

à une infection par des virus comme celui de l'hépatite C [8] ou le chikungunya [9], n'est observée que chez les patients précédemment infectés par le HCMV, ce qui suggère que les cellules NK NKG2C<sup>+</sup> sont bien spécifiques du HCMV et pourraient proliférer par réaction hétérologue ou suite à une réactivation infra-clinique du HCMV lors des co-infections. De nombreuses questions demeurent cependant concernant ces cellules NKG2C<sup>+</sup>.

**1.** Sont-elles vraiment efficaces dans la réponse antivirale ? Certaines données suggèrent notamment qu'elles pourraient avoir une fonction diminuée [10], à la manière des lymphocytes T victimes d'« épuisement » lors des infections chroniques.

**2.** Quelle est la base de leur spécificité ? Un article récent a montré qu'une population de cellules négatives pour FcεR1γ (*Fc receptor, IgE, high affinity I, gamma polypeptide*), et présentant des similarités avec les cellules NK NKG2C<sup>+</sup>, montrait des capacités de cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) très augmentées vis-à-vis de cellules cibles infectées par des virus et recouvertes d'anticorps [11]. Ces données suggèrent que la spécificité des cellules NK mémoire pourrait être conférée par les anticorps qu'elles reconnaissent via leur récepteur des immunoglobulines, FCγRIIIA (*Fc gamma receptor IIIA* ou CD16). Une autre possibilité

serait que des combinaisons particulières de récepteurs activateurs et inhibiteurs soient à la base de la spécificité NK. De nouveaux outils comme la cytométrie de masse, qui permettent de mesurer simultanément l'expression de plusieurs dizaines de récepteurs, ont récemment permis de montrer l'évolution du répertoire des populations NK, lors des infections ou avec l'âge, et de mieux estimer sa complexité [12]. Ces nouvelles techniques apporteront peut-être des explications quant aux bases de la spécificité NK.

**3.** Sont-elles issues d'une sous-population particulière ? La localisation strictement hépatique des cellules NK mémoire chez la souris, liée à l'expression de CXCR6 (*chemokine [C-X-C motif] receptor 6*), et la localisation strictement hépatosplénique chez le singe [3], suggèrent que les cellules NK mémoire pourraient constituer un lignage de cellules lymphoïdes innées (ILC) à part, peuplant majoritairement le foie. Dans cette hypothèse, il reste à déterminer si ces ILC adaptatives seraient liées aux cellules NKG2C<sup>+</sup> circulant chez l'homme. Ces dernières n'ont pas encore été étudiées ailleurs que dans le sang. ♦

### Memory NK cells discovered in non-human primates

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

- O'Leary JG, Goodarzi M, Drayton DL, et al. T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *Nat Immunol* 2006 ; 7 : 16.
- Rouzaire P, Luci C, Blasco E, et al. Natural killer cells and T cells induce different types of skin reactions during recall responses to haptens. *Eur J Immunol* 2012 ; 42 : 80-8.
- O'Sullivan TE, Sun JC, Lanier LL. Natural killer cell memory. *Immunity* 2015 ; 43 : 634-45.
- Reeves RK, Li H, Jost S, et al. Antigen-specific NK cell memory in rhesus macaques. *Nat Immunol* 2015 ; 16 : 927-32.
- Gumá M, Angulo A, Vilches C, et al. Imprint of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire. *Blood* 2004 ; 104 : 3664-71.
- Lopez-Vergés S, Milush JM, Schwartz BS, et al. Expansion of a unique CD57+NKG2Chi natural killer cell subset during acute human cytomegalovirus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 14725-32.
- Rölle A, Pollmann J, Ewen EM, et al. IL-12-producing monocytes and HLA-E control HCMV-driven NKG2C+ NK cell expansion. *J Clin Invest* 2014 ; 124 : 5305-16.
- Béziat V, Dalgard O, Asselah T, et al. CMV drives clonal expansion of NKG2C+ NK cells expressing self-specific KIRs in chronic hepatitis patients. *Eur J Immunol* 2012 ; 42 : 447-57.
- Petitdémange C, Becquart P, Wauquier N, et al. Unconventional repertoire profile is imprinted during acute chikungunya infection for natural killer cells polarization toward cytotoxicity. *PLoS Pathog* 2011 ; 7 : e1002268.
- Schlums H, Cichocki F, Tesi B, et al. Cytomegalovirus infection drives adaptive epigenetic diversification of NK cells with altered signaling and effector function. *Immunity* 2015 ; 42 : 443-56.
- Zhang T, Scott JM, Hwang I, et al. Cutting edge: antibody-dependent memory-like NK cells distinguished by FCγR deficiency. *J Immunol* 1950 2013 ; 190 : 1402-6.
- Strauss-Albee DM, Fukuyama J, Liang EC, et al. Human NK cell repertoire diversity reflects immune experience and correlates with viral susceptibility. *Sci Transl Med* 2015 ; 7 : 297ra115.
- Narni-Mancinelli E, Ugolini S, Vivier E. Les cellules natural killer. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 389-95.
- Cherrier M. Les cellules lymphoïdes innées. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 280-8.

## NOUVELLE

### Valeur diagnostique des petits ARN dérivés des ARNY (ou RNY) dans les cardiopathies coronariennes

Zoheir Hizir, Michele Trabucchi\*, Emanuela Repetto\*

Inserm U1065, université de Nice Sophia Antipolis, centre méditerranéen de médecine moléculaire (C3M), team 10 Control of Gene Expression, 151, route de Saint-Antoine-de-Ginestière, F-06204 Nice, France.

\* Ces auteurs ont contribué également

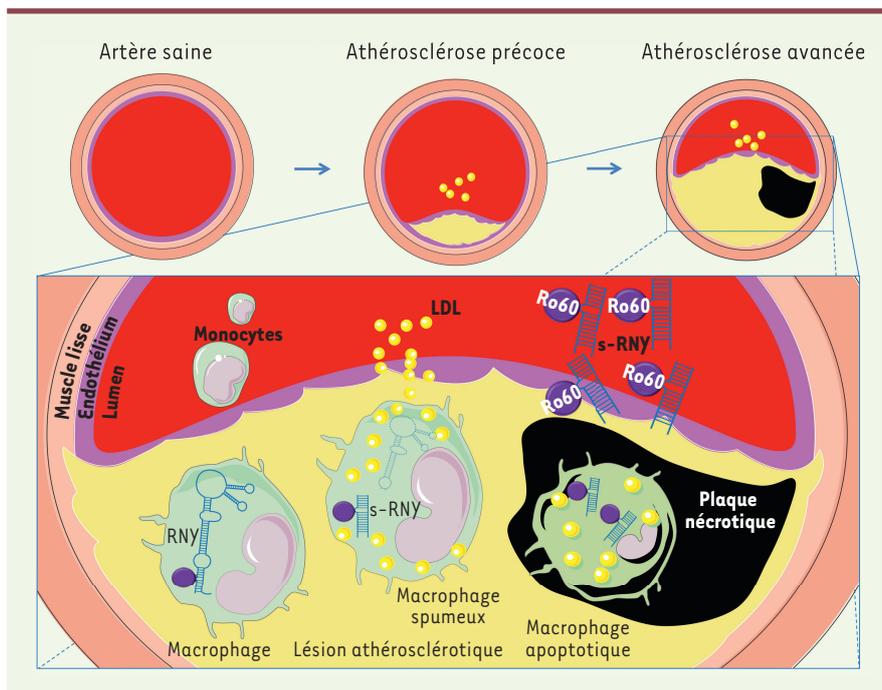
[mtrabucchi@unice.fr](mailto:mtrabucchi@unice.fr)  
[erepetto@unice.fr](mailto:erepetto@unice.fr)

➤ L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique causée par un épaississement des parois artérielles, appelé lésion athérosclérotique, résultant d'une

accumulation de lipides, de cellules et de matrice extracellulaire dans la zone située entre l'endothélium et les cellules musculaires lisses sous-jacentes [1]. Ce

processus ne mène pas à des symptômes majeurs tant que le lumen<sup>1</sup> artériel est

<sup>1</sup> La lumière du vaisseau.



**Figure 1. Régulation de l'expression de petits ARN dérivés des RNY dans les lésions athérosclérotiques.** Les LDL de la circulation sanguine s'accumulent dans la paroi artérielle, déclenchant une réponse inflammatoire qui active le recrutement des monocytes/macrophages sanguins. Dans les phases précoces de la formation de la lésion, les macrophages phagocytent les LDL puis entrent en apoptose, diminuant ainsi l'inflammation. Cependant, dans les lésions avancées, l'apoptose macrophagique est dramatiquement augmentée, surpassant l'élimination efferocytaire et promouvant l'établissement de la plaque nécrotique. L'augmentation de l'apoptose macrophagique est directement corrélée avec l'augmentation du clivage des RNY qui donne lieu à la formation des s-RNY. Ces s-RNY sont détectés dans le sang et peuvent être utilisés en tant que

biomarqueurs des phases avancées d'athérosclérose et de l'apoptose macrophagique chez les patients CAD. LDL : lipoprotéines de basse densité ; Ro60 : protéine Ro60.

préservé. Ces lésions peuvent cependant se rompre et provoquer une thrombose occlusive de la lumière entraînant un événement clinique tel un infarctus du myocarde, une angine instable<sup>2</sup>, ou un accident vasculaire cérébral [2].

### L'athérosclérose, un enjeu de santé publique

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 30 % des décès survenus en 2008 à l'échelle mondiale étaient attribués à des maladies cardiovasculaires ; il est prédit que celles-ci deviennent la plus grande cause de mort mono-pathologique d'ici 2030 [3]. En France, selon l'Institut de veille sanitaire (InVS), environ 200 000 personnes développent une cardiopathie coronarienne (CAD) chaque année. Un quart d'entre elles souffrira d'une crise cardiaque et 17 % décéderont, indiquant un besoin de stratification des patients selon leurs niveaux de risque. L'évaluation des marqueurs ou des facteurs de risque cardio-

vasculaire classiques – pression sanguine élevée, diabète, tabagisme, taux élevé de LDL (lipoprotéines de basse densité) – a un rôle central dans la prévention des maladies ainsi que dans le choix thérapeutique. Cependant, un besoin de nouveaux biomarqueurs diagnostiques pour l'athérosclérose se fait sentir puisque, même en réduisant les facteurs de risque, on ne peut pleinement prévenir les événements coronariens [4]. De nouveaux indicateurs de stratification des risques sont également nécessaires afin de privilégier l'accès aux thérapies actuelles pour les patients qui pourraient en bénéficier le plus, c'est-à-dire ceux présentant le plus grand risque d'événement clinique. Cela permettrait également de réduire les effets secondaires, et les coûts superflus, pour des patients à faible risque, pour lesquels la balance bénéfice-risque de ces thérapies est moins favorable [5].

### Mécanisme cellulaire de la pathogenèse de l'athérosclérose

L'étape initiatrice majeure de l'athérosclérose est l'accumulation subendothéliale des lipoprotéines (LP) conte-

nant de l'apolipoprotéine B (ApoB), c'est-à-dire majoritairement les LDL [4]. Cette accumulation déclenche une réponse inflammatoire de faible ampleur qui conduit à l'activation des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses, et au recrutement de macrophages qui jouent un rôle important dans la pathogenèse athérosclérotique [1]. Dans les phases précoces de l'athérosclérose, les macrophages endocytent les LDL devenant ainsi des macrophages chargés en lipides (ou cellules spumeuses) qui sécrètent des cytokines inflammatoires et entrent en apoptose. L'élimination rapide des cellules spumeuses apoptotiques par efferocytose<sup>3</sup> provoque une diminution de la réponse inflammatoire et retarde la progression de l'athérosclérose [6]. Cependant, dans les lésions athérosclérotiques avancées, l'apoptose macrophagique n'est pas correctement couplée à une élimination efferocytaire. Ceci conduit

<sup>2</sup> L'angine de poitrine, ou angor, instable provoque des douleurs thoraciques inattendues survenant au repos.

<sup>3</sup> Processus par lequel des cellules mourantes ou mortes sont éliminées par phagocytose.

à l'augmentation de l'inflammation et à la formation d'une plaque nécrotique, responsable de l'événement clinique [1]. L'étude des molécules spécifiques, produites et libérées dans la circulation sanguine par divers types cellulaires qui sont impliqués dans la pathogenèse athérosclérotique, peut conduire à la découverte de nouveaux biomarqueurs qui pourraient être associés au risque d'accident cardiovasculaire ou à l'avancement de la maladie.

### Contribution du profil de petits ARN au diagnostic des maladies dérivées de l'athérosclérose

Une quantité significative de microARN a récemment été découverte dans les fluides corporels extracellulaires comme le sang, l'urine, la salive ou le sperme [7]. Ces microARN peuvent être détectés de manière très sensible et spécifique. Ils possèdent une stabilité très élevée et sont très abondants dans le sérum [8]. À partir d'un unique échantillon, il est également possible de détecter de multiples petits ARN, ce qui permet de déterminer des signatures spécifiques. Toutes ces propriétés ont amené à proposer certains microARN circulants dans le sang comme biomarqueurs pour de nombreuses pathologies humaines, y compris pour des maladies cardiovasculaires [8-10] (→).

Plusieurs microARN, montrant une concentration significativement élevée dans le plasma sanguin de patients présentant une cardiopathie coronarienne (CAD), ont pour origine divers types cellulaires incluant les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales, les cardiomyocytes, et les cellules immunitaires (comme les macrophages). Ils peuvent être utilisés en tant que biomarqueurs pour différents statuts relatifs à des désordres cardiovasculaires. Cependant, malgré les nombreuses avancées dans la recherche de

biomarqueurs, aucun d'entre eux n'a été associé avec la progression de la plaque nécrotique. Cette progression est majoritairement déterminée par les macrophages apoptotiques et est directement reliée à la progression et la propagation de la maladie [6].

Notre équipe a donc cherché à déterminer si un stimulus apoptotique pouvait réguler l'expression de nouveaux petits ARN dans les macrophages. Plus précisément, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle de petits ARN spécifiques, dont l'expression est augmentée dans les macrophages soumis à un stimulus apoptotique, pourraient être utilisés en tant que biomarqueurs de la progression de la plaque nécrotique dans un contexte de CAD.

En utilisant une approche de séquençage à haut débit, nous avons démontré que des ARN non-codants d'environ 110 nucléotides (nt) qui sont associés à la protéine Ro<sup>4</sup>, les RNY, sont clivés en de plus petits fragments de 24-34 nt dans les macrophages soumis à des traitements pro-apoptotiques ou pro-athérogènes [11]. Les RNY, aussi appelés ARNY, sont une ancienne classe de transcrits produits par de l'ARN polymérase III, dont la fonction n'est pas encore définie. Quatre gènes *RNY* sont présents dans le génome humain (*RNY1*, 3, 4 et 5) et deux chez la souris (*RNY1* et 3). Nous avons détecté six petits ARN dérivés des RNY (nommés s-RNY) qui sont exprimés dans les macrophages apoptotiques humains et quatre chez la souris. L'expression de ces s-RNY est significativement augmentée dans deux modèles murins d'athérosclérose (les souris *ApoE*<sup>-/-</sup> et *Ldlr*<sup>-/-</sup>)<sup>5</sup> ainsi que dans le sérum de patients présentant une cardiopathie coronarienne (CAD) ( $p < 0,001$ ).

Nous avons ensuite étudié l'hypothèse selon laquelle les s-RNY pourraient être

de nouveaux biomarqueurs pour les CAD en mesurant le taux d'un s-RNY particulier, le s-RNY1-5p, dans le plasma sanguin de 263 patients CAD et de 514 contrôles sains d'âges correspondants. Les patients ont été divisés en trois groupes : ceux recevant un traitement par statines<sup>6</sup>, ceux recevant un traitement par fibrates<sup>7</sup>, et ceux ne recevant pas de traitement. Les traitements par les statines ou par les fibrates sont largement utilisés pour diminuer le taux de cholestérol dans le sang. L'analyse biostatistique des résultats a révélé une association positive entre les niveaux de s-RNY1-5p, de hs-CRP (protéine C-réactive de haute sensibilité) et d'ApoB. Hs-CRP est un marqueur de l'inflammation et un taux élevé de cette molécule est relié à un risque accru de maladie cardiaque. Cependant, aucune interaction statistique n'a été trouvée entre l'un de ces deux marqueurs et s-RNY1-5p, en rapport avec la CAD. Les niveaux de s-RNY1-5p se sont aussi montrés indépendants des thérapies par les statines ou par les fibrates. Enfin, nous avons évalué l'association entre s-RNY1-5p et les CAD en utilisant une analyse statistique par courbe ROC<sup>8</sup>. Cette analyse nous a permis de comparer le pouvoir diagnostique des niveaux sériques de s-RNY1-5p et celui des facteurs de risques cardiovasculaires classiques, incluant hypertension, dyslipidémie, diabète, tabagisme, tour de taille, index bras-cheville<sup>9</sup>, taux d'apolipoprotéine A-I, et taux d'hs-CRP. Les résultats de cette analyse indiquent que les s-RNY peuvent être utilisés comme biomarqueurs diagnostiques

<sup>6</sup> Les statines inhibent la HMG-CoA réductase, ce qui entraîne une diminution du LDL cholestérol.

<sup>7</sup> Les fibrates abaissent la concentration plasmatique des triglycérides et de VLDL.

<sup>8</sup> L'analyse ROC (receiver operating characteristic) est une analyse statistique rendant compte de la sensibilité et de la spécificité, ici d'un biomarqueur, et permettant la détermination de ses performances diagnostiques.

<sup>9</sup> Index de pression systolique : cet index est apprécié par le rapport de la pression artérielle systolique mesurée à la cheville sur la pression artérielle systolique mesurée classiquement au bras.

<sup>4</sup> La protéine Ro60 est une protéine de liaison à l'ARN, connue pour se lier aux RNY et à leurs dérivés, et impliquée dans plusieurs syndromes auto-immuns.

<sup>5</sup> *ApoE*<sup>-/-</sup> qui n'expriment pas l'Apolipoprotéine E et *Ldlr*<sup>-/-</sup> dépourvues du récepteur des LDL.



pour les CAD afin de mieux évaluer les risques cardiovasculaires, une fois combinés avec d'autres marqueurs pour aboutir à une analyse diagnostique par une approche multimarqueur [11].

En conclusion, nos données indiquent que les petits ARN dérivés des RNY peuvent être utilisés en tant que nouveaux biomarqueurs indépendants. Ces petits ARN sont liés à l'apoptose macrophagique dans les lésions et sont appropriés pour l'évaluation du risque de CAD. Dans l'optique d'une stratégie thérapeutique future, il serait possible d'envisager leur rôle potentiel dans l'atténuation de l'apoptose macrophagique dans les lésions athérosclérotiques avancées. ♦

### Diagnostic value of YRNA-derived small RNAs for coronary artery disease

#### REMERCIEMENTS

Ce projet est financé par le gouvernement par la Fondation pour la Recherche Médicale (FRM #DEQ20140329551).

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

- Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat Rev Immunol* 2013 ; 13 : 709-21.
- Virmani R, Burke AP, Kolodgie FD, Farb A. Pathology of the thin-cap fibroatheroma: a type of vulnerable plaque. *J Interv Cardiol* 2003 ; 16 : 267-72.
- Halim SA, Newby LK. Prognostic biomarkers in individuals with prevalent coronary heart disease. *Dis Markers* 2009 ; 26 : 265-71.
- Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet* 2010 ; 376 : 1670-81.
- Lloyd-Jones DM. Cardiovascular risk prediction: basic concepts, current status, and future directions. *Circulation* 2010 ; 121 : 1768-77.
- Seimon T, Tabas I. Mechanisms and consequences of macrophage apoptosis in atherosclerosis. *J Lipid Res* 2009 ; 50 (suppl) : S382-7.
- Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res* 2011 ; 39 : 7223-33.
- Engelhardt S. Small RNA biomarkers come of age. *J Am Coll Cardiol* 2012 ; 60 : 300-3.
- Baulande S, Criqui A, Duthieu M. Les microARN circulants, une nouvelle classe de biomarqueurs pour la médecine. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 289-96.
- Pinet F, Bauters C. Potentiel des ARN non codants comme biomarqueurs dans l'insuffisance cardiaque. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 770-6.
- Repetto E, Lichtenstein L, Hizir Z, et al. RNY-derived small RNAs as a signature of coronary artery disease. *BMC Med* 2015 ; 13 : 259.

**B**ertrand Jordan a participé à l'extraordinaire aventure de la biologie moléculaire, encore balbutiante dans les années 1960, mais qui a complètement révolutionné les sciences du vivant au cours des décennies suivantes.

L'ADN, quasiment inaccessible au début de cette période, intervient maintenant dans d'innombrables recherches, de l'écologie à l'anthropologie, sans oublier bien sûr la médecine dont il fait désormais partie intégrante. Nous pouvons aujourd'hui lire intégralement

l'ADN d'une personne en quelques heures, et en tirer de précieuses informations pour la prévention et le traitement de nombreuses maladies – et nous n'en sommes qu'au début de cette nouvelle médecine !

Acteur mais aussi témoin de ces avancées, Bertrand Jordan fait ici un récit très personnel et sans langue de bois de sa vie avec l'ADN. Ce livre ne prétend pas être une histoire complète de la biologie moléculaire, mais il illustre son développement, révélant parfois le « dessous des cartes » grâce aux expériences vécues par son auteur.



ISBN : 978-2-7598-1710-8

110 pages

20 €

**BON DE COMMANDE**

À retourner à EDP Sciences, 109, avenue Aristide Briand, 92541 Montrouge Cedex, France  
Tél. : 01 41 17 74 05 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir

**Au commencement était le Verbe : 20 € + 3 € de port = 23 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de EDP Sciences

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Date d'expiration : | | | | | | | | N° de contrôle au dos de la carte : | | | | | | | | Signature :