

L'ÉOTAXINE, UNE CHÉMOKINE IMPORTANTE DANS L'ASTHME

L. HEMELAERS (1), R. LOUIS (2)

RÉSUMÉ : Depuis plusieurs années, on connaît le rôle majeur de l'éosinophile dans la pathogénèse de l'asthme. Celui-ci, attiré par différentes chémokines, se retrouve au niveau des voies respiratoires et peut libérer ses différentes enzymes protéolytiques. L'éotaxine est une des chémokines impliquée dans le recrutement des éosinophiles. Elle est capable de se fixer sur le récepteur CCR3 au niveau de la membrane plasmique des éosinophiles et d'induire sa migration vers les structures tissulaires. Cette chémokine est synthétisée par différents types cellulaires. Ainsi les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les cellules épithéliales bronchiques, les macrophages et les éosinophiles eux-mêmes sont capables de produire cette protéine. Dans l'asthme, on remarque une présence accrue d'éotaxine au sein de l'arbre respiratoire. Cette augmentation de production est visible tant au niveau de la lumière bronchique que dans la muqueuse respiratoire des personnes asthmatiques. En conclusion, on peut dire que l'éotaxine participe à la pathogénèse de l'asthme par sa capacité à recruter les éosinophiles.

MOTS-CLÉS : *Eotaxine - Eosinophil - Chimiotactixisme - Asthme*

EOTAXIN : AN IMPORTANT CHEMOKINE IN ASTHMA

SUMMARY : We know that the eosinophil plays an important role in asthma pathogenesis. This polynuclear cell is attracted into the airways by several chemokines. Eotaxin is one of them. Endothelial cells, smooth muscle cells, epithelial cells, alveolar macrophages and eosinophils can produce eotaxin. In asthmatic airways, eotaxin production is increased in bronchial airway lumen and mucosa. Eotaxin actively participates in asthma pathogenesis by activating eosinophil recruitment.

KEYWORDS : *Eotaxin - Eosinophil - Chemotaxis*

s'observent leurs caractéristiques bien connues : un noyau bilobé et des granules cytoplasmiques éosinophiles de différentes tailles (2). L'éosinophile mature séjourne 25h dans le sang avant de migrer vers les tissus (3). Dans la circulation, les éosinophiles constituent, en temps normal, 1-3% des globules blancs, mais ils se retrouvent en proportion beaucoup plus importante au niveau tissulaire. Ainsi, dans l'organisme, le nombre d'éosinophiles présents au sein des tissus est 500x plus élevé que celui du sang. L'éosinophile est un globule blanc dont la fonction principale est la destruction de parasites. Les éosinophiles activés sont capables de phagocyter différentes particules comme les bactéries, mais, leur principal mécanisme de destruction est la libération du contenu de leurs granules et de radicaux libres.

En l'absence de parasites, les éosinophiles activés peuvent provoquer une inflammation ainsi qu'une destruction tissulaire (2). Pourtant, il y a quelques décennies, on attribuait aux éosinophiles un rôle protecteur dans l'asthme en évoquant la production d'histaminase apte à contrer les effets de l'histamine libérée par les mastocytes. Les concepts ont changé et on considère davantage aujourd'hui l'éosinophile comme une cellule clé contribuant à l'activation du muscle lisse via la libération de cytéinyl-leucotriènes, à l'hypersécrétion muqueuse et au remodelage tissulaire présent chez l'asthmatique. Contenus dans les granules, on peut citer quatre enzymes qui participent de manière importante à la pathogénèse de l'asthme : la MBP (Major Basic Protein), l'ECP (Eosinophil Cationic Protein), l'EPO (Eosinophil Peroxydase) et l'EDN (Eosinophil Derived Neurotoxin). La MBP participe à la desquamation de l'épithélium respiratoire ainsi qu'à l'altération des cils de ce même épithélium (4). L'ECP favorise la lyse épithéliale en créant des pores dans la membrane cellulaire (5). L'EPO agit en cataly-

INTRODUCTION

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires. Cette inflammation est la cause d'épisodes récurrents de toux, de sifflements, d'oppression respiratoire et de dyspnée. Lorsque les voies respiratoires sont exposées, à des allergènes chez le sujet sensibilisé, ou à des stimuli non spécifiques (irritants chimiques, fumée, air froid) chez tout asthmatique, celui-ci développe une bronchoconstriction associée à une hypersécrétion de mucus, phénomène non observé chez les sujets sains.

La composante inflammatoire bronchique de l'asthme se traduit par une infiltration des voies aériennes par des cellules activées au premier rang desquelles on retrouve les éosinophiles, les lymphocytes T CD4 et les mastocytes. Parmi ces cellules, l'éosinophile est certainement la cellule phare de l'inflammation asthmatique, dans la mesure où, on la retrouve souvent en nombre et activée dans tous les compartiments des voies aériennes des bronches proximales jusqu'au bronchioles distales, et de la lumière jusqu'à la couche musculaire lisse (1).

L'ÉOSINOPHILE

Les éosinophiles sont produits au niveau de la moelle osseuse hématopoïétique. Ils passent par différents stades pour arriver à un stade final où

(1) Chercheur doctorant,

(2) Chef de Service, Service de Pneumologie, CHU Sart Tilman Liège

sant la formation de dérivés oxydants (oxydation d'halogènes) dont le pouvoir destructeur est intense (6). L'éosinophilie sanguine et celle des voies aériennes ont souvent été corrélées avec l'hyperréactivité bronchique et la sévérité de la maladie asthmatique (7).

L'appréciation du rôle pathogène des éosinophiles dans l'asthme a stimulé une recherche intense au sujet des mécanismes régulant leur présence tissulaire.

LE CHIMIOTACTISME

Le chimiotactisme est une des étapes contribuant au passage de l'éosinophile du torrent circulatoire vers les tissus. Plusieurs types cellulaires sont impliqués dans le recrutement des éosinophiles. Les macrophages, les lymphocytes Th2, les fibroblastes, les cellules musculaires lisses et les cellules épithéliales, sécrètent des chémokines qui interviennent de manière importante dans le chimiotactisme des éosinophiles. Ainsi, les chémokines les plus connues, qui favorisent la migration des éosinophiles, sont : CCL5/RANTES (Regulated on activation, normal T cells expressed and secreted), CCL7/MCP-3 (Monocyte Chemotactic Protein-3), CCL11/Eotaxin, CCL13/MCP-4 (Monocyte Chemotactic Protein-4). Ces chémokines se fixent sur des récepteurs CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-5 exprimés au niveau de la membrane plasmique (Tableau I). Par leur liaison au récepteur, les chémokines entraînent une augmentation de l'expression de molécules d'adhésion à la surface des éosinophiles (LFA-1, MAC-1 et VLA-4) permettant à ceux-ci de se fixer aux intégrines (ICAM-1, VCAM-1) exprimées à la surface des cellules endothéliales. Il s'ensuit alors un passage transendothélial des éosinophiles encore appelé diapédèse (8). La migration extravasculaire s'effectue, alors, en fonction du gradient tissulaire en chémokines, grâce à la

TABLEAU I. CHÉMOKINES ET RÉCEPTEURS IMPLIQUÉS DANS LE CHIMIOTACTISME DES ÉOSINOPHILES DANS L'ASTHME

Nouvelle nomenclature	Abréviation	Nom commun	Récepteurs
CCL5	RANTES	Regulated on activation, normal T cells expressed and secreted	CCR1, CCR3, CCR5
CCL7	MCP-3	Monocyte chemotactic protein-3	CCR1, CCR2, CCR3
CCL11		Eotaxin	CCR3
CCL13	MCP-4	Monocyte chemotactic protein-4	CCR2, CCR3

mobilisation du Ca⁺⁺ intracellulaire et la contraction de filaments d'actine. L'interaction entre l'éosinophile et les composants de la matrice extracellulaire (glycoaminoglycans) est également impliquée dans le déplacement et l'activation de la cellule.

L'ÉOTAXINE

L'éotaxine fut découverte pour la première fois en 1993, après purification et séquençage, dans les lavages bronchoalvéolaires issus de cobayes sensibilisés stimulés par un allergène (9). On a ainsi pu caractériser une protéine de 73 acides aminés. Le terme «éotaxine» provient de la contraction des deux termes anglais «eosinophil chemotaxin». Récemment, deux autres chémokines apparentées à l'éotaxine ont été découvertes. Celles-ci possèdent des propriétés similaires à l'éotaxine-1. C'est la raison pour laquelle, elles ont été appelées éotaxine-2 (10) et -3 (11). On a pu montrer qu'elles présentaient une homologie fonctionnelle importante avec l'éotaxine-1 malgré une faible homologie structurale. En effet, on remarque une différence quasi totale au niveau de la région amino-terminale.

Pour induire le chimiotactisme des éosinophiles, l'éotaxine se lie exclusivement au récepteur CCR3, hautement exprimé au niveau de la membrane plasmique de l'éosinophile. Ceci fait de l'éotaxine une chémokine extrêmement puissante pour les éosinophiles. D'autres chémokines tels que le RANTES, le MCP-3 et MCP-4 se fixent sur CCR1, CCR2 et CCR5 qui sont exprimés par l'ensemble des leucocytes (Tableau I). Le récepteur CCR-3 est un récepteur à sept domaines transmembranaires couplé à une protéine G. Cette protéine G permet la transduction du signal au niveau intracellulaire. Après fixation de l'éotaxine à son récepteur, on peut ainsi observer une polymérisation des filaments d'actine, une mobilisation calcique et une production accrue de radicaux libres. Ces phénomènes sont à la base du chimiotactisme des éosinophiles et à la libération de leurs granules (12). Dans notre modèle des microchambres de Boyden, on a ainsi pu montrer que l'éotaxine (10-12M-10-8M) induisait une migration des éosinophiles (Figure 1).

Plusieurs types cellulaires sont source d'éotaxine. Ainsi, les cellules épithéliales bronchiques, les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales, les macrophages et les éosinophiles eux-mêmes expriment et libèrent cette chémokine (13, 14). Des cytokines régulent la production d'éotaxine. L'interleukine-4 et l'interleukine 13 amplifient de façon marquée et spécifique la production d'éotaxine par les cellules épithéliales bronchiques

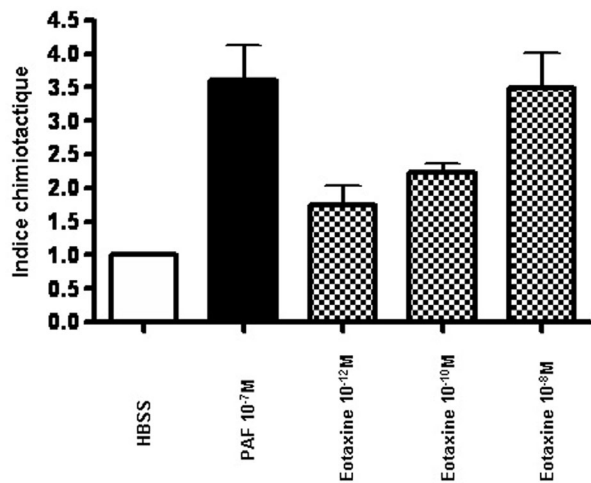


Figure 1. Chimiotactisme des éosinophiles induit par l'éotaxine dans le modèle des microchambres de Boyden

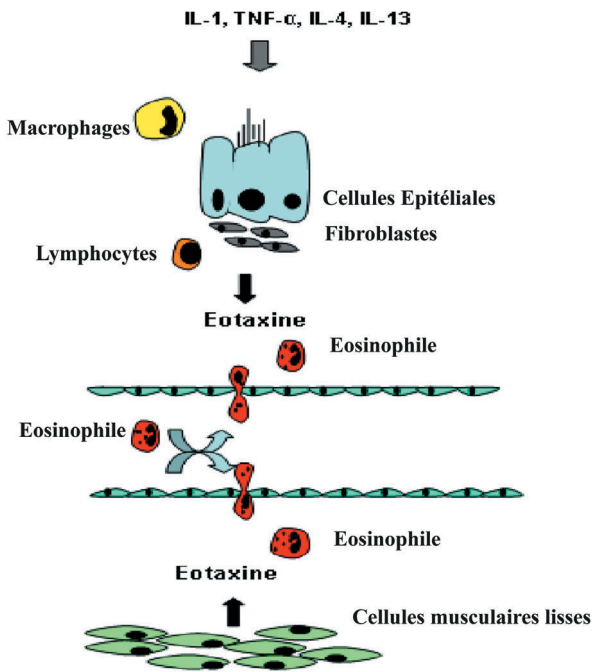


Figure 2. Production et action de l'éotaxine au niveau des voies respiratoires

BEAS2B in vitro alors que l'interferon-produit l'effet inverse(15, 16) (Figure 2).

EOTAXINE ET ASTHME

Après la découverte de l'éotaxine dans le lavage bronchoalvéolaire de cobaye, différentes études ont caractérisé cette chémokine au niveau des voies respiratoires de patients asthmatiques. Ainsi, Lamkhioed et coll. ont détecté de l'éotaxine au niveau de la muqueuse bronchique et du lavage bronchoalvéolaire des asthmatiques. Dans la muqueuse bronchique, l'éotaxine a pu

être mise en évidence dans les cellules épithéliales et les cellules inflammatoires. Dans le lavage bronchoalvéolaire (LBA), la majorité des cellules capables de produire cette protéine étaient les macrophages même si les lymphocytes et les éosinophiles pouvaient aussi en être source (17). Une autre étude biopsique a montré un accroissement de l'expression de l'éotaxine et de son récepteur CCR3 dans la muqueuse bronchique des asthmatiques atopiques. De plus, une corrélation a pu être mise en évidence entre l'hyperréactivité bronchique à histamine et l'expression de l'ARNm de l'éotaxine au niveau des cellules épithéliales et endothéliales de la muqueuse bronchique (18).

Par ailleurs, le muscle lisse bronchique isolé à partir de biopsies d'asthmatiques et mis en culture, est capable de libérer l'éotaxine, dont la production est augmentée par le TNF-α et l'IL-1β (19).

Une augmentation de l'ARNm codant pour l'éotaxine au niveau des voies respiratoires a été observée 2 heures après une stimulation allergénique chez le sujet sensibilisé. Cet accroissement de transcription est rapidement suivi par une augmentation de la production et de la libération de cette chémokine qui est associée à l'afflux d'éosinophiles au niveau pulmonaire. Par ailleurs, 24h après la stimulation allergénique on remarque une diminution de l'éotaxine mais pas du nombre d'éosinophiles (20). Ceci indique que l'éotaxine participe au recrutement précoce des éosinophiles après exposition à un allergène alors que d'autres facteurs sont impliqués dans le maintien d'une éosinophilie tissulaire.

Dans un large étude portant sur plus de 500 asthmatiques, les taux d'éotaxine circulante sont apparus supérieurs à ceux mesurés chez des sujets contrôles et ont été corrélés à la sévérité du déficit obstructif chez les asthmatiques (21). Par ailleurs, les asthmatiques montrent des taux accrus d'éotaxine dans leurs expectorations qu'ils soient en état stable ou non (22) et cette chémokine participe à l'activité chimiotactique pour les éosinophiles contenue dans les expectorations d'asthmatiques (23). Le fait de prendre des corticoïdes inhalés à bonne dose, et parfois même des corticoïdes oraux, n'empêche pas de mesurer chez certains asthmatiques des taux parfois très élevés d'éotaxine dans les voies aériennes (23). De façon intéressante, une partie de la contribution de l'éotaxine au déficit obstructif est indépendante de son association à l'éosinophilie ce qui fait suggérer un rôle supplémentaire pour cette chémokine dans l'asthme en dehors de son activité chimiotactique pour les éosinophiles (21).

CONCLUSION

La découverte de l'éotaxine a permis de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le recrutement des éosinophiles au site de la réaction inflammatoire. De nombreux arguments se sont accumulés indiquant que l'éotaxine joue sans doute un rôle important dans l'asthme. Des molécules antagonistes du CCR3 ou des anticorps anti-eotaxine pourraient être utilisés pour freiner le recrutement tissulaire des éosinophiles. Cette voie thérapeutique pourrait être complémentaire des corticoïdes. Il nous faudra attendre les résultats d'essais cliniques avec ces nouvelles molécules pour pouvoir réellement jauger l'importance de l'éotaxine dans l'asthme.

REFERENCES

- Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, et al.— Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990, **142**, 434-457.
- Gleich GJ, Adolphson CR.— The eosinophilic leukocyte: structure and function. *Adv Immunol*, 1986, **39**, 177-253.
- Kroegel C, Virchow JC, Luttmann W, et al.— A Pulmonary immune cells in health and disease the eosinophil leukocyte (Part I). *Eur Respir J*, 1994, **7**, 519-543.
- Plager DA, Stuart S, Gleich GJ.— Human eosinophil granule major basic protein and its novel homolog. *Allergy*, 1998, **53**, 33-40.
- Venge P, Bystrom J, Carlson M, et al.— Eosinophil cationic protein (ECP) : molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clin Exp Allergy*, 1999, **29**, 1172-1186.
- Ten RM, Pease LR, McKean DJ, et al.— Molecular cloning of the human eosinophil peroxidase. Evidence for the existence of a peroxidase multigene family. *J Exp Med*, 1989, **169**, 1757-1769.
- Louis R, Lau LC, Bron AO, et al.— The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, **161**, 9-16.
- Lukacs NW, Tekkanat KK.— Role of chemokines in asthmatic airway inflammation. *Immunol Rev*, 2000, **177**, 21-30.
- Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Rossi AG, et al.— The chemokine, eotaxin, activates guinea-pig eosinophils in vitro and causes their accumulation into the lung in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, **197**, 1167-1172.
- White JR, Imburgia C, Dul E, et al.— Cloning and functional characterization of a novel human CC chemokine that binds to the CCR3 receptor and activates human eosinophils. *J Leukoc Biol*, 1997, **62**, 667-675.
- Shinkai A, Yoshisue H, Koike M, et al.— A novel human CC chemokine, eotaxin-3, which is expressed in IL-4-stimulated vascular endothelial cells, exhibits potent activity toward eosinophils. *J Immunol*, 1999, **163**, 1602-1610.
- Conroy DM, Williams TJ.— Eotaxin and the attraction of eosinophils to the asthmatic lung. *Respir Res*, 2001, **2**, 150-156.
- Ying S, Robinson DS, Meng Q, et al.— Enhanced expression of eotaxin and CCR3 mRNA and protein in atopic asthma. Association with airway hyperresponsiveness and predominant co-localization of eotaxin mRNA to bronchial epithelial and endothelial cells. *Eur J Immunol*, 1997, **27**, 3507-3516.
- Lamkhioued B, Renzi PM, Abi-Younes S, et al.— Increased expression of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation. *J Immunol*, 1997, **159**, 4593-4601.
- Zimmermann N, Hogan SP, Mishra A, et al.— Murine eotaxin-2 : a constitutive eosinophil chemokine induced by allergen challenge and IL-4 overexpression. *J Immunol*, 2000, **165**, 5839-5846.
- Li L, Xia Y, Nguyen A, et al.— Effects of Th2 cytokines on chemokine expression in the lung: IL-13 potently induces eotaxin expression by airway epithelial cells. *J Immunol*, 1999, **162**, 2477-2487.
- Lamkhioued B, Renzi PM, Abi-Younes S, et al.— Increased expression of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation. *J Immunol*, 1997, **159**, 4593-4601.
- Ying S, Robinson DS, Meng Q, et al.— Enhanced expression of eotaxin and CCR3 mRNA and protein in atopic asthma. Association with airway hyperresponsiveness and predominant co-localization of eotaxin mRNA to bronchial epithelial and endothelial cells. *Eur J Immunol*, 1997, **27**, 3507-3516.
- Ghaffar O, Hamid Q, Renzi PM, et al.— Constitutive and cytokine-stimulated expression of eotaxin by human airway smooth muscle cells. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, **159**, 1933-1942.
- Brown JR, Kleimberg J, Marini M, et al.— Kinetics of eotaxin expression and its relationship to eosinophil accumulation and activation in bronchial biopsies and bronchoalveolar lavage (BAL) of asthmatic patients after allergen inhalation. *Clin Exp Immunol*, 1998, **114**, 137-146.
- Nakamura H, Weiss ST, Israel E, et al.— Eotaxin and impaired lung function in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, **160**, 1952-1956.
- Yamada H, Yamaguchi M, Yamamoto K, et al.— Eotaxin in induced sputum of asthmatics : relationship with eosinophils and eosinophil cationic protein in sputum. *Allergy*, 2000, **55**, 392-397.
- Deng G, Hadjicharalambous C, Yoshikawa T, et al.— Contributions of eotaxin-I to eosinophil chemotactic activity of moderate and severe asthmatic sputum. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, **169**, 1110-1117

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Prof. R. Louis, Service de Pneumologie, CHU Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique