

Le mot des coordinatrices

Vésicules extracellulaires : comment passer en quelques décennies d'un statut de débris cellulaires, ou pire, de sacs poubelle, à celui de messagers intercellulaires

Chantal M. Boulanger, Graça Raposo, Clotilde Théry



► Dans un organisme pluricellulaire ou entre deux organismes différents (un parasite ou une bactérie et leur hôte, par exemple) une communication permanente entre organes ou entre cellules doit exister, pour permettre le maintien de l'homéostasie, ou la mise en place de réponses appropriées à des changements d'environnement. Cette communication peut se produire lors de contacts entre cellules concernées ou à plus grande distance, par l'échange de médiateurs envoyés par une cellule donneuse et capturés par sa ou ses cellule(s) cible(s). De nombreuses molécules sont connues pour leurs propriétés de médiateurs, comme les hormones ou les protéines de la famille des cytokines ou des chimiokines qui se lient à des récepteurs spécifiques exprimés à la surface des cellules cibles, induisant alors une signalisation intracellulaire à l'origine de leur réponse. Mais des médiateurs bien plus complexes et riches d'informations sont l'objet d'un intérêt croissant exponentiellement depuis une dizaine d'année : les vésicules extracellulaires (VE) [1, 2].

Les VE sont des micro- ou des nano-portions de cellules, délimitées par une membrane de même structure que les membranes délimitant les cellules ou leurs compartiments internes, c'est-à-dire formées d'une bicouche lipidique dans laquelle sont enchassées, ou à laquelle sont amarrées, des protéines. Divers sucres peuvent être également associés aux protéines et aux lipides constituant cette membrane. L'orientation membranaire des VE (extra- et intra-vésiculaire) est, généralement, identique à celle de la cellule qui les produit. Leur surface reflète donc celle de la cellule mère, exposant ainsi le domaine extracellulaire des protéines transmembranaires. Leur contenu reflète, quant à lui, la composition du cytosol cellulaire (protéines et acides nucléiques, entre autres). Ce schéma, généralement accepté, peut être cependant différent pour certaines VE, qui restent néanmoins minoritaires. Les VE peuvent donc être considérées comme des mini-condensés de composants qui sont issus de la cellule mère et qui ont été sélectionnés. Elles peuvent interagir avec les cellules environnantes, par contact entre leur surface et celle de cellules cibles, ce qui leur confère cette capacité particulière de transporteurs d'information, et crée donc une boucle intéressante d'échanges entre cellules donneuse et acceptrice des VE [3]. Ces différents aspects des vésicules

extracellulaires seront largement discutés dans les articles constituant ce numéro thématique de *médecine/sciences* qui leur est dédié.

Bien avant que le terme « *extracellular vesicles* » ait été proposé en 2011 [4], puis adopté par la communauté scientifique lors de la création de la société savante internationale dédiée aux vésicules extracellulaires, l'*International Society for EVs*¹ (ISEV), la recherche sur ces mystérieuses « bulles de sens » avait été développée en France, dès la fin des années 1990, en parallèle, par deux groupes de chercheurs : l'un étudiait des VE, qu'il appelait microparticules ou microvésicules, qu'il détectait en microscopie à fluorescence ou en cytométrie en flux ; l'autre s'intéressait à des VE plus petites (moins de 150 nm de diamètre), qu'il appelait « exosomes », et qui n'étaient pas détectables par la microscopie classique.

Le premier groupe d'investigateurs, conduit par Jean-Marie Freyssinet, s'intéressait plus particulièrement aux effets pro-coagulants liés à l'externalisation de phosphatidylsérine (PS) au cours du processus de vésiculation de la membrane plasmique, un mécanisme conduisant à la formation de « microparticules » libérées dans le milieu extracellulaire. Ce phénomène fut initialement décrit comme la formation de « poussière » lors de l'activation plaquettaire [5]. L'exposition de PS à la surface des cellules sert en effet non seulement de signal de reconnaissance par les phagocytes, afin que la cellule soit éliminée, mais aussi de surface catalytique à laquelle les facteurs de la coagulation peuvent se lier, interagir et favoriser la formation de thrombine. Dès 1993, Alan T. Nurden et Jean-Marie Freyssinet développèrent un premier test en cytométrie de flux permettant d'apprécier le pouvoir pro-coagulant de ces microparticules en évaluant l'externalisation de la PS à l'aide d'annexine V, une protéine se liant à la PS de façon calcium-dépendante [6]. La sensibilité des cytomètres de cette époque étant limitée à la détection des vésicules les plus grosses (entre 500 nm et 1 micron de diamètre), Jean-Marie Freyssinet développa, quelques années plus tard, une nouvelle méthode de mesure plus sensible de l'activité pro-coagulante de ces microparticules et permettant de définir leur origine cellulaire, à l'aide d'une technique de capture sur plaque

¹ www.isev.org

recouverte d'annexine V, et de détection, par mesure de l'activité pro-thrombinase [7]. Ces travaux permirent ainsi de démontrer la dissémination générale de l'activité pro-coagulante portée par les microparticules présentes dans le plasma humain, ou formées lors de l'activation des cellules monocytaires [8]. Ces travaux révélèrent également la capacité de ces microparticules d'origine monocyttaire d'adhérer à la surface de l'endothélium vasculaire. La mise en évidence du rôle de l'apoptose et de l'inflammation dans la formation des microparticules pro-coagulantes fut naturellement à l'origine d'une collaboration entre Jean-Marie Freyssinet et Alain Tedgui, dans le contexte des maladies cardiovasculaires dans lesquelles ce type de réponse est exacerbé. Leurs études ont ainsi conduit à la mise en évidence de la présence de microparticules pro-coagulantes dans la lésion d'athérosclérose chez l'homme, et de leur rôle pro-thrombogénique, lors de la rupture de la plaque [8]. Ces travaux permirent également de révéler l'augmentation des taux circulants de ces microparticules à la suite d'un infarctus du myocarde, de même que la dysfonction endothéliale généralisée que ces microparticules entraînent chez les patients [9,10]. Françoise Dignat-George fut également une pionnière dans l'identification de microparticules d'origine endothéliale dans le plasma humain et de leur capacité, après adhérence aux monocytes, de stimuler l'expression et l'activité du facteur tissulaire, entraînant ainsi une amplification des réponses cellulaires pro-coagulantes [11, 12].

Les travaux fondateurs de ces groupes de recherche français dans les domaines de l'hémostase, de la thrombose et cardiovasculaire ont été à l'origine d'une recherche très active sur les microparticules au cours des deux dernières décennies, en particulier pour leur intérêt comme biomarqueur potentiel et leur contribution au développement de maladies cardiovasculaires.

Le second groupe de chercheurs s'intéressait plus spécifiquement à des vésicules appelées exosomes. Le travail initié par Graça Raposo dans le laboratoire de Hans J. Geuze, à la *Utrecht Medical School*, aux Pays-Bas [13], qui montrait la sécrétion, par les cellules présentatrices d'antigènes, de petites vésicules produites initialement comme des vésicules internes d'endosomes tardifs dans ces cellules, et sécrétées par la fusion de ces endosomes multivésiculaires avec la membrane plasmique, avait fait levier lors de son retour en France pour relancer les recherches françaises sur ces vésicules. Ce mécanisme atypique de sécrétion avait été décrit une dizaine d'années auparavant, dans des réticulocytes au moment de leur maturation en globules rouges [14, 15]. Le terme « exosomes », proposé en 1987 par Rose M. Johnstone *et al.* pour désigner ces vésicules [16], fut rapidement adopté, contrairement à son utilisation pour désigner toute vésicule « exfoliée » par une cellule, qui avait été suggérée en 1984, mais quasiment pas utilisée ensuite [17]. Un laboratoire français avait alors initié des recherches sur les exosomes de réticulocytes [18]. Le globule rouge étant dépourvu d'un grand nombre de composants présents dans le réticulocyte (noyau, compartiments subcellulaires, nombreuses protéines), la fonction, alors proposée par les auteurs, de cette sécrétion d'exosomes était, pour la cellule, de se débarrasser de certains de ces constituants désormais

inutiles : il s'agissait ainsi d'une sorte de « sac poubelle » cellulaire. Le travail de Graça Raposo changeait cette vision. Cette dernière montra en effet que les exosomes issus de cellules présentatrices d'antigènes portaient eux-mêmes des molécules de présentation antigénique (CMH, complexe majeur d'histocompatibilité) qui étaient fonctionnelles et pouvaient activer les lymphocytes T : l'exosome passait ainsi du statut de « sac poubelle » à celui de vecteur d'information, capable de modifier des cellules autres que celles qui l'avait sécrété. À son retour en France, Graça Raposo poursuivit cette étude et la développa avec les groupes de Laurence Zitvogel et Sebastian Amigorena. Ce travail montra que les exosomes produits par des cellules autres que les lymphocytes B, les cellules dendritiques, acteurs majeurs dans la présentation d'antigènes, portaient eux aussi ces informations antigéniques et pouvaient induire des réponses immunitaires contre les tumeurs [19]. Cette observation fut à l'origine de l'idée d'utiliser des exosomes comme matériel immuno-thérapeutique.

Vingt ans après ces travaux, et avec les développements montrant que les vésicules extracellulaires (VE) les plus petites isolées à partir de cellules en culture ou de biofluides peuvent provenir aussi bien de corps multivésiculaires (MVB), donc correspondre à des exosomes, que de la membrane plasmique elle-même, les recommandations actuelles de la Société internationale des vésicules extracellulaires (ISEV) incitent à utiliser un terme plus générique que celui d'exosomes, comme celui de « petites VE », s'il n'est pas possible de démontrer incontestablement l'origine endosomale des vésicules analysées [20].

Ces travaux pionniers ont été à l'origine, dès le début des années 2000, d'une intense recherche en France sur les fonctions immunitaires des exosomes (ou petites vésicules) sécrétés par différentes cellules, comme les mastocytes [21], les cellules dendritiques [22-24], des cellules épithéliales intestinales [25], les lymphocytes T [26], mais aussi des cellules tumorales [27], des cellules neurales infectées [28], ou non [29], par le prion. Les créations de l'ISEV, en 2011, puis celle de la Société française dédiée aux VE (la FSEV) en 2018, ont été une occasion unique de rapprocher ces deux thématiques de recherche (« microparticules » et « exosomes ») pour lesquelles les laboratoires français possédaient déjà une expertise bien établie. L'organisation de rencontres scientifiques internationales et nationales portant sur les vésicules extracellulaires a permis au cours des dix dernières années de favoriser la fertilisation croisée des thématiques et de stimuler les collaborations entre les différents investigateurs.

Aujourd'hui, nous avons le plaisir de coordonner, à la demande de *médecine/sciences*, ce numéro thématique consacré aux vésicules extracellulaires, qui nous permet de mettre à l'honneur les experts francophones de ces particules particulières. Couvrant les aspects majeurs de nos connaissances actuelles, du plus fondamental jusqu'aux applications cliniques, ce numéro abordera la nature biochimique et biologique des vésicules extracellulaires (VE), leur composition, les mécanismes de leur formation, les méthodes d'analyse, avec en particulier les récents développements permettant leur traçage *in vivo*. Les rôles des vésicules extracellulaires dans différents aspects de la physiologie et de la pathologie seront également examinés : cancer, maladies cardiovasculaires et métaboliques, immunité, système nerveux. Enfin, les applications envisagées des vésicules extracellulaires comme sources de biomarqueurs et comme vecteurs thérapeutiques seront évoquées. Nous espérons que ce numéro contribuera à éveiller ou à renforcer l'intérêt des chercheurs, scientifiques et médecins, non spécialistes de ce domaine foisonnant ! ♦

Extracellular vesicles: How to pass in a few decades from a status of cellular debris, or worse, garbage bags, to that of inter-cellular messengers

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Cocozza F, Grisard E, Martin-Jaular L, et al. SnapShot : Extracellular Vesicles. *Cell* 2020 ; 182(1) : 262- e1.
- van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018 ; 19(4) : 213-28.
- Raposo G, van Niel G, Stahl PD. Extracellular vesicles and homeostasis—An emerging field in bioscience research. *FASEB Bioadv* 2021 ; 3(6) : 456-8.
- Gyorgy B, Szabo TG, Pasztoi M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art : emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci* 2011 ; 68 : 2667-88.
- Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol* 1967 ; 13(3) : 269-88.
- Dachary-Prigent J, Freyssinet JM, Pasquet JM, et al. Annexin V as a probe of aminophospholipid exposure and platelet membrane vesiculation : a flow cytometry study showing a role for free sulphhydryl groups. *Blood* 1993 ; 81(10) : 2554-65.
- Aupeix K, Hugel B, Martin T, et al. The significance of shed membrane particles during programmed cell death in vitro, and in vivo, in HIV-1 infection. *J Clin Invest* 1997 ; 99(7) : 1546-54.
- Satta N, Toti F, Feugeas O, Bohbot A, et al. Monocyte vesiculation is a possible mechanism for dissemination of membrane-associated procoagulant activities and adhesion molecules after stimulation by lipopolysaccharide. *J Immunol* 1994 ; 153(7) : 3245-55.
- Mallat Z, Benamer H, Hugel B, et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2000 ; 101(8) : 841-3.
- Boulanger CM, Scoazec A, Ebrahimian T, et al. Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. *Circulation* 2001 ; 104(22) : 2649-52.
- Combes V, Simon AC, Grau GE, et al. In vitro generation of endothelial microparticles and possible prothrombotic activity in patients with lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1999 ; 104(1) : 93-102.
- Sabatier F, Roux V, Anfosso F, et al. Interaction of endothelial microparticles with monocytic cells in vitro induces tissue factor-dependent procoagulant activity. *Blood* 2002 ; 99(11) : 3962-70.
- Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med* 1996 ; 183(3) : 1161-72.
- Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol* 1983 ; 97(2) : 329-39.
- Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro : selective externalization of the receptor. *Cell* 1983 ; 33(3) : 967-78.
- Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem* 1987 ; 262(19) : 9412-20.
- Trams EG, Lauter CJ, Salem N Jr, Heine U. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochim Biophys Acta* 1981 ; 645(1) : 63-70.
- Vidal M, Sainte-Marie J, Philippot JR, Bienvenue A. Asymmetric distribution of phospholipids in the membrane of vesicles released during in vitro maturation of guinea pig reticulocytes: evidence precluding a role for "aminophospholipid translocase". *J Cell Physiol* 1989 ; 140(3) : 455-62.
- Zitvogel L, Regnault A, Lozier A, et al. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine : dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med* 1998 ; 4(5) : 594-600.
- Witwer KW, Thery C. Extracellular vesicles or exosomes? On primacy, precision, and popularity influencing a choice of nomenclature. *J Extracell Vesicles* 2019 ; 8(1) : 1648167.
- Raposo G, Tenza D, Mecheri S, et al. Accumulation of major histocompatibility complex class II molecules in mast cell secretory granules and their release upon degranulation. *Mol Biol Cell* 1997 ; 8(12) : 2631-45.
- Aline F, Bout D, Amigorena S, et al. Toxoplasma gondii antigen-pulsed-dendritic cell-derived exosomes induce a protective immune response against T. gondii infection. *Infect Immun* 2004 ; 72(7) : 4127-37.
- Peche H, Heslan M, Usal C, et al. Presentation of donor major histocompatibility complex antigens by bone marrow dendritic cell-derived exosomes modulates allograft rejection. *Transplantation* 2003 ; 76(10) : 1503-10.
- Thery C, Regnault A, Garin J, et al. Molecular characterization of dendritic cell-derived exosomes. Selective accumulation of the heat shock protein hsc73. *J Cell Biol* 1999 ; 147(3) : 599-610.
- van Niel G, Raposo G, Candalh C, et al. Intestinal epithelial cells secrete exosome-like vesicles. *Gastroenterology* 2001 ; 121(2) : 337-49.
- Blanchard N, Lankar D, Faure F, et al. TCR activation of human T cells induces the production of exosomes bearing the TCR/CD3/zeta complex. *J Immunol* 2002 ; 168(7) : 3235-41.
- Wolffers J, Lozier A, Raposo G, et al. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming. *Nat Med* 2001 ; 7(3) : 297-303.
- Fevrier B, Vilette D, Archer F, et al. Cells release prions in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 ; 101(26) : 9683-8.
- Faure J, Lachenal G, Court M, et al. Exosomes are released by cultured cortical neurons. *Mol Cell Neurosci* 2006 ; 31(4) : 642-8.

Chantal M. Boulanger¹, Graça Raposo², Clotilde Théry³

¹Université de Paris, PARCC, Inserm,
56 rue Leblanc, 75015 Paris, France

²Institut Curie, CNRS UMR144, Université Paris Sciences et
Lettres (PSL),
12 rue Lhomond, 75005 Paris, France

³Institut Curie, Inserm U932, Université Paris Sciences et
Lettres (PSL),
26 rue d'Ulm, 75005 Paris, France

chantal.boulanger@inserm.fr

graca.raposo@curie.fr

clotilde.thery@curie.fr

TIRÉS À PART

C. Théry