

## Une mutation hétérozygote de *SH3BP2* amplifie la réponse inflammatoire à l'infection des macrophages dans un modèle de chérubisme chez la souris

Marcel Deckert<sup>1,2</sup>, Virginie Prod'Homme<sup>1,2</sup>

### Des mutations de *SH3BP2* à l'origine du chérubisme

Le chérubisme est une dysplasie cranio-faciale rare, caractérisée par un élargissement symétrique de la partie inférieure du visage qui donne au patient une apparence semblable à celle des chérubins de la Renaissance. Cette maladie génétique est transmise de manière autosomique dominante. Les patients présentent une érosion importante des os de la mâchoire dans lesquels s'accumulent des kystes fibreux remplis de cellules multinucléées géantes de type ostéoclaste. Les lésions apparaissent dans la petite enfance, entre 2 et 5 ans, et progressent jusqu'à la puberté pour régresser presque complètement à l'âge adulte. Cette maladie reste bénigne mais engendre des troubles importants de la face et de la dentition, associés à des problèmes esthétiques et psychologiques qui nécessitent une intervention chirurgicale dans les cas sévères. La majorité des mutations associées au chérubisme affectent l'exon 9 du gène *SH3BP2* codant pour 3BP2 ou SH3BP2 (*Abl SH3 binding protein 2*). Ces mutations conduisent au changement d'un unique acide aminé dans la séquence R<sub>415</sub>SPPDG<sub>420</sub> de 3BP2 [1]. 3BP2 est une protéine adaptatrice que nous avons identifiée comme un partenaire de la protéine tyrosine kinase SYK [2] et d'autres molécules de signalisation comme les kinases SRC et les facteurs d'échange nucléotidique VAV. Ainsi,

3BP2 est impliquée dans l'activation de programmes transcriptionnels et cellulaires (comme le remodelage du réseau d'actine) via l'engagement de multiples récepteurs dans les réponses leucocytaires [3], la différenciation des ostéoclastes [4] et le remodelage osseux [1]. L'étiologie du chérubisme est longtemps restée inconnue, mais le développement de modèles chez la souris a permis d'importants progrès dans la compréhension des facteurs déclencheurs de cette maladie énigmatique. Le *knock-in* des mutations P416R et G418R (respectivement P418R et G420R chez l'homme) dans le gène *Sh3bp2* montre qu'un seul allèle mutant n'est pas suffisant pour déclencher la maladie chez la souris. Les souris mutantes homozygotes développent cependant une ostéoporose sévère et une inflammation systémique, avec des niveaux élevés de TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor*) sérique, résultant d'une hyperactivation des voies de signalisation dépendantes des kinases SRC et SYK et du facteur de transcription NFATc1 (*nuclear factor of activated T-cells*) dans les macrophages et les ostéoclastes. Ainsi, ces modèles définissent le chérubisme comme une maladie héréditaire auto-inflammatoire médiée par les cellules myéloïdes, et confèrent à la mutation du gène *Sh3bp2* un rôle moteur dans cette maladie [5, 6]. Une avancée importante dans la compréhension du chérubisme est venue du laboratoire du Dr Rottapel, qui a identifié l'inter-

<sup>1</sup> Centre méditerranéen de médecine moléculaire (C3M), Inserm, U1065, équipe microenvironnement, signalisation et cancer, bâtiment universitaire ARCHIMED, 151, route Saint Antoine de Ginestière, 06204 Nice Cedex 03, France ;

<sup>2</sup> Université de Nice Sophia Antipolis, faculté de médecine, laboratoire d'excellence Signalife, 06103 Nice, France.

[deckert@unice.fr](mailto:deckert@unice.fr)

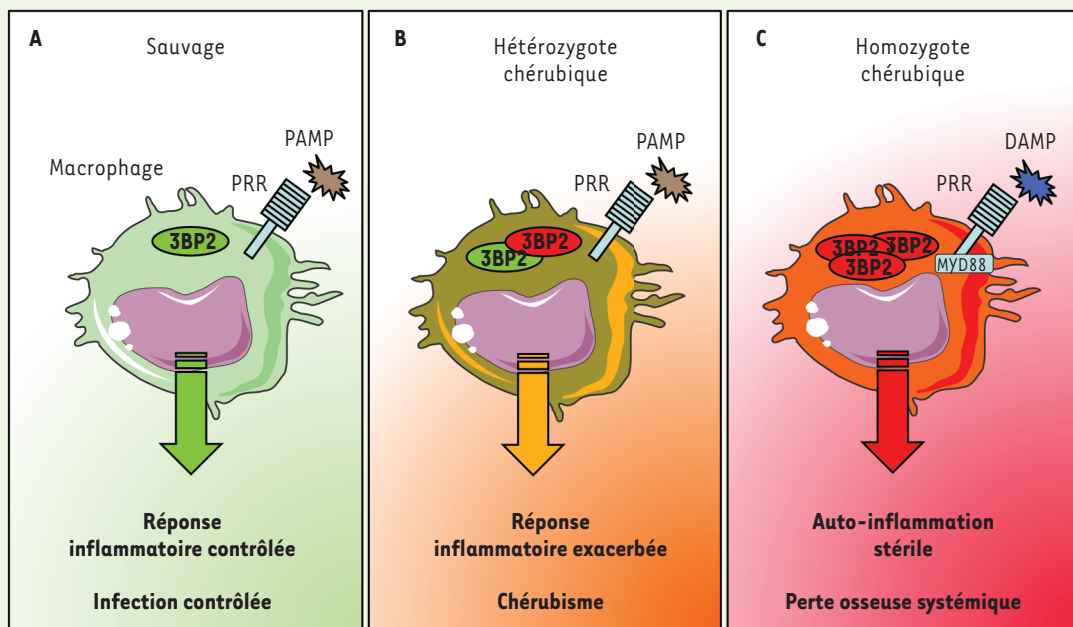
[marcel.deckert@unice.fr](mailto:marcel.deckert@unice.fr)

action entre 3BP2 et la poly(ADP-ribosyl)polymérase tankyrase comme une étape clé dans la pathogenèse de la maladie [7]. La fixation de tankyrase sur le motif RSPPDG de la protéine 3BP2 sauvage, en catalysant la poly(ADP-ribosyl)ation (PARylation) de 3BP2, entraîne sa polyubiquitination par RNF146 (*ring finger protein 146*), une E3 ubiquitine ligase dépendante de la PARylation des protéines. Cette séquence de modifications post-traductionnelles est suivie de la dégradation de 3BP2 par le protéasome, assurant ainsi l'homéostasie protéique de 3BP2. Dans le chérubisme, ce mécanisme est défectueux car les mutations ponctuelles du motif RSPPDG de 3BP2 abolissent son interaction avec tankyrase, avec pour conséquence une accumulation des protéines 3BP2 mutantes à l'origine du syndrome auto-inflammatoire observé [6, 7].

### La mutation de *SH3BP2* amplifie la réponse des macrophages aux stimulus infectieux

De nombreuses questions restaient néanmoins sans réponse quant à l'étiologie exacte de la maladie chez l'homme. En particulier, comment expliquer la différence de transmissibilité de la maladie entre l'homme (autosomique dominante) et la souris (autosomique récessive) ? L'existence de pathologies buccales, comme les parodontites, associées à une inflammation locale et





**Figure 1. La mutation de 3BP2 dans le chéribisme amplifie la réponse inflammatoire des macrophages.** **A.** Dans un contexte sauvage, 3BP2 participe à la réponse des macrophages aux stimulus infectieux (motifs moléculaires associés aux pathogènes, PAMP) via des récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) pour déclencher une réaction inflammatoire permettant de contrôler l'infection. **B.** Dans un modèle de chéribisme chez la souris, la présence d'un allèle mutant de *Sh3bp2* amplifie la réaction inflammatoire des macrophages aux pathogènes, indiquant que, chez l'homme, les stimulus infectieux pourraient localement déclencher les événements pathologiques conduisant à la maladie. **C.** Dans un contexte homozygote qui n'existe que chez la souris, l'accumulation de protéines 3BP2 mutées déclenche une auto-inflammation stérile dépendante de la signalisation MYD88, suggérant que les motifs moléculaires associés aux dommages cellulaires (DAMP) participent aussi au développement du chéribisme.

des pertes osseuses [8], nous a conduits à émettre l'hypothèse de l'existence de facteurs déclencheurs additionnels chez l'homme, n'existant pas chez les souris élevées en conditions stériles. Pour tester cette hypothèse, nous avons étudié la réponse inflammatoire à divers agents microbiens dans notre modèle de souris chéribiques et dans des souris déficientes en 3BP2 (souris *knock-out Sh3bp2*). Ces modèles génétiques nous ont permis de démontrer un rôle important de 3BP2 dans la réponse inflammatoire des macrophages aux pathogènes. La production de cytokines inflammatoires comme l'IL(interleukine)-6, l'IL-12 et le TNF- $\alpha$ , est dramatiquement réduite *in vivo* et *in vitro* dans les macrophages déficients en 3BP2 en réponse à divers stimulus microbiens agonistes des TLR (*toll like receptor*)

ou d'autres récepteurs n'appartenant pas à cette famille. Les macrophages déficients en 3BP2 présentent également une phagocytose défectueuse. Au niveau biochimique, nous avons montré que 3BP2 est nécessaire à l'activation de protéines de signalisation qui interviennent dans la réponse des macrophages à l'infection. À l'inverse, comme chez l'homme, les macrophages de souris possédant un seul allèle de chéribisme (souris *Sh3bp2*<sup>WT/G418R</sup>) ont une hypersensibilité aux agents infectieux *in vivo* et *in vitro*, en termes d'activation des voies de signalisation conduisant à la production de cytokines inflammatoires et au remodelage de l'actine. De façon remarquable, l'administration par voie orale de LPS (lipopolysaccharide), un agoniste de TLR-4, induit une réponse inflammatoire exacerbée dans

les souris chéribiques hétérozygotes. Nos travaux suggèrent donc que le microenvironnement infectieux local et les signaux de danger microbiens (PAMP), associés à une mutation chéribique hétérozygote de 3BP2, peuvent déclencher une réaction inflammatoire pathologique conduisant au chéribisme [6] (Figure 1). À noter que l'inflammation stérile produite en l'absence de germes microbiens par l'homozygotie des mutations *Sh3bp2* P416R et G418R est réduite en l'absence de la protéine MYD88, essentielle à l'activation des macrophages par les TLR et les motifs moléculaires associés aux dommages cellulaires (DAMP), suggérant que les signaux issus des dommages tissulaires peuvent également contribuer au développement du chéribisme, du moins chez la souris [6, 9].



## Conclusion et perspectives

Définir la nature des stimulus, infectieux ou tissulaires, qui coopèrent avec les mutations de 3BP2 pour déclencher localement l'auto-inflammation pathologique à l'origine du chérubisme permettra de mieux comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires à l'origine de cette maladie génétique rare, et, en particulier, d'identifier précisément les multiples voies de signalisation mises en jeu. Le ciblage pharmacologique de ces voies représente clairement une stratégie thérapeutique prometteuse, comme l'atteste une étude récente [10]. Alternativement, il sera également intéressant de déterminer si le traitement des infections buccales chez le jeune patient atteint de chérubisme peut atténuer le développement de la maladie. ♦

## SH3BP2 heterozygous mutation amplifies macrophage inflammatory responses to infection in a mouse model of cherubism

### LIENS D'INTÉRÊT

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

### RÉFÉRENCES

1. Reichenberger EJ, Levine MA, Olsen BR, et al. The role of SH3BP2 in the pathophysiology of cherubism. *Orphanet J Rare Dis* 2012 ; 7 : 55.
2. Deckert M, Tartare-Deckert S, Hernandez J, et al. Adaptor function for the Syk kinases-interacting protein 3BP2 in IL-2 gene activation. *Immunity* 1998 ; 9 : 595-605.
3. Deckert M. L'adaptateur 3BP2. Quelle place pour cette protéine dans la signalisation des leucocytes ? *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 1081-6.
4. Guezguez A, Prod'homme V, Mouska X, et al. 3BP2 Adapter protein is required for receptor activator of NFkappaB ligand (RANKL)-induced osteoclast differentiation of RAW264.7 cells. *J Biol Chem* 2010 ; 285 : 20952-63.
5. Ueki Y, Lin CY, Senoo M, et al. Increased myeloid cell responses to M-CSF and RANKL cause bone loss and inflammation in SH3BP2 cherubism mice. *Cell* 2007 ; 128 : 71-83.
6. Prod'homme V, Boyer L, Dubois N, et al. Cherubism allele heterozygosity amplifies microbe-induced inflammatory responses in murine macrophages. *J Clin Invest* 2015 ; 125 : 1396-400.
7. Levaot N, Voytyuk O, Dimitriou I, et al. Loss of Tankyrase-mediated destruction of 3BP2 is the underlying pathogenic mechanism of cherubism. *Cell* 2011 ; 147 : 1324-39.
8. Graves DT, Li J, Cochran DL. Inflammation and uncoupling as mechanisms of periodontal bone loss. *J Dent Res* 2011 ; 90 : 143-53.
9. Yoshitaka T, Mukai T, Kittaka M, et al. Enhanced TLR-MYD88 signaling stimulates autoinflammation in SH3BP2 cherubism mice and defines the etiology of cherubism. *Cell Rep* 2014 ; 8 : 1752-66.
10. Kadlub N, Vazquez MP, Galmiche L, et al. The calcineurin inhibitor tacrolimus as a new therapy in severe cherubism. *J Bone Miner Res* 2014 ; 30 : 878-85.

## NOUVELLE

## L'épithélium thymique, un passé dans la dualité et un présent unifié

Victoria Michaels Lopez, Sophie Ezine

► Pour assurer une thymopoïèse complète aboutissant au développement de lymphocytes T fonctionnels, un stroma thymique mature est requis. Récemment, deux articles nous dévoilent le « passé » surprenant de cet organe, ainsi que la source cellulaire à l'origine de l'hétérogénéité de son épithélium [1, 2]. L'ensemble de ces données améliorent nos connaissances des pathologies thymiques et permettront peut-être de proposer de nouvelles stratégies de thérapie cellulaire visant à contrer l'involution thymique et ses conséquences.

### Les cellules épithéliales thymiques : des régulateurs essentiels du développement et de la sélection des lymphocytes T

Le développement et la maturation des lymphocytes T sont uniques par rapport aux autres lignées hématopoïétiques, car ils prennent place dans un organe lymphoïde particulier, le thymus. Dans les différentes niches thymiques, les progéniteurs hématopoïétiques, en provenance du foie fœtal et/ou de la moelle osseuse, se différencient principalement en cellules T porteuses d'un répertoire diversifié de récepteurs spécifiques pour

Université Paris Descartes - site Broussais  
CS61431, 14, rue Maria Helena Vieira Da Silva,  
batiment Leriche-porte 14, pièce L-507,  
75993 Paris Cedex 14, France.  
[sophie.ezine@inserm.fr](mailto:sophie.ezine@inserm.fr)

différents antigènes nommés TCR. Ce développement est guidé par les cellules stromales thymiques, qui ont pour principal composant les cellules épithéliales thymiques. Les cellules épithéliales thymiques forment un microenvironnement fonctionnel spécialisé dans le maintien des étapes de la maturation T. Elles fournissent tous les éléments nécessaires (cytokines, chimiokines, ligands) au contrôle de l'acquisition d'une spécificité lymphocytaire T, de la migration, de la survie, de la prolifération et de la sélection de ces lymphocytes [3]. Le thymus est composé de lobes (deux chez la souris, plusieurs lobules chez