

Les microparticules endothéliales

Un signal d'alarme pour le système immunitaire ?

Fanny Angelot, Estelle Seillès, Philippe Saas, Francine Garnache-Ottou

➤ Les microparticules sont des fragments membranaires libérés par différents types cellulaires dans le compartiment vasculaire lors des processus d'activation ou d'apoptose. Les microparticules plaquettaires sont les plus abondantes dans la circulation sanguine. Cependant, des microparticules circulantes d'origine endothéliale, leucocytaire ou érythrocytaire sont aussi retrouvées. Les microparticules correspondent à des vésicules de taille comprise entre 0,1 et 1 µm. Elles expriment à leur surface les antigènes caractéristiques de la cellule dont elles sont issues, ainsi que la phosphatidylsérine. Longtemps considérées comme de simples débris cellulaires, elles exercent de véritables fonctions biologiques. En effet, de nombreux travaux ont montré que les microparticules sont porteuses d'une activité procoagulante par la présence à leur surface de phosphatidylsérine qui permet l'assemblage de complexes enzymatiques conduisant à la génération de thrombine [1]. Par ailleurs, elles interviennent dans les interactions cellulaires et vont ainsi conférer de nouvelles propriétés à des cellules voisines [1, 2]. Certaines métalloprotéases matricielles identifiées au sein des microparticules issues de cellules endothéliales, tumorales ou plaquettaires sont de puissants stimulateurs de l'angiogenèse [3]. Les microparticules présentent également des propriétés pro-inflammatoires : elles modifient l'expression membranaire des protéines d'adhérence augmentant ainsi le chimiotactisme des polynucléaires.

Microparticules et conditions pathologiques

De nombreuses pathologies sont associées à une détection accrue de microparticules circulantes [4]. De façon générale, une élévation de microparticules circulantes est observée dans les situations prothrombotiques et inflammatoires, telles que les pathologies cardio-vasculaires incluant l'athérosclérose, les pathologies auto-immunes, mais aussi dans la maladie du greffon contre l'hôte après allogreffe de cellules hématopoïétiques, ou encore après transplantation rénale. Cependant, les techniques de quantification des microparticules circulantes ne sont pas encore standardisées et devront être optimisées afin de caractériser les différentes sous-populations de microparticules et mieux comprendre leur implication dans les processus pathologiques [5].

Microparticules et cellules immunitaires

Peu de travaux se sont intéressés à la capacité des microparticules à interagir avec les cellules du système immunitaire. Barbara Köppler et son équipe ont montré que les microparticules issues de cellules tumorales inhibent l'activation des lymphocytes B et induisent la synthèse d'interleukine 10 (IL-10) par les monocytes [6]. Les cellules dendritiques jouent un rôle clé dans l'initiation des réponses immunitaires et les mécanismes concourant à l'activation de ces cellules sont de découverte récente [7]. Les cellules dendritiques sont activées par

Inserm UMR 645, Établissement français du sang Bourgogne Franche-Comté, Université de Franche-Comté, 1, boulevard Alexander Fleming, BP1937, 25020 Besançon, France.
fanny.angelot@edu.univ-fcomte.fr
estelle.seilles@univ-fcomte.fr
philippe.saas@efs.sante.fr
francine.garnache@efs.sante.fr

les constituants des agents pathogènes, regroupés sous le terme de PAMP (*pathogen-associated molecular pattern*). Elles répondent aussi à des signaux endogènes libérés par notre organisme au cours de stress ou d'agression. Par analogie au PAMP, ces signaux ont été appelés DAMP (*damage-associated molecular pattern*) ou encore alarmines [8]. Ces signaux « danger » sont reconnus par une famille de récepteurs, les PRR (*pattern recognition receptors*) exprimés par les différentes populations de cellules dendritiques. Ainsi, les cellules dendritiques plasmacytoïdes sécrètent de l'IFN(interféron)-α après stimulation de PRR endosomiques (TLR7/TLR9, *Toll-like receptor*) par les acides nucléiques viraux [9]. L'implication des cellules dendritiques plasmacytoïdes commence à être suspectée dans la physiopathologie de maladies inflammatoires comme le psoriasis et le lupus systémique [10], où l'on détecte un nombre élevé de microparticules endothéliales circulantes sont augmentées. Les microparticules endothéliales pourraient représenter une nouvelle alarmine à l'origine de l'activation inappropriée des cellules dendritiques plasmacytoïdes (*Figure 1*). Afin d'explorer cette hypothèse, nous avons montré la capacité des microparticules générées à partir de lignées cellulaires endothéliales à entraîner la maturation phénotypique des cellules dendritiques plasmacytoïdes [11]. Ces cellules ainsi activées sécrètent des cytokines inflammatoires (IL-6 et IL-8) et induisent la prolifération des lymphocytes T CD4⁺ naïfs et leur



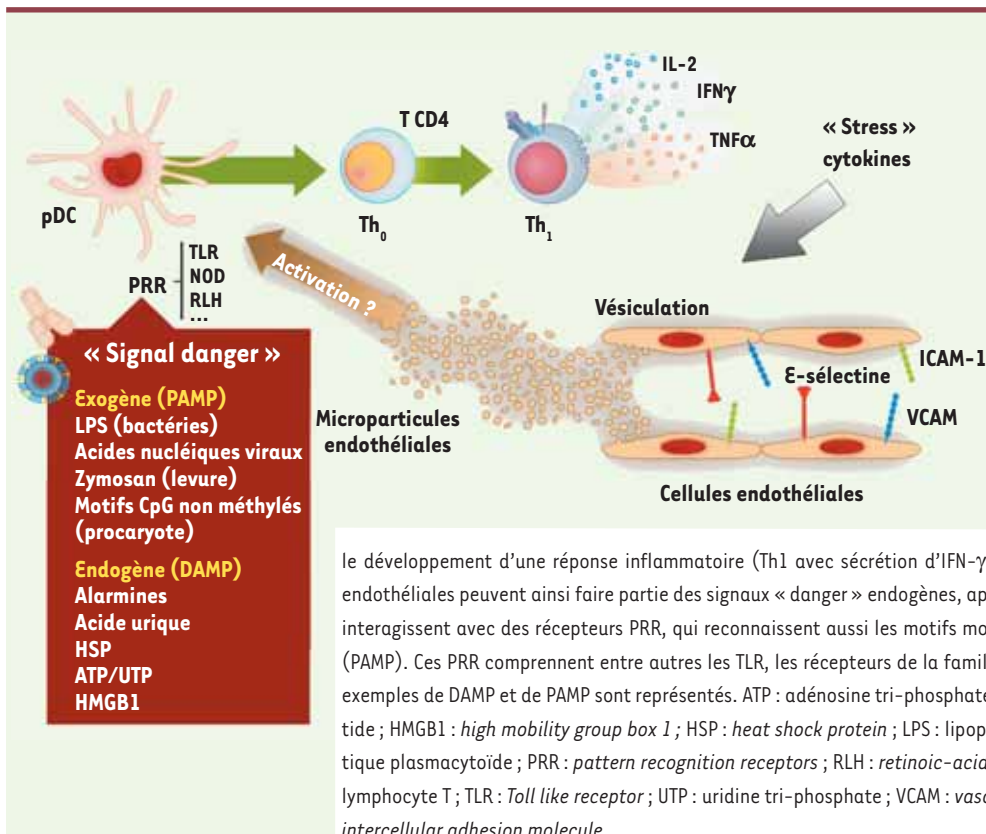


Figure 1. Les microparticules endothéliales comme signaux de dangers endogènes à l'origine de l'activation des cellules dendritiques plasmacytoïdes. Dans des conditions d'inflammation ou de stress excessif, l'endothélium vasculaire libère de fortes quantités de microparticules endothéliales pouvant activer les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC). Ces cellules, une fois activées, vont à leur tour stimuler les lymphocytes T CD4⁺ naïfs favorisant

polarisation vers un profil cytokinique de type Th1 (lymphocyte T auxiliaire) (Figure 1). Cet effet semble spécifique des microparticules endothéliales puisque des microparticules d'origine plaquettaire ou lymphocytaire n'ont pas ces capacités d'activation. Par ailleurs, les microparticules endothéliales n'activent pas les cellules dendritiques conventionnelles. Cette nouvelle voie d'activation des cellules dendritiques plasmacytoïdes pourrait être impliquée dans des situations inflammatoires associées à une production accrue de microparticules endothéliales.

Contrôle de la libération de microparticules : une approche envisageable ?

Les microparticules pourraient être la cible de stratégies pharmacologiques visant à moduler et contrôler leur libération afin de limiter l'activation inappropriée des cellules dendritiques plasmacytoïdes. Des équipes tentent

actuellement de déterminer les processus intracellulaires à l'origine de la libération de microparticules [12]. Le TNF- α (*tumor necrosis factor*), un puissant inducteur de la libération de microparticules endothéliales [1], pourrait être contrôlé par les biothérapies anti-TNF- α . La mise en place d'études de suivi biologique chez des patients traités par ces biothérapies devrait permettre d'évaluer l'impact de cette modulation sur les microparticules circulantes. En parallèle, une meilleure connaissance des mécanismes par lesquels les microparticules endothéliales interagissent avec les cellules dendritiques plasmacytoïdes est nécessaire avant d'envisager une modulation thérapeutique. \diamond

Endothelial microparticles, an alarmines?

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Romain Bedel et Fabien Pelletier pour la Figure 1, et Claire Latruffe pour sa relecture.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Doeuvre L, Angles-Cano E. Des microparticules cellulaires dévoilent leur fonction fibrinolytique et protéolytique. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 37-44.
2. Martinez MC, Larbret F, Zobairi F, et al. Transfer of differentiation signal by membrane microvesicles harboring hedgehog morphogens. *Blood* 2006 ; 108 : 3012-20.
3. Lacroix R, Sabatier F, Mialhe A, et al. Activation of plasminogen into plasmin at the surface of endothelial microparticles: a mechanism that modulates angiogenic properties of endothelial progenitor cells *in vitro*. *Blood* 2007 ; 110 : 2432-9.
4. Chironi GN, Boulanger CM, Simon A, et al. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res* 2009 ; 335 : 143-51.
5. Shet AS. Characterizing blood microparticles: technical aspects and challenges. *Vasc Health Risk Manag* 2008 ; 4 : 769-74.
6. Köppler B, Cohen C, Schlondorff D, et al. Differential mechanisms of microparticle transfer to B cells and monocytes: anti-inflammatory properties of microparticles. *Eur J Immunol* 2006 ; 36 : 648-60.
7. Maisnier-Patin K, Crabe S, Breton G, et al. Les cellules dendritiques transfectées avec de l'ARN messenger : une approche prometteuse en immunothérapie. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 279-84.



8. Kono H, Rock KL. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol* 2008 ; 8 : 279-89.
9. Gilliet M, Cao W, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells: sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol* 2008 ; 8 : 594-606.
10. Banchereau J, Pascual V. Type I interferon in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. *Immunity* 2006 ; 25 : 383-92.
11. Angelot F, Seilles E, Bichle S, et al. Endothelial cell-derived microparticles induce plasmacytoid dendritic cell maturation: potential implications in inflammatory diseases. *Haematologica* 2009 ; 94 : 1502-12.
12. Simoncini S, Njock MS, Robert S, et al. TRAIL/Apo2L mediates the release of procoagulant endothelial microparticles induced by thrombin in vitro: a potential mechanism linking inflammation and coagulation. *Circ Res* 2009 ; 104 : 943-51.

NOUVELLE

Clathrine CHC22, trafic intracellulaire de GLUT4 et diabète de type 2

Stéphane Vassilopoulos, Christopher Esk, Sachiko Hoshino, Frances M. Brodsky

Department of bioengineering and therapeutic sciences, University of California, School of Pharmacy, San Francisco (UCSF), 513 Parnassus avenue, HSW 1526-1528, Box 0552 University of California, San Francisco CA 94143-0552, États-Unis.
stephane.vassilopoulos@upmc.fr

> Chez l'homme, le tissu musculaire et le tissu adipeux sont majoritairement responsables de l'absorption du glucose sanguin en réponse à l'insuline [1]. Les cellules qui composent ces tissus possèdent, en plus des transporteurs ubiquitaires GLUT1 [14], un grand nombre de transporteurs, les GLUT4, qui se caractérisent principalement par leur localisation dans des compartiments intracellulaires. L'insuline qui est sécrétée par les îlots pancréatiques après un repas induit une augmentation de GLUT4 à la surface des cellules ; ce qui permet la diminution des taux sanguins de glucose. Chez les patients atteints de diabète de type 2, l'insuline n'est plus capable d'induire la capture du glucose sanguin par les cellules musculaires [2, 3]. Notre équipe a identifié une protéine qui joue un rôle important dans le trafic membranaire de GLUT4 chez l'homme et dont l'expression est perturbée chez les patients atteints de diabète de type 2.

Notion de vésicules de stockage de GLUT4

Les mécanismes qui permettent la présence des transporteurs du glucose à la surface de la cellule sont complexes et ont fait l'objet de nombreuses études dans les vingt dernières années.

En conditions basales, c'est-à-dire en l'absence d'insuline, seuls les transporteurs GLUT1, présents sur la membrane des cellules musculaires et adipeuses, assurent l'entrée du glucose nécessaire au métabolisme cellulaire. GLUT4 est lui séquestré dans un compartiment intracellulaire, limitant l'entrée du glucose dans la cellule. L'augmentation de la concentration d'insuline va spécifiquement déclencher la translocation des vésicules et l'insertion des transporteurs du glucose à la surface cellulaire afin de faciliter l'absorption du glucose. Dans un second temps, GLUT4 est internalisé par endocytose puis se retrouve au niveau des endosomes (Figure 1) [4]. Contrairement à la majorité des protéines de surface qui sont tout de suite recyclées vers la membrane plasmique, GLUT4 est alors adressé vers une population de vésicules de stockage en attendant de migrer vers la surface de la cellule lors d'une nouvelle stimulation par l'insuline.

Deux isoformes de la chaîne lourde de la clathrine chez l'humain

La clathrine est une protéine constituant un manteau (de l'anglais *coat*) autour des vésicules impliquées dans le transport de protéines entre la mem-

brane plasmique et des compartiments intracellulaires comme le réseau trans-golgien (*trans-golgi network* ou TGN) et les endosomes. Elle facilite de façon sélective la formation de ces vésicules. Il existe deux isoformes de la chaîne lourde (HC pour *heavy chain*) de la clathrine chez l'homme, chacune portant le nom du chromosome humain qui contient son gène. CHC17 est l'isoforme ubiquitairement exprimée ; elle participe à l'endocytose, à la biogenèse des lysosomes ainsi qu'au trafic dans la voie sécrétoire à partir du TGN dans tous les types cellulaires. Notre travail a porté sur le rôle de CHC22, une nouvelle isoforme de la chaîne lourde de la clathrine, dans le transport de GLUT4. Chez l'homme, CHC22, codée par le chromosome 22, est fortement exprimée dans le muscle squelettique [5]. Cependant, chez la souris, le gène codant pour CHC22 est un pseudogène [6]. Nous avons montré que, contrairement à CHC17 qui, dans les cellules musculaires, intervient dans l'endocytose de GLUT4 en s'associant à la protéine adaptatrice AP2, CHC22 est associée à des vésicules qui contiennent des protéines importantes pour le tri de GLUT4 à partir des endosomes, du TGN et vers les vésicules de stockage (Figure 1). Ces protéines, les protéines