

# Anomalies de l'axe de signalisation CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 dans le syndrome WHIM et la lymphopénie T CD4<sup>+</sup> idiopathique

Vincent Biajoux<sup>1,2,\*</sup>, Alexandre Bignon<sup>1,2,\*</sup>, Laurence Bouchet-Delbos<sup>1,2,3</sup>, Dominique Émilie<sup>1,2,4</sup> et Karl Balabanian<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Université Paris-Sud, Laboratoire « Cytokines, Chimiokines et Immunopathologie », UMR S996, 32 rue des Carnets, 92140 Clamart, France

<sup>2</sup> INSERM, 92140 Clamart, France

<sup>3</sup> Institut Paris-Sud d'Innovation Thérapeutique, 92140 Clamart, France

<sup>4</sup> AP-HP, 92140 Clamart, France

Auteur correspondant : Karl Balabanian, [karl.balabanian@u-psud.fr](mailto:karl.balabanian@u-psud.fr)

Reçu le 9 juin 2010

**Résumé** – La chimiokine *CXC Stromal cell Derived Factor-1* (SDF-1/CXCL12) est l'unique ligand naturel de CXCR4, récepteur ubiquitaire à sept domaines transmembranaires couplé aux protéines G, et agit comme un facteur chimiotactique pour différentes populations leucocytaires. L'axe CXCL12/CXCR4 est impliqué dans des processus homéostatiques comme l'organogenèse, l'hématopoïèse et la domiciliation leucocytaire. Des dérégulations des voies de signalisation et/ou de l'expression de CXCR4 ont été décrites dans certaines pathologies infectieuses, inflammatoires, auto-immunes et tumorales. Cette revue fait une mise au point sur les anomalies de CXCR4 récemment identifiées dans le syndrome WHIM et la lymphopénie T CD4<sup>+</sup> idiopathique, deux déficits immunitaires rares chez l'Homme associés respectivement à un gain et à une perte de fonction de CXCR4.

**Mots clés** : Immunodéficience rare / chimiokines / CXCL12 / CXCR4 / transduction du signal

**Abstract** – Dysfunctions of the CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 signaling axis in the WHIM syndrome and the idiopathic CD4<sup>+</sup> T-cell lymphocytopenia.

Chemokines are small cytokine-like secreted proteins that govern migration of leukocytes to their specific niches in lymphoid organs and to inflammatory sites. They mediate their functions by binding to and activating chemokine receptors, which belong to the heptahelical G protein-coupled receptor family. The CXC chemokine Stromal cell Derived Factor-1 (SDF-1/CXCL12) is the sole natural ligand for the broadly expressed CXCR4 receptor and acts as a chemoattractant for many leukocyte subsets. The CXCL12/CXCR4 axis exerts critical activities in homeostatic processes such as organogenesis, hematopoiesis and leukocyte trafficking. Dysregulations of CXCR4 signaling and/or expression are associated with several infectious, inflammatory, autoimmune and malignant conditions. In light of recent data, we review here CXCR4 dysfunctions unveiled in two rare human immunodeficiency disorders, one characterized by a gain of CXCR4 function, the WHIM syndrome, and the other by a loss of CXCR4 function, the idiopathic CD4<sup>+</sup> T-cell lymphocytopenia.

**Key words**: Rare immune defect / chemokines / CXCL12 / CXCR4 / signal transduction

---

\* contribution égale

## Abréviations

AA :	Acide aminé
$\beta$ -arr :	$\beta$ -arrestine
BIC :	Boucle intracellulaire
CKs :	Chimiokines
CSHs :	Cellules souches hématopoïétiques
C-ter :	C-terminal
GRKs :	<i>G protein-coupled receptor kinases</i>
IL-2 :	Interleukine-2
LB :	Lymphocyte B
LCI :	Lymphopénie T CD4 <sup>+</sup> idiopathique
LT :	Lymphocyte T
MO :	Moelle osseuse
OLs :	Organes lymphoïdes
RCKs :	Récepteurs de chimiokines
SDF-1 :	<i>Stromal cell Derived Factor-1</i>
Ser :	Sérine
SHSK :	Sérine/Histidine/Sérine/Lysine
SW :	Syndrome WHIM
Thr :	Thréonine
VIH :	Virus de l'immunodéficience humaine
WHIM <sup>m</sup> :	Porteur d'une mutation hétérozygote dans <i>CXCR4</i>
WHIM <sup>s</sup> :	Non porteur d'une mutation dans <i>CXCR4</i>

## Introduction

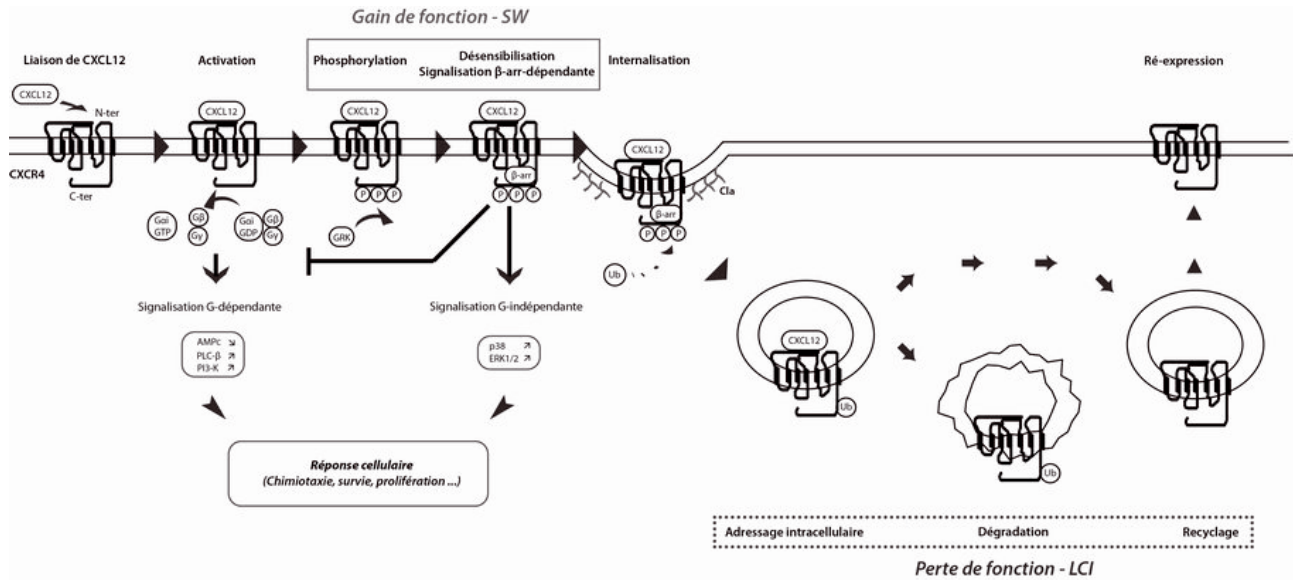
Les chimiokines (CKs) sont des cytokines de faible poids moléculaire, sécrétées et dotées d'un pouvoir chimiotactique, qui gouvernent, de concert avec les molécules d'adhésion, le trafic lymphoïde des leucocytes à l'état basal et le recrutement de cellules effectrices au site de l'agression. Ces activités sont relayées par des récepteurs (RCKs), qui appartiennent à la grande famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G, lesquels constituent les cibles de près de la moitié des médicaments disponibles sur le marché (Proudfoot, 2002; Mackay, 2008). La chimiokine  $\alpha$  CXC *Stromal cell Derived Factor-1* (SDF-1/CXCL12) est l'unique ligand naturel de CXCR4 (ou *Fusin*), récepteur ubiquitaire et initialement identifié comme un co-récepteur du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (Feng *et al.*, 1996). CXCL12 agit comme un facteur chimioattractant pour les cellules souches hématopoïétiques (CSHs) et différentes sous-populations leucocytaires (Lataillade *et al.*, 2004). CXCL12 est constitutivement exprimée par les cellules stromales, épithéliales et endothéliales, notamment dans les organes lymphoïdes (OLs) primaires, incluant la moelle osseuse (MO) et le thymus, et les OLs secondaires, parmi lesquels la rate et les ganglions (Nagasawa *et al.*, 1998).

D'un point de vue mécanistique, deux phénomènes moléculaires se produisent à la suite de l'engagement de CXCR4 par CXCL12. Premièrement, un changement conformationnel de CXCR4 initie l'activation des protéines G puis la mobilisation de différents effecteurs intracellulaires impliqués dans la réponse cellulaire (ex : migration, prolifération, survie). Deuxièmement, des événements de phosphorylation, médiés par des kinases spécifiques et ciblant le domaine intracellulaire C-terminal (C-ter) du RCK, conduisent au recrutement de protéines adaptatrices, les  $\beta$ -arrestines ( $\beta$ -arr), qui gouvernent alors l'inactivation et le trafic intracellulaire de CXCR4 (figure 1). L'axe de signalisation CXCL12/CXCR4 joue un rôle central dans des processus tels que la cardiogenèse, la vasculogenèse, la neurogenèse, la domiciliation des CSHs au sein de la MO, l'hématopoïèse et le trafic leucocytaire (Ma *et al.*, 1998; Raz, 2004; Ratajczak *et al.*, 2006). Des dérégulations des voies de signalisation et/ou de l'expression de CXCR4 ont été identifiées dans diverses situations pathologiques incluant l'infection par le VIH, certaines maladies auto-immunes, neurodégénératives et cardiovasculaires, ainsi que le développement de tumeurs épithéliales primaires (Balkwill, 2004; Busillo & Benovic, 2007; Kryczek *et al.*, 2007; Tsutsumi *et al.*, 2007; Gross & Meier, 2009; Rubin, 2009).

CXCL12 et CXCR4 sont supposés maintenir une relation mutuelle et exclusive, compte tenu des phénotypes similaires des souris invalidées pour l'un ou l'autre gène (Ma *et al.*, 1998). Cependant, l'identification récente d'un nouveau RCK pour CXCL12, à savoir RDC1/CXCR7, contredit ce postulat et implique à présent de déterminer les contributions respectives de CXCR4 et de CXCR7 dans les activités homéostatiques et pathologiques de CXCL12 (Balabanian *et al.*, 2005a). Par conséquent, les interactions établies entre CXCL12 et ses récepteurs en pathologie constituent une cible pertinente pour l'élaboration de nouvelles approches pharmacologiques à visée thérapeutique.

## CXCR4, une cible thérapeutique dans certains déficits immunitaires rares ?

Récemment, des anomalies ciblant différentes étapes des voies de signalisation transduites par CXCR4 ont été identifiées dans deux déficits immuno-hématologiques rares chez l'Homme, l'un caractérisé par un gain de fonction de CXCR4, le syndrome WHIM (SW) (Balabanian *et al.*, 2005b; Balabanian *et al.*, 2008), et le second associé à une perte de fonction de CXCR4, la lymphopénie T CD4<sup>+</sup> idiopathique (LCI) (Scott-Algara *et al.*, 2010). À la suite de la liaison de CXCL12, l'activité de CXCR4 est régulée



**Fig. 1. Voies de signalisation et régulation de l'activité de CXCR4.** Ce schéma décrit les principales voies de signalisation associées à l'activation et à l'inactivation de CXCR4 en réponse à CXCL12. La désensibilisation de CXCR4 est altérée dans le SW, alors que le recyclage membranaire de CXCR4 est défectueux dans la LCI. AMPc : Adénosine monophosphate cyclique ;  $\beta$ -arr :  $\beta$ -arrestine ; Cla : Clathrine ; C-ter : C-terminal ; ERK : *Extracellular signal-regulated kinase* ;  $G\alpha\beta\gamma$  : Protéine G hétérotrimérique  $\alpha\beta\gamma$  ; GDP : Guanosine-5'-diphosphate ; GRK : *G protein-coupled receptor kinase* ; GTP : Guanosine-5'-triphosphate ; CI : lymphopénie T CD4<sup>+</sup> idiopathique ; N-ter : N-terminal ; P : Phosphorylation ; PI3-K : *Phosphoinositide 3-Kinase* ; PLC- $\beta$  : Phospholipase C- $\beta$  ; SW : syndrome WHIM ; Ub : Ubiquitine.

par différents processus moléculaires qui incluent la désensibilisation, l'internalisation, la dégradation et le recyclage membranaire (figure 1). L'activation des protéines G est rapidement atténuée par un système de rétrocontrôle négatif appelé désensibilisation, mécanisme par lequel CXCR4 devient réfractaire à une stimulation ultérieure par CXCL12. Ce processus débute par des phosphorylations ciblant des résidus aminés de type Sérine/Thréonine (Ser/Thr), principalement contenus dans le domaine intracellulaire C-ter du RCK, par des kinases spécifiques, les *G protein-coupled receptor kinases* (GRKs). Ces réactions enzymatiques conditionnent le recrutement et la liaison sur cette région de protéines aux multiples fonctions, les  $\beta$ -arr. Ces dernières empêchent le couplage de CXCR4 à de nouvelles protéines G et connectent le RCK à de nouvelles voies de signalisation qui gouvernent, notamment, son endocytose *via* les puits recouverts de clathrine. Ces processus sont nécessaires à l'atténuation de l'activité de CXCR4. Le RCK subit également des modifications post-traductionnelles de type ubiquitinylation, ce qui l'oriente vers la dégradation dans les compartiments lysosomaux. Cependant, le RCK internalisé peut être directement recyclé à la membrane cellulaire (Busillo & Benovic, 2007 ; Moore *et al.*, 2007).

De récents travaux révèlent que la désensibilisation de CXCR4 est défectueuse dans le SW, alors que le

recyclage membranaire de CXCR4 est altéré dans la LCI (figure 1). Le décryptage et la compréhension du mode d'action moléculaire et fonctionnel de l'axe de signalisation CXCL12/CXCR4 dans le SW et la LCI constituent des étapes préliminaires indispensables avant d'envisager de manipuler cet axe à des fins thérapeutiques. L'objectif de cette revue est de présenter l'état actuel des connaissances sur les anomalies de CXCR4 dans le SW et la LCI.

## Physiopathologie du syndrome WHIM

Le SW est un déficit immuno-hématologique rare à transmission autosomique dominante, qui se caractérise par une abondance de verrues cutanées et de condylomes ano-génitaux dysplasiques liés à des infections récurrentes par le virus du Papillome Humain (W, « *Warts* »), une hypogammaglobulinémie (H), des infections bactériennes à répétition (I), et une forme de neutropénie congénitale associée à une rétention anormale de neutrophiles hypermatures au profil apoptotique dans la MO (M, « *Myelokathexis* ») (Zuelzer, 1964). Ce dernier critère constitue le signe pathognomonique du SW (Kawai & Malech, 2009). Contrairement à d'autres maladies héréditaires caractérisées par une neutropénie, les patients atteints du SW ne développent pas d'infections qui engagent

le pronostic vital. En effet, une infection aiguë, une stimulation par le *Granulocyte-Colony-Stimulating Factor*, l'adrénaline ou les glucocorticoïdes induisent une mobilisation rapide des neutrophiles de la MO vers le sang, et de fait, corrigent transitoirement la neutropénie circulante (Kawai & Malech, 2009; Notarangelo & Badolato, 2009).

Ces observations suggèrent que la neutropénie résulte d'une altération de la libération des neutrophiles de la MO, plutôt que d'une anomalie de leur production.

Ce tableau s'associe invariablement à une profonde leucopénie, qui affecte les lymphocytes T (LT) et les LB circulants, et dans certains cas, les monocytes (Balabanian *et al.*, 2005b; Siedlar *et al.*, 2008). Des analyses immunophénotypiques ont révélé une diminution du nombre de LB mémoires et de LT naïfs et centraux/mémoires, contrastant avec l'accumulation de LT effecteurs/mémoires présentant un répertoire du récepteur T restreint (Gulino *et al.*, 2004). L'hypogammaglobulinémie, bien qu'étant un paramètre variable, affecte principalement les IgG (Mc Guire *et al.*, 2010). Une manifestation clinique probable serait l'apparente susceptibilité des patients à développer chroniquement des sinusites, des infections respiratoires et des pneumonies causées par des bactéries encapsulées. Cependant, à la suite d'une immunisation par un antigène T-dépendant, les patients semblent capables de produire une réponse humorale spécifique, bien que les titres sériques déclinent rapidement (Gulino *et al.*, 2004). L'ensemble de ces données cliniques et immunologiques indique que le SW est caractérisé par un désordre de la migration leucocytaire, une notion prédictive d'une anomalie du système des CKs/RCKs. L'année 2003 marque un tournant décisif avec l'identification de mutations hétérozygotes localisées dans la région codante de *CXCR4* chez certains patients souffrant du SW (Hernandez *et al.*, 2003). Les bases moléculaires liant cette anomalie génétique à un dysfonctionnement cellulaire restaient alors à définir.

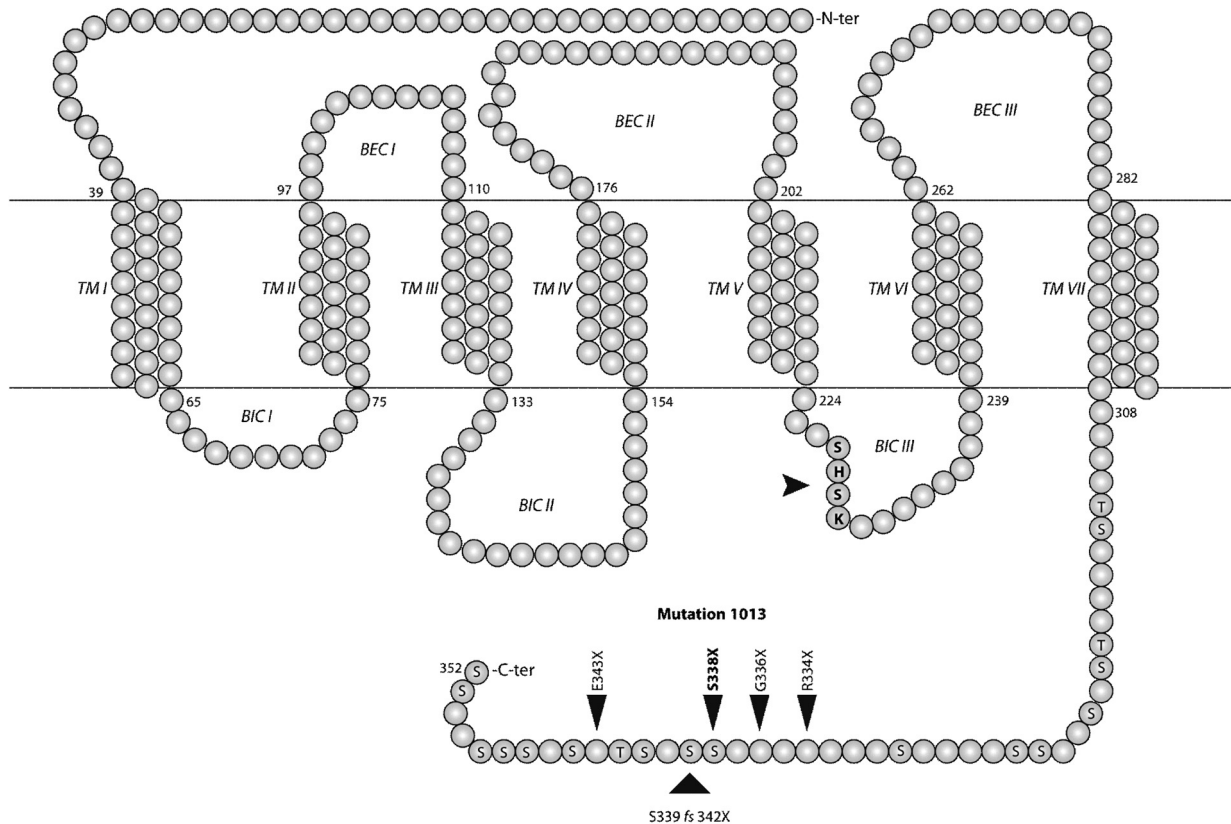
### Gain de fonction de CXCR4 dans le syndrome WHIM

La majorité des cas répertoriés de SW est liée à des mutations hétérozygotes localisées dans *CXCR4*, qui tronquent partiellement le domaine intracellulaire C-ter du RCK [WHIM<sup>muté(m)</sup>; génotype : *CXCR4*<sup>+</sup>/*CXCR4*<sup>muté</sup>] (figure 2) (Hernandez *et al.*, 2003; Kawai & Malech, 2009; Takaya *et al.*, 2009; Tassone *et al.*, 2009). L'intégrité de ce domaine étant requise pour l'inactivation de CXCR4 (figure 1), il était logique de suspecter que les mutations tronquantes altèrent ce processus et conduisent à un gain de fonction de CXCR4. L'utilisation de LT et de

neutrophiles circulants résiduels de patients [WHIM<sup>m</sup>] et la production de lignées cellulaires surexprimant un CXCR4<sup>muté</sup> ont permis de révéler qu'effectivement ces différentes mutations mènent à l'expression de RCKs tronqués qui présentent une activation accrue et soutenue des protéines G (Busillo & Benovic, 2007; Notarangelo & Badolato, 2009). Ce phénomène s'explique par l'incapacité du CXCR4<sup>muté</sup> à être découplé des protéines G (ou désensibilisé) et internalisé après la liaison de CXCL12 (Balabanian *et al.*, 2005b). Cette anomalie du processus d'inactivation se traduit par un gain de fonction de CXCR4, comme l'illustre l'hypermotilité des leucocytes à l'action chimiotactique de CXCL12, et ce malgré une expression membranaire normale du RCK (figure 3).

Quelques formes familiales sans anomalie de *CXCR4* ont également été identifiées [WHIM<sup>sauvage(s)</sup>; génotype : *CXCR4*<sup>+</sup>/*CXCR4*<sup>+</sup>], indiquant une hétérogénéité génétique du SW (Balabanian *et al.*, 2005b). Fait intéressant, les leucocytes de patients [WHIM<sup>s</sup>] présentent des dysfonctions spécifiques de l'axe CXCL12/CXCR4, semblables à celles documentées chez les patients [WHIM<sup>m</sup>] (figure 3). En dépit de leurs différences génétiques, les deux formes du SW présentent donc comme élément pathogénique commun un gain de fonction de CXCR4, qui est probablement à l'origine des manifestations immuno-hématologiques et infectieuses. À ce stade, plusieurs questions restaient à résoudre pour comprendre comment le gain de fonction de CXCR4 conduit au SW. Chez les patients [WHIM<sup>m</sup>], les bases moléculaires de l'hyperactivité du RCK tronqué et son rôle étiologique dans les manifestations cliniques restaient à définir. Chez les patients [WHIM<sup>s</sup>], l'activité d'autres RCKs, incluant celle de CXCR7, est préservée, suggérant l'existence d'une anomalie qui affecte un effecteur intracellulaire sélectivement impliqué dans la régulation de l'inactivation de CXCR4. Un éclairage mécanistique a récemment été apporté sur le gain de fonction de CXCR4 dans le SW *via* l'étude des partenaires intracellulaires du RCK.

Dans la forme [WHIM<sup>m</sup>], le CXCR4<sup>muté</sup> est réfractaire à la désensibilisation et à l'endocytose, soulignant que l'intégrité du domaine C-ter est requise pour l'inactivation du RCK *via* sa phosphorylation par certaines GRKs et la liaison des  $\beta$ -arr (figure 1). En accord avec cette notion, la surexpression de  $\beta$ -arr ne permet pas de restaurer l'atténuation du CXCR4<sup>muté</sup> (Lagane *et al.*, 2008). Dans ces conditions expérimentales, le CXCR4<sup>muté</sup> préserve cependant la capacité d'interagir avec les  $\beta$ -arr *via* un domaine distinct de son extrémité C-ter : le motif Ser/His/Ser/Lys (SHSK) contenu dans la 3<sup>e</sup> boucle intracellulaire (BIC) (figure 2). Cette liaison est associée à l'induction de voies de signalisation indépendantes



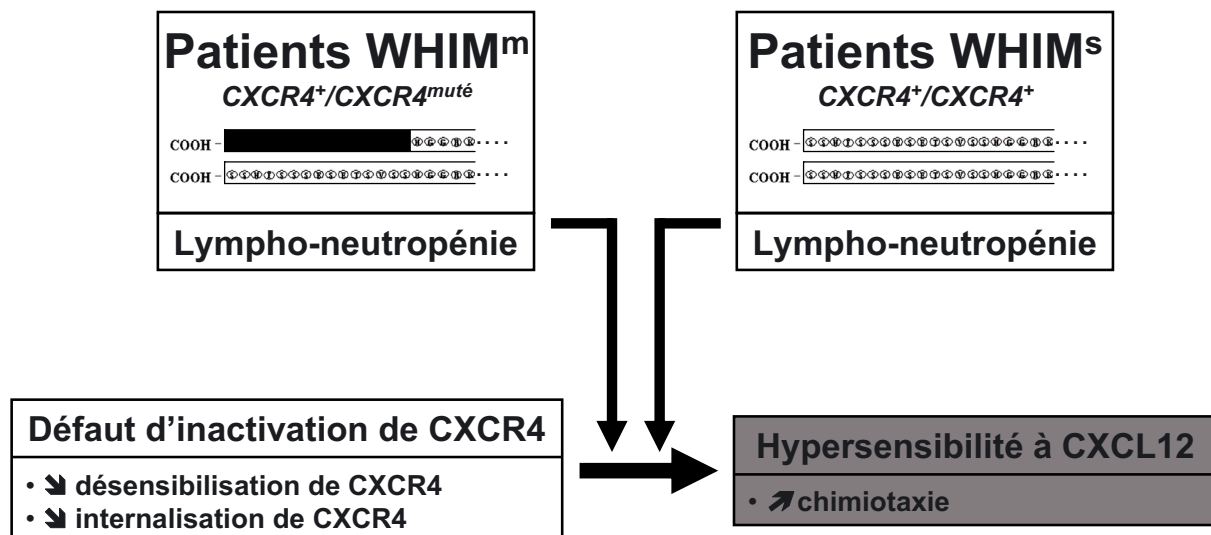
**Fig. 2. Association du SW à des mutations de CXCR4.** Toutes les mutations de CXCR4 liées au SW invalident les 10 à 19 derniers acides aminés (AA) riches en sites Ser/Thr du domaine intracellulaire C-ter de la protéine. Par exemple, la mutation hétérozygote ponctuelle identifiée en position 1013 (substitution S338X) conduit à l'apparition prématurée d'un codon non-sens et entraîne une délétion partielle (15 derniers AA) du domaine C-ter de CXCR4. Le motif SHSK contenu dans la 3<sup>e</sup> boucle intracellulaire de CXCR4 est impliqué dans la liaison des  $\beta$ -arr. BEC : boucle extracellulaire ; BIC : boucle intracellulaire ; fs : décalage du cadre de lecture ; S : Ser ; SHSK : Ser/His/Ser/Lys ; T : Thr ; TM : domaine transmembranaire.

des protéines G (ex : ERK1/2) qui régulent positivement la chimiotaxie (figure 1) (Premont & Gainetdinov, 2007). Cet apparent paradoxe témoigne de l'ambivalence des  $\beta$ -arr, dont les fonctions, suppressives de la signalisation G-dépendante ou promotrices de la signalisation G-indépendante, dépendent probablement du type de GRK recrutée et du site de fixation sur CXCR4. Selon ce modèle, l'hypersensibilité à l'action chimiotactique de CXCL12 dans la forme [WHIM<sup>m</sup>] pourrait résulter d'une anomalie d'inactivation de CXCR4 (conséquence à un défaut de recrutement des  $\beta$ -arr au domaine C-ter) et d'une signalisation exacerbée G-indépendante (liée à un recrutement favorisé des  $\beta$ -arr à la 3<sup>e</sup> BIC). Enfin, l'identification d'hétérodimères entre CXCR4<sup>muté</sup> et CXCR4<sup>+</sup> suggère un mécanisme par lequel CXCR4<sup>muté</sup> exerce un effet transdominant négatif sur CXCR4<sup>+</sup> (Lagane *et al.*, 2008).

Bien que ces travaux apportent des éléments de réponse à propos des mécanismes moléculaires

mis en jeu dans l'hyperactivité de CXCR4<sup>muté</sup>, la spécialisation des différents GRKs reste encore à établir dans les voies de signalisation dépendantes des  $\beta$ -arr et médiées par le CXCR4<sup>muté</sup>. Un autre objectif consiste à déterminer à quelle(s) étape(s) et par quel(s) mécanisme(s) l'hyperactivité de CXCR4<sup>muté</sup> perturbe *in vivo* l'homéostasie leucocytaire et conduit à une lympho-neutropénie (figure 4). Une possibilité serait que la leucopénie résulte d'un défaut de l'hématopoïèse et/ou d'une altération de la domiciliation périphérique des leucocytes. Dans cette optique, la production et la caractérisation immunologique d'un modèle animal [WHIM<sup>m</sup>] seraient informatives.

Une étude approfondie des cellules de patients [WHIM<sup>s</sup>] a récemment permis de dévoiler un rôle clef de la protéine kinase GRK-3 dans la régulation de la désensibilisation et de l'internalisation de CXCR4 (Balabanian *et al.*, 2008). En effet, l'extinction de GRK-3 par l'utilisation d'ARNs interférents dans des



**Fig. 3. Association du SW à un défaut d'inactivation de CXCR4.** Le SW se caractérise notamment par une lympho-neutropénie circulante et présente une hétérogénéité de *CXCR4*. Les leucocytes de patients porteurs [WHIM<sup>m</sup>] ou non [WHIM<sup>s</sup>] d'une mutation dans *CXCR4* partagent un défaut d'inactivation de CXCR4, qui se manifeste par des anomalies de désensibilisation et d'internalisation du RCK et se traduit par une hypersensibilité à l'action chimiotactique de CXCL12.

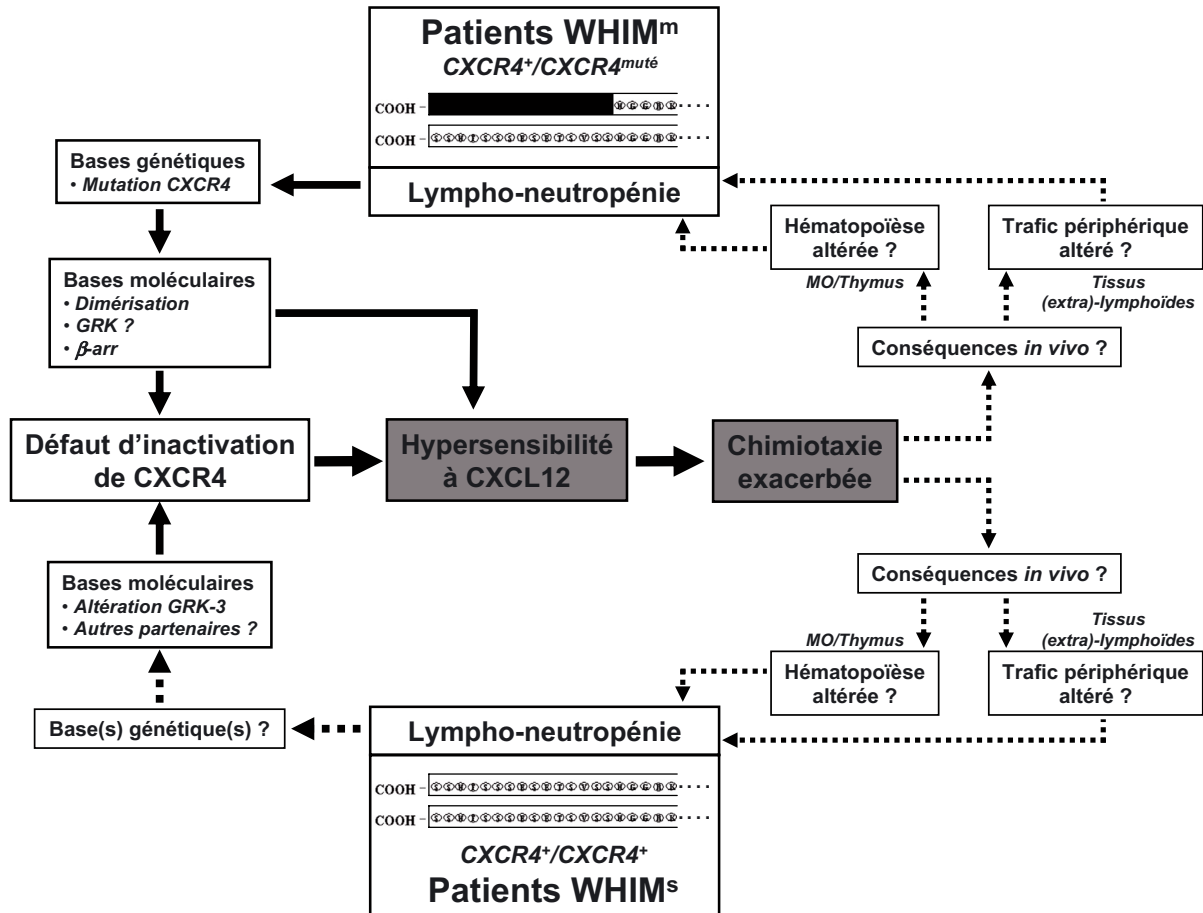
cellules de témoins induit un défaut d'inactivation de CXCR4 et une chimiotaxie exacerbée en réponse à CXCL12, anomalies similaires à celles documentées chez les patients. Ces données identifient donc la GRK-3 comme un régulateur négatif de la migration cellulaire induite par CXCL12 et également comme un candidat responsable des dysfonctions de CXCR4 chez les patients [WHIM<sup>s</sup>]. Dans ce sens, la surexpression de *GRK-3* dans leurs cellules corrige le défaut de désensibilisation et d'internalisation de CXCR4 et normalise la chimiotaxie induite par CXCL12. Fait marquant, un déficit sélectif de la protéine GRK-3, résultant d'un défaut de synthèse des ARNm, a été identifié chez un des patients. Par conséquent, ces données révèlent une spécialisation de la GRK-3 dans l'atténuation de CXCR4 et identifient de surcroît chez les patients [WHIM<sup>s</sup>] une dérégulation de cette kinase comme une nouvelle anomalie liée au SW (figure 4).

Les défauts génétiques impliqués, la nature des interactions moléculaires entre CXCR4 et la GRK-3 et les conséquences sur l'homéostasie leucocytaire *in vivo* d'une anomalie affectant la GRK-3 restent cependant à établir (figure 4). La caractérisation de ces étapes est critique pour comprendre comment une altération de l'expression ou de l'activité de la GRK-3 conduit à un défaut d'inactivation de CXCR4, et par extension, aux manifestations cliniques. Le rôle sélectif de la GRK-3 dans l'axe de signalisation CXCL12/CXCR4 pourrait impliquer la phosphorylation de sites Ser/Thr contenus dans le domaine C-ter du RCK, permettant

ainsi la liaison des  $\beta$ -arr sur cette région. En accord avec cette hypothèse, la surexpression de  $\beta$ -arr ou de *GRK-3* ne corrige pas le défaut d'inactivation de CXCR4<sup>muté</sup> (Balabanian *et al.*, 2008; Lagane *et al.*, 2008). De fait, une possibilité serait qu'un défaut de liaison de la GRK-3 à CXCR4 soit responsable du gain de fonction du RCK aussi bien dans la forme [WHIM<sup>s</sup>] que [WHIM<sup>m</sup>]. Actuellement, il n'existe aucun consensus sur d'autres partenaires moléculaires impliqués directement dans le SW. Néanmoins, des travaux récents indiquent, qu'en plus de la GRK-3, la GRK-2 et la GRK-6 sont capables de fixer le domaine C-ter de CXCR4 à des endroits distincts et de réguler différents aspects de la signalisation du RCK (McCormick *et al.*, 2009; Busillo *et al.*, 2010). Ces résultats suggèrent clairement que des défauts fonctionnels de chacune de ces kinases pourraient contribuer aux anomalies de CXCR4 dans le SW.

### Physiopathologie de la lymphopénie T CD4<sup>+</sup> idiopathique

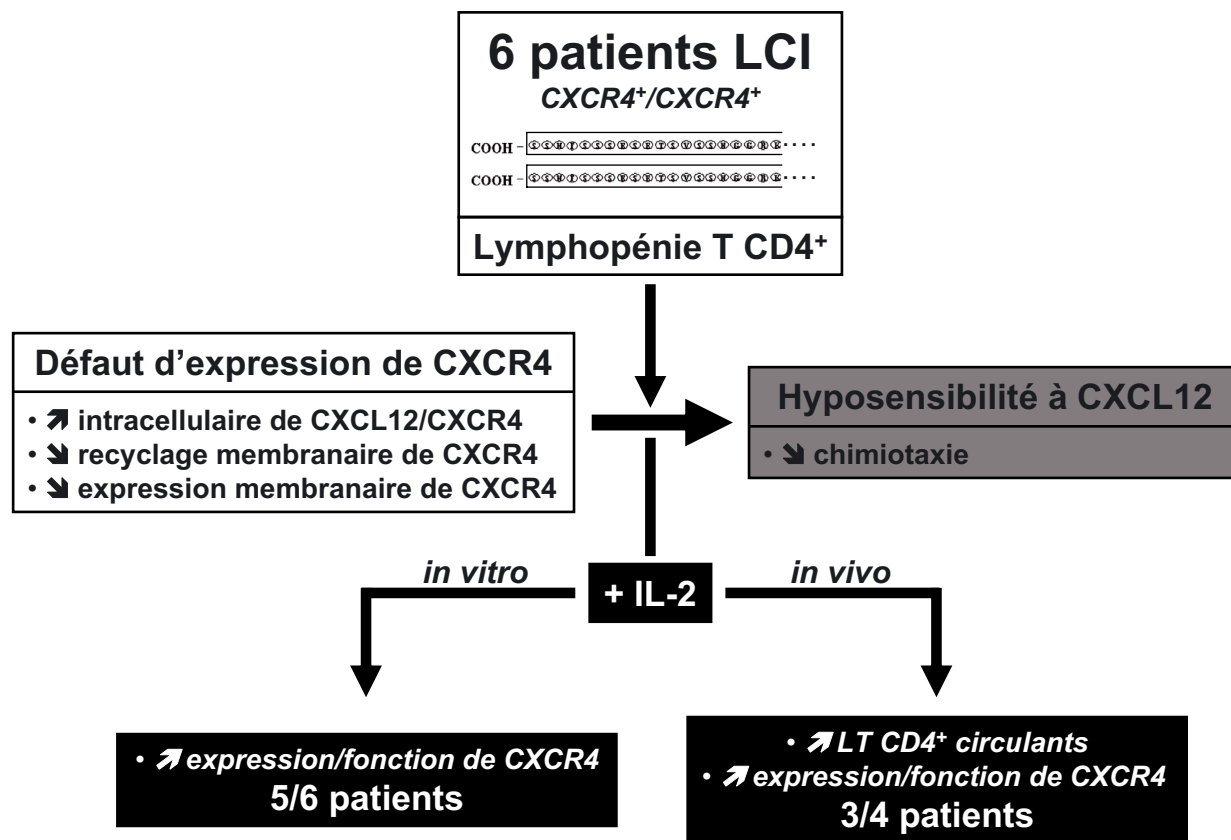
La LCI est une maladie immuno-hématologique rare qui correspond à un syndrome de déplétion en LT CD4<sup>+</sup> circulants, dont la pathogenèse reste encore inconnue. Ce déficit se caractérise par la persistance d'un nombre faible de LT CD4<sup>+</sup> (<300 cellules/mm<sup>3</sup>) en l'absence d'infection par le VIH, de déficit immunitaire identifié ou de traitement pouvant être à l'origine



**Fig. 4. Aspects moléculaires du gain de fonction de CXCR4 dans le SW.** Ce schéma présente les dernières avancées (→) dans la compréhension des bases mécanistiques du gain de fonction de CXCR4 chez les patients [WHIM<sup>m</sup>] et [WHIM<sup>s</sup>], et souligne les étapes critiques (····→) à résoudre afin d'éclaircir la physiopathologie du SW. MO : moelle osseuse.

d'une baisse des LT CD4<sup>+</sup> (Spira *et al.*, 1993). Ce syndrome a été décrit en 1992, époque à laquelle le *Center for Disease Control* d'Atlanta a répertorié 47 patients parmi 230179 répondant à ces critères (Smith *et al.*, 1993). L'anomalie des LT CD4<sup>+</sup> favorise l'apparition d'infections opportunistes sévères, en particulier d'origine fongique (ex : *Cryptococcus neoformans*) (Zonios *et al.*, 2008). L'étiologie de la LCI n'impliquerait pas d'agents infectieux ou environnementaux mais pourrait avoir une origine génétique (Walker & Warnatz, 2006). Les patients présentent des profils immunologiques hétérogènes. Selon certaines études, les LT CD4<sup>+</sup> naïfs sont préférentiellement affectés dans le sang. Le nombre de LT CD8<sup>+</sup> est préservé ou parfois diminué, constituant ainsi un facteur aggravant (Seligmann *et al.*, 1991, 1994). Une immunothérapie basée sur l'administration d'Interleukine-2 (IL-2) permet d'augmenter le nombre de LT CD4<sup>+</sup> circulants chez certains patients (Warnatz *et al.*, 2000; Trojan *et al.*, 2009).

Quelques études à visée mécanistique et fonctionnelle ont rapporté une diminution des réponses des LT, une augmentation de l'activation des LT, et une capacité accrue des LT à entrer en apoptose, un processus partiellement dépendant de l'expression du récepteur Fas (Laurence *et al.*, 1996; Roger *et al.*, 1999; Netea *et al.*, 2004; Walker & Warnatz, 2006). Une anomalie de la capacité clonogénique des CSHs de la MO pourrait également contribuer à la déplétion des LT CD4<sup>+</sup> (Isgro *et al.*, 2005). Une anomalie fréquente dans la LCI consiste en une augmentation sérique d'IL-7, compatible avec le déclenchement d'une réponse homéostatique visant à reconstituer le taux de LT CD4<sup>+</sup> circulants (Malaspina *et al.*, 2007; Guimond *et al.*, 2009). La LCI apparaît donc comme une maladie complexe, probablement multifactorielle, dont les causes et les mécanismes pathogéniques restent encore incompris. Un des enjeux consiste à déterminer si la lymphopénie T CD4<sup>+</sup> résulte d'un défaut de production thymique



**Fig. 5.** Association de la LCI à un défaut d'expression membranaire de CXCR4. La LCI associe un nombre faible de LT CD4<sup>+</sup> circulants et des infections opportunistes. Les LT CD4<sup>+</sup> de six patients partagent un défaut de recyclage et d'expression membranaire de CXCR4, anomalies associées à une accumulation intracellulaire de CXCR4 et de CXCL12, entraînant une hyposensibilité à l'action chimiotactique de CXCL12. *In vitro* et remarquablement *in vivo* chez certains patients, l'IL-2 normalise l'expression et la fonction membranaire de CXCR4 tout en augmentant le nombre de LT CD4<sup>+</sup> circulants. IL-2 : Interleukine-2; LT : lymphocytes T.

et/ou d'une consommation périphérique accélérée. Dans cette optique, les CKs/RCKs, et plus particulièrement l'axe de signalisation CXCL12/CXCR4, constituaient une piste à explorer.

### Perte de fonction de CXCR4 dans la lymphopénie T CD4<sup>+</sup> idiopathique

Le couple CXCL12/CXCR4 orchestre la thymopoïèse et régule en périphérie la domiciliation et la différenciation des LT dans les OLs secondaires (Takahama, 2006; Patrussi & Baldari, 2008; Yu *et al.*, 2009). Compte tenu de ces activités pléiotropes, il est logique d'envisager qu'une altération de l'expression et/ou de l'activité de CXCR4 impacte sévèrement l'homéostasie des LT. En accord avec cette hypothèse, une perte ou un gain d'expression de CXCR4 chez la souris conduit à une diminution des LT CD4<sup>+</sup> dans le sang (Sawada *et al.*, 1998; Onai *et al.*, 2000). Dans ces

modèles, la déplétion est associée respectivement à un défaut de la maturation intra-thymique et à une augmentation de la migration des LT CD4<sup>+</sup> vers la MO. Ces études indiquent très clairement qu'une modulation de l'expression membranaire de CXCR4 perturbe la différenciation et la domiciliation des LT CD4<sup>+</sup>, conduisant à leur déplétion dans le sang.

Une étude récente a permis d'identifier un mécanisme pathogénique impliquant CXCR4, associé à la déplétion des LT CD4<sup>+</sup> et commun à tous les patients étudiés (Scott-Algara *et al.*, 2010). En effet, les LT CD4<sup>+</sup> circulants résiduels de six patients partagent un défaut d'expression membranaire de CXCR4 qui conduit à une perte de fonction de CXCR4, comme en témoigne l'hyposensibilité de ces cellules à l'action chimiotactique de CXCL12 (figure 5). En revanche, l'expression et la fonction membranaire de CXCR4 dans les monocytes, et celles d'autres RCKs (ex : CCR5, CXCR2) dans les LT, sont préservées, suggérant une anomalie restreinte aux LT et spécifique



à CXCR4. De manière surprenante, la perte d'expression membranaire de CXCR4 est associée à une accumulation intracellulaire du RCK, mais également de son ligand CXCL12. L'absence de mutations dans *CXCL12* ou *CXCR4* et de modifications des niveaux plasmatiques de cytokines qui puissent expliquer la disparition membranaire du RCK suggère un défaut de trafic intracellulaire du complexe CXCL12/CXCR4 (figure 1). De fait, les auteurs ont évalué *in vitro* le destin de CXCR4 dans les LT CD4<sup>+</sup> de patients à la suite de la liaison de CXCL12. De cette manière, ils ont montré que CXCR4 subissait une internalisation normale en réponse à CXCL12, mais était ensuite incapable de se recycler vers la surface cellulaire. L'anomalie de compartimentation cellulaire de CXCR4, à savoir une diminution membranaire et une augmentation intracellulaire, affecte aussi bien les LT CD4<sup>+</sup> naïfs que mémoires. Ces données indiquent que la perte d'expression de CXCR4 résulte d'un défaut de recyclage membranaire du RCK, plutôt que de l'expansion d'une nouvelle sous-population de LT CD4<sup>+</sup> dépourvus de CXCR4 à leur surface. Ainsi, l'anomalie de recyclage membranaire de CXCR4 et la perte d'expression résultante pourraient contribuer à la recirculation et la différenciation défectueuses des LT CD4<sup>+</sup> dans la LCI.

Importante d'un point de vue clinique, l'addition *in vitro* d'IL-2 corrige les anomalies intracellulaires et membranaires de CXCR4 dans les LT CD4<sup>+</sup> de 5 des 6 patients étudiés. De plus, une immunothérapie par l'IL-2 normalise l'expression et la fonction membranaire de CXCR4 tout en augmentant le nombre de LT CD4<sup>+</sup> circulants chez 3 des 4 patients traités (figure 5). Le seul patient qui ne présente aucune amélioration du taux de LT CD4<sup>+</sup> lors de la thérapie est celui qui se montre réfractaire aux effets bénéfiques de l'IL-2 sur l'expression de CXCR4, suggérant une association entre la capacité de l'IL-2 à restaurer l'expression membranaire de CXCR4 et son effet thérapeutique sur l'homéostasie des LT CD4<sup>+</sup>. La LCI apparaît donc comme un déficit immunitaire rare associé à un défaut d'expression membranaire de CXCR4, qui pourrait être amélioré par une immunothérapie utilisant l'IL-2.

Cette étude ouvre, pour la première fois, la voie à la compréhension des anomalies moléculaires affectant les LT CD4<sup>+</sup> et à un traitement de la LCI par immunothérapie. En effet, elle révèle que les LT CD4<sup>+</sup> circulants de six patients partagent un défaut de recyclage et d'expression membranaire de CXCR4 et une hyposensibilité à CXCL12. Sur la base de ces données, qui méritent d'être étendues à d'autres cohortes, il est tentant de spéculer que l'anomalie de routage intracellulaire, et la perte de fonction résultante, de CXCR4 altère *in vivo* la différenciation et la domiciliation des LT CD4<sup>+</sup>, conduisant à leur déplétion dans le sang et favorisant ainsi l'apparition d'infections opportunistes

sévères. Cependant, plusieurs points restent à éclaircir afin d'établir un lien causal entre la perte de fonction de CXCR4 et la LCI (figure 6). Les bases génétiques et/ou moléculaires qui sous-tendent l'anomalie de trafic intracellulaire et de recyclage de CXCR4 restent à définir. Les conséquences *in vivo* de la perte de fonction de CXCR4 sur l'homéostasie des LT CD4<sup>+</sup> restent également à déterminer. L'effet bénéfique de l'IL-2 sur l'expression membranaire de CXCR4 et sur le nombre de LT CD4<sup>+</sup> circulants chez certains patients suggère une implication des cytokines  $\gamma$ -c dans l'étiologie de la LCI. Une possibilité serait qu'un défaut de réponse aux cytokines  $\gamma$ -c conduise à une réduction de l'expression membranaire de CXCR4, ce qui perturberait l'homéostasie des LT CD4<sup>+</sup>. Il reste à déterminer par quel(s) mécanisme(s) moléculaire(s) l'IL-2 restaure l'expression de CXCR4 et à individualiser quelle étape de la vie du LT CD4<sup>+</sup> est normalisée par cette intervention (figure 6).

## Conclusions

Cette revue présente comment l'étude de deux déficits immunitaires rares, le SW et la LCI, permet de décrypter le mode de fonctionnement des CKs/RCKs, et en particulier celui de l'axe de signalisation CXCL12/CXCR4. Ces pathologies se caractérisent par des anomalies de CXCR4, qui se distinguent par le fait qu'elles affectent des étapes différentes des voies de signalisation médiées par le RCK. Dans le SW, les patients partagent un défaut d'inactivation de CXCR4 qui se traduit par un gain de fonction du RCK. Dans la LCI, les patients ont tous en commun un défaut de recyclage membranaire de CXCR4 qui conduit à une perte de fonction du RCK. Une hypothèse fédératrice serait que le gain et la perte de fonction de CXCR4, associés respectivement au SW et à la LCI, impactent des stades différents de la vie des leucocytes, conduisant à une lympho-neutropénie ou à une déplétion des LT CD4<sup>+</sup>. Le développement d'un modèle animal du SW permettrait d'élucider les mécanismes pathogènes liant le gain de fonction de CXCR4 aux signes cliniques, mais également d'évaluer l'efficacité et la tolérance de différents inhibiteurs de l'axe CXCL12/CXCR4. À ce titre, l'AMD3100, un antagoniste sélectif de CXCR4 connu pour ses propriétés mobilisatrices (Pusic & Dipersio, 2010), fait figure de proue et pourrait, dans le futur, orienter l'arsenal thérapeutique chez les patients atteints du SW. La situation demeure plus complexe dans la LCI puisque le rôle étiologique de l'anomalie de CXCR4 reste à établir. Un objectif majeur consistera à déterminer les bases moléculaires, et les conséquences *in vivo* sur l'homéostasie des LT CD4<sup>+</sup>, de la perte de fonction de CXCR4. La caractérisation précise de la

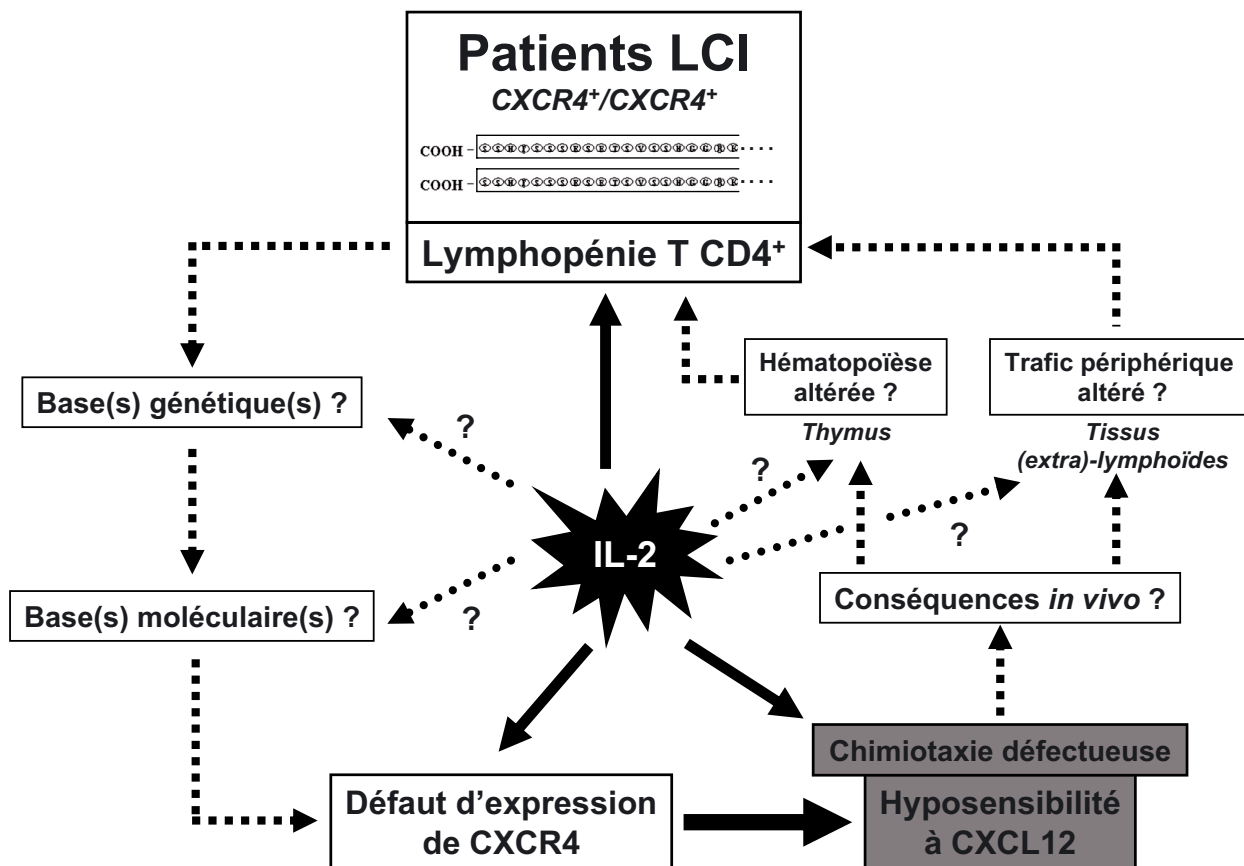


Fig. 6. Mécanisme et impact sur l'homéostasie des LT CD4<sup>+</sup> de la perte de fonction de CXCR4 dans la LCI. Ce schéma soulève les points à éclaircir (.....) afin d'établir un lien causal entre la perte de fonction de CXCR4 et la LCI, et présente les différentes hypothèses relatives à l'effet bénéfique de l'IL-2.

réponse des LT CD4<sup>+</sup> aux traitements par l'IL-2 est également requise pour optimiser les approches immuno-thérapeutiques chez les patients. La modélisation de ces deux pathologies offrira également l'opportunité d'identifier de nouveaux partenaires moléculaires de CXCR4 et de définir leur contribution à la fonction du RCK. Dans le futur, ces candidats pourraient représenter les cibles de nouvelles approches thérapeutiques visant à corriger les défauts immuno-hématologiques dans le SW et la LCI.

**Remerciements.** Les auteurs souhaitent remercier l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP, contrat n°07018), l'Université Paris-Sud, l'Union Européenne (FP6, INNOCHEM, contrat n°LSHB-CT-2005-518167), l'Agence Nationale de la Recherche (ANR, contrat Jeunes Chercheurs) et l'Association pour la Recherche sur le Cancer (ARC, contrat n°4982) pour leur soutien financier.

**Conflit d'intérêt.** Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cette revue.

## Références

- Balabanian K., Lagane B., Infantino S., Chow K.Y., Harriague J., Moepps B., Arenzana-Seisdedos F., Thelen M., Bachelier F., The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes. *J Biol Chem*, 2005a, 280, 35760–35766.
- Balabanian K., Lagane B., Pablos J.L., Laurent L., Planchenault T., Verola O., Lebbe C., Kerob D., Dupuy A., Hermine O., Nicolas J.F., Latger-Cannard V., Bensoussan D., Bordigoni P., Baleux F., Le Deist F., Virelizier J.L., Arenzana-Seisdedos F., Bachelier F., WHIM syndromes with different genetic anomalies are accounted for by impaired CXCR4 desensitization to CXCL12. *Blood*, 2005b, 105, 2449–2457.

- Balabanian K., Levoye A., Klemm L., Lagane B., Hermine O., Harriague J., Baleux F., Arenzana-Seisdedos F., Bachelier F., Leukocyte analysis from WHIM syndrome patients reveals a pivotal role for GRK3 in CXCR4 signaling. *J Clin Invest*, 2008, 118, 1074–1084.
- Balkwill F., The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4. *Semin Cancer Biol*, 2004, 14, 171–179.
- Busillo J.M., Benovic J.L., Regulation of CXCR4 signaling. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1768, 952–963.
- Busillo J.M., Armando S., Sengupta R., Meucci O., Bouvier M., Benovic J.L., Site-specific phosphorylation of CXCR4 is dynamically regulated by multiple kinases and results in differential modulation of CXCR4 signaling. *J Biol Chem*, 2010, 285, 7805–7817.
- Feng Y., Broder C.C., Kennedy P.E., Berger E.A., HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*, 1996, 272, 872–877.
- Gross N., Meier R., Chemokines in neuroectodermal cancers: the crucial growth signal from the soil. *Semin Cancer Biol*, 2009, 19, 103–110.
- Guimond M., Veenstra R.G., Grindler D.J., Zhang H., Cui Y., Murphy R.D., Kim S.Y., Na R., Hennighausen L., Kurtulus S., Erman B., Matzinger P., Merchant M.S., Mackall C.L., Interleukin 7 signaling in dendritic cells regulates the homeostatic proliferation and niche size of CD4<sup>+</sup> T cells. *Nat Immunol*, 2009, 10, 149–157.
- Gulino A.V., Moratto D., Sozzani S., Cavadini P., Otero K., Tassone L., Imberti L., Pirovano S., Notarangelo L.D., Soresina R., Mazzolari E., Nelson D.L., Notarangelo L.D., Badolato R., Altered leukocyte response to CXCL12 in patients with warts hypogammaglobulinemia, infections, myelokathexis (WHIM) syndrome. *Blood*, 2004, 104, 444–452.
- Hernandez P.A., Gorlin R.J., Lukens J.N., Taniuchi S., Bohinjec J., Francois F., Klotman M.E., Diaz G.A., Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. *Nat Genet*, 2003, 34, 70–74.
- Isgro A., Sirianni M.C., Gramiccioni C., Mezzaroma I., Fantauzzi A., Aiuti F., Idiopathic CD4<sup>+</sup> lymphopenia may be due to decreased bone marrow clonogenic capability. *Int Arch Allergy Immunol*, 2005, 136, 379–384.
- Kawai T., Malech H.L., WHIM syndrome: congenital immune deficiency disease. *Curr Opin Hematol*, 2009, 16, 20–26.
- Kryczek I., Wei S., Keller E., Liu R., Zou W., Stromal-derived factor (SDF-1/CXCL12) and human tumor pathogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292, C987–995.
- Lagane B., Chow K.Y., Balabanian K., Levoye A., Harriague J., Planchenault T., Baleux F., Gunera-Saad N., Arenzana-Seisdedos F., Bachelier F., CXCR4 dimerization and beta-arrestin-mediated signaling account for the enhanced chemotaxis to CXCL12 in WHIM syndrome. *Blood*, 2008, 112, 34–44.
- Lataillade J.J., Domenech J., Le Bousse-Kerdiles M.C., Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)\CXCR4 couple plays multiple roles on haematopoietic progenitors at the border between the old cytokine and new chemokine worlds: survival, cell cycling and trafficking. *Eur Cytokine Netw*, 2004, 15, 177–188.
- Laurence J., Mitra D., Steiner M., Lynch D.H., Siegal F.P., Staiano-Coico L., Apoptotic depletion of CD4<sup>+</sup> T cells in idiopathic CD4<sup>+</sup> T lymphocytopenia. *J Clin Invest*, 1996, 97, 672–680.
- Ma Q., Jones D., Borghesani P.R., Segal R.A., Nagasawa T., Kishimoto T., Bronson R.T., Springer T.A., Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95, 9448–9453.
- Mackay C.R., Moving targets: cell migration inhibitors as new anti-inflammatory therapies. *Nat Immunol*, 2008, 9, 988–998.
- Malaspina A., Moir S., Chaitt D.G., Rehm C.A., Kottlil S., Falloon J., Fauci A.S., Idiopathic CD4<sup>+</sup> T lymphocytopenia is associated with increases in immature/transitional B cells and serum levels of IL-7. *Blood*, 2007, 109, 2086–2088.
- Mc Guire P.J., Cunningham-Rundles C., Ochs H., Diaz G.A., Oligoclonality, impaired class switch and B-cell memory responses in WHIM syndrome. *Clin Immunol*, 2010, 135, 412–421.
- McCormick P.J., Segarra M., Gasperini P., Gulino A.V., Tosato G., Impaired recruitment of Grk6 and beta-Arrestin 2 causes delayed internalization and desensitization of a WHIM syndrome-associated CXCR4 mutant receptor. *PLoS One*, 2009, 4, e8102.
- Moore C.A., Milano S.K., Benovic J.L., Regulation of receptor trafficking by GRKs and arrestins. *Annu Rev Physiol*, 2007, 69, 451–482.
- Nagasawa T., Tachibana K., Kishimoto T., A novel CXC chemokine PBSF/SDF-1 and its receptor CXCR4: their functions in development, hematopoiesis and HIV infection. *Semin Immunol*, 1998, 10, 179–185.
- Netea M.G., Brouwer A.E., Hoogendoorn E.H., Van der Meer J.W., Koolen M., Verweij P.E., Kullberg B.J., Two patients with cryptococcal meningitis and idiopathic CD4 lymphopenia: defective cytokine production and reversal by recombinant interferon-gamma therapy. *Clin Infect Dis*, 2004, 39, e83–87.
- Notarangelo L.D., Badolato R., Leukocyte trafficking in primary immunodeficiencies. *J Leukoc Biol*, 2009, 85, 335–343.
- Onai N., Zhang Y., Yoneyama H., Kitamura T., Ishikawa S., Matsushima K., Impairment of lymphopoiesis and

- myelopoiesis in mice reconstituted with bone marrow-hematopoietic progenitor cells expressing SDF-1-intracrine. *Blood*, 2000, 96, 2074–2080.
- Patrussi L., Baldari C.T., Intracellular mediators of CXCR4-dependent signaling in T cells. *Immunol Lett*, 2008, 115, 75–82.
- Premont R.T., Gainetdinov R.R., Physiological roles of G protein-coupled receptor kinases and arrestins. *Annu Rev Physiol*, 2007, 69, 511–534.
- Proudfoot A.E., Chemokine receptors: multifaceted therapeutic targets. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2, 106–115.
- Pusic I., Dipersio J.F., Update on clinical experience with AMD3100, an SDF-1/CXCL12-CXCR4 inhibitor, in mobilization of hematopoietic stem and progenitor cells. *Curr Opin Hematol*, 2010, 17, 319–326.
- Ratajczak M.Z., Zuba-Surma E., Kucia M., Reza R., Wojakowski W., Ratajczak J., The pleiotropic effects of the SDF-1-CXCR4 axis in organogenesis, regeneration and tumorigenesis. *Leukemia*, 2006, 20, 1915–1924.
- Raz E., Guidance of primordial germ cell migration. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16, 169–173.
- Roger P.M., Bernard-Pomier G., Counillon E., Breittmayer J.P., Bernard A., Dellamonica P., Overexpression of Fas/CD95 and Fas-induced apoptosis in a patient with idiopathic CD4<sup>+</sup> T lymphocytopenia. *Clin Infect Dis*, 1999, 28, 1012–1016.
- Rubin J.B., Chemokine signaling in cancer: one hump or two? *Semin Cancer Biol*, 2009, 19, 116–122.
- Sawada S., Gowrishankar K., Kitamura R., Suzuki M., Suzuki G., Tahara S., Koito A., Disturbed CD4<sup>+</sup> T cell homeostasis and in vitro HIV-1 susceptibility in transgenic mice expressing T cell line-tropic HIV-1 receptors. *J Exp Med*, 1998, 187, 1439–1449.
- Scott-Algara D., Balabanian K., Chakrabarti L.A., Mouthon L., Dromer F., Didier C., Arenzana-Seisdedos F., Lortholary O., Idiopathic CD4<sup>+</sup> T-cell lymphocytopenia is associated with impaired membrane expression of the chemokine receptor CXCR4. *Blood*, 2010, 115, 3708–3717.
- Seligmann M., Aractingi S., Oksenhendler E., Rabian C., Ferchal F., Gonnot G., CD4<sup>+</sup> lymphocytopenia without HIV in patient with cryptococcal disease. *Lancet*, 1991, 337, 57–58.
- Seligmann M., Autran B., Rabian C., Ferchal F., Olive D., Echard M., Oksenhendler E., Profound and possibly primary “idiopathic CD4<sup>+</sup> T lymphocytopenia” in a patient with fungal infections. *Clin Immunol Immunopathol*, 1994, 71, 203–207.
- Siedlar M., Rudzki Z., Strach M., Trzyna E., Pituch-Noworolska A., Blaut-Szlosarczyk A., Bukowska-Strakova K., Lenart M., Grodzicki T., Zembala M., Familial occurrence of warts, hypogammaglobulinemia, infections, and myelokathexis (WHIM) syndrome. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2008, 56, 419–425.
- Smith D.K., Neal J.J., Holmberg S.D., Unexplained opportunistic infections and CD4<sup>+</sup> T-lymphocytopenia without HIV infection. An investigation of cases in the United States. The Centers for Disease Control Idiopathic CD4<sup>+</sup> T-lymphocytopenia Task Force. *N Engl J Med*, 1993, 328, 373–379.
- Spira T.J., Jones B.M., Nicholson J.K., Lal R.B., Rowe T., Mawle A.C., Lauter C.B., Shulman J.A., Monson R.A., Idiopathic CD4<sup>+</sup> T-lymphocytopenia-an analysis of five patients with unexplained opportunistic infections. *N Engl J Med*, 1993, 328, 386–392.
- Takahama Y., Journey through the thymus: stromal guides for T-cell development and selection. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6, 127–135.
- Takaya J., Fujii Y., Higashino H., Taniuchi S., Nakamura M., Kaneko K., A case of WHIM syndrome associated with diabetes and hypothyroidism. *Pediatr Diabetes*, 2009, 10, 484–486.
- Tassone L., Notarangelo L.D., Bonomi V., Savoldi G., Sensi A., Soresina A., Smith C.I., Porta F., Plebani A., Notarangelo L.D., Badolato R., Clinical and genetic diagnosis of warts, hypogammaglobulinemia, infections, and myelokathexis syndrome in 10 patients. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 123, 1170–1173.
- Trojan T., Collins R., Khan D.A., Safety and efficacy of treatment using interleukin-2 in a patient with idiopathic CD4(+) lymphopenia and Mycobacterium avium-intracellulare. *Clin Exp Immunol*, 2009, 156, 440–445.
- Tsutsumi H., Tanaka T., Ohashi N., Masuno H., Tamamura H., Hiramatsu K., Araki T., Ueda S., Oishi S., Fujii N., Therapeutic potential of the chemokine receptor CXCR4 antagonists as multifunctional agents. *Biopolymers*, 2007, 88, 279–289.
- Walker U.A., Warnatz K., Idiopathic CD4 lymphocytopenia. *Curr Opin Rheumatol*, 2006, 18, 389–395.
- Warnatz K., Draeger R., Schlesier M., Peter H.H., Successful IL-2 therapy for relapsing herpes zoster infection in a patient with idiopathic CD4<sup>+</sup> T lymphocytopenia. *Immunobiology*, 2000, 202, 204–211.
- Yu D., Rao S., Tsai L.M., Lee S.K., He Y., Sutcliffe E.L., Srivastava M., Linterman M., Zheng L., Simpson N., Ellyard J.I., Parish I.A., Ma C.S., Li Q.J., Parish C.R., Mackay C.R., Vinuesa C.G., The transcriptional repressor Bcl-6 directs T follicular helper cell lineage commitment. *Immunity*, 2009, 31, 457–468.
- Zonios D.I., Falloon J., Bennett J.E., Shaw P.A., Chaitt D., Baseler M.W., Adelsberger J.W., Metcalf J.A., Polis M.A., Kovacs S.J., Kovacs J.A., Davey R.T., Lane H.C., Masur H., Sereti I., Idiopathic CD4<sup>+</sup> lymphocytopenia: natural history and prognostic factors. *Blood*, 2008, 112, 287–294.
- Zuelzer W.W., “Myelokathexis”-a New Form of Chronic Granulocytopenia. Report of a Case. *N Engl J Med*, 1964, 270, 699–704.