

L'athérosclérose : une maladie inflammatoire

H. Ait-Oufella, Z. Mallat, A. Tedgui

PARIS Research Cardiovascular Center (PARCC), Inserm U970
alain.tegui@inserm.fr

Introduction

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des gros vaisseaux. Le processus de formation de la plaque fait intervenir plusieurs acteurs pathogènes de l'inflammation, en particulier les monocytes/macrophages, les lymphocytes T CD4⁺ de type Th1 et potentiellement de type Th2. Récemment nous avons identifié un rôle majeur pour une nouvelle sous-population de lymphocytes T CD4⁺, appelés T régulateurs (Tregs), dans la protection contre le développement de l'athérosclérose. Plusieurs études expérimentales ont montré que l'expansion *in vivo* de ces Tregs était associée à une diminution du développement et/ou de la progression des plaques d'athérosclérose chez la souris, ouvrant le champ vers de nouvelles thérapies immunomodulatrices des maladies cardiovasculaires.

Les maladies cardiovasculaires sont aujourd'hui un véritable problème de santé publique puisqu'elles constituent la première cause de mortalité dans le monde, devant les cancers.

Selon l'OMS, 7,2 millions de décès par an dans le monde sont liés à des cardiopathies ischémiques et 4,6 millions de décès à des accidents vasculaires cérébraux. L'athérosclérose est la principale étiologie des maladies cardiovasculaires. Elle provoque des pathologies chroniques comme l'angor d'effort ou la claudication à la marche et des maladies aiguës plus bruyantes et potentiellement mortelles comme l'infarctus du myocarde.

Les travaux épidémiologiques et anatomopathologiques réalisés chez l'homme ont apporté la preuve que l'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des

artères de gros et moyen calibre [1]. Les modèles expérimentaux, essentiellement murins, ont été complémentaires pour disséquer les mécanismes physiopathologiques qui aboutissent à la formation de la plaque d'athérosclérose. Ainsi, il a été montré que la formation de la plaque d'athérosclérose comporte plusieurs étapes : l'activation de l'endothélium artériel par les LDL oxydées, l'attraction puis la diapédèse des monocytes et des lymphocytes T circulants dans l'intima, la production de cytokines pro- et anti-inflammatoires, la production de protéases matricielles et enfin l'induction d'apoptose des différents types cellulaires aboutissant à la formation d'un noyau lipidique nécrotique.

Activation endothéliale

L'infiltration et la rétention des lipoprotéines de basse densité (LDL) puis leur oxydation dans l'espace sous-endothélial active les cellules endothéliales [2]. Le site privilégié de cette activation correspond aux zones de bifurcation artérielles, là où les forces de cisaillement sont les plus faibles et les flux turbulents les plus importants. Ainsi, les facteurs chimiques et les facteurs physiques agissent de concert pour activer l'endothélium et initier la formation de la plaque.

Les cellules endothéliales, une fois activées, expriment plusieurs types de molécules d'adhérence leucocytaire et de chimiokines qui permettent aux cellules sanguines de rouler puis d'adhérer à la surface vasculaire. P-selectine, VCAM-1 et IL-8 [3, 4] sont les plus importantes à ce stade. Ensuite des chimiokines comme *monocyte chemokine protein* (MCP-1), produites par les cellules endothéliales et les cellules musculaires,

Les lymphocytes T impliqués dans l'athérosclérose de type Th1 produisent l'interféron γ .

stimulent la migration des cellules inflammatoires vers le sous-endothélium. Le rôle de ces protéines a été confirmé par des études dans des modèles animaux d'athérosclérose qui ont montré que leur blocage pharmacologique ou leur délétion génétique induisait une diminution significative des lésions d'athérosclérose [3, 4].

Rôle des monocytes/macrophages

Le rôle fondamental des monocytes/macrophages dans le développement de la plaque d'athérosclérose est évoqué depuis longtemps car les lésions athérosclérotiques sont très riches en macrophages, surtout aux stades précoces (*figure 1a*). Les études animales ont confirmé ce point : les souris déficientes en M-CSF [5], un facteur de croissance indispensable à la prolifération et/ou la maturation des monocytes circulants en macrophages, sont résistantes au développement de l'athérosclérose, malgré des taux de cholestérol circulant très élevés, suggérant le rôle majeur des macrophages dans le développement des lésions. Les macrophages, *via* certains récepteurs « éboueurs » (SR-AI, SR-AII, CD36, etc.), phagocytent des LDL oxydées, des phospholipides, des débris cellulaires et se transforment en cellules spumeuses. Ils entretiennent le processus inflammatoire en produisant des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-12 (qui activent les lymphocytes T CD4⁺ pathogènes) et déstabilisent la plaque en sécrétant, entre autres, des radicaux libres oxygénés et des métalloprotéases matricielles [6].

Ces cellules inflammatoires jouent également un rôle central dans la vulnérabilité des plaques d'athérosclérose. Cette conclusion résulte, entre autres, des travaux anatomopathologiques réalisés par l'équipe de M. Davis et R. Virmani qui ont comparé la composition des plaques coronaires rompues par rapport à celle de plaques stables prélevées *post mortem* chez l'homme. Ils ont montré que les plaques rompues, responsables d'événements ischémiques, sont caractérisées par une infiltration importante de cellules inflammatoires et une diminution

d'éléments stabilisants comme les cellules musculaires lisses et le collagène [7, 8].

Rôle des lymphocytes T

Rôle pathogène des lymphocytes T CD4⁺

Il a fallu attendre plusieurs années pour montrer que les lymphocytes T CD4⁺ ont aussi un rôle pathogène dans l'athérosclérose. Tout d'abord, ils sont présents dans les plaques (*figure 1b*), surtout au stade précoce où ils représentent 10 à 20% de la population cellulaire totale. Ensuite, ils sont activés car ils se trouvent fréquemment associés à l'expression locale du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II. Chez la souris apoE^{-/-}, sensible à l'athérosclérose, la déficience en lymphocytes T et B induite par croisement avec des souris SCID^{-/-}, provoque une diminution de 90% de la taille des lésions au niveau du sinus aortique. De plus, la reconstitution de la population lymphocytaire T par injection intraveineuse de lymphocytes CD4⁺ augmente considérablement la taille des plaques [9].

Les lymphocytes T de type Th1 sont pro-athérogènes

Les lymphocytes T impliqués dans l'athérosclérose sont essentiellement de type Th1, ils produisent de grandes quantités d'interféron gamma (IFN γ) contrairement aux lymphocytes de type Th2 qui libèrent de l'interleukine-4 (IL-4), de l'IL-5, et de l'IL-13. L'IFN γ est retrouvé dans les plaques d'athérosclérose dans les mêmes régions que les cellules T. Le transfert *in vivo* de lymphocytes T CD4⁺ chez la souris apoE/SCID^{-/-} s'accompagne d'une augmentation considérable des taux plasmatique et splénique d'IFN γ [9]. Enfin, le blocage de la signalisation de l'IFN γ dans les lymphocytes T, obtenue par sa délétion [10] (ou la délétion de son récepteur [11]) induit une diminution des plaques d'athérosclérose et un phénotype lésionnel plus stable.

L'IL-18 est également une cytokine pro-athérogène qui stimule la production lymphocytaire d'IFN γ , en synergie avec l'IL-12. L'injection d'IL-18 recombinante chez la souris s'accompagne d'une augmentation de la taille des plaques d'athérosclérose avec une

augmentation de la production systémique d'IFN γ [12]. Nous avons montré que le blocage *in vivo* de l'IL-18, par son inhibiteur physiologique l'IL18BP (*binding protein*), entraîne une diminution de la taille des lésions tout en induisant un phénotype lésionnel stable [13]. Chez l'homme, l'IL-18 est exprimée dans les plaques athéroscléreuses et son taux au sein des lésions vasculaires (évalué en PCR quantitative) est plus important chez les patients symptomatiques (AIT ou AVC) que chez les patients asymptomatiques [14]. Enfin, il a été montré sur une large cohorte de patients que le taux d'IL-18 plasmatique est, chez les coronariens, un facteur pronostique d'événements cardiovasculaires [15].

La voie Th2 est potentiellement pro-athérogène

Les lymphocytes de type Th2, producteurs d'IL-4, ont été d'abord considérés comme protecteurs contre le développement de l'athérosclérose. Cependant, plusieurs travaux récents remettent en cause cette hypothèse. Chez l'animal, lorsque l'on invalide le gène codant pour l'IL-4, on diminue la taille des plaques au niveau du sinus aortique et au niveau de la crosse aortique [16]. De plus, les études épidémiologiques chez l'homme ont montré que le risque cardiovasculaire des patients souffrant d'asthme, une maladie de type Th2, est nettement supérieur à celui des patients non asthmatiques. Il est donc impos-

sible d'affirmer de façon binaire que la voie Th1 serait délétère et la voie Th2 protectrice dans l'athérosclérose.

Un sous-type de lymphocytes T protecteurs contre l'athérosclérose

Dans ce contexte, nous avons émis l'hypothèse que la dysfonction lymphocytaire T est liée à un défaut de régulation par des cellules T régulatrices qui contrôlent la réponse immuno-inflammatoire en amont [17]. Cette théorie est d'autant plus séduisante que la génération et le mode d'action des lymphocytes T régulateurs (Tregs) fait intervenir l'IL-10 [18, 19] et le *transforming growth factor β* (TGF β) [20, 21], 2 cytokines clairement identifiées comme anti-inflammatoires et antiathérogènes. En utilisant plusieurs modèles murins nous avons montré que la déplétion en Tregs s'accompagnait d'une accélération de la maladie athéroscléreuse et que la reconstitution d'un pool physiologique de ces cellules empêchait l'accélération de la maladie (*figure 2*). Enfin, nous avons montré que l'injection de Tregs stabilisait les plaques avec des lésions moins riches en cellules inflammatoires (macrophages) et plus riches en collagène, un composant stabilisant de la plaque [22, 23]. Chez l'homme, il a été récemment montré que les Tregs sont altérés (en nombre et en fonction) chez les patients coronariens instables par rapport aux patients angineux stables [24].

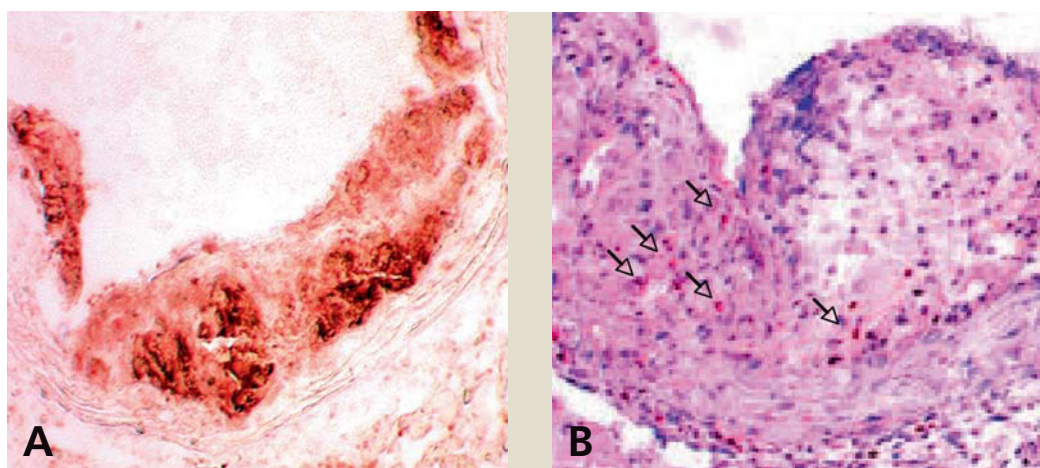


Figure 1. Détection par immuno-histochimie des macrophages en brun (a) et des lymphocytes T en rouge (b) au sein de plaque d'athérosclérose isolées de souris apoE^{-/-} (X10).

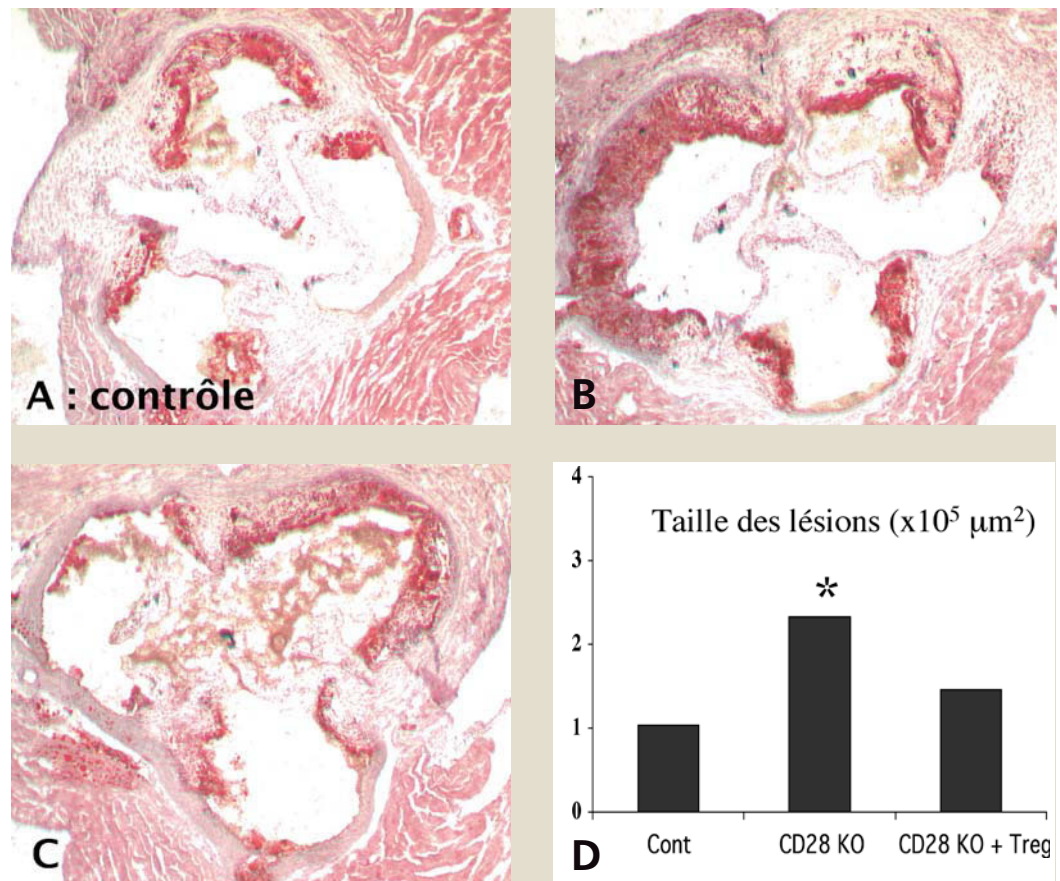


Figure 2. Le transfert de splénocytes déficients en Tregs induit une augmentation des plaques d'athérosclérose au niveau du sinus aortique (B), la reconstitution d'un pool physiologique en Tregs prévient cette augmentation (C). D'après Ait-Oufella. *et al*, Nat Med 2006.

Tregs et perspectives thérapeutiques

L'identification récente de cette population protectrice dans l'athérosclérose a ouvert la voie à différentes approches thérapeutiques dont le but commun est d'expandre *in vivo* les Tregs. Une équipe française a récemment montré dans un travail publié dans le *New England Journal of Medicine* que l'injection d'anticorps anti-CD3, qui induit une augmentation des Tregs, prévenait l'apparition du diabète chez des jeunes adultes prédiabétiques [25]. Cette stratégie immunomodulatrice a été testée dans l'athérosclérose expérimentale et a montré des résultats prometteurs puisque l'injection d'anti-CD3 était également capable de retarder l'apparition des lésions artérielles et de ralentir leur progression. Cet effet macroscopique était bien associé à une augmentation des Tregs dans les ganglions périphériques et la rate [26].

Une autre stratégie consiste à expandre des Tregs spécifiques d'antigènes par la prise répétée à faibles doses de ces mêmes antigènes, en l'absence d'adjuvant afin d'induire une tolérance immunologique. Il a été récemment rapporté que l'administration orale de faibles doses de LDL oxydées inhibait l'initiation et la progression de l'athérosclérose chez la souris tout en augmentant la production de TGFβ (antiathérogène) et la population Treg dans les organes lymphoïdes [27]. Ce travail expérimental laisse entrevoir la possibilité d'une réponse protectrice « intelligente », active en réponse à un antigène donné (les LDL oxydées, le principal antigène impliqué dans la réponse inflammatoire au sein de la plaque) afin de cibler spécifiquement la maladie et diminuer l'immunosuppression systémique. La finalité est d'exploiter les propriétés athéroprotectrices des Tregs de façon ciblée en s'affranchissant

sant d'éventuels effets secondaires. Nous développons actuellement une stratégie d'induction de tolérance plus ciblée en utilisant des fractions peptidiques des LDL oxydées, identifiées comme les parties les plus immunogènes chez les patients coronariens.

Conclusion

L'athérosclérose est une maladie chronique des artères de gros et moyen calibre. Ces dernières années ont vu émerger le rôle fondamental de l'inflammation dans la genèse de la maladie et de ses complications. À côté de l'immunité innée associée aux macrophages, s'est dessiné le rôle complexe de l'immu-

unité adaptative tantôt pathogène pour les lymphocytes T de type Th1 tantôt protecteur pour les lymphocytes T régulateurs.

La dissection des mécanismes physiopathologiques a permis d'ouvrir des pistes thérapeutiques immunomodulatrices nouvelles contre le développement des plaques d'athérosclérose et leur rupture.

Conflit d'intérêt : aucun.

En pratique

Les LDL-oxydées, principal antigène de la plaque, stimulent le rôle protecteur des lymphocytes T régulateurs.

Références

- Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev* 2006;86:515-81.
- Napoli C, D'Armiendo FP, Mancini FP, et al. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1997;100:2680-90.
- Charo IF, Taubman MB. Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ Res* 2004;95:858-66.
- Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med* 2006;354:610-21.
- Smith JD, Trojan E, Ginsberg M, et al. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:8264-8.
- Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994;94:2493-503.
- Kolodgie FD, Virmani R, Burke AP, et al. Pathologic assessment of the vulnerable human coronary plaque. *Heart* 2004;90:1385-91.
- Virmani R, Burke AP, Kolodgie FD, et al. Vulnerable plaque: the pathology of unstable coronary lesions. *J Interv Cardiol* 2002;15:439-46.
- Zhou X, Nicoletti A, Elhage R, Hansson GK. Transfer of CD4(+) T cells aggravates atherosclerosis in immunodeficient apolipoprotein E knockout mice. *Circulation* 2000;102:2919-22.
- Buono C, Come CE, Stavrakis G, et al. Influence of interferon-gamma on the extent and phenotype of diet-induced atherosclerosis in the LDLR-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:454-60.
- Gupta S, Pablo AM, Jiang X, et al. IFN-gamma potentiates atherosclerosis in ApoE knock-out mice. *J Clin Invest* 1997;99:2752-61.
- Whitman SC, Ravisankar P, Daugherty A. Interleukin-18 enhances atherosclerosis in apolipoprotein E(-/-) mice through release of interferon-gamma. *Circ Res* 2002;90:E34-8.
- Mallat Z, Corbaz A, Scazecz A, et al. Interleukin-18/interleukin-18 binding protein signaling modulates atherosclerotic lesion development and stability. *Circ Res* 2001;89:E41-5.
- Mallat Z, Corbaz A, Scazecz A, et al. Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability. *Circulation* 2001;104:1598-603.
- Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, et al. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation* 2002;106:24-30.
- Davenport P, Tipping PG. The role of interleukin-4 and interleukin-12 in the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Pathol* 2003;163:1117-25.
- Mallat Z, Ait-Oufella H, Tedgui A. Regulatory T cell responses: potential role in the control of atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2005;16:518-24.
- Mallat Z, Besnard S, Duriez M, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* 1999;85:e17-24.
- Potteaux S, Deleuze V, Merval R, et al. In vivo electrotransfer of interleukin-10 cDNA prevents endothelial upregulation of activated NF-kappaB and adhesion molecules following an atherogenic diet. *Eur Cytokine Netw* 2006;17:13-8.
- Robertson AK, Rudling M, Zhou X, et al. Disruption of TGF-beta signaling in T cells accelerates atherosclerosis. *J Clin Invest* 2003;112:1342-50.
- Gojova A, Brun V, Esposito B, et al. Specific abrogation of transforming growth factor-beta signaling in T cells alters atherosclerotic lesion size and composition in mice. *Blood* 2003;102:4052-8.
- Ait-Oufella H, Salomon BL, Potteaux S, et al. Natural regulatory T cells control the development of atherosclerosis in mice. *Nat Med* 2006;12:178-80.
- Mallat Z, Ait-Oufella H, Tedgui A. Regulatory T-cell immunity in atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med* 2007;17:113-8.
- Mor A, Luboshits G, Planer D, et al. Altered status of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in patients with acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 2006;27:2530-7.
- Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, Ziegler AG, et al. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005;352:2598-608.
- Steffens S, Burger F, Pelli G, et al. Short-term treatment with anti-CD3 antibody reduces the development and progression of atherosclerosis in mice. *Circulation* 2006;114:1977-84.
- van Puijvelde GH, Hauer AD, de Vos P, et al. Induction of oral tolerance to oxidized low-density lipoprotein ameliorates atherosclerosis. *Circulation* 2006;114:1968-76.