

008 NF- κ B and the nuclear kinase MSK1 in a murine model of asthma

L. Reber, F. Daubeuf, N. Frossard

EA 3771 « *Inflammation and environment in asthma* », Faculty of Pharmacy, University Louis Pasteur-Strasbourg, BP60024, 67401 Illkirch cedex, France.

nelly.frossard@pharma.u-strasbg.fr

We previously reported that NF- κ B activation is essential for the overexpression of the major mast cell growth factor SCF in inflammation (Da Silva et coll., *Faseb J* 2003). We show here the activation of the nuclear kinase MSK1 as the key step of NF- κ B activation, and the consequences in a murine asthma model.

NF- κ B p65 was phosphorylated at Ser276 upon IL-1 β treatment as shown by Western blotting. Chromatin immunoprecipitation experiment showed binding of NF- κ B, of MSK1 and of CBP to the SCF gene κ B intronic enhancer. Further on, IL-1 β upregulated SCF expression and this was abolished by S276C p65 mutation, MSK1 kinase-dead mutation, anti-MSK1 siRNA transfection, or by pharmacological inhibition by the H89 kinase inhibitor compound, indicating a role for MSK1 mediated S276 p65 phosphorylation in SCF expression.

Additionally, we evaluated the effect of this kinase inhibitor, compound H89 (10 mg/kg), as compared to solvent in a murine asthma model created by sensitization and challenge of mice with ovalbumin + Al(OH)₃. The eosinophilic infiltrate and the associated remodelling of the airways including mucus secretion were inhibited by 80% and 60%, respectively.

In conclusion, we therefore propose MSK1 as an interesting therapeutic target to combat mast cell-associated inflammation in particular in asthma.

009 Rôle du système tachykinergique dans la synthèse des cystéinyl-leucotriènes suite à l'activation du Fc epsilon RI : implications thérapeutiques

S. Favret, L. Castellanos, K. Maghni

Centre de recherche de l'hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

sandra.favret@umontreal.ca

Nous avons récemment montré que l'activation du récepteur de haute affinité des IgE, le FcepsilonRI, chez le basophile provoque la libération de la substance P (SP) qui active de manière autocrine son propre récepteur, le neurokinine-1 récepteur (NK-1R). De plus, l'activation du système tachykinergique SP/NK-1^R agit en retour comme une boucle d'amplification de la dégranulation des basophiles induite par l'agrégation du FcepsilonRI. Les basophiles sont une source principale du cystéinyl-leucotriène C4 (LTC₄), un médiateur inflammatoire important dans la physiopathologie de l'asthme, qui est synthétisé lors de l'activation de la 5-lipoxygénase (5-LO).

Hypothèses : 1) Le système SP/NK-1^R est aussi un élément régulateur de la synthèse du LTC₄ lors de l'agrégation du FcepsilonRI, et 2) l'action combinée des glucocorticoïdes et du blocage du système SP/NK-1^R provoque la répression de la synthèse du LTC₄.

Méthodes : Les cellules RBL-2H3 ont été sensibilisées avec des IgE de souris anti-DNP-BSA (antigène), et par la suite l'activation autocrine du NK-1^R a été bloquée ou non par un antagoniste spécifique le L-703,606 avant l'agrégation du FcepsilonRI par l'antigène. Dans une autre série d'expériences, les cellules sensibilisées ont été incubées avec un glucocorticoïde pendant 6 heures puis incubées ou non avec le L-703,606 avant la stimulation par l'antigène. La mesure du LTC₄ a été effectuée en utilisant la technologie Luminex. La translocation et le niveau d'activation de la 5-LO ont été analysés par immunobuvardage.

Résultats : L'étude de la cinétique de la production du LTC₄ suite à l'agrégation du FcepsilonRI indique un plateau au bout de 30 minutes, et que la majorité du LTC₄ est secrétée dans le milieu extracellulaire. Le blocage de l'activation autocrine du NK-1^R ou l'action des glucocorticoïdes (dexaméthasone ou fluticasone) provoque une réduction d'environ 50 % de la production de LTC₄. Cependant, la combinaison d'un glucocorticoïde avec le blocage du NK-1^R a induit une inhibition presque totale de la synthèse du LTC₄. Fait intéressant, l'étude de la translocation au noyau de la 5-LO a indiqué que seule la combinaison d'un glucocorticoïde avec le blocage du NK-1^R provoque une inhibition de la translocation de cet enzyme. Fait très intéressant, seul le blocage du NK-1^R a provoqué la phosphorylation du résidu sérine 523 de la 5-LO qui est un mécanisme responsable de l'inhibition de l'activité de la 5-LO.

Conclusions : Le système tachykinergique SP/NK-1^R participe aussi dans la production du LTC₄ lors de l'activation antigénique des basophiles. Les différences dans le mécanisme d'inhibition de la synthèse du LTC₄ entre l'action d'un glucocorticoïde ou le blocage du NK-1^R indiquent que leur combinaison pourrait être une thérapie intéressante pour le traitement des allergies.

Supporté par les Instituts de Recherche en Santé du Canada.