

Immunologie Moléculaire

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

I. Enseignement

Le système immunitaire est l'un des systèmes biologiques complexes les mieux connus. Pourtant, il a rarement été étudié en tant que « système ». Des tentatives précoces, comme la modélisation du réseau idiotypique, ont connu un succès modeste (1). Toutefois, la pensée systémique a apporté des concepts nouveaux, notamment la vision cognitive des systèmes immunitaires qu'ont promue plusieurs auteurs, dont A. Coutinho (2-3) et I. Cohen (4).

Même s'il n'était pas doté de capacités cognitives, le système immunitaire devrait être considéré et traité comme un système. Depuis quelques années, la biologie systémique s'est significativement développée. Le temps est-il venu de promouvoir l'immunologie systémique ? Le cours apportera à cette question une réponse positive, tout en identifiant les singularités de l'immunologie systémique par rapport à la biologie systémique.

A. La biologie systémique

La biologie systémique se développe dans un contexte où l'acquisition massive des données biologiques rend la modélisation indispensable et inéluctable. À titre d'exemple, l'accumulation des publications traitant d'un seul problème bien ciblé (tel que la fonction de la protéine p. 53) promeut d'ores et déjà une sorte de modélisation, tendance dont on trouve la trace dans la multiplication des revues dites de synthèse, qui, de fait, « modélisent » l'information. On peut citer S. Brenner « Nous avons désormais une capacité sans précédent pour récolter des données, mais une crise se développe maintenant en biologie : c'est que cette information non structurée n'améliore pas la compréhension. Nous avons besoin de cadres et de modèles pour y intégrer l'ensemble du savoir et des données — c'est le problème en biologie. Développer ces modèles est le véritable défi du 21^e siècle » (« *We now have unprecedented ability to collect data but*

there is now a crisis developing in biology, in that completely unstructured information does not enhance understanding. We need frameworks and models to put all of this knowledge and data into — That is the problem in biology. Driving toward these models is really the big challenge of 21st century. »).

Certains chercheurs prétendent que la biologie systémique n'est guère que « de la physiologie avec des molécules », sans aucune rupture épistémologique. D'autres la considèrent comme une nouvelle discipline technique (5). Mais d'autres, dont L. Hood (6), soulignent la nouveauté de l'approche qui consiste à accumuler des données, de façon massive mais quelque peu aveugle, de construire des modèles, et d'analyser si ceux-ci rendent compte de perturbations du système biologique. Ceci conduit à des améliorations itératives du modèle qui doit rendre compte de plus en plus exactement des données expérimentales (7-8). Selon Ed. Liu (9), les diverses définitions de la biologie systémique convergent sur l'objectif général de trouver des explications aux phénomènes biologiques au travers des interactions de tous les constituants du système. Ed. Liu insiste aussi sur les aspects « sociaux » d'une recherche dont les enjeux majeurs sont aussi bien organisationnels et computationnels que strictement biologiques.

En 1999, Hartwell, Hopfield, Liebler et Murray (10) ont publié un article éclairant qui questionne, pour l'essentiel la transition de la biologie moléculaire à la biologie **modulaire**. Il mérite d'être lu avec attention parce qu'il soulève plusieurs points de fond sur la biologie systémique. Si des modules fonctionnels constituent un, ou le niveau critique de l'organisation biologique, comment les définir ? Comment en faire des objets d'étude ? Comment les isoler, les synthétiser, les modéliser, les assembler ? L'ingénierie inverse est-elle faisable ? etc. Des parallèles intéressants sont établis avec d'autres disciplines scientifiques, notamment dans le champ de la computation et de l'ingénierie. Il faut noter que Hartwell *et al.* traitent principalement de biologie cellulaire, sans discuter les organisations multicellulaires et les organismes complexes.

De fait, pour l'heure, la biologie systémique s'occupe beaucoup plus de la compréhension de processus cellulaires intégrés, et, de façon ultime, de la cellule, que des organismes. Cette remarque vaut pour les outils aujourd'hui utilisés (puces pour l'analyse du transcriptome, du protéome, du lipidome, etc. ChIP et ChIp-chip, etc.), aussi bien que pour les travaux expérimentaux, les concepts et les modèles qui ont été développés. C'est ainsi que beaucoup d'études ont porté sur des levures et des bactéries, ou sur des cellules d'eucaryotes d'un type défini (souvent des lignées cellulaires) ou des mélanges cellulaires de complexité relativement limitée (par exemple : des échantillons tumoraux).

Le corps de concepts qui commence à émerger est produit par des experts d'horizons divers, dans et en dehors du champ de la biologie. Ils s'attachent à déchiffrer les règles qui gouvernent les organisations et les fonctions dans un certain nombre de systèmes, où l'on retrouve aussi bien : le système social des acteurs de cinéma américains, le réseau de distribution d'électricité des États-

Unis, la toile (le web), et le réseau des citations entre scientifiques, que des systèmes biologiques tels que : le réseau des facteurs de transcription chez la levure et dans d'autres cellules procaryotes et eucaryotes, des réseaux transcriptionnels (fondés sur l'ensemble du transcriptome), le système nerveux de *C.elegans*, etc. Une bonne part des concepts trouvent leurs racines dans la théorie mathématique de la communication dont Shannon fut le pionnier en 1948-49 (11). Il n'entrait pas dans le cadre de ce cours de revoir l'ensemble de la littérature afférente à la biologie systémique. Seuls quelques résultats et concepts seront évoqués.

Plusieurs propriétés apparaissent communes à certains de ces réseaux. Elles ont acquis une certaine popularité, mais méritent d'être soigneusement analysées :

- La propriété « des petits mondes » (12).
- La propriété « d'indépendance d'échelle » (scale-free) (13).
- La propriété « d'attachement préférentiel », qui a été liée à la précédente (13).
- La propriété « d'autosimilarité » (le légume fractal dans le modèle du brocoli) (14).

Un certain nombre de réseaux biologiques possèdent apparemment une ou plusieurs de ces propriétés (15-18). Ceci a conduit à l'idée, de plus en plus répandue, mais trop simplifiée, que les réseaux biologiques sont souvent structurés autour d'un petit nombre de têtes de réseau ou nœuds (hubs), hautement connectés et d'un beaucoup plus grand nombre de nœuds faiblement connectés, ce qui rendrait compte des deux propriétés « des petits mondes » et « d'indépendance d'échelle ». Néanmoins, la prudence s'impose, parce que d'autres auteurs, travaillant sur des réseaux particuliers (comme le Web) offrent des vues contradictoires (19). De plus, d'autres approches suggèrent qu'il convient de distinguer plusieurs catégories de réseaux, biologiques ou non.

Alon *et al.* (20-24) utilisent une approche quasiment arithmétique, fondée sur le décompte des « motifs » mettant en jeu les interactions entre 3 éléments (13 possibilités), 4 éléments (199 possibilités) ou 5 éléments (9 364 possibilités). Ainsi, dans les motifs à 3 éléments, la boucle dite « feed-forward loop » est observée plus fréquemment que dans des réseaux « randomisés ». Le motif est bien connu des ingénieurs. Sa propriété majeure est que le signal de sortie reste activé aussi longtemps que le signal d'entrée est présent, mais rapidement éteint, si ce dernier disparaît. Des histogrammes normalisés décrivant la fréquence des motifs observés permettent de comparer différents réseaux. Ce type d'analyse fait émerger de possibles superstructures, et suggère une classification des réseaux en au-moins 4 ou 5 catégories.

Bien entendu, les réseaux ne sont pas statiques. Des études dynamiques, chez la levure notamment (25-27) mettent en lumière des changements majeurs, dont on peut déduire que, bien que « permanentes », certaines têtes de réseau changent de fonction selon les conditions ou les perturbations. De plus, il faut garder en mémoire que des fluctuations importantes d'expression de gènes spécifiques sont

observées entre des cellules individuelles et génétiquement identiques et placées dans les mêmes conditions externes (28-29).

Néanmoins, les systèmes biologiques apparaissent très robustes vis-à-vis de telles fluctuations, de changements génétiques, et de beaucoup d'attaques externes. Csete et Doyle (30) relèvent que la robustesse est une caractéristique majeure des systèmes complexes, qu'ils soient biologiques ou fabriqués par l'homme. Wagner (31) a documenté de façon convaincante l'idée générale que les organismes vivants sont génétiquement robustes à tous les niveaux de leur organisation — la redondance n'étant qu'une composante mineure de la robustesse qui apparaît à l'inverse comme étant largement une propriété distribuée. On peut imaginer intégrer la robustesse de modules individuels afin d'évaluer la robustesse d'un système plus complexe ; cette approche a été suivie dans l'analyse de plusieurs modules bactériens impliqués dans la chimiotaxie et le choc thermique (32-34). Le pendant de la robustesse, i.e. la fragilité, mérite d'être analysée de plein droit. Dans les modèles où un petit nombre de têtes de réseau concentrent beaucoup d'interactions, ces concentrateurs sont censés être des cibles sensibles vis-à-vis de la fragilité du système. Il existe des indications en ce sens, par exemple chez la levure (25). D'autres auteurs ont souligné que la fragilité pouvait résulter de compromis évolutifs (31).

Sans pousser plus avant l'analyse, il est évident que la biologie systémique est en voie de se constituer en discipline identifiée, avec les attributs scientifiques et sociaux habituels. Une communauté se forme, comme le montrent l'organisation de colloques et l'émergence de journaux scientifiques spécialisés. De plus, des applications utiles se profilent notamment dans le domaine médical (35), et plusieurs dizaines de sociétés de biotech ont été créées dans le monde. Ceci n'implique pas que l'approche conventionnelle, « réductionniste », soit morte. La biologie systémique est encore dans l'enfance. Ses définitions, son langage et ses concepts ne sont pas encore affermis et stabilisés. Toutefois, la technologie est motrice, les outils s'améliorent et propulsent le champ. En probabilité, après avoir été reconnue comme une approche nouvelle et identifiable, la biologie systémique se banalisera à mesure qu'elle irriguera les sciences biologiques — exactement comme il advint auparavant à la biologie, puis à la génétique moléculaires. Sous cet angle, il est certainement indiqué, comme Hartwell *et al.* (10) l'ont recommandé depuis 8 ans déjà, d'adapter la formation des étudiants et des chercheurs.

B. L'Immunologie systémique

1. Définition et spécificité

Qu'en est-il de l'immunologie systémique, que certains appellent de leurs vœux (36) ? Est-elle en quelque aspect que ce soit distincte de la biologie systémique ? Où s'agit-il seulement de la biologie systémique appliquée à l'immunologie ?

Certes, le travail pionnier effectué en immunologie par plusieurs groupes, dont ceux de X. Dellasierra, D. Mathis et C. Benoist, P. Ricciardi-Castagnoli (liste alphabétique non exhaustive) pourrait apparaître sous l'intitulé de biologie systémique. Pourtant, l'immunologie systémique s'en différencie par plusieurs considérations.

La première et la plus évidente est que la biologie systémique s'intéresse principalement, pour l'heure, à la biologie cellulaire, i.e. à des types cellulaires singuliers ou à des ensembles assez peu hétérogènes de cellules. Le pendant de cette « biologie cellulaire systémique » est la fraction de l'immunologie systémique qui, de même, s'intéresse à des types cellulaires identifiés participant à l'immunité innée ou à l'immunité adaptative.

Cependant, le système immunitaire possède plusieurs caractéristiques majeures, qui ne sont pas trouvées, ou sont moins essentielles, dans d'autres systèmes, et notamment.

- La diversité gigantesque des éléments moléculaires et des événements de reconnaissance qui résultent de l'invention évolutive des gènes composites (qui codent pour les anticorps et les récepteurs des cellules T) et des protéines composites (les complexes CMH-peptides) formés par les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité.
- L'architecture et la topologie du système qui surveille et intervient dans la quasi-totalité du corps mais qui, contrairement au système nerveux, est largement liquide. De ce fait, les questions qui touchent à la mobilité, à la localisation et aux rencontres plus ou moins aléatoires entre acteurs sont capitales pour la fonction.
- Le taux très élevé de production, d'expansion et de mort de différents types de cellules immunes accroît encore l'importance de la perspective dynamique.

Par conséquent, **plusieurs niveaux d'organisations** doivent être distingués à l'intérieur de l'organisme, et traités de façon spécifique. On peut au minimum distinguer :

- a) Les types cellulaires et les mélanges d'hétérogénéité limitée.
- b) Les groupes interactifs de cellules différentes.
- c) Les superstructures (ex. : plaque de Peyer) et les organes lymphoïdes.
- d) La circulation et le transit de populations cellulaires plus ou moins complexes dans le sang, la lymphe et à la périphérie.
- e) Les questions globales impliquant des propriétés systémiques (ex. : mémoire immunitaire).
- f) Les pathologies associés aux différents niveaux d'organisation (ex. : macrophages infiltrant les tumeurs, lymphomes B et T, etc.).

Cette classification pourrait et devrait être raffinée (par exemple, en dressant des catégories en fonction des organes, y compris les organes « privilégiés »).

De plus, il reste encore une dimension à prendre en considération, celle qui touche aux problèmes de populations, et aux polymorphismes génétiques au sein de ces **populations**. Pour des raisons évidentes, ceci est extrêmement important chez l'homme où, outre le HLA, de nombreux **polymorphismes génétiques** affectent l'immunité.

2. Outils

En fonction de ses spécificités, l'immunologie systémique est en voie de développer ses propres outils, en plus de ceux qui sont aujourd'hui utilisés en biologie systémique (37-38). Quelques uns sont cités ci-dessous :

- Des puces spécialisées porteuses d'antigènes ou d'anticorps (39).
- Des puces à lipides (40).
- Des dispositifs pour mesurer les cytokines, impliquant l'amplification par « rolling circle » (41), la ligation anticorps de proximité (42) ou la cytofluorométrie.
- Des systèmes pour identifier et/ou prédire les peptides associés à des molécules de CMH (43-45).
- Des puces dédiées porteuses de complexes CMH-peptides, de molécules co-stimulatrices et d'anticorps de capture des cytokines (46).
- Des moyens d'analyser les répertoires immunitaires (47-49).
- Des améliorations de la cytométrie de flux, l'usage sélectif de la spectrographie de masse, le développement de la bio-imagerie, etc.
- Des bases de données spécialisées qui se développent dans plusieurs domaines (ex. : peptides immunogènes).

3. Cadre conceptuel

L'immunologie systémique est-elle en voie de développer ses propres concepts en complément du corpus immunologique existant ? Si quelques tentatives peuvent être relevées (50), il est probablement plus utile d'identifier les manques plutôt que de survoler le peu qui a été fait à ce jour. Dans cette optique, il est intéressant de relire l'article de 1999 d'Hartwell *et al.* (10) avec un point de vue d'immunologiste. L'exercice conduit à identifier un certain nombre de questions pratiques et théoriques qui méritent d'être méditées. La plus centrale touche à la notion même de modularité, et à ce qu'elle recouvre en termes d'identification, d'énumération, de manipulation, de reconstitution et de synthèse de modules immunologiques pertinents.

4. Résultats

Bien qu'encore dans les limbes, l'immunologie systémique a produit un certain nombre de résultats intéressants dont une partie est répertoriée ci-dessous :

a Le périmètre génétique du système immunitaire, avec 847 gènes chez l'homme et 603 gènes orthologues chez la souris (51).

b L'analyse du transcriptome et du protéome de plusieurs types de cellules immunes dans différents états de différenciation et/ou d'activation.

- Cellules dendritiques (52).
 - Monocytes et macrophages (53), ainsi que des études plus spécifiques portant, par exemple, sur l'identification du rôle de ATF3 vis-à-vis de TLR4 (54).
 - Thymocytes et cellules T (55-56).
 - Cellules B, notamment un remarquable exercice de déconvolution pour décrire les réseaux régulateurs des cellules B humaines à partir de plusieurs centaines de profils d'expression (57).
- c** Des comparaisons entre divers types de cellules immunes :
- Types divers (58).
 - Lymphocytes possédant des caractéristiques proches de l'immunité innée (59).
 - Cellules B et T (60).
 - Cellules B et T mémoires en comparaison avec les cellules souches hématopoïétiques à longue durée de vie (61).
- d** Des signatures dans différentes pathologies (65-66).
- Cancres (62-64).
 - Pathologies auto-immunes (65-66).
- e** Des tentatives pour décrire l'architecture du réseau des cytokines (67).

5. L'avenir

Ce qui précède n'est qu'un échantillon de résultats obtenus depuis moins de 5 ans, qui illustre deux considérations. D'une part, l'immunologie systémique naissante se développe de façon productive. D'autre part, la plupart des résultats acquis à ce jour concernent un ou deux niveaux d'organisation évoqués en B.1 (sans prendre en compte les questions touchant aux populations). Ainsi, des progrès conséquents sont accomplis (a) dans l'analyse de types cellulaires, leurs états de différenciation et d'activation et (b) dans l'étude de réseaux intracellulaires majeurs tels que ceux qui impliquent les TLRs, les NLRs et les RLRs dans l'immunité innée (68-69) ou NFkappaB (70).

Les niveaux d'organisation plus élevés ont à peine été abordés à ce jour. Il est vrai que les outils pour le faire sont limitants, voire inexistantes. Par exemple,

il n'existe pas à ce jour de moyen expérimental commode qui permette d'analyser de façon indépendante les transcriptomes de deux types de cellules en interaction (une cellule dendritique et une cellule T, une cellule T et une cellule B, etc.). Les questions touchant à la circulation et au trafic des lymphocytes profiteront des progrès de la bio imagerie — qui pourraient bien émerger des neurosciences ; mais requerront des développements supplémentaires, comme la mise au point de sondes spécifiques permettant de poser des questions immunologiques.

Il se pourrait bien également que certains concepts, comme celui des champs de cytokines (71), soient sous-utilisés, mal utilisés, ou simplement absents. De façon surprenante, les immunologistes ont ignoré la notion de robustesse pendant fort longtemps (72, 50). Quant à la dimension cognitive du système immunitaire (associée à la notion aujourd'hui acceptée de tolérance dominante), elle se développera certainement plus avant.

Enfin, il n'est pas (in)utile d'insister sur les multiples applications cliniques qui dériveront des progrès de l'immunologie systémique, comme l'illustrent les remarquables progrès effectués dans le domaine des lymphomes B et T (63).

6. Conclusion

L'objectif du cours n'était pas de faire une analyse exhaustive de tous les résultats de l'immunologie systémique en herbe, mais de s'assurer tout d'abord que la discipline est bien en voie de se constituer, et de tenter ensuite de dégager quelques perspectives. Il ne fait guère de doute qu'un mouvement systémique est amorcé (qui se traduit notamment, ici encore, par l'émergence de journaux spécialisés). La route à parcourir est, à l'évidence, aussi longue que passionnante. On relèvera pour conclure un point d'une importance capitale. L'immunologie systémique, en raison de son mode de questionnement, mais aussi des technologies qu'elle met en œuvre, va s'appliquer presque au bien à l'homme qu'à la souris. Certes, l'immunologie humaine continuera à faire face à deux difficultés : l'accès aux échantillons biologiques, et les polymorphismes (HLA et autres). En revanche, l'énorme corpus d'observations cliniques rend le « modèle humain » (73) tout à fait unique. Bien évidemment, le transfert du savoir acquis aux applications cliniques est beaucoup plus immédiat qu'après un détour par le modèle murin dont le caractère prédictif pour l'homme s'est souvent avéré douteux. Ainsi, l'immunologie systémique pourrait bien accélérer les applications à l'homme d'un domaine scientifique qui, avec la vaccination et les anticorps monoclonaux thérapeutiques notamment, commence à démontrer son grand impact sur la médecine.

1. Parisi G. : A simple model for the immune network. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990 Jan. ; 87 (1) : 429-33.
2. Varela F.J., Coutinho A. : Second generation immune networks. Immunol. Today, 1991 May ; 12 (5) : 159-66.

3. Stewart J., Coutinho A. : The affirmation of self : a new perspective on the immune system. *Artif Life*, 2004 Summer ; 10 (3) : 261-76.
4. Cohen Irun R. : *Tending Adam's Garden : Evolving the Cognitive Immune Self* (Paperback 2001).
5. Theilgaard-Monch K., *et al.* : « Systems biology of neutrophil differentiation and immune response. » *Curr. Opin. Immunol.*, 2006 Feb. ; 18 (1) : 54-60. Epub. 2005, Dec. 15, Review.
6. Davidson E.H., *et al.* : A Genomic Regulatory Network for Development — *Science*, 1 March 2002, Vol. 295, Issue 5560 : 1669-1678.
7. Aderem A. : Systems biology : its practice and challenges. *Cell.*, 2005 May 20 ; 121 (4) : 511-3.
8. Smith K.D., Bolouri H. : Dissecting innate immune responses with the tools of systems biology. *Curr. Opin. Immunol.*, 2005 Feb ; 17 (1) : 49-54.
9. Liu Ed. : Systems biology, integrative biology, predictive biology. *Cell.*, 2005 May 20 ; 121 (4) : 505-6.
10. Hartwell L.H., Hopfield J.J., Leibler S., Murray A.W. : From molecular to modular cell biology. *Nature*, 1999 Dec. 2 ; 402 (6761 Suppl) : C47-52.
11. W. Weaver and C.E. Shannon : *The Mathematical Theory of Communication*, Urbana, Illinois : University of Illinois Press 1949, <http://www.press.uillinois.edu>.
12. Watts, D.J., Strogatz, S.H. : Collective dynamics of « small-world » networks. *Nature* 393, 440-442 (June 1998).
13. Barabasi A.L., Albert R. : Emergence of scaling in random networks — *Science*, 1999 Oct. 15 ; 286 (5439) : 509-12.
14. Song, C. Havlin, S., et Makse, H.A. : Self-similarity of complex networks — *Nature* 433, 392-395 (27 January 2005).
15. Jeong H., *et al.* : The large-scale organization of metabolic networks. *Nature*, 2000 Oct. 5 ; 407 (6804) : 651-4.
16. Wagner A. : The yeast protein interaction network evolves rapidly and contains few redundant duplicate genes. *Mol. Biol. Evol.*, 2001 Jul. ; 18 (7) : 1283-92.
17. Giot L., *et al.* : A protein interaction map of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 2003 Dec. 5 ; 302 (5651) : 1727-36.
18. Barabasi A.L., Oltvai Z.N. : Related — Network biology : understanding the cell's functional organization. *Nat. Rev. Genet.*, 2004 Feb. ; 5 (2) : 101-13.
19. Doyle J.C., *et al.* : The « robust yet fragile » nature of the Internet. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005 Oct. 11 ; 102 (41) : 14497-502.
20. Milo R., *et al.* : Network motifs : simple building blocks of complex networks. *Science*, 2002 Oct. 25 ; 298 (5594) : 824-7.

21. Milo R., *et al.* : Superfamilies of evolved and designed networks. *Science*, 2004 Mars 5 ; 303 (5663) : 1538-42.
22. Artzy-Randrup Y., *et al.* : Comment on « Network motifs : simple building blocks of complex networks » and « Superfamilies of evolved and designed networks ». *Science*, 2004 Aug 20 ; 305 (5687) : 1107.
23. Milo R., *et al.* : Response to comment. *Science*, 2004 Aug. 20 ; 305 (5687) : 1107 ; author reply 1107.
24. Reigl M., *et al.* : Search for computational modules in the *C. elegans* brain. *BMC Biology* 2004, 2 : 25 (2 December 2004).
25. Luscombe N.M., *et al.* : Genomic analysis of regulatory network dynamics reveals large topological changes. *Nature*, 2004 Sep. 16 ; 431 (7006) : 308-12.
26. Wuchty S., Barabasi A.L., Ferdig M.T. : Stable evolutionary signal in a yeast protein interaction network. *BMC Evol Biol.*, 2006 Jan. 30 ; 6 : 8.
27. Madan Babu M., *et al.* : Evolutionary dynamics of prokaryotic transcriptional regulatory networks. *J. Mol. Biol.*, 2006 Apr. 28 ; 358 (2) : 614-33. Epub. 2006 Feb. 28.
28. Rosenfeld N., *et al.* : Gene regulation at the single-cell level. *Science*, 2005 Mar. 25 ; 307 (5717) : 1962-5.
29. Isaacs F.J., *et al.* : Signal processing in single cells. *Science*, 2005 Mar. 25 ; 307 (5717) : 1886-8.
30. Csete M.E., Doyle J.C. : Reverse engineering of biological complexity. *Science*, 2002 Mar. 1 ; 295 (5560) : 1664-9.
31. Wagner A. : *Robustness and Evolvability in Living Systems* Princeton University Press (2005).
32. Kalir S., *et al.* : A coherent feed-forward loop with a SUM input function prolongs flagella expression in *Escherichia coli*. *Mol. Syst. Biol.*, 2005 ; 1 : 2005.0006.
33. Kollmann M., *et al.* : Design principles of a bacterial signalling network. *Nature*, 2005 Nov. 24 ; 438 (7067) : 504-7.
34. Kurata H., *et al.* : Module-based analysis of robustness tradeoffs in the heat shock response system. *PLoS Comput Biol.*, 2006 Jul. 28 ; 2 (7) : e59.
35. Tu L.C., *et al.* : Proteomics analysis of the interactome of N-myc downstream regulated gene 1 and its interactions with the androgen response program in prostate cancer cells. *Mol. Cell. Proteomics*, 2007.
36. Benoist C., *et al.* : A plaidoyer for « systems immunology ». *Immunol. Rev.*, 2006 Apr. ; 210 : 229-34.
37. Smith K.D., Bolouri H. : Dissecting innate immune responses with the tools of systems biology. *Curr. Opin. Immunol.*, 2005 Feb. ; 17 (1) : 49-54.

38. Braga-Neto U.M., Marques E.T., Jr. : From functional genomics to functional Immunomics : new challenges, old problems, big rewards. *PLoS Comput. Biol.*, 2006 Jul. 28 ; 2 (7) : e81.
39. Balboni I., *et al.* : Multiplexed protein array platforms for analysis of autoimmune diseases. *Annu. Rev. Immunol.*, 2006 ; 24 : 391-418.
40. Kanter J.L., *et al.* : Lipid microarrays identify key mediators of autoimmune brain inflammation. *Nat. Med.*, 2006 Jan. ; 12 (1) : 138-43.
41. Shao W., *et al.* : Optimization of Rolling-Circle Amplified Protein Microarrays for Multiplexed Protein Profiling. *J. Biomed Biotechnol.*, 2003 ; 2003 (5) : 299-307.
42. Gullberg M., *et al.* : Cytokine detection by antibody-based proximity ligation PNAS USA, 2004 Jun. 1 ; 101 (22) : 8420-4.
43. Kudva I.T., *et al.* : Identification of a protein subset of the anthrax spore immunome in humans immunized with the anthrax vaccine adsorbed preparation. *Infect. Immun.*, 2005 Sep. ; 73 (9) : 5685-96.
44. Delvecchio V.G., *et al.* : Proteomic profiling and identification of immunodominant spore antigens of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006 Sep. ; 72 (9) : 6355-63.
45. Kudva I.T., *et al.* : Proteomics-based expression library screening (PELS) : a novel method for rapidly defining microbial immunoproteomes. *Mol. Cell. Proteomics*, 2006 Aug ; 5 (8) : 1514-9. Epub. 2006 May 31.
46. Jennifer D. Stone, *et al.* : HLA-restricted epitope identification and detection of functional T cell responses by using MHC-peptide and costimulatory microarrays PNAS, 2005 102 : 3744-3749.
47. Lim A., *et al.* : Combination of MHC-peptide multimer-based T cell sorting with the Immunoscope permits sensitive ex vivo quantitation and follow-up of human CD8+ T cell immune responses. *J. Immunol. Methods.*, 2002 Mar. 1 ; 261 (1-2) : 177-94.
48. Bonarius H.P., *et al.* : Monitoring the T-cell receptor repertoire at single-clone resolution. *PLoS ONE*, 2006 Dec. 20 ; 1 : e55.
49. Lim A., *et al.* : Most human peripheral blood B cells display a unique heavy chain rearrangement (soumis pour publication).
50. Kitano H., Oda K. : Robustness trade-offs and host-microbial symbiosis in the immune system. *Mol. Syst. Biol.* 2006.
51. Ortutay C., *et al.* : Molecular characterization of the immune system : emergence of proteins, processes, and domains. *Immunogenetics*, 2007 Feb. 9. 1 : *Immunogenetics*, 2007 Feb. 9 ; (doi : 10.1007/s00251-007-0191-0).
52. Edwards A.D., *et al.* : Relationships among murine CD11c (high) dendritic cell subsets as revealed by baseline gene expression patterns. *J Immunol.*, 2003 Jul. 1 ; 171 (1) : 47-60.

53. Sironi M., *et al.* : Differential regulation of chemokine production by Fcγ receptor engagement in human monocytes : association of CCL1 with a distinct form of M2 monocyte activation (M2b, Type 2). *J. Leukoc. Biol.*, 2006 Aug. ; 80 (2) : 342-9.
54. Gilchrist M., *et al.* : Systems biology approaches identify ATF3 as a negative regulator of Toll-like receptor 4. *Nature*, 2006 May 11 ; 441 (7090) : 173-8.
55. Mick V.E., *et al.* : The regulated expression of a diverse set of genes during thymocyte positive selection in vivo. *J. Immunol.*, 2004 Nov. 1 ; 173 (9) : 5434-44.
56. Fontenot J.D., *et al.* : Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity*, 2005 Mar. ; 22 (3) : 329-41.
57. Basso K., *et al.* : Reverse engineering of regulatory networks in human B cells. *Nat. Genet.*, 2005 Apr. ; 37 (4) : 382-90.
58. Hyatt G., *et al.* : Gene expression microarrays : glimpses of the immunological genome. *Nat. Immunol.*, 2006 Jul. ; 7 (7) : 686-91.
59. Yamagata T., *et al.* : A shared gene-expression signature in innate-like lymphocytes. *Immunol. Rev.*, 2006 Apr. ; 210 : 52-66.
60. Hoffmann R., *et al.* : Rules for gene usage inferred from a comparison of large-scale gene expression profiles of T and B lymphocyte development. *J. Immunol.*, 2003 Feb. 1 ; 170 (3) : 1339-53.
61. Luckey C.J., *et al.* : Memory T and memory B cells share a transcriptional program of self-renewal with long-term hematopoietic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 2006 Feb. 28 ; 103 (9) : 3304-9.
62. Chen D.S., *et al.* : Marked differences in human melanoma antigen-specific T cell responsiveness after vaccination using a functional microarray. *PLoS Med.*, 2005 Oct. ; 2 (10) : e265.
63. Staudt L.M., Dave S. : The biology of human lymphoid malignancies revealed by gene expression profiling. *Adv. Immunol.*, 2005 ; 87 : 163-208. Review.
64. Piccaluga P.P., *et al.* : Gene expression analysis of peripheral T cell lymphoma, unspecified, reveals distinct profiles and new potential therapeutic targets. *J. Clin. Invest.*, 2007 Mar. 1 ; 117 (3) : 823-834. FIG. 4.
65. Quintana F.J., *et al.* : Functional immunomics : microarray analysis of IgG autoantibody repertoires predicts the future response of mice to induced diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 2004 Oct. 5 ; 101.
66. J. Avouac, L. Gossec, and M. Dougados : Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis : a systematic literature review — *Ann. Rheum. Dis.* 2006 ; 65 : 845-851.

67. Frankenstein Z., Alon U., Cohen I.R. : The immune-body cytokine network defines a social architecture of cell interactions. *Biol. Direct.* 2006, Oct. 24 ; 1 : 32.
68. O'Neill L.A. : How Toll-like receptors signal : what we know and what we don't know. *Curr. Opin. Immunol.*, 2006 Feb ; 18 (1) : 3-9.
69. Creagh E.M., O'Neill L.A. : TLRs, NLRs and RLRs : a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol.*, 2006 Aug ; 27 (8) : 352-7.
70. Hoffmann A, Baltimore D. : Circuitry of nuclear factor kappaB signaling. *Immunol. Rev.*, 2006 Apr. ; 210 : 171-86.
71. Kourilsky P., Truffa-Bachi P. : Cytokine fields and the polarization of the immune response. *Trends Immunol.*, 2001 Sep. ; 22 (9) : 502-9.
72. Kourilsky P. : « Quality control of immune. self non-self discrimination ». *The biology of complex organisms — creation and protection of integrity.* Klaus Eichmann (ed.). Birkhauser, 2003 (pp. 53-59).
73. Casanova J.L., Abel L. : The human model : a genetic dissection of immunity to infection in natural conditions. *Nat. Rev. Immunol.* 2004 Jan. ; 4 (1) : 55-66.

II. Conférences et Colloques, Interventions Publiques

Date	Conférence ou Table ronde	Lieu
11 septembre	DNDi Regulatory issues « From products to patients : the role of drug regulations in securing access to treatment »	Genève
28 novembre	Journées annuelles d'éthique : La santé, la connaissance et l'argent. Réflexions sur les modèles de connaissance dans leurs rapports avec les modèles de décision économique. « Peut-il y avoir indépendance du projet scientifique vis-à-vis de l'économie ? »	Université Paris V Grand amphî, 12 rue école médecine, 6 ^e
12 décembre	Cours dans la cadre de la chaire de Santé publique et développement Bernard Kouchner : « La recherche au service des maladies négligées »	Conservatoire national des Arts et Métiers, situé au 292 rue Saint Martin, 75141 Paris cedex 03
29 janvier	Table Ronde « Le principe de précaution appliqué aux industries cosmétiques et pharmaceutiques : contours et perspectives »	Maison des Polytechniciens, 12 rue de Poitiers, 75007 Paris
11 mars	The World Life Sciences Forum BioVision 2007 <i>Table ronde Santé</i> : « Health : Diseases of Poverty — A Plea for "Evidence-based regulation" »	Lyon (France) Centre des Congrès

14 Mars	The World Life Sciences Forum BioVision 2007 — Session des <i>BioVisionnaires</i> : « The FACTS Initiative. »	Lyon (France) Centre des Congrès
29 mars	8 ^e colloque international des anciens élèves de ENA / HEC/ Polytechnique — Table ronde « Entre l'urgence et le long terme, comment planifier les grands programmes (recherche, grands équipements...) ? »	Ministère de l'Économie, des Finances et de l'Industrie, 139 rue de Bercy, 75012 Paris
27 avril	Cours à Sciences Po (Enseignant : Dr. D. Kerouedan) du Rapport de mars 2006 aux 3 ministres (Affaires Etrangères, Recherche, Santé et Solidarités) : « Optimiser l'action de la France. Pour l'amélioration de la santé mondiale : Le cas de la surveillance et de la recherche sur les maladies infectieuses »	Sciences Po, 27 rue Saint Guillaume, 75007 Paris
3 mai	Conférence grand public « La Vaccination, problèmes de science, problèmes de société »	INRS, Institut Armand-Frappier, Campus Laval, Salle Pasteur, 531 bd des prairies, Laval (Québec)
12 mai	Colloque Le nouveau monde de la santé publique et de la prévention, table ronde La santé, bien public mondial ? « Sciences et Actions de Terrain »	Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften Jägerstr. 22/23, D-10117 Berlin
14 mai	« The FACTS Initiative : Field Action Science »	Académie des Sciences, 23 Quai Conti, 75006 Paris
07 juin	Salon Européen de la Recherche et de l'Innovation : « Science, action, réglementation : découverte, production et distribution des vaccins et des médicaments au Nord et au Sud »	Parc des Expositions Porte de Versailles, 75015 Paris

III. Recherche

Les activités de recherche de la chaire sont en cours de restructuration afin de donner une place accrue à l'immunologie humaine d'une part, et à l'immunologie systémique, d'autre part. Elles s'organisent autour de trois axes et sont menées dans deux entités et localisations distinctes :

- U668 Inserm, directeur : James Di Santo, dans l'Unité dirigée par Ana Cumano à l'Institut Pasteur (25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris).
- Singapore Immunology Network (SIgN), présidé par Philippe Kourilsky (créé sous l'égide de l'agence gouvernementale A*Star). Ph. Kourilsky est en charge de l'animation scientifique de l'ensemble du réseau, qui s'étend sur tout Singapour, mais comprend la création d'un Institut d'Immunologie (à terme plus de 20 groupes de recherche et 220 personnes) dans le bâti-

ment Immunos de Biopolis (Singapore Immunology Network — 8A Biomedical Grove — Immunos Building — #03-00 Singapore 138648).

1^{er} Thème : Répertoires des cellules immunitaires de l'homme

(Responsable : Antonio Bandeira) (Institut Pasteur 25 rue du Docteur Roux, Paris)

Il s'agit essentiellement de la poursuite de travaux antérieurs fondés sur la méthodologie de l'Immunoscope. Cette dernière est aujourd'hui une référence dans l'analyse des répertoires des cellules immunitaires. Plusieurs études cliniques ont été menées, sous l'égide d'Annick Lim, en soutien de travaux effectués dans les laboratoires du Prof. A. Fisher, Hôpital Necker à Paris et du Dr. M. Mempel, Technical University of Munich. Un objectif majeur, toujours activement poursuivi, est de faire progresser la méthodologie, d'étendre le champ de l'analyse, notamment aux chaînes alpha du récepteur T, et d'augmenter le débit d'acquisition des données. Ceci implique des améliorations techniques, le développement de nouveaux réactifs, et des modifications de logiciels. Un important travail informatique a d'ores et déjà été effectué.

2^e Thème : Analyse systémique des macrophages humaines

(Responsable : Wong Siew Cheng, Singapore Immunology Network — SIGN)

Ce projet en est à ses débuts. Il consiste à isoler différents types de macrophages humains en fonction de leurs marqueurs de surface, de leur origine tissulaire, dans des conditions physiologiques ou pathologiques déterminées (par exemple, macrophages infiltrant des tumeurs) et d'analyser leurs transcriptomes. La comparaison de ceux-ci est susceptible de fournir des « signatures » qui pourront ensuite être exploitées pour dégager des informations fonctionnelles *in vivo*, *in vitro*, ou semi *in vitro* (cultures tridimensionnelles).

3^e Thème : Analyse des réponses immunitaires contre le virus Chikungunya

(Responsable : Lisa F.P. Ng, Singapore Immunology Network — SIGN)

Le virus chikungunya, qui a dévasté l'Ile de la Réunion en 2005, est, comme le virus de la dengue, répandu en Asie. Il sévit notamment en Inde, aux Maldives et au Sri Lanka. Une compréhension détaillée des réponses immunitaires contre le virus serait susceptible d'améliorer certains éléments de diagnostic, ainsi que la vaccination et/ou le traitement. Enfin, l'infection déclenche des phénomènes auto-immuns par des mécanismes qui restent à élucider. La création d'un réseau permettant de collecter des prélèvements appropriés est bien avancée. Les premières recherches porteront, d'une part, sur l'amélioration du diagnostic, et d'autre part, sur la constitution des outils d'analyse immunologique de ce virus encore mal connu.

IV. Publications

- Rapport aux Ministres des Affaires Étrangères, de la Recherche, et de la Santé et des Solidarités 2006 : « Optimiser l'action de la France pour l'amélioration de la santé mondiale : Le cas de la surveillance et de la recherche sur les maladies infectieuses ».
- Ph. Langenieux-Villard, Ph. Méchet, en collaboration avec S. Desforges, P.L. Girardot, Ph. Kourilsky et J.P. Tardieu, sous la direction de H. Proglia : « Les 100 mots de l'Environnement » (Éditions PUF, Que-sais-je ? mai 2007).
- Le Deist F., de Villartay J.P., Lim A., Dechanet J., Fischer A. : Hypomorphic RAG1 mutations and CMV infection : a new phenotype of severe combined immunodeficiency. *Med. Sci.* (2006) Mar. ; 22 (3) : 239-40.
- F. Rieux-Laucat, C. Hivroz, A. Lim, V. Mateo, I. Pellier, F. Selz, A. Fischer, and F. Le Deist : Inherited and Somatic *CD3* Mutations in a Patient with T-Cell Deficiency. *N. Engl. J. Med.* (2006), Vol. 354, N° 18, 1913-1921.
- Lim A., Luderschmidt S., Weidinger A., Schnopp C., Ring J., Hein R., Ollert M., Mempel M. : The IgE repertoire in PBMCs of atopic patients is characterized by individual rearrangements without variable region of the heavy immunoglobulin chain bias. *J. Allergy Clin. Immunol.* (2007), Jul. 11.