

Les récepteurs pour la portion Fc des anticorps, cibles et/ou outils thérapeutiques dans l'allergie

Receptors for the Fc portion of antibodies: therapeutic targets and/or tools in allergy

M. Daéron

Unité d'allergologie moléculaire et cellulaire–Inserm U760, département d'immunologie, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, 75015 Paris, France

Reçu le 13 janvier 2006 ; accepté le 16 janvier 2006

Disponible sur internet le 10 mars 2006

Résumé

Les cellules effectrices de la réaction allergique comprennent de nombreuses cellules myéloïdes qui, par ailleurs, contribuent à l'immunité innée. Certaines, comme les mastocytes et les basophiles, déclenchent une réaction aiguë tandis que d'autres, comme les éosinophiles, les neutrophiles et les monocytes, engendrent une réaction chronique qui rend compte de l'essentiel des symptômes allergiques. Toutes ces cellules expriment des récepteurs pour la portion Fc des anticorps (RFc), dont l'engagement par des anticorps et des allergènes, régule, positivement et négativement, les activités biologiques. Ces récepteurs comprennent des récepteurs activateurs pour les IgE et pour les IgG (les RFc ϵ I et les RFc γ IIA/C respectivement, chez l'homme) et des récepteurs inhibiteurs pour les IgG (les RFc γ IIB). Les propriétés biologiques des RFc en font des cibles et/ou des outils thérapeutiques dans les maladies allergiques. Il se trouve que certains traitements, déjà largement utilisés en clinique et qui ont fait la preuve de leur efficacité, comme la désensibilisation et le traitement par anticorps anti-IgE (omalizumab), modifient l'équilibre entre signaux positifs et signaux négatifs induits par les RFc activateurs et les RFc inhibiteurs. De nouvelles approches cherchent délibérément à agir sur ou à utiliser les RFc. Dans ce but, des prototypes de molécules potentiellement utilisables en thérapeutique, capables de diminuer les nombres de mastocytes ou d'inhiber leur activation, sont en cours d'élaboration.

© 2006 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Effector cells of the allergic reaction include a variety of myeloid cells most of which are also the effector cells of innate immunity. Some, like mast cells and basophils, initiate the acute reaction, while others, like eosinophils, neutrophils and monocytes, generate a chronic inflammation which accounts for most allergic symptoms. All these cells express receptors for the Fc portion of antibodies (FcRs) whose engagement by antibodies and allergens modulates, positively and negatively, their many biologic activities. These include activating IgE and IgG receptors (Fc ϵ RI and Fc γ RIIA/C, respectively, in humans) and inhibitory IgG receptors (Fc γ RIIB). FcRs provide potent therapeutic targets and/or tools in allergic diseases. Well established treatments, such as desensitization and the administration of humanized monoclonal anti-IgE antibodies (Omalizumab), which have demonstrated their therapeutic efficacy, happen to displace the balance between positive and negative signals generated by activating and inhibitory FcRs. New approaches that deliberately act on or use FcRs are being experimentally developed, and prototypic molecules aiming at decreasing mast cell numbers or at inhibiting mast cell activation are being constructed and investigated as for their potential therapeutic use in allergic diseases.

© 2006 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Récepteurs de Fc ; IgE et IgG ; Signaux intracellulaires ; Régulation de l'activation cellulaire ; Inflammation ; Allergies

Keywords: Fc receptors; IgE and IgG; Intracellular signaling; Regulation of cell activation; Inflammation; Allergies

1. Introduction

Trois grands ensembles de cellules participent à l'allergie. Un premier ensemble comprend les cellules d'origine hématopoïétique (lymphoïdes et myéloïdes) qui, lors d'une stimulation par un allergène, engendrent une réponse immunitaire de type Th2 et ses mécanismes régulateurs. Un deuxième ensemble comprend les cellules effectrices, principalement myéloïdes qui, sous l'influence de cette réponse Th2, engendrent une réaction inflammatoire. Un troisième ensemble comprend les cellules cibles, pour la plupart d'origine non hématopoïétique (cellules endothéliales, fibres musculaires lisses etc.), dont les réponses aux médiateurs inflammatoires, engendrent les manifestations cliniques de l'allergie.

Les cellules effectrices de la réaction allergique comprennent, elles-mêmes, deux sous-ensembles. Les mastocytes et les basophiles déclenchent la réaction aiguë, dans les tissus et la circulation, respectivement. Les monocytes-macrophages, les neutrophiles et les éosinophiles, attirés par les chimiokines et activés par les cytokines secrétées par les mastocytes, induisent, amplifient et entretiennent la réaction inflammatoire chronique. Les cellules effectrices de l'allergie sont impliquées dans d'autres processus inflammatoires et d'autres fonctions biologiques. Elles constituent notamment la composante myéloïde des cellules de l'immunité innée qui jouent un rôle majeur dans la défense contre les micro-organismes.

Les activités biologiques de ces cellules peuvent être induites par des anticorps en présence d'antigène. Les cellules myéloïdes expriment en effet des récepteurs pour la portion Fc des anticorps (RFc). Grâce à ces récepteurs, les anticorps peuvent conférer aux cellules de l'immunité innée un récepteur d'antigène dont la spécificité immunologique est déterminée par celle des anticorps présents localement et dont l'engagement en présence d'antigène stimule les réponses biologiques. Les RFc sont au cœur de la réaction allergique. Ce sont eux qui déclenchent, mais également régulent, positivement et négativement, et arrêtent la réaction inflammatoire aiguë et, sans doute, la réaction inflammatoire chronique.

2. Les récepteurs pour la portion Fc des anticorps

Les RFc sont, pour la plupart, des molécules de la superfamille des immunoglobulines [1]. Ils sont constitués d'une chaîne polypeptidique transmembranaire dont le domaine extracellulaire fixe, avec une affinité variable, la portion Fc des immunoglobulines. C'est cette chaîne qui détermine la spécificité du récepteur pour une classe d'immunoglobulines ou une autre : les RFc α fixent les IgA, les RFc γ fixent les IgG, les RFc ϵ fixent les IgE [2].

Une minorité de RFc sont constitués uniquement par la chaîne qui fixe les immunoglobulines. Dans la majorité des RFc, cette chaîne est associée à une ou deux sous-unités communes appelées FcR γ et FcR β . FcR γ est un homodimère exprimé par de nombreuses cellules hématopoïétiques. FcR β est une tétraspanine exprimée uniquement par les mastocytes et les basophiles. FcR γ et FcR β remplissent deux fonctions principales. En premier lieu, elles contrôlent l'expression membranaire

des RFc pluricaténaires. S'ils ne s'associent pas, dans le réticulum endoplasmique où ils sont synthétisés, à l'une ou, dans certains cas, aux deux sous-unités, ces RFc sont dégradés avant d'atteindre la membrane. En second lieu, FcR γ et FcR β confèrent aux RFc la capacité de transduire et/ou d'amplifier des signaux d'activation. Fonctionnellement, on distingue deux grandes catégories de RFc, les RFc activateurs et les RFc inhibiteurs [3].

Les récepteurs activateurs constituent la majorité des RFc. Ils comprennent des récepteurs pour les IgA, des récepteurs pour les IgE et des récepteurs pour les IgG. Certains, les RFc α I, les RFc ϵ I et les RFc γ I, ont une forte affinité qui leur permet de fixer les immunoglobulines sous forme monomérique. D'autres, les RFc γ IIA/C et les RFc γ IIIA, ont une affinité trop faible pour leur permettre de fixer les immunoglobulines monomériques, mais ils fixent les complexes immuns avec une forte avidité. En conséquence, une fraction des RFc de forte affinité sont occupés *in vivo* tandis que les RFc de faible affinité restent libres, même en présence d'une forte concentration d'immunoglobulines circulantes. Les propriétés activatrices des RFc activateurs sont dues à des *immunoreceptor tyrosine-based activation motifs* (ITAM) [4]. Les ITAM sont situés dans les domaines intracytoplasmiques des sous-unités FcR β et FcR γ et de l'unique chaîne des RFc γ IIA/C. Lorsque les RFc activateurs sont agrégés par des complexes immuns à la surface cellulaire, les tyrosines de leurs ITAM sont phosphorylées. Les ITAM phosphorylés recrutent alors un grand nombre de molécules cytosoliques qui s'organisent autour d'adaptateurs transmembranaires pour former un « signalosome » où se rencontrent enzymes et substrats et où ont lieu les réactions intracellulaires qui en découlent [5]. Une réaction critique est la production, par la phosphatidylinositol 3-kinase, d'un phospholipide membranaire, le phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate (PIP3). Le PIP3 permet le recrutement à la membrane d'enzymes indispensables à la génération de signaux d'activation. En résultent une augmentation de la concentration intracellulaire de Ca²⁺ et l'activation de facteurs de transcription qui induisent l'expression de gènes de cytokines [6]. Ainsi, lorsqu'il interagit avec des mastocytes sensibilisés par des IgE spécifiques et agrège les RFc ϵ I, un allergène déclenche la libération de médiateurs granulaires, la synthèse de dérivés des phospholipides et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires.

Les récepteurs inhibiteurs ne comprennent qu'une famille de RFc, les RFc γ IIb. Les RFc γ IIb n'ont ni sous-unité associée, ni ITAM. Ils possèdent en revanche, dans leur domaine intracytoplasmique un *immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif* (ITIM) [7]. Lorsque les RFc γ IIb sont coaggrégés avec des récepteurs activateurs par des complexes immuns, les mêmes kinases phosphorylent les tyrosines des ITAM et la tyrosine de l'ITIM. L'ITIM phosphorylé recrute alors dans le signalosome une inositol phosphatase appelée SHIP1 qui dégrade le PIP3 [8]. Il en résulte une inhibition de l'augmentation de la concentration de Ca²⁺ intracellulaire et de l'activation des facteurs de transcription. Ainsi, lorsqu'il est complexé à des IgG spécifiques et interagit avec des mastocytes sensibilisés par des IgE spécifiques, l'allergène coaggrège les RFc ϵ I et les RFc γ IIb, et les réponses sécrétoires sont inhibées [9]. Dans

ces conditions, c'est l'équilibre entre les RFc activateurs et les RFc inhibiteurs coengagés sur la même cellule par un complexe immun qui détermine la réponse biologique de la cellule et son intensité.

Si donc les RFc sont exprimés aussi bien par les cellules effectrices de la réaction aiguë que par les cellules effectrices de la réaction chronique (Fig. 1) et s'ils régulent, positivement et négativement, ces réactions, ils constituent autant de cibles et/ou d'outils thérapeutiques potentiels pour contrôler l'intensité des réactions allergiques. Certains traitements, déjà utilisés en clinique, les mettent en œuvre sans l'avoir recherché. D'autres, encore au stade expérimental, cherchent à les mettre en œuvre.

3. RFc et désensibilisation

La désensibilisation ou immunothérapie spécifique, qui consiste à injecter des doses croissantes d'allergène à des patients allergiques, modifie sensiblement les réponses immunitaires contre cet allergène. Elle induit une déviation des réponses Th2 vers les réponses Th1, comme l'attestent la diminution de la sécrétion d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13 et l'augmentation de la sécrétion d'IFN- γ par les cellules des patients désensibilisés en réponse à une stimulation par l'allergène *in vitro* [10,11]. Elle induit aussi l'activation de cellules T régulatrices, comme

l'attestent la diminution de la réponse proliférative des cellules Th1 et des cellules Th2 induite par l'allergène, et la sécrétion d'IL-10 par les cellules CD4⁺CD25⁺ [12,13]. Elle modifie également la composition isotypique de la réponse anticorps anti-allergène : après une élévation transitoire, la concentration des IgE spécifiques diminue tandis que celle des IgG1, d'abord, puis des IgG4, augmente de 50 à 100 fois [14].

Ces modifications ont plusieurs conséquences. Moins d'IgE spécifiques sont disponibles pour sensibiliser les mastocytes et les activer en présence d'allergène, d'une part et, d'autre part, pour favoriser la présentation des allergènes aux cellules T par les cellules exprimant des récepteurs pour les IgE. Ce mode de présentation favorise l'induction de réponses Th2 [15,16]. À l'inverse, d'avantage d'IgG spécifiques sont disponibles pour complexer l'allergène avant qu'il ne rencontre les mastocytes sensibilisés par les IgE. S'ils sont dirigés contre les mêmes épitopes, ces IgG peuvent entrer en compétition avec les IgE et jouer le rôle d'anticorps « bloquants » qu'on leur attribue habituellement. Surtout, et même si les IgG ne sont pas dirigés contre les mêmes épitopes que les IgE, au lieu d'agréger seulement les RFc ϵ I, le complexe IgG–allergène peut coagréger les RFc ϵ I et les RFc γ IIB sur une même cellule et inhiber l'activation cellulaire (Fig. 2A). Soutenant cette hypothèse, l'administration de complexes immuns, isolés du sérum de patients

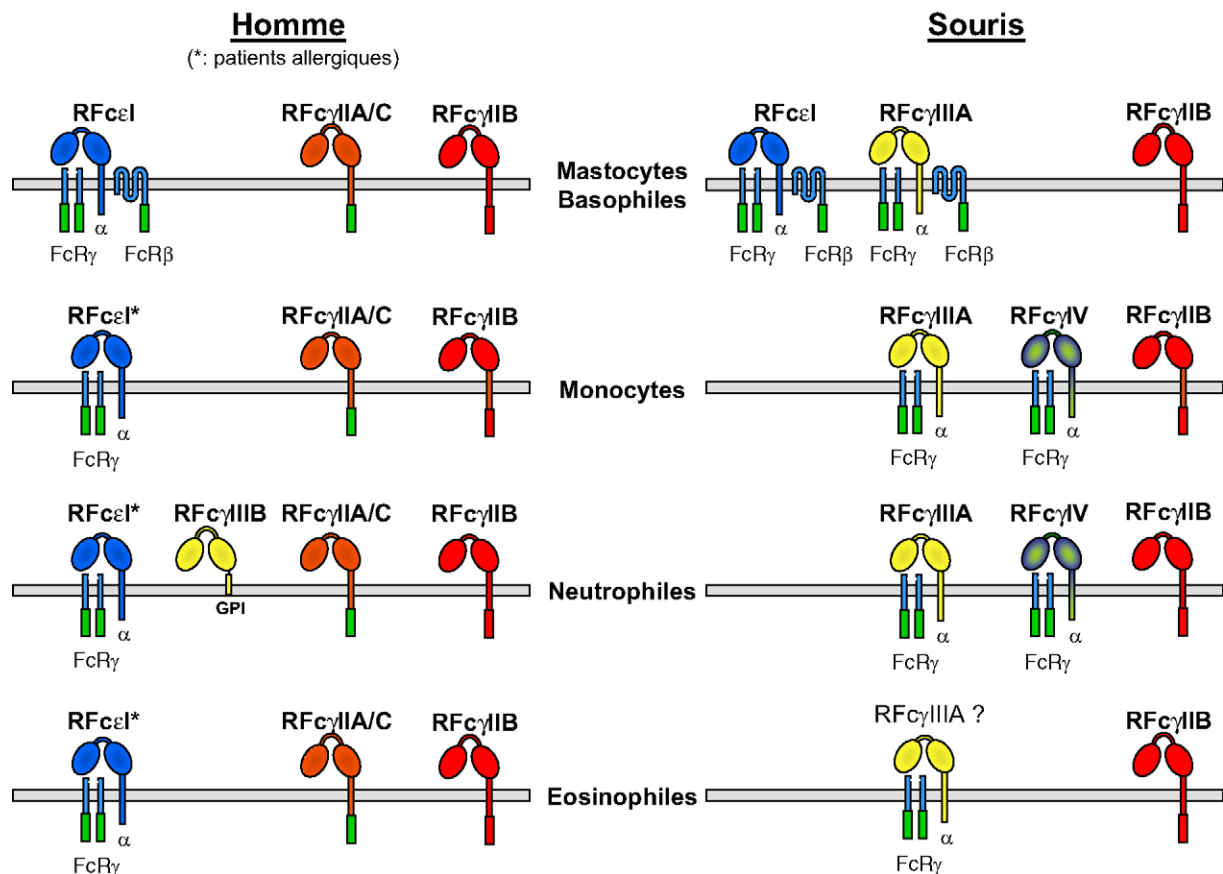


Fig. 1. Récepteurs pour la portion Fc des immunoglobulines exprimés par les cellules effectrices de la réaction allergique chez l'homme (à gauche) et chez la souris (à droite). Toutes ces cellules coexpriment des RFc activateurs (RFc ϵ I, RFc γ IIA/C chez l'homme, RFc ϵ I, RFc γ IIIA, RFc γ IV chez la souris) et des RFc inhibiteurs (RFc γ IIB dans les deux espèces). Les ITAM des RFc activateurs sont représentés par des rectangles verts. L'ITAM des RFc γ IIB est représenté par un rectangle rouge.

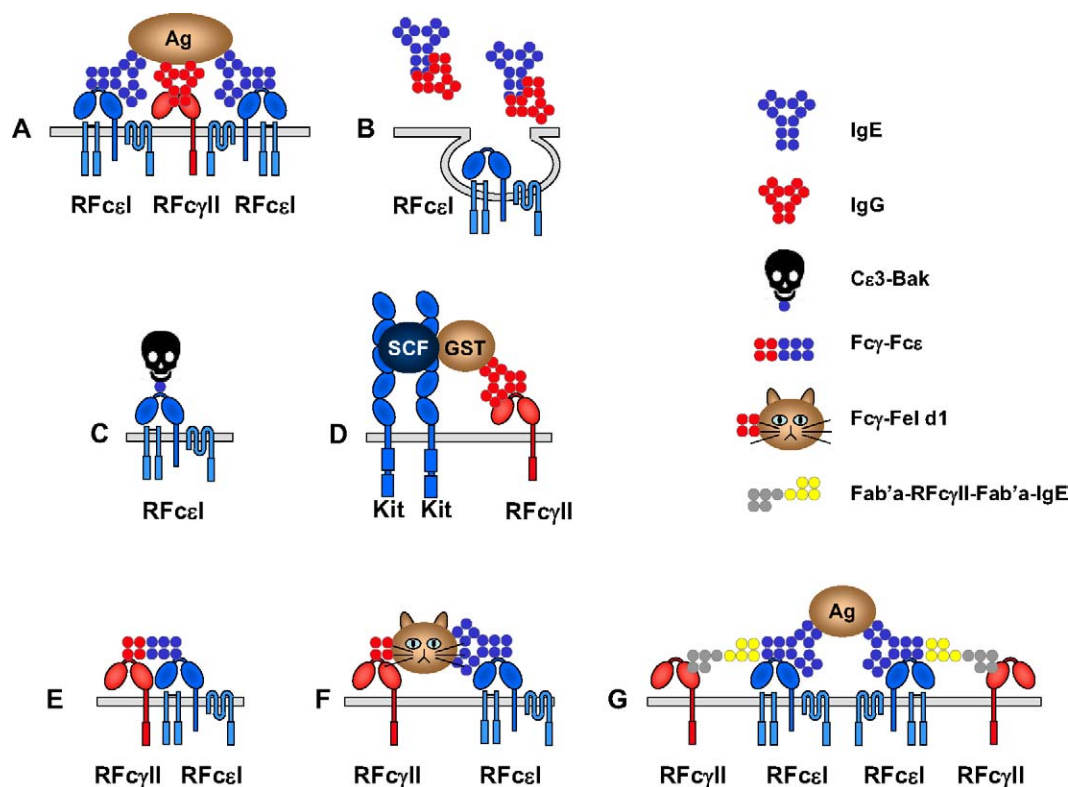


Fig. 2. Molécules thérapeutiques engageant ou agissant sur les RfC utilisées ou potentiellement utilisables dans l'allergie. A. Désensibilisation ; B. Traitement par anti-IgE ; C. Destruction ciblée des cellules exprimant des RFcεI ; D. Inhibition de la prolifération des mastocytes ; E. Inhibition de l'activation des mastocytes par des fragments de portion Fc ; F. Inhibition de l'activation des mastocytes par un allergène couplé à un fragment de portion Fc d'IgE ; G. Inhibition de l'activation des mastocytes par un anticorps bispécifique anti-IgE et anti-RFcγII.

asthmatiques, s'est révélée réduire les manifestations cliniques [17].

4. RfC et immunothérapie par anti-IgE

Une approche thérapeutique visant à bloquer la sensibilisation des mastocytes et des basophiles en empêchant les IgE de se fixer sur les RFcεI a été mise en œuvre et utilisée en clinique au cours des dix dernières années. Dans ce but, un anticorps monoclonal de souris dirigé contre un épitope des IgE humaines localisé dans le site impliqué dans la liaison de l'immunoglobuline aux RFcεI a été humanisé par recombinaison génétique. À l'exception des acides aminés des régions variables des chaînes lourdes et légères qui constituent le site de liaison à l'antigène et qui représentent moins de 5 % des acides aminés de l'anticorps, tout le reste de la molécule a été remplacé par les séquences constantes correspondantes de chaînes légères κ et de chaînes lourdes d'IgG1 humaines. Cet anticorps reconnaît les IgE circulantes, mais pas les IgE déjà fixées sur les RFcεI des mastocytes ou des basophiles. Il ne peut donc induire des réactions anaphylactiques en agréant les RFcεI occupés par des IgE [18].

Cet anti-IgE humanisé a été administré à plus de 25 000 patients asthmatiques depuis qu'il a été commercialisé aux États-Unis sous le nom d'omalizumab (Xolair®). Il s'est révélé bien toléré, dépourvu d'effets secondaires et efficace dans la rhinite et l'asthme allergiques [19]. De même, il augmente le

seuil de sensibilité à l'allergène chez des patients allergiques à l'arachide [20]. L'étude randomisée avec contrôle placebo INNOVATE, menée en double insu pendant 28 semaines chez 400 adultes et adolescents atteints d'asthme persistant sévère mal contrôlé par de fortes doses de corticostéroïde inhalé et β-agoniste à longue durée d'action, a montré que le traitement par omalizumab induit une réduction significative des symptômes asthmatiques et du taux d'exacerbations de l'asthme, ainsi qu'une amélioration de la qualité de vie et des fonctions pulmonaires [21]. Une limitation de ce traitement est son coût élevé, et il doit être réservé aux asthmes sévères mal contrôlés par les traitements classiques.

Le mécanisme d'action de l'omalizumab s'est révélé différent du mécanisme escompté. De façon inattendue, les IgE deviennent en effet rapidement indétectables dans le sérum, probablement parce que les complexes IgE-anti-IgE sont éliminés par endocytose par les cellules du système réticuloendothélial. Parallèlement, l'expression des RFcεI diminue en quelques semaines sur les basophiles, en quelques mois sur les mastocytes et les cellules dendritiques [22]. De sorte que, finalement, le nombre de cellules RFcεI⁺ est diminué significativement dans la sous-muqueuse bronchique des patients asthmatiques allergiques traités par omalizumab [23]. La raison est que les RFcεI libres sont internalisés et dégradés en permanence et que cette dégradation est ralentie par la fixation d'une IgE [24,25]. Comme celle-ci ne modifie pas leur taux de synthèse, les RFcεI occupés s'accumulent sur la membrane tant que des IgE sont

disponibles pour se fixer aux nouveaux RFcεI [26]. C'est la raison pour laquelle les basophiles des patients allergiques expriment un plus grand nombre de RFcεI que ceux des sujets normaux et que ce nombre est proportionnel à la concentration sérique des IgE totales [27]. À l'inverse, lorsque l'omalizumab diminue la concentration sérique des IgE, la plupart des RFcεI ne sont pas occupés et ils sont rapidement dégradés (Fig. 2B). En conséquence, les cellules présentatrices d'antigène, les mastocytes-basophiles et les cellules inflammatoires expriment moins de RFcεI. Les cellules présentatrices d'antigène induisent des réponses Th2 moindres : moins d'IgE spécifiques sont synthétisées et moins de mastocytes et d'éosinophiles se différencient. Les mastocytes, les basophiles et les cellules inflammatoires reçoivent moins de signaux positifs en présence d'allergène : l'intensité des réponses aiguës et chroniques est diminuée.

5. RFc et toxicité cellulaire

Les RFcεI sont sélectivement exprimés par les cellules impliquées dans l'allergie. Chez l'homme et la souris, ils sont exprimés, avec les deux sous-unités FcRγ et FcRβ, par les mastocytes et les basophiles des individus normaux. Ils sont exprimés en plus grand nombre, par les mastocytes et les basophiles des patients allergiques avec une concentration élevée d'IgE totales. Ils sont également exprimés par les monocytes, les cellules dendritiques, les neutrophiles et les éosinophiles de ces patients [28]. Ces cellules n'exprimant pas la sous-unité FcRβ, ils n'y sont associés qu'à FcRγ (Fig. 1). La possibilité que d'autres cellules que les mastocytes et les basophiles expriment des RFcεI est propre à l'homme. Dans cette espèce, l'expression de la sous-unité RFcεIα qui fixe les IgE, ne nécessite que FcRγ, alors que, chez la souris, les deux sous-unités sont nécessaires. FcRβ régule néanmoins l'expression des RFcεI par les mastocytes et les basophiles humains. Un variant d'épissage de cette sous-unité, FcRβ_T, a été décrit récemment, qui diminue l'expression des RFcεI. FcRβ_T est une molécule tronquée qui entre en compétition avec FcRβ durant l'assemblage du récepteur dans le réticulum. Il induit un défaut de repliement et de maturation des RFcεIα, qui ne s'associent plus avec FcRγ et s'accumulent dans la cellule avant d'être détruits dans le protéasome [29].

Considérant que les RFcεI sont spécifiques des cellules concourant à l'allergie et que leur expression est augmentée chez les allergiques, une approche radicale visant à détruire sélectivement les cellules exprimant des RFcεI a été proposée. Cette approche expérimentale *in vitro* repose sur l'introduction d'une molécule capable de tuer ces cellules en utilisant les RFcεI comme des cibles et en exploitant leur capacité d'internaliser des ligands extracellulaires. La molécule introduite s'appelle Bak. C'est une molécule proapoptotique. Couplée à un peptide correspondant au domaine Cε3 des IgE — c'est dans ce domaine constant des chaînes lourdes qu'est situé le site de liaison aux RFcεI —, cette molécule se fixe aux récepteurs par Cε3 (Fig. 2C), est lentement internalisée et Bak déclenche la mort cellulaire par apoptose [30].

6. RFc et prolifération cellulaire

Les RFcγIIB sont capables d'inhiber non seulement les signaux d'activation délivrés par les immunorécepteurs à ITAM, mais également les signaux de prolifération délivrés par les récepteurs de croissance à activité tyrosine kinase intrinsèque. La prolifération et la différenciation des mastocytes sont contrôlées par kit, le récepteur pour le *stem cell factor* (SCF). Chez l'homme, mais pas chez la souris, le SCF stimule également l'activation des mastocytes. Lorsqu'ils sont coagrégés par un ligand approprié avec kit, les RFcγIIB inhibent la prolifération des mastocytes murins [31], et la phosphatase SHIP1 est également la molécule effectrice de cette inhibition des signaux délivrés par kit [32]. Nous avons construit un prototype de molécule thérapeutique potentiellement utilisable pour réguler négativement la prolifération cellulaire induite par du SCF ou la prolifération autonome de cellules exprimant une forme mutée, constitutivement active, de kit. Cette molécule est une protéine de fusion GST–SCF qui, lorsqu'elle est seule, se fixe à kit et stimule la prolifération de mastocytes normaux et, lorsqu'elle est complexée à des IgG anti-GST, coagrège kit avec les RFcγIIB et inhibe la prolifération induite et la prolifération autonome (Fig. 2D) (Malbec et al. soumis). Des molécules de ce type, où la GST pourrait être remplacée par une molécule vaccinale éprouvée pour son innocuité, pourraient être utilisées dans des affections allergiques sévères, mais également dans des maladies prolifératives comme les mastocytoses ou les tumeurs gastro-intestinales associées à une mutation de kit.

7. RFc et activation cellulaire

D'autres molécules chimériques, visant à la fois à cibler les cellules exprimant des RFcεI et à utiliser les propriétés inhibitrices des RFcγIIB ont été proposées.

Fcγ-Fcε est une molécule obtenue par recombinaison génétique, qui associe le fragment Fc d'une IgG1 humaine, constitué de la région charnière, du deuxième et du troisième domaine C-terminal des deux chaînes lourdes d'IgG (hinge-Cγ2-Cγ3)₂, au fragment Fc d'une IgE humaine, constitué des trois domaines C-terminaux des deux chaînes lourdes d'IgE (Cε2-Cε3-Cε4)₂. Cette molécule inhibe l'activation *in vitro* de mastocytes et de basophiles humains induite par des IgE et, *in vivo*, l'anaphylaxie cutanée passive chez des souris transgéniques exprimant la chaîne α des RFcεI humains [33]. Fcγ-Fel d1 est une autre molécule recombinante qui associe le même fragment Fc d'IgG1 humaine à l'allergène majeur de chat Fel d1. Cette molécule inhibe l'activation *in vitro*, par Fel d1, de mastocytes et de basophiles humains sensibilisés par du sérum de patients allergiques au chat et, *in vivo*, l'anaphylaxie cutanée passive induite par Fel d1 chez des souris transgéniques exprimant la chaîne α des RFcεI humains et l'anaphylaxie générale active induite par Fel d1 chez des souris normales immunisées par Fel d1 [34]. Ces deux molécules avaient été construites dans le but d'induire une inhibition des signaux d'activation en coagrégant les RFcεI et les RFcγIIB sur les cellules. Il est probable que, dans les deux cas, une compétition contribue à, voire, rend compte de l'inhibition observée. Fcγ-

Fcε entre en compétition avec les IgE lors de la sensibilisation passive des mastocytes (Fig. 2E), tandis que Fcγ-Fcε d1 entre en compétition avec l'allergène lors de l'engagement des IgE fixées aux RFcεI (Fig. 2F). En attestent la durée prolongée de préincubation nécessaire des cellules avec Fcγ-Fcε, dans le premier cas et, dans les deux cas, l'inhibition des signaux intracellulaires précoces d'activation délivrés par les RFcεI. Ces signaux ne sont en effet pas affectés dans l'inhibition induite par les RFcγIIB. Par ailleurs, la preuve de l'engagement des RFcγIIB par l'une ou l'autre de ces molécules n'a pas été apportée. Quel qu'en soit le mécanisme, l'effet inhibiteur de ces chimères, et notamment de Fcγ-Fcε d1, est indiscutable.

Une autre molécule chimérique a été récemment construite dans le but de coagréger les RFcεI et les RFcγIIB. Cette molécule est un « anticorps » bispécifique obtenu en couplant chimiquement un fragment Fab' dérivé d'un anticorps monoclonal anti-IgE humaine et un fragment Fab' d'un anticorps monoclonal anti-RFcγII humain (Fab'a-IgE-Fab'a-RFcγII) (Fig. 2G). L'anticorps anti-IgE choisi est dirigé contre un épitope de la chaîne lourde d'IgE non engagé dans la liaison avec les RFcεI. Contrairement à l'anti-IgE utilisé pour construire l'omalizumab, cet anticorps peut donc reconnaître les IgE fixées sur les RFcεI — les cellules des patients allergiques sont déjà sensibilisées par des IgE spécifiques. La molécule bispécifique n'induit cependant pas de réaction anaphylactique parce qu'elle est monovalente pour chacune de ses spécificités. L'anticorps anti-RFcγII utilisé reconnaît les RFcγIIA/C et les RFcγIIB parce qu'il n'existe pas d'anticorps spécifique des RFcγIIB humains. La coagrégation, par cet anticorps, des RFcεI avec l'ensemble des RFcγII exprimés par les basophiles normaux exerce néanmoins un effet dominant négatif [7]. La molécule bispécifique inhibe profondément la libération d'histamine, par des mastocytes ou de basophiles humains sensibilisés par des IgE spécifiques, induite *in vitro* par l'antigène spécifique [35]. Si elle était humanisée, une molécule de ce type pourrait être utilisable en clinique. Indépendante de la nature de l'allergène, elle constitue un modèle de molécule thérapeutique qui n'exercerait ses propriétés inhibitrices que lors d'une stimulation par l'allergène, quel que soit cet allergène.

8. Conclusion

Les RFc sont responsables de la plupart des activités biologiques des principaux effecteurs de ce qu'il est convenu d'appeler l'immunité humorale, les anticorps. Ils sont impliqués dans un large spectre d'activités physiologiques. Ils contribuent aussi à de nombreux processus pathologiques. L'allergie en est un bon exemple. Leurs propriétés activatrices sont néanmoins (ou sont donc ?) étroitement contrôlées par des mécanismes régulateurs, et les réactions immunitaires ne sont, normalement, pas pathogènes. Ces mécanismes régulateurs reposent en partie sur la délivrance, par les RFc inhibiteurs, de signaux négatifs qui contrebalancent les signaux positifs délivrés par les RFc activateurs. C'est l'intégration de ces signaux antagonistes qui détermine, qualitativement et quantitativement, les réponses biologiques des cellules. On peut donc espérer exercer un effet thérapeutique en agissant sur l'équilibre entre signaux po-

sitifs et signaux négatifs. Dans l'allergie, il s'agit de le déplacer en faveur de la régulation négative.

On peut imaginer plusieurs façons d'agir. On peut chercher à modifier l'expression relative des RFc activateurs et des RFc inhibiteurs sur les cellules inflammatoires. C'est, de façon inattendue, ce que réalise l'omalizumab en diminuant, de façon indirecte, le nombre des RFcεI sur les cellules qui les expriment. On pourrait imaginer d'augmenter le nombre des RFcγIIB sur les mêmes cellules, par exemple par des cytokines capables de réguler sélectivement l'expression de ces récepteurs [36]. On peut aussi chercher, en modifiant la qualité de la réponse anticorps, à engager les RFc inhibiteurs de préférence aux RFc activateurs. C'est, entre autres choses, ce que fait la désensibilisation en favorisant la réponse IgG aux dépens de la réponse IgE. On pourrait imaginer d'induire des IgG qui engageraient sélectivement les RFcγIIB [37]. On peut enfin chercher à coengager les RFc activateurs avec les RFc inhibiteurs. C'est ce que visent à réaliser les molécules chimériques bispécifiques utilisant des fragments d'anticorps. On pourrait imaginer des « vaccinations » capables de produire des anticorps possédant des propriétés semblables.

Il est intéressant que des manœuvres empiriques, comme la désensibilisation, ou plus rationnelles, comme le traitement par anticorps anti-IgE, agissent, sans l'avoir délibérément recherché, sur les RFc. Leur efficacité thérapeutique justifie que des approches ciblant ou utilisant délibérément les RFc soient élaborées. Leur développement et leur mise en application nécessitent que progresse notre connaissance des RFc et de leurs ligands, des mécanismes qui régulent leur expression et des mécanismes d'intégration des signaux intracellulaires qu'ils engendrent.

Remerciements

Les travaux de l'unité d'allergologie moléculaire et cellulaire sont soutenus par l'Institut Pasteur, l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) et la Fondation recherche médicale (FRM).

Références

- [1] Ravetch JV, Kinet JP. Fc Receptors. *Annu Rev Immunol* 1991;9:457–92.
- [2] Hulett MD, Hogarth PM. Molecular basis of Fc receptor function. *Adv Immunol* 1994;57:1–127.
- [3] Daéron M. Fc receptor biology. *Annu Rev Immunol* 1997;15:203–34.
- [4] Reth MG. Antigen receptor tail clue. *Nature* 1989;338:383–4.
- [5] Cambier JC. Antigen and Fc receptor signalling: the awesome power of the immunoreceptor tyrosine based activation motif (ITAM). *J Immunol* 1995;155:3281–5.
- [6] Turner H, Kinet JP. Signalling through the high-affinity IgE receptor FcεRI. *Nature* 1999;402:B24.
- [7] Daéron M, Latour S, Malbec O, Espinosa E, Pina P, Pasmans S, et al. The same tyrosine-based inhibition motif, in the intracytoplasmic domain of FcγRIIB, regulates negatively BCR-, TCR-, and FcR-dependent cell activation. *Immunity* 1995;3:635–46.
- [8] Fong DC, Malbec O, Arock M, Cambier JC, Fridman WH, Daéron M. Selective *in vivo* recruitment of the phosphatidylinositol phosphatase SHIP by phosphorylated FcγRIIB during negative regulation of IgE-dependent mouse mast cell activation. *Immunol Lett* 1996;54:83–91.

- [9] Daéron M, Malbec O, Latour S, Arock M, Fridman WH. Regulation of high-affinity IgE receptor-mediated mast cell activation by murine low-affinity IgG receptors. *J Clin Invest* 1995;95:577–85.
- [10] Varney VA, Hamid QA, Gaga M, Ying S, Jacobson M, Frew AJ, et al. Influence of grass pollen immunotherapy on cellular infiltration and cytokine mRNA expression during allergen-induced late-phase cutaneous responses. *J Clin Invest* 1993;92:644–51.
- [11] Jutel M, Pichler WJ, Skrbic D, Urwyler A, Dahinden C, Müller UR. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN- γ secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures. *J Immunol* 1995;154:4187–94.
- [12] Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wuthrich B, Blaser K. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998;102:98–106.
- [13] Francis JN, Till SJ, Durham SR. Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1255–61.
- [14] Nouri-Aria KT, Wachholz PA, Francis JN, Jacobson MR, Walker SM, Wilcock LK, et al. Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. *J Immunol* 2004;172:3252–9.
- [15] Gustavsson S, Hjulström S, Liu T, Heyman B. CD23/IgE-mediated regulation of the specific antibody response in vivo. *J Immunol* 1994;152:4793–800.
- [16] Heyman B. IgE-mediated enhancement of antibody responses: the beneficial function of IgE? *Allergy* 2002;57:577–85.
- [17] Machiels JJ, Lebrun PM, Jacquemin MG, Saint-Rémy JMR. Significant reduction of nonspecific bronchial reactivity in patients with *Dermatophagides pteronyssinus* sensitive allergic asthma under therapy with allergen antibody complexes. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1407–12.
- [18] Milgrom H. Anti-IgE therapy in allergic disease. *Curr Opin Pediatr* 2004;16:642–7.
- [19] Bang LM, Plosker GL. Omalizumab: a review of its use in the management of allergic asthma. *Treat Respir Med* 2004;3:183–99.
- [20] Leung DY, Sampson HA, Yunginger JW, Burks Jr. AW, Schneider LC, Wortel CH, et al. Effect of anti-IgE therapy in patients with peanut allergy. *N Engl J Med* 2003;348:986–93.
- [21] Humbert M, Beasley R, Ayres J, Slavin R, Hebert J, Bousquet J, et al. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy* 2005;60:309–16.
- [22] Beck LA, Marcotte GV, MacGlashan D, Togias A, Saini S. Omalizumab-induced reductions in mast cell Fc ϵ RI expression and function. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:527–30.
- [23] Djukanovic R, Wilson SJ, Kraft M, Jarjour NN, Steel M, Chung KF, et al. Effects of treatment with anti-immunoglobulin E antibody omalizumab on airway inflammation in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:583–93.
- [24] Hsu C, MacGlashan DJ. IgE antibody up-regulates high affinity IgE binding on murine bone marrow-derived mast cells. *Immunol Lett* 1996;52:129–34.
- [25] Yamaguchi M, Lantz CS, Oettgen HC, Katona IM, Fleming T, Miyajima I, et al. IgE enhances mouse mast cell Fc ϵ RI expression in vitro and in vivo: evidence for a novel amplification mechanism in IgE-dependent reactions. *J Exp Med* 1997;185:663–72.
- [26] Borkowski TA, Jouvin MH, Lin SY, Kinet JP. Minimal requirements for IgE-mediated regulation of surface Fc ϵ RI. *J Immunol* 2001;167:1290–6.
- [27] MacGlashan DW, Bochner BS, Adelman DC, Jardieu P, Togias A, Lichtenstein LM. Serum IgE levels drives basophiles and mast cell IgE receptor display. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113:45–7.
- [28] Maurer D, Fiebigler E, Reininger B, Wolffwinski B, Jouvin M-H, Kilgus O, et al. Expression of a functional high affinity immunoglobulin E receptor (Fc ϵ RI) on monocytes of atopic individuals. *J Exp Med* 1994;179:745–50.
- [29] Donnadieu E, Jouvin MH, Rana S, Moffatt MF, Mockford EH, Cookson WO, et al. Competing functions encoded in the allergy-associated Fc ϵ RI β gene. *Immunity* 2003;18:665–74.
- [30] Belostotsky R, Lorberboum-Galski H. Utilizing Fc ϵ -Bak chimeric protein for studying IgE-Fc ϵ RI interactions. *Clin Immunol* 2004;110:89–99.
- [31] Malbec O, Fridman WH, Daéron M. Negative regulation of c-kit-mediated cell proliferation by Fc γ RIIB. *J Immunol* 1999;162:4424–9.
- [32] Malbec O, Schmitt C, Bruhns P, Krystal G, Fridman WH, Daéron M. The SH2 domain-containing inositol 5-phosphatase SHIP1 mediates cell cycle arrest by Fc γ RIIB. *J Biol Chem* 2001;276:30381–91.
- [33] Zhu D, Kepley CL, Zhang M, Zhang K, Saxon A. A novel human immunoglobulin Fc γ -Fc ϵ bifunctional fusion protein inhibits Fc ϵ RI-mediated degranulation. *Nat Med* 2002;8:518–21.
- [34] Zhu D, Kepley CL, Zhang K, Terada T, Yamada T, Saxon A. A chimeric human-cat fusion protein blocks cat-induced allergy. *Nat Med* 2005;11:446–9.
- [35] Tam SW, Demissie S, Thomas D, Daéron M. A bispecific antibody against human IgE and human Fc γ RII that inhibits antigen-induced histamine release by human mast cells and basophils. *Allergy* 2004;59:772–80.
- [36] Tridandapani S, Siefker K, Teillaud JL, Carter E, Wewers MD, Anderson CL. Regulated expression and inhibitory function of Fc γ RIIB in human monocytic cells. *J Biol Chem* 2002;277:5082–9.
- [37] Nimmerjahn F, Ravetch JV. Divergent immunoglobulin G subclass activity through selective Fc receptor binding. *Science* 2005;310:1510–2.