



auto-réactifs impliqués dans l'hépatite auto-immune, quelle que soit leur spécificité auto-antigénique, partagent-ils le même profil phénotypique (CD45RA⁻ PD-1⁺ CXCR5⁻) que les lymphocytes T CD4⁺ spécifiques de SLA ?

Identification des lymphocytes T CD4⁺ impliqués dans la pathogenèse de l'hépatite auto-immune

En partant de cette hypothèse, les lymphocytes T CD4⁺ CD45RA⁻ PD-1⁺ CXCR5⁻ ont été recherchés et étudiés dans le sang des patients ayant une hépatite auto-immune, quel que soit leur profil d'auto-anticorps. Nous avons montré que cette population particulière de lymphocytes T CD4⁺ est augmentée dans le sang des patients, en comparaison avec des individus ayant une inflammation hépatique chronique non auto-immune due à une stéatose hépatique non alcoolique (Figure 2B). Ces lymphocytes T CD4⁺ ont la capacité de produire de grandes quantités d'IFN- γ et d'induire la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes producteurs d'anticorps, via la production d'IL-21 (Figure 2C). Nos résultats suggèrent donc que cette population lymphocytaire serait le principal réservoir périphérique des lymphocytes T CD4⁺ auto-réactifs dans l'hépatite auto-immune et aurait un rôle actif dans la

maladie. Une analyse plus approfondie de ces lymphocytes T CD4⁺ auto-réactifs chez les patients atteints d'hépatite auto-immune, en tenant compte de leurs caractéristiques cliniques, a mis en évidence une corrélation entre l'activité de la maladie et la présence de cette population cellulaire dans le sang, ce qui pourrait conduire au développement de biomarqueurs pour la surveillance médicale de ces patients.

Perspectives

Ces travaux ont permis de mettre en évidence, chez des patients atteints d'hépatite auto-immune, une population de lymphocytes T CD4⁺ auto-réactifs avec un fort potentiel pathogénique. En effet, des clones auto-réactifs spécifiques d'un auto-antigène (SLA) sont présents parmi ces lymphocytes en nombre anormalement élevé dans le sang des patients, et ont des propriétés pro-inflammatoire et pro-humorale (pro-anticorps).

La connaissance approfondie des lymphocytes T CD4⁺ auto-réactifs dans l'hépatite auto-immune permet d'ouvrir deux voies majeures d'amélioration de la prise en charge des patients : le développement d'outils de prédiction clinique fondés sur la détection de ces cellules dans le sang des patients, et la mise au point d'approches thérapeu-

tiques innovantes ciblant spécifiquement ces cellules, comme alternative aux traitements actuels. \diamond

Peculiar profile of auto-reactive T lymphocytes in auto-immune hepatitis

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. European association for the study of the liver. EASL clinical practice guidelines: autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2015 ; 63 : 971-1004.
2. Renand A, Habes S, Mosnier JF, et al. Immune alterations in patients with type 1 autoimmune hepatitis persist upon standard immunosuppressive treatment. *Hepatology* 2018 ; 2 : 968-81.
3. Löhr HF, Schlaak JF, Lohse AW, et al. Autoreactive CD4⁺ LKM-specific and anticonotypic T-cell responses in LKM-1 antibody-positive auto-immune hepatitis. *Hepatology* 1996 ; 24 : 1416-21.
4. Mix H, Weiler-Normann C, Thimme R, et al. Identification of CD4 T-cell epitopes in soluble liver antigen/liver pancreas autoantigen in auto-immune hepatitis. *Gastroenterology* 2008 ; 135 : 2107-18.
5. Renand A, Cervera-Marzal I, Gil L, et al. Integrative molecular profiling of autoreactive CD4 T cells in auto-immune hepatitis. *J Hepatol* 2020 ; 73 : 1379-90.
6. Crotty S. A brief history of T cell help to B cells. *Nat Rev Immunol* 2015 ; 15 : 185-9.
7. Attaf N, Cervera-Marzal I, Dong C, et al. FB5P-seq: FACS-based 5' end single-cell RNA-seq for integrative analysis of transcriptome and antigen receptor repertoire in B and T cells. *Front Immunol* 2020 ; 11 : 216.
8. Bocharnikov AV, Keegan J, Wacleche VS, et al. PD-1^{hi}CXCR5⁻ T peripheral helper cells promote B cell responses in lupus via MAF and IL-21. *JCI Insight* 2019 ; 4 : e130062.
9. Rao DA, Gurish MF, Marshall JL, et al. Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis. *Nature* 2017 ; 542 : 110-4.

NOUVELLE

Microvésicules de globules rouges et vasospasmes artériels dans les syndromes myéloprolifératifs avec mutation JAK2^{V617F}

Johanne Poisson, Marion Tanguy, Pierre-Emmanuel Rautou

Université de Paris, AP-HP, Hôpital Beaujon, Service d'hépatologie, DMU DIGEST, Centre de référence des maladies vasculaires du foie, FILFOIE, ERN RARE-LIVER, Centre de recherche sur l'inflammation, Inserm UMR 1149, 46 rue Henri-Huchard, 75018 Paris, France.
johanne.poisson@inserm.fr

> Les syndromes myéloprolifératifs sans le remaniement chromosomique conduisant au gène de fusion oncogénique

Bcr/Abl (« Bcr/Abl négatifs ») sont des maladies clonales touchant les cellules souches hématopoïétiques. Ces

maladies comprennent la polyglobulie de Vaquez, la thrombocyémie essentielle et la myélofibrose primitive [1].

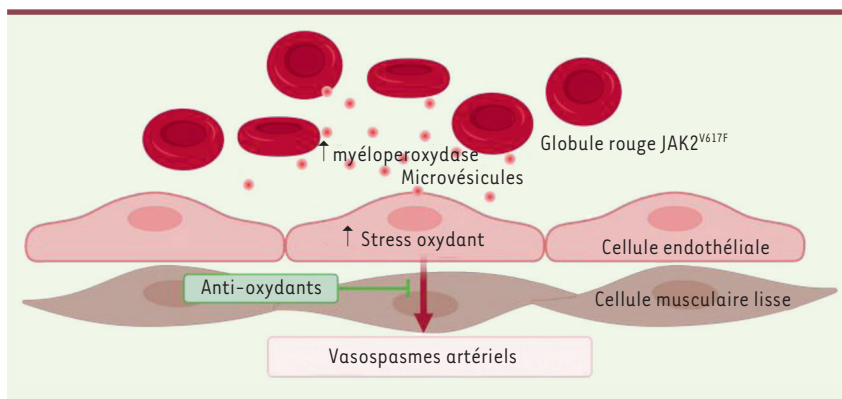


Figure 1. Rôle des microvésicules de globules rouges exprimant la protéine JAK2 avec la mutation Val617Phe (JAK2V617F) dans les vasospasmes artériels. Les microvésicules, qui contiennent un excès de myéloperoxydase, peuvent fusionner avec les cellules endothéliales artérielles. Cela entraîne un stress oxydant dans ces cellules et une augmentation de la contraction de la paroi des artères (vasospasme). Les antioxydants, tels que la simvastatine ou la N-acétyl-cystéine, améliorent ce dysfonctionnement artériel.

Dans la majorité des cas, elles sont dues à la présence, dans les cellules myéloïdes progénitrices, de la mutation Val617Phe dans la protéine Janus kinase 2¹ (JAK2^{V617F}) [1]. La présence de cette mutation a aussi été décrite dans les cellules endothéliales hépatiques et spléniques de patients atteints d'un syndrome myéloprolifératif avec thromboses splanchniques [2] et dans les cellules souches endothéliales circulantes [3].

Les accidents cardio-vasculaires sont la première cause de morbidité et de mortalité chez les patients atteints d'un syndrome myéloprolifératif, et ils révèlent la maladie chez environ 30 % d'entre eux [1]. Les accidents artériels représentent 60 à 70 % de ces événements [1], et peuvent survenir en l'absence de lésion d'athérosclérose. Ainsi, aucune sténose coronarienne significative n'est mise en évidence chez 21 % des patients atteints d'infarctus du myocarde dans un contexte de syndrome myéloprolifératif [4], tandis que cette proportion n'est que de 3 % des cas d'infarctus en l'absence de syndrome myéloprolifératif [5]. Ce constat a incité la société européenne de cardiologie à recommander la recherche d'un syndrome myéloprolifératif en cas d'infarctus du myocarde sans coronaropathie obstructive. Le lien entre l'infarctus du myocarde sans coronaropathie

obstructive et les syndromes myéloprolifératifs est mal compris, mais un phénomène vasoactif (vasoconstriction locale intense) peut être suspecté [6]. Nous avons cherché à déterminer les conséquences de la mutation JAK2^{V617F} sur la réactivité artérielle [7]. Dans un premier temps, nous avons étudié la réponse artérielle vasoactive dans un modèle murin de syndrome myéloprolifératif humain. Ces souris présentent la mutation JAK2^{V617F} dans leurs cellules hématopoïétiques et endothéliales (souris HC-EC JAK2^{V617F}) et développent un syndrome myéloprolifératif avec une augmentation de la taille de la rate, un taux élevé d'hémoglobine, de plaquettes, mais aussi de globules blancs. Nous avons observé (dans l'aorte *ex vivo* et dans les artères fémorales *in vivo*) que les artères des souris HC-EC JAK2^{V617F} présentaient une contraction exagérée (hypercontractilité) en réponse à différents agents vasoconstricteurs. De plus, l'ablation de l'endothélium de l'aorte chez ces souris supprimait l'hypercontractilité [7]. Ainsi, la mutation JAK2^{V617F} dans les cellules endothéliales et hématopoïétiques augmente fortement la réponse artérielle aux agents vasoconstricteurs, d'une manière dépendante de l'endothélium vasculaire. Pour déterminer si cette hypercontractilité artérielle était due à la présence de JAK2^{V617F} dans les cellules endothéliales ou dans les cellules hématopoïétiques, nous avons tout d'abord généré des souris mutantes exprimant JAK2^{V617F} uniquement dans

les cellules endothéliales (souris EC JAK2^{V617F}). Aucune différence de réponse artérielle aux agents vasoconstricteurs entre ces souris et les souris témoins n'a été observée. Nous avons ensuite généré des souris exprimant JAK2^{V617F} uniquement dans les cellules hématopoïétiques, en transplantant de la moelle osseuse des souris HC-EC JAK2^{V617F} chez des souris de génotype « sauvage ». Ces souris ont alors développé un syndrome myéloprolifératif et présentaient une réponse artérielle accrue aux agents vasoconstricteurs [7]. Ces résultats ont donc démontré que la présence de la mutation JAK2^{V617F} dans les cellules hématopoïétiques, et non dans les cellules endothéliales, est responsable de l'hypercontractilité artérielle. Nous avons ensuite cherché à identifier les médiateurs responsables de cette hypercontractilité. Des microvésicules circulantes, de diamètre compris entre 0,1 et 1 µm, sont produites par les cellules du sang à la suite de différents stimulus. Ces vésicules extracellulaires sont des vecteurs d'information biologique et participent à la communication intercellulaire. Elles contribuent au dysfonctionnement vasculaire dans plusieurs maladies [8]. Nous avons donc incubé *ex vivo* des aortes de souris C57BL/6 de génotype « sauvage » avec des microvésicules provenant du plasma de patients porteurs de la mutation JAK2^{V617F} dans leurs cellules hématopoïétiques. Nous avons alors découvert que la présence de ces microvésicules était capable de reproduire la réponse

¹ La Janus kinase 2 est une tyrosine kinase impliquée dans plusieurs voies de signalisation, responsables notamment de la survie et de la prolifération cellulaires.



artérielle accrue aux agents vasoconstricteurs précédemment observée chez les souris HC-EC $Jak2^{V617F}$. Nous avons montré que seules les microvésicules de globules rouges contenant la protéine mutée $JAK2^{V617F}$ reproduisaient cette réponse. Les microvésicules provenant de plaquettes, de granulocytes neutrophiles et de cellules mononucléées n'avaient en revanche aucun effet [7]. Enfin, nous nous sommes intéressés au message transmis aux cellules endothéliales par ces microvésicules de globules rouges. Nous avons montré que l'augmentation de la contraction artérielle observée chez les souris HC-EC $Jak2^{V617F}$ résulte d'une inhibition de la voie de synthèse du monoxyde d'azote (NO) dans les cellules endothéliales. Nous avons également évalué la production d'espèces réactives de l'oxygène, connues pour inhiber l'activité de la NO synthase endothéliale et réduire la biodisponibilité du NO [9]. Nous avons observé que l'endothélium de l'aorte des souris HC-EC $Jak2^{V617F}$, ainsi que celui des aortes incubées avec des microvésicules de globules rouges $JAK2^{V617F}$, produisaient plus d'espèces réactives de l'oxygène que l'endothélium de l'aorte des souris témoins. De plus, le traitement des souris HC-EC $Jak2^{V617F}$ avec un antioxydant, la N-acétyl-cystéine, normalisait la contraction artérielle en réponse aux agents vasoconstricteurs [7]. Pour identifier le médiateur responsable de cette augmentation du stress oxydant dans les cellules endothéliales, nous avons réalisé une analyse protéomique des microvésicules de globules rouges. Toutes les protéines impliquées dans la production des espèces réactives de l'oxygène ont été analysées, et

nous avons trouvé que la quantité de myéloperoxydase était beaucoup plus élevée dans les microvésicules de globules rouges $JAK2^{V617F}$ que dans celles de globules rouges témoins. L'implication de cette enzyme dans le stress oxydant endothélial a été confirmée en l'inhibant dans les microvésicules de globules rouges $JAK2^{V617F}$: l'incubation des cellules endothéliales avec ces microvésicules n'a pas entraîné d'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène [7].

En raison de l'implication du stress oxydant dans l'hypercontractilité artérielle, nous avons alors étudié l'effet d'un traitement par la simvastatine, car ce médicament, qui est utilisé contre l'hypercholestérolémie, améliore également la fonction endothéliale en augmentant la production de NO et sa biodisponibilité, et prévient les dommages causés par le stress oxydant [10]. Chez les souris HC-EC $Jak2^{V617F}$, le traitement par la simvastatine pendant 14 jours a considérablement diminué la réponse artérielle aux agents vasoconstricteurs [7]. En conclusion, nous avons montré que les microvésicules dérivées de globules rouges $JAK2^{V617F}$ sont responsables d'une contraction artérielle accrue dans les syndromes myéloprolifératifs. Cet effet est dû à la myéloperoxydase contenue dans ces microvésicules, qui provoque un stress oxydant dans les cellules endothéliales en augmentant la production d'espèces réactives de l'oxygène (Figure 1). La simvastatine apparaît comme une nouvelle approche thérapeutique prometteuse, justifiant des études complémentaires, pour prévenir les événements artériels indésirables dans les syndromes myéloprolifératifs avec

mutation $JAK2^{V617F}$. Alors que jusqu'à maintenant, ces accidents vasculaires n'étaient considérés que comme le résultat de processus thrombotiques, notre démonstration du rôle de la contraction artérielle dans la survenue de ces accidents ouvre de nouvelles perspectives pour la prise en charge de ces patients. ♦

Microvesicles derived from $JAK2^{V617F}$ erythrocytes induce arterial spasms in myeloproliferative neoplasm

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood* 2013; 122 : 2176-84.
2. Rosti V, Villani L, Riboni R, et al. Spleen endothelial cells from patients with myelofibrosis harbor the $JAK2^{V617F}$ mutation. *Blood* 2013; 121 : 360-8.
3. Helman R, Pereira WO, Marti LC, et al. Granulocyte whole exome sequencing and endothelial $JAK2^{V617F}$ in patients with $JAK2^{V617F}$ positive Budd-Chiari syndrome without myeloproliferative neoplasm. *Br J Haematol* 2018; 180 : 443-5.
4. Pósfai É, Marton I, Borbényi Z, et al. Myocardial infarction as a thrombotic complication of essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Anatol J Cardiol* 2016; 16 : 397-402.
5. Larsen AI, Galbraith PD, Ghali WA, et al. Characteristics and outcomes of patients with acute myocardial infarction and angiographically normal coronary arteries. *Am J Cardiol* 2005; 95 : 261-3.
6. Crea F, Libby P. Acute coronary syndromes: the way forward from mechanisms to precision treatment. *Circulation* 2017; 136 : 1155-66.
7. Poisson J, Tanguy M, Davy H, et al. Erythrocyte-derived microvesicles induce arterial spasms in $JAK2^{V617F}$ myeloproliferative neoplasm. *J Clin Invest* 2020; 130 : 2630-43.
8. Boulanger CM, Loyer X, Rautou PE, et al. Extracellular vesicles in coronary artery disease. *Nat Rev Cardiol* 2017; 14 : 259-72.
9. Teng N, Maghzal GJ, Talib J, et al. The roles of myeloperoxidase in coronary artery disease and its potential implication in plaque rupture. *Redox Report* 2017; 22 : 51-73.
10. Sen-Banerjee S, Mir S, Lin Z, et al. Kruppel-like factor 2 as a novel mediator of statin effects in endothelial cells. *Circulation* 2005; 112 : 720-6.



Tarifs d'abonnement m/s - 2021

Abonnez-vous
à *médecine/sciences*

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement
page 418 dans ce numéro de m/s

