

calpaines extracellulaires dégradent en effet la fibronectine de la matrice extracellulaire avec pour conséquence (1) une diminution de l'ancrage des cellules épithéliales à cette matrice, ce qui favorise leur migration et la colonisation de zones détruites par l'inflammation, et (2) la génération de fragments de fibronectine ce qui accélère la prolifération des cellules endothéliales et la formation de nouveaux tubes capillaires [10].

Quelles opportunités pour une nouvelle approche thérapeutique ?

Moduler l'activité calpaïne extracellulaire est potentiellement intéressant en thérapeutique. Cela permettrait de contrôler la production de l'IL17, soit pour l'augmenter (pour un traitement anti-cancéreux par exemple), soit pour la limiter (dans le cadre d'un traitement anti-inflammatoire par exemple). Dans le premier cas, l'activité calpaïne

extracellulaire pourrait être bloquée par l'administration de calpastatine ou de certains de ses fragments. Dans le second cas, elle devrait être amplifiée par l'administration de calpaïne (calpaïne 4 ou stabilisateur de calpaines), ce qui aurait une action plus directe que celle induite par les activateurs d'ABCA1 (4F ou faibles doses d'IL-2), qui sont maintenant bien établis. ♦

Calpains: a double edge sword

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell* 2010 ; 140 : 871-82.
2. Buckley CD, Gilroy DW, Serhan CN. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation. *Immunity* 2014 ; 40 : 315-27.
3. Baud L, Fouqueray B, Bellocq A, Peltier J. Les calpaines participent au développement de la réaction inflammatoire. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 71-6.

4. Peltier J, Bellocq A, Perez J, et al. Calpain activation and secretion promote glomerular injury in experimental glomerulonephritis: evidence from calpastatin-transgenic mice. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 3415-23.
5. Letavernier E, Perez J, Bellocq A, et al. Targeting the calpain/calpastatin system as a new strategy to prevent cardiovascular remodeling in angiotensin II-induced hypertension. *Circ Res* 2008 ; 102 : 720-8.
6. Letavernier E, Dansou B, Lochner M, et al. Critical role of the calpain/calpastatin balance in acute allograft rejection. *Eur J Immunol* 2011 ; 41 : 473-84.
7. Zafrani L, Gerotziakas G, Byrnes C, et al. Calpastatin controls polymicrobial sepsis by limiting procoagulant microparticle release. *Am J Respir Crit Care Med* 2012 ; 185 : 744-55.
8. Wan F, Letavernier E, Le Saux CJ, et al. Calpastatin overexpression impairs postinfarct scar healing in mice by compromising reparative immune cell recruitment and activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2015 ; 309 : H1883-93.
9. Perez J, Dansou B, Hervé R, et al. Calpains released by T Lymphocytes cleave TLR2 to control IL-17 expression. *J Immunol* 2016 ; 196 : 168-81.
10. Letavernier B, Zafrani L, Nassar D, et al. Calpains contribute to vascular repair in rapidly progressive form of glomerulonephritis: potential role of their externalization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012 ; 32 : 335-42.
11. Mourez M, Jéhanno M, Hofnung M, Dassa E. Rôle, fonctionnement et structure des transporteurs à ATP binding cassette (ABC). *Med Sci (Paris) (Paris)* 2000 ; 16 : 386-94.

NOUVELLE

L'auto-antigène Ro60 se lie aux rétro-éléments endogènes et régule l'expression des gènes inflammatoires

Alexandre Belot, Cécile Picard

Service de Néphrologie, Rhumatologie, Dermatologie Pédiatriques, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, 59, boulevard Pinel, 69677 Bron, France ; CIRI, Centre International de Recherche en Infectiologie, Université de Lyon, Inserm, U1111, 21, avenue Tony Garnier, 69365 Lyon Cedex 07, France.
alexandre.belot@chu-lyon.fr

➤ Ro60 est un antigène nucléaire qui a la capacité de se lier aux ARN. Des anticorps spécifiques de cet antigène sont retrouvés dans certaines maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux systémique¹, le syndrome de Gougerot-Sjögren², ou le lupus néonatal [1] (➔).

(➔) Voir la Synthèse de B. Terrier et L. Mouthon, m/s n° 1, janvier 2013, page 65

¹ Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie hétérogène, d'origine auto-immune, caractérisée par la présence d'auto-anticorps anti-nucléaires.

² Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une pathologie chronique auto-immune. Il se caractérise par un dysfonctionnement et une destruction des glandes exocrines, associés à un infiltrat lymphocytaire et à une hyperactivité immunologique.

Cependant, jusqu'à récemment, aucun rôle pathogène de Ro60 n'était connu. L'implication des acides nucléiques dans le développement des maladies auto-immunes a connu un regain d'intérêt ces dernières années avec l'identification de nouvelles formes d'auto-immunité monogéniques secondaires à des anomalies du métabolisme des acides nucléiques cytoplasmiques ou les récepteurs de l'immunité innée tels les RLR (*rig-like receptors*) qui détectent spécifiquement l'ARN viral par exemple. Dans un article récent publié dans *Science*, les auteurs ont identifié des rétroéléments

endogènes dont la reconnaissance par les récepteurs de l'immunité innée est prévenue par leur liaison à la protéine Ro60 réduisant ainsi l'expression des gènes pro-inflammatoires [2].

Métabolisme des acides nucléiques intracellulaires et auto-immunité : l'enseignement des interféronopathies

Les interféronopathies représentent un champ nouveau de maladies liées à une réponse immunitaire innée inappropriée impliquant des détecteurs (senseurs) des acides nucléiques cytoplasmiques et aboutissant à une production excessive



d'interférons de type I (IFN- α et β) [3]. Les cellules possèdent en effet, un système de détection des acides nucléiques intracytoplasmique très conservé qui permet d'engager une réponse immunitaire pour lutter contre l'invasion d'agents pathogènes comme les virus ou les bactéries intracellulaires. Ce système vertueux peut être mis en échec dans certaines situations de dérégulation. L'étude des maladies neuro-inflammatoires génétiques, appelées syndromes d'Aicardi-Goutières³

(→) a conduit à identifier différents gènes impliqués dans le métabolisme intracellulaire des acides nucléiques. Ces maladies sont associées, avec différents niveaux de sévérité, à des atteintes neurologiques (encéphalopathie, parésie), pulmonaires (pneumopathie interstitielle), cutanées (engelure), des vascularites et d'autres symptômes de maladies auto-immunes que l'on retrouve dans le lupus systémique [4].

Deux principales voies de régulation ont été identifiées par la mise en évidence de mutations spécifiques : (1) la voie liée à des mutations touchant des enzymes impliquées dans le métabolisme des acides nucléiques intracellulaires : TREX1 (*three prime repair exonuclease 1*), SAMHD1 (*SAM domain and HD domain-containing protein 1*), RNASEH2A (*ribonuclease H2 subunit A*), RNASEH2B, RNASEH2C, et ADAR1 (*adenosine deaminases acting on RNA*) ; et (2) la voie liée à une activation spontanée des récepteurs de l'immunité innée, secondaire à des mutations gain de fonction des récepteurs eux-mêmes, et responsable d'une production non régulée d'interféron de type I, indépendamment du ligand : mutation activatrice de IFIH1 (*interferon induced with helicase C domain 1*) codant MDA5 (*melanoma*

differentiation-associated protein 5), ou de TMEM173 (*transmembrane protein 173*) qui code STING (*stimulator of interferon genes protein*).

Ces travaux soulignent ainsi l'impact que peuvent présenter les acides nucléiques endogènes dans le développement d'une auto-immunité précoce. L'origine de ces acides nucléiques endogènes est mal connue mais ils pourraient provenir du cycle de rétrovirus endogènes intégrés au génome.

La protéine Ro60 est un régulateur négatif de la réponse interféron

À l'aide d'une technique innovante, appelée iCLIP (*individual nucleotide cross-linking and immunoprecipitation*), Hung *et al.* ont analysé l'ensemble des ARN capables de se lier à la protéine Ro60. Les ARN ainsi identifiés ont été alignés puis comparés à des banques d'ARN provenant de lignées cellulaires de deux types : une première lignée de lymphocytes B (LyB), transformés par le virus d'Épstein-Barr (GM12878), et une lignée cellulaire de leucémie érythro-myéloblastique (K562). Ces deux lignées cellulaires avaient été préalablement traitées avec de l'interféron- α , pendant 6 heures. L'alignement des transcrits ARN liés à Ro60, avec les transcrits induits dans les deux lignées traitées par l'interféron, a permis de mettre en évidence un *pool* commun de transcrits, majoritairement localisés dans les introns (portion non codante des gènes), avec une représentation importante d'ARN contenant la séquence *Alu*⁴. Afin d'évaluer si la liaison des ARN à la protéine Ro60 jouait un rôle propre dans l'induction de la production d'interféron de type I, les auteurs ont invalidé la lignée cellulaire GM12878 (LyB transformés) pour le gène *TROVE2* qui code la

protéine Ro60. Une analyse par séquençage des ARN des cellules exprimant ou non Ro60 cultivées en présence ou en absence d'interféron- α , a révélé une induction des mêmes transcrits dans les cellules *TROVE2-KO* (*knock-out*), n'exprimant plus Ro60, et dans la lignée cellulaire traitée par interféron. Ces observations témoignent donc d'une activation aberrante des cellules n'exprimant pas l'antigène Ro60. Une explication, proposée par les auteurs, serait que, dans le cas d'une expression aberrante des séquences ARN *Alu* endogènes (non liées à Ro60), il existerait une stimulation des récepteurs des acides nucléiques intracellulaires à l'origine d'une induction de la réponse inflammatoire. Afin de tester cette hypothèse, l'ARN a été transfecté dans des cellules mononucléées (PBMC, *peripheral blood mononuclear cells*) isolées du sang de donneurs sains. Dans ces conditions, on observe que les motifs ARN avec séquence *Alu* sont à l'origine d'une plus forte stimulation de sécrétion de cytokines comprenant l'interféron- α , l'IL(interleukine)-6 et le TNF(*tumor necrosis factor*)- α [2].

Voie d'activation de l'interféron de type I

L'induction de cytokines par les éléments ARN *Alu* est bloquée lorsque les cellules sont traitées, concomitamment, par la chloroquine connue pour modifier la voie de signalisation des TLR (*toll-like receptors*) endosomaux (TLR3, 7, 8 et 9). En revanche, le BX795, inhibiteur de TBK (*serine/threonine-protein kinase*), qui bloque la signalisation des récepteurs cytoplasmiques RLR, RIG-I (*retinoic acid-inducible gene 1*) et MDA5, et le TLR3, n'a pas d'effet sur la production de cytokine, suggérant que ces voies de reconnaissance des acides nucléiques, non endosomales (c'est-à-dire autres que les TLR), ne sont pas impliquées. Afin de déterminer si ces résultats obtenus *in vitro* avaient une validité clinique, les auteurs ont purifié les immunoglobulines provenant de patients

⁴ Les séquences *Alu* sont des séquences répétées de notre génome présentes au sein de rétro-éléments endogènes qui comprennent le site de restriction de l'endonuclease *Alu I* et sont issues de la rétrotransposition de l'ARN 7 SL, qui a intégré le génome humain il y a des millions d'années. Ces séquences *Alu* sont capables de se transposer dans le génome en utilisant la machinerie interne à la cellule. Il existe plus d'un million de copies de ces séquences répétées tout au long du génome.

³ Le syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS) est une encéphalopathie subaiguë à transmission mendélienne, associant classiquement des calcifications des noyaux gris centraux, une leucodystrophie et une lymphocytose du liquide céphalo-rachidien.

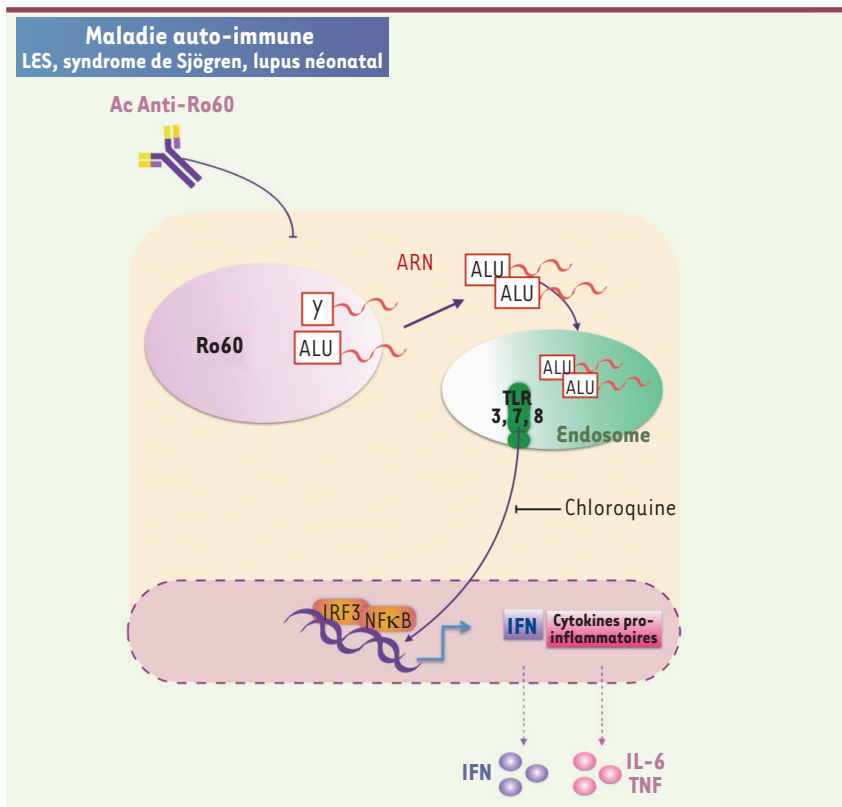


Figure 1. Rôle du déficit en Ro60 dans la surexpression des gènes pro-inflammatoires.

Dans certaines maladies auto-immunes, les anticorps anti-Ro60 (SSA) pourraient jouer un rôle dans la diminution de ribonucléoprotéine Ro60 et libérer des ARN possédant une séquence *Alu* en provenance de rétro-éléments endogènes. Ces séquences *Alu* se trouvent en conséquence en excès et sont capables de stimuler les TLR endosomaux responsables d'une surexpression des cytokines pro-inflammatoires TNF- α et IL-6 et de l'interféron de type I. Ac : anticorps ; IFN : interféron ; IL : interleukine ; IRF3 : *interferon regulatory factor 3* ; LES : lupus érythémateux systémique ; NF κ B : *nuclear factor-kappa B* ; TNF : facteur de nécrose tumorale ; TLR : *toll-like receptor*.

avec lupus positifs pour les anticorps anti-Ro. Par immuno-précipitation de lysats de cellules des lignées K562 ou GM12878, ils ont isolé les ARN associés à la protéine et les ont analysés par RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*). Ils ont ainsi pu montrer qu'il existait chez certains des patients présentant des anticorps anti-Ro, un enrichissement des ARN porteurs de séquences consensus *Alu*.

Plus généralement, l'expression des transcrits *Alu* a également été évaluée en utilisant une méthode de séquençage ARN, dans les cellules sanguines de quatre-vingt-dix-neuf patients présentant un lupus actif comparés à dix-huit individus sains. Les auteurs ont ainsi pu montrer que les séquences *Alu* étaient retrouvées à un niveau significativement plus élevé chez les patients lupiques en comparaison avec les contrôles. De plus, ces séquences étaient le plus fortement exprimées dans une sous-population de patients lupiques qui présentaient une signature interféron importante (c'est-à-dire un

niveau de transcription de gènes induits par l'interféron augmenté). Bien que le niveau d'expression des ARN *Alu* soit le plus élevé chez les patients lupiques ayant des anticorps anti-Ro60, un certain pourcentage de patients sans anticorps présente une forte signature interféron avec, cependant, un faible nombre de séquences *Alu*. Ceci pourrait être dû, selon les auteurs, à d'autres mécanismes de régulation de la production d'interféron, impliquant, par exemple, des auto-anticorps pouvant être dirigés contre d'autres nucléoprotéines capables de se lier aux ARN.

Récemment, les rétro-éléments endogènes ont été identifiés comme des éléments responsables, chez la souris, d'une accumulation aberrante, au niveau intra-cytoplasmique, d'acides nucléiques responsable d'une production excessive d'interféron de type I en cas de déficit de l'endonucléase TREX1 [5]. Les ARN avec séquence *Alu* qui se lient à la protéine Ro60, sont donc capables, s'ils ne sont pas liés à la ribonucléoprotéine, d'induire une

réponse inflammatoire. Par extension, ces rétro-éléments pourraient ainsi être impliqués dans le développement de l'auto-immunité chez l'homme (Figure 1). La stimulation des récepteurs intracellulaires des acides nucléiques apparaît de plus en plus au centre des mécanismes de développement de l'auto-immunité systémique. Les rétro-éléments présentant la séquence *Alu* pourraient stimuler la réponse inflammatoire via les TLR endosomaux. Les auteurs proposent que ces séquences *Alu*, au nombre de plus d'un million, qui ont intégré le génome au cours de l'évolution des primates, pourraient avoir joué un rôle en protégeant l'hôte contre différents stress et infections. Ces ARN avec séquence *Alu* ont la capacité d'amplifier la réponse immunitaire en activant des senseurs intracellulaires de l'ARN. Ces rétro-éléments seraient ainsi bénéfiques pour la défense anti-infectieuse mais ils prédisposeraient à l'auto-immunité systémique. ♦

The Ro60 autoantigen, a mainstay in inflammation regulation

LIENS D'INTÉRÊT

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



RÉFÉRENCES

1. Terrier B, Mouthon L. Lupus érythémateux systémique : traitements par anticorps monoclonaux et molécules recombinantes. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 65-73.
2. Hung T, Pratt GA, Sundararaman B, et al. The Ro60 autoantigen binds endogenous retroelements and regulates inflammatory gene expression. *Science* 2015 ; 350 : 455-9.
3. Crow YJ, Manel N. Aicardi-Goutières syndrome and the type I interferonopathies. *Nat Rev Immunol* 2015 ; 15 : 429-40.
4. Picard C, Mathieu AL, Hasan U, et al. Inherited anomalies of innate immune receptors in pediatric-onset inflammatory diseases. *Autoimmun Rev* 2015 ; 14 : 1147-53.
5. Stetson DB, Ko JS, Heidmann T, Medzhitov R. Treg1 prevents cell-intrinsic initiation of autoimmunity. *Cell* 2008 ; 134 : 587-98.

NOUVELLE

L'hormone anti-müllérienne

Une hormone ovarienne exerçant une rétroaction hypothalamique ?

Sophie Catteau-Jonard¹⁻³, Didier Dewailly¹⁻³, Vincent Prévot^{1,2}, Irène Cimino^{1,2}, Paolo Giacobini^{1,2}

¹Unité Inserm U1172, laboratoire du développement et plasticité du cerveau neuroendocrine, centre de recherche Jean-Pierre Aubert, 59045 Lille, France ;
²Faculté de médecine, université de Lille, FHU 1000 Days for Health, 59045 Lille, France ;

³Service de gynécologie endocrinienne et médecine de la reproduction, hôpital Jeanne de Flandre, CHU de Lille, avenue Eugene Avinée, 59037 Lille, France. sophie.jonard@chru-lille.fr

La reproduction des mammifères est contrôlée au niveau du cerveau par une petite population de neurones spécifiques de l'hypothalamus qui sécrètent de la GnRH (hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires, aussi appelée LHRH, *luteinizing hormone releasing hormone*). Ces neurones, dont les corps cellulaires sont localisés dans la région préoptique¹ (chez la souris et l'homme) et dans l'hypothalamus médiobasal (chez l'homme), envoient des projections vers l'éminence médiane de l'hypothalamus, qui constitue l'interface entre le système nerveux central et le système endocrinien périphérique. La GnRH est donc libérée dans les capillaires du système porte hypothalamo-hypophysaire puis véhiculée dans l'hypophyse antérieure où elle commande la sécrétion des gonadotrophines [1], l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone follicule stimulante (FSH), qui à leur tour, vont réguler l'activité gonadique [17] (→). Chez les mammifères femelles, une partie de l'activité ovarienne est indépendante des gonadotrophines, à savoir la croissance folliculaire depuis son

(→) Voir la Nouvelle de L. Naulé et S. Mhaouty-Kodja, page 452 de ce numéro

début jusqu'au stade des petits follicules à antrum. De nombreux facteurs interviennent dans ce phénomène, en particulier l'hormone anti-müllérienne (AMH), aussi connue sous le nom de *müllerian-inhibiting substance*, qui est un membre de la superfamille du TGF- β (*transforming growth factor- β*). Il s'agit d'une glycoprotéine homodimérique de 140 kDa, dont les deux monomères sont liés par des ponts disulfures. Chez la femelle, l'AMH est sécrétée par les cellules ovariennes de la granulosa². Son rôle est de réguler négativement la transition des follicules primordiaux vers les follicules primaires [2] et de protéger les follicules en croissance d'une maturation prématurée, en s'opposant aux effets de la FSH [3].

Ce rôle de l'AMH semble perturbé chez les femmes ayant un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), leurs taux plasmatiques d'AMH étant 2 à 3 fois plus élevés que chez les femmes avec ovaires normaux [4]. Le SOPK est la pathologie endocrinienne la plus fréquente de la femme en âge de procréer ; elle touche près de 10% d'entre elles. Elle est responsable d'hyperandrogénie (augmen-

tation inhabituelle de la production d'androgènes, hormones mâles, dans les ovaires), de dysovulation et donc d'infertilité [5]. Une caractéristique du SOPK est une élévation des taux sériques de LH, même si cette élévation n'est pas constante et reste inexplicite [6]. La sévérité du phénotype du SOPK chez la femme est corrélée à la production d'AMH. Celle-ci est en effet plus élevée chez les patientes dysovulantes par rapport aux patientes avec SOPK mais ovulantes [7]. Chez les femmes avec SOPK, l'excès d'AMH est suspecté de jouer un rôle important dans l'anovulation³ en amplifiant l'effet inhibiteur de l'AMH sur l'action de la FSH [3-8].

L'AMH se lie à son récepteur spécifique de type II (AMHR2) qui s'hétérodimérise avec un récepteur de type-I (ALK[*activin receptor-like kinase*]², ALK3 ou ALK6) et recrute des protéines Smad qui sont transloquées dans le noyau pour réguler l'expression des gènes cibles [9]. L'AMH est le seul ligand connu d'AMHR2, ce qui suggère que les tissus qui expriment ce récepteur sont très probablement les tissus-cibles de l'AMH. Chez les femelles,

² Couche de cellules folliculaires granuleuses, située autour de l'ovocyte et de la cavité folliculaire, sécrétant des œstrogènes.

³ L'anovulation est une absence complète d'ovulation alors que dans la dysovulation, l'ovulation est inconstante et non régulière.

¹ Un des noyaux de l'hypothalamus.