HAL
open science

Syndromes hémophagocytaires d'origine génétique

Nadine Nehme, Jana Pachlopnik-Schmid, Geneviève de Saint Basile

To cite this version:

Nadine Nehme, Jana Pachlopnik-Schmid, Geneviève de Saint Basile. Syndromes hémophagocytaires d'origine génétique. Revue Méditerranéenne de Génétique Humaine, 2010, 1, pp.34-44. hal-00634747

HAL Id: hal-00634747

https://confremo.hal.science/hal-00634747

Submitted on 23 Oct 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

RMGH.ORG
Revue méditerranéenne de génétique humaine

Revue de la littérature

Syndromes hémophagocytaires d'origine génétique
Primary hemophagocytic syndrome

Nadine Nehme[1], Jana Pachlopnik-Schmid[1-2] et Geneviève de Saint Basile[1-2,3,*]

[1]Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U768, 75015, Paris, France

[2]Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, 75015, Paris, France

[3]Centre d'Etude des Déficits Immunitaires, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, 75015, Paris, France

RÉSUMÉ

Les mécanismes contrôlant les défenses de l'organisme sont complexes et partiellement inconnus. La dérégulation d'un de ces mécanismes caractérise le syndrome hémophagocytaire (SH). Les SH sont caractérisés par une lymphoprolifération polyclonale des lymphocytes T CD8 non régulée, souvent fatale pour le patient. Les formes héréditaires de ce syndrome ainsi que les formes acquises peuvent être induites par des virus ou d'autres agents infectieux. Des mutations affectant les gènes codants pour la perforine (*PRF1, FHL2*), Munc13-4 (*UNC13D, FHL3*), et syntaxin 11 (*STX11*, FHL4) ont été associées à des formes de Lymphohistiocytose Familiale (LHF), alors que des mutations dans *RAB27A* et *LYST* caractérisent le syndrome de Griscelli type 2 et le syndrome de Chediak-Higashi, respectivement. Dans pratiquement toutes les pathologies génétiquement caractérisées qui évoluent vers l'apparition d'un SH, un effecteur de la voie cytotoxique des lymphocytes T dépendante des granules est mis en cause. Pour permettre la rémission de cette inflammation non contrôlée, le traitement des SH consiste en la neutralisation de l'agent infectieux associé à un traitement immunosuppresseur. Seule une transplantation de cellules souches hématopoïétiques allogénique permet de guérir durablement les cas héréditaires de SH.

SUMMARY

Both the innate and adaptive immune responses use tightly regulated control systems, the complexity of which begins to emerge. The deregulation of one of these mechanisms characterizes the hemophagocytic syndrome (SH), which manifests as an uncontrolled expansion of polyclonal T lymphocytes and macrophage activation. SH are potentially fatal immune disorders characterized by hypercytokinemia and cell infiltration of organs leading to the clinical and laboratory features of SH. Viral infections and other triggers can induce both inherited and acquired forms of HLH. Disease-causing mutations in the genes encoding perforin (*PRF1, FHL2*), Munc13-4 (*UNC13D, FHL3*), and syntaxin 11 (*STX11, FHL4*) have been previously identified in Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (FHL), whereas mutation in *RAB27A* and *LYST* account for Griscelli syndome type 2 and Chediak-Higashi syndrome, respectively. All these genes encode proteins involved in the cytotoxic activity of lymphocytes. The inability of activated cytotoxic cells to clear antigen-presenting targets results in sustained immune stimulation, likely accounting for the unremitting polyclonal CD8 T-cell activation and hyperimmune reaction which characterizes FHL. Treatment of HLH consists of elimination of the trigger and immunosuppressive treatment in order to induce remission from the uncontrolled

*Auteur correspondant: Geneviève de Saint Basile
U768, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM),
Hôpital Necker Enfants Malades
149 rue de Sèvres, 75015, Paris, France
Tel: 33 1 44 49 50 80
Fax: 33 1 42 73 06 40
Courriel: genevieve.de-saint-basile@inserm.fr
Fax: 33 491 38 46 76

inflammation. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is indicated in the inherited forms of HLH.

PHYSIOPATHOLOGIE DU SYNDROME HÉMOPHAGOCYTAIRE OU SYNDROME D'ACTIVATION MACROPHAGIQUE

En réponse à une infection, l'immunité innée et adaptative s'activent et agissent de concert pour lutter contre cette infection, l'éliminer et générer des cellules mémoires. Les infections virales induisent une expansion massive polyclonale des lymphocytes cytotoxiques capables de tuer les cellules cibles infectées par le virus et produisent de grandes quantités de cytokines comme l'interféron gamma (IFN-g). L'IFN-g contribue au contrôle de la réplication virale et est nécessaire à l'activation macrophagique secondaire. La fin de la réponse immune est caractérisée par une phase de contraction des cellules effectrices avec le maintien d'un très petit nombre de cellules T mémoires (Menasche et al., 2005). Dans le cas d'un syndrome hemophagocytaire (SH), on observe une dérégulation de l'homéostasie lymphocytaire qui se traduit par une activation lymphocytaire et macrophagique incontrôlée potentiellement fatale. Cette dérégulation est associée à des anomalies moléculaires touchant des effecteurs indispensables au fonctionnement de la machinerie cytotoxique des lymphocytes. Plusieurs mutants naturels ont ainsi pu être identifiés et ont permis l'identification des différentes étapes clés de la voie de sécrétion des granules cytotoxiques, comme l'activation cellulaire, le transport, la polarisation des granules cytotoxiques, leur arrimage et leur fusion au niveau de la membrane plasmique, et le déversement de leur contenu au niveau de la synapse immunologique conduisant à la mort de la cellule cible (Lieberman, 2003; Stinchcombe et al., 2006).

L'expression d'un syndrome hémophagocytaire (SH) également appelé syndrome d'activation macrophagique (SAM) n'est pas différente au cours des syndromes dit primitifs comme la lymphohistiocytose familiale (LHF), le syndrome de Chediak-Higashi (CHS) ou le syndrome de Griscelli (GS). De même, ce syndrome hémophagocytaire présente des caractéristiques similaires, qu'il soit observé en association avec une infection virale, une maladie autoimmune ou maligne (syndromes acquis). L'apparition d'un syndrome hémophagocytaire d'origine héréditaire semble fréquemment déclenchée par une infection, en particulier par un virus du groupe herpès ou par un microorganisme à développement intracellulaire. Dans sa forme la plus typique (Henter et Elinder, 1991), (tableau 1), le syndrome hémophagocytaire se caractérise cliniquement par une fièvre prolongée et une hépatosplénomégalie. Des signes neurologiques peuvent venir compliquer et, parfois même, dominer le tableau clinique. Ces signes sont plus ou moins sévères, allant d'une simple irritabilité, une hypo- ou une hypertonie, à une ataxie, une hémiplégie ou même un coma. Sur le plan biologique,

Manifestations Cliniques	Manifestations Biologiques
fièvre élevée	pancytopénie
hépatosplenomegalie	fibrinopénie
troubles neurologiques	hypertriglyceridémie
	hyponatrémie
	hémophagocytose

Tableau 1: Signes cliniques et biologiques du syndrome Hémophagocytaire

on retrouve une pancytopénie, le plus souvent une anémie et une thrombopénie, et des troubles de la fonction hépatique avec élévation des transaminases, hyperbilirubinémie, hypofibrinogènémie, hypertriglycéridémie et hyponatrémie. Il existe également une augmentation importante des cytokines pro-inflammatoires dans le plasma: le tumor necrosis factor-a (TNFa) et l'INF-g, en particulier. Ces signes sont le reflet d'une réponse immune exagérée et mal contrôlée (Figure 1).

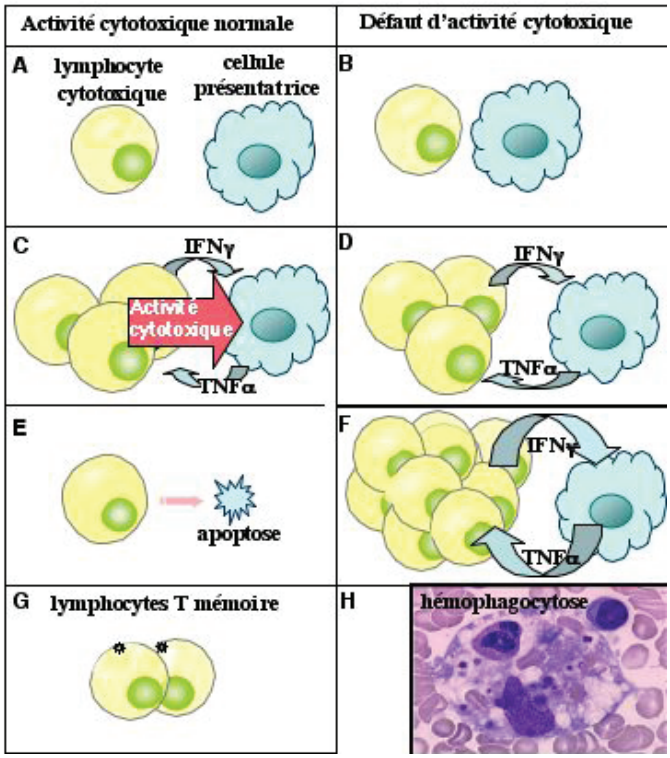

Figure 1: **Physiopathologie du syndrome hémophagocytaire associé à un défaut d'activité cytotoxique.** Il est probable que la reconnaissance de la cellule présentatrice par le lymphocyte spécifique ne diffère pas entre les individus avec (A) une activité cytotoxique normale et (B) déficiente. (C+D) L'activation du lymphocyte spécifique entraîne un relargage de cytokines et un recrutement d'autres lymphocytes. (E) Seuls les lymphocytes avec une activité cytotoxique normale sont capables d'induire l'apoptose de la cellule infectée ou présentatrice d'antigène. (G) La fin de la réponse immune est définie par une phase de contraction des cellules effectrices et le maintien de quelques cellules T mémoires. (F) Il est probable que la persistance de cellules présentatrices d'antigène maintienne une activation des lymphocytes effecteurs de la réponse immune dans le cas d'un défaut d'activité cytotoxique. (H) Cette hyper-activation conduit à un syndrome hémophagocytaire. Image d'hémophagocytose : un macrophage ayant phagocyté des globules rouges, des plaquettes et un granulocyte dans un prélèvement de moelle osseuse (agrandissement : x 1000, coloration: May-Gruenwald-Giemsa).

On retrouve en effet, sur le plan immunologique, une prolifération polyclonale de lymphocytes T activés, essentiellement de phénotype CD8+, qui infiltrent les organes lymphoïdes secondaires puis progressivement d'autres organes y compris le système nerveux central. Ces lymphocytes T expriment des marqueurs d'activation (CD25, et molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II). Des macrophages activés secrétant en grande quantité des cytokines proinflammatoires participent également à cet infiltrat et sont capables d'hémophagocytose (Figure 1H), notamment dans la moelle osseuse. Une rémission spontanée est rarement observée, en particulier dans les formes héréditaires. Au contraire, l'infiltration cellulaire conduit à une nécrose tissulaire massive, une atteinte multi-viscérale et au décès du patient en l'absence de traitement. L'emploi conjugué de la corticothérapie, et de la Cyclosporine A (CsA) permet en général l'obtention d'une rémission du syndrome dans sa forme acquise. Cependant chez les patients atteints de formes héréditaires, ce traitement peut s'avérer inefficace et nécessite l'adjonction d'une chimiothérapie par le VP-16 ou d'un traitement immunosuppresseur par des immunoglobulines anti-thymocytaire (ATG).

L'injection intrathécale de méthotrexate permet de mieux traiter l'éventuelle atteinte cérébrale. Cependant, ces traitements contraignants s'avèrent parfois inefficaces et contrôlent difficilement les rechutes. Seule l'allogreffe de cellules souches hématopoiétiques permet de guérir durablement le déficit immunitaire héréditaire sous-jacent (Fischer et al., 1986; Henter et Elinder, 1991; Jabado et al., 1997; Pachlopnik Schmid et al., 2009b) .

PLUSIEURS CAUSES MOLÉCULAIRES À L'ORIGINE DU SH OBSERVÉ DANS LA LYMPHOHISTIOCYTOSE FAMILIALE:

La lymphohistiocytose familiale se caractérise par l'apparition d'un syndrome hémophagocytaire isolé, transmis selon un mode autosomique récessif (Farquhar et Claireaux, 1952). La fréquence de la maladie est estimée à un cas sur 50 000 naissances. Dans cette affection, le syndrome hémophagocytaire survient dans la majorité des cas après un intervalle libre suivant la naissance de quelques mois ou plus rarement quelques années. Parfois cependant, le début des manifestations survient quelques heures seulement après la naissance. Il existe une étroite corrélation entre la précocité et la gravité de la maladie (Voskoboinik et al., 2006). Il n'existe pas de signes biologiques de la maladie avant l'apparition du syndrome hémophagocytaire, à l'exception d'un défaut de l'activité cytotoxique des lymphocytes T et des cellules Natural Killer (NK)(Henter et Elinder, 1991) retrouvé chez la plupart des patients.

Les études de liaison génétique qui ont été menées au cours de ces dernières années ont révélé une grande hétérogénéité génétique pour cette maladie (Tableau2) (pour revue, consulter l'article de (de Saint Basile et Fischer, 2001).

Un premier locus de la maladie nommé FHL de type 1 (FHL1) est situé sur le chromosome 9q21-q22.3, locus dont l'association semble restreinte à un groupe de familles pakistanaises. Le gène associé à ce locus reste inconnu.

Un deuxième locus nommé *FHL* de type 2 (FHL2) a été identifié sur le chromosome 10 en 10q21-q22. Le gène de la perforine (*PRF1*), constitué de 3 exons avec les exons 2 et 3 codant pour une protéine de 555 acides aminés, localisé dans cette région génétique, a été montré être la cause moléculaire de la FHL2 (Stepp et al., 1999) (Figure 2).

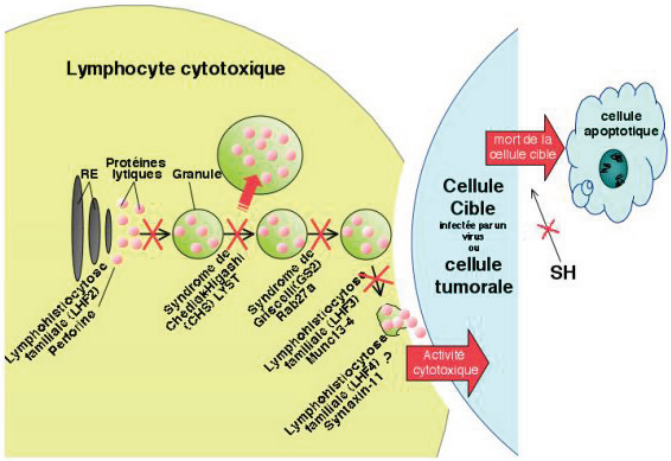

Figure 2: Causes moléculaires des syndromes hémophagocytaires associés à un défaut d'activité cytotoxique des lymphocytes. Défauts moléculaires responsables de syndromes hémophagocytaires héréditaires impliqués dans les différentes étapes de l'exocytose des granules cytotoxiques vers la cellule cible. RE : reticulum endoplasmic.

La perforine est contenue dans le même compartiment intracellulaire que les granzymes, les granules cytotoxiques des cellules tueuses. Perforine et granzymes sont des effecteurs d'un même mécanisme de mort qui est utilisé par la cellule cytotoxique, dès qu'elle identifie une cellule constituant une menace pour l'organisme, qu'elle soit étrangère, infectée ou tumorale. Au contact entre la cellule cytotoxique (lymphocyte cytotoxique ou cellule NK) et sa cellule cible, le contenu des granules cytotoxiques est déversé dans un espace intermembranaire formé transitoirement entre les deux cellules. La perforine s'ancre dans la membrane de la cellule cible en fixant le calcium, se polymérise puis semble être endocytée en même temps que les granzymes dans la cellule cible, déclenchant l'apoptose de la cellule cible. Ce mécanisme de cytotoxicité qui utilise la sécrétion des granules lytiques joue un rôle important dans l'immunité antivirale (Edwards et al., 1999). Des mutations dans le gène de la perforine sont retrouvées chez environ 30% des sujets présentant une LHF, et environ une cinquantaine de mutations différentes ont maintenant été identifiées dans le gène. Les mutations non-sens, comme les mutations faux sens, conduisent, dans la très grande majorité des cas, à une expression indétectable de

Etape d'intervention dans la cytotoxicité des lymphocytes	Syndrome	Gène	Protéine	Fonction	Transmission*	Activité cytotoxique
Activation cellulaire	XLP 1	SH2DIA	SAP	Protéine adaptatrice	X-L	+/-
Regulation de l'apoptose	XLP 2	XIAP	XIAP	Inhibiteur d'apoptose	X-L	+
Polarisation des granules cytotoxiques	HSP 2	AP3B1	AP3B1	Tri des protéines	AR	-
Arrimage des granules au niveau de la membrane plasmique	GS 2	Rab27a	Rab27a	Transport et arrimage des granules	AR	-
Amorçage de la fusion des granules cytotoxiques	FHL 3	UNC13D	Munc13-4	Amorçage des granules	AR	-
Exocytose	CHS	LYST	LYST	Tri des protéines /Fusion/ Fission membranaire	AR	-
Fusion avec la membrane plasmique	FHL 4	Syntaxin 11	Syntaxin 11	Fusion?	AR	+/ -
Induction de la mort cellulaire	FHL 2	PRF	Perforin	Formation de pores dans les cellules cibles	AR	-

Tableau 2 : Pathologies associées à un syndrome hémophagocytaire

*AR: transmission autosomique récessive, X-L: transmission liée au chromosome X.

la perforine dans des granules cytotoxiques, et à un défaut sévère de l'activité cytotoxique dépendante de l'excrétion des granules. Si l'expression du syndrome hémophagocytaire ne diffère pas entre les sujets présentant une mutation non-sens et les sujets présentant une mutation faux sens, le début de la maladie est souvent plus précoce (avant 2 mois) chez les premiers. L'effet de certaines mutations du gène de la perforine, comme la substitution Ala91Val tout d'abord considérée comme un polymorphisme du gène compte tenu de sa fréquence dans la population générale, reste un sujet de débat (Clementi et al., 2005; Voskoboinik et al., 2005). Cette mutation semble affecter la stabilité de la protéine et donc son activité cytotoxique d'environ 50%, et en association avec une mutation délétère sur l'autre allèle, pourrait prédisposer l'individu au développement d'une forme tardive de LHF2 ou de lymphomes. L'implication du gène de la perforine dans la LHF2 a permis de mettre en évidence le rôle déterminant de cette voie de cytotoxicité dans le maintien de l'homéostasie du système immunitaire chez l'homme.

Un troisième locus de la LHF (FHL3) a pu être identifié sur le chromosome 17 en 17q25 chez les patients présentant un défaut d'activité cytotoxique sans anomalie de la perforine. Dans cette région, le gène *UNC13D* codant pour un membre de la famille Munc13, Munc13-4, a été identifié comme responsable de cette troisième forme de LHF (Feldmann et al., 2003). Le gène *UNC13D* contient 32 exons et code pour un transcrit de 4,5 kb traduit en une protéine de 123 kDa. Les protéines Munc 13, chez l'homme, constituent une famille de 4 molécules partageant des homologies avec les protéines Unc13 de *C. Elegans* qui jouent un rôle central dans l'exocytose des vésicules neuronales (Brose et al., 2000). La plus part des mutations de *Munc13-4* identifiées à ce jour, prédisent une protéine tronquée prématurément. Ces mutations sont associées à un défaut sévère de l'activité cytotoxique des lymphocytes, comparable à celui observé avec un défaut en perforine (Figure 2). Quelques mutations faux sens ont également été décrites, souvent associées à des formes un peu plus tardives, et à une activité cytotoxique à la limite de la normale ((Santoro et al., 2006) et Geneviève de Saint Basile communication personnelle). Il n'existe pas de différence phénotypique entre les patients présentant un défaut en perforine et ceux présentant un défaut en Munc13-4. Pourtant, contrairement à l'expression de la perforine, l'expression de *Munc13-4* n'est pas restreinte aux cellules cytotoxiques. *Munc13-4* est exprimé dans toutes les cellules hématopoïétiques, ainsi que dans d'autres tissus comme le poumon ou le placenta. L'étude de la fonction de Munc13-4 dans les lymphocytes a permis de démontrer que cette protéine avait un rôle déterminant à une étape terminale d'amorçage de la sécrétion des granules cytotoxiques appelé "priming". Ces protéines sont nécessaires pour rendre compétents les granules arrimés à la membrane plasmique pour fusionner avec cette dernière (Betz et al., 1997; Varoqueaux et al., 2002). Cette étape d'amorçage de la fusion membranaire permet la formation d'un complexe tripartite de protéines SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachement protein REceptors) ancrées d'une part aux vésicules et d'autres part à la membrane plasmique (Chen et Scheller, 2001). Cette étape permet ainsi le rapprochement des membranes plasmiques et vésiculaires, puis la fusion des bicouches lipidiques et le déversement du contenu des granules vers la cellule cible (Figure 2). Le rôle joué par Munc 13-4 dans l'activité

cytotoxique dépendante de la voie de sécrétion des granules cytotoxiques a été démontré par la restauration de cette activité lytique défectueuse dans les cellules de patients après surexpression de la forme sauvage de Munc13-4 (Feldmann et al., 2003). Munc13-4 agit lors d'une étape tardive de l'exocytose des granules cytotoxiques puisque son absence dans les cellules de patients n'affecte ni la polarisation des granules cytotoxiques, ni leur arrimage à la membrane plasmique au niveau de la Synapse Immunologique (SI). Par conséquent, Munc 13-4 tout comme Munc 13-1 à la synapse neurologique, semble requis pour l'amorçage de la fusion et l'exocytose des granules cytotoxiques arrimés à la membrane plasmique au niveau de la SI (Feldman et al 2003). Mun13-4 joue également un rôle plus précocement dans la cellule cytotoxique, dans la formation d'un petit contingent de vésicules endosomales, dîtes «d'éxocytose », qui apportent aux granules lytiques avec lesquels elles polarisent puis fusionnent, les effecteurs de leur exocytose au niveau de la SI. Cette maturation tardive des granules cytotoxiques, après que la cellules cytotoxiques a reconnu l'antigène présenté par la cellule présentatrice, permet probablement de réguler avec précision la quantité de granules cytotoxiques qui secréteront leur contenu au niveau de la SI (Menager et al., 2007). Ce mécanisme pourrait rendre compte de la fonction cytotoxique itérative de ces cellules souvent dénommées « serial killer ». Une anomalie de Munc13-4 est retrouvée chez environ 1/3 des patients présentant une LHF3.

Plus récemment, un quatrième locus a pu être identifié sur le chromosome 6 : FHL4 en 6q24, associé à des mutations du gène *STX11*, codant la syntaxine 11 (zur Stadt et al., 2005). Le gène *STX11* est formé de 2 exons, seul le deuxième codant une protéine de 287 kDa (zur Stadt et al., 2005). Les différentes mutations dans la syntaxine 11 ont principalement été identifiées dans des familles d'origine Turque. Toutes ces mutations conduisent à une absence de la protéine, ou à une protéine tronquée précocement. La syntaxine 11 est une protéine de la famille des SNAREs. La formation des complexes SNARE régule la fusion membranaire entre différents compartiments cellulaires et avec la membrane plasmique (Figure 2). La sytanxine 11 apparaît comme un bon candidat pour réguler le processus d'exocytose des granules cytotoxiques au niveau des synapses immunologiques. Son rôle précis reste cependant inconnu, et des études concernant son expression, sa localisation ou son implication dans les mécanismes de cytotoxicité ne sont pas toujours concordantes. La syntaxine 11 est bien exprimée dans le tissus hématopoïétiques, en particulier dans les cellules myéloïdes (Prekeris et al., 2000) les lymphocytes NK et TCD8+, alors qu'elle est peu détectable dans la population lymphoïde T CD4+ (Bryceson et al., 2007; zur Stadt et al., 2005). Un défaut de syntaxine 11 est associé à un défaut d'activité cytotoxique détectable au niveau des cellules Natural Killer et qui se corrige en présence d'interleukine 2 (IL-2). Le défaut cytotoxique des lymphocytes T déficients en syntaxine 11 n'est pas mis clairement en évidence. Or d'après les études réalisées chez les souris déficientes en perforine, ce sont les cellules T CD8+ présentant un défaut cytotoxique qui apparaissent critiques dans le déclenchement du syndrome hemophagocytaire et non les cellules NK. Il est possible que, dans le cas d'un défaut en syntaxine 11, un défaut T existe, mais que les tests *in vitro* d'étude de l'activité cytotoxique T après leur culture en présence d'IL2 ne soient pas représentatifs des événements *in vivo* contrôlés par la syntaxine 11. Une deuxième hypothèse serait que la syntaxine 11 ne jouerait pas un rôle uniquement au niveau de la voie de sécrétion des granules cytotoxiques, mais agirait également par son expression et sa fonction au niveau d'autres types cellulaires comme la cellule présentatrice d'antigène pour déclencher une lymphoprolifération. Une étude récente réalisée sur les monocytes de patients déficients en syntaxine 11, suggère que la syntaxine 11 pourrait contrôler négativement la phagocytose des cellules cibles apoptotiques et des globules rouges opsonisés, son défaut pouvant alors participer à une éventuelle activité exagérée des macrophages (Zhang et al., 2008). L'existence d'autres mécanismes, non encore identifiés, dans les cellules cytotoxiques pourraient également influer sur le déclenchement d'un syndrome hemophagocytaire.

Environ 1/4 des cas de LHF reste non expliqué sur le plan moléculaire. L'étude de l'activité cytotoxique des lymphocytes de ces patients montre que, chez certains patients, il existe une activité cytotoxique normale des lymphocytes alors que, chez d'autres, cette activité est partiellement ou totalement effondrée. Il est donc probable qu'à nouveau, différentes causes moléculaires, qui restent à caractériser, rendent compte de cette différence fonctionnelle. D'autres effecteurs de la cytotoxicité devraient être impliqués dans certaines de ces formes.

L'APPARITION D'UN SH DANS LE SYNDROME DE GRISCELLI RÉSULTE D'UN DÉFAUT DE TRANSPORT DES GRANULES CYTOTOXIQUES PAR ANOMALIE DE LA PROTÉINE Rab27a

Le syndrome de Griscelli est une pathologie rare, transmise selon un mode autosomique récessif. Les patients atteints de ce syndrome présentent une hypopigmentation de la peau et des cheveux très caractéristique, avec macroscopiquement des reflets gris argentés des cheveux et microscopiquement la présence d'agrégats de pigment dans la gaine du cheveu. Chez la plupart de ces patients, cette hypo-pigmentation caractéristique est associée à l'apparition d'un syndrome hémophagocytaire, également appelé « phase accélérée de la maladie », qui résulte d'un défaut cytotoxique des lymphocytes et des cellules NK (Griscelli et al., 1978). Le syndrome de Griscelli a été localisé sur le chromosome 15

Syndrome de Griscelli (GS)	Hypopigmentation	Défaut neurologique primitif	Syndrome hémophagocytaire	Défaut moléculaire
GS 1	+	+	-	Myo5a
GS 2	+	-	+	Rab27a
GS 3	+	-	-	Melanophiline (Mlph)

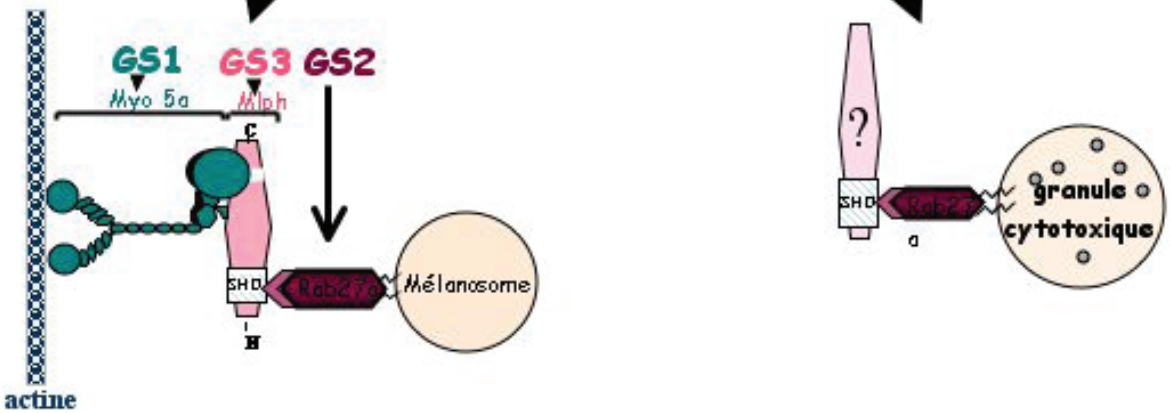

Figure 3 : Expression phénotypique et défauts moléculaires associés aux trois formes du syndrome de Griscelli (GS). Les mutations des gènes codants pour les protéines Myo5a, Rab27a ou la Mélanophiline sont responsables des défauts pigmentaires dont souffrent les patients atteints du syndrome de Griscelli. La formation d'un complexe hétérotrimerique permet le transport des melanosomes le long des fibres d'actine. L'expression phénotypique des différentes formes génétiques suppose que le transport des organelles au niveau des melanocytes, des neurones, et des cellules T cytotoxiques utilisent divers effecteurs associés à Rab27a et Myo5a. Certains effecteurs restent à identifier.

(15q21-q22). Le gène *RAB27A,* localisé dans cette région et codant pour un membre des petites protéines GTPase, a été montré responsable de cette forme immunitaire de la pathologie (Menasche et al., 2000). Le gène *RAB27A*, comporte 7 exons et code pour une protéine de 221 acides aminés ayant un poids moléculaire de 25 kDa (Tolmachova et al., 1999). Cette protéine est largement distribuée, bien qu'absente au niveau du cerveau. Comme pour le défaut en Munc 13-4, l'activité cytotoxique des lymphocytes T CD8+ et des cellules NK est défectueuse malgré la présence des protéines lytiques (Menasche et al., 2000) La plupart des mutations identifiées sont des délétions intragéniques ou des mutations non-sens qui prédisent une protéine absente ou tronquée de sa partie C-terminale, nécessaire à sa fonction. La protéine Rab27a appartient à la famille des protéines Rab impliquées dans le transport vésiculaire intracellulaire, ici sur la voie de sécrétion régulée des granules cytotoxiques. Rab27a agit en amont de Munc13-4, et semble indispensable au transport terminal des granules cytotoxiques jusqu'à leur lieu de sécrétion au niveau de la membrane plasmique du lymphocyte (Figure 2). Les études de microscopie électronique réalisées dans des lymphocytes T déficients pour Rab27a, montrent en effet que ces cellules peuvent former des conjugués avec les cellules cibles et peuvent polariser leur machinerie de sécrétion. Cependant, les granules cytotoxiques polarisés sont incapables de s'arrimer au niveau de la membrane plasmique de la synapse immunologique (SI) (Menasche et al., 2000). Pour permettre l'arrimage des granules cytotoxiques matures au niveau de la SI, Rab27a interagit avec plusieurs effecteurs, entre autres des protéines appartenant à la famille des protéines « synaptotagmin-like » (Menasche et al., 2008). Un défaut de la protéine Rab27a définit le syndrome de Griscelli de type 2.

Dans de rares cas, l'hypo-pigmentation caractéristique du syndrome de Griscelli peut également être observée en association à des troubles neurologiques précoces et sévères, avec ataxie et retard psychomoteur majeur en dehors de tout contexte de syndrome hémophagocytaire. Cette autre forme du syndrome de Griscelli (de type 1) résulte d'une mutation du gène codant pour la myosine 5a (*MYO5A*), également localisé en 15q21-22 (Pastural et al., 1997) (Figure 3). La myosine 5a est un moteur moléculaire capable de déplacer des vésicules et leur contenu le long des filaments d'actine vers leur lieu de déchargement. Comme la protéine Rab27a, la myosine 5a participe aux phases terminales du transport des mélanosomes dans les mélanocytes. Par contre, elle n'est pas nécessaire à la sécrétion du contenu des granules

cytotoxiques (Menasche et al., 2000).

Récemment, cette même hypo-pigmenation a pu être rapportée, mais observée de façon isolée, chez des patient présentant une anomalie du gène codant pour la mélanophiline (*MLPH*), protéine exclusivement exprimée dans le mélanocyte, définissant le syndrome de Griscelli de type 3 (Menasche et al., 2003) (Figure 3). Les études fonctionnelles, réalisées en particulier dans les trois modèles murins

du syndrome de Griscelli, ont mis en évidence la nécessité de la formation d'un complexe tri-partite Rab27a-mélanophiline-myosineVa, nécessaire au transport des mélanosomes le long des filaments d'actine, en périphérie des mélanocytes, permettant le transfert du pigment aux kératinocytes adjacents. Un défaut de l'une ou l'autre de ces protéines conduit au même phénotype pigmentaire. Par contre, Rab27a est la seule de ces trois protéines, dont la fonction est nécessaire au transport des granules lytiques et donc à la fonction cytotoxique des lymphocytes T et des cellules NK. Parmi les patients présentant un syndrome de Griscelli, seuls les patients ayant une anomalie de Rab27a développent un syndrome hémophagocytaire, confirmant le lien direct existant entre fonction cytotoxique et expression d'un syndrome hémophagocytaire.

UN DÉFAUT DU TRAFIC INTRACELLULAIRE DES PROTÉINES LYTIQUES À L'ORIGINE DU SH OBSERVÉ DANS LE SYNDROME DE CHEDIAK-HIGASHI (CHS)

Le syndrome de Chediak-Higashi est une affection rare, héritée selon un mode autosomique récessif, qui associe un albinisme oculo-cutané partiel et un défaut de l'activité cytotoxique des lymphocytes T et des cellules natural killer. La principale complication du CHS est l'appariation d'un syndrome hémophagocytaire, souvent au cours de la première décennie. Le diagnostic du CHS est facilité par l'étude de l'aspect microscopique des cheveux qui met en évidence la présence d'agrégats de pigment. Le signe pathognomonique de la maladie est la présence de granulations intracytoplasmiques géantes dans la plupart des cellules de l'organisme (Stinchcombe et al., 2000). Ces granules proviennent de la fusion de granules normalement présents dans ces types cellulaires. Des mutations du gène *CHS/LYST* codant pour la protéine CHS/LYST (Lysosomal trafficking regulator) sont responsables du syndrome de Chediak-Higashi (Nagle et al., 1996). Le gène couvre 13,5kb et code une séquence peptidique de 3801 acides aminés. Phénotypiquement très proche du syndrome de Griscelli de type 2, ces deux syndromes peuvent cependant être distingués sans ambiguïté par l'aspect différent des amas de pigment dans la gaine du cheveu, beaucoup plus fins dans le cas du CHS, et par la présence des granulations géantes intracytoplasmiques observée uniquement dans le CHS, impliquant en particulier les granules lytiques et les mélanosomes. Les sujets qui atteignent l'âge adulte, avec ou sans complications liées aux conséquences du syndrome hémophagocytaire, présentent souvent des troubles neurologiques, à titre de retard mental, de déclin intellectuel progressif et/ou de neuropathie périphérique. Il reste à déterminer si ces manifestations neurologiques sont primitives ou la conséquence d'une infiltration cérébrale liée à un épisode de syndrome hémophagocytaire passé inaperçu. Des troubles neurologiques progressifs avec une ataxie et des signes de neuropathie périphérique ont été rapportés récemment chez plusieurs patients atteint de syndrome de Chediak-Higashi, vingt ans après avoir reçu une greffe de moëlle osseuse (Tardieu et al., 2005) suggérant un rôle direct de la protéine CHS/LYST au niveau du système nerveux. Les mécanismes moléculaires qui sous-tendent le défaut observé ne sont toujours pas bien compris, en dépit de nombreuses études. CHS/LYST pourrait participer à l'adressage de protéines lysosomales et aux échanges de membranes entre compartiments intracellulaires. Par ce biais, un défaut de CHS/LYST entraînerait un défaut d'adressage de certaines protéines lysosomales vers une voie de transport « alternative », et un élargissement des compartiments lysosomaux, qui seraient incapables d'assurer normalement leur activité de sécrétion. Dans les cellules cytotoxiques, les énormes granules cytotoxiques observés semblent capables de se déplacer sur le réseau de microtubules et donc de polariser vers la synapse immunologique, mais ils ne peuvent pas libérer leur contenu (Barrat et al., 1999; Stinchcombe et al., 2000). Ainsi, chez les patients, le défaut de libération de la mélanine de ces structures mélanosomales géantes est à l'origine du défaut de pigmentation, et le défaut d'adressage des protéines lytiques des lymphocytes T et des cellules NK, qui sont stockées dans des granules géants, souvent uniques dans chaque cellule, explique le défaut d'activité cytotoxique observé dans cette pathologie. Comme dans le cas de la lymphohistiocytose familiale et du syndrome de Griscelli, le défaut de CHS/LYST entraîne un défaut fonctionnel de cette même voie de cytotoxicité qui dépend des granules cytotoxiques (Figure 2). Mais contrairement aux autres SH, un défaut fonctionnel au niveau du système nerveux semble également apparaître au cours du temps.

UN DÉFAUT DE SECRÉTION DES GRANULES CYTOTOXIQUES EST OBSERVÉ DANS LE SYNDROME DE HERMANSKY-PUDLAK DE TYPE II (HPS2)

Un groupe de maladies génétiques, le syndrome de Hermansky-Pudlak (HPS), associe un albinisme partiel (hypopigmentation de la peau, des cheveux et des yeux) avec des troubles de la coagulation et une susceptibilité aux infections bactériennes. Ces signes cliniques sont associés à une absence de granules denses dans les plaquettes, à une réduction du nombre des mélanocytes, et à une neutropénie

constitutive (Huizing et Gahl, 2002) Des mutations touchant 7 gènes chez l'homme, et 16 chez la souris, ont été décrites dans le cadre de HPS. Tous ces gènes codent pour des protéines nécessaires pour le tri et l'adressage des protéines au niveau des voies d'exocytose/endocytose et plus particulièrement pour le tri des protéines vers les lysosomes (Badolato et Parolini, 2007). Un cas rare de HPS type II a été associé à un défaut d'activité cytotoxique. HPS2 est causé par une mutation du gène codant la sous-unité b de la protéine adaptatrice lysosomale AP3 (Adaptor-related Protein complex 3). Dans les lymphocytes T, l'absence de cette molécule entraîne une mauvaise localisation des protéines lysosomales et un problème de polarisation des granules cytotoxiques, qui pourrait être à l'origine du défaut d'activité cytotoxique observé, a été décrit chez un patient, même quand le centre organisateur de microtubules (MTOC) se trouve normalement polarisé au niveau de la synapse immunologique (Clark et al., 2003; Enders et al., 2006). Ainsi, le complexe AP3 pourrait être nécessaire à l'adressage d'une protéine non encore identifiée et requise pour le mouvement des granules cytotoxiques vers les extrémités négatives des microtubules, et donc vers la SI (Stinchcombe et Griffiths, 2007) Bien que le défaut d'AP3b soit associé à un défaut de cytotoxicité lymphocytaire, les patients HPS2 ne développent pas en principe de SH, un phénomène qui reste encore non compris. Un seul cas de SH a été rapporté chez un sujet qui présentait une mutation homozygote de AP3b associée à une mutation hétérozygote de Rab27a (Enders et al., 2006). Est-ce que cette mutation de Rab27a a pu avoir chez ce patient un effet additionnel sur le défaut AP3b permettant alors l'apparition d'un SH reste une question posée.

UN DÉFAUT D'ACTIVATION DES LYMPHOCYTES EST À L'ORIGINE DU SH LIÉ À L'X (XLP)

Le syndrome de Purtilo, également appelé syndrome lymphoprolifératif lié à l'X, est une immunodéficience primaire rare de transmission liée au chromosome X, principalement caractérisée par une sensibilité et une réponse inappropriée à l'infection par le virus Epstein-Barr (EBV). Dans 60% des cas, les patients souffrent d'une mononucléose infectieuse sévère qui est fréquemment associée à un syndrome hémophagocytaire similaire à celui observé dans les formes héréditaires causées par des défauts des fonctions cytotoxiques des lymphocytes CD8+ et des cellules NK (Latour et Veillette, 2004; Nichols et al., 2005). Les patients ont un risque accru de développer des lymphomes, et présentent souvent une hypogammaglobulinémie qui peut-être présente avant même le syndrome hémophagocytaire.

Bien que l'EBV semble être le facteur déclenchant du syndrome hémophagocytaire dans pratiquement tous les cas, d'autres agents infectieux pourraient être à l'origine des manifestations du syndrome de Purtilo. Ce syndrome est lié à une mutation du gène *SH2D1A* codant pour une protéine de signalisation SAP (SLAM-associeted protein) de 17kDa majoritairement exprimée par les lymphocytes T, NK, et les NKT (Natural killer Lymphocytes). SAP est une protéine adaptatrice qui régule les fonctions des récepteurs de la famille SLAM (Signaling Lymphocyte Activation Molecule) comme 2B4 et NTB-A par sa capacité à promouvoir le recrutement et l'activation de protéines tyrosine kinase telle que FynT, et donc de participer à la signalisation intracellulaire de cellules immunitaires (Chen et al., 2004) Au niveau des lymphocytes T CD8+ et des cellules NK, l'engagement de 2B4 sur ces cellules active la cytotoxicité granules-dépendante. L'absence de SAP, dans ces cellules, conduit à une inhibition de la cytotoxicité via le récepteur 2B4 qui normalement stimule l'activité lytique de ces cellules envers les cellules infectées par l'EBV et notamment les cellules B (Moretta et al., 2001; Parolini et al., 2000).

Plus récemment, une autre forme de XLP, également associée à l'EBV a été moléculairement caractérisée chez des patients ayant une mutation dans le gène *XIAP* (X-linked Inhibitor of Apoptosis), qui, comme son nom l'indique, appartient à la famille des protéines inhibitrices de l'apoptose (Rigaud et al., 2006). Cette forme de XLP déclenche un syndrome hémophagocytaire, mais aucun défaut cytotoxique des cellules NK dépendante de 2B4 n'est détecté. Par contre, les observations montrent que les patients avec un défaut SAP ou XIAP partagent, outre leur susceptibilité à l'EBV, une absence de cellules NKT (Nichols et al., 2005). Ainsi, SAP et XIAP seraient requis pour le développement des cellules NKT et ces cellules joueraient un rôle particulièrement important dans la réponse immunitaire dirigée contre l'EBV et peut-être aussi au niveau du contrôle de l'homéostasie lymphocytaire après infection à l'EBV (Fischer et al., 2007).

RÔLE ESSENTIEL DE L'ACTIVITÉ CYTOTOXIQUE DES LYMPHOCYTES DANS LE CONTRÔLE DE LA RÉPONSE IMMUNE.

L'existence de ces différentes anomalies moléculaires combinant défaut d'activité cytotoxique et apparition d'un syndrome hémophagocytaire atteste du lien direct entre cytotoxicité et contrôle de l'homéostasie lymphocytaire bien que la relation entre les deux ne soit pas totalement comprise à l'heure actuelle. Par quels mécanismes cette voie cytotoxique contrôle-t-elle l'homéostasie lymphocytaire ? Les différentes données, déduites en particulier de l'étude du modèle murin perf-/- ou sap-/- met en évidence le rôle de cette cytotoxicité dans le rétrocontrôle de la réponse immune au cours d'une infection virale (Crotty et al., 2006; Jabado et al., 1997; Matloubian et al., 1999). Ces études montrent l'importance de l'activité cytotoxique dépendante des granules lytiques sur le contrôle de la prolifération lymphocytaire avec un rôle

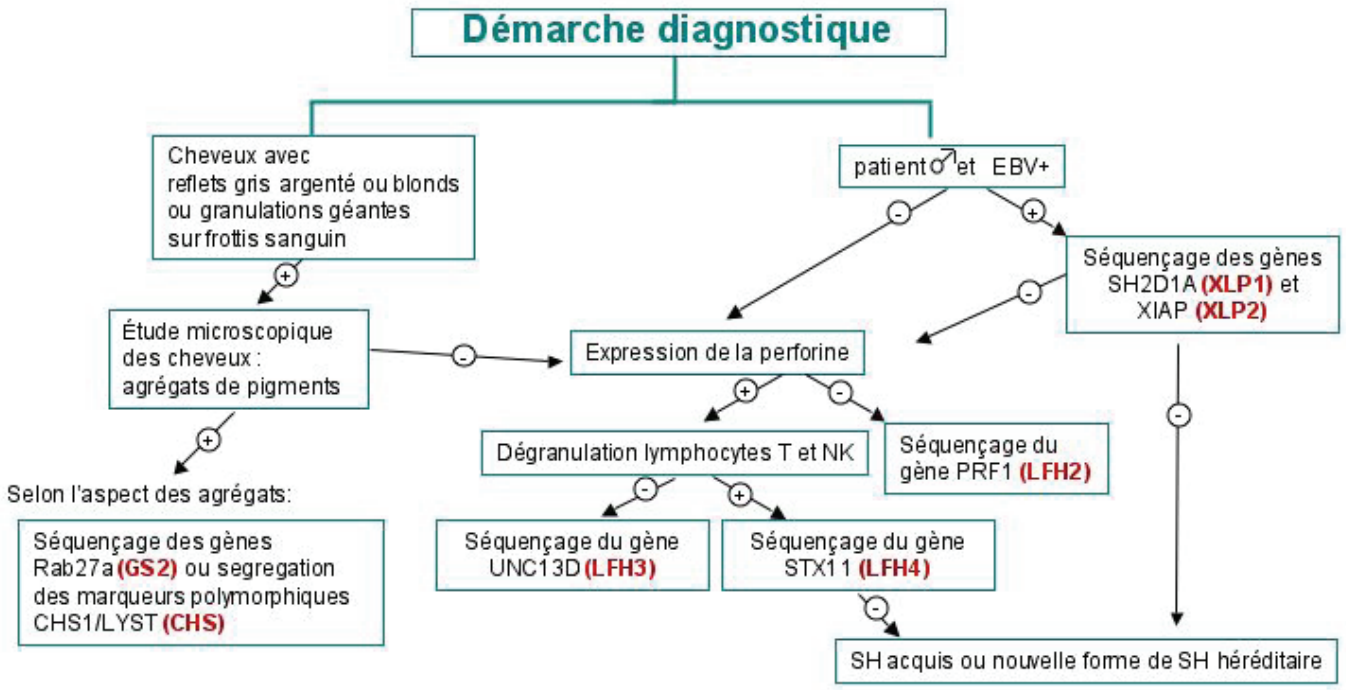

Figure 4: Démarche diagnostique devant un cas pédiatrique suspect de syndrome hémohagocytaire primitif. Une étude microscopique des cheveux du patient permet d'orienter vers un syndrome de Chediak-Higashi (CHS) ou de Griscelli (GS). La présence de granulations intracytoplasmiques géantes permet de confirmer le diagnostic de CHS alors qu'une mutation du gène Rab27a confirme le diagnostic de GS associé à un SH. En l'absence d'anomalie pigmentaire des cheveux, le diagnostic de lymphohistiocytose familiale (LHF) sera orienté par l'étude de l'expression de la perforine dans les lymphocytes du patient, la ségrégation des marqueurs polymorphiques liés aux différents loci dans les familles consanguines, le séquençage ciblé des différents gènes connus comme responsables de cette affection (perforine, Munc13-4 et syntaxin 11), et l'étude de la dégranulation du contenu des granules cytotoxiques. Un défaut de dégranulation *in vitro* des cellules T et NK caractérise une anomalie de Munc 13-4, alors que seul un défaut de dégranulation des cellules NK est mis en évidence avec une anomalies de STX11 en utilisant les tests standards. Cette dégranulation est déficiente dans les cellules T *et* NK dans le cas d'une mutation du gène Munc13-4, et déficiente uniquement dans les cellules NK dans le cas d'une mutation de la STX11 avec les tests *in vitro* actuellement utilisés,. L'expression d'un SH faisant suite à une infection par l'EBV chez un jeune garçon orientera en priorité vers un syndrome de Purtilo mais n'élimine pas le diagnostic de LHF.

essentiel des lymphocytes TCD8+ et de la sécrétion importante d'IFN-γ dans la genèse du syndrome hémophagocytaire à travers un défaut de lyse des cellules présentatrices d'antigène (Jordan et al., 2004). Ainsi la persistance dans l'organisme des cellules présentatrices stimule de façon exagérée les lymphocytes CD8+ qui secrètent de grande quantité d'IFN-γ, induisant une activation macrophagique massive et la synthèse importante de cytokines pro-inflammatoires (TNFa, IL6…). Le rôle central des lymphocytes T CD8 et de la production de l'IFN-γ dans la pathogenèse des SH a été démontré par la capacité de prévenir l'occurrence des SH par l'administration d'anticorps anti-CD8 (Crotty et al., 2006; Jordan et al., 2004) ou d'anticorps anti-IFNγ (Badovinac et al., 2003; Jordan et al., 2004).

Plusieurs mécanismes moléculaires en trans ou en cis pourraient permettre à cette voie cytotoxique de contrôler la réponse immune en situation physiologique (de Saint Basile et Fischer, 2001): en trans, cette voie participe très probablement à l'élimination des cellules présentatrices d'antigènes après leur contact avec un lymphocyte cytotoxique. Cette voie cytotoxique pourrait également être impliquée dans l'élimination des lymphocytes T au cours de la réponse immune, par un mécanisme fratricide. En effet, la capacité qu'ont les lymphocytes T ayant contacté une cellule cible, à capturer des fragments membranaires de cette cellule les rendant transitoirement sensibles à la lyse fratricide, a récemment été démontré *in vitro* (Huang et al., 1999). On peut également imaginer que cette voie cytotoxique dépendante de la sécrétion des granules lytiques participe à la fonction effectrice de la sous-population lymphocytaire régulatrice (Treg). Il est également possible que cette voie cytotoxique agisse en cis en permettant l'élimination des lymphocytes activés selon un programme de mort par apoptose (mécanisme d'AICD (Activated induced cell death)). En tout état de cause, un effet en trans de l'activité cytotoxique est compatible avec l'observation clinique du contrôle du syndrome hémophagocytaire, même en situation de chimérisme mixte modéré, après greffe de moelle osseuse. Un petit effectif de cellules cytotoxiques saines issues du donneur peut en effet tuer successivement plusieurs cellules présentatrices d'antigène. Il est possible que des mécanismes additionnels, encore peu documentés, participent également au phénotype de la maladie. Ainsi, en l'absence de fonction cytotoxique dépendante de la sécrétion des granules lytiques, s'amorcent des boucles paracrines et autocrines entre cellules lymphoïdes et myeloïdes dont les effets délétères seraient à l'origine des divers éléments du tableau clinique et biologique observés au cours du syndrome hémophagocytaire (Henter et Elinder, 1991).

DIAGNOSTIC DES SH PRIMITIFS

Distinguer les formes héréditaires des formes acquises de SH est un enjeu important, non seulement dans le cadre d'une meilleure caractérisation de nouvelles voies de régulation du système immunitaire, mais aussi dans le cadre du conseil génétique et d'une meilleure adaptation de l'attitude thérapeutique (Figure 4). L'apparition d'un SH à un âge précoce doit faire rechercher une cause génétique. L'étude microscopique des cheveux permet très simplement, rapidement, et de façon fiable de faire le diagnostic de GS et de CHS. Les sujets simplement transmetteurs de ces syndromes ont une pigmentation normale. La présence de granulations intracytoplasmiques géantes dans toutes les cellules hématopoïétiques est un signe pathognomonique du CHS, et facile à identifier sur frottis sanguin. Si l'aspect pigmentaire oriente vers un GS, le séquençage du gène *RAB27A* permet de confirmer le diagnostic de GS2. En l'absence de SH, il est important d'éliminer un défaut de *RAB27A* qui conduirait à traiter le patient par transfert de cellules souches hématopoiétiques. Dans le cas du CHS, compte tenu de la taille très importante du gène *CHS1/LYST,* la recherche de mutation dans ce gène n'est pas utilisée comme test de routine dans le cadre du diagnostic et du conseil génétique. Un diagnostic sans ambiguïté de cette affection peut être fait sur l'aspect caractéristique de l'hypopigmentation des cheveux et la présence de granulations intracytoplasmiques géantes sans avoir recours à l'identification d'une mutation. Pour le conseil génétique du CHS, l'étude de la ségrégation des marqueurs polymorphes liés au locus CHS sur le chromosome 1q43.2 dans la famille peut être utilisée. Lorsque le SH n'est pas associé à une hypopigmentation, la principale difficulté est de distinguer les formes primitives (héréditaires), des formes secondaires de SH. L'existence d'une consanguinité et/ou d'une histoire familiale avec d'autres membres atteints est très suggestive d'une forme primitive. La possibilité d'obtenir des échantillons biologiques des membres de la famille (parents, fratrie) aide significativement le diagnostic moléculaire en permettant d'identifier rapidement le locus en cause par l'étude de la ségrégation des marqueurs polymorphiques. Cependant, l'absence d'histoire familiale n'exclut pas un diagnostic de LHF ou de syndrome de Purtilo (XLP) (de Saint Basile et Fischer, 2001). L'étude de l'expression du gène de la perforine et de l'activité cytotoxique des lymphocytes est un élément important du diagnostic. Un défaut cytotoxique des lymphocytes T est la signature d'une cause génétique de SH dans 80% des cas. Dans environ 20% des cas de LHF, un défaut d'activité cytotoxique des lymphocytes T n'est pas mis en évidence. Dans certains de ces cas, un défaut de dégranulation des cellules NK peut être parfois détecté. Si ce test est fait dans de bonnes conditions (sang frais, étude de la dégranulation des cellules CD56+), à nouveau, ce défaut, même restreint au cellules NK, est un marqueur de formes héréditaires de LHF. En l'absence d'histoire familiale, et si aucun défaut de sécrétion des granules cytotoxiques ne peut être observé dans les lymphocytes T et NK, ces formes ne peuvent être clairement distinguées des formes secondaires de SH et le diagnostic reste difficile.

CONCLUSION

Une sécrétion importante d'IFN-γ par les lymphocytes CD8 semble jouer un rôle majeur dans la genèse du SH. Cette observation pourrait permettre d'envisager, dans le futur, des approches thérapeutiques alternatives des SH, en intervenant sur cette voie d'activation. En effet, une étude très récente menée sur les modèles murins de FHL2 et GS2, montre l'effet thérapeutique de la neutralisation de l'IFN-γ du SH induit chez ces souris (Pachlopnik Schmid et al., 2009a). La caractérisation moléculaire des différentes causes héréditaires de SH, outre son application dans le cadre du diagnostic et du conseil génétique, met en évidence le rôle déterminant de la fonction cytotoxique dans le déclenchement du SH. Ce défaut fonctionnel peut-il également rendre compte des formes acquises de ces syndromes, souvent associés à une infection virale ? La possibilité qu'une protéine virale puisse transitoirement interférer avec la voie cytotoxique pour limiter son action, en affectant le transport intracellulaire des protéines, est une hypothèse attrayante. De même, l'existence de mutations somatiques de l'un ou l'autre de ces effecteurs de la voie cytotoxique à l'origine du SH associé à un lymphome, pourrait être envisagée.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

R. Badolato, et S. Parolini. Novel insights from adaptor protein 3 complex deficiency. J Allergy Clin Immunol 2007; 120(4):735-741; quiz 742-733.

V. P. Badovinac, S. E. Hamilton, et J. T. Harty. Viral infection results in massive CD8+ T cell expansion and mortality in vaccinated perforin-deficient mice. Immunity 2003; 18(4):463-474.

F. J. Barrat, F. Le Deist, M. Benkerrou, P. Bousso, J. Feldmann, A. Fischer, et G. de Saint Basile. Defective CTLA-4 cycling pathway in Chediak-Higashi syndrome: a possible mechanism for deregulation of T lymphocyte activation. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96(15):8645-8650.

A. Betz, M. Okamoto, F. Benseler, et N. Brose. Direct interaction of the rat unc-13 homologue Munc13-1 with the N terminus of syntaxin. J Biol Chem 1997; 272(4):2520-2526.

N. Brose, C. Rosenmund, et J. Rettig. Regulation of transmitter release by Unc-13 and its homologues. Curr Opin Neurobiol 2000; 10(3):303-311.

Y. T. Bryceson, E. Rudd, C. Zheng, J. Edner, D. Ma, S. M. Wood, A. G. Bechensteen, J. J. Boelens, T. Celkan, R. A. Farah, K. Hultenby, J. Winiarski, P. A. Roche, M. Nordenskjold, J. I. Henter, E. O. Long, et H. G. Ljunggren. Defective cytotoxic lymphocyte degranulation in syntaxin-11 deficient familial hemophagocytic lymphohistiocytosis 4 (FHL4) patients. Blood 2007; 110(6):1906-1915.

R. Chen, F. Relouzat, R. Roncagalli, A. Aoukaty, R. Tan, S. Latour, et A. Veillette. Molecular dissection of 2B4 signaling: implications for signal transduction by SLAM-related receptors. Mol Cell Biol 2004; 24(12):5144-5156.

Y. A. Chen, et R. H. Scheller. SNARE-mediated membrane fusion. Nat Rev Mol Cell Biol 2001; 2(2):98-106.

R. H. Clark, J. C. Stinchcombe, A. Day, E. Blott, S. Booth, G. Bossi, T. Hamblin, E. G. Davies, et G. M. Griffiths. Adaptor protein 3-dependent microtubule-mediated movement of lytic granules to the immunological synapse. Nat Immunol 2003; 4(11):1111-1120.

R. Clementi, F. Locatelli, L. Dupre, A. Garaventa, L. Emmi, M. Bregni, G. Cefalo, A. Moretta, C. Danesino, M. Comis, A. Pession, U. Ramenghi, R. Maccario, M. Arico, et M. G. Roncarolo. A proportion of patients with lymphoma may harbor mutations of the perforin gene. Blood 2005; 105(11):4424-4428.

S. Crotty, M. M. McCausland, R. D. Aubert, E. J. Wherry, et R. Ahmed. Hypogammaglobulinemia and exacerbated CD8 T-cell-mediated immunopathology in SAP-deficient mice with chronic LCMV infection mimics human XLP disease. Blood 2006; 108(9):3085-3093.

G. de Saint Basile, et A. Fischer. The role of cytotoxicity in lymphocyte homeostasis. Curr Opin Immunol 2001; 13(5):549-554.

K. M. Edwards, J. E. Davis, K. A. Browne, V. R. Sutton, et J. A. Trapani. Anti-viral strategies of cytotoxic T lymphocytes are manifested through a variety of granule-bound pathways of apoptosis induction. Immunol Cell Biol 1999; 77(1):76-89.

A. Enders, B. Zieger, K. Schwarz, A. Yoshimi, C. Speckmann, E. M. Knoepfle, U. Kontny, C. Muller, A. Nurden, J. Rohr, M. Henschen, U. Pannicke, C. Niemeyer, P. Nurden, et S. Ehl. Lethal hemophagocytic lymphohistiocytosis in Hermansky-Pudlak syndrome type II. Blood 2006; 108(1):81-87.

J. W. Farquhar, et A. E. Claireaux. Familial haemophagocytic reticulosis. Arch Dis Child 1952; 27(136):519-525.

J. Feldmann, I. Callebaut, G. Raposo, S. Certain, D. Bacq, C. Dumont, N. Lambert, M. Ouachee-Chardin, G. Chedeville, H. Tamary, V. Minard-Colin, E. Vilmer, S. Blanche, F. Le Deist, A. Fischer, et G. de Saint Basile. Munc13-4 is essential for cytolytic granules fusion and is mutated in a form of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL3). Cell 2003; 115(4):461-473.

A. Fischer, A. Durandy, J. P. de Villartay, E. Vilmer, F. Le Deist, I. Gerota, et C. Griscelli. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency using E rosette fractionation and cyclosporine. Blood 1986; 67(2):444-449.

A. Fischer, S. Latour, et G. de Saint Basile. Genetic defects affecting lymphocyte cytotoxicity. Curr Opin Immunol 2007; 19(3):348-353.

C. Griscelli, A. Durandy, D. Guy-Grand, F. Daguillard, C. Herzog, et M. Prunieras. A syndrome associating partial albinism and immunodeficiency. Am J Med 1978; 65(4):691-702.

J. I. Henter, et G. Elinder. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. Clinical review based on the findings in seven children. Acta Paediatr Scand 1991; 80(3):269-277.

J. F. Huang, Y. Yang, H. Sepulveda, W. Shi, I. Hwang, P. A. Peterson, M. R. Jackson, J. Sprent, et Z. Cai. TCR-Mediated internalization of peptide-MHC complexes acquired by T cells. Science 1999; 286(5441):952-954.

M. Huizing, et W. A. Gahl. Disorders of vesicles of lysosomal lineage: the Hermansky-Pudlak syndromes. Curr Mol Med 2002; 2(5):451-467.

N. Jabado, E. R. Degraeffmeeder, M. Cavazzana-Calvo, E. Haddad, F. Le Deist, M. Benkerrou, R. Dufourcq, S. Caillat, S. Blanche, et A. Fischer. Treatment of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with bone marrow transplantation from hla genetically nonidentical donors. Blood 1997; 90(12):4743-4748.

M. B. Jordan, D. Hildeman, J. Kappler, et P. Marrack. An animal model of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): CD8+ T cells and interferon gamma are essential for the disorder. Blood 2004; 104(3):735-743.

S. Latour, et A. Veillette. The SAP family of adaptors in immune regulation. Semin Immunol 2004; 16(6):409-419.

J. Lieberman. The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: new weapons in the arsenal. Nat Rev Immunol 2003; 3(5):361-370.

M. Matloubian, M. Suresh, A. Glass, M. Galvan, K. Chow, J. K. Whitmire, C. M. Walsh, W. R. Clark, et R. Ahmed. A role for perforin in downregulating T-cell responses during chronic viral infection. J Virol 1999; 73(3):2527-2536.

M. M. Menager, G. Menasche, M. Romao, P. Knapnougel, C. H. Ho, M. Garfa, G. Raposo, J. Feldmann, A. Fischer, et G. de Saint Basile. Secretory cytotoxic granule maturation and exocytosis require the effector protein hMunc13-4. Nat Immunol 2007; 8(3):257-267.

G. Menasche, J. Feldmann, A. Fischer, et G. de Saint Basile. Primary hemophagocytic syndromes point to a direct link between lymphocyte cytotoxicity and homeostasis. Immunol Rev 2005; 203(165-179.

G. Menasche, C. H. Ho, O. Sanal, J. Feldmann, I. Tezcan, F. Ersoy, A. Houdusse, A. Fischer, et G. de Saint Basile. Griscelli syndrome restricted to hypopigmentation results from a melanophilin defect (GS3) or a MYO5A F-exon deletion (GS1). J Clin Invest 2003; 112(3):450-456.

G. Menasche, M. M. Menager, J. M. Lefebvre, E. Deutsch, R. Athman, N. Lambert, N. Mahlaoui, M. Court, J. Garin, A. Fischer, et G. de Saint Basile. A newly identified isoform of Slp2a associates with Rab27a in cytotoxic T cells and participates to cytotoxic granule secretion. Blood 2008; 112(13):5052-5062.

G. Menasche, E. Pastural, J. Feldmann, S. Certain, F. Ersoy, S. Dupuis, N. Wulffraat, D. Bianchi, A. Fischer, F. Le Deist, et G. de Saint Basile. Mutations in RAB27A cause Griscelli syndrome associated with haemophagocytic syndrome. Nat Genet 2000; 25(2):173-176.

A. Moretta, C. Bottino, S. Parolini, L. Moretta, R. Biassoni, et L. D. Notarangelo. Cellular and molecular pathogenesis of X-linked lymphoproliferative disease. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2001; 1(6):513-517.

D. L. Nagle, M. A. Karim, E. A. Woolf, L. Holmgren, P. Bork, D. J. Misumi, S. H. McGrail, B. J. Dussault, Jr., C. M. Perou, R. E. Boissy, G. M. Duyk, R. A. Spritz, et K. J. Moore. Identification and mutation analysis of the complete gene for Chediak-Higashi syndrome. Nat Genet 1996; 14(3):307-311.

K. E. Nichols, J. Hom, S. Y. Gong, A. Ganguly, C. S. Ma, J. L. Cannons, S. G. Tangye, P. L. Schwartzberg, G. A. Koretzky, et P. L. Stein. Regulation of NKT cell development by SAP, the protein defective in XLP. Nat Med 2005; 11(3):340-345.

J. Pachlopnik Schmid, C. H. Ho, Fabrice Chrétien, juliette M Lefebvre, G. Pivert, Maris Kosco-Vilbois, Walter Ferlin, F. Geissmann, A. Fischer, et G. de Saint Basile. Neutralization of IFNg defeats hemophagocytosis in LCMV-infected perforin- and Rab27a-deficient mice. EMBO Mol Med 2009a; 1(112-124.

J. Pachlopnik Schmid, D. Moshous, N. Boddaert, B. Neven, L. Dal Cortivo, M. Tardieu, M. Cavazzana-Calvo, S. Blanche, G. de Saint Basile, et A. Fischer. Hematopoietic stem cell transplantation in Griscelli syndrome type 2: a single-center report on 10 patients. Blood 2009b; 114(1):211-218.

S. Parolini, C. Bottino, M. Falco, R. Augugliaro, S. Giliani, R. Franceschini, H. D. Ochs, H. Wolf, J. Y. Bonnefoy, R. Biassoni, L. Moretta, L. D. Notarangelo, et A. Moretta. X-linked lymphoproliferative disease. 2B4 molecules displaying inhibitory rather than activating function are responsible for the inability of natural killer cells to kill Epstein-Barr virus-infected cells. J Exp Med 2000; 192(3):337-346.

E. Pastural, F. J. Barrat, R. Dufourcq-Lagelouse, S. Certain, O. Sanal, N. Jabado, R. Seger, C. Griscelli, A. Fischer, et G. de Saint Basile. Griscelli disease maps to chromosome 15q21 and is associated with mutations in the myosin-Va gene. Nat Genet 1997; 16(3):289-292.

R. Prekeris, J. Klumperman, et R. H. Scheller. Syntaxin 11 is an atypical SNARE abundant in the immune system. Eur J Cell Biol 2000; 79(11):771-780.

S. Rigaud, M. C. Fondaneche, N. Lambert, B. Pasquier, V. Mateo, P. Soulas, L. Galicier, F. Le Deist, F. Rieux-Laucat, P. Revy, A. Fischer, G. de Saint Basile, et S. Latour. XIAP deficiency in humans causes an X-linked lymphoproliferative syndrome. Nature 2006; 444(7115):110-114.

A. Santoro, S. Cannella, G. Bossi, F. Gallo, A. Trizzino, D. Pende, F. Dieli, G. Bruno, J. C. Stinchcombe, C. Micalizzi, C. De Fusco, C. Danesino, L. Moretta, L. D. Notarangelo, G. M. Griffiths, et M. Arico. Novel Munc13-4 mutations in children and young adult patients with haemophagocytic lymphohistiocytosis. J Med Genet 2006; 43(12):953-960.

S. E. Stepp, R. Dufourcq-Lagelouse, F. Le Deist, S. Bhawan, S. Certain, P. A. Mathew, J. I. Henter, M. Bennett, A. Fischer, G. de Saint Basile, et V. Kumar. Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. Science 1999; 286(5446):1957-1959.

J. C. Stinchcombe, et G. M. Griffiths. Secretory mechanisms in cell-mediated cytotoxicity. Annu Rev Cell Dev Biol 2007; 23(495-517.

J. C. Stinchcombe, E. Majorovits, G. Bossi, S. Fuller, et G. M. Griffiths. Centrosome polarization delivers secretory granules to the immunological synapse. Nature 2006; 443(7110):462-465.

J. C. Stinchcombe, L. J. Page, et G. M. Griffiths. Secretory lysosome biogenesis in cytotoxic T lymphocytes from normal and Chediak Higashi syndrome patients. Traffic 2000; 1(5):435-444.

M. Tardieu, C. Lacroix, B. Neven, P. Bordigoni, G. de Saint Basile, S. Blanche, et A. Fischer. Progressive neurologic dysfunctions 20 years after allogeneic bone marrow transplantation for Chediak-Higashi syndrome. Blood 2005; 106(1):40-42.

T. Tolmachova, J. S. Ramalho, J. S. Anant, R. A. Schultz, C. M. Huxley, et M. C. Seabra. Cloning, mapping and characterization of the human RAB27A gene. Gene 1999; 239(1):109-116.

F. Varoqueaux, A. Sigler, J. S. Rhee, N. Brose, C. Enk, K. Reim, et C. Rosenmund. Total arrest of spontaneous and evoked synaptic transmission but normal synaptogenesis in the absence of Munc13-mediated vesicle priming. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99(13):9037-9042.

I. Voskoboinik, M. J. Smyth, et J. A. Trapani. Perforin-mediated target-cell death and immune homeostasis. Nat Rev Immunol 2006; 6(12):940-952.

I. Voskoboinik, M. C. Thia, J. Fletcher, A. Ciccone, K. Browne, M. J. Smyth, et J. A. Trapani. Calcium-dependent plasma membrane binding and cell lysis by perforin are mediated through its C2 domain: A critical role for aspartate residues 429, 435, 483, and 485 but not 491. J Biol Chem 2005; 280(9):8426-8434.

S. Zhang, D. Ma, X. Wang, T. Celkan, M. Nordenskjold, J. I. Henter, B. Fadeel, et C. Zheng. Syntaxin-11 is expressed in primary human monocytes/macrophages and acts as a negative regulator of macrophage engulfment of apoptotic cells and IgG-opsonized target cells. Br J Haematol 2008; 142(3):469-479.

U. zur Stadt, S. Schmidt, B. Kasper, K. Beutel, A. S. Diler, J. I. Henter, H. Kabisch, R. Schneppenheim, P. Nurnberg, G. Janka, et H. C. Hennies. Linkage of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL) type-4 to chromosome 6q24 and identification of mutations in syntaxin 11. Hum Mol Genet 2005; 14(6):827-834.