

Article

« *Cryptococcus neoformans* change de capsule après la traversée de la barrière hémato-encéphalique / Early capsule structure changes associated with *Cryptococcus neoformans* crossing of the blood brain barrier »

Caroline Charlier, Fabrice Chrétien, Olivier Lortholary et Françoise Dromer

M/S : médecine sciences, vol. 21, n°8-9, 2005, p. 685-687.

Pour citer cet article, utiliser l'information suivante :

URI: <http://id.erudit.org/iderudit/011442ar>

DOI: 10.7202/011442ar

Note : les règles d'écriture des références bibliographiques peuvent varier selon les différents domaines du savoir.

Ce document est protégé par la loi sur le droit d'auteur. L'utilisation des services d'Érudit (y compris la reproduction) est assujettie à sa politique d'utilisation que vous pouvez consulter à l'URI <https://apropos.erudit.org/fr/usagers/politique-dutilisation/>

Érudit est un consortium interuniversitaire sans but lucratif composé de l'Université de Montréal, l'Université Laval et l'Université du Québec à Montréal. Il a pour mission la promotion et la valorisation de la recherche. Érudit offre des services d'édition numérique de documents scientifiques depuis 1998.

Pour communiquer avec les responsables d'Érudit : info@erudit.org



en l'absence de VEGF exogène, induit une forte néovascularisation dans le membre inférieur ischémié des souris traitées (Figure 2A). Cet effet semble lié à l'activation des intégrines $\alpha v \beta 3$ et $\alpha v \beta 5$. En effet, l'adhérence de cellules endothéliales à des plaques de culture recouvertes de lactadhérine est bloquée par un anticorps anti- $\alpha v \beta 3$ (Figure 2B). De plus, l'administration de la protéine recombinante lactadhérine augmente, en l'absence de VEGF, la phosphorylation d'AKT dans des cellules endothéliales en culture. Or, cet effet est diminué par l'utilisation d'un anticorps anti- $\alpha v \beta 3$ ou anti- $\alpha v \beta 5$, démontrant ainsi que la lactadhérine interagit avec les intégrines $\alpha v \beta 3$ et $\alpha v \beta 5$ pour activer la protéine kinase AKT, et donc le processus angiogénique (Figure 2C).

Discussion

Ce travail démontre pour la première fois que la lactadhérine est exprimée dans les cellules vasculaires et joue un

rôle clé dans la phosphorylation de la protéine kinase AKT par le VEGF, et par conséquent dans l'effet de ce facteur de croissance sur le processus de néovascularisation [5]. L'effet du VEGF par son récepteur VEGFR2 requiert l'association de ce dernier avec l'intégrine $\alpha v \beta 3$ et l'inhibition de $\alpha v \beta 3$ diminue l'effet pro-angiogénique du VEGF [6]. Nos résultats démontrent que la lactadhérine est un facteur endogène qui, en interagissant avec l'intégrine $\alpha v \beta 3$, module la voie de signalisation dépendante de VEGF/VEGFR2. L'activation des intégrines, même en l'absence de facteurs de croissance, peut affecter l'angiogénèse. Cela a notamment été démontré pour Del-1, l'analogue de la lactadhérine [3, 4]. De même, nos travaux prouvent que la lactadhérine interagit avec les intégrines $\alpha v \beta 3$ et $\alpha v \beta 5$ et, par un mécanisme dépendant d'AKT, qu'elle est capable d'activer le développement de nouveaux vaisseaux dans un contexte ischémique en l'ab-

sence de VEGF exogène (Figure 2D). Ainsi, une stratégie thérapeutique fondée sur la surexpression de lactadhérine pourrait être proposée dans le traitement des pathologies ischémiques. ♦

Lactadherin promotes VEGF-dependent neovascularization

RÉFÉRENCES

1. Hanayama R, Tanaka M, Miwa K, et al. Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes. *Nature* 2002; 417: 182-7.
2. Hanayama R, Tanaka M, Miyasaka K, et al. Autoimmune disease and impaired uptake of apoptotic cells in MFG-E8-deficient mice. *Science* 2004; 304: 1147-50.
3. Ho HK, Jang JJ, Kaji S, Spektor G, et al. Developmental endothelial locus-1 (Del-1), a novel angiogenic protein: its role in ischemia. *Circulation* 2004; 109: 1314-9.
4. Zhong J, Eliceiri B, Stupack D, et al. Neovascularization of ischemic tissues by gene delivery of the extracellular matrix protein Del-1. *J Clin Invest* 2003; 112: 30-41.
5. Silvestre JS, Théry C, Hamard G, et al. Lactadherin/MFG-E8 promotes VEGF-dependent neovascularization. *Nat Med* 2005; 11: 499-506.
6. Borges E, Jan Y, Ruoslahti E. Platelet-derived growth factor receptor beta and vascular endothelial growth factor receptor 2 bind to the beta 3 integrin through its extracellular domain. *J Biol Chem* 2000; 275: 39867-73.

NOUVELLE

Cryptococcus neoformans change de capsule après la traversée de la barrière hémato-encéphalique

Caroline Charlier, Fabrice Chrétien, Olivier Lortholary, Françoise Dromer

> *Cryptococcus neoformans* est l'agent de la cryptococcose, une infection opportuniste affectant les malades atteints du sida ou d'autres déficits de l'immunité cellulaire. Elle réalise une infection disséminée, dont la localisation la plus fréquente et la plus grave est une méningo-encéphalite, mortelle dans environ 20 % des cas malgré un traitement antifongique adapté [1].

Alors que l'incidence de la maladie a diminué dans les pays occidentaux avec l'ère de la trithérapie, la cryptococcose reste une cause majeure de méningite en Afrique subsaharienne [2]. La physiopathologie de l'infection reste mal comprise. La porte d'entrée est probablement respiratoire, aboutissant

C. Charlier, F. Dromer : Unité de Mycologie moléculaire, CNRS FRE 2849, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France.

F. Chrétien : Inserm EMI 0011, Université Paris 12, Faculté de Médecine de Créteil et Département de Pathologie, Hôpital Henri Mondor, 51, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil, France.

O. Lortholary : Unité de Mycologie moléculaire, CNRS FRE 2849, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France et Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Université Paris V, Hôpital Necker-Enfants malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15 France.

olivier.lortholary@nck.ap-hop-paris.fr

à une primo-infection pulmonaire souvent asymptomatique, puis la levure persisterait dans l'organisme sous une forme latente [3]. À la faveur d'une immunosuppression, la levure serait

« réactivée » et, au cours d'un épisode de fongémie, pénétrerait dans le compartiment cérébral à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE). Il s'agit d'une barrière anatomique et fonctionnelle normalement étanche aux agents pathogènes, constituée notamment de cellules endothéliales dont une particularité est d'être unies par des jonctions serrées. Les mécanismes précis aboutissant à la constitution de la méningo-encéphalite restent largement méconnus. Il a été longtemps supposé que l'infection du liquide céphalo-rachidien précédait celle du parenchyme cérébral, comme au cours de nombreuses méningites bactériennes. *C. neoformans* est entouré d'une capsule, ainsi qu'un grand nombre de pathogènes responsables de méningites. Cette capsule polysidique est son principal facteur de virulence, mais son rôle dans la constitution de l'infection cérébrale est encore obscur. L'objectif de notre travail était d'étudier les événements les plus précoces aboutissant à la traversée de la BHE, dans un modèle expérimental mis au point au laboratoire. Dans ce modèle, l'inoculation intraveineuse de levures produit

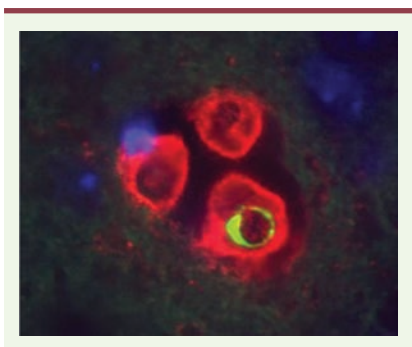


Figure 1. Pseudo-abcès visualisé dans le cerveau d'une souris 24 heures après l'inoculation de *Cryptococcus neoformans*. La capsule polysidique des trois levures est marquée en rouge par l'anticorps monoclonal CRND-8 (couplé au TRITC), qui révèle ici une structure capsulaire nouvelle, inexistante sur les levures injectées initialement, dont la structure capsulaire, non reconnue alors par CRND-8, l'était par l'anticorps monoclonal E1 (ici conjugué au FITC et donnant un halo interne vert sur l'une des levures).

une infection disséminée comparable à la cryptococcose humaine (lésions histologiques cérébrales et réponses inflammatoires systémiques et cérébrales identiques chez l'homme et chez la souris) [4-6].

Après inoculation des levures et sacrifice des animaux à des temps séquentiels, les organes étaient prélevés, la charge fongique évaluée par culture du broyat, et la morphologie des tissus et des levures analysée par histologie classique, immunofluorescence et microscopie électronique [7].

Nous avons ainsi mis en évidence la présence de levures vivantes dans le cerveau dès 5 minutes après inoculation, les levures étant intravasculaires. C'est à partir de la 6^e heure que les premières levures intraparenchymateuses étaient observées, témoignant de la traversée de la BHE. Plus de 96 % des levures ont été observées dans le cortex cérébral sus- et sous-tentorial dans les 48 premières heures. Seules les levures vivantes étaient capables de traverser la BHE. Aucune levure n'a été visualisée au niveau des plexus choroïdes, contrairement à ce qui est décrit au cours des méningites bactériennes. La dissémination méningée pourrait constituer un événement tardif dans la genèse de la cryptococcose neuroméningée, par extension à partir d'un foyer microkystique cortical.

Le franchissement de la BHE s'accompagnait d'altérations fonctionnelles et anatomiques de cette structure. Sur le plan fonctionnel, l'injection intraveineuse de *horse radish peroxidase* a permis d'objectiver une fuite extravasculaire du marqueur dès la 6^e heure post-inoculation, plus marquée à la 24^e heure, traduisant une rupture de la BHE. Sur le plan anatomique, l'intégrité de la structure vasculaire était analysée par un immunomarquage du collagène IV, composant de la membrane basale capillaire, et par microscopie électronique. Tandis qu'aux temps précoces (< 1 h), les membranes basales des capillaires étaient intactes, les capillaires

des cerveaux prélevés à 24 et 48 heures révélaient des altérations structurales majeures des cellules endothéliales, avec rupture de la membrane basale capillaire. L'un des mécanismes pourrait être la séquestration des levures dans des capillaires trop fins et la déchirure mécanique de ceux-ci par distorsion mécanique.

La traversée de la BHE s'accompagnait de modifications phénotypiques des levures. Ainsi, les levures observées dans les cerveaux de souris sacrifiées 6 et 24 heures après l'inoculation étaient significativement plus grosses que celles observées dans le cerveau des souris sacrifiées 1 heure après l'inoculation ($p < 10^{-4}$). Surtout, des modifications de structure capsulaire associées étaient visualisées grâce à l'utilisation de deux anticorps monoclonaux reconnaissant des structures capsulaires différentes, E1 et CRND-8, se liant respectivement sur 99 % et 1 % des levures inoculées. Ainsi, au cours du temps, les levures visualisées dans le cerveau des souris étaient toutes initialement (1 heure) marquées par l'anticorps E1 uniquement, alors qu'à 6 heures apparaissait un double marquage concentrique, et qu'à 24 et 48 heures toutes les levures étaient uniquement marquées par CRND-8 (Figure 1). Ces modifications, visualisées dans d'autres tissus (rein, muscle strié et myocarde) avec la même cinétique, étaient, dans d'autres organes, plus tardives (poumon) ou absentes (rate, foie). Les cinétiques étant similaires dans des tissus très différents tels que le cerveau et le muscle nous font penser que ce n'est pas l'environnement tissulaire (enzymes, pression de CO₂ ...) qui est en cause, mais plutôt la structure fenestrée ou non des capillaires. Des expériences complémentaires seront nécessaires pour valider cette hypothèse et décortiquer les mécanismes qui permettent à la levure de changer si rapidement sa capsule, interface cruciale avec les cellules de l'hôte.

Ces expériences objectivent donc *in vivo* les modifications précoces de structure capsulaire effectuées par



C. neoformans au cours de la traversée de la BHE et de la dissémination. Ce phénomène pourrait participer à l'échappement immunitaire évoqué comme l'un des mécanisme de persistance de la levure dans l'organisme des patients ayant des déficits de l'immunité cellulaire. ♦

Early capsule structure changes associated with *Cryptococcus neoformans* crossing of the blood brain barrier

RÉFÉRENCES

1. Lortholary O, Droz C, Sitbon K, et al. Long-term outcome of HIV-associated cryptococcosis at the time of HAART. Results of the multicenter cohort cryptocostop. Chicago : 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, september 2003 : M-1752.
2. French N, Gray K, Watera C, et al. Cryptococcal infection in a cohort of HIV-1-infected Ugandan adults. *AIDS* 2002 ; 16 : 1031-8.
3. Garcia-Hermoso D, Dromer F, Mathoulin-Pelissier S, Janbon G. Are two *Cryptococcus neoformans* strains epidemiologically linked? *J Clin Microbiol* 2001 ; 39 : 1402-6.
4. Lortholary O, Improvisi L, Nicolas M, et al. Fungemia during murine cryptococcosis sheds some light on pathophysiology. *Med Mycol* 1999 ; 37 : 169-74.
5. Lortholary O, Improvisi L, Rayhane N, et al. Cytokine profiles of AIDS patients are similar to those of mice with disseminated *Cryptococcus neoformans* infection. *Infect Immun* 1999 ; 67 : 6314-20.
6. Chrétien F, Lortholary O, Kansau I, et al. Pathogenesis of cerebral *Cryptococcus neoformans* infection after fungemia. *J Infect Dis* 2002 ; 186 : 522-30.
7. Charlier C, Chrétien F, Baudrimont M, et al. Capsule structure changes associated with *Cryptococcus neoformans* crossing of the blood-brain barrier. *Am J Pathol* 2005 ; 166 : 421-32.

NOUVELLE

L'impérialisme des micro-ARN s'étend maintenant au cancer

Axel Kahn

Institut Cochin, IFR Alfred Jost, 22, rue Méchain, 7514 Paris, France. kahn@cochin.inserm.fr

blocage de la traduction. Ces dernières années, on s'est également rendu compte que des mécanismes dépendant de micro-ARN étaient en jeu non seulement dans la

> Le génome des mammifères contient environ 26 000 gènes codant des protéines, auxquels il faut ajouter quelques milliers de gènes dont l'action est relayée par des micro-ARN. Les premiers d'entre eux furent identifiés chez le nématode *Caenorhabditis elegans* à partir de 1993. C'est en effet à cette date que l'on découvrit que le gène *lin-4*, un inhibiteur de la fonction de *lin-14*, ne codait pas comme ce dernier une banale protéine, mais commandait la synthèse d'un petit oligoribonucléotide non codant de 22 b partiellement complémentaires de 7 sites conservés dans la région 3' non traduite de *lin-14*. Sept ans plus tard, une observation similaire était faite sur le gène *let-7*, un régulateur de l'expression du gène *lin-41* [1]. Les gènes *lin-4* et *let-7* étaient connus depuis longtemps. Ils sont impliqués dans le phénotype de mutations hétérochroniques qui, comme leur nom l'indique, modifient la chronologie d'épisodes fondamentaux du dévelop-

pement. L'histoire de ces gènes hors du commun devait par la suite rejoindre la saga du phénomène d'interférence ARN étudié d'abord dans les plantes, puis chez la drosophile avant que d'être étendu à l'ensemble des cellules animales et à nombre de protistes. Des double brins d'ARN introduits dans des cellules ou produits de manière endogène sont clivés en petits fragments de 21 à 22 pb dont un des brins s'associe à un complexe multimoléculaire appelé RISC (*RNA-induced silencing complex*). Positionné en fonction de la séquence spécifique du petit fragment d'ARN, ce complexe induit la dégradation de l'ARN messager complémentaire. La différence fondamentale entre les petits ARN interférents et les micro-ARN est que ces derniers ne sont pas parfaitement complémentaires de leurs cibles. Leur action exige la présence au niveau de celles-ci de plusieurs sites d'homologie partielle dont l'occupation par un complexe de type RISC entraîne un

régulation de la stabilité et de la traduction des messagers, mais aussi, au niveau nucléaire, dans la formation de l'hétérochromatine, la méthylation de l'ADN et, chez des protistes ciliés, dans le réarrangement de l'ADN lors de la maturation du micronoyau « germinal » en macronoyau transcriptionnellement actif [2].

Le rôle initial du phénomène d'interférence ARN semble avoir été de s'opposer à l'invasion par des agents infectieux engendrant, directement ou indirectement, l'accumulation d'ARN double-brins. Un tel rôle immunitaire des micro-ARN s'est sans doute révélé moins indispensable lorsque, au cours de l'évolution, les animaux ont développé une immunité adaptative humorale et cellulaire sophistiquée. Des résultats récents de l'équipe d'Olivier Voinnet (CNRS, Strasbourg, France), en collaboration avec des chercheurs de l'Hôpital Saint-Louis (Paris, France), suggèrent pourtant qu'un micro-ARN cellulaire