

Implication de la chimiokine CCL2 dans la transmission de l'information nociceptive

Stéphane Mélik-Parsadaniantz

Centre de Recherche de l'Institut Cerveau Moelle (Cr ICM) UMR S 975 INSERM, UMR 7225 CNRS, UPMC, Équipe Douleurs, Faculté de Médecine Pitié Salpêtrière, 91 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France

Auteur correspondant : Stéphane Mélik-Parsadaniantz, stephane.melik-parsadaniantz@inserm.fr

Reçu le 15 septembre 2010

Résumé – Les chimiokines sont de petites protéines appartenant à la famille des cytokines inflammatoires dont le rôle princeps est l'attractivité et l'activation des cellules immunes. Ces chimiokines exercent leurs activités biologiques en interagissant avec des récepteurs appartenant à la famille des récepteurs couplés aux protéines G. Il est maintenant clair que les chimiokines et leurs récepteurs, en dehors de tout contexte pathologique, sont exprimés dans le système nerveux. L'exploration de l'implication des chimiokines et de leurs récepteurs dans la nociception est un domaine en pleine expansion. En effet, de nombreuses études s'accordent à dire que les chimiokines s'inscrivent désormais, tant au niveau périphérique que central, comme des modulateurs de l'information nociceptive. Après un bref rappel sur le système « chimiokinergique » nous présentons les derniers travaux portant sur la chimiokine CCL2, qui est une cytokine chimio-attractante exerçant son action par sa liaison au récepteur nommé CCR2. De nombreuses données laissent à penser que la chimiokine CCL2, exprimée et libérée au niveau spinal, pourrait influencer directement la transmission des informations nociceptives, participer ainsi à l'adaptation neuronale et probablement à la plasticité des cellules gliales ainsi qu'à l'attractivité des cellules immunes observée en conditions de douleur chronique de nature neuropathique.

Mots clés : CCL2 / CCR2 / nociception / antagoniste CCR2

Abstract – CCL2 chemokine and transmission of nociceptive information.

Chemokines are small proteins belonging to the family of inflammatory cytokines whose main property is to attract and activate immune cells. Chemokines produce their biological activity by interacting with receptors belonging to the family of G protein-coupled receptors (GPCR). It is now clearly demonstrated that, under non-pathological conditions, chemokines and their receptors are constitutively expressed in the nervous system. Exploration of the implication of chemokines and their receptors in pain is a rapidly expanding domain of research. Recent results demonstrate that chemokines are active as modulators of nociceptive information both in the peripheral and central nervous system. After a brief recall of the chemokinergic system, we will discuss recent work on CCL2, a chemo-attractive cytokine which binds to the CCR2 receptor. There is a large body of data supporting the hypothesis that the CCL2 chemokine, released in the dorsal horn of the spinal cord, could have a direct effect on the transmission of nociceptive information and thus participate in neuronal adaptation and probably in the plasticity of glial cells and attractivity of immune cells observed during the installation and development of chronic pain arising from an inflammatory and/or neuropathic mechanism.

Key words: CCL2 / CCR2 / nociception / CCR2 antagonist

La douleur : définitions et voies neuronales mises en jeu

La sensation de douleur aiguë (nociception) est considérée comme essentielle à la survie des organismes complexes. Toutefois, la douleur présente un grand paradoxe : alors que la douleur aiguë est bénéfique pour l'organisme, la douleur chronique est, quant à elle, très souvent délétère. En effet, la douleur aiguë est l'un des mécanismes de défense de l'hôte, qui permet d'engendrer rapidement une alerte afin de prémunir l'organisme contre des traumatismes potentiellement plus importants. La douleur aiguë est activée uniquement par des stimuli de types nocifs (chaleur/froid, écrasement/piqûre, acidité) qui agissent directement sur des systèmes sensoriels à haut seuil. Cependant, dans un grand nombre de situations cliniques, certains patients développent des syndromes de douleur chronique qui reflètent le fonctionnement aberrant d'un système nerveux altéré pathologiquement (Scholz & Woolf, 2002). Cette chronicité de la douleur résulte non seulement d'un dommage ou d'un dysfonctionnement du système nerveux central (SNC), mais aussi du système nerveux périphérique relatif à une souffrance de nerfs (transsection, compression) ou de tissus périphériques (infection ou inflammation). Dans ces conditions de douleurs chroniques, les patients sont alors sujets à des sensations de douleur spontanée, des sensations de douleur exacerbée (hyperalgie) ou à des sensations de douleur à des stimuli qui sont normalement non nociceptifs (effleurement tactile, faible variation de température) que l'on caractérise sous le nom d'allodynie.

De nos jours, la douleur chronique est considérée dans les pays industrialisés comme un sérieux problème de santé publique, dû notamment à son coût social important. Bien qu'un certain nombre de médicaments antidouleur soient disponibles sur le marché, médicaments prescrits en fonction du degré de ressenti et de la caractéristique de douleur de chaque patient, on constate encore malheureusement que certains syndromes douloureux échappent complètement à ces médications, ce qui affecte de manière considérable la qualité de vie des patients. En outre, l'utilisation de drogues (dites tueuses de douleur), comme notamment celles agissant sur les récepteurs du GABA et les opiacées, produisent à long terme de nombreux effets indésirables, des phénomènes de tolérance et de dépendance. Il en résulte que, actuellement, de nombreux syndromes de douleur chronique demeurent difficiles à prendre en charge sur le plan pharmacologique.

Les stimuli douloureux sont détectés en périphérie par les terminaisons libres des nerfs provenant d'une population spécifique de neurones pseudo-unipolaires. Les fibres nerveuses nociceptives qui sont de petit

diamètre, sont soit non myélinisées pour les fibres C, soit faiblement myélinisées pour les fibres A δ . Les informations sensorielles générées par les nocicepteurs localisés dans les tissus périphériques sont codées en signal électrique par les neurones sensitifs primaires dont les péricaryons sont localisés au sein des ganglions de la racine dorsale (GRDs) (figure 1). Ces neurones sensitifs primaires projettent leurs afférences centrales vers la corne dorsale de la moelle épinière où elles entrent en contact synaptique avec les neurones des voies spino-thalamiques et spino-parabrachiales qui se projettent vers les centres supérieurs impliqués dans le contrôle de la douleur (thalamus, cortex, hypothalamus et noyaux amygdaliens) (Woolf & Salter, 2000). Au niveau spinal, la transmission des signaux nociceptifs est aussi modulée, entre autres, par des neurones descendants provenant des régions bulbo-mésencéphaliques mais aussi par des interneurons spinaux mettant en jeu de nombreux neurotransmetteurs et neuromédiateurs (sérotonine, noradrénaline, peptides opioïdes, GABA). De plus, au sein de la corne dorsale de la moelle épinière, les cellules gliales (astrocytes et microglie) sont, elles aussi, capables de moduler la transmission nociceptive par la synthèse et la libération de glutamate ainsi que de nombreuses molécules pro-inflammatoires.

Au niveau périphérique, lorsqu'un tissu est endommagé (soit mécaniquement, soit au cours d'une infection ou d'une ischémie), de nombreux médiateurs chimiques sont libérés localement (bradykinine, sérotonine, métabolites lipidiques, cytokines, chimiokines, protons, nucléotides, *Nerve Growth Factor*) par les différentes cellules en souffrance (Woolf & Costigan, 1999). Certains de ces médiateurs agissent directement sur les nocicepteurs ; d'autres peuvent induire une sensibilisation du système nerveux somatosensoriel. Comme indiqué précédemment, il est établi que la douleur chronique engendre des états d'hyper-sensibilité douloureuse. En effet, lors de douleur persistante, une augmentation de l'excitabilité des neurones nociceptifs ainsi qu'une diminution de leur seuil d'activation sont souvent notables.

Brefs rappels sur la classification des chimiokines et de leurs récepteurs

Les chimiokines sont de petites protéines de masse moléculaire comprise entre 8 et 14 kDa constituées d'une centaine d'acides aminés. De nos jours, plus d'une cinquantaine de chimiokines ont été découvertes, subdivisées en quatre sous-familles dont la classification est basée sur la distance entre les deux résidus cystéine en position N-terminale dans la chaîne des acides aminés. Les sous-familles ont été dénommées CXC, CC, CX3C et XC, ceci en accord avec la nomenclature internationale (Murphy, 2002).

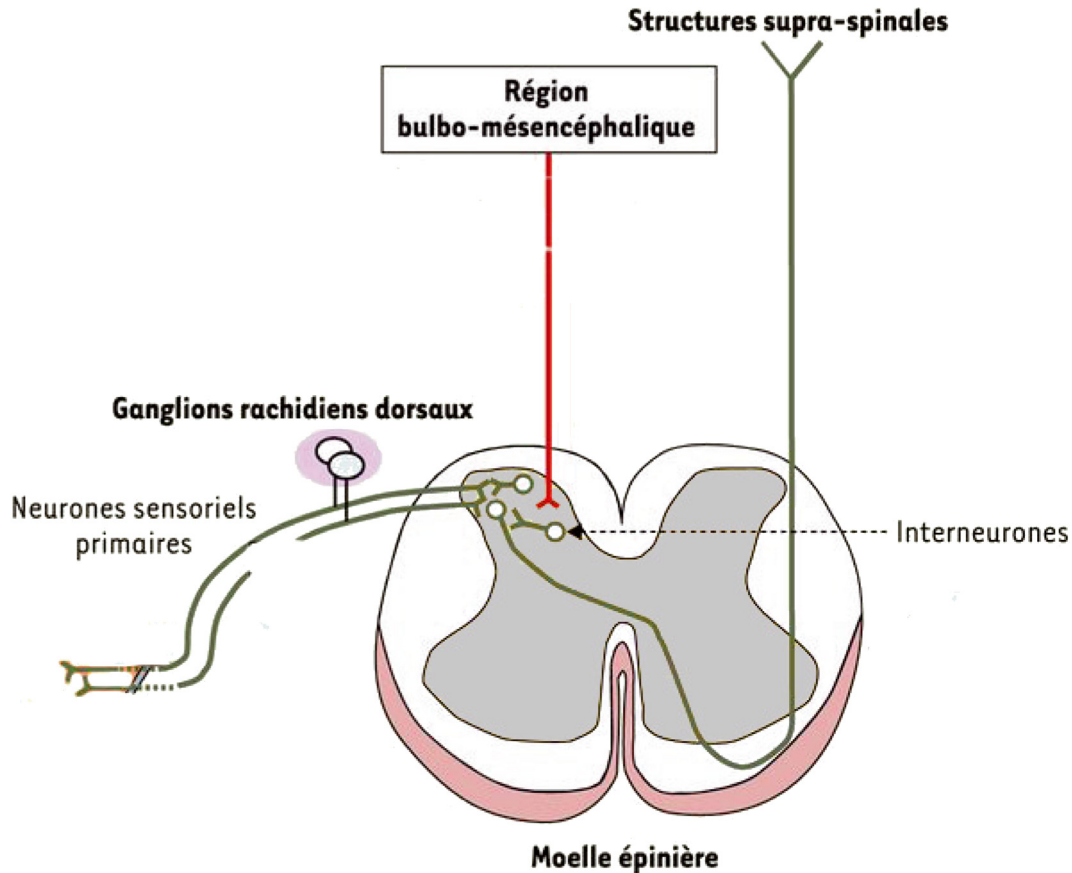


Fig. 1. Transmission et modulation de l'information nociceptive. Les récepteurs sensibles à une stimulation nociceptive, appelés nocicepteurs, sont constitués par des terminaisons libres de fibres nerveuses capables d'identifier une stimulation nociceptive et de coder le niveau d'intensité du stimulus. Les neurones sensitifs sont des neurones dont le prolongement unique s'étend d'un côté jusqu'à la périphérie où leur extrémité tissulaire représente la partie sensible à proprement parler et, de l'autre côté, jusqu'au système nerveux central où il établira une synapse avec les neurones secondaires. Ces nocicepteurs, dont les corps cellulaires se trouvent dans le ganglion de la racine dorsale, se projettent dans les couches superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière. À ce niveau, les cellules gliales et les neurones spinaux vont moduler l'information sensorielle. La résultante, si elle n'est pas complètement inhibée, sera intégrée dans des centres supra-spinaux et sera perçue comme une information douloureuse. Des voies descendantes sont activées et reçoivent ensuite une seconde inhibition au niveau spinal. Récemment, la présence de la chimiokine CCL2 et de son récepteur CCR2 a été mise en évidence dans les ganglions de la racine dorsale et dans la corne dorsale de la moelle épinière de rat.

Les chimiokines exercent leurs effets biologiques au travers de récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G (RCPG). La nomenclature des récepteurs suit celle des chimiokines qu'elles lient ; ainsi les récepteurs ont été désignés CXCRn, CCRn, CX3CRn et XCRn, ayant pour ligands respectifs les chimiokines des sous-familles CXC, CC, CX3C et XC.

L'une des particularités du système « chimiokinergique » est que les chimiokines et leurs récepteurs opèrent dans un système très redondant, qualifié de « polygame » et exercent des activités pléiotropes. Ainsi, en règle générale, une chimiokine peut se fixer

sur plusieurs récepteurs exprimés par différentes populations cellulaires et inversement, un récepteur de chimiokine peut reconnaître et fixer plusieurs chimiokines. De ce fait, on parle alors de récepteurs « partagés ». La faculté pour un récepteur d'être sensible à plusieurs chimiokines permet une certaine robustesse du système, mais cette redondance fonctionnelle constitue le premier niveau de complexité d'interaction entre les chimiokines et leurs récepteurs. Cela constitue d'ailleurs une difficulté bien connue en pharmacologie pour le développement de molécules (agonistes, antagonistes) spécifiques et sélectives d'un récepteur donné.

Chimiokines : de la neuroinflammation à la neuromodulation de la douleur

Outre le fait que les chimiokines jouent un rôle très important dans de nombreuses fonctions biologiques au niveau cellulaire (adhésion cellulaire, phagocytose, sécrétion de cytokines) (Hesseltger & Horuk, 1999), les chimiokines interviennent aussi dans la régulation des phénomènes inflammatoires en régissant l'attractivité et l'activation des cellules immunes (Hesseltger & Horuk, 1999).

Au sein du système nerveux, de nombreuses études suggèrent que les chimiokines puissent aussi jouer un rôle dans l'homéostasie du système nerveux central, dans la différenciation et la migration des cellules nerveuses lors de l'ontogenèse, mais également comme des puissants médiateurs de phénomènes neuro-inflammatoires et neuro-dégénératifs (Ransohoff & Tani, 1998; Mennicken *et al.*, 1999; Mines *et al.*, 2007). Toutefois, en dépit de tout contexte neuro-inflammatoire et/ou neuro-dégénératif, il a été récemment découvert que certaines chimiokines et leurs récepteurs sont aussi exprimés à l'état basal, non seulement par les cellules gliales mais également par les neurones. Ces dernières données laissent à penser que les « systèmes chimiokinergiques » joueraient un rôle dans la neuro-modulation du système nerveux (Rostène *et al.*, 2007) ouvrant ainsi un nouveau champ de recherche en Neurosciences.

La relation entre l'initiation de la réponse inflammatoire et le développement de la douleur chronique est maintenant bien établie. Ainsi, la cascade évènementielle inflammatoire fait apparaître des relations étroites entre des éléments non neuronaux (tels que les cellules de Schwann, les cellules gliales, les cellules immunes infiltrantes) et les éléments neuronaux. Parmi les différents facteurs identifiés à ce jour, les chimiokines semblent jouer un rôle important dans ces interrelations, qui peuvent altérer la nociception. À l'appui de cette hypothèse, divers modèles animaux de douleurs chroniques ont montré que l'expression des chimiokines et de leurs récepteurs est affectée aussi bien dans ces éléments non neuronaux que dans les neurones, et ceci à divers niveaux d'intégration du message nociceptif : terminaisons neurosensorielles, axones, neurones sensitifs primaires, corne dorsale de la moelle épinière ainsi que dans diverses structures supra-spinales (Abbadie, 2005; White *et al.*, 2005a; Rittner & Brack, 2006). En outre, l'injection intrathécale de chimiokines induit des phénomènes d'hyperalgésie et d'allodynie; ceci semble indiquer que l'expression des récepteurs de chimiokines au niveau spinal est d'une part constitutive et d'autre part fonctionnelle (Milligan *et al.*, 2004). Ainsi, au regard des données récentes, il apparaît de plus en plus évident que les chimiokines joueraient un rôle im-

portant dans les communications neuro-neurales, neuro-gliales et glio-gliales dans les mécanismes biologiques impliqués, c'est-à-dire dans les modifications des seuils de nociception lors de douleur chronique. De manière tout à fait intéressante et novatrice, les chimiokines doivent maintenant être regardées comme des médiateurs importants de la nociception et comme des cibles thérapeutiques à haut potentiel dans le traitement de la douleur chronique (White *et al.*, 2007).

Compte tenu du nombre important de chimiokines découvertes à ce jour, cette revue se focalise plus particulièrement sur le rôle de la chimiokine CCL2 et de son récepteur CCR2 dans la transmission de l'information nociceptive. En effet, à la vue de données récentes, cette chimiokine semble être impliquée précocement dans les processus physio-pathologiques conduisant à une altération de la nociception. La deuxième raison qui a orienté notre choix, est due au fait que des antagonistes spécifiques et sélectifs du récepteur CCR2 (humain et murin) ont été de nos jours caractérisés et sont en cours d'évaluation pour leur potentialité thérapeutique.

Implication de la chimiokine CCL2 et de son récepteur CCR2 dans la nociception

L'importance d'une contribution du couple ligand/récepteur (CCL2/CCR2) dans la douleur pathologique a été initialement étayée par l'observation des souris déficientes pour le récepteur CCR2 qui sont résistantes à l'induction d'un mécanisme d'allodynie induit par la ligature du nerf sciatique (Abbadie *et al.*, 2003). *A contrario*, des souris transgéniques surexprimant le CCL2 au niveau des cellules gliales dans la corne dorsale de la moelle épinière ont montré une nette augmentation de leur sensibilité à la douleur (Menetski *et al.*, 2007). De plus, certaines études réalisées sur divers modèles animaux de douleur chronique ont montré que les expressions de cette chimiokine et de son récepteur sont fortement augmentées dans les ganglions de la racine dorsale et dans la corne dorsale de la moelle épinière (structures neuro-anatomiques impliquées dans le contrôle primaire de la nociception) (pour revue, voir Miller *et al.*, 2009). Ainsi la chimiokine CCL2, au travers de l'activation de son récepteur CCR2, semble être directement responsable d'altérations de la nociception. À l'appui de cette hypothèse, nous avons pu démontrer *in vivo* qu'une seule injection intrathécale de MCP-1/CCL2 chez des rats sains induit une hyperalgésie à la chaleur ainsi qu'une allodynie soutenue durant 3 jours consécutifs, ces effets étant bloqués par un antagoniste spécifique du récepteur CCR2 (Dansereau *et al.*, 2008).

Toutefois, il semblerait que les modes d'action de CCL2 sur la transmission de l'information somatique sensorielle soient multiples et complexes, selon différents mécanismes que nous allons détailler ci-dessous.

CCL2/CCR2 et neuro-modulation de la transmission de l'information nociceptive

Le travail réalisé par notre équipe au cours de ces dernières années a consisté à rechercher si ce système « chimiokinergique » (CCL2/CCR2) contribuait directement à la neuro-modulation de la transmission de l'information nociceptive. Dans un premier temps, en utilisant une approche d'immunohistochimie, nous avons démontré que la chimiokine MCP-1/CCL2 est exprimée dans les neurones sensoriels primaires situés dans les ganglions de la racine dorsale, mais aussi au niveau de leurs terminaisons axonales situées dans la corne dorsale de la moelle épinière. De plus, par la technique de double marquage fluorescent, nous avons établi que cette chimiokine est colocalisée dans les neurones afférents primaires avec les peptides classiquement impliqués dans la nociception tels la Substance P et le CGRP (*Calcitonin Gene Related Peptide*) (Dansereau *et al.*, 2008).

L'une des premières possibilités d'action serait que le CCL2 synthétisé par les neurones sensitifs primaires soit libéré au niveau somato-dendritique pour moduler de manière autocrine ou paracrine leur activité. À l'appui de cette hypothèse, nous avons réalisé des expériences *ex vivo* de périfusion d'explants de GDRs de rat et ainsi démontré que la chimiokine CCL2 peut être libérée de manière Ca^{2+} dépendante après une dépolarisation potassique (Dansereau *et al.*, 2008). D'autres travaux réalisés *in vitro* ont permis d'établir que cette chimiokine module directement l'activité des neurones sensitifs primaires situés au niveau des GDRs. En effet, l'application de CCL2 sur des neurones néonataux en culture augmente la proportion de $[\text{Ca}^{2+}]$ intracellulaire (Oh *et al.*, 2001). Par ailleurs, sur des neurones sensitifs fraîchement isolés après une compression chronique des GRDs, il a été établi que le CCL2 induit directement une modification de leur seuil de dépolarisation membranaire mais génère aussi des potentiels d'action. D'après les mécanismes qui sous-tendent ces effets, on peut conclure que le CCL2 affecte directement les conductances cationiques mais inhibe aussi, de manière voltage-dépendante, les courants sortant de ces neurones sensitifs primaires (Sun *et al.*, 2006). La sensibilisation des nocicepteurs par le CCL2 peut aussi être causée *via* une transactivation des récepteurs de potentiel transitoire (*TRP channels*) comme cela a pu être démontré dans l'étude de Jung

et al. (2008). Ces effets excitateurs de CCL2 sur les neurones sensitifs primaires pourraient ainsi conduire à une facilitation du transport axonal et à la libération d'un peptide pro-nociceptif tel que le CGRP au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière comme ont pu le démontrer Qin *et al.* (2005).

La deuxième possibilité serait que le CCL2 soit transporté au niveau des terminaisons axonales des neurones sensitifs primaires, celles-ci étant situées dans la corne dorsale de la moelle épinière, pour moduler les activités synaptiques de neurones spinaux. Des expériences réalisées *ex vivo* en périfusion d'explants de moelle dorsale de rat ont aussi établi que la chimiokine CCL2 peut être libérée de manière Ca^{2+} dépendante après une dépolarisation potassique ou une stimulation par la capsaïcine (Dansereau *et al.*, 2008). En outre, des expériences d'électrophysiologie, réalisées en *patch clamp* sur des neurones spinaux en culture, ont montré que le CCL2 peut directement inhiber l'hyperpolarisation induite par la stimulation des récepteurs GABA_A par le GABA (sensibles à la bicuculline). Cette réversion de l'inhibition GABAergique pourrait aussi rendre compte des effets pronociceptifs de CCL2 au niveau spinal (Gosselin *et al.*, 2005).

L'expression du récepteur CCR2 au niveau des neurones sensitifs primaires a été observée dans différents modèles animaux de neuropathie (White *et al.*, 2005b ; Jung & Miller, 2008 ; Jung *et al.*, 2008). Cependant, bien que les effets neuro-modulateurs de CCL2 au niveau spinal aient pu être observés par ces approches électrophysiologiques, l'expression de CCR2 au niveau des neurones spinaux fait encore l'objet de controverse. Toutefois, une étude récente, utilisant des souris transgéniques CCR2-GFP, a montré la présence d'un signal GFP faible mais clair dans les neurones de la corne dorsale (Jung *et al.*, 2009). Par ailleurs, après une ligature du nerf spinal, l'expression de CCR2 a pu être détectée par hybridation *in situ* dans les neurones spinaux de la corne dorsale de rat (Gao *et al.*, 2009). En outre, *in vitro* sur des neurones spinaux en culture, une expression de CCR2 a aussi été rapportée par immunocytochimie (Gosselin *et al.*, 2005).

CCL2 et terminaisons nerveuses sensibles

La chimiokine CCL2 peut induire des mécanismes d'hypersensibilité à la douleur en agissant directement sur les terminaisons des neurones nociceptifs situés en périphérie. En effet, le CCL2 synthétisé par les neurones sensitifs primaires peut être transporté vers la peau et libéré par des terminaisons sensibles du derme pour agir directement sur le recrutement et l'activation de cellules macrophagiques qui,

en réponse, pourraient libérer de nombreux facteurs pro-inflammatoires (Abbadie, 2005; Bogen *et al.*, 2009). D'autre part, nous ne pouvons pas exclure, comme pour le côté central, la possibilité que la chimiokine CCL2 module la libération périphérique de la SP ou du CGRP par les terminaisons sensibles, ce qui aurait pour conséquence indirecte une modification des conductances des canaux ioniques comme cela a été décrit précédemment.

CCL2 et activation des cellules gliales

Des éléments de plus en plus nombreux amènent à penser que le CCL2 joue aussi un rôle prépondérant dans l'activation des cellules gliales et microgliales (Abbadie, 2005). En effet, il existe une relation spatio-temporelle entre l'augmentation de l'expression du CCL2 au niveau spinal et l'activation gliale dans des modèles de douleur neuropathique (Zhang & De Koninck, 2006). De plus, comme nous l'avons vu précédemment, les souris surexprimant la chimiokine CCL2 dans les astrocytes spinaux présentent un comportement nociceptif exacerbé en réponse à des stimuli de nature thermique et chimique (Menetski *et al.*, 2007). En outre, la réduction très notable du nombre de cellules astrocytaires et microgliales activées au cours d'une neuropathie chez la souris déficiente pour le CCR2 conforte cette dernière hypothèse (Abbadie *et al.*, 2003; Zhang & An, 2007). De manière tout à fait intéressante, la microgliose induite lors d'une neuropathie au niveau spinal est fortement réduite après injection d'anticorps neutralisants anti-CCL2, alors que l'administration répétée de fortes doses de CCL2 par injection intraspinale est, elle, capable d'induire une microgliose (Zhang *et al.*, 2007; Thacker *et al.*, 2009).

Cependant peu d'informations précises ont été rapportées dans la littérature concernant les mécanismes intracellulaires affectant les cellules gliales après une stimulation par le CCL2. *In vitro*, une activation de la voie p38 MAPK dans les cellules microgliales a été montrée après stimulation par le CCL2. *A contrario*, dans un modèle de lésion de nerf périphérique, les souris déficientes pour le récepteur CCR2 présentent une nette réduction de l'activation de cette voie dans les cellules microgliales. Par ailleurs, il a aussi été établi que l'expression de CCL2 est hautement inducible dans les astrocytes en culture. En effet, une brève exposition au TNF α d'astrocytes en culture est responsable d'une très forte augmentation (plus de cent fois) du taux d'expression de CCL2. Cette activation de l'expression de CCL2 induite par le TNF α semble dépendre d'une activation de la voie JNK (Gao *et al.*, 2009). Finalement nous avons récemment observé que, à la suite d'une injection intrathécale de CCL2, il existe au niveau spinal une augmentation significative

de l'expression de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL6, TNF α), mais également une activation d'enzymes telles que la cyclo-oxygénase de type 2 et la NO synthase inducible (données personnelles). L'ensemble de ces données semble conforter l'hypothèse selon laquelle la chimiokine CCL2 jouerait un rôle important comme molécule de signalisation entre les cellules gliales (astrocytes et microglie) et les neurones et contribuerait ainsi à la mise en place d'une sensibilisation centrale consécutive à une lésion de nerf (Gao & Ji, 2010).

CCL2/CCR2 et attractivité des cellules immunes

Un nombre croissant de données indique que les interactions entre les systèmes nerveux et immunitaire jouent aussi un rôle très important dans le développement de douleurs neuropathiques consécutives à une lésion de nerf. En outre, il apparaît que les voies de signalisation entre les neurones sensitifs primaires, les cellules de Schwann, les cellules gliales (astrocytes et microglie) et les cellules immunes sont hautement entrelacées et que les cytokines et les chimiokines sont les composantes centrales de ce réseau complexe. En effet, des dommages mécaniques causés à des nerfs engendrent des modifications structurelles et fonctionnelles des neurones sensitifs, corrélées à une réponse inflammatoire exacerbée. Ainsi au niveau périphérique, après une lésion du nerf, le recrutement et l'activation de macrophages au niveau du site lésionnel sont orchestrés par les chimiokines, notamment CCL2, agissant au travers d'une activation du récepteur CCR2 (Perrin *et al.*, 2005). Ainsi, immédiatement après la lésion du nerf, les cellules de Schwann ainsi que les macrophages participent activement au mécanisme de dégénérescence wallerienne, durant lequel de nombreux facteurs vasodilatateurs vont être libérés (tels que CGRP, Substance P, bradykinine, NO), modifiant la perméabilité vasculaire; ces facteurs, comme nous l'avons vu précédemment, sont aussi capables de perturber l'activité propre du neurone sensoriel. Quelques jours après la lésion, un infiltrat cellulaire dense, composé principalement de cellules macrophagiques, de cellules T, de mastocytes, est alors retrouvé au niveau du site lésionnel (Stoll *et al.*, 2002). L'ensemble de ces cellules infiltrées libère de nombreux facteurs pro-inflammatoires (cytokines, interféron, TNF, chimiokines de la famille CC dont le CCL2, etc.), facteurs qui peuvent eux aussi moduler directement l'activité spontanée des nocicepteurs (Schafers *et al.*, 2003; Cunha *et al.*, 2005).

Par ailleurs, il a été observé que les GDRs possèdent quelques macrophages et cellules T

résidents localisés près des cellules satellites. D'après les données récentes, il a été établi qu'une lésion de nerf périphérique est capable d'induire rapidement l'activation de ces cellules immunes résidentes, mais aussi de déclencher un phénomène de recrutement de macrophages et de cellules T circulant au niveau des GDRs. Ainsi, puisqu'une nette augmentation du taux d'expression de CCL2 a été observée au niveau des GDRs dans des modèles animaux de neuropathie, il est logique de formuler, à titre d'hypothèse, que l'invasion des GDRs par les macrophages circulants consécutive à une lésion de nerf pourrait être sous la dépendance d'une libération paracrine accrue de CCL2 par les neurones sensitifs primaires (White *et al.*, 2005b; Jung & Miller, 2008; Jung *et al.*, 2008). Par ailleurs, comme nous l'avons vu précédemment, la chimiokine CCL2 peut aussi être libérée au niveau des terminaisons axonales des neurones sensitifs primaires de la corne dorsale de la moelle. Il en résulte une libération accrue de CCL2 dans la corne dorsale qui pourrait rendre compte de l'augmentation de l'infiltration de cellules immunes (des macrophages et des cellules T) observée lors de neuropathie (Costigan *et al.*, 2009).

CCR2, cible thérapeutique potentielle dans le traitement de la douleur chronique ?

La douleur chronique reste l'un des problèmes médicaux les plus difficilement reconnus et les moins bien pris en charge actuellement. Toutes douleurs confondues, cinquante millions d'européens souffrent de douleurs chroniques. L'enjeu n'est autre que d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques en rapport avec cette pathologie. Au vu de la littérature, l'étude de la famille de récepteurs des chimiokines présente un intérêt scientifique croissant pour permettre la découverte de nouveaux composés actifs sur ce type de pathologie. Ainsi, la découverte de l'intervention des chimiokines, et plus particulièrement de CCL2 via son récepteur CCR2 dans la transmission de l'information nociceptive, constitue une avancée importante. En outre, le développement d'un antagoniste non peptidique et sélectif, bio-disponible par voie orale, pour le récepteur CCR2 pourrait constituer une nouvelle classe d'agents analgésiques dans le traitement de la douleur chronique. De ce fait, des efforts intenses sont actuellement entrepris par le secteur industriel afin de synthétiser de telles molécules. Récemment, un antagoniste non peptidique spécifique du récepteur CCR2 murin et humain (INCB 3344), présentant une affinité nanomolaire pour le récepteur CCR2, a été synthétisé par la société *Incyte Corporation* (Brodmerkel *et al.*, 2005; Shin *et al.*, 2009). Cette molécule s'est révélée efficace pour bloquer le chimiotactisme des monocytes

de souris induit par le CCL2. De plus, ce composé a démontré une capacité importante à réduire l'œdème tissulaire et l'inflammation consécutifs à une invasion macrophagique induite par l'injection d'un agent inflammatoire (Brodmerkel *et al.*, 2005). Une première étude réalisée par notre groupe a permis de démontrer l'efficacité de cet antagoniste pour bloquer les effets pro-nociceptifs du CCL2 injecté par voie intrathécale chez des rats naïfs, sur l'hyperalgie à la chaleur et l'allodynie mécanique (Dansereau *et al.*, 2008). Dans un futur proche, il sera intéressant d'évaluer la potentialité thérapeutique de ce composé dans des modèles animaux de douleur chronique de nature inflammatoire ou neuropathique.

Références

- Abbadie C., Chemokines, chemokine receptors and pain. *Trends Immunol*, 2005, 26, 529-534.
- Abbadie C., Lindia J.A., Cumiskey A.M., Peterson L.B., Mudgett J.S., Bayne E.K., DeMartino J.A., MacIntyre D.E., Forrest M.J., Impaired neuropathic pain responses in mice lacking the chemokine receptor CCR2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100, 7947-7952.
- Bogen O., Dina O.A., Gear R.W., Levine J.D., Dependence of monocyte chemoattractant protein 1 induced hyperalgesia on the isolectin B4-binding protein versican. *Neuroscience*, 2009, 159, 780-786.
- Brodmerkel C.M., Huber R., Covington M., Diamond S., Hall L., Collins R., Leffet L., Gallagher K., Feldman P., Collier P., Stow M., Gu X., Baribaud F., Shin N., Thomas B., Burn T., Hollis G., Yeleswaram S., Solomon K., Friedman S., Wang A., Xue C.B., Newton R.C., Scherle P., Vaddi K., Discovery and pharmacological characterization of a novel rodent-active CCR2 antagonist, INCB3344. *J Immunol*, 2005, 175, 5370-5378.
- Costigan M., Moss A., Latrémolière A., Johnston C., Verma-Gandhu M., Herbert T.A., Barrett L., Brenner G.J., Vardeh D., Woolf C.J., Fitzgerald M., T-cell infiltration and signaling in the adult dorsal spinal cord is a major contributor to neuropathic pain-like hypersensitivity. *J Neurosci*, 2009, 29, 14415-14422.
- Cunha T.M., Verri W.A., Jr., Silva J.S., Poole S., Cunha F.Q., Ferreira S.H., A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102, 1755-1760.
- Dansereau M.A., Gosselin R.D., Pohl M., Pommier B., Mechighel P., Mauborgne A., Rostène W., Kitabgi P., Beaudet N., Sarret P., Mélik-Parsadaniantz S., Spinal CCL2 pronociceptive action is no longer effective in CCR2 receptor antagonist-treated rats. *J Neurochem*, 2008, 106, 757-769.
- Gao Y.J., Ji R.R., Chemokines, neuronal-glia interactions, and central processing of neuropathic pain. *Pharmacol Ther*, 2010, 126, 56-68.

- Gao Y.J., Zhang L., Samad O.A., Suter M.R., Yasuhiko K., Xu Z.Z., Park J.Y., Lind A.L., Ma Q., Ji R.R., JNK-induced MCP-1 production in spinal cord astrocytes contributes to central sensitization and neuropathic pain. *J Neurosci*, 2009, 29, 4096–4108.
- Gosselin R.D., Varela C., Banisadr G., Mechighel P., Rostène W., Kitabgi P., Mélik-Parsadaniantz S., Constitutive expression of CCR2 chemokine receptor and inhibition by MCP-1/CCL2 of GABA-induced currents in spinal cord neurones. *J Neurochem*, 2005, 95, 1023–1034.
- Hesselgesser J., Horuk R., Chemokine and chemokine receptor expression in the central nervous system. *J Neurovirol*, 1999, 5, 13–26.
- Jung H., Miller R.J., Activation of the nuclear factor of activated T-cells (NFAT) mediates upregulation of CCR2 chemokine receptors in dorsal root ganglion (DRG) neurons: a possible mechanism for activity-dependent transcription in DRG neurons in association with neuropathic pain. *Mol Cell Neurosci*, 2008, 37, 170–177.
- Jung H., Toth P.T., White F.A., Miller R.J., Monocyte chemoattractant protein-1 functions as a neuromodulator in dorsal root ganglia neurons. *J Neurochem*, 2008, 104, 254–263.
- Jung H., Bhangoo S., Banisadr G., Freitag C., Ren D., White F.A., Miller R.J., Visualization of chemokine receptor activation in transgenic mice reveals peripheral activation of CCR2 receptors in states of neuropathic pain. *J Neurosci*, 2009, 29, 8051–8062.
- Menetski J., Mistry S., Lu M., Mudgett J.S., Ransohoff R.M., Demartino J.A., Macintyre D.E., Abbadié C., Mice overexpressing chemokine ligand 2 (CCL2) in astrocytes display enhanced nociceptive responses. *Neuroscience*, 2007, 149, 706–714.
- Mennicken F., Maki R., de Souza E.B., Quirion R., Chemokines and chemokine receptors in the CNS: a possible role in neuroinflammation and patterning. *Trends Pharmacol Sci*, 1999, 20, 73–78.
- Miller R.J., Jung H., Bhangoo S.K., White F.A., Cytokine and chemokine regulation of sensory neuron function. *Handb Exp Pharmacol*, 2009, 417–449.
- Milligan E.D., Zapata V., Chacur M., Schoeniger D., Biedenkapp J., O'Connor K.A., Verge G.M., Chapman G., Green P., Foster A.C., Naeve G.S., Maier S.F., Watkins L.R., Evidence that exogenous and endogenous fractalkine can induce spinal nociceptive facilitation in rats. *Eur J Neurosci*, 2004, 20, 2294–2302.
- Mines M., Ding Y., Fan G.H., The many roles of chemokine receptors in neurodegenerative disorders: emerging new therapeutical strategies. *Curr Med Chem*, 2007, 14, 2456–2470.
- Murphy P.M., International Union of Pharmacology. XXX. Update on chemokine receptor nomenclature. *Pharmacol Rev*, 2002, 54, 227–229.
- Oh S.B., Tran P.B., Gillard S.E., Hurley R.W., Hammond D.L., Miller R.J., Chemokines and glycoprotein120 produce pain hypersensitivity by directly exciting primary nociceptive neurons. *J Neurosci*, 2001, 21, 5027–5035.
- Perrin F.E., Lacroix S., Aviles-Trigueros M., David S., Involvement of monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inflammatory protein-1alpha and interleukin-1beta in Wallerian degeneration. *Brain*, 2005, 128, 854–866.
- Qin X., Wan Y., Wang X., CCL2 and CXCL1 trigger calcitonin gene-related peptide release by exciting primary nociceptive neurons. *J Neurosci Res*, 2005, 82, 51–62.
- Ransohoff R.M., Tani M., Do chemokines mediate leukocyte recruitment in post-traumatic CNS inflammation? *Trends Neurosci*, 1998, 21, 154–159.
- Rittner H.L., Brack A., Chemokines and pain. *Curr Opin Investig Drugs*, 2006, 7, 643–646.
- Rostène W., Kitabgi P., Parsadaniantz S.M., Chemokines: a new class of neuromodulator? *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8, 895–903.
- Schafers M., Lee D.H., Brors D., Yaksh T.L., Sorkin L.S., Increased sensitivity of injured and adjacent uninjured rat primary sensory neurons to exogenous tumor necrosis factor-alpha after spinal nerve ligation. *J Neurosci*, 2003, 23, 3028–3038.
- Scholz J., Woolf C.J., Can we conquer pain? *Nat Neurosci*, 2002, 5 Suppl, 1062–1067.
- Shin N., Baribaud F., Wang K., Yang G., Wynn R., Covington M.B., Feldman P., Gallagher K.B., Leffet L.M., Lo Y.Y., Wang A., Xue C.B., Newton R.C., Scherle P.A., Pharmacological characterization of INCB3344, a small molecule antagonist of human CCR2. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 387, 251–255.
- Stoll G., Jander S., Myers R.R., Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: from Augustus Waller's observations to neuroinflammation. *J Peripher Nerv Syst*, 2002, 7, 13–27.
- Sun J.H., Yang B., Donnelly D.F., Ma C., LaMotte R.H., MCP-1 enhances excitability of nociceptive neurons in chronically compressed dorsal root ganglia. *J Neurophysiol*, 2006, 96, 2189–2199.
- Thacker M.A., Clark A.K., Bishop T., Grist J., Yip P.K., Moon L.D., Thompson S.W., Marchand F., McMahon S.B., CCL2 is a key mediator of microglia activation in neuropathic pain states. *Eur J Pain*, 2009, 13, 263–272.
- White F.A., Bhangoo S.K., Miller R.J., Chemokines: integrators of pain and inflammation. *Nat Rev Drug Discov*, 2005a, 4, 834–844.
- White F.A., Sun J., Waters S.M., Ma C., Ren D., Ripsch M., Steflik J., Cortright D.N., Lamotte R.H., Miller R.J., Excitatory monocyte chemoattractant protein-1 signaling is up-regulated in sensory neurons after

- chronic compression of the dorsal root ganglion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005b, 102, 14092–14097.
- White F.A., Jung H., Miller R.J., Chemokines and the pathophysiology of neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104, 20151–20158.
- Woolf C.J., Costigan M., Transcriptional and post-translational plasticity and the generation of inflammatory pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96, 7723–7730.
- Woolf C.J., Salter M.W., Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*, 2000, 288, 1765–1769.
- Zhang J., De Koninck Y., Spatial and temporal relationship between monocyte chemoattractant protein-1 expression and spinal glial activation following peripheral nerve injury. *J Neurochem*, 2006, 97, 772–783.
- Zhang J.M., An J., Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*, 2007, 45, 27–37.
- Zhang J., Shi X.Q., Echeverry S., Mogil J.S., De Koninck Y., Rivest S., Expression of CCR2 in both resident and bone marrow-derived microglia plays a critical role in neuropathic pain. *J Neurosci*, 2007, 27, 12396–12406.