

# Les chimiokines et la longue marche des leucocytes

**Arnaud Foussat  
Pierre Galanaud  
Dominique Émilie**

A. Foussat, P. Galanaud, D. Émilie: Inserm U. 131 et Service de médecine interne et d'immunologie clinique, Hôpital Antoine-Béclère, Institut Paris-Sud sur les cytokines, 157, rue de la Porte-de-Trivaux, 92140 Clamart, France.

► Pour exercer leurs fonctions de surveillance et de défense contre les agents pathogènes, les cellules du système immunitaire doivent en permanence circuler dans l'organisme. Ce trafic est très finement contrôlé. Aux phénomènes migratoires spontanés, observés chez le sujet sain, se superpose le recrutement massif de leucocytes mobilisés en un site donné pour y faire face à une agression. La régulation de ces mouvements leucocytaires dépend en grande partie de la production de cytokines d'activité chimio-attractrice, les chimiokines, et de l'expression des différents récepteurs de chimiokines par les leucocytes. Cette régulation conjointe de l'expression des chimiokines et de leurs récepteurs guide les migrations des leucocytes dans les tissus, chaque type cellulaire migrant au bon endroit au bon moment pour exercer les fonctions de surveillance et de combat qui lui sont spécifiques. ◀

**L**e système immunitaire exerce, face aux agents infectieux et aux cellules tumorales, une mission de surveillance et une mission de combat. Pour s'acquitter de sa mission de surveillance, il fait appel à des cellules « sentinelles » et à des cellules « patrouilleuses ». Les cellules sentinelles, que sont les cellules dendritiques et une sous-population lymphocytaire T, sont situées aux frontières de l'organisme, au niveau de la peau et des muqueuses. Si un intrus tente d'envahir l'organisme, les cellules dendritiques alertent le système immunitaire en apportant jusqu'aux organes lymphoïdes les caractéristiques de l'intrus, sous forme de peptides immunogènes. Les cellules patrouilleuses circulent dans l'ensemble de l'organisme et ont un contact privilégié soit avec les organes non lymphoïdes dans le cas des granulocytes, des macrophages, des lymphocytes mémoires et des cellules *natural killer* (NK), soit avec les organes lymphoïdes, dans le cas des lymphocytes naïfs [1-4]. Une fois mis en alerte, le système immunitaire, pour effectuer sa mission de combat et éliminer l'intrus, déclenche une réaction inflamma-

toire locale qui permet le recrutement, à partir du sang, de leucocytes. Ensuite, une fraction importante des lymphocytes effecteurs dont le nombre s'est considérablement accru au cours de ce processus immunitaire migre vers les tissus périphériques pour y « mourir de vieillesse ». Cette mort périphérique permet de mettre un point final à la réponse immunitaire, et permet un retour à une taille normale de la population récemment stimulée, population qui est composée essentiellement par les cellules mémoires spécifiques de l'antigène [5, 6]. Cette involution partielle des clones stimulés libère la place pour l'expansion clonale d'autres cellules, induite par la rencontre avec d'autres antigènes. Ainsi, c'est grâce au mouvement perpétuel des cellules qui le composent que le système immunitaire exerce ses fonctions d'inspection et de combat. De même qu'il a développé des systèmes très sophistiqués de reconnaissance du soi et du non-soi, le système immunitaire a établi des règles strictes de migration leucocytaire, qui conduit chaque cellule à l'endroit précis de l'organisme où elle doit exercer la fonction pour laquelle elle est spécialisée.

## Le trafic des cellules immunitaires dans l'organisme

Le déclenchement de la réponse immunitaire dépend d'un phénomène aléatoire: la rencontre d'une cellule présentant l'antigène, sous forme de peptides, et d'un lymphocyte T possédant un récepteur spécifique pour l'un de ces peptides. Les lymphocytes T répondant à ce critère de spécificité pour un peptide donné sont extrêmement minoritaires au sein de la population globale des lymphocytes T de l'organisme, ce qui diminue considérablement la probabilité de leur rencontre avec la cellule présentatrice d'antigènes. Ce handicap est compensé par l'intensité des phénomènes migratoires, qui permet de mettre en contact en un temps limité un nombre considérable de cellules présentatrices d'antigènes et de lymphocytes T différents.

### La migration des cellules présentatrices d'antigènes

Cette population cellulaire est principalement représentée par les cellules dendritiques. Lorsque les cellules dendritiques sont mises en contact avec une substance immunogène, deux phénomènes contemporains se développent: la capture et l'aprétement des

motifs immunogènes par la cellule dendritique, et l'induction d'une réaction inflammatoire locale. Les cytokines pro-inflammatoires produites dans cette circonstance entraînent l'arrêt de l'expression, par la cellule dendritique, de certains récepteurs de chimiokines [7, 8]. Les cellules dendritiques se « décrochent » de leur site de résidence, et sont entraînées dans les vaisseaux lymphatiques vers les « zones T » des organes lymphoïdes secondaires, qui, comme leur nom l'indique, sont riches en lymphocytes T. Ainsi, l'inflammation d'un tissu a pour conséquence la présentation de peptides antigéniques dans le ganglion de drainage (*figure 1A*).

### La migration des lymphocytes T

Les lymphocytes T se répartissent en lymphocytes T naïfs et lymphocytes T mémoires, selon qu'ils ont ou non déjà rencontré l'antigène pour lequel ils sont spécifiques.

Un lymphocyte naïf recircule une à deux fois toutes les 24 heures entre le sang et les organes lymphoïdes secondaires (*figure 1B*) [2, 4]. Chez l'homme, on estime le nombre de lymphocytes naïfs recrutés par les organes lymphoïdes secondaires à  $3 \times 10^{10}$  cellules par jour. Ces cellules passent du sang vers les ganglions par les veinules postcapillaires, et elles se

retrouvent ainsi dans la zone T du ganglion. C'est là qu'elles peuvent entrer en contact avec la cellule dendritique venue leur présenter des peptides antigéniques. Si le lymphocyte T naïf ne possède pas le récepteur spécifique pour ce peptide, ce qui est le plus souvent le cas, il quitte le ganglion par les vaisseaux lymphatiques efférents, puis rejoint le flux sanguin au niveau du canal thoracique. Il peut alors migrer à nouveau vers un autre organe lymphoïde. Il n'a en revanche aucun tropisme pour les tissus périphériques non lymphoïdes [1, 3, 4]. Si, lors de son contact intraganglionnaire avec une cellule dendritique présentatrice de peptides, le récepteur lymphocytaire T reconnaît ce peptide, il s'arrête et adhère durablement à la cellule présentatrice. Plusieurs heures plus tard, les deux cellules se séparent, et le lymphocyte T, devenu activé, ou « effecteur », quitte le ganglion par les mêmes voies qu'un lymphocyte T naïf. Il a toutefois acquis des propriétés migratoires différentes, qui le dirigent électivement vers les tissus périphériques non lymphoïdes, surtout s'ils sont inflammatoires (*figure 1C*). Il peut alors exercer ses fonctions effectrices au contact d'éventuels agents pathogènes ou de cellules tumorales.

Une fraction des lymphocytes T qui ont été activés lors de ce premier contact avec l'antigène va survivre durablement. Il s'agit des lymphocytes T mémoires. Comme les cellules T naïves, ils sont au repos. Cependant, leurs propriétés migratoires sont différentes de celles des lymphocytes T naïfs. Une fraction des lymphocytes T mémoires peut certes être recrutée dans les zones T des organes lymphoïdes par les veinules post capillaires, comme les lymphocytes T naïfs. Ils pourront y être éventuellement restimulés par des cellules présentatrices d'antigènes, si celles-ci présentent le même peptide que lors du premier contact. A la différence des lymphocytes T naïfs, cependant, les lymphocytes T mémoires migrent essentiellement vers les tissus périphériques non lymphoïdes (*figure 1D*) [1, 3, 4]. Cette migration n'est pas aléatoire, car les lymphocytes T mémoires sont prédestinés pour migrer vers un organe plutôt que vers un autre. Par exemple, les lymphocytes T mémoires migrant vers la peau appartiennent à une sous-population différente de

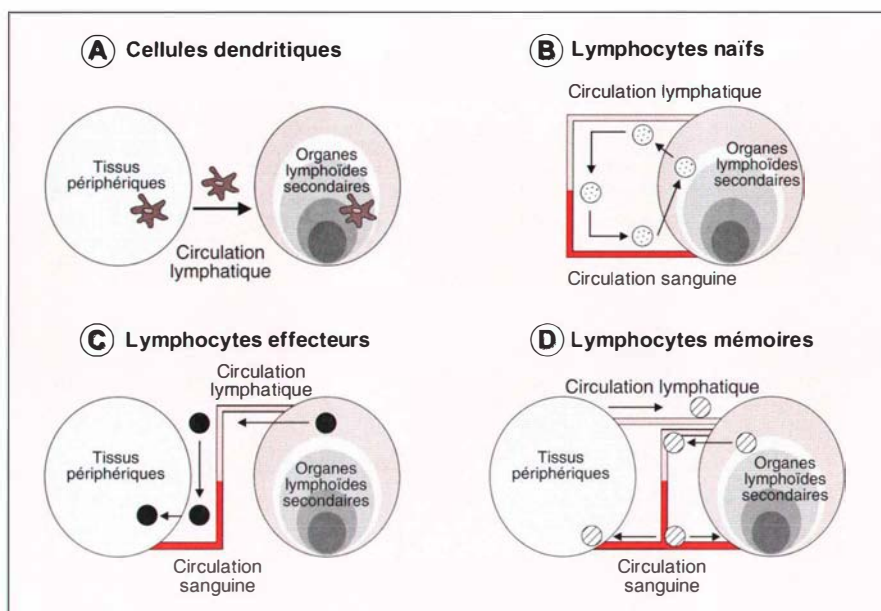


Figure 1. **Circulation leucocytaire.** Migration des cellules dendritiques (A), des lymphocytes naïfs (B), effecteurs (C) et mémoires (D).



celle des lymphocytes T mémoires migrant vers l'intestin [9-11] (*m/s* 1994, n° 8-9, p. 892). Dans les muqueuses, une fraction des lymphocytes T mémoires va élire domicile et y résider durablement. Cependant, les lymphocytes T mémoires poursuivent habituellement leur migration en suivant le flux lymphatique qui les conduit, par les vaisseaux lymphatiques afférents, vers les organes lymphoïdes, où ils peuvent entrer en contact avec des cellules dendritiques ou rejoindre le flux sanguin par les vaisseaux lymphatiques efférents.

Le nombre des lymphocytes T effecteurs ou mémoires qui quittent quotidiennement le flux sanguin pour les tissus périphériques est considérable: on l'estime à  $5 \times 10^{11}$  cellules chez un être humain sain [4]. Ce nombre élevé s'explique par l'étendue des tissus concernés par cette migration. Le flux de lymphocytes T qui migrent dans un tissu donné et sain reste limité. Cela n'est plus le cas lorsque le tissu est le siège d'une réponse immunitaire. Les cytokines pro-inflammatoires qui sont alors produites localement activent les cellules endothéliales, ce qui provoque un afflux massif de lymphocytes T, effecteurs et mémoires.

Ainsi, il existe une circulation permanente des cellules de l'immunité chez un individu sain. L'activation du système immunitaire, par l'intermédiaire de la production de cytokines pro-inflammatoires qui l'accompagne, en particulier de  $\text{TNF}\alpha$  (*tumor necrosis factor*), bouleverse ces phénomènes migratoires, avec un double objectif: (1) favoriser la rencontre entre cellules présentatrices d'antigènes et lymphocytes T, naïfs ou mémoires, dans les zones T des organes lymphoïdes; (2) orchestrer le recrutement des lymphocytes T, effecteurs ou mémoires, et des autres leucocytes, au niveau des tissus inflammatoires.

## Les mécanismes de la migration leucocytaire

### La chimiotaxie, la chimiokinèse

Certains phénomènes migratoires semblent passifs: la cellule se laisse entraîner par le flux lymphatique afférent vers l'organe lymphoïde, ou par le flux lymphatique efférent vers le sang. En fait, cette migration passive

est déclenchée par la disparition d'un signal de rétention, qui permettait à cette cellule de « rester accrochée » à un compartiment tissulaire. Ce mécanisme a déjà été évoqué pour les cellules dendritiques [7, 8]. Cette régulation négative de l'expression de récepteurs membranaires est probablement aussi importante que la régulation positive pour comprendre le mécanisme des flux cellulaires.

D'autres étapes de la migration cellulaire sont actives, impliquant des réarrangements du cytosquelette permettant à la cellule de se mouvoir [12]. Ce mouvement cellulaire dépend de deux phénomènes complémentaires, la chimiokinèse et la chimiotaxie.

On appelle chimiokinèse la migration aléatoire, non orientée, des cellules. La chimiokinèse peut être induite par des cytokines, des hormones ou l'acide arachidonique, et ne nécessite pas la formation d'un gradient chimique attractif [13]. Au contraire, il y a chimiotaxie lorsque la migration des cellules est orientée vers la source de production de la molécule chimio-attractive. Ce phénomène est induit de manière spécifique par les chimiokines, qui agissent à deux niveaux: lors du recrutement de la cellule à par-

tir de la lumière vasculaire, puis lors de la migration intratissulaire de cette cellule, comme nous le reverrons.

Chimiokinèse et chimiotaxie sont synergiques, comme le montrent des expériences réalisées *in vitro*. Par exemple, la figure 2 schématise l'effet *in vitro* de deux molécules sur la migration des polynucléaires éosinophiles: l'interleukine-5 (IL-5), qui induit la chimiokinèse, et l'éotaxine, qui induit la chimiotaxie. Cette synergie semble exister également *in vivo*, et elle expliquerait au moins en partie pourquoi un recrutement tissulaire optimal d'éosinophiles, par exemple, requiert la production simultanée d'IL-5 et d'éotaxine, tandis que l'une ou l'autre cytokine, utilisée isolément, est peu efficace [14]. Ces observations suggèrent que lorsque la mobilité cellulaire non orientée (chimiokinèse) est induite, la réponse aux chimiokines est facilitée, permettant un recrutement cellulaire accru.

### Le recrutement tissulaire des leucocytes à partir du sang

Ce recrutement nécessite le passage des leucocytes à travers une barrière de cellules endothéliales. Cette migration transendothéliale fait intervenir

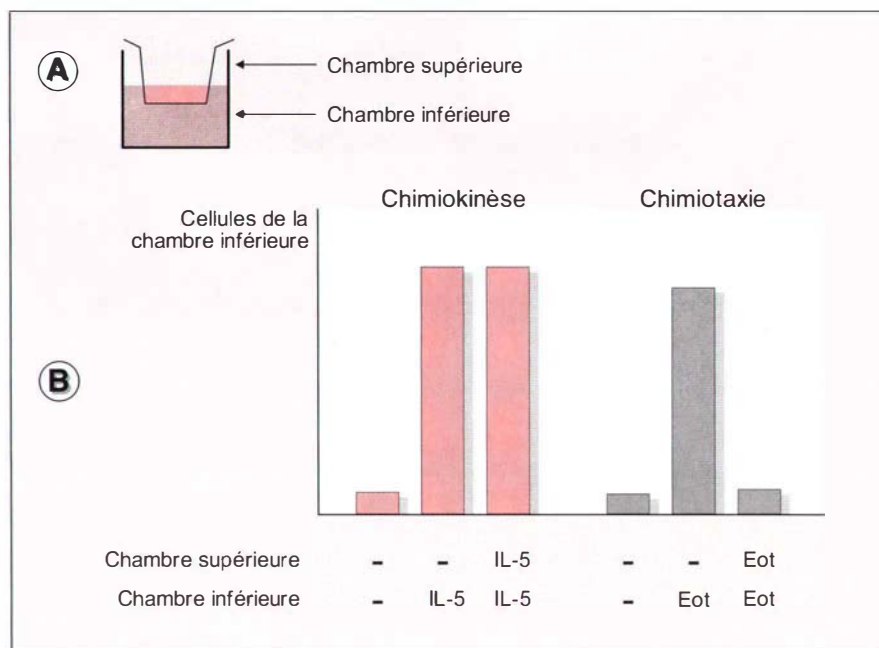


Figure 2. **Chimiokinèse et chimiotaxie.** A. Test de migration *in vitro*. Les cellules à tester sont déposées dans la chambre supérieure, tandis que la chimiokine (Eot: éotaxine) et/ou l'inducteur de chimiokinèse (IL-5) est ajouté dans la chambre inférieure. B. Le nombre des cellules passant de l'une à l'autre est évalué.

quatre étapes successives (figure 3): (1) le roulement (*rolling*), que contrôlent des molécules de la famille des intégrines et/ou des sélectines (présentes à la surface des leucocytes) et leurs ligands (présents à la surface des cellules endothéliales) (voir ce numéro p. 767). L'interaction entre le leucocyte et la cellule endothéliale lors du roulement est faible et réversible: le leucocyte ne « flotte » pas dans le torrent circulatoire, mais il roule sur l'endothélium, poussé par le flux sanguin; (2) l'activation des intégrines leucocytaires induite par des chimiokines: le leucocyte qui roule entre en contact avec des chimiokines. Celles-ci sont en général produites par les cellules endothéliales elles-mêmes. Du fait de leur affinité pour les héparanes sulfate et les glycosaminoglycanes (GAG) qui tapissent le versant endoluminal de la cellule endothéliale [15, 16], les chimiokines se concentrent de manière stable sur ce versant. C'est lorsque le leucocyte qui roule sur l'endothélium s'engage sur ce tapis de chimiokines qu'est déclenchée une augmentation rapide de l'affinité des intégrines leucocytaires pour leur ligand endothélial; (3) il en résulte un

arrêt et une adhérence fermes du leucocyte sur l'endothélium, auxquels succède (4) la diapédèse: le leucocyte passe à travers l'endothélium. Cette étape est réglée par des molécules de la superfamille des immunoglobulines, dont PECAM-1 (*platelet-endothelial cell adhesion molecule*) [2, 17, 18].

#### La migration intratissulaire du leucocyte

Une fois parvenu dans l'espace sous-endothélial, le leucocyte poursuit sa migration à travers le tissu, guidé par l'existence d'un gradient de chimiokines interstitiel. A partir d'un site de production, qui correspond en général à une cellule immunitaire activée, les chimiokines diffusent dans le tissu interstitiel. Cette diffusion est toutefois vite limitée par la fixation des chimiokines sur la matrice extracellulaire, que facilite l'affinité des chimiokines pour les GAG, constituants importants de la matrice extracellulaire. Ainsi, la concentration de chimiokines fixées sur cette matrice est d'autant plus élevée que l'on se trouve à proximité du site de production. Le leucocyte est capable de percevoir ce gradient et de

migrer par étapes successives jusqu'au site de production de la chimiokine.

#### Les chimiokines et leurs récepteurs

Chaque sous-population leucocytaire possède des propriétés migratoires et une domiciliation qui lui sont propres et qui varient en fonction de son stade de maturation et d'activation. Cette extraordinaire flexibilité est possible grâce à la multiplicité des chimiokines et de leurs récepteurs, et grâce à la régulation fine de leur production [19].

#### Les chimiokines

Les chimiokines sont des protéines solubles de faible poids moléculaire (8-14 kDa), qui possèdent en général 4 cystéines conservées (Cys1 à Cys4) permettant la formation de 2 ponts disulfures, le premier entre Cys1 et Cys3, le deuxième entre Cys2 et Cys4. On distingue quatre familles de chimiokines selon le nombre d'acides aminés séparant les deux premières cystéines: (1) les CC chimiokines, où Cys1 et Cys2 sont adjacentes; (2) les CXC chimiokines, où Cys1 et Cys2

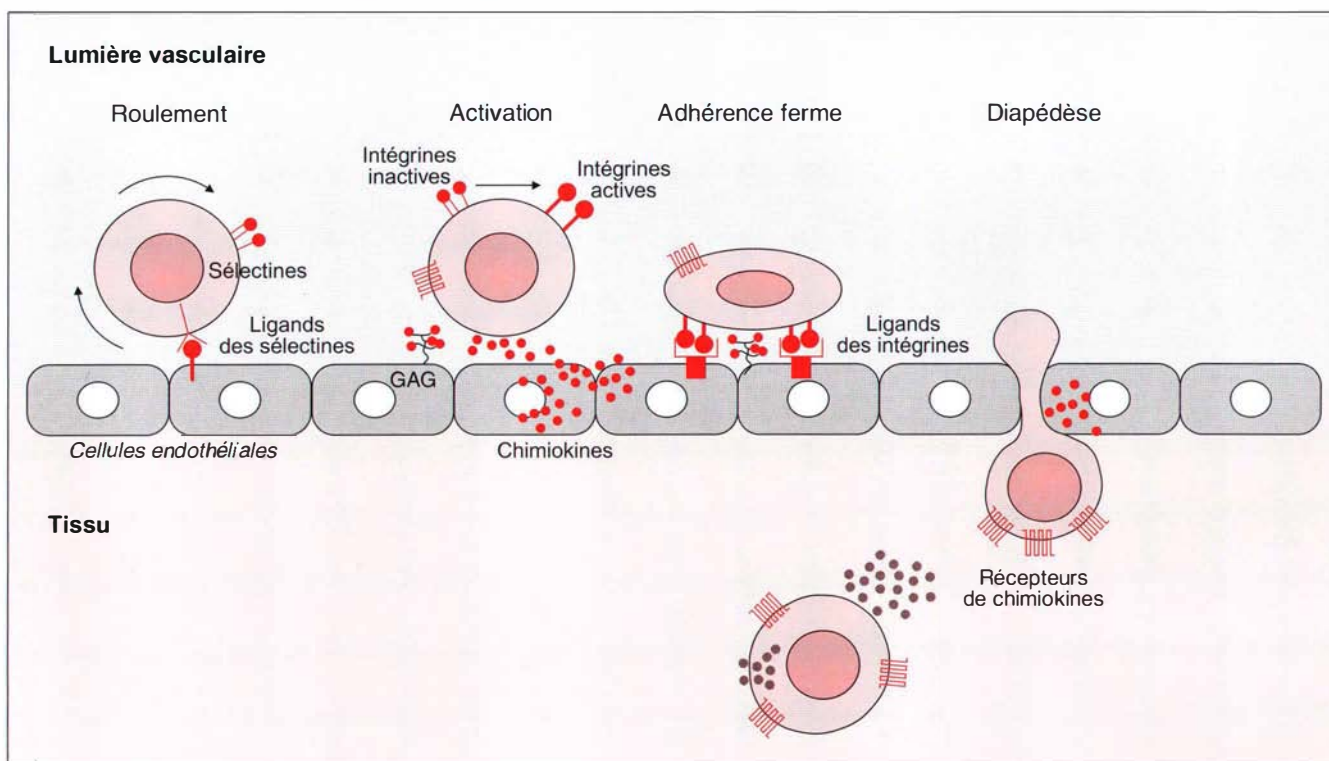


Figure 3. **Recrutement des leucocytes circulants.** Ce schéma illustre les 4 étapes successives permettant à un leucocyte circulaire de traverser la barrière endothéliale pour gagner les tissus vers les zones inflammatoires. Dans l'ordre: roulement, activation, adhérence ferme, diapédèse.



sont séparées par un acide aminé. Cette famille se compose de 15 membres qui peuvent se décomposer en deux groupes selon l'absence ou la présence d'un motif ELR (Glu-Leu-Arg) sur la portion amino-terminale de la séquence peptidique; (3) les C chimiokines. La lymphotactine est le seul membre de cette famille caractérisée par la présence de seulement deux des quatre cystéines habituellement conservées, Cys2 et Cys4; (4) les CX3C chimiokines, où Cys1 et Cys2 sont séparées par trois acides aminés. Cette famille se compose d'un membre unique, la fractalkine [20-23]. Une nouvelle nomenclature pour la dénomination des chimiokines a été récemment proposée. Les chimiokines y sont caractérisées selon leur famille, et dotées d'un numéro qui correspond à leur ordre de dépôt de séquence dans les bases de données *cytokines cDNA database* accessible sur internet\*. Par exemple, la chimiokine SLC (*second lymphoid organ chemokine*), qui a été la 21<sup>ème</sup> CC chimiokine déposée, se dénomme CCL21 (pour CC ligand n°21). Cette nouvelle nomenclature permet de regrouper sous un même vocable des chimiokines préalablement dénommées différemment par les différentes équipes qui les avaient identifiées. Le *Tableau I* expose les différentes familles de chimiokines, le nom le plus couramment utilisé pour chacune d'elles ainsi que leur nom dans la nouvelle nomenclature. Récemment, les chimiokines ont été également classées en deux groupes suivant qu'elles sont produites de manière constitutive ou induite lors d'un processus inflammatoire [21, 24]. Les chimiokines dites « constitutives » jouent un rôle dans le trafic des leucocytes chez l'individu sain, alors que les chimiokines « inductibles » sont produites lors de l'inflammation. Leur production est déclenchée par les cytokines pro-inflammatoires, interférons et TNF $\alpha$ , ou par des produits bactériens. Ces chimiokines recrutent les leucocytes mémoires ou effecteurs au site même de l'inflammation.

### Les récepteurs de chimiokines

Les récepteurs de chimiokines [20-24] appartiennent à la famille des

\* <http://cytokine.medic.kumamoto.ac.jp/CFC/CK/chemokine.html>

Tableau I	
LES CHIMIOKINES ET LEURS RÉCEPTEURS	
<b>CC chimiokine</b>	<b>Récepteurs</b>
CCL1, I-309	CCR8
CCL2, MCP-1	CCR2
CCL3, MIP-1 $\alpha$	CCR1, CCR5
CCL4, MIP-1 $\beta$	CCR5
CCL5, RANTES	CCR1, CCR3, CCR5
CCL6, C10	?
CCL7, MCP-3	CCR1, CCR2, CCR3
CCL8, MCP-2	CCR1, CCR2, CCR3, CCR5
CCL9, MIP-1 $\gamma$	?
CCL11, éotaxine	CCR3
CCL12, MCP-5	CCR2
CCL13, MCP-4	CCR2, CCR3, CCR5
CCL14, HCC-1	CCR1
CCL15, MIP-1 $\delta$	CCR1, CCR3
CCL16, HCC-4	?
CCL17, TARC	CCR4
CCL18, DC-CK1	?
CCL19, ELC	CCR7
CCL20, MIP-3 $\alpha$	CCR6
CCL21, SLC	CCR7
CCL22, MDC	CCR4
CCL23, MIP-1	CCR1
CCL24, éotaxine-2	CCR3
CCL25, TECK	CCR9
CCL26, éotaxine-3	CCR3
CCL27, skinkine	?
<b>CXC chimiokine</b>	<b>Récepteurs</b>
CXCL1	CXCR2
CXCL2, GRO $\beta$	CXCR2
CXCL3, GRO $\gamma$	CXCR2
CXCL4, PF4	?
CXCL5, ENA-78	CXCR2
CXCL6, GCP-2	CXCR1, CXCR2
CXCL7, NAP-2	CXCR2
CXCL8, IL-8	CXCR1, CXCR2
CXCL9, Mig	CXCR3
CXCL10, IP-10	CXCR3
CXCL11, I-TAC	CXCR3
CXCL13, BLC	CXCR5
CXCL14, BRAK	?
CXCL15, lungkine	?
<b>CX3C chimiokine</b>	<b>Récepteurs</b>
CX3CL1, fractalkine	CX3CR1
<b>C chimiokine</b>	<b>Récepteurs</b>
CL1, lymphotactine	XCR1

Les chimiokines soulignées représentent les chimiokines dites « constitutives ».

récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Ces récepteurs sont nommés en fonction de la famille de chimiokines

qu'ils reconnaissent. Il existe à l'heure actuelle 9 récepteurs identifiés pour les CC chimiokines (CCR1 à CCR9), 5 récepteurs pour les CXC

chimiokines (CXCR1 à CXCR5), un récepteur (XCR1) pour la lymphotactine et un récepteur (CX3CR1) pour la fractalkine (*Tableau I*).

La relation entre les chimiokines et leurs récepteurs est de type polygamique: en général, une chimiokine peut se lier à plusieurs récepteurs, et un récepteur peut se lier à plusieurs chimiokines. Par exemple, CXCR2 se lie à 7 chimiokines différentes. L'une d'entre elles, l'IL-8, peut aussi se fixer sur CXCR1. Cette apparente redondance explique pourquoi l'absence ou la non-fonctionnalité de certains gènes codant pour des chimiokines ou des récepteurs n'induisent pas nécessairement d'anomalies majeures. Ainsi, chez les Caucasiens, 1 % de la population possède à l'état homozygote une délétion du gène *CCR5* qui entraîne une absence d'expression de ce récepteur. Ces individus sont apparemment sains [25-27]. Cependant, plusieurs observations chez la souris indiquent que la redondance entre chimiokines et entre récepteurs n'est qu'apparente: le caractère indispensable d'un récepteur peut être méconnu et se révéler uniquement dans des circonstances particulières, par exemple face à un agent infectieux inhabituel. L'individu apparaît sain tant qu'il n'est pas mis en présence de cet agent.

Il existe quelques exceptions: par exemple, la CXC chimiokine SDF-1 ne se fixe que sur le récepteur CXCR4, qui ne se lie lui-même qu'à SDF-1 (relation monogamique). Cela explique pourquoi le phénotype des souris invalidées pour le gène *SDF-1* est létal et identique à celui des souris invalidées pour le gène *CXCR4* [28, 29].

### Régulation de l'expression des chimiokines

La régulation de l'expression des chimiokines diffère selon que la chimiokine est constitutive ou inducible.

Pour les chimiokines constitutives, la régulation de cette expression est spécifique du tissu. Elle n'en est pas moins très fine. Par exemple, la chimiokine SDF-1, qui est indispensable aux précurseurs lymphocytaires B, est exprimée par les cellules épithéliales des plaques ductales du foie fœtal. Les hépatocytes, qui dérivent pourtant du même précurseur que les cellules des plaques ductales, ne produi-

sent pas SDF-1. SDF-1 attirant les précurseurs lymphocytaires B, ces derniers ne sont détectés dans le foie fœtal qu'au contact des plaques ductales, à la jonction précise entre les lobules hépatiques et les espaces portes. Ils disparaîtront à la naissance, en même temps que les plaques ductales involueront [30].

La fonction des chimiokines inducibles est de signaler aux cellules circulantes l'existence d'un conflit immunitaire dans le tissu qu'elles traversent, et de les recruter localement. Une régulation de leur production, qui reflète le contexte inflammatoire local, est donc indispensable. Il n'est donc pas surprenant d'observer que les inducteurs de la production de chimiokines sont essentiellement les cytokines de l'inflammation, au premier rang desquelles l'IL-1 et le TNF $\alpha$ . D'autres cytokines de la réponse immunitaire sont également capables de participer à cette induction, agissant en synergie avec les précédentes, et jouant apparemment un rôle important dans le choix des chimiokines dont la production est stimulée. Par exemple, l'interféron  $\gamma$ , produit par les lymphocytes Th1, agit en synergie avec le TNF $\alpha$  pour induire la production de la chimiokine RANTES [31, 32], qui recrute des monocytes circulants et des lymphocytes Th1. L'interféron  $\gamma$  induit par ailleurs la production d'IP-10 (*interferon gamma inducible protein 10*), d'I-TAC (*interferon gamma inducible T cell alpha chemoattractant*) et de MIG (*monokine induced by interferon gamma*), qui recrutent également les lymphocytes Th1. Ceci explique la composition des granulomes observés lors d'une réaction d'hypersensibilité retardée, qui sont caractérisés sur le plan immunologique par une production importante de TNF $\alpha$  et d'interféron  $\gamma$ , et qui sont principalement constitués de macrophages et de lymphocytes T CD4 $^{+}$  de type Th1 (*figure 4*) [32].

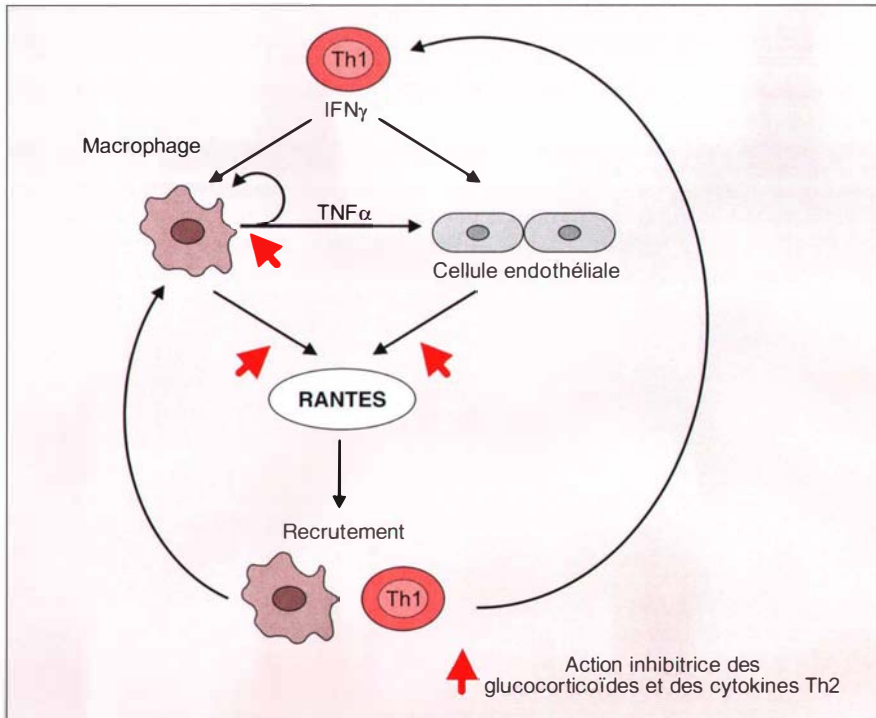
De manière intéressante, les cytokines qui stimulent la production de chimiokines sont les mêmes que celles qui stimulent l'expression des intégrines et de leurs ligands, en particulier au niveau endothélial [33]. Il existe donc au niveau des sites inflammatoires une régulation coordonnée des deux types de molécules qui optimise le recrutement des cellules circulantes.

Une réponse inflammatoire doit être limitée dans le temps et dans l'espace, afin de minimiser les lésions tissulaires qu'elle induit. La production de chimiokines est spontanément un processus auto-entretenu, par l'intermédiaire du recrutement des cellules immunitaires qu'elle entraîne et qui sont elles-mêmes source de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines. Il existe donc des mécanismes de rétro-inhibition. D'une manière générale, les glucocorticoïdes, dont on connaît le puissant pouvoir anti-inflammatoire, inhibent fortement la production de chimiokines, à la fois par un effet direct [34] et en bloquant la synthèse des cytokines pro-inflammatoires. La synthèse de chimiokines est également réglée négativement par certaines cytokines. Par exemple, les cytokines qualifiées « de type Th2 », l'IL-4 et l'IL-10, inhibent la production de la chimiokine RANTES (*figure 4*) [31, 34]. On comprend ainsi pourquoi les cytokines Th2, tout comme les glucocorticoïdes, font régresser les granulomes d'hypersensibilité retardée. Il s'agit là d'une nouvelle facette de l'équilibre entre cytokines Th1 et Th2, dont l'antagonisme s'exerce au niveau des phénomènes de recrutement leucocytaire (*m/s 1999, n°8-9, p. 1025*).

### Régulation de l'expression des récepteurs de chimiokines

Si le lieu du recrutement des leucocytes est sous la stricte dépendance de la production de chimiokines, la nature des cellules recrutées est, elle, commandée par l'expression des récepteurs par les cellules circulantes. Dans certains cas, cette expression ne dépend que du type cellulaire. Par exemple, les récepteurs CXCR1 et CXCR2 étant principalement exprimés par les polynucléaires neutrophiles, les cytokines CXC ELR $^{+}$  qui agissent électivement sur ces deux récepteurs recrutent préférentiellement ce type cellulaire. Ce lien entre nature cellulaire et profil d'expression de récepteurs de chimiokines va plus loin. Par exemple, parmi les lymphocytes T CD4 $^{+}$ , ceux qui sont de type Th1 expriment des récepteurs (CCR5, CXCR3) différents de ceux qu'expriment les lymphocytes Th2 (CCR3, CCR4, CCR8), expliquant les proprié-





**Figure 4. Le recrutement des macrophages et des lymphocytes Th1 dans les granulomes d'hypersensibilité retardée : l'exemple de la chimiokine RANTES.** Les macrophages produisent le TNF $\alpha$ , et les lymphocytes Th1 l'interféron  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ). Ces deux cytokines agissent en synergie pour induire la production de RANTES par les macrophages et les cellules endothéliales. RANTES permet le recrutement de macrophages et de lymphocytes Th1, qui perpétuent le granulome. Les glucocorticoïdes et les cytokines Th2 inhibent cette boucle auto-amplificatrice à plusieurs niveaux.

tés migratoires différentes de ces deux sous-populations [24, 35].

Le stade de maturation et le niveau d'activation de la cellule influencent également l'expression de récepteurs de chimiokines à sa surface. Par exemple, les lymphocytes T naïfs expriment le récepteur CCR7, dont les ligands (SLC, ELC) sont produits au niveau des organes lymphoïdes [24]. Cette expression disparaît lors de l'activation de ce lymphocyte par un antigène. A l'inverse, l'activation du lymphocyte par l'antigène fait apparaître de nouveaux récepteurs [35]. Cela explique pourquoi les lymphocytes T naïfs migrent électivement vers les organes lymphoïdes, au contraire des lymphocytes T effecteurs, qui migrent préférentiellement vers les tissus périphériques non lymphoïdes.

L'IL-2, produite par les lymphocytes T auxiliaires activés, est également capable d'activer les lymphocytes T et d'induire l'expression de nouveaux

récepteurs de chimiokines, qui favoriseront la migration du lymphocyte vers des sites inflammatoires [37, 38]. Le profil de récepteurs induits varie en fonction de l'agent stimulant (cytokines, antigène), indiquant que la nature de la stimulation contrôle la migration leucocytaire.

L'étude de la régulation des récepteurs de chimiokines revêt donc un intérêt considérable pour comprendre le mécanisme de fonctionnement du système immunitaire, dont l'efficacité dépend largement de sa faculté à recruter au bon endroit et au bon moment la cellule appropriée.

#### **Chimiokines et compartimentalisation tissulaire**

La migration des leucocytes ne se limite pas au seul recrutement des cellules circulantes, mais elle inclut aussi la progression cellulaire d'un compartiment à l'autre à l'intérieur d'un tissu. Cette migration est égale-

ment contrôlée par des chimiokines. Un exemple est donné par les organes lymphoïdes et leurs follicules (figure 5). Les follicules lymphoïdes sont principalement constitués de lymphocytes B, et ils contiennent également une minorité de lymphocytes T mémoires CD4 $^{+}$  spécialisés dans la coopération avec les lymphocytes B (*T helper*). Le recrutement des lymphocytes à partir du sang est dépendant de CCR7 et de ses ligands, SLC et ELC. SLC agit dans un premier temps, permettant le passage de la cellule à travers la veinule postcapillaire. Puis ELC, produite par la cellule dendritique, attire le lymphocyte. Toutes les cellules recrutées ne sont cependant pas destinées au même compartiment ganglionnaire. Une fraction des cellules reste dans la zone interfolliculaire. La migration ultérieure des autres cellules vers le follicule lymphoïde est sous la stricte dépendance de la chimiokine BLC/BCA-1 et de son récepteur CXCR5. BLC/BCA-1 est exclusivement exprimée dans le manteau des follicules lymphoïdes (*m/s* 1998, n° 5, p. 658), et CXCR5 est exclusivement exprimé par les lymphocytes B et la minorité des lymphocytes T CD4 $^{+}$  à tropisme folliculaire [39]. La migration de ces cellules du manteau vers le centre germinatif semble dépendre de 3 autres chimiokines, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  et fractalkine [40, 41]. Le recrutement des cellules intrafolliculaires se fait donc par étapes : d'abord, recrutement dans le ganglion, puis domiciliation par étapes successives dans le compartiment tissulaire choisi.

Une telle progression par étapes semble également régir la progression lymphocytaire intrathymique. Chaque compartiment thymique (vaisseaux, cortex, jonction cortico-médullaire, médulla) exprime un profil unique de chimiokines, et les lymphocytes en cours de maturation modulent l'expression de leurs récepteurs de chimiokines en fonction du stade de développement qu'ils ont atteint. On expliquerait ainsi la concordance qui existe entre la localisation intrathymique des thymocytes et leur degré de maturation : chaque fois qu'un thymocyte effectue avec succès une étape de cette maturation, il migre dans le compartiment tissulaire voisin qui lui permettra d'effectuer l'étape suivante [42].

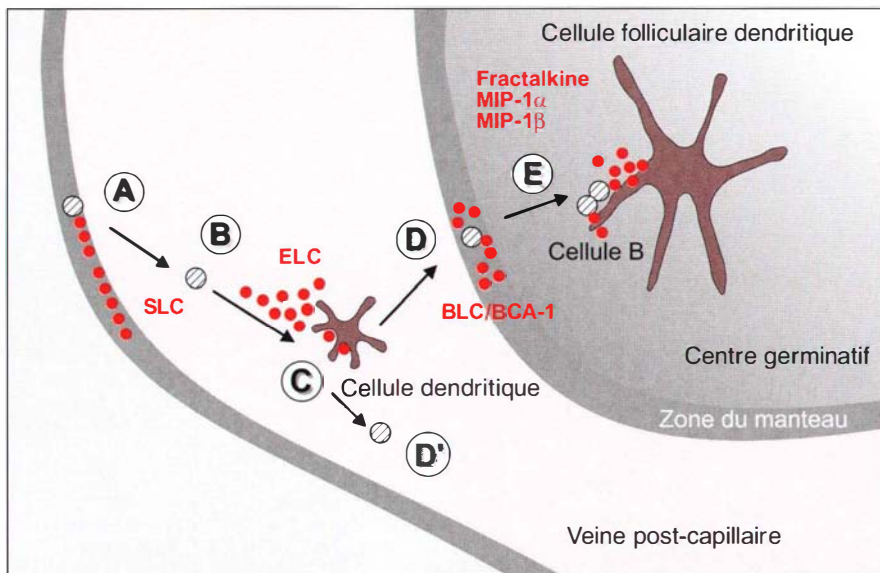


Figure 5. **Progression leucocytaire dans les organes lymphoïdes secondaires.** Les cellules circulantes (A) migrent par étape : elles traversent la barrière endothéliale sous l'action de SLC (B), puis atteignent la cellule dendritique sous l'action de ELC (C). Une fraction de ces cellules reste dans le compartiment interfolliculaire (D') tandis qu'une autre fraction migre vers le manteau du follicule sous l'action de BLC/BCA-1 (D), avant d'atteindre éventuellement le centre germinatif sous l'action de MIP-1α, de MIP-1β et de la fractalkine (E).

### Les chimiokines et leurs récepteurs, cibles thérapeutiques

La compréhension des mécanismes de la migration des leucocytes, et en particulier le rôle des chimiokines dans ce phénomène, ouvre des perspectives thérapeutiques nouvelles. En effet, inhiber ces phénomènes migratoires permettrait de corriger les effets inadaptés ou non désirés du système immunitaire. C'est le cas de toutes les pathologies inflammatoires, champ très vaste puisqu'il concerne aussi bien les rhumatismes ou les entéropathies inflammatoires chroniques que les lésions athéromateuses, ou encore les pathologies auto-immunes. Une inhibition des phénomènes migratoires, en perturbant le fonctionnement normal du système immunitaire, permettrait également de prévenir les rejets de greffe. Il s'agit donc d'une perspective thérapeutique majeure. En fait, sans le savoir, le thérapeute intervient déjà sur le recrutement leucocytaire et les chimiokines, lorsqu'il administre des glucocorticoïdes [43, 44]. Les glucocorticoïdes agissent à plusieurs niveaux. Ils inhibent directement la synthèse des chimiokines

inductibles, mais aussi la synthèse des cytokines pro-inflammatoires qui contrôlent elles-mêmes la synthèse de ces chimiokines inductibles, et l'activation lymphocytaire et la production d'IL-2, qui stimulent l'expression des récepteurs des chimiokines inductibles. Ces actions inhibitrices convergentes des glucocorticoïdes sur les recrutements leucocytaires représentent à l'évidence un mécanisme essentiel de leur remarquable action anti-inflammatoire et immunosuppressive. Les actions sont cependant globales et très peu sélectives. Aujourd'hui, l'objectif est d'exploiter les connaissances récemment acquises sur les règles de la migration leucocytaire pour développer des substances d'action très ciblée, interférant spécifiquement et uniquement avec le recrutement de la population cellulaire directement responsable de la pathologie considérée. L'administration d'anticorps monoclonaux anti-TNFα ou de récepteurs solubles du TNFα est très efficace pour limiter les phénomènes inflammatoires articulaires, au cours de la polyarthrite rhumatoïde, et digestifs, au cours de la maladie de Crohn [45, 46]. Compte tenu du rôle central du TNFα dans les

phénomènes de recrutement leucocytaire, en particulier au cours des réactions d'hypersensibilité retardée auxquelles s'apparentent la polyarthrite rhumatoïde et la maladie de Crohn, il est clair que le mécanisme de l'action bénéfique de ces antagonistes du TNFα doit probablement impliquer une inhibition des recrutements leucocytaires. L'importance de ces perspectives thérapeutiques justifie les efforts actuels des firmes industrielles pour développer des antagonistes des chimiokines et de leurs récepteurs. L'obtention de substances analogues bloquant spécifiquement un récepteur de chimiokine sans affecter les autres répondrait aux attentes des thérapeutes. L'avenir de cette nouvelle approche d'immunomodulation repose non seulement sur le développement de nouvelles molécules, mais également sur une définition précise du rôle des chimiokines et de leurs récepteurs dans chaque pathologie, domaine qui vient à peine de s'entrouvrir.

### Conclusions

Les progrès considérables accomplis en quelques années dans l'étude de la migration leucocytaire permettent sur un plan fondamental de mieux comprendre le fonctionnement du système immunitaire. Les procédés extrêmement raffinés que ce système a développés ne se limitent pas aux mécanismes de reconnaissance du soi et du non-soi ; ils incluent le trafic leucocytaire, véritable symphonie où chaque cellule joue sa partition pour migrer au bon endroit au bon moment.

Le rôle des chimiokines dans les phénomènes migratoires n'est probablement pas limité au système immunitaire. D'autres cellules sont amenées à migrer au cours de la vie, en particulier au cours de l'embryogenèse. Il est vraisemblable que ces migrations obéissent à des mécanismes similaires. D'ailleurs, on constate pour plusieurs chimiokines ou récepteurs de chimiokines que l'inactivation de leur gène affecte non seulement le système immunitaire, mais également l'organogenèse. L'étude des chimiokines et de leurs récepteurs dépasse donc le seul cadre de l'immunologie, et elle conduit à s'intéresser aux mécanismes généraux des migrations cellulaires en physiologie ■



# RÉFÉRENCES

1. Oppenheimer-Marks N, Lipsky PE. Migration of naive and memory T cells. *Immunol Today* 1997; 18: 456-7.
2. Butcher EC, Picker LJ. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 1996; 272: 60-6.
3. Mackay CR. Homing of naive, memory and effector lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 1993; 5: 423-7.
4. Westermann J, Pabst R. How organ-specific is the migration of naive and memory T cells? *Immunol Today* 1996; 17: 278-82.
5. Huang L, Soldevila G, Leeker M, Flavell R, Crispe EN. The liver eliminates T cells undergoing antigen-triggered apoptosis in vivo. *Immunity* 1994; 1: 741-9.
6. Wack A, Corbella P, Karker N, Crispe IN, Kioussis D. Multiple sites of post-activation CD8<sup>+</sup> T cell disposal. *Eur J Immunol* 1997; 27: 577-83.
7. Sallusto F, Schaerli P, Loetscher P, et al. Rapid and coordinated switch in chemokine receptor expression during dendritic cell maturation. *Eur J Immunol* 1998; 28: 2760-9.
8. Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Mantovani A. The role of chemokines in the regulation of dendritic cell trafficking. *J Leuk Biol* 1999; 66: 1-9.
9. Morales J, Homey B, Vicari AP, et al. CTACK, a skin-associated chemokine that preferentially attracts skin-homing memory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 14470-5.
10. Zabel BA, Agace WW, Campbell JJ, et al. Human G protein-coupled receptor GPR-9-6/CC chemokine receptor 9 is selectively expressed on intestinal homing T lymphocytes, mucosal lymphocytes, and thymocytes and is required for thymus-expressed chemokine mediated chemotaxis. *J Exp Med* 1999; 190: 1241-56.
11. Robert C, Kupper TS. Inflammation skin diseases, T cells, and immune surveillance. *N Engl J Med* 1999; 341: 1817-28.
12. Horwitz AR, Parsons JT. Cell migration: movin' on. *Science* 1999; 286: 1102-3.
13. Wilkinson PC. Chemotaxis and chemokinesis: confusion about definitions. *J Immunol Meth* 1998; 110: 143-4.
14. Palframan RT, Collins PD, Williams TJ, Rankin SM. Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow. *Blood* 1998; 91: 2240-8.
15. Kuschert GS, Coulin F, Power CA, et al. Glycosaminoglycans interact selectively with chemokines and modulate receptor binding and cellular responses. *Biochemistry* 1999; 38: 12959-68.
16. Amara A, Lorthioir O, Valenzuela A, et al. Stromal cell-derived factor 1-alpha associates with heparan sulfates through the first beta-strand of the chemokine. *J Biol Chem* 1999; 274: 23916-25.
17. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994; 76: 301-14.
18. Bianchi E, Bender JR, Francesco B, Pardi R. Through and beyond the wall: late steps in leukocyte transendothelial migration. *Immunol Today* 1997; 18: 586-91.
19. Samson M, Aubry F, Parmentier M. Que sont les chimiokines? *Med Sci* 1999; 15: 966-73.
20. Luster AD. Chemokines: chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998; 338: 436-45.
21. Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 1998; 392: 565-8.
22. Mantovani A. The chemokine system: redundancy for robust outputs. *Immunol Today* 1999; 20: 254-7.
23. Mackay CR. Chemokine receptors and T cell chemotaxis. *J Exp Med* 1996; 184: 799-802.
24. Sallusto F, Lanzavecchia A, Mackay CR. Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2 mediated responses. *Immunol Today* 1998; 19: 568-74.
25. Rowe PM. CKR-5 deletion heterozygotes progress slower to AIDS. *Lancet* 1996; 348: 947.
26. Dean M, Carrington M, Winkler C, et al. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. *Science* 1996; 273: 1856-62.
27. Samson M, Libert F, Doranz BJ, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996; 382: 722-5.
28. Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, et al. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature* 1996; 382: 635-8.
29. Ma Q, Jones D, Borghesani PR, et al. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derelated cerebellar neuron migration in CXCR4 and SDF-1 deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9448-53.
30. Coulomb-L'Herminé A, Amara A, Schiff C, et al. Stromal cell derived factor 1 (SDF-1) and antenatal human B cell lymphopoiesis: expression of SDF-1 by mesothelial cells and biliary ductal plate epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 8585-90.
31. Marfaing-Koka A, Devergne O, Gorgone G, et al. Regulation of the production of the RANTES chemokine by endothelial cells. Synergistic induction by IFN-gamma plus TNF-alpha and inhibition by IL-4 and IL-13. *J Immunol* 1995; 154: 1870-8.
32. Devergne O, Marfaing-Koka A, Schall TJ, et al. Production of the RANTES chemokine in delayed type hypersensitivity reactions: involvement of macrophages and endothelial cells. *J Exp Med* 1994; 179: 1689-94.
33. Meager A. Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev* 1999; 10: 27-39.
34. Marfaing-Koka A, Maravic M, Humbert M, Galanaud P, Emilie D. Contrasting effects of IL-4, IL-10 and corticosteroids on RANTES production by human monocytes. *Int Immunol* 1996; 8: 1587-94.
35. D'Ambrosio D, Iellem A, Bonecchi R, et al. Selective up regulation of chemokine receptors CCR4 and CCR8 upon activation of polarized human type 2 Th cells. *J Immunol* 1998; 161: 5111-5.
36. Sallusto F, Kremmer E, Palermo B, et al. Switch in chemokine receptor expression upon TCR stimulation reveals novel homing potential for recently activated T cells. *Eur J Immunol* 1999; 29: 2037-45.
37. Loetscher P, Seitz M, Baggiolini M, Moser B. Interleukin-2 regulates CC chemokine receptor expression and chemotactic responsiveness in T lymphocytes. *J Exp Med* 1996; 184: 569-77.
38. Zou W, Foussat A, Houhou S, et al. Acute upregulation of CCR-5 expression by CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in HIV infected patients treated with interleukin-2. ANRS 048 IL-2 study group. *AIDS* 1999; 13: 455-63.
39. Legler DF, Loetscher M, Roos RS, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Moser B. B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5. *J Exp Med* 1998; 187: 655-60.
40. Foussat A, Coulomb-L'Hermine A, Gosling J, et al. Fractalkine receptor expression by T lymphocyte subpopulations and in vivo production of fractalkine in human. *Eur J Immunol* 1999; 29: 1-12.
41. Krzysiek R, Lefevre EA, Zou W, et al. Antigen receptor engagement selectively induced macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 alpha) and MIP-1 beta chemokine production in human B cells. *J Immunol* 1999; 162: 4455-63.
42. Campbell JJ, Pan J, Butcher EC. Cutting edge: developmental switches in chemokine responses during T cell maturation. *J Immunol* 1999; 163: 2353-7.
43. Hofbauer R, Gmeiner B, Handler S, Speiser W, Kapiotis S, Frass M. Dexamethasone inhibits leukocyte migration through endothelial cells toward smooth muscle cells. *Life Sci* 1999; 64: 671-9.
44. Cumberbatch M, Dearman RJ, Kimber I. Inhibition by dexamethasone of Langerhans cell migration: influence of epidermal cytokine signals. *Immunopharmacology* 1999; 41: 235-43.
45. Charles P, Elliott MJ, Davis D, et al. Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute phase proteins following anti-TNF alpha therapy in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1999; 163: 1521-8.
46. Baert FJ, Rutgeerts PR. Anti-TNF strategies in Crohn's disease: mechanisms, clinical effects, indications. *Int J Colorectal Dis* 1999; 14: 47-51.

**ms2000****Summary****Chemokines and the long trip of leukocytes**

Cells from the immune system are involved in a dual function: the survey of invading agents, either infectious or tumoral, and the destruction of such agents. Such a role requires a constant traffic of immune cells in the body. This migration process is highly regulated. There is a spontaneous traffic of immune cells, observed in healthy individuals, allowing the detection of foreign agents, and requiring the migration of leukocytes to both lymphoid and non-lymphoid organs. In addition, inflammatory processes induced by the intrusion of a foreign agent into the body lead to the massive recruitment of immune cells at this site of invasion. The leukocyte migration events are highly regulated, through the production by tissues of cytokines with chemoattractant properties, the chemokines, and through the regulation of expression of chemokine receptors by leukocytes. The type of chemokines produced by a tissular compartment varies according to its location and to its basal or inflammatory status. The chemokine receptors expressed by a leukocyte depends on the type of this cell, its level of maturation and of activation. This combined regulation orchestrates the migration of leukocytes, allowing each immune cell to reach the good site at the good moment, so that it can perform its specific function of survey or of fight against an invading agent.

TIRÉS À PART

A. Foussat.

**ASSOCIATION DU SYNDROME DE LOWE  
ASSOCIATION FRANÇAISE DE RECHERCHE GÉNÉTIQUE  
FÉDÉRATION DE MALADIES GÉNÉTIQUES ORPHELINES****APPEL D'OFFRES ASL-AFRG 2000-2001****100 000 francs  
décernés en octobre 2000**

pour un projet de recherche d'un an (après-gène) sur le **Syndrome de LOWE**  
(Bourse de DEA ou Subvention de Recherche) selon les axes suivants :

**BIOCHIMIE**

Bases moléculaires et physiopathologie du métabolisme  
des inositols-phosphates  
Protéines recombinantes à activité phosphatase  
ou biphosphatase agissant dans les voies  
des inositois-phosphates  
Études d'expression des protéines OCRL mutantes,  
corrélations avec les mutations

**BIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT**

Études d'expression au cours du développement  
(études animales ou humaines)

**DIAGNOSTIC CLINIQUE**

Mise au point de tests biochimiques  
de dépistage d'usage clinique

**MODÈLES**

Développement de modèles cellulaires et animaux

Date limite de dépôt des dossiers :  
**15 septembre 2000**

Pour tout renseignements, retraits et dépôts des dossiers,  
s'adresser à :

Monsieur Alain BOUVET  
MAISON DES MALADIES ORPHELINES,  
5, rue Casimir-Delavigne 75006 Paris  
Tél. : 01 43 25 98 00 Fax : 01 43 54 32 56  
e-mail : mmo@afrg.org <http://www.afrg.org>