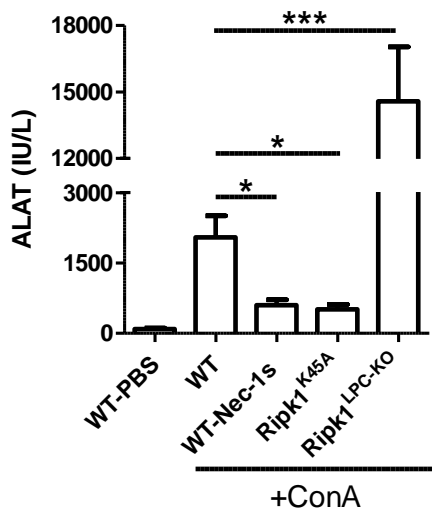


Etude de l'hépatolyse induite par les cellules immunitaires dans des modèles murins d'hépatites : rôle de RIPK1

Aveline FILLIOL, sous la supervision du Pr L. Lamontagne et du Dr M. Samson au sein de l'U.1085-Inserm IRSET, Rennes.

La destruction des hépatocytes constitue un élément initiateur de la progression des maladies hépatiques¹, qui lorsqu'elle est massive, peut être fatal pour l'individu. De plus, la non-résolution des causes de l'hépatite peut conduire à une chronicité de l'hépatolyse contribuant à une persistance des mécanismes inflammatoires et de régénération^{1,2}, créant un environnement favorable au développement du carcinome hépatocellulaire (CHC)^{1,3}. L'inhibition de l'hépatolyse aiguë ou chronique sont ainsi considérées comme une stratégie thérapeutique pour limiter le dommage hépatique et l'enchaînement de ces processus. Les cellules immunitaires sont responsables de l'induction ou de l'amplification de cette hépatolyse, par la libération ou l'expression de ligands de mort appartenant à la superfamille du TNF- α , dont le TNF- α qui est également considéré comme jouant un puissant rôle pro-inflammatoire³. Cependant les voies de signalisation en aval de ces récepteurs ne sont pas totalement élucidées.

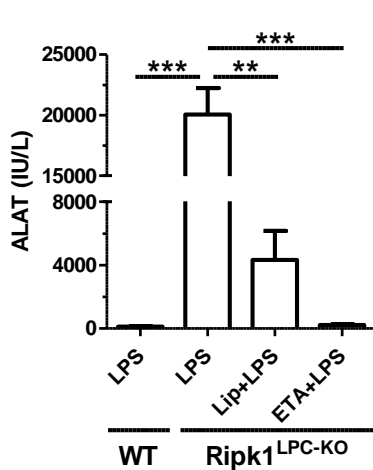
Le rôle des Receptor-Interacting-Protein Kinases (RIPK) au cours des hépatites fait l'objet de nombreux débats⁴, et certains travaux suggèrent que la sérine/thréonine kinase RIPK1 jouerait un rôle dans l'induction de l'hépatolyse au cours de l'hépatite dépendante des lymphocytes T induite par la Concanavaline A (ConA) chez la souris⁵. Par l'utilisation de modèles chimiques et génétiques, nous avons étudié l'implication de RIPK1 dans le processus de mort des hépatocytes.



Tout d'abord, nous avons confirmé que le blocage de l'activité kinase de RIPK1 réduit l'hépatolyse induite par l'administration de ConA, par l'utilisation de souris RIPK1 kinase dead (*Ripk1*^{K45A}) et de la Nec-1s, un inhibiteur de l'activité kinase de RIPK1. Cependant, en utilisant des souris conditionnellement déficientes pour RIPK1 dans les cellules parenchymateuses hépatiques (LPC) (*Ripk1*^{LPC-KO}) nous avons observé une sensibilité des souris à l'hépatite induite par la ConA (Fig. 1). De manière intéressante ces souris ne présentaient pas d'hépatolyse dans des conditions physiologiques, révélant que RIPK1 était nécessaire à la survie des hépatocytes et au maintien de l'homéostasie hépatique dans des conditions inflammatoires. En disséquant *in vivo* et *in vitro* les acteurs moléculaires impliqués au cours de ce processus, nous avons révélé que RIPK1 permet la survie cellulaire en aval du TNF- α . Sans interférer avec la voie de survie NF- κ B, RIPK1 stabilise la protéine TRAF2 et empêche ainsi l'activation des caspases et l'hépatolyse⁶.

Figure 1. Double rôle de RIPK1 dans l'hépatite immuno-induite par la ConA. Niveau des ALAT sériques 11 h après administration de ConA ou de PBS chez des souris WT prétraitées ou non avec du Nec-1s, des souris Ripk1 kinase dead (*Ripk1*^{K45A}) et des souris déficientes pour Ripk1 dans les LPC (*Ripk1*^{LPC-KO}). Graph +/- SEM, *p<0,5 ; *** p<0.001.

Suite à cette découverte mécanistique, nous avons étudié le rôle de RIPK1 dans un contexte plus physiopathologique. L'ingestion chronique d'alcool ou de produits riches en lipides conduit au développement d'une hépatite mais aussi à une perméabilisation de la barrière intestinale. Cette dernière est responsable d'une élévation de Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMPs) bactériens au niveau du foie. Ce phénomène est une des causes de « l'acute on chronic liver failure » (ACLF) connu



pour être de très mauvais pronostic^{7,8}. Ces PAMPs peuvent être mimés par l'administration de lipopolysaccharide (LPS) et d'ADN CpG-non méthylé. Alors que ces deux motifs bactériens n'induisent pas d'hépatolyse chez des souris sauvages, nous avons mis en évidence que l'absence de RIPK1 dans les LPC induit une hépatolyse de type apoptotique. En éliminant les macrophages par l'utilisation de liposomes de clodronate ou en inhibant le TNF- α , nous avons pu démontrer que cette mort hépatocytaire est dépendante du TNF- α libéré principalement par les macrophages activés par les PAMPs⁹ (Fig. 2).

Figure 2. RIPK1 protège les hépatocytes de la mort induite par le TNF- α libéré par les macrophages activés par le LPS. Niveau des ALAT sériques chez des souris WT ou *Ripk1*^{LPC-KO} 8h30 après l'administration de LPS, prétraitées ou non avec des liposomes contenant du clodronate (Lip) ou par l'Etanercept (ETA), un inhibiteur du TNF- α . Graph +/- SEM, *p<0,5 ; ** p<0.01 ; *** p<0.001.

Ces travaux ont ainsi permis de préciser le rôle de RIPK1 dans différents modèles d'hépatites aiguës. La capacité de RIPK1 à contrôler la mort et la survie des hépatocytes dans un contexte inflammatoire suggère son implication au cours des hépatites chroniques et ouvre la porte à des travaux dans des maladies hépatiques humaines ainsi qu'à l'étude de son inhibition en tant que cible thérapeutique.

Références

- Luedde, T., Kaplowitz, N., and Schwabe, R.F. (2014). Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance. *Gastroenterology* 147, 765–783.e4.
- Saliba, F., and Samuel, D. (2013). Acute liver failure: current trends. *J. Hepatol.* 59, 6–8.
- Brenner, C., Galluzzi, L., Kepp, O., and Kroemer, G. (2013). Decoding cell death signals in liver inflammation. *J. Hepatol.* 59, 583–594.
- Dara, L., Liu, Z.-X., and Kaplowitz, N. (2016). Questions and controversies: the role of necroptosis in liver disease. *Cell Death Discov.* 2, 16089.
- Jouan-Lanhuet, S., Arshad, M.I., Piquet-Pellorce, C., Martin-Chouly, C., Le Moigne-Muller, G., Van Herreweghe, F., Takahashi, N., Sergent, O., Lagadic-Gossman, D., Vandenabeele, P., et al. (2012). TRAIL induces necroptosis involving RIPK1/RIPK3-dependent PARP-1 activation. *Cell Death Differ.* 19, 2003–2014.
- Filliol A, Piquet-Pellorce C, Le Seyec J, Farooq M, Genet V, Lucas-Clerc C, Bertin J, Gough PJ, Dimanche-Boitrel MT, Vandenabeele P, Bertrand M and Samson M. (2016). RIPK1 protects from TNF-a mediated liver damage during hepatitis. *Cell Death Dis.*10;7(11):e2462.
- Jalan, R., Fernandez, J., Wiest, R., Schnabl, B., Moreau, R., Angeli, P., Stadlbauer, V., Gustot, T., Bernardi, M., Canton, R., et al. (2014). Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J. Hepatol.* 60, 1310–1324.
- Sarin, S.K., and Choudhury, A. (2016). Acute-on-chronic liver failure: terminology, mechanisms and management. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 13, 131–149.
- Filliol A, Piquet-Pellorce C, Raguénès-Nicol C, Dion S, Farooq M, Lucas-Clerc C, Vandenabeele P, Bertrand MJM, Le Seyec J, Samson M. (2017). RIPK1 protects hepatocytes from Kupffer cells-mediated TNF-induced apoptosis in mouse models of PAMP-induced hepatitis. *J Hepatol.* 66(6):1205-1213.