

La molécule CD4 : un récepteur aux multiples interactions

La molécule CD4 est un marqueur d'une sous-population de lymphocytes T dont la reconnaissance antigénique est restreinte par les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). C'est une protéine membranaire monomorphe constituée de quatre domaines extracellulaires analogues à ceux des immunoglobulines, d'une région transmembranaire et d'un court domaine cytoplasmique ; elle interagit en *trans* avec les molécules de classe II du CMH pour stabiliser l'interaction récepteur T-antigène-CMH et est également capable de transmettre des signaux au lymphocyte T par l'intermédiaire de son association avec la tyrosine kinase p56^{lck} et/ou après interaction en *cis* avec le récepteur T. Finalement, outre ses nombreux rôles physiologiques, la molécule CD4 sert de principal récepteur cellulaire au virus HIV, l'agent étiologique du SIDA.

**Sylvain G. Fleury
Anne C. Zerbib
Daniel Lamarre
Sylvain Méloche
Rafick P. Sékaly**

ADRESSE

S. G. Fleury : étudiant en doctorat à l'université de Montréal, département microbiologie-immunologie. A. C. Zerbib : étudiant en doctorat, université de Toulouse, France. D. Lamarre : docteur ès sciences, directeur du laboratoire Biomega Inc. S. Méloche : docteur ès sciences. R. P. Sékaly : docteur ès sciences, professeur-chercheur à l'université de Montréal, département de microbiologie-immunologie, faculté de médecine. Laboratoire d'immunologie. Institut de recherches cliniques de Montréal, 110 ouest, avenue des Pins, Montréal, Québec, H2W 1R7, Canada.

Parmi les nombreuses molécules présentes à la surface des lymphocytes T (*figure 1*), il est possible de distinguer des protéines qui sont responsables de la reconnaissance spécifique de l'antigène (Ag), comme le CD3 désigne un complexe d'au moins quatre molécules différentes : récepteur T/complexe CD3 (RcT/CD3), et d'autres protéines (CD4, CD8, LFA-1) qui facilitent l'interaction entre les cellules effectrices et les cellules présentatrices d'antigène (CPA). La molécule CD4 est une glycoprotéine membranaire exprimée principalement à la surface des lymphocytes T auxiliaires dont le RcT reconnaît l'antigène présenté par les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibi-

lité (CMH). Les antigènes présentés par les molécules de classe I du CMH sont, quant à eux, reconnus par des lymphocytes T exprimant la protéine CD8 [1]. Les lymphocytes T auxiliaires sont ainsi répartis en sous-populations dites restreintes par les molécules de classe I ou II du CMH. Cette découverte a permis d'émettre l'hypothèse qu'après interaction du RcT avec le complexe Ag-CMH, les molécules CD4 ou CD8 interagiraient avec un déterminant non polymorphe de la molécule du CMH (c'est-à-dire une région conservée entre les molécules du CMH), afin de stabiliser le complexe RcT-Ag-CMH. D'autres expériences suggèrent par ailleurs que la protéine CD4 pourrait directement transmettre un signal à la cellule et/ou s'associer au complexe RcT/CD3 afin d'amplifier

le signal d'activation. La molécule CD4 joue également un rôle très important au cours de l'éducation thymique et de la sélection du répertoire du RcT. En outre, la molécule CD4, chez l'homme, représente le principal récepteur cellulaire pour le virus de l'immunodéficience humaine (HIV), lequel se lie à la molécule CD4 par l'intermédiaire de sa glycoprotéine 120 (gp120). Ce dernier aspect explique l'intérêt évident porté au rôle de la molécule CD4 dans la réponse immune, toute nouvelle information pouvant s'avérer précieuse dans la recherche d'un vaccin ou d'une thérapie contre le SIDA.

Structure de la molécule CD4

La molécule CD4 (figure 2, p. 28) est une glycoprotéine monomorphe (ce qui signifie que la protéine n'existe que sous une seule forme) d'un poids moléculaire de 55 000, constituée d'une partie extracellulaire de 370 acides aminés, d'une région transmembranaire de 25 acides aminés et d'un domaine intracytoplasmique comportant 38 acides aminés [2]. La comparaison des séquences en acides aminés dans la partie extracellulaire de la molécule CD4 de l'homme, du chimpanzé, de la souris et du rat (Tableau I, p. 29) montre qu'elles sont homologues à plus de 92 % entre l'homme et le chimpanzé, de 55 % entre l'homme et la souris et de près de 74 % entre le rat et la souris [2-5]. Le domaine cytoplasmique de la molécule est hautement conservé (> 78 %) chez ces différentes espèces animales, ce qui suggère que cette région de la protéine doit remplir une ou plusieurs fonctions importantes. Ainsi, la stimulation d'un lymphocyte T par un Ag ou par des esters de phorbols entraîne la phosphorylation des sérines en position 408, 415 et 431, et l'internalisation de la molécule. Cette internalisation est en partie dépendante de la phosphorylation du résidu 408 [6]. De plus, le domaine cytoplasmique possède un motif structural de quatre acides aminés conservé entre les molécules CD4 et CD8. Ce motif, qui est constitué des acides aminés Cys 420, Glu 421, Cys 422, Pro 423, est en partie res-

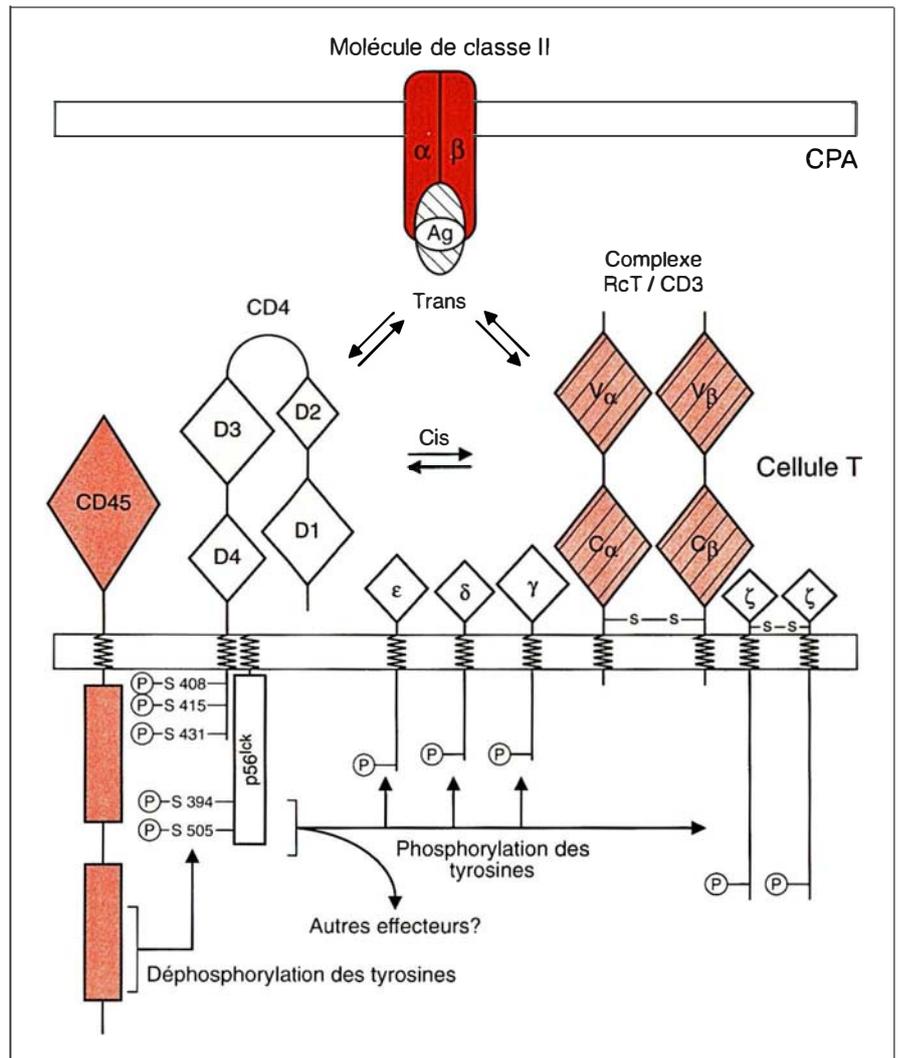


Figure 1. **Schéma des différentes molécules susceptibles d'interagir avec la molécule CD4 lors de la réponse immune.** Le complexe RcT/CD3 est une structure multi-moléculaire spécifique des cellules T. Le récepteur spécifique de l'antigène (RcT) est un hétérodimère constitué le plus souvent d'une chaîne α et d'une chaîne β , chacune constituée d'une partie variable (V) et d'une partie constante (C), reliées entre elles par un pont disulfure. A ce RcT sont associées, de façon non covalente, les cinq sous-unités du complexe CD3, appelées gamma (γ), delta (δ), epsilon (ϵ), zêta (ζ) et êta (η). La sous-unité zêta est généralement présente sous forme d'homodimères (ζ - ζ) dans 90 % des cas et d'hétérodimères (ζ - η) dans 10 % des cas. Lors de la réponse immune, la molécule CD4 interagit en trans avec les molécules de classe II du CMH pour stabiliser le lien entre le RcT et le complexe Ag-CMH de la CPA. La molécule CD4 peut également s'associer en cis au complexe RcT/CD3 afin d'amplifier le signal d'activation transmis à la cellule. Par ailleurs, la molécule CD4 peut participer activement à la transmission de signaux aux lymphocytes T par l'intermédiaire de son association avec la tyrosine kinase p56^{lck}. L'activité de cette tyrosine kinase est elle-même contrôlée par une phosphotyrosine phosphatase membranaire, la molécule CD45. CPA : cellule présentant l'antigène ; RcT : récepteur de l'antigène des lymphocytes T ; D1, D2, D3 et D4 : domaines de type immunoglobuline de CD4.

RÉFÉRENCES

- Swain SL. T cell subsets and the recognition of MHC class. *Immunol Rev* 1983 ; 74 : 129-42.
- Maddon PJ, Littman DR, Godfrey M, Maddon DE, Chess L, Axel R. The isolation and nucleotide sequence of a cDNA encoding the T cell surface protein T4 : a new member of the immunoglobulin gene family. *Cell* 1985 ; 42 : 93-104.
- Camerini D, Seed B. A CD4 domain important for HIV-mediated syncytium formation lies outside the virus binding site. *Cell* 1990 ; 60 : 747-54.
- Littman DR, Gettner SN. Unusual intron in the immunoglobulin domain of the newly isolated murine CD4 (L3T4) gene. *Nature* 1987 ; 325 : 453-5.
- Clark SJ, Jefferies WA, Barclay AN, Gagnon J, Williams AF. Peptide and nucleotide sequences of rat CD4 (W3/25) antigen ; evidence for derivation from a structure with four immunoglobulin-related domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 1649-53.
- Shin J, Doyle C, Yang Z, Kappes D, Strominger J. Structural features of the cytoplasmic region of CD4 required for internalization. *EMBO J* 1990 ; 9 : 425-34.
- Turner JM, Brodsky MH, Irving BA, Levin SD, Perlmutter RM, Littman DR. Interaction of the unique N-terminal region of tyrosine kinase p56^{lck} with cytoplasmic domains of CD4 and CD8 is mediated by cysteine motifs. *Cell* 1990 ; 60 : 755-65.
- Fagard R, Danielian S. Rôle des tyrosine protéine kinases dans l'activation des lymphocytes T. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 554-60.
- Maddon PJ, Molineaux SM, Maddon DE, *et al.* Structure and expression of the human and mouse T4 genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 9155-9.
- Gorman SD, Tourvicille B, Parnes JR. Structure of the mouse gene encoding CD4 and an unusual transcript in brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 7644-8.
- Williams AF, Barclay AN. The immunoglobulin superfamily-domains for cell surface recognition. *Ann Rev Immunol* 1988 ; 6 : 381-405.
- Wang J, Yan Y, Garrett TPS, *et al.* Atomic structure of a fragment of human CD4 containing two immunoglobulin-like domains. *Nature* 1990 ; 348 : 411-8.
- Ryu SE, Kwong PD, Truneh A, *et al.* Crystal structure of an HIV-binding recombinant fragment of human CD4. *Nature* 1990 ; 348 : 419-26.

ponsable de l'association entre la molécule CD4 et la région N-terminale de la tyrosine kinase p56^{lck} [7, 8]. Le gène qui code pour la molécule CD4 humaine est situé sur le chro-

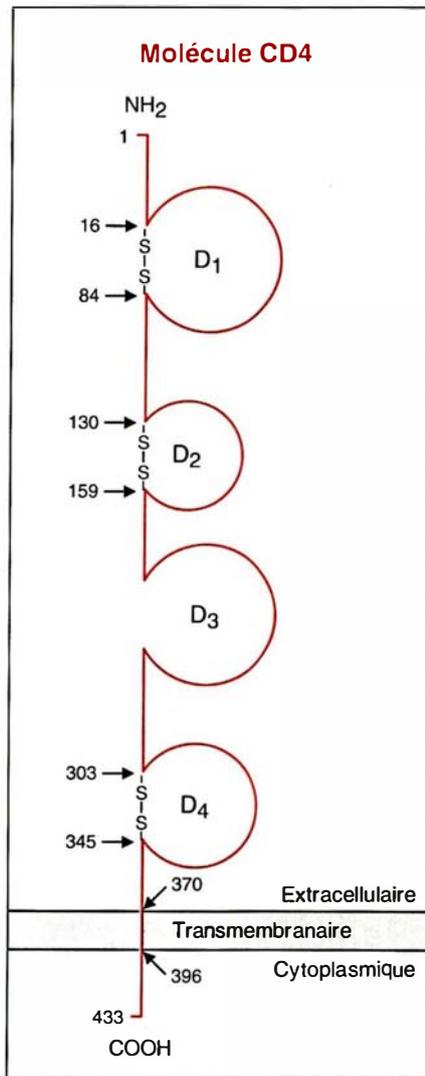


Figure 2. **Structure de la molécule CD4.** La molécule CD4 est une glycoprotéine monomorphe de 55 kDa qui fait partie de la super-famille des immunoglobulines. Elle est constituée de quatre domaines extracellulaires, analogues à ceux des immunoglobulines, que l'on nomme D1, D2, D3 et D4, d'une région transmembranaire et d'un domaine cytoplasmique. Les domaines D1, D2 et D4 possèdent des ponts disulfures formés entre deux cystéines.

mosome 12 ; il est composé de neuf exons séparés par huit introns qui s'étendent sur une distance de 33 kb [9]. Le gène murin correspondant (L3T4) est localisé sur le chromosome 6 et comporte dix exons situés à l'intérieur d'une région de 26 kb [10]. La protéine CD4 est exprimée principalement par une sous-population de lymphocytes T, mais également, à un niveau moindre, par des cellules de la lignée monocyttaire telles que les macrophages ou les monocytes, les granulocytes, les cellules dendritiques, les cellules microgliales et les progéniteurs des cellules myéloïdes.

La partie extracellulaire de la molécule CD4 est organisée en quatre domaines distincts (D1 à D4) qui présentent chacun une homologie avec ceux des immunoglobulines (Ig) [11]. La structure tridimensionnelle des deux premiers domaines (figure 3) a été récemment élucidée par cristallographie [12, 13]. L'analyse des cristaux montre que la conformation du premier domaine de la molécule CD4 est analogue au domaine variable des immunoglobulines. Toutefois, par analogie avec les Ig, la deuxième région hypervariable (CDR2) de CD4 comporte plus de résidus que le CDR2 des Ig tandis que la boucle de la troisième région hypervariable (CDR3) est plus courte dans CD4 que dans son équivalent sur les Ig. Quant au deuxième domaine, il présente des analogies avec la région constante des immunoglobulines. Contrairement aux Ig, le pont disulfure de D2 de la molécule CD4 est situé entre deux feuillettes parallèles, les feuillettes B et C. De plus, D1 et D2 partagent un feuillet β , ce qui confère une grande rigidité à cette structure.

Ligand de la molécule CD4

Le rôle de la molécule CD4 dans la phase effectrice de la réponse immune a surtout été étudié dans des hybridomes T murins à l'aide de techniques de transfert de gènes. Ainsi, des études fonctionnelles ont montré que l'introduction de l'ADNc de la molécule CD4 dans des hybridomes T CD4⁻, restreints par les molécules de classe II du CMH, augmentait de 6

à 20 fois la production d'interleukine 2 (IL-2) par ces cellules en réponse à un Ag spécifique [14]. Ces travaux démontrent bien l'importance de la molécule CD4 lors de la reconnaissance de l'Ag par le RcT. Cependant, la démonstration la plus claire d'une interaction entre la molécule CD4⁺ et les molécules de classe II du CMH a été obtenue dans un modèle d'hybridome T murin dont le RcT est spécifique d'une molécule de classe I du CMH murin (D^d). En effet, la réponse de cet hybridome T est fortement augmentée lorsque la molécule CD4 humaine est exprimée à la surface de la cellule effectrice et les molécules de classe II humaines à la surface des cellules cibles [15]. La spécificité de l'interaction CD4-CMH a été confirmée par les travaux de Doyle et Strominger [16] qui ont réussi à mettre en évidence une interaction physique directe entre des cellules CD4⁺ et des cellules exprimant des molécules de classe II du CMH. Des travaux récents ont, par ailleurs, démontré l'existence d'une hiérarchie dans la capacité de la molécule CD4 d'interagir avec les différents isotypes des molécules de classe II du CMH (Fleury *et al.*, en préparation).

L'analyse des relations structure-fonction de la molécule CD4 suggère qu'au moins les deux premiers domaines de cette dernière sont impliqués dans l'interaction avec les molécules de classe II du CMH. En effet, des études d'inhibition réalisées avec une série d'anticorps monoclonaux dirigés contre la molécule CD4 ont montré que les anticorps OKT4A, OKT4B et Leu3a, qui reconnaissent des épitopes distincts sur la molécule CD4, dans les domaines D1 et D2, peuvent inhiber très efficacement l'interaction de CD4 avec son ligand [17]. Toutefois, c'est à l'aide de la mutagenèse dirigée que l'on a pu déterminer avec plus de précision les résidus et les régions de la molécule impliqués dans l'interaction avec les molécules de classe II du CMH. Ainsi, les travaux de Clayton *et al.* [18] et de Lamarre *et al.* [19] ont montré que des mutations localisées dans les trois premiers domaines de la molécule sont capables d'abolir l'interaction entre les cellules CD4⁺ et les cellules exprimant les molécules de classe II. Des travaux récents

Tableau I				
COMPARAISON DE LA STRUCTURE DE LA MOLÉCULE CD4 CHEZ DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES				
Molécule CD4	Position des cystéines	Position des résidus glycosylés (asparagines)	Homologie avec la molécule CD4H	
Homme	D1: 16- 84 D2: 130-159 D4: 303-345	D3: 271 D4: 300	-	
Rhésus	D1: 16- 84 D2: 130-159 D4: 303-345	D3: 271 D4: 300	Ext: 89 % TM: 95 % Cyt: 100 %	
Chimpanzé	D1: 16- 84 D2: 130-159 D4: 303-345	D3: 271 D4: 300	Ext: 96 % TM: 100 % Cyt: 97 %	
Souris (L3T4)	D1: 16- 86 D2: 133-162 D4: 302-344	D2: 161 D3: 272 D3: 297 D4: 366	Ext: 54 % TM: 52 % Cyt: 80 %	
Rat (W3/25)	D1: 16- 84 D2: 131-160 D4: 301-343	D2: 159 D3: 270 D4: 365	Ext: 51 % TM: 47 % Cyt: 78 %	

La position des ponts disulfures entre les cystéines est donnée pour chaque domaine (D1, D2 et D4). Le pourcentage d'homologie entre la portion extracellulaire (Ext), transmembranaire (TM) et cytoplasmique (Cyt) de la molécule CD4 humaine (H) et des autres espèces animales est déterminé par comparaison des séquences en acides aminés.

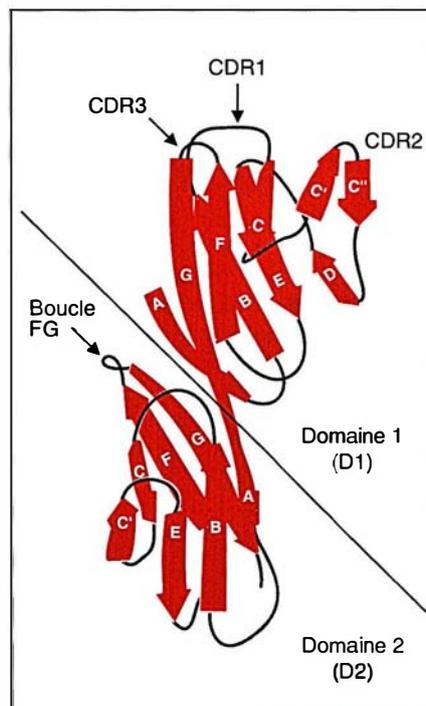


Figure 3. **Schéma cristallographique des deux domaines aminoterminaux de la molécule CD4.** Les domaines D1 et D2 de la molécule CD4 sont étroitement associés et sont formés de feuillets β qui adoptent une conformation similaire à celle des immunoglobulines. Le premier domaine (D1) est composé de neuf feuillets β et comprend les acides aminés 1 à 98. Le deuxième domaine (D2) est constitué de sept feuillets β et n'est constitué que de 75 acides aminés, soit les résidus 99 à 173. La dimension des deux domaines aminoterminaux de la molécule CD4 serait approximativement $25 \times 25 \times 60 \text{ \AA}$. La gp120 du HIV se lie à la région CDR2 (a.a. 40-53) de D1 alors que les antigènes de classe II du CMH semblent interagir avec les régions CDR1 (a.a. 19-24) et CDR3 (a.a. 87-89) de D1 et la boucle FG (a.a. 163-165) de D2. Il est possible que d'autres résidus exposés de la molécule CD4 situés sur la même face soient impliqués dans l'interaction avec les molécules de classe II.

RÉFÉRENCES

14. Sleckman BP, Peterson A, Jones WK, *et al.* Expression and function of CD4 in a murine T-cell hybridoma. *Nature* 1987 ; 328 : 351-3.
15. Gay D, Maddon P, Sekaly R, *et al.* Functional interaction between human T-cell protein CD4 and the major histocompatibility complex HLA-DR antigen. *Nature* 1987 ; 328 : 626-9.
16. Doyle C, Strominger JL. Interaction between CD4 and class II MHC molecules mediates cell adhesion. *Nature* 1987 ; 330 : 256-9.
17. Lamarre D, Capon DJ, Karp DR, Gregory T, Long E, Sekaly RP. Class II MHC molecules and the HIV gp120 envelope protein interact with functionally distinct regions of the CD4 molecule. *EMBO J* 1989 ; 8 : 3271-7.
18. Clayton LK, Sieh M, Pious DA, Reinherz EL. Identification of human CD4 residues affecting class II MHC versus HIV-1 gp120 binding. *Nature* 1989 ; 339 : 548-51.
19. Lamarre D, Ashkenazi A, Fleury S, Smith DH, Sekaly RP, Capon DJ. The MHC-binding and gp120-binding functions of CD4 are separable. *Science* 1989 ; 245 : 743-6.
20. Fleury S, Lamarre D, Meloche S, *et al.* Mutational analysis of the cellular interaction between CD4 and class II MHC molecules : Class II antigens contact CD4 on a surface opposite to the gp120 binding site. *Cell* 1991 ; 66 : 1037-49.
21. Rojo JM, Saizawa K, Janeway CA Jr. Physical association of CD4 and the T-cell receptor can be induced by anti-T-cell receptor antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 3311-5.
22. Andersen P, Blue ML, Schlossman SF. Comodulation of CD3 and CD4. Evidence for a specific association between CD4 and approximately 5 % of the CD3 : T-cell receptor complexes on helper T lymphocytes. *J Immunol* 1988 ; 140 : 1732-7.
23. Kupfer A, Singer SJ, Janeway CA Jr, Swain SL. Co-clustering of CD4 (L3T4) molecule with the T-cell receptor is induced by specific direct interaction of helper T cells and antigen-presenting cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 5888-92.
24. Mittler RS, Goldman SJ, Spitalny GL, Burakoff SJ. T-cell receptor-CD4 physical association in a murine T-cell hybridoma : induction by antigen receptor ligation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 8531-5.
25. Gallagher PF, Fazekas de St. Groth B, Miller JFAP. CD4 and CD8 molecules can physically associate with the same T-cell receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 10044-8.

de notre groupe [20], portant sur la mutagenèse de la molécule CD4, indiquent que les boucles du CDR1 (a.a. 19-24) et CDR3 (a.a. 87-89) du premier domaine ainsi que la boucle FG (a.a. 163-165) du deuxième domaine seraient impliquées dans l'interaction avec les molécules de classe II du CMH (figure 3). Selon le cristal de la molécule CD4 [12, 13], ces trois boucles possèdent des acides aminés dont les chaînes latérales sont exposées aux solvants. Ces boucles sont donc susceptibles d'interagir avec les molécules de classe II du CMH. La localisation spatiale de ces trois boucles sur le cristal de la molécule CD4 montre qu'elles sont situées pratiquement dans un même plan. De plus, nos travaux ont montré que la délétion d'une partie de la boucle du CDR2 du premier domaine de la molécule CD4, allant des acides aminés 43 à 49, n'affecte pas l'interaction avec les molécules de classe II du CMH.

Interaction CD4-RcT

Des études récentes suggèrent qu'outre son interaction avec les molécules de classe II du CMH, la molécule CD4 pourrait interagir physiquement avec le RcT à la surface des cellules T (figures 1 et 4). Des expériences de modulation (c'est-à-dire d'internalisation des molécules de surface cellulaire) et de *capping* (c'est-à-dire de regroupement des molécules à un pôle de la cellule) ont montré que certains anticorps monoclonaux (AcM) dirigés contre le RcT ou le CD3 induisent une co-modulation et un *co-capping* du complexe RcT/CD3 et de la molécule CD4 [21]. Une analyse comparative des différents anticorps monoclonaux (AcM) spécifiques du RcT a révélé que, indépendamment de leur affinité pour le RcT, les anticorps capables d'induire la co-modulation et le *co-capping* du RcT et de la molécule CD4 sont 30 à 100 fois plus puissants pour activer les lymphocytes T que ceux qui sont incapables d'induire de tels phénomènes. Ces résultats ont permis d'avancer l'hypothèse que les anticorps réagissant contre le RcT et capables de stimuler fortement les cellules T provoqueraient l'association et la co-modulation du complexe

RcT/CD3 avec la molécule CD4 ; plusieurs groupes ont démontré, par des expériences de co-modulation, que 5 à 10 % des RcT de lymphocytes T au repos sont associés à des molécules CD4 [22], ce qui suggère que ces RcT sont les plus susceptibles de reconnaître un antigène.

L'association de la molécule CD4 avec le complexe RcT/CD3 a également été visualisée par immunofluorescence à la surface cellulaire. Ainsi, Kupfer *et al.* [23] ont démontré que l'interaction entre les lymphocytes T CD4⁺ et les CPA exprimant des molécules de classe II du CMH entraîne une redistribution du RcT et de la molécule CD4 au niveau de la zone de contact entre les deux cellules. Ce *co-capping* de la molécule CD4 avec le RcT est observé seulement lorsque l'antigène spécifique est présenté dans le contexte de restriction approprié d'une molécule de classe II. Par ailleurs, l'association physique de la molécule CD4 avec le complexe RcT/CD3 a été démontrée par des expériences de transfert de fluorescence en cytofluorométrie de flux [24]. En revanche, ce phénomène n'a pu être observé avec une forme tronquée de la molécule CD4, dépourvue de la majeure partie de son domaine cytoplasmique, ce qui suggère que l'association physique entre CD4 et le complexe RcT/CD3 pourrait impliquer la région cytoplasmique de la molécule CD4 [24]. De plus, Gallagher *et al.* [25] ont réussi à co-purifier une fraction des molécules de RcT avec la protéine CD4 par chromatographie d'affinité.

Fonction de signalisation

De nombreuses observations indiquent que la molécule CD4 intervient directement dans la transmission de signaux aux lymphocytes T. Les premières indications d'une telle fonction proviennent d'études qui ont montré que des AcM dirigés contre la molécule CD4 inhibaient l'activation des cellules T induite par une lectine mitogénique ou un AcM dirigé contre la molécule CD3. Cette inhibition de la réponse à un mitogène était observée en l'absence de cellules accessoires exprimant des molécules de classe II du CMH. D'autres expé-

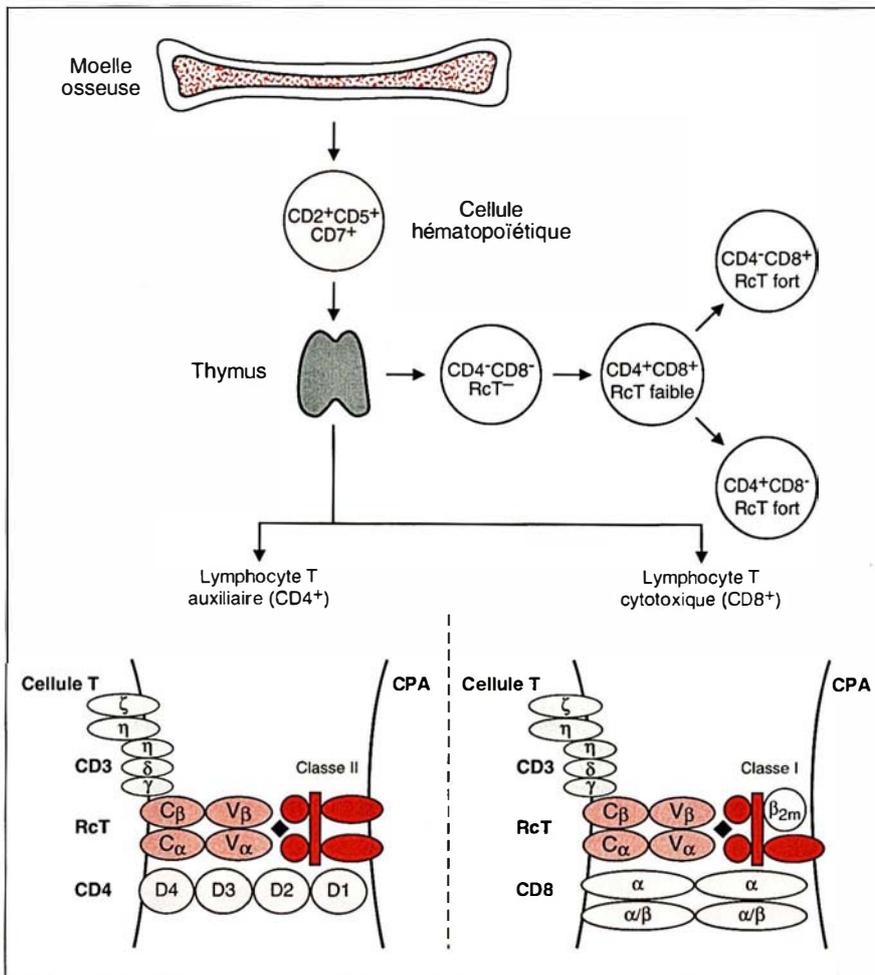


Figure 4. **Développement des lymphocytes T dans le thymus.** Des cellules hématopoïétiques (CD2⁺, CD5⁺, CD7⁺) provenant de la moelle osseuse migrent vers le thymus. La maturation intrathymique des thymocytes est caractérisée par l'apparition des molécules CD4, CD8 suivie du RcT. La présence de la molécule CD4 ou CD8 et l'expression à la surface cellulaire de haut niveau du complexe RcT/CD3 caractérise le dernier stade du développement. A la sortie du thymus, les lymphocytes T auxiliaires (CD4⁺), reconnaîtront un peptide antigénique (■) dans le contexte des molécules de classe II du CMH. Ce peptide provient généralement d'un antigène qui est internalisé et dégradé en petits peptides par la cellule présentatrice d'antigène (CPA). Les peptides s'associent par la suite aux molécules de classe II afin d'être présentés au RcT, lequel reconnaît l'antigène par sa partie variable V_α et V_β. Les lymphocytes T cytotoxiques (CD8⁺), reconnaissent l'antigène dans le contexte des molécules de classe I du CMH. Cet antigène provient généralement de la synthèse de novo des protéines qui a lieu dans la cellule. Contrairement à la molécule CD4, la molécule CD8 existe sous forme d'homodimère alpha-alpha (α-α) ou d'hétérodimère alpha-bêta (α-β). Il semblerait que seule la chaîne α de CD8 soit impliquée dans l'interaction avec le domaine α₃ des molécules de classe I du CMH.

riences ont également montré que des AcM dirigés contre la molécule CD4 et la glycoprotéine de l'enveloppe virale (gp120) du HIV pouvaient inhiber l'augmentation du calcium induite lors de l'activation par un mitogène ou par un anticorps dirigés contre le RcT [26, 27]. Le mécanisme exact par lequel la signalisation négative de la molécule CD4 s'effectue demeure un sujet encore controversé. L'inhibition de l'activation des cellules T pourrait résulter de la dissociation de la molécule CD4 et du complexe RcT/CD3 qui suit la fixation de l'anti-CD4 ou de la gp120. La molécule CD4 pourrait aussi transmettre, par elle-même, un signal négatif à la cellule, qui aurait pour effet d'inhiber la signalisation *via* le complexe RcT/CD3.

C'est aussi un signal positif que CD4 peut probablement transmettre aux cellules T dans les phénomènes d'activation lorsqu'elle est étroitement associée au complexe RcT/CD3. Ainsi, plusieurs études ont montré que le récepteur CD4 peut avoir un effet synergique avec le complexe RcT/CD3 lorsque ces molécules sont réticulées par des AcM au cours de la stimulation [28]. De plus, Kornfeld *et al.* [29] ont observé qu'une préparation de gp120 partiellement purifiée était capable d'induire une augmentation du niveau intracellulaire d'inositol trisphosphate (IP₃) et de Ca²⁺ dans les cellules au repos. L'hypothèse que la molécule CD4 puisse transmettre un signal aux cellules T a été fortement consolidée par la découverte de l'association de la molécule CD4 à la tyrosine kinase p56^{lck} (figure 1), un membre de la famille des oncogènes de type *src* [8, 30]. L'activation de cette tyrosine kinase constituerait un événement clef dans le mécanisme de signalisation de la molécule CD4. Les premières données expérimentales à l'appui de ce modèle proviennent d'expériences qui montrent que la réticulation de la molécule CD4 par un AcM contre la molécule CD4 augmente l'activité de la protéine kinase p56^{lck} et stimule la phosphorylation de la sous-unité ζ du complexe RcT/CD3 [8, 30]. Par ailleurs, des travaux récents indiquent que l'activité de la protéine kinase p56^{lck} est contrôlée par la molécule CD45 (figure 1), une phosphotyrosine

RÉFÉRENCES

26. Rosoff PM, Burakoff SJ, Greenstein JL. The role of the L3T4 molecule in mitogen and antigen-activated signal transduction. *Cell* 1987 ; 49 : 845-53.
27. Mittler RS, Hoffmann MK. Synergism between HIV gp120 and gp120-specific antibody in blocking human T-cell activation. *Science* 1989 ; 245 : 1380-2.
28. Anderson P, Blue ML, Morimoto C, Schlossman SF. Cross-linking of T3 (CD3) with T4 (CD4) enhances the proliferation of resting T lymphocytes. *J Immunol* 1987 ; 139 : 678-82.
29. Kornfeld H, Cruikshank WW, Pyle SW, Berman JS, Center DM. Lymphocyte activation by HIV-1 envelope glycoprotein. *Nature* 1988 ; 335 : 445-8.
30. Veillette A, Abraham N, Caron L, Davidson D. The lymphocyte-specific tyrosine protein kinase p56^{lck}. *Sem Immunol* 1991 ; 3 : 143-52.
31. Fowlkes BJ, Pardoll DM. Molecular and cellular events of T-cell development. *Adv Immunol* 1989 ; 44 : 207-61.
32. Malissen M, Malissen B. Réarrangements somatiques des gènes du récepteur des lymphocytes T. *médecine/sciences* 1986 ; 2 : 304-11.
33. Lefranc MP. Organisation, réarrangement et diversité des gènes TCR gamma des lymphocytes T humains. *médecine/sciences* 1987 ; 3 : 150-6.
34. Blackman M, Kappler J, Marrack P. The role of T-cell receptor in positive and negative selection of developing T cells. *Science* 1990 ; 248 : 1335-41.
35. Klatzmann D, Barre-Sinoussi F, Nugeyre MT, et al. Selective tropism of lymphadenopathy associated virus (LAV) for helper-inducer T lymphocytes. *Science* 1984 ; 225 : 59-63.
36. McDougal JJ, Kennedy MS, Sligh JM, Cort SP, Mawle A, Nicholson JKA. Binding of HTLV-III/LAV to T4⁺ cells by a complex of the 110K viral protein and the T4 molecule. *Science* 1986 ; 231 : 382-5.
37. Maddon PJ, Dalgleish AG, McDougal JC, Clapham PR, Weiss RA, Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell* 1986 ; 47 : 333-48.
38. Peterson A, Seed B. Genetic analysis of monoclonal antibody and HIV binding sites on the human lymphocyte antigen CD4. *Cell* 1988 ; 54 : 65-72.

phosphatase qui augmente l'activité de la tyrosine kinase p56^{lck} en déphosphorylant la tyrosine 505. Les molécules CD4, p56^{lck} et CD45 constituent un réseau de protéines capables d'influencer l'activation des cellules T par la phosphorylation de résidus tyrosine des sous-unités du complexe RcT/CD3 et d'autres substrats cellulaires encore inconnus [8, 30].

Rôle dans le répertoire du RcT

La maturation d'un thymocyte en lymphocyte T, dans le thymus, est caractérisée par l'apparition successive de plusieurs marqueurs de surface, dont les molécules CD4 et CD8. Après leur entrée dans le thymus, les cellules hématopoïétiques provenant de la moelle osseuse expriment à leur surface des antigènes spécifiques de la lignée T : CD7, CD5 et CD2. A ce stade, ces précurseurs (CD4 - CD8 - RcT -) acquièrent à leur surface les marqueurs CD8 puis CD4 pour engendrer les thymocytes CD4 + CD8 + RcT - (figure 4). Ces thymocytes exprimeront ensuite à leur surface un faible niveau de RcT (CD4 + CD8 + RcT faible) avant de se différencier en thymocytes qui n'expriment à leur surface que la molécule CD4 (CD4 + CD8 - RcT forte) ou la molécule CD8 (CD4 - CD8 + RcT forte) et un haut niveau d'expression du récepteur T. Ces cellules CD4⁺ ou CD8⁺ sont dites alors immunocompétentes ; elles émigrent du thymus vers les organes lymphoïdes périphériques comme les ganglions, la rate et les plaques de Peyer [31].

La spécificité d'un RcT pour un antigène est le résultat de réarrangements chromosomiques aléatoires entre les régions variables (V), de diversités (D) et de jonctions (J) de la chaîne β , suivis de réarrangements des régions V-J de la chaîne α du RcT. Chaque combinaison V_{β} - D_{β} - J_{β} et V_{α} - J_{α} , plus l'addition de nucléotides provenant de la région de diversité N, représente un RcT ayant une spécificité antigénique particulière [32, 33]. Plus de 10^{15} RcT différents peuvent être ainsi engendrés dans le thymus par ce mécanisme de réarrangements chromosomiques, d'où le nom de

répertoire du RcT. Cependant, ces RcT ne sont pas tous exprimés à la surface des lymphocytes T chez un animal. Au cours de la différenciation phénotypique dans le thymus, décrite ci-dessus, les thymocytes sont également soumis à deux types de sélection [34]. La sélection positive permet aux thymocytes dont le RcT a une certaine affinité pour les molécules du CMH d'être conservés. La sélection négative consiste en l'élimination des thymocytes dont le RcT reconnaît avec une trop grande affinité les antigènes du CMH ou les antigènes du soi (les RcT autoréactifs sont éliminés) (*m/s, suppl. au n° 1, vol. 5, p. 25 et n° 10, vol. 5, p. 788*). De nombreux résultats suggèrent que cette délétion a lieu au stade CD4 + CD8 + RcT faible et montrent l'importance des molécules CD4 et CD8 dans la sélection du répertoire du RcT. Ainsi le rôle de la molécule CD4, lors de la sélection positive, a été démontré par l'utilisation de souris transgéniques exprimant le transgène codant pour un RcT provenant d'un lymphocyte T CD4⁺, ayant une spécificité antigénique restreinte par les molécules de classe II du CMH [33]. Le rapport des lymphocytes CD4/CD8 exprimant le RcT du transgène montre que le développement des cellules CD4⁺ est fortement favorisé puisque toutes les cellules exprimant le RcT α/β du transgène sont CD4⁺. Il apparaît donc que le phénotype CD4⁺ des lymphocytes T mûrs est déterminé par la spécificité du RcT pour les molécules de classe II du CMH, indiquant qu'à cette étape le RcT et la molécule CD4 sont requis pour la sélection positive.

L'utilisation de souris exprimant des antigènes de classe II (I-E) a permis d'étudier l'implication de la molécule CD4 dans la sélection négative. Normalement, tous les RcT ayant une $V_{\beta 17a}$ (partie variable de la chaîne β du RcT) sont éliminés dans le contexte I-E. Lors de la sélection négative, le RcT exprimé à la surface des lymphocytes CD4 + CD8 + RcT faible interagit avec son ligand conjointement avec les molécules CD4 ou CD8. Si l'interaction de CD4 avec son ligand (molécule de classe II) est inhibée par l'injection *in vivo* d'anticorps spécifiques de la molécule CD4,

la maturation des cellules CD4⁺ est alors bloquée (puisqu'elles ne peuvent plus être sélectionnées positivement ou négativement) tandis que le développement des cellules CD8⁺ a lieu normalement [34]. Ces cellules CD8⁺ exprimant un récepteur T, qui serait autoréactif s'il était exprimé à la surface d'un lymphocyte CD4⁺, ne sont pas éliminées et apparaissent en périphérie (CD8⁺V_{β17a}). Ces observations suggèrent que la molécule CD4 joue un rôle déterminant dans la sélection — négative et positive — du répertoire du récepteur T.

CD4, récepteur du HIV

La molécule CD4 sert également de récepteur cellulaire au virus HIV. Les premières données suggérant l'implication de la molécule CD4 comme récepteur cellulaire du HIV ont été obtenues à la suite d'expériences *in vitro* qui ont montré que des AcM dirigés contre la molécule CD4 humaine (OKT4A et Leu3a) pouvaient bloquer l'infection de cellules CD4⁺ par le HIV ou bloquer la formation de *syncytia* [35]. L'interaction physique entre le virus et la molécule CD4 a été clairement démontrée par les travaux de McDougal *et al.* [36] qui ont réussi à immunoprécipiter un complexe formé de la glycoprotéine de l'enveloppe virale (gp120) et d'une protéine de 58 kDa identifiée comme étant la molécule CD4.

La preuve définitive que la molécule CD4 sert de récepteur cellulaire au HIV a été obtenue suite aux travaux de Maddon *et al.* [37] qui ont introduit le gène de la molécule CD4 dans des cellules non lymphoïdes ou dans des lymphocytes B. Ainsi, des cellules humaines CD4⁻, réfractaires à l'infection par le HIV, acquièrent la capacité de lier le virus et deviennent permissives à l'infection lorsque la molécule CD4 est exprimée à leur surface. En revanche, l'expression de la molécule CD4 à la surface de cellules murines n'est pas suffisante pour les rendre susceptibles à l'infection par le HIV, bien qu'elles deviennent capables de lier le virus par sa gp120. De ces expériences, il ressort que le HIV a probablement besoin d'une composante cellulaire supplémentaire afin de pénétrer dans les

cellules CD4⁺ et que cette dernière est absente de la surface des cellules murines.

La région de la molécule CD4 reconnue par le HIV est-elle la même que celle reconnue par les molécules de classe II du CMH ? La réponse à cette question pourrait mener à la mise au point de substances antivirales capables de contrôler ou d'enrayer la progression du SIDA. Pour résoudre ce problème, de nombreuses équipes ont introduit des mutations dans la molécule CD4 afin d'identifier les résidus impliqués dans la liaison du HIV. Les résultats obtenus ont démontré que la liaison de la gp120 a lieu uniquement avec le premier domaine (D1) de la molécule CD4 et, plus précisément, avec la seconde région hypervariable (CDR2) de D1 (*figure 3*) [38]. Comme nous l'avons mentionné précédemment, la boucle du CDR2 du premier domaine de la molécule CD4 ne semble pas jouer de rôle dans l'interaction avec les molécules de classe II du CMH. Par ailleurs, Camerini et Seed [3] ont rapporté l'existence d'une deuxième région de la molécule CD4 qui serait importante pour la pathogénie du SIDA. Cette région serait associée à la formation des cellules géantes multi-nucléées (*syncytia*). Elle correspond, par analogie avec les immunoglobulines, à la troisième région hypervariable du domaine D1. Ainsi, la molécule CD4 comporterait un site d'attachement primaire du HIV localisé approximativement entre les acides aminés 42 à 49 (CDR2) et un site impliqué dans la fusion cellulaire correspondant aux résidus 86 à 89 (CDR3).

La mise au point d'un vaccin ou d'un médicament contre le SIDA passe avant tout par une meilleure compréhension des mécanismes conduisant à l'infection et à la réplication du HIV dans les cellules T. On sait que le HIV infecte préférentiellement les cellules exprimant à leur surface la protéine CD4. Le virus se lie à la molécule CD4 par la gp120, puis pénètre à l'intérieur de la cellule par fusion de la membrane lipidique virale à celle de la cellule hôte. Le HIV et les molécules de classe II du CMH interagissent avec des sites différents sur la molécule CD4. Il serait par conséquent intéressant d'exploiter

cette différence fondamentale pour la mise au point de substances antivirales qui bloquent l'interaction de CD4 avec le virus, mais non avec les molécules de classe II ■

Summary

The CD4 molecule a receptor with multiple interactions

The CD4 molecule is a monomeric glycoprotein of 55 kDa expressed on a subset of T lymphocytes which recognizes their specific antigen when presented by MHC class II molecules. The CD4 molecule plays an important role in the immune response to foreign antigen (Ag) and in thymic selection of the TcR repertoire. It interacts with class II MHC molecules on APCs to stabilize the specific interaction of the TcR with the Ag-MHC complex. It appears that the CD4 molecules not only have an adhesion function but, most importantly, will transduce signals to the T cells through their intracellular association in the cytoplasm with the tyrosine kinase p56^{lck} and/or its association with the CD3/TcR complex. The CD4 molecule is the major receptor of the Human Immunodeficiency Virus (HIV), the etiologic agent of AIDS. Site-directed mutagenesis and DNA-mediated gene transfer have shown that the site of interaction of HIV and class II MHC molecules with the CD4 molecule can be spatially dissociated. A better understanding of the role of CD4 will help elucidate the mechanisms which lead to the T-cell anergy observed in HIV infected patients.

TIRÉS A PART

S. G. Fleury.