

# Les récepteurs BCR

## 1. Introduction

Les deux grands types de lymphocytes, les B, support de l'immunité humorale et les T, support de l'immunité cellulaire, expriment des récepteurs membranaires liés à leurs fonctions dans l'immunité : ils sont chargés de reconnaître des antigènes et d'apporter des réponses appropriées. À partir d'une multitude d'antigènes, une grande diversité de réponses peut se mettre en place ; entre les deux, les unités responsables de la fixation des ligands (antigènes) et celles responsables de l'initiation des signaux apparaissent au contraire très uniformes, constituées d'unités protéiques constantes, liées entre elles de façon non covalente.

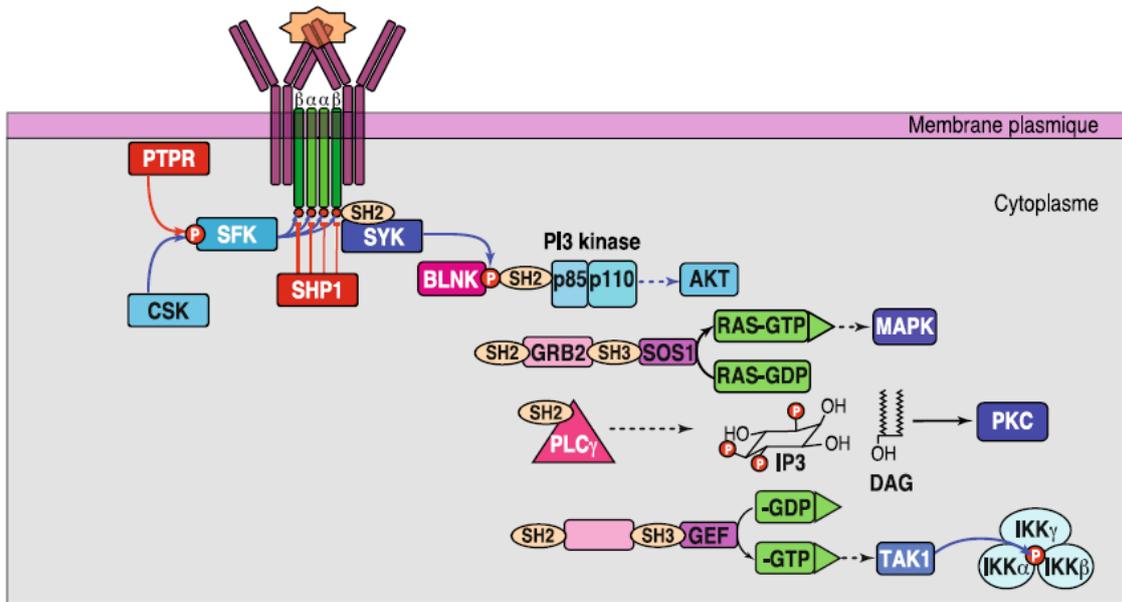
Notre intention n'est pas de résumer en un chapitre toute l'immunologie, mais d'en extraire quelques informations relatives aux modalités de la signalisation lymphocytaire, depuis les récepteurs jusqu'aux effecteurs, en essayant de récapituler en quoi ces voies peuvent être mises à profit par les cellules cancéreuses et en quoi elles peuvent, en conséquence, servir de cibles à des traitements potentiels.

## 2. Les récepteurs des cellules B

### 2.1. Activation des récepteurs BCR

Le récepteur des cellules B (BCR, *B-cell receptor*) est un complexe multiprotéique comprenant une immunoglobuline (Ig) membranaire, élément de fixation de l'antigène, et un élément de signalisation fait de l'association hétérodimérique, *via* des ponts disulfures, d'une protéine Ig $\alpha$  et d'une protéine Ig $\beta$ . L'élément de fixation de l'antigène est une Ig complète, associant une chaîne lourde H et une chaîne légère L, insérée dans la membrane plasmique au niveau de son fragment Fc et présentant vers l'extérieur ses fragments Fab N-terminaux (fig. 13-1). Ces derniers présentent une immense variété de séquences, obtenue par recombinaison génique et hypermutations somatiques ; ils déterminent la spécificité clonale des anticorps et sont capables

de reconnaître et de fixer chacun un antigène original. Les protéines Ig $\alpha$  et Ig $\beta$ , distinctes mais homologues, leur sont associées par des liaisons non covalentes. Elles contiennent chacune un motif d'activation contenant deux résidus tyrosine (ITAM, *Immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) du côté cytoplasmique, dans le cadre d'une séquence consensus



**Fig.1** – Récepteurs des cellules B et voies de signalisation associées.

Les récepteurs des cellules B sont constitués de deux chaînes d'immunoglobulines recevant le signal (antigène circulant) et d'un complexe formé de deux chaînes  $\alpha$  et de deux chaînes  $\beta$  transmettant l'information. La phosphorylation de résidus tyrosine des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  par des kinases de la famille SRC (SFK), en équilibre avec des phosphatases SHP, permet le recrutement de la tyrosine kinase SYK. Cette dernière phosphoryle des protéines adaptatrices comme BLNK qui permet l'activation, via la reconnaissance de leurs phosphotyrosines par des protéines à domaine SH2, la voie de la PI3 kinase, la voie des MAP kinases, les voies des seconds messagers IP3 et DAG. L'activation des récepteurs des cellules B permet également l'activation de la voie du NF $\kappa$ B via TAK1, une MAP3K.

Des tyrosine kinases cytoplasmiques sont chargées de la phosphorylation de ces résidus tyrosine, ce qui permet ensuite leur reconnaissance par des protéines pourvues de domaines SH2 . Ces tyrosine kinases appartiennent à la famille des SRC kinases (SFK, SRC-family kinases) : ce sont en particulier LYN (*Yamaguchi sarcoma viral related oncogene homolog*), FYN (*FES-YES related novel gene*), BLK (*B-lymphoid tyrosine kinase*) et LCK (*Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase*). Ces kinases sont ancrées dans la membrane plasmique par une chaîne acylée ajoutée de façon post-traductionnelle (voir Annexe C). Leur activité est facilitée par l'agrégation locale des récepteurs au niveau de radeaux lipidiques (*rafts*) ; cette agrégation survient lors de l'activation des récepteurs, et permet l'agrégation des kinases.

Des phosphatases comme SHP1 (*SH2-containing phosphatase 1*) peuvent être recrutées pour contrebalancer l'activation des kinases afin d'obtenir un degré de phosphorylation adéquat des ITAM. Les kinases, en dehors du complexe de réception, sont elles-mêmes soumises à une

balance entre leur phosphorylation par une kinase CSK (*c-src tyrosine kinase*) et leur déphosphorylation par une phosphatase CD45 ou PTPR (*Protein tyrosine phosphatase, receptor type*).

C'est une autre tyrosine kinase, SYK (*Spleen tyrosine kinase*), qui reconnaît les tyrosines phosphates des ITAM des protéines Iga et Igβ et peut à son tour phosphoryler des substrats, qui est responsable de la transduction du signal. Une protéine adaptatrice pourvue de domaines SH2, BLNK (*B-cell linker protein*), permet le recrutement des effecteurs de l'activation des BCR. Quant à l'antigène qui a activé le signal, il est internalisé avec le récepteur, envoyé vers des compartiments endosomaux pour être ultérieurement présenté aux protéines du complexe majeur d'histocompatibilité.

Les protéines Iga et Igβ semblent en revanche rester en place pour maintenir une signalisation en absence du complexe de réception du signal. La figure 1 présente l'initiation de la signalisation par les récepteurs BCR.

## **2.2.Voies de transmission du signal**

L'activation des BCR conduit à une grande diversité de voies de signalisation, tout particulièrement aux voies de prolifération nécessaires à l'expansion clonale des lymphocytes B. Nous ne ferons ici que les citer, en renvoyant le lecteur vers les chapitres où ces voies sont présentées en détail :

- voie ERK des MAP kinases , atteinte par le recrutement de GRB2 par la protéine adaptatrice BLNK ; rappelons simplement que GRB2 recrute SOS1, la protéine GEF de RAS, lui-même activateur de la MAP3K appelée RAF ;
- voies p38 et JNK des MAP kinases , atteintes par recrutement, par BLNK, de GEF de petites protéines G de la famille RHO, qui activent les MAP3K correspondantes ;
- voie de la PI3 kinase , atteinte par recrutement de la protéine adaptatrice GAB, qui possède un domaine SH2 qui reconnaît les tyrosines phosphates de SYK et un domaine SH3 reconnu par la sous-unité régulatrice de la PI3 kinase ;
- voie des IKK , atteinte d'une part par AKT, de la voie de la PI3 kinase, et d'autre part par l'activation de TAK1 par des petites protéines G activées après recrutement d'un GEF ;
- voie de l'IP3 et du DAG , atteinte par activation de la PLCg, qui est pourvue de domaines SH2 ;

Toutes ces voies convergent vers des facteurs de transcription impliqués dans la survie et la prolifération lymphocytaires et étudiés dans les chapitres correspondants :

MYC, ELK, JUN, NFkB, etc.

### 2.3. Aperçu de la signalisation du BCR

Le récepteur d'antigène des cellules B (BCR) est un complexe multiprotéique exprimé à la surface des cellules B, qui se compose d'une partie liant le ligand, l'immunoglobuline transmembranaire liant l'antigène (mIg), associée à la partie de transduction du signal, les hétérodimères Ig- $\alpha$ /Ig- $\beta$  (CD79a/CD79b). La voie de signalisation du BCR est cruciale pour le développement, l'activation, la prolifération et la différenciation des cellules B et, par conséquent, pour la réponse immunitaire humorale.

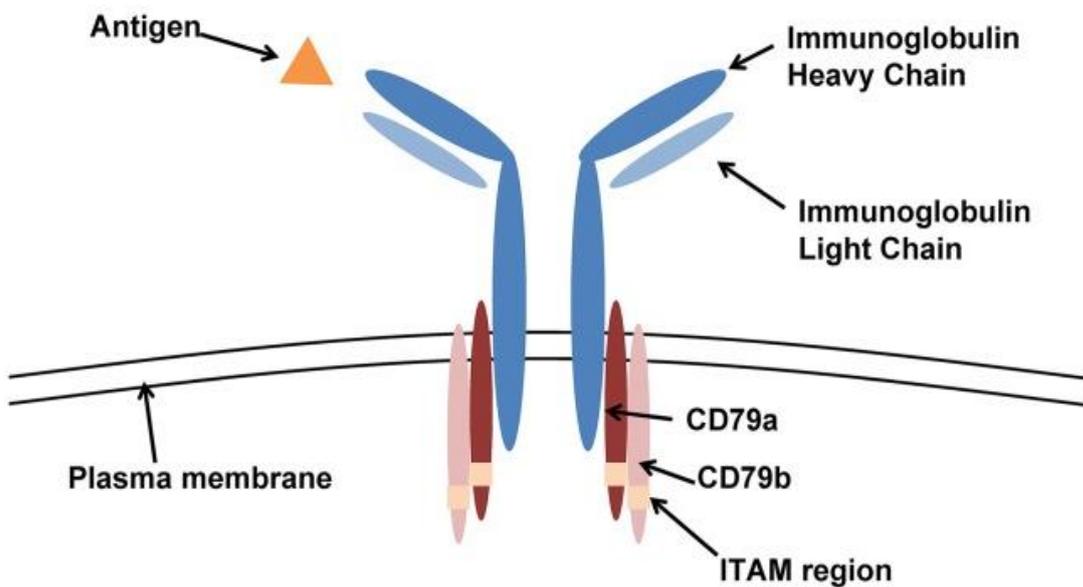


Fig 2. Structure du récepteur BCR

### 3. Cascade de signalisation du BCR

L'engagement du BCR par un antigène induit un mouvement membranaire et une agrégation des composants du BCR qui conduisent à la phosphorylation des ITAM dans les queues cytoplasmiques de CD79a et CD79b. Cette dernière est accomplie par la kinase LYN de la famille SRC. Les ITAM phosphorylés recrutent la tyrosine kinase de la rate (SYK) au niveau du récepteur, où elle est activée par la phosphorylation des tyrosines, et propage l'activation du signal aux protéines de signalisation en aval. L'activation de SYK joue un rôle essentiel dans la signalisation du BCR, en initiant la formation du signalosome BCR, des protéines adaptatrices, telles que CD19 et B-cell linker (BLNK), et des tyrosine kinases de Bruton (BTK), et des enzymes de signalisation telles que PLC $\gamma$ 2, PI3K et Vav. Les signaux émanant de ces signalosomes initient et régulent les systèmes de signalisation en aval, y compris la

voie RAS/RAF/MEK/ERK, qui sont importants pour les décisions relatives au destin des cellules B, telles que la prolifération, la survie, la différenciation et la mort cellulaire.

### **3.1.Voie PLC $\gamma$ 2**

L'activation du PLC $\gamma$ 2 entraîne l'hydrolyse des phospholipides, ce qui produit des seconds messagers, l'inositol-1,4,5-trisphosphate (IP3) et le diacylglycérol (DAG), qui induisent la libération de calcium intracellulaire et activent la protéine kinase C $\beta$  (PKC $\beta$ ), respectivement. Ensuite, la signalisation calcium-dépendante conduit à l'activation du facteur nucléaire d'activation des cellules T (NFAT), un facteur de transcription calcium-dépendant en aval de la voie calmoduline/calcineurine impliquée dans le développement des cellules B matures. D'autre part, le PKC $\beta$  activé induit l'activation de ERK, JNK et p38. En outre, l'activité de PKC $\beta$  induit également la phosphorylation et la dégradation subséquente de l'inhibiteur de NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B), et donc l'activation de NF- $\kappa$ B, qui a des fonctions régulatrices importantes dans l'activation, la maturation et la survie des cellules B.

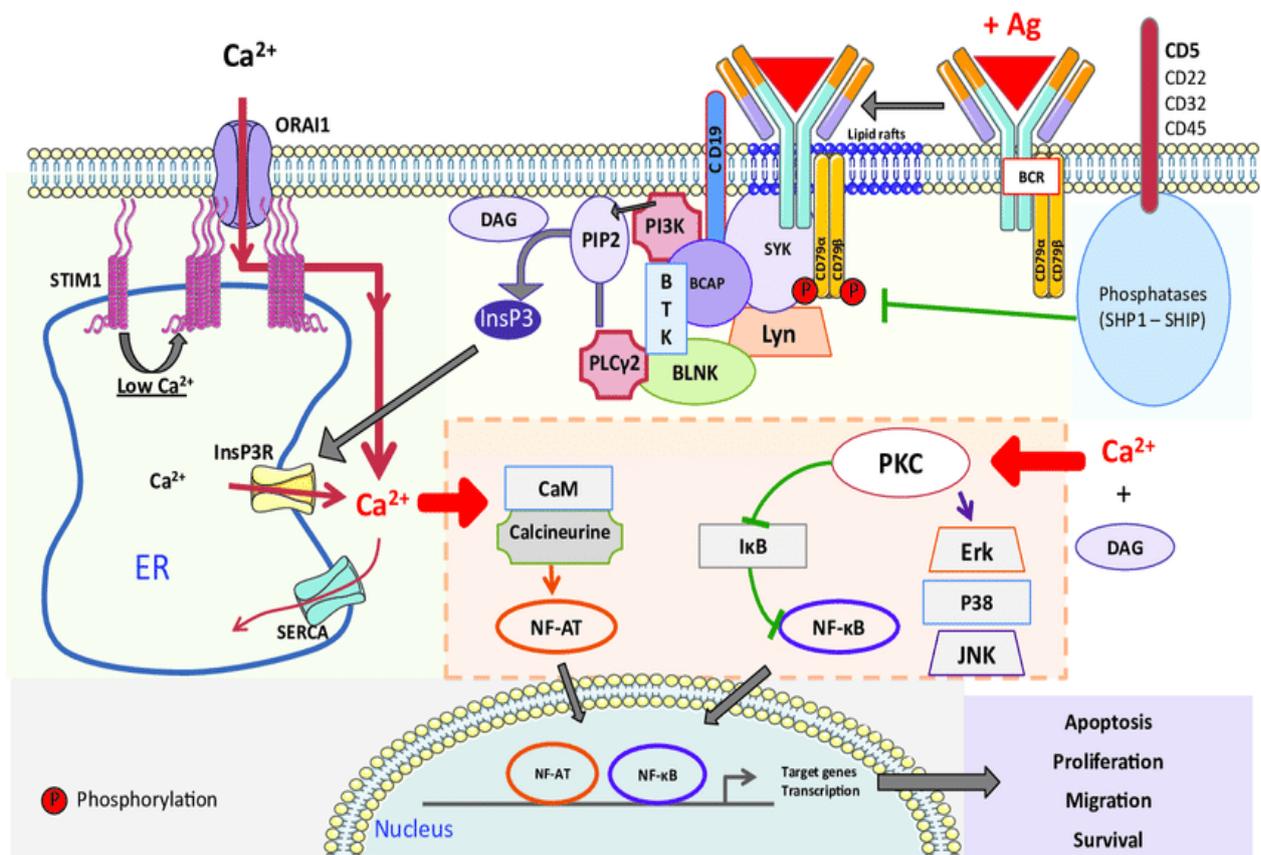
### **3.2.Voie ERK**

En plus d'être activé par la voie PLC $\gamma$ 2 dans les cellules B après une stimulation par le BCR, ERK peut également être activé par le RAS. Il a été récemment signalé que RasGRP3, un facteur d'échange de nucléotides de guanine, joue un rôle important dans le couplage du BCR à l'activation du SRA, d'une manière qui dépend de la voie PLC $\gamma$ 2/PKC $\beta$ . Une fois activé, RasGRP3 se lie directement à RAF-1, le MAP3K de la voie ERK. Le RAF-1 activé phosphoryle ensuite MEK1/MEK2, qui tous deux activent à leur tour ERK1/ERK2. Les ERK1/ERK2 phosphorylés forment des dimères, une étape nécessaire à la translocation des ERK dans le noyau qui initie consécutivement la transcription de gènes régulateurs tels que fos, jun, qui régulent un sous-ensemble de gènes responsables de la prolifération, de la survie et de la différenciation cellulaires.

### **3.3.Voie PI3K**

L'activation de la PI3K nécessite la phosphorylation dépendante du LYN du CD19, exprimé à la surface des cellules B à tous les stades de l'ontogénèse des cellules B. La PI3K activée génère du PIPA, qui est une molécule de la famille des protéines. La PI3K activée génère du PIP3, qui sert de médiateur au recrutement membranaire et à l'activation ultérieure de nombreuses protéines de signalisation contenant des domaines d'homologie de la pléckstrine

(PH) et est impliqué dans la propagation des signaux en aval de la PI3K. La protéine kinase AKT, l'un des plus importants effecteurs en aval de la PI3K, peut améliorer la survie des cellules en désactivant les protéines proapoptotiques et les facteurs de transcription, tels que BCL-2 et mTOR. L'AKT peut également induire l'expression de gènes prosurvivants et provoquer la dégradation de IκB, permettant ainsi à NF-κB d'activer l'expression de plusieurs gènes anti-apoptotiques. De plus, l'AKT est connue pour avoir des effets profonds sur la régulation de l'apoptose et du métabolisme du glucose en inactivant GSK3. En général, la fonction de la voie de signalisation PI3K-AKT joue un rôle essentiel dans la prolifération, la croissance, le métabolisme et l'apoptose des cellules.



**Fig 3.** Les différentes voies de signalisation liées au BCR

### 3. Régulation négative

L'ampleur et la durée de la signalisation du BCR sont étroitement régies par un équilibre dynamique entre les mécanismes d'activation et d'inhibition. La régulation négative de la signalisation du BCR est un processus très complexe dans lequel LYN, CD22 (le corécepteur négatif du BCR) et la tyrosine phosphatase-1 contenant le domaine SH2 (SHP-1) sont chacun

des éléments limitants. Les signalosomes déclenchés par le BCR peuvent être modulés par des récepteurs transmembranaires tels que FcγRIIb1, CD19 et CD22, qui s'associent au BCR de manière constitutive ou dépendante du ligand. Leur fonction inhibitrice repose sur leur domaine cytoplasmique appelé motif d'inhibition basé sur la tyrosine des immunorécepteurs (ITIM), qui est phosphorylé par LYN lors de la stimulation du BCR. Les ITIM phosphorylés recrutent des phosphatases, telles que la Src homology 2 (SH2) domain-containing phosphatase-1 (SHP-1) ou la SH2 domain-containing inositol phosphatase (SHIP), arrêtant ainsi les signalosomes BCR. Par conséquent, LYN est responsable de la régulation positive et négative de la signalisation du BCR. Récemment, une nouvelle fonction immunorégulatrice a été attribuée aux ITIM, qui peuvent propager des signaux inhibiteurs dans des configurations spécifiques appelées ITAM inhibiteurs (ITAMi).

#### **4. Relation avec les maladies**

La signalisation du BCR joue un rôle pathogène important dans la leucémie lymphocytaire chronique (LLC) et les lymphomes à cellules B, en raison des restrictions structurelles du BCR ainsi que de la survie et de la croissance des cellules B malignes qui dépendent du BCR. Plusieurs marqueurs pronostiques de la LLC, tels que le statut mutationnel de l'IgVH, la protéine kinase 70 associée à la chaîne zéta (ZAP-70) et le ligand 3 de la chimiokine (motif C-C) (CCL3), sont associés à la liaison (auto) antigène et à la fonction du BCR, ce qui suggère une relation entre une signalisation BCR accrue et un pronostic plus défavorable. En outre, les BCR des patients atteints de LLC sont caractérisés par une utilisation biaisée des gènes IGHV et IGLVk/1, qui diffère de celle des cellules B normales. Souvent, des IGHV spécifiques s'associent à des IGHD-J spécifiques et des IGLV spécifiques à des IGLJ spécifiques, ce qui conduit à des régions 3 déterminant la complémentarité des chaînes lourdes (HCDR3) et des smIgs remarquablement similaires et stéréotypés. Ces recherches soutiennent le concept de sélection et d'expansion des clones de la LLC induites par les antigènes, et suggèrent que la liaison récurrente d'ensembles restreints d'épitopes antigéniques est liée à la sélection des clones de cellules B normales qui entrent dans le processus pathogénique de la LLC. D'autres preuves de l'importance de la signalisation du BCR dans la LLC proviennent de données GEP comparatives qui ont révélé que la signalisation du BCR est la voie la plus importante activée dans les cellules de la LLC isolées des tissus lymphatiques. Dans le même ordre d'idées, les cellules des patients dont l'issue est la plus défavorable (par exemple, la LLC non mutée (U-CLL)) présentent des PEG identifiant l'activation de gènes en aval du BCR.

## 5. Ciblage thérapeutique

Le rôle important de la signalisation du BCR dans la survie des cellules de la LLC-B a donné lieu à de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant les éléments du signalosome. En particulier, les cibles les plus avancées de la signalisation BCR sont SYK, BTK et PI3K $\delta$ .

Le R788 (fostamatinib disodium, FosD) est le seul inhibiteur de SYK utilisé en clinique à ce jour. Il s'agit d'un promédicament qui est rapidement converti en une forme bioactive, le R406, *in vivo*. Des résultats prometteurs ont été obtenus dans la LLC-B en utilisant le R788 dans une étude de phase I/II ; le PCI-32765, le premier inhibiteur de BTK humain, peut inhiber le BCR, les voies de signalisation médiées par les récepteurs des chimiokines et la sécrétion de chimiokines (CCL3 et CCL4) médiée par l'activité du BCR. Il a montré des résultats cliniques encourageants chez les patients atteints de malignité à cellules B, en particulier chez les patients atteints de B-CLL. Par ailleurs, le GS-1101 (Idelalesib), précédemment appelé CAL-101, est un inhibiteur puissant et hautement sélectif de PI3K $\delta$  qui est le premier inhibiteur de PI3K $\delta$  en utilisation clinique. Le GS-1101 induit l'apoptose dans les lignées de cellules B et les cellules primaires de patients atteints de différentes tumeurs malignes à cellules B, notamment la LLC, la MCL et le myélome multiple.

## 6. Conclusion

Au cours des décennies, la signalisation du BCR a fait l'objet de nombreuses études. Le décryptage d'une voie de signalisation aussi complexe, composée de centaines de protéines et stimulant des dizaines de réactions cellulaires, a permis de mieux comprendre la biologie des tumeurs malignes lymphoïdes. Suite à ces découvertes fondamentales, un certain nombre de nouveaux médicaments ciblant la signalisation BCR pathologique sont apparus et beaucoup d'entre eux montrent d'excellentes propriétés cliniques.

### Références :

Bojarczuk. et al. La signalisation du récepteur des cellules B dans la pathogenèse des tumeurs malignes lymphoïdes [J]. *Cellules, molécules et maladies du sang*. 2015 Oct 31;55(3):255-65.

Cambier, J. C. ; et al. Transduction du signal par le récepteur de l'antigène des cellules B et ses corécepteurs [J]. *Revue annuelle d'immunologie*. 1994 Apr;12(1):457-86.

Limnander A. ; et al. STIM1, PKC-[delta] et RasGRP fixent un seuil pour la signalisation Erk proapoptotique pendant le développement des cellules B [J]. *Nature immunology*. 2011 May 1;12(5):425-33.

Szydłowski M, Jabłońska E, Juszczynski P. Le facteur de transcription FOXO1 : un effecteur critique de l'axe PI3K-AKT dans le développement des cellules B [J]. *Revue internationale d'immunologie*. 2014 Mar 4;33(2):146-