

Mécanique et régulation de la migration kératinocytaire

Du fait du renouvellement permanent de l'épiderme, les kératinocytes sont soumis à un mouvement vertical de l'assise basale vers la couche cornée. Lors de la phase de réépithélialisation des plaies, ce mouvement essentiellement passif fait place à une importante mobilité latérale. Ce phénomène : la migration kératinocytaire, est sous la dépendance de nombreux facteurs, particulièrement les molécules de la matrice extracellulaire et les cytokines présentes dans le lit de la plaie. L'interaction entre les molécules matricielles (fibronectine, collagène, vitronectine, laminine, etc.) et les kératinocytes se fait au travers des récepteurs membranaires de la famille des intégrines. Cette interaction joue un rôle essentiel dans la migration kératinocytaire car elle assure tout à la fois l'adhérence entre les cellules et le substrat et la transmission aux cellules de signaux qui, comme ceux délivrés par les cytokines, contrôlent et modulent ce phénomène.

Denis Jullien
Yves Sarret
Catherine Stamm
Daniel Schmitt

ADRESSE

D. Jullien : étudiant en thèse. Y. Sarret : chercheur post-doctoral. C. Stamm : interne, D. Schmitt : directeur de recherche, directeur de l'U. 346 de l'Inserm. Inserm U. 346 et clinique dermatologique, hôpital Édouard-Herriot, pavillon R, 69437 Lyon Cedex 03, France.

m/s n° 4 vol. 9, avril 93

Les kératinocytes, quand ils participent au phénomène de réépithélialisation, deviennent des cellules extrêmement mobiles. La connaissance de la mécanique qui autorise cette fonction et des facteurs qui la règlent est primordiale pour comprendre de multiples phénomènes cellulaires et tissulaires impliqués dans la pathologie dermatologique courante. La peau, qui couvre en moyenne une surface de 1,7 m² chez l'adulte, est le plus volumineux compartiment de l'organisme. L'épiderme, son feuillet le plus externe, est constitué à 95 % par des kératinocytes, mais seuls ceux des couches profondes, qui sont les moins différenciés, peuvent devenir lors d'une plaie des cellules latéralement mobiles et recouvrir la perte de substance (réépithélialisation). En situation physiologique, les kératinocytes basaux reposent sur une membrane basale appelée jonction dermo-épidermique (figure 1). Cette dernière, produite majoritairement par les kératinocytes basaux mais aussi par les fibroblastes du derme sous-jacent, comporte en microscopie électronique trois zones (la *lamina lucida*, la *lamina densa* et la *sub-lamina densa*) au sein desquelles une vingtaine de molécules sont à ce jour identifiées et se répartissent de manière diffuse ou compartimentée. Les kératinocytes basaux reposent sur la *lamina lucida*, zone la plus externe riche en laminine. Au contact de cette glycoprotéine, les kératinocytes basaux établissent des structures d'adhérence forte, appelées hémidesmosomes, les rendant immobiles latéralement. En situation de plaie, les kératinocytes basaux entrent en contact avec d'autres macromolécules comme la fibronectine, le collagène I, le collagène IV, la thrombospondine

ou l'héparan-sulfate protéoglycane qui induisent la locomotion kératinocytaire (figure 1). Lors de la migration, les kératinocytes basaux sécrètent des métalloprotéases qui participent à la détersion de la plaie [1]. Diverses cytokines comme l'EGF (*epidermal growth factor*), les TGF α et β (*transforming growth factor* α et β), l'interféron γ (IFN γ) peuvent être stockées au sein de la structure en réseau de la jonction dermo-épidermique. Ces cytokines favorisent la cicatrisation et sont susceptibles de moduler le phénomène migratoire. Lors d'une plaie, la perte de substance emporte l'épiderme et la jonction dermo-épidermique entraînant une modifica-

tion profonde du microenvironnement des kératinocytes situés au bord de la lésion. La réépithélialisation de la plaie, événement précoce lors de la cicatrisation, est alors obtenue par la conjonction de deux phénomènes : la migration et la prolifération kératinocytaire. La réépithélialisation peut être mise en défaut dans certaines pathologies cutanées fréquentes comme les ulcères de jambe ou les brûlures.

Il nous a donc semblé nécessaire de faire la mise au point des connaissances sur la migration kératinocytaire. Nous étudierons en premier lieu la mécanique cellulaire qui sous-tend cette fonction, les facteurs influençant

RÉFÉRENCES

1. Sarret Y, Woodley DT, Goldberg GS, Kronberger A, Wynn KC. Constitutive synthesis of a 92-kDa keratinocyte-derived type IV collagenase is enhanced by type I collagen and decreased by type IV collagen matrices. *J Invest Dermatol* 1992 ; 99 : 836-41.
2. Mast S. Structure, movement, locomotion and stimulation in amoebae. *J Morphol Physiol* 1926 ; 41 : 347-425.
3. Rubino S, Fighetti M, Unger E, Capucinelli P. Location of actin, myosin, and microtubular structures during directed locomotion of *Dictyostelium amoebae*. *J Cell Biol* 1984 ; 98 : 282-390.
4. Allen R. A new theory of amoeboid movement and protoplasmic streaming. *Exp Cell Res* 1961 ; 8S : 17-31.
5. Fukui Y, Lynch J, Brzeska H, Korn E. Myosin is located at the leading edges of locomoting *Dictyostelium amoebae*. *Nature* 1989 ; 341 : 328-31.
6. Demma H, Dharmawardhane S, Eddy R, Hall A, Sauterer R, Warren V. Mechanism of amoeboid chemotaxis : an evaluation of the cortical expansion model. *Dev Genetics* 1990 ; 11 : 333-40.
7. Stossel TP. How cells crawl, with the discovery that the cellular motor contains muscular proteins, we can begin to describe cell motility in molecular detail. *American Scientist* 1990 ; 78 : 408-23.
8. Foscher P. Calcium and polyphosphoinositide control of cytoskeletal dynamics. *Trends Neurosci* 1989 ; 12 : 474-86.
9. Theriot JA, Mitchinson TJ. Actin microfilament dynamics in locomoting cells. *Nature* 1991 ; 352 : 126-31.

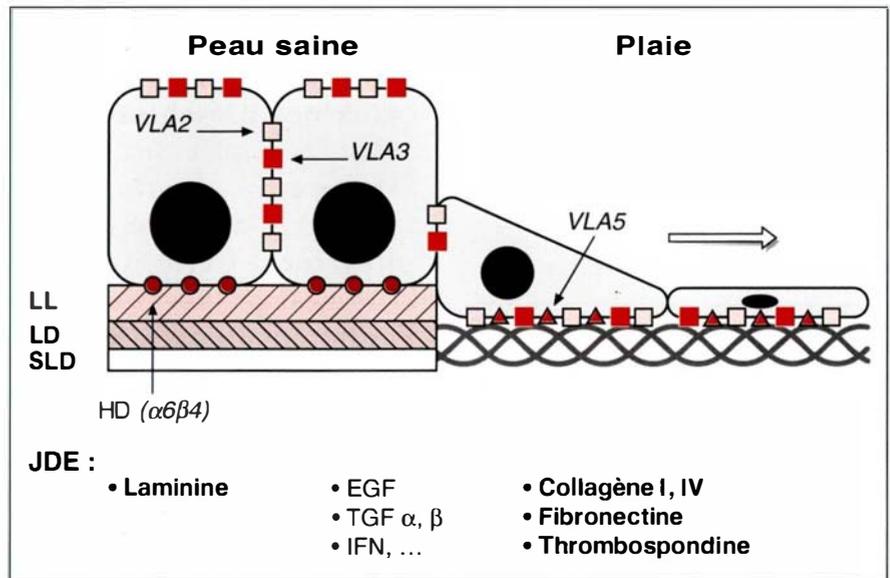


Figure 1. **Rapports des kératinocytes humains basaux en peau saine et lésée.** En peau saine, les kératinocytes basaux reposent sur la jonction dermo-épidermique au sein de laquelle on distingue en microscopie électronique trois zones : la lamina lucida (LL) riche en laminine, la lamina densa (LD) et la sub lamina densa (SLD). Les nombreuses macromolécules entrant dans la composition de cette membrane basale sont liées les unes aux autres et forment un réseau tridimensionnel en filet à l'intérieur duquel peuvent s'accumuler différentes cytokines (EGF, TGF α et β , INF γ ...). Au contact de la jonction dermo-épidermique, les kératinocytes basaux sont immobiles, ils expriment à leur pôle inférieur des structures d'adhérence forte, les hémidesmosomes (HD) comprenant l'intégrine $\alpha 6 \beta 4$, récepteur de la laminine. Les intégrines VLA2 et VLA3, récepteurs de différentes macromolécules matricielles dont les collagènes I et IV, sont exprimées préférentiellement sur les faces cellulaires apicales et latérales. En situation de plaie, le microenvironnement kératinocytaire est complètement modifié. La jonction dermo-épidermique est détruite et laisse place à un nouvel environnement matriciel servant de support à la migration kératinocytaire. Les collagènes I et IV, et la fibronectine entrent au contact des kératinocytes basaux du bord de la plaie. Ces derniers voient alors leur morphologie se modifier, la distribution de VLA2 et VLA3 n'est plus restreinte aux faces cellulaires latérales et apicales, ils expriment VLA5, récepteur pour la fibronectine, et migrent pour recouvrir la perte de substance. Ce phénomène associé à la multiplication des kératinocytes basaux correspond à la phase de cicatrisation appelée réépithélialisation.

RÉFÉRENCES

- de filaments d'actine [7, 8]. Dans des hépatocytes de poisson où l'essentiel du cytosquelette d'actine est situé dans un large et unique lamellipode antérieur, le mouvement cellulaire est directement lié à la formation de nouveaux filaments d'actine au front de migration [9].
- A l'intérieur des lamellipodes de la majorité des cellules étudiées, il existe un flux rétrograde de molécules d'actine qui est le reflet du mouvement centripète, sous forme de filaments, des monomères d'actine polymérisés dans la zone du front d'avancement (*figure 3D*) [10]. A la base des lamellipodes, les filaments d'actine sont rompus, autorisant le recyclage des monomères. Ce flux centripète de filaments d'actine pourrait fournir une force de traction s'il existait un ancrage au moins transitoire du cytosquelette d'actine à la matrice sous-jacente. Une telle fonction peut être remplie par les foyers riches en intégrines et en taline qui sont présents au bout des câbles de filaments d'actine dans les lamellipodes [11]. En effet, les intégrines sont des hétérodimères transmembranaires qui peuvent, par leur fragment cytoplasmique, se lier à l'actine *via* des composants comme la taline, l' α -actinine ou la vinculine et, par leur fragment extracellulaire, s'attacher spécifiquement à une grande variété de macromolécules matricielles.
- La zone lamellaire située en arrière des lamellipodes contient un réseau cortical de filaments d'actine ainsi que des faisceaux de filaments d'actine associés à de la myosine II appelés fibres de contrainte (*figure 3E*). Ces dernières se forment au niveau des points focaux qui sont des structures d'adhérence forte de la cellule au substrat et qui sont constitués, notamment, d'une concentration de différents types d'intégrines, de taline, d' α -actinine et de vinculine [12]. Les fibres de contrainte sont dirigées vers l'arrière de la zone lamellaire et sont désassemblées à sa base dans la région périnucléaire. Si elles peuvent se contracter, appliquer une tension sur le substrat et donc engendrer le mouvement, on doit cependant noter que leur nombre, comme celui des points focaux, est inversement corrélé à l'efficacité de la locomotion. Cette observation est à rapprocher de celle faite sur des cellules embryonnaires, montrant qu'en phase migratoire la distribution de l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$ est diffuse à la surface cellulaire et le cytosquelette désorganisé, alors qu'en phase stationnaire $\alpha 5 \beta 1$ est engagée dans des points focaux d'où naissent des structures cytosquelettiques organisées [13].
- Une autre théorie repose sur l'observation de l'existence d'un flux rétrograde continu de composants corticaux du cytosquelette sur des cellules en cours de migration (*figure 3F*) [14]. Le réseau de filaments d'actine et de myosine II, qui n'est présent qu'à la partie centrale et postérieure de la cellule, est en état de contraction permanent. Cette tension le tire vers l'arrière de la cellule, entraînant un flux rétrograde continu d'actomyosine. Au pôle postérieur de la cellule, le réseau est désassemblé pour être recyclé. Le couplage de ce réseau au substrat permet de créer une force de sens opposé qui propulse la cellule vers l'avant.
- Pour ce dernier modèle, comme pour tous ceux envisagés précédemment, la production d'une force ne débouchera sur un mouvement que si elle s'exerce par rapport au substrat environnant, c'est-à-dire uniquement si la cellule peut se fixer de manière réversible à celui-ci. Nous envisagerons plus loin la part prise par les intégrines dans cette fonction.
- Si les théories que nous venons d'envisager semblent multiples, il est en fait vraisemblable qu'il y ait redondance des systèmes autorisant un phénomène aussi fondamental que la migration cellulaire. Le mouvement résulterait alors d'une combinaison de certains des mécanismes envisagés, la prépondérance de l'un ou l'autre permettant une réponse adaptée à la situation comme par exemple l'extension polarisée de lamellipodes et de filopodes au contact d'une molécule attractante.

Facteurs modulant la migration kératinocytaire (Tableau I)

Parmi les différentes techniques étudiant la migration cellulaire, seule l'utilisation d'une caméra vidéo

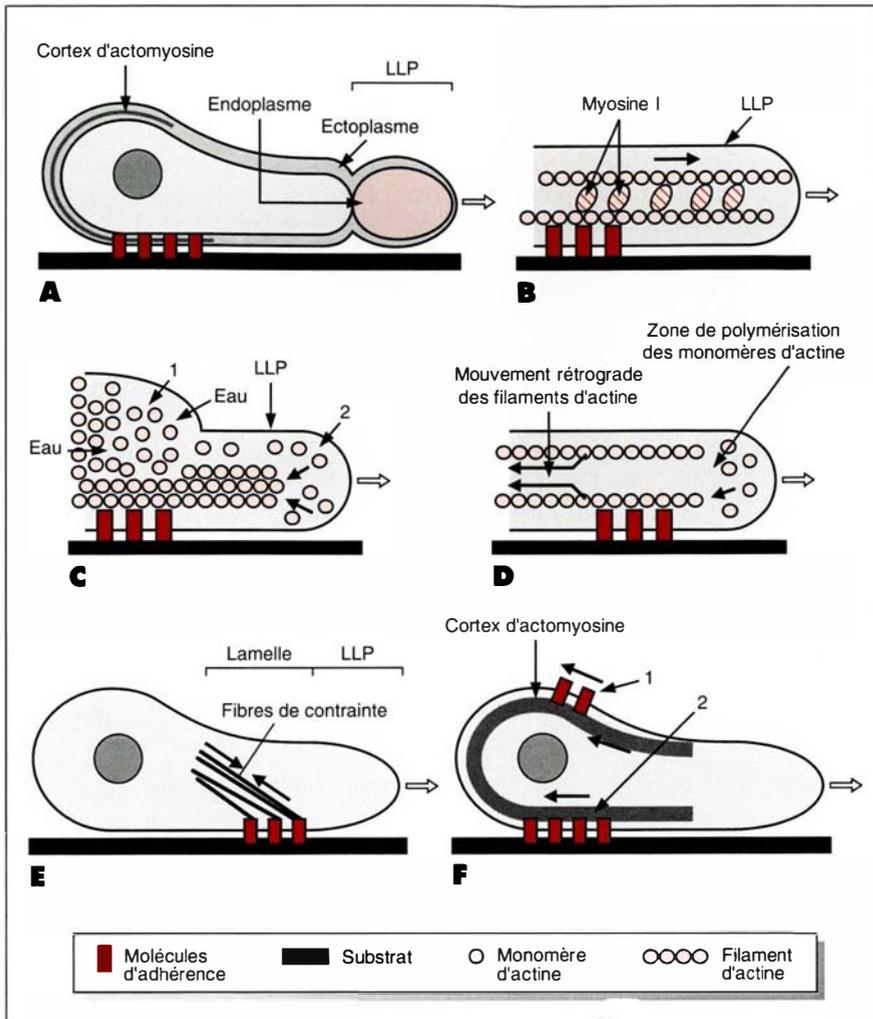


Figure 3. **Modèles de migration cellulaire.** (A) La contraction du cortex d'actomyosine à la partie postérieure de la cellule pousse vers l'avant l'endoplasme au travers de l'ectoplasme. Il y a formation d'un lamellipode (LLP) et donc protrusion du corps cellulaire vers l'avant. (B) Les molécules de myosine I permettent le glissement des filaments d'actine les uns par rapport aux autres, créant une force qui repousse le bord antérieur de la cellule. Il y a formation d'un LLP et donc protrusion du corps cellulaire vers l'avant. (C) En réponse à un signal extracellulaire local, il y a dépolymérisation du cortex d'actine (1) ce qui entraîne une augmentation locale de l'osmolarité et un appel d'eau, créant une force qui repousse la membrane plasmique. Dans un second temps, la repolymérisation des monomères d'actine sous forme de filaments (2) aboutit à stabiliser le LLP ainsi formé. (D) La polymérisation des monomères d'actine au bord antérieur de la cellule s'accompagne d'un flux rétrograde des filaments d'actine ainsi formés. L'existence d'une liaison entre ces filaments et le substrat, au travers de molécules transmembranaires, transforme ce mouvement rétrograde en mouvement antérograde du corps cellulaire. (E) Les fibres de contrainte sont susceptibles de se contracter. Elles transmettent une contrainte au substrat au travers des molécules transmembranaires présentes dans les points focaux. Il s'ensuit un déplacement antérograde du corps cellulaire. (F) Le cortex d'actomyosine présent uniquement à la partie centrale et postérieure du corps cellulaire est en état de contraction permanent créant un flux rétrograde continu d'actomyosine. Au pôle postérieur de la cellule, il est dissocié et ses éléments sont recyclés. Les protéines transmembranaires, quand elles sont liées aux éléments de ce cortex, se déplacent avec lui vers l'arrière de la cellule (1). En revanche, si elles sont en plus liées au substrat (2), une force s'exerce sur celui-ci et débouche sur un mouvement antérieur du corps cellulaire.

autorise l'étude directe sans interférences de l'effet d'une molécule sur le mouvement cellulaire. Le coût de cet équipement et son inaptitude à étudier de grands échantillons ont conduit au développement de procédés alternatifs qui souvent, hélas, observent d'autres données que la seule migration. C'est le cas des techniques mesurant l'avancement du front de migration à partir d'explants tissulaires pour lesquelles la multiplication cellulaire est un biais considérable. Les techniques comme l'*agarose drop explant* nécessitent que les cellules tolèrent l'agarose. Le *phagokinetic track assay* (figure 4), [15] et les modèles dérivés de la chambre de Boyden sont pour l'heure les meilleures alternatives à l'utilisation d'une caméra vidéo.

Les macromolécules présentes dans la jonction dermo-épidermique et celles susceptibles d'entrer en contact avec les kératinocytes lors d'une plaie ont été particulièrement étudiées *in vitro*. La laminine inhibe de manière dépendante de sa concentration la migration induite par d'autres macromolécules comme le collagène IV, cet effet nécessite la structure intacte de la molécule native [16]. Le collagène IV, qui dans la jonction dermo-épidermique est localisé dans la *lamina densa* à distance des kératinocytes basaux, stimule considérablement la migration (figure 4), et cet effet semble indépendant de la structure tertiaire de la molécule [16]. Le collagène I, présent dans le derme, a un très important effet inducteur sur la migration kératinocytaire, la qualité de cet effet étant liée au maintien de la structure en triple hélice [16]. La migration kératinocytaire est aussi induite par la fibronectine [17] et c'est le fragment d'attachement cellulaire de la molécule qui relaie cette fonction, au moins partiellement, au travers d'une séquence RGD [18]. L'effet de la vitronectine sur la migration est très faible et semble en fait surtout lié au phénomène d'étalement cellulaire. La vitronectine n'induit pas de motricité directionnelle comme peuvent le faire la fibronectine ou les collagènes I et IV. Elle inhibe, quand elle lui est associée, l'effet dû au collagène [19]. La thrombospondine possède, elle aussi, un effet favorisant sur la migration

RÉFÉRENCES

19. Brown C, Stenn KS, Falk RJ, Woodley DT, O'Keefe EJ. Vitronectin : effects on keratinocyte motility and inhibition of collagen-induced motility. *J Invest Dermatol* 1991 ; 96 : 724-8.

20. Nickoloff BJ, Mitra RS, Risr BL, Dixit VM, Varani J. Modulation of keratinocyte motility. Correlation with production of extracellular matrix molecules in response to growth promoting and antiproliferative factors. *Am J Pathol* 1988 ; 132 : 543-50.

21. Donaldson DJ, Mahan JT. Fibrinogen and fibronectin as substrates for epidermal cell migration during wound closure. *J Cell Sci* 1983 ; 62 : 117-27.

22. Barrandon Y, Green H. Cell migration is essential for sustained growth of keratinocyte colonies : the roles of transforming growth factor- α and epidermal growth factor. *Cell* 1987 ; 50 : 1131-7.

23. Sarret Y, Woodley DT, Grigsby K, Wynn KC, O'Keefe EJ. Human keratinocyte locomotion : the effect of selected cytokines. *J Invest Dermatol* 1992 ; 98 : 12-6.

24. Stoker M, Gherardi E, Perryman M, Gray J. Scatter factor is a fibroblast-derived regulator of cell mobility. *Nature* 1987 ; 327 : 239-42.

25. Matsumoto K, Hashimoto K, Yoshikawa K, Nakamura T. Marked stimulation of growth and motility of human keratinocytes by hepatocyte growth hormone. *Exp Cell Res* 1991 ; 196 : 114-20.

26. Chen JD, Kim JP, Sarret Y, et al. Epidermal growth factor (EGF) promotes human keratinocyte locomotion via enhanced expression of relevant integrin subunits. *Exp Cell Res* 1993 (sous presse).

kératinocytaire, mais, selon la technique utilisée pour le mettre en évidence, il est faible ou très important [20]. Le collagène V et l'héparan-sulfate protéoglycane ont, comme la vitronectine, un effet très faible essentiellement dû à l'accroissement des mouvements liés au phénomène d'attachement [16]. Le fibrinogène favorise la migration des kératinocytes [21].

L'effet de plusieurs cytokines a aussi été exploré. Ainsi, le TGF β a une action positive sur la migration kératinocytaire, mais elle est essentiellement indirecte et résulte d'une augmentation de la sécrétion de fibronectine par les kératinocytes basaux [20]. Barrandon et Green ont montré qu'EGF stimulait la migration kératinocytaire [22]. En présence d'EGF, le rayon d'une colonie de kératinocytes en culture peut devenir huit fois plus important qu'en l'absence d'EGF. Cette action nécessite non seulement une stimulation de la prolifération des kératinocytes,

mais, pour grandir, les éléments de la colonie doivent aussi migrer. Cette interprétation est d'autant plus probable que l'action de l'EGF est détectée dès la 15^e minute, pour être maximale à 3 heures. Ce résultat est trop rapide pour dépendre d'un simple effet prolifératif [22]. L'action stimulante d'EGF sur la migration kératinocytaire passe, en partie, par l'augmentation de production — par les kératinocytes basaux — de fibronectine et de thrombospondine [20, 23]. Le TGF α partage le même récepteur cellulaire que l'EGF, il n'est donc pas surprenant que son effet sur la migration kératinocytaire soit de même type. Barrandon et Green ont démontré, en utilisant la même méthodologie des mégacolnies, que TGF α avait une action stimulante sur la migration kératinocytaire supérieure à celle d'EGF [22]. La somatomédine C (ou IGF2) stimule la production de thrombospondine par les kératinocytes humains et

Tableau I
MACROMOLÉCULES MATRICIELLES ET CYTOKINES PORTEUSES
D'UN EFFET STIMULANT (+) OU INHIBANT (-)
LA MIGRATION KÉRATINOCYTAIRE

Facteur	Action	Références
Collagènes I et IV	+++	[16]
Collagène V	+	[16]
Fibrinogène	+	[21]
Fibronectine	++	[17, 21]
Héparan-sulfate protéoglycane	+	[16]
Laminine	---	[16]
Thrombospondine	+ - > + +	[20]
Vitronectine	+ (-)	[19]
Epidermal growth factor	+	[20, 22, 23]
Extrait pituitaire bovin	+	[23]
Hepatocyte growth factor	+	[25]
Interféron γ	-	[20]
Scatter factor	+	[24]
Somatomédine C	+	[20]
Transforming growth factor α, β	+	[20, 22, 23]

leur migration [20]. L'IFN γ inhibe la production de fibronectine et de thrombospondine par les kératinocytes humains ainsi que leur aptitude à migrer [20]. Le *scatter factor* (SF) est une protéine sécrétée notamment par les fibroblastes embryonnaires, ceux de certaines lignées et les cellules musculaires lisses de l'aorte. Il possède un effet promoteur sur la migration des kératinocytes [24]. L'HGF (*hepatocyte growth factor*), qui a lui aussi un effet favorisant sur la migration des kératinocytes [25], possède une très grande homologie de séquence avec le SF. L'extrait pituitaire bovin, qui entre dans la composition de nombreux milieux de culture, contient un ou plusieurs agents qui stimulent la migration des kératinocytes [23]. En dehors du rôle qu'elles peuvent avoir au travers des macromolécules qu'elles font sécréter, des cytokines comme l'EGF ou le SF sont susceptibles d'agir *via* leurs récepteurs, en augmentant par exemple l'expression à la surface cellulaire des intégrines [26] ou en activant la voie des polyphospho-inositides.

L'ion calcium inhibe la migration kératinocytaire induite par différentes matrices comme les collagènes I et IV, et la fibronectine. Cet effet se manifeste très rapidement quand on élève la concentration calcique du milieu de 0,1 à 1,1 mM et s'accompagne d'une surexpression globale des VLA intégrines [27].

Intégrines et migration kératinocytaire (Tableau II)

Deux types d'interactions entre la cellule et son environnement sont essentiels lors de la migration kératinocytaire : la réception spécifique du signal inducteur et l'adhérence réversible et labile de la cellule sur son substrat.

Les intégrines peuvent supporter cette double fonction, ce qui en fait des molécules clés de la migration. Elles forment une famille d'au moins 20 hétérodimères, présents à la surface cellulaire, et constitués d'au moins huit sous-unités β et 14 sous-unités α différentes. Seules six ont, à ce jour, été décrites à la surface des kératinocytes humains ($\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta 4$, $\alpha v\beta 5$ [28]). Leur

domaine extracellulaire est porteur de la spécificité de reconnaissance avec le ligand qui, pour les intégrines kératinocytaires, peut être les collagènes I ou IV, la fibronectine, la laminine, la vitronectine ou l'épiligrine. Il

permet l'attachement de la cellule au substrat et la reconnaissance spécifique d'un signal qui peut, par exemple, induire la migration. C'est ce que l'on observe pour les collagènes I ou IV, ou la fibronectine. Le domaine

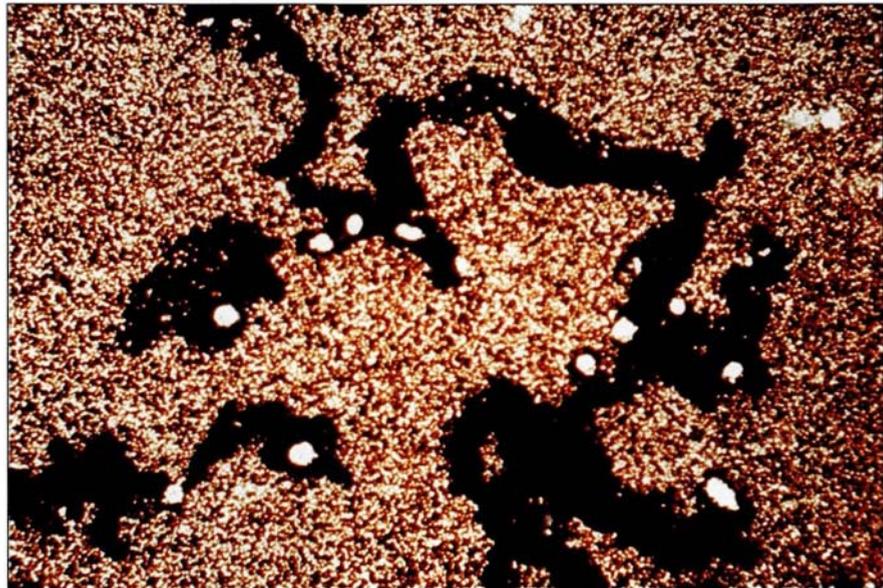


Figure 4. **Phagokinetic track assay : effet du collagène IV sur la migration kératinocytaire.** Kératinocytes humains ensemencés sur un tapis de grains d'or recouvert de collagène IV : les cellules (points jaunes brillants) en se déplaçant phagocytent les grains d'or et laissent derrière elles des traces noires qui permettent de quantifier la migration, qui est ici très importante.

Tableau II				
INTÉGRINES EXPRIMÉES A LA SURFACE DES KÉRATINOCYTES HUMAINS				
Intégrines	Prés. Épid. ⁽¹⁾	Plaie ⁽²⁾	Ligand/Migration ⁽³⁾	Références
$\alpha 1\beta 1$	+++ -> S15] [S15 -> +/-	-	Co I(?), Co IV(?), LN(?)	[28]
$\alpha 2\beta 1$	[S10 -> +++	+++	Co I(+), Co IV(+), LN(?)	[28, 30]
$\alpha 3\beta 1$	<S8-> +++	+++	Co I(-), Co IV(-), FN(-), LN(?), EN(?)	[28, 30]
$\alpha 5\beta 1$	[S14 -> ±	++	FN(+)	[28, 30]
$\alpha 6\beta 4$	<S8-> +++		LN(-), EN(?)	[28]
	αv : [S8 -> ±	αv : +++	FN(?), VN(?)	[28]

⁽¹⁾ Prés. Épid. : date d'apparition (en semaines d'embryogenèse) et taux d'expression d'une intégrine donnée dans l'épiderme humain sain.

(: à partir de ;] : jusqu'à ; < : avant.)

⁽²⁾ Plaie : expression à la surface de KH en situation de plaie.

⁽³⁾ Ligand/migration : ligand connu de cette intégrine et rôle joué par l'intégrine lors de la migration sur ce ligand.

Co : collagène ; LN = laminine ; FN = fibronectine ; VN = vitronectine.

RÉFÉRENCES

27. Jullien D, Sarret Y, Lisard G, Souchier C, Schmitt D. Calcium inhibits human keratinocyte migration and enhances expression of VLA-integrins. *J Invest Dermatol* 1993 (sous presse).
28. Hertle MD, Adams JC, Watt FN. Integrin expression during human epidermal development *in vivo* and *in vitro*. *Development* 1991 ; 112 : 193-206.
29. Chan BMC, Kassner PD, Schiro JA, Byers HR, Kupper TS, Hemler ME. Distinct cellular functions mediated by different VLA integrin α subunit cytoplasmic domains. *Cell* 1992 ; 68 : 1051-60.
30. Kim JP, Zhang K, Kramer RH, Schall TJ, Woodley DT. Integrin receptors and RGD sequences in human keratinocyte migration : unique antimigratory function of $\alpha 3\beta 1$ epiligrin receptor. *J Invest Dermatol* 1992 ; 98 : 764-70.
31. Hanks SK, Calalb MB, Harper MC, Patel SK. Focal adhesion protein-tyrosine kinase phosphorylated in response to cell attachment to fibronectin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 8487-91.
32. Ortonne JP, Löning T, Schmitt D, Thivolet J. Immunomorphological and ultrastructural aspects of keratinocyte migration in epidermal wound healing. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1981 ; 392 : 217-30.
33. Brown GL, Nanney LB, Griffen J, et al. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *N Engl J Med* 1989 ; 321 : 76-9.
34. Schultz GS, White M, Mitchell R, et al. Epithelial wound healing enhanced by transforming growth factor- α and vaccinia growth factor. *Science* 1987 ; 235 : 350-2.
35. Blistein-Willinger E. The role of growth factors in wound healing. *Skin Pharmacol* 1991 ; 4 : 175-82.
36. Rothe M, Falanga V. Growth factors. *Arch Dermatol* 1989 ; 125 : 1390-8.

intracytoplasmique de la chaîne β interagit avec la taline, l' α -actinine, la vinculine et au travers d'elles le cytosquelette d'actine. Des foyers riches en taline et en intégrines ont été mis en évidence à la pointe des câbles d'actine au sein des lamellipodes de fibroblastes [11] et dans les points focaux. Ces régions peuvent servir à ancrer les filaments d'actine et à contrôler leur élongation. Les domaines intracytoplasmiques des chaînes α , probablement en collaboration avec la sous-unité β , joueraient un rôle dans la transduction du signal dû à l'interaction intégrine/ligand. Chaque domaine assurerait un ensemble de fonctions spécifiques, discriminant ainsi l'apparente redondance liée à l'existence de plusieurs domaines extracellulaires reconnaissant le même substrat. Chan *et al.* [29] ont ainsi décrit un effet inhibiteur des domaines intracytoplasmiques $\alpha 2$ et $\alpha 5$ sur la motricité de cellules de rhabdomyosarcome. Mais ce phénomène va à l'encontre de l'effet promoteur de VLA2 et VLA5 sur la migration kératinocytaire rapporté par Kim *et al.* [30], laissant entrevoir la possibilité d'une modulation de réponse selon le type cellulaire.

Les mécanismes au travers desquels le domaine intracytoplasmique contrôle la migration sont inconnus, mais on sait, par exemple, que la fixation de certaines intégrines à leur ligand module l'activation de plusieurs phospholipases, la voie des polyphosphatidyl-inositides et la concentration calcique intracytoplasmique pouvant ainsi régler l'activation de molécules comme la gelsoline. Hanks *et al.* viennent notamment de démontrer que la FAK (*focal adhesion protein-tyrosine kinase*) pourrait jouer un rôle clé dans la transduction du signal qui fait suite à l'adhérence d'une cellule à son substrat (*m/s n° 2, vol. 9, p. 141*) [31].

Les kératinocytes fraîchement isolés de la peau sont des cellules immobiles ne formant pas de point focaux, n'exprimant ni VLA5 ni $\alpha v\beta 5$ et synthétisant essentiellement des chaînes $\beta 1$ immatures non exprimées à la surface cellulaire. A la suite d'une plaie, ou après quelques jours de culture, tous ces phénomènes s'inversent et on observe parallèlement une surexpression d' $\alpha v\beta 5$, $\alpha 3\beta 1$ et $\alpha 5\beta 1$.

Le kératinocyte « activé » peut alors migrer sur différentes macromolécules qui entrent pour la plupart dans la composition du lit de la plaie. L'anticorps anti- $\alpha 5$ inhibe considérablement et spécifiquement la migration sur la fibronectine, ce qui est en accord avec le rôle de récepteur qu'a VLA5 pour cette molécule. Le même effet est observé avec un anticorps anti- $\alpha 2$ et les collagènes I et IV, or VLA2 les reconnaît tous les deux ainsi que la laminine. En revanche, si VLA3 est un récepteur à la fois pour la laminine, l'épiligrine, la fibronectine, les collagènes I et IV, l'utilisation d'un anticorps anti- $\alpha 3$ stimule la migration kératinocytaire sur ces trois dernières molécules. Pour Kim *et al.* [30], cet effet pourrait être la conséquence de l'inhibition de la formation de points focaux dont on sait que la présence est inversement proportionnelle à la capacité de migration. Nous avons pour notre part montré que la régulation de la migration de kératinocytes humains normaux *in vitro* sur du collagène IV ou de la fibronectine ne se faisait pas au travers d'une modulation quantitative de l'expression membranaire des intégrines VLA-2 et VLA-5 [27].

Implications thérapeutiques des données acquises *in vitro*

Comprendre, pour pouvoir les moduler, les mécanismes réglant la migration des kératinocytes est un des défis qu'ont entrepris de relever les dermatologues et les chercheurs travaillant sur la physiologie et la pathologie de la cicatrisation cutanée [32]. De nombreuses équipes ont étudié *in vivo* l'effet de diverses cytokines sur la cicatrisation cutanée. Citons, à titre d'exemple, le travail de Brown *et al.* où l'EGF a été testé chez l'homme dans une étude prospective, contrôlée en double aveugle, sur des sites donneurs de greffe [33]. L'EGF recombinant, appliqué deux fois par jour, permettrait d'obtenir une réépithélialisation plus rapide sur les sites traités avec EGF en comparaison avec ceux traités avec un placebo. Une autre étude intéressante, publiée cette fois-ci par Schultz *et al.* analysait l'effet de TGF α sur la cicatrisa-

tion chez le porc (brûlures au deuxième degré) [34]. TGF α , utilisé à faible dose (0,1 μ g/ml), accélèrait la régénération épidermique. De plus, les plaies traitées par TGF α présentaient un tissu de granulation plus important que celles traitées par le véhicule seul. Bien d'autres molécules ont été testées *in vivo*. Le but de cet article n'étant pas d'être exhaustif, le lecteur pourra se reporter à des articles de synthèse pour plus d'informations [35, 36]. La mise en évidence du rôle majeur joué par certaines intégrines dans la fonction migratoire des kératinocytes ouvre la porte à des perspectives thérapeutiques novatrices. Il paraît en effet possible d'agir aussi bien sur leur fonction de récepteur membranaire transmettant un signal spécifique, que sur leur fonction de molécules d'adhérence créant un lien physique entre la cellule et son support. La détermination des séquences d'acides aminés responsables, au sein des macromolécules matricielles, de l'effet de stimulation ou d'inhibition de la migration kératinocytaire devrait déboucher sur l'apparition de peptides de synthèse utilisables par voie locale pour accélérer le phénomène de cicatrisation ■

TIRÉS A PART

Y. Sarret.

Summary

Mechanics and regulation of keratinocyte migration

During cutaneous wound healing, basal keratinocytes migrate laterally to cover the wound bed, whereas in an unwounded situation they move vertically and differentiate to constitute the different layers of the epidermis. Many extracellular factors influence the behavior of these cells. The main ones are extracellular matrix molecules and cytokines present in the dermoepidermal junction and/or in the wound bed. Some of them such as collagens type I and IV, fibronectin and epidermal growth factor are known to induce basal keratinocyte migration. On the contrary, others, such as laminin, inhibit it. Molecules from the VLA-integrin family are receptors for many of these extracellular matrix molecules. As specific adhesion and signal transduction molecules, they play a critical role in keratinocyte migration by allowing interactions between the cell cytoskeleton and the macromolecules in the wound bed. This type of interaction is commonly seen in all the models of cell migration reviewed herein. These models try to explain the different mechanisms involved in basal keratinocyte migration. The translation of this phenomenon, at a light microscopic level is the extension of the lamellipodia/filopodia at the leading edge of the cell. Finally, we present some clinical applications of the cumulative knowledge published in this field in basic science journals.