

## **Immunologie moléculaire**

M. Philippe KOURILSKY, membre de l'Institut  
(Académie des Sciences), professeur

### **I. Résumé du cours**

LA VACCINATION : PROBLÈMES DE SCIENCES — QUESTIONS DE SOCIÉTÉ

#### **Deuxième partie : le futur**

Alors que le cours 2003-2004 avait porté sur le passé et le présent, le cours 2004-2005 a été axé sur l'avenir de la vaccination. Pour ce faire, il a fallu d'abord rappeler le constat formulé à la fin du cours précédent, et reconnaître, dans la trajectoire historique de la vaccinologie, les éléments caractéristiques de son état actuel : une démarche empirique initialement fondée plus sur la microbiologie que sur l'immunologie ; un déficit corrélatif de conception immunologique, le domaine ayant été longtemps dominé par la problématique des anticorps avec une moindre attention portée à l'immunologie cellulaire et à l'immunité innée ; et la reconnaissance d'une dichotomie assez claire entre les vaccins efficaces qui pour la plupart protègent contre des infections fulminantes, alors qu'il existe peu de vaccins contre les infections persistantes. Quel futur donc ? Sera-t-il possible de vacciner un jour contre le VIH, la malaria, le virus de l'hépatite C ? Manque-t-il des clés conceptuelles dans notre compréhension du système immunitaire ? Et finalement, compte tenu des énormes disparités dans la vaccination entre pays développés et pays en développement, quelles sont les conditions de tous ordres, et pas seulement scientifiques, qui permettraient de faire de la vaccination un bien public mondial ?

Le cours n'avait pas la prétention d'apporter une véritable réponse à toutes ces questions, mais il avait pour objectif d'en cerner les contours.

Il existe, de l'avenir de la vaccinologie, une vision conventionnelle assez largement partagée, dont il est bon d'analyser les éléments afin de la soumettre à la critique et d'en identifier les manques. Cet exercice conduit à dépouiller

l'ensemble du champ d'un optimisme plus ou moins convenu, induit d'un côté par le développement remarquable des connaissances en immunologie et microbiologie, et de l'autre par un sentiment généreux de succès nécessaire, au regard de la catastrophe humanitaire qu'engendre le manque de vaccins. De plus, la presse généraliste, même lorsqu'elle est scientifiquement orientée, est largement influencée et même biaisée, en ce qu'elle accorde, par exemple, une importance considérable à la protection vaccinale contre le bioterrorisme. Ainsi, on ne tiendra pas pour acquis que l'âge d'or de la vaccinologie, soit imminent. Et l'on questionnera sans complaisance la démarche habituelle des vaccinologues.

On posera d'abord en principe qu'il ne peut y avoir développement « rationnel » d'un vaccin sans que soient compris les phénomènes infectieux afférents. Cette affirmation (largement ignorée par la vaccinologie empirique) renvoie à la diversité des agents infectieux, à leurs caractéristiques biologiques, aux stratégies d'évasion, souvent originales que chacun d'entre eux déploie pour échapper au système immunitaire. Elle renvoie également aux connaissances de terrain et à l'épidémiologie. Celles-ci permettent de conditionner les essais cliniques et l'éventuelle vaccination de masse, mais sont aussi des éléments de compréhension du phénomène infectieux en ce qu'il est fonction de l'environnement. Ces considérations recouvrent une quantité considérable de connaissances nouvelles, de l'existence des communautés bactériennes (les biofilms) aux techniques de camouflage dans lesquelles les virus sont passés maîtres. Pour en saisir la valeur opérationnelle, il suffit d'imaginer combien la définition des cibles moléculaires possibles des vaccins gagne en précision si l'on connaît en détail les multiples étapes de pénétration de l'agent infectieux dans l'organisme et/ou dans les cellules. Telle est bien, par exemple, l'une des problématiques de la vaccination contre le sida.

Une deuxième série de questions touche à l'immunité innée, dont le statut au sein de la théorie immunologique a beaucoup évolué ces dernières années. D'une vision étroite de l'immunité innée, conçue comme les premières étapes de défense contre l'infection et comme un ensemble de dispositifs somme toute assez primitifs et peu sophistiqués, on est passé à une toute autre posture : d'une part, et notamment avec la découverte des récepteurs de type Toll (Toll-like receptors ou TLR), mais aussi d'autres « biosenseurs » (protéines NOD, PGRP, ... acide urique, etc.) on entrevoit le fait que l'immunité innée décompose certaines caractéristiques moléculaires de l'agent infectieux entrant, pour les traduire en signaux qui orientent la réponse immunitaire. D'autre part, la découverte que des TLR sont exprimés par un très grand nombre de cellules de l'immunité adaptative, y compris par les cellules régulatrices et des cellules mémoire, fait supposer que l'immunité innée influe sur toutes les étapes de l'immunité adaptative, et ne peut donc être réduite à être seulement la première ligne de défense. Comme deuxième « principe » de vaccinologie, on peut donc se donner pour objectif de reproduire ou d'améliorer les défenses innées. C'est bien la voie tracée pour la découverte de nouveaux adjuvants de vaccination, avec le but conventionnel d'amplifier la

réponse immunitaire, mais aussi et surtout celui de l'orienter de façon à la rendre adéquate à la lutte contre le pathogène considéré.

Le troisième « principe » est, bien évidemment, de reproduire ou d'améliorer les réponses adaptatives. Deux phénomènes devraient à l'avenir recevoir une attention croissante : celui des processus d'homéostasie avec l'implication des cellules régulatrices, et celui de la mémoire. Les cellules T régulatrices sont impliquées dans un nombre croissant d'infections (ainsi que dans les cancers, l'autoimmunité, l'allergie et la grossesse). Totalemment absentes de la vaccinologie conventionnelle, elles pourraient bien jouer un rôle singulier dans le contrôle des infections persistantes. Quant à la question de la mémoire, elle est étudiée depuis longtemps, mais demande aujourd'hui et pour l'avenir, à être déclinée de façon beaucoup plus détaillée dans de nombreuses directions : types et sous-types cellulaires impliqués, polarisation, localisation et distribution dans l'organisme, homéostasie, impact des nouveaux « arrivants » dans le compartiment mémoire (qui implique, le volume du compartiment étant limité, l'extinction ou la diminution en volume d'un certain nombre d'occupants produits au cours de l'histoire de l'individu).

Ainsi, pour concevoir et développer de nouveaux vaccins, l'approche empirique apparaît-elle aujourd'hui tout à fait insuffisante. La connaissance du processus infectieux spécifique et des paramètres clés de la réponse immunitaire sont probablement critiques. De ce point de vue, la question des corrélats de la vaccination réussie est d'une importance capitale pour l'avenir, en raison notamment de la difficulté et des coûts croissants des essais cliniques. Des progrès très significatifs sont à attendre en matière d'adjuvantation d'une part, mais aussi de formulation. La recherche de nouveaux adjuvants se prête désormais à des approches de type pharmacologique à haut débit. La voie est ouverte à de nouvelles formulations, dont chacune pose des problèmes spécifiques : ainsi l'immunisation transcutanée ou avec des « patchs » renvoie à l'immunologie de la peau et des muqueuses, où beaucoup reste encore à apprendre. Au total, la complexité de la vaccinologie s'est beaucoup accrue, et il est possible que plusieurs limites conceptuelles doivent encore être levées avant que des vaccins efficaces contre le VIH, le VHC et/ou la malaria puissent être développés. Les essais cliniques, pour leur part, apparaissent comme l'une des limitations pratiques majeures pour l'avenir — comme le démontre aujourd'hui déjà, l'incapacité de tester en clinique un certain nombre de candidats-vaccins contre le sida.

Restent plusieurs questions et interrogations fondamentales sur les vaccins destinés aux pays en développement. Certains vaccins imaginés et produits dans les pays développés sont peu adéquats ou totalement inadéquats en raison de leur composition et/ou de leur nature même (inadaptée aux souches ou à l'environnement local), de leur coût (la structure de coût, y compris l'amortissement des frais de recherche et développement étant celle des pays du Nord), de leur mode d'administration (qui renvoie à des questions de culture, de sociologie, de systèmes de soins, de politique de santé, etc.) De plus dans le contexte des pays

développés ou la sécurité est une préoccupation première et est payée au prix fort, le problème de la mondialisation des standards — évidemment calqués sur les standards occidentaux — a des répercussions éthiques profondes. Au total, de nombreux ajustements devront avoir lieu, dans les domaines scientifiques, réglementaires et éthiques, sans compter, bien sûr, les questions liées au financement, à la production et à la distribution. Sinon, la vaccination connaîtra peut-être un âge d'or, mais dans les pays développés seulement.

### Conférences et Colloques, Interventions Publiques 2004-2005

28 sept.	2004	The future of research in infectious diseases Colloque organisé par la Commission Européenne	Bruxelles
07-08 oct.	2004	Répertoires of B cells and T cells Symposium Bernard Halpern	Collège de France
27 nov.	2004	Les maladies négligées : problèmes de recherche, de réglementation, d'éthique Colloque « Sciences et Conscience européenne »	Collège de France
09 déc.	2004	La science et l'avenir de la société Grand Angle sur l'Avenir — Maison de la Radio	Paris
14 déc.	2004	La recherche au service des maladies négligées Conservatoire National des Arts et Métiers	Paris
19 janv.	2005	Neglected diseases : worldwide problems of research, regulation and ethics Distinguished guest of the City University of Hong Kong	Hong Kong
07 fév.	2005	Imposer des réglementations et des normes identiques aux pays riches et aux pays pauvres ? Colloque du MURS	Collège de France
08 fév.	2005	Conférence Inaugurale de Tremplin Recherche	Sénat
04 avr.	2005	Pour une recherche renouvelée : 2 <sup>es</sup> rencontres parlementaires sur la recherche et l'innovation	Sénat
12-14 avr.	2005	Are first world ethics applicable to the Third World ? Biovision	Lyon
27 mai	2005	From genes to functional organization : Quality Control in the immune system Colloque de la Société Française de génétiques	Montpellier
1 <sup>er</sup> juin	2005	La recherche au service des maladies négligées Conférence organisée par l'Ambassade de France au Mégaron Athènes	Athènes

## II. Rapport d'activité

L'activité de recherche de l'unité est centrée sur l'étude de la diversité des répertoires des lymphocytes T et B et sur les fonctions de diverses sous populations lymphocytaires dans des situations physiologiques et pathologiques (cancers, maladies infectieuses, maladies autoimmunes). Par ailleurs, nous nous intéressons aux interactions entre le VIH et le système immunitaire de l'hôte, notamment aux stratégies développées par le VIH pour échapper à la réponse immune.

### 1. Caractérisation des sous populations de lymphocytes T de mémoire « centrale » et « effectrice »

(Cécile Bouneaud, Zacarias Garcia et Christophe Pannetier)

Bien qu'il soit généralement accepté qu'on puisse subdiviser la population T mémoire en deux compartiments appelés mémoire « centrale » ( $T_{CM}$ ) et « effectrice » ( $T_{EM}$ ), les voies de différenciation de ces deux sous populations sont encore mal connues, de même que leurs relations de filiation éventuelle. Dans un modèle murin permettant d'étudier les cellules CD8  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  spécifiques du peptide mâle Smcy3 présenté par H2-D<sup>b</sup>, nous avons étudié le répertoire TCR $\alpha$  des deux sous populations mémoires, dans différents organes lymphoïdes et après restimulation antigénique. Les études de répertoire montrent que deux tiers des clones  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  dérivent d'un précurseur commun naïf, alors que le dernier tiers est distinct. De plus, les deux populations  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  montrent des comportements très différents *in vivo* : les clones  $T_{CM}$  sont stables en absence de re-stimulation, mais ils répondent fortement à un challenge antigénique et ils se différencient à la fois en  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$ , bien que seule une partie des  $T_{CM}$  génère des  $T_{EM}$  ; au contraire, les  $T_{EM}$  ne persistent pas longtemps en absence d'antigène et ils ne sont pas capables de générer une réponse proliférative secondaire après challenge antigénique. Ces résultats révèlent que les deux populations  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  ont des comportements drastiquement différents, et suggèrent que la qualité plutôt que la quantité de cellules mémoires doit être prise en compte, notamment dans les essais d'immunisation vaccinale chez l'homme.

### 2. Détection de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> humains spécifiques d'antigène de très faible fréquence après sélection à l'aide de billes tétramère-MHC class II et analyse Immunoscope (Fabrice Lemaitre, Manuelle Viguiier)

Les tétramères MHC-class II représentent des outils importants pour l'étude des réponses T CD4 dans différentes situations cliniques chez l'homme. Nous avons produit des molécules HLA-DRA1\*0101/DRB1\*0401 solubles et non chargées en peptide en utilisant des cellules de *Drosophila melanogaster*. Des expériences de chargement de peptide nous ont permis de démontrer que ces molécules recombinantes sont capables de présenter des antigènes de façon aussi

efficaces que les molécules natives. Cependant les fréquences de cellules détectables par ces molécules au sein de PBMC (1/700) sont bien inférieures à celles obtenues habituellement avec les tétramères CMH-I ou détectables avec des techniques telles que l'ELISPOT. Pour augmenter la sensibilité de notre approche, nous avons adapté une technologie mise au point dans le laboratoire pour les tétramères de CMH classe I, en combinant l'utilisation de billes magnétiques coatées avec des molécules de CMH-II pour trier les cellules T CD4 spécifiques d'un antigène donné, et la technologie Immunoscope permettant de traquer les cellules portant un réarrangement de TCR donné. Cette combinaison nous a permis de diminuer grandement le seuil de détection de cellules T CD4 spécifiques au sein de PBMC (jusqu'à  $4 \times 10^{-6}$ ) et est d'un grand intérêt dans le cadre de l'immunomonitorage de patients lors d'essais cliniques, pour le suivi de populations cellulaires CD4 spécifiques d'antigènes tumoraux, viraux ou d'autoantigènes.

*3. Influence de l'activité enzymatique de la Terminale déoxynucléotidyl Transférase (TdT) sur les répertoires V-alpha et V-beta publics (Nicolas Fazilleau, Fabrice Lemaitre, Jean Kanellopoulos)*

L'enzyme TdT catalyse l'addition de nucléotides aux extrémités codantes des segments de gènes du TCR. Dans le but de quantifier la contribution de cette enzyme sur la diversité des TCR, nous avons estimé la taille du répertoire des cellules  $T\alpha\beta$  chez des souris Tdtko. Les rates de souris naïves contiennent environ  $10^5$  TCR distincts à un moment donné, ce qui correspond à 5-10 % de la taille du répertoire T calculée chez les souris de génotype sauvage. La TdT est à l'origine d'au moins 90 % de la diversité du  $TCR\alpha\beta$ . Lors d'une réponse lymphocytaire T contre un complexe CMH-peptide, les lymphocytes T spécifiques portent des TCR publics dont les réarrangements  $V\alpha-J\alpha$  et/ou  $V\beta-D\beta-J\beta$  sont communs à tous les individus d'un même haplotype. Les réarrangements publics  $V\alpha-J\alpha$  et  $V\beta-D\beta-J\beta$  spécifiques de trois épitopes antigéniques sont identiques chez les souris Tdtko et sauvages, et les séquences des CDR3 publics des souris TdT+/+ et Tdtko présentent de fortes homologies entre elles. Par ailleurs, malgré la baisse de diversité de 15 à 20 fois chez les souris Tdtko, une maturation d'avidité des réponses T secondaires est observée. Nos résultats suggèrent donc que les répertoires T publics sont majoritairement indépendants de la TdT.

*4. Immunoscope et suivi clinique (Annick Lim, Brigitte Lemercier, Xavier Wertz, François Huetz)*

Depuis sa conception (1992), l'Immunoscope a été amélioré sans relâche, afin de le rendre apte au suivi clinique des réponses T chez l'homme, dans diverses situations pathologiques, ou dans des essais d'immunothérapie. Parmi les additions les plus importantes qui ont été réalisées figurent : (a) l'inclusion des

méthodes réellement quantitatives ; (b) l'adjonction d'un module de séquençage à haut débit ; (c) la combinaison de l'Immunoscope et du tri de cellules T spécifiques grâce à des tétramères de molécules HLA de classe I chargés avec des peptides définis ; (d) la définition de protocoles adaptés à un suivi clinique prospectif et rétrospectif. Le développement récent de l'Immunoscope pour les cellules B étend le champ d'intervention de cette technologie à d'autres situations cliniques et au suivi d'essais vaccinaux.

5. *Rôle des T régulatrices dans le mélanome métastatique*  
(Manuelle Viguier, Fabrice Lemaitre, Laurent Ferradini)

Les réponses immunologiques aux tumeurs restent mal comprises. En particulier, on ne retrouve pas de corrélation stricte entre les régressions tumorales et le développement de réponses T cytolytiques spécifiques de la tumeur, que ce soit dans le cas de mélanomes ou d'autres cancers généralement moins bien documentés au plan immunologique. La description récente de cellules T régulatrices (Treg) CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> et leur rôle dans le maintien de la tolérance et le contrôle de l'autoimmunité nous a incités à tester l'hypothèse selon laquelle des Treg supprimeraient la réponse des lymphocytes T infiltrant un mélanome humain métastatique. Nous avons montré que les T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> sont sur-représentés dans les ganglions métastatiques, elles expriment Foxp3, le marqueur des Treg, et elles ont un phénotype activé et un répertoire TCR V $\beta$  polyclonal, analysé par Immunoscope. Ces cellules inhibent *in vitro* la prolifération et la production de cytokines de cellules T CD8<sup>+</sup> et T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> au travers d'un mécanisme contact-dépendant. Les Treg représentent donc un élément important du micro-environnement suppresseur des mélanomes métastatiques, et pourraient contribuer à la mauvaise réponse de certains patients à des protocoles d'immunothérapie. Contrebalancer l'effet de ces cellules pourrait représenter de nouvelles stratégies anti-tumorales.

6. *Influence de l'immunothérapie par l'IL-2 sur la dynamique des cellules T CD4 et les fonctions antivirales des T CD8 chez des patients VIH<sup>+</sup>*  
(Béatrice Poirier-Baudoin, Peggy Masdehors-Taoui, Valérie Seffer, Sylvie Rouyre, en collaboration avec le Pr. Yves Levy, Hôpital Henri Mondor, Créteil)

La combinaison de molécules antirétrovirales inhibant la transcriptase inverse et la protéase du VIH s'avère efficace chez une fraction importante de patients chroniquement infectés par le VIH, induisant une suppression de la charge virale plasmatique et une restauration du nombre de lymphocytes T CD4. Cependant ces traitements sont limités par leur toxicité, responsable de complications métaboliques sévères. Dans le but de promouvoir la restauration quantitative et qualitative du pool des lymphocytes T CD4, ces traitements ont été associés à une immunothérapie par l'IL-2, cytokine immunostimulante jouant un rôle central dans l'induction et le maintien d'une immunité antivirale. Afin de comprendre

les mécanismes homéostatiques qui contribuent à la restauration immune chez les patients recevant de l'IL-2, nous avons développé différentes approches permettant de détecter *ex-vivo* des cellules récemment produites par le thymus (TREC), d'identifier des cellules subissant soit une prolifération homéostatique soit une mort programmée par apoptose. En parallèle, l'immunité antivirale a été analysée par une analyse multiparamétrique en cytométrie de flux après stimulation par des antigènes viraux. Dans le cadre de trois essais cliniques (ANRS 048, ANRS 079, Silcaat), nous avons ainsi montré que la dynamique des lymphocytes T CD4 est modifiée sous l'effet de l'IL-2, notamment en agissant sur leur survie et en induisant leur expansion périphérique, et l'immunothérapie par l'IL-2 permet de maintenir sur le long terme des cellules effectrices spécifiques du VIH.

*7. Circuits lymphocytaires responsables du « homing » des lymphocytes T dans la muqueuse digestive (Delphine Guy-Grand, en collaboration avec Pierre Vassali)*

La muqueuse digestive est peuplée par 4 types de lymphocytes T : les lymphocytes TCR $\beta$  CD4<sup>+</sup> ou CD8 $\alpha\beta$ <sup>+</sup> (type a), les lymphocytes TCR $\beta$  sans co-récepteurs ou CD8 $\alpha\alpha$ <sup>+</sup>, et les lymphocytes TCR $\gamma\delta$  (type b). L'expression de l'intégrine,  $\alpha 4\beta 7$ , est responsable du tropisme dans la muqueuse des lymphocytes circulants de type a. Dans la lymphe du canal thoracique circulent les précurseurs des 4 populations de lymphocytes muqueux. La lymphe renferme 2,5 % de lymphocytes  $\alpha 4\beta 7$ , répartis dans toutes les sous-populations. L'étude des thymocytes et de la lymphe des souris thymectomisées à l'âge adulte permet de montrer que l'expression d' $\alpha 4\beta 7$  peut être acquise dans des localisations différentes par les lymphocytes de type a (dans le territoire lymphoïde associé à l'intestin) et de type b (sur les thymocytes). La fraction de lymphocytes muqueux qui recircule dans la lymphe est faite en majorité de lymphocytes mémoire de type central ou périphérique. Les lymphocytes de type effecteur (CD44<sup>+</sup> CD62L<sup>-</sup>) qui recirculent sont ceux qui sont les moins différenciés dans la voie cytotoxique. Chez les souris euthymiques, nous avons montré que toutes les populations étaient originaires du thymus. Ces lymphocytes activés sont constitués de cellules « mémoire » qui circulent à travers la lamina propria, et de cellules « effectrices », qui ne circulent plus et acquièrent des fonctions lytiques de type NK. Les précurseurs T ne sont pas seuls à circuler dans la lymphe du canal thoracique pour se loger dans l'épithélium et/ou la lamina propria. Le petit contingent de cellules activées en division qui circule comprend également les précurseurs des plasmocytes, des mastocytes, exprimant  $\alpha 4\beta 7$ , et de cellules dendritiques. Toutes ces cellules participent à des chaînes de réactions impliquées dans le maintien de l'intégrité épithéliale.



8. *Dynamiques des réponses lymphocytaires T in vivo*  
(Susanna Celli, Zacarias Garcia, Philippe Bousso)

L'activité de cette équipe s'articule autour de deux axes principaux : d'une part elle étudie la régulation des interactions entre lymphocytes T (LT) et cellules dendritiques (DC) *in vivo*, d'autre part elle analyse comment le programme d'activation des LT est déterminé par les caractéristiques des contacts avec les DC. Pour ce faire, des techniques d'imagerie statique et dynamique (microscopie confocale et multiphoton) sont utilisées afin d'analyser la migration lymphocytaire et les interactions cellulaires dans le ganglion lymphatique. Le rôle de certains paramètres (comme l'affinité du TCR, la densité d'antigène, le phénotype des LT...) est étudié ainsi que les caractéristiques (durée, stabilité, fréquence) des contacts LT-DC. Un système expérimental a été établi qui permet de suivre l'historique des rencontres avec l'antigène de cellules T individuelles et les conséquences fonctionnelles d'interactions multiples avec les DC. Nous nous intéressons aussi aux dynamiques moléculaires lors des interactions LT-DC et notamment à la formation de la synapse immunologique *in vivo*. Nos objectifs consistent à déterminer i) si une telle structure existe *in vivo*, et ii) si tous types de contact permettant l'activation lymphocytaire génèrent le même profil de synapse immunologique. Enfin, nous utilisons des approches d'imagerie pour analyser les interactions cellulaires gouvernant, d'une part, l'aide fournie par les cellules T CD4 lors de réponses lymphocytaires cytotoxiques et, d'autre part, la suppression de réponses T par les cellules T régulatrices CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>. Ces informations devraient nous permettre de mieux comprendre comment sont régulées les réponses lymphocytaires T *in vivo*.

9. *Allergie au pollen de frêne : étude immuno-chimique*  
(Pascal Poncet, en collaboration avec Gabriel Peltre, ESPCI,  
et Jean-Michel Wal, INRA)

Le frêne (*Fraxinus excelsior*) induit, du Nord au Sud de l'Europe à la fin de l'hiver, une pollinisation importante responsable de rhinites, conjonctivites et asthmes allergiques (70 % des cas). Afin d'identifier les allergènes du pollen de frêne et pour déterminer le profil de sensibilisation de différents patients allergiques aux pollens, nous avons analysé par western blot mono- ou bi-dimensionnel le profil de réactivité des IgE sériques de 62 patients diagnostiqués pour une allergie au pollen de frêne, de troène, d'olivier, ou de graminées. Certaines protéines ont ensuite été identifiées par spectrométrie de masse. Nous montrons que 92 % des patients allergiques au frêne ont des IgE reconnaissant Fra e 1, l'allergène majeur du frêne, et 46 % reconnaissent la profiline. Les allergènes d'un extrait soluble de pollen de frêne peuvent se répartir en 5 zones en fonction de leur point isolélectrique, définissant ainsi l'allergome du pollen de frêne. La spectrométrie de masse a permis d'identifier 10 protéines non reconnues par les IgE des sérums qui ont permis de définir l'allergome du frêne. Ce travail contribue à une meilleure définition des allergènes du pollen de frêne et de la sensibili-

sation qu'ils induisent, et l'étude de la pertinence diagnostique et thérapeutique de chacun de ces composants peut avoir un impact sur la prédiction de l'évolution des symptômes des patients allergiques et sur l'élaboration d'un traitement (vaccination allergique).

#### LISTE DES PUBLICATIONS 2004-2005

BOUSSO P. & ROBEY E.A : Dynamic behavior of T cells and thymocytes in lymphoid organs as revealed by two-photon microscopy Real-time imaging of T-cell development. *Immunity*, (2004) 21 : 349.

BOUSSO P. : Real-time imaging of T-cell development. *Current Opinion in Immunology*, (2004) 16 : 400.

GUY-GRAND D., VASSALLI P. : Immunology. Tracing an orphan's genealogy. *Science*, (2004) 305 : 185.

VIGUIER M., LEMAITRE F., VEROLA O., CHO M.S., GOROCHOV G., DUBERTRET L., BACHELEZ H., KOURILSKY P. & FERRADINI L. : Foxp3 expressing CD4(+) CD25(high) Regulatory T Cells Are Overrepresented in Human Metastatic Melanoma Lymph Nodes and Inhibit the Function of Infiltrating T Cells. *The Journal of Immunology*, (2004) 173 : 1444.

GOUGEON M.L., PENICAUD L., FROMENTY B., LECLERCQ P., VIARD J.P. & CAPEAU J. : Adipocytes targets and actors in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy and metabolic alterations. *Antiviral Therapy*, (2004) 9 : 161.

LEMAITRE F., VIGUIER M., CHO M.S., FOURNEAU J.M., MAILLÈRE B., KOURILSKY P., VAN ENDERT P.M. & FERRADINI L. : Detection of low-frequency human antigen-specific CD4(+) T cells using MHC class II multimer bead sorting and immunoscope analysis. *European Journal of Immunology*, (2004) 4 : 2941.

SCHMIDT M., HACEIN-BEY-ABINA S., WISSLER M., CARLIER F., LIM A., PRINZ C., GLIMM H., ANDRE-SCHMUTZ I., HUE C., GARRIGUE A., LE DEIST F., LAGRESLE C., FISCHER A., CAVAZZANA-CALVO M., VON KALLE C. : Clonal evidence for the transduction of CD34+ cells with lymphomyeloid differentiation potential and self-renewal capacity in the SCID-X1 gene therapy trial. *Blood*, (Dec. 2004) : 7.

CHAPEL A., DEAS O., BENSIDHOUM M., FRANÇOIS S., MOUISEDDINE M., PONCET P., DURRBACH A., AIGUEPERSE J., GOURMELON P., GORIN N.C. and HIRSCH F., THIERRY D. : *In vivo* gene targeting of IL-3 into immature hematopoietic cells through CD117 receptor mediated antibody gene delivery. *Genetic Vaccines and Therapy*, (2004) 2 (1) : 16-24.

PAJOT A., MICHEL M.L., FAZILLEAU N., PANCRE V., AURIAULT C., OJCIUS D.M., LEMONNIER F.A., LONE Y.C. : A mouse model of human adaptive immune functions : HLA-A2.1-/HLA-DR1-transgenic H-2 class I/class II-knockout mice. *European Journal of Immunology*, (2004) 34 : 3060-9.

PAJOT A., PANCRE V., FAZILLEAU N., MICHEL M.L., ANGYALOSI G., OJCIUS D.M., AURIAULT C., LEMONNIER F.A., LONE Y.C. : Comparison of HLA-DR1-restricted

T cell response induced in HLA-DR1 transgenic mice deficient for murine MHC class II and HLA-DR1 transgenic mice expressing endogenous murine MHC class II molecules. *International Immunology*, (2004) 16 : 1275-82.

DESVAUX D., SCHWARZINGER M., PASTURAL M., BARON C., ABTAHI M., BERREHAR F., LIM A., LANG P. & LE GOUVELLO S. : Molecular diagnosis of renal-allograft rejection : correlation with histopathologic evaluation and antirejection-therapy resistance. *Transplantation*, (2004) 78 : 647.

GOUGEON M.L. : Apoptotic pathways triggered by HIV and consequences on T cell homeostasis and HIV-specific immunity. *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, (2004) 36 : 95.

DOGAN I., DORGHAM K., CHANG H.C., PARIZOT C., LEMAITRE F., FERRADINI L., REINHERZ E.L., DEBRE P., GOROCHOV G. : Phage-displayed libraries of peptide/major histocompatibility complexes. *European Journal of Immunology*, (2004) 34 : 598-607.

DELARBRE C. & GACHELIN G. : Injection of the immuno-modulatory drug  $\alpha$ -galactosylceramide results in the recruitment of a large population of antigen-presenting cells into the liver of C57BL/6 mice. *Microbes and Infection*, (2004) 6 : 360.

ANFOSSI N., ROBBINS S.H., UGOLINI S., GEORGEL P., HOEBE K., BOUNEAUD C., RONET C., KASER A., DI-CIOCCIO C.B., TOMASELLO E., BLUMBERG R.S., BEUTLER B., REINER S.L., ALEXOPOULOU L., LANTZ O., RAULET D.H., BROSSAY L. & VIVIER E. : Expansion and function of CD8<sup>+</sup> T cells expressing Ly49 inhibitory receptors specific for MHC class I molecule. *The Journal of Immunology*, (2004) 173 : 3773.

MOVASSAGH M., SPATZ A., DAVOUST J., LEBECQUE S., ROMERO P., PITTET M., RIMOLDI D., LIENARD D., GUGERLI O., FERRADINI L., ROBERT C., AVRIL M.F., ZITVOGEL L., ANGEVIN E. : Selective accumulation of mature DC-Lamp<sup>+</sup> dendritic cells in tumor sites is associated with efficient T-cell-mediated antitumor response and control of metastatic dissemination in melanoma. *Cancer Research*, (2004) 64 (6) : 2192-8.

BOUNEAUD C., GARCIA Z., KOURILSKY P., PANNETIER C. : Lineage relationships, homeostasis, and recall capacities of central- and effector-memory CD8 T cells *in vivo*. *J. Exp. Med.*, (2005) 21 ; 201 (4) : 579-90.

FAZILLEAU N., CABANIOLS J.P., LEMAITRE F., MOTTA I., KOURILSKY P., KANELLOPOULOS J.M. : Valpha and Vbeta public repertoires are highly conserved in terminal deoxynucleotidyl transferase-deficient mice. *J. Immunol.*, (2005) 1 ; 174 (1) : 345-5.

DE LA COSTE A., SIX E., FAZILLEAU N., MASCARELL L., LEGRAND N., MAILHE M.P., CUMANO A., LAABI Y., FREITAS A.A. : *In vivo* and in absence of a thymus, the enforced expression of the Notch ligands delta-1 or delta-4 promotes T cell development with specific unique effects. *J. Immunol.*, (2005) 1 ; 174 (5) : 2730-7.

GOUGEON M.L. : To kill or be killed : how HIV exhausts the immune system. *Cell Death Differ.* (2005) 12, Supp., 1, 845-854.