

# L'athérosclérose dépend-elle de la réponse immunitaire ?

**RÉSUMÉ :** L'athérosclérose est une pathologie chronique de la paroi artérielle. L'étiologie est complexe, mais il est certain qu'une réaction inflammatoire entretenue par les interactions leucocytes, plaquettes et cellules endothéliales accompagne la maladie tout au long de son évolution et joue un rôle très important.

Pendant les phases les plus critiques, les marqueurs d'inflammation du sang circulant augmentent considérablement. Curieusement, ces vagues d'inflammation surabondante ne sont pas liées à l'apparition de nouvelles cibles antigéniques, mais sont plutôt en relation avec une dérégulation de la réponse immunitaire. Ainsi, le traitement par libération locale d'immunosuppresseurs (sirolimus) via des prothèses endoartérielles (stents actifs) a considérablement amélioré le résultat des procédures de revascularisation. Il reste néanmoins à trouver une solution efficace pour réguler non seulement l'activation démesurée des leucocytes mais aussi celle des plaquettes.

Le défi du futur est donc de cibler les mécanismes de contrôle global de l'interface entre les cellules du sang (leucocytes, plaquettes) et des vaisseaux (endothélium), défailants chez les patients instables.



→ G. FORNASE<sup>1</sup>, S. GRAFF-DUBOIS<sup>1</sup>, A. VARTHAMAN<sup>1</sup>, J. KHALLOU-LASCHET<sup>1</sup>, A.T. GASTON<sup>1</sup>, M. DUSSIOT<sup>1</sup>, M. CLÉMENT<sup>1</sup>, A. NICOLETTI<sup>1</sup>, G. CALIGIURI<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>INSERM U 698, équipe 4, GH Bichat Claude Bernard, PARIS.

<sup>2</sup>Service de Cardiologie, GH Bichat Claude Bernard, PARIS.

L'athérosclérose est un processus inflammatoire chronique de la paroi artérielle (**fig. 1**), initié par l'infiltration de lipoprotéines dans l'espace sous-endothélial et perpétué par l'activation mutuelle des leucocytes, plaquettes et cellules endothéliales [1].

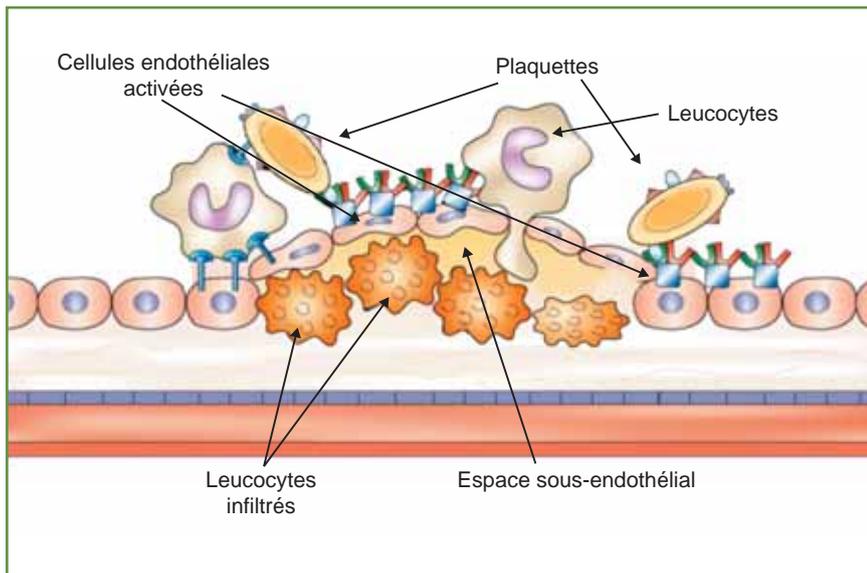
Les manifestations cliniques de l'athérosclérose résultent d'un remodelage pathologique de la paroi qui dérive essentiellement de la fonction, élastique ou de résistance, du segment artériel. Ainsi, les artères de gros calibre ont une propension à la dilatation (formation d'un anévrisme, compression pulsatile des organes voisins) alors que les artères de moyen et petit calibres développent davantage un remodelage restrictif (obstruction au flux sanguin et risque d'ischémie de l'organe en aval). La maladie peut évoluer par poussées, s'accompagnant de symptômes aigus. Ce sont les phases "instables" de la pathologie, caractérisées par l'apparition abrupte et imprévisible des symptômes. L'instabilité clinique est due à la fragilisation de la paroi

artérielle, à la perte de cellules musculaires lisses et à la dégradation de la matrice extracellulaire. Dans le cas d'un anévrisme, la fragilisation des couches les plus externes du vaisseau (média et adventice) peut conduire à la rupture totale de l'artère, alors que dans le cas des artères de moyen et petit calibres, c'est la chape fibreuse qui recouvre le versant luminal des lésions qui est susceptible de rupture.

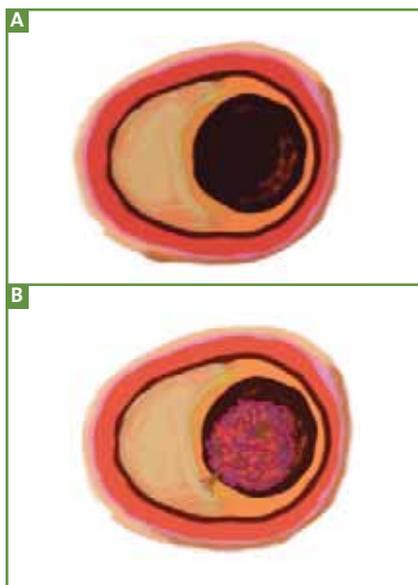
En tout cas, si la rupture n'est pas promptement réparée, il s'ensuit l'apparition de manifestations cliniquement dramatiques comme l'hémorragie massive qui accompagne la rupture d'un anévrisme ou la thrombose luminale obstructive qui engendre un infarctus (**fig. 2**).

**La manifestation d'athérosclérose aiguë la plus étudiée d'un point de vue inflammatoire est la maladie coronaire**

Chez les patients présentant des syndromes coronaires aigus, l'activation



**FIG. 1 :** L'accumulation de produits oxydés des lipoprotéines conduit à l'athérosclérose via une cascade inflammatoire auto-entraînée : activation des cellules endothéliales, adhérence et activation des plaquettes, adhérence, activation et infiltration des leucocytes du sang vers l'espace sous-endothélial. Les cellules participant au processus s'activent mutuellement.



**FIG. 2 : A :** les manifestations "stables" de l'athérosclérose sont expliquées par un remodelage pathologique du vaisseau qui ne s'adapte plus à la croissance des plaques d'athérome. Cependant, un bon équilibre entre perte et rénovation des composants de la paroi artérielle empêche la fragilisation du vaisseau. **B :** l'apparition des symptômes aigus de la maladie est due à la perte de cet équilibre qui aboutit à la rupture des couches artérielles et la survenue d'événements dramatiques tels qu'une occlusion thrombotique de l'artère.

du système thrombose/coagulation s'accompagne pratiquement toujours d'une élévation transitoire et importante de marqueurs de l'inflammation.

Plusieurs marqueurs ont été proposés, notamment la "C-reactive protein" (CRP) [2]. La CRP est produite par les hépatocytes, principalement sous l'action de l'interleukine (IL) 6. Cette dernière est élevée dans le sang des sujets cliniquement instables. Elle peut être sécrétée au site de complication de l'athérosclérose, à la fois par les cellules de la paroi artérielle (cellules endothéliales ou musculaires lisses) et par les cellules inflammatoires infiltrées (monocytes-macrophages et lymphocytes activés).

L'élévation de ces marqueurs non spécifiques de l'inflammation s'accompagne de la présence d'éléments de la réponse immunitaire spécifique. En particulier, les plaques "instables", compliquées par rupture de la chape fibreuse ou hémorragie intra-plaque et thrombose luminale, sont richement

infiltrées de lymphocytes T et macrophages activés.

La colocalisation des monocytes-macrophages et des lymphocytes T infiltrés et activés au sein des plaques compliquées a conduit à l'hypothèse selon laquelle l'élévation des marqueurs non spécifiques de l'inflammation chez les sujets instables est liée à des réponses immunitaires dirigées contre des antigènes spécifiques dans les plaques compliquées. En effet, des lymphocytes spécifiques des LDL oxydées, un antigène particuliè-

## POINTS FORTS

Une réaction inflammatoire accompagne l'athérosclérose tout au long de son évolution.

L'inflammation est particulièrement prononcée pendant les phases les plus critiques de la maladie.

Les stimuli inflammatoires sont communs, mais la réponse immunitaire engendrée est exagérée chez les patients ayant des manifestations aiguës de l'athérosclérose.

L'usage courant de stent recouvert d'un immunosuppresseur (sirolimus) est déjà bénéfique, mais il est dépourvu d'effet propre sur la composante plaquettaire de l'inflammation.

Des molécules capables de contrôler l'activation inappropriée à la fois des leucocytes et des plaquettes pourront considérablement améliorer la prise en charge de l'instabilité de l'athérosclérose dans les années à venir.

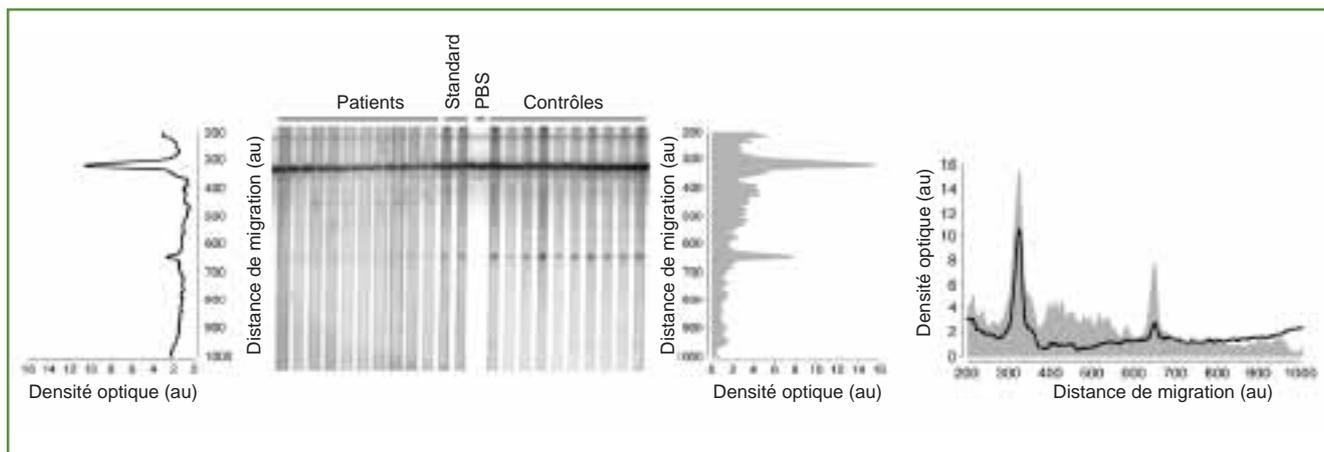


FIG. 3 : Analyse par immuno-empreinte de la réactivité des anticorps circulants envers les protéines des artères saines. Les patients coronariens montrent un profil de réactivité qualitativement similaire à celui des témoins, mais de plus faible affinité [7].

rement abondant dans les plaques d'athérome, ont été isolés dans des plaques humaines ayant donné des manifestations cliniques [3].

Dès lors, un nombre incroyable d'études a porté sur la nature de "l'antigène" responsable de l'instabilité de la maladie coronaire. Les oxLDL étaient en tête de liste, suivis des heat shock proteins et d'agents microbiens. Si bien que pendant presque une décennie, il a été question de traiter les patients avec des macrolides dans le but d'éradiquer les antigènes microbiens comme la *Chlamydia*, identifiés comme la cause de l'instabilité [4].

Cependant, la plupart des antigènes évoqués ont été tous indiqués comme probables candidats pro-athérogènes et cibles d'une réponse immunitaire spécifique, dans l'athérogenèse expérimentale; de plus, de nombreuses études ont montré que la réponse immuno-inflammatoire des patients instables est un phénomène global [5]. Ainsi, chez les patients instables, granulocytes, monocytes, lymphocytes T et B, montrent tous une activation, sans relation stricte avec le site des complications de plaque. En effet, plus qu'un antigène particulier, chez les patients instables il est question d'une réponse

incontrôlée pour des antigènes communs aux patients stables.

Ainsi, les lymphocytes T circulants des patients instables, tout comme ceux des patients stables, présentent une réactivité pour les protéines des plaques et les oxLDL, seulement l'intensité de la réponse est plus forte chez les patients instables [6]. Similairement, les anticorps circulants des patients stables et instables reconnaissent les mêmes autoantigènes dans la paroi vasculaire ou dans des organes non cibles de l'athérosclérose [7].

Curieusement, l'affinité des anticorps dirigés contre les protéines des artères saines était plus forte chez les sujets contrôles que chez les sujets avec maladie coronaire, comme si l'immunité humorale envers les composantes de la paroi artérielle était une marque de protection contre la maladie (fig. 3).

Malgré l'hypothèse initiale autour d'un rôle délétère des anticorps anti-oxLDL chez les sujets présentant des manifestations d'athérosclérose avancée, des études cliniques [8] et expérimentales chez les rongeurs ont montré une action bénéfique nette de ces anticorps. Si bien qu'actuellement plusieurs stratégies d'immunisation

active ou de transfert passif d'anticorps anti-oxLDL sont préconisées pour le traitement et la prévention de la maladie athéroscléreuse [9].

Le mécanisme sous-jacent à l'action athéroprotectrice des anticorps anti-oxLDL dépend probablement de la cible moléculaire de ces anticorps. En effet, comme la CRP, ces anticorps sont pour la plupart dirigés contre la tête polaire de la phosphatidylcholine, la phosphorylcholine [10]. Cette dernière est accessible aux anticorps spécifiques à la surface des bactéries gram positifs comme le pneumocoque, à la surface des lipoprotéines oxydées et à la surface de toutes les cellules en apoptose.

Des anticorps anti-phosphorylcholine "naturels", sélectionnés probablement dans l'évolution sous la pression infectieuse (défense contre le pneumocoque), sont produits en l'absence d'immunisation spécifique par des lymphocytes B particuliers, résidant dans la rate, les lymphocytes B1a [11].

L'action bénéfique des lymphocytes B1a (et des anticorps naturels qu'ils produisent) dans la prévention de l'athérosclérose est soutenue par l'évidence que la splénectomie, chez

l'Homme comme chez la souris, aggrave la maladie. L'action protectrice des anticorps naturels pourrait passer par la formation d'immunocomplexes avec les oxLDL: cela faciliterait leur élimination d'une part, et d'autre part empêcherait leur accumulation dans les macrophages, évitant ainsi l'accumulation de cellules spumeuses au sein des plaques grandissantes.

En revanche, l'action des anticorps anti-phosphorylcholine sur les cellules en apoptose serait délétère dans le sens où leur liaison empêcherait la phagocytose des corps apoptotiques. Cela se traduit par un processus inflammatoire local qui mène à la mort d'un plus grand nombre de cellules. Or de nombreuses cellules (myocarde, cerveau, muscle squelettique) entrent en apoptose au cours de la maladie athéroscléreuse à cause des fréquents épisodes d'ischémie suivie de reperfusion. L'accumulation des fibres myocardiques apoptotiques non phagocytées (à cause des anticorps anti-phosphorylcholine qui les recouvrent) pourrait induire des infarctus plus larges avec une évolution accélérée vers l'insuffisance cardiaque. C'est probablement la même action délétère qui est menée par la CRP au cours des syndromes coronaires aigus.

La phagocytose des corps apoptotiques, ainsi que des dépôts lipidiques, est aussi une fonction importante au sein de la paroi artérielle sujette à l'athérogenèse. Les cellules phagocytaires professionnelles sont les polymorphonucléées (surtout les neutrophiles) et les monocytes-macrophages. L'action des polymorphonucléées est difficile à évaluer dans les tissus, à cause de leur très courte demi-vie, une fois extravasées et activées. En revanche, le rôle des macrophages dans l'évolution de l'athérosclérose est incontesté. Selon leur phénotype, ces cellules peuvent faire complètement basculer le processus,

de l'inflammation à la réparation et vice-versa. En effet, il a été clairement montré que des vagues de rupture-thrombose alternent avec des phases de réparation cicatricielle de plaques au cours de la maladie, sans donner de manifestations cliniques [12]. Cela dépend sans doute du phénotype acquis par les macrophages infiltrés dans les plaques en évolution: le phénotype inflammatoire conduit à la mort cellulaire et la dégradation de la matrice extracellulaire (rupture) alors que le phénotype réparateur orchestre la synthèse de la matrice extracellulaire et la prolifération des cellules de la paroi artérielle. Qu'est-ce qui détermine le phénotype des macrophages dans les sites d'inflammation chronique comme les plaques d'athérome?

Des travaux récents indiquent que le phénotype réparateur des macrophages est induit par l'IL-4. Au sein des plaques émergentes, cette cytokine peut être produite par les cellules de l'immunité innée, comme les neutrophiles. Au fil du temps, le phénotype réparateur des macrophages doit être maintenu par un apport continu d'IL-4. Ainsi, dans les phases avancées de la maladie, comme dans d'autres processus inflammatoires chroniques, le maintien des macrophages réparateurs est assuré par la présence de lymphocytes T auxiliaires de type Th2, qui produisent l'IL-4 [13].

Or, dans le sang circulant, tout comme dans les plaques coupables des patients instables (infarctus du myocarde, angor instable), le type de lymphocytes auxiliaires prédominant est le Th1 [14]. Contrairement aux lymphocytes Th2, les lymphocytes Th1 ne produisent pas d'IL-4 mais de l'IFN $\gamma$  qui, lui, induit le phénotype pro-inflammatoire des macrophages. Cela pourrait expliquer l'apparition des symptômes chez ces patients: la dernière vague de rupture thrombotique ne peut pas être marginée à cause du

manque de macrophages réparateurs. La voie Th1 ou Th2 des lymphocytes infiltrés dans les plaques serait alors déterminante pour le devenir "stable" ou "instable" de la pathologie.

### **L'activation globale du système immunitaire chez les patients "instables" serait due à un défaut de régulation de la réponse lymphocytaire**

Un autre paradigme a récemment émergé: l'activation globale du système immunitaire chez les patients "instables" serait due à un défaut de régulation de la réponse lymphocytaire. En effet, toute réponse immunitaire doit être régulée afin de ne pas se pérenniser aux dépens du tissu impliqué. L'immunorégulation s'opère à travers des cellules spécialisées (lymphocytes régulateurs) et des molécules de surface (récepteurs inhibiteurs) ou sécrétées (cytokines anti-inflammatoires). Le groupe de A. Tedgui et Z. Mallat a été parmi les premiers à évoquer cette hypothèse [15].

En effet, leurs travaux chez la souris ont mis en évidence le rôle majeur des cytokines régulatrices IL-10 et TGF $\beta$  produites en partie par des lymphocytes régulateurs CD4 CD25 FoxP3+ dans la prévention de la maladie expérimentale. Des observations chez l'Homme ont confirmé cette théorie. Ces lymphocytes sont produits physiologiquement dans le thymus, mais ils peuvent aussi se différencier à partir de précurseurs dans les organes immunitaires périphériques. En effet, des travaux issus de la recherche fondamentale ont suggéré que les lymphocytes T stimulés en périphérie peuvent devenir soit des lymphocytes auxiliaires (Th1-IFN $\gamma$ +, Th2-IL-4+, et les plus récents Th17 qui produisent l'IL-17) ou des lymphocytes régulateurs (CD4 CD25 FoxP3+). Bien qu'il soit difficile de distinguer les lymphocytes régulateurs CD4 CD25

FoxP3<sup>+</sup> issus du thymus de ceux produits en périphérie, il a été avancé qu'un marqueur de cellules fraîchement sorties du thymus pourrait être le CD31. Dans ce cas, le défaut de fonction de ces lymphocytes chez les patients avec maladies auto-immunitaires pourrait être expliqué par leur origine périphérique ou par leur longue durée de vie, deux conditions associées à l'absence de CD31 [16].

Le CD31 est une molécule qui nous a beaucoup intéressés ces dernières années : à l'exception des érythrocytes, elle est exprimée constitutivement et exclusivement par toutes les cellules de l'interface sang-vaisseaux (plaquettes, globules blancs et cellules endothéliales). Sa fonction a initialement, et à tort, été vue comme pro-inflammatoire, favorisant l'adhérence et l'extravasation de leucocytes. Bien au contraire, il s'agit d'un récepteur inhibiteur qui, par le biais d'une interaction homophile, est capable d'impairer des signaux inhibiteurs bilatéraux aux cellules qui le possèdent au moment de leur interaction [17]. Ainsi, la présence du CD31 garantit que l'interaction accidentelle entre leucocytes, plaquettes et endothélium ne produit pas d'activation inappropriée de ces cellules dans la circulation. Or une portion variable de lymphocytes T circulants perd le CD31 à la surface. Ces lymphocytes montrent une agressivité renforcée vis-à-vis des cellules de la paroi artérielle et leur nombre est augmenté chez les sujets qui développent des complications de l'athérosclérose [18].

Au vu de toutes ces avancées dans le domaine de la réponse immunitaire dans l'athérosclérose, plusieurs stratégies d'immuno-intervention thérapeutique sont envisagées. D'ores et déjà, l'utilisation de plus en plus

répandue des stents relarguant le sirolimus et apparentés indique que les molécules immunorégulatrices ont leur place dans le traitement et la prévention des manifestations cliniques de l'athérosclérose.

Par ailleurs, des nombreux travaux montrent que l'effet protecteur des statines va au-delà de l'effet anti-hypercholestérolémique et passe par une action anti-inflammatoire propre à la molécule. Cependant, l'utilisation d'antiagrégants plaquettaires ou d'anticoagulants est impérative chez les patients traités par stents coâtés au sirolimus et dérivés. Dans cette perspective, des molécules capables d'engager l'inhibition par le CD31 pourraient être envisagées parce que leur action couvrirait la régulation des réponses immunitaires mais s'étendrait aussi aux plaquettes.

### Bibliographie

1. HANSSON GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*, 2005; 352: 1685-95.
2. MASERI A. C-reactive protein in cardiovascular risk prediction. Zooming in and zooming out. *Ital Heart J*, 2001; 2: 155-6.
3. STEMME S, FABER B, HOLM J *et al*. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad SCI USA*, 1995; 92: 3893-7.
4. SHAFRAN SD, CONLEY JM. Does Chlamydia pneumoniae cause coronary atherosclerosis and should we all take macrolides? *Can J Cardiol*, 1997; 13: 1017-9.
5. BUFFON A, BIASUCCI LM, LIUZZO G *et al*. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med*, 2002; 347: 5-12.
6. CALIGIURI G, PAULSSON G, NICOLETTI A *et al*. Evidence for antigen-driven T-cell response in unstable angina. *Circulation*, 2000; 102: 1114-9.
7. CALIGIURI G, STAHL D, KAVERI S *et al*. Autoreactive antibody repertoire is perturbed in atherosclerotic patients. *Lab Invest*, 2003; 83: 939-47.
8. SU J, GEORGIADES A, WU R *et al*. Antibodies of IgM subclass to phosphorylcholine and

oxidized LDL are protective factors for atherosclerosis in patients with hypertension. *Atherosclerosis*, 2006; 188: 160-6.

9. SHAH PK, CHYU KY, FREDRIKSON GN, *et al*. Immunomodulation of atherosclerosis with a vaccine. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2005; 2: 639-46.
10. CHANG MK, BINDER CJ, TORZEWSKI M *et al*. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids. *Proc Natl Acad SCI USA*, 2002; 99: 13043-8.
11. BINDER CJ, SILVERMAN GJ. Natural antibodies and the autoimmunity of atherosclerosis. *Springer Semin Immunopathol*, 2005; 26: 385-404.
12. BURKE AP, KOLODIE FD, FARB A *et al*. Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation*, 2001; 103: 934-40.
13. LOKE P, NAIR MG, PARKINSON J *et al*. IL-4 dependent alternatively-activated macrophages have a distinctive in vivo gene expression phenotype. *BMC Immunology*, 2002; 3: 7.
14. ADLER A, LEVY Y, ROTH A *et al*. Functional T-lymphocyte dichotomy in the peripheral blood of patients with unstable angina. *Int J Cardiovasc Intervent*, 2005; 7: 146-51.
15. MALLAT Z, TEDGUI A. Immunomodulation to combat atherosclerosis: the potential role of immune regulatory cells. *Expert Opin Biol Ther*, 2004; 4: 1387-93.
16. HAAS J, FRITZSCHING B, TRUBSWETTER P *et al*. Prevalence of newly generated naive regulatory T cells (Treg) is critical for Treg suppressive function and determines Treg dysfunction in multiple sclerosis. *J Immunol*, 2007; 179: 1322-30.
17. BROWN S, HEINISCH I, ROSS E *et al*. Apoptosis disables CD31-mediated cell detachment from phagocytes promoting binding and engulfment. *Nature*, 2002; 418: 200-3.
18. CALIGIURI G, ROSSIGNOL P, JULIA P *et al*. Reduced immunoregulatory CD31<sup>+</sup> T cells in patients with atherosclerotic abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler, Thromb Vasc Biol*, 2006; 26: 618-23.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflit d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.