

Dans le modèle murin de cette pathologie (*Hbb<sup>th3/th3</sup>*), le taux d'ARN messager d'*Erfe* est très significativement augmenté dans la moelle osseuse et la rate. De façon intéressante, l'inactivation du gène *Erfe* chez les souris thalassémiques *Hbb<sup>th3/th3</sup>* conduit au rétablissement du niveau physiologique d'hepcidine et à une diminution significative de la sidérémie et de la surcharge en fer dans le foie. ERFE pourrait donc également agir comme répresseur de l'hepcidine dans certaines pathologies humaines. Une étude plus approfondie chez les patients atteints de bêta-thalassémie ou d'autres formes d'anémie héréditaire est désormais nécessaire afin de confirmer que l'érythroferrone est le régulateur érythroïde responsable de la diminution de l'hepcidine et de la surcharge martiale chez ces patients.

### Perspectives

Nos travaux ont mis en évidence le rôle fondamental de l'érythroferrone, un nouveau facteur érythroïde, dans la

régulation physiopathologique de l'hepcidine lors d'une érythropoïèse accrue. Notre équipe développe actuellement une méthode de dosage de l'érythroferrone afin d'étudier son rôle chez l'homme. Enfin, nos travaux montrent qu'ERFE est une nouvelle cible thérapeutique. En l'inhibant, on pourrait augmenter la production d'hepcidine chez les patients atteints d'anémie héréditaire avec surcharge en fer. Au contraire, en l'administrant à des patients présentant une anémie associée à une maladie inflammatoire, une affection rénale chronique ou un cancer, on pourrait corriger le déficit en fer lié à un excès d'hepcidine. ♦

### Erythroferrone, an erythroid regulator of iron metabolism

### REMERCIEMENTS

Aux Docteurs Tomas Ganz et Elizabeta Nemeth pour leur mentorat ; aux Docteurs Anaïs Briot, Hélène Coppin, Marie-Paule Roth et Bertrand Grenier pour leur aide dans la préparation de ce manuscrit.

### LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

### RÉFÉRENCES

1. Ganz T, Nemeth E. Heparin and disorders of iron metabolism. *Annu Rev Med* 2011 ; 62 : 347-60.
2. Qiao B, Sugianto P, Fung E, et al. Heparin-induced endocytosis of ferroportin is dependent on ferroportin ubiquitination. *Cell Metab* 2012 ; 15 : 918-24.
3. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood* 1994 ; 84 : 1697-702.
4. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, et al. Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica* 2010 ; 95 : 505-8.
5. Mastrogriannaki M, Matak P, Mathieu JRR, et al. Hepatic hypoxia-inducible factor-2 down-regulates hepcidin expression in mice through an erythropoietin-mediated increase in erythropoiesis. *Haematologica* 2012 ; 97 : 827-34.
6. Pak M, Lopez MA, Gabayan V, et al. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006 ; 108 : 3730-5.
7. Vokurka M, Krijt J, Sulc K, Necas E. Heparin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis. *Physiol Res* 2006 ; 55 : 667-74.
8. Origa R, Galanella R, Ganz T, et al. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica* 2007 ; 92 : 583-8.
9. Kautz L, Nemeth E. Molecular liaisons between erythropoiesis and iron metabolism. *Blood* 2014 ; 124 : 479-82.
10. Kautz L, Jung G, Valore EV, et al. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet* 2014 ; 46 : 678-84.

## NOUVELLE

### Coupe le cordon, vole de tes propres ailes !

Erwan Mortier<sup>1</sup>, Fella Tamzalit<sup>1</sup>, Yannick Jacques<sup>1</sup>, Sébastien Morisseau<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centre de recherche en cancérologie, Inserm UMR 892, CNRS 6299, université de Nantes, 8, quai Moncoussu, BP70721, F-44007, Nantes, France ;

<sup>2</sup> centre hospitalier universitaire, F-44093, Nantes, France. [erwan.mortier@inserm.fr](mailto:erwan.mortier@inserm.fr)

### L'interleukine IL-15, une cytokine au mode d'action particulier

Les cytokines sont des messagers protéiques clés impliqués dans de nombreuses fonctions cellulaires, comme la différenciation, la prolifération, l'activation, la survie. Parmi ces cytokines, l'interleukine-15 (IL-15) est une cytokine hématopoïétique pléiotrope, inductrice physiologique des cellules immunitaires innées (NK [*natural killer*], NK-T et  $\gamma\delta$ ). Dans le cadre de l'immunité adaptative, le rôle de l'IL-15 est primordial dans les étapes précoces

de l'activation cellulaire T, ainsi que pour la survie des lymphocytes T CD8 mémoires. Elle est par conséquent une cytokine importante dans la surveillance immunitaire antitumorale [1, 2]. Les déficits dans la signalisation de l'IL-15 affectent la survie et la fonction des cellules T CD8 mémoires et NK. À l'inverse, l'excès d'IL-15 peut être impliqué dans la prolifération non contrôlée de cellules tumorales et dans certaines pathologies inflammatoires. La régulation du signal IL-15 des lymphocytes est donc critique, à la fois pour une réponse immunitaire

cytolytique optimale, et pour la prévention d'un désordre lymphocytaire malin ou inflammatoire.

Identifiée en 1994 [3], l'IL-15 est structurellement proche de l'IL-2 sans que les deux cytokines ne possèdent d'homologie au niveau de leur séquence primaire. Ces deux molécules partagent des activités biologiques similaires dans le système immunitaire. Cette redondance fonctionnelle s'explique par le fait que leurs récepteurs partagent des chaînes réceptrices transductrices communes, les chaînes IL-2/15R $\beta$  (CD122)

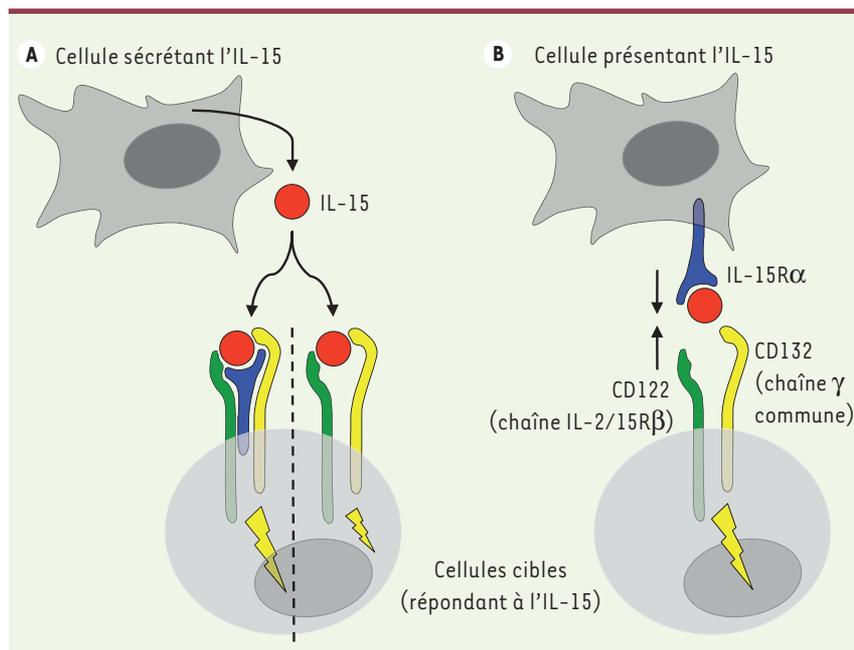


et  $\gamma$  commune (CD132). La spécificité d'action est conférée par leurs chaînes privées, IL-15R $\alpha$  et IL-2R $\alpha$ . Une différence essentielle entre ces deux chaînes réceptrices concerne l'affinité de liaison à leurs cytokines respectives. L'IL-2 lie la chaîne IL-2R $\alpha$  avec une affinité très inférieure à celle de l'IL-15 pour l'IL-15R $\alpha$  [4]. L'IL-15 peut exercer son action d'une manière « classique », commune à la plupart des autres cytokines : la *cis*-présentation. Dans ce cas, la cytokine est sécrétée sous forme soluble et exerce son action sur une cellule avoisinante exprimant à sa surface les chaînes réceptrices de l'IL-15. Plusieurs travaux *in vitro* et *in vivo* chez la souris ont montré l'existence d'un mécanisme d'action propre à l'IL-15 : la *trans*-présentation. Au cours de ce processus, l'IL-15 se fixe à sa chaîne spécifique, IL-15R $\alpha$ , à l'intérieur même des cellules productrices (cellules dendritiques, macrophages, cellules stromales, etc.) [5], puis émerge à la surface, venant activer avec une forte affinité le complexe de transduction CD122-CD132 exprimé à la surface des cellules cibles, comme les cellules T et NK [6, 7] (Figure 1). Cette activation participe aux événements de la synapse immunologique nécessaires à une activation cellulaire T adéquate [11] (→).

(→) Voir la synthèse de J. Bouchet et A. Alcover, m/s 2014, n° 6-7, page 665

### Le transfert de l'IL-15 de la cellule présentatrice à la cellule répondeuse

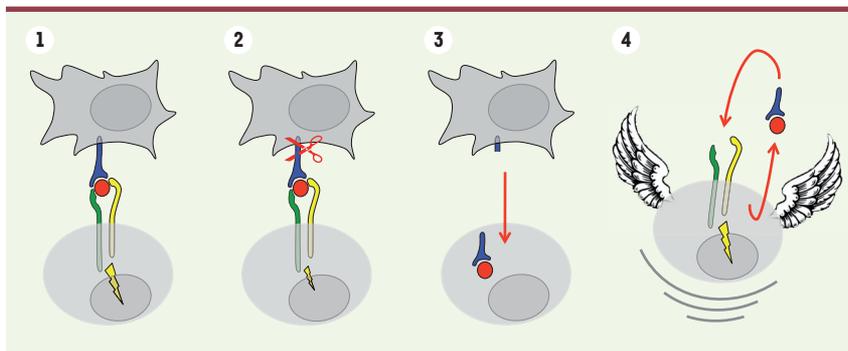
L'action des cytokines est le plus souvent brève et intense. Ainsi, leur expression est finement régulée afin de préserver l'harmonie du système immunitaire. Cette régulation peut intervenir à toutes les étapes du processus de synthèse protéique : transcriptionnelle, traductionnelle et post-traductionnelle. Le fait que l'IL-15 puisse agir par l'intermédiaire de la *trans*-présentation ouvre la possibilité de nouveaux modes de régulation. Notre laboratoire a démontré précédemment que la chaîne IL-15R $\alpha$  pouvait subir une coupure protéolytique conduisant à la génération d'un récepteur



**Figure 1. Les deux mécanismes d'action de l'IL-15.** **A.** La *cis*-présentation : l'IL-15 est sécrétée sous forme soluble et va exercer son action sur une cellule cible avoisinante (T ou NK) exprimant à sa surface le complexe récepteur trimérique de haute affinité IL-15R $\alpha$ -CD122-CD132 ou dimérique d'affinité intermédiaire CD122-CD132. **B.** La *trans*-présentation : le complexe préformé IL-15-IL-15R $\alpha$ , exprimé à la surface des cellules présentatrices, vient activer avec une forte affinité le complexe de transduction CD122-CD132 exprimé à la surface des cellules cibles. Le signal se propageant dans la cellule cible est symbolisé par un éclair.

soluble [8]. Ce récepteur soluble sIL-15R $\alpha$  conserve sa forte affinité pour l'IL-15 et agit en tant qu'antagoniste en captant l'IL-15 libre, empêchant cette dernière de se fixer sur les cellules exprimant le récepteur trimérique IL-15R $\alpha$ -CD122-CD132. Au contraire, le récepteur soluble IL-15R $\alpha$ , en se fixant à l'IL-15, est capable de potentialiser l'action de l'IL-15 sur le récepteur dimérique CD122-CD132 [9] (Figure 1B). Ainsi, lors d'une étude récente, nous nous sommes intéressés au rôle de cette coupure de l'IL-15R $\alpha$  au cours de la *trans*-présentation de l'IL-15 [10]. En effet, la façon dont la cellule répondeuse tire profit d'un tel mécanisme n'a jamais été évaluée. Pour ce faire, nous avons créé par mutation ponctuelle une chaîne IL-15R $\alpha$  strictement membranaire, c'est-à-dire ne pouvant pas libérer dans le milieu environnant une forme soluble après coupure protéolytique. Puis, nous avons élaboré une lignée cellulaire expri-

mant l'IL-15R $\alpha$  membranaire mutée ou sauvage, couplée à l'IL-15 de façon covalente afin de mimer la préassociation des deux molécules à l'intérieur même des cellules, avant leur expression à la membrane plasmique [5]. Ces cellules *trans*-présentant l'IL-15 sont ensuite cocultivées avec des lignées cellulaires T ou NK répondeuses exprimant les chaînes réceptrices CD122 et CD132, mais n'exprimant pas l'IL-15. Lors de cette interaction, nous avons observé de manière surprenante, par les techniques de cytométrie en flux et de microscopie confocale, que l'IL-15 complexée à la chaîne réceptrice IL-15R $\alpha$  s'accumule à l'intérieur des cellules répondeuses. Cependant, sa présence est fortement réduite lorsque que l'IL-15 est présentée par la chaîne IL-15R $\alpha$  mutée non clivable. En utilisant des anticorps anti-IL-15 pour bloquer l'interaction de la cytokine avec les chaînes réceptrices CD122 et CD132, nous avons montré



**Figure 2. Modèle proposé des différentes étapes de la trans-présentation de l'IL-15.** 1. Interaction entre la cellule présentatrice d'IL-15 et la cellule répondeuse et transmission du signal à l'intérieur de la cellule répondeuse. 2. Coupure protéolytique de l'IL-15R $\alpha$  conduisant à l'atténuation du signal IL-15. 3. Passage du complexe IL-15-IL-15R $\alpha$  de la cellule présentatrice vers la cellule répondeuse autorisé par la coupure. 4. Recyclage du complexe IL-15-IL-15R $\alpha$  nécessaire à une prolifération résiduelle des cellules répondeuses par boucle autocrine.

que le passage de l'IL-15 de la cellule présentatrice à la cellule répondeuse se fait par ces chaînes CD122 et CD132. S'est posée alors la question de l'origine du complexe IL-15-IL-15R $\alpha$  : provient-il de la forme soluble coupée et libérée dans le surnageant de culture cellulaire ou émane-t-il du contact direct entre la cellule présentatrice et la cellule répondeuse. En séparant les deux types cellulaires par une membrane poreuse, nous avons observé que les complexes IL-15-IL-15R $\alpha$  solubles détectés dans les surnageants ne suffisent pas à induire l'IL-15 dans les cellules répondeuses. Ces résultats confirment que la trans-présentation de l'IL-15, intervenant via l'interaction directe entre cellules productrices et répondeuses, est le mécanisme majeur véhiculant le message IL-15.

### Le double rôle de la coupure protéolytique

Nous avons ensuite évalué l'impact de la coupure du complexe IL-15-IL-15R $\alpha$  sur la signalisation induite par trans-présentation. Nous avons montré que la coupure se trouve associée à une diminution de la durée du signal induit par l'IL-15. Cette diminution s'explique en partie par la disparition progressive de l'IL-15 de la surface de la cellule présentatrice en lien avec la coupure de la

chaîne IL-15R $\alpha$ . De plus, ce mécanisme limite l'amplitude de la réponse à l'IL-15 se propageant à l'intérieur de la cellule répondeuse.

En parallèle, nous nous sommes intéressés au devenir de l'IL-15 stockée au sein des cellules répondeuses durant l'interaction avec les cellules présentatrices. Les cellules répondeuses ayant accumulé suffisamment d'IL-15 au cours de leur interaction avec les cellules présentatrices, ont été séparées et cultivées seules. Nous avons observé que ces cellules étaient capables de recycler les complexes IL-15-IL-15R $\alpha$  de manière autocrine, afin d'assurer une prolifération résiduelle limitée dans le temps (Figure 2). Cette prolifération est inhibée lorsqu'un anticorps anti-IL-15 ou anti-CD122 est ajouté au milieu de culture. Ainsi, la coupure protéolytique de l'IL-15R $\alpha$  permet (1) de contrôler l'amplitude du signal IL-15 après sa trans-présentation, et (2) d'assurer une prolifération résiduelle des cellules répondeuses en l'absence de cellules présentatrices d'IL-15 (Figure 2).

### Conclusion et perspectives

Au cours de cette étude, nous avons mis en évidence un mode de régulation inédit de l'activité de l'IL-15. La prochaine étape de ce travail sera de démontrer l'importance physiologique *in vivo* d'un

tel mécanisme sur le développement et l'activation des cellules dépendantes de l'IL-15, en particulier les cellules NK et T CD8 mémoires.  $\diamond$

**Cut the cord, you're ready to set off on your own!**

### LIENS D'INTÉRÊT

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

### RÉFÉRENCES

1. Kobayashi H, Dubois S, Sato N, et al. Role of trans-cellular IL-15 presentation in the activation of NK cell-mediated killing, which leads to enhanced tumor immunosurveillance. *Blood* 2005 ; 105 : 721-7.
2. Cheever MA. Twelve Immunotherapy drugs that could cure cancer. *Immunol Rev* 2008 ; 222 : 357-68.
3. Grabstein KH, Eisenman J, Shanebeck K, et al. Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science* 1994 ; 264 : 965-8.
4. Giri JG, Kumaki S, Ahdieh M, et al. Identification and cloning of a novel IL-15 binding protein that is structurally related to the alpha chain of the IL-2 receptor. *EMBO J* 1995 ; 14 : 3654-63.
5. Mortier E, Woo T, Advincula R, et al. IL-15Ralpha chaperones IL-15 to stable dendritic cell membrane complexes that activate NK cells via trans presentation. *J Exp Med* 2008 ; 205 : 1213-25.
6. Dubois S, Mariner J, Waldmann TA, et al. IL-15Ralpha recycles and presents IL-15 in trans to neighboring cells. *Immunity* 2002 ; 17 : 537-47.
7. Burkett PR, Koka R, Chien M, et al. Coordinate expression and trans presentation of interleukin (IL)-15Ralpha and IL-15 supports natural killer cell and memory CD8+ T cell homeostasis. *J Exp Med* 2004 ; 200 : 825-34.
8. Mortier E, Bernard J, Plet A, et al. Natural, proteolytic release of a soluble form of human IL-15 receptor alpha-chain that behaves as a specific, high affinity IL-15 antagonist. *J Immunol* 2004 ; 173 : 1681-8.
9. Mortier E, Quémener A, Vusio P, et al. Soluble interleukin-15 receptor alpha (IL-15R alpha)-sushi as a selective and potent agonist of IL-15 action through IL-15R beta/gamma. Hyperagonist IL-15 x IL-15R alpha fusion proteins. *J Biol Chem* 2004 ; 281 : 1612-9.
10. Tamzalit F, Barbieux I, Plet A, et al. IL-15-IL-15Ra complex shedding following trans-presentation is essential for the survival of IL-15 responding NK and T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 ; 111 : 8565-70.
11. Bouchet J, Alcover A. La synapse immunologique : une plate-forme de signalisation dynamique pour l'activation des lymphocytes T. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 665-70.