

COMMUNICATION

Récepteurs couplés aux protéines G et barrière hémato-encéphalique. La stratégie du méningocoque pour infecter les méninges

MOTS-CLÉS : RÉCEPTEURS COUPLÉS AUX PROTÉINES G. PROTÉINES G. BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE. MÉNINGITE À MÉNINGOCOQUES

G-protein-coupled receptors and the blood-brain barrier. The strategy used by meningococci to infect the meninges

KEY-WORDS (Index medicus): RECEPTORS, G-PROTEIN-COUPLED. GTP-BINDING PROTEINS. BLOOD-BRAIN BARRIER. MENINGITIS, MENINGOCOCCAL

L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article

Stefano MARULLO *

La barrière hémato-encéphalique

Le cerveau est un organe aux besoins métaboliques élevés dont l'homéostasie est strictement régulée. Aussi, les échanges d'eau et de nutriments entre le sang et le cerveau, le passage de macromolécules biologiques ou thérapeutiques ne se font pas aussi librement à travers l'endothélium cérébral qu'à travers les endothéliums vasculaires des organes périphériques. Ces particularités ont conduit à la création du concept de barrière hémato-encéphalique (BHE) [1]. La BHE n'est pas une structure figée, et ses spécificités sont induites et maintenues par des cellules des tissus environnants : l'ensemble de la BHE et de son environnement cellulaire est désigné comme l'unité neurovasculaire. Les cellules endothéliales des microvaisseaux cérébraux sont en effet entourés par les péricytes qui sont eux-mêmes enveloppés par la lame basale, une structure composée de laminines, de collagène de type IV, de protéoglycanes du type l'héparan-sulfate, et de protéines de la famille des nidogènes. Les péricytes, abondants autour des microvaisseaux du cerveau, sont des cellules péri-vasculaires aux multiples fonctions [2], la principale étant le maintien

* Institut Cochin, INSERM U1016, CNRS UMR 8104, Université Paris Descartes — Bâtiment Gustave Roussy, Hôpital Cochin, 27 rue du Faubourg Saint-Jacques — 75014 Paris ; e-mail : stefano.marullo@inserm.fr

Tirés à part : Stefano MARULLO même adresse

Article reçu le 1^{er} décembre 2012

de l'homéostasie vasculaire cérébrale. La lame basale de l'endothélium cérébral est en continuité avec les podocytes astrocytaires venant à leur tour envelopper les vaisseaux. Les astrocytes sont considérés comme des cellules de soutien du cerveau avec une fonction trophique, métabolique et de soutènement structurel pour les réseaux de neurones [3]. En plus de ses fonctions spécifiques au niveau du cerveau, l'endothélium cérébral partage les autres fonctions des endothéliums des organes périphériques, comme la régulation des réponses inflammatoires et immunitaires, le contrôle des processus thrombotiques, de l'adhérence cellulaire, de l'angiogenèse et de la perméabilité vasculaire [4].

La barrière hémato-encéphalique procure au système nerveux central, une protection contre les effets toxiques de nombreux xénobiotiques et contre les agents infectieux [5] et contrôle la migration trans-endothéliale des cellules immunitaires circulantes [6] et des agents pathogènes.

L'endothélium cérébral ne contient pas les fenestrations des autres endothéliums. La barrière imperméable formée par les jonctions inter-endothéliales limite la libre circulation des composés hydrophiles entre deux cellules endothéliales adjacentes. Au niveau cellulaire, l'étanchéité des jonctions inter-endothéliales de la BHE est assurée par des structures, appelées jonctions adhérentes et jonctions serrées, concentrées au niveau apical (côté sang) des cellules endothéliales [7]. Les jonctions adhérentes sont essentiellement formées par l'association homotypique des cadhérines appartenant à deux cellules endothéliales adjacentes. Ces protéines transmembranaires, reliées au cytosquelette via les caténines, ont une fonction structurale importante. Les jonctions serrées sont principalement composées de trois types de protéines transmembranaires : les claudines, l'occludine, et les molécules d'adhésion des jonctions (JAMs). Ces protéines sont associées à des protéines cytoplasmiques accessoires telles que zonula occludens-1, -2, -3 (ZO 1-3) et cinguline, elles-mêmes en connexion avec le cytosquelette d'actine. Ces molécules ont aussi des fonctions de signalisation intracellulaire. Occludines et claudines sont caractérisées par des boucles extra-cellulaires qui établissent l'adhésion moléculaire entre cellules voisines et que l'on pourrait comparer à un micro-velcro.

Récepteurs couplés aux protéines G et BHE

Les cellules endothéliales de la micro-vascularisation cérébrale expriment à leur surface de nombreux récepteurs couplés aux protéines G. Parmi ceux-ci certains ont comme fonction de réguler la perméabilité à travers la BHE [8]. La bradykinine, via les récepteurs B1R et B2R, la sérotonine, vraisemblablement via le récepteur 5-HT2R, l'histamine, via les récepteurs H1R et H2R augmentent la perméabilité de la barrière. Les récepteurs purinergiques P2Y2R de l'ADP, ATP et UTP ont une action similaire. Ces propriétés pourraient être détournées à des fins thérapeutiques pour augmenter la pénétration cérébrale d'agents anti cancéreux. Ainsi, des agonistes sélectifs du récepteur de kinine B1R ont été utilisés dans un modèle de glioblastome de rat pour augmenter la perméabilité de la BHE au carboplatine [9]. De façon

analogue, le ciblage du récepteur S1PR1 par des molécules sphingolipidiques peut rapidement et réversiblement augmenter la pénétration de petites molécules thérapeutiques dans le cerveau [10]. Un sous groupe particulier de récepteurs couplés aux protéines G, les récepteurs des chimiokines, joue un rôle essentiel dans le passage à travers la BHE des leucocytes aussi bien dans des conditions physiologiques qu'au cours de processus inflammatoires ou tumoraux [11].

Franchissement de la BHE par les agents pathogènes

Plusieurs types de microorganismes ont mis en place des mécanismes cellulaires et moléculaires qui leurs permettent de forcer l'étanchéité de la BHE et d'infecter les méninges et/ou le système nerveux central. Ces mécanismes aboutissent à un des trois principaux modes de franchissement que sont la transcytose, le passage para-cellulaire ou l'utilisation d'une navette cellulaire par des cellules infectées, selon le principe du « cheval de Troie » [12]. Par exemple, lors des phases initiales de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), il est admis que la pénétration du virus dans le système nerveux central se fasse par le biais du passage de cellules de la lignée monocytaire-macrophagique infectées. Lors de la phase chronique, la production locale de molécules inflammatoires et de protéines virales va aboutir à la perturbation des propriétés de la BHE avec accroissement de perméabilité et amplification du passage des cellules infectées [13]. Parmi les rares bactéries extracellulaires capables de franchir la BHE, *S pneumoniae* (le pneumocoque) adhère aux cellules endothéliales des micro-vaisseaux cérébraux en se liant au récepteur du PAF. Il s'en suit une endocytose et une trans-migration vers le côté baso-latéral des cellules endothéliales [14]. À l'inverse, *N. meningitidis* (le méningocoque), l'agent de la méningite cérébrospinale, utilise préférentiellement la voie para-cellulaire pour traverser le BHE (voir plus loin). D'autres pathogènes comme *Listeria monocytogenes* utilisent à la fois le cheval de Troie monocytaire et la transcytose [15].

Le méningocoque détourne la voie de signalisation du récepteur $\beta 2$ adrénergique et des β -arrestines pour franchir l'endothélium cérébral

Le méningocoque, l'agent infectieux de la méningite cérébro-spinale, est une bactérie strictement interhumaine, souvent présente à l'état non-pathogène dans l'oropharynx de porteurs sains. Son passage dans le sang, qui survient par des mécanismes encore mal compris, lui permet d'adhérer aux cellules endothéliales des capillaires cérébraux, de les franchir et de coloniser les méninges, causant ainsi la méningite. Des formes septicémiques souvent mortelles s'associent parfois à la méningite, responsables d'un choc septique s'installant en quelques heures, connues sous le nom de « purpura fulminans ».

Les mécanismes moléculaires permettant au méningocoque de franchir l'endothélium des capillaires cérébraux ont été décryptés par étapes, la première étant la découverte que cette bactérie franchit la BHE essentiellement par un mécanisme de

transcytose [16]. La nécessité d'une stabilisation des colonies bactériennes à la surface des cellules endothéliales malgré le flux sanguin, a conduit le méningocoque à développer une stratégie particulière. Ainsi, la bactérie active des voies de signalisation dans les cellules endothéliales qui aboutissent à la formation par les cellules de l'hôte de protrusions membranaires renforcées par un squelette d'actine [17, 18]. Ces protrusions, qui viennent s'interposer entre les bactéries et le courant sanguin, permettent à la colonie de rester adhérente à l'endothélium et de rapidement grossir en taille. D'autres cascades de signalisation parallèles [16, 19] vont permettre le déverrouillage des jonctions inter-cellulaires permettant à quelques bactéries détachées de la colonie de franchir la barrière endothéliale. Ces signaux induits dans la cellule endothéliale par le pathogène, causent la délocalisation des protéines qui assurent l'étanchéité de l'endothélium au niveau des jonctions intercellulaires sous la colonie bactérienne. L'appauvrissement des jonctions en protéines assurent l'étanchéité aboutit progressivement au relâchement de ces mêmes jonctions, puis à leur ouverture. Les bactéries décrochées de la colonie mère au dessus de la jonction ainsi ouverte passent entre les cellules endothéliales et infectent les méninges. Une étape importante dans la compréhension de ce phénomène manquait, cependant. Le ou les récepteurs cellulaires du méningocoque et les premiers signaux biochimiques d'enclenchement du processus infectieux étaient toujours inconnus. Récemment il a été découvert que le méningocoque possède en fait deux récepteurs membranaires. Après fixation sur un premier récepteur d'adhésion, membre de la super-famille des immunoglobulines (manuscrit soumis pour publication) la bactérie active un deuxième récepteur, présent à la surface de cellules endothéliales des capillaires du cerveau, le récepteur β 2-adrénergique des catécholamines [20]. Ce récepteur est normalement couplé à plusieurs voies de signalisation intracellulaires parallèles mises en jeu soit par l'activation d'une protéine G hétéro-trimérique, appelée Gs, stimulant l'adénylate cyclase, soit par la translocation depuis le cytoplasme de protéines d'échafaudage, appelées β -arrestines, capables d'assembler des complexes multimoléculaires. Curieusement, l'activation du récepteur β 2-adrénergique par le méningocoque induit exclusivement le recrutement des β — arrestines et n'active pas la protéine Gs [20]. En conséquence de l'accumulation des β — arrestines sous la colonie bactérienne, la tyrosine kinase Src est elle-même mobilisée et activée par les β -arrestines. Une fois activée, Src phosphoryle la cortactine, une protéine qui contrôle la polymérisation de l'actine permettant la formation des protrusions de la membrane plasmique de la cellule hôte, perpendiculaires à l'axe du capillaire, qui protègent la colonie du flux sanguin permettant ainsi sa croissance. Les β -arrestines qui vont aussi attirer et progressivement délocaliser des protéines jonctionnelles comme la VE-cadhérine ou la caténine, déterminant ainsi l'affaiblissement des jonctions intercellulaires, puis l'ouverture des espaces intercellulaires immédiatement en dessous de la colonie bactérienne. Des bactéries libérées de la colonie peuvent ainsi franchir ces espaces et coloniser les méninges. De façon intéressante, le pré-traitement des cellules endothéliales par des agents pharmacologiques capables d'induire l'internalisation du récepteur β 2-adrénergique avant infection inhibe quasi-complètement la formation des protrusions cellulaires stabi-

lisant les colonies de méningocoque et l'ouverture des espaces intercellulaires. L'analyse moléculaire des événements a permis d'identifier le « ligand bactérien » pour le récepteur β 2-adrénergique porté par le méningocoque [20]. Il s'agit des pilines PilV et PILE, des molécules entrant dans la composition des pili de type IV du méningocoque. Ces attributs bactériens, formés de faisceaux de polymères de pilines, sont utilisés par le méningocoque pour interagir avec l'environnement et permettent son déplacement à la surface des cellules de l'hôte. Pil V et Pil E interagissent spécifiquement avec la région N-terminale extracellulaire du récepteur β 2-adrénergique. De façon intéressante, la transposition par génie génétique de cette région dans un récepteur de la même famille n'interagissant pas avec le méningocoque suffit pour transformer celui-ci en un récepteur pouvant être activé par le méningocoque.

Dans cette étude, le méningocoque nous a servi comme une sonde modèle pour analyser les mécanismes moléculaires de l'intégrité de la BHE et identifier des cibles moléculaires pouvant éventuellement être utilisées pour permettre le passage d'agents thérapeutiques à travers la BHE. Aussi, l'identification du récepteur β 2-adrénergique comme un élément essentiel pour l'infection des cellules de l'hôte ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques et vaccinales.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] REESE T.S., KARNOVSKY M.J. — Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J. Cell Biol.*, 1967, 34, 207.
- [2] ALLT G., LAWRENSON J.G. — Pericytes: cell biology and pathology. *Cells Tissues Organs*, 2001, 169, 1.
- [3] NAG S. — Morphology and properties of astrocytes. *Methods Mol. Biol.*, 2011, 686, 69.
- [4] ZLOKOVIC B.V. — The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron.*, 2008, 57, 178.
- [5] NASSIF X., BOURDOULOUS S., EUGENE E., COURAUD P.O. — How do extracellular pathogens cross the blood-brain barrier? *Trends Microbiol.*, May, 2002, 10, 227.
- [6] ENGELHARDT B., WOLBURG H. — Transendothelial migration of leukocytes: through the front door or around the side of the house? *Eur. J. Immunol.*, 2004, 34, 2955.
- [7] WEISS N., MILLER F., CAZAUBON S., COURAUD P.O. — The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009, 1788, 842.
- [8] ABBOTT N.J. — Inflammatory mediators and modulation of blood-brain barrier permeability. *Cell Mol Neurobiol.*, 2000, 20, 131.
- [9] CÔTÉ J. *et al.*, Induction of Selective Blood-Tumor Barrier Permeability and Macromolecular Transport by a Biostable Kinin B1 Receptor Agonist in a Glioma Rat Model. *PLoS One*, 2012, 7, e37485.
- [10] CANNON R.E., PEART J.C., HAWKINS B.T., CAMPOS C.R., MILLER D.S. — Targeting blood-brain barrier sphingolipid signaling reduces basal P-glycoprotein activity and improves drug delivery to the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2012, 109, 15930.

- [11] UBOGU E.E., COSSOY M.B., RANSOHOFF R.M. — The expression and function of chemokines involved in CNS inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2006, 27, 48.
- [12] SPINDLER K.R., HSU T.H. — Viral disruption of the blood-brain barrier. *Trends Microbiol.*, 2012, 20, 282.
- [13] STRAZZA M., PIRRONE P., WIGDAHL B., NONNEMACHER M.R. — Breaking down the barrier: The effects of HIV-1 on the blood-brain barrier. *Brain Res.*, 2011, 1399, 96.
- [14] MOOK-KANAMORI B.B., GELDHOF M., VAN DER POLL T., VAN DE BEEK D. — Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2011, 24, 557.
- [15] BENCUROVA E., MLYNARCIK P., BHIDE M. — An insight into the ligand-receptor interactions involved in the translocation of pathogens across blood-brain barrier. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2011, 63, 297.
- [16] COUREUIL M. *et al.* — Meningococcal type IV pili recruit the polarity complex to cross the brain endothelium. *Science*, Jul 3, 2009, 325, 83.
- [17] EUGÈNE E. *et al.* — Microvilli-like structures are associated with the internalization of virulent capsulated *Neisseria meningitidis* into vascular endothelial cells. *J. Cell Sci.*, Mar 15, 2002, 115, 1231.
- [18] LAMBOTIN M. *et al.* — Invasion of endothelial cells by *Neisseria meningitidis* requires cortactin recruitment by a phosphoinositide-3-kinase/Rac1 signalling pathway triggered by the lipooligosaccharide. *J. Cell Sci.*, Aug 15, 2005, 118, 3805.
- [19] HOFFMANN I., EUGÈNE E., NASSIF X., COURAUD P.O., BOURDOULOUS S. — Activation of ErbB2 receptor tyrosine kinase supports invasion of endothelial cells by *Neisseria meningitidis*. *J. Cell Biol.*, Oct 1, 2001, 155, 133.
- [20] COUREUIL M. *et al.* — Meningococcus hijack a β 2-adrenoceptor- β -arrestin pathway to cross brain microvasculature endothelium. *Cell*, 2010, 143, 1149.

DISCUSSION

M. Jacques BATTIN

Le purpura fulminans de Henoch a heureusement disparu. Il était fatal chez de jeunes enfants, non par la méningite ni le purpura, mais par l'hémorragie surrénalienne (syndrome de Waterhouse Friderichsen) dont vous donnez la raison par l'atteinte des endothélias.

Bien que rare, le purpura fulminans n'a pas disparu. Il s'agit d'une conséquence du tropisme particulier du méningocoque pour les cellules endothéliales de la microvascularisation et de ses conséquences fonctionnelles que sont la fuite vasculaire et les phénomènes thrombotiques. Si une partie des mécanismes physiopathologiques (notamment l'activation des récepteurs beta2-adrénrgiques et de la voie dépendante des beta-arrestines) a été élucidée au cours des dernières années, le mécanisme de l'activation de la coagulation et la participation d'autres récepteurs dans les différents tissus est encore à l'étude.

M. Raymond Ardaillou

La sensibilité à l'infection par le méningocoque est-elle modifiée par des polymorphismes génétiques sur le récepteur $\beta 2AR$?

Il s'agissait effectivement d'une possibilité d'autant que parmi les quelques variants alléliques connus du récepteur $\beta 2AR$, deux concernent la région N-terminale du récepteur, à laquelle se lie le méningocoque, et se situent à proximité des sites de glycosylations dont on vient de voir l'importance pour la liaison. Aussi, nous n'expliquons toujours pas pourquoi seulement une minorité de sujets infectés développe une maladie. Une étude sur plus de deux mille patients atteints de méningite à méningocoque avec ou sans choc septique et de sujets contrôle avec sepsis grave non attribué au méningocoque a été conduite par nos collègues de la réanimation de l'hôpital Cochin. Aucun variant du $\beta 2AR$ ne semble corrélé à la survenue de l'infection méningococcique ou à sa gravité. Nous faisons l'hypothèse que des variations de la composante glucidique pourraient être importantes. Alternativement, la prédisposition à l'infection et la forte charge bactérienne pourraient dépendre de facteurs d'infection au niveau des cellules épithéliales du naso-pharynx, où nous savons déjà que les mécanismes de franchissement sont différents.

