

La Langerine et les granules de Birbeck des cellules de Langerhans

Initialement découvertes dans l'épiderme par Paul Langerhans [1], puis identifiées dans les organes lymphoïdes secondaires cent ans plus tard, les cellules dendritiques forment un véritable réseau de surveillance immunologique [2]. Bien qu'en très faible nombre, elles sont au centre du déclenchement des réponses immunitaires. Les cellules dendritiques sont en effet capables de capturer un antigène, de l'apprêter, puis de migrer vers les organes lymphoïdes secondaires où elles activent les lymphocytes T et induisent une réponse humorale et cytolytique en présentant l'antigène par les molécules de classe I ou II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) [3]. Elles constituent une famille cellulaire hétérogène d'origine hématopoïétique, et peuvent se trouver sous des formes de maturation distinctes. Dans leur état immature, les cellules dendritiques ont une forte capacité d'endocytose, de macropinocytose et de phagocytose qui leur permet d'internaliser les antigènes, et expriment différents récepteurs d'endocytose dont des lectines dépendantes du calcium. Leur maturation, induite par différents signaux, provoque des changements phénotypiques et morphologiques qui leur permettent de migrer et de devenir compétentes pour l'activation des lymphocytes T (*m/s* 1999, n° 819, p. 1026).

Des cellules de Langerhans... aux granules de Birbeck

Les cellules de Langerhans sont des cellules dendritiques localisées dans l'épiderme et les épithéliums stratifiés des muqueuses. Elles possèdent une forte capacité de capture antigénique et sont caractérisées par la présence, dans leur cytoplasme, de granules de Birbeck [4, 5]. Ces granules ont souvent la forme

d'une « raquette de tennis » et sont formés par deux membranes accolées et séparées par une zone régulièrement striée en « fermeture éclair » (*figure 1A*). Leur rôle exact n'est pas connu mais l'hypothèse largement acceptée est celle d'un compartiment d'endocytose. Les granules de Birbeck peuvent se former par invagination de la membrane plasmique et permettraient l'endocytose de matériel extracellulaire. Des composés comme la ferritine, un anticorps monoclonal (Acm) anti-CD1a, ou la peroxydase de raifort se localisent en effet dans

les granules de Birbeck après avoir été internalisés par les cellules de Langerhans. Outre cette origine à partir de la membrane plasmique, les granules de Birbeck pourraient aussi provenir d'autres membranes cellulaires comme celles de l'appareil de Golgi. Cependant l'étude de la formation et de la fonction des granules de Birbeck était jusqu'à présent limitée par le caractère statique et la dépendance à l'égard des plans de coupe des observations en microscopie électronique, ainsi que par l'absence de marqueur spécifique.

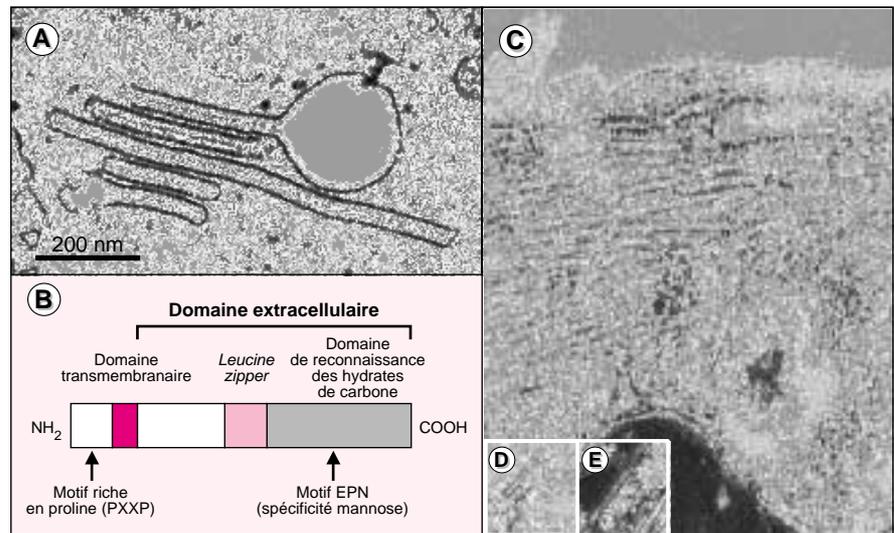


Figure 1. **Les granules de Birbeck et la molécule Langerine.** **A.** Vue en microscopie électronique des granules de Birbeck d'une cellule de Langerhans: ils ont souvent la forme d'une « raquette de tennis » et sont formés par deux membranes accolées et séparées par une zone régulièrement striée en « fermeture éclair ». **B.** Représentation de la Langerine humaine qui comprend plusieurs domaines: un domaine N-terminal cytoplasmique qui contient un motif riche en proline, un domaine transmembranaire et, dans le domaine extracellulaire, un domaine de reconnaissance des carbohydrates avec en particulier un motif de reconnaissance des résidus mannose (EPN). **C-E.** Images obtenues en microscopie électronique de fibroblastes murins (lignée COP5) transfectés par l'ADNc codant la Langerine humaine: de nombreux GB caractérisés par leur striation périodique sont présents dans le cytoplasme (**C**), certains se forment au niveau de la membrane plasmique (**D**). On peut observer également une striation périodique à la membrane nucléaire (**E**).

Des cellules de Langerhans... à la Langerine

La possibilité d'obtenir des cellules de Langerhans humaines *in vitro* à partir de progéniteurs hématopoïétiques [6] nous a permis de produire des Acm murins dirigés contre ces cellules. Des marquages immunohisto-chimiques ont montré qu'une molécule, reconnue par l'Acm DCGM4, était exprimée uniquement par les cellules de Langerhans, d'où sa dénomination de Langerine [7]. La Langerine est localisée sur la membrane plasmique des cellules de Langerhans et dans des compartiments cytoplasmiques. Son expression est fortement augmentée en présence de TGF- β , cytokine impliquée dans la différenciation des cellules de Langerhans [8]. Elle est en revanche diminuée par un signal de maturation comme celui induit par le ligand du CD40 [9]. En outre, l'Acm DCGM4 est internalisé très rapidement à 37° C par les cellules de Langerhans [7].

Nous avons effectué le clonage par expression de l'ADNc codant pour la Langerine. Cette protéine de 328 acides aminés appartient à la famille des lectines transmembranaires de type II, dépendantes du calcium [10]. Elle possède un domaine de reconnaissance des hydrates de carbone (CRD) fonctionnel et spécifique des résidus mannose, mais est en revanche dépourvue de motif d'internalisation classique (de type tyrosine ou di-leucine). Elle contient un domaine cytoplasmique riche en résidus proline et caractéristique des domaines d'interaction protéine-protéine (figure 1B). Enfin, le gène de la Langerine humaine est constitué de 6 exons et est situé sur le chromosome 2p13, région ne contenant pas de complexe génique connu, et n'étant associée à aucune pathologie connue.

L'identification de la Langerine humaine pourrait s'avérer très utile pour localiser de façon spécifique les cellules de Langerhans. Leur caractérisation reposait en effet jusqu'à présent sur la détection de la E-cadhérine et de l'antigène leucocytaire CD1a, qui ne sont toutefois pas spécifiques de ces cellules puisque la E-cadhérine est également exprimée par les cellules épithéliales, et CD1a par les thy-

mocytes. L'utilisation de la Langerine comme marqueur des cellules de Langerhans chez l'homme pourrait de plus être utilisée pour le diagnostic des histiocytoses X, qui sont des maladies rares d'origine inconnue et caractérisées par la présence d'un très grand nombre d'histiocytes possédant certaines caractéristiques des cellules de Langerhans telles que les granules de Birbeck.

De la Langerine... aux granules de Birbeck

L'étude en microscopie électronique et confocale révèle que la Langerine est associée à des invaginations membranaires particulières représentant des granules de Birbeck se formant à la membrane plasmique [10]. Cette distribution, ainsi que les propriétés d'internalisation d'un anticorps dirigé contre la protéine, nous ont conduit à envisager un rôle actif de la Langerine dans la formation des granules de Birbeck. Cette hypothèse a été confirmée par la remarquable formation d'un grand nombre de granules de Birbeck dans des fibroblastes transfectés par l'ADNc codant pour la Langerine (figure 1C-E). On observe de plus la striation périodique caractéristique des granules de Birbeck sur les membranes plasmiques et du reticulum endoplasmique ou encore sur la membrane nucléaire de ces fibroblastes. Il apparaît donc que la formation des granules de Birbeck est indépendante du type de membrane engagé, ce qui est en faveur d'une origine mixte des granules de Birbeck.

L'identification de la Langerine est un premier pas vers la connaissance de la fonction des granules de Birbeck et des mécanismes permettant la formation de ce compartiment cellulaire unique. En outre, aucune lectine spécifique pour le mannose n'avait été jusqu'à présent mise en évidence sur les CL humaines, qui sont cependant capables d'internaliser des Ag mannosylés [11]. L'engagement du CRD de la Langerine par des ligands contenant de multiples résidus mannose, comme par exemple les micro-organismes, serait donc à l'origine de la formation des granules de Birbeck. Cependant, le processus d'endocytose engagé par la Langerine n'est pas classique: il est en effet indépendant de la clathrine et

différent de la macropinocytose ou de la phagocytose classiquement utilisées par les cellules dendritiques [12]. Enfin, alors que les lectines transmembranaires comme le récepteur du mannose délivrent leur ligand dans les compartiments de chargement des molécules du CMH de classe II [13], l'internalisation par la Langerine n'aboutit pas à ces compartiments [10]. Le granule de Birbeck pourrait donc être un compartiment d'endocytose spécifique des cellules de Langerhans permettant le stockage de l'antigène, et représenter une voie de présentation antigénique particulière.

1. Langerhans P. Über die Nerven der menschlichen Haut. *Virchows Arch Path Anat* 1868; 44: 325-37.
2. Bell D, Young JW, Banchereau J. Dendritic cells. *Adv Immunol* 1999; 72: 255-64.
3. Amigorena S. Présentation antigénique par les cellules dendritiques. *Med Sci* 1999; 15: 931-8.
4. Birbeck MS, Breathnach AS, Everall JD. An electron microscope study of basal melanocytes and high-level clear cells (Langerhans cells) in vitiligo. *J Invest Dermatol* 1961; 37: 51-64.
5. Chardonnet Y, Viac J, Schmitt D. Épithélium, cellules de Langerhans et infections virales. *Med Sci* 1998; 14: 401-11.
6. Caux C, Dezutter DC, Schmitt D, Banchereau J. GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells. *Nature* 1992; 360: 258-61.
7. Valladeau J, Duvert-Frances V, Pin JJ, et al. The monoclonal antibody DCGM4 recognizes Langerin, a protein specific of Langerhans cells, and is rapidly internalized from the cell-surface. *Eur J Immunol* 1999; 29: 2695-704.
8. Borkowski TA, Letterio JJ, Farr AG, Udey MC. A role for endogenous transforming growth factor beta 1 in Langerhans cell biology: the skin of transforming growth factor beta 1 null mice is devoid of epidermal Langerhans cells. *J Exp Med* 1996; 184: 2417-22.
9. Caux C, Massacrier C, Vanbervliet B, et al. Activation of human dendritic cells through CD40 cross-linking. *J Exp Med* 1994; 180: 1263-72.
10. Valladeau J, Ravel O, Dezutter-Dambuyant C, et al. Langerin, a novel C-type lectin specific to Langerhans cells, is an endocytic receptor that induces the formation of Birbeck granules. *Immunity* 2000; 12: 71-81.
11. Reis e Sousa C, Stahl PD, Austyn JM. Phagocytosis of antigens by Langerhans cells *in vitro*. *J Exp Med* 1993; 178: 509-19.
12. Steinman RM, Swanson J. The endocytic activity of dendritic cells. *J Exp Med* 1995; 182: 283-8.
13. Sallusto F, Cella M, Danieli C, Lanzavecchia A. Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: downregulation by cytokines and bacterial products. *J Exp Med* 1995; 182: 389-400.

**Jenny Valladeau
Sem Saeland**

Laboratoire de recherches immunologiques, Schering-Plough, 27, chemin des Peupliers, 69571 Dardilly, France.