

De nouvelles perspectives pour les chimiokines

William Rostène

Institut de la Vision INSERM-UPMC-CNRS UMRS 968, 17 rue Moreau, 75012 Paris, France

Auteur correspondant : William Rostène, William.rostene@inserm.fr

Reçu le 23 juin 2010

Résumé – Les chimiokines sont de petites protéines sécrétées appartenant à la famille des cytokines et qui ont la particularité d'être chemoattractantes pour les cellules du système immunitaire. Cependant, il a été montré récemment qu'elles pouvaient avoir de multiples fonctions et être exprimées ainsi que leurs récepteurs couplés aux protéines G, d'une manière constitutive ou induite dans différents tissus de l'organisme et par plusieurs types cellulaires. Ainsi les chimiokines sont étroitement impliquées dans les mécanismes régulant l'inflammation et l'infection, la migration cellulaire dont celle des cellules souches au cours du développement, les processus de cancérogenèse, de néovascularisation et d'athérosclérose. Elles agissent comme des neuromodulateurs en modifiant l'excitabilité des cellules nerveuses, la libération de neurotransmetteurs impliqués dans les mécanismes neuro-dégénératifs tels que la maladie de Parkinson ou la dégénérescence maculaire liée à l'âge, et dans les réponses nociceptives. Ce sont ces avancées qui vont être traitées lors de ce symposium sur les chimiokines. Ce chapitre introductif examine brièvement les propriétés et les principaux systèmes de chimiokines ainsi que leurs récepteurs.

Mots clés : Chimiokines / récepteurs couplés aux protéines G / mécanismes de transduction / CCL2 / fractalkine / CXCL12

Abstract – New prospects for chemokines.

Chemokines are small secreted proteins belonging to the cytokine family which were initially discovered for their chemoattractant properties for immune cells. Recently it was shown that chemokines and their G-protein-coupled receptors can be constitutively expressed or induced in several organs and different cell types. Thus chemokines have been shown to regulate immune functions involving infection and inflammation, stem cell migration during development, to be implicated in oncogenic, neovascularization and atherosclerosis processes, to modulate neuronal excitability regulating neurotransmitter release, and to play a key role in the pathogenesis of various neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease or age-related-macular degeneration and in pain. Some of these recent advances concerning chemokine functions will be highlighted in this broad appeal symposium which aims to introduce this emerging field. This introductory chapter will examine the basic properties of the various chemokine systems and their receptors.

Key words: Chemokines / G protein coupled receptors / transduction mechanisms / CCL2 / fractalkine / CXCL12

Introduction

Qui n'a jamais eu un rhume ou une infection, et dans ces moments difficiles qui n'a parlé parfois, sans le savoir, de son système immunitaire pour y faire face? Mais que recouvre cette idée? Comment le système immunitaire peut-il atteindre des zones infectées? La recherche en immunologie a apporté des réponses à cette question si importante pour la survie de l'individu en découvrant les molécules responsables de ce phénomène. Ce sont les cytokines chimioattractantes, appelées chimiokines, qui jouent un rôle essentiel dans la migration des leucocytes (globules blancs) qui transportent les anticorps et phagocytent les cellules « malades », en particulier au cours de l'infection ou de l'inflammation. « *L'attraction est le grand ressort qui fait mouvoir toute la nature* » disait Voltaire dans ses Lettres Philosophiques.

Au cours des dernières années, de nombreux travaux ont mis en évidence une relation étroite entre le système immunitaire et le système nerveux central, comme c'est le cas entre le cerveau et le système endocrinien (Rostène & Melik-Parsadaniantz, 2008). Bien que le cerveau, comme l'œil, soit un « sanctuaire immunitaire » en raison de la barrière qui les protège de toute agression venant de notre corps, on s'est aperçu que le système immunitaire, le système nerveux et les fonctions oculaires, par exemple, partageaient des éléments communs portant sur la communication cellulaire, la plasticité et la mémoire cellulaire, et possédaient des voies de signalisation identiques et surtout des molécules impliquées dans le développement, le fonctionnement et les mécanismes de mort cellulaire souvent similaires.

Ainsi la principale orientation des recherches sur la neurobiologie des chimiokines, que l'on pourrait appeler « neuro-chimiokinologie », a porté sur la neuro-inflammation. Cependant, petit à petit a émergé le concept selon lequel les chimiokines pouvaient être des molécules biologiquement actives dans le fonctionnement non pathologique de nombreux organes dont le cerveau, ouvrant ainsi de nombreux aspects nouveaux de la recherche biomédicale sur lesquels vont porter cette séance de la Société de Biologie.

Les chimiokines

Le terme de chimiokine a été proposé en 1992 lors du troisième symposium international sur les cytokines chimioattractantes pour définir une propriété particulière de certaines cytokines. L'histoire des chimiokines a débuté en 1977 avec la découverte du « *secreted platelet factor 4* » (PF4/CXCL4) (Walz *et al.*, 1977), puis par l'observation selon laquelle l'une des cytokines, l'interleukine 8 (IL-8/CXCL8), présentait

une activité chimioattractante pour les neutrophiles, suggérant que les chimiokines pouvaient jouer un rôle essentiel dans le contrôle de la migration leucocytaire (Yoshimura *et al.*, 1987).

C'est principalement avec la découverte, en 1996, que le virus du sida VIH-1 utilisait des récepteurs aux chimiokines tels que CCR5 et CXCR4 pour s'introduire dans la cellule, que la recherche sur les chimiokines a fait un bond considérable (Cocchi *et al.*, 1995; Oberlin *et al.*, 1996). Cela a permis non seulement une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels les chimiokines peuvent agir dans la cellule, mais également le développement de substances agonistes et antagonistes de ces récepteurs comme approche thérapeutique du sida.

C'est aussi grâce à cette découverte que l'on s'est intéressé au cerveau. En effet, on s'est aperçu que chez 20–30 % des patients atteints par le VIH-1, existaient des démences et leurs signes moteurs et cognitifs associés. Il n'en fallait pas plus pour que l'on recherche dans le cerveau de ces patients la présence de ces chimiokines et de leurs récepteurs. Ainsi quatre chimiokines ont fait l'objet d'une recherche poussée (CXCL12 et son récepteur CXCR4, CCL3 et CCL4 et leur récepteur CCR5, CCL2 et son récepteur CCR2, et enfin CX3CL1 et son récepteur CX3CR1). Des molécules pouvant bloquer par exemple le récepteur CCR5 sont capables d'inhiber l'infection par le VIH-1 des cellules T, des macrophages et de la microglie dans le cerveau. Il a aussi été montré qu'une mutation $\delta 32$ du récepteur CCR5 chez l'Homme pouvait protéger contre l'infection par le VIH.

À partir de ces données, il est maintenant établi que les chimiokines sont impliquées dans toutes les pathologies qui présentent une composante inflammatoire, incluant non seulement les affections du système immunitaire, mais aussi les maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer, sclérose en plaques, ischémie cérébrale, trauma), les douleurs neuropathiques, les cancers (Lazennec & Richmond, 2010), l'athérosclérose et les maladies de l'œil. Plus encore, elles peuvent jouer un rôle dans la neurotransmission au niveau du cerveau dans des conditions normales non pathologiques (Meucci *et al.*, 1998; Zou *et al.*, 1998; Bajetto *et al.*, 2001; Rostène *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2008).

Classification des chimiokines et de leurs récepteurs

Les chimiokines sont de petites protéines de 60 à 100 acides aminés. On en recense actuellement une cinquantaine qui se classent en quatre grandes catégories, en fonction de l'écartement des acides aminés cystéines situés dans la partie amino-terminale

Quatre familles différentes : CXC(α), CC(β), C(γ), CX3C(δ)

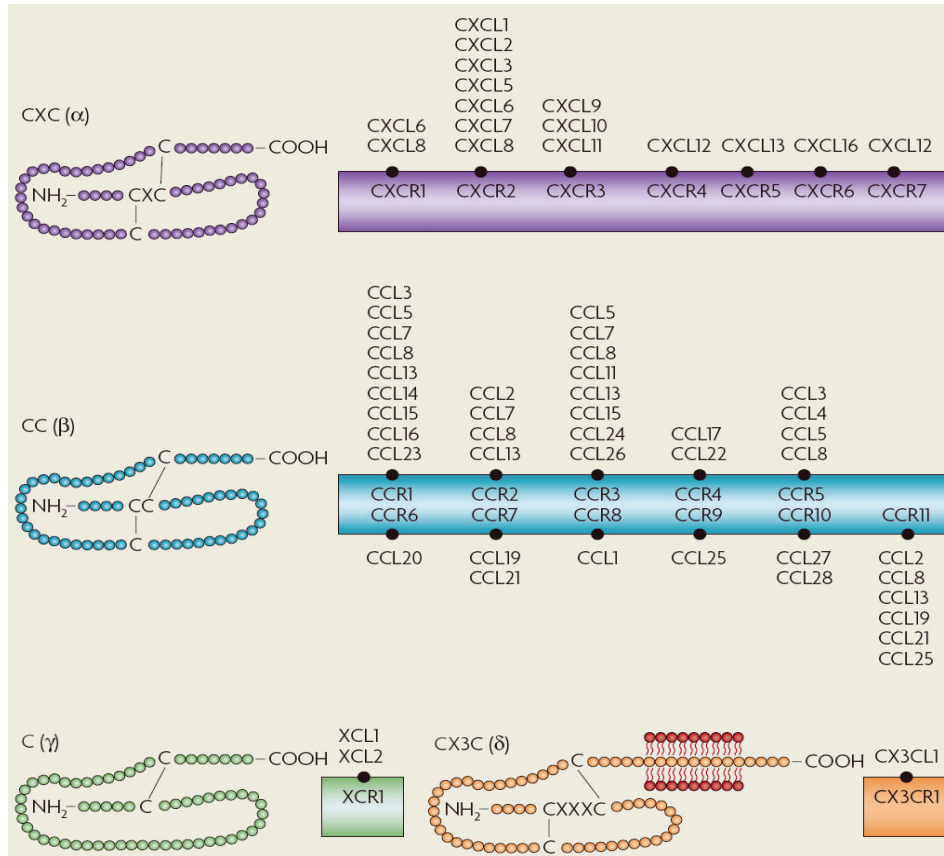


Fig. 1. Familles de chimiokines et leurs récepteurs. Il existe une redondance importante entre les chimiokines et leurs récepteurs. Dans la plupart des cas, une chimiokine se lie à plusieurs récepteurs et inversement un récepteur peut lier plusieurs chimiokines. Une minorité de récepteurs ne possèdent qu'un ligand. Il existe aussi des récepteurs non fonctionnels de ces chimiokines (*decoy receptors* non mentionnés ici) tels que D6, DARC et CCX-CKR qui lient une multitude de chimiokines. Adapté de Rostène & Melik-Parsadaniantz, *Nature Rev Neurosci*, 2007, 8, 895–903.

de la molécule. Ces familles sont appelées CXC, CC, C et CX3C. Chacune d'elles attire des leucocytes bien spécifiques : les CXC (aussi appelées chimiokines α) sont impliquées dans l'inflammation aiguë et attirent les neutrophiles, les lymphocytes T et B et les cellules tueuses. Les CC (chimiokines β) interviennent dans l'inflammation chronique et attirent les monocytes, les macrophages, les lymphocytes T ainsi que les basophiles et les éosinophiles. Les C (chimiokines γ) ne comportent que deux chimiokines, XCL1 et XCL2, qui attirent les lymphocytes T, et enfin la famille CX3C qui ne possède qu'un seul ligand (CX3C1 ou fractaline) chimioattractante pour les lymphocytes T.

Ces chimiokines exercent leurs effets biologiques par l'intermédiaire de récepteurs membranaires que l'on dit couplés aux protéines G, comme c'est le cas pour la majorité des neuropeptides et neurotransmet-

teurs impliqués dans la transmission nerveuse. Une particularité de ce système chimiokinergique repose sur le fait qu'il existe une redondance importante entre les chimiokines et leurs récepteurs. Ainsi, une chimiokine peut se lier à plusieurs récepteurs et un récepteur peut lier plusieurs chimiokines de la même famille. Aujourd'hui plus de 50 chimiokines et une vingtaine de récepteurs ont été identifiés comme l'indique la figure 1. Cette redondance a sans doute une explication physiologique puisqu'elle permet d'augmenter les effets d'une chimiokine donnée et en cas de perte d'activité, comme dans le cas des souris dont le gène est délété (on parle de souris *knock-out*), une autre chimiokine peut prendre le relais et exercer ses effets. C'est aussi la raison pour laquelle il est souvent difficile de mettre en évidence un phénotype particulier chez ces souris transgéniques.

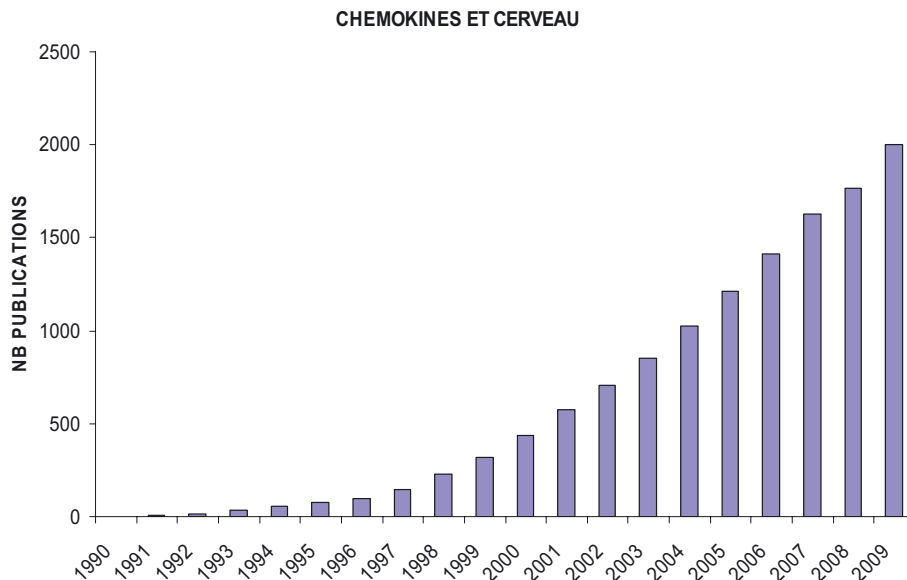


Fig. 2. Nombre de publications dans le domaine des neurosciences concernant les chimiokines (PubMed chemokines and brain) entre 1990 et 2009.

Structure des chimiokines

La structure des chimiokines se compose de trois domaines distincts : une partie flexible en N-terminal présentant des cystéines, une longue séquence qui conduit à trois feuillets β antiparallèles et une hélice α qui recouvre ces feuillets (Baggiolini & Loetscher, 2000). Les études de structure-activité révèlent que la région N-terminale est importante pour la reconnaissance du ligand par son récepteur et l'activation de ce dernier (Clark-Lewis *et al.*, 1991; Kofuku *et al.*, 2009). Toutes les structures des chimiokines décrites jusqu'à présent ont cette conformation tridimensionnelle, même si leur séquence primaire en acides aminés est différente (Clark-Lewis *et al.*, 1995; Clore & Gronenborn, 1995).

Interactions chimiokines-récepteurs

L'interaction de la chimiokine avec son récepteur induit une cascade d'événements intracellulaires qui sont semblables à ce que l'on connaît pour d'autres récepteurs couplés aux protéines G. De même, plusieurs récepteurs des chimiokines peuvent se dimériser (hétérodimérisation, homodimérisation) ou s'oligomériser pour induire une réponse biologique (Mellado *et al.*, 2001). Un des premiers systèmes qui a été mis en évidence est l'inhibition de l'activité adénylate-cyclase qui diminue les taux intracellulaires de l'AMPc *via* la sous-unité $G_{\alpha i}$ des protéines G (Zheng *et al.*, 1999; Bajetto *et al.*,

2001). Il a aussi été montré que la majorité des récepteurs des chimiokines activait la phospholipase C *via* $G_{\alpha q}$, conduisant à la formation de diacylglycérol et d'inositol 1,4,5-triphosphate avec une augmentation de la protéine-kinase C (PKC) et une élévation du calcium intracellulaire (Jones *et al.*, 1995; Knall *et al.*, 1996; Wang *et al.*, 2000). Il en résulte une activation de la voie « *mitogen-activated protein-kinase* » (MAPK), en particulier celle de l'« *extracellular signal-regulated kinase* » (ERK1/2) et la phosphorylation des « *cytoskeletal-associated* » kinases (Ganju *et al.*, 1998; Bajetto *et al.*, 2001; Zhuang *et al.*, 2007). Les études sur l'activation des récepteurs des chimiokines ont aussi montré une activation des protéines *Janus* kinases (JAKs), des facteurs de transcription (STATs) et du « *nuclear factor-kappa B* » (NF- κ B) (Mellado *et al.*, 1998; Wong *et al.*, 1998).

Conclusion

Ce n'est que très récemment que le monde des immunologistes a rejoint celui des neurobiologistes (ou l'inverse) dans un intérêt commun et complémentaire pour rechercher quelles cellules synthétisent les chimiokines et comment ces molécules servent à la communication intercellulaire dans des conditions normales et pathologiques.

En raison du nombre trop important de domaines dans lesquels les chimiokines semblent maintenant impliquées, nous nous sommes focalisés sur certains

d'entre eux, qui illustrent ce domaine de recherche en plein développement (figure 2).

Cette séance de la Société de Biologie va nous permettre de découvrir quelques effets des chimiokines :

- tout d'abord les actions les plus connues dans le domaine de l'immunologie en s'appuyant sur les anomalies de l'axe de signalisation CXCL12/CXCR4 identifiées dans le syndrome WHIM et la lymphopénie T CD4⁺ idiopathique, des déficits immunitaires rares et associés respectivement à un gain et une perte de fonction de CXCR4 (K. Balabanian);
- l'intervention possible des récepteurs de la fractalkine, CX3CR1, ainsi que de CCL2/CCR2 dans les processus d'athérosclérose (C. Combadière);
- celle de CXCL12 et de CCL2 comme neuromédiateurs des systèmes dopaminergiques au niveau du système nerveux central (E. Apartis);
- l'intervention de ces deux chimiokines au niveau des voies de la douleur dans la moelle (S. Melik-Parsadaniantz);
- enfin l'importance des microglies et de CX3CR1 dans les fonctions rétinienues et dans une de ses pathologies, la dégénérescence liée à l'âge (F. Sennlaub).

Références

- Baggiolini M., Loetscher P., Chemokines in inflammation and immunity. *Immunol Today*, 2000, 21, 418–420.
- Bajetto A., Barbero S., Bonavia R., Piccioli P., Pirani P., Florio T., Schettini G., Stromal cell-derived factor-1alpha induces astrocyte proliferation through the activation of extracellular signal-regulated kinases 1/2 pathway. *J Neurochem*, 2001, 77, 1226–1236.
- Bajetto A., Bonavia R., Barbero S., Florio T., Schettini G., Chemokines and their receptors in the central nervous system. *Front Neuroendocrinol*, 2001, 22, 147–184.
- Clark-Lewis I., Kim K.S., Rajarathnam K., Gong J.H., Dewald B., Moser B., Baggiolini M., Sykes, B.D., Structure-activity relationships of chemokines. *J Leukoc Biol*, 1995, 57, 703–711.
- Clark-Lewis I., Schumacher C., Baggiolini M., Moser B., Structure-activity relationships of interleukin-8 determined using chemically synthesized analogs. Critical role of NH₂-terminal residues and evidence for uncoupling of neutrophil chemotaxis, exocytosis, and receptor binding activities. *J Biol Chem*, 1991, 266, 23128–23134.
- Clore G.M., Gronenborn A.M., Three-dimensional structures of alpha and beta chemokines. *Faseb J*, 1995, 9, 57–62.
- Cocchi F., DeVico A.L., Garzino-Demo A., Arya S.K., Gallo R.C., Lusso, P., Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8⁺ T cells. *Science*, 1995, 270, 1811–1815.
- Ganju R.K., Brubaker S.A., Meyer J., Dutt P., Yang Y., Qin S., Newman W., Groopman J.E., The alpha-chemokine, stromal cell-derived factor-1alpha, binds to the transmembrane G-protein-coupled CXCR4 receptor and activates multiple signal transduction pathways. *J Biol Chem*, 1998, 273, 23169–23175.
- Jones S.A., Moser B., Thelen M., A comparison of post-receptor signal transduction events in Jurkat cells transfected with either IL-8R1 or IL-8R2. Chemokine mediated activation of p42/p44 MAP-kinase (ERK-2). *FEBS Lett*, 1995, 364, 211–214.
- Knall C., Young S., Nick J.A., Buhl A.M., Worthen G.S., Johnson G.L., Interleukin-8 regulation of the Ras/Raf/mitogen-activated protein kinase pathway in human neutrophils. *J Biol Chem*, 1996, 271, 2832–2838.
- Kofuku Y., Yoshiura C., Ueda T., Terasawa H., Hirai T., Tominaga S., Hirose M., Maeda Y., Takahashi H., Terashima Y., Matsushima K., Shimada I., Structural basis of the interaction between chemokine stromal cell-derived factor-1/CXCL12 and its G-protein-coupled receptor CXCR4. *J Biol Chem*, 2009, 284, 35240–35250.
- Lazennec G., Richmond A., Chemokines and chemokine receptors: new insights into cancer-related inflammation. *Trends Mol Med*, 2010, 16, 133–144.
- Mellado M., Rodriguez-Frade J.M., Aragay A., del Real G., Martin A.M., Vila-Coro A.J., Serrano A., Mayor F., Jr., Martinez A.C., The chemokine monocyte chemoattractant protein 1 triggers Janus kinase 2 activation and tyrosine phosphorylation of the CCR2B receptor. *J Immunol*, 1998, 161, 805–813.
- Mellado M., Vila-Coro A.J., Martinez C., Rodriguez-Frade J.M., Receptor dimerization: a key step in chemokine signalling. *Cell Mol Biol*, 2001, 47, 575–582.
- Meucci O., Fatatis A., Simen A.A., Bushell T.J., Gray P.W., Miller R.J., Chemokines regulate hippocampal neuronal signaling and gp120 neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95, 14500–14505.
- Miller R.J., Rostène W., Apartis E., Banisadr G., Biber K., Milligan E.D., White F.A., Zhang J., Chemokine action in the nervous system. *J Neurosci*, 2008, 28, 11792–11795.
- Oberlin E., Amara A., Bachelier F., Bessia C., Virelizier J.L., Arenzana-Seisdedos F., Schwartz O., Heard J.M., Clark-Lewis I., Legler D.F., Loetscher M., Baggiolini M., Moser B., The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. *Nature*, 1996, 382, 833–835.
- Rostène W., Kitabgi P., Melik-Parsadaniantz S., Chemokines: a new class of neuromodulator? *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8, 895–903.

- Rostène W., Melik-Parsadaniantz S., De nouveaux messagers dans le cerveau. *Pour la Science*, 2008, 369, 66–72.
- Walz D.A., Wu V.Y., de Lamo R., Dene H., McCoy L.E., Primary structure of human platelet factor 4. *Thromb Res*, 1977, 11, 893–898.
- Wang J.F., Park I.W., Groopman J.E., Stromal cell-derived factor-1 α stimulates tyrosine phosphorylation of multiple focal adhesion proteins and induces migration of hematopoietic progenitor cells: roles of phosphoinositide-3 kinase and protein kinase C. *Blood*, 2000, 95, 2505–2513.
- Wong M., Fish, E.N., RANTES and MIP-1 α activate stats in T cells. *J Biol Chem*, 1998, 273, 309–314.
- Yoshimura T., Matsushima K., Tanaka S., Robinson E.A., Appella E., Oppenheim J.J., Leonard E.J., Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84, 9233–9237.
- Zheng J., Thylin M.R., Ghorpade A., Xiong H., Persidsky Y., Cotter R., Niemann D., Che M., Zeng Y.C., Gelbard H.A., Shepard R.B., Swartz J.M., Gendelman H.E., Intracellular CXCR4 signaling, neuronal apoptosis and neuropathogenic mechanisms of HIV-1-associated dementia. *J Neuroimmunol*, 1999, 98, 185–200.
- Zhuang Z.Y., Kawasaki Y., Tan P.H., Wen Y.R., Huang J., Ji R.R., Role of the CX3CR1/p38 MAPK pathway in spinal microglia for the development of neuropathic pain following nerve injury-induced cleavage of Fractalkine. *Brain Behav Immun*, 2007, 21, 642–651.
- Zou Y.R., Kottmann A.H., Kuroda M., Taniuchi I., Littman D.R., Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature*, 1998, 393, 595–599.