Journal de la Société de Biologie, 195 (2), 157-164 (2001)

Le récepteur de l'élastine-laminine

par Tamas Fülöp, Marie-Paule Jacob*, Jean Wallach, Matyas Hauck***, Ildiko Seres**** Zsuzsa Varga**** et Ladislas Robert*******

Laboratoire de Bio-gérontologie, Institut Universitaire de Gériatrie et Département de Médecine, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada,
**INSERM U460, UFR de Médecine X, Bichat, Paris, France,*
*** Laboratoire Bio-analytique, Université Claude Bernard Lyon I, Villeurbanne I,*
**** Department of Experimental Surgery,*
***** First Department of Medicine Medical and Health Science Center, University of Debrecen, Debrecen, Hungary,*
****** Laboratoire Universitaire de recherche sur les thérapeutiques substitutives en ophtalmologie,*
Équipe de Biochimie du Tissu Conjonctif, Faculté de Médecine Broussais Hôtel Dieu, 1 place Parvis Notre-Dame, 75181 Paris Cedex 04, Paris, France

Reçu le 8 janvier 2001

RÉSUMÉ

L'élastine est un composant majeur de la matrice extracellulaire. Les peptides d'élastine (PE) dérivent de sa dégradation et sont présents dans le sérum humain ; ils induisent des effets biologiques variés en interagissant avec des fibroblastes, des cellules phagocytaires, des lymphocytes, des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales, médiés par les récepteurs d'élastine-laminine présents sur ces mêmes cellules. La voie de signalisation du récepteur élastine-laminine (REL) implique l'activation de la phospholipase C (PLC) par une protéine G sensible à la toxine de *Bordetella pertussis*. Le PLC induit la production d'inositol triphosphate (IP_3) conduisant à l'augmentation du Ca^2 + intracellulaire libre d'une part, et d'autre part du diacylglycérol (DAG) ; il s'ensuit la translocation de la protéine kinase C (PKC) à la membrane qui induit à son tour, la phosphorylation des protéines kinases mitogènes activées (MAPK), tel le p42/p44 MAPK. Considérant les multiples effets du REL, la connaissance des voies complexes de la signalisation aidera à sa meilleure modulation, surtout dans des conditions pathologiques comme l'athérosclérose.

SUMMARY Elastin-laminin receptor

Elastin is a major component of the extracellular matrix. Elastin peptides derived from its degradation are present in human sera. Elastin peptides induce on fibroblasts, phagocytic cells, lymphocytes, smooth muscle cells and endothelial cells, a variety of biological effects mediated by the elastin-laminin receptor which has been demonstrated to be present on the membrane of these cells. The transduction pathway of the ELR receptor involves the activation of phospholipase C (PLC) by a pertussis toxin sensitive G-protein. PLC induces the production of inositol trisphosphate (IP_3) leading to the increase of the intracellular free calcium on one hand, and of diacylglycerol (DAG) which stimulates the translocation to the membrane of PKC leading to the phosphorylation of members of the MAPK family, such as p42/p44 MAPK. Considering the multiple biological effects of ELR the elucidation of the complexity of the signaling pathways will help to better modulate it, mainly in pathological situations such as atherosclerosis.

INTRODUCTION

La matrice extracellulaire (MEC) joue un rôle essentiel dans le maintien de la morphologie, la structure et la physiologie des organes et, de façon encore plus prépondérante, dans la physiologie et les pathologies vasculaires (Robert et Robert, 1980 ; Robert *et al.*, 1998). Les composants protéiques majeurs de la MEC sont les collagènes et l'élastine. Il existe un remaniement physiologique constant de cette matrice au cours duquel les

peptides sont libérés dans la circulation (Robert, 1993). Les peptides dérivés de la dégradation des fibres d'élastine sont appelés des peptides d'élastine (PE) (Fulop *et al.*, 1990, 1998). Les mesures successives des peptides d'élastine dans le sérum humain ont révélé une présence constante des PE circulants dont la quantité est de l'ordre des µg/ml (Bizbiz *et al.*, *1997*). Durant ces dernières année, l'étude des PE a révélé qu'ils ne sont pas biologiquement inertes, mais possèdent plusieurs effets qui sont biologiquement ainsi que pathologiquement très importants (Fulop *et al.*, 1986, 1998, Hornebeck *et al.*, 1976, Jacob *et al.* 1987, Robert 1999). Il a été aussi montré que ces PE interagissent pour exercer leurs activités avec des cellules sanguines circulantes ainsi qu'avec des cellules endothéliales de la paroi artérielle (Fulop *et al.* 1998, Faury *et al.* 1998). L'interaction se fait grâce à des récepteurs qui sont actuellement appelés des récepteurs d'élastine-laminine (REL) (Hornebeck *et al.*, 1986, Varga *et al.* 1988, 1989, Péterszegi *et al.* 1996, Faury *et al.*, 1994). Dans cette revue, nous décrirons les effets biologiques des PE, la nature du récepteur de l'élastine-laminine, la signalisation intracellulaire du récepteur et, finalement, son importance physiologique et pathologique. En terminant, les perspectives de recherche seront aussi évoquées.

EFFETS BIOLOGIQUES DES PEPTIDES D'ÉLASTINE

Les peptides d'élastine sont les produits de dégradation des fibres d'élastine sous l'effet des protéases (Robert et Robert 1980). Ces peptides sont hétérogènes en composition et en taille. Leur poids moléculaire, en moyenne 75 kDa, varie de 3 à 100 kDa, (Hauck *et al.* 1995). Les PE se retrouvent in situ au lieu de dégradation, mais sont aussi libérés dans la circulation (Bizbiz *et al.*, 1996, Fulop *et al.*, 1990, Wei *et al.*, 1998). Les PE interagissent donc avec les fibroblastes, les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales et les cellules sanguines (lymphocytes, monocytes et neutrophiles) par l'intermédiaire du REL (Tableau 1).

Les effets biologiques des peptides d'élastine sur les cellules de la paroi vasculaire

Parmi les effets induits par les PE, certains sont physiologiques et nécessaires pour le maintien de l'homéostasie vasculaire ; cependant, d'autres interactions sont résolument pathologiques menant au développement d'altérations rencontrées lors des pathologies comme l'athérosclérose (Hinek, 1996, Robert 1996, 1998). Un équilibre physiologique existe entre les cellules, les protéinases, les anti-protéinases et les protéines de la MEC régulant certaines fonctions des vaisseaux (Robert *et al.* 1998). Les cellules endothéliales sont essentielles pour le maintien du tonus vasculaire (Faury *et al.*, 1995). Récemment, Faury *et al.* (1994, 1995) ont démontré que, chez des rats adultes (4 à 6 mois d'âge), les PE, agissant par l'intermédiaire des REL se trouvant sur des cellules endothéliales, induisent une vasodilatation dépendant partiellement de la production de l'oxyde nitrique ($NO^{\bullet}$). Cela peut être un mécanisme physiologique important dans le maintien de la réactivité vasculaire. Cependant, si la quantité de PE est trop importante, d'autres effets pourraient probablement se produire, causant plutôt une vasoconstriction comme cela a été démontré chez des rats âgés de 28 à 30 mois (Faury *et al.*, 1997).

Il a été aussi récemment montré que, dans les vaisseaux coronaires collatéraux, le taux de PE était élevé (Tyagi, 1997) et que ces PE pourraient contribuer à la prolifération des cellules endothéliales comme cela a été démontré pour des lymphocytes et des fibroblastes (Péterszegi et Robert, 1998, Tyagi *et al.*, 1998). De plus, les PE pourraient stimuler la migration et l'invasion cellulaire de la matrice, ainsi que l'induction de l'expression des métalloprotéinases de la matrice (MMP) dans les fibroblastes (Tyagi *et al.*, 1998) ainsi que dans les cel-

TABLEAU 1. – Activités biologiques médiées par le récepteur d'élastine-laminine.

Activité cellulaire	Cellules
Chimiotactisme	fibroblastes, monocytes, kératinocytes
Modulation des flux ioniques	fibroblastes, SMC, monocytes
Adhérence des cellules à des fibres d'élastine	CML, fibroblastes
Interaction cellule tumorale-MEC	gliome, fibrosarcome, astrogliome
Synthèse et libération d'élastase	monocytes, PMN, lymphocytes
Production de radicaux libres	monocytes, PMN
Vasorelaxation	cellules endothéliales
Chaperonne pour l'élastogenèse	CML
Prolifération cellulaire	lymphocytes, fibroblastes, CML, astrocytome
Apoptose	lymphocytes, PMN
Production de MMP et inhibition de TIMP	CML
Différenciation terminale	kératinocytes
Suppression de la prolifération cellulaire	kératinocytes

Abréviations : CML : cellules musculaires lisses, PMN : leucocytes polymorphonucléaires, MMP : métalloprotéinases de la matrice, TIMP : inhibiteur tissulaire des métalloprotéinases de la matrice, MEC : matrice extracellulaire.

lules métastasiques (Brassart *et al.*, 1998). Il est donc plausible que les PE induisent l'expression des MMP et de l'activateur du plasminogène tissulaire (tPA) par des cellules endothéliales vasculaires et, conséquemment, une réponse adaptative menant au remaniement des artères coronaires (Tyagi 1997). Récemment, il a été aussi démontré que des PE induisent un envahissement de la membrane basale reconstituée, par des cellules musculaires lisses vasculaires migrant vers un gradient de concentration de PE (Tumallapalli et Tyagi, 1999). Ces cellules ont aussi subi un changement phénotypique. Ces résultats démontrent que les PE peuvent avoir un effet angiogénique, éventuellement réparateur à la suite de lésions pathologiques.

Les PE induisent aussi des modifications dans les activités biologiques des cellules mésenchymateuses (Hornebeck *et al.*, 1976, Jacob *et al.*, 1987, Robert, 1999). Les PE peuvent induire, dans la paroi de l'aorte, une activité endopeptidasique de type élastase, (Robert 1996) en parallèle avec la segmentation des fibres d'élastine. L'origine précise de cette endopeptidase n'est pas tout à fait claire, mais toutes les cellules de la paroi normale (cellules musculaires lisses, fibroblastes) ou pathologiques (cellules phagocytaires, lymphocytes) peuvent y participer (Robert 1996, Péterszegi et Robert, 1998), Les PE peuvent aussi moduler la biosynthèse de la fibronectine par des fibroblastes (Fodil-Bourahla *et al.*, 1999). Ce dernier effet peut être considéré comme un signe du prévieillissement, puisque la fibronectine est considérée comme un marqueur *in vitro* et *in vivo* du vieillissement vasculaire (Labat-Robert et Kern, 1992).

Les résultats obtenus jusqu'à présent en étudiant l'interaction entre les PE et les cellules de la paroi vasculaire démontrent l'existence d'effets physiologiques (vasorelaxation, angiogenèse), mais aussi pathologiques (vasoconstriction) dépendant probablement de plusieurs facteurs comme la concentration des PE, le type cellulaire, l'âge des cellules et, de façon encore plus déterminante, de l'état de signalisation des REL sur ces cellules.

Les effets biologiques des peptides d'élastine sur les cellules phagocytaires et les lymphocytes

Un des effets constamment décrits des peptides d'élastine vis-à-vis des cellules sanguines est le chimiotactisme (Senior *et al.*, 1980, 1982, 1984 ; Hinek, 1996), Une fois que ces cellules ont été attirées, les PE peuvent les activer. En ce qui concerne les cellules phagocytaires, les PE stimulent la production de radicaux libres, notamment de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Fulop *et al.*, 1986, 1989, 1997). Cette production de radicaux libres et d'hydroparoxyde induite par les PE peut amplifier la destruction de la matrice extracellulaire dans la paroi vasculaire, et contribuer au développement d'altérations survenant avec le vieillissement même physiologique (Robert 1996, 1998). L'anion superoyde produit par ces cellules phagocytaires peut aussi se combiner avec le NO dont la production est aussi stimulée par les PE, pour former le peroxynitrite (NOO^-), un anion très réactif. Cela peut contribuer à la rigidification et à la perte de sensibilité, à la vasorelaxation des anneaux d'aorte au cours du vieillissement, et à certaines pathologies vasculaires (Faury *et al.*, 1997). De plus, ces produits réactifs d'oxygène peuvent aussi contribuer à la peroxydation de lipoprotéines de basse densité (LDL). Ces effets des PE sur les cellules phagocytaires sont comparables à ceux obtenus lors de leur stimulation par le fMet-Leu-Phe (FMLP) (Varga *et al.*, 1988, 1997). Récemment, nous avons démontré que les PE étaient capables, dans les monocytes en culture, de diminuer l'incorporation de [^{14}C] acétate dans le cholestérol, jouant ainsi un rôle dans la régulation de la synthèse du cholestérol dans ces cellules (Varga *et al.*, 1997).

Les études récentes de Péterszegi *et al.*, (1997, 1998) ont démontré que les PE étaient capables d'induire la prolifération et la libération d'une sérine protéase, inhibée par les anticorps monoclonaux anti-élastase des neutrophiles. Ces phénomènes n'ont pu être observés qu'avec une concentration de PE supérieure à 2 µg /ml. Par contre, quand cette concentration était augmentée au-delà de 500 µg/ml, les PE induisaient une mort cellulaire de type apoptose (Péterszegi *et al.*, 1999). Un effet similaire, bien qu'à une concentration moindre que pour les lymphocytes, a été observé pour les neutrophiles (Fulop *et al.*, 1997, 2000). Les PE, en modulant la survie des cellules participent à l'inflammation dans la paroi artérielle, et peuvent moduler le processus inflammatoire observé dans l'athérosclérose.

Effets biologiques des peptides d'élastine sur les cellules tumorales

Les PE, à travers les récepteurs de l'élastine-laminine surexprimés sur des cellules tumorales, peuvent influencer leur comportement vis-à-vis de leur dissémination (formation de métastases) (Timàr *et al.*, 1991). De plus, des lignées de cellules de fibrosarcomes humains stimulées par les PE, ont augmenté l'expression et la production de MMP-2, mais pas celle de MMP-9 (Brassart *et al.*, 1999). Ce pouvoir des PE d'augmenter la libération de protéases peut amplifier encore plus la dégradation des fibres d'élastine pendant la formation des métastases. Les PE ont pu aussi, en stimulant leur récepteur, induire la surexpression de la cycline A et du cdk2 et ainsi, augmenter la prolifération de cellules d'astrocytomes (Jung et 1998). Ainsi, la dégradation des fibres d'élastine dans certains tissus peut, par la libération des PE, influencer la capacité métastasique de cellules tumorales exprimant le REL.

Récemment, Hinek *et al.*, (2000) ont montré que la suramine, actuellement en essai clinique comme agent anti-tumoral, à faible concentration stimule au contraire la prolifération des cellules de gliome humain produisant de la tropoélastine par l'intermédiaire de la surexpression du REL de 67kDa.

Effets biologiques des peptides d'élastine sur les kératinocytes

Récemment, Fujimoto *et al.*, (2000) ont montré que l'hexapeptide VGVAPG était chimiotactique pour les

kératinocytes. De plus, ils ont réussi, avec ce peptide, à induire une différenciation terminale des kératinocytes. Ils ont aussi montré que ces cellules expriment le REL de 67kDa.

LE RÉCEPTEUR DE L'ÉLASTINE-LAMININE (REL)

L'interaction entre la matrice extracellulaire et les cellules est régulée par différents récepteurs (Tableau 2) dont les plus étudiés sont les intégrines (Mecham, 1991, Yamada 1997, Raines 2000). Il est à noter que l'interaction de l'élastine avec les intégrines n'a jamais pu être démontrée, ce qui a conduit à supposer puis à démontrer l'existence d'un récepteur distinct actuellement appelé le récepteur de l'élastine-laminine (Hinek *et al.,* 1988). Ce REL est composé de trois protéines dont deux ont un poids moléculaire de 61 et 55 kDa et sont transmembranaires, et une de 67 kDa qui est extracellulaire (Mecham *et al.,* 1989). La sous-unité 67 kDa du REL possède un site qui reconnaît les peptides d'élastine et la laminine, et un autre site reconnaissant le lactose étant un site de lectine. Ce dernier semble être un élément régulateur du récepteur car son occupation par les sucres dérivés du galactose diminue l'affinité pour les peptides d'élastine (Hinek 1988). De plus, en présence de galactosides, la sous-unité de 67 kDa se détache de la surface cellulaire (Hinek 1996). Il a été récemment suggéré que la sous-unité 67 kDa pourrait être codée par la variante du gène de β-galactosidase dépourvu d'activité enzymatique, ce qui expliquerait que les oligosaccharides de type galactose puissent inhiber son activité (Hinek *et al.,* 1993, Privitera *et al.,* 1998).

TABLEAU 2. – Récepteurs spécifiques pour la matrice extracellulaire

Récepteurs	Types	Ligands
Intégrines	$\beta_1\alpha_x$	collagène, laminine, ténascine, fibronectine, thrombospondine, vitronectine, ostéopontine
	$\beta_3\alpha_v$	fibronectine, ostéopontine, ténascine, thrombospondine, vitronectine, laminine,
	$\beta_5\alpha_v$	laminine, vitronectine, ostéopontine
	$\beta_8\alpha_v$	laminine
CD44		hyaluronane
Récepteur pour la motilité médiée par l'hyaluronane		hyaluronane
Récepteur du domaine discoïdine		collagène
Récepteur d'élastine-laminine		élastine, peptides d'élastine, laminine

Récemment, il a été démontré que la sous-unité 67 kDa est une protéine chaperonne. Cette sous-unité agit comme une navette réutilisable transportant la tropoélastine du compartiment intracellulaire au site extracellulaire où les fibres élastiques sont synthétisées et assemblées à la surface cellulaire (Hinek 1996), Une grande proportion de la sous-unité 67 kDa va être incluse dans les fibres élastiques nouvellement formées. Cependant une partie de ces protéines est recaptée dans le compartiment endosomal et réassociée avec la tropoélastine nouvellement synthétisée. Cette action du récepteur est essentielle pour l'élastogenèse et pour la formation et l'assemblage ordonnés des fibres d'élastine (Hinek, 1996).

Il y a un intérêt évident à déterminer quelles séquences protéiques dans les peptides d'élastine agissent comme ligands pour le récepteur. Il a été prouvé que plusieurs oligopeptides peuvent mimer les effets des PE. La séquence la plus étudiée est un hexapeptide VGVAPG. Cette séquence se répète plusieurs fois dans l'élastine humaine et bovine (Senior *et al.,* 1984). A partir de cette séquence, plusieurs groupes ont synthétisé des oligopeptides de composition et de longueur différentes. Le groupe dirigé par Tamburro (2000) a trouvé qu'il n'existe aucune conformation définie pour expliquer les effets biologiques, notamment le chimiotactisme. Long *et al.,* (1988) ont trouvé que des poly-nonapeptides qu'ils ont synthétisés avaient moins d'effets chimiotactiques que des monomères, probablement parce que les poly-nonapeptides avaient moins de flexibilité conformationnelle par rapport au récepteur que les monomères. Hauck *et al.* (1995) ont synthétisé des hexapeptides similaires ou des peptides plus courts que le VGVAPG, et ont montré que l'hexapeptide PGVVGA avait des effets biologiques similaires au VGVAPG en stimulant le REL des cellules phagocytaires. Les peptides plus courts n'avaient pas d'effet. La substitution des acides aminés est tolérée à certains endroits de la séquence pour autant que la nature hydrophobe du peptide soit maintenue. Ainsi donc en reconnaissant plusieurs séquences homologues, ce qui est le propre des protéines chaperonnes avec la capacité de détachement, le REL s'est avéré en être une.

Ce récepteur se retrouve sur plusieurs types cellulaires. La sous-unité de 67 kDa est multifonctionnelle mais elle est la seule actuellement connue capable d'induire un contact entre l'élastine et les cellules.

LA VOIE DE SIGNALISATION INTRACELLULAIRE DU RÉCEPTEUR DE L'ÉLASTINE-LAMININE

La sous unité de 67 kDa du REL agit comme un récepteur réel lors du contact avec son ligand, les PE, parce qu'il induit différentes voies de signalisation. La signalisation du récepteur a été décrite pour la première fois sur des cellules phagocytaires (Varga *et al.,* 1988) et, plus tard, sur des cellules endothéliales (Faury *et al.,* 1998). La voie de signalisation induite par les PE mène à l'activation de la phospholipase Cγ par une protéine G

sensible à la toxine de *Bordetella pertussis* (PT) (Varga *et al.*, 1988,1989). Cette activation induit l'hydrolyse du phosphatydyl inositol bi-phosphate (PIP_2) avec la formation de deux messagers secondaires qui sont l'inositol triphosphate (IP_3) et le 1,2-diacylglycérol (DAG). L'IP_3 à son tour induit l'augmentation du [Ca^2 +] libre intracellulaire surtout en réserve dans le réticulum endoplasmique. Le DAG induit l'activation de la protéine kinase C (PKC) qui est transporté du cytoplasme à la membrane et qui, à son tour, active par phosphorylation les protéines de la famille des protéines kinase mitogènes activées (MAPK) (Chang *et al.*, 1999). Le récepteur peut activer des canaux calciques d'affinité réduite (Faury *et al.*, 1998). D'autres flux ioniques comme ceux du Na^+ et du K^+ peuvent également être modulés par le récepteur (Jacob *et al.*, 1987). Ces voies de signalisation ressemblent à celles induites par le FMLP (Varga *et al.*, 1988, 1989, Mcleich *et al.*, 1989a,b), mais diffèrent de celles des intégrines (Giancotti et Ruoshlahti, 1999) (Tableau 3).

Les PE induisent en se liant à leur récepteur, une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire. Cette augmentation du Ca^{2+} intracellulaire est normalement très rapide et revient très rapidement au niveau précédant la stimulation. D'après les données actuelles, il existe une différence entre l'action des PE et du FMLP concernant la cinétique de la réponse cellulaire calcique (Fulop *et al.*, 1997). La quantité de Ca^{2+} intracellulaire à l'intérieur de la cellule est plus élevée avec la stimulation de FMLP qu'avec celle des PE (Fulop *et al.*, 1997). Le retour du niveau calcique à sa valeur initiale doit être très strictement contrôlé car la dérégulation du métabolisme calcique cellulaire peut causer des dommages et conduire même à la mort cellulaire par activation de certaines protéases comme la calpaïne ou les endonucléases.

Récemment, il a été suggéré qu'un inhibiteur des protéines tyrosines kinases, la génistéine, était capable de bloquer la production et l'activation de MMP-2 par les PE dans les cellules HT-1080 suggérant que les protéines tyrosine kinases sont impliquées dans l'activation du MMP-2 par le REL (Brassart *et al.*, 1998). Les PE peuvent donc activer la libération de MPP-2 soit par l'activation de la voie PKC-ras via les protéines G, soit par la stimulation directe de certaines non-récepteur protéines tyrosines kinases. Comme pour d'autres voies de signalisation les effets intracellulaires des PE ressemblent à ceux du FMLP, il semble logique de rechercher si les PE peuvent aussi induire l'activation des membres de la famille MAPK (Heuertz *et al.*, 1999, Yagisawa *et al.*, 1999, Zu *et al.*, 1998).

Plusieurs membres de la famille MAPK ont été identifiés comme les *« extracellular signal regulated kinases (ERK) »*, p. 38 MAPK et c-Jun N terminal kinase (JNK). Les MAPK sont une famille de sérine thréonine kinases qui sont activées par une cascade de « protéine kinase réaction » (Kyriakis et Avrachi, 1996 ; Garrington et Johnson, 1999). Ces réactions ne sont pas encore toutes connues avec certitude dans les neutrophiles humains sous stimulation de FMLP (Zu *et al.*, 1998). Dans les neutrophiles de rat, l'activation de lyn induit sa liaison à la protéine adaptatrice, Shc, ce qui permet à la protéine G de moduler la cascade Ras/ERK (Chang *et al.*, 1999). Il est aussi encore peu clair si le p38 MAPK est stimulé dans les neutrophiles de rat, même si le rôle de la voie PLC/Ca^{2+} et PKC a été évoqué (Chang and Wang, 2000). Il semble néanmoins que, dans les neutrophiles humains, le p38 MAPK soit impliqué lors de la signalisation activée par des facteurs de stress (Zu *et al.*, 1998). Le p38 peut phosphoryler et, par là, activer des facteurs de transcription, notamment le NFkB, et ainsi réguler l'expression de plusieurs gènes. De plus, le p38 peut phosphoryler plusieurs autres protéines comme la NADPH oxydase pouvant ainsi induire le chimiotactisme et l'adhérence des neutrophiles (Chang et Wang 2000, Yagisawa *et al.*, 1999, Zu *et al.*,1998). Récemment, il a été démontré que le FMLP peut activer ERK jouant un rôle dans l'adhérence et l'explosion oxydative, ainsi que le p38 jouant un rôle dans la production de l'anion superoxyde et dans le chimiotactisme (Zu *et al.*, 1998).

Nous avons récemment démontré que les PE (1µg/ml) peuvent induire la phosphorylation de la tyrosine de plusieurs protéines dans les neutrophiles humains (Fulop *et al.*, 2000, sous presse). Les résultats préliminaires indiquent aussi que les PE ont été capables d'activer les ERK (1 et 2), effet dépendant du temps. Par contre, nous n'avons pas pu démontrer d'activation du p38 MAPK

TABLEAU 3. – Voies de signalisation connues des intégrines, des récepteurs chimiotactiques et du récepteur d'élastine-laminine

Voies de signalisation	MAPK	P13K	FAK	Protéine Gi	JAK/STAT
Récepteurs					
Intégrines		+	+	–	?
Récepteurs chimiotactiques (ex. FMLP)	+	+	?	+	?
Récepteur d'élastine-laminine	+	?	?	+	?

Abréviation : MAPK : Mitogen activated protein kinases ; PI3K : Phosphoinositide 3-OH kinase ; FAK : Focal adhesion activated kinase, JAK : Janus tyrosine kinases ; STAT : Signal transducers and activators of transcription ; FMLP : fMet-Leu-Phe. ?: pas connue ou pas encore étudiée.

par des PE dans les neutrophiles humains. Cela contraste avec ce qui a été démontré pour le FMLP. Ces résultats doivent être confirmés par des expériences plus étendues. Cependant ces observations, surtout en ce qui concerne l'activation du ERK, peuvent expliquer les effets biologiques des PE sur des neutrophiles humains, notamment la production de radicaux libres et l'adhérence.

LE RÔLE POTENTIEL DU RÉCEPTEUR DE L'ÉLASTINE-LAMININE DANS DIFFÉRENTES MALADIES

L'activation du récepteur de l'élastine-laminine peut être soit dérégulée causant une altération de transduction des signaux intracellulaires menant à une augmentation de la production des radicaux libres, soit stimulée de façon chronique par une augmentation de la quantité de PE. Cette production, augmentée et soutenue de radicaux libres, conjuguée à une diminution de la protection antioxydante, peut léser les cellules et provoquer leur mort. Ce phénomène a été observé avec des lymphocytes T humains (Peterszegi *et al.,* 1999). La mort cellulaire intervient soit par nécrose, soit par apoptose. Ainsi, la stimulation chronique des REL peut aboutir à des lésions et à la mort cellulaires. Ces phénomènes peuvent jouer un rôle dans l'athérogenèse.

Comme la dégradation de fibres d'élastine de la paroi artérielle a été observée au cours du vieillissement et de l'athérogenèse et comme les PE sont chimiotactiques pour les monocytes et les cellules musculaires lisses, elles peuvent être impliquées par cette voie aussi dans l'athérogenèse. La migration des cellules musculaires lisses à travers la lame élastique interne de la paroi artérielle peut être associée à l'épaississement de l'intima dans plusieurs maladies artérielles y compris l'athérosclérose et l'hypertension pulmonaire (Ross 1995). Comme la concentration des peptides d'élastine est de l'ordre de (µg/ml), les effets toxiques peuvent apparaître tardivement à la suite de l'accumulation des effets nocifs locaux, en accord avec la nature chronique de l'athérosclérose.

Il a été aussi suggéré que l'expression préférentielle des REL sur la surface des cellules métastasiques tumorales pourrait être responsable de leur colonisation préférentielle au niveau du poumon et d'autres tissus riches en fibres d'élastine. Les cellules tumorales ainsi que les leucocytes peuvent s'attacher à des fibres d'élastine dans le parenchyme pulmonaire et dégrader l'élastine insoluble en produisant des peptides d'élastine. A leur tour ces PE peuvent causer un effet chimiotactique sur d'autres cellules tumorales circulantes et amplifier la destruction des fibres d'élastine par la libération de radicaux libres et de protéases.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'interaction de la matrice extracellulaire et des cellules est médiée par plusieurs types de récepteur. Actuellement l'élastine ne semble interagir qu'avec un récepteur appelé REL qui est un récepteur non-intégrine. Parmi les trois sous-unités qui composent ce récepteur, la sous-unité de 67 kDa reconnaît et lie les PE sur son site primaire et le lactose sur son site de lectine. La liaison d'une lectine sur ce dernier site diminue l'affinité du REL pour les peptides d'élastine. Il est actuellement admis que certaines activités induites par le récepteur sont physiologiques. Tel est le cas de l'adhésion des cellules mésenchymateuses aux fibres d'élastine ainsi que la vasodilatation. D'autres effets peuvent être potentiellement néfastes comme la production de radicaux libres et la libération de protéases. Ces effets nuisibles peuvent prédominer au cours du vieillissement et représenter un contributeur à la lésion des cellules endothéliales et au développement de l'athérosclérose. La modulation de l'activité du récepteur par les oligo- et polysaccharide agissant sur le site lectinique peut diminuer, voire inhiber certains effets indésirables de l'activation du récepteur. Afin de pouvoir moduler l'activation du récepteur, il convient de mieux connaître les voies de signalisation induites par les PE. Les travaux futurs doivent donc porter sur les voies de transmission des signaux par le REL. Ces connaissances permettront de moduler l'effet des REL pour contrebalancer leurs effets potentiellement pathogènes.

Remerciements. – Ce travail a été en partie subventionné par les Fonds de Recherche en Santé du Québec et de l'OTAN. T.F. est bénéficiaire d'une bourse du FRSQ.

BIBLIOGRAPHIE

Brassart B., Randoux A., Hornebeck W. Emonard H. Regulation of matrix metalloproteinase-2 (gelatinase A, MMP-2), membrane-type matrix metalloproteinase-1 (MTP1-MMP) and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2) expression by elastin-derived peptide in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. *Clin. Exp. Metastasis* 1998, *16*, 489-500.

Chang L.C., Wang J.P. Examination of the signal transduction pathways leading to activation of the extracellular signal-regulated kinase by formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine in rat neutrophils. *FEBS Lett.* 1999, *454*, 165-168.

Chang L.C., Wang J.P. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase by formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine in rat neutrophils. *Eur. J. Pharmacol.* 2000, *390*, 61-66.

Faury G., Chabaud A., Ristori M.T., Robert L., Verdetti J. Effect of age on the vasodilatory action of elastin peptides. *Mech. Age. Dev.*, 1997, *95*, 31-42.

Faury G., Garnier S., Weiss A.S., Wallach J., Fulop T. JR, Jacob M.P., Mecham R.P., Robert L.,Verdetti J. Action of tropoelastin and synthetic elastin sequences on vascular tone and on free calcium level in human vascular endothelial cells. *Circulation Res.* 1998, *82*, 328-336.

Faury G., Ristori M.T., Verdetti J., Jacob M.P., Robert L. Effect of elastin peptides on vascular tone. *J. Vasc. Res.*, 1995, *32*, 112-119.

Faury G., Ristori M.T., Verdetti J., Jacob M.P., Robert L. Rôle du récepteur de l'élastine-lamininine dans la vasorégulation. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1994, *317*, 807-811.

Faury G., Usson Y., Robert-Nicoud M., Robert L., Verdetti J. Nuclear and cytoplasmic free calcium level changes induced by elastin peptides in human endothelial cells. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A*, 1998, *95*, 2967-2972.

Fodil-Bourahla I., Drubaix I., Robert L., Labat-Robert J. Effect of in vitro aging on the modulation of protein and fibronectin biosynthesis by the elastin-laminin receptor in human skin fibroblasts by the elastin-laminin receptor. *Gerontology.*, 1999, 45, 23-30.

Fujimoto N., Shingo T., Ishibashi A. Elastin peptides induce migration and terminal differentiation of cultured keratinocytes via 67kDa elastin receptor in vitro; 67 kDa elastin receptor is expressed in the keratinocytes eliminating elastic materials in elastosis perforans serpiginosa. *J. Invest. Dermatol.* 2000, *11*, 633-639.

Fülöp T. Jr., Fouquet C., Allaire P., Perrin N., Lacombe G., Stankova J., Rola-Pleszczinsky M., Wagner J.R., Khalil A., Dupuis G. Changes in apoptosis of polymorphonuclear granulocytes with aging. *Mech. Age. Dev.* 1997, *96*, 15-31.

Fulop T.Jr., Douziech N., Jacob M.P., Hauck M., Wallach J. and Robert L. Age-related alterations in the signal transduction pathways of the elastin-laminin receptor. *Pathol. Biol.*, 2000, *49*, 339-348.

Fülöp T.Jr., Jacob M.P., Khalil A., Wallach J., Robert L. Biological effects of elastin peptides. *Pathol. Biol.* 1998, *46*, 497-506.

Fülöp T., Jacob M.P., Robert L. Biological effects of elastin peptides. In L. Robert and W Hornebeck (eds.). Elastin and Elastases, C.R.C. Press, Boca Raton, vol. 1, 1989, pp. 201-210.

Fülöp T.JR, Jacob M.P., Varga Z., Foris G., Leovey A., Robert L. Effect of elastin peptides on human monocytes : Ca2 + mobilisation, stimulation of respiratory burst and enzyme secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1986, *141*, 92-98.

Fülöp T.JR, Varga Z., Csongor J., Jacob M.P., Robert L., Leovey A., Foris G. Altered phosphatidylinositol breakdown in polymorphonuclear leukocytes with aging; In Goldstein AL (ed), Biomedical Advances in Aging. Plenum Press, London, 1990, vol. 17, pp. 187-194.

Fulop T.JR., Varga Z., Jacob M.P., Robert L. Effects of Lithium on superoxyde production and intracellular free calcium mobilization in elastin peptide (kappa-elastin) and FMLP stimulated human polymorphonuclear leukocytes. Effect of aging. *Life Sci.* 1997, *60*, PL325-332.

Fulop T.JR., Wei S.M., Robert L., Jacob M.P. Determination of elastin peptides in normal and arteriosclerotic human sera by ELISA. *Clin. Physiol. Biochem.*, 1990, *8*, 273-282.

Garrington T.P, Johnson G.L. Organization and regulatrion of mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Curr. Opinion in Cell Biol.* 1999, *11*, 211-218.

Giancotti F.G., Ruoshlahti E., Integrin signaling. *Science*. 1999, *285*, 1028-1032.

Hauck M., Seres I., Kiss I., Saulnier J., Mohacsi A., Wallach J., Fulop T.JR. Effects of synthesized elastin peptides on human leukocytes. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 1995, *37*, 45-55.

Heuertz R.M., Tricomi S.M., Ezekiel U.R., Webster R.O. C-reactive rpotein inhibits chemotactic peptide induced p38 mitogen activated protein kinase activity and human neutrophil movement. *J. Biol. Chem.* 1999, *274*, 17968-17974.

Hinek A. Biological roles of the non-integrin elastin/laminin receptor. *Biol. Chem.* 1996, *377*, 471-480.

Hinek A., Jung S., Rutka J.T. Cell surface aggregation of elastin receptor molecules caused by suramin amplified signals leading to proliferation of human glioma cells. *Acta Neuropathol.* 1999, *97*, 399-407.

Hinek A., Rabinovitch M., Keeley F., Okamura-Oho Y., Callahan J. The 67-kD elastin/laminin-binding protein is related to an enzymatically inactive, alternatively spliced form of beta-galactosidase. *J. Clin. Invest.*, 1993, *91*, 1198-1205.

Hinek A., Wrenn D.S., Mecham R.P., Barondes S.H. The elastin receptor : a galactoside-binding protein. *Science*, 1988, *239*, 1539-1541.

HornebecK W., Derouette J.C., Roland J., Chatelet F., Bouissou H., Robert L. Corrélation entre l'âge, l'artériosclérose et l'activité élastinolytique de la paroi aortique humaine. *C. R. Acad. Sci.*, 1976, *292*, 2003-2006.

Hornebeck W., Tixier J.M., Robert L. Inducible adhesion of mesenchymal cells to elastic fibres : elastonectin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1986, *83*, 5517-5520.

Jacob M.P., Fulop T. JR., Foris G., Robert L. Effect of elastin peptides on ion fluxes in mononuclear cells, fibroblasts, and smooth muscle cells. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A*, 1987, *84*, 995-999.

Jung S., Rutka J.T., Hinek A. tropoelastin and elastin degradation products promote proliferation of human asrtocytoma cell lines. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1998, *57*, 439-448.

Kyriakis J.M., Avrach J. Sounding the alarm : protein kinase cascades activated by stress and inflammation. *J. Biol. Chem.*, 1996, *271*, 24313-24316.

Labat-Robert J., Kern P. Biomarkers of connective tissue aging : biosynthesis of fibronectine, collagen type III and elastase. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1992, *673*, 316-322.

Long M.M., King V.J., Prasad K.U., Urry D.W. Chemotaxis of fibroblasts toward nonapeptide of elastin. *Biochim Biophys Acta*, 1988, *968*, 300-311.

Martino M., Coviello A., Tamburro A.M. Synthesis and structural characterization of poly(LGGVG), an elastin like polypeptide. *Int. J. Biol. Macromolecules.*, 2000, *27*, 59-64.

Mcleish K.R., Gierschik P., Jacobs K.H. Desenzitization uncouples the formyl-petide receptor-guanine nucleotide –binding ptorein interaction in Hl60 cells. *Mol. Pharmacol.*, 1989, *36*, 384-390.

Mcleish K.R. Gierschik P. Schepers T. Sidiropoulos D. Jakobs KH. Evidence that activation of a common G-protein by receptors for leukotriene B4 and N-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine in HL-60 cells occurs by different mechanisms. *Biochemical J.*, 1989, *260*, 427-434.

Mecham R.P. Receptors for laminin on mammalian cells. *FASEB J.*, 1991, *5*, 2538-2546

Mecham R.P., Hinek A., Entwistle R., Wrenn D.S., Griffin G.L., Senior R.M. Elastin binds to a multifunctional 67-kilodalton peripheral membrane protein. *Biochemistry.*, 1989, *28*, 3722-3728

Péterszegi G., Robert L. Cell death induced in lymphocytes expressing the elastin-laminin receptor by excess agonists : necrosis and apoptosis. *Biomed. Pharmacother.* 1998, *52*, 369-377.

Péterszegi G., Robert A.M., Robert L. Presence of the elastin-laminin receptor on human activated lymphocytes. *C. R. Acad. Sci. III*, 1996, *319*, 799-803.

Péterszegi G., Texier S., Robert L. Human helper and memory lymphocytes exhibit an inducible elastin-laminin receptor. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1997, *114*, 218-223.

Péterszegi G., Texier S., Robert L. Cell death by overload of the elastin-laminin receptor on human activated lymphocytes : protection by lactose and melibiose. *Eur. J. Clin. Invest.* 1999, *29*, 166-172.

Privitera S., Prody C.A., Callahan J.W., Hinek A. The 67-kDa enzymatically inactive alternatively spliced variant of beta-galactosidase is identical to the elastin/laminin-binding protein. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 6319-6326.

Raines E.W. The extracellular matrix can regulate vascular cell migration, proliferation, and survival : relationship to vasculart disease. *Int. J. exp. Pathol.* 2000, *81*, 173-182.

Robert L. Aging of vascular wall and atherogenesis :Role of the elastin-laminin receptor. *Atherosclerosis*, 1996, *123*, 169-179.

Robert L. Aging of the vascular-wall and atherosclerosis. *Exp. Gerontol.* 1998, *34*, 491-501

Robert L. Interaction between cells and elastin, the elastin receptor. *Connective Tissue Research.*, 1999, *40*, 75-82.

Robert L. Mechanisms of aging of the extracellular matrix: role of the elastin-laminin receptor. *Gerontology*, 1998, *44*, 307-317.

Robert L. Pathogénie de l'athérosclérose. In B. Jacotot (ed.), *Athérosclérose*, Sandoz, Rueil-Malmaison, 1993, 47-92.

Robert L, Labat-Robert J, Hornebeck W. Aging and atherosclerosis. *Atheroscler. Rev.*, 1986, *14*, 143-170.

Robert L., Robert AM. Elastin, elastase and arteriosclerosis. In AM Robert and L Robert (eds.) Frontiers of Matrix Biology, vol. 8, Karger, Basel, 1980, pp. 130-173.

Robert L., Robert A.M., Jacotot B. Elastin-elastase-atherosclerosis revisited. *Atherosclerosis*. 1998, *140*, 281-295.

Ross R. Cell biology of atherosclerosis. *Annu. Rev. Physiol.* 1995, *57*, 791-804.

Senior R.M., Griffin G.L., Mecham R.P. Chemotactic activity of elastin-derived peptides. *J. Clin. Invest.*, 1980, *66*, 859-862

Senior R.M., Griffin G.L., Mecham R.P. Chemotactic responses of fibroblasts to tropoelastin and elastin-derived peptides. *J. Clin. Invest.*, 1982, *70*, 614-618.

Senior R.M., Griffin G.L., Mecham R.P., Wrenn D.S., Prasad K.U., Urry DW. Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly, a repeating peptide in elastin, is chemotactic for fibroblasts and monocytes. *J. Cell Biol.*, 1984, *99*, 870-874.

Timar J., Lapis K., Fulop T.JR., Tixier J.M., Robert L. Interaction between elastin and tumor cell lines with different metastatic potential : *in vitro* and *in vivo* studies. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1991, *117*, 232-238.

Tummalapalli C.M., Tyagi S.C. Responses of vascular smooth muscle cell to extracellular matrix degradation. *J. Cell. Biochem.* 1999, *75*, 515-525.

Tyagi S.C. Vasculogenesis and angiogenesis : Extracellular matrix remodelling in coronary collateral arteries and the ischemic heart. *J. Cell. Biochem.* 1997, *65*, 388-394.

Tyagi S.C., Kumar S.G., Alla S.R., Reddy H.K., Voelker D.M., Janicki J.S. Extracellular matrix regulation of metalloproteinase and antiproteinase in human heart fibroblasts cells. *J. Cell. Physiol.* 1998, *167*, 137-147.

Varga Z., Jacob M.P., Robert L., Csongor J., Fulop T.JR. Age-dependent changes of K-elastin stimulated effector functions of human phagocytic cells : relevance for atherogenesis. *Exp. Gerontol.*, 1997, *32*, 653-662.

Varga Z., Jacob M.P., Robert L., Fülöp T.JR. Identification and signal transduction mechanism of elastin peptide receptor in human leukocytes. *FEBS Lett.*, 1989, *258*, 5-8.

Varga Z., Kovacs E.M., Paragh G., Jacob M.P., Robert L., Fulop T. JR. Effect of elastin peptides and N-formyl-methionyl-leucyl phenylalanine on cytosolic free calcium in polymorphonuclear leukocytes of healthy middle-aged and elderly subjects. *Clin. Biochem.*, 1988, *21*, 127-130.

Wei S.M., Katona E., Fachet J., Fulop T.JR., Robert, L. & Jacob M.P. Epitope specificity of monoclonal and polyclonal elastin antibodies. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 1998, *115*, 33-41.

Yagisawa M., Saeki K., Okuma E., Kitamura T., Kitagawa S., Hirai H., Yazaki Y., Takaku F., Yuo A. Signal transduction pathways in normal human monocytes stimulated by cytokines and mediators : comparative study with normal human neutrophils or transformed cells and the putative roles in functionality and cell biology. *Exp. Hematol.* 1999, *27*, 1063-1076.

Yamada K.M., Integrin signaling. *Matrix Biol.*, 1997,*16*, 137-141.

Zu Y.L., Qi J., Gilchrist A., Fernandez G.A., Vazquez-Abad D., Kreutzer D.L., Huang C.K., Sha'afi R.I. p38 mitogen activated protein kinase activation is required for human neutrophil function triggered by TNF-α or FMLP stimulation. *J. Immunol.* 1998, *160*, 1982-1989.