

Ces souris présentent cependant, dès la naissance, un défaut de croissance hautement pénétrant. Ce phénotype de petite taille concerne tous les organes. Il culmine à l'âge de deux semaines, avec une réduction d'environ 20 % du poids, et est maintenu chez la souris adulte [8]. L'expression éphémère de *Liz* dans l'embryon est donc nécessaire pour programmer à long terme le potentiel de croissance post-natal.

### Conclusions/Perspectives

L'étude fonctionnelle du transcrit *Liz*, soumis à empreinte transitoire, fournit une des très rares démonstrations formelles de l'existence d'une programmation épigénétique précoce de la physiologie adulte. En l'absence de *Liz* dans l'embryon, *Zdbf2* ne peut être activé dans le cerveau après la naissance et les souris présentent une forme de nanisme. Nos travaux en cours visent à tester si, à l'inverse, une double dose de *Zdbf2* pourrait conduire à un phénotype de gigantisme. La fonction de la protéine ZDBF2 est inconnue, mais un rôle dans le contrôle endocriné de la croissance est suspecté car *Zdbf2* est

fortement exprimé dans l'axe hypothalamo-hypophysaire. En conclusion, *Zdbf2* est un gène stimulateur de croissance post-natale dont l'expression est épigénétiquement programmée dès les premiers jours de développement. Compte-tenu de la conservation de l'empreinte transitoire du locus *Zdbf2* chez l'homme, il est tentant de prévoir que des perturbations de ce locus dans les gamètes ou l'embryon, par des voies génétiques ou environnementales (techniques d'assistance médicale à la procréation ou régimes maternels sub-optimaux) pourraient avoir un impact sur la détermination de la taille dans les populations humaines. ♦

### Four little days to define adult height

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

- Smith ZD, Chan MM, Mikkelsen TS, et al. A unique regulatory phase of DNA methylation in the early mammalian embryo. *Nature* 2012 ; 484 : 339-44.
- Proudhon C, Bourc'his D. Évolution de l'empreinte parentale chez les mammifères : quelle ménagerie ! *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 497-503.
- Duffie R, Bourc'his D. Parental epigenetic asymmetry in mammals. *Curr Top Dev Biol* 2013 ; 104 : 293-328.
- Peters J. The role of genomic imprinting in biology and disease: an expanding view. *Nat Rev Genet* 2014 ; 15 : 517-30.
- Mcgrath J. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* 1984 ; 37 : 179-83.
- Barton SC, Surani MA, Norris M. Role of paternal and maternal genomes in mouse development. *Nature* 1984 ; 311 : 374-6.
- Proudhon C, Duffie R, Ajjan S et al. Protection against de novo methylation is instrumental in maintaining parent-of-origin methylation inherited from the gametes. *Mol Cell* 2012 ; 47 : 909-20.
- Greenberg MVC, Glaser J, Borsos M, et al. Transient transcription in the early embryo sets an epigenetic state that programs postnatal growth. *Nat Genet* 2017 ; 49 : 110-8.
- Duffie R, Ajjan S, Greenberg MV, et al. The Gpr1/Zdbf2 locus provides new paradigms for transient and dynamic genomic imprinting in mammals. *Genes Dev* 2014 ; 28 : 463-78.
- Wang H Yang H, Shivalila CS, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* 2013 ; 153 : 910-8.
- Piunti A, Shilatifard A. Epigenetic balance of gene expression by polycomb and COMPASS families. *Science* 2016 ; 352 : aad9780.
- Brinkman AB, Gu H, Bartels SJJ, et al. Sequential ChIP-bisulfite sequencing enables direct genome-scale investigation of chromatin and DNA methylation cross-talk. *Genom Res* 2012 ; 22 : 1128-38.

## NOUVELLE

### La face cachée du poumon : une usine à plaquettes et une réserve de progéniteurs sanguins

Emma Lefrançais, Mark Roberts Looney

#### La circulation pulmonaire est une usine à plaquettes

Les plaquettes sont des cellules dépourvues de noyau qui circulent dans le sang et participent activement à la coagulation, à l'intégrité vasculaire et à l'immunité. En moyenne, 150 à 400 milliards de plaquettes par litre de sang circulent chez l'homme (1 000 milliards chez la souris). La durée de vie de ces cellules étant de quelques jours, cent

milliards de plaquettes sont produites quotidiennement afin de maintenir un niveau sanguin constant. Ces plaquettes proviennent de larges cellules appelées mégacaryocytes, qui ont été décrites pour la première fois en 1890 par Howell [1, 2] (→).

Si le rôle du mégacaryocyte dans la formation des plaquettes proposé

(→) Voir la Nouvelle de N. Debili et W. Vainchenker, *m/s* n° 5, mai 2008, page 467

Université de Californie, San Francisco HSE 1355A – 513 Parnassus Ave, San Francisco, CA-94143-0130, États-Unis.  
[emma.lefrançais@ipbs.fr](mailto:emma.lefrançais@ipbs.fr)

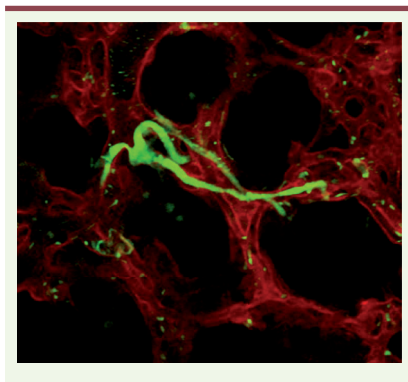
par Wright, en 1906, a été rapidement admis [3], les questions du mécanisme et du lieu de leur production sont restées plus controversées. Les mégacaryocytes se développent dans la moelle osseuse, et l'on suppose que la production des plaquettes, aussi appelée thrombopoïèse, s'y produit également [4] (→).

(→) Voir la synthèse de L. Lebreton et al., *m/s* n° 3, mars 2016, page 290



En 1937, Howell et Donahue observèrent l'existence de deux populations de mégacaryocytes : l'une dans la moelle osseuse et l'autre dans les poumons. Ils proposèrent alors que des plaquettes pouvaient être produites par fragmentation, dans la circulation pulmonaire [5]. Cette hypothèse faisait écho à un nombre important d'observations mettant en évidence la présence de mégacaryocytes au niveau des poumons chez l'homme, mais également chez les animaux. La contribution du poumon en tant que site actif de la thrombopoïèse est cependant demeurée débattue par manque de preuve directe. Grâce au développement de la technique de microscopie intravitale bi-photonique pour le poumon [6], nous avons pu observer des poumons de souris *in vivo* et nous fournissons, pour la première fois, la preuve directe que la libération de plaquettes s'y produit physiologiquement [7]. Ces données ont été générées en utilisant des lignées de souris (les souris PF4-GFP) qui expriment la GFP (*green fluorescent protein*) placée sous le contrôle du promoteur du facteur-4 (PF4), une protéine plaquettaire qui lie l'héparine. Ce gène rapporteur permet de détecter aisément les plaquettes et les mégacaryocytes chez ces souris. Nous avons pu ainsi observer des mégacaryocytes et de larges fragments cytoplasmiques piégés dans la circulation pulmonaire, libérant chacun, durant 20 à 60 minutes, entre 500 et 1 000 plaquettes (Figure 1). En extrapolant à l'ensemble du volume pulmonaire, on peut donc estimer que la moitié de la production des plaquettes, chez la souris, peut être attribuée à une thrombopoïèse pulmonaire.

Quelle est l'origine de ces mégacaryocytes ? En transplantant des poumons de souris n'exprimant pas la GFP dans les souris PF4-GFP, nous avons montré que les mégacaryocytes producteurs de plaquettes dans la circulation pulmonaire provenaient d'autres organes. En effet, la visualisation directe, à l'aide

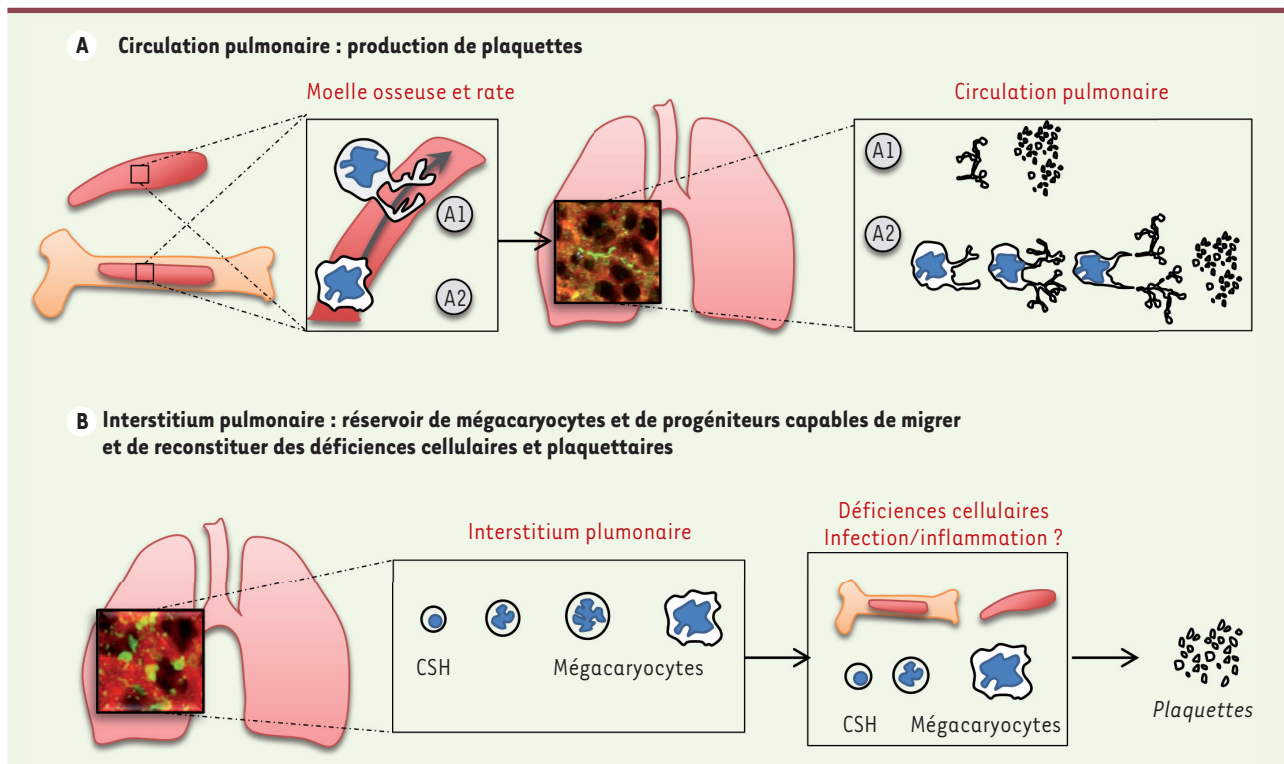


**Figure 1. Microscopie intravitale 2-photons dans le poumon.** Production de plaquettes à partir de mégacaryocytes (visualisées grâce au gène rapporteur GFP [*green fluorescent protein*], en vert) dans la circulation pulmonaire (en rouge) observée par microscopie intravitale, chez la souris.

du gène rapporteur fluorescent, met en évidence la présence de mégacaryocytes résidants au niveau de la rate et de la moelle osseuse, où ils libèrent de grands fragments cytoplasmiques, comme cela avait été montré en 2007 [8]. Nous avons également observé des mégacaryocytes qui quittent la moelle osseuse et entrent dans la circulation sanguine, confirmant ainsi le modèle selon lequel les mégacaryocytes, et de larges fragments cytoplasmiques, sortent de la moelle osseuse (et/ou de la rate) et circulent jusqu'aux poumons où ils libèrent les plaquettes (Figure 2A). Les contraintes physiques dues aux étroits vaisseaux pulmonaires, premier lit vasculaire rencontré par les mégacaryocytes, favorisent la libération des plaquettes ; des interactions et signaux spécifiques entre cellules pulmonaires et mégacaryocytes, qui rendraient le poumon propice à la thrombopoïèse, ne peuvent toutefois être exclus. La poursuite de ces études est donc nécessaire afin de rechercher et valider l'existence de tels signaux. L'étude des mécanismes impliqués dans la formation des plaquettes dans le poumon permettra, de plus, une meilleure compréhension de leur régulation.

## Rôle du poumon dans l'hématopoïèse et l'inflammation

À côté de cette population de mégacaryocytes intravasculaires productrice de plaquettes, nous avons identifié une deuxième population de mégacaryocytes, majoritairement plus immatures, qui résident dans l'*interstitium* pulmonaire (Figure 2B). Ces mégacaryocytes extravasculaires dérivés du poumon sont plus exposés aux pathogènes que les mégacaryocytes dérivés de la moelle osseuse. Ils expriment ainsi de nombreux gènes associés à l'immunité innée, à l'inflammation et à la reconnaissance des pathogènes. Ce résultat particulièrement intéressant suggère donc une fonction dans l'inflammation pour ces cellules qui sont stratégiquement positionnées dans le poumon. Afin de déterminer le rôle de ces cellules résidentes dans la production de plaquettes, nous avons transplanté des poumons perfusés sains dans des animaux thrombocytopéniques, déficients en plaquettes et en cellules souches hématopoïétiques. Les cellules présentes dans le poumon, provenant des animaux sains, sont capables de migrer vers la moelle osseuse des animaux thrombocytopéniques où elles reconstituent un nombre de plaquettes normal. Elles contribuent également à l'hématopoïèse de plusieurs lignées cellulaires, et cela, plusieurs mois après la transplantation (Figure 2B), indiquant l'existence, dans le poumon, non seulement de mégacaryocytes, mais également de progéniteurs de cellules sanguines. La présence de ces cellules souches hématopoïétiques au sein du poumon, a été confirmée par l'analyse en cytométrie de flux, de marqueurs spécifiques ( $Lin^-$ [marqueur spécifique de lignage]/ $CD45^+$ / $Sca1^+$ [*stem cell antigen-1*]/ $Ckit^+$  [*stem cell factor receptor*]/ $CD48^-$ ). Le poumon est donc non seulement un organe servant à la respiration, mais il constitue également un organe hématopoïétique à l'origine de cellules sanguines. Cette découverte apparaît particulièrement importante, notamment au cours des greffes.



**Figure 2. Rôle du poumon dans la biogenèse des plaquettes.** Le rôle du poumon est double et la biogenèse des plaquettes se produit dans deux compartiments différents. **A.** Production de plaquettes dans la circulation pulmonaire. Après avoir été libérés de la moelle osseuse ou de la rate, les proplaquettes (A1) et les mégacaryocytes (A2) sont retenus dans les vaisseaux du poumon, le premier lit capillaire rencontré, où l'extension des proplaquettes et la libération finale des plaquettes sont observées. **B.** L'interstitium pulmonaire est un réservoir de mégacaryocytes, et de progéniteurs capables de migrer et de restaurer des déficiences cellulaires et plaquettaires. Il présente de nombreux mégacaryocytes matures et immatures, ainsi que des cellules souches hématopoïétiques (CSH) capables de migrer hors du poumon.

Cependant l'origine de ces cellules, les mécanismes de leur migration, ainsi que leur rôle exact dans le poumon, en conditions physiologiques et pathologiques, restent à élucider.

### Production de plaquettes dans le poumon chez l'homme ?

La contribution du poumon dans la formation des plaquettes est-elle importante chez l'homme ? Observer la circulation pulmonaire chez l'homme est difficile. Plusieurs preuves indirectes indiquant que le poumon joue un rôle important dans la thrombopoïèse humaine existent cependant. Comme ceux de la souris, les poumons humains hébergent en effet des mégacaryocytes et le nombre de plaquettes dans le sang est plus élevé à la sortie du poumon que celui contenu dans le flux entrant

[5]. Les patients ayant subi un pontage cardiopulmonaire ont également un faible nombre de plaquettes. Et le nombre de mégacaryocytes circulants est augmenté chez ces patients (ceci avait été attribué au rôle du lit vasculaire pulmonaire dans la thrombopoïèse) [9]. De plus, Fuentes *et al.* [10] ont montré que des mégacaryocytes humains infusés chez des souris, étaient piégés, de manière transitoire, dans les poumons, et qu'ils libéraient une onde de plaquettes dans un délai similaire à celui que nous avons décrit [11]. Le piégeage des mégacaryocytes au sein du poumon est donc, potentiellement, un mécanisme de libération des plaquettes.

### Perspectives thérapeutiques

Ces résultats ouvrent de nouvelles voies pour améliorer les traitements des

thrombocytopénies, des maladies qui affectent des millions de patients dans le monde. Le développement des transfusions de plaquettes obtenues à partir de mégacaryocytes cultivés *in vitro*, a suscité un grand intérêt, mais leur qualité n'est pas comparable à celle des plaquettes provenant de donneurs [12]. Comprendre comment la vascularisation pulmonaire contribue à la libération des plaquettes pourrait donc conduire au développement de bioréacteurs plus physiologiques. Alternativement, des infusions directes de mégacaryocytes chez les patients pourraient être proposées, en laissant au poumon du receveur, le soin d'agir comme bioréacteur de la production de plaquettes matures. ♦

**The hidden face of the lung: a platelet factory and a blood progenitors reservoir**



## LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

- Howell WH. Observations upon the occurrence, structure, and function of the giant cells of the marrow. *J Morphol* 1890 ; 4 : 117-30.
- Debili N, Vainchenker W. De macro à micro : l'histoire de la plaquette. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 467-9.
- Wright J. The origin and nature of blood platelets. *Boston Med Surg J* 1906 ; 154 : 643-5.
- Lebreton L, Tuffigo M, Pillois X, Fiore M. L'intégrine  $\alpha_{IIb}\beta_3$  : une actrice insoupçonnée dans la formation des plaquettes sanguines. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 290-6.
- Howell WH, Donahue DD. The production of blood platelets in the lungs. *J Exp Med* 1937 ; 65 : 177-203.
- Looney MR, Thornton EE, Sen D, et al. Stabilized imaging of immune surveillance in the mouse lung. *Nat Methods* 2011 ; 8 : 91-6.
- Lefrançais E, Ortiz-Munoz G, Cadrillier A, et al. The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. *Nature* 2017 ; 544 : 105-9.
- Junt T, Schulze H, Chen Z, et al. Dynamic visualization of thrombopoiesis within bone marrow. *Science* 2007 ; 317 : 1767-70.
- Lill MC, Perloff JK, Child JS. Pathogenesis of thrombocytopenia in cyanotic congenital heart disease. *Am J Cardiol* 2006 ; 98 : 254-8.
- Fuentes R, Wang Y, Hirsch J, et al. Infusion of mature megakaryocytes into mice yields functional platelets. *J Clin Invest* 2010 ; 120 : 3917-22.
- Wang Y, Hayes V, Jarocha D, et al. Comparative analysis of human ex vivo-generated platelets vs megakaryocyte-generated platelets in mice: a cautionary tale. *Blood* 2015 ; 125 : 3627-36.
- Sim X, Poncz M, Gadue P, French DL. Understanding platelet generation from megakaryocytes: implications for in vitro-derived platelets. *Blood* 2016 ; 127 : 1227-33.

## NOUVELLE

### Un modèle mathématique pour l'étude des interactions bactériennes en biofilm

Bénédicte Martin<sup>1</sup>, Fabrice Mahé<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inserm U1241 Nutrition, métabolismes et cancer (NuMeCan) – Équipe Contrôle du métabolisme du fer et maladies associées au fer (CIMIAD), Université de Rennes 1-2, avenue du professeur Léon Bernard, 35043 Rennes, France.

<sup>2</sup>Institut de recherche mathématique de Rennes CNRS, Université de Rennes 1, 263, avenue du général Leclerc, 35042 Rennes, France.

[benedicte.martin@univ-rennes1.fr](mailto:benedicte.martin@univ-rennes1.fr)

► La compréhension de l'étiologie des maladies inflammatoires d'origine infectieuse, en particulier les maladies affectant les muqueuses du système oro-digestif, a beaucoup évolué ces dernières années : plutôt qu'une seule espèce, différentes études ont démontré l'implication de consortiums de plusieurs espèces bactériennes dans l'origine de ces pathologies. La communauté bactérienne non pathologique, très diverse, assure un certain nombre de fonctions essentielles à l'hôte qui l'héberge. Cependant, sous l'effet de variations environnementales, l'émergence et la dominance de certaines espèces est à l'origine d'un déséquilibre de la composition du microbiote, appelé dysbiose, mais aussi d'une modification des fonctions qu'il assure, aboutissant à une stimulation incontrôlée du système immunitaire [1]. Le traitement de ces maladies inflammatoires doit donc viser à reconstituer un microbiote sain et fonctionnel. Dans ce but, il est primordial de comprendre les processus initiant la dysbiose, et notamment les interactions inter-espèces.

Parmi les maladies inflammatoires chroniques touchant l'homme, les parodontites, infections des tissus de soutien de la dent, figurent parmi les mieux caractérisées. Dans cette pathologie, les bactéries adhèrent aux tissus minéralisés et aux tissus non minéralisés de soutien des dents (le parodonte), tout en étant enrobées d'une matrice polymérique composée d'exopolysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques, constituant les biofilms. Cette organisation leur confère non seulement une résistance plus importante aux traitements, mais elle permet également des interactions intra et inter-espèces, qui peuvent être physiques, génétiques ou encore métaboliques.

Le microbiote buccal étant constitué de plus de 800 espèces bactériennes identifiées à ce jour, il est difficile de reproduire *in vitro* un modèle de biofilm buccal complet. Des études récentes de méta-génomique ont néanmoins pu associer la présence de certaines espèces de bactéries soit à un état sain, soit à un état pathologique : ainsi, *Streptococcus*

*gordonii* est plutôt considérée comme une bactérie commensale, non pathogène, alors que *Porphyromonas gingivalis* serait une espèce non seulement à l'origine de la dysbiose, mais également pathogène [2].

#### Modélisation mathématique et biofilm

Les biofilms multi-bactériens sont des structures microbiologiques complexes rendant l'analyse des interactions entre bactéries difficile. L'intérêt des modèles mathématiques est de faciliter l'étude de ces mécanismes fondamentaux, en formulant des hypothèses qui peuvent être testées par des équations simplifiées [3]. Ces modèles sont flexibles et permettent d'intégrer des quantités importantes de données. Ils permettent, en outre, d'isoler un processus biologique d'un autre, ce qui n'est souvent pas possible expérimentalement. Ainsi, les contributions relatives de chacun des processus peuvent être évaluées. Pour comprendre les interactions entre espèces bactériennes, dans un contexte le plus proche possible de la situation