stimulateur puissant des iNKT que ce soit murins ou humains. La découverte de ce ligand spécifique des cellules iNKT a accéléré leur caractérisation mais leur relevance physiologique est restée évasive jusqu'à récemment. En effet, il a été découvert que de nombreux antigènes mammifères et bactériens étaient très proches en structure de l'alpha-GalCer et étaient capables de stimuler les iNKT. Les iNKT ont donc la capacité, en réponse à un engagement de leur TCR, de produire très rapidement une variété de cytokines dont des cytokines de type Th1 comme l'IL-2 et l'IFN- γ et des cytokines de type Th2 comme l'IL-4 et l'IL-10. Cette capacité de moduler l'immunité adaptative tout en étant restreinte à la reconnaissance d'un nombre d'antigènes très réduit confère à l'action menée par cette population un caractère à la fois inné et adaptatif. Ces cellules pourraient faire partie d'un pont entre les deux immunités. Chez la souris, c'est dans le foie que l'on retrouve la plus grande concentration de NKT mais on en trouve aussi dans le thymus, la moelle osseuse, la rate, les ganglions lymphatiques et le sang. Il est à garder en mémoire que les NKT, lorsqu'ils sont activés, expriment aussi CD25 et sont alors difficilement différenciables des Tregs. En fait, le mode d'action des NKT est encore très peu connu mais l'hypothèse a été émise qu'ils pourraient activer les Tregs et jouer ainsi leur rôle de régulateurs.

VI- Bibliographie

Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. Nat Rev

Immunol. 2003 Sep;3(9):745-56.

Algire GH, Legallais FY, Anderson BF. Vascular reactions of normal and malignant tissues in vivo. V. The rôle of hypotension in the action of a bacterial polysaccharide on tumors. *J Natl Cancer Inst.* 1952 Jun;12(6):1279-95.

Almeida AR, Zaragoza B, Freitas AA. Competition controls the rate of transition between the peripheral pools of CD4+CD25- and CD4+CD25+ T cells. *Int Immunol.* 2006 Nov;18(11):1607-13.

Alvarado-Sánchez B, Hernández-Castro B, Portales-Pérez D, Baranda L, Layseca-Espinosa E, Abud-Mendoza C, Cubillas-Tejeda AC, González-Amaro R. Regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun.* 2006 Sep;27(2):110-8.

Audo R, Morel J, Hahne M, Combe B. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induces rheumatoid arthritis synovial fibroblast proliferation through mitogen-activated protein kinases and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt. *J Biol Chem.* 2005 Apr 22;280(16):15709-18.

Bagavant H, Tung KS. Failure of CD25+ T cells from lupus-prone mice to suppress lupus glomerulonephritis and sialoadenitis. *J Immunol.* 2005 Jul 15;175(2):944-50.

Bluestone JA, Abbas AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol.* 2003 Mar;3(3):253-7.

Bluestone JA, Tang Q. How do CD4+CD25+ regulatory T cells control autoimmunity? *Curr Opin Immunol.* 2005 Dec;17(6):638-42.

Bodmer JL, Schneider P, Tschopp J. The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends Biochem Sci.* 2002 Jan;27(1):19-26.

Bonelli M, von Dalwigk K, Savitskaya A, Smolen JS, Scheinecker C. Foxp3 expression in CD4+ T cells of patients with systemic lupus erythematosus (SLE): A comparative phenotypic analysis. *Ann Rheum Dis.* 2007 Aug 29.

Brownlie RJ, Myers LK, Wooley PH, Corrigall VM, Bodman-Smith MD, Panayi GS, Thompson SJ. Treatment of murine collagen-induced arthritis by the stress protein BiP via interleukin-4-producing regulatory T cells: a novel function for an ancient protein. *Arthritis Rheum.* 2006 Mar;54(3):854-63.

Bruns P. Die Heilwirkung des Erysipels auf Geschwulste. *Beitr. Chir.* 3, 443-446 (1868)

Cañete JD, Martínez SE, Farrés J, Sanmartí R, Blay M, Gómez A, Salvador G, Muñoz-Gómez J. Differential Th1/Th2 cytokine patterns in chronic arthritis: interferon gamma is highly expressed in synovium of rheumatoid arthritis compared with seronegative spondyloarthropathies. *Ann Rheum Dis.* 2000 Apr;59(4):263-8.

Castigli E, Scott S, Dedeoglu F, Bryce P, Jabara H, Bhan AK, Mizoguchi E, Geha RS. Impaired IgA class switching in APRIL-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Mar 16;101(11):3903-8.

Chiba A, Kaieda S, Oki S, Yamamura T, Miyake S. The involvement of V(alpha)14 natural killer T cells in the pathogenesis of arthritis in murine models. *Arthritis Rheum.* 2005 Jun;52(6):1941-8.

Chiba A, Oki S, Miyamoto K, Hashimoto H, Yamamura T, Miyake S. Suppression of collagen-induced arthritis by natural killer T cell activation with OCH, a sphingosine-truncated analog of alpha-galactosylceramide. *Arthritis Rheum.* 2004 Jan;50(1):305-13.

- Coley WB. Contribution to the knowledge of Sarcoma. *Ann. Surg.* 14, 199-220 (1891)
- Coppieters K, Dewint P, Van Beneden K, Jacques P, Seeuws S, Verbruggen G, Deforce D, Elewaut D. NKT cells: manipulable managers of joint inflammation. *Rheumatology (Oxford)*. 2007 Apr;46(4):565-71
- Crispin JC, Martínez A, Alcocer-Varela J. Quantification of regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun.* 2003 Nov;21(3):273-6.
- Dillon SR, Gross JA, Ansell SM, Novak AJ. An APRIL to remember: novel TNF ligands as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov.* 2006 Mar;5(3):235-46.
- Ditzel HJ. The K/BxN mouse: a model of human inflammatory arthritis. *Trends Mol Med.* 2004 Jan;10(1):40-5.
- Dolhain RJ, van der Heiden AN, ter Haar NT, Breedveld FC, Miltenburg AM. Shift toward T lymphocytes with a T helper 1 cytokine-secretion profile in the joints of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1996 Dec;39(12):1961-9.
- Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, Moore S, Warnes G, Isenberg DA, Mauri C. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy. *J Exp Med.* 2004 Aug 2;200(3):277-85.
- Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature.* 2003 May 15;423(6937):356-61.
- Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2003 Apr;4(4):330-6.
- Forestier C, Molano A, Im JS, Dutronc Y, Diamond B, Davidson A, Illarionov PA, Besra GS, Porcelli SA. Expansion and hyperactivity of CD1d-restricted NKT cells during the progression of systemic lupus erythematosus in (New Zealand Black x New Zealand White)F1 mice. *J Immunol.* 2005 Jul 15;175(2):763-70.
- Frey O, Petrow PK, Gajda M, Siegmund K, Huehn J, Scheffold A, Hamann A, Radbruch A, Bräuer R. The role of regulatory T cells in antigen-induced arthritis: aggravation of arthritis after depletion and amelioration after transfer of CD4+CD25+ T cells. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(2):R291-301.
- Furukawa F, Yoshimasu T. Animal models of spontaneous and drug-induced cutaneous lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 2005 Jul;4(6):345-50.
- Gaur U, Aggarwal BB. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem Pharmacol.* 2003 Oct 15;66(8):1403-8.
- Godfrey DI, Kronenberg M. Going both ways: immune regulation via CD1d-dependent NKT cells. *J Clin Invest.* 2004 Nov;114(10):1379-88.
- Graham FL. Biological activity of tumor virus DNA. *Adv Cancer Res.* 1977;25:1-51.
- Gratia A & Linz R. C. R. *Seances Soc. Biol. Ses Fil.* 108, 421-428 (1931)
- Gray PW, Aggarwal BB, Benton CV, Bringman TS, Henzel WJ, Jarrett JA, Leung DW, Moffat B, Ng P, Svedersky LP, *et al.* Cloning and expression of cDNA for human lymphotoxin, a lymphokine with

tumour necrosis activity. *Nature*. 1984 Dec 20-1985 Jan 2;312(5996):721-4.

Greber UF, Willetts M, Webster P, Helenius A. Stepwise dismantling of adenovirus 2 during entry into cells. *Cell*. 1993 Nov 5;75(3):477-86.

Gross JA, Dillon SR, Mudri S, Johnston J, Littau A, Roque R, Rixon M, Schou O, Foley KP, Haugen H, McMillen S, Waggle K, Schreckhise RW, Shoemaker K, Vu T, Moore M, Grossman A, Clegg CH. TACI-Ig neutralizes molecules critical for B cell development and autoimmune disease. impaired B cell maturation in mice lacking BLyS. *Immunity*. 2001 Aug;15(2):289-302.

Gross JA, Johnston J, Mudri S, Enselman R, Dillon SR, Madden K, Xu W, Parrish-Novak J, Foster D, Lofton-Day C, Moore M, Littau A, Grossman A, Haugen H, Foley K, Blumberg H, Harrison K, Kindsvogel W, Clegg CH. TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease. *Nature*. 2000 Apr 27;404(6781):995-9.

Hahne M, Kataoka T, Schröter M, Hofmann K, Irmeler M, Bodmer JL, Schneider P, Bornand T, Holler N, French LE, Sordat B, Rimoldi D, Tschopp J. APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth. *J Exp Med*. 1998 Sep 21;188(6):1185-90.

Han S, Cao S, Bheekha-Escura R, Zheng B. Germinal center reaction in the joints of mice with collagen-induced arthritis: an animal model of lymphocyte activation and differentiation in arthritis joints. *Arthritis Rheum*. 2001 Jun;44(6):1438-43.

He TC, Zhou S, da Costa LT, Yu J, Kinzler KW, Vogelstein B. A simplified system for generating recombinant adenoviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Mar 3;95(5):2509-14.

Ji H, Gauguier D, Ohmura K, Gonzalez A, Duchatelle V, Danoy P, Garchon HJ, Degott C, Lathrop M, Benoist C, Mathis D. Genetic influences on the end-stage effector phase of arthritis. *J Exp Med*. 2001 Aug 6;194(3):321-30.

Kim HY, Kim HJ, Min HS, Kim S, Park WS, Park SH, Chung DH. NKT cells promote antibody-induced joint inflammation by suppressing transforming growth factor beta1 production. *J Exp Med*. 2005 Jan 3;201(1):41-7.

Klareskog L, Padyukov L, Rönnelid J, Alfredsson L. Genes, environment and immunity in the development of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Immunol*. 2006 Dec;18(6):650-5.

Koyama T, Tsukamoto H, Masumoto K, Himeji D, Hayashi K, Harada M, Horiuchi T. A novel polymorphism of the human APRIL gene is associated with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2003 Aug;42(8):980-5.

Koyama T, Tsukamoto H, Miyagi Y, Himeji D, Otsuka J, Miyagawa H, Harada M, Horiuchi T. Raised serum APRIL levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2005 Jul;64(7):1065-7.

La Cava A, Van Kaer L, Fu-Dong-Shi. CD4+CD25+ Tregs and NKT cells: regulators regulating regulators. *Trends Immunol*. 2006 Jul;27(7):322-7.

Leipe J, Skapenko A, Lipsky PE, Schulze-Koops H. Regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(3):93.

Liu K, Mohan C. What do mouse models teach us about human SLE? *Clin Immunol*. 2006 May;119(2):123-30.

Liu MF, Wang CR, Fung LL, Wu CR. Decreased CD4+CD25+ T cells in peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol.* 2004 Feb;59(2):198-202.

Liu R, La Cava A, Bai XF, Jee Y, Price M, Campagnolo DI, Christadoss P, Vollmer TL, Van Kaer L, Shi FD. Cooperation of invariant NKT cells and CD4+CD25+ T regulatory cells in the prevention of autoimmune myasthenia. *J Immunol.* 2005 Dec 15;175(12):7898-904.

Liu W, Szalai A, Zhao L, Liu D, Martin F, Kimberly RP, Zhou T, Carter RH. Control of spontaneous B lymphocyte autoimmunity with adenovirus-encoded soluble TACI. *Arthritis Rheum.* 2004 Jun;50(6):1884-96.

Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell.* 2001 Feb 23;104(4):487-501

Lyssuk EY, Torgashina AV, Soloviev SK, Nassonov EL, Bykovskaia SN. Reduced number and function of CD4+CD25highFoxP3+ regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Adv Exp Med Biol.* 2007;601:113-9.

MacEwan DJ. TNF ligands and receptors--a matter of life and death. *Br J Pharmacol.* 2002 Feb;135(4):855-75.

Mackay F, Kalled SL. TNF ligands and receptors in autoimmunity: an update. *Curr Opin Immunol.* 2002 Dec;14(6):783-90.

Mathian A, Weinberg A, Gallegos M, Banchereau J, Koutouzov S. IFN-alpha induces early lethal lupus in preautoimmune (New Zealand Black x New Zealand White) F1 but not in BALB/c mice. *J Immunol.* 2005 Mar 1;174(5):2499-506.

Medema JP, Planelles-Carazo L, Hardenberg G, Hahne M. The uncertain glory of APRIL. *Cell Death Differ.* 2003 Oct;10(10):1121-5.

Mieza MA, Itoh T, Cui JQ, Makino Y, Kawano T, Tsuchida K, Koike T, Shirai T, Yagita H, Matsuzawa A, Koseki H, Taniguchi M. Selective reduction of V alpha 14+ NK T cells associated with disease development in autoimmune-prone mice. *J Immunol.* 1996 May 15;156(10):4035-40.

Miossec P, Naviliat M, Dupuy d'Angeac A, Sany J, Banchereau J. Low levels of interleukin-4 and high levels of transforming growth factor beta in rheumatoid synovitis. *Arthritis Rheum.* 1990 Aug;33(8):1180-7.

Miyake S, Yamamura T. NKT cells and autoimmune diseases: unraveling the complexity. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2007;314:251-67.

Miyara M, Amoura Z, Parizot C, Badoual C, Dorgham K, Trad S, Nochy D, Debré P, Piette JC, Gorochoff G. Global natural regulatory T cell depletion in active systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2005 Dec 15;175(12):8392-400.

Monk CR, Spachidou M, Rovis F, Leung E, Botto M, Lechler RI, Garden OA. MRL/Mp CD4+,CD25- T cells show reduced sensitivity to suppression by CD4+,CD25+ regulatory T cells in vitro: a novel defect of T cell regulation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005 Apr;52(4):1180-4.

Morgan ME, Flierman R, van Duivenvoorde LM, Witteveen HJ, van Ewijk W, van Laar JM, de Vries

- RR, Toes RE. Effective treatment of collagen-induced arthritis by adoptive transfer of CD25+ regulatory T cells. *Arthritis Rheum.* 2005 Jul;52(7):2212-21.
- Morshed SR, Mannoor K, Halder RC, Kawamura H, Bannai M, Sekikawa H, Watanabe H, Abo T. Tissue-specific expansion of NKT and CD5+B cells at the onset of autoimmune disease in (NZBxNZW)F1 mice. *Eur J Immunol.* 2002 Sep;32(9):2551-61.
- Mudd PA, Teague BN, Farris AD. Regulatory T cells and systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol.* 2006 Sep;64(3):211-8.
- Mulherin D, Fitzgerald O, Bresnihan B. Synovial tissue macrophage populations and articular damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1996 Jan;39(1):115-24.
- Ng LG, Sutherland AP, Newton R, Qian F, Cachero TG, Scott ML, Thompson JS, Wheway J, Chtanova T, Groom J, Sutton IJ, Xin C, Tangye SG, Kalled SL, Mackay F, Mackay CR. B cell-activating factor belonging to the TNF family (BAFF)-R is the principal BAFF receptor facilitating BAFF costimulation of circulating T and B cells. *J Immunol.* 2004 Jul 15;173(2):807-17.
- O'Malley WE, Achinstein B, Shear MJ. Action of bacterial polysaccharide on tumors. II. Damage of sarcoma 37 by serum of mice treated with *Serratia marcescens* polysaccharide, and induced tolerance. *Journal of the National Cancer Institute, Vol. 29, 1962.*
- Ohnishi Y, Tsutsumi A, Goto D, Itoh S, Matsumoto I, Taniguchi M, Sumida T. TCR Valpha14 natural killer T cells function as effector T cells in mice with collagen-induced arthritis. *Clin Exp Immunol.* 2005 Jul;141(1):47-53.
- Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, Seeburg PH, Derynck R, Palladino MA, Kohr WJ, Aggarwal BB, Goeddel DV. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature.* 1984 Dec 20-1985 Jan 2;312(5996):724-9.
- Planelles L, Carvalho-Pinto CE, Hardenberg G, Smaniotto S, Savino W, Gómez-Caro R, Alvarez-Mon M, de Jong J, Eldering E, Martínez-A C, Medema JP, Hahne M. APRIL promotes B-1 cell-associated neoplasm. *Cancer Cell.* 2004 Oct;6(4):399-408
- Ramanujam M, Wang X, Huang W, Liu Z, Schiffer L, Tao H, Frank D, Rice J, Diamond B, Yu KO, Porcelli S, Davidson A. Similarities and differences between selective and nonselective BAFF blockade in murine SLE. *J Clin Invest.* 2006 Mar;116(3):724-34.
- Ramanujam M, Wang X, Huang W, Schiffer L, Grimaldi C, Akkerman A, Diamond B, Madaio MP, Davidson A. Mechanism of action of transmembrane activator and calcium modulator ligand interactor-Ig in murine systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2004 Sep 1;173(5):3524-34.
- Rawlings DJ, Saffran DC, Tsukada S, Largaespada DA, Grimaldi JC, Cohen L, Mohr RN, Bazan JF, Howard M, Copeland NG, *et al.* Mutation of unique region of Bruton's tyrosine kinase in immunodeficient XID mice. *Science.* 1993 Jul 16;261(5119):358-61.
- Reilly CM, Gilkeson GS. Use of genetic knockouts to modulate disease expression in a murine model of lupus, MRL/lpr mice. *Immunol Res.* 2002;25(2):143-53.
- Rogner UC, Avner P. Congenic mice: cutting tools for complex immune disorders. *Nat Rev Immunol.* 2003 Mar;3(3):243-52.
- Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by

- activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol.* 1995 Aug 1;155(3):1151-64
- Santiago-Raber ML, Laporte C, Reininger L, Izui S. Genetic basis of murine lupus. *Autoimmun Rev.* 2004 Jan;3(1):33-9.
- Scalapino KJ, Tang Q, Bluestone JA, Bonyhadi ML, Daikh DI. Suppression of disease in New Zealand Black/New Zealand White lupus-prone mice by adoptive transfer of ex vivo expanded regulatory T cells. *J Immunol.* 2006 Aug 1;177(3):1451-9.
- Schagen FH, Ossevoort M, Toes RE, Hoeben RC. Immune responses against adenoviral vectors and their transgene products: a review of strategies for evasion. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2004 Apr;50(1):51-70.
- Seyler TM, Park YW, Takemura S, Bram RJ, Kurtin PJ, Goronzy JJ, Weyand CM. BLYS and APRIL in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 2005 Nov;115(11):3083-92.
- Shear MJ & Turner FC. Chemical treatment of tumors. V. Isolation of the hemorrhage-producing fraction from *Serratia marcescens* (*Bacillus prodigiosus*) culture filtrate. *J Natl Cancer Inst.* 4, 81-97 (1943)
- Simon AK, Seipelt E, Sieper J. Divergent T-cell cytokine patterns in inflammatory arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 Aug 30;91(18):8562-6.
- Stein JV, López-Fraga M, Elustondo FA, Carvalho-Pinto CE, Rodríguez D, Gómez-Caro R, De Jong J, Martínez-A C, Medema JP, Hahne M. APRIL modulates B and T cell immunity. *J Clin Invest.* 2002 Jun;109(12):1587-98.
- Stohl W, Metyas S, Tan SM, Cheema GS, Omar B, Roschke V, Wu Y, Baker KP, Hilbert DM. Inverse association between circulating APRIL levels and serological and clinical disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2004 Sep;63(9):1096-103.
- Suryaprasad AG, Prindiville T. The biology of TNF blockade. *Autoimmun* 2003 Oct;2(6):346-57.
- Takeda K, Dennert G. The development of autoimmunity in C57BL/6 lpr mice correlates with the disappearance of natural killer type 1-positive cells: evidence for their suppressive action on bone marrow stem cell proliferation, B cell immunoglobulin secretion, and autoimmune symptoms. *J Exp Med.* 1993 Jan 1;177(1):155-64.
- Tan SM, Xu D, Roschke V, Perry JW, Arkfeld DG, Ehresmann GR, Migone TS, Hilbert DM, Stohl W. Local production of B lymphocyte stimulator protein and APRIL in arthritic joints of patients with inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003 Apr;48(4):982-92.
- Tang Q, Bluestone JA. Regulatory T-cell physiology and application to treat autoimmunity. *Immunol Rev.* 2006 Aug;212:217-37.
- Theofilopoulos AN, Shawler DL, Eisenberg RA, Dixon FJ. Splenic immunoglobulin-secreting cells and their regulation in autoimmune mice. *J Exp Med.* 1980 Feb 1;151(2):446-66.
- Valencia X, Yarboro C, Illei G, Lipsky PE. Deficient CD4+CD25high T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2007 Feb 15;178(4):2579-88.
- Vallerskog T, Heimbürger M, Gunnarsson I, Zhou W, Wahren-Herlenius M, Trollmo C, Malmström

- V. Differential effects on BAFF and APRIL levels in rituximab-treated patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(6):R167.
- van Amelsfort JM, Jacobs KM, Bijlsma JW, Lafeber FP, Taams LS. CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in rheumatoid arthritis: differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 2004 Sep;50(9):2775-85.
- van Roon JA, Bijlsma JW, Lafeber FP. Diversity of regulatory T cells to control arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2006 Oct;20(5):897-913.
- van Roon JA, Bijlsma JW, Lafeber FP. Suppression of inflammation and joint destruction in rheumatoid arthritis may require a concerted action of Th2 cytokines. *Curr Opin Investig Drugs.* 2002 Jul;3(7):1011-6.
- van Roon JA, Lafeber FP, Bijlsma JW. Synergistic activity of interleukin-4 and interleukin-10 in suppression of inflammation and joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2001 Jan;44(1):3-12.
- van Roon JA, van Roy JL, Gmelig-Meyling FH, Lafeber FP, Bijlsma JW. Prevention and reversal of cartilage degradation in rheumatoid arthritis by interleukin-10 and interleukin-4. *Arthritis Rheum.* 1996 May;39(5):829-35.
- Varfolomeev E, Kischkel F, Martin F, Seshasayee D, Wang H, Lawrence D, Olsson C, Tom L, Erickson S, French D, Schow P, Grewal IS, Ashkenazi A. APRIL-deficient mice have normal immune system development. *Mol Cell Biol.* 2004 Feb;24(3):997-1006.
- Verhoef CM, van Roon JA, Vianen ME, Bruijnzeel-Koomen CA, Lafeber FP, Bijlsma JW. Mutual antagonism of rheumatoid arthritis and hay fever; a role for type 1/type 2 T cell balance. *Ann Rheum Dis.* 1998 May;57(5):275-80.
- von Bülow GU, Bram RJ. NF-AT activation induced by a CAML-interacting member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Science.* 1997 Oct 3;278(5335):138-41.
- Wan S, Xia C, Morel L. IL-6 produced by dendritic cells from lupus-prone mice inhibits CD4+CD25+ T cell regulatory functions. *J Immunol.* 2007 Jan 1;178(1):271-9.
- Wang H, Marsters SA, Baker T, Chan B, Lee WP, Fu L, Tumas D, Yan M, Dixit VM, Ashkenazi A, Grewal IS. TACI-ligand interactions are required for T cell activation and collagen-induced arthritis in mice. *Nat Immunol.* 2001 Jul;2(7):632-7.
- Ware CF. The TNF superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003 Jun-Aug;14(3-4):181-4.
- Williams RO. Rodent models of arthritis: relevance for human disease. *Clin Exp Immunol.* 1998 Dec;114(3):330-2.
- Williams TW, Granger GA. Lymphocyte in vitro cytotoxicity: lymphotoxins of several mammalian species. *Nature.* 1968 Sep 7;219(5158):1076-7.
- Wilson SB, Delovitch TL. Janus-like role of regulatory iNKT cells in autoimmune disease and tumour immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003 Mar;3(3):211-22.
- Wooley PH. The usefulness and the limitations of animal models in identifying targets for therapy in arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2004 Feb;18(1):47-58.

Wu HY, Staines NA. A deficiency of CD4⁺CD25⁺ T cells permits the development of spontaneous lupus-like disease in mice, and can be reversed by induction of mucosal tolerance to histone peptide autoantigen. *Lupus*. 2004;13(3):192-200.

Yudoh K, Matsuno H, Nakazawa F, Yonezawa T, Kimura T. Reduced expression of the regulatory CD4⁺ T cell subset is related to Th1/Th2 balance and disease severity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000 Mar;43(3):617-27.

Zeng D, Liu Y, Sidobre S, Kronenberg M, Strober S. Activation of natural killer T cells in NZB/W mice induces Th1-type immune responses exacerbating lupus. *J Clin Invest*. 2003 Oct;112(8):1211-22.

Ziegler SF. FOXP3: not just for regulatory T cells anymore. *Eur J Immunol*. 2007 Jan;37(1):21-3.