

Les requins et l'origine de l'immunité des vertébrés

GARY LITMAN

Les requins, qui existent depuis plus de 450 millions d'années, nous renseignent sur l'évolution du système immunitaire.

Il y a quelque 500 millions d'années, l'ancêtre de tous les vertébrés à mâchoires apparut dans les eaux chaudes de la vaste mer primitive qui recouvrait la Terre. On connaît mal cet animal, mais certains paléontologues supposent qu'il ressemblait aux placodermes, des poissons plus tardifs, connus par les fossiles qu'ils ont laissés. Ces créatures, longues parfois de sept mètres, étaient recouvertes de plaques osseuses qui protégeaient la tête et le thorax.

Retrouver un placoderme vivant est un rêve de bien des biologistes, car nous aurions alors un témoin de l'évolution ; nous pourrions observer comment fonctionnait le système immunitaire primitif, l'un des constituants les plus complexes des organismes vivants, dont l'apparition suivit de peu celle des vertébrés à mâchoires. Cette transition est l'une des principales étapes de l'évolution, car elle a favorisé l'apparition d'animaux plus évolués, notamment les animaux terrestres, et finalement l'homme. Des systèmes immunitaires complexes et adaptatifs sont vraisemblablement apparus avec les premiers vertébrés. Les systèmes immunitaires des invertébrés d'aujourd'hui, qui ressemblent probablement à ceux de leurs ancêtres, n'ont pas cette capacité d'adaptation.

Toutefois, les placodermes et leurs ancêtres ont disparu depuis longtemps. Le rêve est-il anéanti ? Non, car ces animaux ont laissé des descendants qui leur ressemblent : les requins, les raies et les chimères (des poissons marins cartilagineux aux dents broyeuses). Ces animaux, dont le système immunitaire a sans doute peu changé, voire pas

du tout, depuis leur apparition, il y a quelques centaines de millions d'années, nous donnent un aperçu de cette période ancienne.

Avec mes collègues, nous étudions le système immunitaire de quelques-uns de ces animaux. Comme on s'y attendait, ce système immunitaire diffère de celui d'animaux plus récents, tels les grenouilles, les singes ou l'homme. En revanche, nous avons découvert que ces systèmes immunitaires ancestraux protègent aussi bien, si ce n'est mieux, que leurs équivalents plus récents contre les maladies et contre les infections.

Cela n'est peut-être pas très surprenant : la sous-classe des élasmobranches, à laquelle appartiennent les requins et les raies, est apparue il y a plus de 450 millions d'années (*Homo sapiens sapiens* a tout au plus 200 000 ans) et elle a survécu à plusieurs extinctions en masse qui ont éliminé d'innombrables espèces. Ce succès évolutif tient sans doute partiellement à une efficacité particulière de leur système immunitaire. En identifiant les caractéristiques du système immunitaire des élasmobranches, nous préciserons le fonctionnement des défenses humaines.

Double immunité

Le système immunitaire assure une double protection : par l'immunité humorale et par l'immunité cellulaire. Les agents de l'immunité humorale sont les globules blancs nommés lymphocytes *B*, qui produisent des anticorps ; présentes à la surface des lymphocytes *B*, ces molécules se lient

aux molécules étrangères, les antigènes, portées par les bactéries et les virus nuisibles qui envahissent parfois le sang. Une fois ces complexes antigènes-anticorps formés, d'autres cellules immunitaires détruisent les bactéries et les virus. L'homme a cinq principaux types d'anticorps, ou immunoglobulines.

Chaque lymphocyte *B* produit un seul type d'anticorps, qui reconnaissent tous le même antigène. Dès qu'un anticorps se lie à l'antigène dont il est spécifique, le lymphocyte *B* qui porte l'anticorps est stimulé : il prolifère tout en sécrétant les anticorps. La plupart des milliards de lymphocytes *B* de l'organisme fabriquent des anticorps tous différents : quand un lymphocyte *B* naît, un mécanisme génétique, qui associe des composantes aléatoires et innées, lui confère la capacité de fabriquer un unique type de « récepteur » (la partie de l'anticorps qui se lie à l'antigène). C'est cette diversité des récepteurs d'antigènes qui confère à l'immunité humorale son vaste champ d'action. Le terme « humoral » provient de ce que les anticorps sont libérés dans les liquides corporels, jadis nommés humeurs.

D'autres globules blancs nommés lymphocytes *T* assurent l'immunité cellulaire. Contrairement aux lymphocytes *B*, les lymphocytes *T* ne produisent pas d'anticorps, mais reconnaissent les antigènes portés par d'autres cellules, grâce à leurs récepteurs. Ils interviennent, par exemple, dans les rejets de greffes et dans l'élimination des cellules tumorales.

L'organisme reconnaît les antigènes étrangers grâce aux anticorps et aux

récepteurs des lymphocytes *T*. Bien que les cellules de l'immunité humorale et celles de l'immunité cellulaire soient différentes, elles coopèrent au cours des réactions immunitaires. Ainsi, les lymphocytes *T* règlent le fonctionnement des lymphocytes *B*.

À certains égards, le système immunitaire des requins ressemble à celui de l'homme. Les requins ont une rate qui, comme chez l'homme, produit beaucoup de lymphocytes *B*. Quand un requin est immunisé, c'est-à-dire quand on provoque une réaction immunitaire par injection d'un antigène, ses lymphocytes *B* produisent des anticorps. De même pour l'immunité cellulaire : comme l'homme, les requins ont un thymus qui libère les lymphocytes *T* après une phase de maturation. De surcroît, les lymphocytes *T* des requins portent des récepteurs, et nous avons montré que la diversité de ces récepteurs résulte des mêmes mécanismes génétiques que ceux qui assurent la diversité des anticorps humains. Les lymphocytes *T* des requins sont également responsables des rejets de greffes, mais, au moins dans le cas des greffes de peau, le rejet est moins rapide que chez l'homme (il survient au bout de plusieurs semaines seulement).

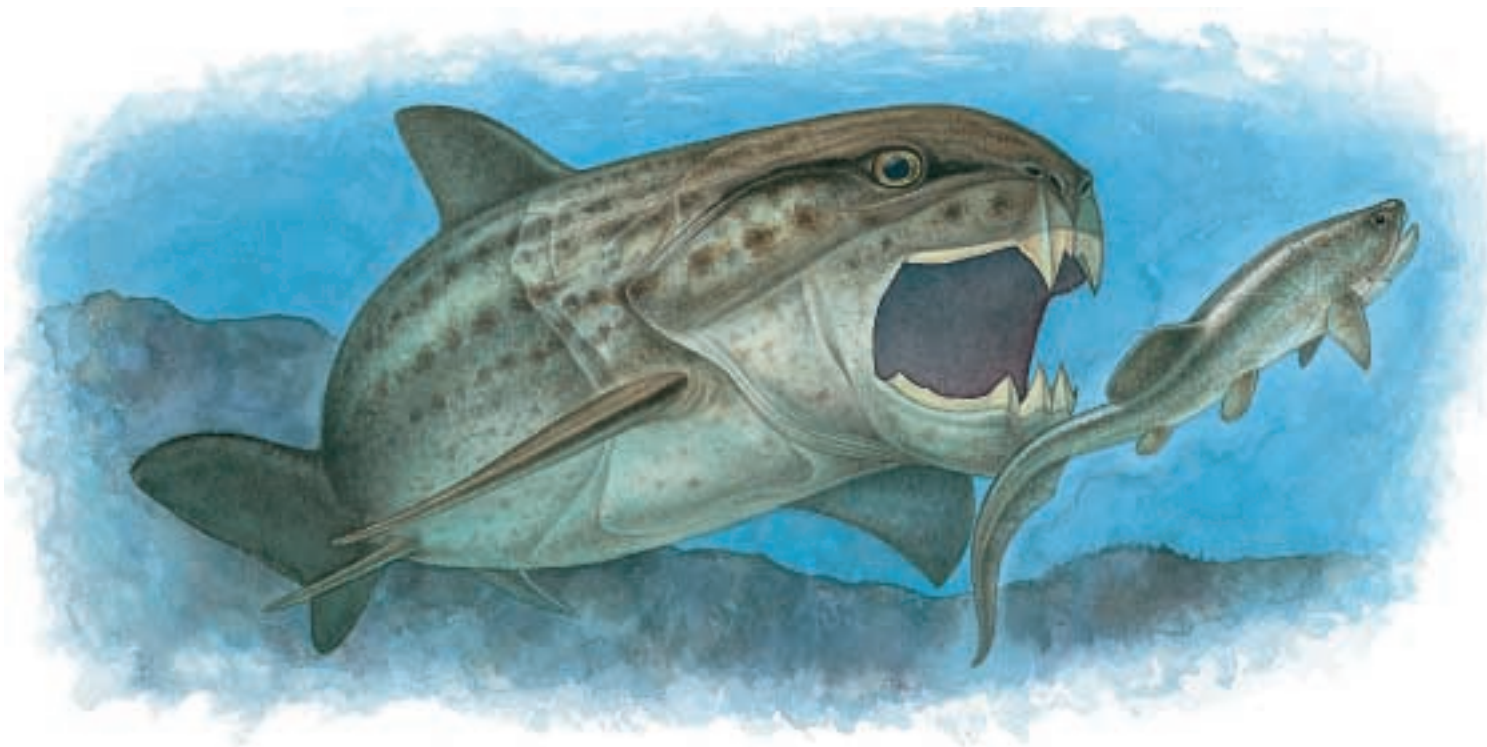
Malgré ces ressemblances, le système immunitaire d'un poisson cartilagineux tel que le requin diffère de celui de l'homme par des aspects importants. Par exemple, les poissons cartilagineux ont seulement quatre classes d'immunoglobulines (l'une d'elles ressemble à une des cinq classes d'immunoglobulines humaines). De plus, les anticorps du requin n'ont pas la précision qui permet aux anticorps humains de distinguer des types de bactéries quasi semblables. Enfin, le système de défense des requins est dépourvu d'un mécanisme qui, chez l'homme, améliore la lutte contre les agents infectieux : chez l'homme, la liaison entre les anticorps et leur antigène est renforcée lors des réactions immunitaires prolongées.

Pour autant, le système immunitaire des requins n'est pas moins bien adapté aux besoins de l'organisme que celui de l'homme ou des autres mammifères. La nature spécifique de ce système immunitaire ancestral reflète tous les détours qu'a suivis le système immunitaire au cours de l'évolution : l'évolution, au moins en ce qui concerne le système immunitaire, n'a pas toujours progressé avec l'inexorable continuité qu'on lui attribue souvent.

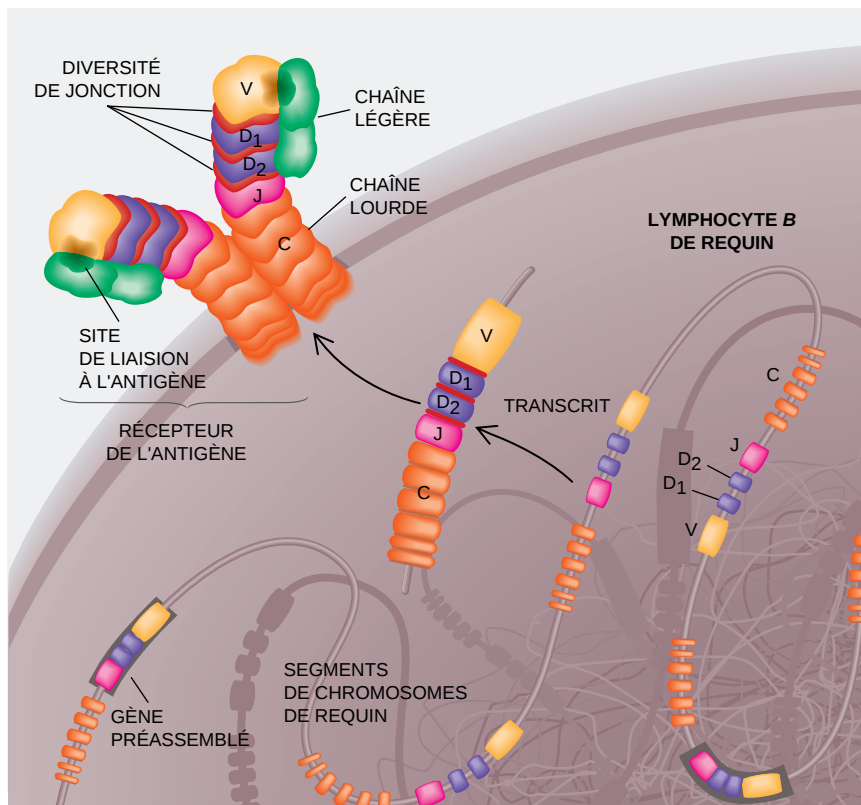
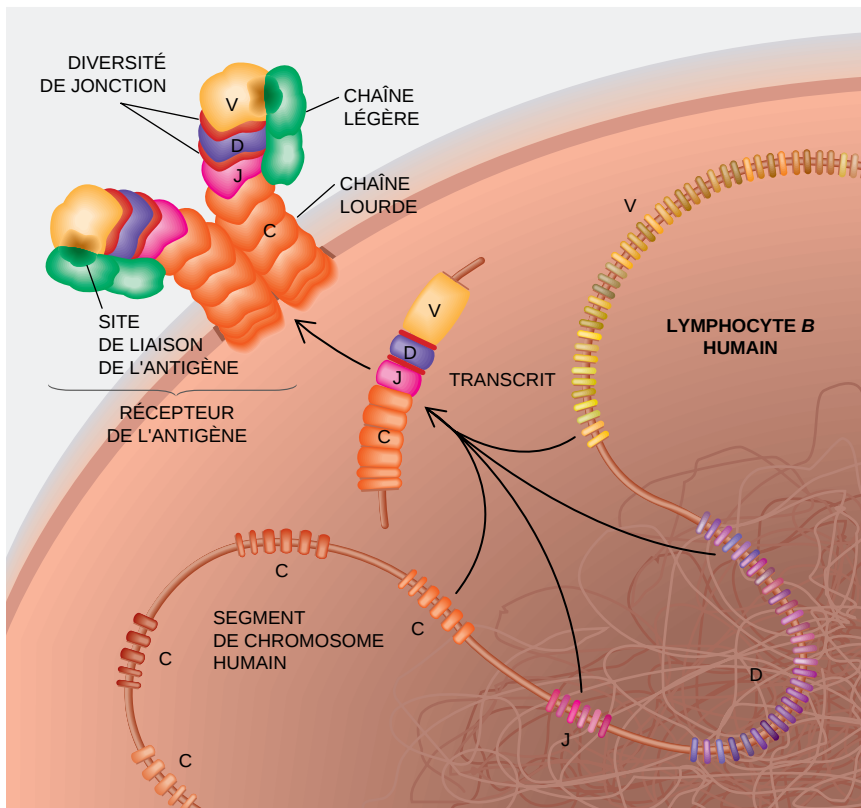
Un récepteur par antigène

Nous avons surtout étudié le système immunitaire humoral du requin à cornes californien, un animal tacheté d'une cinquantaine de centimètres de long. Chez cet animal, comme chez tous les vertébrés, la diversité des récepteurs des antigènes est d'origine génétique. Chaque récepteur antigénique est constitué de deux protéines (des enchaînements d'acides aminés) : une «chaîne lourde» et une «chaîne légère». À de rares exceptions près, un anticorps est constitué de deux paires de chaînes et a, ainsi, deux sites récepteurs d'antigènes. La nature et l'arrangement des acides aminés de la chaîne lourde et de la chaîne légère déterminent le récepteur et, par là même, l'antigène qui s'y lie.

Quel que soit leur site de production, les chaînes d'acides aminés sont codées par des gènes du noyau cellulaire. Ainsi les récepteurs des antigènes sont des chaînes d'acides aminés définies par des gènes des lymphocytes *B*. Trois types de segments géniques assurent la production des récepteurs des antigènes : le segment *V* (pour *variable*), *D* (pour *diversité*) et *J* (pour *jonction*). Les acides aminés de la chaîne lourde sont codés par ces trois types de segments, tandis que la chaîne légère est



1. LES PLACODERMES, dont il ne reste que des fossiles, auraient été parmi les premiers animaux à bénéficier d'un système immunitaire adaptable et complexe.



2. LES ANTICORPS sont codés par des groupes de gènes qui se réarrangent différemment chez l'homme et chez le requin. Ces gènes se recombinent pour produire les récepteurs auxquels se lient les antigènes. On a représenté ici le mécanisme de fabrication de la «chaîne lourde» d'un récepteur d'antigène. Chez l'homme (*en haut*), les segments géniques qui se combinent pour coder le récepteur sont dispersés sur un seul chromosome ; au contraire, chez le requin (*en bas*), les segments géniques sont déjà préassemblés en «lots», situés sur n'importe lequel des chromosomes. On n'a pas indiqué ici les détails du mécanisme de transcription.

codée uniquement par les segments V et J. Un quatrième type de segments géniques, nommé C (pour *constant*), détermine la classe des anticorps.

Chez l'homme, les segments V, D, J et C sont répartis sur le même chromosome. Comme chez la plupart des vertébrés supérieurs, ces segments sont regroupés : on trouve, par exemple, quelque 50 segments V fonctionnels, 30 segments D, six segments J et huit segments C au même site, ce qui correspond approximativement à un million de paires de bases, les «barreaux» de cette molécule en forme d'échelle qu'est l'ADN. Lorsqu'un lymphocyte B produit un anticorps, des segments géniques V, D et J, adjacents à un segment C, sont recombinaison. Ce matériel génétique est alors décodé, et le système cellulaire de fabrication des protéines produit la chaîne d'acides aminés correspondante. La recombinaison de ces segments géniques détermine les caractéristiques du site récepteur situé sur l'anticorps. Chez les vertébrés supérieurs, cet assemblage d'éléments V, D et J – la diversité combinatoire – augmente la diversité des récepteurs des antigènes.

Chez le requin également, les segments géniques codant les anticorps sont regroupés, mais les unités d'ADN (ou groupes de gènes) codant les chaînes lourdes ne contiennent qu'un segment V, deux D, un J et un C. Plus d'une centaine de ces unités d'ADN sont réparties sur différents chromosomes du requin. Quand la machinerie cellulaire produit un anticorps, seuls les quatre segments géniques d'une seule unité sont recombinaison (le segment C est déjà lié au segment J), avant que le message génétique ne soit traduit en un récepteur d'antigène.

L'origine de la diversité

Ce type de recombinaison restreint-il la diversité des récepteurs d'antigènes du requin ? Sans doute, sauf que des centaines de groupes de gènes codant les anticorps sont répartis sur plusieurs chromosomes du requin. De surcroît, la diversité combinatoire n'est pas la seule source de diversité (chez les mammifères non plus) : chez les requins comme chez les autres poissons cartilagineux, la diversité de jonction et la diversité innée accroissent les capacités immunitaires.

Pour comprendre la diversité de jonction, revenons au mécanisme d'as-

semblage des segments géniques V, D et J de la chaîne d'un récepteur d'antigène. Cette diversité s'introduit lors de la jonction des segments V et D ou des segments D et J. Avant la fusion, à l'endroit où les deux segments s'unissent, plusieurs paires de bases sont éliminées et remplacées par de nouvelles bases de façon quasi aléatoire. Ces modifications locales du matériel génétique modifient la séquence des acides aminés et, par là même, les caractéristiques des récepteurs d'antigènes.

C'est là que le segment génique supplémentaire D confère un avantage notable au système de production d'anticorps du requin. Avec quatre segments géniques différents, la diversité se manifeste entre V et D1, entre D1 et D2, et entre D2 et J. Grâce à la diversité de jonction, des millions de variants d'un même anticorps, chacun ayant un site récepteur un peu différent des autres, sont créés. Au contraire, chez les mammifères, la diversité d'assemblage se produit seulement entre les segments V et D, et entre les segments D et J.

Tous ces anticorps semblent pouvoir protéger contre d'innombrables micro-organismes. Toutefois, une production massive d'anticorps n'est pas une garantie d'immunité : la diversité de jonction produit une gamme d'anticorps suffisante pour faire face à n'importe quelle situation, mais elle est trop lente pour produire suffisamment d'anticorps, sélectionner les plus efficaces, les multiplier et s'attaquer à l'envahisseur. Dans sa course contre l'agent infectieux, le requin risque de perdre.

Les espèces se sont adaptées grâce à des mécanismes qui sélectionnent rapidement la séquence qui code l'anticorps nécessaire : cette séquence est d'abord fournie par un des millions de lymphocytes B de l'organisme. Chez les mammifères, des compartiments cellulaires spécialisés et des communications intercellulaires complexes activent le système immunitaire à cette fin.

Les requins disposent d'une forme de diversité innée qui leur évite de se livrer totalement au hasard : leur organisme n'a pas à attendre qu'apparaisse une combinaison appropriée de séquences pour fabriquer au moment opportun le récepteur d'antigène requis, parce que toutes les cellules con-

tiennent un grand nombre de groupes de gènes, où les segments géniques V, D1, D2, J sont déjà «préassemblés».

Dans ces groupes, la diversité de jonction est limitée. L'analyse de certaines de ces groupes partiellement ou totalement préassemblés (chez les poissons) a montré que leurs segments V, D1, D2 et J ressemblent beaucoup à ceux des groupes non assemblés (chez les mammifères) : l'un des systèmes aurait divergé de l'autre au cours de l'évolution.

Pour quelle raison? Comme dans d'autres branches de la biologie, si l'on connaît bien les mécanismes génétiques, on ne comprend pas toujours la relation entre ces gènes et leur fonction physiologique. Toutefois, on peut supposer que le système immunitaire humoral des poissons cartilagineux a évolué pour bénéficier, d'une part, des innombrables gènes qui peuvent se recombinaison et qui confèrent la flexibilité immunitaire et, d'autre part, de quelques gènes dont les caractéristiques sont figées et qui s'expriment rapidement pour fabriquer des anticorps contre les agents pathogènes les plus fréquents.

Enfin, la diversité repose encore sur des mutations, fréquentes, des gènes qui codent les anticorps des vertébrés supérieurs. Ces mutations modifient

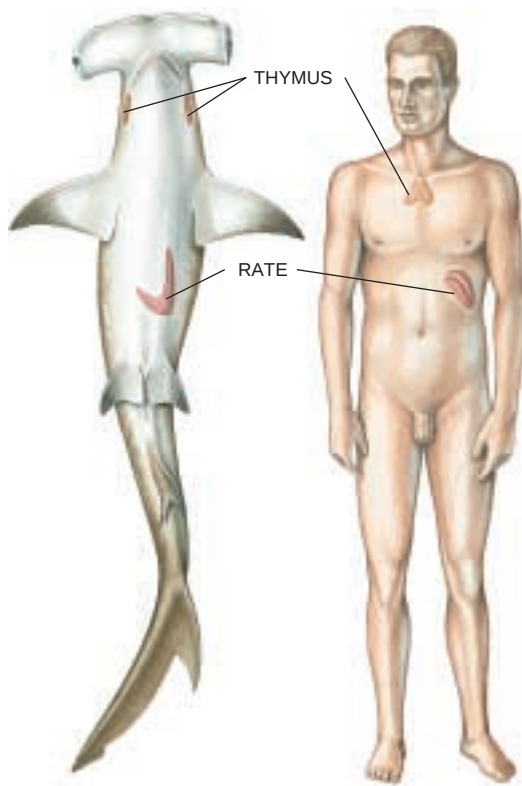
les caractéristiques des sites récepteurs portés par les anticorps.

Ainsi, l'immunité humorale de l'homme et celle du requin se ressemblent : 450 millions d'années d'évolution n'ont quasiment pas modifié l'immunité humorale, puisque les anticorps du requin ressemblent à ceux de l'homme, et que les séquences V, D et J des segments géniques qui commandent la synthèse des anticorps sont semblables. En revanche, l'évolution a totalement modifié l'organisation des segments géniques qui codent les anticorps. Chez le requin, la diversité de jonction et la diversité innée sont supérieures à celles qui agissent chez l'homme. Bien que relativement simples, les mécanismes de diversification génétique du système immunitaire du requin semblent souvent plus efficaces que ceux des vertébrés supérieurs. Ces observations confirment que l'évolution adapte spécifiquement les mécanismes aux besoins immédiats de leurs hôtes en prévoyant notamment les rencontres imprévisibles.

L'immunité cellulaire

Certaines des caractéristiques de l'immunité humorale se retrouvent dans le cas de l'immunité cellulaire : c'est, par exemple, le cas du réarrangement de segments géniques dispersés le long d'un chromosome, du décryptage des gènes qui codent les récepteurs des antigènes et de la modification de ces gènes. Les lymphocytes T, tout comme les anticorps produits par les lymphocytes B, doivent reconnaître une gamme quasi illimitée d'antigènes et s'y lier.

Les sites récepteurs des lymphocytes T et ceux des anticorps sont codés par des segments géniques similaires, et les mécanismes de réarrangement qui engendrent la diversité des anticorps fonctionnent aussi pour les récepteurs des lymphocytes T. Toutefois, ces récepteurs ne sont présents qu'à la surface des cellules, et ils ne reconnaissent les molécules étrangères que lorsqu'elles sont présentées par des molécules spécialisées, portées par d'autres cellules. L'affinité des lymphocytes T pour les antigènes étrangers est inférieure à celle de certains anticorps, et ces lymphocytes subissent moins de mutations.



3. LE REQUIN ET L'HOMME ont en commun plusieurs caractéristiques immunitaires, notamment le thymus et la rate.



4. LE REQUIN À CORNES est l'un des animaux les plus anciens, chez qui l'on a identifié des lymphocytes T, les agents de l'immunité cellulaire.

Les immunologistes ont longtemps cru que l'immunité cellulaire était apparue avant l'immunité humorale. Toutefois, les greffes de peau ne sont rejetées qu'après plusieurs semaines par l'organisme des requins ; on en a déduit que, chez les requins, l'immunité cellulaire – si elle existe – n'est ni très efficace, ni très spécifique. Certains ont alors pensé que les requins étaient dépourvus de lymphocytes T.

Pour le savoir, nous avons recherché des lymphocytes T chez le requin à cornes. Pour prouver l'existence de ces cellules, il nous fallait identifier leurs récepteurs d'antigènes. Nous avons échoué, jusqu'au jour où nous avons utilisé la méthode d'amplification des gènes, ou PCR, une technique qui produit des millions de copies d'un petit fragment d'ADN. Récemment nous avons isolé, chez la raie, les quatre classes de récepteurs d'antigènes des lymphocytes T de mammifères, et nous pensons qu'elles existent aussi chez le requin.

La caractérisation d'une de ces classes de récepteurs a montré qu'ils sont presque aussi diversifiés que chez l'homme. Autrement dit, contrairement aux gènes codant les anticorps, les gènes codant les récepteurs des lymphocytes T semblent n'avoir quasiment pas évolué depuis le moment où les requins ont divergé de la lignée qui a abouti aux mammifères, il y a envi-

ron 450 millions d'années. L'ensemble des gènes codant les anticorps et celui des récepteurs des lymphocytes T auraient divergé d'un ancêtre commun.

À mesure que nous caractérisons le génome des requins et des animaux apparentés, nous découvrons de nombreux ensembles de gènes. Ainsi, on a découvert un groupe de gènes qui ressemblent à la fois aux gènes qui codent les anticorps et à ceux qui codent les récepteurs des lymphocytes T. Les gènes de ces ensembles subissent des mutations à un rythme accéléré.

Certains gènes de groupes différents se seraient mélangés et réassociés au cours de l'évolution. Ces échanges (chaque individu a des centaines de groupes, chacun contenant d'innombrables gènes) auraient favorisé l'apparition de nouveaux groupes de gènes. Peut-être découvrirons-nous encore de nouveaux récepteurs du système immunitaire du requin.

En raison de ces échanges, certains gènes sont redondants chez le requin : des segments V, D1, D2 et J identiques se regroupent de façon répétitive sur divers chromosomes. Ces recombinaisons, associées à d'autres mécanismes génétiques spécifiques du requin, permettent l'élaboration rapide de nouvelles familles de récepteurs. Chez les mammifères, les segments géniques sont présents sur un seul des chromosomes, et il y a peu de redon-

dance structurelle, de sorte que ce type de recombinaison est rare.

De surcroît, la duplication de segments géniques – l'existence de multiples segments V, D et J, une caractéristique du système immunitaire des mammifères – ne semble être apparue qu'au prix de l'introduction et du maintien de nombreuses séquences d'ADN non fonctionnelles. Au contraire, chez les requins et les raies, les éléments non fonctionnels sont rares et disparaissent sans doute rapidement du génome.

Parce qu'ils sont les représentants vivants d'une lignée ancienne, les requins et les animaux apparentés sont peut-être les seuls vestiges des systèmes immunitaires primitifs. Ces poissons qui ont été les témoins d'un moment clé de l'évolution nous permettront peut-être, un jour, de préciser les éléments qui ont engendré un système aussi efficace, voire plus, que l'armure du placoderme.

Plusieurs questions restent posées : quelles modifications du milieu ont fait apparaître des agents pathogènes qui ont ensuite tant modifié l'organisation des gènes qui codent les anticorps ? Le système immunitaire est-il conçu pour évoluer rapidement ? L'étude des vertébrés préhistoriques et des différences entre les mammifères contemporains le fait penser. Si cette hypothèse se confirme, nous devons revoir nos concepts sur l'adaptation et sur la sélection naturelle.

Gary LITMAN est professeur de biochimie et de biologie moléculaire à la Faculté de médecine de Floride du Sud.

Louis DUPASQUIER, *Evolution of the Immune System*, in *Fundamental Immunology*, troisième édition, sous la direction de William E. Paul, Raven Press, 1993.

Charles JANEWAY, *La détection des intrus*, in *Pour la Science*, n° 193, novembre 1993.

Gary W. LITMAN, Jonathan P. RAST, Michael J. SHAMBLOTT et al., *Phylogenetic Diversification of Immunoglobulin Genes and the Antibody Repertoire*, in *Molecular Biology and Evolution*, vol. 10, n° 1, pp. 60-72, janvier 1993.

Simona BARTL, David BALTIMORE et Irving L. WEISSMAN, *Molecular Evolution of the Vertebrate Immune System*, in *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 91, n° 23, pp. 10769-10770, 8 novembre 1994.
