

Systeme fibrinolytique, métalloprotéases et pathologie vasculaire

Gilles Nalbone
Marie-Christine Alessi
Irène Juhan-Vague

La progression de la plaque d'athérome est un processus lent et le vaisseau s'adapte à cette modification pour préserver le plus longtemps possible ses fonctions essentielles comme une perméabilité sélective, la vasodilatation, la thromborésistance, tout en isolant de la circulation sanguine les composants extracellulaires thrombogènes de la paroi. Lorsque le vaisseau ne parvient plus à s'adapter, les signes cliniques de la maladie athéromateuse apparaissent et témoignent d'une perte des propriétés vasorelaxantes et anti-thrombogènes de la paroi, d'un rétrécissement de la lumière, conduisant à une fissuration de la plaque avec risque de thrombose occlusive. Deux systèmes protéolytiques majeurs travaillent en étroite coopération dans la paroi vasculaire pour maintenir la structure et les fonctions normales du vaisseau : le système fibrinolytique ou système plasminogène/plasmine et le système des métalloprotéases. L'intervention de ces deux systèmes et leur interaction contribuent à l'établissement des lésions pariétales responsables des accidents cardio-vasculaires.

L'athérosclérose est une maladie vasculaire inflammatoire lentement évolutive qui affecte les artères élastiques et musculaires. Les recherches de cette dernière décennie ont permis de montrer que les événements directement associés à l'athérosclérose et à ses complications (remodelage vasculaire, rupture de plaque) sont étroitement liés au métabolisme de la matrice extracellulaire à travers l'interaction qui existe entre les acti-

vités du système fibrinolytique et des métalloprotéases matricielles (MMP, *matrix metalloprotéases*) qui agissent sur cette matrice. Nous focaliserons notre revue sur les rôles du système fibrinolytique et des MMP et leurs interactions dans la pathologie vasculaire en nous appuyant sur les résultats acquis à partir de différents modèles expérimentaux de lésions vasculaires chez l'animal, en particulier la souris dont les gènes d'intérêt ont été invalidés.

ADRESSE

G. Nalbone, M.-C. Alessi, I. Juhan-Vague :
EPI 99-36, fibrinolyse et pathologie vasculaire, Faculté de médecine Timone, 27, boulevard Jean-Moulin, 13385 Marseille, France.

Le système fibrinolytique

La fibrine, issue de la transformation du fibrinogène sous l'action de la thrombine, est un constituant majeur du thrombus et elle est reconnue depuis plus d'un siècle comme un des principaux composants des lésions vasculaires. Elle représente une surface d'adhérence pour les plaquettes et les cellules de l'inflammation. Ses produits de dégradation (PDF) jouent également le rôle de facteurs chimiotactiques et ont des propriétés mitogéniques et angiogéniques. L'accumulation de fibrine dépend d'un équilibre entre les processus qui gouvernent sa formation et sa dégradation ou fibrinolyse.

La plasmine est l'enzyme directement responsable de la dégradation de la fibrine. Elle est synthétisée par le foie sous forme d'un précurseur inactif, le plasminogène, qui est activé par l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA) et l'urokinase (u-PA). Cette activité protéolytique est réglée négativement en amont par l' $\alpha 2$ antiplasmine qui s'oppose à la plasmine et par les inhibiteurs des activateurs du plasminogène de type 1 ou PAI-1.

L'activation locale du plasminogène en plasmine est responsable de l'élimination du dépôt de fibrine et de la production des PDF, mais participe également au remodelage tissulaire de part l'action protéolytique qu'exerce la plasmine sur les matrices extracellulaires, certains facteurs de croissance et les MMP (figure 1).

Les MMP et leurs inhibiteurs

Les MMP constituent une famille d'enzymes (une vingtaine environ) dont certaines sont sécrétées et d'autres membranaires (MT-MMP). Leur fonction essentielle est de dégrader les protéines de la matrice extracellulaire. Les MMP sont classées sur la base de leur spécificité vis à vis de leurs substrats (Tableau I). La famille des MMP s'est élargie avec celle des ADAM (*a disintegrin and metalloproteases*) qui combinent les caractéristiques de molécules d'adhérence et de MMP et qui sont impli-

quées dans l'activation de certains récepteurs et de précurseurs membranaires de cytokines à l'exemple du TNF α (*tumor necrosis factor α*). Notre revue concernera principalement le rôle des MMP sécrétées. Elles sont sécrétées sous la forme d'un zymogène latent qui est activé par protéolyse à l'extrémité carboxy-terminale, ce qui permet de libérer un pro-domaine et de dégager ainsi le site actif qui contient un ion zinc. La plupart des MMP sont activées par différentes protéases, dont la plasmine et, pour certaines, l'uPA, ainsi que par des ions mercuriques et certains dénaturants qui dissocient la liaison entre l'atome de zinc et le pro-domaine. L'activation intracellulaire de certaines MMP a aussi été évoquée. Possédant une activité protéasique, les MMP participent à leur propre activation. L'activité des MMP

est contrôlée par des inhibiteurs tissulaires (TIMP, *tissue inhibitor of metalloproteases*) dans un rapport stœchiométrique 1:1. Trois de ces TIMP ont été caractérisés, le gène du quatrième vient récemment d'être cloné. Les TIMP1 et 2 inhibent toutes les MMP, le TIMP1 ayant une plus forte affinité pour les MMP-1, 2, 3 et 9. L'éventail fonctionnel des MMP est, du fait de leur activité protéolytique, très large. Elles sont impliquées dans la migration cellulaire (monocytes, cellules musculaires lisses) et pourraient contrôler l'angiogenèse en convertissant le plasminogène en angiostatine qui est un inhibiteur de l'angiogenèse, mais également le processus de dissémination tumorale. L'exacerbation de l'activité des MMP à l'épaule de la plaque athéromateuse est un élément du risque de sa rupture.

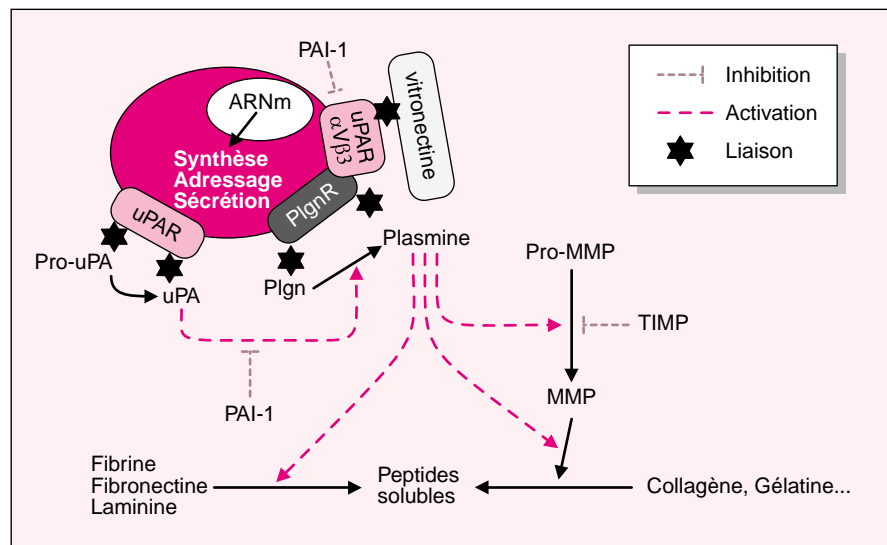


Figure 1. **Interactions entre le système fibrinolytique et les métalloprotéases.** L'uPA fixée à son récepteur (uPAR) catalyse la transformation du plasminogène en plasmine. La plasmine participe à la dégradation de la fibrine et de certaines protéines matricielles, mais aussi à l'activation de la majorité des pro-MMP. Le rôle régulateur de ces processus est assuré, d'une part, par le PAI-1 qui inhibe l'activation du plasminogène en plasmine et, d'autre part, par les TIMPs qui inhibent l'activation des pro-MMP. Par ailleurs, ce schéma montre aussi le rôle potentiel du système fibrinolytique dans l'adhérence cellulaire. L'uPAR fonctionnellement associé à l'intégrine $\alpha V\beta 3$ lie la vitronectine et joue ainsi une fonction adhésive. Le PAI-1, en liant le même domaine que l'uPAR sur la vitronectine, entre ainsi en compétition avec l'uPAR et déplace la liaison établie par ce dernier. Pro-uPA: pro-urokinase; u-PA: urokinase; u-PAR: récepteur de l'urokinase; Plgn: plasminogène; PlgnR: récepteur du plasminogène; PAI-1: inhibiteur des activateurs du plasminogène de type 1; Pro-MMP: pro-métalloprotéases; MMP: métalloprotéases; TIMP: inhibiteurs des MMP.

Tableau I. Présentation des différentes métalloprotéases matricielles.

Enzymes	N° MMP	Substrats
Gélatinases		
Gélatinase A	MMP-2	Gélatine, collagène IV, V, VII, X, et XI, élastine, fibronectine et protéoglycanes
Gélatinase B	MMP-9	Gélatine, collagène IV et V, élastine, fibronectine et protéoglycanes
Collagénases		
Collagénase interstitielle	MMP-1	Collagène I, II, III, et X, gélatine, protéoglycanes
Collagénase du polynucléaire neutrophile	MMP-8	Collagène I, II, III, protéoglycanes
Collagénase 3	MMP-13	Collagène I, II et III.
Stromélysines		
Stromélysine-1	MMP-3	Protéoglycanes, fibronectine, laminine, élastine, gélatine, collagènes II, IV, V, IV et X <i>Idem</i> MMP-3
Stromélysine-2	MMP-10	
Stromélysine-3	MMP-11	Gélatine, fibronectine, protéoglycanes
Matrilysine	MMP-7	Gélatine, fibronectine, laminine, collagène IV et protéoglycanes
Élastase macrophagique	MMP-12	Élastine
Métalloprotéases membranaires		
MT-1-MMP	MMP-14	Collagène IV, gélatine, pro-gélatinase A
MT-2-MMP	MMP-15	Collagène IV, gélatine
MT-3-MMP	MMP-16	Collagène IV, gélatine, pro-MMP-2
MT-4-MMP	MMP-17	Collagène IV, gélatine
MT-5-MMP	MMP-24	??

Système fibrinolytique et thrombose intravasculaire

Le t-PA est l'activateur plus spécifiquement impliqué dans la dégradation du caillot de fibrine intravasculaire. Il est produit par les cellules endothéliales et est libéré en permanence dans le courant circulatoire. Il est doté d'une forte affinité pour la fibrine, assurée par deux sites de fixation. L'u-PA dérive de la pro-uPA et ne possède pas de site de fixation pour la fibrine. Il est produit par différentes cellules dont la cellule endothéliale et le monocyte/macrophage. Sa contribution à la lyse du thrombus est soulignée depuis peu. L'analyse des tissus de souris chez lesquelles le gène de l'uPA a été invalidé révèle la

présence de dépôts de fibrine au niveau du foie, des intestins, de la peau. Ce phénomène se majore lorsque toute possibilité de formation de plasmine est supprimée par invalidation du gène du plasminogène ou conjointement des gènes de l'u-PA et du t-PA. Les souris déficientes en t-PA ou u-PA sont par ailleurs plus susceptibles que les souris sauvages à la survenue d'une thrombose veineuse après injection d'endotoxine ou induction d'une hypoxie. Ces animaux ont également une capacité restreinte à lyser les caillots préformés injectés dans la veine jugulaire ou l'artère pulmonaire. Les souris déficientes en plasminogène souffrent également de thrombose persistante après lésion artérielle. A l'inverse les animaux

déficients en PAI-1 sont protégés du phénomène thrombotique veineux et artériel (pour revue, voir [1]). Dans un modèle de thrombose carotidienne induite par une application locale de chlorure ferrique, la vitesse de lyse du caillot spontanée ou induite par le t-PA est fortement influencée par la présence de PAI-1 [2, 3]. Ces perturbations se corrigent après transfert des protéines recombinantes à l'aide d'adénovirus. Ainsi, l'augmentation de 100 à 1 000 fois du niveau d'expression du t-PA ou de l'u-PA prévient le phénomène thrombotique tandis que l'hyper-expression de PAI-1 réduit les capacités thrombolytiques des animaux *PAI-1^{-/-}*. Chez l'homme, les taux circulants élevés de PAI-1 rencontrés chez l'obèse résistant à l'insuline sont asso-

ciés à des taux augmentés de triglycérides et diminués de HDL et sont prédictifs de la survenue d'infarctus du myocarde [4].

Système fibrinolytique et remodelage de la paroi vasculaire

L'implication du système fibrinolytique dans l'évolution pariétale des lésions d'athérosclérose est objectivée par l'existence de dépôts de produits de dégradation de la fibrine et une expression modifiée de ses composants (u-PA, u-PAR, PAI-1) au sein de la paroi. Par exemple, chez l'homme, l'augmentation des ARNm du PAI-1 dans les vaisseaux athéroscléreux serait liée à une néovascularisation plus abondante et à une surexpression par les cellules musculaires lisses [5]. L'u-PA est l'activateur impliqué par excellence dans les phénomènes de protéolyse péricellulaire. Il se lie à un récepteur cellulaire spécifique l'u-PAR dont la fonction est de focaliser, à la surface cellulaire, la production de plasmine nécessaire à la migration cellulaire et au remodelage tissulaire. L'u-PAR, en se liant à la vitronectine, glycoprotéine adhérente, à la fois circulante et déposée dans la paroi artérielle, se comporte aussi comme une molécule d'adhérence, fonction qu'il assure en coopération avec certaines intégrines. Le PAI-1 interviendrait également dans les processus d'adhérence et de migration cellulaires non seulement par son effet antiprotéasique mais aussi par le contrôle qu'il exerce sur l'interaction entre la vitronectine, l'u-PAR et l'intégrine $\alpha_v\beta_3$. A ce niveau, le rôle du PAI-1 n'est pas encore clairement établi. En effet, en contrôlant négativement l'activité protéolytique nécessaire à la migration cellulaire, le PAI-1 ralentit celle-ci, mais par ailleurs, en reconnaissant le même domaine de la vitronectine (somatomédine B) que celui reconnu par l'u-PAR et l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, le PAI-1 entre en compétition avec ces molécules de surface au niveau des zones focales d'adhérence, et pourrait de ce fait, à fortes concentrations, déstabiliser l'adhérence et favoriser ainsi le détachement de la cellule. Ces propriétés paradoxales du PAI-1 semblent liées à sa concentration locale péricellulaire. La plasmine est par ailleurs capable d'activer et de libérer

de la matrice extracellulaire des facteurs de croissance comme le TGF β (*transforming growth factor*), le bFGF (*basic fibroblast growth factor*) et le VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Afin d'identifier plus précisément les rôles des différents composants du système fibrinolytique dans la genèse des lésions (athérosclérose, re-sténose), plusieurs modèles expérimentaux de lésion vasculaire ont été développés.

Modèles de sténose artérielle

Des modèles de dénudation de la paroi ont été développés pour tenter de reproduire certains des processus cellulaires rencontrés dans la pathologie vasculaire (épaississement intimal, migration, re-sténose...) et d'analyser le rôle du système fibrinolytique dans ces processus. C'est principalement l'application d'un choc électrique artériel qui a été utilisée. Trois semaines après l'application de ce choc au niveau de l'artère fémorale chez des souris de 6 à 8 semaines, se constitue une néointima composée en majorité de cellules musculaires lisses. La déficience en t-PA ou u-PAR n'affecte pas le développement de cette néointima. En revanche, les souris déficitaires en plasminogène, en u-PA, ou doublement déficitaires en u-PA et t-PA, présentent un épaississement intimal fortement réduit [6, 7], tandis que l'inactivation du gène du PAI-1 accélère significativement le développement des lésions [8]. Ce phénotype s'inverse totalement après transfert du gène du PAI-1 par l'intermédiaire d'un adénovirus. Des expériences complémentaires ont montré que le niveau d'activation du plasminogène induit par ces inactivations n'affectait pas la prolifération des cellules musculaires lisses mais leur migration. Des lésions similaires ont été obtenues après lésion mécanique du vaisseau. Ces données suggèrent fortement que l'inhibition de l'activité fibrinolytique pariétale puisse devenir une approche thérapeutique du phénomène de resténose secondaire à une angioplastie. Cependant, des études récentes réalisées sur l'artère coronaire de porc soumise à des lésions mécaniques, ne montrent pas de résultats probants quant à l'effet du transfert du gène du PAI-1 dans l'évolution des lésions [9].

Le rôle de la plasmine dans le processus d'infiltration leucocytaire intimal est mis en avant dans les modèles de lésions électriques artérielles chez la souris puisque, une semaine après l'induction de la lésion, les souris déficientes en plasminogène présentent une infiltration leucocytaire dans la néo-intima plus faible que celle observée chez les souris normales [6]. Ces résultats suggèrent qu'un défaut d'activation protéolytique péricellulaire freinerait les capacités migratoires du monocyte.

Modèles d'athérosclérose génétiquement induite

Les études effectuées chez les souris développant une hypercholestérolémie avec athérosclérose suite à l'inactivation du gène de l'apolipoprotéine E (*apoE*^{-/-}) ou du récepteur des LDL (*LDL-R*^{-/-}) et déficientes en facteurs du système fibrinolytique, soulignent l'impact de la plasmine dans le développement de l'athérosclérose. Deux équipes apportent des explications différentes.

Celle de Jay Degen a examiné l'effet d'une déficience du gène du plasminogène [10]. Les lésions présentes au niveau de la crosse de l'aorte, de l'aorte proximale et des carotides sont plus intenses chez les souris avec la double déficience apoE/plasminogène que chez les animaux avec une déficience unique. L'accumulation de fibrine induite par l'absence de plasmine serait à l'origine de ces effets. Cette hypothèse est renforcée par le fait que l'inactivation du gène du fibrinogène supprime tous les effets délétères accompagnant l'absence du plasminogène: défaut de croissance, défaut de cicatrisation, ulcérations du tractus gastro-intestinal [11]. Cette démonstration n'a pu être faite dans le domaine de l'athérosclérose. En effet, il faudrait pour valider cette hypothèse réaliser des triples inactivations géniques ApoE/plasminogène/fibrinogène. Une autre explication quant au rôle du système fibrinolytique dans la paroi est avancée par l'équipe de Peter Carmeliet. Ces auteurs observent chez les souris *apoE*^{-/-} soumises à un régime enrichi en cholestérol une destruction importante de la média, avec apparition de micro-anévrysmes ce qui a pour conséquence un risque de rup-

ture vasculaire. Les lésions de ce type sont associées à une forte expression d'uPA en particulier à l'embase des plaques, siège d'une forte présence de macrophages. L'étude ultrastructurale de la paroi met en évidence une fragmentation et une désorganisation des lames élastiques. Ce phénotype est supprimé par l'inactivation du gène de l'uPA [12].

Le rôle du PAI-1 dans ce type de modèle n'est pas encore clairement établi. Chez les souris *apoE^{-/-}* ou *LDL-R^{-/-}*, l'inactivation du gène du PAI-1 n'entraîne pas de modifications de l'évolution des lésions [13] avec une infiltration leucocytaire comparable à celle observée chez les souris *PAI-1^{+/+}*. Cependant, la même équipe montre dans un autre travail [14], chez les souris *PAI-1^{-/-}/ApoE^{-/-}*, que la déficience en PAI-1 ralentirait l'évolution des lésions aux niveaux des bifurcations aortiques, siège de turbulences sanguines, en y prévenant la formation de dépôts extravasculaires de fibrine. En revanche, Vaughan *et al.* [15] montrent que, chez les souris *LDL-R^{-/-}* qui abritent des monocytes déficients en PAI-1 (obtenus par transplantation de progéniteurs monocytaires *PAI-1^{-/-}*), le développement de la lésion athéromateuse est plus prononcé que chez des souris ayant des monocytes normaux. Une infiltration plus massive de la paroi par les monocytes *PAI-1^{-/-}* (protéolyse augmentée) comparée à celle des *PAI-1^{+/+}* pourrait, selon ces auteurs, expliquer ces différences.

Modèle de greffe vasculaire

Dans ce type de modèle, il apparaît que l'uPA des macrophages est nécessaire à la fragmentation des lames élastiques. Cette dernière représente un prérequis à la migration des leucocytes de l'intima vers la média et des cellules musculaires lisses de la média vers l'intima. Les leucocytes de l'hôte infiltreront l'endothélium et s'accumulent dans l'intima. Quarante-cinq jours après la transplantation, la néo-intima développée chez les souris sauvages contient dix fois plus de cellules musculaires lisses identifiées par un marquage α -actine que les souris déficientes en plasminogène. Les animaux présentent également une média nécrotique et une fragmenta-

tion sévère des lames élastiques, ce qui n'est pas le cas des souris déficientes en plasminogène [16]. Ces résultats ont été confortés par la démonstration qu'une sur-expression du PAI-1 au niveau de la greffe prévient la formation d'anévrisme et la rupture vasculaire [17]. L'ensemble de ces données concorde pour attribuer à la plasmine produite sous l'effet de l'uPA un rôle essentiel dans la dégradation des lames élastiques, phénomène permissif sur la migration des monocytes et des cellules musculaires lisses. Cette propriété du système fibrinolytique serait donc spécifique aux artères élastiques. En effet, dans un modèle de greffe veineuse (veine jugulaire externe) sur la carotide, l'épaisseur de la néointima ne diffère pas entre les souris déficientes ou non en plasminogène, probablement en raison de l'absence de barrière élastique à la migration cellulaire [18].

Interactions entre le système fibrinolytique et les métalloprotéases dans le remodelage vasculaire

Le système fibrinolytique n'est pas capable de digérer l'élastine et le collagène fibrillaire, ce qui a conduit à rechercher des enzymes intermédiaires possédant des capacités d'hydrolyse de ces protéines matricielles. Les MMP représentent des candidats de choix étant donné leur éventail de substrats (*Tableau 1*) et leur capacité à être activées *in vitro* par la plasmine. Les MMP ne sont pas ou peu exprimées de façon constitutive et sont donc détectées à de faibles niveaux dans les artères saines. Seule la MMP-2 est exprimée de façon constitutive et n'est pas activée par la plasmine. La synthèse des MMP est augmentée par la plupart des médiateurs pro-inflammatoires (TNF α , PDGF, IL-1), tandis que l'IL-10 et l'IL-4 tendent à la diminuer. Dans les plaques athérosclérotiques humaines, l'expression des MMP-1, -2, -9 et -3 et leurs inhibiteurs endogènes TIMP-1 et -2 est fortement augmentée au niveau des zones d'épaulement de la plaque [19], là où s'accumulent les macrophages et où le risque de rupture est le plus fré-

quent. Ainsi, chez la souris, les macrophages présents au sein des lésions expriment de fortes quantités de MMP-9, MMP-12, MMP-13 [12]. Elles sont toutes trois stockées dans des granules intracellulaires. Les MMP-2 et MMP-3 sont produites par les fibroblastes et les cellules musculaires lisses. Produites au niveau du pôle de migration, elles permettent aux cellules de migrer à travers le réseau matriciel et participent ainsi au remodelage tissulaire (migration des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales) ainsi qu'au processus inflammatoire en favorisant l'infiltration des monocytes dans la paroi athéromateuse.

L'intrication du système fibrinolytique avec les MMP en pathologie vasculaire est étayée par plusieurs résultats expérimentaux. Chez la souris, les MMP co-localisent avec l'u-PA au sein des plaques. L'interaction entre ces deux systèmes a été décrite lors de la migration des cellules musculaires lisses. Dans le modèle de lésion électrique vasculaire décrit précédemment, Lijnen *et al.* [20] montrent que la forte expression des MMP-2, 3, 9, 12 et 13 actives, associée à une forte activité protéolytique et à la migration des cellules musculaires lisses, est diminuée chez les souris dont le gène de l'u-PA a été invalidé. Deux études soulignent l'importance de cette interaction. Dans la première, la migration a été étudiée à partir d'explants d'aortes de singes. Après 11 jours de culture, la migration des cellules musculaires lisses est fortement inhibée par des anticorps anti-u-PA et t-PA et par un inhibiteur de MMP (le batimistat), tandis que l'ajout de plasminogène aux explants stimule la migration [21]. Dans la deuxième, le groupe de Peter Libby [22] montre, dans les CML humaines, que la plasmine et le TNF α induisent la production de MMP mais aussi du PAI-1. Ce dernier tendrait ainsi à limiter l'activation du plasminogène en plasmine et donc celle des pro-MMP en MMP actives. Le PAI-1 permettrait ainsi de maintenir un équilibre subtil entre protéolyse et anti-protéolyse. L'interaction entre ces deux systèmes est évidente aussi au niveau du macrophage. Des macrophages de souris déficientes en uPA sont incapables d'activer les pro-MMP, ce qui va dans le sens des

observations in situ montrant que, chez la souris *ApoE*^{-/-} et *u-PA*^{-/-}, l'activation des MMP-3, 9, 12, 13 produites par les macrophages est diminuée. Ce phénomène expliquerait la protection vis-à-vis des lésions vasculaires observées chez les souris doublement déficientes en apoE et u-PA.

La possibilité d'agir sur le développement des lésions vasculaires en modulant les MMP se fait jour à travers quelques résultats expérimentaux. La réalisation d'une lésion vasculaire chez des souris *TIMP-1*^{-/-} conduit à la formation d'une néointima plus importante que celle développée chez les souris témoins. De même, l'injection d'un adénovirus exprimant le TIMP-1 à des souris *ApoE*^{-/-} conduit à une réduction des lésions d'athérosclérose (-32 %), avec une accumulation de matrice extracellulaire [23]. Dans un modèle de culture d'organe, le transfert par adénovirus de TIMP-1 au niveau d'un fragment de veine saphène réduit la migration des cellules musculaires lisses et le développement de la néointima [24].

Conclusions

L'ensemble de ces résultats indique que le système fibrinolytique dans son ensemble joue un rôle fondamental dans l'évolution de la pathologie vasculaire, mais le rôle spécifique dévolu à chacun de ses composants doit être mieux précisé car il semble dépendre bien souvent du type d'induction lésionnelle et de l'espèce animale utilisée. A partir de ces connaissances, quelles sont les stratégies thérapeutiques envisageables contre les altérations vasculaires liées à l'athérosclérose ou à la formation d'anévrisme, chez l'homme ? Des espoirs semblent se dessiner avec le transfert de gène utilisant les adénovirus dans le contexte de la resténose après angioplastie avec ou sans stent, et de la néo-vascularisation. Des résultats prometteurs ont été obtenus chez l'animal, mais le problème le plus fréquemment rencontré est celui de la cytotoxicité du vecteur viral et de la stabilité de l'expression du transgène à visée thérapeutique. Des essais cliniques en phase I sont en cours, qui permettront de dire si cette thérapeutique est porteuse d'espoirs réels.

m/s n°2, vol. 17, février 2001

Sur un plan strictement médicamenteux, les inhibiteurs des MMP (batimistat, marimistat), activement étudiés en cancérologie pour contrôler l'invasion tumorale, pourraient contribuer à réduire les risques de rupture de plaque ou d'anévrisme liés à une exacerbation de l'activité protéolytique. Cependant, les premiers résultats obtenus chez la souris (athérosclérose) ou le rat (re-sténose) ne montrent pas d'effets très probants, exceptée une diminution de la dégradation de l'élastine [25]. Ces données, ajoutées au fait que ces inhibiteurs ne sont pas sans toxicité chez l'homme, laissent cette approche thérapeutique encore très incertaine en pathologie cardiovasculaire. Les statines (inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase) améliorent la fonction vasculaire par des mécanismes qui ne peuvent être expliqués uniquement par la simple baisse du cholestérol circulant. En effet, en inhibant très en amont la chaîne de synthèse du cholestérol, les statines empêchent aussi la synthèse des isoprénoïdes, qui interviennent dans des modifications post-traductionnelles des protéines G de type Rho ou Ras, et de la protéine Akt. Ces modifications expliqueraient que les statines règlent l'expression de certains gènes impliqués dans la protéolyse matricielle et la migration cellulaire. Ainsi, les statines diminuent la prolifération des cellules musculaires lisses, l'expression du facteur tissulaire et de la MMP-9 dans les macrophages humains, tandis que dans les cellules endothéliales, elles tendent à améliorer leur potentiel fibrinolytique en augmentant la synthèse de t-PA et en diminuant celle du PAI-1 [26]. Ces corrections des dysfonctionnements cellulaires pourraient rendre compte des améliorations des paramètres d'évaluation de l'atteinte vasculaire, telles que l'épaisseur media/intima, l'infiltration monocytaire, la vasoréactivité, observées chez l'homme et chez l'animal après traitement par les statines ■

RÉFÉRENCES

1. Carmeliet P, Collen D. Development and disease in proteinase-deficient mice: role of the plasminogen, matrix metalloproteinase and coagulation system. *Thromb Res* 1998; 91: 255-85.

2. Farrehi PM, Ozaki CK, Carmeliet P, Fay WP. Regulation of arterial thrombolysis by plasminogen activator inhibitor-1 in mice. *Circulation* 1998; 97: 1002-8.

3. Zhu Y, Carmeliet P, Fay WP. Plasminogen activator inhibitor-1 is a major determinant of arterial thrombolysis resistance. *Circulation* 1999; 99: 3050-5.

4. Juhan-Vague I, Alessi MC. PAI-1, obesity, insulin resistance and risk of cardiovascular events. *Thromb Haemost* 1997; 78: 656-60.

5. Chomiki N, Henry M, Alessi MC, Anfoso F, Juhan-Vague I. Plasminogen activator inhibitor-1 expression in human liver and healthy or atherosclerotic vessel walls. *Thromb Haemost* 1994; 72: 44-53.

6. Carmeliet P, Moons L, Ploplis V, Plow EF, Collen D. Impaired arterial neointima formation in mice with disruption of the plasminogen gene. *J Clin Invest* 1997; 99: 200-8.

7. Carmeliet P, Moons L, Herbert JM, et al. Urokinase-type but not tissue type plasminogen activator mediates arterial neointima formation in mice. *Circ Res* 1997; 81: 829-39.

8. Carmeliet P, Moons L, Lijnen R, et al. Inhibitory role of plasminogen activator inhibitor-1 in arterial wound healing and neointima formation: a gene targeting and gene transfer study in mice. *Circulation* 1997; 96: 3180-91.

9. Varenne O, Sinnaeve P, Gillijns H, et al. Percutaneous gene therapy using recombinant adenoviruses encoding human herpes simplex virus thymidine kinase, human PAI-1, and human NOS3 in balloon-injured porcine coronary arteries. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 1329-39.

10. Xiao Q, Danton MJ, Witte DP, et al. Plasminogen deficiency accelerates vessel wall disease in mice predisposed to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10335-40.

11. Bugge TH, Kombrinck KW, Daugherty CC, Danton MJ, Degen JL. Loss of fibrinogen rescues mice from the pleiotropic effects of plasminogen deficiency. *Cell* 1996; 87: 709-19.

12. Carmeliet P, Moons L, Lijnen R, et al. Urokinase-generated plasmin is a candidate activator of matrix metalloproteinases during atherosclerotic aneurysm formation. *Nat Genet* 1997; 17: 439-44.

13. Sjoland H, Eitzman DT, Gordon D, Westrick R, Nabel EG, Ginsburg D. Atherosclerosis progression in LDL receptor-deficient and apolipoprotein E-deficient mice is independent of genetic alterations in plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 846-52.

14. Eitzman DT, Westrick RJ, Xu Z, Tyson J, Ginsburg D. Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency protects against atherosclerosis progression in the mouse carotid artery. *Blood* 2000; 96: 4212-5.

15. Kerins DM, Fazio S, Gleaves LA, McRF Linton, Vaughan DE. Enhanced atherosclerosis in the absence of macrophage plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation* 1999; 100 (suppl I): I-696.

RÉFÉRENCES

16. Moons L, Shi C, Plopis V, Haber E, Colleen D, Carmeliet P. Reduced transplant arteriosclerosis in plasminogen-deficient mice. *J Clin Invest* 1998; 102: 1788-97.
17. Allaire E, Hasenstab D, Kenagy RD, Starcher B, Clowes MM, Clowes AW. Prevention of aneurysm development and rupture by local overexpression of plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation* 1998; 98: 249-55.
18. Shi C, Russell ME, Bianchi C, Newell JB, Haber E. Murine model of accelerated transplant arteriosclerosis. *Circ Res* 1994; 75: 199-207.
19. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493-503.
20. Lijnen HR, Lupu F, Moons L, Carmeliet P, Goulding D, Colleen D. Temporal and topographic matrix metalloproteinase expression after vascular injury in mice. *Thromb Haemost* 1999; 81: 799-807.
21. Kenagy RD, Vergel S, Mattsson E, Bendek M, Reidy MA, Clowes AW. The role of plasminogen, plasminogen activators, and matrix metalloproteinases in primate arterial smooth muscle cell migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 1373-82.
22. Lee E, Vaughan DE, Parikh SH, et al. Regulation of matrix metalloproteinases and plasminogen activator inhibitor-1 synthesis by plasminogen in cultured human vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1996; 78: 44-9.
23. Rouis M, Adamy C, Duverger N, et al. Adenovirus-mediated overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 reduces atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 1999; 100: 533-40.
24. George SJ, Johnson JL, Angelini GD, Newby AC, Baker AH. Adenovirus-mediated gene transfer of the human TIMP-1 gene inhibits smooth muscle cell migration and neointimal formation in human saphenous vein. *Hum Gene Ther* 1998; 9: 867-77.
25. Prescott MF, Sawyer WK, Von Linden-Reed J, Jeune M, Chou M, Caplan SL, Jeng AY. Effect of matrix metalloproteinase inhibition on progression of atherosclerosis and aneurysm in LDL receptor-deficient mice overexpressing MMP-3, MMP-12, and MMP-13 and on restenosis in rats after balloon injury. *Ann NY Acad Sci* 1999; 878: 179-90.
26. Lopez S, Peiretti F, Bonardo B, Juhan-Vague I, Nalbone G. Effet of atorvastatin and fluvastatin on the expression of plasminogen activator inhibitor type-1 in cultured human endothelial cells. *Atherosclerosis* 2000; 152: 359-66.

Summary

Fibrinolytic system, metalloproteinases and vascular diseases

Several experimental data obtained from gene inactivation in mice submitted to various vascular injury models (electrical arterial lesion, graft, genetic-induced atherosclerosis) suggest that the interaction between the fibrinolytic and metalloproteinase systems is critical in the development of vascular diseases. Besides its fundamental function to regulate intravascular thrombolysis, the fibrinolytic system is also intimately involved in the regulation of the matrix turnover in the vessel wall and controls in this way important cellular events, such as adhesion, migration and proliferation. This is achieved either directly through the action of plasmin on some matrix proteins such as laminin or fibronectin, or indirectly through the activation of the majority of pro-MMP into active MMP that degrade matrix proteins (laminin, collagene, elastin, gelatin...). PAI-1, independently of its antifibrinolytic property, also directly regulates adhesion and migration processes. These processes are involved in (re)stenosis and in plaque rupture, by acting more specifically on leukocyte infiltration, smooth muscle cell migration, degradation of internal elastic lamina and angiogenesis. Promising therapeutical approaches designed to limit pericellular proteolysis in arterial wall, involve gene transfer therapy and also the class of HMG-CoA reductase inhibitors (statins) that directly regulate the expression of some genes involved in this process.

TIRÉS À PART

I. Juhan-Vague.

SCIENCES DU VIVANT

LE PRIX LILIANE-BETTENCOURT
POUR LES SCIENCES DU VIVANT
ATTRIBUÉ PAR LA FONDATION BETTENCOURT-SCHUELLER
a été décerné le vendredi 8 décembre 2000
à Antonio SIMEONE

Directeur de recherche à l'Institut International de Génétique et de Biophysique du CNR de Naples, Professeur au King's College de Londres, pour ses travaux dans le domaine de l'embryogenèse moléculaire, en particulier sur l'évolution du rôle des séquences Otx dans le développement du cerveau chez l'animal et chez l'homme. Le Professeur Antonio Simeone âgé de 41 ans, de nationalité italienne, dirige actuellement le Laboratoire de Génétique et de Biophysique du CNR de Naples.

Le Prix Liliane-Bettencourt pour les Sciences du Vivant, d'un montant de € 250 000 est destiné à encourager un chercheur européen âgé de 45 ans et son équipe à poursuivre leurs recherches dans le domaine des Sciences du Vivant en prenant en compte la qualité des travaux effectués et leur caractère utile pour l'humanité. Il est réparti selon les modalités suivantes : € 50 000 pour le lauréat, le solde pour son laboratoire. Il avait été attribué en 1997 à Paolo Sassone-Corsi, Directeur de Recherche à l'Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire de l'Université Louis-Pasteur à Strasbourg, en 1998 à Marc Parmentier, directeur de Recherche à l'Institut de Recherches Interdisciplinaires à l'Université Libre de Bruxelles, et en 1999 à Jamel Chelly, Directeur de Recherche à l'Institut Cochin de Génétique Moléculaire de la Faculté de médecine Cochin Port-Royal.

• Douze Prix pour les Jeunes Chercheurs ont également été attribués à : Thierry Bordet, Isabelle Derre, Frédéric Godde, Isabelle Leblanc, Behzad Moghadaszadeh, Isabelle Perrault, Annabelle Reaux, Isabelle Reymond-Marron, Alice Roy, Jeanne Stemmelin, Aminata Toure, Carine Van Heijenoort. Ces prix, d'un montant unitaire de € 20 000 sont destinés à les aider à poursuivre leur recherche à l'étranger dans le cadre d'un stage post-doctoral, à récompenser l'excellence de leurs travaux, leur caractère utile pour les malades et leur potentiel pour l'avenir.

Le Comité Scientifique de sélection est composé des Professeurs Jean-Dausset, Prix Nobel de Médecine, François Jacob, Prix Nobel de Médecine, Fotis Kafatos (Grèce), directeur de l'EMBL, Jeff Schell (Belgique) Max-Planck Institut (Cologne), Nicole Le Douarin, Secrétaire perpétuelle de l'Académie des Sciences, Pierre Corvol, Membre de l'Académie des Sciences, Professeur au Collège de France, Alain Pomepidou, Professeur de la Faculté de Médecine Cochin-Port Royal, Pascale Briand, Directrice de l'unité 380 INSERM, Dominique Daegelen, Directrice de Recherche U.129 Inserm-ICGM, Marc Delpech, Professeur des Universités-Praticien hospitalier, Bruno Dubois, Membre de la « New-York Academy of Sciences », Marc Jeannerod, Professeur de physiologie à l'Université de Lyon, Jean-Yves Lallemand, Membre de l'Académie des sciences, Professeur à l'École Polytechnique, Pierre Potier, Membre de l'Académie des Sciences, Ketty Schwartz, Directrice de Recherche au CNRS/INSERM U. 523.

Comité Scientifique
Adresse e-mail :
p.michel@teso.net

Fondation Bettencourt-Schueller
16, place Vendôme - 75001 Paris
Adresse postale :
5, rue du 8-mai-1945
92586 Clichy Cedex
Adresse e-mail :
fondations@clymene.fr