

## RÉFÉRENCES

- Gonzales E, Julien B, Serrière-Lanneau V, et al. ATP release after partial hepatectomy regulates liver regeneration in the rat. *J Hepatol* 2010 ; 52 : 54-62.
- Besnard A, Gautherot J, Julien B, et al. The P2X4 purinergic receptor impacts liver regeneration after partial hepatectomy in mice through the regulation of biliary homeostasis. *Hepatology* 2016 ; 64 : 941-53.
- Wu X, Wang Y, Wang S, et al. Purinergic P2X7 receptor mediates acetaldehyde-induced hepatic stellate cells activation via PKC-dependent GSK3 $\beta$  pathway. *Int Immunopharmacol* 2017 ; 43 : 164-71.
- Huang Y, Liu W, Xiao H, et al. Matricellular protein periostin contributes to hepatic inflammation and fibrosis. *Am J Pathol* 2015 ; 185 : 786-97.
- Tung HC, Lee FY, Wang SS, et al. The beneficial effects of P2X7 antagonism in rats with bile duct ligation-induced cirrhosis. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0124654.
- Garcin I, Tordjmann T. Calcium signalling and liver regeneration. *Int J Hepatol* 2012 ; 2012 : 1-6.
- Le Guilcher C, Garcin I, Dellis O, et al. The P2X4 purinergic receptor regulates hepatic myofibroblast activation during liver fibrogenesis. *J Hepatol* 2018 ; 69 : 644-53.
- Tag CG, Sauer-Lehnen S, Weiskirchen S, et al. Bile duct ligation in Mmice: induction of inflammatory liver injury and fibrosis by obstructive cholestasis. *J Vis Exp* 2015 ; 52438.
- Rinella ME, Elias MS, Smolak RR, et al. Mechanisms of hepatic steatosis in mice fed a lipogenic methionine choline-deficient diet. *J Lipid Res* 2008 ; 49 : 1068-76.

## NOUVELLE

### Le lipidosome

#### Lieu de synthèse de LTB<sub>4</sub>, un médiateur de l'inflammation stérile

Camille Dupouy<sup>1</sup>, Laura Saban<sup>1</sup>, Sophie Dupré-Crochet<sup>2</sup>

### Cristaux de silice et inflammation pulmonaire

L'exposition répétée aux cristaux de silice est responsable de la silicose, qui est une des maladies professionnelles les plus répandues dans le monde. Elle se caractérise par une fibrose progressive du poumon et est associée au risque de développer d'autres maladies, dont le cancer du poumon [1]. L'inhalation de cristaux de silice entraîne un recrutement de polynucléaires neutrophiles, de macrophages et de lymphocytes dans les poumons, à l'origine d'une inflammation stérile<sup>1</sup>. Des médiateurs de l'inflammation, tels que le leucotriène B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) et l'interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), contribuent au recrutement de ces cellules immunitaires [2,3]. Les mécanismes cellulaires responsables de la production de ces médiateurs, notamment de LTB<sub>4</sub>, en présence de cristaux de silice sont encore peu connus. Les cristaux de silice, présents dans les poumons, sont internalisés dans les cellules épithéliales, les

mastocytes et les macrophages résidents. Dans ces derniers, Hornung *et al.* ont observé une rupture des phagolysosomes contenant les cristaux de silice, avec pour conséquence une activation de l'inflammasome NLRP3<sup>2</sup> (→) et de la caspase 1. Cela permet le clivage de la pro-IL1 $\beta$  synthétisée<sup>3</sup> en IL-1 $\beta$  [2]. LTB<sub>4</sub> est produit dans les cellules à partir de l'acide arachidonique grâce à la 5-lipoxygénase (5-LO) et la leucotriène A<sub>4</sub>-hydrolase (LTA<sub>4</sub>H). Dans un article récent [5], Hegde *et al.* ont identifié les processus cellulaires conduisant à la synthèse de LTB<sub>4</sub> en présence de cristaux de silice. L'originalité de l'étude réside aussi dans l'identi-

(→) Voir la Synthèse de Y. Jamilloux et T. Henry, *m/s* n° 11, novembre 2013, page 975

<sup>1</sup> M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

<sup>2</sup> Institut de Chimie Physique, UMR8000, CNRS, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

[camille.dupouy@u-psud.fr](mailto:camille.dupouy@u-psud.fr)

[laura.saban@u-psud.fr](mailto:laura.saban@u-psud.fr)

[sophie.dupre@u-psud.fr](mailto:sophie.dupre@u-psud.fr)

fication du lieu de synthèse de cette molécule.

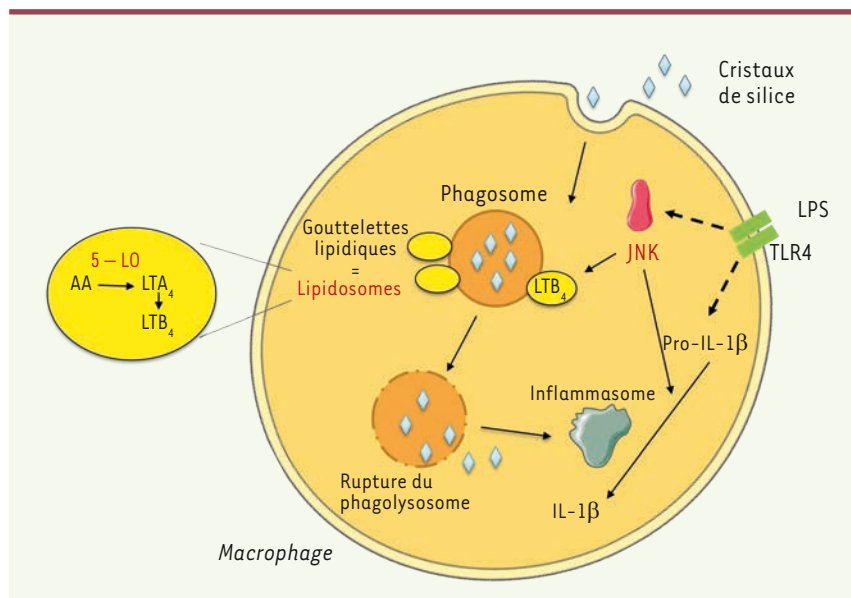
### À la recherche des mécanismes cellulaires et moléculaires de production du LTB<sub>4</sub> et de l'IL-1 $\beta$

Les auteurs ont tout d'abord étudié le rôle de la phagocytose de cristaux de silice sur la production de LTB<sub>4</sub> dans des macrophages dérivés de la moelle osseuse. Ces cellules, préalablement stimulées avec du lipopolysaccharide (LPS), ont été traitées avec de la cytochalasine D (Cyt D), qui inhibe la polymérisation de l'actine. Des expériences de microscopie confocale montrent que des macrophages incubés avec la Cyt D perdent leur capacité à phagocyter des cristaux de silice. De même, la Cyt D inhibe la production de LTB<sub>4</sub> et d'IL-1 $\beta$  par les macrophages murins stimulés avec des cristaux de silice. La production de LTB<sub>4</sub>, en présence de Cyt D et de cristaux de silice, est également inhibée dans les polynucléaires neutrophiles et les mastocytes ; ceux-ci ne produisant pas d'IL-1 $\beta$ . La phagocytose des cristaux est donc néces-

<sup>2</sup> L'inflammasome NLRP3 est un complexe protéique constitué d'un récepteur NLRP3, d'un adaptateur ASC et de la caspase 1. L'activation du récepteur par les protéases lysosomales (cathepsines) entraîne l'oligomérisation du complexe et le clivage de la pro-caspase 1 en caspase 1 [4].

<sup>3</sup> Dans les articles [2] et [5], les macrophages sont pré-activés avec du lipopolysaccharide (LPS), ce qui active le récepteur TLR4 (*Toll-like receptor 4*). La voie de signalisation du TLR4 induit l'activation de la voie des MAPK et la synthèse de la pro-IL-1 $\beta$  via NF- $\kappa$ B [6].

<sup>1</sup> Inflammation induite par la libération de signaux de danger provenant du soi, et non par une infection.



**Figure 1. Production du leucotriène B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) et de l'interleukine 1β (IL-1β) en réponse à l'internalisation de cristaux de silice.** Les cristaux de silice sont phagocytés par les macrophages pré-activés par du LPS. Ce dernier induit une signalisation via TLR4 qui conduit à l'activation de JNK et à la synthèse de pro-IL-1β. Le phagosome fusionne avec le lysosome. Il s'ensuit une rupture du phagolysosome qui libère les cristaux de silice. Cette libération des cristaux de silice entraîne l'activation de l'inflammasome ce qui conduit à la synthèse de l'IL-1β. JNK est également indispensable pour cette synthèse ainsi qu'à la formation des gouttelettes lipidiques appelées lipidosomes. Dans ces lipidosomes, proches du phagosome, LTB<sub>4</sub> est synthétisé à partir de l'AA. Cette synthèse implique la 5-LO. 5-LO : 5-lipoxygénase ; AA : acide arachidonique ; JNK : *Jun N-terminal kinase* ; LPS : lipopolysaccharide ; LTA<sub>4</sub> : leucotriène A<sub>4</sub> ; TLR : *Toll-like receptor*.

saire à la production de LTB<sub>4</sub> et d'IL-1β. Après sa formation, le phagosome va se transformer en un phagolysosome suite à sa fusion avec les endosomes puis avec le lysosome. Hegde *et al.* montrent que la formation de ce phagolysosome n'est pas indispensable pour la production de LTB<sub>4</sub> contrairement à celle d'IL-1β. Une étude précédente avait montré que ce phagolysosome, contenant les cristaux de silice, est rompu ; cette rupture entraîne l'activation de l'inflammasome NLRP3. L'activation de ce dernier est indispensable pour la production d'IL-1β [2]. Afin de tester si NLRP3 est également nécessaire pour la production de LTB<sub>4</sub>, les chercheurs ont traité, avec des cristaux de silice et du LPS, des macrophages murins provenant de souris génétiquement déficientes pour NLRP3. Les macrophages déficients pour NLRP3 produisent du

LTB<sub>4</sub> mais pas d'IL-1β comme attendu. La production de LTB<sub>4</sub> est donc un événement précoce qui ne dépend pas de l'activation de l'inflammasome et de la production d'IL-1β. Ayant déterminé les événements cellulaires nécessaires à la production de LTB<sub>4</sub>, Hegde *et al.* se sont intéressés aux acteurs moléculaires impliqués. Ils ont analysé l'implication des MAPK<sup>3</sup> (*mitogen-activated protein kinases*) p38 et JNK (*Jun N-terminal kinase*) dans la modulation de la sécrétion de LTB<sub>4</sub> et d'IL-1β. Les chercheurs ont pu observer que seul un inhibiteur de JNK diminuait de façon significative la production de LTB<sub>4</sub> et d'IL-1β dans les macrophages. Il en est de même pour la production de LTB<sub>4</sub> dans les polynucléaires neutrophiles et mastocytes. Les auteurs montrent aussi que cet inhibiteur empêche le recrutement des leucocytes, et notamment des macrophages

et des polynucléaires neutrophiles, suite à l'injection des cristaux de silice à des souris. Afin de mieux comprendre les différences dans les mécanismes cellulaires conduisant à la production de LTB<sub>4</sub> d'une part, et à la production d'IL-1β d'autre part, Hegde *et al.* ont alors recherché le lieu de production de LTB<sub>4</sub>.

### À la découverte du lieu de synthèse du LTB<sub>4</sub> : le lipidosome.

LTB<sub>4</sub> est un lipide synthétisé à partir de l'acide arachidonique. En incubant les cellules avec une sonde fluorescente lipophile, marquant les gouttelettes lipidiques dans les cellules, les chercheurs ont observé, en microscopie confocale, une augmentation de ces gouttelettes lipidiques dans des macrophages murins traités avec des cristaux de silice. Les gouttelettes lipidiques, appelées ici lipidosomes, sont des lieux de stockage et de modifications des lipides ; ils peuvent interagir avec les organites cellulaires et sont impliqués dans l'immunité innée [7]. En utilisant les approches décrites précédemment, Hegde *et al.* ont démontré une diminution du nombre de ces lipidosomes lors de l'inhibition de la phagocytose des cristaux de silice ou de JNK. En revanche, en l'absence de NLRP3, ces lipidosomes sont présents, ce qui expliquerait la conservation de la production de LTB<sub>4</sub> dans les macrophages des souris déficientes pour NLRP3.

Ces différents résultats suggèrent que le lipidosome serait le lieu de production de LTB<sub>4</sub>. Afin de le prouver, les chercheurs ont utilisé des techniques d'immunofluorescence et montré une co-localisation des enzymes responsables de la synthèse de LTB<sub>4</sub>, 5-LO et LTA<sub>4</sub>H, avec les lipidosomes. Ces lipidosomes sont, de plus, absents dans des macrophages de souris génétiquement déficientes pour la 5-LO. Ces lipidosomes seraient donc les lieux de synthèse de LTB<sub>4</sub>. En les traquant par vidéo-microscopie, les chercheurs ont observé qu'ils apparaissent 5 minutes après l'ajout des cristaux de silice dans les macrophages. En

marquant simultanément les lipidosomes et le phagosome, Hedge *et al.* ont également observé, en microscopie confocale que ces lipidosomes sont accolés au phagosome. Après avoir identifié ces lipidosomes, les chercheurs ont essayé de déterminer quelles protéines étaient impliquées dans leur formation. Ils ont étudié tout d'abord le rôle d'une centaine de protéines choisies parmi celles impliquées dans les voies de la phagocytose ou de l'autophagie. Des macrophages, transfectés par des petits ARN interférents (siRNA) ciblant les ARN messagers codant ces protéines, ont alors été mis en contact avec des cristaux de silice. Une forte inhibition de la production de LTB<sub>4</sub> a été détectée suite à la diminution du taux des ARN messagers codant un grand nombre de ces protéines incluant notamment des GTPases, des kinases impliquées dans la signalisation et des protéines impliquées dans le métabolisme lipidique. Une étude plus approfondie a également permis de mettre en évidence une implication des protéines Rab (Rab5c et Rab40c) et de JNK dans la formation de ces lipidosomes.

### JNK, une cible thérapeutique contre les silicoses ?

Les travaux présentés par Hedge *et al.* ont permis de mettre en évidence la formation de gouttelettes lipidiques lors de la phagocytose des particules de silice par les macrophages. Ces gouttelettes ou lipidosomes sont le lieu de synthèse de LTB<sub>4</sub>, un puissant chimioattractant des polynucléaires neutrophiles (Figure 1). Il serait intéressant d'approfondir l'étude du lipidosome afin de mieux définir les mécanismes à l'origine de la formation de cette structure. La production de LTB<sub>4</sub> et d'IL-1 $\beta$  fait intervenir des mécanismes cellulaires différents (Figure 1). L'activation de la kinase JNK est cependant nécessaire à la production de ces deux médiateurs de l'inflammation. Cette production nécessite *in vitro* la stimulation des cellules phagocytaires par le LPS et les particules de silice. *In vivo*, elle interviendrait donc potentiellement lors d'infections bactériennes associées à l'inhalation de cristaux de silice. D'autres études seront nécessaires pour préciser l'importance du LTB<sub>4</sub> et de l'IL-1 $\beta$  dans l'inflammation lors

d'expositions répétées aux cristaux de silice, et établir si la kinase JNK constitue une cible intéressante pour diminuer cette inflammation.  $\diamond$

### The lipidosome : the site of LTB<sub>4</sub> synthesis, a mediator of sterile inflammation

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Leung CC, Yu ITS, Chen W. Silicosis. *Lancet* 2012 ; 379 : 2008-18.
2. Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, *et al.* Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol* 2008 ; 9 : 847-56.
3. Satpathy SR, Jala VR, Bodduluri SR, *et al.* Crystalline silica-induced leukotriene B4-dependent inflammation promotes lung tumour growth. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 7064.
4. Jamilloux Y, Henry T. Les inflammasomes. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 975-84.
5. Hegde B, Bodduluri SR, Satpathy SR, *et al.* Inflammasome-independent leukotriene B4 production drives crystalline silica-induced sterile inflammation. *J Immunol* 2018 ; 200 : 3556-67.
6. Takeda K, Akira S. TLR signaling pathways. *Semin Immunol* 2004 ; 16 : 3-9.
7. Roingeard P, Melo RCN. Lipid droplet hijacking by intracellular pathogens. *Cell Microbiol* 2017 ; 19 : e12688.



Avec m/s, vivez en direct  
les progrès et débats  
de la biologie et de la médecine

CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE M/S  
CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG

Abonnez-vous sur  
[www.medecinesciences.org](http://www.medecinesciences.org)