

ECOLE DOCTORALE Hématologie Oncogénèse Biothérapies
Laboratoire INSERM UMR 976

DOCTORAT EN SCIENCE

Immunologie

Adèle DE MASSON D'AUTUME

Lymphocytes B régulateurs dans la GVH chronique humaine
et
Rôle de la myosine 18A dans la cytotoxicité des lymphocytes NK

*Regulatory B cells in human chronic graft-versus-host disease
and
Role of myosin 18A in NK cell cytotoxicity*

Thèse dirigée par le Dr Armand BENSUSSAN

Soutenue le 13 Octobre 2016 A la Faculté de Médecine Paris 7

JURY

M. le Pr. Gérard SOCIE, Président
M. le Dr Armand BENSUSSAN, Directeur
M. le Pr Julien SENESCHAL, Rapporteur
M. le Pr Jacques-Olivier PERS, Rapporteur
M. le Pr Abdellatif TAZI, Examineur
M. le Dr Salem CHOUAIB, Examineur
M. le Pr Thierry PASSERON, Examineur
M. le Pr Jean-David BOUAZIZ, Examineur

Remerciements

Je tiens à remercier particulièrement,

- . le Professeur Gérard Socié pour sa confiance, ses conseils, toute l'aide qu'il nous apporte et toutes les opportunités de collaboration fructueuse qu'il nous fournit,
- . le Docteur Bensussan pour m'avoir donné l'opportunité de mener à bien ces projets et pour son grand soutien dans cette aventure,
- . le Professeur Martine Bagot pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail, pour m'avoir accordé sa confiance, pour son aide et son soutien dans tous nos projets,
- . le Professeur Abdellatif Tazi pour son aide précieuse dans le travail sur la myosine 18A, ainsi que pour m'avoir fait le grand honneur d'assister à cette thèse et de faire partie du jury,
- . le Professeur Julien Seneschal et le Professeur Jacques-Olivier Pers qui m'ont fait le grand honneur d'accepter d'être rapporteurs de ce travail,
- . le Professeur Thierry Passeron et le Docteur Salem Chouaib pour m'avoir fait le grand honneur de prendre part à ce jury,
- . le Professeur Jean-David Bouaziz pour son optimisme, sa disponibilité, ses qualités scientifiques et humaines,
- . le Dr Jérôme Giustiniani pour sa gentillesse, son aide immense, et tout ce qu'il m'a appris,
- . le Dr Hélène Le Buanec pour son aide précieuse, ses idées, et son expertise en biologie cellulaire,
- . le Dr Nicolas Dulphy pour son aide et ses conseils sur les lymphocytes NK,
- . le Dr Anne Marie-Cardine pour son aide et son expertise scientifique,
- . toute l'équipe de greffes de moëlle, Régis Peffault de Latour, Marie Robin, Aliénor Xhaard, Flore Sicre de Fontbrune, Nathalie Dhédin pour leur contribution de prélèvements,
- . Sophie Ducheze, Christelle Doliger et Niclas Setterblad de la plateforme de cytométrie de l'IUH pour leur aide technique,
- . le Dr Laurence Michel pour sa disponibilité et des discussions scientifiques intéressantes,
- . le Dr Reem Al-Daccak, Hocine et Laura pour leur aide,
- . Stéphanie, François, Estelle, Jean-Benoît, Marion, Mylène, Hocine pour leur contribution, et pour l'ambiance,
- . l'Institut National du Cancer / Institut Thématique Multi-Organismes Cancer pour m'avoir supportée financièrement, la Société Française de Dermatologie et l'Association d'Entraide aux Greffés de Moëlle Osseuse pour leur financement de nos projets de recherche.
- . l'homme de ma vie, qui est certainement ma plus belle découverte de ces années de recherche.

RESUME

Lymphocytes B régulateurs dans la GVH chronique humaine
et

Rôle de la myosine 18A dans la cytotoxicité des lymphocytes NK

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (HSCT, *hematopoietic stem cell transplantation*) reste le seul traitement curatif pour de nombreux patients atteints d'hémopathies malignes. Dans près d'un cas sur deux, l'allogreffe se complique de réaction chronique du greffon contre l'hôte (GVH (*graft-versus-host*) chronique). Les lymphocytes B régulateurs sont une population de lymphocytes B sécrétant de l'interleukine (IL)-10 et capables d'inhiber les réactions inflammatoires. Nous avons montré que chez l'homme atteint de GVH chronique active, la fréquence des lymphocytes B régulateurs est diminuée dans le sang périphérique. Les lymphocytes B régulateurs sont principalement enrichis dans la population B de phénotype mémoire et plasmablastique. Une augmentation de la fréquence des plasmablastes et une diminution du nombre de lymphocytes B de phénotype mémoire chez les patients allogreffés atteints de GVH chronique active suggèrent des altérations de la différenciation terminale des lymphocytes B. Nos travaux ont également porté sur les lymphocytes NK qui ont un rôle cytotoxique. Nous avons identifié l'un des récepteurs de surface des lymphocytes NK, CD245, comme étant la myosine 18A. La myosine 18A est impliquée dans l'organisation du cytosquelette et constitue un récepteur du surfactant A. Nous avons montré qu'il s'agissait d'un récepteur co-activateur de la cytotoxicité NK et que cette augmentation de cytotoxicité pourrait être liée à la stimulation de l'expression de la molécule de stimulation CD137 (4-1BB) à la surface du lymphocyte NK. Ces résultats suggèrent un potentiel rôle thérapeutique de l'utilisation d'anticorps agonistes spécifiques de CD245.

SUMMARY

Regulatory B cells in human chronic graft-versus-host disease
and

Role of myosin 18A in NK cell cytotoxicity

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) remains the only curative treatment for many patients with haematological malignancies. In almost half of the cases, it is complicated by chronic graft-versus-host disease (cGVHD). Regulatory B cells are a population of B cells secreting interleukin (IL)-10 that can inhibit the immune responses. We have shown that in patients with active cGVHD, the frequency of regulatory B cells is decreased in the peripheral blood. Regulatory B cells are enriched in the memory B cell and plasmablast B cell pools. Increased plasmablasts frequencies and decreased memory B cells frequencies were found in patients with active cGVHD, suggesting alterations in the terminal differentiation of B cells. Our work also focused on NK cells that have a cytotoxic role. We identified one surface receptor of NK cells, CD245, as myosin 18A. Myosin 18A is involved in the organization of the cytoskeleton and is a receptor of the surfactant A. We have shown that myosin 18A was a coactivating receptor of the NK cytotoxicity and that this increase in cytotoxicity could be linked to the stimulation of the expression of CD137 (4-1BB) on the surface of the NK lymphocyte. These results suggest a potential therapeutic role of the use of specific CD245 agonist antibodies.

Mots clés

Lymphocyte

Lymphocyte B

Lymphocyte B régulateur

Lymphocyte NK

Cytotoxicité

GVH, réaction du greffon contre l'hôte

Myosine 18A

CD245

Keywords

Lymphocyte

B cell

Regulatory B cell

NK cell

Cytotoxicity

GVHD, graft-versus-host disease

Myosin 18A

CD245

TABLE DES MATIERES

Introduction	6
Première partie : Lymphocytes B régulateurs dans la GVH chronique humaine	8
A. Ontogenèse des lymphocytes B humains	8
1. Différenciation B précoce.....	8
2. Différenciation B dépendante de l'antigène	10
3. Réponse des lymphocytes B aux stimuli T-indépendants	12
B. Lymphocytes B régulateurs	13
1. Historique de la découverte des lymphocytes B régulateurs (Breg)	13
2. Lymphocytes B régulateurs chez l'homme (publications 1 et 2).....	14
C. Physiopathologie de la GVH chronique	17
1. Anomalies de l'homéostasie lymphocytaire B au cours de la GVH chronique	18
2. Déficit des Breg au cours de la GVH chronique (publications 3 et 4)	18
3. Perspectives.....	20
Deuxième partie : Rôle de la myosine 18A dans la cytotoxicité NK	22
A. Lymphocytes NK chez l'homme	22
1. Régulation de l'activité NK	22
2. Récepteurs activateurs et inhibiteurs des lymphocytes NK humains	23
B. La myosine 18A (publication 5)	25
C. Rôle de la myosine 18A dans la cytotoxicité NK (publication 5)	27
D. Conclusion	28
Références	30
Abbréviations	36
Publication 1 : Methods Mol Biol. 2014;1190:45-52.	37
Publication 2 : Med Sci (Paris). 2014 Aug-Sep;30(8-9):721-4.	38
Publication 3 : Blood. 2015 Mar 12;125(11):1830-9.	39
Publication 4 : Oncoimmunology. 2015 Apr 1;4(7):e1016707.	40
Publication 5 : Oncoimmunology. 13 janv 2016 (Epub ahead of print).	41

Introduction

Malgré les progrès substantiels de la recherche dans le domaine des hémopathies malignes, l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (HSCT, *hematopoietic stem cell transplantation*) reste le seul traitement curatif pour de nombreux patients atteints d'hémopathies notamment malignes. Dans près d'un cas sur deux, l'allogreffe se complique de réaction chronique du greffon contre l'hôte (GVH (*graft-versus-host*) chronique) qui est une réaction immunologique du système immunitaire greffé (donneur) envers les tissus du receveur aboutissant à une inflammation et une fibrose des tissus (1). En plus d'être la première cause de mortalité non liée à la rechute après allogreffe, la GVH chronique affecte très sévèrement la qualité de vie du patient. Les premiers organes atteints par ordre de fréquence sont la peau et les muqueuses mais les articulations, le tube digestif, le foie, le poumon (2,3) et pratiquement tous les organes peuvent être touchés. Les différents traitements disponibles sont souvent insuffisamment efficaces et sources d'effets secondaires notamment infectieux, car il s'agit le plus souvent d'immunosuppresseurs administrés à des patients qui sont déjà lourdement immunodéprimés du fait de l'allogreffe et du retard de reconstitution immunitaire lié à la GVH chronique (4). Les lymphocytes B régulateurs sont une population de lymphocytes B sécrétant de l'interleukine (IL)-10 et capables d'inhiber les réactions inflammatoires (5). Un déficit quantitatif ou fonctionnel des lymphocytes B a été découvert dans plusieurs maladies auto-immunes humaines ainsi que dans un modèle murin de GVH (6). Nous avons montré que chez l'homme atteint de GVH chronique active, la fréquence des lymphocytes B régulateurs, définie par le pourcentage de lymphocytes B producteurs d'IL-10, est diminuée dans le sang périphérique. Les lymphocytes B régulateurs sont principalement enrichis dans la population B de phénotype mémoire $CD24^{hi}CD27^{+}$ et plasmablastique $CD27^{hi}CD38^{hi}$ chez les sujets sains et allogreffés avec ou sans GVH. Ce déficit de production d'IL-10 pourrait être lié à un déficit de signalisation sur les voies Erk

(*extracellular signal regulated kinase*) et STAT (*signal transducer and activator of transcription*) 3. Une augmentation de la fréquence des plasmablastes et une diminution du nombre de lymphocytes B de phénotype mémoire chez les patients allogreffés atteints de GVH chronique active (7) suggèrent des altérations de la différenciation lymphocytaire B, en particulier des réactions du centre germinatif, au cours de la GVH chronique.

Nos travaux ont également porté sur les cellules NK qui sont une variété de lymphocytes de l'immunité innée, dont l'activité est régulée par une balance de récepteurs activateurs et inhibiteurs présents à leur surface. Nous avons identifié l'un de ces récepteurs, CD245 (défini par sa reconnaissance spécifique par les anticorps monoclonaux DY12 et DY35), comme étant la myosine 18A. La myosine 18A est une molécule impliquée dans l'organisation du cytosquelette et l'exocytose des vésicules de l'appareil de Golgi, qui constitue également un récepteur du surfactant A. La caractérisation fonctionnelle de ce récepteur montre qu'il s'agit d'un récepteur co-activateur de la cytotoxicité NK et que cette augmentation de cytotoxicité pourrait être liée à la stimulation de l'expression de la molécule de stimulation CD137 (4-1BB) à la surface du lymphocyte NK. Ces résultats suggèrent un potentiel rôle thérapeutique de l'utilisation d'anticorps agonistes spécifiques de CD245.

Première partie : Lymphocytes B régulateurs dans la GVH chronique humaine

A. Ontogenèse des lymphocytes B humains

Les lymphocytes B représentent de 5 à 15% des lymphocytes circulants environ. Ils se caractérisent par la présence d'une immunoglobuline (Ig) ou anticorps de surface qui constitue le récepteur spécifique pour l'antigène (BCR, *B cell receptor*) (8). Ce BCR reconnaît de façon spécifique un antigène sans nécessité que cet antigène soit présenté par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (à la différence des lymphocytes T).

Les lymphocytes B après activation peuvent se différencier en plasmocytes qui sécrètent des immunoglobulines. Les immunoglobulines de surface et sécrétées sont constituées de deux chaînes lourdes identiques et deux chaînes légères identiques. Les chaînes lourdes comportent une région constante impliquée dans la fonction de l'anticorps et une région variable impliquée dans la reconnaissance antigénique. Les régions constantes des chaînes lourdes déterminent des classes ou isotypes et sous-classes d'immunoglobulines. On décrit cinq types de chaînes lourdes : gamma, alpha, mu, delta et epsilon, définissant cinq classes IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, subdivisées en neuf sous-classes IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, IgD et IgE. Les chaînes légères sont soit de type kappa soit lambda.

La première étape de maturation des lymphocytes B a lieu dans la moëlle osseuse et est dite indépendante de l'antigène (**Figure 1**).

1. Différenciation B précoce

Les premiers précurseurs lymphocytaires B, lymphocytes pré-pro B, expriment la molécule spécifique des lymphocytes B, CD79a, dans le cytoplasme.

a) Recombinaison des gènes d'immunoglobulines

Au stade pro-B apparaît la molécule de surface CD19 et débute la recombinaison des gènes d'immunoglobulines. Les gènes des chaînes lourdes sont réarrangés en premier. Le locus des chaînes lourdes (H, *heavy*) est situé sur le chromosome 14. Il est constitué de trois familles de gènes codant les régions de variabilité V_H , de diversité D_H , de jonction J_H , et neuf gènes codant les régions constantes C. Un segment de jonction J_H s'associe avec un segment de diversité, puis cette association D_H - J_H est réarrangée avec un segment variable V_H , le tout aboutissant à la formation d'un exon VDJ. La liaison des gènes VDJ est assurée par des enzymes, notamment les recombinases RAG (*recombination-activating gene*)-1 et RAG-2 qui reconnaissent des séquences spécifiques dites séquences signal de recombinaison (RSS) adjacentes aux gènes V, D et J. Cette première étape de recombinaison permet l'expression d'une chaîne lourde d'IgM intracytoplasmique.

b) Diversité combinatoire et jonctionnelle

Le hasard du choix des gènes constituant les régions variables assure en partie la diversité des immunoglobulines. Cette diversité dite combinatoire est associée à un second mécanisme de diversité, dite diversité jonctionnelle : la terminal déoxynucléotidyl transférase (TdT) insère des nucléotides au hasard au niveau des régions variables au moment de la recombinaison VDJ, permettant d'accroître encore le nombre de BCR possibles, aussi appelé répertoire B.

c) Exclusion allélique et isotypique

La chaîne lourde est exprimée à la surface de la cellule au stade pré-B et participe à la constitution du pré-BCR. A ce stade a lieu le phénomène d'exclusion allélique : une fois

qu'une chaîne lourde fonctionnelle est réarrangée sur l'un des chromosomes, la recombinaison s'arrête sur l'autre allèle, permettant qu'un seul type de chaîne lourde soit exprimé par chaque lymphocyte B. Le réarrangement se poursuit sur les gènes des chaînes légères kappa situées sur le chromosome 2. Les loci des gènes des chaînes légères (L , *light*) comprennent des gènes de variabilité V_L , de jonction J_L et des régions constantes C mais pas de gènes de diversité. Si le réarrangement n'est pas productif, alors les gènes kappa de l'autre chromosome 2 sont réarrangés, puis en cas de nouvel échec, le réarrangement se poursuit au locus lambda situé sur le chromosome 22 : c'est l'exclusion isotypique (un seul type de chaîne légère kappa ou lambda est exprimé par un lymphocyte B). L'expression d'une chaîne légère donne naissance à une IgM de surface qui permet au lymphocyte B immature de reconnaître l'antigène. Les cellules ne pouvant exprimer des Ig fonctionnelles mourront par apoptose. A ce stade a également lieu un processus de sélection négative au cours duquel les lymphocytes B possédant des immunoglobulines membranaires spécifiques des antigènes du soi sont éliminés par apoptose.

2. Différenciation B dépendante de l'antigène

Les lymphocytes B ayant réussi à produire une Ig fonctionnelle quittent la moëlle osseuse et passent par un stade intermédiaire de lymphocyte B immature ou transitionnel $CD24^{hi}CD38^{hi}$ (9) qui exprime une IgM et une IgD (par un processus d'épissage alternatif) de surface. La différenciation des lymphocytes B se poursuit dans les organes lymphoïdes secondaires au niveau des follicules lymphoïdes. Selon le signal reçu par ce lymphocyte B immature (stimulation du BCR et/ou stimulation des TLR (*toll-like receptors*)), celui-ci se différencie soit en lymphocyte B folliculaire (dans le sang périphérique, cette population correspond aux lymphocytes B dits matures ou naïfs de phénotype $CD24^{int}CD38^{int}CD27^{-}$), impliqué dans les

réponses humorales dépendantes des lymphocytes T, soit en lymphocyte B de la zone marginale impliqué dans les réponses indépendantes des lymphocytes T (10).

a) Réactions du centre germinatif, commutation isotypique

Les lymphocytes B activés par l'antigène subissent le phénomène de la commutation de classe, ou commutation isotypique, qui permet l'expression d'isotypes autres qu'IgM et IgD. Cette commutation de classe a lieu à la suite d'une coopération cellulaire entre lymphocytes B et lymphocytes T *CD4 follicular helper*, qui résulte d'une fixation du CD40 du lymphocyte B au CD40L du lymphocyte T en présence d'interleukines telles que l'IL-21 et grâce à l'action d'une cytidine déaminase spécifique des lymphocytes B activés. La différenciation conduit à des plasmocytes de phénotype $CD24^-CD27^{hi}CD38^{hi}$ sécrétant des IgG, IgA et IgE, et à des lymphocytes B mémoires de phénotype $CD24^+CD27^+CD38^{lo}$.

b) Hypermutation somatique

La liaison d'un antigène par le BCR active également un mécanisme responsable de l'augmentation de diversité des immunoglobulines et de l'affinité de l'immunoglobuline pour l'antigène, l'hypermutation somatique. Elle consiste en l'introduction aléatoire de mutations ponctuelles dans les régions variables des chaînes lourdes et légères du BCR.

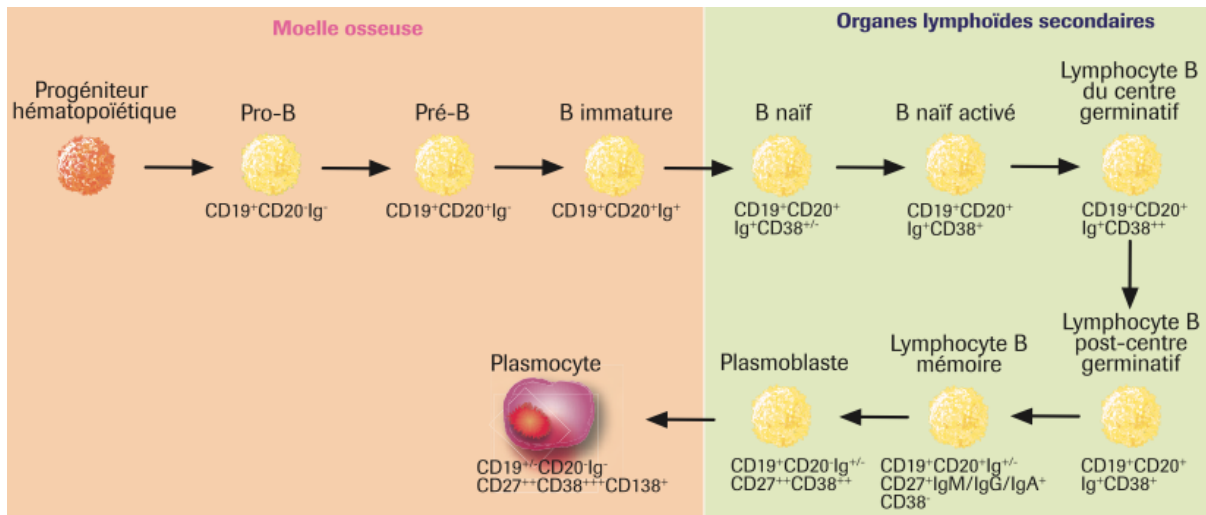


Figure 1. Différenciation des lymphocytes B humains

3. Réponse des lymphocytes B aux stimuli T-indépendants

Certains antigènes, dits T-indépendants ou mitogènes, sont intrinsèquement capables de stimuler de multiples clones B en même temps (11).

C'est le cas des agonistes des TLR tels que le CpG-B utilisé *in vitro*, qui mime une stimulation par des acides nucléiques microbiens, ou le lipopolysaccharide également utilisé *in vitro*, qui est un constituant majeur de la paroi bactérienne. Les lymphocytes B immatures et matures sont activables par ces stimuli. Ces réactions T-indépendantes pourraient contribuer à la production des anticorps dits naturels chez l'homme (12).

Les sous-populations B qui seraient impliquées dans ces réactions T-indépendantes sont notamment les lymphocytes B de la zone marginale, les lymphocytes dits B1-a, et une population dite « *IgM memory B cells* » décrite chez l'homme et qui serait proche des B1-a et des lymphocytes B de la zone marginale. Les liens entre ces trois populations ne sont pas clairement établis.

Ainsi, la population de cellules B dite B1-a, bien définie chez la souris, est caractérisée entre autres par l'expression de la molécule de surface CD5, une localisation préférentielle dans les

cavités pleurales et péritonéales, et des gènes d'immunoglobulines en configuration germinale (non hypermutés, donc n'ayant a priori pas été en contact avec l'antigène). Elle est capable de produire des anticorps naturels (13). Cette population jouerait notamment un rôle dans la défense contre les bactéries encapsulées (telles que *S. pneumoniae* et *H. influenzae type b*) par l'expression de CD21 qui est un récepteur au complément. Une population humaine analogue aux B1-a murins a été proposée par Griffin et al (14) et nommée *BI-like*. Cette population est caractérisée par le marquage de surface suivant : $CD20^+CD27^+CD43^+CD70^-$ (75% d'entre elles exprimant CD5). Cependant, cette découverte a été controversée (15,16). Cette population *BI-like* serait expandue chez l'homme après HSCT et diminuée en cas de GVH chronique (17).

Chez l'homme, des réponses thymo-indépendantes ont été attribuées aux lymphocytes B de la zone marginale présents dans les organes lymphoïdes secondaires. Certains considèrent que cette population B de la zone marginale correspond chez l'homme à une population de lymphocytes B mémoires dits « IgM mémoire » (*IgM memory B cells*) caractérisée par l'expression de $IgM^{bright}IgD^{dull}CD27^+CD21^{hi}$, et une présence indépendante du *help* lymphocytaire T (18,19). Il a été montré que cette population IgM mémoire avait un développement splénique et était manquante chez les patients aspléniques, expliquant leur sensibilité aux infections par bactéries encapsulées (20).

B. Lymphocytes B régulateurs

1. Historique de la découverte des lymphocytes B régulateurs (Breg)

La description des Breg remonte à 1974. Dans un modèle murin de dermatite de contact, le transfert adoptif de splénocytes totaux avait un effet suppresseur, alors que le transfert adoptif de splénocytes déplétés en lymphocytes B n'avait pas d'effet (21), suggérant le rôle

suppresseur d'une population de lymphocytes B. En 1996, le rôle régulateur des lymphocytes B fut démontré dans un modèle murin d'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE) (22), puis, en 2002, ce rôle régulateur fut attribué à la capacité des lymphocytes B à produire de l'IL-10 (23). En 2008, Jean-David Bouaziz, Koichi Yanaba et Thomas Tedder ont identifié les lymphocytes B régulateurs murins comme enrichis dans la population CD5⁺ CD1d^{hi}, c'est-à-dire exprimant un marqueur B de la zone marginale (CD1d) et un marqueur B1-a (CD5) (24). Le mécanisme exact selon lequel les Breg agissent *in vivo* chez la souris demeure incertain. Dans la plupart des travaux, il semblerait que les Breg aient une action spécifique d'antigène, que cette action nécessite un contact entre lymphocyte B et lymphocyte T notamment par la voie CD40-CD40L, et que cette interaction puisse inhiber la polarisation T CD4 de type Th1 (5). Des travaux ont montré le rôle clé de l'interleukine 21, cytokine produite notamment par les lymphocytes T CD4 *follicular helper* dans l'expansion des Breg producteurs d'IL-10 *in vitro* (25). L'IL-21 étant une cytokine importante pour la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes, cette population de Breg pourrait correspondre à des plasmablastes ou plasmocytes régulateurs. *In vivo*, dans un modèle d'infection bactérienne à *Salmonella typhimurium*, la source principale d'IL-10 parmi les cellules de la lignée lymphocytaire B était le plasmocyte (26). Les plasmocytes produisaient également de l'interleukine 35 qui participait *in vivo* à maintenir la tolérance dans le modèle murin d'EAE.

2. Lymphocytes B régulateurs chez l'homme (publications 1 et 2)

a) Stimuli induisant la production d'IL-10 par les Breg humains

Les principaux stimuli utilisés in vitro pour induire la production d'IL-10 par les lymphocytes B humains sont :

- la stimulation du BCR par un anticorps anti-immunoglobuline,
- l'activation du CD40 par un anticorps monoclonal anti-CD40, par du CD40 ligand recombinant, ou par des cellules transfectées par le CD40 ligand,
- la stimulation des TLR exprimés par le lymphocyte B (TLR1, 2, 5, 6, 7, 9) par des agonistes des TLR tels que le CpG-B ou le LPS (27).

La plupart des travaux ont montré qu'une double stimulation par des agonistes de CD40 et de TLR9 (CpG-B) était la plus efficace pour induire au cours d'une culture cellulaire de courte durée (24 à 72 h) une production optimale d'IL-10 par les lymphocytes B humains (27–29).

b) Phénotype des Breg humains

Le phénotype de surface des lymphocytes B régulateurs humains est moins consensuel (5,30). Les lymphocytes B expriment les marqueurs CD19 et CD20 (ce dernier étant partiellement perdu au stade de plasmocyte), et les sous-populations de lymphocytes B humains du sang périphérique sont identifiables en cytométrie de flux en fonction de la coexpression de marqueurs de surface tels que CD24, CD38 et CD27. Quatre populations principales de lymphocytes B du sang périphérique sont classiquement décrites chez l'homme : les lymphocytes B immatures transitionnels $CD24^{hi}CD38^{hi}CD27^{-}$, les lymphocytes B matures naïfs $CD24^{int}CD38^{int}CD27^{-}$ qui n'ont pas encore subi de maturation dans le centre germinatif du ganglion lymphatique, les lymphocytes B mémoires $CD27^{+}$ et les plasmablastes

CD24⁺CD27^{hi}CD38^{hi}. L'équipe du Pr Pierre Youinou a relié la production d'IL-10 par les Breg humains à l'expression de CD5 (31,32). En raison probablement d'une hétérogénéité dans les méthodes de stimulations utilisées pour détecter la production d'IL-10 par les lymphocytes B, il n'y a toujours pas de consensus sur le phénotype de surface des Breg humains. Mauri *et al.* ont constaté que les lymphocytes B transitionnels CD24^{hi}CD38^{hi} étaient la population B la plus enrichie en Breg (29), tandis que Tedder *et al.* les ont trouvés enrichis dans le compartiment lymphocytaire B de phénotype mémoire CD24^{hi}CD27⁺ (28). Dans notre expérience, les Breg humains ne se limitent pas à une population unique de cellules B mais sont enrichis dans les populations CD27⁺ et CD38⁺ (27). Dans tous les cas, la capacité de production d'IL-10 après stimulation *in vitro* reste la définition la plus consensuelle des Breg humains à ce jour.

c) Capacités suppressives des Breg humains

Une capacité suppressive des lymphocytes Breg humains a également été montrée *in vitro* :

- inhibition de la prolifération des lymphocytes T effecteurs (27)
- inhibition de la polarisation T CD4 Th1 (29)
- maintien de la polarisation en lymphocyte T régulateur (33)
- suppression de la production de TNF- α (*tumor necrosis factor*) par les monocytes (28)
- polarisation des cellules dendritiques plasmacytoïdes (34).

d) Breg en pathologie humaine

Une diminution de la fréquence et/ou des capacités fonctionnelles des Breg a été décrite au cours des maladies auto-immunes comme le lupus (29), le purpura thrombopénique immunologique (35), la polyarthrite rhumatoïde (33), les vascularites à ANCA (anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles) (36). Certaines maladies auto-immunes (pemphigus, lupus) sont traitées avec un anticorps monoclonal anti-CD20 (rituximab), qui entraîne une déplétion des lymphocytes B effecteurs et des Breg, et l'amélioration des symptômes chez certains patients. Après déplétion lymphocytaire B, une des premières populations B à réapparaître contient les Breg, ce qui pourrait expliquer certaines rémissions cliniques prolongées induites par le rituximab (37).

C. Physiopathologie de la GVH chronique

Initialement définie comme survenant plus de 100 jours après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, la GVH chronique est maintenant définie par l'association de signes cliniques caractéristiques ou évocateurs (38). Ceux-ci peuvent toucher tous les tissus, bien que le système cutanéomuqueux, le foie, le tube digestif et le poumon (2,3) soient probablement les plus fréquemment touchés. Les manifestations sont de type inflammatoire, caractérisées généralement par un infiltrat lymphocytaire T puis une fibrose tissulaire. Ainsi, une éruption lichénoïde ou sclérodermiforme, un syndrome sec orculo-buccal, sont des manifestations classiques de GVH chronique. Bien que la GVH chronique survienne fréquemment chez des patients ayant des antécédents de GVH aiguë, la clinique et la physiopathologie de la GVH chronique diffèrent de celles de la GVH aiguë (1). La GVH chronique a longtemps été considérée comme une réaction des lymphocytes T du donneur

contre les antigènes du receveur, mais un rôle probablement important des lymphocytes B commence à être investigué.

1. Anomalies de l'homéostasie lymphocytaire B au cours de la GVH chronique

Dans la GVH chronique, les signes cliniques ressemblent souvent à ceux observés dans les maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux disséminé, le syndrome de Sjögren, la polyarthrite rhumatoïde, la dermatomyosite, ou le purpura thrombopénique immunologique (1). Comme c'est le cas au cours de ces maladies auto-immunes, la présence d'anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires est assez fréquente dans la GVH chronique et une perturbation de l'homéostasie lymphocytaire B est observée. Ainsi, il a été montré qu'il existait une hyperréactivité des récepteurs des cellules B pour l'antigène (BCR, *B cell receptor*) dans la GVH chronique (39). Des taux élevés de BAFF (*B cell activating factor of the TNF family*) (40), l'expansion de cellules B CD21^{lo} (41), cellules pour lesquelles un rôle dans l'auto-immunité est supposé (42), une diminution de la fréquence des cellules B mémoires et des lymphocytes B *BI-like* (17), ont été décrits au cours de la GVH chronique. Enfin, la déplétion lymphocytaire B par le rituximab au moment de l'allogreffe pourrait diminuer l'incidence de GVH chronique chez l'homme (43).

2. Déficit des Breg au cours de la GVH chronique (publications 3 et 4)

Dans ce travail de thèse, 69 patients allogreffés avec ou sans GVH chronique et 14 témoins ont été étudiés pour déterminer s'il existe ou non un déficit Breg chez les patients avec GVH chronique active par rapport aux patients avec GVH chronique en rémission, aux allogreffés

sans antécédent de GVH et aux témoins sains (7). Les lymphocytes du sang périphérique ont été isolés, phénotypés en cytométrie de flux et stimulés trois jours en culture avec du CpG-B (un analogue du TLR 9 utilisé pour la stimulation lymphocytaire B) pour étudier leur capacité à produire de l'IL-10.

Nous avons identifié les populations lymphocytaires B de phénotype B mémoire $CD24^{hi}CD27^{+}$ et plasmablastique $CD27^{hi}CD38^{hi}$ comme significativement enrichies en Bregs chez le sujet sain et les allogreffés.

Nous avons confirmé *in vitro* que la différenciation de B totaux en plasmablastes s'accompagne d'un enrichissement en Bregs.

Nous avons montré un déficit en fréquence des Bregs chez les patients avec une GVH chronique sévère ou active par rapport aux autres allogreffés et aux sujets sains, en concordance avec les données de Khoder *et al.* publiées quelques mois avant les nôtres (44).

Nous avons exclu un effet direct des immunosuppresseurs utilisés chez ces patients sur les fréquences de Bregs observées.

Nous avons identifié un déficit de reconstitution du pool de cellules B mémoires et une expansion des plasmablastes chez les patients atteints de GVH chronique active par rapport aux autres groupes de patients.

Nous avons observé une diminution de la phosphorylation d'Erk et de STAT-3 dans les lymphocytes B chez ces patients après stimulation, or ces deux voies sont impliquées dans la production d'IL-10 par les lymphocytes B humains et pourraient expliquer le déficit en Bregs.

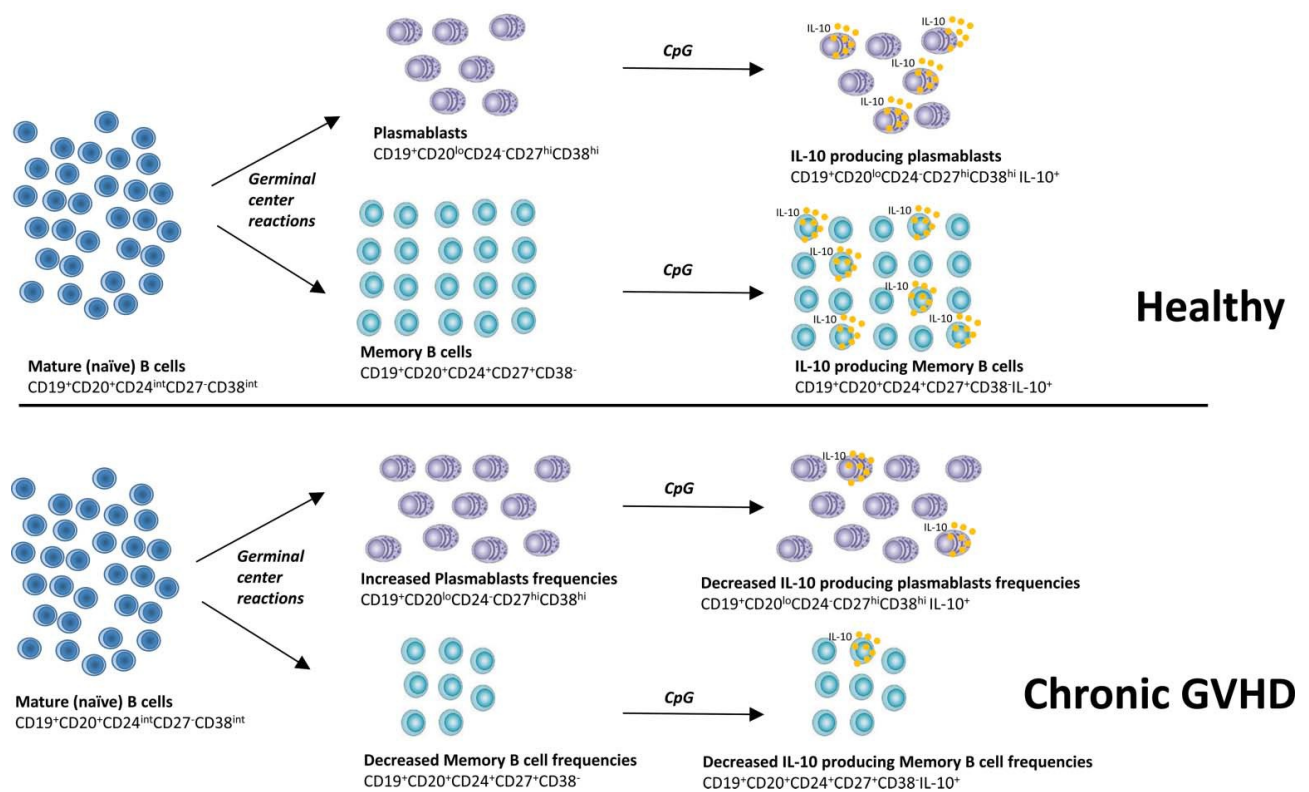


Figure 2. Déficit des lymphocytes B régulateurs dans la GVH chronique humaine.

Une fréquence accrue de plasmablastes et une fréquence diminuée de lymphocytes B mémoires sont retrouvées dans le sang périphérique au cours de la GVH chronique par rapport aux sujets sains. Néanmoins, la proportion de ces cellules produisant de l'IL-10 est réduite chez les patients atteints de GVH chronique. Il en résulte un déficit global en Breg au cours de la GVH chronique humaine.

Mature B cells, lymphocytes B matures ; memory B cells, lymphocytes B mémoires ; plasmablasts, plasmablastes ; IL-10 producing cells, cellules productrices d'interleukine-10 ; decreased frequencies, fréquences réduites ; healthy, sujet sain ; chronic GVHD, GVH chronique.

3. Perspectives

En conclusion, ce travail montre l'existence d'un déficit de régulation B au cours de la GVH chronique active, et est l'un des premiers à identifier la population plasmablastique, comme enrichie en propriétés de type Breg. De façon intéressante, un rôle des plasmocytes dans la régulation des réponses immunes a été montré chez la souris peu de temps avant la

publication de nos travaux (45). Ainsi, un mécanisme d'autorégulation des réponses inflammatoires serait présent au stade effecteur terminal de la différenciation lymphocytaire B, de façon analogue à ce qui est observé chez les lymphocytes T avec les lymphocytes Tr1 (*adaptive type 1 regulatory T cells*). De la même façon que l'interféron alpha peut favoriser la différenciation Tr1 à partir de nTregs (lymphocytes T régulateurs naturels) chez l'homme (46), un rôle de l'interféron alpha a été montré récemment dans la différenciation de Breg chez l'homme, un mécanisme qui serait selon les auteurs déficient au cours du lupus (34). Un phénotype spécifique des Breg humains n'ayant pas été identifié de façon consensuelle à ce jour, et la présence possible d'une plasticité fonctionnelle de cette population, suggèrent que certaines étapes restent à franchir avant de pouvoir envisager une éventuelle thérapie par transfert adoptif de Breg.

Deuxième partie : Rôle de la myosine 18A dans la cytotoxicité NK

A. Lymphocytes NK chez l'homme

Les cellules *natural killer* (NK) sont de grands lymphocytes granuleux du système immunitaire inné qui jouent un rôle majeur dans l'immunité notamment antivirale et antitumorale. Elles sont définies par l'expression du marqueur CD56 en l'absence de CD3 (47). Elles se différencient dans la moëlle osseuse à partir, vraisemblablement, de progéniteurs lymphoïdes (48) ou myéloïdes (49). Ces cellules ont essentiellement une fonction cytotoxique par la production de granzyme et de perforine, produisent de l'interféron-gamma et du TNF-alpha, mais certaines d'entre elles auraient une fonction immunorégulatrice par la production d'IL-10.

1. Régulation de l'activité NK

L'activité NK n'est pas régulée par la reconnaissance spécifique d'un antigène, mais par un équilibre induit par l'engagement de toute une batterie de récepteurs inhibiteurs et activateurs à la surface du lymphocyte NK. Les NK expriment à leur surface des récepteurs inhibiteurs liant les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)-I. Ainsi, lors du contact avec une cellule du soi, l'engagement de certains récepteurs notamment de type KIR (*killer immunoglobulin-like receptor*) inhibiteurs par le CMH-I inhibe donc l'activité cytotyrique NK. Cette donnée est à l'origine de deux concepts : l'éducation des lymphocytes NK à la reconnaissance du soi et la théorie du *missing self*.

a) Education des lymphocytes NK

Les lymphocytes NK d'une souris sauvage sont éduqués à identifier l'absence du CMH-I à la surface des cellules hématopoïétiques et peuvent éliminer une greffe de cellules hématopoïétiques déficientes pour le CMH-I. En revanche, les cellules NK d'une souris déficiente pour les molécules du CMH-I, qui n'ont donc jamais été en contact avec le CMH-I, sont incapables d'éliminer la greffe (50). Ces données suggèrent donc l'éducation des cellules NK à la reconnaissance du CMH-I.

b) *Missing self*

Ce concept indique le fait que lorsqu'une cellule du soi a perdu l'expression des molécules du CMH-I en raison par exemple d'une transformation tumorale (cellules de leucémie aiguë myéloblastique), cette perte d'expression du CMH-I peut être reconnue par les lymphocytes NK (l'absence de CMH-I sur les cellules cibles empêchant l'inhibition de la cytotoxicité NK par les récepteurs KIR inhibiteurs), ce qui contribue à expliquer le rôle important des lymphocytes NK en immunologie antitumorale des hémopathies malignes (51).

2. Récepteurs activateurs et inhibiteurs des lymphocytes NK humains

Lors du contact avec une cellule cible, les intégrines à la surface des cellules NK se lient à des molécules d'adhésion sur la cellule cible et stabilisent l'interaction cellulaire (52). Ainsi, la liaison de LFA-1 (*lymphocyte-function-associated antigen 1*) à ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*) sur les cellules cibles déclenche une cascade de signalisation dans les cellules NK qui conduit à une réorganisation du cytosquelette et à l'agrégation de récepteurs NK activateurs à l'interface des cellules NK-cible (53), dénommée synapse immunitaire NK

(NKIS, *NK immune synapse*) (54). L'engagement des récepteurs NK activateurs entraîne le recrutement à la membrane de molécules adaptatrices qui se lient aux motifs ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activating motif*) présents sur la queue intracytoplasmique des récepteurs activateurs. Les tyrosines de l'ITAM sont phosphorylées et forment un site de liaison pour les domaines SH2 (Src homology 2) de protéines kinases (55), ce qui déclenche une cascade de signalisation responsable de la dégranulation de la cellule NK et la cytolysse de la cellule cible. Les récepteurs NK activateurs comprennent la famille des récepteurs de la cytotoxicité naturelle (tels que NKp46 (56), NKp44 (57), et NKp30 (58)), la famille des récepteurs de type lectine C (NKG2D) (59), les récepteurs KIR activateurs (60,61), la famille SLAM (*signaling lymphocyte activation molecule*) (2B4) (62), et d'autres tels que CD160 (63,64). Enfin, 4-1BB (CD137) est une molécule de costimulation exprimée notamment par les cellules NK (65) dont l'expression est déclenchée par l'engagement de récepteurs des fragments Fc des immunoglobulines sur la surface des cellules NK, comme cela est le cas lors du phénomène de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC, *antibody-dependent cell cytotoxicity*) (66). Il a été montré que la stimulation de CD137 augmente la cytotoxicité NK induite par les anticorps monoclonaux thérapeutiques cetuximab, rituximab et trastuzumab dans différents modèles de cancer (67–69). L'activation des cellules NK est supprimée de façon dominante en cas d'engagement d'un récepteur inhibiteur par le CMH. Chez l'homme, ces récepteurs appartiennent principalement à des récepteurs de lectine de type C, CD94/NKG2A (70) ou à la superfamille des récepteurs KIR inhibiteurs (60,61). A la différence des récepteurs KIR activateurs, les KIR inhibiteurs portent une longue queue cytoplasmique dotée d'un motif ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory molecule*) (71). Ces derniers fournissent un site de liaison spécifique pour les domaines SH2 des phosphatases SHP (*Src homology domain tyrosine phosphatase*)-1 ou SHP-2. Le recrutement

de phosphatases SHP à la synapse NK est capable de bloquer la plupart des étapes clés dans la cascade de signalisation conduisant à la cytolyse (72).

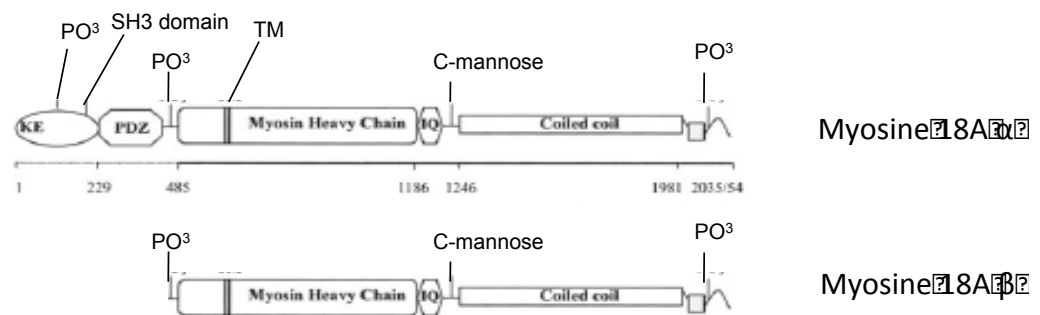
B. La myosine 18A (publication 5)

Notre équipe avait préalablement identifié CD245 comme une structure unique présente à la surface des lymphocytes et monocytes humains du sang périphérique et reconnue par les anticorps monoclonaux DY12 et DY35 (73). Après immunoprécipitation de lignées NK YT2C2 biotinylées à l'aide de l'anticorps monoclonal DY12, une protéine de 220 à 240 kDa était identifiée, de taille correspondant à celle de la myosine 18A alpha. Après analyse de cette bande en spectrométrie de masse, le profil correspondait effectivement à celui de la myosine 18A. La protéine immunoprécipitée était également reconnue par les anticorps polyclonaux anti-myosine 18A en *immunoblotting*. Ces données indiquent la présence de la myosine 18A alpha à la surface des lignées de NK YT2C2 et sa reconnaissance spécifique par DY12. Le surfactant pulmonaire de type A étant essentiellement présent dans le poumon et étant le ligand de la myosine 18A, nous avons répété l'immunoprécipitation avec DY12 sur du tissu pulmonaire humain frais et constaté que le précipitat était bien reconnu par les anticorps polyclonaux anti-myosine 18A, les 2 isoformes de myosine 18A alpha et beta étant retrouvées. Ces données indiquent l'expression des 2 isoformes de myosine 18A par le tissu pulmonaire humain sain.

La myosine non conventionnelle 18A est un membre de la superfamille des enzymes de type myosine. Les myosines sont des enzymes du cytosquelette qui contiennent généralement une tête catalytique conservée qui catalyse l'hydrolyse de l'ATP et lie l'actine, favorisant ainsi la motilité cellulaire. La première famille de myosines, M2, a été découverte dans des extraits musculaires et est appelée myosine conventionnelle, alors que les autres classes, y compris la classe 18, sont appelées myosines non conventionnelles (74). La myosine 2A est nécessaire

pour l'exocytose de granules cytolytiques par les cellules NK humaines (75). La classe des myosines 18 a été impliquée dans des processus tissulaires fondamentaux chez les mammifères, tels que la migration des cellules épithéliales (76), la différenciation des cellules stromales (77) et pourrait jouer un rôle suppresseur de tumeurs (77–79). Chez les humains et les souris, la myosine 18A est exprimée dans les cellules hématopoïétiques sous forme de deux variants d'épissage, appelés α (230 kDa) et β (190 kDa). La myosine-18A α contient une séquence riche en acides aminés de type lysine et glutamate (*KE-rich*) à l'extrémité N-terminale, suivie d'un domaine PDZ (**Figure 3**). La myosine-18A β n'a pas de KE-séquence riche ni de domaine PDZ (80). Un troisième isoforme de la myosine 18A, la myosine p110, a été identifié dans les macrophages, qui pourrait être la conséquence de modifications post-traductionnelles de la myosine 18A α ou β (81).

Structure des isoformes de MYO18A



PO³: site de phosphorylation

TM: région transmembranaire

KE: région riche en lysine et glutamine

PDZ: région interagissant avec le cytosquelette

IQ: domaine interagissant avec la calmoduline

Figure 3. Structure des deux isoformes principaux de la myosine 18A chez l'homme

La myosine 18A a été identifiée par l'équipe de Chroneos comme un récepteur pour la protéine tensioactive du surfactant A (SP-A) (82), une collectine présent dans le poumon humain (83), le sang (84), le tractus intestinal (85) et la peau (86), qui participe à l'élimination des agents pathogènes. Il est intéressant de noter qu'en utilisant un anticorps polyclonal contre le récepteur du surfactant (SP-R)-210 qui détecte la myosine 18A, Samten et al. constataient l'expression de la myosine 18A par une très petite fraction des lymphocytes T du sang périphérique, expression qui était augmentée en présence de *M. tuberculosis* (87). Ces résultats vont à l'encontre des nôtres qui, utilisant un anticorps monoclonal spécifique de CD245/myosine 18A, montrent une expression de la myosine 18A par une large majorité des lymphocytes T CD3⁺ du sang périphérique (88). Ceci pourrait être expliqué par une meilleure affinité de l'anticorps DY12 pour la myosine 18A par rapport aux anticorps polyclonaux.

C. Rôle de la myosine 18A dans la cytotoxicité NK (publication 5)

Nous avons identifié la myosine 18A comme un récepteur co-activateur des cellules NK humaines dont l'expression de surface est augmentée par l'IL-2. La stimulation de la myosine 18A par l'anticorps monoclonal DY12 ou son ligand physiologique SP-A augmentait l'activité LAK (*lymphokine-activated killer*) envers des lignées de lymphocytes B infectés par EBV (*Epstein-Barr virus*). Nous avons constaté que la stimulation de la myosine 18A par DY12 était capable d'induire l'expression de CD137 à la surface des cellules NK et d'augmenter la dégranulation des NK induite par le contact avec des cellules tumorales exprimant CD137L. L'augmentation de dégranulation NK induite par DY12 en présence de cellules tumorales exprimant CD137L était dépendante de l'interaction CD137 / CD137L. Enfin, nous avons montré que la myosine 18A interagissait avec SHP-2, une phosphatase

ayant un rôle clé dans la transduction du signal des récepteurs NK, et PAK (*p21 activated kinase*)-2, une sérine / thréonine kinase qui contrôle l'organisation du cytosquelette.

D. Conclusion

Ces données moléculaires et fonctionnelles sur un récepteur co-activateur des cellules NK nouvellement décrit ont de larges applications potentielles en immunologie antitumorale et antivirale. Mitsuhashi *et al* ont montré que le surfactant pulmonaire A était capable d'inhiber la croissance tumorale dans un modèle de xénogreffe chez la souris (89). Les cellules tumorales transduites avec SP-A croissaient plus lentement que celles transduites avec le vecteur seul. Cet effet anti-tumoral de SP-A était entièrement dépendant des cellules NK *in vivo*, bien que le mécanisme exact ne soit pas décrit par les auteurs. Nous avons montré que la myosine 18A / CD245 est un récepteur coactivateur des cellules NK humaines. Nos données soutiennent l'hypothèse que cet effet anti-tumoral important de SP-A *in vivo* est médié par son interaction avec la myosine 18A sur les cellules NK. Nous avons également constaté que la stimulation de la myosine 18A était capable d'induire l'expression de CD137 (4-1BB) à la surface des cellules NK et d'augmenter la dégranulation NK en présence de cellules tumorales exprimant CD137L. L'augmentation de la dégranulation des cellules NK induite par la myosine 18A en présence de cellules tumorales exprimant CD137L était dépendante de l'interaction CD137 / CD137L. L'utilisation d'anticorps monoclonaux modulant la fonction antitumorale des cellules NK est un domaine de recherche en pleine expansion. Des anticorps monoclonaux capables d'induire la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) en ciblant à la fois la cellule cancéreuse et l'activation du récepteur FcγRIIIA / CD16 présent sur les cellules NK, tels que rituximab, cetuximab ou trastuzumab, ont révolutionné le traitement du cancer (67–69). Cependant, toutes les tumeurs malignes n'ont pas une cible identifiée, et certains cancers

ayant une cible identifiée échappent aux anticorps thérapeutiques. Dans ce contexte, les stratégies qui visent à accroître l'efficacité des anticorps monoclonaux sont prometteuses. La stimulation du CD137 (4-1BB), récepteur présent sur les cellules NK, augmente l'efficacité du cetuximab, du trastuzumab et du rituximab à la fois *in vitro* et *in vivo* dans des modèles de cancer (9-11). L'utilisation d'anticorps monoclonaux qui modulent l'expression de CD137 à la surface des cellules NK, comme l'anticorps DY12 spécifique de la myosine 18A, pourrait être intéressante dans une telle application. En conclusion, l'activation du récepteur co-activateur NK myosine 18A apparaît comme une cible prometteuse dans le domaine de l'immunothérapie du cancer et des hémopathies malignes. Des études *in vivo* sont nécessaires pour déterminer les conditions optimales d'utilisation des anticorps agonistes de la myosine 18A / CD245 comme agents immunothérapeutiques dans ce contexte.

Références

1. Socié G, Ritz J. Current issues in chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2014;124(3):374-84.
2. Bergeron A, Chevret S, Chagnon K, Godet C, Bergot E, Peffault de Latour R, et al. Budesonide/Formoterol for bronchiolitis obliterans after hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(11):1242-9.
3. Schlemmer F, Chevret S, Lorillon G, De Bazelaire C, Peffault de Latour R, Meignin V, et al. Late-onset noninfectious interstitial lung disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Respir Med*. 2014;108(10):1525-33.
4. de Masson A, Bouaziz J-D, Peffault de Latour R, Wittnebel S, Ribaud P, Rubio M-T, et al. Limited efficacy and tolerance of imatinib mesylate in steroid-refractory sclerodermatous chronic GVHD. *Blood*. 2012;120(25):5089-90.
5. Bouaziz J-D, de Masson A, Le Buanec H, Bagot M, Bensussan A. [Update on regulatory B cells]. *Médecine Sci MS*. 2014;30(8-9):721-4.
6. Le Huu D, Matsushita T, Jin G, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Takehara K, et al. Donor-derived regulatory B cells are important for suppression of murine sclerodermatous chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2013;121(16):3274-83.
7. de Masson A, Bouaziz J-D, Le Buanec H, Robin M, O'Meara A, Parquet N, et al. CD24(hi)CD27⁺ and plasmablast-like regulatory B cells in human chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2015;125(11):1830-9.
8. Batteux F, Garraud O, Prin L, Renaudineau Y, Vallat L. Lymphocytes B : diversité, ontogénèse, différenciation et activation. [Internet]. Disponible sur: http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-7.-lymphocytes-b.pdf
9. Carsetti R, Köhler G, Lamers MC. Transitional B cells are the target of negative selection in the B cell compartment. *J Exp Med*. 1995;181(6):2129-40.
10. Su TT, Guo B, Wei B, Braun J, Rawlings DJ. Signaling in transitional type 2 B cells is critical for peripheral B-cell development. *Immunol Rev*. févr 2004;197:161-78.
11. Fecteau J-F. Étude comparative de la réponse des lymphocytes B humains naïfs et mémoires in vitro [Internet]. Laval; 2007 [cité 29 mars 2016]. Disponible sur: <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/24431/24431.html>
12. Manz RA, Hauser AE, Hiepe F, Radbruch A. Maintenance of serum antibody levels. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:367-86.
13. Martin F, Kearney JF. B1 cells: similarities and differences with other B cell subsets. *Curr Opin Immunol*. 2001;13(2):195-201.
14. Griffin DO, Holodick NE, Rothstein TL. Human B1 cells in umbilical cord and adult peripheral blood express the novel phenotype CD20⁺ CD27⁺ CD43⁺ CD70⁻. *J Exp Med*. 2011;208(1):67-80.
15. Descatoire M, Weill J-C, Reynaud C-A, Weller S. A human equivalent of mouse B-1 cells? *J Exp Med*. 2011;208(13):2563-4.
16. Perez-Andres M, Grosserichter-Wagener C, Teodosio C, van Dongen JJM, Orfao A, van Zelm MC. The nature of circulating CD27⁺CD43⁺ B cells. *J Exp Med*. 2011;208(13):2565-6.
17. Moins-Teisserenc H, Busson M, Herda A, Apete S, Peffault de Latour R, Robin M, et al. CD19⁺CD5⁺ B cells and B1-like cells following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19(6):988-91.
18. Weller S. Human blood IgM « memory » B cells are circulating splenic marginal zone B cells harboring a prediversified immunoglobulin repertoire. *Blood*. 2004;104(12):3647-54.

19. Weill J-C, Weller S, Reynaud C-A. Human marginal zone B cells. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:267-85.
20. Kruetzmann S, Rosado MM, Weber H, Germing U, Tournilhac O, Peter H-H, et al. Human immunoglobulin M memory B cells controlling *Streptococcus pneumoniae* infections are generated in the spleen. *J Exp Med.* 2003;197(7):939-45.
21. Katz SI, Parker D, Turk JL. B-cell suppression of delayed hypersensitivity reactions. *Nature.* 1974;251(5475):550-1.
22. Wolf SD, Dittel BN, Hardardottir F, Janeway CA. Experimental autoimmune encephalomyelitis induction in genetically B cell-deficient mice. *J Exp Med.* 1996;184(6):2271-8.
23. Fillatreau S, Sweeney CH, McGeachy MJ, Gray D, Anderton SM. B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. *Nat Immunol.* 2002;3(10):944-50.
24. Yanaba K, Bouaziz J-D, Haas KM, Poe JC, Fujimoto M, Tedder TF. A regulatory B cell subset with a unique CD1dhiCD5+ phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses. *Immunity.* 2008;28(5):639-50.
25. Yoshizaki A, Miyagaki T, DiLillo DJ, Matsushita T, Horikawa M, Kountikov EI, et al. Regulatory B cells control T-cell autoimmunity through IL-21-dependent cognate interactions. *Nature.* 2012;491(7423):264-8.
26. Shen P, Roch T, Lampropoulou V, O'Connor RA, Stervbo U, Hilgenberg E, et al. IL-35-producing B cells are critical regulators of immunity during autoimmune and infectious diseases. *Nature.* 2014;507(7492):366-70.
27. Bouaziz J-D, Calbo S, Maho-Vaillant M, Saussine A, Bagot M, Bensussan A, et al. IL-10 produced by activated human B cells regulates CD4(+) T-cell activation in vitro. *Eur J Immunol.* 2010;40(10):2686-91.
28. Iwata Y, Matsushita T, Horikawa M, DiLillo DJ, Yanaba K, Venturi GM, et al. Characterization of a rare IL-10-competent B-cell subset in humans that parallels mouse regulatory B10 cells. *Blood.* 2011;117(2):530-41.
29. Blair PA, Noreña LY, Flores-Borja F, Rawlings DJ, Isenberg DA, Ehrenstein MR, et al. CD19(+)CD24(hi)CD38(hi) B cells exhibit regulatory capacity in healthy individuals but are functionally impaired in systemic Lupus Erythematosus patients. *Immunity.* 2010;32(1):129-40.
30. de Masson A, Le Buanec H, Bouaziz J-D. Purification and immunophenotypic characterization of human B cells with regulatory functions. *Methods Mol Biol.* 2014;1190:45-52.
31. Garaud S, Morva A, Lemoine S, Hillion S, Bordron A, Pers J-O, et al. CD5 promotes IL-10 production in chronic lymphocytic leukemia B cells through STAT3 and NFAT2 activation. *J Immunol.* 2011;186(8):4835-44.
32. Garaud S, Le Dantec C, de Mendoza AR, Mageed RA, Youinou P, Renaudineau Y. IL-10 production by B cells expressing CD5 with the alternative exon 1B. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1173:280-5.
33. Flores-Borja F, Bosma A, Ng D, Reddy V, Ehrenstein MR, Isenberg DA, et al. CD19+CD24hiCD38hi B cells maintain regulatory T cells while limiting TH1 and TH17 differentiation. *Sci Transl Med.* 2013;5(173):173ra23.
34. Menon M, Blair PA, Isenberg DA, Mauri C. A Regulatory Feedback between Plasmacytoid Dendritic Cells and Regulatory B Cells Is Aberrant in Systemic Lupus Erythematosus. *Immunity.* 2016;44(3):683-97.

35. Li X, Zhong H, Bao W, Boulad N, Evangelista J, Haider MA, et al. Defective regulatory B-cell compartment in patients with immune thrombocytopenia. *Blood*. 2012;120(16):3318-25.
36. Wilde B, Thewissen M, Damoiseaux J, Knippenberg S, Hilhorst M, van Paassen P, et al. Regulatory B cells in ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(8):1416-9.
37. Colliou N, Picard D, Caillot F, Calbo S, Le Corre S, Lim A, et al. Long-term remissions of severe pemphigus after rituximab therapy are associated with prolonged failure of desmoglein B cell response. *Sci Transl Med*. 2013;5(175):175ra30.
38. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(3):389-401.e1.
39. Allen JL, Tata PV, Fore MS, Wooten J, Rudra S, Deal AM, et al. Increased BCR responsiveness in B cells from patients with chronic GVHD. *Blood*. 2014;123(13):2108-15.
40. Sarantopoulos S, Stevenson KE, Kim HT, Cutler CS, Bhuiya NS, Schowalter M, et al. Altered B-cell homeostasis and excess BAFF in human chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2009;113(16):3865-74.
41. Kuzmina Z, Krenn K, Petkov V, Körmöcz U, Weigl R, Rottal A, et al. CD19(+)/CD21(low) B cells and patients at risk for NIH-defined chronic graft-versus-host disease with bronchiolitis obliterans syndrome. *Blood*. 2013;121(10):1886-95.
42. Saadoun D, Terrier B, Bannock J, Vazquez T, Massad C, Kang I, et al. Expansion of autoreactive unresponsive CD21-/low B cells in Sjögren's syndrome-associated lymphoproliferation. *Arthritis Rheum*. 2013;65(4):1085-96.
43. Arai S, Sahaf B, Narasimhan B, Chen GL, Jones CD, Lowsky R, et al. Prophylactic rituximab after allogeneic transplantation decreases B-cell alloimmunity with low chronic GVHD incidence. *Blood*. 2012;119(25):6145-54.
44. Khoder A, Sarvaria A, Alsuliman A, Chew C, Sekine T, Cooper N, et al. Regulatory B-Cells Are Enriched Within the IgM Memory and Transitional Subsets in Healthy Donors but Deficient In Chronic Graft-Versus-Host Disease. *Blood*. 2014 (Epub ahead of print)
45. Fillatreau S. Regulatory plasma cells. *Curr Opin Pharmacol*. août 2015;23:1-5.
46. Le Buanec H, Gougeon M-L, Mathian A, Lebon P, Dupont J-M, Peltre G, et al. IFN- α and CD46 stimulation are associated with active lupus and skew natural T regulatory cell differentiation to type 1 regulatory T (Tr1) cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(47):18995-9000.
47. Bensussan A, Tourvieille B, Chen LK, Dausset J, Sasportes M. Phorbol ester induces a differential effect on the effector function of human allospecific cytotoxic T lymphocyte and natural killer clones. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82(19):6642-6.
48. Galy A, Travis M, Cen D, Chen B, Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity*. 1995;3(4):459-73.
49. Grzywacz B, Kataria N, Kataria N, Blazar BR, Miller JS, Verneris MR. Natural killer-cell differentiation by myeloid progenitors. *Blood*. 2011;117(13):3548-58.
50. Liao NS, Bix M, Zijlstra M, Jaenisch R, Raulet D. MHC class I deficiency: susceptibility to natural killer (NK) cells and impaired NK activity. *Science*. 1991;253(5016):199-202.
51. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL, et al. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science*. 2011;331(6013):44-9.

52. Melder RJ, Koenig GC, Witwer BP, Safabakhsh N, Munn LL, Jain RK. During angiogenesis, vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor regulate natural killer cell adhesion to tumor endothelium. *Nat Med.* 1996;2(9):992-7.
53. Watzl C, Long EO. Natural killer cell inhibitory receptors block actin cytoskeleton-dependent recruitment of 2B4 (CD244) to lipid rafts. *J Exp Med.* 2003;197(1):77-85.
54. Davis DM, Chiu I, Fassett M, Cohen GB, Mandelboim O, Strominger JL. The human natural killer cell immune synapse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(26):15062-7.
55. Fütterer K, Wong J, Grucza RA, Chan AC, Waksman G. Structural basis for Syk tyrosine kinase ubiquity in signal transduction pathways revealed by the crystal structure of its regulatory SH2 domains bound to a dually phosphorylated ITAM peptide. *J Mol Biol.* 1998;281(3):523-37.
56. Mandelboim O, Lieberman N, Lev M, Paul L, Arnon TI, Bushkin Y, et al. Recognition of haemagglutinins on virus-infected cells by NKp46 activates lysis by human NK cells. *Nature.* 2001;409(6823):1055-60.
57. Vitale M, Bottino C, Sivori S, Sanseverino L, Castriconi R, Marcenaro E, et al. NKp44, a novel triggering surface molecule specifically expressed by activated natural killer cells, is involved in non-major histocompatibility complex-restricted tumor cell lysis. *J Exp Med.* 1998;187(12):2065-72.
58. Pende D, Parolini S, Pessino A, Sivori S, Augugliaro R, Morelli L, et al. Identification and molecular characterization of NKp30, a novel triggering receptor involved in natural cytotoxicity mediated by human natural killer cells. *J Exp Med.* 1999;190(10):1505-16.
59. Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL, et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science.* 1999;285(5428):727-9.
60. Moretta A, Tambussi G, Bottino C, Tripodi G, Merli A, Ciccone E, et al. A novel surface antigen expressed by a subset of human CD3- CD16+ natural killer cells. Role in cell activation and regulation of cytolytic function. *J Exp Med.* 1990;171(3):695-714.
61. Moretta A, Bottino C, Pende D, Tripodi G, Tambussi G, Viale O, et al. Identification of four subsets of human CD3-CD16+ natural killer (NK) cells by the expression of clonally distributed functional surface molecules: correlation between subset assignment of NK clones and ability to mediate specific alloantigen recognition. *J Exp Med.* 1990;172(6):1589-98.
62. Brown MH, Boles K, van der Merwe PA, Kumar V, Mathew PA, Barclay AN. 2B4, the natural killer and T cell immunoglobulin superfamily surface protein, is a ligand for CD48. *J Exp Med.* 1998;188(11):2083-90.
63. Le Bouteiller P, Barakonyi A, Giustiniani J, Lenfant F, Marie-Cardine A, Aguerre-Girr M, et al. Engagement of CD160 receptor by HLA-C is a triggering mechanism used by circulating natural killer (NK) cells to mediate cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(26):16963-8.
64. Bensussan A, Gluckman E, el Marsafy S, Schiavon V, Mansur IG, Dausset J, et al. BY55 monoclonal antibody delineates within human cord blood and bone marrow lymphocytes distinct cell subsets mediating cytotoxic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(19):9136-40.
65. Melero I, Johnston JV, Shufford WW, Mittler RS, Chen L. NK1.1 cells express 4-1BB (CDw137) costimulatory molecule and are required for tumor immunity elicited by anti-4-1BB monoclonal antibodies. *Cell Immunol.* 1998;190(2):167-72.
66. Lin W, Voskens CJ, Zhang X, Schindler DG, Wood A, Burch E, et al. Fc-dependent expression of CD137 on human NK cells: insights into « agonistic » effects of anti-CD137 monoclonal antibodies. *Blood.* 2008;112(3):699-707.

67. Kohrt HE, Colevas AD, Houot R, Weiskopf K, Goldstein MJ, Lund P, et al. Targeting CD137 enhances the efficacy of cetuximab. *J Clin Invest.* 2014;124(6):2668-82.
68. Kohrt HE, Houot R, Weiskopf K, Goldstein MJ, Scheeren F, Czerwinski D, et al. Stimulation of natural killer cells with a CD137-specific antibody enhances trastuzumab efficacy in xenotransplant models of breast cancer. *J Clin Invest.* 2012;122(3):1066-75.
69. Kohrt HE, Houot R, Goldstein MJ, Weiskopf K, Alizadeh AA, Brody J, et al. CD137 stimulation enhances the antilymphoma activity of anti-CD20 antibodies. *Blood.* 2011;117(8):2423-32.
70. Braud VM, Allan DS, O'Callaghan CA, Söderström K, D'Andrea A, Ogg GS, et al. HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature.* 1998;391(6669):795-9.
71. Colonna M, Samaridis J. Cloning of immunoglobulin-superfamily members associated with HLA-C and HLA-B recognition by human natural killer cells. *Science.* 1995;268(5209):405-8.
72. Burshtyn DN, Scharenberg AM, Wagtmann N, Rajagopalan S, Berrada K, Yi T, et al. Recruitment of tyrosine phosphatase HCP by the killer cell inhibitor receptor. *Immunity.* 1996;4(1):77-85.
73. Mason T, André P, Bensussan A. Leukocyte Typing VII. White Cell Differentiation Antigens. In: Oxford University Press. 2002. p. 692-3.
74. Hartman MA, Spudich JA. The myosin superfamily at a glance. *J Cell Sci.* 2012;125(Pt 7):1627-32.
75. Andzelm MM, Chen X, Krzewski K, Orange JS, Strominger JL. Myosin IIA is required for cytolytic granule exocytosis in human NK cells. *J Exp Med.* 2007;204(10):2285-91.
76. Hsu R-M, Tsai M-H, Hsieh Y-J, Lyu P-C, Yu J-S. Identification of MYO18A as a novel interacting partner of the PAK2/betaPIX/GIT1 complex and its potential function in modulating epithelial cell migration. *Mol Biol Cell.* 2010;21(2):287-301.
77. Furusawa T, Ikawa S, Yanai N, Obinata M. Isolation of a novel PDZ-containing myosin from hematopoietic supportive bone marrow stromal cell lines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;270(1):67-75.
78. Nakano T, Tani M, Nishioka M, Kohno T, Otsuka A, Ohwada S, et al. Genetic and epigenetic alterations of the candidate tumor-suppressor gene MYO18B, on chromosome arm 22q, in colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 2005;43(2):162-71.
79. Nishioka M, Kohno T, Tani M, Yanaihara N, Tomizawa Y, Otsuka A, et al. MYO18B, a candidate tumor suppressor gene at chromosome 22q12.1, deleted, mutated, and methylated in human lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(19):12269-74.
80. Mori K, Furusawa T, Okubo T, Inoue T, Ikawa S, Yanai N, et al. Genome structure and differential expression of two isoforms of a novel PDZ-containing myosin (MysPDZ) (Myo18A). *J Biochem (Tokyo).* 2003;133(4):405-13.
81. Cross M, Csar XF, Wilson NJ, Manes G, Addona TA, Marks DC, et al. A novel 110 kDa form of myosin XVIII A (MysPDZ) is tyrosine-phosphorylated after colony-stimulating factor-1 receptor signalling. *Biochem J.* 2004;380(Pt 1):243-53.
82. Yang C-H, Szeliga J, Jordan J, Faske S, Sever-Chroneos Z, Dorsett B, et al. Identification of the surfactant protein A receptor 210 as the unconventional myosin 18A. *J Biol Chem.* 2005;280(41):34447-57.
83. Haagsman HP, Hawgood S, Sargeant T, Buckley D, White RT, Drickamer K, et al. The major lung surfactant protein, SP 28-36, is a calcium-dependent, carbohydrate-binding protein. *J Biol Chem.* 1987;262(29):13877-80.

84. Kuroki Y, Tsutahara S, Shijubo N, Takahashi H, Shiratori M, Hattori A, et al. Elevated levels of lung surfactant protein A in sera from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary alveolar proteinosis. *Am Rev Respir Dis*. 1993;147(3):723-9.
85. Rubio S, Lacaze-Masmonteil T, Chailley-Heu B, Kahn A, Bourbon JR, Ducroc R. Pulmonary surfactant protein A (SP-A) is expressed by epithelial cells of small and large intestine. *J Biol Chem*. 1995;270(20):12162-9.
86. Aiad HAS, El-Farargy SM, Soliman MM, El-Wahed Gaber MA, El-Aziz Othman SA. Immunohistochemical staining of surfactant proteins A and B in skin of psoriatic patients before and after narrow-band UVB phototherapy. *Am J Clin Dermatol*. 2012;13(5):341-8.
87. Samten B, Townsend JC, Sever-Chroneos Z, Pasquinelli V, Barnes PF, Chroneos ZC. An antibody against the surfactant protein A (SP-A)-binding domain of the SP-A receptor inhibits T cell-mediated immune responses to Mycobacterium tuberculosis. *J Leukoc Biol*. 2008;84(1):115-23.
88. de Masson A, Giustiniani J, Marie-Cardine A, Bouaziz J-D, Dulphy N, Gossot D, et al. Identification of CD245 as myosin 18A, a receptor for surfactant A: a novel pathway for activating human NK lymphocytes. *OncoImmunology*. 2016;0(ja):00-00.
89. Mitsuhashi A, Goto H, Kuramoto T, Tabata S, Yukishige S, Abe S, et al. Surfactant protein A suppresses lung cancer progression by regulating the polarization of tumor-associated macrophages. *Am J Pathol*. 2013;182(5):1843-53.

Abréviations

Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (HSCT)
Réaction du greffon contre l'hôte (GVH)
Interleukine (IL)
Extracellular-regulated kinase (Erk)
Signal transducer and activator of transcription (STAT)
Natural killer (NK)
Immunoglobuline (Ig)
B-cell receptor (BCR)
Séquences signal de recombinaison (RSS)
Terminal déoxynucléotidyl transférase (TdT)
Lymphocytes B régulateurs (Breg)
Interféron (IFN)
Tumor necrosis factor (TNF)
Encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE)
Toll-like receptors (TLR)
Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA)
B cell activating factor of the TNF family (BAFF)
Lymphocytes T régulateurs adaptatifs de type 1 (Tr1)
complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)
Killer immunoglobulin-like receptor (KIR)
Lymphocyte-function-associated antigen 1(LFA1)
Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)
NK immune synapse (NKIS)
Immunoreceptor tyrosine-based activating motif (ITAM)
Src homology 2 (SH2)
Signaling lymphocyte activation molecule (SLAM)
Antibody-dependent cell cytotoxicity (ADCC)
Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory molecule (ITIM)
Src homology domain tyrosine phosphatase (SHP)

Publication 1 : Methods Mol Biol. 2014;1190:45-52.

Purification and immunophenotypic characterization of human B cells

with regulatory functions.

de Masson A(1), Le Buanec H(1), Bouaziz JD(1).

(1)INSERM U976, Paris, France.

Publication 2 : Med Sci (Paris). 2014 Aug-Sep;30(8-9):721-4.

[Update on regulatory B cells].

Bouaziz JD(1), de Masson A(1), Le Buanec H(2), Bagot M(1), Bensussan A(2).

(1)Inserm U976, F-75475, Paris, France - Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, laboratoire d'immunologie, dermatologie et oncologie, UMR-S 976, F-75475, Paris, France - service de dermatologie, hôpital Saint-Louis, 1, avenue Claude Vellefaux, 75010 Paris, France.

(2)Inserm U976, F-75475, Paris, France - Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, laboratoire d'immunologie, dermatologie et oncologie, UMR-S 976, F-75475, Paris, France.

CD24(hi)CD27⁺ and plasmablast-like regulatory B cells in human chronic graft-versus-host disease.

de Masson A(1), Bouaziz JD(1), Le Buanec H(2), Robin M(3), O'Meara A(3), Parquet N(4), Rybojad M(5), Hau E(2), Monfort JB(2), Branchtein M(2), Michonneau D(3), Dessirier V(2), Sicre de Fontbrune F(3), Bergeron A(6), Itzykson R(7), Dhédin N(7), Bengoufa D(8), Peffault de Latour R(9), Xhaard A(3), Bagot M(1), Bensussan A(2), Socié G(9).

(1)Laboratory of Oncodermatology, Immunology and Cutaneous Stem Cells, INSERM Unité Mixte de Recherche Scientifique 976, Paris, France; University of Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France; Dermatology Department.

(2)Laboratory of Oncodermatology, Immunology and Cutaneous Stem Cells, INSERM Unité Mixte de Recherche Scientifique 976, Paris, France; University of Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France; (

3)Hematology and Transplantation.

(4)Therapeutic Apheresis Unit.

(5)Dermatology Department.

(6)Pneumology Department.

(7)Adolescents and Young Adults Hematology Unit,

(8)Immunology Department, Saint-Louis Hospital, Paris, France;

(9)University of Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France; Hematology and Transplantation, INSERM Unité Mixte de Recherche Scientifique 1160, Paris, France.

Publication 4 : Oncoimmunology. 2015 Apr 1;4(7):e1016707.

Deficient regulatory B cells in human chronic graft-versus-host disease.

de Masson A(1), Socié G(2), Bagot M(1), Bensussan A(3), Bouaziz JD(1).

- (1)Service de Dermatologie; Hôpital Saint-Louis ; Paris, France ; INSERM UMRS 976; Laboratoire "Oncodermatology; Immunology and Cutaneous Stem Cells"; Université Paris VII Sorbonne Paris Cité; Hôpital Saint-Louis ; Paris, France.
(2)Service d'Hématologie Greffes; INSERM UMRS 1160; Université Paris VII Sorbonne Paris Cité; Hôpital Saint-Louis ; Paris, France. (3)INSERM UMRS 976; Laboratoire "Oncodermatology; Immunology and Cutaneous Stem Cells"; Université Paris VII Sorbonne Paris Cité; Hôpital Saint-Louis ; Paris, France.

Publication 5 : Oncoimmunology. 2016 Jan 13;5(5):e1127493.

Identification of CD245 as myosin 18A, a receptor for surfactant A: a novel pathway for activating human NK lymphocytes

De Masson A(1,2,3)*, Giustiniani J(4,5)*, Marie-Cardine A(1,2)*, Bouaziz J-D (1,2,3), Dulphy N(2,6,7), Gossot D(8), Validire P(9), Tazi A(2,10), Garbar C(4,5), Bagot M(1,2,3), Merrouche Y(4,5), Bensussan A(1,2)

- (1) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) Unité Mixte de Recherche Scientifique (UMRS)-976, Laboratoire “Oncodermatology, Immunology and Cutaneous Stem Cells“, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
- (2) Université Paris VII Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
- (3) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
- (4) Institut Jean Godinot, Unicancer, F- 51726 Reims, France
- (5) Université Reims-Champagne-Ardenne, DERM-I-C, EA7319, 51 rue Cognacq-Jay, 51095 Reims cedex, France
- (6)INSERM UMRS-1160, Institut Universitaire d’Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
- (7)Laboratoire d’Immunologie et Histocompatibilité, Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Paris, France
- (8) Service de chirurgie thoracique, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
- (9) Service d’anatomopathologie, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
- (10) Service de pneumologie, Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Paris, France

*These authors contributed equally and share first authorship.