Le leucotriène B₄

Un lipide au cœur de l'inflammation

Philippe V. Afonso^{1,2,3}, Carole A. Parent¹

> Les polynucléaires neutrophiles sont les leucocytes les plus abondants du sang : ils représentent environ 60 % des globules blancs en périphérie. Ces polymorphonucléaires sont les premières cellules recrutées au niveau d'un site inflammatoire, et ils jouent un rôle central dans la réponse inflammatoire aiguë. Ainsi, la neutropénie est souvent associée à une immunodéficience sévère, avec apparition d'infections opportunistes. La fonction immunitaire des neutrophiles est double : d'une part, ils participent directement à l'élimination des pathogènes – par phagocytose ou en les piégeant dans des filets chromatinien (appelés NET pour *neutrophil extracellular trap*) [11] (→) –, d'autre part, ils amplifient l'inflammation en sécrétant des facteurs chimioattractants, ce qui a pour effet le recrutement accru de leucocytes [1, 2].

Le recrutement des neutrophiles au site inflammatoire est un phénomène complexe [3]. Dans le cas de l'arthrite, une cascade de chimioattractants est à l'origine de la forte accumulation de cellules dans l'articulation. Initialement, les neutrophiles sont recrutés grâce à un facteur d'origine lipidique, le leucotriène B₄ (LTB₄) sécrété par les cellules synoviales, puis les cytokines et chimiokines sécrétées localement par les leucocytes prennent le pas et deviennent les chimioattractants majeurs.

L'accumulation des neutrophiles à un site inflammatoire peut être décomposée en deux événements distincts : (1) l'interaction des neutrophiles avec

l'endothélium vasculaire activé qui permet aux neutrophiles de quitter le vaisseau et de pénétrer le tissu cible (c'est le processus d'extravasation), et, (2) la migration des neutrophiles au sein de ce tissu en direction du cœur de l'inflammation [1]. Jusqu'à présent, la plupart des études *in vivo* ne permettaient pas d'étudier ces phénomènes séparément. En collaboration avec le laboratoire de Ron Germain (NIH), nous avons souhaité étudier l'importance relative des chimioattractants, spécifiquement dans la migration des neutrophiles au site inflammatoire [4].

Afin de contourner le problème de l'extravasation, nous nous sommes inspirés d'un protocole développé par le laboratoire de Wolfgang Weninger (Université de Sydney, Australie) qui consiste à injecter dans le derme de l'oreille de souris des neutrophiles primaires (isolés de la moelle osseuse et marqués par une étiquette fluorescente avant leur injection) et de suivre leur migration jusqu'au site de la lésion tissulaire (induite par un laser) par microscopie intravital biphotonique [5]. La difficulté majeure d'une telle analyse est que le derme est un tissu complexe et hétérogène, fait de fibres de collagène qui peuvent bloquer localement la migration de certaines cellules. Nous avons donc choisi d'injecter simultanément des neutrophiles contrôles (issus de souris sauvages) avec les neutrophiles d'intérêt (issus de souris mutantes et qui n'expriment pas les récepteurs aux chimioattractants) : ainsi nous avons un contrôle interne pour chaque expérience.

¹ Laboratory of cellular and molecular biology, Center for cancer research, National cancer institute, National institutes of health, Bethesda, 37 Convent Drive, MSC 4256, MD 20892, Bethesda, États-Unis ;
² Unité d'épidémiologie et physiopathologie des virus oncogènes, département de virologie, Institut Pasteur, 25-28, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France ;
³ CNRS, UMR3569. Institut Pasteur, 25-28, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.
parentc@mail.nih.gov

Chimioattractants et premières étapes de l'inflammation

Nous avons étudié avec cette approche expérimentale la capacité migratoire en direction d'une lésion tissulaire de neutrophiles primaires issus de souris dont les gènes codant des récepteurs aux chimioattractants ont été invalidés [4]. Étonnamment, la plupart des neutrophiles mutants se comportaient de façon identique aux neutrophiles contrôles : leur vitesse et la direction de leur migration étaient comparables. Ceci suggère une forte redondance *in vivo* de ces chimioattractants dans le mécanisme d'inflammation.

Parmi la dizaine de mutants testés, seuls les neutrophiles dépourvus de récepteur au LTB₄ montraient un déficit de recrutement. Le LTB₄ est un chimioattractant d'origine lipidique, dérivé de l'acide arachidonique, dont le rôle dans le déclenchement des processus inflammatoires avait été mis en évidence antérieurement [6]. Dans notre système, alors que les neutrophiles mutants situés à proximité immédiate du site de la lésion migraient normalement, les neutrophiles distants restaient insensibles. Ainsi le LTB₄ joue un rôle important et non redondant dans le recrutement des neutrophiles aux sites inflammatoires. Nous avons également montré que, dans ce contexte, le LTB₄ essentiel au chimiotactisme efficace des neutrophiles était sécrété par les neutrophiles, en injectant des neutrophiles de souris sauvages chez une souris incapable de synthétiser du LTB₄ (mutant *Alox5^{-/-}*) (Figure 1).

Figure 1. Protocole expérimental et étapes de migration de neutrophiles. A. Les neutrophiles sont injectés dans le derme de l'oreille de souris albino et y demeurent non activés. B. En réponse à une lésion tissulaire induite par un laser, des signaux de dangers sont libérés par les cellules endommagées (zone rouge). Les neutro-

philes à proximité immédiate de la lésion se polarisent et migrent en direction du tissu lésé. Une fois au contact du site d'agrégation, certains neutrophiles meurent et libèrent d'autres facteurs de danger (zone gris-bleu), ce qui amplifie localement le recrutement de neutrophiles. C. Enfin, les neutrophiles au cours de la migration sécrètent du LTB_4 , un chimioattractant d'origine lipidique (en brun). D. Le LTB_4 diffuse et forme un gradient au sein du tissu, qui conduit à un recrutement efficace de neutrophiles situés à distance du site d'agrégation. E. Le site d'agrégation (pauvre en collagène) est composé d'une accumulation de neutrophiles dont le contact est maintenu grâce à l'activation d'intégrines. Le LTB_4 serait aussi important pour initier l'activation d'intégrines (© Cette figure a été dessinée par le docteur Ritankar Majumdar).

L'ensemble de ces résultats confirme *in vivo* un phénomène que nous avons décrit *in vitro* : le LTB_4 est une molécule que l'on peut qualifier de « relais de signalisation » [7]. Au cours du chimiotactisme le long d'un gradient d'un chimioattractant dit primaire (par exemple un peptide bactérien), les neutrophiles sécrètent du LTB_4 , qui diffuse

et forme un gradient secondaire, parallèle au gradient primaire ; ce gradient de LTB_4 permet le recrutement accru et efficace de neutrophiles. Ceci est d'autant plus important que le gradient primaire est faible (soit parce que le signal initial est plus faible à la source – taille de lésion petite –, soit parce que la source du signal chimioattractant est

éloignée). Ce concept de relais de signalisation avait initialement été décrit par notre laboratoire lors d'études de la migration collective de l'amibe *Dictyostelium discoideum* [8, 9]. Notons que la nature exacte du chimioattractant primaire *in vivo*, c'est-à-dire du signal de danger libéré par la nécrose cellulaire associée dans nos expériences *via* le laser, demeure inconnue.

Chimioattractants et maintien de l'inflammation

Les intégrines sont des récepteurs au collagène (entre autres ligands) importants pour l'adhérence des cellules à une surface (cellulaire ou non). L'importance des intégrines dans la migration des leucocytes dans un environnement tridimensionnel (3D), tel qu'une matrice extracellulaire riche en collagène, est toujours sujet de débat. Récemment, des études effectuées dans le laboratoire de Michael Sixt (*Institute of Science and Technology*, Vienne, Autriche) ont démontré que les cellules dendritiques utilisent les intégrines pour migrer dans tout environnement, mais peuvent compenser l'absence d'intégrines dans un milieu tridimensionnel (3D) mais non bidimensionnel [10]. Dans notre modèle *in vivo*, nous avons aussi observé que les neutrophiles peuvent migrer normalement dans la matrice extracellulaire en l'absence d'intégrines. Cependant ces neutrophiles dépourvus d'intégrines fonctionnelles sont incapables d'entrer dans le site d'agrégation proprement dit : à ce niveau, le collagène est rare et les cellules migrent en se déplaçant à la surface des cellules voisines. Nous confirmons donc que les intégrines ne sont pas essentielles à la migration cellulaire en milieu 3D mais qu'elles le sont pour maintenir les interactions cellule-cellule en l'absence de collagène.

Nous avons également étudié le rôle des chimioattractants durant la seconde phase de migration, lorsque les neutrophiles s'accumulent et forment un agrégat qui sera éventuellement dégagé par

les macrophages. Nous avons constaté que les neutrophiles mutants pour certains récepteurs de chimioattractants agrègent moins efficacement que les neutrophiles contrôles : ces derniers pénètrent l'agrégat plus efficacement et tendent à en exclure les neutrophiles mutants. Ceci suggère que le maintien de l'agrégation est un phénomène actif, nécessitant la présence continue de chimioattractants, dont le LTB_4 , au cœur de l'inflammation. Nous proposons que ces chimioattractants pourraient faciliter l'activation des intégrines et stabiliser l'agrégat cellulaire (Figure 1).

Un modèle intégré de la migration des neutrophiles

Nous avons ainsi voulu décrire l'ensemble des molécules nécessaires à la migration tissulaire des neutrophiles après leur extravasation *in vivo* et à leur agrégation au niveau du site inflammatoire. Nous avons en particulier démontré que le LTB_4 y joue un rôle particulier et non redondant. D'une part, ce dérivé lipidique sécrété par les neutrophiles au cours de la migration amplifie le recru-

tement de cellules par un mécanisme appelé relais de signalisation (Figure 1). Notons que la migration collective médiée par un relais de signalisation semble être un mécanisme général de la migration collective d'une population cellulaire ; ce mécanisme a été initialement décrit et étudié chez *Dictyostelium discoideum* [8, 9], qui reste par conséquent un modèle de choix. D'autre part, le LTB_4 présent au cœur de l'agrégat inflammatoire et sécrété par les neutrophiles présents stabilise l'agrégat et maintient les neutrophiles au site d'inflammation. Ainsi un ensemble de neutrophiles ne doit pas être considéré comme une somme de cellules prises séparément et répondant à un microenvironnement figé, mais bien comme une population cellulaire capable de modifier le microenvironnement afin de le rendre plus propice à une réponse immunitaire efficace. ♦

Leukotriène B_4 : a lipid at the heart of inflammation

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, et al. Neutrophil function : from mechanisms to disease. *Annu Rev Immunol* 2012 ; 30 : 459-89.
2. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2013 ; 13 : 159-75.
3. Sadik CD, Luster AD. Lipid-cytokine-chemokine cascades orchestrate leukocyte recruitment in inflammation. *J Leukoc Biol* 2012 ; 91 : 207-15.
4. Lämmermann T, Afonso PV, Angermann BR, et al. Neutrophil swarms require LTB_4 and integrins at sites of cell death *in vivo*. *Nature* 2013 ; 498 : 371-5.
5. Ng LG, Qin JS, Roediger B, et al. Visualizing the neutrophil response to sterile tissue injury in mouse dermis reveals a three-phase cascade of events. *J Invest Dermatol* 2011 ; 131 : 2058-68.
6. Di Gennaro A, Haegström JZ. The leukotrienes : immune-modulating lipid mediators of disease. *Adv Immunol* 2012 ; 116 : 51-92.
7. Afonso PV, Janka-Junttila M, Lee YJ, et al. LTB_4 is a signal-relay molecule during neutrophil chemotaxis. *Dev Cell* 2012 ; 22 : 1079-91.
8. Kriebel PW, Barr VA, Parent CA. Adenylate cyclase localization regulates streaming during chemotaxis. *Cell* 2003 ; 112 : 549-60.
9. Kriebel PW, Barr VA, Richa EC, et al. Collective cell migration requires vesicular trafficking for chemoattractant delivery at the trailing edge. *J Cell Biol* 2008 ; 183 : 949-61.
10. Lämmermann T, Bader BL, Monkley SJ, et al. Rapid leukocyte migration by integrin-independent flowing and squeezing. *Nature* 2008 ; 453 : 51-5.
11. Gougerot-Pocidalo MA, El Benna J, Dang PM, Elbim C. Quand les polynucléaires neutrophiles attrapent les agents pathogènes dans leurs filets. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 464-5.

LES ANCÊTRES

Sous la direction de

S. Dreyfus-Asséo, G. Tarabout, D. Cupa et G. Chaudoye

Prix : 17 €

Croisant leurs regards sur la question des Ancêtres, des psychanalystes et des anthropologues ont choisi de mener une réflexion commune autour de la transmission, de la filiation, de l'ancestralité et des processus d'ancestralisation.

Représentant d'une histoire individuelle, l'Ancêtre s'inscrit aussi dans une histoire collective, en tant que repère dans la filiation et contenant de la différence des générations. Point d'ancrage des processus d'identification, ni ombre, ni fantôme, l'Ancêtre se distingue du mort. Mort « revitalisé », il signe la capacité du sujet à investir sa propre histoire, à se l'approprier et à la partager. Loin d'être neutre et uniforme, l'ancestralité est une notion qui, de par les différences entre les sociétés, ouvre à une diversification des représentations, des croyances et des rituels. Idéal ou force de vie, relique ou fabriqué, l'Ancêtre ne peut se résumer à la question des origines et n'est pas seulement un héritage : il est le maillon d'un système dans lequel s'inscrit l'humain, il est ce « nouveau » issu d'un processus d'ancestralisation.

Titre : **Les Ancêtres**
Auteurs : Collectif
Collection : Pluriels de la Psyché
ISBN : 978-2-8425-4165-1

Ouvrage disponible sur :
www.edition-sciences.com

edp sciences