

# LE CONTROLE GENETIQUE DES HYPEREOSINOPHILIES

B. GRANEL, P. DISDIER, N. SCHLEINTZ, C. CHEVILLARD, J.-R. HARLE, A. DESSEIN, P.J. WEILLER

**RESUME** • Le polynucléaire éosinophile joue un rôle crucial dans les défenses anti-infectieuses et tout particulièrement contre les helminthes. La survenue d'une hyperéosinophilie est attribuable à deux mécanismes qui peuvent s'associer : une augmentation de leur production médullaire et de leur différenciation et une augmentation de leur durée de vie. La réponse à éosinophiles est sous la dépendance de nombreuses cytokines parmi lesquelles l'IL-5, l'IL-4, l'IL-3 et le GM-CSF. Les gènes codant ces dernières étant situés dans la région 5q31-q33 du chromosome 5, c'est à ce niveau que se sont concentrées les études portant sur l'approche génétique des hyperéosinophilies humaines. L'intérêt de ces études est de pouvoir, à l'avenir, mieux identifier les populations à risque d'helminthiases et celles qui pourraient présenter une dérégulation de la réponse immunitaire susceptible de conduire à l'atopie ou à certaines maladies systémiques inflammatoires.

**MOTS-CLES** • Hyperéosinophilies - Chromosome 5 - Cytokines.

## GENETIC CONTROL OF HYPEREOSINOPHILIA

**ABSTRACT** • Polynuclear eosinophils play a major role in host defense against infectious diseases and especially helminthiasis. Onset of hypereosinophilia can be attributed to two mechanisms which can occur separately or in combination. The first mechanism involves enhancement of medullary production and differentiation of eosinophils. The second is prolonged life span of eosinophils. Response to eosinophils depends on various cytokines including IL-5, IL-4, IL-3 and GM-CSF. Since it contains the genes coding for these cytokines, the 5q31-q33 region of chromosome 5 is the focus of study on genetic control of human hypereosinophilia. The goal of these studies is to allow screening of subjects predisposed to helminthic infection and to deregulation of immune responses that may lead to atopy and various types systemic inflammatory diseases.

**KEY WORDS** • Hypereosinophilia - Chromosome 5 - Cytokines.

Med. Trop. • 1998 • 58 4 bis • 508-511

Le polynucléaire éosinophile est une cellule relativement peu abondante parmi les leucocytes du sang circulant chez l'homme (il représente jusqu'à 5 % de la formule leucocytaire sanguine et sa situation est surtout tissulaire), mais il joue un rôle crucial dans les défenses anti-infectieuses et tout particulièrement contre les helminthes. La survenue d'une hyperéosinophilie est attribuable à deux mécanismes qui peuvent s'associer : une augmentation de leur production médullaire et de leur différenciation (éosinopoïèse) et une augmentation de leur durée de vie.

Le caractère familial de l'atopie, la variabilité d'un individu à l'autre de la résistance aux helminthes et de la

cytotoxicité des éosinophiles vis-à-vis des tissus humains ont fait suspecter l'intervention de facteurs génétiques dans le contrôle de la réponse à éosinophiles. Cette dernière est sous la dépendance de nombreuses cytokines parmi lesquelles l'IL-5, l'IL-4, l'IL-3 et le GM-CSF tiennent le devant de la scène. Les gènes codant ces dernières étant situés dans une région bien précise du génome, la région 5q31-q33 du chromosome 5, c'est tout naturellement à ce niveau que se sont concentrées les études portant sur l'approche génétique de hyperéosinophiles humaines.

## LES BASES PHENOTYPIQUES DES HYPEREOSINOPHILIES

### Le modèle de l'atopie.

L'atopie est une tendance constitutionnelle ou héréditaire à présenter des réactions d'hypersensibilité immédiate (asthme allergique par exemple) ou d'autres réactions allergiques à des allergènes qui ne provoquent aucune réaction chez les sujets normaux. Elle se caractérise par une production anormalement importante d'IgE et par une rupture de tolérance vis-

• Travail du Service de Médecine Interne (B.G., Interne ; P.D., Professeur ; P.I.W., Professeur, Chef de Service) de l'Hôpital de la Timone, du Service de Médecine Interne (J.R.H., Professeur, Chef de Service) de l'Hôpital de la Conception, et de l'Unité d'immunologie et Génétique des Maladies Parasitaires/INSERM U399 (N.S., Imeme ; C.C., Docteur en Sciences ; A.D., Professeur, Chef de Service) de la Faculté de Médecine, Marseille, France.

• Correspondance : P. DISDIER, Service de Médecine Interne, Hôpital de la Timone, 13385 Marseille Cedex 5, France • Fax : 04 91 34 74 07 • e-mail : pweil/er@ap-hm.fr •

à-vis de certains antigènes de l'environnement habituellement non immunogènes. Chez les patients atopiques, l'analyse de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> spécifiques d'antigène a permis de retrouver un profil de sécrétion de cytokines de type Th2 : production préférentielle d'IL-5 et d'IL-4, peu ou pas de production d'IL-2 et d'interféron  $\gamma$  (INF $\gamma$ ) (1). L'IL-5 intervient dans la production, la survie et l'activation des éosinophiles, l'IL-4 étant indispensable à la commutation isotypique vers les IgE. Les mastocytes activés sont les effecteurs de la réaction allergique aiguë et leur activation se fait via le récepteur de haute affinité des IgE (Fc $\epsilon$ RI) par pontage des IgE après contact avec l'allergène. Le recrutement des éosinophiles est assuré au niveau du foyer inflammatoire grâce à l'action de cytokines et de chémokines dont l'IL-5 et l'éotaxine. Le récepteur de haute affinité de cette dernière, le CCR3, est exprimé à la fois par les éosinophiles et les basophiles, mais aussi par une population de lymphocytes T de type Th2 ce qui tend à faire de l'éotaxine un facteur de recrutement d'éosinophiles et de lymphocytes Th2 au sein de la réaction allergique.

### Le modèle des helminthiases.

Un phénotype de résistance aux helminthiases a été mis en évidence au sein des populations vivant en état d'endémie parasitaire. Ainsi, la résistance à la bilharziose semble sous-tendue par une différenciation lymphocytaire dans le sens Th2, la balance de production IgE/JgG4 réglant les modalités de la réponse antiparasitaire. Là encore, les éosinophiles interviennent par des phénomènes de cytotoxicité directe impliquant le Fc $\epsilon$ RI. Leur action cytotoxique passe par la dégranulation et le relargage de médiateurs telles que la protéine cationique des éosinophiles (ECP), la protéine basique (MBP : *major basic protein*) ou la neurotoxine (EDN). Il a été récemment rapporté que l'IL-5 peut induire l'expression d'une pro-MBP dans des éosinophiles en cours de différenciation (2). Par ailleurs, l'induction, dans les éosinophiles activés, de nitrique oxyde synthétase, enzyme impliquée dans la régulation de la réponse immunitaire, vient d'être démontrée (3).

### Le modèle des syndromes myéloprolifératifs à éosinophiles.

Les proliférations d'éosinophiles de nature clonale qui rejoignent le cadre nosologique des affections malignes sont bien connues en pathologie humaine. Les principales régions chromosomiques impliquées dans la pathogénie des syndromes myéloprolifératifs avec hyperéosinophilie sont le bras court du chromosome 12 et du chromosome 8, le bras long du chromosome 5 et du chromosome 16 (4-7). Différentes anomalies cytogénétiques ont pu être décrites au cours du syndrome hyperéosinophilique primitif et certaines d'entre elles impliquent la région 5q31-32. D'autres observations portent sur des trisomies telles que la trisomie 8 ou divers types de translocations t(8 ; 21), t(5 ; 14), t(5 ; 12) ou t(3 ; 5)(p13 ; q13). Toutefois, le produit des gènes altérés n'est pas connu avec certitude dans l'ensemble des observations publiées. Ces descriptions pour la plupart isolées ont cependant le mérite d'attirer l'attention sur un contrôle génétique des éosinophilies.

### Les altérations de l'apoptose.

Certaines cellules T produisant des cytokines impliquées dans l'éosinophilie pourraient échapper à l'apoptose en exprimant insuffisamment la molécule *Fas* (récepteur) ou en produisant une protéine *Fas* soluble antagonisant la protéine normale *Fas* ligand. Un tel mécanisme vient d'être rapporté dans un cas de syndrome hyperéosinophilique essentiel et dans un cas d'éosinophilie au cours de l'infection par le VIH, les cellules T produisant les cytokines éosinopoiétiques étant de phénotype CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup> (8).

## LE CONTROLE GENETIQUE DES HYPEREOSINOPHIUES

### Les gènes impliqués dans la synthèse et la régulation de l'interleukine-5.

L'IL-5 est produite par les lymphocytes T activés, les mastocytes et les éosinophiles eux-mêmes. Sa production par les cellules T soutient la notion communément admise de dépendance T de l'éosinophilie. L'IL-5 favorise la croissance et la différenciation des éosinophiles, leur activation et leur chimiotactisme et est impliquée dans la différenciation des lymphocytes B. L'inactivation de l'IL-5 (*knock-out* de la chaîne du récepteur) entraîne une diminution du nombre d'éosinophiles circulants à l'état basal et en réponse à une infection parasitaire. Le gène de l'IL-5 est localisé sur le chromosome 5 en position 5q23.3-3.1.

Il est très probable que certaines éosinophilies auraient pour origine une production anormale d'IL-5 comme plusieurs auteurs l'ont déjà rapporté à partir de cas étudiés isolément. Cette dérégulation de la production d'IL-5 peut avoir une origine génétique et être associée à certaines mutations dans les gènes qui ont été impliqués dans le contrôle des niveaux d'IL-5 chez des sujets infectés par des helminthes. Chez ces patients qui produisent des quantités élevées d'IL-5, les différences de production qui ont été observées entre les individus soumis aux mêmes conditions de stimulation sont expliquées par un contrôle génétique impliquant un gène majeur. C'est un polymorphisme au niveau de ce gène qui pourrait rendre compte de la variance du niveau d'IL-5 dans la population.

Actuellement, deux gènes connus sont impliqués directement dans la production ou dans le contrôle de l'IL-5 : l'un est le gène codant pour l'IL-5, qui se trouve en position 5q31-q33, l'autre un gène majeur de régulation de la production d'IL-5 dont l'existence a été récemment postulée et qui peut rendre compte de plus de 70 % de la variance du niveau de production d'IL-5 chez des sujets infectés par *Schistosoma mansoni*. L'existence de ce second gène a été démontré par analyse de ségrégation et sa localisation génétique est en cours à l'aide de microsatellites (9). L'intérêt de ce gène est qu'il est le premier gène majeur de contrôle d'une cytokine rapporté à ce jour. L'étude de son polymorphisme sera sans doute d'un intérêt majeur dans l'étude des mécanismes des hyperéosinophilies humaines.

## Les gènes impliqués dans la synthèse et la régulation de l'interleukine-4.

L'IL-4 est sécrétée par un nombre restreint de cellules dont les lymphocytes T. Elle joue un rôle crucial dans le développement des cellules Th2 et inhibe la production d'IFN- $\gamma$  par les cellules Th1. L'inactivation de l'IL-4 (*knock-out* de l'IL-4) entraîne chez la souris une incapacité à développer une réponse Th2. Elle est aussi sécrétée par les basophiles/mastocytes après pontage d'IgE fixées sur le Fc $\epsilon$ :RI par l'antigène. L'IL-4 joue un rôle fondamental dans la production d'IgE. De plus, l'immunité protectrice contre certains parasites tels que *Schistosoma mansoni* (10) ou *Trichine/la spiralis* (11) dépend du recrutement et de l'accumulation des éosinophiles dans les tissus qui est en grande partie dépendante des IgE. Le gène de l'IL-4 humaine est situé sur le chromosome 5, près des gènes de l'IL-5, de l'IL-3 et du GM-CSF.

Le promoteur du gène de l'IL-4 contient une séquence P spécifique à laquelle se fixe une protéine activatrice. Des mutations dans les régions promotrices de l'IL-4 mises en évidence dans des lignées lymphocytaires B humaines ont déjà été rapportées et s'accompagnent d'une augmentation des niveaux de transcription dans des modèles *in vivo*. Une mutation ponctuelle 590C>T du promoteur de l'IL-4, a été mise en évidence chez environ 30 % des patients atopiques (12) et est associée à une élévation sérique des IgE totales, des IgE spécifiques de poussières de maison et à la survenue d'une dermatite atopique. Cette mutation pourrait avoir un effet positif sur la production d'IL-4 en créant un site de fixation à proximité d'un site de fixation pour NFAT-1, molécule appartenant à la classe des *Nuclear Factor of Activated T Cells* dont le rôle est d'amorcer la transcription des gènes codant pour diverses cytokines.

L'IL-4 se fixe par ailleurs à des récepteurs de haute affinité exprimés sur de nombreux types cellulaires. Une mutation ponctuelle de la sous-unité  $\alpha$  du récepteur de l'IL-4 semble liée au syndrome de Job qui associe des infections récurrentes et une élévation importante des IgE et à certains sujets atopiques.

## Les gènes impliqués dans la synthèse et la régulation de l'interleukine-3 et du GM-CSF.

L'IL-3 et le GM-CSF font partie d'une catégorie de facteurs de croissance hématopoïétiques dont les activités biologiques se recouvrent souvent et qui ont la propriété d'agir sur des précurseurs immatures. Leurs gènes sont situés sur le chromosome 5.

L'IL-3 est principalement produite par les lymphocytes T, particulièrement les cellules T CD4+ qu'elles soient de type Th1 ou Th2. Une autre source d'IL-3 est le mastocyte activé après *cross linking* de ses récepteurs Fc $\epsilon$ :RI. Le GM-CSF est produit par de nombreux types cellulaires dont les lymphocytes T activés, les macrophages/monocytes, les fibroblastes... Dans tous les cas, sa production nécessite une stimulation par d'autres cytokines (TNF, IL-1...) ou par des endotoxines. Parmi les nombreuses activités biologiques de l'IL-3 et du

GM-CSF, il faut retenir l'induction de la formation de colonies de granulocytes, de macrophages, d'éosinophiles et de mégacaryocytes.

Des souris transgéniques porteuses d'un déficit partiel en IL-3 présentent un syndrome lymphoprolifératif pré-B et une atteinte cérébelleuse. L'inactivation du GM-CSF (*knock-out* de GM-CSF) chez la souris entraîne une pathologie pulmonaire avec protéinose alvéolaire et infiltration lymphocytaire péribronchique.

## La mutation de l'exon 7 du récepteur de haute affinité pour les IgE : Fc $\epsilon$ :RI.

Fc $\epsilon$ :RI est composé de 3 sous-unités:  $\alpha$  permet la liaison avec le fragment Fe des IgE ;  $\beta$  et  $\gamma$  possèdent un motif ITAM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Activatory Motif*) permettant le recrutement de protéines tyrosine-kinases. La sous-unité  $\gamma$  qui participe à l'amplification du signal transduit la Fc $\epsilon$ :RI peut être l'objet d'une mutation A > G à + 6843 dont la fréquence est évaluée aux environs de 5 % et qui pourrait s'associer à la positivité de tests cutanés d'atopie et à la présence d'IgE spécifiques de poussières de maison chez certains patients allergiques (13).

## LES PERSPECTIVES D'AVENIR

Deux perspectives sont clairement attendues. L'une concerne un meilleur classement nosologique des pathologies non parasitaires accompagnées d'hyperéosinophilie et l'on peut s'attendre à une révision des critères diagnostiques de certaines maladies telles que le syndrome de Churg et Strauss ou le syndrome hyperéosinophilique essentiel. L'autre concerne la thérapeutique, et l'on sait déjà que les éosinophiles possèdent un récepteur à l'interféron  $\alpha$  dont la stimulation inhibe la dégranulation et le relargage de médiateurs tels que la protéine cationique des éosinophiles (ECP), la neurotoxine (EDN) et l'IL-5 (14). On comprend ainsi l'engouement que suscite déjà le traitement de certaines hyperéosinophilies myéloprolifératives graves à tropisme tissulaire par l'interféron  $\alpha$  recombinant (15, 16).

## REFERENCES

- 1 - VAN NEERVEN R.J., EBNER C., YSSEL H. et Coll. - T-cell responses to allergen: epitope-specificity and clinical relevance. *Immunology Today* 1996 ; 17 : 526-532.
- 2 - POPKEN H.P., CHECKEL J., LOEGERING D. et Coll. - Regulation and processing of a precursor form of eosinophil granule major basic protein (ProMBP) in differentiating eosinophils. *Blood* 1998; 92: 623-631.
- 3 - DEL POZO V., DE ARRUDA-CHAVES E., DE ANDRES B. et Coll. - Eosinophils transcribe and translate messenger RNA for inducible nitric oxide synthase. *J. Immunol.* 1997 ; 158 : 859-864.
- 4 - EGESTEN A., HAGERSTRAND L., KRISTOFFERSSON U., GARWICZ S. - Hypereosinophilic syndrome in a child mosaic for a congenital trisomy of the short arm of chromosome 8 B; *J Haematol.* 1997 ; 96 : 369-373.

- 5 - KEENE P., MENDELOW B., PINTO M.R. et Coll. - Abnormalities of chromosome 12p13 and malignant proliferation of eosinophils: a non-random association. *Br. J. Haematol.* 1987 ; 67 : 25-31.
- 6 - LE BEAU M.M., LARSON R.A., BITTER M.A. et Coll. - Association of an inversion of chromosome 16 with abnormal marrow eosinophils in acute myelomonocytic leukemia. A unique cytogenetic-clinical-pathological association. *N. Engl. J. Med.* 1983 ; 309 : 630-636.
- 7 - SHANSKE A.L., KALMAN A., GRUNWALD H. - A myeloproliferative disorder with eosinophilia associated with a unique translocation (3;5). *Br. J. Haematol.* 1996; 95 : 524-526.
- 8 - SIMON H.U., YOUSEFI S., DOMMANN-SCHERRER C.C. et Coll. - Expansion of cytokine-producing CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T cells associated with abnormal *Fas* expression and hypereosinophilia. *J. Exp. Med.* 1996 : 183 : 1071-1082.
- 9 - RODRIGUES V., ABEL L., PIPER K., DESSEIN A.J. - Segregation analysis indicates a major gene in the control of interleukin-5 production in humans infected with *Schistosoma 111ars011i*. *Am. J. Hum. Genet.* 1996 : 59: 453-461.
- 10 - KIGONI E.P., ELSAS P.P.X., LENZ H.L., DESSEIN A.J. - IgE antibody and resistance to infection. 11-Effects of IgE suppression on the early and late skin reaction and resistance of rats to *Schistosoma 111ars011i* infection. *Eltr. J.* /111111md 1986: 16: 589-595.
- 11 - DESSEIN A.J., PARKER W.L., JAMES S.L., DAVID J.R. - IgE antibody and resistance to infection. 1-Selective suppression of the IgE antibody response in rats diminishes the resistance and eosinophil response to *Trichine/ta spiralis* infection. *J. Exp. Med.* 1981 ; 153: 423-436.
- 12 - WALLEY A.J., COOKSON W.O. - Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy. *J. Med. Genet.* 1996 ; 33 : 689-692.
- 13 - HILL M.R., COOKSON W.O. - A new variant of the beta subunit of the high affinity receptor for immunoglobulin E (Fe epsilon RI-beta E237G) : associations with measures of atopy and bronchial hyper-responsiveness. *Hum. Mol. Genet.* 1996 : 5 : 959-962.
- 14 - ALDEBERT D., LAMKHIOUED B., DESAIN C. et Coll. - Eosinophils express a functional receptor for interferon gamma: inhibitory role of interferon gamma on the release of mediators. *Exp. Parasitol.* 1996; 87: 2354-2360.
- 15 - SCHANDENE L., DEL PRETE G.F.F., COGAN E. et Coll. - Recombinant interleukin-5 selectively inhibits the production of interleukin-5 by human CD4<sup>+</sup> T cells. *J. Clin. Invest.* 1996 : 97 : 300-315.
- 16 - MALBRAIN M.L.N.G., VAN DEN BERGH H., ZACHEE P. - Further evidence for the clonal nature of the idiopathic hypereosinophilic syndrome: complete haematological and cytogenetic remission induced by interferon gamma in a case with a unique chromosomal abnormality. *Br. J. Haematol.* 1996 : 92 : 176-183.