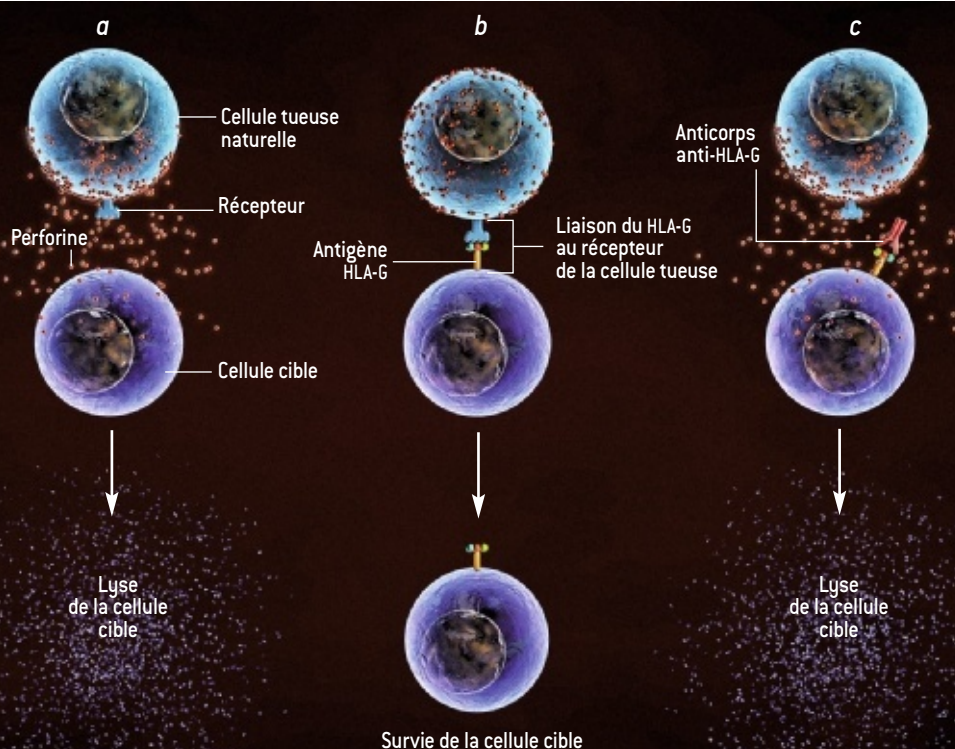


2. DANS LE TROPHOBLASTE, les cellules tueuses naturelles de la mère détruisent toute cellule ne portant pas d'antigènes HLA. Pourtant, elles épargnent les cellules fœtales dépourvues de ces antigènes. Pour expliquer ce phénomène, les auteurs ont placé en culture des cellules tueuses et des cellules cibles ne portant pas de HLA ; la cellule tueuse libère alors de la perforine, une molécule qui troue la membrane de la cellule cible et la lyse (a). En faisant exprimer l'antigène HLA-G à la surface de la cellule cible, les auteurs ont montré que la cellule tueuse ne sécrète plus de perforine (b). Mais l'ajout d'un anticorps anti-HLA-G, qui empêche la fixation du récepteur de la cellule tueuse sur la molécule HLA-G de la cellule cible, restaure la fonction lytique de la cellule tueuse (c). Les HLA-G inhibent donc la mort des cellules qui les portent, telles les cellules fœtales.



ex vivo (à partir des produits d'interruptions volontaires de grossesse, nous avons obtenu des cellules fœtales et maternelles).

In vitro, nous avons mis en culture les cellules des lignées humaines n'exprimant aucun antigène HLA, ni HLA-G, et nous les avons mises en contact avec des cellules tueuses naturelles provenant du sang veineux d'individus sains. Ces dernières détruisent les cellules en culture (voir la figure 2). Puis nous avons introduit le gène *HLA-G* dans les lignées humaines, qui synthétisent alors des antigènes HLA-G à leur surface. Selon l'origine des cellules tueuses, prélevées dans le sang de différents individus, la présence de HLA-G sur les cellules en culture inhibe l'activité lytique des cellules tueuses avec une efficacité allant de 78 à 95 pour cent.

Dans une autre expérience, nous avons traité avec des anticorps anti-HLA-G les cellules exprimant les molécules HLA-G. Les anticorps se fixent sur les HLA-G et nous avons constaté que les cellules tueuses naturelles détruisent à nouveau la quasi-totalité des cellules en culture. Ainsi, les HLA-G inhibent bien les cellules tueuses naturelles.

Est-ce aussi le cas lors d'une grossesse ? Nous avons étudié l'activité lytique des cellules tueuses naturelles à partir de tissus fœtaux et maternels, à savoir des cellules trophoblastiques et des cellules tueuses infil-

trant la decidua utérine, obtenues après des interruptions volontaires de grossesse.

Ces cellules trophoblastiques expriment de faibles quantités d'antigènes HLA-C et ne portent ni HLA-A ni HLA-B. *In vitro*, les cellules tueuses maternelles, abondantes dans la decidua utérine, détruisent des cellules n'exprimant pas ou peu de molécules HLA classiques à leur surface, à l'instar des cellules trophoblastiques. Pourtant, les cellules trophoblastiques fœtales survivent et ne sont pas rejetées par ces cellules tueuses maternelles. Comment expliquer cet apparent paradoxe ?

HLA-G inhibe la mort des cellules fœtales

En 1999, nous avons montré *ex vivo* que la présence de la protéine HLA-G protège les cellules trophoblastiques de l'activité destructrice des cellules tueuses naturelles maternelles. La protection est particulièrement efficace puisque les cellules fœtales sont épargnées même quand nous les mettons en présence de cellules tueuses provenant de mères différentes.

En outre, quand nous avons traité avec des anticorps anti-HLA-G les cellules humaines en culture, nous avons montré que les cellules tueuses naturelles détruisent les cellules trophoblastiques. Et pour déter-

miner si les antigènes HLA-C, présents en faible quantité sur les cellules fœtales, protègent contre les cellules tueuses, nous avons réalisé des expériences semblables avec un anticorps anti-HLA-C. Ce dernier ne restaure pas la destruction des cellules trophoblastiques par les cellules tueuses. Seule la présence des antigènes HLA-G à la surface des cellules fœtales les protège.

En conséquence, la molécule HLA-G inhibe les cellules tueuses naturelles. Comment agit-elle ? Elle se fixe sur des récepteurs inhibiteurs de la cytolyse : ILT2, ILT4 et KIR2DL4. Ce dernier surtout est présent à la surface des cellules tueuses naturelles infiltrant la decidua utérine. La liaison du HLA-G au récepteur de la cellule tueuse naturelle bloque le signal intracellulaire qui déclenche la migration des granules contenant la perforine vers le site de contact. La perforine n'est alors plus sécrétée : la cellule fœtale n'est pas détruite.

Dès le début de la grossesse, à partir d'un seul gène, les cellules fœtales produisent en fait sept formes de HLA-G ; quatre sont membranaires (HLA-G1, HLA-G2, HLA-G3 et HLA-G4) et s'expriment à la surface des cellules fœtales, et trois formes solubles (HLA-G5, HLA-G6 et HLA-G7) sont sécrétées dans le plasma sanguin et le liquide amniotique. Dans le noyau, le gène

est d'abord transcrit en ARN messager, une sorte de copie du gène. Puis ce que l'on nomme un épissage alternatif a lieu : l'ARN messager peut subir des coupures et des ligatures qui conduisent à la suppression de certaines régions dans l'ARN final. Ainsi, sept ARN messagers différents apparaissent et quittent le noyau. Ils migrent dans le cytoplasme de la cellule où ils sont traduits en sept protéines distinctes qui ont des structures et des formes différentes (voir l'encadré ci-dessous).

En 2001, nous avons montré que toutes les formes membranaires et solubles de HLA-G protègent le fœtus des cellules tueuses maternelles. Les formes membranaires de HLA-G jouent un rôle de tolé-

rance immunitaire localement, là où s'implante l'embryon, tandis que les formes circulantes auraient une activité systémique, dans l'ensemble de l'organisme fœtal. Mais pourquoi plusieurs formes de HLA-G existent-elles dans le tissu fœtal ?

Certains fœtus n'expriment pas toutes les formes de molécules HLA-G, car ils présentent dans leur génome deux variants nommés *null* du gène *HLA-G*. À cause d'une mutation ponctuelle, le gène *HLA-G null* ne produit pas les formes HLA-G1, HLA-G4 et HLA-G5. Pourtant, des adultes portent deux variants *null* dans leur génome, preuve que leur développement fœtal n'a pas été interrompu (et qu'ils exprimaient des molécules HLA-G fonctionnelles). Au

laboratoire, nous avons fait exprimer ce variant muté dans des cellules dépourvues d'antigènes HLA-G ; celles-ci produisent les protéines HLA-G2 et HLA-G6. Et ces antigènes protègent les cellules contre les cellules tueuses naturelles. Ainsi, une mutation dans le gène *HLA-G* peut empêcher la synthèse de certaines formes de HLA-G, mais d'autres sont encore exprimées.

En outre, les formes solubles d'antigènes HLA-G sont nécessaires à l'implantation de l'embryon dans l'utérus maternel. Quand on réalise une fécondation *in vitro*, on introduit dans l'utérus d'une femme un embryon « étranger ». Cet embryon a été obtenu après une fécondation *in vitro* entre un ovocyte (issu ou non de la future

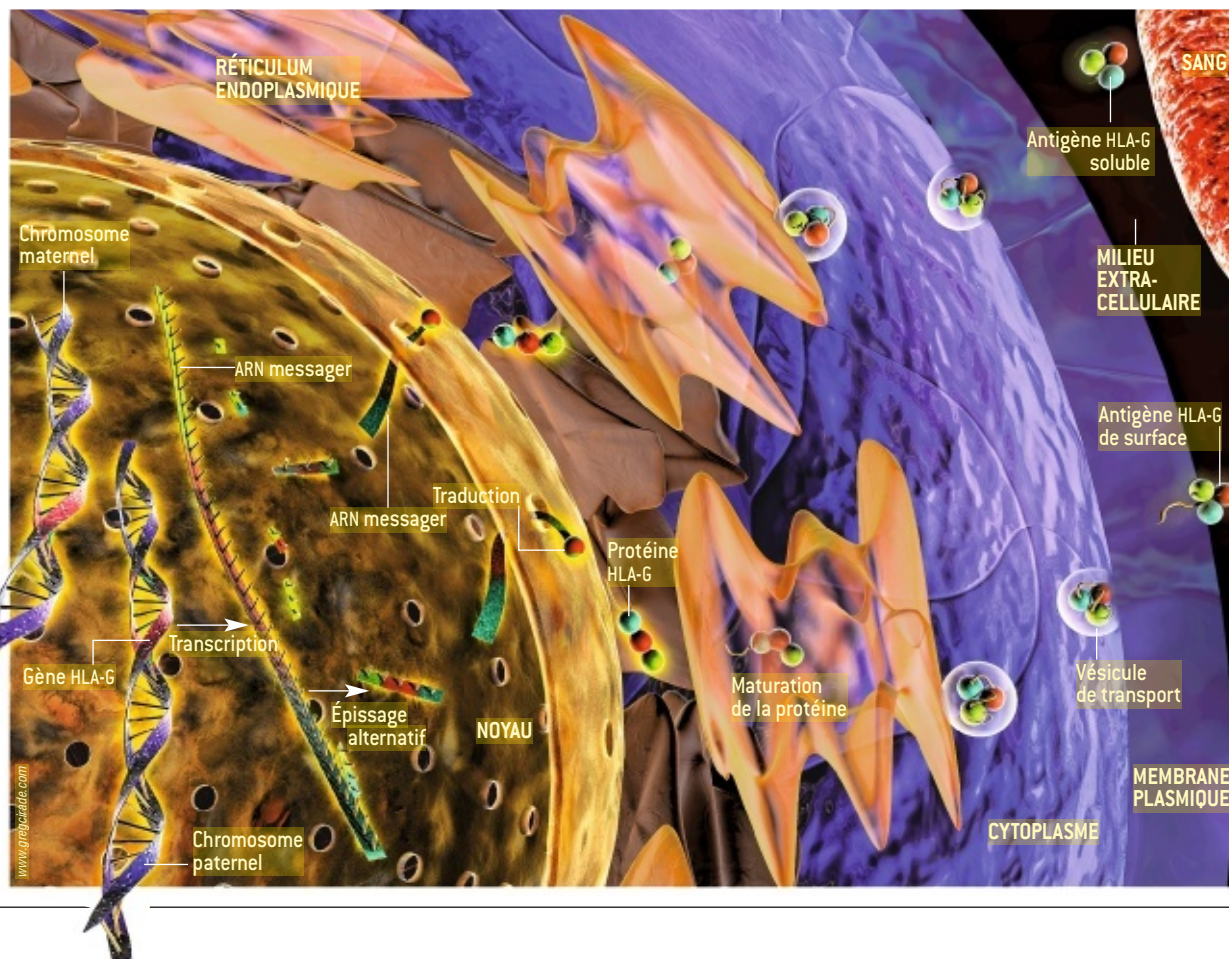
LA SYNTHÈSE DES SEPT ANTIGÈNES HLA-G CHEZ LE FŒTUS

Les cellules fœtales expriment un antigène HLA particulier, nommé HLA-G. Cette protéine existe en fait sous sept isoformes. Chaque cellule fœtale porte deux variants du gène *HLA-G*, un sur le chromosome paternel et un sur le chromosome maternel.

Dans le noyau, chaque variant est transcrit en ARN messager, une sorte de copie du gène (*un seul est représenté*). L'ARN messager subit alors un épissage alternatif : certaines régions sont supprimées, d'autres sont raboutées, de sorte que l'on obtient sept versions différentes de l'ARN messager. Ces sept ARN messagers migrent dans le cytoplasme où ils sont tra-

duits en protéines. Ces dernières transitent dans le réticulum endoplasmique d'où elles sortent en ayant acquis leur conformation finale. Puis elles se déplacent dans la cellule *via* des vésicules de transport ; les antigènes HLA-G de surface, HLA-G1, HLA-G2, HLA-G3 et HLA-G4, s'expriment à la membrane plasmique de la cellule fœtale ; les HLA-G solubles, HLA-G5, HLA-G6 et HLA-G7, sont sécrétés dans le sang du fœtus et le liquide amniotique.

Tous ces HLA-G inhibent l'activité des cellules tueuses maternelles. Si une mutation du gène *HLA-G* provoque une perte d'expression de certaines formes, il en reste toujours d'autres pour protéger le fœtus.



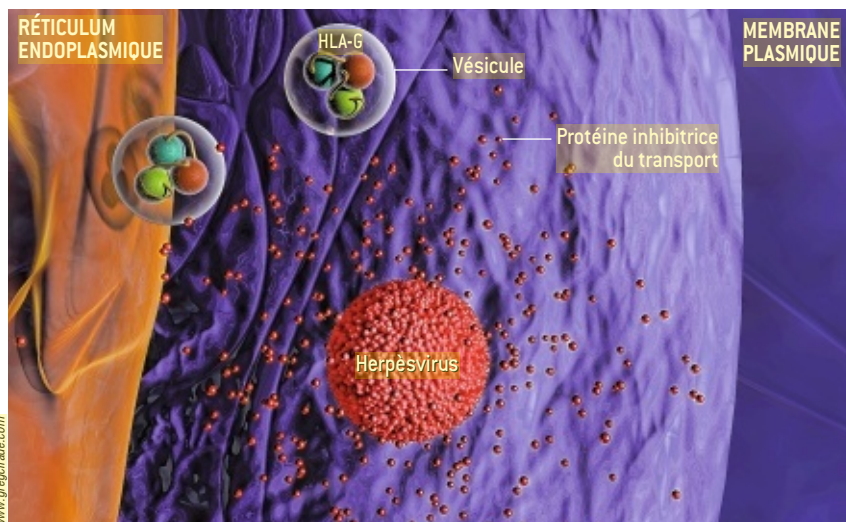
mère) et un spermatozoïde. L'embryon produit des molécules HLA-G avant d'être implanté dans l'utérus. En 2010, en étudiant 4212 cultures d'embryon, l'équipe de Vera Rebmann, de l'Université de Essen en Allemagne, a montré que l'implantation de l'embryon et la réussite de la grossesse dépendent de la quantité de HLA-G solubles libérés par l'embryon ; plus elle est importante, plus la grossesse a de chances de se dérouler jusqu'à son terme.

Les antigènes HLA-G sont donc nécessaires à la tolérance fœto-maternelle. Leur absence ou leur quantité insuffisante devrait donc provoquer des avortements spontanés, c'est-à-dire des rejets du fœtus par l'organisme maternel. En 2000, nous avons étudié l'expression de HLA-G lors de la prééclampsie, une pathologie de la grossesse qui se manifeste par une hypertension artérielle chez la mère et conduit à des avortements ou à des accouchements prématurés. Les causes de la maladie sont inconnues, mais on observe un défaut de vascularisation du placenta, qui ne reçoit pas suffisamment de sang maternel. Pour compenser ce manque de sang vers le fœtus, l'organisme de la mère en envoie davantage (d'où l'hypertension artérielle) ou prive en oxygène ses organes vitaux, ce qui peut aboutir à des défaillances rénales par exemple.

Leur absence cause des avortements

Le placenta est d'autant plus vascularisé qu'il crée des replis (ou invaginations) dans la decidua utérine. Nous avons montré, avec des placentas normaux, que ce degré d'invasion est d'autant plus grand que l'expression des HLA-G est importante. Pour les placentas prééclampsiques, l'expression des HLA-G est diminuée, et la forme HLA-G3 est absente. À noter que l'expression des HLA-G dans le trophoblaste est indépendante des anomalies chromosomiques embryonnaires.

D'autres pathologies pendant la grossesse peuvent conduire à des fausses couches spontanées. C'est le cas des infections du trophoblaste par l'herpèsvirus et le cytomégalovirus. Dans ces deux cas, on n'observe pas d'expression des molécules HLA-G à la surface des cellules fœtales. Quand une protéine, telle HLA-G, est synthétisée dans une cellule, elle est assemblée dans le cytoplasme. Cette protéine subit ensuite une maturation



3. L'HERPÈSVIRUS peut infecter le trophoblaste, quand une femme est contaminée pendant sa grossesse. Or, dans les cellules trophoblastiques, ce virus sécrète des protéines qui inhibent le transport des vésicules contenant les antigènes HLA-G du réticulum endoplasmique à la membrane. L'expression des HLA-G diminue, de sorte que les cellules tueuses maternelles peuvent rejeter le fœtus.

dans un compartiment du cytoplasme nommé le réticulum endoplasmique. Puis la protéine sort du réticulum endoplasmique par des vésicules de transport qui la conduisent à la membrane cellulaire. Or l'herpèsvirus sécrète des protéines, telle ICP47, qui inhibent une protéine de transport participant au transfert des molécules HLA-G du réticulum endoplasmique vers la surface cellulaire (voir la figure 3). La diminution du nombre de HLA-G dans le trophoblaste provoque un avortement (car les cellules tueuses naturelles de la mère le rejettent).

De même, dans le trophoblaste, le cytomégalovirus diminue l'expression membranaire des HLA-G et de HLA-C via deux mécanismes distincts ; une protéine virale s'associe à ces deux antigènes et les retient dans le réticulum endoplasmique ; une autre inhibe le transport du réticulum endoplasmique vers la surface cellulaire.

Les antigènes HLA-G permettent donc la nidation de l'ovule fécondé dans l'utérus, en empêchant le système immunitaire maternel de le rejeter. Un défaut d'expression de ces molécules – à cause d'un virus ou d'autres infections, par exemple parasitaires – aboutit souvent à une fausse couche.

Différentes équipes ont confirmé ces résultats *in vivo*. En 2005, Spyros Dendrinou, de l'Université d'Athènes, et ses collègues ont suivi la gestation de souris transgéniques exprimant les molécules humaines HLA-G. Ils ont montré que les HLA-G sont présents dans le sérum des

souris juste après la fécondation et leur concentration augmente progressivement pendant la gestation. En interrompant la gestation de ces souris avec un agent anti-progestérone, la mifépristone (RU486), les biologistes ont constaté une diminution immédiate et importante des quantités de HLA-G circulant dans le sang, accompagnée d'un avortement. Ces résultats montrent que les HLA-G existent très tôt après la fécondation ; chez la femme, ils seraient un marqueur de bon déroulement de la grossesse.

Qui plus est, les singes rhésus expriment une molécule nommée Mamu-AG proche des antigènes humains HLA-G. Au début des années 2000, Ted Golos, de l'Université du Wisconsin aux États-Unis, et ses collègues ont montré le rôle fondamental de cet homologue lors de la gestation ; ils ont bloqué la molécule Mamu-AG, soit avec un anticorps neutralisant, soit avec un ARN interférant qui empêche la transcription du gène. Dans les deux cas, ils ont observé un arrêt du développement placentaire et une altération de la vascularisation existant entre la mère et le fœtus. Ainsi, *in vivo*, les molécules d'histocompatibilité sont essentielles à la mise en place d'un environnement favorable au bon développement de la gestation.

Par ailleurs, les antigènes HLA-G ont une autre fonction : ils permettraient aux cellules fœtales de migrer dans le sang et les tissus de la mère. Ce mécanisme, qualifié de microchimérisme, est la présence dans un organisme, à une faible concentration,