

Les chimiokines :

Question 1 : Quels sont les critères structuraux qui ont servi de base à la première classification des chimiokines ?

Les critères structuraux qui ont servi de base à la première classification sont les **cystéines**, et plus précisément la présence ou l'absence d'un ou plusieurs acide aminé quelconque (X) entre les 2 premiers résidus de la séquence. Sur ces considérations structurales on va distinguer 4 sous familles de chimiokines :

- Les CXC : **1 acide aminé entre les 2 cystéines**, K14
- Les CC : **2 cystéines sont côte à côte** dans la séquence, K17

Les chimiokines correspondant à ces 2 familles ont été les premières à être identifiées. La découverte des 2 autres familles est plus récente :

- Les C : **le premier résidu cystéine est absent**; K1
- Les CX3C chimiokines : **3 acides aminés quelconques entre les 2 cystéines**, K16

Ces cystéines qui ont été (sur des critères structuraux) à la base de la première classification des chimiokines vont former des **ponts disulfures** entre **Cyst 1/Cyst 3** et **Cyst 2/Cyst 4**. Ces ponts disulfures seront à l'origine de la **forme globulaire** de ces chimiokines. Donc hormis la famille des C chimiokines, on retrouvera pour toutes les autres chimiokines **2 ponts disulfures par molécule**.

Question 2 : Donner la définition d'une chimiokine constitutive et d'une chimiokine inducible

Les chimiokines sont également ordonnées selon des critères fonctionnels qui permettent de distinguer

1. Les chimiokines constitutives : Elles sont produites et secrétées en **faible quantité** dans les conditions **physiologiques normales** par les tissus et ce sont ces molécules qui sont impliquées dans la **fonction de sentinelle du système immunitaire**
2. Les chimiokines inducibles : Elles sont uniquement produites **massivement** dans un contexte **pathologique** qui peut être **inflammatoire, infectieux ou tumoral**. Ces chimiokines sont produites et secrétées par le **tissu** lui-même ou par les **leucocytes** infiltrant le tissu lésé.

Question 3 : Quelle est la différence essentielle entre les récepteurs (CCR, CXCR, XCR et CX3CR) et les récepteurs leurres

Une vingtaine de récepteurs ont été identifiés et clonés et ils assurent la totalité des effets médiés par l'ensemble des chimiokines. On distinguera la famille des :

1. **CXCRs** (R pour récepteurs) avec 7 membres nommés de CXCR1 à CXCR7
2. **CCR** avec 12 membres
3. **les 2 dernières** familles avec respectivement 2 et 1 membres
4. Il existe de plus, **3 autres récepteurs** appelés **récepteurs silencieux ou leurres** qui fixent les chimiokines mais qui sont *incapables de générer un signal intracellulaire en aval*.

Il existe une **cinquantaine de chimiokines** et une **vingtaine de récepteurs** et donc de fait cela indique que la relation entre les récepteurs et les chimiokines est de type **polygamique → redondance**

Question 4 : A quoi correspond un motif ERL et dans quelle famille de chimiokines le retrouve-t-on ?

La spécificité des chimiokines vis à vis des différentes populations et sous populations des leucocytes est assez large et il existe une certaine **redondance** des chimiokines entre elles. Néanmoins les **CXC** chimiokines ont été initialement décrites pour être actives sur la population des neutrophiles avec comme chef de file **CXCL8**.

Très rapidement, *cette restriction est tombée* et on peut remarquer que ces molécules sont **capables de faire migrer les neutrophiles** mais elles font également migrer **les autres populations leucocytaires et notamment les T, les NK** Dans cette famille on peut distinguer 2 groupes de molécules **ERL+/ERL-**

Les molécules **ERL+** sont les molécules qui possèdent dans leur séquence un motif de 3 acides aminés qui s'appelle le motif ERL et qui se compose d'un **glutamate**, d'une **leucine** et d'une **arginine**. Il semble qu'à

quelque exceptions près, la présence de ce motif dans la séquence des CXC chimiokines confèrent à ces molécules une **activité chémoattractante** vis-à-vis des neutrophiles

On retrouve dans le groupe ERL- la plupart des chimiokines constitutives cad les chimiokines qui seront responsables du rôle de sentinelle du système immunitaire.

→ **en bref, le motif ERL est un motif constitué de 3 AA : d'un glutamate, d'une leucine et d'une argine. Il se trouve essentiellement dans la séquence des CXC chimiokines, auxquelles il confère une activité chémoattractante vis-à-vis des neutrophiles.**

Question 5 : Vis à vis de l'angiogenèse, quelle est la propriété que confère le motif ERL aux chimiokines ?

On s'est rendu compte que les CXC chimiokines **ERL+** possèdent **des propriétés angiogéniques** c'est-à-dire que ces molécules sont capables de stimuler la prolifération et la migration des cellules endothéliales et donc favoriser le développement des vaisseaux sanguins.

Par opposition, les CXC chimiokines **ERL-** présentent des **propriétés angiostatiques** c'est-à-dire qu'elles sont capables de bloquer les effets angiogéniques des CXC chimiokines ERL+ mais également capables d'antagoniser les effets du VEGF qui est le facteur de croissance de référence pour les cellules endothéliales, c'est un bon indicateur de l'agressivité des tumeurs.

Question 6 : Citez une chimiokine non conventionnelle, décrivez les différents domaines présents dans cette molécule

Deux chimiokines, (au moins) CX3CL1 et **CXCL16** apparaissent comme non conventionnelles. Elles ne répondent pas à la définition des chimiokines. Ces deux chimiokines existent naturellement sous 2 formes :

- Une forme dite **membranaire** de haut PM 92 à 95 kDa qui est ancrée à la surface des cellules. La forme membranaire fonctionne comme une **molécule d'adhésion**.
- Une forme dite **soluble** de 90 à 92 Kda *générée à partir de la forme membranaire* qui est **secrétée** par les cellules après un **clivage** par des enzymes de type métalloprotéases. **Seule la forme soluble est dotée de propriétés chémoattractantes.**

Ces deux chimiokines sont composées de différents domaines :

- un **court domaine intracellulaire**
- un domaine **transmembranaire**
- un domaine **mucine** qui correspond une zone de glycosylation
- le **domaine chimiokine** qui correspond à un poids moléculaire de 10 à 12 kDa. Ce qui est important de noter c'est que *seul ce domaine chimiokine intervient dans la fonction de migration de CX3CL1 et CXCL16.*

Question 7 : Décrivez brièvement comment les couples chimiokines/récepteurs contrôlent le processus métastatiques. Utilisez dans la réponse les termes suivants : récepteurs surexprimés, chimiokines constitutives, tumeur primaire, organes secondaires, métastases, nature et nombre, couples chimiokines/récepteurs

Aujourd'hui, il est reconnu que la domiciliation des métastases dans les organes n'est pas un processus aléatoire et de très nombreuses études montrent que ce processus peut être, en partie au moins, contrôlé par des interactions entre les **couples chémiokines/Rc** :

- Les récepteurs de chimiokines se trouvent être anormalement exprimés voire **surexprimés** par les cellules tumorales
- Les **chimiokines constitutives** sont des chimiokines produites par les organes dans des conditions physiologiques normales.

De plus, la **nature** et le **nombre** de couples impliqués dépendent à la fois de la **tumeur primaire** d'origine et de l'**organe secondaire** dans lequel vont se nicher les **métastases**. En plus de leurs propriétés de chémoattraction, les chimiokines contrôlent d'autres processus essentiels comme la prolifération, la survie

ou encore l'apoptose des cellules et en particulier celles des cellules tumorales et ceci aussi bien au niveau de la tumeur primaire qu'au niveau des métastases.

Question 8 : Quels sont les différents types de leucocytes qui sont attirés par la chimiokine CX3CL1 (fractalkine)

La **CX3CL1** est décrite pour induire la migration des lymphocytes T et des cellules NK mais elle est reconnue comme un mauvais chémoattractant des monocytes. Cette chimiokine possède des **propriétés structurales particulières** qui la distingue de toutes les autres chimiokines.

Question 9 : Quelle est la chimiokine qui a été utilisée dans un essai pré-clinique d'immunothérapie génique des métastases des cancers du colon

La chimiokine qui a été choisie pour cette étude est la **fractalkine** (CX3CL1 ou FKN), une chimiokine non conventionnelle qui existe sous 2 formes

- la forme membranaire qui lui confère des propriétés de molécule **d'adhésion**
- la forme soluble qui lui confère des **propriétés de chémoattraction** vis à vis des *cellules T notamment les Th1 et les CD8, des cellules NK et des cellules dendritiques et d'une sous population de monocytes.*

L'hypothèse a été posée selon laquelle le **traitement des métastases** par la FKN pourrait stimuler une réponse immunitaire antitumorale qui devrait conduire à une régression tumorale.

Question 10 : Comment est délivrée cette chimiokine au niveau des métastases ?

Le traitement à consister à délivrer au niveau des poumons ou du foie la fractalkine sous forme de **gène**. Grâce à l'utilisation de vecteurs chimiques, l'ADN codant la fractalkine est injecté à l'intérieur des cellules et il sera **transcrit** puis **traduit** par la machinerie cellulaire. La **protéine** sera **sécrétée** et permettra le **recrutement de leucocytes** qui devraient induire une **réponse anti tumorale**.

Question 11 : Quel est le mécanisme impliqué dans l'effet anti-tumoral de la chimiokine utilisée dans cet essai pré-clinique

Pour déterminer la contribution relative de ces différentes populations leucocytaires dans l'effet anti tumoral de la FKN, des expériences in vivo ont été réalisées sur des animaux déplétés en CD8, CD4 ou NK à l'aide d'anticorps spécifiques.

On observe que le **volume** des tumeurs FKN **augmente significativement** dans les souris déplétées en cellules CD4 ou en cellules CD8 par rapport aux souris non traitées.

Dans le cas de la déplétion en CD4 le **volume des tumeurs FKN** est **comparable** à celui des tumeurs contrôles, cad qu'on a *perdu complètement l'effet de la FKN*. En revanche, la dépletion des souris en cellules NK, n'affecte pas le volume des tumeurs FKN.

Ces expériences indiquent donc que *l'effet antitumoral de la FKN au niveau du foie n'implique pas, a priori, les cellules NK alors qu'il met à contribution les populations T CD4 et CD8 avec une implication plus déterminante des CD4 comparées aux CD8.*