

062 Regulation of MUC5AC expression by arachidonic acid metabolites

I. Garcia-Verdugo, S. Tattermusch, D. Leduc, F. Dif, L. Touqui

Unité de Défense Innée et Inflammation, Unité Inserm U-874, Institut Pasteur, Paris, France.

touqui@pasteur.fr

Background: Cytosolic phospholipase A2 (cPLA₂) is a rate-limiting key enzyme controlling the release of arachidonic acid (AA) from membrane phospholipids. Conversion of AA by cyclooxygenases (COX) and lipoxygenases (LOX) generates prostaglandins and leukotrienes, respectively. These AA metabolites play an important role in the control of inflammation. We have previously observed that cPLA₂ is involved in mucus hyper-secretion and expression of the mucin Muc5ac, in mice deficient in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) (Dif et coll. submitted). Muc5ac is a major mucin present in bronchial secretions of CF patients (Thorax. 2007. 62:153-61)

Aim: Identify the signaling pathways involved in the mucin Muc5ac expression mediated by cPLA₂ in the bronchial epithelial cell line NCI-H292. We also evaluated the effect of an inhibitor of CFTR chloride channel function (Inh172 inhibitor) on Muc5ac expression.

Methods: Production of Muc5ac was measured in cell lysates and supernatants by specific ELISA, after stimulation with PMA or TGF- α . cPLA₂ activity was analyzed in cell lysates, after hydrolysis of phosphatidyl choline labeled with radioactive AA. The role of cPLA₂, COX and LOX in Muc5ac production was examined after treatment with specific inhibitors. Activation of transcription factors was followed using EMSA.

Results: Both PMA- and TGF- α induced Muc5ac expression were mimicked by addition of exogenous AA and inhibited after pre-treatment of the cells with the cPLA₂ inhibitor MAFP. Further, Muc5ac expression was inhibited by a LOX inhibitor (NDGA) but not by COX inhibitors (aspirin, NS398). cPLA₂ induced Muc5ac expression through PPAR- β -dependent process. Indeed, MAFP abrogated PPAR- β activation and PPAR- β agonists induced Muc5ac production. However, NF- κ B inhibition failed to interfere in Muc5ac production. On the other hand, Inh172 inhibitor failed to increase Muc5ac production in stimulated cells.

Conclusion: cPLA₂ plays an important role in the production of Muc5ac mucin. This involves LOX metabolites rather than COX, and a signaling pathway resulting in the activation of the transcription factor PPAR- β . In addition, we showed that induced Muc5ac secretion does not depend on CFTR chloride channel function.

Acknowledgments: Work supported by "Vaincre la Mucoviscidose"

063 Étude des facteurs épithéliaux intervenant dans la régénération et le remodelage de l'épithélium respiratoire humain

J. Roux¹, T. Jolly¹, S. Lingee¹, P. Birembaut^{1,2}, C. Coraux¹

¹ Inserm UMRS 903, IFR53, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France.

² CHU Maison Blanche, Laboratoire Pol Bouin, Reims, France.

jacqueline.roux@etudiant.univ-reims.fr

Introduction : Dans les pathologies comme la mucoviscidose (CF), l'épithélium bronchique est fréquemment lésé et doit régénérer afin de restaurer ses fonctions de défense. Des études précédentes ont montré que la chimiokine IL-8, les deux métalloprotéinases matricielles épithéliales MMP-7 et -9 et leur inhibiteur TIMP-1 étaient exprimés et modulés au cours de la régénération et jouaient un rôle majeur dans la différenciation épithéliale. En outre, il a été démontré que la régénération épithéliale CF, en dehors de toute infection, était retardée, associée à une dérégulation de ces mêmes facteurs et aboutissait à la formation d'un épithélium remodelé. L'épithélium bronchique CF étant caractérisé par de nombreux remodelages (métaplasie malpighienne, hyperplasie des cellules sécrétoires), le but de notre travail est de déterminer l'influence de différents facteurs épithéliaux lors de la régénération dérégulée aboutissant au remodelage épithélial.

Méthodes : La régénération de l'épithélium bronchique humain a été étudiée dans le modèle de culture en interface air-liquide permettant de mimer la cinétique de régénération observé *in vivo*. Le remodelage épithélial peut être obtenu par modification des conditions de culture. Les cultures ont été utilisées aux 1^{er} et 5^e jours de culture (JO et J5), lorsque les premières cellules ciliées apparaissent (PC) et lorsque les cultures sont totalement différenciées (BD) pour une étude en immunohistochimie, RT-PCR et zymographie.

Résultats : Les études immunohistochimiques des marqueurs cytokératines 13 et 18, MUC 5AC, et β -tubuline ont permis de caractériser nos modèles de régénération normale et dérégulée. Nos analyses montrent que l'expression des ARNm codant pour l'IL-8, le TIMP-1, et les MMP-7 et -9, ainsi que l'activité de ces deux dernières sont modulées au cours du remodelage épithélial bronchique, en comparaison des taux d'expression observés au cours de la régénération normale.

Conclusions : Les différences d'expression observées au cours de la régénération normale ou dérégulée de l'épithélium bronchique humain suggèrent l'implication de ces facteurs dans le remodelage épithélial. Il est maintenant important de déterminer leur rôle précis et leur régulation réciproque au cours de la régénération normale et dérégulée CF et non-CF.

Travail soutenu par l'Association Vaincre La Mucoviscidose