

La protéine matricielle CYR61/CCN1 stimule la production de lymphocytes T

Omid Amir-Moazami¹, Yalin Emre²

Stroma thymique et génération des lymphocytes T dans le thymus

Le thymus est un organe lymphoïde dans lequel sont produits les lymphocytes T, médiateurs de l'immunité cellulaire contre les cellules cancéreuses ou infectées, par exemple. Le fonctionnement du thymus repose fortement sur le stroma thymique, un réseau conjonctif dont les principales composantes sont les cellules épithéliales thymiques (TEC). Les cellules stromales fournissent un microenvironnement propice au recrutement des cellules souches hématopoïétiques circulant dans le sang et à leur différenciation en lymphocytes T [1, 2]. Malheureusement, l'atrophie du thymus, liée à l'âge ou consécutive à des infections ou une chimiothérapie, résulte en une diminution du nombre de cellules épithéliales et donc une altération de l'architecture du thymus. La conséquence de cette altération est une réduction des capacités de production de lymphocytes T, ce qui est responsable de la perte de la diversité du répertoire des lymphocytes T et donc d'une susceptibilité accrue aux infections.

La protéine matricielle CYR61/CCN1

CYR61 (*cystein-rich protein 61*), aussi appelée CCN1, est une protéine matricielle produite et sécrétée par différents types cellulaires comme les cellules endothéliales, les fibroblastes ou les cellules épithéliales. Selon le type cellulaire ou le contexte biologique, CYR61 peut stimuler la prolifération cellulaire, la survie, la migration ou la sénescence. CYR61 est notamment surexprimée par différents types de cellules cancéreuses,

y compris d'origine épithéliale, et stimule leurs capacités prolifératives [3, 8, 9] (→).

Rôle de CYR61 sur le stroma thymique

Considérant l'expression spécifique de CYR61/CCN1, cantonnée au stroma thymique [4], et ses propriétés prolifératives [3], nous avons décidé d'étudier les bénéfices d'un traitement utilisant CYR61 sur l'intégrité du stroma thymique et le développement des lymphocytes T. Nous avons tout d'abord identifié les TEC comme la principale source de CYR61 dans le thymus de souris. Des études *in vitro* ont été menées pour comprendre quelle pouvait être l'action de la protéine CYR61 sur le stroma thymique, et en particulier sur les TEC. Pour cela, des lobes de thymus fœtaux de souris dépourvus de thymocytes (2DG-FTOC¹) ont été traités avec de la protéine recombinante CYR61, avec pour conséquence d'augmenter fortement la taille du stroma. Cette augmentation a été causée par une élévation du nombre de TEC, sans changement de leur degré de différenciation/maturation ni du nombre des autres cellules stromales. Afin de tester si l'action de la protéine CYR61 sur les TEC est directe, ou bien si elle résulte de l'ac-

¹ Service d'immunologie clinique-médecine interne, hôpital Antoine-Bécclère, AP-HP, 157, rue de la Porte de Trivaux, 92141 Clamart, France ; université Paris-11, Le Kremlin-Bicêtre, France.

² Université de Genève, département de pathologie et immunologie, 1 rue Michel Servet, 1205 Genève, Suisse.
omidamir@gmail.com,
yalinemre@gmail.com

tivation d'un autre type cellulaire présent dans le stroma, tels les macrophages ou cellules dendritiques, nous avons traité une lignée pure de cellules épithéliales thymiques appelée IT76M1². La protéine CYR61 a stimulé la prolifération de ces cellules, ce qui a démontré une action directe de CYR61 sur les TEC. Des analyses complémentaires ont montré que la protéine CYR61 se fixe sur l'intégrine $\alpha 6$, activant la voie de signalisation Akt. L'utilisation de MK2206, inhibiteur d'Akt, et d'anticorps bloquant l'intégrine $\alpha 6$, a ainsi permis de supprimer l'action de CYR61 sur les TEC.

Nous nous sommes ensuite intéressés à la possibilité de stimuler *in vivo* les fonctions thymiques, notamment la production de lymphocytes T, au moyen de CYR61. Nous avons induit la surexpression de la protéine CYR61 dans les cellules du stroma thymique en infectant des lobes de thymus fœtaux de souris dépourvus de thymocytes (2DG-FTOC) par un vecteur d'expression lentiviral³ CYR61. Les lobes ainsi transduits ont vu leur niveau de protéine CYR61 augmenter d'environ 4 fois. Pour le groupe contrôle, nous avons utilisé des lobes transduits avec un vecteur vide, qui n'a pas modifié les taux de protéine CYR61. Ces lobes, surexprimant CYR61 ou contrôles, ont ensuite été greffés sous la capsule rénale de souris dépourvues de système immunitaire (souris *nude*). La particularité des souris

¹ 2'-deoxyguanosine-fetal thymus organ culture, technique de culture *in vitro* des cellules stromales de lobes de thymus fœtaux. Le 2DG permet de tuer tous les thymocytes en développement. Ainsi seules subsistent les cellules du stroma thymique dans leur environnement et organisation tridimensionnelle.

² Cette lignée est issue initialement de la culture primaire de cellules stromales de thymus de souris Balb/c.

³ Un vecteur d'expression lentiviral permet de cibler toutes les cellules, qu'elles soient en phase proliférative ou non. Dans notre expérience le taux de transduction était supérieur à 90%.

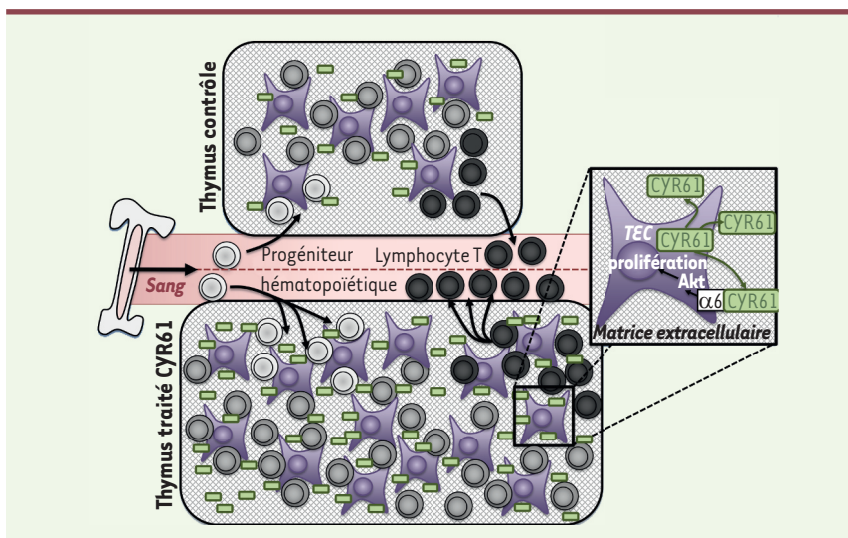


Figure 1. L'expansion du stroma thymique induite par CYR61 augmente la production de lymphocytes. Les TEC (en violet) sont la source principale de production de CYR61/CCN1 dans le thymus. L'expansion du stroma induite par CYR61/CCN1 augmente l'espace disponible pour le recrutement des cellules souches hématopoïétiques (en gris) et par conséquent pour le développement de lymphocytes T (en noir) [7].

nude est l'absence d'un thymus fonctionnel, et donc de lymphocytes T, suite à une mutation dans le gène du facteur de transcription FoxN1, essentiel au développement des TEC [5]. Les progéniteurs hématopoïétiques étant normaux chez les souris *nude*, la transplantation de lobes thymiques contrôles restaure une production normale de lymphocytes T [6]. La production de lymphocytes T est également rétablie chez les souris *nude* transplantées avec des lobes surexprimant CYR61. En revanche, les niveaux de lymphocytes T en circulation dans le sang ont été doublés comparés à ceux des souris greffées contrôles. Il est important de souligner que les animaux ainsi greffés présentaient un répertoire T normal sans aucun signe d'auto-immunité ni anomalie anatomo-pathologique (Figure 1).

Deux hypothèses pouvaient expliquer cette augmentation de la production de lymphocytes T. Une possibilité était une action directe de CYR61 sur le développement des thymocytes⁴. La seconde possibilité était que l'hypertrophie

thymique, induite par CYR61, augmente la capacité des lobes à héberger des progéniteurs issus de la circulation et, par conséquent, favorise indirectement le développement des thymocytes.

Nous avons testé l'effet direct de CYR61 sur le développement des thymocytes dans des cultures de lobes de thymus fœtaux (FTOC, *fetal thymus organ culture*). Les lobes sont composés d'un stroma complet et d'un nombre déterminé de précurseurs thymiques qui se différencient au cours du temps. Bien que le traitement par CYR61, pendant 2 ou 6 jours, ait augmenté le nombre de TEC, la fréquence et le nombre de thymocytes en développement n'ont pas été affectés. De plus, la présence de CYR61 lors de tests de prolifération des lymphocytes n'a affecté ni la prolifération ni la survie des cellules. Ces données nous ont permis d'exclure une action directe de CYR61 sur le développement des thymocytes.

Nous avons alors testé la seconde hypothèse : la capacité des lobes à recruter des progéniteurs circulants. Pour cela, nous avons transplanté des lobes surexprimant CYR61 sous la capsule rénale d'un rein, et des lobes contrôles sous

l'autre capsule rénale, chez une même souris. Trois semaines plus tard, les souris ont été injectées avec des cellules de moelle osseuse (contenant des progéniteurs hématopoïétiques). Après 48 heures, le nombre de cellules recrutées dans les greffons a été quantifié, montrant que la capacité de mobilisation des lobes surexprimant CYR61 était sensiblement augmentée comparée aux greffons contrôles.

Cette différence de recrutement des progéniteurs pouvait être la conséquence d'un phénomène passif (simple augmentation de l'espace disponible dans le thymus) ou actif (lié à une augmentation de production de facteurs de croissance/chimiokines). Le recrutement des progéniteurs est dépendant de facteurs et de molécules d'adhésion tels que l'IL7 (interleukine 7), CCL25 (*chemokine [C-C motif] ligand 25*), FGF7 (*fibroblast growth factor 7*) ou P-sélectine. Nos analyses n'ont pas montré de différence entre les lobes surexprimant CYR61 et les lobes contrôles concernant l'expression de ces molécules. Par conséquent, nous avons pu conclure que le recrutement accru de progéniteurs résulte uniquement d'une augmentation de l'espace disponible et non d'une production élevée de facteurs de développement.

Conclusion

L'ensemble de nos résultats montre l'effet de la protéine matricielle CYR61 sur l'expansion du stroma thymique, et en particulier sur les TEC, conduisant à une production accrue de lymphocytes T fonctionnels [7]. Cette surexpression, modeste, de la protéine matricielle CYR61/CCN1 représente donc une approche novatrice visant à l'amélioration ou la restauration de la compétence immune. ♦

Matricellular protein CCN1/CYR61 boosts T-cell output

LIENS D'INTÉRÊTS

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

⁴ Progéniteurs hématopoïétiques présents dans le thymus et se différenciant en lymphocytes T.

RÉFÉRENCES

1. Love PE, Bhandoola A. Signal integration and crosstalk during thymocyte migration and emigration. *Nat Rev Immunol* 2011 ; 11 : 469-77.
2. Kyewski B, Klein L. A central role for central tolerance. *Annu Rev Immunol* 2006 ; 24 : 571-606.
3. Emre Y, Imhof BA. Matricellular protein CCN1/CYR61: a new player in inflammation and leukocyte trafficking. *Semin Immunopathol* 2014 ; 36 : 253-9.
4. Griffith AV, Fallahi M, Nakase H, et al. Spatial mapping of thymic stromal microenvironments reveals unique features influencing T lymphoid differentiation. *Immunity* 2009 ; 31 : 999-1009.
5. Nehls M, Pfeifer D, Schorpp M, et al. New member of the winged-helix protein family disrupted in mouse and rat nude mutations. *Nature* 1994 ; 372 : 103-7.
6. Nishigaki-Maki K, Takahashi T, Ohno K, et al. Autoimmune diseases developed in athymic nude mice grafted with embryonic thymus of xenogeneic origin. *Eur J Immunol* 1999 ; 29 : 3350-9.
7. Emre Y, Irla M, Dunand-Sauthier I, et al. Thymic epithelial cell expansion through matricellular protein CYR61 boosts progenitor homing and T-cell output. *Nat Commun* 2013 ; 4 : 2842.
8. Perbal B. Les protéines CCN : quand multimodulaire rime avec multifonctionnel. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 745-56.
9. Michaels Lopez V, Ezine S. L'épithélium thymique, un passé dans la dualité et un présent unifié. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 591-3.

NOUVELLE

Fragilité axonale lors de chocs traumatiques Rôle des propriétés mécaniques des différents compartiments neuronaux

Thomas Grevesse, Joséphine Lantoine, Geoffrey Delhayé,
Danahé Mohammed, Maryam Riaz, Marie Versaevél,
Sylvain Gabriele

Mechanobiology and soft matter group, laboratoire interfaces et fluides complexes, instituts de biosciences et matériaux, CIRMAP, université de Mons, 20 place du Parc, B-7000 Mons, Belgique.
sylvain.gabriele@umons.ac.be

► Les lésions cérébrales représentent une des premières causes de mortalité chez les 15-25 ans, et une des premières causes d'invalidité avant 45 ans [1]. En Europe, l'incidence annuelle des traumatismes crâniens est évaluée à 235/100 000 habitants, associée à un taux de mortalité d'environ 22 % en cas de lésions cérébrales [2], faisant des lésions cérébrales traumatiques un problème majeur de santé publique. La plupart des traumatismes crâniens surviennent lors d'accidents de la voie publique mais également lors d'activités sportives, d'accidents domestiques ou dans certains cas de maltraitements infantiles. Les forces physiques mises en jeu entraînent la formation d'une « onde de choc » qui se propage de la boîte crânienne vers la profondeur du cerveau. À cette onde s'ajoute un effet d'inertie résultant de mouvements d'accélération et de décélération rapides de la tête (Figure 1). Ces contraintes mécaniques donnent lieu à d'importantes déformations des tissus du cerveau (étirement, compression et torsion) qui engendrent des lésions immédiates, appelées primaires, dont l'évolu-

tion va déterminer la possible apparition de lésions secondaires. Les lésions axonales diffuses (en anglais, *diffuse axonal injury* ou DAI) sont des lésions primaires qui apparaissent dans près de la moitié des cas de traumatismes cérébraux et constituent la deuxième cause de décès par lésions cérébrales [3]. Elles apparaissent au niveau de la jonction entre les substances grise et blanche. La substance grise, qui est principalement répartie en périphérie de l'encéphale, est composée d'une accumulation de corps cellulaires de neurones et de cellules gliales. La substance blanche, elle, constitue la partie interne du cerveau et est constituée de faisceaux de fibres axonales entourées d'une gaine de myéline. L'analyse pathologique des lésions axonales diffuses révèle l'existence de dommages, microscopiques mais étendus, dans la matière blanche des hémisphères cérébraux. Ces observations suggèrent que les forces mises en jeu à l'occasion d'un trauma¹ peuvent

immédiatement étirer les axones, expliquant leur rupture puis leur rétraction. L'hypothèse selon laquelle les lésions axonales découlent uniquement d'une réponse primaire au trauma est cependant remise en cause. Des preuves expérimentales et cliniques indiquent en effet que la rupture axonale par étirement (appelée axotomie primaire) n'est pas le seul et dernier événement survenant suite au choc [4]. Les modifications initiales du cytosquelette peuvent entraîner un gonflement progressif de l'axone, en « collier de perles », qui entraîne sa rupture (axotomie secondaire) 12 à 72 heures après le trauma. Dans ce contexte, la distinction des propriétés mécaniques des différents sous-compartiments d'un neurone (axone ou neurite vs soma ou corps cellulaire), est une information essentielle pour comprendre le comportement de la matière grise et de la matière blanche en réponse à un choc traumatique et identifier le mécanisme de développement des lésions axonales diffuses. Afin de répondre à cette question essentielle, il est tout d'abord nécessaire de

¹ Lésion physique ou dommage psychique causé par un impact physique ou un choc émotionnel violent.