

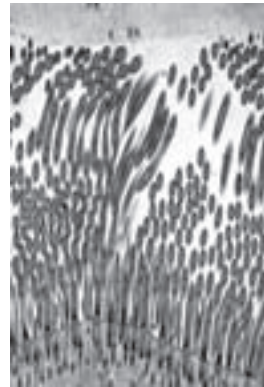
> L'épithélium de surface des voies aériennes proximales assure la protection de la muqueuse respiratoire grâce à différents mécanismes, comme la clairance mucociliaire, la régulation des flux d'ions et d'eau et la sécrétion de molécules de défense. La seconde ligne de protection est assurée par des complexes jonctionnels intercellulaires permettant de préserver la fonction de barrière de l'épithélium. En contact permanent avec l'environnement extérieur, l'épithélium des voies aériennes est cependant fréquemment lésé par les agents toxiques, les bactéries ou les virus inhalés : ces lésions peuvent entraîner la perte de l'intégrité de la barrière épithéliale ou la desquamation partielle ou totale des cellules épithéliales. Afin de restaurer sa fonction, l'épithélium respiratoire doit non seulement réparer les lésions, mais aussi reconstituer et régénérer un épithélium fonctionnel. Ces processus complexes allient des fonctions de migration, prolifération et différenciation cellulaire, régulées par divers facteurs de croissance, cytokines, protéines de la matrice extracellulaire et enzymes protéolytiques. La connaissance des mécanismes cellulaires et moléculaires gouvernant la restauration tissulaire est un prérequis indispensable à l'élaboration de stratégies prorégénératrices de l'épithélium de surface des voies aériennes dans de nombreuses pathologies respiratoires telles que l'asthme, les bronchopneumopathies chroniques obstructives, la mucoviscidose ou les bronchiolites oblitérantes. <

La diversité des cellules de l'épithélium respiratoire bordant les voies aériennes est adaptée à la protection de la muqueuse, grâce à une variété de mécanismes de défense agissant de façon orchestrée pour protéger l'épithélium des facteurs lésionnels. L'épithélium respiratoire de surface, depuis la trachée jusqu'aux bronchioles, est pseudostratifié : toutes les cellules sont ancrées

Article reçu le 20 avril 2005, accepté le 6 juillet 2005.

Réparation et régénération de l'épithélium respiratoire

Christelle Coraux, Rodolphe Hajj, Pierre Lesimple, Edith Puchelle



Inserm UMRS 514, IFR 53, CHU
 Maison Blanche, 45, rue Cognacq-
 Jay, 51092 Reims Cedex, France.
edith.puchelle@univ-reims.fr

à la lame basale, mais seules certaines d'entre elles s'allongent jusqu'à la lumière bronchique. Cet épithélium est principalement constitué de cellules basales, ciliées, mucosécrétrices, neuroendocrines et intermédiaires, avec un réseau de glandes sous-muqueuses contenant des cellules sécrétrices muqueuses et séreuses. L'épithélium respiratoire bordant les bronchioles les plus proximales est pseudostratifié et comprend quelques rares cellules basales, des cellules ciliées et des cellules sécrétrices non ciliées de Clara, tandis que les bronchioles les plus distales sont bordées par un épithélium monostratifié dépourvu de cellules basales.

Épithélium respiratoire des voies aériennes : de la défense à la lésion

La première ligne de défense des voies aériennes est constituée par le liquide de surface périciliaire et le mucus, qui forment un filtre continu à l'interface épithélium/air et servent de barrière physique vis-à-vis des particules nocives inhalées et des bactéries et virus qui s'y trouvent piégés. Les cellules ciliées, qui contribuent à la régulation du contenu en eau et en ions de ce fluide respiratoire, principalement par l'intermédiaire de canaux ioniques situés au niveau de leur pôle apical [1], participent également à l'épuration mucociliaire en évacuant le mucus grâce au battement actif des cils. Le mucus est synthétisé par les cellules sécrétrices de l'épithélium de surface des voies

aériennes et par les cellules sécrétrices glandulaires de la sous-muqueuse bronchique. Outre son rôle de barrière physique, le mucus respiratoire, en raison de sa constitution biochimique, participe à la défense antibactérienne, anti-oxydante et antiprotéasique de l'épithélium des voies aériennes [2]. Les mucines, principales glycoprotéines constituant le mucus, lui confèrent ses propriétés rhéologiques et jouent ainsi un rôle majeur dans l'épuration mucociliaire : l'hétérogénéité de leurs chaînes de glycanes représente un éventail de récepteurs permettant la reconnaissance et l'adhérence bactériennes, empêchant ainsi les bactéries d'atteindre la surface des cellules épithéliales [3]. De plus, le mucus contient de nombreuses molécules protectrices possédant des activités antimicrobiennes : IgA sécrétoires, lactoferrine, lysozyme, bronchotransferrine, phospholipase A2, lactoperoxydase, inhibiteur de leucoprotéase sécrétoire (SLPI) et défensines [4]. Ces dernières peuvent être activées par la matrilysine (MMP-7, métalloprotéinase matricielle 7), une molécule exprimée constitutivement par les cellules épithéliales des voies aériennes [5]. Les collectines, ou protéines associées au surfactant (SP-A, SP-B, SP-D), synthétisées par les cellules épithéliales alvéolaires et les cellules de Clara, assurent une fonction antimicrobienne et sont capables de moduler l'inflammation des voies aériennes. Cette dernière fonction est également assurée par la protéine CC10, produite par les cellules de Clara [6]. Enfin, les cellules épithéliales respiratoires sont capables de se défendre en synthétisant du glutathion en réponse aux stress oxydants induits par l'inhalation de polluants produits par les phagocytes [7] (Figure 1).

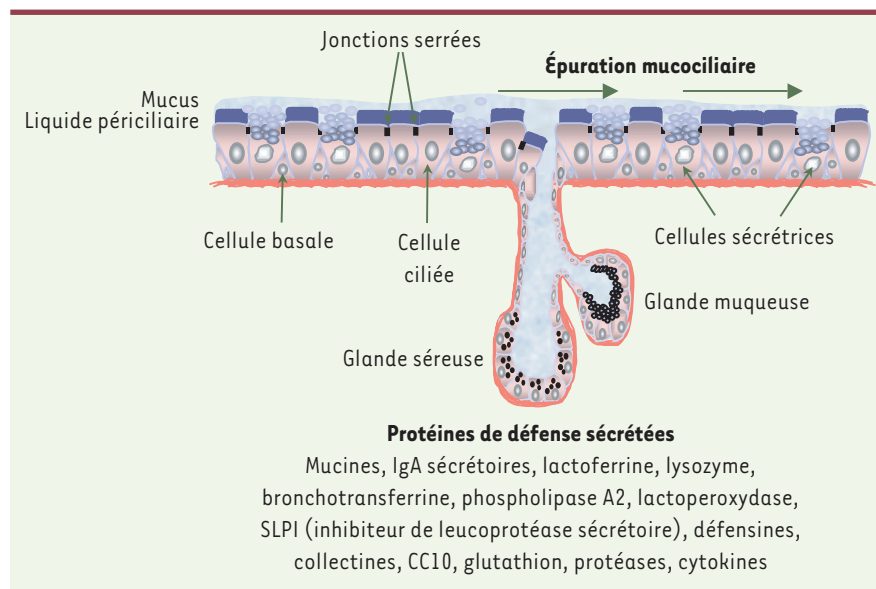


Figure 1. Système de défense de l'épithélium respiratoire des voies aériennes. La première ligne de défense des voies aériennes est constituée par le liquide de surface périciliaire et le mucus produits par les cellules sécrétrices de surface et les glandes sous-muqueuses. Ce mucus et tous les aérocontaminants et pathogènes qui y sont piégés sont évacués des voies aériennes grâce au battement actif des cils (épuration mucociliaire). Le mucus contient en outre de nombreuses molécules de défense produites et sécrétées par les cellules de l'épithélium de surface et par les cellules glandulaires séreuses. La seconde ligne de défense des voies aériennes est assurée par les complexes jonctionnels, notamment les jonctions serrées qui assurent l'imperméabilité de l'épithélium vis-à-vis des agents extérieurs (d'après [4]).

La seconde ligne de défense des voies aériennes est assurée par trois principaux types de complexes jonctionnels intercellulaires responsables de l'étanchéité de l'épithélium : les jonctions serrées, les jonctions intermédiaires et les desmosomes. Les jonctions serrées forment un réseau autour du pôle apicolatéral des cellules épithéliales, rendant ainsi l'épithélium imperméable aux agents extérieurs. Ces complexes sont principalement constitués de protéines telles que les ZO (*zonula occludens* 1 et 2), les claudines et l'occludine, qui interagissent avec le cytosquelette d'actine des cellules. Les jonctions serrées, dont l'assemblage et la fonction sont régulées par des petites GTPase de la famille Rab, en particulier Rab13 [8], permettent également la polarisation de l'épithélium et régulent la perméabilité transépithéliale en sélectionnant le passage de molécules par la voie paracellulaire. La dégradation des jonctions serrées par les facteurs de virulence bactériens peut rendre le pôle basolatéral des cellules accessible aux agents pathogènes [9]. De même, il a été démontré que l'application d'histamine au pôle basolatéral des cellules épithéliales respiratoires entraîne une augmentation de la perméabilité paracellulaire et de la susceptibilité des cellules à l'infection virale, en modulant l'adhérence cellulaire médiée par la cadhérine E [10].

L'intégrité de la barrière épithéliale peut être plus ou moins sévèrement altérée par divers agents toxiques infectieux ou non : les bactéries peuvent augmenter la sécrétion de mucus et diminuer ou désorganiser l'activité des battements ciliaires, altérant ainsi l'épuration mucociliaire [11] ; de leur côté, divers agents non infectieux, comme les oxydants inhalés, peuvent exercer un effet toxique sur l'épithélium respiratoire. La gravité des lésions dépend des caractéristiques physicochimiques des gaz, de leur solubilité et de la durée d'exposition. L'inflammation chronique de la muqueuse respiratoire pourrait également être à l'origine de l'altération de la barrière épithéliale [12]. Quelle que soit la source lésionnelle, la réponse de l'épithélium comprend une succession d'événements allant de la perte de l'imperméabilité de la surface épithéliale et la desquamation partielle des cellules de l'épithélium, avec quelques îlots de cellules basales encore présents, à la dénudation totale de la lame basale [13]. Des phénomènes de remodelage sont également observés : les cellules

ciliées peuvent se transformer en cellules sécrétrices et les cellules sécrétrices en cellules malpighiennes, ce phénomène étant parfaitement représentatif de la plasticité de l'épithélium de surface des voies aériennes [14].

Épithélium respiratoire des voies aériennes : de la lésion à la régénération

Malgré un système de défense performant, l'épithélium respiratoire des voies aériennes, en contact constant avec l'environnement, subit des lésions fréquentes et doit totalement se régénérer pour restaurer ses fonctions de défense. De nombreux modèles d'étude *in vitro* et *in vivo* permettent, à l'heure actuelle, d'appréhender plus ou moins fidèlement ce phénomène.

Modèles *in vitro*

De nombreux modèles de « lésion et réparation » *in vitro* de l'épithélium respiratoire utilisant généralement des cellules épithéliales humaines en culture primaire ou des lignées cellulaires ont été décrits [15, 16]. Après une lésion chimique ou mécanique du tapis cellulaire, les cellules entament la réparation de la lésion par une série d'événements incluant, dans un premier temps, l'étalement et la migration sur la matrice extracellulaire dénudée des cellules bordant la zone lésée. Une prolifération cellulaire est ensuite observée, avec un pic d'activité mitotique qui culmine généralement 48 heures après la lésion et concerne les cellules dans la zone de réparation [17]. Bien que la zone lésée soit réépithélialisée, l'établissement de la jonctionnalité et de l'étanchéité épithéliale n'est restaurée qu'après plusieurs jours [15].

La régénération complète de l'épithélium, avec différenciation de l'ensemble des phénotypes cellulaires, ne peut être obtenue dans des modèles *in vitro* de culture en deux dimensions qu'en conditions de culture à l'interface air-liquide [18], ce qui suggère que les cellules épithéliales sont capables, dans ces conditions de culture, de produire des facteurs susceptibles de favoriser leur différenciation. Des modèles de régénération en trois dimensions permettent également, à partir de cellules épithéliales dissociées, de reconstituer un épithélium respiratoire de surface polarisé et différencié, caractérisé par une sécrétion de chlore stimulant par les agents pharmacologiques qui augmentent la concentration d'AMPc et l'activité intracellulaire du calcium. L'intérêt majeur de ces structures épithéliales (organoïdes) est lié à leur capacité de maintenir leur différenciation pendant plusieurs mois [19].

Récemment, une nouvelle approche permettant d'obtenir un épithélium respiratoire de voies aériennes en culture *in vitro* a été décrite à partir des cellules souches embryonnaires (ES). Ces cellules ES, isolées de la masse cellulaire interne du

blastocyste pré-implantatoire, ont la caractéristique d'être pluripotentes, c'est-à-dire de produire tous les types cellulaires constituant l'organisme, et de proliférer à l'infini lorsqu'elles sont maintenues dans un état indifférencié. Au niveau de l'épithélium respiratoire, il a été décrit que la différenciation des cellules ES murines pouvait être orientée vers l'obtention de pneumocytes de type II [20] et, plus récemment, nous avons démontré que des cellules ES murines étaient capables de se différencier en cellules épithéliales des voies aériennes et de reconstituer un épithélium respiratoire complet et fonctionnel, parfaitement identique à l'épithélium respiratoire trachéal murin et présentant non seulement des cellules de Clara, mais aussi des cellules basales et ciliées [21].

Modèles *in vivo*

De nombreux modèles animaux ont été développés afin d'analyser la réponse de l'épithélium bronchique à différentes sources lésionnelles. *In vivo*, la régénération de l'épithélium trachéal après une lésion mécanique met en jeu une série d'événements : étalement des cellules bordant la lésion, migration des cellules basales pour recouvrir la zone dénudée, rétablissement des jonctions serrées et établissement d'une métaplasie malpighienne, puis prolifération active avec hyperplasie des cellules basales et muqueuses suivie d'une différenciation progressive des cellules muqueuses en cellules préciliées (phénotype cellulaire mixte présentant les caractéristiques de cellules ciliées et de cellules muqueuses). Cette séquence d'événements aboutit à la reconstitution d'un épithélium pseudostratifié cilié dans un délai de quelques jours à quelques semaines, selon l'importance de la lésion [22].

Plus récemment, des modèles chimériques de reconstruction de l'épithélium respiratoire chez des souris xénotolérantes ont été développés. Le modèle de xénogreffe chez la souris SCID a permis de montrer que des cellules de trachée fœtale humaine indifférenciée pouvaient reformer un épithélium respiratoire mature et différencié [23]. Dans le modèle de xénogreffe humanisée « ouverte » chez la souris *nude*, nous avons observé qu'après une étape de dédifférenciation, les cellules épithéliales respiratoires de surface humaines, ensemencées sur une trachée de rat dénudée de son propre épithélium, adhèrent à la lame basale, s'étalent et migrent pour recoloniser la matrice hôte, prolifèrent pour former un épithélium présentant une métaplasie malpighienne, puis adoptent progressivement un phénotype différencié donnant naissance à un épithélium de surface pseudostratifié mature associé à des structures glandulaires [24] (Figure 2). Ce modèle de trachée reconstituée « ouverte », similaire à une trachée humaine, mime la dynamique des événements mis en jeu lors de la régénération : il présente également l'avantage de permettre de recueillir de manière itérative le liquide de sécrétion, d'analyser son contenu et d'étudier la modulation de l'expression des molécules matricielles, des facteurs de croissance et des cytokines au cours de la régénération épithéliale.

Facteurs cellulaires et moléculaires impliqués dans la réparation et la régénération de l'épithélium respiratoire des voies aériennes

Les facteurs cellulaires et moléculaires impliqués dans la régénération de l'épithélium respiratoire sont multiples et interagissent étroite-

ment (Figure 3). Les principaux mécanismes étudiés concernent la réparation de la lésion, plutôt que la régénération qui implique la différenciation et la polarisation de l'épithélium. Au cours de la phase initiale d'étalement et de migration cellulaire, interviennent de façon majeure les composants de la matrice extracellulaire et les récepteurs de type intégrines, les protéines vésiculaires telles que la cellubrérine, ainsi que les métalloprotéinases matricielles (MMP), leurs inhibiteurs, des cytokines pro-inflammatoires et des facteurs de croissance, dont le rôle spécifique dans la redifférenciation et la reconstitution complète de l'épithélium respiratoire a été peu décrit.

Rôle des composants de la matrice extracellulaire (MEC) dans la régénération

Les composants de la MEC jouent un rôle clé dans la réépithélialisation de l'épithélium respiratoire. Au cours de la migration, les cellules épithéliales adhèrent de façon transitoire à une matrice provisoire qui va subir des modifications dynamiques. La fibronectine et les principaux composants de la membrane basale, comme la laminine et le collagène de type IV, vont alors être utilisés comme support matriciel par l'intermédiaire de récepteurs cellulaires tels que les intégrines, situées au pôle basal des cellules épithéliales. La polymérisation active de la fibronectine, déposée à l'interface matrice/cellule au cours de la réparation, favorise la migration cellulaire ; parallèlement, l'intégrine α_5 , l'un de ses récepteurs, est hyperexprimée [25]. L'utilisation d'anticorps a montré que si les intégrines β_1 sont nécessaires à la migration rapide des cellules épithéliales respiratoires sur le collagène IV et sur les laminines 1 et 2, les intégrines α_2 , α_3 et α_6 sont directement impliquées dans la migration cellulaire sur le collagène IV [26]. Les intégrines

ayant fixé leur ligand sont capables d'activer la protéine-tyrosine kinase FAK (*focal adhesion kinase*) qui, par l'intermédiaire d'un complexe formé avec les kinases de la famille Src, les protéines Grb2 et c-Crk, déclenche une réorganisation du cytosquelette d'actine et l'activation de la voie Ras-MAP (*mitogen activated protein*) kinase. De plus, il a récemment été démontré que la cellubrérine, récepteur vésiculaire endosomique d'attachement appartenant à la famille des SNARE (*soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein [SNAP] receptor*), intervient dans la migration cellulaire en modulant l'adhérence cellulaire médiée par les intégrines [27]. Il est à noter que, en plus des protéines de la MEC, le cartilage peut influencer la régénération des cellules épithéliales respiratoires en modulant leur prolifération et leur différenciation. Hicks *et al.* ont ainsi mis en évidence qu'en présence de cartilage, les cellules épithéliales ne s'étaient pas étalées et exprimaient des taux réduits de TGF- α et - β (*transforming growth factor*), molécules régulatrices de la migration et de la prolifération épithéliale [28].

Rôle des métalloprotéinases matricielles dans la régénération

Au cours des phénomènes d'étalement et de migration survenant immédiatement après une lésion de l'épithélium respiratoire, les cellules épithéliales entrent en contact avec les molécules de la MEC au travers de points focaux et de contacts primordiaux transitoires qui permettent leur

ancrage et leur traction à partir de la MEC. À ce stade, interviennent les MMP qui éliminent les molécules partiellement dénaturées et remodelent la matrice nouvellement synthétisée. Au cours de la réépithélialisation de l'épithélium respiratoire lésé, il a été montré que la MMP-9 (gélatinase B) est surexprimée et s'accumule dans les cellules migratoires, tandis que le blocage de la MMP-9 inhibe leur migration [29, 30]. Les stromélysines 1 et 3 (MMP-3 et MMP-11, respectivement) sont exprimées par ces mêmes cellules caractérisées par un phénotype épithélio-mésenchymateux. La stromélysine 3 étant essentiellement produite *in vivo* par les cellules mésenchymateuses, la présence de stromélysine 3 et de vimentine dans les cellules épithéliales respiratoires migratoires réparant une lésion peut être considérée comme le reflet d'une

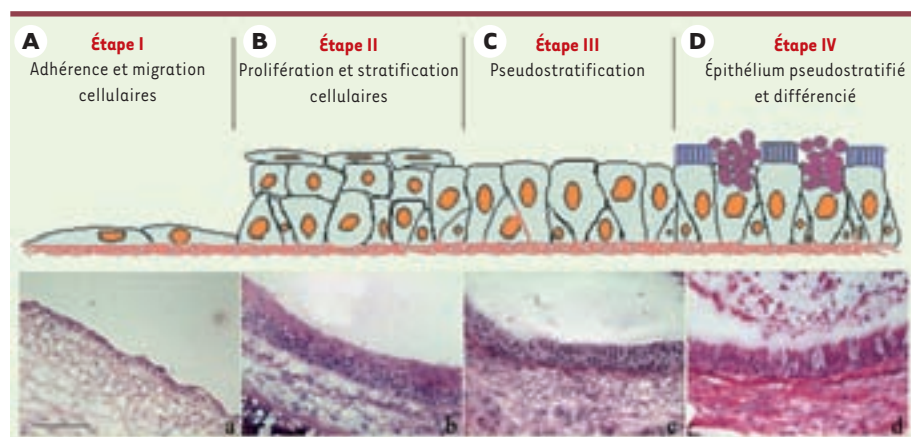


Figure 2. Étapes de la régénération de l'épithélium respiratoire des voies aériennes dans le modèle de xéno-greffe humanisée dans la souris nude. Ce modèle permet de mimer la cinétique des événements aboutissant à la régénération complète de l'épithélium respiratoire. L'étape I (A) est caractérisée par une adhérence et une migration cellulaires : l'épithélium en cours de régénération est constitué d'une monocouche de cellules indifférenciées aplaties. L'étape II (B) est caractérisée par une prolifération cellulaire importante : les cellules forment un épithélium pluristratifié recouvert d'une couche de cellules malpighiennes. Au cours de l'étape III (C), l'épithélium se pseudostratifie progressivement. L'étape IV (D) est caractérisée par une pseudostratification et une différenciation mucociliaire complète de l'épithélium : à ce stade, l'épithélium régénéré est parfaitement similaire à un épithélium recouvrant les voies aériennes humaines. Les sections de xéno-greffes ont été colorées à l'hématoxyline et l'éosine. Barre : 75 μ m (d'après [36]).

transition épithéliomésenchymateuse indispensable à la réépithélialisation de la barrière épithéliale [31]. Une dérégulation de cette transition, dans le cas de cellules cancéreuses, par exemple, peut toutefois entraîner l'invasion des tissus par les cellules pathologiques et la formation de tumeurs secondaires [32]. La matrilysine (MMP-7) peut également influencer la réépithélialisation respiratoire : de fait, la matrilysine, exprimée constitutivement par les cellules de l'épithélium respiratoire des voies aériennes, est surexprimée par les cellules migratoires ; inversement, la réépithélialisation de l'épithélium trachéal est bloquée chez des souris déficientes en matrilysine [33]. C'est en clivant l'ectodomaine de la cadhérine E que la MMP-7 induirait la réparation des lésions épithéliales [34]. La MMP-7 interviendrait donc non seulement dans la défense de l'épithélium respiratoire, mais également dans sa réparation [5]. Quelques rares données suggèrent que les MMP pourraient influencer la régénération de l'épithélium respiratoire, en dehors de la phase de migration cellulaire. En effet, il a été rapporté que les MMP-2 et -9, sécrétées par les cellules du cartilage trachéal, pourraient inhiber l'attachement et la prolifération des cellules épithéliales, entraînant des anomalies de réépithélialisation [35]. Les MMP pourraient également faciliter le relargage de facteurs de croissance comme le VEGF (*vascular endothelial growth factor*), le TGF- β (*transforming growth factor* β) ou le bFGF (*basic fibroblast growth factor*), accumulés au niveau des protéoglycanes, ou intervenir en clivant des récepteurs de facteurs de croissance. Enfin, nous avons récemment démontré que les MMP-7 et -9 modulent la différenciation des cellules épithéliales au cours de la régénération de l'épithélium respiratoire des voies aériennes dans un modèle de xéno greffe humanisée chez la souris *nude*. L'expression et la sécrétion de ces MMP augmentent au cours des différentes étapes de la régénération, ces MMP étant localisées à la surface de l'épithélium parfaitement différencié. L'incubation des cellules épithéliales avec des inhibiteurs de ces MMP au cours de la régénération entraîne des remaniements de l'épithélium qui se traduisent par un défaut de différenciation mucociliaire dans un épithélium présentant une métaplasie malpighienne avec des zones de métaplasie des cellules basales [36].

Rôle des facteurs de croissance dans la régénération de l'épithélium respiratoire

De nombreux facteurs de croissance semblent capables d'accélérer la réparation des lésions de l'épithélium bronchique, principalement en modulant la migration et la prolifération cellulaires. Ces facteurs de croissance sont principalement sécrétés par les cellules présentes dans le mésenchyme, mais peuvent également être produits par les cellules de l'épithélium respiratoire.

L'activation du récepteur EGFR (*epidermal growth factor receptor*) par différents ligands joue un rôle majeur : en effet, l'EGF accélère la réparation des lésions épithéliales en modulant la migration cellulaire, un inhibiteur de la voie EGFR tyrosine kinase entraînant un blocage de la réépithélialisation [26, 37]. De plus, Barrow *et al.* ont suggéré que l'EGF et le PDGF (*platelet-derived growth factor*) favorisent la régénération de l'épithélium respiratoire en stimulant la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales respiratoires [38]. L'HGF (*hepatocyte growth factor*), le KGF (*keratinocyte growth factor*) et les IL-1 α et β régulent la migration cellulaire, mais peuvent également avoir une action mitogénique [39-41].

Il a également été démontré que la lésion de l'épithélium bronchique induit la production de MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) par les cellules épithéliales respiratoires, une protéine qui favorise la réparation de la lésion en se liant à son récepteur CCR2B [42]. Des peptides trifoliés (TFF), en particulier TFF2, peuvent également, *via* la voie d'activation de la protéine kinase C et de ERK (*extracellular signal-related protein kinase*) 1/2, agir en synergie avec l'EGF dans la réparation de l'épithélium respiratoire [43]. Enfin, l'héréguline- α , en raison de sa liaison avec les récepteurs erbB2-4, favorise la réépithélialisation de lésion de l'épithélium respiratoire [44].

Les facteurs de croissance comme l'insuline ou l'HGF interviennent en activant la synthèse de la matrice extracellulaire, comme l'IL-8 en stimulant l'expression des MMP ou comme l'IL-13 en favorisant la sécrétion d'autres facteurs de croissance motogènes et mitogènes. L'augmentation de l'expression de ces facteurs de croissance par les cellules épithéliales respiratoires lésées faciliterait la réépithélialisation par un

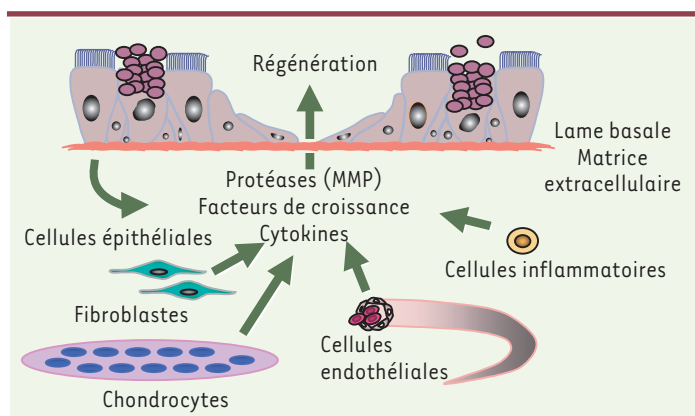


Figure 3. Facteurs cellulaires et moléculaires impliqués dans la réparation et la régénération de l'épithélium respiratoire des voies aériennes. Ces facteurs cellulaires et moléculaires sont multiples et interagissent étroitement. Les différents processus cellulaires mis en jeu au cours de la régénération épithéliale (adhérence, migration, prolifération et différenciation) sont modulés par les composants de la matrice extracellulaire, les métalloprotéinases matricielles (MMP), ainsi que par un certain nombre de cytokines et de facteurs de croissance. L'ensemble de ces protéines régulatrices peut être produit par les cellules épithéliales elles-mêmes, ou par les cellules du mésenchyme sous-jacent : fibroblastes, cellules inflammatoires, endothéliales ou cartilagineuses.

mécanisme de réparation autocrine. Le rôle spécifique des facteurs de croissance dans la différenciation des cellules épithéliales respiratoires et la régénération complète de l'épithélium des voies aériennes est encore mal connu. Les travaux de Shen *et al.* suggèrent que l'HGF pourrait non seulement moduler la migration et la prolifération des cellules épithéliales respiratoires, mais également favoriser la différenciation ciliée et la fonction de sécrétion de chlore, probablement *via* une activation de son récepteur c-met [45]. Par ailleurs, l'EGF, la toxine cholérique et l'IL-13 seraient des inhibiteurs de la différenciation ciliée tandis que l'EGF, comme l'IL-4, l'IL-9, l'IL-13 et l'élastase du neutrophile seraient de puissants inducteurs de la différenciation des cellules muco-sécrétrices [46-48]. On sait également que les défensines du neutrophile, comme l'HNP1-3, peuvent moduler la régénération de l'épithélium respiratoire lésé, non seulement en modulant la migration et la prolifération cellulaire par la voie d'activation MAP-kinase/ERK1/2, mais également en induisant la différenciation des cellules à mucus [49]. Il est maintenant clairement admis que l'acide rétinol est essentiel pour la différenciation mucociliaire [18], qui est optimale en conditions de culture à l'interface air-liquide, la culture en immersion des cellules épithéliales respiratoires induisant une réduction drastique du pourcentage de cellules différenciées.

La différenciation des cellules ciliées et le maintien de cet état de différenciation est particulièrement régulé par le facteur de transcription Foxj1 (également nommé HFH-4), un membre de la famille *winged-helix/forkhead*. Foxj1 est détecté dans les cellules épithéliales avant l'apparition des premiers cils, puis est localisé dans les cellules exprimant la tubuline β 4 [50]. Foxj1 régule la localisation apicale de l'ezrine et la formation de l'axonème ciliaire [51]; la délétion du gène codant Foxj1 entraîne une absence de cils dans l'épithélium respiratoire. Le gène *KPL2* semble également jouer un rôle majeur dans la différenciation des cellules ciliées [52]. À l'inverse, les facteurs de transcription HNF (*hepatocyte nuclear factor*)-3 α et -3 β semblent être impliqués dans la différenciation des cellules sécrétrices en régulant l'expression de gènes codant les protéines exprimées par les cellules de Clara [53], de même que le facteur de transcription Foxa2 dont la délétion entraîne une hyperplasie des cellules mucosécrétrices et une hypersécrétion de mucines.

Conclusions et perspectives

Le remodelage et les lésions de l'épithélium respiratoire rendent celui-ci particulièrement fragile et susceptible aux infections bactériennes, ce qui peut accélérer les lésions pulmonaires et participer à la chronicité de pathologies obstructives bronchiques et pulmonaires. Dans les maladies chroniques, la régénération épithéliale est parfois anormale, avec des phénomènes de remodelage de la muqueuse ayant des conséquences délétères sur la fonction respiratoire. De même, une dérégulation continue du phénomène de réparation de l'épithélium (production anormale de protéines de la matrice extracellulaire, des MMP, des cytokines...) peut entraîner la formation de cancers épithéliaux. Une meilleure connaissance des mécanismes de régénération des épithéliums des voies aériennes devrait permettre d'envisager la possibilité de moduler ce processus de régénération, en l'accéléralant

ou en le modifiant lorsqu'il risque d'entraîner la formation d'un épithélium anormal. Le développement de thérapeutiques prorégénératrices de l'épithélium respiratoire représente un enjeu majeur dans le traitement de pathologies bronchiques comme l'asthme, les bronchopneumopathies chroniques obstructives, la mucoviscidose ou les bronchiolites oblitérantes. \diamond

SUMMARY

Repair and regeneration of the airway epithelium

Despite an efficient defence system, the airway surface epithelium, in permanent contact with the external milieu, is frequently injured by inhaled pollutants, microorganisms and viruses. The response of the airway surface epithelium to an acute injury includes a succession of cellular events varying from the loss of the surface epithelium integrity to partial shedding of the epithelium or even to complete denudation of the basement membrane. The epithelium has then to repair and regenerate to restore its functions, through several mechanisms including basal cell spreading and migration, followed by proliferation and differentiation of epithelial cells. The cellular and molecular factors involved in wound repair and epithelial regeneration are closely interacting and imply extracellular matrix proteins, matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors as well as cytokines and growth factors secreted by airway epithelial and mesenchymal cells. The development of *in vitro* and *in vivo* models of airway epithelium wound repair allowed the study of the spatio-temporal modulation of these factors during the different steps of epithelial repair and regeneration. In this context, several studies have demonstrated that the matrix and secretory environment are markedly involved in these mechanisms and that their dysregulation may induce remodelling of the airway mucosa. A better knowledge of the mechanisms involved in airway epithelium regeneration may pave the way to regenerative therapeutics allowing the reconstitution of a functional airway epithelium in numerous respiratory diseases such as asthma, chronic obstructive pulmonary diseases, cystic fibrosis and bronchiolitis. \diamond

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'Inserm, l'Association Vaincre la mucoviscidose, l'Action thématique concertée « Cellules souches adultes » (Inserm, Ministère de la Recherche, Juvenile Diabete Research Foundation et Association française contre les myopathies) et le Cancéropôle Grand Est pour leur soutien. C. Coraux et R. Hajj sont financés par l'Association Vaincre la mucoviscidose et P. Lesimple par une bourse Inserm/Région Champagne-Ardenne.

RÉFÉRENCES

- Puchelle E, Gaillard D, Ploton D, et al. Differential localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in normal and cystic fibrosis airway epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7 : 485-91.
- Puchelle E, de Bentzmann S, Zahm JM, et al. Defense properties of airway surface liquid. In : Gibson GJ, Gedded DM, Costabel U, Sterk P, Corrin B, eds. *Respiratory medicine*. London : Saunders, 2003 : 194-204.
- Lamblin G, Aubert JP, Perini JM, et al. Human respiratory mucins. *Eur Respir J* 1992; 5 : 247-56.
- Bals R, Weiner DJ, Wilson JM. The innate immune system in cystic fibrosis lung disease. *J Clin Invest* 1999; 103 : 303-7.
- Parks WC, Lopez-Boado YS, Wilson CL. Matrilysin in epithelial repair and defense. *Chest* 2001; 120 : S36-41.
- Mukherjee AB, Kundu GC, Mantile-Selvaggi G, et al. Uteroglobin: a novel cytokine? *Cell Mol Life Sci* 1999; 55 : 771-87.
- Rahman I, MacNee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J* 2000; 16 : 534-54.
- Marzeco AM, Dunia I, Pandjaitan R, et al. The small GTPase Rab13 regulates assembly of functional tight junctions in epithelial cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13 : 1819-31.
- Coraux C, Kileztky C, Polette M, et al. Airway epithelial integrity is protected by a long-acting beta2-adrenergic receptor agonist. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 30 : 605-12.
- Zabner J, Winter M, Excoffon KJ, et al. Histamine alters E-cadherin cell adhesion to increase human airway epithelial permeability. *J Appl Physiol* 2003; 95 : 394-401.
- Wilson R, Pitt T, Taylor G, et al. Pyocyanin and 1-hydroxyphenazine produced by *Pseudomonas aeruginosa* inhibit the beating of human respiratory cilia *in vitro*. *J Clin Invest* 1987; 79 : 221-9.
- Niimi A, Chung KF. Airway inflammation and remodelling changes in patients with chronic cough : do they tell us about the cause of cough? *Pulm Pharmacol Ther* 2004; 17 : 441-6.
- Man SFP, Hulbert WC. Airway repair and adaptation to inhalation injury. In : Loke J, ed. *Pathophysiology and treatment of inhalation injuries. Lung biology in health and disease*. New York : Marcel Dekker, 1988 : 1-47.
- Puchelle E, Zahm JM. Repair processes of the airway epithelium. In : Lenfant C, Dekker M, eds. *Airway and environments : from injury to repair. Series : Lung biology in health and diseases*. New York : Marcel Dekker, 1996 : 1576-82.
- Herard AL, Zahm JM, Pierrot D, et al. Epithelial barrier integrity during *in vitro* wound repair of the airway epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 15 : 624-32.
- Dorscheid DR, Wojcik KR, Yule K, et al. Role of cell surface glycosylation in mediating repair of human airway epithelial cell monolayers. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281 : L982-92.
- Zahm JM, Kaplan H, Herard AL, et al. Cell migration and proliferation during the *in vitro* wound repair of the respiratory epithelium. *Cell Motil Cytoskeleton* 1997; 37 : 33-43.
- Gray TE, Guzman K, Davis CW, et al. Mucociliary differentiation of serially passaged normal human tracheobronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14 : 104-12.
- Castillon N, Hinrasky J, Zahm JM, et al. Polarized expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and associated epithelial proteins during the regeneration of human airway surface epithelium in three-dimensional culture. *Lab Invest* 2002; 82 : 989-98.
- Ali NN, Edgar AJ, Samadikuchaksaraei A, et al. Derivation of type II alveolar epithelial cells from murine embryonic stem cells. *Tissue Eng* 2002; 8 : 541-50.
- Coraux C, Nawrocki-Raby B, Hinrasky J, et al. Embryonic stem cells generate airway epithelial tissue. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 32 : 87-92.
- McDowell EM, Becci PJ, Schurch W, et al. The respiratory epithelium. VII. Epidermoid metaplasia of hamster tracheal epithelium during regeneration following mechanical injury. *J Natl Cancer Inst* 1979; 62 : 995-1008.
- Delplanque A, Coraux C, Tirouvanziam R, et al. Epithelial stem cell-mediated development of the human respiratory mucosa in SCID mice. *J Cell Sci* 2000; 113 : 767-78.
- Dupuit F, Gaillard D, Hinrasky J, et al. Differentiated and functional human airway epithelium regeneration in tracheal xenografts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 278 : L165-76.
- Herard AL, Pierrot D, Hinrasky J, et al. Fibronectin and its alpha 5 beta 1-integrin receptor are involved in the wound-repair process of airway epithelium. *Am J Physiol* 1996; 271 : L726-33.
- White SR, Dorscheid DR, Rabe KF, et al. Role of very late adhesion integrins in mediating repair of human airway epithelial cell monolayers after mechanical injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20 : 787-96.
- Proux-Gillardeaux V, Gavard J, Irinopoulou T, et al. Tetanus neurotoxin-mediated cleavage of cellubrevin impairs epithelial cell migration and integrin-dependent cell adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102 : 6362-7.
- Hicks W Jr, Sigurdson L, Gabalski E, et al. Does cartilage down-regulate growth factor expression in tracheal epithelium? *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125 : 1239-43.
- Buisson AC, Zahm JM, Polette M, et al. Gelatinase B is involved in the *in vitro* wound repair of human respiratory epithelium. *J Cell Physiol* 1996; 166 : 413-26.
- Legrand C, Gilles C, Zahm JM, et al. Airway epithelial cell migration dynamics. MMP-9 role in cell-extracellular matrix remodeling. *J Cell Biol* 1999; 146 : 517-29.
- Buisson AC, Gilles C, Polette M, et al. Wound repair-induced expression of a stromelysins is associated with the acquisition of a mesenchymal phenotype in human respiratory epithelial cells. *Lab Invest* 1996; 74 : 658-69.
- Polette M, Gilles C, de Bentzmann S, et al. Association of fibroblastoid features with the invasive phenotype in human bronchial cancer cell lines. *Clin Exp Metast* 1998; 16 : 105-12.
- Dunsmore SE, Saarialho-Kere UK, Roby JD, et al. Matrilysin expression and function in airway epithelium. *J Clin Invest* 1998; 102 : 1321-31.
- McGuire JK, Li Q, Parks WC. Matrilysin (matrix metalloproteinase-7) mediates E-cadherin ectodomain shedding in injured lung epithelium. *Am J Pathol* 2003; 162 : 1831-43.
- Sigurdson L, Sen T, Hall L 3rd, et al. Possible impedance of luminal reepithelialization by tracheal cartilage metalloproteinases. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129 : 197-200.
- Coraux C, Martinella-Catusce C, Nawrocki-Raby B, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and interleukin-8 during regeneration of human airway epithelium *in vivo*. *J Pathol* 2005; 206 : 160-9.
- Puddicombe SM, Polosa R, Richter A, et al. Involvement of the epidermal growth factor receptor in epithelial repair in asthma. *FASEB J* 2000; 14 : 1362-74.
- Barrow RE, Wang CZ, Evans MJ, et al. Growth factors accelerate epithelial repair in sheep trachea. *Lung* 1993; 171 : 335-44.
- Zahm JM, Debordeaux C, Raby B, et al. Motogenic effect of recombinant HGF on airway epithelial cells during the *in vitro* wound repair of the respiratory epithelium. *J Cell Physiol* 2000; 185 : 447-53.
- Waters CM, Savla U. Keratinocyte growth factor accelerates wound closure in airway epithelium during cyclic mechanical strain. *J Cell Physiol* 1999; 181 : 424-32.
- Hicks W Jr, Hall LA 3rd, Tristram DA, et al. Interleukin-1 facilitates airway epithelial migration in response to injury. *Laryngoscope* 2003; 113 : 243-7.
- Lundien MC, Mohammed KA, Nasreen N, et al. Induction of MCP-1 expression in airway epithelial cells : role of CCR2 receptor in airway epithelial injury. *J Clin Immunol* 2002; 22 : 144-52.
- Chwieralski CE, Schnurra I, Thim L, et al. Epidermal growth factor and trefoil factor family 2 synergistically trigger chemotaxis on BEAS-2B cells via different signaling cascades. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31 : 528-37.
- Vermeer PD, Einwalter LA, Moninger TO, et al. Segregation of receptor and ligand regulates activation of epithelial growth factor receptor. *Nature* 2003; 422 : 322-6.
- Shen BQ, Panos RJ, Hansen-Guzman K, et al. Hepatocyte growth factor stimulates the differentiation of human tracheal epithelia *in vitro*. *Am J Physiol* 1997; 272 : L1115-20.
- Clark AB, Randell SH, Nettesheim P, et al. Regulation of ciliated cell differentiation in cultures of rat tracheal epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 12 : 329-38.
- Burgel PR, Nadel JA. Roles of epidermal growth factor receptor activation in epithelial cell repair and mucin production in airway epithelium. *Thorax* 2004; 59 : 992-6.
- Laoukili J, Perret E, Willems T, et al. IL-13 alters mucociliary differentiation and ciliary beating of human respiratory epithelial cells. *J Clin Invest* 2001; 108 : 1817-24.
- Aarbiou J, Verhoosel RM, Van Wetering S, et al. Neutrophil defensins enhance lung epithelial wound closure and mucin gene expression *in vitro*. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 30 : 193-201.
- Blatt EN, Yan XH, Wuerffel MK, et al. Forkhead transcription factor HFH-4 expression is temporally related to ciliogenesis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 21 : 168-76.
- You Y, Huang T, Richer EJ, et al. Role of f-box factor foxj1 in differentiation of ciliated airway epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286 : L650-7.
- Ostrowski LE, Andrews K, Potdar P, et al. Cloning and characterization of KPL2, a novel gene induced during ciliogenesis of tracheal epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20 : 675-83.
- Bingle CD, Gitlin JD. Identification of hepatocyte nuclear factor-3 binding sites in the Clara cell secretory protein gene. *Biochem J* 1993; 295 : 227-32.

TIRÉS À PART

E. Puchelle