



Une immunodéficiences combinée causée par une mutation du gène *ICOSLG*

Lucie Roussel¹, Marija Landekic¹, Makan Golizeh¹, Christina Gavino¹, Ming-Chao Zhong², Jun Chen², Denis Faubert³, Alexis Blanchet-Cohen⁴, Luc Dansereau⁵, Marc-Antoine Parent⁶, Sonia Marin⁷, Julia Luo¹, Catherine Le¹, Brinley R. Ford¹, Mélanie Langelier¹, Irah L. King^{8,9}, Maziar Divangahi⁸⁻¹⁰, William D. Foulkes^{11,12}, André Veillette^{2,9,13}, Donald C. Vinh^{1,2,9,12}

► Les immunodéficiences primaires sont des maladies génétiques du système immunitaire qui se traduisent par une susceptibilité accrue aux infections, à l'auto-inflammation, à l'auto-immunité, à l'atopie, et par une augmentation du risque de syndromes prolifératifs ou de cancers [1]. Le spectre microbien des infections associées à ces immunodéficiences est variable, mais il peut être à l'origine d'infections foudroyantes et potentiellement mortelles, ou d'infections chroniques qui résistent aux traitements standards [2]. Pour les chercheurs, l'étude des immunodéficiences primaires constitue une opportunité exceptionnelle de progresser dans l'immunobiologie humaine.

Parmi les immunodéficiences primaires, les immunodéficiences combinées constituent un sous-groupe hétérogène de maladies causées par un déficit quantitatif ou fonctionnel des lymphocytes T, avec ou sans anomalie intrinsèque des lymphocytes B [3, 4]. La forme la plus sévère se manifeste dès la petite enfance. Elle nécessite de recourir à une greffe de cellules souches pour la survie du patient. Les formes non-sévères ou atténuées sont de mieux en mieux identifiées. Bien qu'elles ne menacent pas d'emblée la survie des patients dans l'enfance, elles s'accompagnent d'une morbidité significative. Dans un article publié récemment dans *Journal of Experimental Medicine* [5],

nous décrivons une nouvelle forme d'immunodéficiences primaires comportant un déficit immunitaire combiné, causée par une mutation du gène *ICOSLG*, qui code *ICOSL* (*inducible T cell costimulator ligand*), une molécule exprimée par les cellules présentatrices d'antigène qui co-stimule les lymphocytes T exprimant ICOS [6].

Phénotype clinique et immunologique

Le patient dont l'étude a permis cette découverte est un homme âgé de 38 ans, de parents francophones originaires d'une île géographiquement isolée de la province du Québec (Canada), et dont les ascendants directs n'ont pas de lien de consanguinité connu. Dès la petite enfance, il a souffert d'otites, de sinusites, et de bronchites récurrentes. Vers l'âge de 16 ans, sont apparus des condylomes (verrues) dans la région génitale, récurrents malgré différents traitements, et qui ont envahi progressivement les régions scrotale, péri-anale, périnéale, et inguinale, jusqu'à atteindre l'urètre à l'âge de 33 ans. Depuis l'adolescence, ce patient présente des réactivations récurrentes d'infection par le virus *Herpès simplex* dans la région oro-labiale, et des chéilitis angulaires, également récurrentes, qui évoquent une infection par la levure saprophyte *Candida*. À l'âge de 29 ans, des ulcères aphteux sont apparus dans la bouche, accompagnés d'épisodes fébriles, pour

¹Le Programme en maladies infectieuses et immunité en santé mondiale, Centre universitaire de santé McGill, Institut de recherche, 1001 Decarie, H4A3J1 Montréal, Québec, Canada.

²Laboratoire d'oncologie moléculaire, Institut de recherches cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

³Plateforme de spectrométrie de masse et protéomique, Institut de recherches cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

⁴Bio-informatiques, Institut de recherches cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

⁵Département de médecine interne, Hôpital de l'Archipel, Centre intégré de santé et de services sociaux des Îles, Les Îles-de-la-Madeleine, Québec, Canada.

⁶Département de médecine familiale, Centre intégré de santé et de services sociaux des Îles, Les Îles-de-la-Madeleine, Québec, Canada.

⁷Hôpital de l'Archipel, Centre intégré de santé et de services sociaux des Îles, Les Îles-de-la-Madeleine, Québec, Canada.

⁸Laboratoires Meakins-Christie, Centre universitaire de santé McGill, Institut de recherche, Montréal, Québec, Canada.

⁹Département de médecine, Université McGill, Montréal, Québec, Canada.

¹⁰Département de microbiologie et immunologie, Université McGill, Montréal, Québec, Canada.

¹¹Département de médecine génétique, Centre universitaire de santé McGill, Institut de recherche, Montréal, Québec, Canada.

¹²Département de génétique humaine, Université McGill, Montréal, Québec, Canada.

¹³Département de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

donald.vinh@mcgill.ca.

lucie.roussel@mail.mcgill.ca

lesquels aucun agent pathogène n'a pu être identifié.

Des tests immunologiques de première intention ont montré l'existence d'une hypo-gammaglobulinémie associée à une pan-lymphopénie de proportion normale. Une neutropénie, s'aggravant avec l'âge, a également été diagnostiquée. Cependant, aucune infection pyogénique caractéristique d'une neutropénie (e.g., infections périodon-

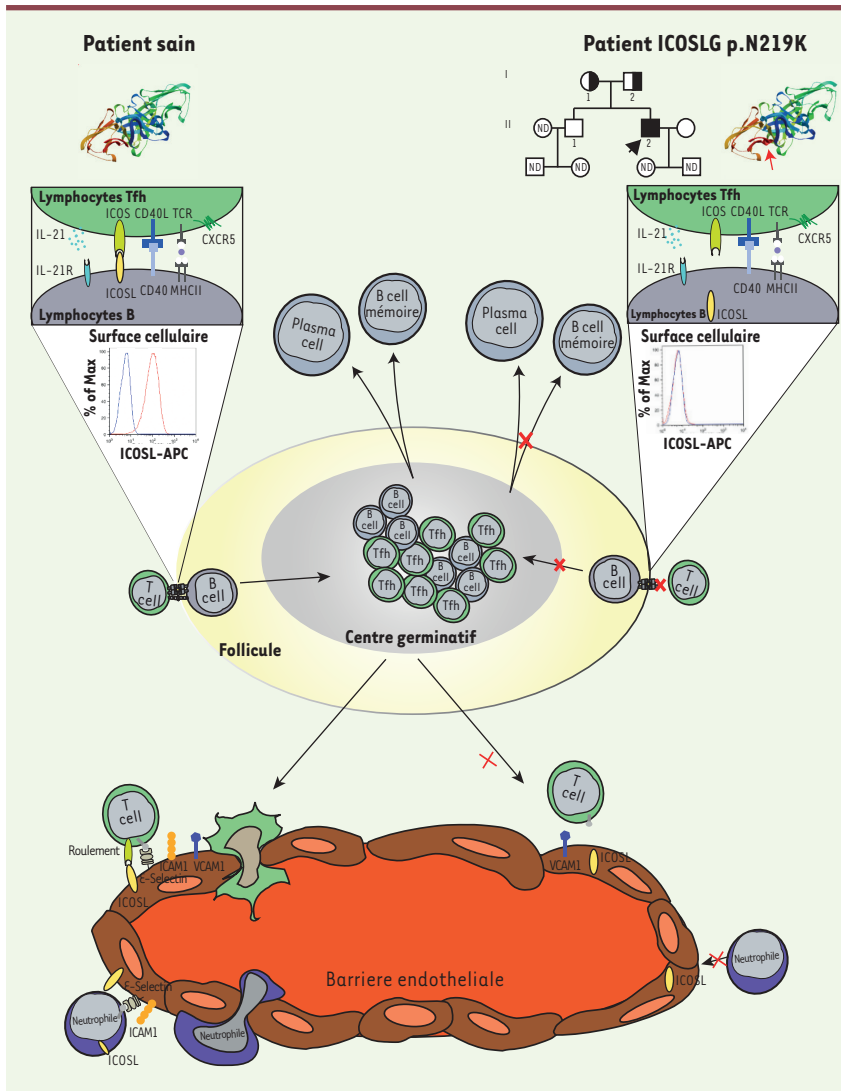


Figure 1. Effets de la mutation du gène ICOSL. La mutation Asn219Lys, présente à l'état homozygote chez le patient, affecte l'adressage de la protéine ICOSL à la membrane plasmique des cellules présentatrices d'antigène, empêchant ainsi sa fonction de co-stimulation des lymphocytes T. La migration des lymphocytes et des polynucléaires neutrophiles à travers la paroi des vaisseaux sanguins est également perturbée à cause d'un déficit de certaines molécules d'adhérence à la surface des cellules endothéliales, qui expriment également ICOSL (d'après [5]). *B cell* : cellule B ; *T cell* : cellule T ; *Plasma cell* : plasmocyte.

tales, infections de la peau et des tissus mous) n'a été notée. La persistance de la neutropénie a justifié une biopsie de la moelle osseuse, dont l'analyse a montré l'absence d'hypercellularité (myélomatose) ou de myélodysplasie, et l'absence d'anomalie de la maturation granulocytaire. La neutropénie a régressé après un traitement par une forme recombinante du G-CSF (*granulocyte-colony stimulating factor*), mais elle est réapparue à l'arrêt du

traitement. Les vaccinations contre le tétanos, la diphtérie, ou les infections dues à *Haemophilus influenzae* n'ont pas été suivies de la séroconversion attendue. La fréquence des infections respiratoires a diminué après un traitement par des immunoglobulines polyclonales injectées par voie intraveineuse. Des examens immunologiques complémentaires ont ensuite permis de caractériser le phénotype immunitaire anormal (Tableau 1), qui suggérait une

anomalie de l'interaction entre lymphocytes T et lymphocytes B. Il comporte une lymphopénie T sanguine résultant d'une réduction du nombre absolu de lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺, dont le rapport était cependant préservé. Une diminution du nombre de lymphocytes T CD4⁺ naïfs et mémoires a également été notée. Parmi cette sous-population de cellules T, celle des lymphocytes T auxiliaires folliculaires (Tfh), qui sont impliqués dans la production des anticorps par les lymphocytes B, est apparue déséquilibrée : l'effectif de la sous-population effectrice était élevé, alors que celui de la sous-population mémoire était fortement diminué [7]. Le nombre de lymphocytes B était également fortement diminué, avec une quasi-absence de la sous-population de cellules B mémoires. Les taux sériques des immunoglobulines (Ig) d'isotype G (IgG) étaient normaux (mais le patient était alors sous traitement par immunoglobulines), tandis que ceux des IgA étaient diminués. À noter que le taux sérique des IgE n'était pas augmenté. Ces analyses ont également révélé une neutropénie modérée et un nombre de lymphocytes NK (*natural killer*) légèrement diminué. Enfin, les nombres de cellules monocytaires CD14⁺, de cellules dendritiques conventionnelles, et de lymphocytes T régulateurs étaient comparables à ceux d'individus normaux.

Analyses génétique et fonctionnelle

Pour déterminer la cause génétique de ce phénotype immunologique anormal, nous avons effectué le séquençage des exons de tous les gènes (exome entier) du patient. Des gènes candidats ont été analysés, en comparant leurs séquences chez le patient avec celles obtenues chez d'autres membres de la famille non-atteints par la maladie. Compte tenu de l'isolement géographique des différents membres de cette famille, nous avons fait l'hypothèse d'une transmission de la maladie sur le mode autosomique récessif, et avons



Paramètre *	Âge du patient P1				
	29 ans	30 - 32 ans	33 - 35 ans	35 ans	38 ans (immunophénotypage)
ANC	3100	924-1862 (↓)	341-1000 (↓)	ANC 400 (↓)	ANC 1140 (↓)
AMC	412	60-566	13-1179	AMC 600	Monocytes CD14* [165-780/mL] 330
ALC	700 (↓)	588-849 (↓)	210-720 (↓)	ALC 600	ALC 670 [1000-4800/μL]
CD3	525 (↓)	423-645 (↓)	259-469 (↓)	CD3 420 (70 %) (↓)	Lymphocytes T CD3* [661-2224/mL] 387 (↓); 62 %
CD4	420	306-501 (↓)	190-301 (↓)	CD4 288 (48 %) (↓)	Lymphocytes T CD4* [356-1573/mL] 281 (↓); 45 %
CD8	98 (↓)	112-136 (↓)	68-154 (↓)	CD8* 104 (17,4 %) (↓)	Lymphocytes T CD8* [113-804/μL] 92 (↓); 15 %
CD19	98 (↓)	88-114 (↓)	68-144 (↓)	CD4/CD45RA 54 (9 %) (↓)	Lymphocytes Tfh circulants ^{1a} 12 % [13.4-24,9 %]
NK	49 (↓)	47-48 (↓)	43-90 (↓)	CD4/CD45RO 16 (2,6 %) (↓)	Lymphocytes Tfh (effecteurs partiels) ^{1b} 22,9 % (↑) [9.26-11.1 %]
IgG	2,8 (↓)	6,1-15,15†	10,9-17,6	CD19/CD27 6 (1 %) (↓)	Lymphocytes Tfh (mémoires au repos) ^{1c} 30,6 % (↓) [60,5-69 %]
IgA	0,19 (↓)	0,15-0,2 (↓)	0,16-0,3 (↓)	CD3*/CD56* 25 (4,1 %)	Lymphocytes T régulateurs (Treg) ² 7,74 % [6,85-8,65 %]
IgM	0,85	0,52-0,77	0,66-0,76		Lymphocytes B CD19* 159 ; 26 % [143-396/μL]
IgE	7	NP	NP		Lymphocytes B naïfs ^{3a} 97,8 % (↑) [14-58 %]
					Lymphocytes B mémoires ^{3b} 0,16 % (↓) [23-60 %]
					Cellules NK CD3* /16* ^{ou} 56* 67 (↓); 11 % [82-594/μL]
					CD11c* DC conventionnelles DC ^{4a} 3,29 % [1,75-4,59 %]
					DC myéloïdes CD1c* ^{4b} 3,38 % [0,95-3,18 %]
					DC plasmacy- toïdes CD141* ^{4c} 3,01 % [1,33-3,09 %]

Tableau 1. Phénotype immunitaire du patient, à différents âges entre 29 et 38 ans. ↓ et ↑ indiquent respectivement une valeur inférieure ou supérieure à une valeur minimale ou maximale de référence du laboratoire à la période indiquée. *ANC : valeur du nombre absolu de neutrophiles. AMC : valeur du nombre absolu de monocytes. ALC : valeur du nombre absolu de lymphocytes. DC : cellules dendritiques. NP : pas de mesure effectuée. † Après traitement par injection par voie intraveineuse d'immunoglobulines (IVIg). Les limites inférieure et supérieure des valeurs obtenues chez des individus sains (exprimées en nombre de cellules/μL ou en %) sont indiquées entre crochets. ^{1a} CD45RA⁻ CD4⁺ CXCR5⁺; ^{1b} CD45RA⁻ CD4⁺ CXCR5⁺ PD-1^{hi} CCR7^{lo}; ^{1c} CD45RA⁻ CD4⁺ CXCR5⁺ PD-1^{lo} CCR7^{hi}; ² CD4⁺ Foxp3⁺; ^{3a} CD45⁺ CD19⁺ CD27⁺ IgD⁺; ^{3b} CD45⁺ CD19⁺ CD27⁺ IgD⁻; ^{4a} Lin1⁻ HLA-DR⁺ CD11c⁺; ^{4b} Lin1⁻ HLA-DR⁺ CD11c⁺ CD1c⁺; ^{4c} Lin1⁻ HLA-DR⁺ CD11c⁺ CD141⁺.

identifié une variation de séquence dans le gène *ICOSLG* (c.657C>G), présente à l'état homozygote uniquement chez ce patient, et dont l'analyse bioinformatique prédisait l'effet délétère sur la protéine. Ce variant, qui transforme un résidu asparagine en lysine en position 219 de la séquence protéique (p.N219K), n'était pas présent dans les bases de données issues de l'analyse de génomes de référence. En analysant des cellules du patient [8], mais aussi des lignées cellulaires transfectées synthétisant la protéine ICOSL mutante, nous avons montré que cette mutation empêchait l'adressage normal de la protéine à la membrane plasmique. Par une analyse de ces cellules en microscopie confocale, nous avons observé l'accumulation anormale de la protéine

mutante dans le réticulum endoplasmique ou l'appareil de Golgi. L'analyse bioinformatique prédit que cette mutation ponctuelle modifie la structure de la protéine, sa stabilité, sa rigidité, et son hydrophobicité, ce qui pourrait expliquer son incapacité à se localiser correctement à la surface de la cellule. Nos analyses fonctionnelles *in vitro* ont permis de montrer que l'absence de la protéine ICOSL à la surface des cellules présentatrices d'antigène empêchait non seulement sa fonction de co-stimulateur des lymphocytes T [9]¹, mais aussi le passage de ces cellules et des polynucléaires neutrophiles à travers la

¹ ICOSL, exprimé par les cellules présentatrices de l'antigène, se lie à ICOS, exprimé par les lymphocytes T, ce qui permet leur stimulation.

paroi des vaisseaux sanguins, entre les cellules endothéliales, qui expriment elles aussi *ICOSLG* [10, 11]. La mutation d'*ICOSLG* semble entraîner une diminution de l'expression de certaines molécules d'adhérence par les cellules endothéliales. Ce lien entre mutation de *ICOSLG* et sous-expression de ces protéines a été confirmé dans une lignée cellulaire endothéliale normale, en utilisant des anticorps neutralisant *ICOSL*, ou par complémentation de cellules mutées avec la protéine sauvage.

Conclusion

Les travaux que nous avons réalisés ont donc permis l'identification d'une nouvelle forme génétique du syndrome d'immunodéficience combinée. Ses manifestations cliniques semblent être liées à des dysfonctionnements de cellules hématopoïétiques, mais aussi de cellules non hématopoïétiques. Une thérapie par greffe de cellules souches hématopoïétiques ne corrigerait donc pas nécessairement tous

les aspects de cette maladie. Pour orienter la recherche du traitement le mieux adapté à cette forme génétique particulière, il sera nécessaire de progresser d'abord dans la compréhension du rôle de la protéine *ICOSL* dans le fonctionnement normal du système immunitaire. ♦

Loss of human *ICOSLG* results in combined immunodeficiency

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier le patient et les membres de sa famille qui ont participé à l'étude. Les auteurs tiennent également à remercier les membres de l'équipe multidisciplinaire ayant contribué aux soins du patient.

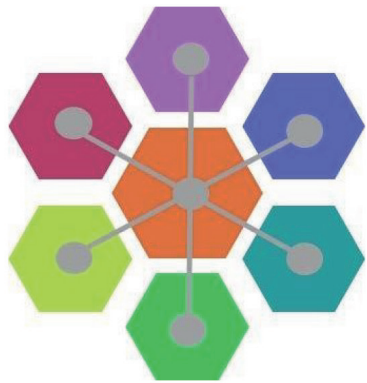
LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, et al. International Union of Immunological Societies: 2017. Primary immunodeficiency diseases committee report on inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2018 ; 38 : 96-128.

2. Casanova JL, Abel L. Human genetics of infectious diseases: Unique insights into immunological redundancy. *Semin Immunol* 2018 ; 36 : 1-12.
3. Dotta L, Badolato R. Primary immunodeficiencies appearing as combined lymphopenia, neutropenia, and monocytopenia. *Immunol Lett* 2014 ; 161 : 222-5.
4. Notarangelo LD. Combined immunodeficiencies with nonfunctional T lymphocytes. *Adv Immunol* 2014 ; 121 : 121-90.
5. Roussel L, Landekic M, Golizeh M, et al. Loss of human *ICOSL* results in combined immunodeficiency. *J Exp Med* 2018 ; 215 : 3151-64.
6. Nurieva RI, Mai XM, Forbush K, et al. B7h is required for T cell activation, differentiation, and effector function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 14163-8.
7. He J, Tsai LM, Leong YA, et al. Circulating precursor CCR7(lo)PD-1(hi) CXCR5+ CD4+ T cells indicate Tfh cell activity and promote antibody responses upon antigen reexposure. *Immunity* 2013 ; 39 : 770-81.
8. Vinh DC, Schwartz B, Hsu AP, et al. Interleukin-12 receptor beta1 deficiency predisposing to disseminated Coccidioidomycosis. *Clin Infect Dis* 2011 ; 52 : e99-e102.
9. Hutloff A, Dittrich AM, Beier KC, et al. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature* 1999 ; 397 : 263-6.
10. Khayyamian S, Hutloff A, Buchner K, et al. ICOS-ligand, expressed on human endothelial cells, costimulates Th1 and Th2 cytokine secretion by memory CD4+ T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 6198-203.
11. Ades EW, Candal FJ, Swerlick RA, et al. HMEC-1: establishment of an immortalized human microvascular endothelial cell line. *J Invest Dermatol* 1992 ; 99 : 683-90.



Global Registry for COL6-related dystrophies

Registre global des dystrophies liées au collagène de type VI

S'inscrire sur : www.collagen6.org

Ou contactez-nous par e-mail à l'adresse : collagen6registry@ncl.ac.uk

La traduction française sera bientôt disponible sur le site web.

