



ticules vaccinales puissent se substituer aux vaccins contre le VHB, avec l'avantage de pouvoir aussi protéger contre le VHC. Ces particules présentent également l'avantage de pouvoir être produites selon les procédures établies pour le vaccin contre le VHB, ce qui réduirait les délais et coûts de développement industriel. Tous ces résultats obtenus en modèle animal nécessitent d'être confirmés chez l'homme, mais indiquent néanmoins que la mise au point d'un vaccin « bivalent », qui protégerait de l'infection par ces deux agents majeurs des hépatites virales humaines, représente une éventualité crédible. ♦

### Towards a bivalent prophylactic vaccine against hepatitis B and C viruses?

#### REMERCIEMENTS

Nos travaux sur le développement d'un vaccin bivalent VHB-VHC ont été soutenus par l'Institut Mérieux, le programme FEDER (Fonds euro-

péens de développement régional) et le Cluster de recherche en infectiologie de la région centre. Ils sont soutenus actuellement par l'ANR (grant Emergence Hepatibivax) et l'ANRS.

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Sarrazin C, Hézode C, Zeuzem S, Pawlotsky JM. Antiviral strategies in hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2012 ; 56 : 588-100.
2. Edlin BR. Perspective: test and treat this silent killer. *Nature* 2011 ; 474 : S18-9.
3. Rehermann B. Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence. *J Clin Invest* 2009 ; 119 : 1745-54.
4. Houghton M. Prospects for prophylactic and therapeutic vaccines against the hepatitis C viruses. *Immunol Rev* 2011 ; 239 : 99-108.
5. Dahari H, Feinstone SM, Major ME. Meta-analysis of hepatitis C virus vaccine efficacy in chimpanzees indicates an importance for structural proteins. *Gastroenterology* 2010 ; 139 : 965-74.
6. Stamataki Z, Coates S, Abrignani S, Houghton M, McKeating JA. Immunization of human volunteers with hepatitis C virus envelope glycoproteins elicits antibodies that cross-neutralize heterologous virus strains. *J Infect Dis* 2011 ; 204 : 811-3.
7. Barnes E, Folgori A, Capone S, et al. Novel adenovirus-based vaccines induce broad and sustained T cell responses to HCV in man. *Sci Transl Med* 2012 ; 4 : 115ra1.
8. Sominskaya I, Alekseeva E, Skrastina D, et al. Signal sequences modulate the immunogenic performance of human hepatitis C virus E2 gene. *Mol Immunol* 2006 ; 43 : 1941-52.
9. Garrone P, Fluckiger AC, Mangeot PE, et al. A prime-boost strategy using virus-like particles pseudotyped for HCV proteins triggers broadly neutralizing antibodies in macaques. *Sci Transl Med* 2011 ; 3 : 94ra71.
10. Legrand-Abravanel F, Izopet J. Culture du virus de l'hépatite C, enfin ! *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 588-9.
11. Akazawa D, Moriyama M, Yokokawa H, et al. Neutralizing antibodies induced by cell culture-derived hepatitis C virus protect against infection in mice. *Gastroenterology* 2013 ; 145 : 447-55.
12. Phogat S, Svehla K, Tang M, et al. Analysis of the human immunodeficiency virus type 1 gp41 membrane proximal external region arrayed on hepatitis B surface antigen particles. *Virology* 2008 ; 373 : 72-84.
13. Beaumont E, Patient R, Hourieux C, et al. Chimeric hepatitis B virus/hepatitis C virus envelope proteins elicit broadly neutralizing antibodies and constitute a potential bivalent prophylactic vaccine. *Hepatology* 2013 ; 57 : 1303-13.
14. Pol S. Virus de l'hépatite C : 25 ans, la fin de l'histoire ? *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 998-1003.

## NOUVELLE

### Quand un régulateur énergétique contrôle la résolution de l'inflammation

#### L'AMPK induit le changement de phénotype des macrophages au cours de la régénération musculaire

Marine Théret, Bénédicte Chazaud, Rémi Mounier

Inserm, U1016, Institut Cochin, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France ; CNRS, UMR8104, 75014 Paris, France ; Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, 75014 Paris, France.

[remi.mounier@inserm.fr](mailto:remi.mounier@inserm.fr)  
[benedicte.chazaud@inserm.fr](mailto:benedicte.chazaud@inserm.fr)

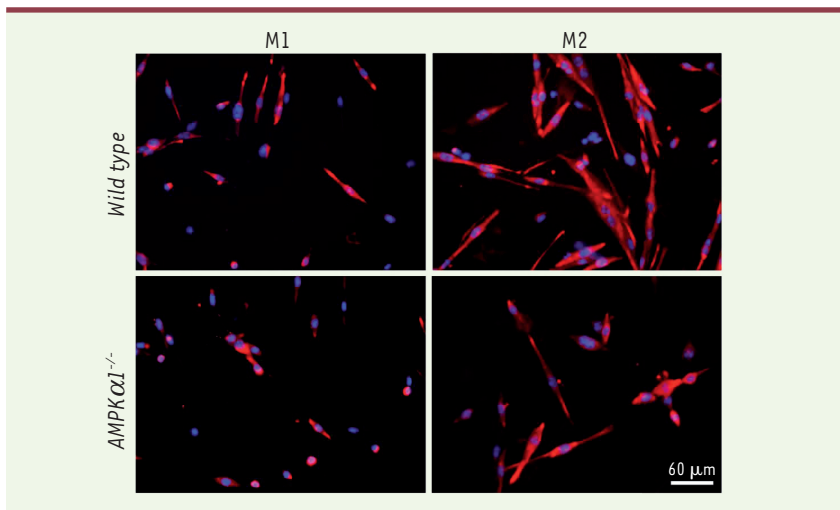
> La régénération musculaire est un processus largement étudié depuis de nombreuses années. Cette capacité de réparation du muscle est rendue possible notamment grâce aux cellules souches musculaires adultes, appelées cellules satellites, présentes entre la lame basale et la fibre musculaire [1]. À l'état basal, ces cellules sont quiescentes. Lors d'une lésion, elles sont activées et prolifèrent pour former une population de myoblastes qui, dans un second temps, soit

s'engagent dans la voie de la myogenèse – pour devenir myocytes et fusionner pour former de nouvelles fibres remplaçant les fibres musculaires lésées –, soit retournent dans un état de quiescence pour former le réservoir de cellules satellites (revue dans [1]). La coordination de ces événements est finement régulée au niveau de la cellule musculaire elle-même, mais également par son environnement tissulaire. En effet, différents types cellulaires sont nécessaires à une

bonne régénération musculaire, dont les macrophages [2].

#### Les macrophages : cellules immunitaires indispensables à la régénération musculaire

Les macrophages, principalement connus comme l'une des premières défenses de l'organisme face à une infection, ont aussi d'autres rôles. Leur participation à la réparation de nombreux tissus a ainsi été mise en évidence ces dernières



**Figure 1. Rôle des macrophages sur la myogenèse in vitro.** Le milieu conditionné de macrophages normaux (WT) et déficients en AMPK $\alpha$ 1 (AMPK $\alpha$ 1<sup>-/-</sup>) est déposé sur des myoblastes pendant 72 h. Le marquage de la desmine (rouge) permet d'identifier la formation de structures différenciées plurinucléées (noyaux en bleu, coloration Hœchst), les myotubes.

années. En cas de dommage tissulaire, les monocytes circulants infiltrent les tissus lésés [3, 4], se différencient en macrophages et contrôlent l'inflammation pour activer les différentes étapes de la réparation tissulaire. Les macrophages infiltrant le muscle endommagé sont de type M1, pro-inflammatoire, caractérisés notamment par une expression de TNF (*tumor necrosis factor*)- $\alpha$  et d'IL (interleukine)-1 $\beta$ , et stimulent la prolifération des myoblastes. Ces mêmes macrophages changent ensuite de statut pour acquérir un phénotype anti-inflammatoire (M2) et participent à la myogenèse en stimulant la différenciation et la fusion des myoblastes, ainsi que la croissance des nouvelles myofibres [2, 3]. Les mécanismes moléculaires régulant le changement de phénotype des macrophages sont mal connus. Deux voies ont été récemment impliquées : la voie CEBP $\beta$  (CCAAT/enhancer-binding protein B) et la voie P38/MKP1 [5, 6].

### L'AMPK, senseur énergétique, mais pas seulement

L'AMPK (AMP-activated kinase) est le principal senseur énergétique des cellules. Cette molécule, composée de trois sous-unités ( $\alpha$  : catalytique et

$\beta$ ,  $\gamma$  : régulatrices) est activée par différentes kinases comme LKB1 ou CAMKK $\beta$  [6], mais également par des taux élevés d'AMP présents dans la cellule [13] (→).

Les cibles métaboliques de l'AMPK sont très bien décrites dans la littérature (revue dans [7]). L'AMPK joue également un rôle dans la régulation du cycle cellulaire, de la polarité cellulaire, et plus récemment, a été impliquée dans l'inflammation. L'activité de l'AMPK est associée à une diminution de l'expression de molécules pro-inflammatoires par le macrophage en présence de bactéries [8]. Nous avons exploré le rôle de l'AMPK $\alpha$ 1, seule isoforme catalytique exprimée par les macrophages [9], dans le changement phénotypique des macrophages au cours de la régénération musculaire.

### La délétion de l'AMPK $\alpha$ 1 altère la régénération musculaire in vivo

La délétion de l'AMPK $\alpha$ 1 dans les macrophages engendre un défaut de la régénération musculaire du *tibialis anterior* (après une lésion induite par la cardiotoxine) identifié par une augmentation du pourcentage de fibres nécrotiques sept jours après le dommage, et par une

diminution de l'aire des fibres musculaires nouvellement formées 14, 28, et 56 jours après la blessure. À l'inverse, la transplantation de moelle osseuse de souris normales chez une souris receveuse irradiée déficiente pour l'AMPK $\alpha$ 1 induit une amélioration de la régénération musculaire, induisant une augmentation de la taille des nouvelles myofibres 14 jours après l'induction de la blessure.

### Les macrophages déficients pour l'AMPK $\alpha$ 1 n'acquièrent pas le statut anti-inflammatoire in vitro

L'analyse *in vitro* du statut inflammatoire de macrophages dérivés de la moelle osseuse de souris déficientes pour l'AMPK $\alpha$ 1 et cultivés en présence de cytokines qui induisent l'état M2 (IL4, IL10) [10] met en évidence une diminution du nombre de cellules exprimant des marqueurs M2 (TGF [*transforming growth factor*]- $\beta$ 1, CD206 [ou *mannose receptor*], CD163, Arginase 1 et Mgl1 [*macrophage galactose-type C-type lectin I*]) et une augmentation du nombre de cellules exprimant des marqueurs M1 (la chimio-cytokine CCL3 ou MIP1a, iNOS [*inducible nitric oxide synthase*] et Cox-2 [cyclo-oxygénase-2]). En outre, les propriétés trophiques vis-à-vis des myoblastes de ces macrophages déficients pour l'AMPK $\alpha$ 1 sont altérées. Notre groupe avait montré précédemment que les macrophages pro-inflammatoires de type M1 stimulent la prolifération des myoblastes alors que les macrophages anti-inflammatoires (M2) agissent positivement sur leur différenciation et leur fusion, conduisant à la formation de nouvelles fibres musculaires [2, 3]. Les macrophages déficients en AMPK $\alpha$ 1 activés par les cytokines pro-M2 conservent la propriété de stimuler la prolifération des myoblastes, et ont perdu leur capacité de support de la myogenèse (Figure 1).

### Les macrophages déficients en AMPK $\alpha$ 1 n'acquièrent pas le statut anti-inflammatoire in vivo

L'analyse de l'expression protéique des marqueurs de l'inflammation dans

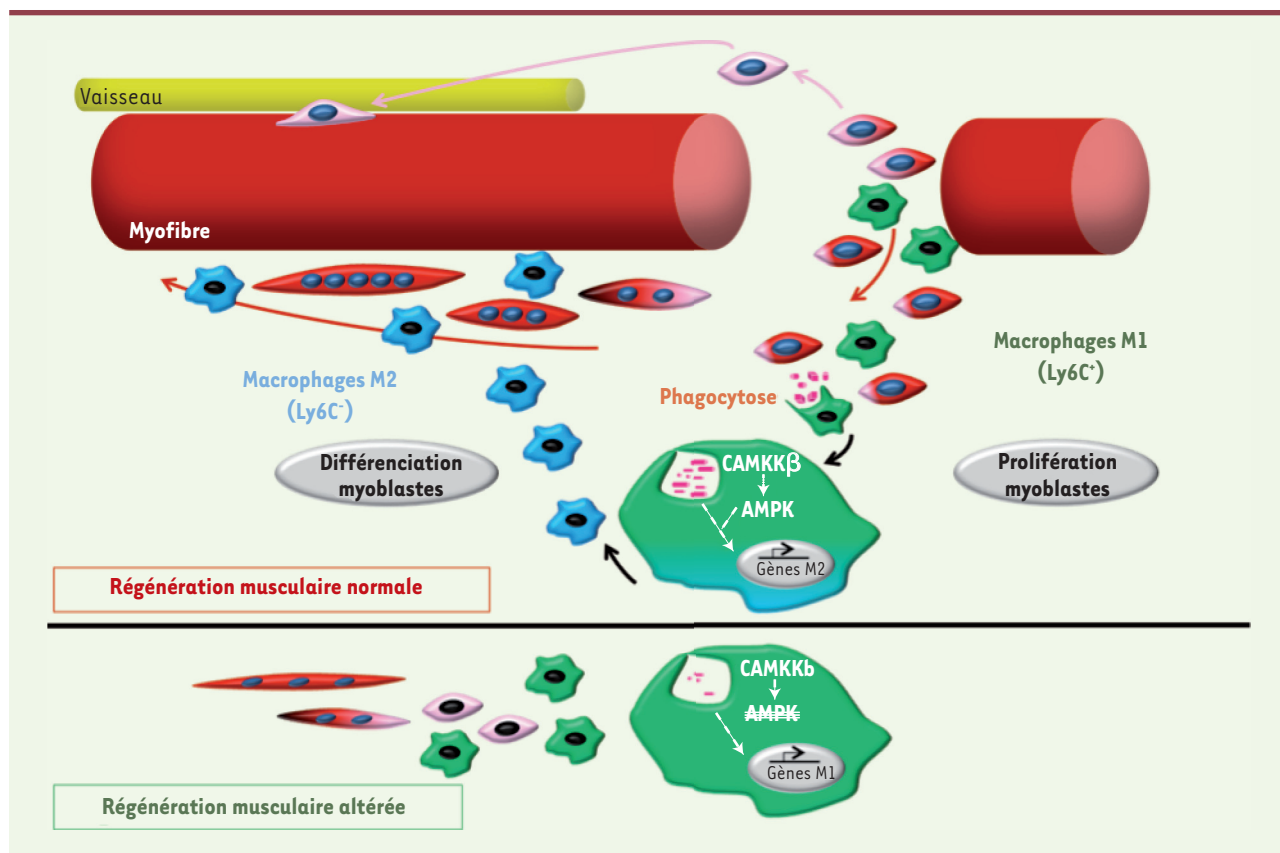


Figure 2. Rôle de la voie CAMKK $\beta$ -AMPK et de la phagocytose lors du changement de phénotype des macrophages.

des leucocytes extraits de muscle en régénération montre une diminution du pourcentage de cellules exprimant les marqueurs M1 (CCL3, iNOS) et une augmentation du nombre de cellules exprimant les marqueurs M2 (TGF $\beta$ 1, CD206, CD163, Arginase 1) avec le temps. Cette cinétique, indicative de la résolution de l'inflammation, n'est pas observée dans les leucocytes déficients en AMPK $\alpha$ 1, le niveau d'expression des marqueurs M1 et M2 restant stable depuis les premiers jours après la lésion. La non-acquisition du phénotype M2 a été confirmée *in vivo* chez la souris CX3CR1<sup>GFP/+</sup> qui permet de suivre les sous-populations monocytaires et macrophagiques [11]. L'analyse du pourcentage des populations F4/80<sup>+</sup>, CX3CR1<sup>+</sup>, Ly6-C/G<sup>+</sup> (macrophages M1) et F4/80<sup>+</sup>, CX3CR1<sup>+</sup>, Ly6-C/G<sup>-</sup> (macrophages M2) met en évidence un retard d'apparition de la population M2 dès le premier jour de régénération.

### La phagocytose est un mécanisme essentiel au changement de phénotype des macrophages via l'AMPK

La phagocytose de débris apoptotiques et/ou nécrotiques est associée à l'acquisition d'un phénotype anti-inflammatoire par les macrophages [3, 12]. L'activité de phagocytose de myoblastes apoptotiques/nécrotiques est fortement réduite dans les macrophages déficients en AMPK $\alpha$ 1. Ceci s'accompagne, contrairement aux macrophages normaux, d'une inhibition de l'acquisition du phénotype anti-inflammatoire M2. L'utilisation de souris déficientes et d'inhibiteurs spécifiques a également permis de montrer que le signal en amont de l'activation de l'AMPK n'implique pas la kinase LKB1, mais la CAMKK $\beta$  (Ca<sup>2+</sup>/CaM-dependent protein kinase kinase  $\beta$ ), dont l'inhibition prévient l'acquisition du phénotype anti-inflammatoire M2, notamment après phagocytose des débris cellulaires.

### En conclusion

L'ensemble de ces travaux, utilisant des études de perte et de gain de fonction *in vivo*, ainsi que des modèles de coculture *in vitro*, démontrent un nouveau rôle de la voie CAMKK $\beta$ -AMPK $\alpha$ 1 associée à la phagocytose des débris cellulaires dans la résolution de l'inflammation au cours de la régénération musculaire (Figure 2). Ces données mettent en évidence un lien entre la régulation du métabolisme et la régulation de l'inflammation, primordial dans la résolution de l'inflammation des tissus.  $\diamond$

**When regulation of cell energy meets regulation of inflammation: AMPK triggers skewing of macrophage phenotype during skeletal muscle regeneration**

### LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

1. Yin H, Price F, Rudnicki MA. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev* 2013 ; 93 : 23-67.
2. Saclier M, Yacoub-Youssef H, Mackey AL, et al. Differentially activated macrophages orchestrate myogenic precursor cell fate during human skeletal muscle regeneration. *Stem Cells* 2013 ; 31 : 384-96.
3. Arnold L, Henry A, Poron F, et al. Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. *J Exp Med* 2007 ; 204 : 1057- 69.
4. Chazaud B. Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration. *Immunobiology* 2013 (sous presse).
5. Perdiguer E, Sousa-Victor P, Ruiz-Bonilla V, et al. p38/MKP-1-regulated AKT coordinates macrophage transitions and resolution of inflammation during tissue repair. *J Cell Biol* 2011 ; 195 : 307-22.
6. Ruffell D, Mourkioti F, Gambardella A, et al. A CREB-C/EBPbeta cascade induces M2 macrophage-specific gene expression and promotes muscle injury repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 17475-80.
7. Hardie DG. AMP-activated protein kinase: an energy sensor that regulates all aspects of cell function. *Genes Dev* 2011 ; 25 : 1895-908.
8. Zhao X, Zmijewski JW, Lorne E, et al. Activation of AMPK attenuates neutrophil proinflammatory activity and decreases the severity of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008 ; 295 : L497-504.
9. Sag D, Carling D, Stout RD, Suttles J. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase promotes macrophage polarization to an anti-inflammatory functional phenotype. *J Immunol* 2008 ; 181 : 8633-41.
10. Martinez FO, Sica A, Mantovani A, Locati M. Macrophage activation and polarization. *Front Biosci* 2011 ; 13 : 453-61.
11. Geissmann F, Jung S, Littman DR. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity* 2003 ; 19 : 71-82.
12. Devitt A, Marshall LJ. The innate immune system and the clearance of apoptotic cells. *J Leukoc Biol* 2011 ; 90 : 447-57.
13. Foretz M, Viollet B. Les nouvelles promesses de la metformine : vers une meilleure compréhension de ses mécanismes d'action. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 82-92.

## NOUVELLE

### Une toute nouvelle tête pour l'ancêtre des vertébrés à mâchoires

Didier Casane, Patrick Laurenti

Laboratoire évolution, génomes et spéciation, UPR 9034 CNRS, avenue de la Terrasse, Bâtiment 13, 91198 Gif-sur-Yvette, France ; Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, France.  
[patrick.laurenti@legs.cnrs-gif.fr](mailto:patrick.laurenti@legs.cnrs-gif.fr)

#### Comprendre la démarche en biologie évolutive

Un fossile de placoderme, *Entelognathus primordialis*, découvert en Chine et récemment décrit dans la revue *Nature* [1] vient d'apporter un soutien convaincant à une hypothèse contre-intuitive : l'organisation de la tête de l'ancêtre des gnathostomes (les vertébrés à mâchoires) actuels ressemble plus à celle des ostéichthyens (les vertébrés osseux, un groupe qui comprend l'homme) qu'à celle des chondrichthyens (les « poissons cartilagineux », comprenant entre autres les requins) (Figure 1). Ce fossile est exceptionnel par la qualité de sa conservation, son âge (environ 419 millions d'années), mais surtout par l'hypothèse évolutive que l'on peut déduire de sa comparaison avec d'autres vertébrés, hypothèse qui heurte le sens commun.

Le plus souvent l'annonce de la découverte d'un nouveau fossile, aussi remarquable

soit-il, ne soulève qu'un intérêt limité, réduit au petit cercle des paléontologues. La découverte d'*Entelognathus primordialis*, en revanche, a bénéficié d'une grande publicité, justifiée par le fait qu'elle concerne l'évolution de notre lignée. Les commentaires rapportés dans les médias généralistes (journaux, télé et web) furent souvent fantaisistes (« un nouvel ancêtre », « les requins ne sont plus nos ancêtres directs », voire « un petit poisson remet en cause l'évolution »). À de rares exceptions près, ces commentaires négligent l'apport fondamental de ce fossile : une nouvelle illustration que l'évolution n'est pas un processus de complexification croissante dont l'homme serait le dernier état et les autres espèces les stades intermédiaires. Ceci révèle combien la démarche en biologie évolutive demeure mal comprise, ce qui entraîne le plus souvent le remplacement d'un concept erroné par un nouveau concept tout aussi faux !

Nous souhaitons ici expliquer la démarche qui permet de reconstruire l'organisation de la mâchoire de l'ancêtre des gnathostomes actuels en tenant compte de celle du placoderme *Entelognathus primordialis*. Cette démarche repose sur deux principes : (1) aucun organisme, actuel ou fossile, n'est l'ancêtre direct d'aucun autre organisme, un chaînon manquant dans une lignée menant à une espèce actuelle ; (2) toute hypothèse évolutive doit être faite dans un cadre phylogénétique [2-4]. Dans un numéro récent de *médecine/sciences*, nous expliquons pourquoi il est primordial de tenir compte des relations de parenté entre les espèces, et pourquoi il faut éviter impérieusement de placer les espèces sur une échelle linéaire pour reconstruire l'évolution d'un caractère particulier ou d'un organisme en son entier [2]. Nous avons pris l'exemple des vertébrés pour illustrer notre propos et mettre en évidence que