

THÈSE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS
UFR de médecine et de pharmacie
Ischémie reperfusion en transplantation d'organes mécanismes et innovations thérapeutiques -
IRTOMIT (Poitiers)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

École doctorale : Biologie-santé - Bio-santé (Limoges)
Secteur de recherche : Aspect moléculaires et cellulaires de la biologie

Présentée par :
Maroua Ferhat

L'alarmine IL-33, un médiateur clé des phénomènes d'ischémie-reperfusion rénale mettant en jeu les cellules iNKT

Directeur(s) de Thèse :
André Herbelin, Antoine Thierry

Soutenue le 11 juillet 2017 devant le jury

Jury :

Président	Jean-Marc Gombert	Professeur des Universités, PH, Université de Poitiers
Rapporteur	Olivier Thaumat	Professeur des Universités, PH, Université de Lyon 1
Rapporteur	Julie Dechanet-Merville	Docteur CNRS, Université de Bordeaux
Membre	André Herbelin	Directeur de recherche INSERM, Université de Poitiers
Membre	Antoine Thierry	Professeur des Universités, PH, Université de Poitiers

Pour citer cette thèse :

Maroua Ferhat. *L'alarmine IL-33, un médiateur clé des phénomènes d'ischémie-reperfusion rénale mettant en jeu les cellules iNKT* [En ligne]. Thèse Aspect moléculaires et cellulaires de la biologie. Poitiers : Université de Poitiers, 2017. Disponible sur Internet <<http://theses.univ-poitiers.fr>>

THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté Médecine et Pharmacie)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

Ecole Doctorale : Biosanté N°524

Champ disciplinaire : Biologie-Médecine-Santé

Secteur de Recherche : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie

Présentée par :

Maroua FERHAT

L'alarmine IL-33, un médiateur clé des phénomènes d'ischémie-reperfusion rénale mettant en jeu les cellules iNKT

Directeur de Thèse : Dr. André HERBELIN
Co-Directeur de Thèse : Pr. Antoine THIERRY

Soutenue le **11 Juillet 2017**

Devant la Commission d'Examen

JURY

Dr. Julie Dechanet-Merville	DR, CNRS UMR 5164, Bordeaux	Rapporteur
Pr. Olivier Thauinat	PU-PH, INSERM U1111, Lyon	Rapporteur
Pr. Natacha Bessis	PU, INSERM UMR1125, Paris	Examineur
Pr. Jean-Marc Gombert	PU-PH, INSERM U1082, Poitiers	Examineur
Dr. André Herbelin	DR, INSERM U1082, Poitiers	Directeur de thèse
Pr. Antoine Thierry	PU-PH, INSERM U1082, Poitiers	Co-Directeur de thèse

Remerciements

« Sois reconnaissant envers tous, tous t'enseignent » - Bouddha

Ce manuscrit est l'aboutissement de quatre années de thèse extrêmement enrichissantes, entre galère et bonheur. A travers ces quelques lignes, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé à ces travaux en m'apportant leur expertise, leurs conseils et leur soutien ou qui m'ont simplement encouragée.

Je tiens tout d'abord à remercier tous les membres de mon jury d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse. Merci au Pr. Olivier THAUNAT et au Dr. Julie DECHANET-MERVILLE, rapporteurs de cette thèse. Vous trouverez ici toute l'expression de ma gratitude pour l'intérêt que vous avez bien voulu porter à mon travail.

Je remercie également le Pr. Natacha BESSIS et le Pr. Jean-Marc GOMBERT qui m'ont fait l'honneur de participer à mon jury de thèse. Jean-Marc, je vous remercie pour votre présence, votre accompagnement, nos discussions « rigolotes » et si « amusantes » à la fois scientifiques et non-scientifiques, vos encouragements et pour avoir toujours cru en moi.

Je suis également très reconnaissante à mes encadrants qui ont su chacun m'apporter leur aide et leurs conseils dans leur domaine de prédilection. Ainsi, je tiens à remercier le Dr. André HERBELIN pour m'avoir proposé ce sujet si passionnant et si attachant, pour sa confiance, son accompagnement, ses nombreuses corrections et relectures ; sans vous, André, ce travail n'aurait pas pu être mené à bien. Je vous remercie André et vous serai toujours reconnaissante pour votre encadrement, votre écoute, votre soutien, pour votre confiance et toute l'aide apportée au cours de ces quatre dernières années.

J'adresse aussi toute ma reconnaissance au Pr. Antoine THIERRY, mon co-directeur de thèse que je remercie pour m'avoir fait découvrir, avec Jean-Marc et André, le monde obscur de l'ischémie-reperfusion rénale, de l'IL-33 et celui des cellules iNKT.

Ce travail de recherche s'est déroulé au sein de l'unité INSERM U1082 à Poitiers, dirigée par le Pr. Thierry HAUET que je tiens à remercier pour son accueil, ses encouragements ainsi que pour son intérêt particulier pour mon projet de thèse et bien sûr pour ses « conseils diététiques » ; soyez assuré Monsieur de ma profonde gratitude.

Je tiens, bien évidemment, à remercier tous les membres du laboratoire INSERM U1082. Merci Virginie, Nadège, Raphaël, Patrick, Sylvain L, Jacques, Ludovic, Isabelle, Maité, Delphine, François, Sandrine, Sihem, Thomas, Sylvain F, Mohammed, Sofiane, Frédéric, Nicolas, Clara, Samy, Fatima et Omar ; un grand merci à vous pour votre accueil, votre bonne humeur, votre soutien.

Un petit clin d'œil aux stagiaires que je n'oublie pas. Je pense à Cécile, Julia, Mélina, Clara, Gaylord, Lauren, Louise, Ophélie. Je remercie également le Dr. Déborah DESMIER et ma petite Fanny HEDIN pour tous les nombreux et agréables moments passés ensemble ; je pense à Christian et à Kendji.....

Mes remerciements vont surtout vers Aurélie ROBIN, Sandra SENA et Sébastien GIRAUD à qui je dois beaucoup sur les plans technique, scientifique et au-delà. Toujours disponibles, accueillants et souriants, merci d'avoir consacré du temps à me former. Merci pour votre bonne humeur, nos longues séances de papotage et de manips ; je vous serai à jamais reconnaissante. Séb, je me dois de te remercier pour toutes tes blagues pourries, et moins pourries, qui m'ont toujours fait rire.

A ma petite Sara BASBOUS, devenue maintenant Docteur, avec toi j'ai partagé pleins de bons moments, nos engueulades et aussi 3 bureaux. Merci pour ton aide, tes conseils, ton soutien, tes encouragements, ton écoute, nos très longues discussions scientifiques et non-scientifiques et pour nos vacances passées ensemble au labo. Merci pour ton amitié qui j'espère durera longtemps ma chère « meilleure copine de bureau ».

Je tiens à remercier les membres de mon équipe IRATI : Nathalie, Lauren, Léa, Amandine, Myriam, Benjamin, Louise, Florence et en particulier Lucie et Alice. Je vous remercie pour toute l'aide et le soutien ainsi que les conseils que vous m'avez apportés, en toutes circonstances, au cours de ces années. Un énorme merci à vous pour les bons moments scientifiques ou non et les nombreux délires que nous avons pu partager.

Un très grand merci à Aurélie JOUSSAUME, pour ta présence, tes encouragements, nos longues discussions, et surtout pour ton amitié. Je te souhaite une excellente thèse et pleins de beaux papiers dans Cell.

Mes remerciements vont aussi au service d'Anatomie et Cytologie Pathologique du CHU de Poitiers. Merci au Pr. Jean-Michel GOUJON pour le temps passé à lire mes lames d'histologie.

Merci à Julie GODET et à Alexia RINSANT pour votre bonne humeur, votre disponibilité et votre aide. Je remercie également Marie-Noëlle, Elodie, et toutes les techniciennes du service.

Merci Pr Guy TOUCHARD pour votre aide si précieuse dans la lecture des lames d'IF ; grâce à vous, j'ai beaucoup appris sur le rein et son architecture.

Je remercie Valérie PINCHAUD pour nos papotages et toutes les petites intentions (les gâteaux, les fleurs et les petits mots sur mon bureau).

Merci aux voisins d'en face : Laëtitia, Thomas, Elodie, Pr Valérie CORONAS, Pr. Nicolas BOURMEYSTER et bien évidemment le Dr Hélène CABANAS.

Je remercie également les membres de l'ex-équipe U935 à Poitiers : Marie-Laure, Marie-Claude et Clémentine.

Je remercie la plateforme ImageUP et en particulier Adriana et Anne.

Je dédie ma thèse,

A ma famille et à mes amis,

Maman, la plus belle personne qui existe sur terre c'est bien toi ; tu as su me donner, et me donne encore, un amour inconditionnel et beaucoup de soutien et d'encouragements. Merci pour ton éducation, ta confiance et l'amour des études et des Sciences que tu as si bien su me transmettre. Tu es pour moi un exemple de sagesse, de bonté, de persévérance, de bravoure, de droiture, de gentillesse et je ne peux exprimer tout ce que tu m'inspires en quelques mots. J'aimerais tant te ressembler un jour.

Papa, tu n'es plus là mais ton souvenir, ta sagesse, ta bonté, ton apprentissage et surtout ton amour ne m'ont jamais quitté. Je suis si fière de la personne que tu as été et du souvenir que tu as laissé derrière toi. C'est un honneur d'être ta fille : je te dédie cette thèse.

Ma petite sœur Safa ; tu es la meilleure des petites sœurs qui existent. Je te remercie pour ton amour, tes encouragements, ton amitié, nos délires et bien entendu nos chamailleries. Je suis si fière de toi et j'ai énormément de chance de t'avoir : merci d'être ma sœur.

A Amati, ma tata adorée, qui a toujours été là pour moi et envers qui j'ai du respect et une très grande affection.

A ma grand-mère, partie vers d'autres cieux, ton souvenir restera à jamais gravé dans mon cœur.

A mes compatriotes et très chers amis : Moh, Wahiba, Rabeh, Messaoud, Fatima, Ibtissem, Moh Malek, Dalila, Farid, et Narimene. Je ne vous remercierai jamais assez pour votre soutien, votre présence, votre bonne humeur, vos encouragements et nos longues soirées de débat. Merci pour votre amitié sincère qui m'a permis de tenir bon.

Une petite pensée pour Hako, Sofia, Ikram, Lila, Narjess, Amin, Hamid, Imad, Oussama, Hafida, Driss, Othman et sa chérie Natacha, Oumayma, Karim.

A Massinissa, pour m'avoir toujours soutenue, écoutée, rassurée et surtout supportée : merci d'être mon ami.

A ma Louiza, ma meilleure amie, merci pour tous les bons moments passés et à venir. Tu es l'une des plus belles personnes que j'ai eu l'occasion de rencontrer dans ma vie : merci pour ton amitié, ton soutien et ta présence dans les moments difficiles et ceux de joie. Que notre amitié perdure.

A mes copines Kamelia, Rosa, Amel B, Amel L, Sara, Faiza, Wahiba A, de M'sila jusqu'à Paris en passant par Lyon et Marseille, merci de faire partie de ma vie et pour votre amitié qui m'est si chère.

Une dédicace spéciale à PLZF et toute sa famille BTB-POZ-ZF (pour « Broad complex, Tramtrac, Bric-à Brac [BTB], POxvirus Zinc finger [POZ] Zinc Finger [ZF] »), une dénomination probablement due à un alcoolique invétéré que je salue.

A ma MC Family : 2K et ses cousins/cousines, Zineb, Félix, Mamou, Jane, Abou, Nounours (Aden), Dieudonné, Omar, Ahmad, Harouna, Moon, Yanis, Zohra, Fati, Isaack, Djadid, Saad, Riri, Leslie, Naf, Leslie et son Coco, Zaki mon déménageur et bien-sûr Chaton (Flo) pour tous nos délires, soirées, discussions et moments de rouille.

A Monique, Catherine, Philippe, Jean-Paul, Bernadette.....et à toute la cité Marie Curie.

A toutes les personnes qui j'ai croisées au cours de ma vie et qui m'ont forgée.

Table des matières

Liste des abréviations.....	1
Introduction générale	6
Première partie :	8
Le syndrome d'ischémie-reperfusion rénale : un phénomène inhérent à la transplantation d'organe	8
Chapitre I : Anatomie et physiologie rénale	9
1. Généralités	9
2. Organisation générale du rein des mammifères.....	10
2.1. Néphron	10
2.2. L'interstitium rénal.....	11
2.3. La vascularisation rénale.....	14
2.4. Système lymphatique.....	15
Chapitre II : La transplantation d'organe, un traitement de choix de l'insuffisance rénale terminale	16
1. L'insuffisance rénale terminale (IRT).....	16
2. La transplantation rénale	16
2.1. Généralités.....	16
2.2. Etats des lieux en France.....	16
Chapitre III : Syndrome d'ischémie-reperfusion.....	18
1. Définition et physiopathologie	18
2. Conséquences de l'IR.....	19
2.1. Le stress oxydant.....	19
2.2. Adaptation cellulaire à la variation d'oxygène	20
2.3. Conséquences tissulaires	21
2.4. La réparation tissulaire et fibrose interstitielle.....	24
3. Mécanismes de l'inflammation stérile médiée par l'IR.....	26
3.1. Initiation du processus immuno-inflammatoire	27
3.2. Recrutement leucocytaire.....	29
Deuxième partie :	34
L'alarmine IL-33, une réponse au stress tissulaire	34
Chapitre I : Les alarmines.....	35
1. Concept du signal danger	35

2. Définition des alarmines.....	38
3. La protéine HMGB-1, l'archétype des alarmines	39
4. Transduction du signal alarmine	40
5. Modes de régulation de l'activité « alarmine » : l'exemple de HMGB1	42
6. Cibles cellulaires et fonctions biologiques des alarmines	43
6.1. Rôle des alarmines dans la réponse immunitaire.....	43
6.2. Contribution des alarmines dans les processus de survie et de mort cellulaire	45
6.3. Contribution des alarmines dans la réparation cellulaire.....	47
7. Alarmines en physiopathologie.....	48
7.1. Contexte général.....	48
7.2. Alarmines en physiopathologie rénale	48
Chapitre II : IL-33, une alarmine/cytokine.....	51
1. Découverte/historique	51
2. L'IL-33, une alarmine à modes d'action multiples.....	51
3. Structures génique et protéique de l'IL-33	52
4. Expression et distribution tissulaire/cellulaire de l'IL-33	53
4.1. L'IL-33, une expression constitutive et ubiquitaire.....	53
4.2. L'IL-33, une expression exclusivement inductible au sein du système immunitaire.....	55
4.3. L'IL-33, un facteur nucléaire	55
5. Régulation de l'activité biologique de l'IL-33	57
5.1. Formes actives de l'IL-33.....	58
5.2. Formes inactives de l'IL-33 et mécanismes limitant son activation	58
6. Modes de libération ou de sécrétion de l'IL-33.....	60
7. Récepteur et signalisation cellulaire mis en jeu par l'IL-33	61
7.1. ST2, chaîne spécifique du récepteur de l'IL-33	61
7.2. Voies de signalisation IL-33/ST2.....	62
8. L'IL-33, une cytokine avec des effets pléiotropes	63
8.1. L'IL-33 et le système immunitaire.....	63
8.2. Cibles et fonctions non immunitaires de l'IL-33	65
9. L'IL-33 et la régénération tissulaire	66
Chapitre III : IL-33 et le rein	66
1. Contexte général	66
2. sST2, un biomarqueur de maladies rénales chroniques	67
3. L'IL-33 dans l'IRA en expérimentation animale.....	68

4. L'IL-33 en transplantation rénale	69
Troisième partie :.....	72
Les lymphocytes iNKT, une population T innée impliquée dans la genèse des lésions d'IR.....	72
Chapitre I : Biologie des lymphocytes iNKT	73
1. Les cellules T non-conventionnelles.....	73
2. Les lymphocytes iNKT.....	74
2.1. Définition des lymphocytes iNKT	74
2.2. Historique de la découverte des lymphocytes iNKT ou la naissance d'un paradigme	75
2.3. Caractéristiques phénotypiques des lymphocytes iNKT.....	76
2.4. Développement, différenciation et maturation des lymphocytes iNKT	78
2.5. Distribution tissulaire des lymphocytes iNKT	85
2.6. Caractéristiques fonctionnelles des lymphocytes iNKT.....	87
2.7. Activation des lymphocytes iNKT.....	89
2.8. Interaction des lymphocytes iNKT avec d'autres cellules immunitaires	91
2.9. Les lymphocytes iNKT et la molécule CD1d	91
2.10. Sous-populations de lymphocytes iNKT.....	95
2.11. Localisation anatomique et « polarisation fonctionnelle » des lymphocytes iNKT	98
2.12. Les lymphocytes iNKT, le Janus Bifrons du système immunitaire ?	98
Chapitre II : Les lymphocytes iNKT et l'IR rénale.....	100
1. Les lymphocytes T et l'IR d'organe.....	100
2. Implication des lymphocytes iNKT dans la pathogénie de l'IR rénale.....	100
3. Les lymphocytes iNKT et l'IL-33 en IR rénale ?.....	101
Objectifs principaux.....	105
Résultats.....	108
Manuscrit	109
Discussion générale et perspectives	159
1. L'IL-33 une alarmine du stress cellulaire associé à l'IR rénale.....	159
1.1. Libération suite à une nécrose.....	160
1.2. L'IL-33 participe au recrutement et à l'activation du système immunitaire inné et en particulier des cellules iNKT, après IR rénale	161
1.3 L'IL-33 et ses partenaires privilégiés dans l'activation des cellules iNKT après IR rénale.....	164
2. Schéma séquentiel hypothétique du recrutement des cellules immunitaires innées en IR rénale : mise en évidence d'une phase initiale ne requérant pas l'IL-33 suivie d'une phase amplificatrice mettant en jeu l'IL-33	167
3. L'IL-33, un élément précoce d'adaptation cellulaire au cours de l'IR rénale ?	168

4. IL-33 dans la réparation tissulaire et la fibrose interstitielle ?	171
5. L'IL-33, une cytokine en IR rénale?.....	172
6. L'IL-33 comme cible thérapeutique en IR rénale associée à la transplantation	174
6.1. L'IL-33, un potentiel biomarqueur en transplantation rénale chez l'homme ?.....	174
6.2. Neutralisation de l'IL-33.....	175
6.3. Modélisation sur gros animal du rôle de l'IL-33 et IR rénale après transplantation d'organe	176
Conclusion générale	179
Références bibliographiques	181
Annexes	219

Liste des figures

Figure 1 : Organisation générale du néphron mammifère.....	10
Figure 2 : Principaux évènements immuno-inflammatoires déclenchés par l'IR rénale chez la souris.	28
Figure 3 : Principales chimiokines impliquées en IR rénale et leurs cibles immunitaires.	29
Figure 4 : Analyse de l'infiltrat leucocytaire intra-rénal après IR chez la souris.....	30
Figure 5 : Théorie du non-soi et du danger.	36
Figure 6 : Voie de signalisation intracellulaire médiée par HMGB1.....	42
Figure 7 : Représentation schématique de la protéine HMGB1.....	43
Figure 8 : Principales fonctions biologiques de l'alarmine HMGB1.....	45
Figure 9 : Structure de l'IL-33.....	53
Figure 10 : Principales protéines régulées par l'action de l'IL-33 sur les cellules endothéliales humaines.....	57
Figure 11 : Principaux mécanismes régulant l'activité biologique de l'IL-33.....	59
Figure 12 : L'IL-33, une cytokine/alarmine.....	61
Figure 13 : Voie de transduction du signal IL-33.....	62
Figure 14 : Cibles immunitaires de l'IL-33.....	64
Figure 15 : Schéma hypothétique du rôle de l'alarmine/cytokine IL-33 dans l'infection parasitaire.....	65
Figure 16 : Les différentes populations de lymphocytes T- $\alpha\beta$ non-conventionnelles.....	74
Figure 17 : Lymphocyte iNKT : restriction du TCR semi-invariant par le CD1d et les principaux marqueurs chez l'homme et chez la souris.....	77
Figure 18 : Etapes de développement et de maturation des cellules iNKT.....	84
Figure 19 : Principales caractéristiques des sous-populations iNKT.....	88
Figure 20 : Les différents modes d'activation des cellules iNKT.....	90
Figure 21 : Interaction des lymphocytes iNKT avec les autres effecteurs immunitaires.....	91
Figure 22 : Structure des molécules CD1d humaine et murine.....	93
Figure 23 : Comparaison de la réponse anti-infectieuse au cours du temps des cellules T conventionnelles et T non conventionnelles.....	99
Figure 24 : Schéma expérimental du transfert cellulaire adoptif avant IR rénale.....	162
Figure 25 : Identification des leucocytes intra-rénaux par cytométrie en flux.....	163

Figure 26 : Dosage des cytokines IL-12 et IL-18, partenaires de l'IL-33, après IR rénale.	165
Figure 27 : Analyse in vitro de la production cytokinique des cellules iNKT médiée par l'IL-33	166
Figure 28 : Schéma séquentiel hypothétique du recrutement des cellules immunitaires innées en IR rénale : mise en évidence d'une phase initiale ne requérant pas l'IL-33 suivie d'une phase amplificatrice mettant en jeu l'IL-33.....	168
Figure 29 : L'axe IL-33/HIF-1 α dans la polyarthrite rhumatoïde.	169
Figure 30 : Analyse des transcrits Hif-1 α et Vegf après IR rénale chez la souris.....	170
Figure 31 : Analyse des transcrits Ho-1 après IR rénale chez la souris.	171
Figure 32 : Analyse des transcrits Il-33 après IR rénale chez la souris.....	173
Figure 33 : Expression de l'IL-33 intra-rénale par immunofluorescence J7 et J30 après IR rénale chez la souris.	173

Liste des tableaux

Tableau 1 : Evolution de la liste d'attente de transplantation rénale.....	16
Tableau 2 : Récapitulatif des principaux DAMP.	37
Tableau 3 : Expressions tissulaire et cellulaire de l'IL-33 chez l'homme et chez la souris.	55

Liste des abréviations

- 5'UTR** : Untranslated Transcribed Region
- α -GalCer ou α -GC** : α -galactosylcéramide
- α -SMA** : α -Smooth Muscle Actin
- ADH** : Anti-Diuretic Hormone
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AGE** : Advanced Glycation End products
- Ag** : Antigènes
- AMPK** : AMP-dependent protein Kinase
- ARE** : Antioxydant Responsive Element
- Atg** : Autophagy-related
- ATP** : Adénosine-triphosphate
- bFGF** : basic Fibroblast Growth Factor
- CCL** : Chemokine Ligand
- CCR** : C-C Chemokine Receptor type
- CD** : Cluster de différenciation
- CLR** : C-type Lectin Receptors
- CMH** : Complexe majeur d'histocompatibilité
- CORM-2** : CO-releasing molecule-2
- CPA** : Cellules Présentatrices d'Antigènes
- CSH** : Cellules Souches Hématopoïétiques
- CTGF** : Connective Tissue Growth Factor
- CTLA-4** : Cytotoxic T-lymphocyte-associated Antigen-4
- CXCL** : C-X-C motif Ligand
- CXCR** : CXC-chemokine Receptor
- DAMP** : Damage-Associated Molecular Patterns
- DC** : Dendritic Cells
- DN** : Double-négatif
- DP** : Double-positif
- E4BP4** : E4 Promoter Binding Protein 4
- EAE** : Encéphalomyélite Allergique Expérimentale
- Egr** : Early growth response protein

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
eNOS : endothelial NO Synthase
EPO : Érythropoïétine
ERK : Extracellular signal-Regulated Kinases
ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène
FR-4 : Folate Receptor 4
GM-CSF : Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
GSK3 β : Glycogen Synthase Kinase 3 β
Gt : Gene trap
HAT : Histone acétylase
HAVcr-1 : Hepatitis A Virus cellular receptor-1r
HDAC : Histone désacétylase
HDGF : Hepatoma-Derived Growth Factor
HEB : membre des E protein transcription factors
HIF : Hypoxia Induced Factors
HMGB1 : High Mobility Group box-1
HO-1 : Hème Oxygénase 1
HSP : Heat Shock Protein
HUVEC : Human Umbilical Vein Endothelial Cells
ICAM-1 : InterCellular Adhesion Molecule-1
ICOS : Inductible CO-Stimulator
IFN : Interféron
iGb3 : Isoglobotrihexosylcéramide
iGb4 : Isoglobotétrahexosylcéramide
IL- : Interleukine
IL-1RAcP : IL-1 Receptor Accessory Protein
Il-33^{Gt/Gt} : Il-33-LacZ genet rap reporter strain
ILC2 : group 2 innate lymphoid cells
iNKT : invariant Natural Killer T cells
iNKT-fh : iNKT-Follicular Helper
IP-10 : Interferon γ -induced Protein
IR : Ischémie-Reperfusion
IRA : Insuffisance Rénale Aiguë
IRAK-1 : IL-1 Receptor-Associated Kinase 1

IRC : Insuffisance Rénale Chronique
IRF-1 : Interferon Regulatory Factor-1
IRT : Insuffisance Rénale Terminale
JAK : Janus Kinase
JNK : c-Jun N-terminal Kinases
KIM-1 : Kidney Injury Molecule-1
KO : Knock-out
L'UPR : Unfolded Protein Response
LFA-1 : Lymphocyte Function-Associated antigen-1
LPPG : Lipopeptidophosphoglycane
LPS : Lipopolysaccharide
LysoPE : Lysophosphatidyléthanolamine
Mac-1 : Macrophage-1 antigen
MAIT : Mucosal Associated Invariant T cells
MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinases
MCP-1 : Monocyte Chemoattractant Protein-1
MIG : Monokine Induced by Gamma interferon
MR-1 : MHC-related molecule-1
mTOR-1 : mammalian Target Of Rapamycin
MyD88 : Myeloid Differentiation Primary Response gene 88
NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NF-HEV : Nuclear Factor of High Endothelial Venues
NF- κ B : Nuclear Factor- κ B
NGAL : Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin
NK : Natural Killer
NKG2D : Natural Killer Group D2
NKT : Natural Killer T-cells
NLR : NOD-Like Receptor
NLRP-3 : NOD, LRR and Pyrin-domain containing 3
NO : Monoxyde d'azote
NOD : Nucleotide Oligomerization Domain
NRF-2 : Nuclear Factor erythroid-2-Related Factor-2
NRP1 : Neuropilin-1
Nur77 : ou NGFIB (pour Nerve Growth Factor IB)

PAI-1 : Plasminogen Activator Inhibitor-1

PAMP : Pathogen-Associated Molecular Patterns

PARP-1 : PolyADP-Ribose Polymerase-1

PD-1 : Programmed cell Death-1

PDGF : Platelet-Derived Growth Factor

PE : Phosphatidyléthanolamine

PG : Phosphatidylglycérol

PI : Phosphatidylinositol

PIM : Phosphatidylinositol mannoside

PLZF : Promyelocytic Leukemia Zinc Finger protein

PNN : Polynucléaires neutrophiles

PPTP ξ/β : Phosphacan Protein–Tyrosine Phosphatase- ξ/β

PRR : Pattern Recognition Receptors

PRR : Récepteur de la (pro) rénine

R : Récepteur

RAG : Recombination-Activating Genes

RAGE : Receptor for Advanced Glycation End products

RANTES : Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted

RE : Réticulum Endoplasmique

RIPK1 : Receptor-Interacting Protein Kinase 1

RLR : RIG-I-Like Receptors

ROR γ t : Retinoic acid-related Orphan Receptor γ t

qRT-PCR : quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

S1P1R : Sphingosine-1-Phosphate 1 Receptor

SAP : SLAM-Associated Protein

SLAM : Signaling Lymphocytic-Activation Molecule

ST2 : Suppression of Tumorigenicity 2

ST2L : Forme membranaire de ST2

sST2 : Forme soluble de ST2

STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription

T reg : Lymphocytes T régulateurs

TCR : T-Cell Receptor

TGF- β : Transforming Growth Factor β

Th : T hepler

TIM-1 : T-cell Immunoglobulin and Mucin domain-1

TIM-3 : T-cell immunoglobulin mucin 3

TIR : Toll/IL-1R

TLR : Toll Like Receptor

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α

TRAF6 : TNF-Receptor-Associated Factor 6

TRAIL : TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand

VCAM-1 : Vascular Cell Adhesion Molecule-1

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

WT : Wild-type

XLP : X-linked LymphoProliferative disease

-/- : Délétion/invalidation homozygote d'un gène par technique utilisant la recombinaison homologue

Introduction générale

Première partie

**Le syndrome d'ischémie-reperfusion rénale : un phénomène inhérent
à la transplantation d'organ**

Chapitre I : Anatomie et physiologie rénale

1. Généralités

Le métabolisme cellulaire engendre des produits toxiques, notamment les métabolites azotés, lesquels doivent impérativement être éliminés par l'organisme. Ces produits de dégradation azotés, principalement issus du catabolisme des acides aminés par transamination et désamination oxydative, sont pour l'essentiel composés d'ammoniac (NH_3) et d'acide urique. L'ammoniac, métabolite toxique pour l'organisme, est détoxifié et transformé par les hépatocytes du foie en urée, déchet azoté moins toxique qui sera éliminé par excrétion urinaire.

Le système urinaire des mammifères regroupe l'ensemble des organes nécessaires à l'élaboration, au transport, au stockage et à l'élimination de l'urine. Il comprend les deux reins et les voies urinaires constituées des deux uretères, de la vessie et de l'urètre.

Par la gestion des métabolites azotés, des pools hydriques sodé et calcique ainsi que de l'équilibre acido-basique, le rein participe à l'équilibre hydrique et ionique du milieu intérieur et par conséquent joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie générale de l'organisme (Thomson et Blantz, 2008).

De plus, le rein possède une fonction endocrine. Il joue un rôle majeur dans la régulation de la pression artérielle via le système rénine-angiotensine-aldostérone, de l'érythropoïèse par la production d'érythropoïétine ainsi que des concentrations circulantes de calcium et de phosphate, via l'action de la vitamine D (McMahon, 2016).

Le rein est un organe pair, qui dérive du mésoderme (Little et al., 2014). Il se situe dans la partie postérieure de la cavité abdominale, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Chez l'homme, le rein adulte mesure en moyenne 12 cm de longueur, 6 cm de largeur, 3 cm d'épaisseur et représente environ 4% du poids corporel. Ce poids varie en fonction de la surface corporelle de l'individu (moyenne de 100-150 g) (Noël, 2008).

Le rein est vascularisé par une artère et une veine rénale formant le pédicule rénal. L'ensemble des vaisseaux, des nerfs et l'uretère se rejoignent au niveau du hile. Le rein est enveloppé d'une gaine conjonctive (la capsule) et est constitué de deux parties, le cortex et la médullaire. La médullaire est formée de plusieurs cônes dénommés pyramides de Malpighi, donnant l'aspect multilobaire au rein ; elle est composée de deux parties : la médullaire externe et la médullaire interne. Le cortex, qui constitue la partie la plus externe du rein, coiffe la base des pyramides de Malpighi (Noël, 2008).

2. Organisation générale du rein des mammifères

2.1. Néphron

Le néphron constitue l'unité morphologique fonctionnelle spécifique du rein qui permet la formation de l'urine primaire puis définitive (Zhuo et Li, 2013). Le nombre de néphrons par rein est estimé entre 250 000 et 2 000 000 chez l'homme (Bertram et al., 2011) et entre 12 000 et 16 000 chez la souris (Short et al., 2014). Ce nombre dépend du poids et du terme à la naissance. Il dépend aussi de l'origine ethnique chez l'homme (Samuel et al., 2005) et du fond génétique chez la souris (McMahon, 2016). Ceci permet d'expliquer la résistance ou la sensibilité différentielle entre les patients en clinique et entre les souches de rongeurs en modélisation animale, au développement des lésions en cas de réduction de la masse néphronique. Ce risque augmente avec l'âge car le nombre de néphrons diminue progressivement avec le temps (Samuel et al., 2005) (Stefanska et al., 2015).

Un néphron humain mesure entre 2 et 5 cm. Il se compose d'un **glomérule** destiné à la filtration du sang et de **segments tubulaires**, destinés à la réabsorption et à la sécrétion. Le tubule rénal est segmenté en 3 principales parties. On distingue le tube proximal, le segment grêle (ou anse de Henlé) et le tube distal qui débouche sur un tube collecteur (Touchard, 1986) (**Figure 1**).

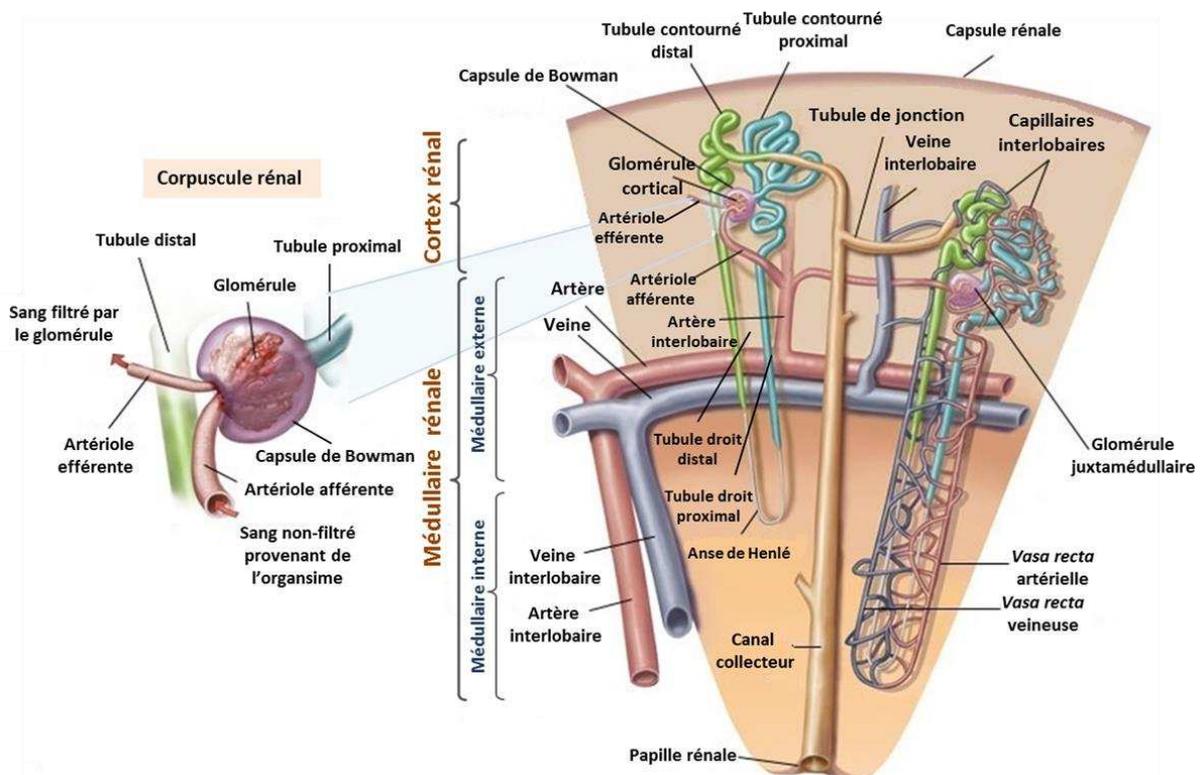


Figure 1 : Organisation générale du néphron mammifère. Adapté de l'encyclopédie Britannique

2.2. L'interstitium rénal

L'espace entre les différents néphrons représente l'interstitium rénal. Il est principalement constitué d'une matrice extracellulaire qui est composée de collagène fibrillaire, de glycosaminoglycanes et d'héparine de sulfate, participant ainsi au maintien de l'architecture globale du tissu rénal (Kaissling et al., 1996) (Noël, 2008) (Qi et al., 2006). Au sein de ce tissu, on retrouve des cellules résidentes immunitaires, des cellules non-immunitaires et une matrice extracellulaire (Kaissling et al., 1996) (Noël, 2008) (Qi et al., 2006). Cet espace occupe entre 5 et 10% du cortex et 40% de la médullaire.

2.2.1. Constituants immunitaires

Le parenchyme rénal n'est pas considéré comme un organe très exposé à l'environnement exogène, contrairement au poumon, au foie et à la peau. De ce fait, il contient un nombre réduit de cellules **résidentes immunitaires**, lesquelles comprennent des cellules d'origine myéloïde (cellules dendritiques ou DC, macrophages) et lymphoïde (lymphocytes T et B, Natural Killer ou NK et Natural Killer T ou NKT).

2.2.1.1. Cellules myéloïdes

Chez la souris, il a été documenté au moins cinq sous-populations intra-rénales de cellules myéloïdes phagocytaires distinctes basées principalement sur l'expression des marqueurs de surface cellulaire suivants : CD11b, CD11c, F4/80, CD103, CD14, CD16 et CD64. Ces sous-populations sont réparties entre DC et monocytes/macrophages (Kawakami et al., 2013) sur la base du profil d'expression de ces marqueurs. En effet, il n'existe pas de marqueur spécifique de chacune des populations. A titre d'exemple, il est admis que le niveau d'expression de F4/80 permet de distinguer les monocytes/macrophages des DC rénales (Li et al., 2008) (Hull et al., 2015).

a) Cellules dendritiques

Les DC tissulaires, d'origine hématopoïétique, ont été découvertes par Ralph Steinman et Zanvil Cohn en 1970, soit 100 ans après la toute première description des DC par Paul Langerhans en 1868. Elles ont pour fonction principale l'activation et la régulation des lymphocytes T via la présentation d'antigènes, en produisant des cytokines et des chimiokines. Elles participent aussi à la tolérance du soi (Merad et al., 2013).

Dans le rein sain, la majorité des DC résidentes expriment CD11b, CD11c, F4/80, les molécules de classe II du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) (Krüger et al., 2004) et les

molécules de co-stimulation CD80/86. Une petite fraction d'entre elles sont CD8(+) et leur rôle dans le rein est mal compris (Ginhoux et al., 2009). Les DC sont majoritairement présentes dans l'espace péri-tubulaire du cortex et sont très peu nombreuses, voire quasiment absentes au niveau des glomérules (Schwarz et al., 2013).

b) Monocytes/macrophages

Les macrophages sont des cellules immunitaires innées avec une fonction phagocytaire jouant un rôle crucial dans la défense contre les agressions tissulaires ainsi que dans l'homéostasie tissulaire par la clairance des cellules mortes.

Les macrophages intra-rénaux ont une origine hématopoïétique. Ils proviennent des monocytes et expriment CD11b ainsi que F4/80 à un niveau très élevé (Krüger et al., 2004). Dans le rein sain, ils sont localisés exclusivement au niveau des tissus conjonctifs sous-capsulaire et péri-artériel (Kaissling et al., 1996).

2.2.1.2. Cellules lymphoïdes

Le rein sain de la souris contient un nombre très réduit de lymphocytes, lesquels comprennent principalement des cellules NK et des cellules T, localisées dans l'espace péri-tubulaire (Kaissling et al., 1996).

a) Cellules NK

Les cellules NK sont des cellules lymphoïdes innées jouant un rôle clé dans la surveillance immunitaire et qui sont capables de répondre de manière très rapide au stress cellulaire.

Des travaux récents ont montré chez la souris que les cellules NK résidentes du rein possèdent un phénotype différent de celui des cellules NK circulantes. Ainsi, deux sous-populations de cellules NK co-existent : les cellules NK CD49(-)DX5(+) et les cellules NK CD49(+)DX5(-). Ces dernières, identifiées en tant que cellules NK strictement résidentes, représentent 15-20% des lymphocytes NK totaux (CD3(-)CD19(-)CMH-II(-)NK1.1(+)) du rein et sont incapables de migrer du tissu rénal vers la circulation sanguine contrairement aux cellules NK CD49(-)DX5(+) (Victorino et al., 2015).

b) Cellules T

L'existence de cellules T résidentes dans les organes en contact avec le milieu extérieur tels que le poumon ou le tissu cutané est bien documentée. De plus, ces compartiments T résidents ont la caractéristique de cellules dites « T non conventionnelles » dans des proportions plus

élevées que dans les organes lymphoïdes primaires et secondaires (Godfrey et al., 2015) (cf. 3^{ème} partie de notre exposé introductif).

Seul le groupe de Hamid Rabb a abordé de manière systématique et directe la question de la possible existence de cellules T résidentes dans le rein sain. Ses travaux permettent de conclure qu'à l'instar des autres tissus, il co-existe dans le rein en condition « steady state » des cellules T conventionnelles et T non conventionnelles (Ascon et al., 2008).

Les lymphocytes T intra-rénaux expriment un récepteur T (TCR pour « T cell receptor ») très majoritairement TCR- $\alpha\beta$ (95% versus 5% TCR- $\gamma\delta$). Ils sont principalement CD4(+) (\approx 60%) mais aussi CD8(+) (\approx 20%) et CD4(-)CD8(-) (Double Négatif ou DN) (\approx 20%).

De manière remarquable, ils présentent un phénotype différent de celui des lymphocytes T présents dans d'autres organes, tel que la rate. Ainsi, une partie significative d'entre eux (\approx 50%) expriment des taux intermédiaires de CD3 (Ascon et al., 2008), sont activés avec des niveaux d'expression de CD69 plus élevés et possèdent un phénotype effecteur/mémoire CD44(+)CD62L(+) (Ascon et al., 2008). On notera aussi qu'environ 10% des cellules T (CD3(+)) intra-rénales appartiennent au contingent iNKT (pour « invariant Natural Killer T ») (Ascon et al., 2008), une population T non conventionnelle restreinte par la molécule CD1d (Bendelac et al., 2007) (Van Kaer et al., 2013) qui sera décrite en détail dans la 3^{ème} partie de notre exposé introductif.

A l'image du foie et du poumon, la fréquence des cellules DN non conventionnelles TCR- $\alpha\beta$ est deux fois plus élevée dans le rein, comparativement à celle de la rate. Leur caractère T non conventionnel est conforté par leur expression préférentielle du marqueur NK1.1, caractéristique des cellules « T innées ». Plus récemment, cette population a été analysée sur le plan phénotypique et fonctionnel. En situation normale, ces cellules expriment des niveaux élevés de CD69, CD28 et de CD40L, et prolifèrent de manière spontanée, contrairement aux cellules T CD4(+) et CD8(+). Elles expriment aussi des cytokines anti-inflammatoires IL-27 et IL-10, leur conférant des propriétés anti-inflammatoires (Martina et al., 2016).

Enfin, le rein de la souris contient un faible pourcentage de cellules CD3(+)CD4(+)CD25(+) (\approx 2% des lymphocytes T). La moitié d'entre-elles sont des lymphocytes Treg (pour « T régulateurs ») identifiés par leur expression du facteur de transcription FoxP3, lequel constitue leur signature fonctionnelle (Ascon et al., 2008).

c) Cellules B

Les cellules B ne sont pas décrites comme ayant une localisation tissulaire en situation normale. En effet, elles sont recrutées au niveau des organes non hématopoïétiques en cas de

lésions tissulaires (Parker, 2017). Dans le rein, elles sont quasiment inexistantes chez le rat et chez l'homme. Néanmoins, chez la souris, un nombre très réduit de cellules B semble être présent au niveau du cortex rénal (Ascon et al., 2008).

2.2.2. Constituants non immunitaires

La composante non-immunitaire de l'interstitium rénal comprend principalement des fibroblastes et des progéniteurs endothéliaux mais également des péricytes (cf. partie 2.3.2 du présent chapitre).

D'origine mésenchymateuse (LeBleu et al., 2013), les fibroblastes du rein ont une forme étoilée avec de nombreux et fins prolongements qui se projettent sur les tubes et les capillaires péri-tubulaires (Kaissling et al., 1996). Par leur expression de molécules d'adhésion, de facteurs de croissance, de chimiokines et de cytokines, les fibroblastes sont capables de réguler à la fois la fibrogenèse et la réponse inflammatoire (Qi et al., 2006).

2.3. La vascularisation rénale

La vascularisation rénale, de type terminale, peut être subdivisée en quatre compartiments majeurs : les artères (de gros et moyen calibre), les veines, les capillaires (artères de petit calibre) et les vaisseaux lymphatiques. L'ensemble de ces vaisseaux est bordé par une couche unique de cellules dénommée endothélium.

Lors du développement embryonnaire, le mésoderme intermédiaire donne lieu à un progéniteur mésenchymateux qui se différencie en un précurseur endothélial (angioblaste) puis en un endothélium mature qui se spécialise pour aboutir à l'ensemble du système vasculaire rénal. Ce processus dynamique implique les voies de signalisation du VEGF (pour « Vascular Endothelial Growth Factor »), de Notch et des Sox (Kume, 2010).

2.3.1. Système endothélial rénal

Le cortex rénal représente la zone la plus dense en capillaires sanguins et reçoit presque 90% du flux sanguin rénal, contre 10% pour la médullaire (Casellas et Mimran, 1981) (Abou Ayache et Robert, 2003). Ceci entraîne une différence d'osmolarité et de pression en oxygène entre la corticale et la médullaire, laquelle explique en partie la diversité du réseau endothélial rénal. En effet, les cellules endothéliales du cortex externe sont exposées à une osmolarité et à une pression d'oxygène normale tandis que celles de la région médullaire interne sont exposées à une osmolarité élevée et à une teneur en oxygène relativement faible (Pannabecker et Layton, 2014) (Kumar et Molitoris, 2015).

Les artérioles efférentes provenant des glomérules du cortex constituent un réseau dense de capillaires glomérulaires et péri-tubulaires riche en oxygène (Kumar et Molitoris, 2015). Les artérioles efférentes provenant des glomérules juxtamédullaires aboutissent à la vasa recta, au niveau de la médulla, entourant ainsi l'anse de Henlé et le canal collecteur (Pannabecker et Layton, 2014). Cette architecture vasculaire propre au rein explique la diminution de l'oxygénation du tissu à partir du cortex jusqu'à la médulla. Ce gradient d'oxygénation est essentiel pour le maintien du gradient osmotique qui augmente en passant du cortex vers la médulla (Kumar et Molitoris, 2015).

2.3.2. Péricytes

Les péricytes, également dénommés cellules de Rouget, sont des cellules mésenchymateuses d'origine mésodermique, fortement ramifiées et entourant les cellules endothéliales des microvaisseaux de l'organisme (Armulik et al., 2005). Avec leurs propriétés contractiles, les péricytes sont capables de moduler le flux sanguin capillaire de différents organes, contrôlant ainsi le débit sanguin et agissant sur la perméabilité et l'intégrité microvasculaire de l'organisme. Les péricytes du rein, plus nombreux au niveau de la vasa recta de la médulla externe où la régulation du débit sanguin est la plus élevée, constituent ainsi une composante importante de la microvascularisation rénale (Crawford et al., 2011).

2.4. Système lymphatique

Le rein est un organe qui est parcouru par un réseau lymphatique important pour le drainage des fluides interstitiels. Notons que l'endothélium lymphatique rénal est moins bien caractérisé que l'endothélium vasculaire (Stolz et Sims-Lucas, 2015). Les vaisseaux lymphatiques du rein sont reliés aux ganglions lymphatiques, situés à proximité du hile et autour de l'aorte et de la veine cave.

Ces ganglions participent à la tolérance aux Ag solubles, en particulier aux protéines circulantes constituant le sang ou encore aux antigènes alimentaires. Ainsi, après la filtration glomérulaire, les protéines de bas poids moléculaire (inférieur à celui de l'albumine) diffusent rapidement vers les ganglions lymphatiques drainant le rein où elles sont capturées et présentées par des DC en association avec des molécules du CMH de classe I aux cellules T CD8(+). En l'absence de lymphocytes T CD4(+), l'activation des lymphocytes T CD8(+) est inefficace, et la présentation des Ag entraîne la suppression périphérique des cellules T CD8(+) autoréactives (ou spécifiques d'Ag alimentaires), agissant comme un mécanisme de maintien de l'auto-tolérance (Lukacs-Kornek et al., 2008).

Par ailleurs, plusieurs travaux ont décrit un mécanisme de protection par les macrophages M2 producteurs d'IL-10/TGF- β dans un modèle de néphropathie induite par l'adriamycine (Cao et al., 2010) (Cao et al., 2011). Cette protection repose sur leur capacité à augmenter le nombre de cellules Treg au sein des ganglions lymphatiques drainant le rein.

Chapitre II : La transplantation d'organe, un traitement de choix de l'insuffisance rénale terminale

1. L'insuffisance rénale terminale (IRT)

L'insuffisance rénale est définie par une réduction de la filtration glomérulaire avec une diurèse conservée ou non. Ceci a pour conséquence une accumulation de métabolites toxiques, comme l'urée, et une perturbation hydroélectrolytique (hyperkaliémie et hyperhydratation) et acidobasique de l'organisme (Thadhani et al., 1996). Parvenue au stade terminal, l'insuffisance rénale est associée à un risque élevé de mortalité et de morbidité nécessitant une technique de suppléance ou la transplantation rénale.

2. La transplantation rénale

2.1. Généralités

La transplantation de rein est le traitement de choix de l'insuffisance rénale terminale offrant une meilleure survie et une meilleure qualité de vie aux patients tout en étant plus économique pour la société que la prise en charge en dialyse. Depuis 1959, année de la première greffe rénale réalisée en France, le nombre de patients en attente de greffe rénale ne cesse de s'accroître. Ce nombre est bien supérieur au nombre de patients transplantés par an (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Evolution de la liste d'attente de transplantation rénale et devenir (Rapport annuel de l'Agence de la Biomédecine, 2017)

Année	2006	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Inscriptions sur liste d'attente de greffe rénale	6125	7602	8476	9089	9889	10813	11794	12459
Nombre de greffes	2731	2893	2976	3044	3074	3232	3486	/

2.2. Etats des lieux en France

En 2015, 4735 nouveaux malades, dont l'âge moyen est de 53 ans, ont été inscrits sur la liste nationale d'attente pour une greffe rénale. Environ 21% de ces nouveaux inscrits sont âgés de

plus de 65 ans, chez qui le diabète et les complications cardiovasculaires sont les plus fréquentes, augmentant le risque de comorbidité (« Agence de la biomédecine-Le rapport annuel médical et scientifique 2015 », 2017).

Selon l'Agence de la Biomédecine, l'année 2015 enregistre une augmentation de l'activité de greffe rénale remarquable atteignant le plus grand nombre de greffes annuelles jamais réalisées. En effet, 3 486 greffes rénales ont été réalisées en France, soit 52,4 par million d'habitants et une augmentation de 7,9% par rapport à l'année précédente. Ceci a été possible grâce aux nouvelles recommandations visant à faire face à la pénurie de greffons. L'une de ces principales démarches consiste à prélever des organes non seulement issus de donneurs en mort encéphalique, mais aussi après arrêt circulatoire et de donneurs dits « à critères élargis » (passant de 6,1% en 2011 à 60,2% en 2015). Ces derniers sont définis comme les donneurs âgés de plus de 60 ans ou de 50 à 59 ans présentant au moins deux des facteurs de risque suivants : cause de décès vasculaire, antécédent d'hypertension artérielle et créatininémie supérieure à 130 $\mu\text{mol/l}$.

Depuis 2011, un programme national de préservation dynamique des greffons par machine à perfusion est développé pour les reins de donneurs à critères élargis dans le but d'optimiser les résultats de ce type de greffe. En 2015, plus de la moitié de ces reins ont bénéficié d'une préservation dynamique par machine à perfusion avec significativement moins de reprise différée de fonction par rapport à la préservation statique. La réduction de la durée d'ischémie froide, qui est un paramètre impactant la reprise de fonction des greffons ainsi que leur survie à long terme, est également un objectif dans cette optimisation des greffons issus de donneurs à critères élargis.

Chapitre III : Syndrome d'ischémie-reperfusion (IR)

1. Définition et physiopathologie

L'ischémie est définie comme l'arrêt de l'apport sanguin au sein d'un tissu ou d'un organe irrigué par une artère terminale. Cette interruption de flux dans le réseau vasculaire conduit à la privation des cellules en nutriments et en oxygène, ou hypoxie, provoquant une altération du métabolisme cellulaire dans la zone d'ischémie.

L'environnement hypoxique induit une baisse du pH et du taux d'ATP intracellulaires provoquée par une perturbation du métabolisme anaérobie et l'accumulation de lactate. Ceci a pour conséquence l'altération et l'inactivation des transporteurs d'ions dépendant de l'ATPase, comme la pompe Na^+/K^+ , contribuant ainsi à un déséquilibre ionique (élévation des concentrations de sodium intracellulaire associée à une baisse concomitante de celles du potassium) et à l'augmentation des concentrations intracellulaire et mitochondriale de calcium (Eltzschig et Eckle, 2011). Ce surplus de calcium intracellulaire active les voies apoptotiques de mort cellulaire. Le manque d'ATP entraîne également un déséquilibre hydrique au sein de la cellule, provoquant un œdème cellulaire puis la mort des cellules par nécrose. Celle-ci résulte d'une rupture par turgescence des membranes plasmiques et des membranes des organites intracellulaires. L'étendue des lésions tissulaires est proportionnelle à l'intensité et à la durée de l'ischémie et dépend de la nature du tissu lésé (Kalogeris et al., 2012).

La reperfusion désigne le processus par lequel on effectue la restauration de l'apport sanguin au tissu ou à l'organe après une période d'ischémie. Bien que nécessaire pour rétablir la réoxygénation de l'organe, la réperfusion entraîne l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygènes (ERO) caractérisant le « paradoxe de l'oxygène » (Hooper, 2004) ainsi que l'activation du système immunitaire inné et la production de cytokines pro-inflammatoires dans la région d'ischémie (Jang et Rabb, 2015). La reperfusion est aussi à l'origine d'un stress du réticulum endoplasmique (RE) (Senft et Ronai, 2015) et du développement de micro-thrombi au niveau des capillaires qui ne peuvent plus assurer la réoxygénation du tissu lésé (phénomène de no-reflow) (Brodsky et al., 2002). L'ensemble de ces phénomènes amplifie et exacerbe les lésions tissulaires engendrées par l'hypoxie initiale. Il en résulte une mort cellulaire par des mécanismes nécrotique, nécroapoptique, apoptotique et autophagique (Hotchkiss et al., 2009).

Ces événements contribuent à la genèse de lésions graves non seulement au sein de l'organe concerné mais aussi à distance via la libération de médiateurs solubles. Ainsi, il a été démontré

qu'une séquence d'IR hépatique chez le petit animal entraîne la sécrétion d'IL-17A, laquelle induit une réaction inflammatoire dans d'autres organes comme l'intestin et les reins, aboutissant à un dysfonctionnement multiorganique (Park et al., 2011).

L'IR est associée à diverses pathologies telles que l'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral ischémique, les maladies vasculaires périphériques, l'apnée du sommeil, les chirurgies cardiothoraciques, vasculaire et générale, l'insuffisance rénale aiguë et bien entendu aussi la transplantation d'organe (Eltzschig et Eckle, 2011) (Kalogeris et al., 2012). Dans cette dernière situation clinique, l'IR est une séquence inévitable qui est à l'origine de processus physiopathologiques contribuant aux lésions du greffon. Lorsqu'elles sont sévères, ces lésions peuvent provoquer un dysfonctionnement global du greffon et ainsi entraîner une diminution de sa durée de vie.

De nos jours, des concepts émergents révèlent l'influence du microbiote intestinal (Pluznick, 2016), du système nerveux sympathique et parasympathique (Lambert et Schlaich, 2017), des changements épigénétiques (Mar et al., 2015) (Heylen et al., 2016) et des microparticules (Choi et al., 2014) dans la physiopathologie de l'IR associée à la transplantation rénale. Ces données récentes de la littérature devraient contribuer à élaborer de nouvelles approches thérapeutiques visant à limiter les lésions d'IR et à favoriser les mécanismes de régénération et réparation tissulaires après un épisode ischémique.

2. Conséquences de l'IR

Comme décrit plus haut, la souffrance des cellules endothéliales et épithéliales au cours de l'IR se traduit par la mise en jeu de différents programmes de mort cellulaire. Cette souffrance tissulaire est directement liée au manque d'O₂ durant la phase ischémique et au stress oxydant qui survient durant la phase de reperfusion. L'ensemble de ces processus conduit au déclenchement d'une réponse inflammatoire stérile au niveau du territoire ayant subi l'IR et à la mise en place de mécanismes de réparation cellulaire qui à plus long terme peuvent contribuer à l'installation d'une fibrose interstitielle. Cette dernière survient quand l'IR est sévère et que les processus de réparation tissulaire échouent à restaurer l'intégrité tissulaire.

Ci-après, nous développerons les conséquences cellulaires et tissulaires de l'IR rénale liées au stress oxydant.

2.1. Le stress oxydant

L'oxygène moléculaire (O₂) est un élément essentiel dans l'homéostasie et la survie des cellules de l'organisme. Il assure le fonctionnement cellulaire en tant que substrat de la production

d'ATP, mais aussi d'ERO et de monoxyde d'azote (NO) par la mitochondrie et de nombreuses réactions biochimiques intracellulaires.

En condition physiologique, les mitochondries transforment l'O₂ en ERO comme sous-produits de la respiration dont la production basale contribue aux fonctions cellulaires (survie, homéostasie des cellules). Néanmoins, leur production excessive aboutit à un déséquilibre de la balance oxydo-réductrice, lequel est délétère pour les protéines, les lipides, les acides nucléiques, les voies de signalisation cellulaire et la transcription, altérant de ce fait l'ensemble du métabolisme cellulaire (Nakazawa et al., 2016). Ainsi, lors des phénomènes ischémiques, le manque d'O₂ provoque l'arrêt de la chaîne respiratoire mitochondriale, entraînant une accumulation d'électrons au niveau de certains de ses complexes (I) (II) (III) (IV) et (V). Il en résulte une altération du fonctionnement mitochondrial et une diminution de la production d'ATP (Kezic et al., 2016). Lors de la reperfusion, les électrons libérés réagissent avec l'afflux d'O₂, cette réaction générant des radicaux hydroxylés toxiques pour l'ADN. Cette atteinte oxydative de l'ADN met en jeu l'enzyme nucléaire PARP-1 (pour « PolyADP-Ribose polymerase-1 ») dont l'activation aboutit à une chute des taux d'ATP et in fine à la nécrose des cellules (Pacher et Szabo, 2008).

Un mécanisme complémentaire responsable de dommages tissulaires par stress oxydatif lors de la reperfusion est celui conduisant à la formation du peroxy-nitrite ONOO⁻, un agent oxydant connu pour sa forte cytotoxicité. Il est généré par une réaction entre les radicaux superoxydes et le NO résultant de l'activation de la NO synthase endothéliale (eNOS) ou bien encore entre les radicaux superoxydes et la NADPH (pour « Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate »)-oxydase. En effet, eNOS et la NADPH oxydase sont surexprimées par les cellules en souffrance ischémique (Hooper, 2004).

2.2. Adaptation cellulaire à la variation d'oxygène

L'hypoxie induite par la phase ischémique de l'IR déclenche des réponses cellulaires adaptatives complexes assurant les fonctions métabolique et bioénergétique des cellules au sein de l'organe non oxygéné (Lee et Simon, 2015). Cette adaptation aux variations de l'O₂ repose sur des mécanismes de survie/protection cellulaire impliquant les facteurs de transcription HIF (pour « Hypoxia Induced Factor »), notamment HIF-1 α et HIF-2 α , la protéine mTOR-1 (pour « mammalian Target Of Rapamycin »), l'AMPK (pour « AMP-dependent protein Kinase »), l' α -cétoglutarate, des microARN, les protéines Atg (pour « autophagy-related ») et celles liées au stress du RE (Qiu et Simon, 2015). Ces mécanismes participent aux changements du métabolisme cellulaire, de la migration cellulaire, de l'angiogenèse, de l'inflammation, de l'érythropoïèse, de la respiration cellulaire et du fonctionnement global de l'organe (Ratcliffe, 2013).

Les cellules rénales, et en particulier les cellules endothéliales, possèdent un arsenal antioxydant comprenant des effecteurs enzymatiques (la superoxyde dismutase, la glutathion S-transférase, la NO-synthase, la glutathion peroxydase et la catalase) et non-enzymatiques (l'acide ascorbique et le glutathion) leur permettant de lutter rapidement contre le stress oxydatif causé par le microenvironnement, en particulier ischémique (Dobashi et al., 2000) (Yin et al., 2001) (Negre-Salvayre et al., 2009) (Korkmaz et Kolankaya, 2009) (Tan et al., 2015) (Erbatur et al., 2017).

D'autres enzymes sont impliquées, de façon indirecte, dans la défense antioxydante suite à une IR rénale. L'hème-oxygénase 1 (HO-1) initialement décrite pour être impliquée dans la dégradation de l'hème, fait partie de cet arsenal. Cette enzyme est particulièrement sensible aux variations d'O₂ tissulaire et est induite par le stress oxydatif, l'hypoxie ou certaines cytokines. Ainsi, la surexpression de HO-1 et son activation, après IR rénale chez l'animal, inhibe l'inflammation et l'apoptose des cellules endothéliales et épithéliales, et contribue au remodelage vasculaire par néo-vascularisation et angiogenèse (Chen et al., 2015).

Un autre mécanisme de défense vis-à-vis du stress oxydant généré par l'IR est la voie NRF-2 (pour « Nuclear Factor erythroid-2-Related Factor-2 »). A l'état basal, NRF-2 est séquestré dans le cytoplasme et est rapidement dégradé dans le protéasome. Lors d'un stress oxydant associé à l'IR rénale, NRF-2 est phosphorylé, transféré sous forme active dans le noyau puis se fixe sur la séquence promotrice ARE (pour « Antioxydant Responsive Element ») (Nezu et al., 2017). Cette région ARE est connue pour moduler l'expression de nombreux gènes intervenant dans la lutte contre le stress oxydatif et la détoxification. Enfin, les cassures au niveau de l'ADN génomique induites par les ERO au cours de l'IR, entraînent la mise en place de systèmes complexes de réparation. A cet égard, la protéine intracellulaire TRIP13, récemment identifiée comme facteur impliqué dans la régulation des voies associées à la réparation de l'ADN, protège les cellules épithéliales tubulaires contre les lésions rénales aiguës induites par IR via un mécanisme mettant en jeu la protéine p53 (Pressly et al., 2017).

2.3. Conséquences tissulaires

La distribution inégale de l'O₂ au sein du parenchyme rénal avec des niveaux élevés dans le cortex, intermédiaires dans la médulla externe et très bas dans les papilles, explique la susceptibilité différentielle qui existe entre les différentes zones du rein à l'IR (Kalogeris et al., 2012). Ainsi, le segment S3 du tube proximal, qui est un épithélium polarisé, monocouche et hautement spécialisé, situé au niveau de la médullaire externe, est particulièrement sensible aux lésions d'IR (Bonventre et Yang, 2011). De plus, en contact permanent avec le flux sanguin,

l'endothélium vasculaire rénal est particulièrement sensible aux variations d'O₂ et de nutriment imposées par l'IR.

2.3.1. Conséquences sur l'endothélium et la microvascularisation

La microcirculation est rapidement impactée par l'hypoxie et le stress oxydatif générés au cours de l'IR. Les changements dans le glycocalyx, constituant l'endothélium rénal, provoquent une perturbation de la perméabilité vasculaire et une activation des cellules endothéliales. L'activation endothéliale se traduit par l'expression de marqueurs de surface cellulaire favorisant le recrutement et l'adhésion des cellules inflammatoires et des plaquettes. L'expression de molécules d'adhésion, telles que ICAM-1 (pour « InterCellular Adhesion Molecule ») et VCAM-1 (pour « Vascular Cell Adhesion Molecule »), à la surface des cellules endothéliales, est étroitement liée à la souffrance ischémique. En effet, cette expression s'accompagne d'un recrutement très précoce des cellules inflammatoires, en particulier des PNN (polynucléaire neutrophiles) et des monocytes/macrophages mais également des lymphocytes, mettant en jeu des molécules chemoattractantes libérées par les cellules en souffrance. Ainsi les souris invalidées pour le gène codant la molécule d'adhésion ICAM-1 présentent après IR rénale une infiltration par les PNN réduite et une protection contre la nécrose tubulaire aiguë (Kelly et al., 1996).

La perméabilité vasculaire accrue, l'œdème interstitiel, l'adhésion leucocytaire, le stress oxydatif, la vasoconstriction par production de prostaglandines, l'agrégation plaquettaire et la formation de microthrombi, perturbent le flux sanguin et empêchent l'oxygénation des cellules, conduisant à un phénomène local de « no-reflow » où l'obstruction des capillaires vasculaires ne permet pas la bonne réoxygénation de tissu ou de l'organe, majorant ainsi les lésions d'ischémie (Zuk et Bonventre, 2016). Ceci a pour conséquence une réduction importante de la densité capillaire péri-tubulaire, laquelle s'accompagne d'une baisse de l'expression du VEGF et à une surexpression de TGF (pour « Transforming Growth Factor »)-β1, déclenchant la mise en place d'une fibrose interstitielle (Basile et al., 2001).

Le VEGF est un facteur important dans la survie, la réparation et le maintien de la fonction endothéliale rénale (Kumar et Molitoris, 2015). De plus, le rôle du VEGF et de son récepteur exprimé à la surface des cellules endothéliales, en particulier glomérulaires, dans l'amélioration de la perméabilité endothéliale, a été apportée (Roberts et Palade 1995).

Au cours de l'IR, les péricytes du rein sont la cible de divers stimuli endogènes, notamment, des ERO et du NO (Edwards et al., 2011). Une fois activés, ils se détachent des capillaires péri-tubulaires (Schimpf et al., 2012), migrent vers l'interstitium et se différencient en myofibroblastes (Chen et al., 2011). Le détachement des péricytes de l'endothélium altère sa

perméabilité et conduit finalement à une perte de microvasculature rénale (Kumar et Molitoris, 2015). La perte rapide de péricytes, après IR rénale chez la souris, est également associée à une apoptose des cellules épithéliales tubulaires (Lemos et al., 2016).

2.3.2. Conséquences sur l'épithélium rénal

Au cours de l'IR rénale, la souffrance épithéliale tubulaire se traduit par la surexpression et la libération de protéines comme NGAL (pour « Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin ») du tube collecteur et de l'anse de Henlé (Gong et al., 2012) (Zhang et al., 2016) et KIM-1 (pour « Kidney Injury Molecule-1») (Brooks et Bonventre, 2015) du tube proximal, lesquelles jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire au cours de l'IR.

La molécule KIM-1 (également connue sous le nom de TIM-1, pour « T cell Immunoglobulin and Mucin domain-1 » et HAVcr-1, pour « Hepatitis A Virus cellular receptor-1r ») est une molécule de surface cellulaire appartenant à la superfamille des immunoglobulines dont l'expression, au niveau des cellules épithéliales du tubule proximal, est augmentée après IR rénale. Cette surexpression de KIM-1 confère aux cellules épithéliales des propriétés phagocytaires leur permettant de reconnaître et d'éliminer les cellules apoptotiques et nécrotiques et d'influencer la réponse inflammatoire par la production de cytokines pro-inflammatoires (Yang et al., 2015). Quant à la protéine NGAL, qui appartient à la famille des lipocalines, elle a été initialement identifiée comme facteur sécrété par les PNN activés, lors d'infections microbiennes, pour inhiber la croissance des bactéries pathogènes. NGAL est aussi surexprimée par les cellules épithéliales du rein au niveau du tube distal, de l'anse de Henlé et du canal collecteur, après des dommages tissulaires. Une fois libérée dans le milieu extracellulaire, cette protéine possède des effets anti-apoptotiques et induit une prolifération importante des tubules rénaux après insuffisance rénale aiguë (IRA) (Mishra et al., 2003) (Singer et al., 2013).

En clinique, les récentes études associent KIM-1 et la NGAL à la souffrance tissulaire et les identifient comme de nouveaux biomarqueurs, urinaires et sanguins, précoces de l'atteinte tubulaire, plus spécifiques et prédictifs de la reprise différée de fonction rénale que la créatinine plasmatique (Mishra et al., 2003) (Singer et al., 2013) (Brooks et Bonventre, 2015).

D'autres protéines qui sont sur-exprimées par l'épithélium tubulaire après IR comme HO-1 (Chen et al., 2015) et les protéines HSP (pour « Heat Shock Protein »), en particulier HSP-70, (Kim et al., 2014), sont libérées par les cellules survivantes comme une forme d'adaptation aux stress induit par l'IR via la mise en place de processus de survie cellulaire, indispensable pour l'installation des processus de réparation tissulaire.

2.4. La réparation tissulaire et fibrose interstitielle

2.4.1. La réparation tissulaire

Les cellules tubulaires épithéliales du rein ont une capacité remarquable de régénération et de prolifération suite à une lésion rénale aiguë. Ce potentiel régénérateur leur permet de s'adapter à leur nouvel environnement et de garantir le maintien d'une fonction biologique normale. Il dépend de l'intensité et la durée du stress subi par le tissu. Ainsi, lors d'un stress biologique modéré, les cellules épithéliales endommagées sont capables d'initier des voies de réparation qui permettent une récupération et une réparation rapide de l'intégrité cellulaire. En effet, les cellules tubulaires ayant survécu au stress ischémique, via la régulation positive de HIF-1 α , se différencient en cellules mésenchymateuses pour combler le vide laissé par les cellules rénales mortes et in fine participer au remodelage et à la réparation tissulaire.

À l'inverse, un stress cellulaire sévère comme celui provoqué par l'IR conduit les cellules épithéliales tubulaires à activer les voies de mort cellulaire, entraînant une perte de cellules fonctionnelles dans le rein (Havasi et Borkan, 2011). Ce phénomène impacte la viabilité à long terme du rein et contribue au développement d'une fibrose tubulo-interstitielle pouvant conduire à une dysfonction rénale chronique (Venkatachalam et al., 2010).

Le rôle protecteur de HIF-1 α et son implication dans la réparation tissulaire après IR rénale mettent en jeu les microARN et notamment le miR-127-3p (Conde et al., 2017). Ainsi, le rôle du miR-146a en tant que médiateur de la réponse tubulaire et inflammatoire après IR rénale, a été démontré par l'utilisation de souris déficientes en microRNA-146a « souris miR-146a^{-/-} » qui présentent des lésions tubulaire sévères, un infiltrat inflammatoire important et une fibrose accrue. Le miR-146a protège des lésions d'IR en inhibant l'activité IRAK-1 (pour « IL-1 Receptor-Associated Kinase 1 »), l'expression de NF- κ B (pour « Nuclear Factor- κ B ») et par conséquent de CXCL-1, limitant ainsi le développement des lésions ischémiques responsables de l'insuffisance rénale aiguë (IRA) et la progression vers une insuffisance rénale chronique (Amrouche et al., 2017).

Dans les cas extrêmes d'IRA, liée à l'IR, où le rein est incapable de se régénérer, une insuffisance rénale chronique s'installe. Cette dernière est généralement causée par la mise en place d'une fibrose interstitielle. En effet, l'IR entraîne des lésions tubulaires et vasculaires ainsi qu'une inflammation interstitielle devant être contrôlées pour éviter le développement de cette fibrose interstitielle.

2.4.2. La fibrose interstitielle rénale

Le mécanisme pathologique de la fibrose rénale correspond à une accumulation excessive de la matrice extracellulaire, une prolifération des fibroblastes interstitiels résidents remplaçant le parenchyme rénal, une dilatation tubulaire, une atrophie et une infiltration de cellules inflammatoires résultant de l'apoptose et la nécrose des cellules tubulaires et un dysfonctionnement global de l'organe. Ainsi, l'étude des mécanismes fibrosants et l'identification de molécules anti-fibrosantes sont d'une importance majeure.

La mise en place de la fibrose tubulointerstitielle met en jeu un ensemble de facteurs qui comprennent le TGF- β , le CTGF (pour « Connective Tissue Growth Factor »), PAI-1 (pour « Plasminogen Activator Inhibitor-1 »), la voie de signalisation NF κ B, la NADPH-oxydase, l'ostéopontine, le TNF- α , le bFGF (pour « Basic Fibroblast Growth Factor ») des molécules d'adhésion vasculaire comme VCAM-1 (Klahr et Morrissey, 2000) et le récepteur de la (pro) rénine (PRR). L'ensemble de ces facteurs entraîne une production accrue de protéines de la matrice extracellulaire, qui est principalement faite de fibronectine et de collagène.

Dans l'exposé qui suit, nous nous centrerons sur le TGF- β et le PRR ainsi que sur l'implication particulière des péricytes.

La voie de signalisation la plus connue et la plus décrite dans la mise en place des phénomènes fibrosants est sans nul doute celle du TGF- β , et en particulier de l'isoforme TGF- β 1. Ce dernier est largement exprimé par toutes les cellules du rein et en particulier au niveau des glomérules, et par les macrophages. Au cours de l'IR, le stress oxydatif résultant provoque une augmentation de l'expression TGF- β à la surface des cellules mésangiales. Cette surexpression est sous l'action de l'angiotensine II (Klahr et Morrissey, 2000) (Nogueira et al., 2017). L'activation du TGF- β participe à la prolifération, la différenciation et la migration cellulaires, au contrôle de la réponse immunitaire, à la prolifération des fibroblastes et à la stimulation du stress oxydatif via l'activité de la NADPH oxydase mésangiale (Nogueira, Pires, et Oliveira, 2017). La conséquence est l'accumulation de matrice extracellulaire dense dans l'interstitiel rénal. La rénine et l'aldostérone semblent également avoir des effets fibrogènes et cet effet ne paraît pas dépendre de l'action de l'angiotensine II (Nogueira, Pires, et Oliveira, 2017).

Une étude récente rapporte une surexpression du récepteur de PRR par l'épithélium tubulaire rénal après une IR rénale chez la souris. Cette surexpression est associée à une accumulation de fibronectine et d' α -SMA (pour « α -Smooth Muscle Actin ») ce qui favorise la fibrose interstitielle via la voie de signalisation Wnt/ β -caténine. De plus, après une insuffisance rénale chronique,

l'analyse histologique de biopsie rénale a également révélé une surexpression de PRR rénale chez l'homme (Li et al., 2017). De nombreux travaux ont exploré la possibilité de prévenir pharmacologiquement la fibrose, partant d'observations cliniques et expérimentales. Ainsi, une administration d' α -Klotho, protéine fortement exprimée dans le rein et possédant des propriétés anti-fibrotiques, entraîne la réduction des lésions d'IR et atténue la fibrose interstitielle (Hu et al., 2017).

Les péricytes, en se détachant de l'endothélium vasculaire après IR rénale, prolifèrent de manière excessive, perdent leur capacité à produire l'EPO (Érythropoïétine) et se transforment en myofibroblastes capables de synthétiser les composants protéiques de la matrice extracellulaire (Kloc et al., 2015) (Kramann et Humphreys, 2014). Les péricytes sont considérés comme la principale source de myofibroblastes. Ce processus de transformation est initié par la mise en jeu des voies de signalisation du VEGF, produit par les péricytes eux-mêmes, et du PDGF (pour « Platelet-Derived Growth Factor ») produit par les cellules endothéliales (Kramann et Humphreys, 2014) (Kloc et al., 2015).

Enfin, comme nous le traiterons dans le chapitre suivant, le système immunitaire inné a une place centrale dans le processus inflammatoire associé à l'IR rénale. Or il est aussi une composante essentielle de la réparation tissulaire et de la mise en place de la fibrose tubulointerstitielle. Ainsi, les macrophages pro-inflammatoires recrutés dans les heures qui suivent l'IR se polarisent au bout de 5 à 7 jours en macrophages anti-inflammatoires de type M2. Ces derniers produisent du TGF- β et de l'IL-10 indispensables au processus de réparation tissulaire (Huen et Cantley, 2017).

3. Mécanismes de l'inflammation stérile médiée par l'IR

Les changements métaboliques, la production d'ERO, le stress du RE, les perturbations de la fonction mitochondriale et la souffrance tissulaire sont autant d'éléments complémentaires convergents de la réaction inflammatoire responsable des lésions associées à l'IR rénale. Cette inflammation, qui n'est pas déclenchée par un agent pathogène mais par des signaux liés au stress cellulaire, est dénommée « inflammation stérile ». A l'image de l'inflammation médiée par un agent pathogène, l'inflammation stérile met en jeu les cellules et les médiateurs de l'immunité innée afin de faire face aux dommages tissulaires et d'initier la réparation des dégâts engendrés. Selon cette définition, l'IR rénale en expérimentation animale est donc un modèle d'inflammation stérile. L'ensemble des données présentées ci-dessous sont issues de travaux de la littérature réalisés en modélisant l'IR rénale chez la souris.

3.1. Initiation du processus immuno-inflammatoire

En réponse à l'IR, les cellules endothéliales et épithéliales, par leur expression de molécules d'adhésion comprenant ICAM-1, VCAM-1 (Burne et al., 2001), les sélectines (E, L et P) et les intégrines β 1, 2 et 3 (McEver, 2015) ainsi que par leur production de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 β , l'IFN- γ , l'IL-6 (Dinarello, 2000), l'IL-18 (Yang et al., 2015), l'IL-12, l'IL-17A (Li et al., 2010) et l'IL-17F (Riedel et al., 2016), elles-mêmes aboutissant à leur production de chimiokines, contribuent à l'initiation de la réponse immuno-inflammatoire responsable des lésions tissulaires (Bonventre et Yang, 2011).

Chronologiquement, la barrière endothéliale rénale, par la modification de sa perméabilité vasculaire au cours de l'IR, facilite l'infiltration des leucocytes dans le parenchyme rénal, initiant par conséquent la réponse inflammatoire précoce in situ (Molitoris et Sutton, 2004). La perte de molécules telles que la nétrine-1 (Ranganathan et al., 2013) et la S1P1R (pour « Sphingosine-1-Phosphate 1 Receptor ») (Ham et al., 2014) impliquées dans le maintien de l'intégrité tissulaire, ou encore la surexpression de molécules d'adhésion par l'endothélium rénal, favorisent l'extravasation des cellules immunitaires vers le rein lésé, contribuant ainsi à la réponse inflammatoire.

L'épithélium tubulaire rénal, site majeur de souffrance et de mort cellulaires au cours de l'IR, participe également à l'initiation de la réponse immuno-inflammatoire par des processus mettant en jeu des facteurs membranaires, intracellulaires et nucléaires. Au cours de l'IR, les cellules tubulaires du segment S3 activées via TLR2 et TLR4, libèrent les cytokines IL-6, TNF- α et IL-1- β . Ces cellules expriment également le facteur de transcription IRF-1 (pour « Interferon Regulatory Factor-1 ») (Winterberg et al., 2013), la voie des Rho kinase (Prakash et al., 2008), et les molécules CD80 (B7-1) et CD86 (B7-2) (Niemann-Masanek et al., 2002), qui contribuent à la réponse immuno-inflammatoire (**Figure 2**).

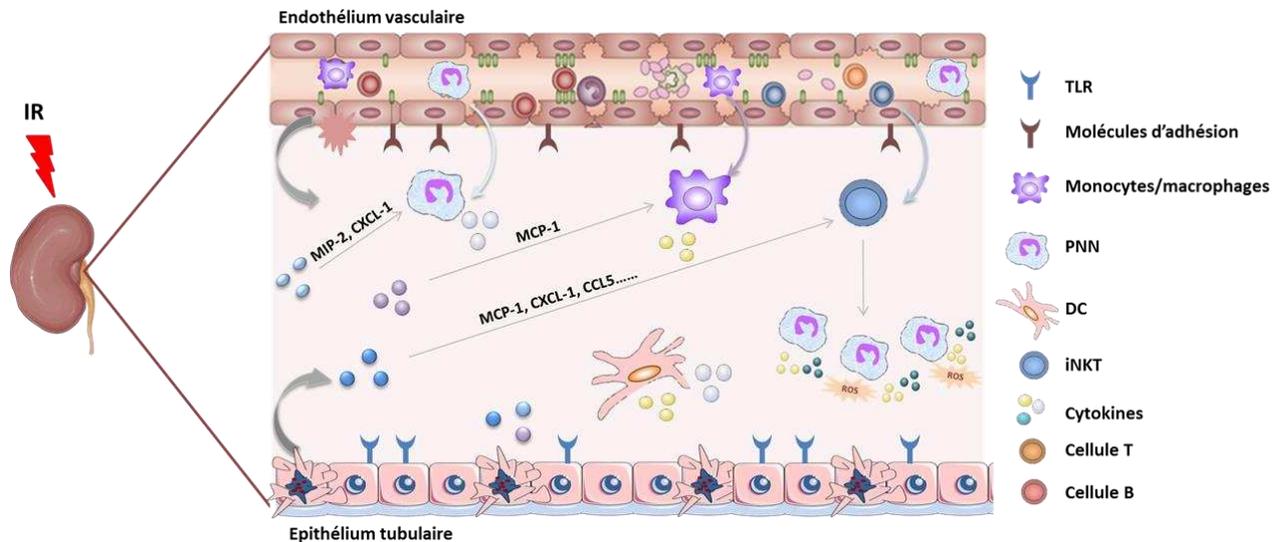


Figure 2 : Principaux évènements immuno-inflammatoires déclenchés par l'IR rénale chez la souris.

Soulignons enfin la contribution des DC résidentes dont l'activation rapide entraîne leur production de $\text{TNF-}\alpha$ et d' $\text{IFN-}\gamma$, principaux inducteurs de la production locale de chimiokines. L'activation précoce et conjointe des cellules endothéliales, épithéliales tubulaires et immunitaires résidentes, par cette production de cytokines pro-inflammatoires mais aussi par l'activation de la cascade du complément, les ERO, le facteur $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ou encore les voies de signalisation associées à l'activation des TLR convergent vers leur propre production de chimiokines, principal mécanisme du recrutement leucocytaire.

Les principales chimiokines impliquées sont CCL2/MCP-1 (pour « Monocyte Chemoattractant Protein-1 »), CCL5/RANTES (pour « Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted »), CXCL-9/MIG (pour « Monokine Induced by Gamma interferon »), CXCL-10/IP-10 (pour « Interferon γ -induced Protein »), CXCL-1/KC (équivalent de l' IL-8 chez l'homme) et l' IL-17A . Elles jouent un rôle clé dans le recrutement et l'activation des PNN, des monocytes/macrophages et des lymphocytes T, NK et NKT (Farber, 1997) (Chung et Lan, 2011) (**Figure 3**).

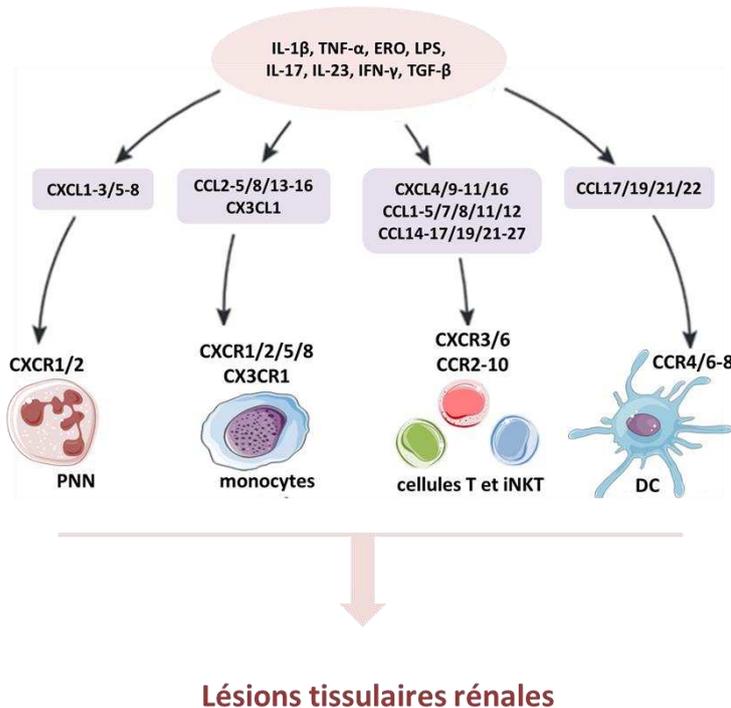


Figure 3 : Principales chimiokines impliquées en IR rénale et leurs cibles immunitaires. D'après Chung et al., 2011

3.2. Recrutement leucocytaire

Dans les premières 24 heures qui suivent la reperfusion, un recrutement important de cellules immunitaires est observé. Cet infiltrat est principalement composé de PNN, de monocytes/macrophages et de différentes populations lymphocytaires innées (cellules NK) ainsi que des populations lymphocytaires T et B ayant un caractère inné (cellules NKT et B-1) (**Figure 4**).

Les monocytes/macrophages et les PNN. Dès 30 minutes suivant le déclenchement de la séquence d'IR, des PNN et des monocytes circulants (qui se différencieront in situ en macrophages pro-inflammatoires dits de type « M1 ») sont recrutés. Ce recrutement atteint un pic à 24 heures et persiste jusqu'à 7 jour post-IR (Ysebaert et al., 2000). Ces cellules de l'inflammation produisent des ERO, tels que le H₂O₂ et le NO et des cytokines pro-inflammatoires exacerbant les lésions tissulaires.

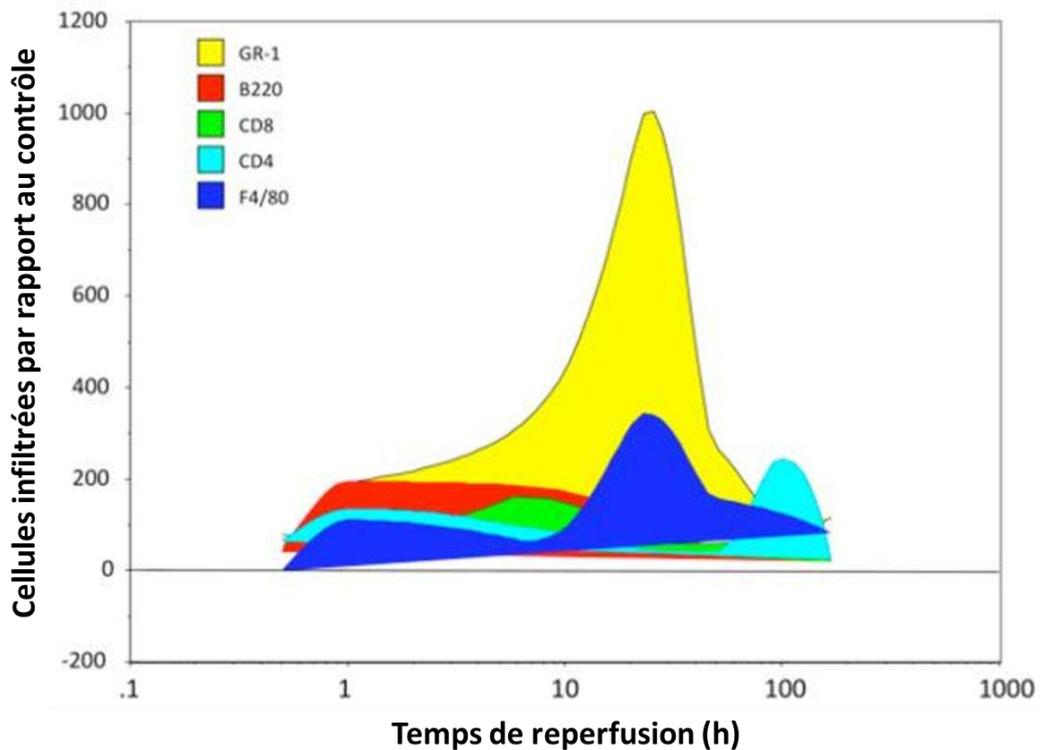


Figure 4 : Analyse de l'infiltrat leucocytaire intra-rénal après IR chez la souris. Les différentes populations leucocytaires ont été identifiées par cytométrie en flux dans la fenêtre des cellules vivantes CD45(+) 7AAD(-). D'après Li et Okusa, 2010.

Les PNN. Le recrutement et l'activation des PNN qui dépend en partie de l'IL-17 induit une production d'IL-17A par ces dernières, de manière dépendante de l'IL-23. Cette boucle d'amplification permet d'attirer de plus en plus de PNN activés au site de l'inflammation, participant de ce fait à l'aggravation des dommages tissulaires (Li et al., 2010).

Les cellules NKT. Le recrutement de PNN, qui est requis dans la genèse des lésions rénales, met en jeu les cellules iNKT. En effet, le groupe d'Okusa a montré que les souris dépourvues de cellules iNKT avaient moins de lésions rénales et moins de recrutement de PNN producteurs d'IFN- γ et d'IL-17 (Li et al., 2007). Dans un travail indépendant, le recrutement des cellules NKT a été observé dès 3 heures après la reperfusion (Ascon et al., 2006). Il faut noter que les cellules NKT constituent une population lymphocytaire T hétérogène qu'on peut classer en NKT de type I et II. Pour une pathologie donnée, ces différentes sous-populations de cellules NKT peuvent avoir des fonctions opposées. En modélisation de l'IR rénale in vivo et in vitro, les cellules NKT de type II, après activation par le sulfatide, protègent les cellules tubulaires épithéliales contre les lésions d'IR. Cet effet protecteur passe par un mécanisme mettant en jeu HIF-1 α et la cytokine anti-

inflammatoire IL-10 (Yang et al., 2011). L'implication des cellules NKT de type I (cellules iNKT) dans les phénomènes d'IR rénale fera l'objet de la partie III de notre introduction générale.

Les lymphocytes NK. Les travaux d'Ascon et al., et de Zhang et al. ont décrit un recrutement délétère des lymphocytes NK dans l'IR rénale. Ainsi, les cellules NK (CD3(-) NK1.1(+)) sont recrutées de manière précoce, entre 3 à 4 heures après IR, pour décroître très rapidement, leur nombre dans le rein ischémié étant 24 heures post-IR inférieur à celui du rein contrôle (Ascon et al., 2006) (Zhang et al., 2008). De plus, la déplétion en cellules NK confère aux souris une protection contre les lésions d'IR. En miroir, la reconstitution des souris déficientes en cellules NK, par transfert adoptif, induit des lésions semblables à celles du phénotype sauvage. La modélisation *in vitro*, par la même équipe, a permis de proposer un mécanisme d'action expliquant le rôle délétère des cellules NK en IR rénale. Au contact des cellules tubulaires épithéliales, qui surexpriment la molécule Rae-1, les cellules NK, via leurs récepteurs de surface NKG2D (pour « Natural Killer Group D2 »), dégranulent, libérant la perforine, ce qui provoque la mort des cellules tubulaires (Zhang et al., 2008).

Cellules T CD4(+). La littérature s'accorde pour attribuer aux cellules T CD4(+) un rôle clé dans la genèse et le contrôle des lésions précoces et tardives accompagnant l'IR. Les lymphocytes T CD4(+) sont présents dans les lésions précoces d'IR rénale et persistent jusqu'à 11 semaines (Kinsey et al., 2010) (Day et al., 2006). Il s'agit de cellules effectrices de phénotype activé (CD69(+)) et effecteur-mémoire (CD44^{high}CD62L(+)) qui contiennent le pool de cellules CD4(+) iNKT auxquelles on attribue des fonctions délétères (Day et al., 2006) (Li et al., 2007). Ainsi, les souris déficientes en cellules T CD4(+) sont protégées contre l'IR rénale.

A l'inverse, les lymphocytes Treg (CD4(+)CD25(+)FoxP3(+)), dont le recrutement commence dès 24 heures après la reperfusion (Kim et al., 2014) et persiste entre 3 à 10 jours post-IR (Gandolfo et al., 2009), limitent le processus inflammatoire par la production d'IL-10 (Kinsey et al., 2009). Le transfert adoptif de lymphocytes Treg avant la séquence d'IR rénale protège les souris contre les lésions rénales (Cho et al., 2010) (Kinsey et al., 2010) tandis que leur transfert adoptif après la séquence d'IR rénale diminue la production d'IFN- γ et accélère la réparation tissulaire (Gandolfo et al., 2009).

Les lymphocytes B. Des fonctions protectrices et délétères ont été attribuées aux cellules B au cours de l'IR rénale (Burne-Taney et al., 2003) (Renner et al., 2010) (Jang et al., 2010). Les cellules B-1 auraient successivement des effets délétères et protecteurs sur le rein après IR. Ainsi, dès 24 heures après la reperfusion et sous l'effet de la chimiokine CXCL-13, les cellules B-1,

productrices d'IgM, migrent du péritoine vers le rein ischémié où elles exercent leur effet précoce délétère. Au bout de 3 jours, leur différenciation en cellules plasmablastiques exprimant CD126 leur permettrait, par un mécanisme mettant en jeu l'IL-10 et le VEGF, de faciliter la régénération tubulaire après une lésion rénale aiguë (Renner et al., 2010) (Jang et al., 2010). Indépendamment, la sous-population B régulatrice (Breg) (CD1d^{high}CD5(+)) productrice d'IL-10 pourrait aussi exercer une fonction protectrice après IR rénale (Renner et al., 2010).

En conclusion, la physiopathologie de l'IR rénale implique des processus à la fois biochimiques et immunologiques pour aboutir aux dommages tissulaires. La compréhension des mécanismes sous-jacents précoces impliqués dans l'initiation de la réponse immuno-inflammatoire permettra d'identifier des cibles thérapeutiques. Pour ce faire, l'élaboration de modèles expérimentaux tant cognitifs que pré-cliniques reste incontournable.

Deuxième partie

L'alarmine IL-33, une réponse au stress tissulaire

Chapitre I : Les alarmines

Le processus physiopathologique de l'IR, et la réponse inflammatoire qui en découle, présentent des analogies avec la réponse inflammatoire induite par un agent pathogène. Dans les deux cas, des signaux d'alerte sont mis en place par l'organisme pour faire face au stress induit par l'agression en question. Or quelle que soit la nature de l'agression, ces signaux de danger agissent sur des récepteurs spécifiques communs de l'immunité innée permettant le déclenchement d'une réponse immune.

Dans la partie ci-dessous, nous décrirons ces signaux de danger, leurs mécanismes d'action ainsi que leur implication en physiopathologie rénale, avec un intérêt particulier accordé à l'IR rénale.

1. Concept du signal danger

Durant de nombreuses décennies, et ce, jusqu'à la fin des années 80, les immunologistes attribuaient au système immunitaire une fonction unique destinée à la défense de l'organisme contre les infections causées par des pathogènes. En effet, les toutes premières théories et notamment celle de l'« horror autotoxicus » par Paul Ehrlich (Prix Nobel 1908) ou encore celle du « soi et du non-soi », de 1969, par Burnet, postulent que le système immunitaire de défense est capable de discriminer uniquement le soi du non soi tout en échappant à l'auto-réactivité du soi (Pradeu et Cooper, 2012). A la fin des années 80, Charles Janeway fut le premier à proposer l'existence d'une classe de récepteurs appartenant au système immunitaire inné et capable de reconnaître des structures d'origine microbienne conservées, dénommées "motifs", ceci avant même leur identification moléculaire (Janeway, 1989) (Mogensen, 2009). Il est maintenant bien admis que la défense de l'hôte contre les agents microbiens est initiée par la reconnaissance de PAMP (pour « Pathogen-Associated Molecular Patterns ») par le système immunitaire inné via des récepteurs spécifiques, les PRR (pour « Pattern Recognition Receptors »), dont font partie les TLR (pour « Toll-Like Receptors »). Cette reconnaissance déclenche des cascades de signalisation intracellulaire responsables de l'expression d'une variété de molécules pro-inflammatoires qui contribueront à l'élimination de l'agent microbien et participeront à la mise en place d'une réponse immune adaptative (Mogensen, 2009).

Cette compréhension relativement récente des mécanismes impliqués dans la reconnaissance des agents microbiens dans la réponse immunitaire innée via les complexes PAMP-PRR, a amené, dans les années 90, Polly Matzinger à proposer sa théorie du « signal de danger » ou du « signal d'alarme » (Matzinger, 1994). Cette dernière postule, qu'en plus des molécules exogènes, le système immunitaire peut également être activé par des molécules endogènes libérées par

l'organisme lui-même, suite à un stress. Le terme DAMP (pour « Damage-Associated Molecular Patterns ») fut attribué à cette classe de molécules.

De nos jours, on admet donc l'existence de deux classes de molécules servant de signaux de danger pouvant alerter le système immunitaire et déclencher une réponse appropriée : les DAMP, d'origine endogène résultant du stress cellulaire et responsables de l'inflammation stérile, et celles d'origine exogène dont font partie les PAMP. Il faut noter que durant la réponse anti-infectieuse, les PAMP induisent aussi la libération de DAMP par les cellules endommagées. Les DAMP et les PAMP constituent une grande famille de molécules qui possèdent des récepteurs en partie communs, les PRR, qui peuvent agir sur les mêmes cibles cellulaires innées, en particulier les DC (**Figure 5**).

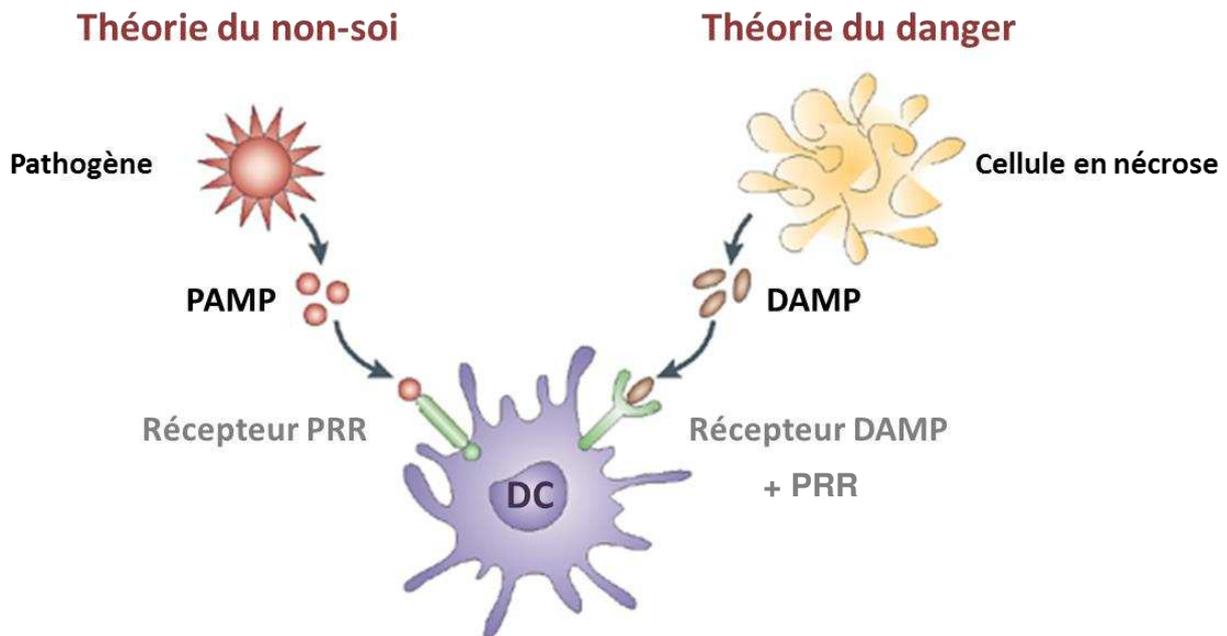


Figure 5 : Théorie du non-soi et du danger. D'après Kono et Rock, 2008

Le tableau ci-dessous réunit les principaux DAMP répertoriés (**Tableau 2**). Il s'agit de métabolites et de structures protéiques « constituants » de la cellule et dont la « fuite passive » dans l'espace extracellulaire lors de la perte d'intégrité de la cellule déclenche une activation du système immunitaire inné. A titre d'exemple, citons les histones libérées dans l'espace extracellulaire par les cellules épithéliales tubulaires en nécrose. Ces histones interagissent alors directement avec les TLR2 et les TLR4 et déclenchent des cascades de signalisation impliquant la molécule NF- κ B et la voie des MAPK (pour « Mitogen-Activated Protein Kinases ») (Allam et al., 2012). L'héparine

sulfate, composant de la matrice extracellulaire et ligand endogène des PRR, agit sur les DC de manière dépendante de TLR4 (Johnson et al., 2002). Enfin, l'haptoglobine, protéine de l'inflammation aux effets antioxydants, libérée au cours de la nécrose cellulaire, active les DC qui produisent alors l'IL-6 et le TNF- α de manière dépendante de MyD88 (pour « Myeloid Differentiation Primary Response gene 88 ») (Shen et al., 2012).

Tableau 2 : Récapitulatif des principaux DAMP. D'après Bianchi, 2007 et Kono et al., 2008

DAMP	Activité pro-inflammatoire	Récepteurs
HMGB1	In vivo : inflammation au cours de lésions hépatiques ; recrutement de PNN In vitro : chimiotaxie, induction de cytokines, activation des DC	RAGE, TLR2, TLR4
Acide urique	In vivo : responsable de la maladie de la goutte, recrutement des PNN In vitro : induction de cytokines, activation des DC	TLR2, TLR4, CD14
Chromatine, nucléosomes et ADN	In vivo : recrutement des PNN In vitro : induction de cytokines, activation des cellules B par les complexes chromatine-IgG, activation des DC	TLR9 (avec le BCR ou le récepteur du Fc)
HSPs (HSP60, HSP70, HSP90 et gp96)	In vitro : induction de cytokines, maturation des DC (gp96 et HSP70)	CD14 (HSP70 et HSP60) ; CD91 (HSP70, HSP90, gp96 et calréticuline) ; récepteur scavenger (HSP70, gp96 et calréticuline) ; TLR4 (HSP60) ; TLR2 et TLR4 (HSP60 et gp96); CD40 (HSP70)
Adénosine et ATP	In vivo : exacerbation de la néphrite par la molécule purifiée In vitro : chimiotaxie, maturation des DC	Récepteurs P1, P2X and P2Y (ATP); récepteurs A1, A2A, A2B et A3 (adénosine)
Galectines	In vivo : recrutement des monocytes In vitro : chimiotaxie, maturation des DC	CD2 et les autres CD composés de β -galactose
Protéines S100	In vivo : recrutement de PNN In vitro : chimiotaxie; induction de cytokines	RAGE
Cathélicidines	In vitro : chimiotaxie	FPRL1

Peptides N-formylés	In vivo : recrutement des PNN In vitro : chimiotaxie des DC	FPR et FPRL1
DAMP	Activité pro-inflammatoire	Récepteurs CD44, TLR2 et TLR4
Acide hyaluronique	In vivo : réduction de l'inflammation du poumon induite par la bléomycine par des peptides bloquants In vitro : induction de cytokines, maturation des DC	
Sulfate d'héparane	In vitro : induction de cytokines	TLR4
Fibrinogène	In vitro : induction de cytokines, maturation des DC	Intégrines et TLR4
Peptides dérivés du collagène	In vivo : recrutement des PNN In vitro : chimiotaxie, maturation des DC	/
Fibronectine	In vitro : chimiotaxie, maturation des DC	Intégrines
Laminine	In vivo : Recrutement des PNN In vitro : chimiotaxie	Intégrines

BCR : récepteur aux cellules B; CCR : récepteur de chimiokine-CC; CXCR: récepteur de chimiokine CXC; DAMP : damage-associated molecular pattern; DC : cellules dendritiques; FPR : formyl peptide receptor; FPRL1 : formyl peptide receptor-like 1; HMGB1 : high mobility group box 1 protein; HSP : heat-shock protein; RAGE : receptor for advanced glycation end-product; TLR : Toll-like récepteur.

Dans la partie qui suit, nous nous intéresserons à une classe particulière de molécules de danger que sont les « alarmines ».

2. Définition des alarmines

Le concept d'« alarmine » a été initialement proposé par Joost Oppenheim en février 2006, à l'issue d'un Atelier EMBO (pour « European Molecular Biology Organization ») consacré aux signaux de danger et à la protéine HMGB1 (pour « High Mobility Group box-1 ») à Milan en Italie. Le terme alarmine a été utilisé pour distinguer les molécules endogènes libérées par les cellules endommagées de celles qui sont d'origine exogène, les PAMP (Bianchi, 2007). La particularité des alarmines réside dans le fait qu'en plus d'être libérées passivement par les cellules suite à un dommage tissulaire et d'être capables d'activer le système immunitaire, elles

sont également dotées d'un pouvoir régénérateur en participant à la réparation (remodelage) tissulaire et au retour de l'homéostasie tissulaire après une inflammation.

Soulignons qu'à ce jour, de nombreux auteurs utilisent indistinctement les termes « alarmines » et « DAMP » pour désigner les molécules endogènes constituant des signaux de danger et il n'y a pas de définition stricte et communément acceptée pour les alarmines.

Dans le présent document, nous définirons les alarmines comme un groupe de protéines constitutivement exprimées par un très grand nombre de cellules de l'organisme et dont :

- 1) la libération dans le milieu extracellulaire est passive mais très rapide au cours de la mort cellulaire non programmée,
- 2) la capacité à recruter et à activer les cellules de l'immunité innée via les PRR ou des récepteurs des cytokines permet d'initier une réponse adaptative,
- 3) l'implication dans la réparation tissulaire et la restauration de son intégrité, après une agression cellulaire ou une inflammation, contribue au retour de l'homéostasie,
- 4) les modes d'action et les fonctions peuvent être multiples et ciblant les cellules immunitaires et non-immunitaires de manière similaire aux cytokines mais avec des modes de sécrétion qui leur sont particuliers.

Citons en premier lieu la protéine HMGB-1, archétype des alarmines, les protéines S100, la molécule HDGF (pour « Hepatoma-Derived Growth Factor »), les défensines, les cathélicidines, les protéines HSP ou encore la cytokine IL-1- α .

3. La protéine HMGB-1, l'archétype des alarmines

L'une des molécules remplissant parfaitement tous les critères d'une alarmine est la protéine HMGB1.

Une expression constitutive. Les protéines HMGB appartiennent à la grande famille des protéines non histones associées à la chromatine, dénommée HMG et décrite en 1973. Ce sous-groupe, qui comporte 3 membres (HMGB1, HMGB2 et HMGB3), constitue un ensemble de protéines particulièrement conservées chez les mammifères (Gerlitz et al., 2009). Contrairement aux protéines HMGB2 et HMGB3 qui sont exprimées principalement durant l'embryogenèse, la protéine HMGB1 est caractérisée par une expression plus élevée et ubiquitaire (Kang et al., 2014).

Un facteur nucléaire. Constituant du noyau, HMGB1 participe à l'organisation de la chromatine et à sa stabilité ainsi qu'à la régulation transcriptionnelle des gènes. Ce rôle semble être capital car

les souris déficientes pour le gène HMGB1 (souris HMGB1^{-/-}) sont non viables (Agresti et al., 2003) (Li, Liang, et Lotze, 2013).

Un mode de sécrétion particulier. La libération d'HMGB1 dans le milieu extracellulaire peut se faire de manière passive mais aussi de manière active. La sécrétion passive survient après une mort cellulaire par nécrose. En cas d'apoptose, les cellules modifient leur chromatine de telle sorte que HMGB1 se fixe de manière irréversible, empêchant ainsi sa libération dans l'espace extracellulaire (Scaffidi et al., 2002). Les cellules possédant un pouvoir cytotoxique, comme les lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'antigène ou les cellules NK, provoquent la libération de HMGB1 par leurs cellules cibles (Ito et al., 2007).

La libération d'HMGB1 par voie active se fait en réponse à un stress cellulaire tel que l'ischémie d'un organe (Tsong et al., 2007). Dans ce cas de figure, certains auteurs lui attribuent même des fonctions « cytokine-like » (Scaffidi et al., 2002) (Tsong et al., 2007). La sécrétion d'HMGB1 requiert une translocation directe d'HMGB1 du noyau vers le cytoplasme, sans passer par la voie réticulum endoplasmique-appareil de Golgi (Wang et al., 1999) (Bianchi, 2009). Lorsqu'elles sont activées, les cellules myéloïdes, comme les monocytes/macrophages (Gardella et al., 2002), les DC (Li, Liang, et Lotze, 2013) et les cellules NK (Cerwenka et al., 2016) peuvent sécréter leur protéine HMGB1 nucléaire. De la même manière, les neurones (Rauvala et al., 1988), les cellules épithéliales de l'intestin (entérocytes) (Liu et al., 2006), les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales (Porto et al., 2006) et les kératinocytes de la peau (Mou et al., 2017) peuvent libérer la molécule HMGB1 activement sans dépendre du système réticulum endoplasmique-appareil de Golgi.

Un facteur de réparation tissulaire. Le stress cellulaire déclenche une libération passive mais aussi active de HMGB1 (Feghali et al., 2009) par des cellules immunitaires (Li, Liang, et Lotze, 2013) et par des cellules non-immunitaires comme les cellules épithéliales, les fibroblastes, les cellules musculaires lisses du poumon et du foie (Chen et al., 2013) (Ojo et al., 2015). Cette sécrétion d'HMGB1 dans le milieu extracellulaire participe au remodelage tissulaire en favorisant la production des protéines constituant la matrice extracellulaire des tissus (Lee et al., 2013) (Ojo et al., 2015). La molécule HMGB1 contribue également à la fibrose pulmonaire (He et al., 2007).

4. Transduction du signal alarmine

Comme indiqué dans le tableau ci-dessus (**Tableau 2**), les alarmines et les DAMP activent les récepteurs PRR dont font partie les TLR, les RAGE (pour « Receptor for Advanced Glycation End products »), les NLR (pour « NOD-like receptors »), les CLR (pour « C-type Lectin

Receptors »), les RLR (pour « RIG-I-Like Receptors ») mais aussi les récepteurs des cytokines comme l'IL-1R, conduisant à des réponses inflammatoires (Land, 2015).

La liaison des alarmines à leurs récepteurs entraîne l'activation de voies de signalisation incluant la voie NF- κ B, la voie des MAPK et celle des PI3K/Akt, permettant la production de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines par les cellules cibles (Allam et al., 2012). Ces interactions alarmine/récepteur déclenchent des cascades de signalisation impliquant, généralement la molécule adaptatrice MyD88, commune à l'ensemble des TLR, excepté TLR3 (Allam et al., 2012).

A titre d'exemple, les protéines HSP70, après leur libération par les cellules rénales en nécrose, interagissent avec les TLR2 et les TLR4 exprimés à la surface des cellules épithéliales tubulaires pour déclencher une cascade de signalisation impliquant l'axe MyD88/-IRAK/NF- κ B (Asea et al., 2002) (Zhao et al., 2014). Les protéines HSP70 peuvent aussi activer la voie de signalisation Akt et l'enzyme GSK3 β (pour « Glycogen Synthase Kinase 3 β ») (Zhiyong Wang et al., 2011). Les protéines S100 A8/A9 activent les TLR4 et MyD88 pour induire la phosphorylation de p38 et de JNK (pour « c-Jun N-terminal Kinases »), conduisant à la production de cytokines pro-inflammatoires (Kim et al., 2016). Quant à l'alarmine/cytokine IL-1- α , une fois libérée par les cardiomyocytes en nécrose en réponse à une ischémie cardiaque, elle agit sur les fibroblastes cardiaques en se fixant sur son récepteur IL-1R et participe ainsi à la réponse inflammatoire de manière dépendante de MyD88 (Lugrin et al., 2015).

L'alarmine HMGB-1 interagit avec de nombreux récepteurs comme RAGE, les récepteurs TLR 2, 4 et 9, Mac-1 (pour « Macrophage-1 antigen »), syndecan-1 (CD138), PPTP (pour « phosphacan protein-tyrosine phosphatase »)- ξ/β , CD24, CXCR4 ou encore TIM-3 (pour « T-cell immunoglobulin mucin-3 ») (Chen et al., 2013). Les récepteurs RAGE, initialement identifiés chez les patients diabétiques comme récepteurs aux produits de glycation avancée ou AGE (pour « Advanced Glycation End products »), reconnaissent également certaines alarmines comme les protéines S100 et des DAMP comme les peptides β -amyloïdes (Bierhaus et al., 2005). Ces récepteurs appartiennent à la super-famille des immunoglobulines et sont exprimés à des niveaux très variables à la surface de nombreuses cellules, y compris endothéliales. A l'instar des TLR, la transduction du signal via RAGE implique les voies de signalisation MAPK (Ras, Rac/Cdc42 et p38) et conduit à l'activation de NF- κ B et à la synthèse de médiateurs pro-inflammatoires tels que les cytokines IFN- γ , IL-6, TNF- α , IL-1- β et des chimiokines comme MCP-1 et MIP-2, de manière dépendante de MyD88 (**Figure 6**). De plus, l'interaction RAGE-HMGB1 active la voie de signalisation Jak/STAT qui contribue aussi à la production de médiateurs pro-inflammatoires (Messmer et al., 2004) (Song et al., 2014).

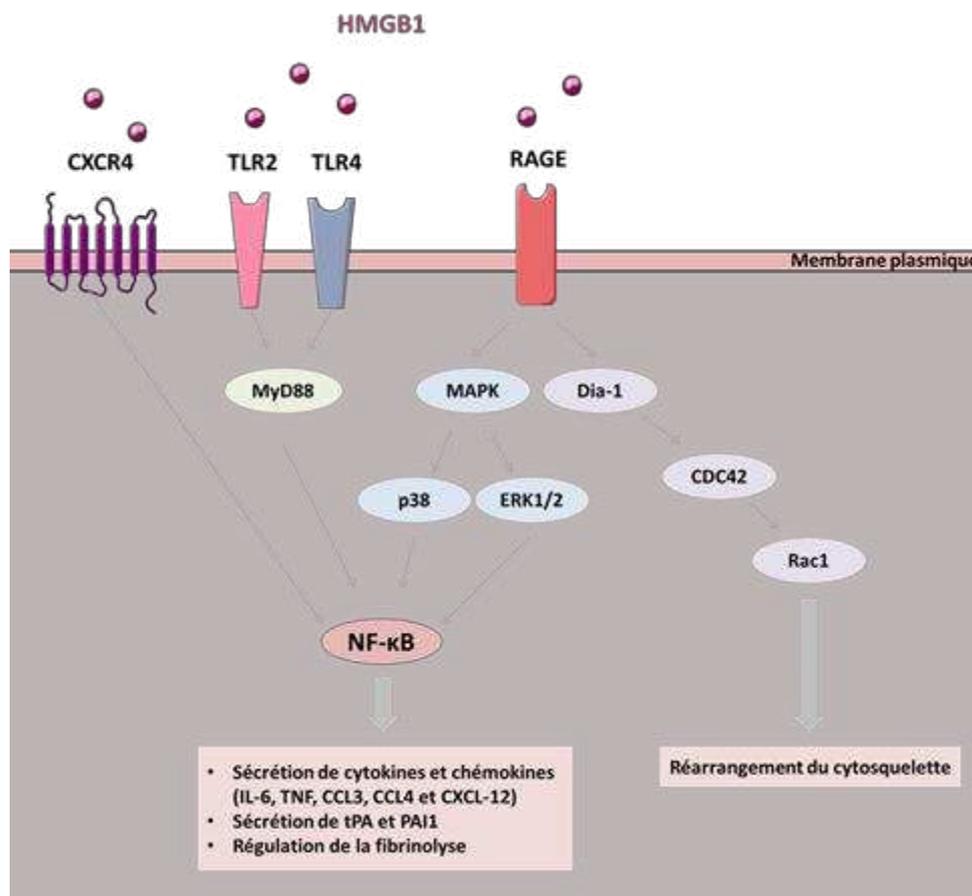


Figure 6 : Voie de signalisation intracellulaire médiée par HMGB1. Adapté de Chen et al., 2016

5. Modes de régulation de l'activité « alarmine » : l'exemple de HMGB1

Du fait de leurs fonctions extracellulaires puissantes, les alarmines doivent être contrôlées et neutralisées. Pour ce faire, l'organisme a élaboré des stratégies permettant l'inhibition de ces molécules.

L'inflammation causée par HMGB1 peut être atténuée par l'expression de son récepteur RAGE dans sa forme soluble et par la thrombomoduline, une protéine issue des cellules endothéliales qui se lie à la thrombine pour activer cette dernière (Abeyama et al., 2005). Le complexe thrombine-thrombomoduline est responsable du clivage de HMGB1 et de l'inhibition de ses fonctions biologiques (Ito et al., 2007). Celles-ci peuvent aussi être régulées par des modifications post-traductionnelles (Yang et al., 2012). Ainsi, HMGB1 est une protéine dont la structure et l'activité sont sensibles à l'état de redox de la cellule. En présence d'ERO, l'activation des caspases provoque l'oxydation d'HMGB1 au niveau de la cystéine en position 106 et son clivage, participant alors à la tolérance du système immunitaire aux cellules apoptotiques (Kazama et al., 2008). Précisément, la forme réduite d'HMGB1 favorise le processus d'autophagie tandis que la

forme oxydée favorise la mort cellulaire programmée par apoptose (Tang, Kang, Livesey, et al., 2010) (Tang, Kang, Zeh, et al., 2011) (**Figure 7**). Enfin, HMGB1 est une molécule sensible à l'action des histones acétylase (HAT) et des histones désacétylase (HDAC) qui régulent sa localisation nucléaire versus cytosolique dans les monocytes et les macrophages selon leur état d'activation (Bonaldi et al., 2003). Ainsi, en l'absence de stimulus, les HDAC maintiennent HMGB1 dans une forme non acétylée favorisant sa liaison à la chromatine et une localisation nucléaire. En revanche, l'activation des monocytes et des macrophages en réponse à un signal LPS, IL-1- β ou TNF- α mais aussi HMGB1, entraîne une hyper acétylation par les HAT qui induit la translocation de HMGB1 du noyau vers le cytosol puis sa libération dans le milieu extracellulaire après une seconde stimulation.

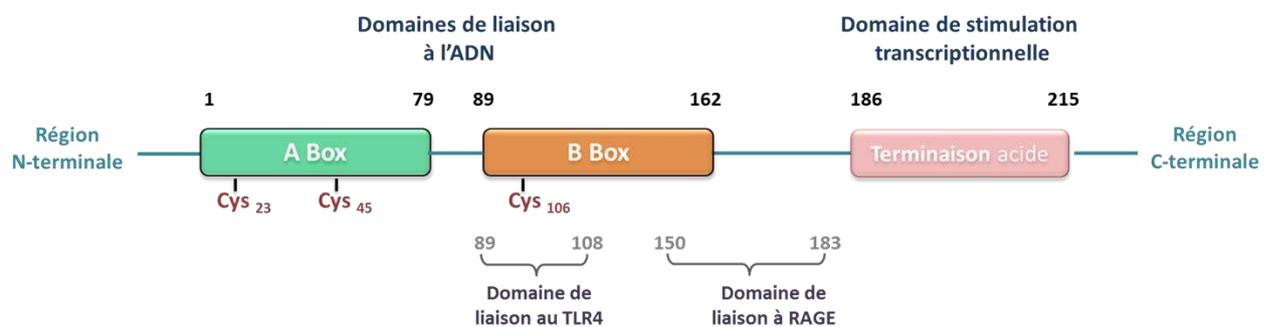


Figure 7 : Représentation schématique de la protéine HMGB1. Adapté de Chen et al., 2016

6. Cibles cellulaires et fonctions biologiques des alarmines

La fonction principale des DAMP et des alarmines est d'alerter le système immunitaire du danger en réponse à un traumatisme, à un épisode ischémique, au cancer ou à d'autres types de lésions tissulaires non-microbiennes responsables d'une nécrose cellulaire ou d'un stress oxydatif.

6.1. Rôle des alarmines dans la réponse immunitaire

Les DAMP et les alarmines agissent sur une grande variété de cellules immunitaires et non immunitaires composant différents tissus et organes, y compris le rein.

6.1.1. Cibles immunitaires

Les DAMP comme l'acide urique, l'ATP, le potassium et les alarmines HSP et S100 activent les cellules présentatrices d'antigènes (CPA), les DC constituant une des premières cibles immunitaires des alarmines. De plus, les alarmines, tout comme les PAMP, renforcent la réponse immunitaire en augmentant les niveaux d'expression des récepteurs innés. C'est ainsi qu'agit

HMGB1 dans un contexte ischémique sur les DC en augmentant leur expression de TLR4 (Tsong et al., 2007). L'activation des TLR par les DAMP induit la production de médiateurs pro-inflammatoires mais permet également la maturation des CPA. Ainsi, l'héparine sulfate, composant de la matrice extracellulaire et ligand endogène des PRR, induit une maturation des DC de manière dépendante de TLR4 (Johnson et al., 2002). Les alarmines HSP participent à la réponse immunitaire en se liant aux peptides antigéniques, contribuant à leur présentation par les CPA aux lymphocytes T (Srivastava, 2002). Pour sa part, l'alarmine HSP60 humaine induit l'expression de molécules d'adhésion (E-sélectine, ICAM-1, VCAM-1) à la surface des cellules vasculaires endothéliales, facilitant ainsi le recrutement des cellules immunitaires (Kol et al., 1999). En plus de l'activation endothéliale, HSP60 participe à l'activation des macrophages en contribuant à leur production d'IL-6, de TNF- α , de NO, d'IL-12 et d'IL-15 (Kol et al., 1999) (Chen et al., 1999).

Avec les DC, les monocytes/macrophages représentent les premières cibles cellulaires identifiées d'HMGB1. Dans un modèle de choc septique chez la souris, les monocytes/macrophages sous l'action de cette alarmine sécrètent des cytokines pro-inflammatoires pro-Th1 comme l'IL-1- β , l'IL-6 et le TNF- α (Wang et al., 1999). Chez l'homme, les DC myéloïdes et plasmacytoïdes, par leur expression membranaire de TLR4, sont également sensibles à la protéine HMGB-1 qui induit leur migration, leur maturation et leur production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-12, l'IL-6, l'IL-1- α , CXCL-1/IL-8, le TNF- α et RANTES (Messmer et al., 2004) (Dumitriu et al., 2005). Par ailleurs, HMGB1 possède une activité chimioattractante sur les monocytes/macrophages, les PNN et les DC (Penzo et al., 2010).

Enfin, la liaison de HMGB1 avec CXCL-12 entraîne le recrutement de cellules inflammatoires dans le tissu lésé (Schiraldi et al., 2012). Ainsi, en se fixant sur le récepteur CXCR4, le complexe HMGB1-CXCL-12 favorise la migration des monocytes/macrophages jusqu'au tissu lésé.

6.1.2. Cibles non immunitaires

L'expression des récepteurs TLR et RAGE à la surface des cellules endothéliales permet une action directe de la protéine HMGB1 sur ces cellules pour induire leur sécrétion de cytokines, augmenter leur expression de molécules d'adhésion et favoriser le recrutement leukocytaire (Chen et al., 2011). Plus largement, HMGB1 possède une activité chimioattractante sur les fibroblastes (Penzo et al., 2010), les entérocytes de l'intestin (Sappington et al., 2002) et sur les cellules musculaires lisses (Degryse et al., 2001).

HSP60 participe à l'activation des cellules musculaires lisses en contribuant à leur production d'IL-6, de TNF- α , de NO, d'IL-12 et d'IL-15 (Kol et al., 1999) (Chen et al., 1999). En se fixant au

récepteur CXCR4 des fibroblastes, le complexe HMGB1-CXCL-12 favorise leur migration dans les tissus lésés.

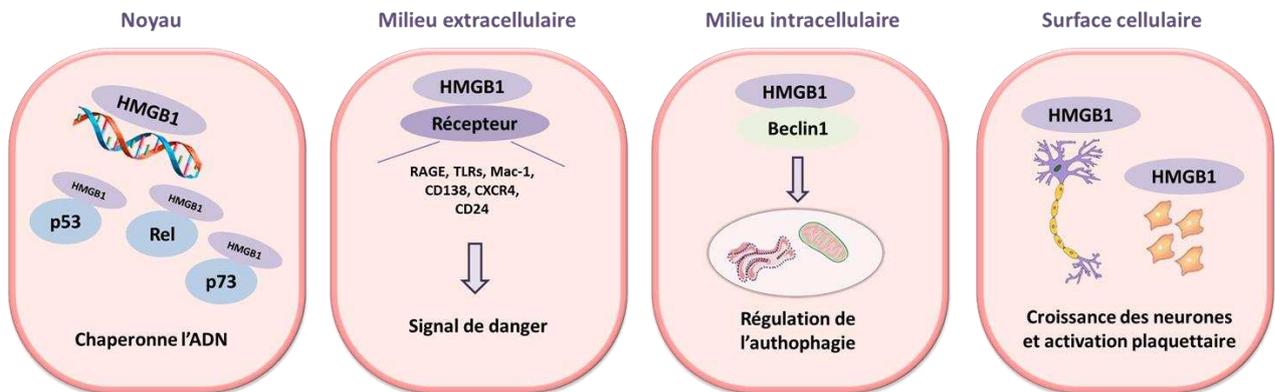


Figure 8 : Principales fonctions biologiques de l'alarmine HMGB1. Adapté de Chen et al., 2016

6.1.3. Rôle dans l'activation de l'inflammasome

La détection des signaux de danger est associée à la mise en place de l'inflammasome. Ce dernier constitue un complexe protéique oligomérique de l'immunité innée qui contient des récepteurs PRR de type NOD (pour « Nucleotide Oligomerization Domain ») dénommés NLR (pour « NOD-Like Receptor »). L'inflammasome est défini comme un complexe de protéines capables d'activer la caspase-1 responsable du processus de maturation de l'IL-1- β et de l'IL-18, et jouant un rôle important dans la réponse pro-inflammatoire (Chen et Nuñez, 2010). La sous-unité NLRP-3 (pour « NOD, LRR and Pyrin-domain containing 3 ») de l'inflammasome qui est très exprimée par les DC et les monocytes/macrophages, a été décrite comme "capteur" de signaux de danger immunitaire, capable de détecter des molécules d'origine non microbiennes dans un contexte d'inflammation stérile (Chen et Nuñez, 2010). Elle pourrait être impliquée dans différentes maladies métaboliques comme le diabète sucré de type 2, l'obésité et l'athérosclérose (De Nardo et Latz, 2011). En réponse à des signaux DAMP comme l'ATP, l'activation de l'inflammasome conduit à la libération d'HMGB1 sous sa forme acétylée active par les monocytes/macrophages (Lu et al., 2012).

6.2. Contribution des alarmines dans les processus de survie et de mort cellulaire

L'interaction des alarmines avec leurs récepteurs déclenche des voies de signalisation cellulaires impliquées dans le processus d'autophagie et dans la mort cellulaire par apoptose (Tang et al., 2010a). Le processus d'autophagie résulte d'un « cross-talk » entre les mitochondries et la voie de l'UPR (pour « Unfolded Protein Response ») induite par le stress du RE et est défini

comme la dégradation lysosomale des organelles intracellulaires et des protéines « défailantes » de gros poids moléculaire. Ce processus catabolique intracellulaire participe au « recyclage du cytoplasme » et au maintien de l'homéostasie cellulaire, notamment en cas de déficit énergétique et de stress de la cellule, via l'activation de voies de signalisation telle que la voie PERK-ATF4 (B'chir et al., 2013).

La molécule HMGB1 illustre parfaitement le lien qui existe entre les alarmines et l'autophagie. L'autophagie participe à la translocation d'HMGB1 du noyau vers le cytoplasme et à sa libération par les cellules cibles. Ainsi, *in vitro*, l'inhibition de l'autophagie limite la sécrétion d'HMGB1 par les cellules tumorales (Tang et al., 2010). De manière réciproque, la même étude montre que la libération d'HMGB1, induite par le traitement des cellules avec des agents anti-cancéreux, active l'autophagie. D'autres auteurs rapportent que les complexes formés par HMGB1 et le LPS (ou l'IL-1- β) induisent très efficacement le processus autophagique (Bianchi, 2009).

Dans le cytoplasme, HMGB1 entre en compétition avec Bcl-2, molécule anti-apoptotique, pour se lier à Beclin 1 et médier l'autophagie (Tang et al., 2010). L'interaction HMGB1-Beclin1 requiert le complexe autophagique ULK1-mAtg13-FIP200 (Huang et al., 2012) et le pont disulfure intramoléculaire (C23/45) d'HMGB1 pour maintenir le processus d'autophagie.

De manière intéressante, les formes réduites et oxydées d'HMGB1 permettent d'orienter les cellules, respectivement vers l'autophagie et l'apoptose. Ainsi, HMGB1 dans sa forme réduite se lie préférentiellement au récepteur RAGE (et non à TLR4), induisant alors l'autophagie dépendante de la protéine Beclin1. En revanche, dans sa forme oxydée favorisée en la présence d'ERO ou d'HMGB1 induit la mort cellulaire par apoptose médiée par la voie des caspases 9 et 3 (Tang et al., 2010a) (Tang et al., 2010b).

A l'image d'HMGB1, d'autres alarmines telles que les protéines S100, induisent le processus autophagique dans plusieurs systèmes cellulaires. Celui induit par les protéines S100A8/A9 joue un rôle clé dans l'élimination des mitochondries endommagées après apoptose impliquant les ERO (Ghavami et al., 2010).

Enfin, l'action des protéines chaperonnes révèle un lien étroit entre l'autophagie et l'activation de l'inflammasome. Ainsi, les alarmines HSP (HSP104, HSP90, HSP70 et HSP60) participent à la survie cellulaire en contrôlant la réparation des protéines dénaturées et mal repliées de la cellule (Buchner, 1996) via l'autophagie (Dokladny, Myers, et Moseley, 2015). En cas de stress cellulaire, les alarmines HSP orientent les protéines endommagées vers le protéasome pour leur élimination (Morimoto, 1998).

6.3. Contribution des alarmines dans la réparation cellulaire

La définition d'alarmine intègre la double propriété d'initiation d'une réponse immunitaire pro-inflammatoire et de contribution aux processus de réparation tissulaire. Ces processus sont essentiels pour la restauration de l'intégrité du tissu lésé après une agression cellulaire. Les alarmines S100, HMGB1, HSP 60 et 70 ainsi que l'IL-1- α participent au maintien de l'homéostasie.

Les souris déficientes pour S100A9 présentent des altérations dans le processus de réparation tissulaire après 5 à 10 jours suivant l'IR rénale (Dessing et al., 2015). Au cours de la phase de réparation, la perte de S100A9 affecte la polarisation M2 des macrophages conduisant à une fibrose interstitielle et à un dysfonctionnement rénal. Ceci montre que les protéines S100 jouent un rôle crucial dans le contrôle de la réparation rénale médiée par les macrophages (Dessing et al., 2015). Dans un modèle murin de lésion dermique, la surexpression de l'IL-1- α , accompagnée d'un recrutement de leucocytes, est associée à une ré-épithélisation rapide de la zone lésée et à une cicatrisation plus rapide de la plaie (Singh et al., 2016). Des études ont montré que la protéine HSP70 était impliquée dans le processus de réparation et de survie cellulaire après IR rénale par un mécanisme mettant en jeu la voie de signalisation Akt et GSK3 β (Zhiyong Wang et al., 2011). Enfin, l'administration de HSP70 à des souris avec une lésion au niveau de la peau accélère la fermeture de la plaie de manière dose-dépendante. Cet effet cicatrisant de HSP70 met en jeu les macrophages qui augmentent la clairance des débris par phagocytose (Kovalchin et al., 2006).

On confère à l'alarmine HMGB1 des fonctions réparatrices et régénératrices des tissus lésés via ses actions ciblant les cellules endothéliales et épithéliales. Sur les cellules endothéliales, HMGB1 est pro-angiogénique (Mitola et al., 2006). Ainsi, en induisant la production de VEGF par sa liaison à RAGE, HMGB1 participe à la néovascularisation après une atteinte tissulaire (Song et al., 2014). De plus, HMGB1 agit sur les cellules endothéliales en augmentant leur perméabilité (Huang et al., 2012). Concernant les cellules épithéliales, HMGB1 participe à la production de leur matrice extracellulaire (Ojo et al., 2015). Au niveau nucléaire, HMGB1 participe à la réparation de l'ADN et la modification de la chromatine en réponse aux dommages qui impactent l'ADN (Lange, et al., 2008).

Soulignons que les neurones répondent à HMGB1 en étendant leurs neurites, un processus qui implique le remodelage du cytosquelette (Dong et al., 2013).

Enfin, HMGB1 peut recruter des cellules souches neurales et favoriser leur prolifération (Wang et al., 2014).

7. Alarmines en physiopathologie

7.1. Contexte général

La libération d'alarmines a été observée dans un bon nombre de maladies, tant aiguës et chroniques, suscitant de ce fait un intérêt particulier pour ces signaux de danger, leur implication ainsi que pour l'identification des mécanismes moléculaires sous-jacents à leur libération au cours de ces maladies.

Pour exemple, citons les protéines S100 auxquelles il a été attribué un rôle dans l'arthrite, le psoriasis, des maladies cardiaques, le cancer, la calcification de l'os et du cartilage ou encore l'athérosclérose (Donato et al., 2013). Les protéines HSP70 et HSP90 seraient impliquées dans des maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer (Lu et al., 2014) (Ou et al., 2014), des maladies infectieuses, des cancers solides ou encore dans des maladies auto-immunes comme l'arthrite rhumatoïde (Kaul et Thippeswamy, 2011).

La protéine HMGB1 a été décrite pour son implication dans diverses maladies en situation aiguë mais aussi chronique. Ainsi HMGB1 contribue aux maladies du foie d'origine virale (comme les hépatite B et C), toxiques et ischémiques (Chen et al., 2013) (Yu et al., 2015) (Laursen et al., 2016), au rejet aigu après transplantation cardiaque (Huang et al., 2007), à différentes tumeurs bénignes comme le cholestéatome (Szczepanski et al., 2015), aux maladies auto-immunes comme l'arthrite, l'athérosclérose, le lupus érythémateux systémique (Bianchi, 2007) ou encore le psoriasis (Zhang et al., 2017). De plus, HMGB1 est impliquée dans différents cancers (Taguchi et al., 2000). Dans un modèle expérimental d'hépatocarcinome cellulaire, HMGB1 participe à la progression de la tumeur en induisant la surexpression de miR-21 et l'induction des métalloprotéases via l'axe de signalisation IL-6/STAT-3 (Chen et al., 2015).

7.2. Alarmines en physiopathologie rénale

L'implication des alarmines dans différentes pathologies humaines a été proposée sur la base d'observations cliniques jointes à des démonstrations apportées par la modélisation animale et cellulaire. Toutefois, s'agissant en particulier des pathogénies rénales, l'implication des alarmines demeure un domaine d'exploration relativement récent et peu documenté.

Les données cliniques et expérimentales disponibles s'accordent sur l'implication de l'IL-1- α (Tripathi et al., 2015) (Anders, 2016). Cette alarmine libérée par les cellules en nécrose, en agissant sur son récepteur IL-1R exprimé par les cellules rénales, entraîne une réponse inflammatoire. A cet égard, chez le patient IRT, une augmentation significative des taux sériques d'IL-1- α a été observée.

On attribue à l'alarmine HMGB1 un rôle dans le développement de l'insuffisance rénale aiguë (Zakiyanov et al., 2013), de l'insuffisance rénale chronique (Leelahavanichkul et al., 2011) (Bruchfeld et al., 2008), des néphropathies diabétiques (Kim et al., 2011), des carcinomes du rein à cellules claires (Takeuchi et al., 2013) mais également dans le développement des néphrites lupique (Zickert et al., 2012) (Li et al., 2015) et glomérulaire (Oyama et al., 2010).

7.2.1. HMGB1 en IR rénale

Des travaux réalisés en modélisation chez la souris ont permis de montrer l'implication de l'axe HMGB1-TLR4 dans l'initiation des lésions d'IR rénale.

Ainsi, au cours de l'IR rénale, il a été observé des lésions tubulaires associées à une surexpression des récepteurs TLR2 et TLR4 ainsi qu'à la translocation de HMGB-1 du noyau vers le cytoplasme, activant les voies de signalisation médiées par ERK/NF- κ B et aboutissant à l'expression de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6 et IL-1 β) (Leemans et al., 2005) (Wu et al., 2010) (Jiong Zhang et al., 2016). Le blocage pharmacologique d'HMGB-1 réduit les lésions tubulaires et la production des cytokines pro-inflammatoires tandis que l'administration d'HMGB1 recombinante exacerbe ces lésions induites par l'IR, ceci via la mise en jeu des TLR2 et TLR4 (Wu et al., 2010) (Li et al., 2011). L'injection de dexaméthasone, un glucocorticoïde de synthèse, protège le rein contre les lésions d'IR en inhibant les acétyltransférases. Cette inhibition s'accompagne d'une diminution de l'acétylation de HMGB1 ce qui empêche sa translocation du noyau vers le cytoplasme. De la même manière, le pré-traitement avec une molécule libérant le monoxyde de carbone, la CORM-2 (pour « CO-releasing molecule-2 »), avant l'IR rénale, diminue l'activité de l'histone acétyltransférase ce qui empêche l'acétylation et la libération d'HMGB1, protégeant ainsi le rein de l'IR (Ruan et al., 2014).

Les TLR 2 et TLR4 sont constitutivement exprimés dans le rein à la surface des cellules épithéliales tubulaires. Le TLR4 est également exprimé à la surface des DC résidentes et des podocytes. Chez la souris, l'IR est documentée pour accroître l'expression des transcrits TLR2 et 4 au sein du tissu rénal suggérant une modulation de ces récepteurs par l'IR (Leemans et al., 2005). Cette expression est majorée et survient dans les heures qui suivent la reperfusion avec des cinétiques différentes en fonction du tissu. Ainsi, cette expression survient de manière plus précoce pour l'endothélium que pour l'épithélium (Chen et al., 2011).

7.2.2. HMGB1 en transplantation rénale

En modélisation animale de la transplantation rénale, la contribution des récepteurs PRR a été étudiée. Les reins transplantés chez des souris déficientes en TLR2, TLR4, MyD88 ou TRIF

développent moins d'atteintes glomérulaires et moins de fibrose interstitielle que les souris contrôles (Wu et al., 2012) (Wang et al., 2010), démontrant bien par défaut un rôle des TLR ainsi que des molécules impliquées dans la transduction de leurs signaux.

Chez l'homme, le rôle d'HMGB1 dans l'IR rénale associée à la transplantation d'organe a été documenté principalement par deux études indépendantes dont l'analyse de biopsies rénales préimplantatoires issus de donneurs décédés a révélé une expression nucléaire et cytoplasmique d'HMGB1 accompagnée d'une surexpression de TLR4 et/ou de MyD88 par les cellules tubulaires proximales et distales, par rapport aux donneurs vivants (Krüger et al., 2009) (Andrade-Oliveira et al., 2012). De manière intéressante, cette expression d'HMGB1 et de TLR4, n'a été observée que sur des biopsies issues de donneurs présentant des cellules tubulaires nécrotiques et apoptotiques de façon précoce après l'IR. Enfin, les patients transplantés rénaux porteurs d'une mutation de TLR4 générant un récepteur non-fonctionnel, développent moins de rejet aigu (Ducloux et al., 2005).

Dans un contexte de transplantation rénale, ces données suggèrent une modulation par l'ischémie de l'expression tubulaire d'HMGB1 et de TLR4. A cet égard, on soulignera aussi les travaux de Thierry et al., menés au sein de notre équipe ont permis de mettre en évidence une libération très précoce d'HMGB1 suite à une transplantation rénale. En effet, la protéine HMGB1 a été détectée dans le sang et dans les urines de manière significative et ce dès 30 minutes après la reperfusion. Cette libération d'HMGB1 s'accompagne d'une surexpression de l'ARNm des récepteurs TLR2 et TLR4 au sein des populations leucocytaires périphériques (Thierry et al., 2014). Cette étude a permis la démonstration princeps en transplantation rénale chez l'homme d'une libération précoce de l'alarmine HMGB1.

Chapitre II : IL-33, une alarmine/cytokine

L'IL-33, tout dernier membre découvert de la superfamille de l'IL-1, est douée de fonctions à la fois de type alarmine et cytokine. Ce chapitre de mon introduction générale est consacré à l'IL-33 et à sa contribution dans les pathologies rénales, y compris en transplantation rénale, ceci afin de mieux comprendre/établir le lien qui existe entre l'IL-33 et les phénomènes d'IR, principal sujet de mes travaux de recherche.

1. Découverte/historique

A la fin des années 90, un effort important a été dédié à l'identification de marqueurs spécifiques permettant de distinguer les lymphocytes Th1 des lymphocytes Th2. Des études ont alors montré une expression sélective du récepteur de l'IL-18 (IL-18R ou CD218) par les lymphocytes Th1 (Xu et al., 1998) et une expression préférentielle de la molécule ST2 (Fit-1 ou T1) par les lymphocytes Th2 (Löhning et al., 1998). Il faudra attendre 2005 et les travaux de Schmitz et al., pour enfin identifier le ligand de la molécule ST2, récepteur jusque-là « orphelin » (Tominaga, 1989) (Klemenz et al., 1989). En effet, l'étude *in silico* menée par Schmitz et al a permis, par la stratégie d'analogies de séquence en recherchant de nouvelles cytokines de la famille de l'IL-1, la découverte d'une molécule capable de stimuler le récepteur ST2, entraînant l'activation des voies de signalisation NF- κ B et MAPK, aboutissant à une réponse Th2. Cette molécule sera alors logiquement intégrée à la famille des interleukines et dénommée IL-33 (Schmitz et al., 2005). Par la suite, on s'apercevra que cette interleukine est équivalente à la molécule NF-HEV (pour « Nuclear Factor of High Endothelial Venules »), un facteur nucléaire fortement exprimé au niveau des veinules à endothélium épais et découvert deux ans plus tôt par l'équipe de Jean-Philippe Girard (Baekkevold et al., 2003). Son équivalent chez le chien, codé par le gène Dvs27 avait été mis en évidence dès 1999 grâce à sa sur-expression au niveau des artères cérébrales vasospastiques dans un modèle expérimental d'hémorragie sous-arachnoïdienne (Onda et al., 1999).

2. L'IL-33, une alarmine à modes d'action multiples

L'IL-33 est exprimée au niveau du noyau des cellules stromales, endothéliales et épithéliales de différents tissus et sa libération par les cellules endommagées ou en nécrose constitue un signal d'alerte au système immunitaire. L'IL-33 agit alors comme une alarmine (Cayrol et Girard, 2014). On attribue à l'IL-33 non seulement un rôle d'alarmine mais aussi de

cytokine à part entière. Rappelons à cet égard que l'IL-33, également dénommée IL-1F11, est le 11^{ème} et tout dernier membre découvert, de la superfamille de l'IL-1.

L'IL-33 a été découverte pour son action favorisant la polarisation des lymphocytes T CD4(+) vers un phénotype Th2 en stimulant leur production d'IL-5, d'IL-6, d'IL-13 et de GM-CSF in vitro et in vivo (Schmitz et al., 2005) (Smithgall et al., 2008). L'IL-33 cible aussi via ST2 d'autres populations de l'immunité adaptative comme les cellules T CD8(+) et les Treg, ainsi que des populations innées comme les cellules NK et les ILC2 (pour « group 2 innate lymphoid cells »). L'IL-33 module les fonctions de ces différentes populations cellulaires de l'immunité innée et adaptative et contribue aussi à leur homéostasie. Ainsi, les études les plus récentes confèrent à l'IL-33 un rôle important dans l'activation et l'expansion des populations Treg et ILC2, y compris au cours des maladies infectieuses et auto-immunes.

En raison de sa localisation nucléaire, un rôle en tant que facteur nucléaire a aussi été attribué à l'IL-33, en plus de ses fonctions de cytokine et d'alarmine.

Dans les parties suivantes seront résumées les principales caractéristiques de l'IL-33 en termes de structure génique et protéique, d'expression et de régulation, ainsi que son rôle dans les maladies rénales.

3. Structures génique et protéique de l'IL-33

Chez la souris, le gène Il-33 est localisé au niveau de la région qC1 du chromosome 19 et code pour un polypeptide de 266 acides aminés correspondant à une protéine d'environ 29,9 kDa. Deux promoteurs contenant une séquence consensus de type TATA-box ont été décrits chez la souris. Ils génèrent deux transcrits Il-33. L'ARNm Il-33a et Il-33b possèdent des régions 5'UTR (pour « Untranslated Transcribed Region ») différentes mais codent pour la même protéine (Talabot-Ayer et al., 2012). Chez l'homme, le gène IL-33 est situé sur le chromosome 9p24.1 qui code pour une protéine de 270 acides aminés d'environ 30 kDa (Baekkevold et al., 2003) (Schmitz et al., 2005). L'IL-33 humaine contient huit exons qui couvrent plus de 42 kb d'ADN génomique (**Figure 9**).

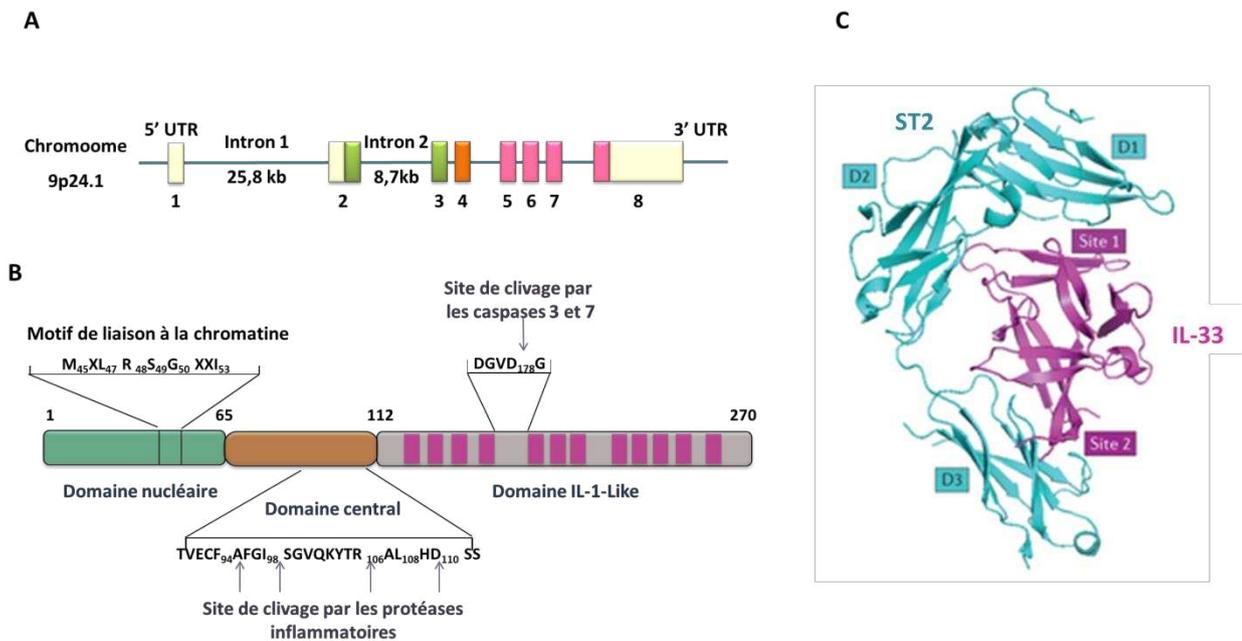


Figure 9 : Structure de l'IL-33. Représentation schématique du gène codant l'IL-33 humaine (A), de la protéine IL-33, de ses différents domaines (B) et de sa liaison à son récepteur ST2 (C). Adapté de Liew et al., 2016

La protéine IL-33 contient une séquence N-terminale et un motif structural hélice-boucle-hélice lui permettant une localisation nucléaire et sa liaison à la chromatine. (Baekkevold et al., 2003) (Schmitz et al., 2005). Il a été montré que la région N-terminale de l'IL-33 est impliquée dans sa fixation au niveau des histones nucléaires (Roussel et al., 2008). L'IL-33 possède aussi une région C-terminale qui comprend un domaine IL-1-like ayant une structure tridimensionnelle organisée en feuillets β parallèles lui permettant de se lier à ST2 (Liu et al., 2013) (Pascual-Figal et Januzzi, 2015). Cette région est commune à toutes les cytokines de la famille de l'IL-1, y compris l'IL-1- α , l'IL-1- β et l'IL-18 (Krumm, Xiang, et Deng, 2014). C'est cette structure particulière qui confère à l'IL-33 sa double fonction de régulateur transcriptionnel et de cytokine.

L'analyse phylogénétique indique que la protéine IL-33 est conservée au cours de l'évolution chez les mammifères, partageant 55% d'homologie entre l'homme et la souris (Schmitz et al., 2005) (Carriere et al., 2007) (Moussion et al., 2008).

4. Expression et distribution tissulaire/cellulaire de l'IL-33

4.1. L'IL-33, une expression constitutive et ubiquitaire

Chez l'homme, en situation normale, l'IL-33 est présente de manière ubiquitaire et constitutive dans plusieurs tissus. Ainsi, l'expression d'IL-33 est retrouvée dans les tissus lymphoïdes secondaires, comme les ganglions lymphatiques, et au niveau de l'arbre vasculaire du

foie, des muscles squelettiques, des reins, des poumons, du colon, de l'intestin grêle et de la prostate. L'IL-33 est exprimée à des niveaux élevés dans les tissus exposés à l'environnement extérieur, tels que la peau et les muqueuses. Elle est aussi exprimée dans les glandes gastriques de l'estomac, les amygdales et les glandes salivaires (Moussion et al., 2008). Au niveau cellulaire, les travaux portant sur l'homme sont rares. Ils rapportent une expression constitutive des transcrits IL-33 par les cellules musculaires lisses de divers tissus ainsi que par certaines cellules épithéliales du poumon (Nakajima, 2006) et une expression protéique d'IL-33 aux niveaux des cellules endothéliales vaginales, pulmonaires, du colon et du tissu mammaire (Pichery et al., 2012).

Chez la souris, le transcrite Il-33 a été décelé à des niveaux élevés dans l'estomac, le poumon, la moelle épinière, le cerveau et la peau, ainsi que dans le tissu lymphatique, la rate, le pancréas, les reins et le cœur mais à des niveaux plus faibles (Baekkevold et al., 2003). De plus, des niveaux élevés de transcrits Il-33 ont été décelés dans les fibroblastes dermiques activés, des cellules épithéliales bronchiques (Schmitz et al., 2005), notamment les cellules alvéolaires de type II (Mohapatra et al., 2016) ainsi que dans les cellules musculaires lisses bronchiques et celles des artères pulmonaire et coronaire (Schmitz et al., 2005).

L'utilisation de souris « LacZ-IL-33^{Gt/Gt} » génétiquement modifiées, a aussi permis d'étudier l'expression transcriptionnelle tissulaire de l'IL-33 en situation normale (Pichery et al., 2012). Chez ces souris, le gène Il-33 a été inactivé par insertion d'une cassette Gt (pour « genet trap »), contenant le gène Lac-Z dans l'intron 1 de l'Il-33. Cette insertion LacZ bloque la production de la protéine IL-33 tout en permettant de visualiser l'activité endogène du promoteur de l'IL-33 par mesure de l'activité β -galactosidase, en présence de son substrat X-Gal. Ce nouvel outil a permis d'analyser l'expression de l'IL-33 endogène in vivo. Ainsi, le promoteur Il-33 présente une activité constitutive dans les organes lymphoïdes, rate et ganglions lymphatiques, le cerveau, l'ensemble de tissu embryonnaire de souris et les barrières épithéliales, y compris les épithéliums squameux stratifiés du vagin et de la peau, ainsi que l'épithélium cuboïdal du poumon, de l'estomac et des glandes salivaires. De plus, une inflammation induite par l'injection de LPS provoque une activation du promoteur IL-33 au niveau du foie. De la même manière, l'inflammation allergique des voies respiratoires induite par la papaïne stimule le promoteur IL-33 au niveau des alvéoles pulmonaires (Pichery et al., 2012).

Au niveau protéique, il a été rapporté une expression constitutive au niveau protéique dans les mucus épithéliaux, dans l'endothélium rénal ainsi que dans le système nerveux central, où elle est exprimée par les cellules endothéliales, les astrocytes (Yasuoka et al., 2011) ainsi que par les oligodendrocytes (Gadani et al., 2015).

4.2. L'IL-33, une expression exclusivement inductible au sein du système immunitaire

Les cellules du système immunitaire ne semblent pas exprimer l'IL-33 de manière constitutive. En revanche, tant chez la souris que chez l'homme, certaines composantes du système immunitaire inné, en particulier les DC et les macrophages, néo-synthétisent l'IL-33 suivant leur activation via leurs TLR, soulignant bien que l'IL-33 exprimée par les cellules immunitaires innées est sinon strictement, au moins préférentiellement (Nakajima, 2006) (Talabot-Ayer et al., 2012).

Le **Tableau 3** en regroupant les données disponibles de la littérature donne un aperçu de la distribution de l'IL-33 au niveau tissulaire et cellulaire chez l'homme et la souris.

Tableau 3 : Expressions tissulaire et cellulaire de l'IL-33 chez l'homme et chez la souris. D'après Saluja et al., 2015.

Espèce	Expression	Tissu/type cellulaire
Homme	ARNm	Cellule épithéliale A549
Homme	ARNm	Macrophage
Homme	ARNm et protéine	Fibroblaste cardiaque et cardiomyocyte
Homme	ARNm et protéine	Epithélium bronchique et cellule musculaire lisse des voies aériennes
Homme	ARNm et protéine	Pancréas
Homme	Protéine	Mastocyte
Homme	Protéine	Cellule épithéliale, endothéliale, tissu lymphoïde, kératinocyte et estomac (cellule épithéliale)
Homme	Protéine	Fibroblaste
Homme	Protéine	Peau
Souris	ARNm	Macrophage
Souris	ARNm	Cellule gliale et astrocyte
Souris	ARNm	Cellule épithéliale du poumon (MLE-15)
Souris	ARNm	Système nerveux central
Souris	ARNm	Poumon
Souris	ARNm et protéine	oeil et ganglion lymphatique cervical
Souris	ARNm et protéine	Pancréas
Souris	Protéine	DC
Souris	Protéine	Cellules épithéliale et endothéliale alvéolaires
Souris	Protéine	Lavage bronchoalvéolaire

4.3. L'IL-33, un facteur nucléaire

Il est bien admis que l'IL-33 est un facteur nucléaire associé à la chromatine et que son domaine N-terminal, composé des acides aminés de 1 à 65, est nécessaire et suffisant pour sa

liaison à la chromatine et sa localisation nucléaire (Carriere et al., 2007). Cette interaction de type protéine-protéine nécessite un court motif d'une dizaine d'acides aminés (acide aminés de 45 à 53, cf. **Figure 9**) qui se lie à une poche formée par l'hétérodimère histone H2A-H2B situé à la surface du nucléosome (Roussel et al., 2008). Ce domaine nucléaire N-terminal qui contient le motif de liaison à la chromatine a été conservé au cours de l'évolution (Nakajima, 2006) (Carriere et al., 2007). Ceci suggère que la localisation nucléaire et la liaison aux histones sont des éléments importants pour la fonction et la régulation de l'IL-33.

Comme déjà évoqué, l'IL-33 nucléaire peut agir comme un facteur réprimant la transcription lorsqu'elle est surexprimée dans différents types cellulaires transfectés (Carriere et al., 2007) (Ali et al., 2011). Jusqu'à présent, aucune étude ne démontre définitivement le rôle de l'IL-33 en tant que facteur modulant directement l'expression des gènes. Néanmoins, il a été proposé que la séquestration de la sous-unité p65 de NF- κ B par l'IL-33 au niveau du noyau limiterait son activité transcriptionnelle (Ali et al., 2011).

Cependant, une étude récente menée par l'équipe de Jean-Philippe Girard vient de démontrer qu'au niveau des cellules endothéliales, l'IL-33 agirait plutôt comme une cytokine impliquée dans l'expression d'un large panel de médiateurs immunitaire plutôt que comme un facteur nucléaire régulant cette expression (Gautier et al., 2016). Dans cette étude menée *in vitro*, l'analyse protéomique par spectrométrie de masse a permis de comparer les rôles extracellulaire et intracellulaire de l'IL-33 ciblant les cellules endothéliales, connue pour être une source majeure d'IL-33 chez l'homme. Ainsi, les données obtenues révèlent que le traitement des cellules HUVEC (pour « Human Umbilical Vein Endothelial Cells ») par de l'IL-33 extracellulaire induit l'expression de nombreuses protéines associées à la réponse inflammatoire par les cellules endothéliales (**Figure 10**). En revanche, la suppression au niveau nucléaire de l'IL-33, par inactivation du gène *Il-33* à l'aide de stratégies siARN n'a eu aucun effet sur les cellules endothéliales (Gautier et al., 2016).

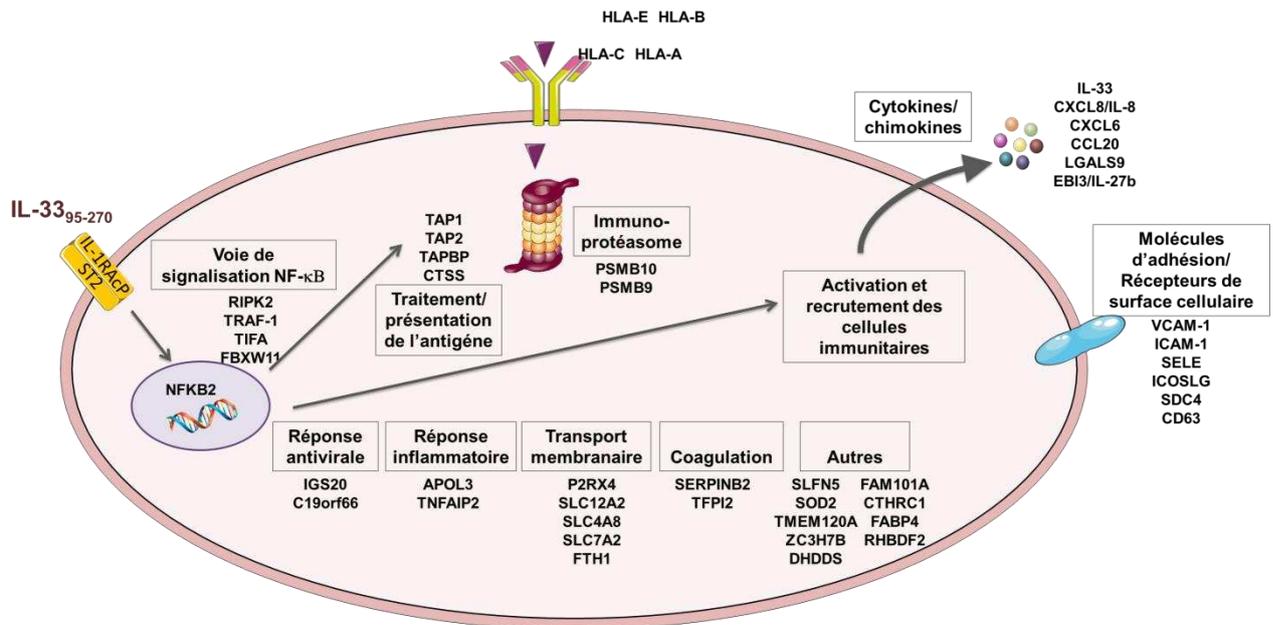


Figure 10 : Principales protéines régulées par l'action de l'IL-33 sur les cellules endothéliales humaines. Adapté de Gautier et al., 2016

La localisation nucléaire de l'IL-33 pourrait aussi constituer un moyen de stockage « sécurisé » en situation normale. En faveur de cette hypothèse, la suppression génique du domaine N-terminal de l'IL-33 provoque des troubles conséquents de l'homéostasie du système immunitaire due à des niveaux sériques élevés d'IL-33 (Bessa et al., 2014). Ainsi, chez la souris, la perte de ce domaine nucléaire empêche la liaison de l'IL-33 à la chromatine, ce qui entraîne une libération constitutive d'IL-33 dans la circulation sanguine, accompagnée d'un recrutement important de PNN dans différents tissus. La réponse à l'inflammation exacerbée qui en découle provoque la mort des souris de manière dépendante du récepteur ST2. En effet, les souris invalidées pour le gène ST2 sont protégées et survivent à des taux très élevés d'IL-33 circulante (Bessa et al., 2014).

Ces observations insufflent l'idée précédemment rapportée que la localisation nucléaire de l'IL-33 a été maintenue au cours de l'évolution afin de réguler sa propre activité de cytokine à fort potentiel pro-inflammatoire.

5. Régulation de l'activité biologique de l'IL-33

La protéine IL-33 existe sous différentes formes qui possèdent des niveaux d'activité distincts. Ainsi, il existe une forme mature longue qui correspond à la protéine totale stockée dans le noyau et une forme clivée plus courte qui peut être mature et active ou inactive selon la nature de l'enzyme impliquée dans ce clivage et l'état de la cellule. De plus, à l'image d'HMGB-1, la protéine IL-33 peut également être oxydée ou réduite. Ce mécanisme contribue aussi à la régulation de son activité.

5.1. Formes actives de l'IL-33

La forme immature/complète de l'IL-33 ou « Full-Length » est biologiquement active (Lüthi et al., 2009) (Cayrol et Girard, 2014). Cette forme localisée au niveau nucléaire est libérée dans l'espace extracellulaire par les cellules endommagées afin d'alerter le système immunitaire du danger et de jouer son rôle d'alarmine (Cayrol et Girard, 2009).

L'activité de l'IL-33 est régulée lors de l'inflammation par des protéases. Au cours de la réponse inflammatoire, les protéases libérées dans le milieu extracellulaire par les PNN (l'élastase, la cathepsine G et la protéinase 3) (Lefrançais et al., 2012) et les mastocytes (Lefrançais et al., 2014) peuvent cliver l'IL-33 dans sa forme complète en des protéines plus courtes de poids moléculaire compris entre 18 et 21 kDa (**Figure 11**). Ces formes clivées d'IL-33 (19-20 kDa) ont été décrites *in vivo* suite à une lésion pulmonaire aiguë (Lefrançais et al., 2012). L'IL-33 clivée est aussi retrouvée au cours de la nécroptose incontrôlée qui survient chez la souris déficiente en récepteur RIPK1 (pour « Receptor-Interacting Protein Kinase 1 ») (Rickard et al., 2014) suite à l'inflammation des voies aériennes induite par une administration intranasale d'allergènes fongiques (Cohen et al., 2015) ou par administration de chitine (Mohapatra et al., 2016). Ces formes clivées conservent leur domaine IL-1-like et sont de 10 à 30 fois plus actives sur les mastocytes et les ILC2 que la protéine dans sa forme complète. Ces protéases agissent toutes au niveau d'une courte région dite « domaine central d'activation » (Lefrançais et al., 2012) (Lefrançais et al., 2014) (cf. **Figure 9**). Ces observations suggèrent que la génération de formes matures hautement actives d'IL-33 est déterminante pour l'induction de réponses inflammatoires dépendantes de ST2. Ainsi, les protéases des mastocytes comme celles des PNN sont responsables d'une IL-33 mature impliquée respectivement dans l'inflammation allergique et l'inflammation infectieuse (Lefrançais et al., 2012) (Lefrançais et al., 2014).

5.2. Formes inactives de l'IL-33 et mécanismes limitant son activation

Plusieurs mécanismes cellulaires sont décrits dans la littérature comme limitant les actions et fonctions biologiques de l'IL-33.

Comme nous l'avons déjà discuté plus avant, la localisation nucléaire de l'alarmine IL-33 et sa rétention sont considérées comme un mécanisme permettant de limiter les puissants effets pro-inflammatoires de cette cytokine/alarmine, ce qui est crucial pour le maintien de l'homéostasie du système immunitaire (Bessa et al., 2014) (**Figure 11**).

Durant l'apoptose, l'action des caspases sur l'IL-33 constitue un mécanisme complémentaire de rétro-contrôle (Cayrol et Girard, 2009) (Lüthi et al., 2009). En effet, ce processus contrecarre la réponse inflammatoire dépendante de l'IL-33 *in vivo*. Cette action des caspases sur l'IL-33 trouve

son explication dans la structure tridimensionnelle particulière de la cytokine. En effet, au niveau de la boucle $\beta 4$ - $\beta 5$ de l'IL-33, il existe une insertion de 10 résidus qui n'est pas retrouvée dans la structure des autres membres de la famille de l'IL-1 et qui contient un site consensus pour le clivage par les caspases apoptotiques 3 et 7. En agissant sur ce site, la caspase-3 et la caspase-7 génèrent deux produits IL-33 biologiquement inactifs (Cayrol et Girard, 2009) (Lüthi et al., 2009) (**Figure 11**). De la même façon, la caspase-1 contribue in vivo comme in vitro au clivage de la protéine IL-33 mature et à son inactivation (Cayrol et Girard 2009) (Madouri et al., 2015). Soulignons que s'agissant des cytokines IL-1- β et IL-18, c'est au contraire leur maturation dans leur forme active qui sera induite par la caspase-1 (Creagh et al., 2003). Des études réalisées chez la souris déficiente en caspase-1 ont révélé son rôle clé dans le contrôle de la réponse immunitaire de type Th2 au cours de l'inflammation allergique pulmonaire via l'inactivation de l'IL-33 (Madouri et al., 2015).

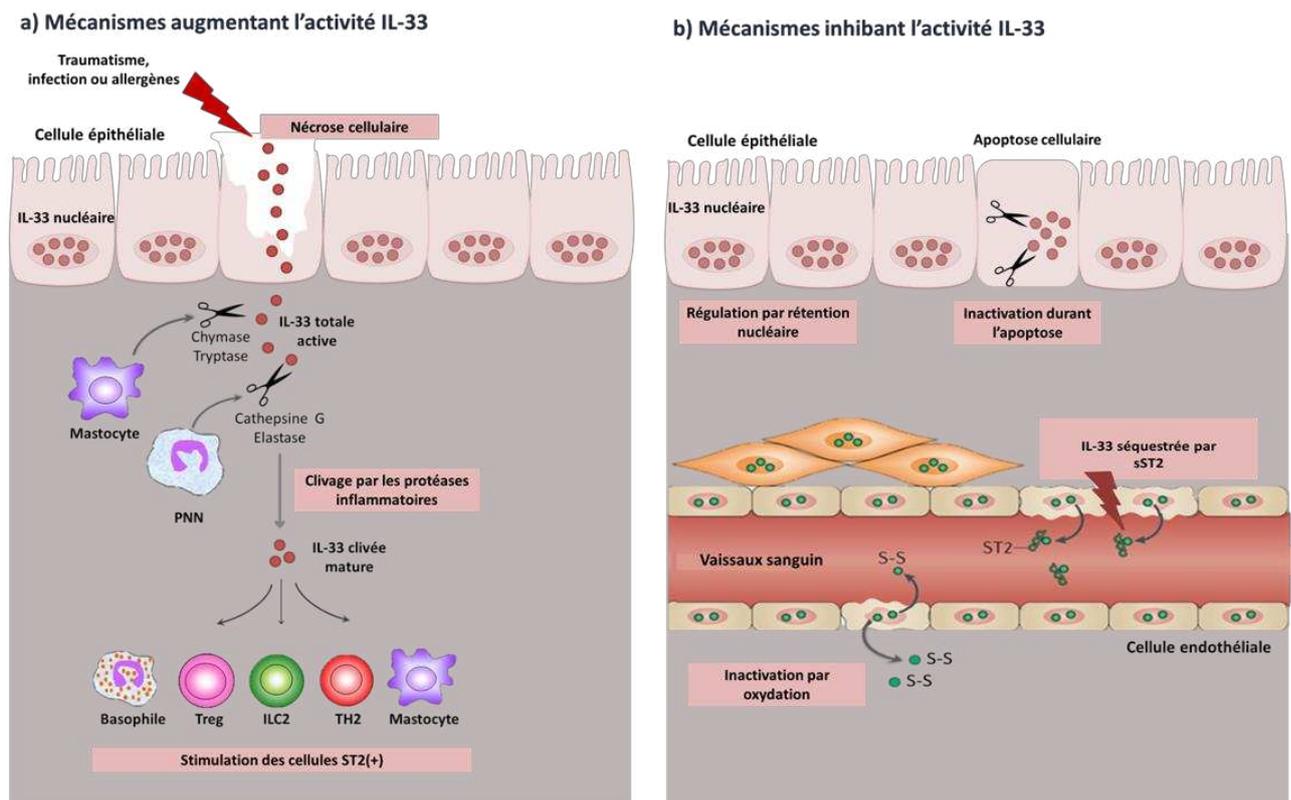


Figure 11 : Principaux mécanismes régulant l'activité biologique de l'IL-33. Mécanismes participant à l'activation des fonctions biologiques de l'IL-33 (A) et ceux inhibant l'activité IL-33 (B).

Adapté de Liew et al., 2016

D'autres mécanismes de contrôle des fonctions de l'IL-33 ont été mis en évidence; ils mettent en jeu : **1)** les formes solubles de ST2 et d'IL-1RAcP qui agiraient comme des récepteurs leurres neutralisant l'IL-33 libérée dans les liquides biologiques (Sanada et al., 2007) (Chen et al., 2015); **2)** l'oxydation de l'IL-33 qui conduit à son inactivation (Cohen et al., 2015). Précisément, il s'agit

d'une oxydation au niveau des 4 résidus cystéine libres de l'IL-33 et la formation de ponts disulfure dans le domaine de type IL-1-like. Ceci entraîne un changement de conformation de l'IL-33 empêchant sa liaison à son récepteur ST2 (Cohen et al., 2015).

Ces données posent la question de la régulation post-traductionnelle de l'IL-33 en situation physiopathologique et en particulier au cours des séquences d'IR associées à la transplantation d'organe qui comprennent un stress oxydatif et un infiltrat de PNN consécutifs.

6. Modes de libération ou de sécrétion de l'IL-33

La cytokine IL-33 ne possède pas de peptide signal et n'est donc pas sécrétée de manière conventionnelle par le système RE-Golgi. Elle serait plutôt acheminée vers la membrane plasmique par des lysosomes sécrétoires, comme pour HMGB-1, avec laquelle elle partage de nombreuses similitudes (Bonaldi et al., 2003) (Moussion et al., 2008) (Klune et al., 2008). Une fois à la membrane, la cytokine IL-33 est libérée dans le milieu extracellulaire par les voies classiques de sécrétion, y compris les voies autocrines, paracrines, intracrine, juxtacrine et retrocine (Zhao et Hu, 2010). A l'image d'HMGB-1, l'IL-33 nucléaire peut être rapidement libérée dans le milieu extracellulaire de manière passive par les cellules en nécrose lors de dommages tissulaires ou d'infections, agissant ainsi comme signal de danger endogène (Haraldsen et al., 2009). L'alarmine IL-33 ainsi libérée par voie « nécrocine », sans intervention de la caspase-1 et sans l'action des caspases 3 et 7, serait une alarmine/cytokine de la nécrose tandis que l'IL-1- β et l'IL-18 seraient des cytokines de l'apoptose (Cayrol et Girard, 2009) (Zhao et Hu, 2010) (**Figure 12**). Le phénomène de nécroptose constitue également une voie possible de sécrétion de l'IL-33 dans sa forme complète et active dans le milieu extracellulaire (Rickard et al., 2014). Le stress mécanique, qui survient pendant un traumatisme ou une infection, constitue un signal suffisant pour entraîner la sécrétion/libération de l'IL-33 hors de la cellule, à l'instar de HMGB-1 et de l'IL-1- α (Kouzaki et al., 2011). Par ailleurs, en l'absence de mort cellulaire, l'activation cellulaire induite par l'ATP peut également entraîner la libération d'IL-33. En effet, l'exposition des voies respiratoires à des allergènes fongiques, comme le champignon *Alternaria alternata*, provoque une libération d'ATP extracellulaire, laquelle entraîne, via l'activation de récepteurs purinergiques de type P2, une augmentation des taux intracellulaires de calcium et la libération d'IL-33 dans sa forme immature/complète active (Kouzaki et al., 2011).

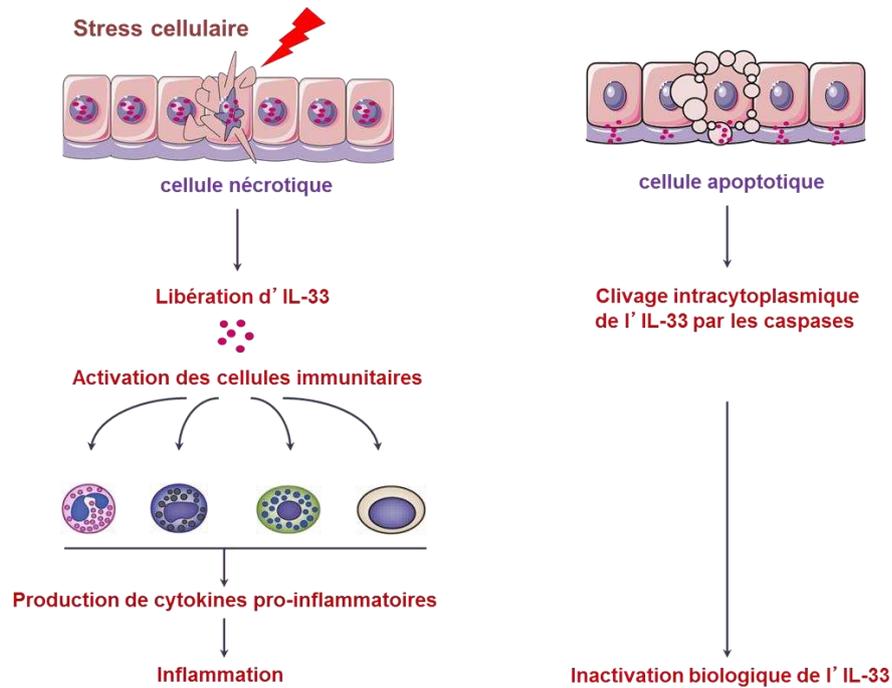


Figure 12 : L'IL-33, une cytokine/alarmine

7. Récepteur et signalisation cellulaire mis en jeu par l'IL-33

Une fois dans le milieu extracellulaire, l'IL-33 exerce ses fonctions biologiques en se fixant sur son récepteur spécifique ST2.

7.1. ST2, chaîne spécifique du récepteur de l'IL-33

Le récepteur IL-33 (IL-33R) est un hétérodimère composé de la chaîne ST2, chaîne spécifique de l'IL-33, et de la chaîne dénommée IL-1RAcP, co-récepteur commun aux cytokines de la famille de l'IL-1. Le gène ST2 est situé chez l'homme et la souris respectivement sur le chromosome 2 et le chromosome 1. La protéine ST2 présente des homologies frappantes avec les chaînes spécifiques des récepteurs de l'IL-1 et de l'IL-18 (Garlanda et al., 2013). On distingue deux formes principales de ST2, le ST2 soluble (sST2) et le ST2 membranaire (ST2 ou ST2L), produites à partir du gène IL-1RL1 respectivement avant et après un épissage alternatif sous le contrôle de deux promoteurs distincts (Yanagisawa et al., 1993). Le sST2 ne possède pas de séquence transmembranaire, expliquant pourquoi il est libéré dans le milieu extracellulaire. Des niveaux accrus de sST2 sont associées à diverses maladies humaines d'origines rhumatoïde, cardiovasculaire, diabétiques ou allergiques (Molofsky et al., 2015). ST2, quant à lui, constitue une forme transmembranaire, considérée comme la composante fonctionnelle du récepteur IL-33.

L'ectodomaine de ST2 se compose de 3 domaines Ig-like où vient se fixer l'IL-33 (Liu et al., 2013).

7.2. Voie de signalisation IL-33/ST2

La liaison de la protéine IL-33 au récepteur ST2 conduit au recrutement du corécepteur IL-1RAcP. La juxtaposition des domaines TIR (pour « Toll/IL-1R ») cytoplasmiques de ST2 et de l'IL-1RAcP entraîne alors une activation des voies de signalisation intracellulaire. Ces voies de transduction du signal impliquent les protéines adaptatrice MyD88 et kinase IRAK1, le facteur TRAF6 (pour « (TNF)-Receptor-Associated Factor 6 »), conduisant à l'activation des kinases de la voie MAPK (ERK, p38 et JNK) et du facteur de transcription NF- κ B, et finalement à la réponse pro-inflammatoire, par la synthèse de cytokines et de chimiokines (Schmitz et al., 2005) (Molofsky et al., 2015) (**Figure 13**).

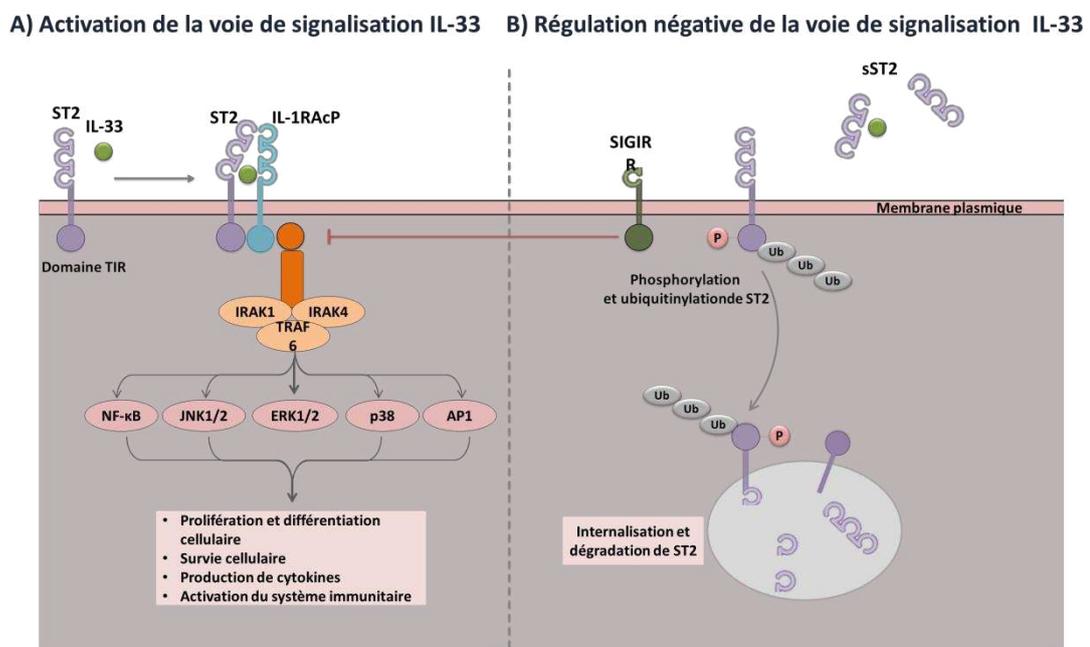


Figure 13 : Voie de transduction du signal IL-33. (A) signalisation via le ST2. L'IL-33 se lie à son récepteur composé des chaînes IL-1RAcP et ST2. La fixation de l'IL-33 sur son récepteur spécifique entraîne l'activation de la voie de signalisation NF- κ B et celle des MAPK (ERK1/2; p38 JNK1/2 et AP-1) aboutissant aux différentes fonctions biologiques de l'IL-33 et principalement la production de cytokines par la cellule cible. (B) Cette voie de signalisation est régulée négativement par la liaison de l'IL-33 au sST2 ou celle du récepteur SIGRR à l'IL-1RAcP empêchant le rapprochement des deux domaines TIR de ST2 et IL-1-RAcP et la transduction du signal IL-33. Adapté de Liew et al., 2016

La signalisation médiée par IL-33 peut être inhibée par la molécule TIR8 (SIGIRR), empêchant la dimérisation des domaines TIR de ST2 et d'IL-1RAcP. Ainsi, SIGIRR régule négativement la signalisation via ST2 et inhibe le processus inflammatoire de type 2 dans un modèle murin d'asthme (Bulek et al., 2009) (**Figure 13**). De plus, le système ubiquitine-

protéasome permet de dégrader le récepteur ST2, ce qui limite la transduction du signal induite par IL-33 (Zhao et al., 2012). Enfin, les microARN des exosomes relargués par les nématodes répriment l'expression du gène ST2, inhibant ainsi la réponse de type Th2 (Buck et al., 2014).

8. L'IL-33, une cytokine avec des effets pléiotropes

8.1. L'IL-33 et le système immunitaire

L'IL-33 est une cytokine qui agit sur les cellules immunitaires exprimant le récepteur ST2 pour déclencher une réponse de type pro-Th1 ou pro-Th2, selon la cible cellulaire, la nature du stress cellulaire et de l'organe lésé (Mirchandani et al., 2012)(Molofsky et al., 2015) (Arshad et al., 2016). Le signal médié par l'IL-33 via le ST2 des cellules myéloïdes et lymphoïdes participe à leur prolifération et à leur survie, à leur migration et à la production de médiateurs solubles (**Figure 14**). L'IL-33 intervient dans l'homéostasie des ILC2 mais aussi des cellules T CD8(+), des cellules Treg et des polynucléaires éosinophiles au cours des réponses immunitaires (Cayrol et Girard, 2014) (Molofsky et al., 2015).

En plus des lymphocytes Th2 (Schmitz et al., 2005), l'IL-33, en ciblant également les mastocytes, les PNN, les éosinophiles, les polynucléaires basophiles et les ILC2, contribue à la mise en place d'une réponse de type Th2 nécessitant le facteur de transcription GATA3 et aboutissant à la production d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13 (Löhning et al., 1998). Ceci explique le rôle clé de l'IL-33 dans la réponse inflammatoire, en particulier au cours de l'asthme allergique et au cours des réponses anti-parasitaires (Mirchandani et al., 2012) (Molofsky et al., 2015).

D'autres acteurs de l'immunité, tant adaptative comme les lymphocytes T CD8(+) qu'innée comme les DC, les PNN, les macrophages, les cellules NK et les cellules iNKT, expriment ST2 et sont réactives à l'IL-33. L'IL-33 participe à la polarisation Th2 médiée par les DC par des mécanismes encore mal décrits (Matta et al., 2014). Ces DC, en réponse à l'IL-33, participent aussi à l'expansion des cellules Treg via leur production d'IL-2 (Matta et al., 2014). De la même manière, les mastocytes en présence d'IL-33 produisent l'IL-2 et participent à l'expansion des populations de cellules Treg (Morita et al., 2015). L'action de l'IL-2 sur les cellules Treg augmente l'expression du récepteur ST2 par ces cellules, les rendant sensibles à l'expansion par l'IL-33. Sur les PNN, l'IL-33 agit comme facteur chémoattractant, induisant la migration de ces cellules vers les lieux de l'inflammation par un mécanisme impliquant les molécules CXCL-1, CCL3, IL-1- β et TNF- α . Ce dernier permet l'expression du ST2 par les cellules cibles (Verri et al., 2010).

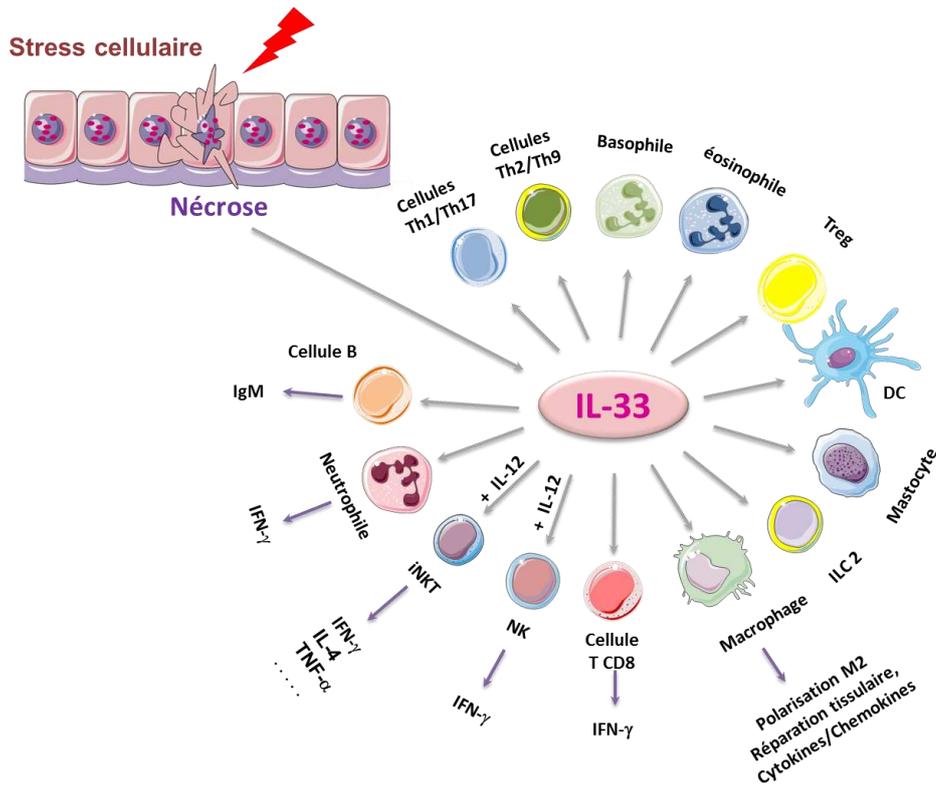


Figure 14 : Cibles immunitaires de l'IL-33. Adapté de Xu et al., 2017

En ce qui concerne les lymphocytes NK et iNKT, il a été montré que l'IL-33 potentialise la production d'IFN- γ par ces cellules chez la souris (Bourgeois et al., 2009) et chez l'homme (Smithgall et al., 2008), comme cofacteur de l'IL-12 ou d'un engagement du TCR. En plus de l'IFN- γ , l'IL-33 participe à la production d'autres cytokines de type Th1, comme l'IL-1- β et le TNF- α , une fonction qui met en jeu la voie de signalisation STAT4 et le facteur de transcription T-bet (Baumann et al., 2015).

Une élégante et très récente étude menée à la fois *in vivo* et *in vitro* illustre parfaitement les rôles complémentaires de l'IL-33 en tant qu'alarmine et cytokine (Shimokawa et al., 2017). Dans ce travail, les auteurs se sont intéressés à la réponse « anti-helminthe » induite par *Heligmosomoides polygyrus*. Dans un premier temps, ce vers nématode provoque la nécrose des cellules épithéliales de l'intestin qui libèrent alors l'ATP et l'IL-33. Cette dernière participe, en tant qu'alarmine, à l'alerte du système immunitaire via la production d'IL-13 par les ILC2. De manière concomitante, les mastocytes exprimant le récepteur purinergique P2X7R sont activés par l'ATP de façon à produire et à sécréter la cytokine IL-33 qui à son tour renforce la production d'IL-13 par les ILC2. Autrement dit, en réponse à un DAMP, ici l'ATP, les mastocytes prolifèrent et sécrètent en grandes quantités la cytokine IL-33 qui prend le relais de l'IL-33 alarmine, amplifiant et renforçant ainsi la réponse anti-parasitaire de type Th2 médiée par les ILC2. Ce travail démontre

donc que les DAMP peuvent en concertation avec les alarmines, en l'occurrence l'IL-33, contribuer à leur néosynthèse, garantie d'une action de type cytokine (**Figure 15**).

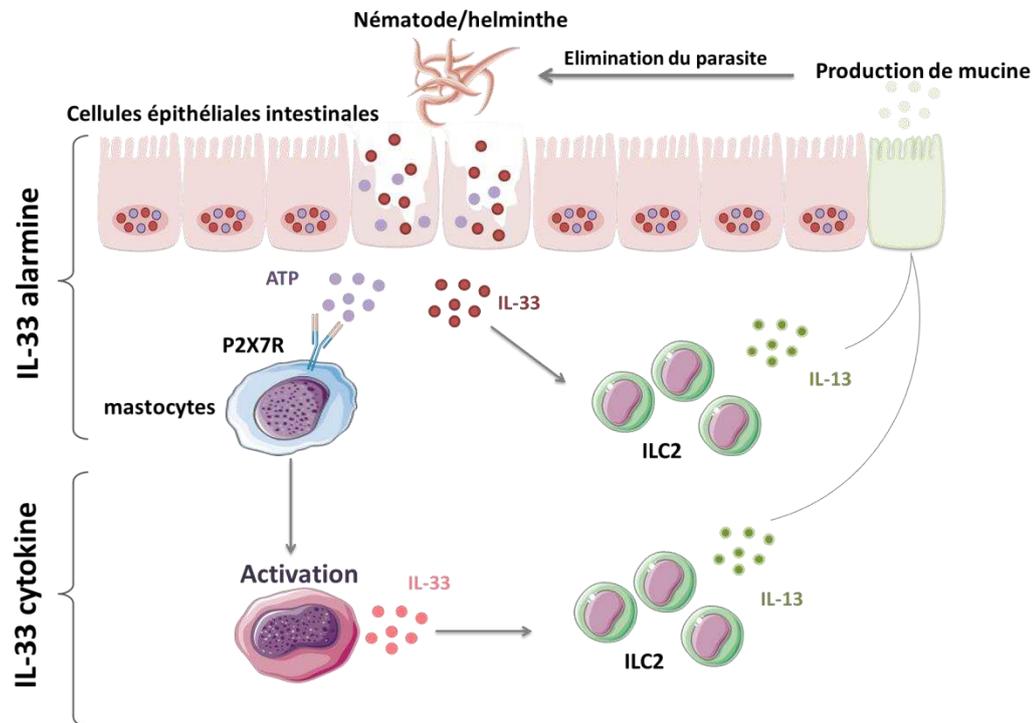


Figure 15 : Schéma hypothétique du rôle de l'alarmine/cytokine IL-33 dans l'infection parasitaire à helminth. Adapté de Shimokawa et al., 2017

8.2. Cibles et fonctions non immunitaires de l'IL-33

Comme HMGB1, l'IL-33 cible des cellules non-immunitaires exprimant ST2, comme les fibroblastes, les hépatocytes, les cellules épithéliales et endothéliales en amplifiant leur réponse inflammatoire (Rostan et al., 2015). Au niveau du cerveau, l'IL-33 agit de manière autocrine ou paracrine. Elle est exprimée de manière constitutive par les astrocytes, les oligodendrocytes et une population de cellules gliales, dénommée « microglie » constituée de macrophages résidents qui sont les seules à exprimer ST2. Ainsi, en cas de dommage tissulaire, l'IL-33 agit sur la microglie pour favoriser sa polarisation en type M2, ceci en réprimant la réponse Th17 (Luo et al., 2014) (Wicher et al., 2017).

En accord avec l'existence de cibles cellulaires non immunitaires, la littérature récente indique un rôle de l'IL-33 dans des situations physiologiques n'engageant a priori pas le système immunitaire. A titre d'exemples, nous citerons l'influence de l'IL-33 sur la thermogénèse (Wong, 2016) et le métabolisme lipidique (Duan et al., 2016) ainsi que sa fonction de protection contre l'accouchement prématuré (Huang et al., 2017).

9. L'IL-33 et la régénération tissulaire

En raison de sa capacité à induire la prolifération des cellules épithéliales et la production de mucus au niveau du poumon et du tube digestif (Schmitz et al., 2005), l'implication de l'IL-33 en tant que facteur favorisant la réparation et la régénération tissulaire faisant suite à un stress a été logiquement proposée. De plus, la capacité de l'IL-33 à cibler les Treg et les ILC2 au cours de l'inflammation des muqueuses de l'intestin (Schiering et al., 2014) ou celle des muscles squelettiques (Burzyn et al., 2013)(Schiaffino et al., 2017), constitue un autre élément en faveur du rôle de l'IL-33 dans la réparation tissulaire. Ainsi, l'IL-33 active les cellules ILC2 dans un modèle de lésion cutanée chez la souris, contribuant ainsi à régénérer la peau tandis que la déficience en IL-33 diminue les réponses ILC2 et retarde ainsi la cicatrisation cutanée (Rak et al., 2016). S'agissant de lésions cérébrales, les oligodendrocytes endommagés libèrent très rapidement l'IL-33 dans le liquide céphalo-rachidien, ce qui favorise le recrutement de cellules immunitaires et la réparation tissulaire (Gadani et al., 2015). Concernant l'endothélium, des travaux à la fois in vivo dans un modèle d'angiogenèse et in vitro ont montré que l'IL-33 agit sur les cellules endothéliales afin d'induire leur prolifération, leur migration et leur différenciation par la production de NO synthase endothéliale via la voie de signalisation ST2/TRAF6-Akt-eNOS, ce qui fait de l'IL-33 un facteur pro-angiogénique puissant (Choi et al., 2009). Enfin, les fibroblastes et les myofibroblastes des différents tissus constituent aussi une source importante d'IL-33 au cours de la réponse inflammatoire, en particulier dans les maladies associées à la fibrose (Kendall et Feghali-Bostwick, 2014) ainsi que dans la réparation des plaies et des muqueuses (Sponheim et al., 2010).

L'ensemble de ces données démontre l'implication de l'IL-33 dans les phénomènes de régénération/réparation tissulaire et le maintien de l'homéostasie tissulaire mais également dans les processus de fibrose après dommage tissulaire.

Chapitre III : IL-33 et le rein

1. Contexte général

Chez l'homme, l'IL-33 est exprimée de manière constitutive dans le noyau des cellules endothéliales sur l'ensemble de l'arbre vasculaire constituant différents tissus et organes, au niveau des vaisseaux de petit et de gros calibres (Moussion et al., 2008). S'agissant du rein, son expression est décelée uniquement dans les noyaux des cellules endothéliales des capillaires péri-

tubulaires. En revanche, elle n'est pas mise en évidence au niveau des capillaires intraglomérulaires, ni au sein de la paroi musculaire lisse.

Chez la souris, le profil d'expression de l'IL-33 est assez proche de celui de l'homme avec une expression dans le noyau des cellules endothéliales des capillaires péri-tubulaires mais néanmoins accompagnée d'une expression glomérulaire non décrite chez l'homme (Akçay et al., 2011). Notons que pour l'homme et la souris, le marquage IL-33 est absent au niveau des structures tubulaires épithéliales du rein (Moussion et al., 2008) (Akçay et al., 2011). Pour sa part, l'expression du récepteur ST2 au sein du tissu rénal n'a jusqu'ici pas été documentée.

Les maladies rénales, tant aiguës que chroniques, qu'elles soient déclenchées par une ischémie, des agents toxiques ou microbiens, des perturbations métaboliques causées par le diabète ou encore par l'IR associée à la transplantation rénale, impliquent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires secrétées par les cellules immunitaires résidentes et/ou infiltrant le rein (Kurts et al., 2013) (Meng, Nikolic-Paterson, et Lan, 2014). Cependant, la littérature demeure assez pauvre sur le rôle de l'IL-33 comme alarmine/cytokine dans le rein.

Des données observationnelles chez l'homme suggèrent que l'axe IL-33/ST2 est impliqué dans l'induction de maladies rénales aiguës et dans la progression vers des maladies rénales chroniques (Chen, Li, et Yang, 2017) mais également dans le développement de néphropathies diabétiques (Caner et al., 2014), de néphrites glomérulaires (Chen et al., 2017) ainsi que de carcinomes rénaux à cellules claires (Wang et al., 2016). En situation expérimentale, à l'image d'HMGB-1, l'IL-33 semble jouer un rôle dans l'IRA d'origine obstructive (Chen et al., 2016), toxique (Akçay et al., 2011) (Park et al., 2016) et infectieuse (Shelite et al., 2016)

2. sST2, un biomarqueur de maladies rénales chroniques

Soulignons d'emblée que l'IL-33 est une protéine fugace, instable et difficile à doser dans le milieu extracellulaire. Ce mécanisme compromet la stabilité de l'IL-33 et pourrait réduire sa durée de vie et expliquer pourquoi il est difficile de doser cette cytokine. De plus, la détection des niveaux d'IL-33 dans les liquides biologiques, en particulier le sérum (ou le plasma), chez l'homme repose en grande partie sur l'utilisation de kits ELISA (pour « enzyme-Linked Immunosorbent Assay ») commerciaux pour lesquels de nombreux « faux positifs » sont obtenus. Ceci rend les recherches de corrélation entre les niveaux sériques d'IL-33 et le dysfonctionnement rénal difficiles et sujettes à caution (Chen, Li, et Yang, 2017).

Une étude clinique réalisée par Bao et al., sur 69 patients insuffisants rénaux n'a montré aucune différence dans les taux sériques d'IL-33 entre les individus sains et les patients atteints de maladie rénale chronique, et ce quel que soit le degré de gravité de la maladie (Bao et al., 2012).

En revanche, la même étude révèle une corrélation positive significative entre les taux sériques de sST2 et la sévérité de la maladie chronique, permettant d'attribuer à sST2 un rôle de biomarqueur déjà documenté pour les maladies cardiovasculaires (Bao et al., 2012). Dans un modèle d'insuffisance rénale chronique de la souris, il a été montré une augmentation de l'expression en IL-33 au niveau des cellules endothéliales aortiques (Wiese et al., 2014). Par ailleurs, des taux sériques élevés de sST2 semblent être associés à une altération de la fonction rénale chez des patients atteints de maladie cardiovasculaire (Januzzi et al., 2007). Ces données indiquent que sST2 est un marqueur pertinent associé à la perte progressive de la fonction rénale.

3. L'IL-33 dans l'IRA en expérimentation animale

Dans un modèle d'IRA induite par le cisplatine chez la souris, Akcay et al., ont montré une surexpression de la protéine IL-33 dans le tissu rénal accompagnée d'une augmentation des taux sériques d'IL-33 circulante. Dans cette étude, l'injection d'IL-33 exacerbe le dysfonctionnement rénal, les lésions tissulaires et l'infiltrat inflammatoire riche en PNN et en T CD4(+) induits par le cisplatine. A l'inverse, l'injection de sST2 neutralise les effets biologiques de l'IL-33, réduit l'ensemble des lésions et améliore la fonction rénale. Les auteurs proposent un rôle de l'IL-33 dans la pathogénie de l'IRA induite par le cisplatine via un axe T CD4(+)/CXCL-1 (Akcay et al., 2011).

D'autres études utilisant des agents néphrotoxiques tels que le LPS, un inducteur de lésions glomérulaires aiguës (Lee et al., 2013), la ferrostatin-1, un inhibiteur de la ferroptose (Martin-Sanchez et al., 2017) ou encore le paracétamol, un anti-inflammatoire non-stéroïdien (Kandemir et al., 2017), ont suggéré une implication de l'IL-33 dans l'IRA. Par ailleurs, l'injection d'anti-IL-33, dans un autre modèle d'IRA néphrotoxique induite par l'ovalbumine, réduit l'expression tissulaire de certains marqueurs de souffrance rénale. Ainsi, les expressions de KIM-1, d'eNOS phosphorylée, d'iNOS et de la protéine kinase activée par AMP phosphorylée dans le rein sont diminuées par rapport aux souris contrôles (Park et al., 2016).

Dans un modèle d'IRA obstructive chez la souris, les niveaux d'IL-33 dans le rein étaient augmentés suite à l'obstruction des voies excrétrices. La déficience en IL-33 a permis de préserver l'intégrité des cellules épithéliales tubulaires et de réduire la fibrose interstitielle, comparativement aux souris de type sauvage (Chen et al., 2016).

Enfin, en modélisant l'IRA infectieuse, des études ont montré que *Orientia tsutsugamushi* augmentait significativement l'expression d'IL-33 et de ST2L dans les reins et le foie des souris infectées. Chez la souris mutée déficiente en IL-33, l'apoptose des cellules endothéliales était

nettement moins importante que chez la souris sauvage (Shelite et al., 2016), suggérant une fonction délétère de l'IL-33 dans l'IRA d'origine infectieuse.

Prises ensemble, ces études indiquent une régulation de l'expression de l'IL-33 dans le rein suite à une IRA dans différents modèles, cette expression semblant être corrélée à la gravité des lésions tissulaires. L'implication de l'IL-33 est confirmée par son inhibition pharmacologique, rendant pertinente la question de l'efficacité du ciblage de cette molécule comme nouvelle stratégie thérapeutique dans le traitement de l'IRA. Ces données sont convaincantes quant au rôle attribué à l'IL-33 en physiopathologie rénale. Néanmoins, elles ne rendent généralement pas compte des mécanismes déclencheurs (libération passive versus néosynthèse et sécrétion) dans la mise en jeu de l'IL-33, et par voie de conséquence, ne permettent pas de discerner ses modes d'action alarmine versus cytokine.

4. L'IL-33 en transplantation rénale

Un rôle de l'IL-33 en transplantation d'organes solide a été recherché dans plusieurs études observationnelles chez l'homme dont à notre connaissance seulement quatre concernent la transplantation rénale.

A la fin des années 2000, à l'époque où ST2 était encore communément admis comme un marqueur spécifique des cellules Th2, Bruneau et al., avaient rapporté le rôle de sST2 comme molécule prédictive de rechute du syndrome néphrotique cortico-résistant après transplantation rénale (Bruneau et al., 2009). Bien que ce travail date de 2009, le lien avec l'IL-33 (voie ST2/IL33) n'y était pas discuté par les auteurs.

Une seconde étude réalisée sur une cohorte de 64 patients transplantés rénaux a révélé des taux sériques d'IL-33 significativement plus élevés chez les patients avec un greffon présentant des dysfonctionnements chroniques par rapport aux patients avec un greffon stable. Ces niveaux élevés d'IL-33 étaient corrélés à une production plus importante de cytokines Th2 et à un compartiment T CD4(+) mieux représenté, suggérant le rôle de l'IL-33 dans le dysfonctionnement chronique après transplantation rénale (Zhang et al., 2016).

Dans une troisième étude, l'augmentation des taux sériques d'IL-33 était associée à un risque cardiovasculaire élevé chez le patient transplanté rénal, l'âge des patients, le diabète, les taux sériques de phosphore, la micro-albuminurie ainsi que le débit de filtration glomérulaire (GFR) majorant ce risque. L'ensemble de ces données suggère que l'IL-33 accentue le risque cardiovasculaire chez les patients ayant subi une transplantation rénale (Mansell et al., 2015).

Ce n'est qu'en 2014, avec les travaux de Thierry et al., menés dans notre équipe, que le rôle de l'IL-33 a été abordé en tant qu'alarmine en IR post-transplantation rénale chez l'homme (Thierry et al., 2014). Ainsi, dans une étude pilote rassemblant au total 26 transplantés rénaux consécutifs, les taux urinaires d'IL-33 étaient augmentés de manière significative par rapport aux valeurs pré-greffes, ceci dès 3 heures après la reperfusion. De plus, les taux urinaires d'IL-33 étaient corrélés positivement à la durée d'ischémie froide, cette libération d'IL-33 étant accompagnée d'une augmentation des taux sérique et urinaire de sST2. De manière intéressante, le relargage précoce de l'alarmine IL-33 était associé à une activation du système immunitaire inné attestée par l'augmentation des transcrits ST2L au sein des leucocytes périphériques et l'activation des cellules iNKT dès 3 heures de reperfusion.

Ces données sont en faveur d'un rôle de l'axe IL-33/ST2, comme médiateur immunitaire précoce associé à l'IR induite au cours de la transplantation rénale chez l'homme (Thierry et al., 2014).

En conclusion, des arguments convergents sont en faveur de l'implication de l'axe IL-33/ST2 dans la pathogénie des maladies rénales y compris dans l'IR associée à la transplantation rénale. Cependant, les mécanismes sous-jacents aux effets de l'IL-33 restent encore à élucider, et notamment le rôle de l'IL-33 en tant que médiateur de l'inflammation stérile pouvant agir sur les cellules de l'immunité innée, une composante essentielle du syndrome d'IR qui comprend les cellules iNKT.

Les principales caractéristiques biologiques de la population iNKT, qui est considérée comme « l'archétype » des populations T- $\alpha\beta$ « non conventionnelles », sont présentées dans la partie qui suit de notre introduction générale.

Troisième partie

**Les lymphocytes iNKT, une population T innée impliquée dans la
genèse des lésions d'IR**

Chapitre I : Biologie des lymphocytes iNKT

1. Les cellules T non-conventionnelles

Les lymphocytes T représentent une population de cellules effectrices immunitaires capables de reconnaître de manière spécifique des déterminants antigéniques, présentés par les molécules du CMH. Ils vont ainsi contrôler et/ou être effecteurs des réponses immunitaires. Les lymphocytes T sont une des principales populations responsables/supports de l'immunité adaptative. La reconnaissance des déterminants antigéniques+CMH est assurée par le TCR. Il existe deux TCR différents, l'un formé d'une chaîne α et d'une chaîne β , dénommé TCR- $\alpha\beta$, l'autre formé d'une chaîne γ et d'une chaîne δ , dénommé TCR- $\gamma\delta$. Nous centrerons la suite de notre exposé sur les lymphocytes T exprimant un TCR- $\alpha\beta$, ou lymphocytes TCR- $\alpha\beta$.

La majorité des lymphocytes TCR- $\alpha\beta$ reconnaissent des antigènes présentés par des molécules du CMH de classe I et de classe II. Ces antigènes sont principalement des peptides antigéniques issus de l'apprêtement de protéines, glycoprotéines ou de lipoprotéines. Ces cellules T, qui sont parfois surnommées « T-conventionnelles », sont caractérisées par une très grande diversité de leur répertoire reposant principalement sur la diversité combinatoire des gènes codant les domaines V, D et J des chaînes β ou V et J des chaînes α du TCR ou « réarrangement VDJ/VJ ». Cette énorme diversité du répertoire T fait qu'au sein d'une population naïve, la fréquence de cellules spécifiques d'un épitope est très faible. La reconnaissance de l'antigène au cours de la réponse immunitaire va aboutir à un phénomène d'expansion clonale permettant de générer des cellules effectrices ou régulatrices.

Ces 30 dernières années, la biologie des populations T a permis la découverte de cellules T particulières dites « invariantes » ou « semi-invariantes » dont le répertoire est « monomorphe », sans diversité des réarrangements des domaines V, D et/ou J (Godfrey et al., 2015).

Ces populations de cellules T invariantes reconnaissent des antigènes présentés par des molécules non classique du CMH et dans certains cas des molécules n'appartenant pas à la famille des molécules du CMH, comme les butyrophilines pour certains lymphocytes TCR- $\gamma\delta$. Certaines de ces populations de lymphocytes T invariants/non conventionnels sont présents dans les épithéliums d'organes non-lymphoïdes où elles participent à l'immunosurveillance et à l'homéostasie tissulaire. Ces cellules T vont le plus souvent exercer des fonctions innées, faisant de ces cellules T des sortes de « Janus Bifrons » du système immunitaire : à la fois des cellules de l'immunité innée et de l'immunité adaptative.

Sans avoir un souci d'exhaustivité (**Figure 16** pour un récapitulatif des différentes populations TCR- $\alpha\beta$ invariantes), citons comme exemples de cellules T invariantes les lymphocytes iNKT restreints par CD1d, une molécule apparentée aux molécules de classe I du CMH (Kronenberg et Gapin, 2002) ou les lymphocytes MAIT (pour « Mucosal Associated Invariant T cells ») restreints par MR-1 (pour « MHC-Related Molecule-1 ») qui appartient à la famille des molécules de classe I du CMH (Rossjohn et al., 2015).

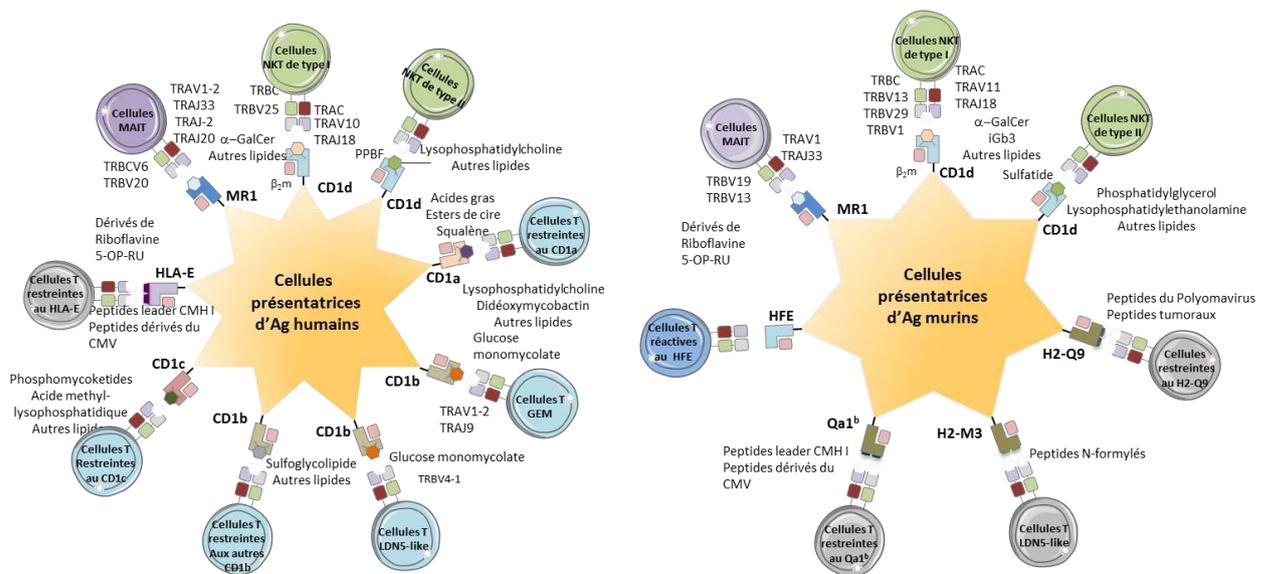


Figure 16 : Les différentes populations de lymphocytes T- $\alpha\beta$ non-conventionnelles. Interactions des cellules T- $\alpha\beta$ non conventionnelles humaines (A) et murines (B) avec leur antigène-cible via leurs TCR. Les différents types de cellules présentatrices d'antigène varient en fonction de l'expression de leurs molécules présentatrices d'antigène. D'après Godfrey et al., 2015

$\beta 2m$: $\beta 2$ -microglobuline ; CMV : cytomégalo virus ; iGb3 : isoglobotrihexosylceramide ; Ag : antigène, TRAV : région variable de la chaîne α du TCR, TRAJ : région de jonction de la chaîne α du TCR, GEM : « germline-encoded mycolyl-reactive »

2. Les lymphocytes iNKT

2.1. Définition des lymphocytes iNKT

Les cellules NKT sont des cellules ayant des caractéristiques de cellules T, restreintes par CD1d, et exprimant des marqueurs de cellules NK. On décrit parmi les cellules NKT, les cellules NKT de type I ou cellules iNKT et les cellules NKT de type II dont le TCR conserve une variabilité importante. Nous centrerons dans la suite de notre exposé notre intérêt sur les cellules NKT de type I ou cellules iNKT.

Le TCR invariant des lymphocytes iNKT est présent dans de nombreuses espèces comprenant l'homme, la souris, le rat, le porc (Looringh van Beeck et al., 2009) (Thierry et al., 2012). Il est aussi exprimé par d'autres mammifères comme l'éléphant d'Afrique, le chien, le chat et le cheval

mais pas par les ruminants (Looringh van Beeck et al., 2009). Ceci suggère que les populations iNKT sont conservées au cours de l'évolution avec quelques différences entre les espèces. La population des cellules iNKT se distingue par l'expression d'un TCR- $\alpha\beta$ semi-invariant utilisant une chaîne α unique qui résulte du réarrangement V α 14-J α 18 chez la souris et de celui des gènes orthologues V α 24 et J α 18 chez l'homme (Brennan et al., 2013).

Comme nous le traiterons dans la suite de notre exposé, les lymphocytes iNKT possèdent des caractéristiques à la fois des effecteurs de l'immunité innée et adaptative.

2.2. Historique de la découverte des lymphocytes iNKT ou la naissance d'un paradigme

La mise en évidence de lymphocytes atypiques avec un TCR- $\alpha\beta$ particulier dans le thymus de la souris fut rapportée à la fin des années 80. En effet, les équipes de RH Schwartz et de HR MacDonald ont décrit simultanément l'existence d'une population de lymphocytes T TCR- $\alpha\beta$ (+)CD3(+) caractérisés par l'absence d'expression des clusters de différenciation CD4 (L3T4) et CD8 (Lyt-2), c'est-à-dire CD4(-)CD8(-), matures, sélectionnés positivement, apparaissant dans le thymus après la naissance, soit donc plus tardivement que les cellules T conventionnelles (Budd et al., 1987) (Ceredig et al., 1987) (Fowlkes et al., 1987). De façon remarquable, ces cellules T thymiques utilisent de façon préférentielle une chaîne β du TCR possédant un domaine V β 8.2, qui n'est exprimée que par 20 % des lymphocytes T conventionnels (Budd et al., 1987) (Ceredig, Lynch, et Newman, 1987) (Fowlkes et al., 1987). Par la suite, il a été montré que ces cellules exprimaient NK1.1, un marqueur des cellules NK chez la souris (Sykes 1990). Puis Arase et al., ont montré qu'il existait une population de thymocytes matures CD4(+)CD8(-) NK1.1(+) utilisant de façon préférentielle un TCR- β V β 8.2(+) (Arase et al., 1992). A la même époque, en 1991, les travaux d'Albert Bendelac chez la souris ont rapporté l'existence dans le thymus d'une population particulière de lymphocytes T CD4 mature, ayant un phénotype de cellules activées, capables de produire l'IL-4 en réponse à l'engagement de leur TCR et de conserver cette fonction de sécrétion même après leur migration dans la rate (Bendelac et Schawrtz, 1991). Enfin, indépendamment, plusieurs équipes ont montré que ces deux populations n'en formaient qu'une seule, unique, ayant un biais de répertoire V β 8.2, sélectionnée dans le thymus et exprimant un phénotype mémoire/NK dès la sélection thymique, produisant/exprimant un spectre non restreint de cytokines (comme l'IL-4 et l'IFN- γ) (Arase et al., 1993) (Bendelac, 1994) et dont la chaîne α du TCR était invariante, V α 14-J α 18 (Lantz et Bendelac, 1994) (Bendelac, 1994).

Parallèlement, plusieurs équipes ont montré l'existence chez l'homme de cellules T CD4(-)CD8(-) cytotoxiques exprimant une chaîne α du TCR invariante V α 24-J α 18 (orthologue du V α 14/J α 18

murin) associée à une chaîne β du TCR utilisant le domaine variable V β 11 (homologue du V β 8.2 murin) (Brooks et al., 1993) (Porcelli et al., 1993) (Lantz et Bendelac, 1994) (Niehues et al., 1994).

Enfin, tant chez l'homme que chez la souris, les cellules iNKT reconnaissent des antigènes présentés par CD1d, une molécule non classique du CMH de classe I (Bendelac et al., 1995)(Brutkiewicz et al., 1995)(Exley et al., 1997).

L'équipe de M Taniguchi est la première à avoir identifié un antigène reconnu par les cellules iNKT dans un contexte dépendant de CD1d. Il s'agit d'un glycolipide, l' α -galactosylceramide (α -GalCer) ou « KRN7000 » (Kobayashi et al., 1995). Ce ligand synthétique dérivé de l'éponge marine *Agelas mauritianus* est capable d'activer fortement et spécifiquement les lymphocytes iNKT (Kawano et al., 1997). Ces travaux ont abouti à la construction d'un tétramère CD1d chargé avec l' α -GalCer et couplé à un fluorochrome permettant de visualiser, par cytométrie en flux, les cellules iNKT, chez l'homme et en expérimentation animale (MacDonald, 2000) (Matsuda et al., 2000) (Thierry et al., 2012). Ainsi, la découverte de l' α -GalCer et son utilisation en tant qu'outil permettant l'identification des lymphocytes iNKT, a été déterminante pour la compréhension de la biologie de ces cellules. De plus, chez l'homme, l'élaboration d'un anticorps clonotypique dénommé « 6B11 » se fixant sur la chaîne α invariante V α 24-J α 18 du TCR permet d'identifier et d'analyser spécifiquement les cellules iNKT humaines (Montoya et al., 2007).

2.3. Caractéristiques phénotypiques des lymphocytes iNKT

2.3.1. Un phénotype NK/mémoire chez l'homme et la souris

Chez la souris, les cellules iNKT expriment des marqueurs de cellules NK comme NK1.1 (NKR-P1C, ou CD161c), CD122 (chaîne β commune du récepteur de l'IL-2 et de l'IL-15), NKG2D, NKG2A, ou encore les récepteurs de classe I du CMH de la famille Ly49 (Ly49-A, Ly49-C, Ly49-G/I). Elles expriment à un niveau intermédiaire le marqueur d'activation précoce CD69 ainsi que des marqueurs de cellules T mémoires tel que CD44 mais habituellement pas CD62L (**Figure 17**).

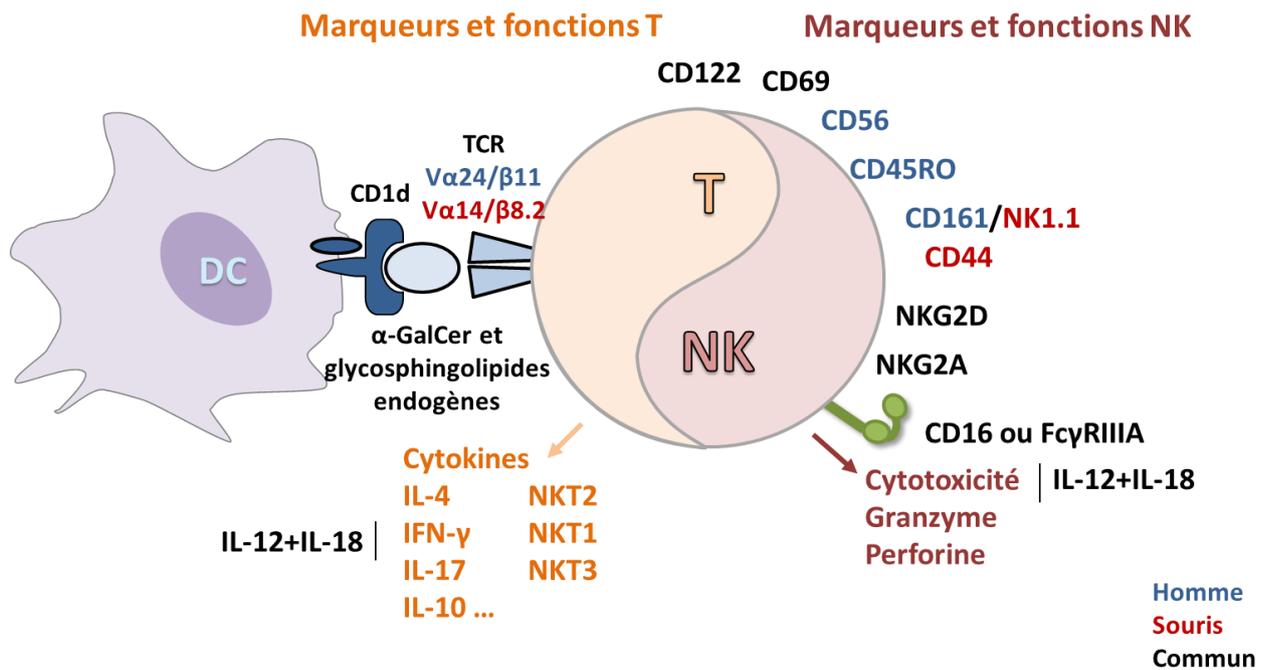


Figure 17 : Lymphocyte iNKT : restriction du TCR semi-invariant par le CD1d et les principaux marqueurs chez l'homme et chez la souris. Adapté de Bendelac et al., 2007; Matsuda et al., 2000; Berzins et al., 2011

Le phénotype des cellules iNKT chez l'homme présente de nombreuses similitudes à celui que nous venons de décrire chez la souris comprenant : **1)** l'expression de marqueurs de cellules NK tels que NKR-P1A(CD161), CD56, CD16 (le FcγRIII, récepteur de faible affinité des IgG, portant les fonctions de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps ou ADCC), CD122, les récepteurs de classe I du CMH humain tels que NKG2A (CD159a) ou NKG2D et **2)** un phénotype de cellules mémoires CD45RO(+)/CD45RA(-)/CD62L(-)/CCR7(-) (Bendelac et al., 1997) (Sharma et al., 2011).

Il faut cependant noter que les utilisations du tétramère CD1d chargé avec l'α-GalCer et/ou de l'anticorps clonotypique 6B11 ont révélé une grande variabilité phénotypique tant chez l'homme que chez la souris. Ainsi, chez la souris, une fraction des cellules iNKT n'expriment pas NK1.1 tandis que chez l'homme, une minorité de cellules iNKT expriment CD56, CCR7 ou encore CD62L (Takahashi et al., 2006) (données du laboratoire).

2.3.2. Un phénotype de cellules dans un état d'activation chronique ?

Schématiquement, le phénotype de cellules mémoires/activées/NK-like est présent dès la sortie de la sélection thymique (cf. plus avant). Le maintien d'un état activé chronique, sur la foi de l'expression de CD69, a longtemps été imputé à l'engagement continu du TCR des cellules iNKT en périphérie. Cette vue a cependant été radicalement balayée par l'étude des souris « Knock-in » Nur-Gfp où Nur77 est couplée à la Gfp qui joue le rôle de rapporteur de l'expression

de Nur. Nur77 est un facteur de transcription dont l'expression dépend de l'engagement du TCR et de façon remarquable, alors qu'il existe une forte augmentation de l'expression Nur-Gfp dans les cellules iNKT en sortie de sélection thymique, l'expression de Nur-Gfp par les cellules iNKT périphériques (spléniques, hépatiques) est faible ou inexistante (Moran et al., 2011) (Holzapfel et al., 2014). Ces résultats témoignent que l'expression de CD69 par les cellules iNKT ne dépend pas de l'engagement de leur TCR, mais plutôt de la mise en jeu des « récepteurs innés » de cette population (Holzapfel et al., 2014). Un autre travail pose directement la question du caractère dispensable du TCR dans l'homéostasie des lymphocytes iNKT après leur sélection thymique (Vahl et al., 2013). En effet, les cellules iNKT survivent à l'ablation de leur TCR après leur sortie du thymus. De façon remarquable elles conservent alors leurs fonctions effectrices n'engageant pas le TCR (Vahl et al., 2013).

2.3.3. Une dichotomie des lymphocytes iNKT humains en fonction de l'expression de CD4 ?

Chez l'homme et chez la souris, les lymphocytes iNKT matures peuvent être divisés en deux sous-populations, en fonction de l'expression de CD4. On distingue les cellules DN et les cellules CD4(+)CD8(-) (simple-positives ou SP) et chez l'homme il existe une sous-population de cellules iNKT SP CD4(-)CD8 $\alpha\alpha$ (+). De façon intéressante, les cellules iNKT CD4(+) humaines sanguines ont un profil d'expression de cytokines non restreint, comprenant l'IL-4, l'IL-13, l'IFN- γ et le TNF- α , comparativement aux cellules CD4(-) qui expriment fortement la perforine, les granzymes, l'IFN- γ et le TNF- α .

En résumé, les lymphocytes iNKT possèdent donc un phénotype de lymphocytes activés/mémoires qu'ils acquièrent au cours de la sélection thymique et qui se maintient en périphérie en fonction du tissu où résident ces cellules. De façon remarquable, à la différence des lymphocytes T « conventionnels », les lymphocytes iNKT ne dépendent pas de leur TCR pour survivre et exercer leurs fonctions effectrices.

2.4. Développement, différenciation et maturation des lymphocytes iNKT

2.4.1. Développement des lymphocytes iNKT

A l'image des lymphocytes T conventionnels, les lymphocytes iNKT se développent, se différencient et mûrissent dans le thymus comme en témoigne leur absence chez les souris « Nude » athymiques. Ainsi, les lymphocytes iNKT et T partagent des précurseurs communs qui dérivent de cellules souches hématopoïétiques (CSH) issues de la moelle osseuse (Bezbradica et al., 2005). Ces deux lignages divergent au stade DP (Gapin et al., 2001).

Deux modèles théoriques de sélection thymique des cellules iNKT ont été proposés. Ces deux modèles qui s'opposent sont connus sous le nom de modèle de « pré-engagement » et modèle « instructif ».

2.4.1.1. Le modèle de pré-engagement

Le modèle de pré-engagement postule que les cellules iNKT se développent à partir d'un précurseur prédestiné à se différencier en lymphocyte iNKT avant même la recombinaison de son TCR.

Il a été proposé que l'expression de la kinase Fyn (Eberl et al., 1999) (Nunez-Cruz et al., 2008), du récepteur du GM-CSF (Sato et al., 1999) ou encore du facteur de transcription c-Myc (Mycko et al., 2009) (Hu et al., 2010) puissent être des éléments déclenchant le développement des cellules iNKT préalablement au réarrangement des chaînes α et β du TCR. Un autre travail a montré qu'au stade DP, un contingent de cellules exprimant ROR- γ t (pour « Retinoic acid-related Orphan Receptor γ t »), comprenait des précurseurs des cellules iNKT. En effet, dans ces cellules DP, ROR- γ t, le réarrangement V α 14-J α 18 semble être favorisé. Mais c'est l'engagement du TCR semi-invariant qui permet l'acquisition du phénotype iNKT (cf. modèle instructionnel) (Bezbradica et al., 2005).

2.4.1.2. Le modèle instructionnel

Le modèle instructionnel propose un développement des cellules iNKT semblable à celui des cellules T conventionnelles, avec formation d'un pré-TCR. L'engagement vers une voie de différenciation spécifique aux lymphocytes iNKT est une conséquence du réarrangement aléatoire des gènes V-J et de l'expression du TCR semi-invariant V α 14-J α 18 utilisant un segment V β 8, 7 ou 2 spécifique. Ceci permet aux pré-iNKT ainsi formés d'être sélectionnés positivement par les thymocytes DP corticaux, d'origine hématopoïétique, qui expriment des glycolipides endogènes portés par la molécule CD1d (Bendelac, 1995) (Gapin et al., 2001).

2.4.1.3. Un développement extra-thymique des lymphocytes iNKT ?

M Taniguchi, qui est le premier à avoir décrit la région jonctionnelle V α 14-J α 18, ceci dans des hybridomes T suppresseurs restreints par I-J (Imai et al., 1986) (Koseki et al., 1990) (Koseki et al., 1991), a dès le début des années 1990 proposé que ces cellules puissent se différencier en dehors du thymus (Makino et al., 1993).

Les travaux réalisés au début des années 2000 avec le CD1d chargé avec l' α -GalCer ont apporté la démonstration définitive que le thymus est nécessaire et suffisant au développement des cellules

iNKT et qu'il n'existe pas de différenciation extra-thymique des cellules iNKT (Pellicci et al., 2002).

En résumé, le modèle instructionnel permet de rendre compte d'un grand nombre de résultats décrivant le développement des cellules iNKT sans exclure une part liée au pré-engagement puisque le développement vers le lignage iNKT est facilité par l'expression ROR- γ t (Bezbradica et al., 2005).

2.4.2. Sélection positive et négative des lymphocytes iNKT

L'utilisation du tétramère CD1d- α GalCer a permis de grandes avancées dans la compréhension et l'identification des stades de développement des cellules iNKT (**Figure 17**).

2.4.2.1. Rôle du TCR invariant dans la sélection des lymphocytes iNKT

Il est maintenant admis que les cellules conventionnelles T- $\alpha\beta$ et les cellules iNKT proviennent d'un même précurseur triple négatif CD3(-)CD4(-)CD8(-) et que la formation du TCR V α 14J α 18 et son expression, durant le stade DP, est un élément clé permettant l'engagement vers le lignage iNKT (Egawa et al., 2005) (Das et al., 2010). En effet, les souris déficientes pour les protéines de recombinaison RAG1 et RAG2 ou encore les souris J α 18^{-/-} sont dépourvues de cellules iNKT. De plus, la molécule CD1d est essentielle car les souris CD1d^{-/-} sont dépourvues de cellules NKT, y compris de cellules iNKT (Bendelac, 1995) tandis que ces cellules se développent normalement chez une souris transgénique (pLck-hCD1d) exprimant exclusivement CD1d au niveau des cellules corticales du thymus. Au stade DP, l'interaction entre le TCR- $\alpha\beta$ des pré-iNKT et le CD1d des thymocytes corticaux constitue l'étape de la « sélection positive ». Lors de cette étape, l'interaction TCR-CD1d se fait via la reconnaissance de ligands endogènes non encore identifiés de manière certaine (cf. paragraphe 2.9.2.2).

2.4.2.2. Mise en jeu des signaux homotypiques SLAM/SLAM

La sélection positive des cellules iNKT requiert un signal généré par l'engagement de la molécule SLAM (pour « Signaling Lymphocytic-Activation Molecule », FLSAMF1 ou CD150) et de la molécule Ly108 (SLAMF6) (Jordan et al., 2007). Ces deux signaux permettent le recrutement de l'adaptateur SAP (pour « SLAM-Associated Protein ») et de la kinase Fyn qui joue un rôle essentiel dans le développement et la différenciation des cellules iNKT. En effet, chez les souris SAP^{-/-} et les patients XLP (pour « immunodeficiency X-linked Lympho Proliferative disease ») qui ont des mutations « perte de fonction » ou « délétion » du gène codant l'adaptateur SAP, il existe un déficit numérique et fonctionnel des lymphocytes iNKT (Griewank et al., 2007)

(Chen et al., 2017). Ces données attestent de l'implication de la voie de signalisation SLAM-SAP dans le développement des cellules iNKT.

2.4.2.3. La sélection négative des cellules iNKT

Au cours de la sélection thymique, les cellules T qui ont une affinité trop forte pour des antigènes du soi exprimés dans le thymus seront éliminées au cours de la sélection négative.

Il avait été suggéré que les cellules iNKT échappent à la sélection négative. Cependant les études démontrant que l'expression de Nur77, impliqué dans la transduction du TCR et la sélection négative des lymphocytes T conventionnels, est fortement augmentée au sein des cellules iNKT au cours de la sélection thymique (Stanic et al., 2004) (Moran et al., 2011) (Holzapfel et al., 2014).

Par ailleurs, il est possible *in vitro* et *in vivo* d'induire une délétion des cellules iNKT en utilisant l' α -GalCer. En effet, le traitement par l' α -GalCer induit une délétion intra-thymique des cellules iNKT suggérant que pour un excès d'antigène, celles-ci sont sélectionnées négativement. De la même manière, la surexpression de la molécule CD1d provoque la délétion des cellules iNKT (Chun et al., 2003). Enfin, les souris transgéniques pour CD8 α/β ont une délétion des cellules iNKT probablement liée au fait que forcer l'expression de CD8 α sur les cellules iNKT augmente de façon critique l'affinité du TCR pour CD1d et induit une sélection négative (Bendelac et al., 1994).

En résumé, ces observations suggèrent que les cellules iNKT sont sélectionnées positivement par des ligands agonistes puissants en échappant à la sélection négative. Cependant le « gap » entre sélection positive et sélection négative étant très étroit, pour de minimes modifications de l'intensité de stimulation par les ligands endogènes, le nombre de cellules iNKT sélectionnées sera plus faible (cas probable chez l'homme) et/ou exprimera un biais iNKT1 (Wen et al., 2013) (cf. paragraphe 2.5.2.3).

2.4.3. Maturation intra-thymique des lymphocytes iNKT

Le développement intra-thymique se poursuit immédiatement après les étapes de sélection positive et l'acquisition du marqueur CD69 par les thymocytes DP qui se différencient et passent par plusieurs stades de développement. Ce processus est long et est régulé par de nombreux facteurs clés (**Figure 18**).

2.4.3.1. Egr-2, un facteur transcriptionnel critique dans la différenciation post-sélection positive des lymphocytes iNKT

Après la sélection positive, les précurseurs des cellules iNKT, en plus des marqueurs CD4, CD8 et du facteur de transcription ROR- γ t (Egawa et al., 2005), expriment les molécules CD69,

CD24 et le facteur de transcription Egr (pour « Early Growth Response protein »)-2 à un niveau élevé. Le facteur Egr-2, dont l'expression est induite par l'augmentation des taux intracellulaires de calcium provoquée par l'activation du TCR et de la mise en jeu de Ly108, module l'expression de gènes essentiels au développement des cellules iNKT.

2.4.3.2. PLZF, un facteur de transcription clé de la maturation thymique des lymphocytes iNKT

Le facteur de transcription PLZF (pour « Promyelocytic Leukemia Zinc Fingerprotein ») (Lazarevic et al., 2009)(Dutta et al., 2013) est un membre de la famille des facteurs de transcription BTB-POZ-ZF (pour « Broad complex, Tramtrac, Bric-à Brac [BTB], POxvirus Zinc finger [POZ] Zinc Finger [ZF] »). PLZF joue un rôle clé dans la différenciation tardive des cellules iNKT notamment dans l'acquisition de leurs propriétés effectrices telles que la production des cytokines immédiatement après stimulation (Savage et al., 2008) (Seiler et al., 2012).

2.4.3.3. Les étapes de la différenciation post-sélection positive des lymphocytes iNKT

La grande majorité des cellules immatures Egr-2(+) perdent l'expression du CD8 et du facteur ROR- γ t. Ces cellules CD4(+) incapables de proliférer rentrent dans un processus de maturation qui peut être divisé en 4 étapes majeures.

Ces étapes se distinguent par l'expression des marqueurs CD24, CD44 et NK1.1 (Benlagha et al. 2002) (Benlagha et al., 2005).

Stade 0 : CD4(+)CD24(+)CD44^{low}NK1.1^{low}

Le stade le plus précoce, dit « stade 0 », est caractérisé par une population CD4(+)CD24(+)CD44^{low}NK1.1^{low} et nécessite les facteurs de transcription HEB (membre des « Eprotein transcription factor ») et c-Myc. En effet, les thymocytes de souris déficientes pour HEB ou c-Myc sont bloqués au « stade 0 » de la différenciation thymique (Mycko et al., 2009) (D'Cruz et al., 2010). Par la suite, les cellules au « stade 0 » continuent leur maturation et entrent dans une phase intense de prolifération amplifiant le pool des cellules iNKT.

Stade 1 : CD4(+)CD24^{low}CD44^{low}NK1.1^{low}

Le stade suivant ou stade 1 est associé à l'acquisition de PLZF. A ce stade, les cellules expriment plus faiblement le marqueur CD24.

Stade 2 : CD4(+)/DN CD24^{low}CD44^{high}NK1.1^{low}

Au « stade 2 », les cellules prolifèrent moins et une partie d'entre elles perdent l'expression du CD4 pour donner naissance aux cellules DN.

A ce stade, les cellules acquièrent un phénotype mémoire avec l'expression de CD44 et sont CD4(+)/DN CD24^{low}CD44^{high}NK1.1^{low}. La plupart de ces cellules CD24^{low}CD44^{high}NK1.1^{low} migrent vers les tissus périphériques en exprimant différents marqueurs NK (NK1.1) ou d'activation (CD69 et CD122).

En revanche, celles qui demeurent dans le thymus « au stade 2 » vont pouvoir se différencier en deux sous populations :

- 1) une sous-population dénommée iNKT2 PLZF(+) qui exprime fortement GATA-3, productrice d'IL-13 et d'IL-4 après stimulation via le TCR
- 2) une sous-population dénommée iNKT17 qui exprime ROR- γ t et des niveaux intermédiaires de PLZF

Stade 3 : CD4(+)/DN CD24^{low}CD44^{high}NK1.1^{high}

Les cellules du « stade 3 » ont une prolifération réduite, sur-expriment les molécules NK1.1 et CD44 et sont CD4(+)/DN CD24^{low}CD44^{high}NK1.1^{high}. Elles acquièrent également l'expression du marqueur CD122 et du facteur de transcription T-bet mais perdent partiellement l'expression de PLZF. Cette population qui est dénommée iNKT1 produit principalement l'IFN- γ et très peu l'IL-4 (**Figure 18**) (Benlagha et al., 2002) (Benlagha et al., 2005) (D'Cruz et al., 2010) (Constantinides et Bendelac, 2013) (Gapin, 2016).

2.4.3.4. Les stades de la différenciation thymique des lymphocytes iNKT sont associés à une maturation fonctionnelle

Durant les étapes de maturation intra-thymique, les cellules iNKT sont fonctionnelles; elles sont capables de répondre à une stimulation via le TCR par la production de cytokines. Cette dernière est dépendante du stade de développement du lymphocyte iNKT.

Les cellules au « stade 1 » et au « stade 2 » peuvent produire l'IL-4, l'IL-10 et l'IL-13 suite à l'engagement de leur TCR.

Les cellules au « stade 3 » sécrètent l'IFN- γ mais peu ou pas l'IL-4 et possèdent un arsenal cytotoxique : perforine, granzymes, Fas ligand (Bendelac et al., 2007) (Benlagha et al., 2002)(Constantinides et Bendelac, 2013)(Das et al., 2010).

Les cellules iNKT qui expriment ROR- γ t produisent des cytokines de type Th17 (en particulier l'IL-17A) et ont un phénotype DN CD44^{high}NK1.1(-) (Doisne et al., 2011) (Gapin 2016). Cette

dernière population est en particulier présente dans les ganglions/nœuds lymphatiques (Doisne et al., 2011)(Figure 18).

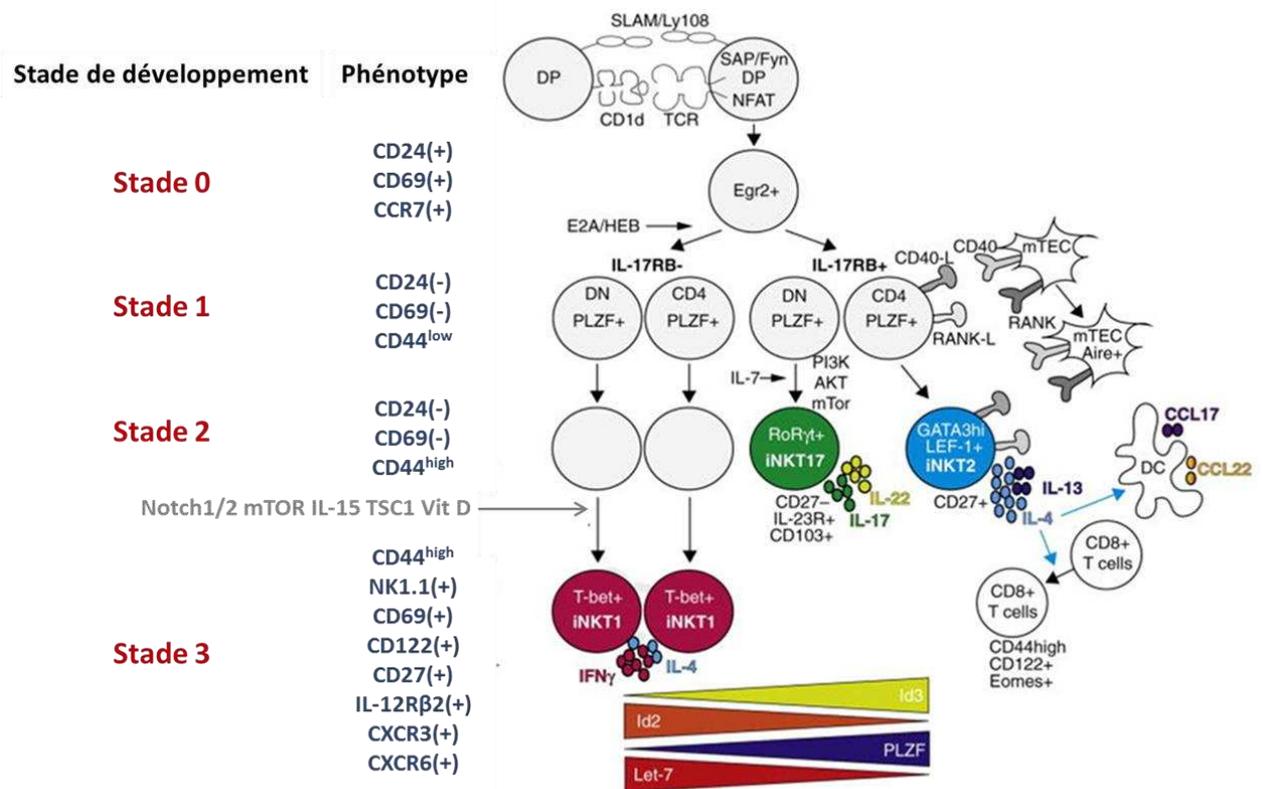


Figure 18 : Etapes intra-thymiques de développement et de maturation des cellules iNKT. D'après Gapin et al., 2016

2.4.3.5. Une voie de différenciation alternative des lymphocytes iNKT ?

Les travaux de Gapin et al., (2001), d'Egawa et al., (2005) et de Pellicci et al., (2002) avaient montré de façon claire que les lymphocytes iNKT se différencient à partir d'un précurseur DP, ce qui semblait exclure une différenciation directe à partir d'un stade DN sans avoir atteint le stade DP. L'équipe de M Taniguchi, en réalisant de nouvelles expériences de « fate-mapping », apporte des éléments suggérant qu'une fraction minoritaire de cellules iNKT est sélectionnée directement au stade DN sans avoir atteint le stade DP (Dashtsoodol et al., 2017). Ce résultat suggère que les précurseurs des cellules iNKT, à l'instar des cellules T conventionnelles, initient le réarrangement de la chaîne α du TCR avant d'avoir atteint le stade DP. La principale localisation en périphérie de cette population de cellules iNKT différenciées de façon « alternative » est le foie où elle possède un phénotype et des fonctions NKT1-like (Dashtsoodol et al., 2017).

2.4.3.6. Les étapes de la différenciation thymique des lymphocytes iNKT humains

Chez l'homme, les étapes et les mécanismes de développement des lymphocytes iNKT sont plus difficiles à étudier. Contrairement à ce qui a été décrit chez la souris, les cellules « au stade 3 » ne sont pas retrouvées dans le thymus, cette étape terminale de différenciation semblant avoir lieu uniquement en périphérie. En effet, les cellules iNKT humaines quittent le thymus à l'état CD4(+)CD161(-), le plus immature, pour poursuivre leur maturation en périphérie où elles acquièrent le marqueur CD161. C'est aussi en périphérie que les cellules iNKT humaines peuvent acquérir l'expression du marqueur CD8 ou bien évoluer vers un stade DN (Baev et al., 2004) (Berzins et al., 2005).

Après leur maturation dans le thymus, les lymphocytes iNKT sont exportés dans les organes périphériques où ils exercent leurs fonctions immunologiques.

2.5. Distribution tissulaire des lymphocytes iNKT

En situation physiologique, tant chez l'homme que chez la souris, les cellules iNKT sont présentes, de manière ubiquitaire, dans le sang périphérique et dans différents tissus lymphoïdes et non lymphoïdes. Leur localisation et leur distribution dans l'organisme sont régulées via l'expression à leur surface de nombreux récepteurs de chimiokines (CCR1; CCR2; CCR4; CCR5; CCR 6 et CCR7 ; CXCR1; CXCR3; CXCR4 CXCR6; CXCR5) (Thomas et al., 2003) et d'adhésion.

2.5.1. Les lymphocytes iNKT : des cellules intra-vasculaires ?

Contrairement aux cellules T conventionnelles dont la survie en périphérie dépend de leur interaction avec les molécules de CMH classe I et II, la recirculation et la survie des lymphocytes iNKT entre les tissus reste limitée et indépendante de CD1d (Matsuda et al., 2002).

L'interaction entre la molécule LFA-1 (pour « Lymphocyte Function-Associated antigen-1 »; CD11a ou « α L2 integrine ») exprimée par les lymphocytes iNKT avec ICAM-1 des cellules endothéliales permet leur rétention dans le foie par un mécanisme impliquant le facteur de transcription PLZF (Emoto et al., 1999) (Thomas et al., 2011). Ainsi, l'inactivation du gène codant la molécule LFA-1 chez la souris entraîne la disparition quasi-totale des cellules iNKT dans le foie. De plus, l'interaction du récepteur de chimiokine CXCR6 exprimé à la surface des cellules iNKT du foie avec CXCL-16 des cellules endothéliales sinusoidales constitue un signal important qui assure la rétention et la survie des cellules iNKT dans le foie (Geissmann et al., 2005). En effet, les souris génétiquement invalidées pour ce récepteur présentent un défaut numérique des cellules iNKT au niveau du foie et des poumons (Cullen et al., 2009).

Tous ces éléments ont amené Thomas et al., à proposer que les cellules iNKT ont un rôle de surveillance intravasculaire particulier dépendant de l'expression de PLZF.

2.5.2. Répartition tissulaire des lymphocytes iNKT

2.5.2.1. Chez la souris

Chez la souris, le nombre de cellules iNKT est compris entre 0,010 et 1,5 millions selon l'organe et le fond génétique considérés (Hammond et al., 2001)(Bendelac et al., 1997). Cette distribution a été très étudiée et documentée, en particulier, dans la souche de souris C57Bl/6 où les lymphocytes iNKT représentent entre 0,2-0,5% des cellules mononucléées circulantes (soit 0,5%-2% des lymphocytes T) (Berzins et al., 2011) (Simoni et al., 2013).

Le foie représente l'organe le plus riche en cellules iNKT avec une fréquence avoisinant les 20 à 30% parmi les cellules mononucléées soit 30-50% des lymphocytes T totaux contre seulement de 1 à 2% parmi les cellules T de la rate et environ 0.5% à 1% des cellules T de la moelle osseuse, du thymus, du cerveau, des intestins et des poumons (Bendelac et al., 1997) (Brigl et Brenner, 2004) (Berzins et al., 2011). Dans les ganglions lymphatiques et de la peau, la fréquence des cellules iNKT est d'environ 0,2% au sein du compartiment T, soit cinq à dix fois moins élevée qu'au niveau de la rate. Elles sont majoritairement NK1.1(-)CD103(+)CCR6(+)ROR- γ t(+)*et produisent l'IL-17A* (Doisne et al., 2009).

Nous discuterons le lien entre leur localisation anatomique et leurs fonctions dans le chapitre 2.10.5.

2.5.2.2. Chez le porc

Chez le porc, l'étude pionnière de notre équipe a permis d'identifier et de caractériser les lymphocytes iNKT chez ces animaux en utilisant la technologie du tétramère CD1d couplé α -GalCer. Les lymphocytes iNKT porcins représentent 0.1% des cellules mononucléées circulantes et sont enrichis en cellules SP CD8(+) et DN. Elles possèdent un phénotype mémoire activé (SLA-DR(+) CD45RA(-)) et expriment le facteur de transcription PLZF. Après stimulation *in vitro*, ces cellules iNKT sont capables de produire l'IFN- γ et sont sensibles à l'action de la cytokine/alarmine IL-33 (Thierry et al., 2012).

2.5.2.3. Chez l'homme

Chez l'homme, le nombre de cellules iNKT est moins élevé que chez la souris et représente en moyenne de 0,1 à 0,2% des cellules T circulantes. Néanmoins, cette fréquence varie considérablement selon les individus entre 0,01 et 1% des lymphocytes (Montoya et al., 2007) (Simoni et al., 2013). En situation immunopathologique, le nombre de cellules iNKT circulantes

décroit, conséquence probable d'un recrutement de ces cellules dans le tissu inflammatoire (Berzins et al., 2011).

Le foie humain, contrairement à celui de la souris, n'est pas enrichi en cellules iNKT (environ 1% des lymphocytes) (Simoni et al., 2013). Elles sont plutôt bien représentées au niveau des feuillettes du péritoine (omentum) où elles constituent environ 10% des cellules T (Lynch et al., 2009).

Ces différences de fréquence des cellules iNKT entre l'homme et la souris pourraient être dues à des différences subtiles du CD1d entre ces deux espèces. En faveur de cette proposition, une souris dépourvue de CD1d murin et rendue « Knock-in » pour le CD1d humain possède des fréquences de cellules iNKT comparables à celles observées chez l'homme, avec un phénotype comparable à celui des cellules iNKT humaines (faible fréquence de cellules CD4(+) parmi les iNKT, faible expression de l'IL-4 par rapport aux cellules iNKT murines, forte expression de l'IFN- γ) (Wen et al., 2013).

En compensation de cette moindre fréquence de cellules iNKT chez l'homme, il existe une plus grande diversification des populations T non conventionnelles et/ou invariantes (cf. **Figure 16**), comprenant non seulement les cellules NKT de type 2, les cellules MAIT, les GEM (pour « Germline-Encoded Mycolyl-reactive ») mais aussi l'ensemble des cellules T restreintes par CD1a, CD1b et CD1c, lesquelles sont absentes chez la souris (Berzins et al., 2011).

2.6. Caractéristiques fonctionnelles des lymphocytes iNKT

L'utilisation de souris $J\alpha 18^{-/-}$ (déficiences en cellules iNKT) ou $CD1d^{-/-}$ (déficiences en cellules NKT à la fois de type I et II) et du tétramère CD1d/ α -GalCer pour les identifier, jointe à l'administration in vivo d' α -GalCer pour stimuler ces cellules, a permis d'étudier la biologie des cellules iNKT et d'élucider leurs nombreuses fonctions dans le contrôle de la réponse immunitaire locale et systémique. Ainsi, le rôle des cellules iNKT dans le développement des tumeurs, la réponse antimicrobienne, les maladies auto-immunes et allergiques, est maintenant bien établi.

C'est en grande partie le pouvoir cytotoxique et la capacité à produire une large gamme de cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires ainsi que leurs interactions avec d'autres cellules immunitaires, qui confèrent aux cellules iNKT les propriétés régulatrices qui leur sont attribuées dans de nombreuses situations immunopathologiques.

2.6.1. Pouvoir cytotoxique des lymphocytes iNKT

Tout comme les cellules NK, les lymphocytes iNKT matures sont dotées d'un arsenal cytotoxique. En effet, de par leur expression de la perforine, des granzymes A et B, de FasL (pour « Fas Ligand » ou CD95L), et de la molécule TRAIL (pour « TNF-Related Apoptosis-

InducingLigand ») requérant le facteur de transcription T-bet (pour « T-box expressed in T cells»), les cellules iNKT sont capables de lyser de manière directe les cellules cibles par un mécanisme impliquant ou non l'engagement du TCR et la présentation par CD1d (Matsuda et al., 2006) (Bassiri et al., 2014) (Mise et al., 2016) (Nours et al., 2016).

2.6.2. Production de cytokines par les lymphocytes iNKT

Les cellules iNKT se distinguent des lymphocytes T conventionnels et des lymphocytes NK par leur remarquable capacité à produire un large spectre de cytokines dans les quelques heures suivant la reconnaissance des antigènes glycolipidiques présentés par CD1d et l'engagement de leur TCR ou via l'action des cytokines comme l'IL-2, l'IL-12, l'IL-18 et l'IL-33. Elles sécrètent des cytokines de type pro-Th1 comme le TNF- α , l'IL-2 et l'IFN- γ , des cytokines de type pro-Th2 comme l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13 mais également l'IL-6, l'IL-17 et l'IL-21, des cytokines tolérogènes/immunosuppressives telles que l'IL-10 et le TGF- β ainsi que les facteurs de croissance hématopoïétique IL-3 et GM-CSF. De plus, les cellules iNKT activées peuvent produire des chimiokines comme CCL5/RANTES, l'éotaxine, MIP1- α et MIP1- β (Matsuda et al., 2008) (**Figure 19**).

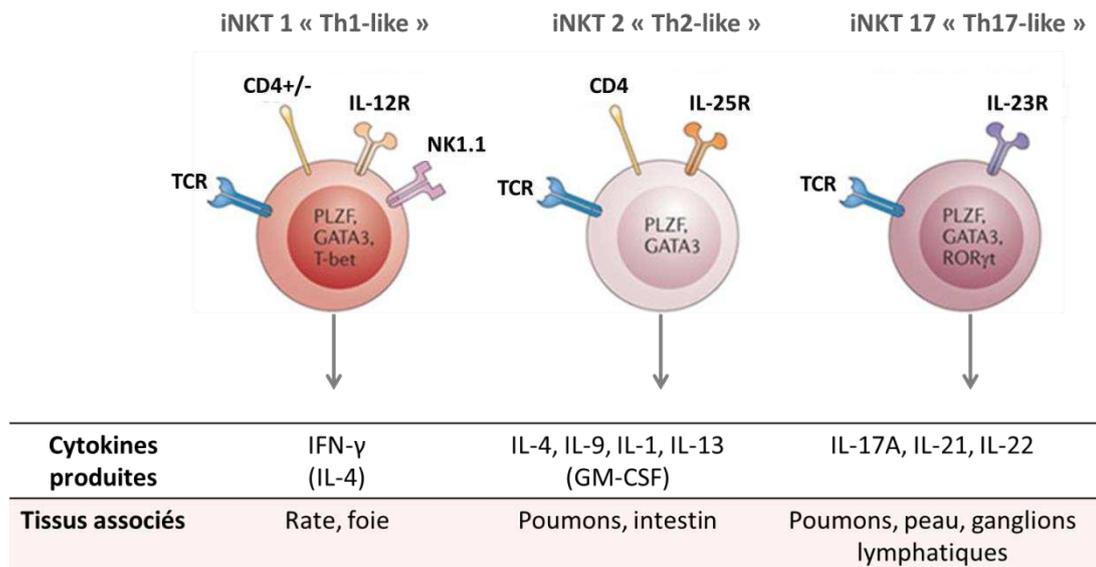


Figure 19 : Principales caractéristiques des sous-populations iNKT. D'après Brenner et al., 2013

En fonction de l'espèce, du phénotype et de la localisation (tissulaire en périphérie ou systémique), la réponse des cellules iNKT en termes de production de cytokines varie considérablement. Celle-ci est dépendante de la nature du glycolipide présenté. En effet, une stimulation in vitro des cellules iNKT murines par l' α -GalCer induit une production d'IFN- γ tandis qu'une stimulation par l'OCH, un analogue synthétique de l' α -GalCer dont le sphingoside

est tronqué, induit une production préférentielle d'IL-4 (Miyamoto, Miyake, et Yamamura 2001a) (Qiao et al., 2015). De plus, les différents profils d'expression de cytokines produites par les cellules iNKT pourraient être en lien direct avec l'intensité du signal délivré au TCR. Ainsi, chez l'homme et la souris, la stimulation *in vitro* avec de faibles doses d' α -GalCer provoque la production de GM-CSF et d'IL-13 par les cellules iNKT via la voie des MAPK. En revanche, une stimulation plus forte du TCR, avec des doses plus élevées du même ligand, active la voie de signalisation du calcium induisant de ce fait une production d'IL-4 et d'IFN- γ et à de très fortes doses celle d'IL-2 (Wang et al., 2008).

2.7. Activation des lymphocytes iNKT

Les lymphocytes iNKT matures peuvent être activés de trois différentes manières en fonction de la nature de l'activation engageant ou non le TCR. On distingue : **1)** une activation engageant le TCR; **2)** une activation engageant les cytokines mais pas le TCR, et enfin, **3)** une activation engageant le TCR et les cytokines. Quel que soit le mode d'activation, les cellules iNKT sont capables, de manière rapide, de sécréter des cytokines et des chimiokines, de proliférer et d'exercer des fonctions cytotoxiques (**Figure 20**).

2.7.1. Activation dépendante du TCR

Ce mode d'activation nécessite la reconnaissance par le TCR des cellules iNKT d'un antigène glycolipidique agoniste présenté par la molécule CD1d des CPA. Selon la nature de l'antigène, on distingue deux modes d'activation dépendant du TCR : l'activation directe et l'activation indirecte impliquant respectivement la présence de ligands exogènes et endogènes (Brigl et Brenner, 2010).

2.7.2. Activation dépendante des cytokines

En absence de stimulation dépendante du TCR, certaines cytokines sont capables d'activer les cellules iNKT et d'induire leur production de médiateurs inflammatoires. En effet, de nombreuses études ont montré que l'ajout d'IL-12 et d'IL-18 constitue un signal suffisant pour médier l'activation des cellules iNKT (Jacomet et al., 2016). L'IL-1 β et l'IL-23 agissent également sur les cellules iNKT pour induire la production d'IL-22 (Paget et al., 2012). De plus, dans des modèles d'infection par *Streptococcus pneumoniae*, *Sphingomonas yanoikuyae* (Brigl et al., 2011) ou encore par le cytomégalovirus (Wesley et al., 2008), l'engagement des TLR4, TLR7 et TLR9 présents à la surface des DC et la production d'IL-12, d'IL-18 et des IFN de type I qui en résulte permet une activation CD1d-indépendante des cellules iNKT (Kitamura et al., 1999) (Paget et al., 2007) (Tyznik et al., 2008).

2.7.3. Activation dépendante du TCR et des cytokines

Certains agents pathogènes comme les bactéries *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* et *Mycobacterium tuberculosis* ne possèdent pas de glycolipides spécifiques du TCR des cellules iNKT et sont de ce fait incapables d'activer de manière directe le TCR des cellules iNKT. Néanmoins, ces bactéries via leurs ligands des TLR4, 7 et 9 vont induire la maturation des CPA, laquelle va aboutir à la production d'IL-12, d'IL-18 et/ou des IFN de type I ainsi qu'à la néo-synthèse d'antigènes lipidiques apprêtés et présentés par CD1d aux cellules iNKT. Ainsi, les DC, en exprimant ces néo-antigènes endogènes et en produisant des cytokines, contribuent à l'activation « indirecte » du TCR des cellules iNKT par les bactéries (Brigl et al., 2003) (Mattner et al., 2005) (Paget et al., 2007) (Brigl et al., 2011).

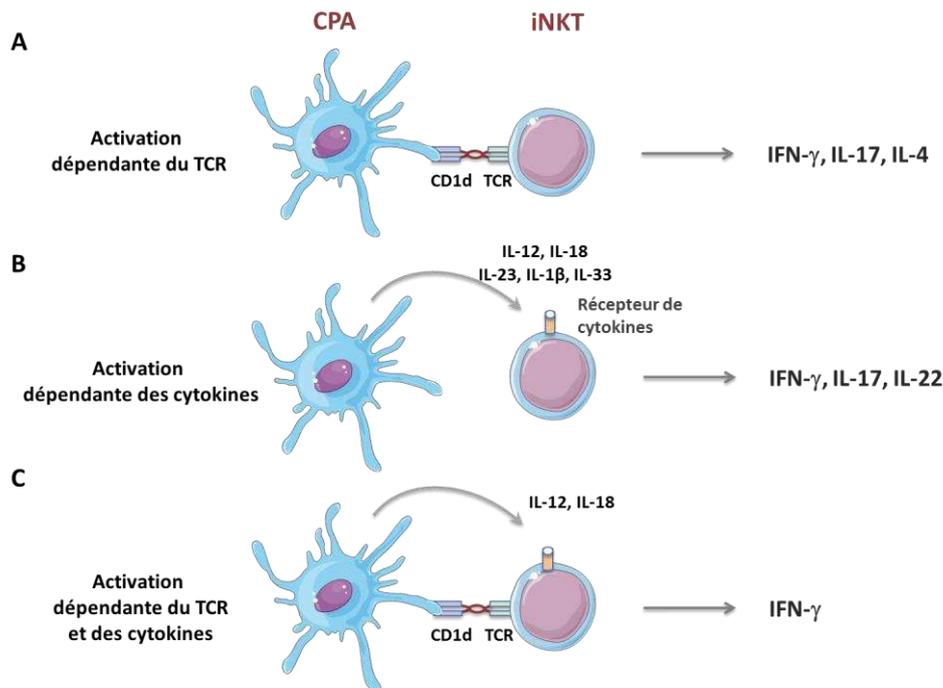


Figure 20 : Les différents modes d'activation des cellules iNKT. Activation dépendante du TCR via la reconnaissance d'antigènes présentés par la molécule CD1d des CPA (A); Activation dépendante des cytokines principalement libérées par les CPA (B) ; Double activation des cellules iNKT via l'interaction TCR-CD1d et l'action des cytokines (C).

En résumé, l'activation des lymphocytes iNKT est en permanence contrôlée par des signaux innés et des signaux « adaptatifs » mettant en jeu le TCR. Dans certaines situations, ces signaux innés et adaptatifs vont induire les fonctions des cellules iNKT en agissant en concertation (cf. paragraphe 2.7.3).

2.8. Interaction des lymphocytes iNKT avec d'autres cellules immunitaires

La reconnaissance du complexe CD1d/antigène lipidique par le TCR des cellules iNKT permet non seulement leur production de cytokines mais aussi l'augmentation de leur expression membranaire de CD154 ou CD40 ligand (CD40L). La liaison du CD40 exprimé par les CPA et du CD40L par les cellules iNKT participe à la surexpression des marqueurs de maturation des DC, le CD80 et le CD86, amplifiant alors la production d'IFN- γ des cellules iNKT (Fujii et al., 2003). Ainsi, les DC matures produisent l'IL-12 qui favorise cette production d'IFN- γ .

La production d'IFN- γ par les cellules iNKT conduit à l'activation et la prolifération des cellules NK qui sécrètent alors eux-mêmes l'IFN- γ . L'action des cytokines IL-12 et IFN- γ augmente l'expression des récepteurs de mort FasL (CD178) et TRAIL (CD253) par les cellules NK.

Les cellules iNKT, via leur TCR et/ou les cytokines qu'elles produisent, dialoguent non seulement avec les cellules NK mais aussi avec les cellules B, les cellules T CD4(+) et T CD8(+), les monocytes/macrophages et les PNN (Carnaud et al., 1999) (Brennan et al., 2013) (**Figure 21**).

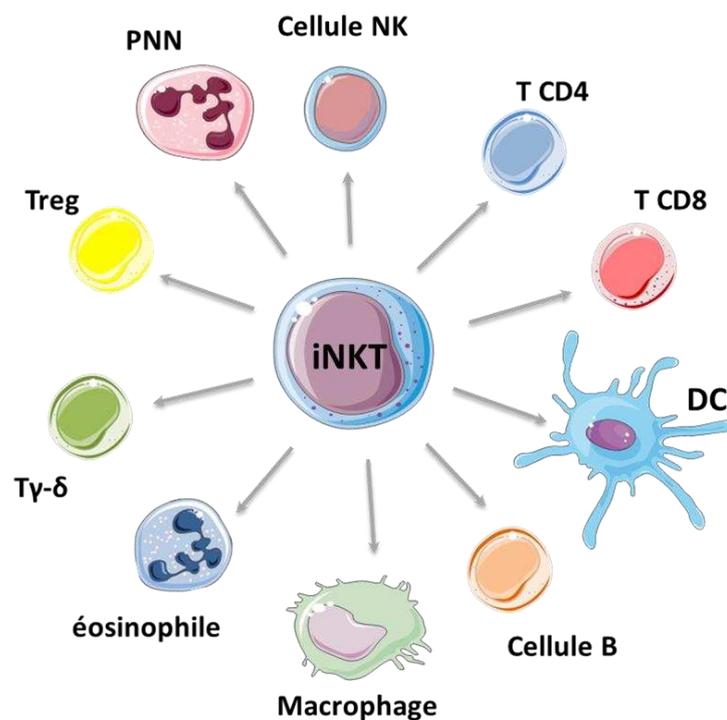


Figure 21 : Interaction des lymphocytes iNKT avec les autres effecteurs immunitaires. Adapté de Matsuda et al., 2008

2.9. Les lymphocytes iNKT et la molécule CD1d

Comme déjà évoqué, c'est la molécule CD1d, appartenant à la famille CD1 des molécules de CMH de classe I non classiques et non polymorphiques, qui présente les antigènes lipidiques aux cellules iNKT.

2.9.1. La famille du gène CD1

Chez l'homme, le locus CD1 situé sur le chromosome 1 comprend cinq gènes (CD1a à CD1e). Dans les cellules myéloïdes, l'expression des gènes CD1a, CD1b, CD1c et CD1e est inductible et celle du gène CD1d est constitutive (Dascher et Brenner, 2003). Les protéines CD1a, CD1b et CD1c sont impliquées dans la présentation d'antigènes lipidiques d'origine exogène alors que la protéine CD1d est impliquée dans la reconnaissance des glycolipides tant exogènes qu'endogènes (Salio et al., 2014). Chez les rongeurs, le locus CD1 comprend seulement deux gènes : CD1d1 et CD1d2 qui sont homologues au CD1d humain (Dascher et Brenner, 2003).

2.9.1.1. Structure des protéines CD1

Principalement exprimées dans le thymus (Canchis et al., 1993), les protéines de la famille CD1, à l'image des molécules du CMH de classe I et II, sont composées d'une chaîne α transmembraire qui s'associe de manière non covalente à une chaîne β 2-microglobuline. La chaîne α se replie pour former trois domaines extracellulaires (α 1, α 2 et α 3). Les domaines α 1 et α 2 délimitent un sillon hydrophobe contenant une poche dans laquelle les ligands lipidiques se fixent. Pour la molécule CD1e, la chaîne α est clivée au niveau des endosomes tardifs entre les domaines α 3 et le domaine transmembranaire, générant ainsi une forme soluble et active de CD1e qui reste dans le compartiment intracellulaire (Angénieux et al., 2000) (Salle et al., 2005).

2.9.1.2. La molécule CD1d

La protéine CD1d est donc une glycoprotéine transmembranaire de type « CMH-I-like », fortement conservée au cours de l'évolution, exprimée par la majorité des cellules hématopoïétiques et notamment les CPA. Ainsi, les DC, les monocytes/macrophages et les lymphocytes B sont capables d'interagir via leur CD1d avec les cellules iNKT (Salio et al., 2014). Peu exprimée par les organes non-hématopoïétiques, CD1d est néanmoins présente au niveau de l'épithélium intestinal, des voies biliaires (Tsuneyama et al. 1998), de l'épithélium tubulaire rénal (Canchis et al., 1993) ainsi qu'au niveau des hépatocytes, des cellules de Küpffer et des cellules endothéliales sinusoidales du foie adulte (Agrati et al., 2005).

La molécule CD1d est synthétisée au niveau du réticulum endoplasmique où elle peut lier des glycolipides endogènes et être par la suite exportée vers la membrane plasmique (Brozovic et al., 2004) (Dougan et al., 2005). Une fois à la membrane plasmique, CD1d, à l'inverse des molécules du CMH de classe I, présente les antigènes lipidiques grâce à ses deux poches hydrophobes (nommé A' et F') (**Figure 22**) (Moody et al., 2005). Les souris transgéniques CD1d^{-/-} dont le gène codant CD1d est invalidé, ne possèdent ni cellules iNKT ni cellules NKT de type II, ce qui

confirme l'importance majeure de cette molécule dans le développement de ces populations lymphocytaires (Bendelac et al., 2007).

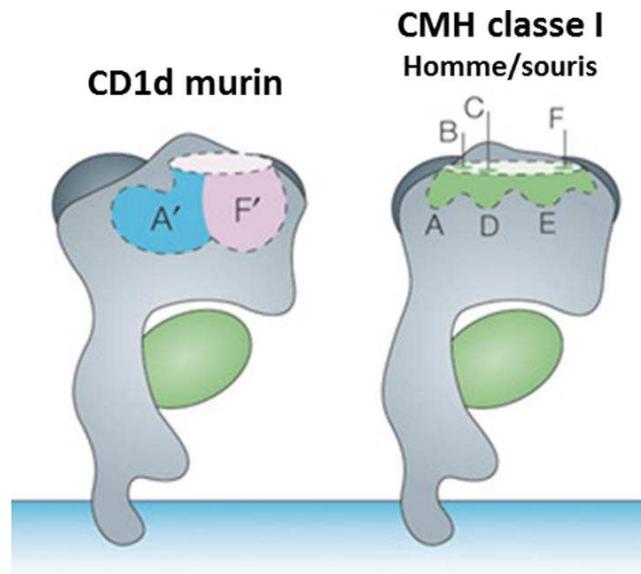


Figure 22 : Structure des molécules CD1d humaine et murine. D'après Moody et al., 2005

2.9.2. Ligands reconnus par les lymphocytes iNKT

La nature et l'origine des ligands restreints par CD1d restent peu connues. Néanmoins, plusieurs ligands présentés par CD1d ont été décrits comme possédant des effets activateurs sur les cellules iNKT. Les ligands identifiés jusqu'à maintenant sont des antigènes de nature lipidique ou glycolipidiques à caractère amphiphile possédant une tête hydrophile et une queue hydrophobe. Les chaînes alkyles de ces antigènes se positionnent dans les poches hydrophobes profondes alors que la partie hydrophile polaire reste à la surface de la molécule CD1d (Koch et al., 2005) (Salio et al., 2014). Ceci facilite le contact avec le TCR à la fois de l'antigène et des deux chaînes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ de CD1d. Ainsi, lors de la présentation de l' α -GalCer, les domaines CDR1 α et 2 α hypervariables du TCR sont en contact direct avec le CD1d tandis que la boucle CDR3 α du TCR interagit avec le ligand α -GalCer (Moody et al., 1997) (Koch et al., 2005) (Zajonc et al., 2005).

2.9.2.1. Ligands exogènes

L' α -GalCer fut le premier ligand des lymphocytes iNKT à être identifié, ceci en 1995, lors de recherches visant à identifier des composés anti-tumoraux issus de l'éponge marine *Agelas mauritanus* (M. Morita et al. 1995). Par la suite, la structure de cette molécule a été modifiée pour donner lieu à une molécule synthétique ou « KRN7000 » plus efficace que la forme naturelle (Kobayashi et al., 1995) (Yamaguchi et al., 1996).

Ce glycolipide, en se fixant au CD1d, permet l'activation du TCR des lymphocytes iNKT et leur production de cytokines. L' α -GalCer est un glycosphingolipide constitué d'une partie hydrophobe, comprenant un céramide qui se fixe dans la poche F' du CD1d et d'une chaîne acylée qui se fixe dans la poche A' de CD1d, permettant au galactose de se fixer au TCR (Moody et al., 1997) (Koch et al., 2005) (Zajonc et al., 2005).

Des analogues structuraux de l' α -GalCer comme l'OCH (Miyamoto et al., 2001), le PBS-25 (Zajonc et al., 2005), le PBS-57 ou encore le Nu- α -GalCer (Aspeshagh et al., 2011) (Guillaume et al., 2015) sont également capables d'activer les cellules iNKT mais de manière moins efficace que l' α -GalCer (Carreño et al., 2016) (**Figure 19**).

Des ligands exogènes d'origine microbienne provenant pour la plupart de bactéries et reconnus par les cellules iNKT dans le contexte CD1d ont été identifiés. Ces composés comprennent le monogalactosyl-diacylglycérol BgGL-II, un α -galactosyl-diacylglycérol isolé de la bactérie *Borrelia burgdorferi* (Kinjo et al., 2006), les α -glucosyl-diacylglycérols présents à la surface de la bactérie *Streptococcus pneumoniae* (SPN-Glc-DAG) (Kinjo et al., 2011), l' α -galacturonocéramide GSL-1 (pour « GlucoSphingoLipid-1 »), composant principal de la paroi des bactéries du genre *Sphingomonas* (Sriram et al., 2005) (Mattner et al., 2005) (Bendelac et al., 2007), le phosphatidylinositolmannoside (PIM) produit par *Mycobacterium bovis* (Brigl et al., 2011) et enfin, un lipopeptidophosphoglycane (LPPG) isolé de la membrane du parasite protozoaire *Entamoeba histolytica* (Lotter et al., 2009).

L'ensemble de ces ligands exogènes naturels des cellules iNKT induisent leur production de cytokines et/ou stimulent leur pouvoir cytotoxique.

2.9.2.2. Ligands endogènes

Les constituants lipidiques des cellules des mammifères et notamment ceux des membranes biologiques comme les glycosphingolipides et les phosphoglycérolipides, représentent une source importante d'antigènes naturels capable de stimuler les cellules T non conventionnelles, y compris les cellules iNKT.

La molécule CD1d est susceptible de présenter des ligands endogènes comme le phosphatidylinositol (PI), le phosphatidylglycérol (PG), la phosphatidyléthanolamine (PE) ou le lysophosphatidyléthanolamine (lysoPE) qui peuvent stimuler les cellules iNKT murines et humaines (Gumperz et al., 2000) (Brennan et al., 2013). Mais la réactivité pour ces antigènes est considérée comme faible et souvent peu reproductible.

Il avait été proposé que l'isoglobotrihexosylcéramide (iGB3) soit le ligand naturel assurant la sélection thymique des cellules iNKT (Zhou et al., 2004) mais plusieurs travaux ont infirmé cette

hypothèse, en particulier du fait que les cellules iNKT des souris invalidées pour l'iGb3 synthase ont un développement normal (Porubsky et al., 2007). D'autres antigènes ont été proposés comme pouvant être des ligands naturels et physiologiques de la sélection thymique des cellules iNKT : des phospholipides, des gangliosides ou les galactocéramides (Bendelac et al., 2007).

Un des problèmes majeurs rencontrés dans la recherche du ligand endogène des lymphocytes iNKT était que parmi les antigènes expérimentaux, seuls ceux comprenant un anomère en position α du sucre, étaient capables de stimuler les cellules iNKT alors qu'un certain nombre d'arguments prédisait que les mammifères ne synthétisent pas de forme anomérique α (Kim et al., 2014). En raison de « l'impossibilité » de trouver des anomères α glycosphingolipides produits chez les mammifères, certains anomères β (dont le β -GlucosylCeramide ou β -GluCer) ont été testés, ceci avec succès (Brennan et al., 2011). Cependant, Kain et al., (2014) après avoir préparé du β -GluCer, ont observé qu'après dégradation de cette préparation par de la β -glucosidase, celle-ci conservait sa capacité à stimuler les lymphocytes iNKT. Dans un second temps, ils ont confirmé que les cellules de mammifères étaient susceptibles par une voie métabolique non identifiée de synthétiser l' α -GalCer (Kain et al., 2014).

2.10. Sous-populations de lymphocytes iNKT

Dès le stade 2 (CD44(+)/NK1.1(-)) ou le stade 3 (CD44(+)/NK1.1(+)) du développement thymique, les cellules iNKT quittent le thymus pour la périphérie où on distingue sur un plan fonctionnel plusieurs sous-populations de cellules iNKT : les iNKT1, les iNKT2, les iNKT17, les iNKT-« Follicular Helper » (NKTfh), les iNKT FoxP3 et les iNKT10. Ces sous-populations diffèrent les unes des autres par leur expression différentielle de facteurs de transcription et de cytokines.

2.10.1. Lymphocytes iNKT1

Les cellules iNKT1 qui possèdent un profil cytokinique de type Th1 ou iNKT « Th1-like » représentent chez la souris la majorité (environ 90%) des cellules iNKT de la rate et du foie. Ces cellules, majoritairement NK1.1(+)/IL-17RB(-), pouvant être CD4(+) ou CD4(-), sont productrices d'IFN- γ et sensibles à une stimulation par l'IL-12.

La fraction minoritaire de cellules iNKT1 NK1.1(-) est également capable de produire l'IFN- γ en réponse à l'IL-12. En situation normale, les cellules iNKT1 des compartiments thymique et extra-thymique expriment les transcrits de gènes impliqués dans la réponse Th1 comme *Ifng*, *Tbx21* (qui code pour T-bet) et *stat4* et expriment faiblement ou pas du tout *GATA-3*, un facteur de transcription associé à la différenciation Th2 (Watarai et al., 2012) (Gordy et al., 2011). Plusieurs

travaux ont ensuite confirmé au niveau protéique par cytométrie en flux l'expression forte de T-bet des cellules iNKT1. En absence de T-bet, la fréquence des cellules iNKT diminue et leur développement est bloqué au stade thymique 2 (CD44(+)/NK1.1(-)) avec des cellules incapables de produire l'IFN- γ .

2.10.2. Lymphocytes iNKT2

Les cellules iNKT2 produisent les cytokines de type Th2 IL-4, IL-9, IL-10 et IL-13 après activation de leur TCR et sont dites iNKT « Th2-like ». De phénotype IL-17RB(+)/CD4(+)/NK1.1(-), ces cellules sont majoritairement présentes dans les poumons où elles contribuent à l'hyperréactivité des voies aériennes dépendante de l'IL-25, à laquelle elles sont réactives. Comme toutes les cellules iNKT, les cellules iNKT2 expriment le facteur de transcription GATA-3, lequel détermine leurs fonctions Th2 du fait de la non-coexpression de T-bet et de ROR- γ t.

Le facteur de transcription E4BP4 (pour « E4 promoter binding protein 4 ») semble aussi jouer un rôle important dans la réponse Th2. En effet, comparativement aux souris sauvages, les souris E4BP4^{-/-} produisent moins l'IL-10 et l'IL-13 en réponse à une stimulation par l' α -GalCer tandis que les productions d'IFN- γ et d'IL-4 restent intactes. Ce facteur est également associé à la production de cytokines de type « Th17 » par les cellules iNKT et n'est donc pas un marqueur spécifique des cellules iNKT2 (Watarai et al., 2012) (Brennan et al., 2013).

Enfin, ces cellules expriment fortement le facteur de transcription PLZF et sont probablement responsables de la génération et du maintien des populations T CD8⁺ innées (pour « T CD8 Innate-Memory ») chez la souris (Lee et al., 2013) (Lee et al., 2015) et chez l'homme (Barbarin et al., 2017). De façon remarquable, cette capacité des lymphocytes iNKT PLZF(+) à produire l'IL-4 et à jouer un rôle immunorégulateur, semble être associée à une production d'IL-4 « innée », c'est à dire indépendante de la mise en jeu du TCR (Dickgreber et al., 2012) (Lee et al., 2013).

2.10.3. Lymphocytes iNKT17

Ces lymphocytes se distinguent des cellules iNKT1 et iNKT2 par leur profil cytokinique de type Th17 et notamment par leur production d'IL-17A ainsi que d'IL-21 et d'IL-22 en réponse à une stimulation par le TCR. Les iNKT Th17 ou « Th17-like iNKT » expriment le récepteur aux chimiokines CCR4, CCR6 et CCR7 et dépendent du facteur de transcription ROR- γ t pour leur différenciation et leur activité Th17. De phénotype CD4(-)/NK1.1(-)/IL-17RB(+), ces cellules sont présentes dans le thymus mais également dans les organes périphériques comme le foie, la rate, la peau, les poumons ainsi que dans les organes lymphoïdes secondaires. Elles expriment l'IL-23R et

sont de ce fait capables de produire l'IL-17 et l'IL-22 mais pas l'IFN- γ en réponse à une stimulation par l'IL-23 (Watarai et al., 2012).

2.10.4. Lymphocytes iNKT FoxP3, iNKT10 et iNKTfh

En plus des cellules iNKT1, iNKT2 et iNKT17 dont le développement est intra-thymique, il existe d'autres sous-populations de cellules iNKT qui se différencient à la suite d'une stimulation antigénique.

Les lymphocytes iNKT FoxP3. Le traitement par l' α -GalCer protège les souris de l'EAE (Encéphalomyélite Auto-immune Expérimentale) avec une augmentation du nombre de cellules iNKT exprimant FoxP3. De plus, en présence de TGF- β , les cellules iNKT murines expriment FoxP3, CD25, CD103, GITR, CTLA-4 et sont incapables de produire l'IL-4 et l'IFN- γ après re-stimulation, ce qui correspond à un état d'anergie (Monteiro et al., 2010). De la même manière, après traitement par le TGF- β , les cellules iNKT humaines sont préférentiellement CD4(+) et expriment le facteur de transcription FoxP3 et le marqueur CD25, lesquels sont associés à des activités suppressives. En situation physiologique, ces cellules « iNKT FoxP3 », apparentées aux cellules Treg, sont présentes chez l'homme mais à de très faibles fréquences (Monteiro et al., 2010).

Les lymphocytes iNKT10. Les cellules dites « iNKT10 », productrices d'IL-10 suite à une stimulation antigénique, sont caractérisées par l'expression des marqueurs de cellules Treg comme PD-1, CTLA4, neuropilin-1 (NRP1) et FR (pour « Folate Receptor 4 »)-4 et l'absence du facteur de transcription FoxP3, ce qui les différencie des cellules iNKT FoxP3 (Moreira-Teixeira et al., 2012). Contrairement aux cellules iNKT FoxP3, les cellules iNKT10 ne sont pas anergiques et conservent leur activité cytotoxique et proliférative dépendante de l'antigène après une deuxième stimulation avec α -GalCer. Une étude utilisant des souris IL-10^{GFP}, a montré une localisation plus importante des cellules iNKT10 PLZF(-)FoxP3(-) dans le tissu adipeux protégeant ce dernier des possibles syndromes inflammatoires induits par l'obésité (Sag et al., 2014). Leur phénotype régulateur est étroitement lié à la production d'IL-10 dont l'expression est régulée par le facteur de transcription E4BP4 également exprimé par les cellules Th1, Treg et iNKT. En effet, les cellules iNKT provenant de souris E4BP4^{-/-} ne produisent pas l'IL-10. Par ailleurs, les cellules iNKT10 interagissent avec d'autres cellules immunitaires en situation normale et après stimulation avec l' α -GalCer via la production de cytokines. Ainsi, la sécrétion d'IL-2 et l'IL-10 par les cellules iNKT10, contrôle les lymphocytes Treg et permet de polariser les macrophages pro-inflammatoires CD11c(+) de type M1 en macrophages anti-inflammatoires CD301(+) de type M2 (Lynch et al., 2015).

Les lymphocytes iNKTfh. Dans les zones marginales de la rate, les cellules iNKT FH (pour « Follicular Helper ») via la production d'IL-21, coopèrent avec les cellules B présentant un antigène lipidique. Ainsi, les iNKTfh participent à la réponse humorale contre les infections microbiennes provoquées entre autres par *Borellia hermsii* et par *Streptococcus pneumoniae* (King et al., 2011). Les cellules iNKTfh expriment CXCR5, PD-1, CD272 (BTLA) mais également Bcl-6 et CD28, qui sont requis pour leur développement et leur expansion. Contrairement aux cellules Tfh, le développement des cellules iNKT FH est indépendant de la présence d'IL-21. Chez l'homme, 10% des cellules iNKT sont CXCR5(+)/PD-1(+)/CD57(+) et correspondent probablement aux cellules iNKTfh (Chang et al., 2011).

2.11. Localisation anatomique et « polarisation fonctionnelle » des lymphocytes iNKT

L'étude de Hodgquist a apporté de nombreuses données montrant que la « compartimentation fonctionnelle » des cellules iNKT dépendait de la localisation tissulaire et du fond génétique (Lee et al., 2013) (**Figure 19**).

Les cellules iNKT produisant de façon préférentielle l'IL-4 sont situées principalement au niveau de la médulla thymique et dans les ganglions mésentériques (Lee et al., 2015). Notons aussi que le compartiment iNKT, y compris la sous-population productrice d'IL-4, est mieux représenté dans le fond génétique BALB/c que dans le fond génétique C57BL/6 (Lee et al., 2015). En revanche, les cellules iNKT présentes dans la rate produisent préférentiellement l'IFN- γ , de telle sorte que l' α -GalCer injectée par voie intraveineuse stimule les lymphocytes iNKT « rapidement accessibles » par voie vasculaire (splénique et hépatique) et qui produiront l'IFN- γ mais aussi l'IL-4. Par la voie entérale, l' α -GalCer ciblera plus rapidement les cellules iNKT des ganglions mésentériques et sera à l'origine d'une production systémique préférentielle d'IL-4 (Lee et al., 2015). Tous ces éléments suggèrent que la localisation tissulaire des différentes sous-populations iNKT influence leur capacité à produire tel ou tel profil de cytokines.

2.12. Les lymphocytes iNKT, le Janus Bifrons du système immunitaire ?

En réponse à un antigène endogène ou étranger, les cellules iNKT sont très rapidement activées et produisent une large gamme de cytokines ou de molécules effectrices, leur permettant de participer aux réponses immunitaires et de les moduler. A cet égard, sans avoir un souci d'exhaustivité, rappelons qu'elles sont impliquées dans l'immunité antimicrobienne (Mattner et al., 2005), l'immunité anti-tumorale (Vivier et al., 2012), les maladies auto-immunes et leur contrôle (Wu et Van Kaer 2009) (Simoni et al., 2013), les maladies allergiques (Stock et Akbari, 2008) ou dans l'homéostasie du tissu adipeux profond (Lynch et al., 2015).

Ces cellules sont présentes à de faible fréquence chez l'homme et la souris mais cette faible fréquence est d'un ordre de grandeur 100 à 1000 fois plus grand que la fréquence d'un lymphocyte T naïf spécifique d'un antigène donné (**Figure 23**). Cette population sera donc capable de répondre à une stimulation dépendant du TCR ou de la mise en jeu de récepteurs innés (IL-12R/IL-18R, Fc- γ RIII, Ly49/NKG2A/KIR) très rapidement, dans un délai de réponse 10 à 20 plus rapide que la mise en jeu des effecteurs conventionnels naïfs au cours d'une réponse immunitaire. En ce sens, la population iNKT fait partie d'un ensemble de cellules de l'immunité adaptative impliquées dans des réponses de type innée, qualifié parfois d'immunité naturelle ou d'immunité transitionnelle.

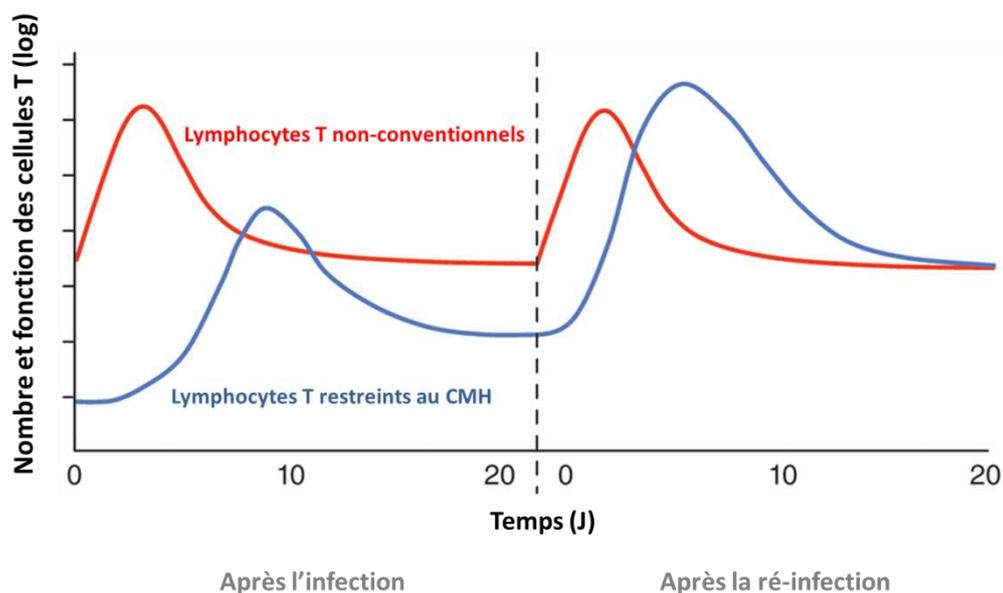


Figure 23 : Comparaison de la réponse anti-infectieuse au cours du temps des cellules T conventionnelles et T non conventionnelles. D'après Godfrey et al., 2015

Les cellules iNKT sont donc un exemple d'une population de cellules immunorégulatrices assurant un pont ou une porte entre la réponse immédiatement disponible de la réponse innée et la réponse adaptative dont le délai de mise en jeu est de plusieurs jours. Pour cette raison, nous sommes tentés de les surnommer « Janus Bifrons » en référence au dieu grec des portes qui assure la transition entre le passé et l'avenir.

Chapitre II : Les lymphocytes iNKT et l'IR rénale

1. Les lymphocytes T et l'IR d'organe

La séquence d'IR que subit un organe transplanté provoque des lésions histologiques plus au moins sévères qui détériorent la fonction du greffon et déterminent son devenir. Ces lésions sont caractérisées par un infiltrat inflammatoire, constitué de cellules mononucléées, de PNN et de lymphocytes appartenant aux effecteurs de l'immunité innée.

Au cours de ces deux dernières décennies, l'utilisation de modèles expérimentaux d'IR rénale (Li et al., 2008) (Ascon et al., 2009), hépatique (Zwacka et al., 1997) ou pulmonaire (Sharma et al., 2011), a permis d'étudier les mécanismes impliqués dans l'activation et le recrutement des cellules immunitaires, et en particulier, des sous-populations de lymphocytes T (Rao et al., 2014) dans l'organe subissant l'ischémie. Certaines d'entre elles, selon un mode au moins en partie inné, favorisent l'inflammation et les lésions tissulaires associées alors que d'autres sont plutôt impliquées dans la réparation tissulaire et la protection de l'organe. Précisément, lorsque l'on considère l'IR rénale, plusieurs études ont démontré le rôle délétère des lymphocytes iNKT et des réponses Th1/Th17 associées tandis que les fonctions protectrices des cellules Treg et d'autres sous-populations de cellules NKT commencent tout juste à être explorées.

2. Implication des lymphocytes iNKT dans la pathogénie de l'IR rénale

Les cellules iNKT, connues pour participer à l'immunité innée anti-tumorale et anti-infectieuse, contribuent également aux événements précoces induits par l'IR rénale (Li et al., 2007), hépatique (Shimamura et al., 2005) (Zimmerman et al., 2017) ou encore pulmonaire (Sharma et al., 2013). Néanmoins, leurs modes d'activation et de recrutement en IR d'organe restent peu étudiés.

En IR rénale, un recrutement de cellules T CD4(+)CD69(+), de cellules NK NK1.1(+)CD3(-) ainsi que de cellules NKT CD3^{int}NK1.1(+)CD69(+), est observé dès 30 minutes de reperfusion (Li et al., 2007). De manière intéressante, la proportion de cellules NKT exprimant la cytokine pro-inflammatoire IFN- γ est également augmentée après 24 heures de reperfusion par rapport aux individus contrôles. Dans ce modèle, le rôle délétère des lymphocytes iNKT a été démontré par l'utilisation d'un anticorps anti-NK1.1 déplaçant l'ensemble des cellules NK1.1 dont font partie les cellules iNKT et l'utilisation de souris déficientes en cellules iNKT (souris $J\alpha 18^{-/-}$). Dans les deux cas, ainsi que dans celui d'une déficiente en IFN- γ (Li et al., 2010), les souris se retrouvent

protégées des lésions d'IR avec une diminution du nombre de PNN infiltrant le rein par rapport aux souris sauvages.

Ces résultats suggèrent que les lymphocytes iNKT, une fois activés, jouent un rôle capital dans le développement précoce des lésions tissulaires, principalement via leur production rapide et massive d'IFN- γ participant ainsi au recrutement des PNN.

Cette capacité des cellules iNKT à médier les lésions liées à l'IR pourrait mettre en jeu une présentation d'antigènes endogènes aux lymphocytes iNKT puisque le blocage CD1d obtenu par l'injection d'un anticorps bloquant dirigé contre cette molécule entraîne une diminution de l'infiltration des PNN et de la production d'IFN- γ et prévient la survenue des lésions rénales (Li et al., 2007). Conciliable avec cette hypothèse, le transfert adoptif de DC, chargées au préalable avec l' α -GalCer, avant la séquence d'IR, entraîne un dysfonctionnement rénal et exacerbe les lésions tissulaires chez les souris sauvage (Bajwa et al., 2012) via les productions d'IFN- γ et d'IL-17 par les cellules iNKT nécessaires au recrutement des PNN. Une fois recrutés et activés, ces derniers produisent l'INF- γ et l'IL-17, participant ainsi aux lésions d'IR rénale (Li et al., 2010).

Soulignons toutefois qu'il existe une étude ne retrouvant pas la protection décrite chez les souris $J\alpha 18^{-/-}$ déficientes en cellules iNKT, ni celle induite chez les souris sauvages par l'injection d'anticorps anti-CD1d (Yang et al., 2011). Les auteurs expliquent ces résultats opposés par le degré très différent de l'atteinte rénale, évaluée par la mesure de la créatinine plasmatique 24 heures après IR, qui est de 1,59 mg/dL contre 0,7 mg/dL dans les travaux démontrant une protection chez les souris déficientes en cellules iNKT (Li et al., 2007) (Li et al., 2010) (Yang et al., 2011).

3. Les lymphocytes iNKT et l'IL-33 en IR rénale ?

Comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, dans un contexte inflammatoire, les cellules iNKT peuvent être activées par des cytokines telles que l'IL-12, pour produire l'IFN- γ indépendamment de l'engagement du TCR et de la reconnaissance par CD1d ou bien même pour amplifier la réponse à un engagement du TCR. De la même manière, les cellules iNKT peuvent être ciblées par l'IL-33. En effet, des travaux de notre équipe ont apporté la démonstration princeps in vivo et in vitro chez la souris d'une action pro-Th1 de l'IL-33 sur les cellules iNKT et les cellules NK, étendant à l'immunité innée les effets de l'IL-33 jusqu'alors décrits comme exclusivement pro-Th2. La même démonstration a été apportée chez l'homme (Smithgall et al., 2008) (Thierry et al., 2014) et chez le porc (Thierry et al., 2012).

Cependant, l'IL-33 seule n'est pas capable d'activer les cellules iNKT. Elle agit en co-facteur de l'activation via le TCR ou de cytokines comme l'IL-12 (Bourgeois et al., 2009). Ainsi, la

production d'IFN- γ par les cellules iNKT est remarquablement amplifiée (d'un facteur 10) lorsque ces cellules activées par l'IL-12 et/ou via leur TCR sont mises en présence d'IL-33.

La réactivité biologique des cellules NK et iNKT aux actions de la cytokine IL-33 réside dans le fait que ces populations lymphocytaires expriment constitutivement à leur surface la chaîne ST2 spécifique du récepteur de l'IL-33 (Bourgeois et al., 2009) (Smithgall et al., 2008).

En dépit du rôle joué par les lymphocytes iNKT en IR rénale, leurs modes d'activation et de recrutement sont encore mal décrits. Prenant en compte que l'IL-33 est une alarmine et qu'il existe des sources cellulaires rénales d'IL-33, l'ensemble de ces travaux de la littérature et du laboratoire discutés ci-avant est conciliable avec l'existence d'un axe biologique IL-33/cellules iNKT régissant les lésions induites par le phénomène IR dans le rein.

Objectifs principaux

Objectifs principaux

Les phénomènes d'IR rénale, y compris en transplantation, constituent un problème clinique important qui est responsable de l'insuffisance rénale aiguë et chronique, lesquelles sont associées à un fort taux de mortalité et de morbidité. L'IR entraîne une activation précoce du système immunitaire inné initiant une inflammation de type « stérile » qui contribue à des lésions tissulaires graves allant jusqu'au rejet du greffon. Les mécanismes sous-jacents impliqués dans le déclenchement de cette réponse immunitaire innée ne sont cependant pas élucidés.

Guidés par le concept « d'alarmine », nous avons postulé l'implication de l'IL-33 dans le déclenchement de la réponse immunitaire innée initiant le syndrome d'IR rénale et c'est cette question qui a fait l'objet de la partie expérimentale de mes travaux de thèse. Ainsi, notre objectif principal a été d'étudier, *in vivo* en modélisation animale, le rôle de l'IL-33 au cours des phénomènes d'IR rénale et d'analyser les effecteurs cellulaires et moléculaires associés. Pour ce faire, nous avons mis en place dans le laboratoire un modèle d'IR rénale unilatérale chez la souris, par clampage-déclampage du pédicule rénal. Ces travaux ont nécessité une phase préalable de validation des différents paramètres comprenant l'abord chirurgical (dorsal versus ventral), le type d'anesthésique utilisé, la durée de l'ischémie chaude ainsi que l'âge et le genre de l'animal.

A l'appui de ce modèle animal expérimental, nous avons en premier lieu examiné l'expression, la distribution ainsi que la localisation cellulaire de la protéine IL-33 dans le rein à l'état basal et après IR rénale. Nous avons ensuite recherché s'il existait une sensibilité différentielle entre les souris sauvages (souris WT) et les souris transgéniques déficientes en IL-33 (souris IL-33^{Gt/Gt}) ou dans la chaîne spécifique ST2 de son récepteur (souris ST2 KO) à la séquence d'IR, ceci en termes de production d'ERO, de recrutement leucocytaire, de souffrance tissulaire, de dysfonctionnement rénal, ainsi que de fibrose.

Pour aborder la question des mécanismes cellulaires sous-jacents mis en jeu, notre intérêt s'est porté sur les cellules iNKT pour les trois raisons suivantes : **1)** les cellules iNKT participent à l'inflammation induite par les phénomènes d'IR rénale en modélisation chez la souris (Li et al., 2007); **2)** les lymphocytes iNKT et l'IL-33 sont capables d'agir de manière coordonnée comme l'attestent les travaux antérieurs du laboratoire montrant *in vitro* une action directe de l'IL-33 sur les cellules iNKT (Bourgeois et al., 2009) et *in vivo* le recrutement des cellules iNKT par l'IL-33 dans un modèle d'inflammation tissulaire (Bourgeois et al., 2011); **3)** enfin, une étude observationnelle pilote chez l'homme réalisée dans le laboratoire a montré une libération des alarmines HMGB1 et IL-33 dans leurs formes circulantes et urinaires au décours immédiat de la

transplantation rénale (Thierry et al.,2014), laquelle s'accompagne d'un état d'activation des cellules iNKT du sang périphérique.

Sur la base de ces données, nous avons recherché s'il existait dans notre modèle expérimental un lien entre la libération d'IL-33, l'activation et le recrutement des cellules iNKT dans le rein et la genèse des lésions tissulaires au cours des phénomènes d'IR rénale.

Résultats

Manuscrit

Endogenous IL-33 contributes to kidney ischemia-reperfusion injury by promoting invariant Natural Killer T-cell recruitment and function.

Maroua Ferhat, Aurélie Robin, Sébastien Giraud, Sandra Sena, Jean-Michel Goujon, Guy Touchard, Thierry Hauet, Jean-Philippe Girard, Jean-Marc Gombert, André Herbelin, and Antoine Thierry

Manuscrit soumis pour publication

Les phénomènes d'IR, qui sont inhérents à la transplantation rénale, sont caractérisés par un infiltrat leucocytaire majeur, une réaction inflammatoire et des lésions tissulaires graves. Toutefois, les signaux qui initient ces événements restent encore à définir. Postulant que la libération d'alarmines par les cellules épithéliales et endothéliales en nécrose joue un rôle important dans ce processus, le présent travail (**manuscrit**) démontre la contribution de l'alarmine IL-33 dans la genèse des lésions tissulaires à l'appui d'un modèle murin d'IR rénale unilatérale, utilisant des souris déficientes en IL-33 (IL-33^{Gt/Gt}). L'IL-33, exprimée de manière constitutive par l'endothélium microvasculaire rénal (péritubulaire et périglomérulaire), est immédiatement libérée par les cellules endothéliales en souffrance suite à une séquence d'IR rénale et retrouvée dans sa forme circulante dès 1 heure de reperfusion. Les souris IL-33^{Gt/Gt}, dépourvues en IL-33, sont significativement moins sensibles aux lésions induites par l'IR, comme l'atteste le maintien d'une fonction rénale intacte, des lésions histologiques atténuées sans progression vers une fibrose interstitielle, par rapport aux souris WT. Le fait que les souris génétiquement déficientes pour la chaîne spécifique ST2 du récepteur de l'IL-33 (souris ST2 KO) aient un profil similaire à celui des souris IL-33^{Gt/Gt} indique que l'IL-33 dans ce modèle agit via son récepteur spécifique.

Une analyse par cytométrie en flux du contenu du rein en cellules hématopoïétiques a montré un recrutement massif de PNN producteurs d'IFN- γ /IL-17A chez les souris WT, lequel est retrouvé significativement diminué chez les souris IL-33^{Gt/Gt}. Cette susceptibilité moindre des souris déficientes en IL-33 est associée à la perte du recrutement de cellules iNKT productrices d'IFN- γ /IL-17A qui sont particulièrement connues pour leur rôle délétère en IR via le recrutement de PNN. De manière intéressante, les souris *Ja18KO*, déficientes en cellules iNKT, qui sont protégées contre les lésions d'IR, possèdent également des niveaux élevés d'IL-33 circulante. Ceci nous amène à proposer l'hypothèse par laquelle l'IL-33 endogène contribue aux lésions d'IR en favorisant le recrutement de cellules iNKT et la production de cytokines par ces dernières, conduisant ainsi à un recrutement amplifié de PNN au niveau de la région du rein lésée.

En conclusion, l'ensemble de nos données identifie l'alarmine IL-33 comme un médiateur important et précoce de la réponse immunitaire innée au cours des phénomènes d'IR rénale expérimentale chez la souris, mettant en jeu les cellules iNKT. Cette pierre ajoutée à l'édifice permet de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la genèse des lésions associées à la transplantation rénale et d'imaginer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Original Article

Endogenous IL-33 contributes to kidney ischemia-reperfusion injury by promoting invariant Natural Killer T-cell recruitment and function.

Maroua Ferhat^{1,2,3}, Aurélie Robin^{1,3}, Sébastien Giraud^{1,3}, Sandra Sena^{1,3}, Jean-Michel Goujon^{1,2,3,4},
Guy Touchard^{2,3,5}, Thierry Hauet^{1,3,6}, Jean-Philippe Girard^{7,8,9}, Jean-Marc Gombert^{1,2,3,10}, André
Herbelin^{1,2,3,*}, and Antoine Thierry^{1,2,3,5,*}

*Both authors contributed equally to this manuscript.

¹INSERM U1082, 86021 Poitiers, France

²University of Poitiers, 86034 Poitiers, France

³CHU of Poitiers, 86021 Poitiers, France

⁴Department of Anatomic pathology, 86021 Poitiers, France

⁵Departments of Nephrology and Transplantation, 86021 Poitiers, France

⁶Department of Biochemistry, 86021 Poitiers, France

⁷Institute of Pharmacology and Structural Biology, 31077 Toulouse, France

⁸CNRS UMR5089, Toulouse, 31077 Toulouse, France

⁹University of Toulouse and UPS, 31077 Toulouse, France

¹⁰Laboratory of Immunology, 86021 Poitiers, France

Running title: IL-33 in kidney IRI

Corresponding author: André Herbelin

Address, phone and Email: Inserm U1082, Pôle de Biologie Santé, 1 Rue Georges Bonnet,
86022 Poitiers, France. Phone: (33) 5 49 45 43 41. Email: andre.herbelin@inserm.fr

Word counts: for abstract (238) and text (3003) excluding abstract, figures legends, methods and
references, figure count (11) and reference count (43).

Abstract

Inflammation is a prominent feature of ischemia-reperfusion injury (IRI) characterized by leukocyte infiltration and renal tubular injury. However, the signals that initiate these events remain poorly understood. The present study identifies the nuclear alarmin interleukin (IL)-33 as an important early mediator of the innate immune response triggered by experimental kidney ischemia-reperfusion in mice. IL-33 is constitutively expressed throughout the kidney in peritubular and periglomerular spaces, mainly by microvascular endothelial cells, from which it is released immediately during IRI. In mice lacking IL-33 (IL-33^{Gt/Gt}), IRI is reduced, as attested by decreased infiltration of IFN- γ /IL-17A-producing neutrophils, tubular cell injury and preservation of renal functions without interstitial fibrosis. This protection is associated with a decrease of iNKT cells, which are known for their deleterious role in IRI as inducers of neutrophil recruitment. Yet, even though iNKT cell-deficient (Ja18KO) mice are protected against IRI, their circulating IL-33 continues to be increased in this experimental setup, similarly to that of their wild-type counterparts. This finding, along with the in vitro observation that IL-33 targets iNKT cells by inducing both IFN- γ and IL-17A led us to propose that endogenous IL-33 contributes to kidney IRI by promoting iNKT cell recruitment and cytokine production, resulting in neutrophil infiltration and activation at the injury site. Taken together, our findings demonstrate a novel molecular mediator contributing to immune cell recruitment induced by renal ischemia-reperfusion and may provide new therapeutic insights into acute kidney injury associated with renal transplantation.

Introduction

Ischemia-reperfusion injury (IRI) upon renal transplantation contributes to graft damage¹ after a complex pathophysiology involving mitochondrial dysfunction, release of reactive oxygen species, cellular necrosis, apoptosis and tissue damage. It results in impaired organ function², leading to fibrosis³.

Studies in IRI models have demonstrated that inflammatory responses mediated by the innate immune system cause renal damage²⁻⁶. However, the mechanisms of early activation and recruitment of immune cells to the post-ischemic kidney are still unclear, raising question of a possible involvement of proinflammatory damage-associated molecular patterns (DAMPs) such as high-mobility-group protein B1 (HMGB1) released from renal necrotic cells^{7,8}. DAMPs are normally intracellular, shielded from the immune system by plasma membranes^{9,10}. Proinflammatory DAMPs, like histones, HMGB1, ATP, uric acid and non-methylated CpG-rich DNA are released from necrotic cells following tissue injury, ready to activate the innate immune system⁹⁻¹².

Important pro-inflammatory functions have also been ascribed to interleukin (IL)-33, both as conventional cytokine and alarmin¹³⁻¹⁸. IL-33, initially identified as a nuclear factor called NF-HEV¹⁹ (for “Nuclear Factor of High-Endothelial Venules”), is the most recent member of the IL-1 receptor superfamily of cytokines which also comprises IL-1- β and IL-18. It is constitutively expressed by various tissues, including kidney, in the nucleus of endothelial and/or epithelial cells and/or fibroblasts^{13-18,20}. During tissue stress resulting from infection or trauma, IL-33 is released by necrotic cells as alarmin and rapidly targets both non-immune and innate immune cells, thereby increasing proinflammatory cytokine secretion^{17,18,21}. Upon binding to its specific receptor ST2 and co-receptor IL-1 receptor accessory protein (IL-1RAcP)^{13,14} IL-33 initiates the MyD88 (Myeloid differentiation primary response gene 88)-dependent inflammatory pathway, through MAPK (Mitogen Activated Kinase) and NF- κ B (Nuclear Factor-kappa B) signaling. IL-33 can be negatively regulated by sST2 (soluble ST2), which acts as a decoy receptor for IL-33¹⁸. In humans, IL-33 has been implicated in chronic kidney diseases²². Regarding renal transplantation, our recent findings suggest that during kidney IRI, IL-33 acts as an alarmin promptly released into serum and urine after reperfusion²³. In this clinical situation, urinary IL-33 levels and IRI duration are correlated, supporting a close connection between kidney cell injury and IL-33 release²³. Nonetheless, a direct proof of the involvement of IL-33 in experimental kidney IRI has not been provided so far.

Herein we addressed this issue using mice lacking IL-33 (IL-33^{Gt/Gt}). We knew also that active IL-33 can be passively released into the intercellular milieu of renal tissue after cisplatin-induced

acute tubular necrosis²⁰ and that it targets invariant natural killer T (iNKT) cells^{24,23,25} known for their deleterious effect during renal IRI^{26,27}.

Results

IL-33 is constitutively expressed in microvascular endothelial cell nuclei.

We first examined the expression of IL-33 and its localization in healthy kidneys from wild-type (WT) mice. IL-33 was clearly detected in periglomerular and peritubular areas by immunohistochemistry (**Figure 1A, upper panel**), in accordance with observations by Akcay et al.²⁰. The specificity of the immunostaining was validated by the absence of immunoreaction in kidneys from IL-33-deficient mice (**Figure 1A, lower panel**). IL-33 was constitutively expressed in both peritubular and periglomerular cells, predominantly in nuclei (**Figure 1B**). No immunofluorescence was detected in IL-33-deficient mice (**Supplemental Figure 1**). Co-staining of IL-33 and CD31, a highly specific endothelial cell marker, revealed a majority (approximately 60-70%) of interstitial cells co-expressing both molecules (**Figure 1B**). The 20-30% CD31(-)IL-33(+) cells were not resident immune cells, as assessed by co-staining with the common leukocyte marker CD45. Indeed, CD45-bright cells identified as leukocytes did not express IL-33 (**Figure 1C**).

IRI-induced IL-33 release from peritubular and periglomerular endothelial cells does not require transcription.

Tissue injury following kidney ischemia-reperfusion is initiated by acute reduction of blood flow leading to endothelial cell necrosis. We surmised that IL-33 might be released from necrotic endothelial cells soon after ischemia-reperfusion. To test this assumption, we induced IRI in WT C57BL/6 mice by unilateral clamping of the renal pedicle for 32 min after contralateral nephrectomy, as schematized in **Supplemental Figure 2**. IL-33 immunofluorescence staining was clearly diminished in both periglomerular and peritubular endothelial (CD31(+)) cells (**Figure 2A, right panel**) as soon as one hour after reperfusion of the injured kidneys, as compared to their healthy contralateral (Ctr) counterparts (**Figure 2A, left panel**) used as internal « steady-state » controls. Consistent with alarmin release, intracellular IL-33 was not decreased in sham-operated (Sham) mice (**Figure 2A, middle panel**), without clamping. This early partial loss of IL-33 from ischemic kidney was confirmed by western-blot analysis (**Figure 2B**). It was concomitant with a rise of circulating IL-33, which was virtually undetectable before IRI (T0), but increased in plasma one hour after clamping. A partial, transient but lesser increase took place in Sham mice, (**Figure 2C**) at this time point, due to the incision alone. Elevated plasma IL-33 levels persisted for up to 6 hours and returned to baseline within 24 hours of reperfusion (**Figure 2C**). Release of IL-33 1 hour post-reperfusion did not require transcription, as attested by RTqPCR analysis, which revealed no difference in Il-33 gene expression between control (Ctr) (1.0 ± 0.035 ,

mean±SEM, n=7) and one-hour post-ischemic (0.95 ± 0.08 , mean±SEM, n=5; $p=0.67$, t-test) kidneys. These data support a release of endogenous protein rather than de novo synthesis early after injury, in accordance with the notion that IL-33 acts as an alarmin in ischemic mice.

Mice lacking IL-33 or its specific receptor ST2 are protected against IRI.

We assessed the effect of IL-33 on kidney functions by measuring blood creatinine (**Figure 3A**) and urea nitrogen (BUN) (**Figure 3B**), in WT and IL-33-deficient mice 24 hours after clamping. No renal dysfunction was revealed by these criteria in mice lacking IL-33, relative to their Sham counterparts. This result was confirmed by their 100% survival rate within the first 3-4 days after surgery, contrasting with 50% survival in WT mice, as a result of severe renal insufficiency (**Supplemental Figure 3**). Acute tubular necrosis (ATN) assessed by loss of brush border, cast formation, tubular dilatation and inflammatory infiltrates at the cortico-medullary junction was reduced in IL-33-deficient kidneys versus their WT counterparts (**Figure 3C, left panel**), resulting in significantly lower ATN scores (**Figure 3C, right panel**).

Finally, kidneys from mice deficient for ST2 displayed a similarly moderate ATN score (**Supplemental Figure 4**), which proves that IL-33 induces kidney IRI via its specific ST2 receptor.

Oxidative stress response and IRI fibrosis are attenuated in IL-33-deficient mice.

In the ischemic kidney, generation of reactive oxygen species (ROS) at reperfusion initiates a cascade of deleterious cellular responses leading to inflammation, cell death, and acute kidney failure^{28,29}. We evaluated the effect of IL-33 deficiency on ROS production by CellROX staining in our renal IRI model. In basal conditions, fluorescent staining was weak, as illustrated in representative contralateral (**Figure 4A**) and Sham (**Figure 4B**) kidneys of both WT and IL-33-deficient mice. Following ischemia and subsequent 24-hour reperfusion, ROS production increased in WT mice (**Figure 4C, upper panel**), but not in their IL-33-deficient counterpart (**Figure 4C, lower panel**). Mean quantification of CellROX staining from all mice confirmed this conclusion (**Figure 4D**).

Chronic fibrosis results from long-term collagen deposition in ischemic kidneys, which depends on IRI severity^{30,31}. We revealed collagen deposits in day 30 (D30)-post ischemic WT and IL-33-deficient kidneys using Sirius red staining. Note that at this time plasma creatinine (**Figure 5A**) and BUN (**Figure 5B**) levels in both WT and IL-33-deficient mice were back to normal. As illustrated in **Figure 5C**, healthy Ctr and D30 Sham kidneys from both WT and IL-33-deficient mice contained appreciable amounts of interstitial collagen fibers, which increased markedly in

WT D30-post IRI kidneys, whereas IL-33-deficient mice developed a much-attenuated form of fibrosis (**Figure 5C**). Quantification of Sirius red staining area confirmed this result (**Figure 5D**).

IL-33 deficiency alters both post-IRI trafficking and pro-inflammatory cytokine expression of myeloid cells.

Following ischemia/reperfusion, immune cells, like neutrophils, monocytes/macrophages and lymphocytes, are recruited to the kidney, where they mediate IRI⁶. We assessed the contribution of IL-33 to this process, by comparing the incidence of total renal leukocytes, identified as CD45(+) cells, in WT and IL-33-deficient mice 24 hours post-IRI (for gating strategy, see **Supplemental Figure 5A**). Total CD45(+) cell counts were significantly higher in kidneys undergoing IRI in WT mice than in untreated and Sham mice (**Supplemental Figure 5B**), indicating a marked infiltration. Notably, CD45(+) cell recruitment was reduced at least twice in mice lacking IL-33. Further examination of these cells showed that both monocyte/macrophage (CD11b^{high} F4/80^{low}) (**Figure 6A&B**) and neutrophil (GR-1^{high} CD11b^{high}) (**Figure 6C&D**) counts were diminished, reflecting a lesser myeloid trafficking. Plasma levels of the chemokines MCP-1/CCL2 and MIP-2/CXCL2, responsible for monocyte/macrophage and neutrophil recruitment to inflammatory sites³², respectively, were rapidly increased, within 3 hours post-IRI, with no significant difference between WT and IL-33-deficient mice (**Supplemental Figure 6**).

Previous studies have demonstrated a potential role for IFN- γ - and IL-17A-producing neutrophils in acute renal IRI^{26,27}. We analyzed the expression of these two cytokines using intracellular flow cytometry in neutrophils from WT and IL-33-deficient kidneys 24 hours post-IRI. As shown in **Figure 6E&F**, most infiltrating neutrophils co-expressed IFN- γ and IL-17A in WT kidneys, while this subset was clearly diminished in IL-33-deficient mice. The frequency of IFN- γ (-)/IL-17A(-) neutrophils was accordingly increased in kidneys from IL-33-deficient versus WT counterparts.

Renal iNKT cell recruitment, activation and cytokine production are impaired in IL-33-deficient post-IRI mice.

Ischemia-reperfusion-induced activation and recruitment of iNKT cells to the kidney are considered critical for neutrophil infiltration and pro-inflammatory cytokine production before kidney injury⁶. Knowing that IL-33 drives iNKT cell activation and recruitment to inflammatory tissues³³, we examined how its deficiency affected this subset 24 hours after IRI induction. As previously reported by Okusa's group^{26,27}, iNKT cells (PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+); for gating strategy, see **Supplemental Figure 7**) were markedly increased, in WT kidneys post-IRI compared to untreated and Sham controls, both in terms of cell counts (**Figure 7A**) and frequency

(**Figure 7B**). Moreover, their CD69 cell surface expression was upregulated (**Supplemental Figure 8**), reflecting their activation by IRI. In the same conditions, neither increase occurred in mice deficient for IL-33 (**Figure 7A&B, Supplemental Figure 8**), which established its critical role in IRI-induced iNKT cell trafficking.

It has been proposed that during IRI activated iNKT cells promote recruitment and IFN- γ production by neutrophils through the IFN- γ and IL-17A they generate. Consistent with a potential role of endogenous IL-33 in this process, the frequency of IFN- γ (+)/IL-17A(+) T cells tended to decrease in IL-33-deficient mice (**Figure 7C&D**), while IFN- γ /IL-17A expression in iNKT cells was significantly reduced (**Figure 7E&F**). This evidence corroborates our finding that IL-33 targets iNKT cells to induce both IFN- γ ²⁴ and IL-17A production in vitro (**Figure 8**).

As shown in **Supplemental Figure 9**, plasma levels of IP-10/CXCL10, MIG/CXCL9 and RANTES/CCL5, chemokines known for recruiting lymphocytes like iNKT cells to sites of inflammation^{34,35}, were increased within 3 hours post-IRI. Concentrations were similar in WT and IL-33-deficient mice, which shows that their production is not IL-33-dependent.

IRI-induced release of IL-33 promotes neither renal injury nor neutrophil infiltration in mice lacking iNKT cells.

The key role of IL-33 in mediating iNKT cell activation and recruitment in renal IRI is supported by the similar phenotype of iNKT cell-deficient $J\alpha 18$ KO and IL-33-deficient mice, namely complete protection against IRI (**Figure 9A**) together with decreased neutrophil (**Figure 9B**) and monocyte/macrophage (**Figure 9C**) infiltration. Note that plasma levels and time course of IL-33 release into peripheral blood were not affected by iNKT cell deficiency in $J\alpha 18$ KO mice undergoing IRI (**Figure 9D**), which emphasizes the requirement of iNKT cells as mediator of IL-33 activity.

Initial IRI-induced myeloid recruitment is independent from IL-33.

The peak of the IL-33-dependent inflammatory response 24 hours after IRI induction was preceded by a very early phase, comprising the first few hours of reperfusion (**Figure 10A&B, left panels**) that did not require IL-33, since myeloid cell infiltration persisted 3 to 6 hours post-IRI in IL-33-deficient mice (**Figure 10A&B, right panels**). Moreover, this initial inflammatory episode preceded iNKT cell recruitment (**Figure 10C**), which indicates that the IL-33/iNKT cell axis represents a means of amplification rather than initiation of monocyte/macrophage and neutrophil infiltration. **Figure 11** recapitulates the time sequence of IL-33-dependent and independent events in kidney IRI.

Discussion

Endogenous IL-33 has been identified as an alarmin mediating danger signals during tissue damage¹⁵. This concept has recently been applied to human kidney transplantation, in which renal injury is associated with early IL-33 release²³. It is also relevant to *in vitro* hypoxia/re-oxygenation of endothelial cell, which mimicks *in vivo* conditions post-IRI²³.

Using IL-33-deficient mice in a model of kidney ischemia-reperfusion, we demonstrate for the first time that endogenous IL-33, released from endothelial cells as alarmin, is critical for the pathogenesis of IRI-induced kidney injury. Without IL-33, clinical and histological hallmarks of acute ischemic renal failure were attenuated, with less severe tubulo-interstitial injury and preserved renal function. In addition, macrophage/neutrophil infiltration, local generation of ROS and IFN- γ /IL-17A were decreased while mortality and chronic fibrosis, which depend on IRI severity³¹, were absent or reduced in these conditions.

In accordance with its surveillance function, alerting the immune system to mount an inflammatory response³⁶, IL-33 is mainly and constitutively expressed in the nuclei of epithelial barrier tissues and endothelial cells, and can therefore be immediately released in response to cell injury. The few studies on the cellular localization of IL-33 in the kidney, have documented a constitutive expression in endothelial nuclei of renal large and small vessels in humans³⁷, and in peritubular vascular endothelial cells with a similar expression profile^{20,38} in mice. In agreement with these data, we demonstrate here that in healthy murine kidneys IL-33 is mainly expressed by (CD31(+)/CD45(-)) endothelial cells in peritubular capillaries and by CD31(-)/CD45(-) interstitial cells, which may be pericytes, endothelial progenitor cells and/or fibroblasts.

The initial event triggering tissue injury after kidney ischemia-reperfusion is acute reduction of blood flow followed by endothelial cell necrosis. We found that full-length active IL-33 disappeared from renal endothelial cells and increased in the circulation within only 1 hour of reperfusion, with no change in IL-33 mRNA expression. This result proves that in this situation IL-33 signals damage as an alarmin, once released from the nucleus of dying endothelial cells. It is then ready to activate the innate immune response through its specific ST2 receptors, expressed on iNKT cells and neutrophils, both important mediators of the inflammatory response. The protection of ST2-deficient mice against IRI is consistent with this view, even though possible interactions of IL-33 with non-immune ST2-expressing targets, including proximal and distal tubular cells, cannot be excluded.

Following ischemia-reperfusion, neutrophils are recruited to the kidney, where they act as major IRI effector cells. It is widely acknowledged that their recruitment and activation depend on iNKT

cells, presumably via their IFN- γ /IL-17A production. We provide three lines of evidence that IL-33 and iNKT cells interact directly to promote neutrophil infiltration in ischemic kidneys: (i) iNKT cells constitutively express the IL-33 receptor-specific ST2 chain²⁴; (ii) IL-33 drives recruitment of iNKT cells, and induces their IFN- γ /IL-17A production in response to ischemia-reperfusion, and (iii) IL-33, iNKT cells, and IFN- γ /IL-17A production are interconnected, since recombinant IL-33 targets iNKT cells in vitro to induce the pro-inflammatory cytokines that mediate IRI. Like iNKT cells, neutrophils express ST2 and could therefore respond directly to IL-33. However, the failure to recruit neutrophils in mice lacking iNKT cells does not support this assumption. Lastly, an indirect effect of IL-33 on iNKT cell recruitment cannot be excluded since almost all iNKT cells express the inflammatory chemokine receptors CCR2, CCR5 and CXCR3 at much higher levels than any other memory or effector T-cell subset³⁹, while their ligands CCL5/RANTES, MIG/CXCL9 and IP-10/CXCL10 are widely expressed in non-lymphoid tissues and up-regulated by inflammatory signals. However, IRI-induced increase in plasma concentrations was similar for all three chemokines in WT and IL-33-deficient mice, which makes IL-33-induced enhancement of their production highly improbable.

Given that IL-33 seems to behave like a cofactor rather than as an independent stimulus by targeting iNKT cells, as previously reported²⁴ and illustrated in **Figure 8**, other signals acting in concert with IL-33 during IRI need to be considered. Recruitment/activation of iNKT cells during IRI is mediated through interactions with CD1d^{26,27}, implying that endogenous Ag, presumably self-glycolipids associated with CD1d molecules and recognized by the invariant TCR are involved⁴⁰. It is therefore likely that IL-33 provides a means of amplifying iNKT-cell-mediated responses during IRI, as we have previously reported in lung inflammation³³.

Even though IL-33 release peaked as soon as 1 hour post-IRI, its effect on myeloid cell recruitment appeared only 6-24 hours post-IRI, which may be explained by the fact that TCR-mediated activation of iNKT cells is not achieved within the first hours after clamping²⁵. In agreement with this explanation, the initial phase of macrophage/neutrophil infiltration appears before iNKT cell infiltration and does not depend on IL-33. This early leucocyte recruitment is probably mediated through release of chemokines like MCP-1 and MIP-2 by injured epithelial, endothelial and tissue-resident immune cells, which drives the recruitment of macrophages and neutrophils, respectively³².

IL-33 has also been described as a potent inflammatory mediator of obstructive and nephrotoxic AKI^{20,38}. Chen et al. reported that IL-33/ST2 signaling promotes tubular cell injury interstitial fibrosis³⁸, while a deleterious effect of IL-33 has been reported during cisplatin-induced AKI²⁰. In

the last two models, early alarmin-like release of IL-33 has not been documented, since IL-33 was apparently synthesized within 2-4 days after AKI induction, like a conventional cytokine.

Together with our evidence for a direct interaction of IL-33 with iNKT cells to regulate non-infectious inflammation in the lung³³, our current study supports the notion that the IL-33/iNKT cell axis represents a new general physiopathological mechanism involved in « sterile inflammation » associated with tissue damage. It may also apply to IRI occurring during human renal transplantation, as suggested by our recent pilot study, which indicates that prompt release of IL-33 into the circulation could be responsible for the early activation of iNKT lymphocytes²³.

Our current study improves the understanding of the role played by IL-33 during kidney IR and its effect on iNKT lymphocytes, whose deleterious action is widely recognized. Moreover, the alarmin signaling pathway may become instrumental as a new therapeutic target, through which the innate inflammatory cascade involved in IRI and AKI could be neutralized. This approach would be beneficial for long-term graft survival, which represents a major challenge in transplantation.

CONCISE METHODS

Animals

Wild-type C57BL/6 mice were purchased from Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France). IL-33-deficient C57BL/6 mice with a Lac-z gene-trap (Gt) reporter (IL-33^{Gt/Gt}) were generated as described by Pichery et al.⁴¹. J α 18KO C57BL/6 mice (lacking iNKT cells) and ST2KO C57BL/6 mice were kindly provided by M Taniguchi⁴² and A McKenzie⁴³, respectively. All mice were maintained in our animal facilities under specific pathogen-free conditions. Ten-to-twelve-week-old male mice weighing between 25 and 30 g were used in all experiments. Animal care and manipulations for experimentation were conducted in accordance with the guidelines of the French Agriculture and Forestry Ministry (decree 87849) and of European Communities Council Directive (86/609/EEC) and were approved by the local ethics committee (COMETHEA: CE2012-06).

Mouse model of ischemic-reperfusion kidney injury

An established mouse model of unilateral renal ischemia-reperfusion was used (see **Supplemental Figure 2**). Briefly, mice were anesthetized with isoflurane (2% for induction and 1.5% for maintenance). After flank incision, the right renal pedicle was clamped using a straight Schwartz Micro clip (Fine Science Tools, Heidelberg, Germany) for 32 minutes, and then released. This duration of ischemia was chosen to induce kidney injury of notable severity without a high mortality rate, permitting evaluation of the fibrosis process after functional recovery. The left contralateral kidney (Ctr) was ligated and removed before IRI induction and was used as healthy and internal control for comparison with the IRI and sham kidneys. Sham-operated mice underwent identical surgical procedures without clamping of the renal pedicle, and served as controls for IRI mice. Body temperature was controlled throughout the procedure. Animals were then allowed to recover, with free access to food and water. Blood was collected from retro-orbital sinus of isoflurane-anesthetized mice, and right kidneys were removed 1, 3, 6, or 24 hours of reperfusion.

Renal function

Plasma creatinine assessed by the colorimetric method of Jaffe, and blood urea nitrogen (BUN) were measured 24 hours post-reperfusion to assess renal function, using the Cobas C701 automatic analyzer (Roche Diagnostic).

Cytokine and chemokine measurement

Mouse IL-33 and MCP-1 (Quantikine kit) and mouse IL-17A (Duotest) were quantified in plasma by sandwich ELISA (R&D Systems) according to the manufacturer's instructions. Mouse IFN- γ was quantified by standard sandwich ELISA, as previously described²⁴. Luminex technology was used according to the manufacturer's instructions to measure mouse IL-12p70, MIP-2, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG and CXCL10 in plasma (R&D Systems).

Renal histopathology

Kidneys were fixed in 4% formalin, embedded in paraffin wax and sectioned at 3.5 μ m. Periodic-acid-Schiff (PAS) staining was used to assess tubular injury. Histological changes were evaluated by assessment of tubules that displayed: dilatation, cell necrosis and cast formation, loss of brush border in addition to interstitial edema and interstitial inflammation. All histologic examinations were performed by a renal pathologist (JMG) in a blinded fashion using a semi-quantitative scale as follows: 0 (no damage); 1 (damage affecting less than 25% of the whole kidney sections), 2 (damage affecting 25-50% of kidney sections), 3 (damage affecting 50% or more of the whole kidney section).

Immunostaining and immunoblotting

A polyclonal goat anti-mouse IL-33 antibody (R&D Systems, clone AF3626) that recognizes mouse full-length (34-37 kD) and cleaved IL-33 (19-22 kD) was used for immunostaining and western blot analysis.

For immunofluorescence studies, 5 μ m cryosections were fixed 1 hour at 4°C in 4% paraformaldehyde (PFA). Sections were blocked and permeabilized with 3% BSA, 0.3% Triton-X100, and then stained with primary antibody overnight at 4°C as follows: goat anti-mouse IL-33 (1:500), rat anti-mouse CD31 (1:500, BD Biosciences, clone MEC13.3), and APC-conjugated anti CD45 (1:200, BD Biosciences, clone 30-F11). Slides were incubated for 1 hour at room temperature with secondary antibodies as follows: Alexa Fluor 488 donkey anti-rat IgG (1:250; Life Technologies, A21208), Alexa Fluor 568 donkey anti-goat IgG (1:500; Life Technologies, A11057) were used as secondary antibodies. Nuclear staining was performed with DAPI (4,6-Diamidino-2-phenylindole) (SouthernBiotech).

For IL-33 detection by immunohistochemistry, 5 μ m cryosections were fixed in acetone and immersed in peroxidase block solution (Dako) to eliminate endogenous peroxidase activity. The sections were incubated with 1% fetal bovine serum and then with goat anti-mouse IL-33 antibody (1:200) for 4 hours at room temperature. After incubation with the HRP-conjugated rabbit anti-

goat IgG secondary antibody (1:200, Invitrogen), the immune complexes were visualized using DAB substrate (Dako). Images were obtained by fluorescence (Olympus BX41) or confocal (Olympus FV1000) microscopy using the same laser power and gain intensity for all pictures.

For immunoblotting, kidney homogenates were lysed in RIPA lysis buffer (20 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1mM Na₂EDTA, 1 mM EGTA, 1% Nonidet P-40, 1% sodium deoxycholate, supplemented with phosphatase and protease inhibitor cocktail (Santa Cruz). The supernatants were collected after centrifugation at 14000g for 10 min at 4°C. Kidney lysates were resolved on SDS-PAGE and nitrocellulose membranes were blocked with non-fat dry milk and incubated overnight at 4°C with goat anti-mouse IL-33 antibody (1:500), and then with an HRP-conjugated rabbit anti-goat polyclonal antibody (1:2000, Invitrogen). The immunoreactive proteins were visualized with ECL Prime Western blotting detection reagent (Amersham), using the ChemiDocTM MP imaging system (Bio-Rad). Relative protein levels were normalized to GAPDH as a loading control (1:2000, Cell signaling).

Quantitative evaluation of fibrosis

Cryoconserved kidney sections (5 µm) were fixed for 10 minutes in cold acetone and then stained with Sirius red (Diapath) for 30 minutes at room temperature. Sections were washed in acidified water, ethanol (95%, then 100%), and mounted for light microscopy analysis. The amount of collagen deposition (red area), normalized over the surface area analyzed, was digitally quantified using Visilog 7.1® software.

RNA extraction and Real-Time quantitative Reverse Transcription (RTqPCR)

Total RNA was extracted from mouse renal tissue using the Nucleospin RNA extraction kit, according to the manufacturer's instructions (Macherey-Nagel). Total RNA (1 µg) from each sample was retro-transcribed into cDNA using the qScript cDNA Supermix (Quanta Biosciences). Quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) was performed on the Rotor-Gene Q Lightcycler (Qiagen) using the 2X Perfecta SYBER Green Mix (Quanta Biosciences) and 500 nM of the specific primer for mouse Il-33, forward: CTA₂CTGCATGAGACTCCGTTCTG, and reverse: AGAATCCCGTGGATAGGCAGAG. Results were then normalized with Nono mRNA content, forward: AAAGCAGGCGAAGTTTTTCATTC, and reverse: ATTTCCGCTAGGGTTCGTGTT.

Kidney leucocyte isolation and flow cytometry analysis

Fresh kidneys were minced and passed through a 70- μ m strainer (BD Falcon), and centrifuged at 300g for 10 minutes in complete RPMI 1640 (Life Technologies). The cell pellet was resuspended in 36% Percoll solution (GE Healthcare) and then loaded on a layer of 72% Percoll solution followed by centrifugation at 500g for 20 minutes at room temperature. Leucocytes were harvested from the interface layer of Percoll and washed in PBS1X. Phenotypic analysis of renal leucocytes was performed by flow cytometry using the following mAbs: CD45-BV510 (Clone 30-F11; Biolegend), CD11b-PE (Clone: M1/70; Biolegend), F4/80-FITC (Clone: BM8; Biolegend), GR-1-BV421 (Clone: RB6-8C5; Biolegend), NK1.1-APC (Clone: PK136; Biolegend), NK1.1-PerCpCy5.5 (Clone: PK136; BD Biosciences), and CD3-PerCpCy5.5 (Clone: 17A2; Biolegend). To identify iNKT cells, samples were stained with the α -galactosylceramide analog PBS57 loaded with mouse CD1d tetramer (TT) conjugated to BV421 or its unloaded tetramer used as a control (see **Supplementary Figure 7**).

For intracellular cytokine staining, cells were isolated and incubated 4-6 hours in the presence of Brefeldin A (GolgiStop, BD Biosciences). After staining with surface marker antibodies, cells were permeabilized with the Fix/Perm buffer (BD Biosciences) and incubated with anti-mouse IFN- γ -PE-Cy7 (Clone: XMG102; BD Biosciences) and anti-mouse IL-17A-PE (Clone: TC11-18H10; BD Biosciences) antibodies. Cells were analyzed using BD FACS VerseTM cytometer (BD Biosciences) and FlowJo v7 software (TreeStar, Inc).

Dead cells were excluded using the Live/Dead Fixable Near-IR Dead Cell Stain kit (Life technologies).

iNKT cell purification and culture

iNKT (PBS57-loaded TT(+) CD5(+)) cells were sorted by FACS as previously described²⁴. Prior to sorting, freshly isolated splenocytes were enriched for iNKT cells by magnetic depletion of CD8, CD11b, CD62L and CD19 cells (Invitrogen Life Technology), according to the manufacturer's instructions. Sorted cells were routinely 97% pure. A total of 2.5×10^4 sorted iNKT were cultured for 48 hours in 200 μ g/mL complete RPMI with or without coated anti-CD3 mAb (1 μ g/mL, BD Pharmingen), in the presence or absence of IL-33 (10 ng/mL) in roundbottomed 96-well plates at 37°C and 5% CO₂.

Oxidative stress measurement

CellROX® Green Reagent (ThermoFisher Scientific) was used to evaluate kidney superoxide production reflecting oxidative stress. Kidney cryoconserved sections (5 μ m) were incubated at

37°C for 30 minutes in the dark with 5 µM of CellROX® Green Reagent. Samples were then washed with PBS1X, mounted with media containing DAPI (SouthernBiotech), and observed using the Olympus BX41 fluorescence microscope system. Oxidative stress was determined and calculated using Image J. Data were expressed in arbitrary units (AU) as percentage of Σ mean of positive-stained cells (green signal) / Σ mean of nucleus (blue signal). For each animal, 5-7 fields were analyzed.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using GraphPad Prism software, version 5.0. All the experimental groups were compared using the non-parametric Mann-Whitney U test to calculate P values of two groups, and one-way ANOVA for three or more groups followed by Tukey post-test. For survival analysis, the Kaplan-Meier plot with a log-rank test was used. $P < 0.05$ was considered to be statistically significant. Data are shown as mean values \pm SEM.

Acknowledgments

The authors are especially indebted to E Schneider for critically reviewing the manuscript, the English of which was reviewed by J Arsham, an American medical translator. We thank Dr. Anne Cantereau and Dr Alice Barbarin for technical assistance with confocal microscopy, Dr Adriana Delwail for flow cytometry (ImageUP Platform, University of Poitiers), Sandrine Joffrion and Dr Sofiane Inal for biochemistry measurements (CHU of Poitiers), the anatomopathology department of the CHU of Poitiers and, especially, Julie Godet, Sihem Kaaki and Alexia Rinsand. We also thank Mohammed Sehnine for technical assistance. The authors gratefully acknowledge the National Institutes of Health Tetramer Core Facility for providing the CD1d tetramers. The study was supported by the Poitou-Charentes region, INSERM, CHU of Poitiers, the University of Poitiers, the Association pour la Recherche en Immunologie Poitou-Charentes (ARIM-PC) and Octapharma.

Disclosures

The authors declare no competing financial interests.

References

1. Nankivell BJ, Chapman JR: Chronic allograft nephropathy: current concepts and future directions. *Transplantation* 81: 643–654, 2006

2. Malek M, Nematbakhsh M: Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. *J. Ren. Inj. Prev.* 4: 20–27, 2015
3. Venkatachalam MA, Griffin KA, Lan R, Geng H, Saikumar P, Bidani AK: Acute kidney injury: a springboard for progression in chronic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 298: F1078-1094, 2010
4. Eltzschig HK, Eckle T: Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat. Med.* 17: 1391–1401, 2011
5. Thurman JM: Triggers of inflammation after renal ischemia/reperfusion. *Clin. Immunol. Orlando Fla* 123: 7–13, 2007
6. Jang HR, Rabb H: Immune cells in experimental acute kidney injury. *Nat. Rev. Nephrol.* 11: 88–101, 2015
7. Li J, Gong Q, Zhong S, Wang L, Guo H, Xiang Y, Ichim TE, Wang C-Y, Chen S, Gong F, Chen G: Neutralization of the extracellular HMGB1 released by ischaemic damaged renal cells protects against renal ischaemia-reperfusion injury. *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc.* 26: 469–478, 2011
8. Zhang J, Xia J, Zhang Y, Xiao F, Wang J, Gao H, Liu Y, Rong S, Yao Y, Xu G, Li J: HMGB1-TLR4 signaling participates in renal ischemia reperfusion injury and could be attenuated by dexamethasone-mediated inhibition of the ERK/NF- κ B pathway. *Am. J. Transl. Res.* 8: 4054–4067, 2016
9. Matzinger P: Tolerance, danger, and the extended family. *Annu. Rev. Immunol.* 12: 991–1045, 1994
10. Matzinger P: The danger model: a renewed sense of self. *Science* 296: 301–305, 2002
11. Tsung A, Klune JR, Zhang X, Jeyabalan G, Cao Z, Peng X, Stolz DB, Geller DA, Rosengart MR, Billiar TR: HMGB1 release induced by liver ischemia involves Toll-like receptor 4 dependent reactive oxygen species production and calcium-mediated signaling. *J. Exp. Med.* 204: 2913–2923, 2007
12. Kono H, Chen C-J, Ontiveros F, Rock KL: Uric acid promotes an acute inflammatory response to sterile cell death in mice. *J. Clin. Invest.* 120: 1939–1949, 2010
13. Ali S, Huber M, Kollwe C, Bischoff SC, Falk W, Martin MU: IL-1 receptor accessory protein is essential for IL-33-induced activation of T lymphocytes and mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104: 18660–18665, 2007
14. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X, Gorman DM, Bazan JF, Kastelein RA: IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 23: 479–490, 2005

15. Moussion C, Ortega N, Girard J-P: The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel “alarmin”? *PloS One* 3: e3331, 2008
16. Haraldsen G, Balogh J, Pollheimer J, Sponheim J, K uchler AM: Interleukin-33 - cytokine of dual function or novel alarmin? *Trends Immunol.* 30: 227–233, 2009
17. Lamkanfi M, Dixit VM: IL-33 raises alarm. *Immunity* 31: 5–7, 2009
18. Liew FY, Girard J-P, Turnquist HR: Interleukin-33 in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 16: 676–689, 2016
19. Baekkevold ES, Roussign e M, Yamanaka T, Johansen F-E, Jahnsen FL, Amalric F, Brandtzaeg P, Erard M, Haraldsen G, Girard J-P: Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. *Am. J. Pathol.* 163: 69–79, 2003
20. Akcay A, Nguyen Q, He Z, Turkmen K, Lee DW, Hernando AA, Altmann C, Toker A, Pacic A, Ljubanovic DG, Jani A, Faubel S, Edelstein CL: IL-33 Exacerbates Acute Kidney Injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 22: 2057–2067, 2011
21. Gadani SP, Walsh JT, Smirnov I, Zheng J, Kipnis J: The glia-derived alarmin IL-33 orchestrates the immune response and promotes recovery following CNS injury. *Neuron* 85: 703–709, 2015
22. Bao Y-S, Na S-P, Zhang P, Jia X-B, Liu R-C, Yu C-Y, Mu S-H, Xie R-J: Characterization of interleukin-33 and soluble ST2 in serum and their association with disease severity in patients with chronic kidney disease. *J. Clin. Immunol.* 32: 587–594, 2012
23. Thierry A, Giraud S, Robin A, Barra A, Bridoux F, Ameteau V, Hauet T, Girard J-P, Touchard G, Gombert J-M, Herbelin A: The alarmin concept applied to human renal transplantation: evidence for a differential implication of HMGB1 and IL-33. *PloS One* 9: e88742, 2014
24. Bourgeois E, Van LP, Samson M, Diem S, Barra A, Roga S, Gombert J-M, Schneider E, Dy M, Gourdy P, Girard J-P, Herbelin A: The pro-Th2 cytokine IL-33 directly interacts with invariant NKT and NK cells to induce IFN-gamma production. *Eur. J. Immunol.* 39: 1046–1055, 2009
25. Smithgall MD, Comeau MR, Yoon B-RP, Kaufman D, Armitage R, Smith DE: IL-33 amplifies both Th1- and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive Th2 cells, iNKT and NK cells. *Int. Immunol.* 20: 1019–1030, 2008
26. Li L, Huang L, Sung SJ, Lobo PI, Brown MG, Gregg RK, Engelhard VH, Okusa MD: NKT cell activation mediates neutrophil IFN-gamma production and renal ischemia-reperfusion injury. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 178: 5899–5911, 2007

27. Li L, Huang L, Vergis AL, Ye H, Bajwa A, Narayan V, Strieter RM, Rosin DL, Okusa MD: IL-17 produced by neutrophils regulates IFN-gamma-mediated neutrophil migration in mouse kidney ischemia-reperfusion injury. *J. Clin. Invest.* 120: 331–342, 2010
28. Baud L, Ardaillou R: Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br. Med. Bull.* 49: 621–629, 1993
29. Sharfuddin AA, Molitoris BA: Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nat. Rev. Nephrol.* 7: 189–200, 2011
30. Duffield JS: Cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis. *J. Clin. Invest.* 124: 2299–2306, 2014
31. Hueper K, Gutberlet M, Rong S, Hartung D, Mengel M, Lu X, Haller H, Wacker F, Meier M, Gueler F: Acute kidney injury: arterial spin labeling to monitor renal perfusion impairment in mice-comparison with histopathologic results and renal function. *Radiology* 270: 117–124, 2014
32. Chung ACK, Lan HY: Chemokines in Renal Injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 22: 802–809, 2011
33. Bourgeois EA, Levescot A, Diem S, Chauvineau A, Bergès H, Milpied P, Lehuen A, Damotte D, Gombert J-M, Schneider E, Girard J-P, Gourdy P, Herbelin A: A natural protective function of invariant NKT cells in a mouse model of innate-cell-driven lung inflammation. *Eur. J. Immunol.* 41: 299–305, 2011
34. Farber JM: Mig and IP-10: CXC chemokines that target lymphocytes. *J. Leukoc. Biol.* 61: 246–257, 1997
35. Marra F, Tacke F: Roles for chemokines in liver disease. *Gastroenterology* 147: 577–594.e1, 2014
36. Oppenheim JJ, Yang D: Alarmins: chemotactic activators of immune responses. *Curr. Opin. Immunol.* 17: 359–365, 2005
37. Chen W-Y, Li L-C, Yang J-L: Emerging Roles of IL-33/ST2 Axis in Renal Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 18: 2017
38. Chen W-Y, Chang Y-J, Su C-H, Tsai T-H, Chen S-D, Hsing C-H, Yang J-L: Upregulation of Interleukin-33 in obstructive renal injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 473: 1026–1032, 2016
39. Kim CH, Johnston B, Butcher EC: Trafficking machinery of NKT cells: shared and differential chemokine receptor expression among $V\alpha 24+V\beta 11+$ NKT cell subsets with distinct cytokine-producing capacity. *Blood* 100: 11–16, 2002
40. Bendelac A, Savage PB, Teyton L: The biology of NKT cells. *Annu. Rev. Immunol.* 25: 297–336, 2007

41. Pichery M, Mirey E, Mercier P, Lefrancais E, Dujardin A, Ortega N, Girard J-P: Endogenous IL-33 is highly expressed in mouse epithelial barrier tissues, lymphoid organs, brain, embryos, and inflamed tissues: in situ analysis using a novel Il-33-LacZ gene trap reporter strain. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 188: 3488–3495, 2012
42. Cui J, Shin T, Kawano T, Sato H, Kondo E, Taura I, Kaneko Y, Koseki H, Kanno M, Taniguchi M: Requirement for Valpha14 NKT cells in IL-12-mediated rejection of tumors. *Science* 278: 1623–1626, 1997
43. Townsend MJ, Fallon PG, Matthews DJ, Jolin HE, McKenzie AN: T1/ST2-deficient mice demonstrate the importance of T1/ST2 in developing primary T helper cell type 2 responses. *J. Exp. Med.* 191: 1069–1076, 2000

Figure legends

Figure 1: IL-33 is constitutively and predominantly expressed by capillary endothelial cells in peritubular and periglomerular aeres. (A) Immunohistochemistry for renal IL-33 in wild-type mice (**upper panel**) and IL-33^{Gt/Gt} mice used as negative controls for IL-33 staining (**lower panel**). GR: glomerular. Arrows indicate IL-33-positive cells. (B) Immunofluorescence staining for IL-33 (red), CD31 (green) and DAPI (blue) in wild-type mouse kidneys. Immunostaining (A-B) showed nuclear expression of IL-33 by capillary endothelial (CD31(+)) cells in peritubular and periglomerular spaces of the outer medulla. This cell fraction contains approximately 60-70% IL-33-positive cells. The same IL-33 expression profile was found in the cortex (not shown). (C) Co-staining for IL-33 (red), CD31 (green), CD45 (gray) and DAPI (blue) revealed that 20-30% IL-33-positive cells are CD45(-)CD31(-), which presumably represent fibroblasts and/or pericytes. The last 10-20% IL-33-positive cells co-express CD45 (at intermediate levels) and CD31, which presumably represent endothelial precursor cells.

Figure 2: IL-33 is released early after IRI. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) following contralateral nephrectomy (Ctr). After 1, 3, 6 or 24 hours (T1, T3, T6, or T24) of reperfusion, kidneys and peripheral blood were removed. (A) Immunostaining for IL-33 (red), CD31 (green), and DAPI (blue) in healthy Ctr and Sham kidneys from WT mice demonstrated nuclear localization of IL-33 by microvascular endothelial cells in peritubular and periglomerular renal spaces. One hour post-IRI, IL-33 disappeared from peritubular and periglomerular spaces. Healthy kidneys from IL-33^{Gt/Gt} mice were used as negative controls for IL-33 staining (see **Supplementary Figure 1**). GR: glomerular. One representative separate experiment out of five is shown. (B) Western blot analysis in whole kidney extracts showed a significant decrease of full-length (32-34 kD) IL-33 1 hour after IRI compared to healthy Ctr and Sham kidneys. Upper panel: representative IL-33 immunoblot (GAPDH serves as a loading control) of at least three independent experiments. Lower panel: quantification (relative to GAPDH) of IL-33 protein (5 animals per group). (C) Plasma levels of IL-33 (pg/mL) were significantly increased following IRI, as soon as 1 hour after reperfusion, compared to untreated (T0) and Sham mice (5-8 animals per group). Note that plasma levels of IL-33 from IL-33^{Gt/Gt} mice were virtually undetectable (< 5 pg/mL) before and following IRI. One-way ANOVA followed by Tukey post-test for three or more group comparisons was used. *P<0.05; **P<0.01.

Figure 3: IL-33-deficient mice are protected against IRI. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) following contralateral nephrectomy (Ctr). After 24 hours (T24) of reperfusion, kidneys were obtained (5-8 animals per group). (A) IL-33-deficient mice exhibited decreased blood creatinine (A) and urea nitrogen (BUN) (B) levels. (C) Tubulo-interstitial damage was attenuated in IL-33-deficient mice when compared to WT mice. Left panel: representative tissue samples for tubular injury assessed with periodic acid-Shiff (PAS) staining. Sham-operated WT and IL-33-deficient mice exhibited normal tubular structure. Following IRI, kidneys from WT mice displayed extensive tubular necrosis, loss of brush border, tubular dilatation and cast formation. These changes were markedly reduced in IL-33-deficient mice. GR: glomerular. Arrows indicate acute tubular necrosis. Right panel: tubular injury scores (5-8 mice per group). Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons, and one-way ANOVA followed by Tukey post-test for three or more group comparisons. *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

Figure 4: IRI-induced oxidative stress generation is attenuated in IL-33-deficient mice. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) following contralateral nephrectomy (Ctr). After 24 hours (T24) of reperfusion, kidneys and peripheral blood were obtained. ROS production in renal tissue from WT and IL-33-deficient mice was measured using the fluorogenic probe called CellROX® green. (A-C) CellROX® green was weakly fluorescent in healthy Ctr (A) and Sham kidneys (B), and exhibited green fluorescence T24 post-IRI in WT but not in IL-33-deficient mice (C). Images are representative of three animals for each group. (D) Quantification of CellROX® fluorescence intensity (3 animals per group). AU: arbitrary unit. Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons, and one-way ANOVA followed by Tukey post-test for three or more group comparisons. *P<0.05; **P<0.01.

Figure 5: Collagen deposition after IRI is reduced in IL-33-deficient mice. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham; 3 animals per group) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI; 6 animals per group) after contralateral nephrectomy (Ctr). Blood was collected after 24 hours (T24) of reperfusion. At day 30 (D30) post-reperfusion, blood and kidneys were obtained from surviving mice (for details, see **Supplemental Figure 4**). In this set of experiments, we confirmed the data depicted in Figure 3, which showed that blood creatinine (A) and urea nitrogen (BUN) (B) levels measured at T24 post-IRI were significantly

more markedly increased in WT than in IL-33-deficient mice. At D30 after IRI, blood creatinine and BUN significantly returned to baseline values in both WT and IL-33-deficient mice. (C-D) Fibrosis analysis. Collagen was measured using Sirius red staining. Representative panels of collagen staining (C) and fibrosis quantification (total kidney collagen content) are shown (D). Significant collagen deposition in kidneys was found at D30 post-IRI in kidneys from WT (n=3) but not in IL-33-deficient (n=6) mice, as compared to their healthy Ctr (n=3) or Sham (n=3) counterparts. Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons, and one-way ANOVA followed by Tukey post-test for three or more group comparisons. *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

Figure 6: Kidney infiltration of innate inflammatory cells following IRI is attenuated in IL-33-deficient mice. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) after contralateral nephrectomy (Ctr). After 24 hours, kidneys were obtained and leukocytes were freshly isolated to examine the percentage and number of F4/80^{low} CD11b^{high} cells (monocytes/macrophages) (A-B), GR-1^{high} CD11b^{high} cells (neutrophils) (C-D), and frequency of IFN- γ and/or IL-17A-producing GR-1^{high} cells (neutrophils) (E-F) by flow cytometry. Representative dot plots are shown for F4/80^{low} CD11b^{high} cells (A) and GR-1^{high} CD11b^{high} cells (C) after gating on live CD45(+) cells. Density plots are shown for GR-1^{high} cells producing IFN- γ and/or IL-17A (E) after gating on live CD45(+) cells. Absolute number (per kidney) of CD45(+)F4/80^{low} CD11b^{high} cells (B) and CD45(+)GR-1^{high} CD11b^{high} cells (D), and frequency of INF- γ and IL-17A-expressing CD45(+) GR-1^{high} (3 animals for each group). (A,C,E) Numbers represent the frequency of cells within the indicated quadrant. (B,D,F) Data are expressed as means \pm SEM (5-8 animals per group). Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons, and one-way ANOVA followed by Tukey post-test for three or more group comparisons. *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

Figure 7: iNKT cell recruitment and function are impaired following IRI in IL-33-deficient mice. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt}(IL-33-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 minutes of unilateral IRI after contralateral nephrectomy (Ctr). After 24 hours, kidneys were obtained and leukocytes freshly isolated to examine the percentage and number (per kidney) of total (A-B), and the frequency of IFN- γ and/or IL-17A-expressing (C-F) PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+) (iNKT) cells by flow cytometry analysis. (A) Representative dot plots are shown for PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+) cells after gating on live CD45(+) cells (5-8

animals for each group). Numbers indicate the percentage of iNKT cells defined as PBS57-loaded CD1d TT(+) cells with intermediate CD3 expression among total leukocytes after gating on live CD45(+) cells (for gating strategy, see Supplemental Figure 7). **(B)** Absolute number of CD45(+)PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+) cells (5-8 animals for each group). **(C)** Representative density plots are shown for PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+) cells producing IFN- γ and/or IL-17A after gating on live CD45(+) cells. Numbers represent the frequency of cells within the indicated quadrant. **(D)** Percentages of IFN- γ and/or IL-17A-expressing PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+) cells (3 animals for each column) **(E-F)** Mean Fluorescence Intensity (MFI) of IFN- γ **(E)** and IL-17A **(F)** was analyzed among CD45(+) cells after gating on IFN- γ and IL-17A-expressing PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+) cells, respectively (3 animals for each group). Data are expressed as means \pm SEM. Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons, and one-way ANOVA followed by Tukey post-test for three or more group comparisons. *P<0.05.

Figure 8: IL-33 directly interacts with iNKT cells to induce increase in IFN- γ production upon TCR engagement. Freshly sorted splenic iNKT (α -GC-loaded CD1d TT(+) CD5(+)) cells (for details, see²⁴) from wild-type C57BL/6 mice were cultured for 48 hours on plates (25x10³/well) coated with or without anti-CD3 mAb, and in the presence (hatched columns) or absence (white columns) of IL-33 (10 ng/mL). IL-17A and IFN- γ concentrations in the supernatants were quantified by ELISA. Data represent the mean \pm SEM from triplicates of one representative experiment out of two.

Figure 9. Early release of IL-33 after IRI is not accompanied by severe neutrophil infiltration and renal dysfunction in mice lacking iNKT cells. Wild-type (WT) and J α 18 KO (iNKT cell-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 min of unilateral ischemia after contralateral nephrectomy (Ctr). After 1, 3, 6 or 24 hours (T1, T3, T6, or T24) of reperfusion, kidneys and peripheral blood were obtained. **(A)** Plasma creatinine levels T24 post-IRI. Absolute number (per kidney) of CD45(+) F4/80^{low} CD11b^{high} cells (monocytes/macrophages) **(B)** and CD45(+) GR-1^{high} CD11b^{high} cells (neutrophils) **(C)** at T24 post-IRI. Data are expressed as means \pm SEM of 4-6 animals per group. **(D)** Plasma levels of IL-33 (pg/mL) were significantly increased, as soon as 1 hour after reperfusion in IRI-induced mice than before and compared to Sham mice with no differences between WT and iNKT cell-deficient mice. For each WT or iNKT cell-deficient group of mice: Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons, and one-way ANOVA followed by Tukey post-test for three or more group

comparisons. For panels A, C, and D: *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001. For panel B: *P<0.05 or **P<0.01 versus T0; §P<0.05 versus Sham).

Figure 10: Initiation phase of monocyte/macrophage and neutrophil infiltration induced by IRI does not require IL-33 and precedes iNKT cell recruitment. Wild-type (WT) mice and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to 32 min of unilateral ischemia after contralateral nephrectomy (Ctr). After 3, 6 or 24 hours (T3, T6, or T24) of reperfusion, kidneys were obtained and freshly leukocytes isolated to examine the number of CD45(+) F4/80^{low} CD11b^{high} cells (monocytes/macrophages), CD45(+) GR-1^{high} CD11b^{high} cells (neutrophils) and CD45(+) PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+) (iNKT) cells. Absolute number (per kidney) of CD45(+) F4/80^{low} CD11b^{high} cells (A), CD45(+) GR-1^{high} CD11b^{high} (B), and CD45(+) PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+) (C). WT mice (left panels). IL-33-deficient mice (right panels). Data are expressed as the means ± SEM of 6 animals per group for each time. Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons. *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

Figure 11: Sequence diagram of cellular and molecular events in IRI: IL-33 amplifies monocyte/macrophage and neutrophil infiltration by promoting iNKT cell recruitment. Monocyte/macrophage and neutrophil kidney infiltration occurs within 3-6 hours post-IRI induction. Despite the concomitant IL-33 release by injured microvascular endothelial cells, this early phase of innate inflammatory response is IL-33-independent and may result from chemokine release and action. iNKT cells are recruited and activated 24 hours after IRI induction. This later phase depends on IL-33. By producing IFN- γ and IL-17A, IL-33-activated iNKT cells amplify monocyte/macrophage and neutrophil recruitment and promote their pro-inflammatory cytokine production, thereby resulting in acute tubular injury and ultimately in interstitial fibrosis.

Figure 1

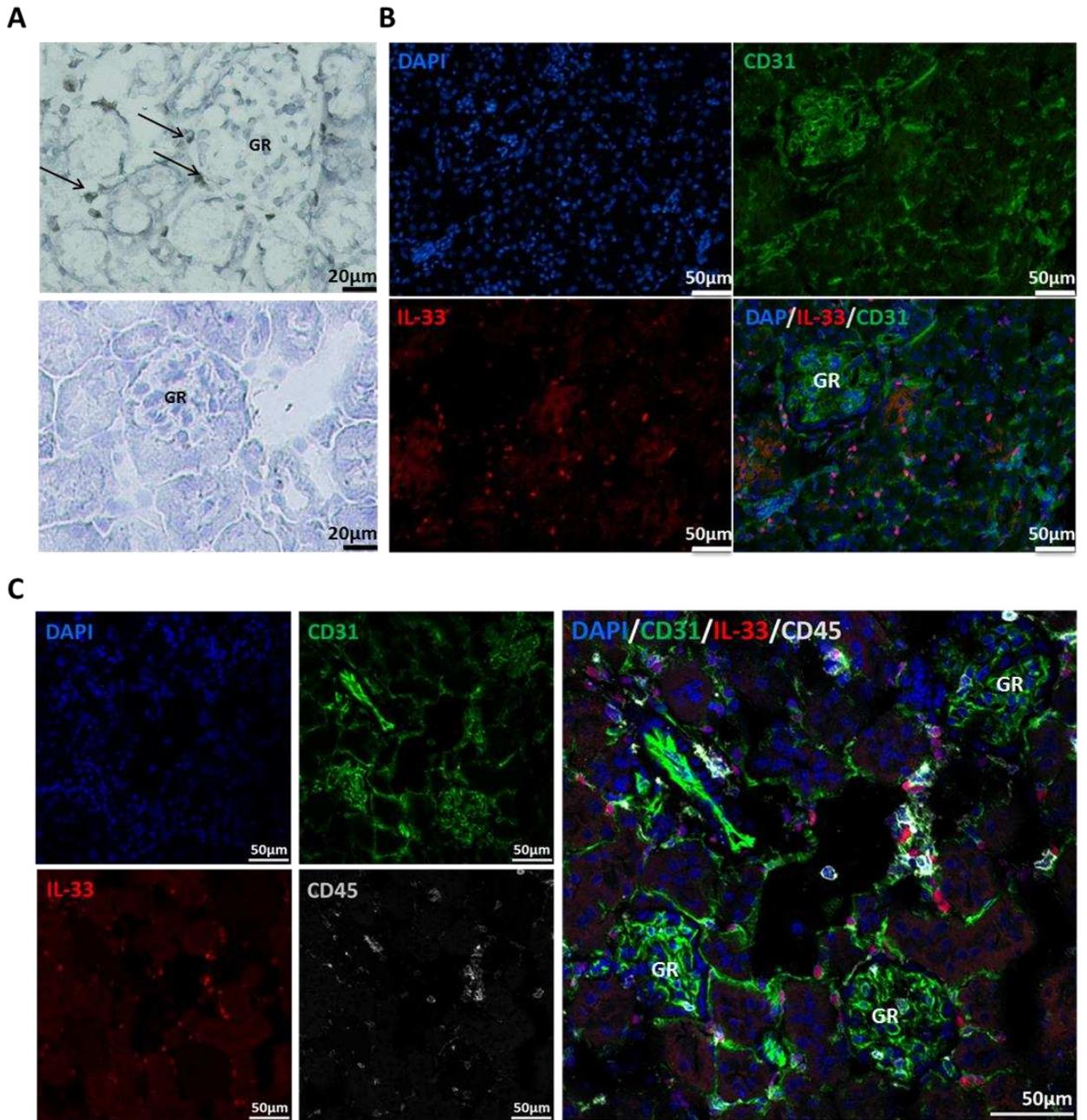
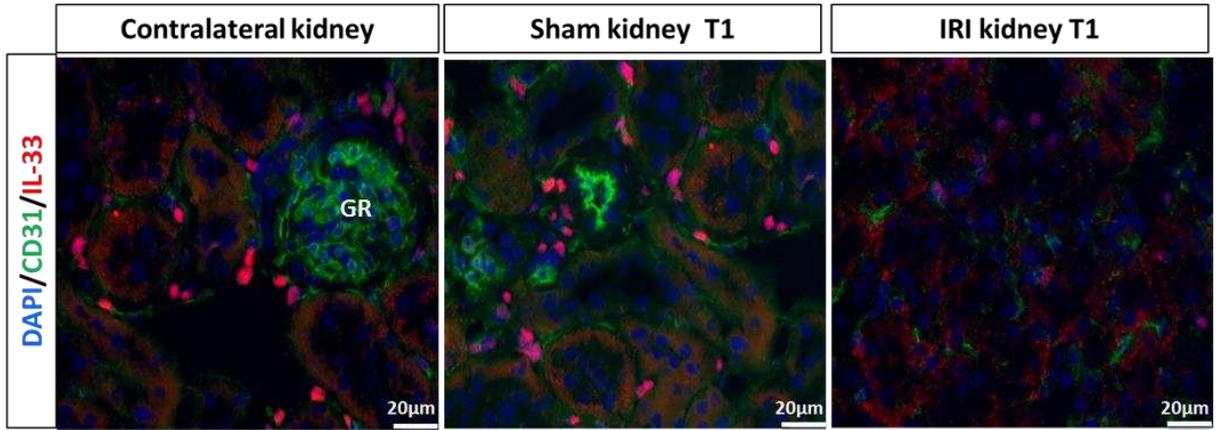
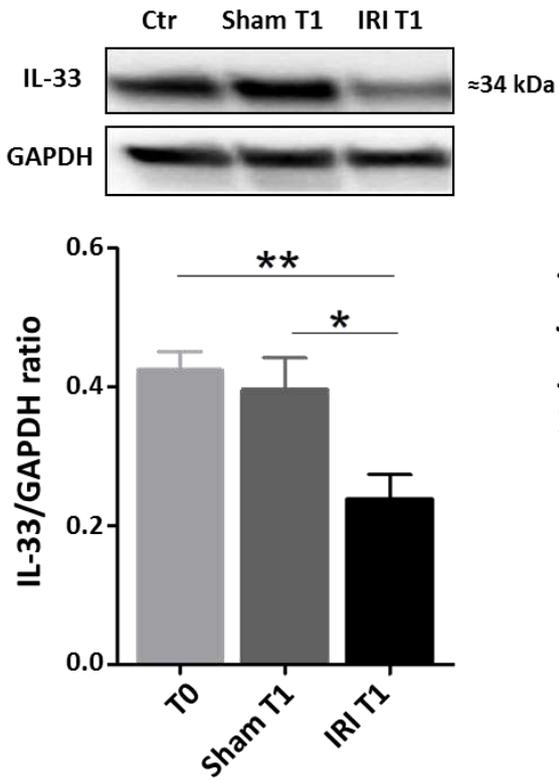


Figure 2

A



B



C

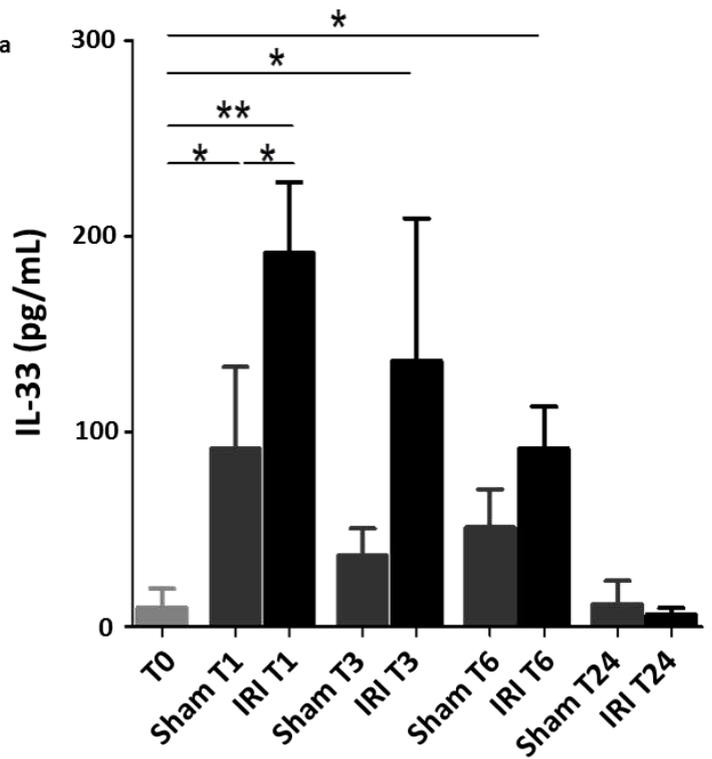


Figure 3

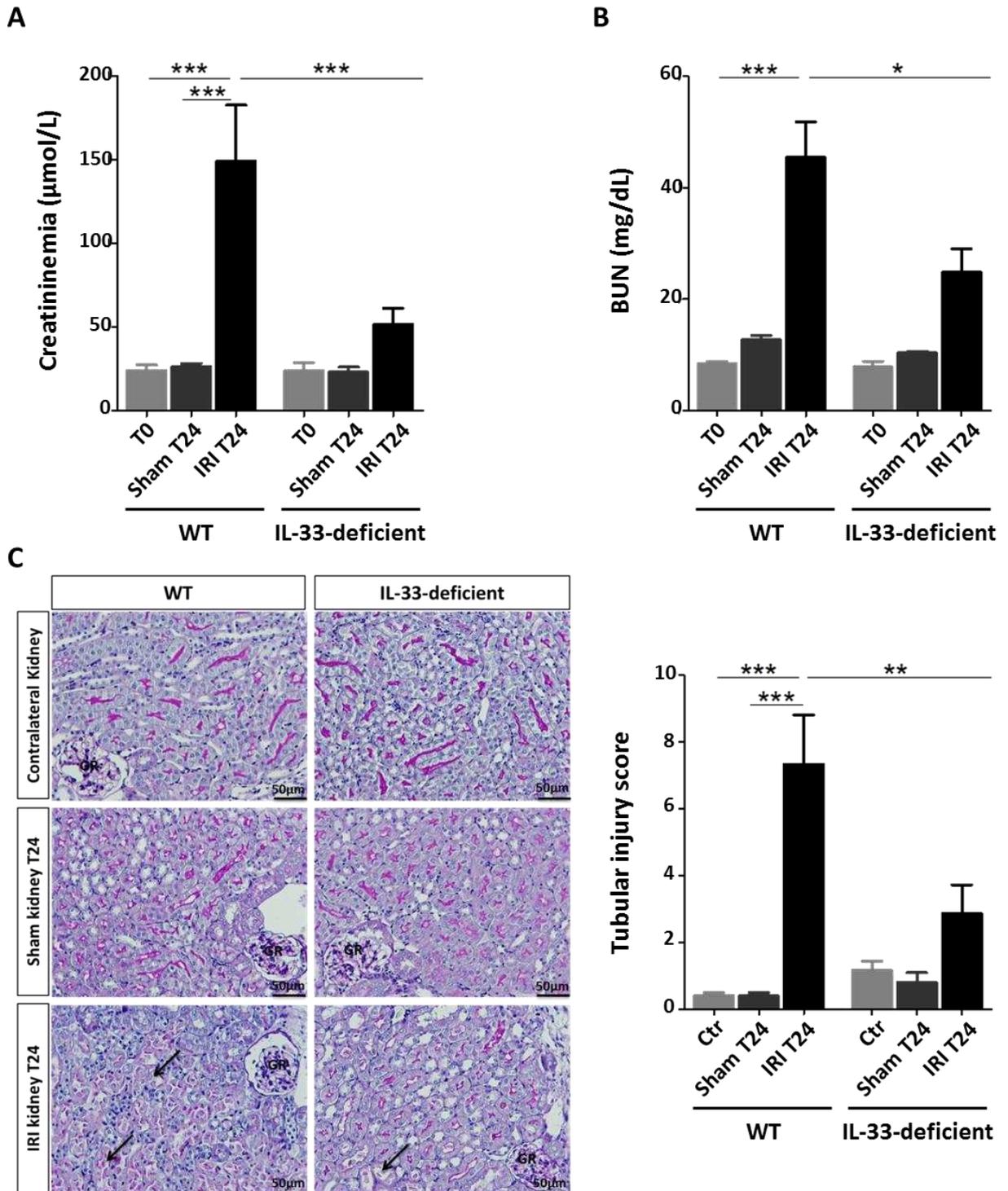


Figure 4

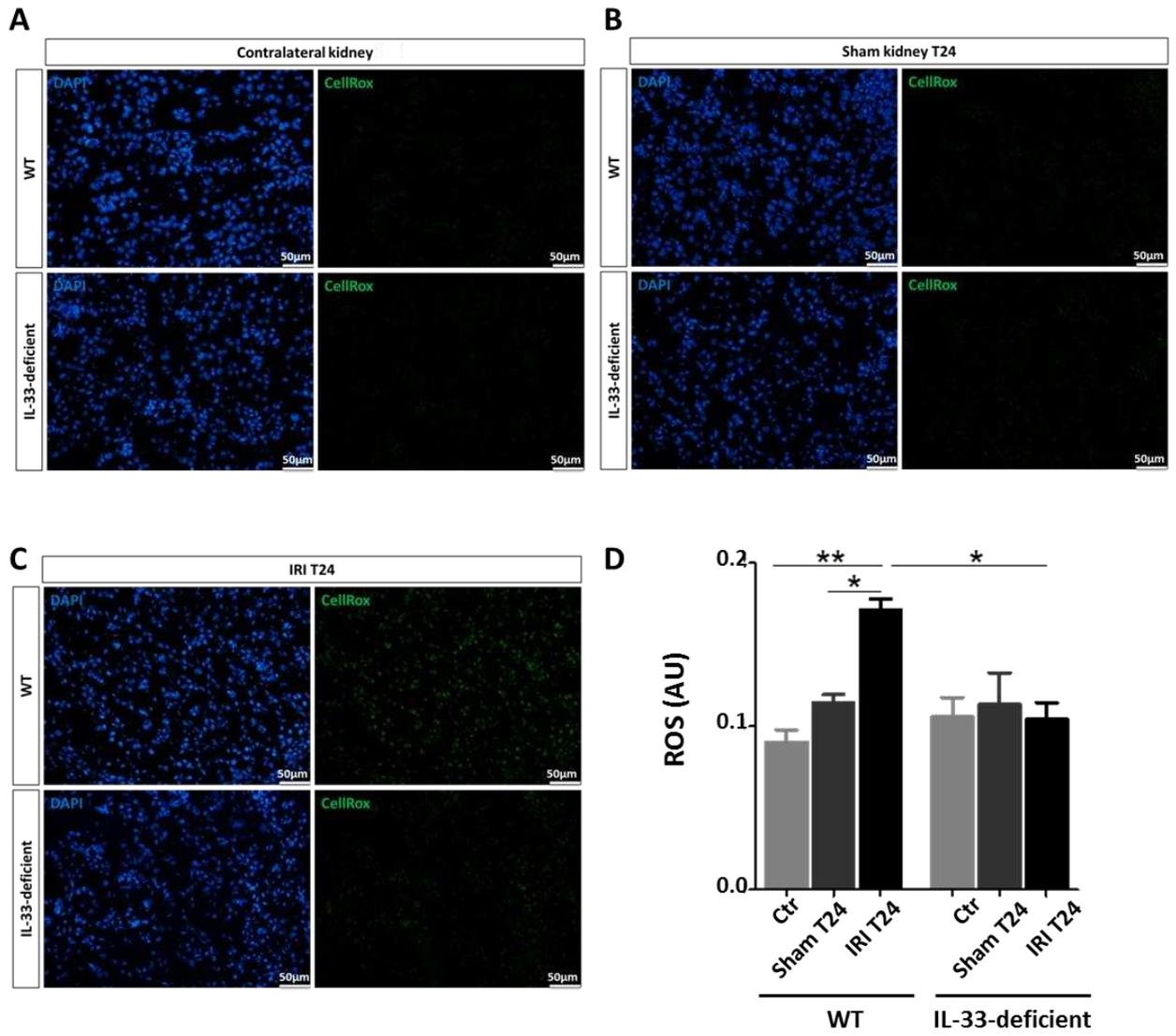


Figure 5

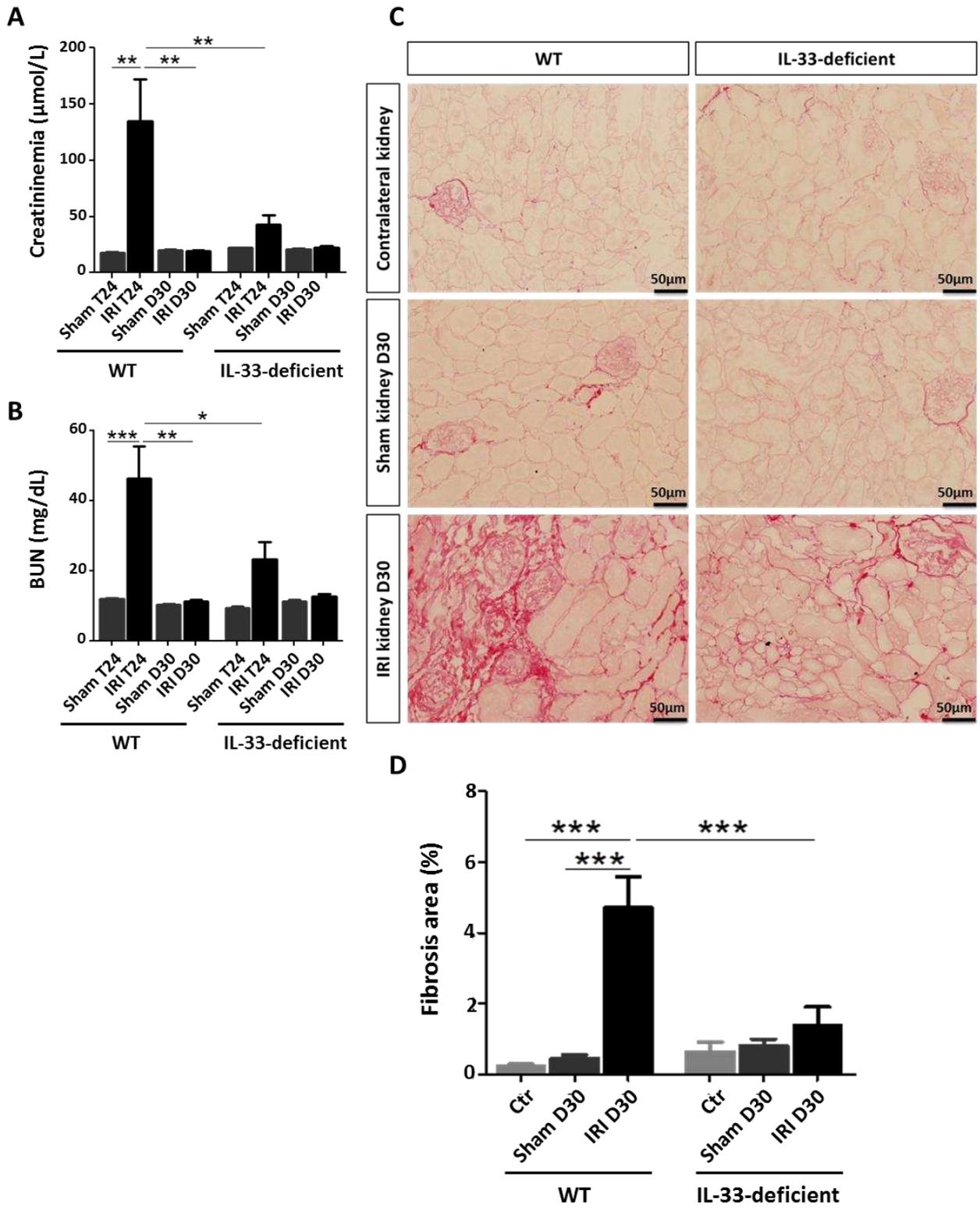


Figure 6

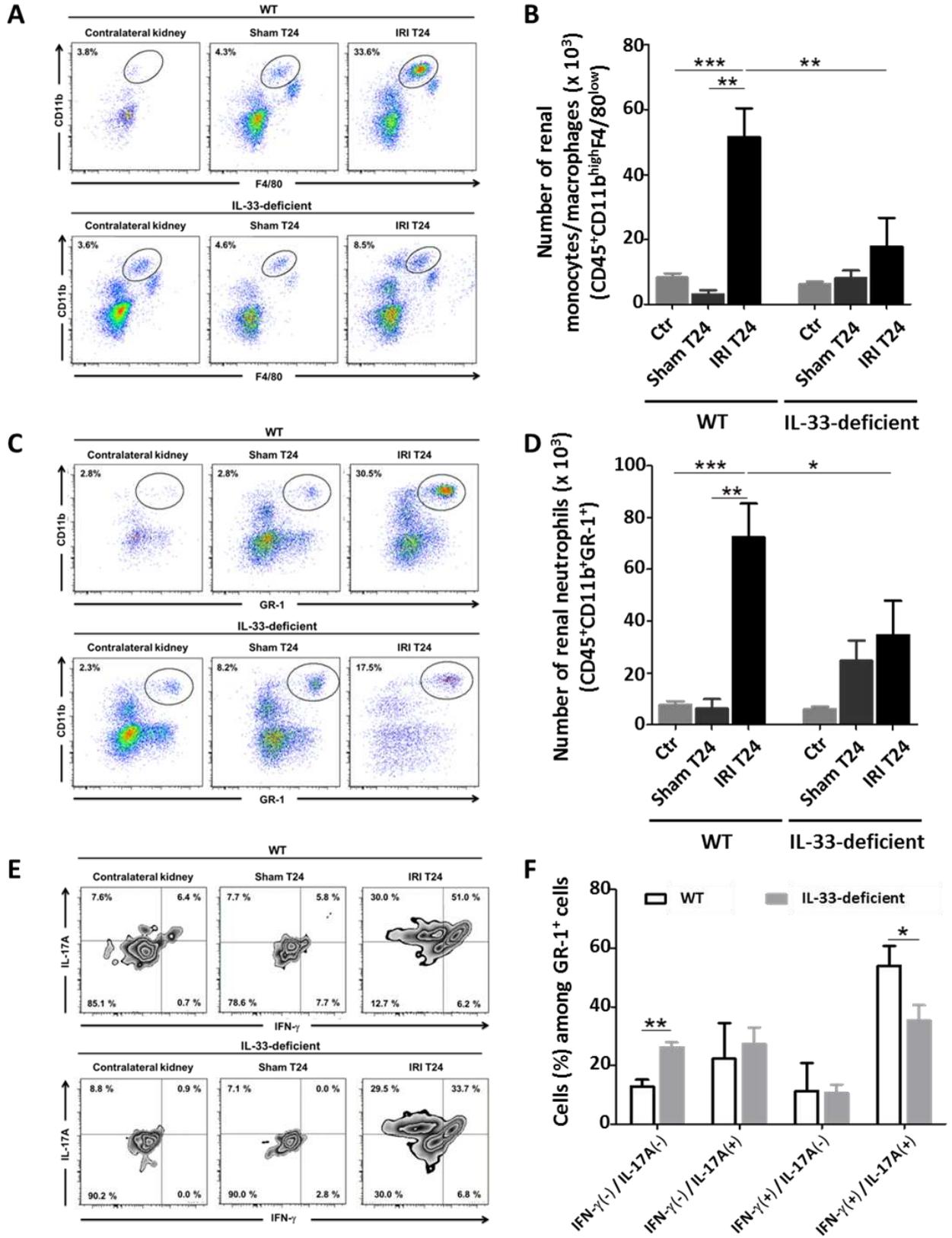


Figure 7

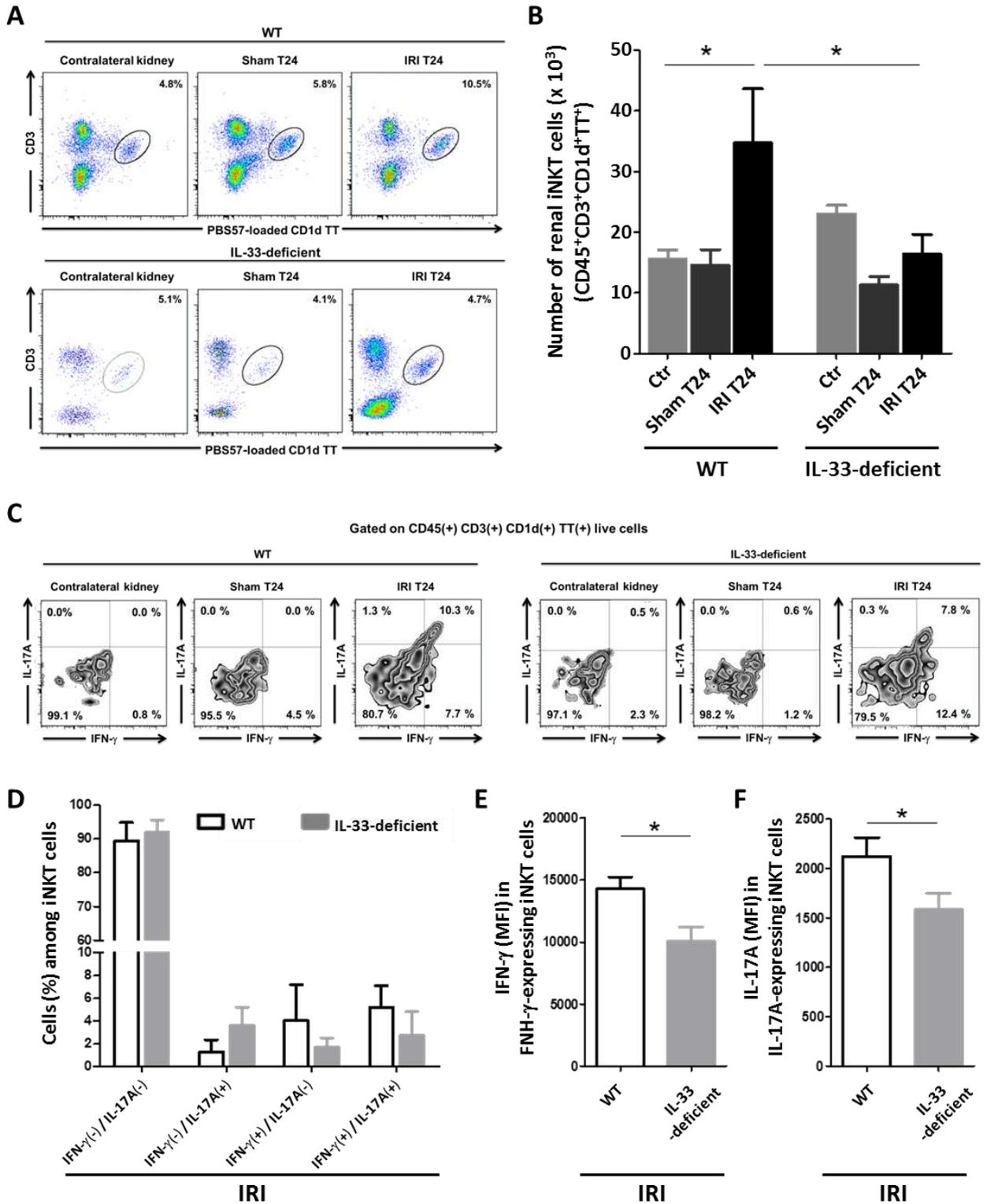


Figure 8

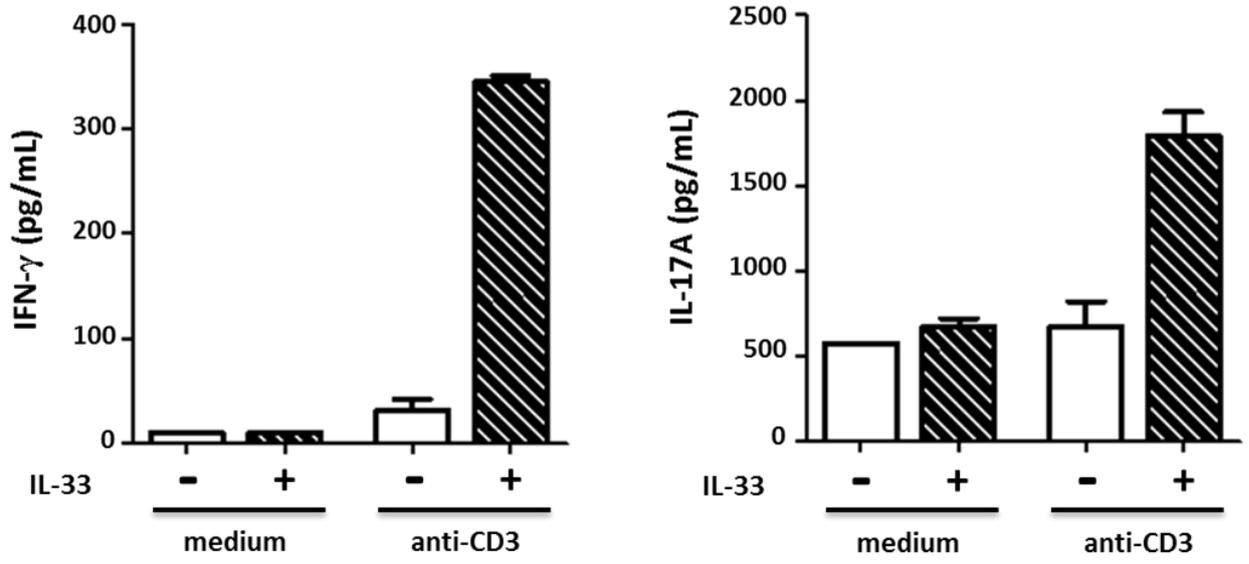


Figure 9

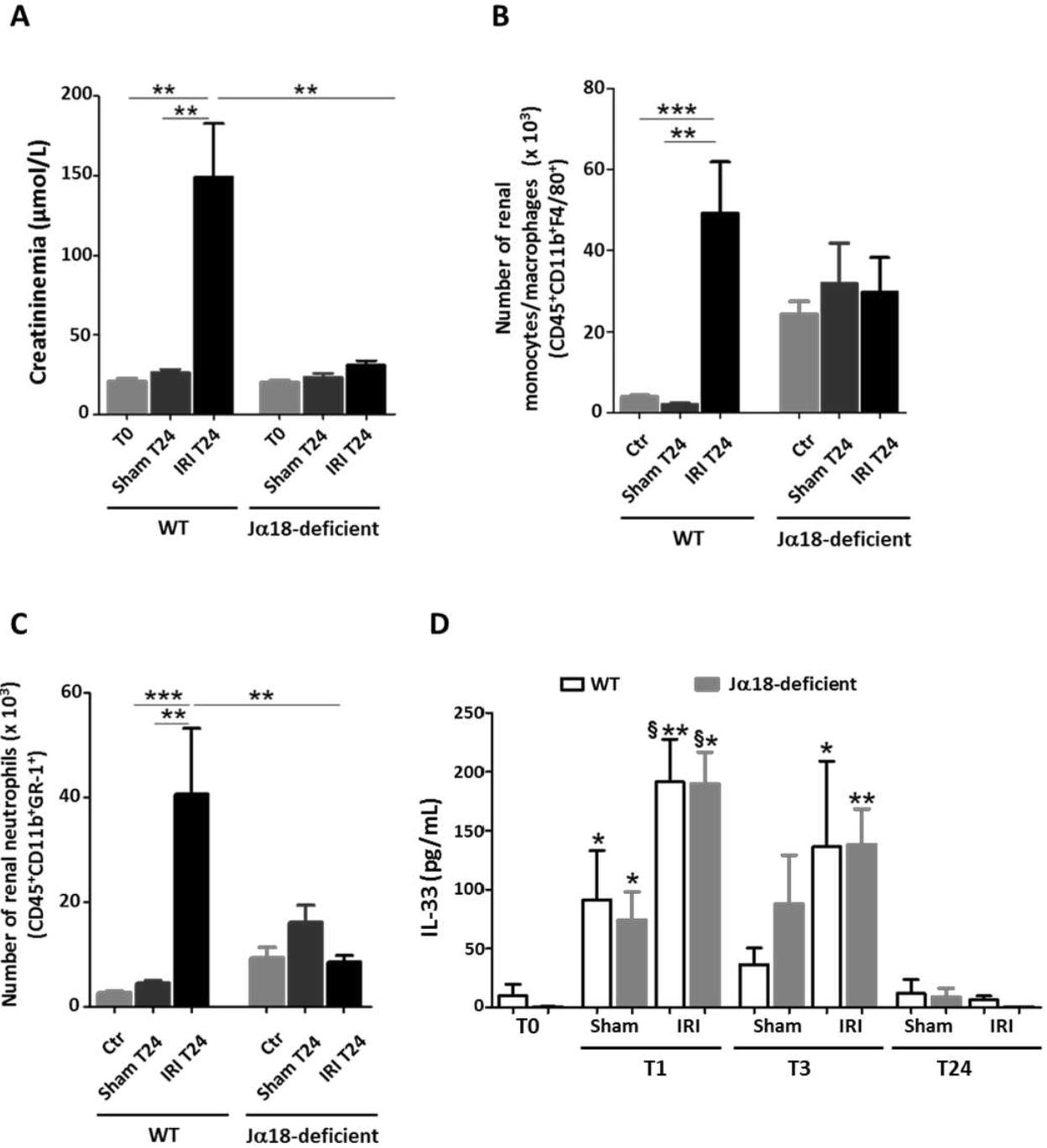


Figure 10

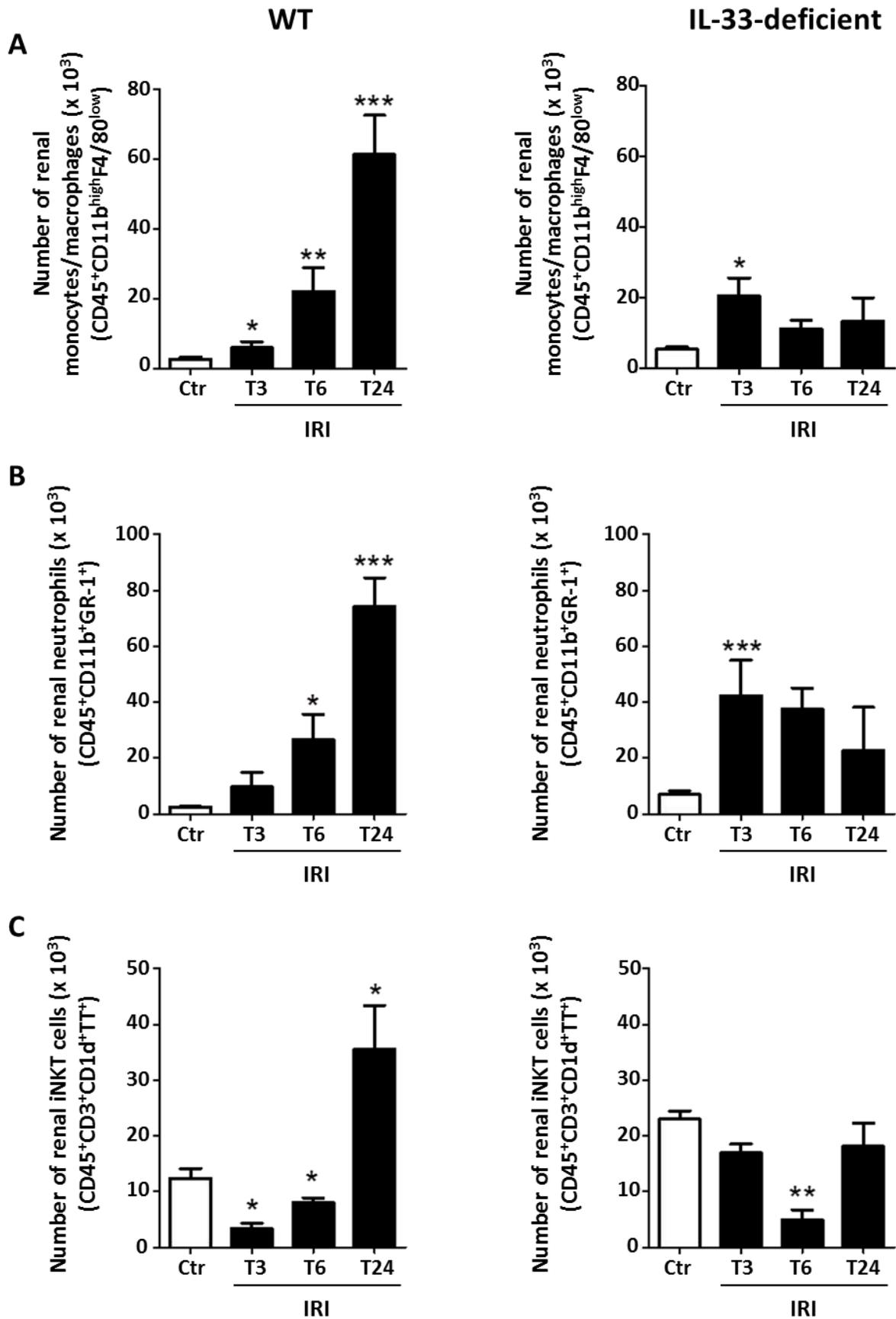
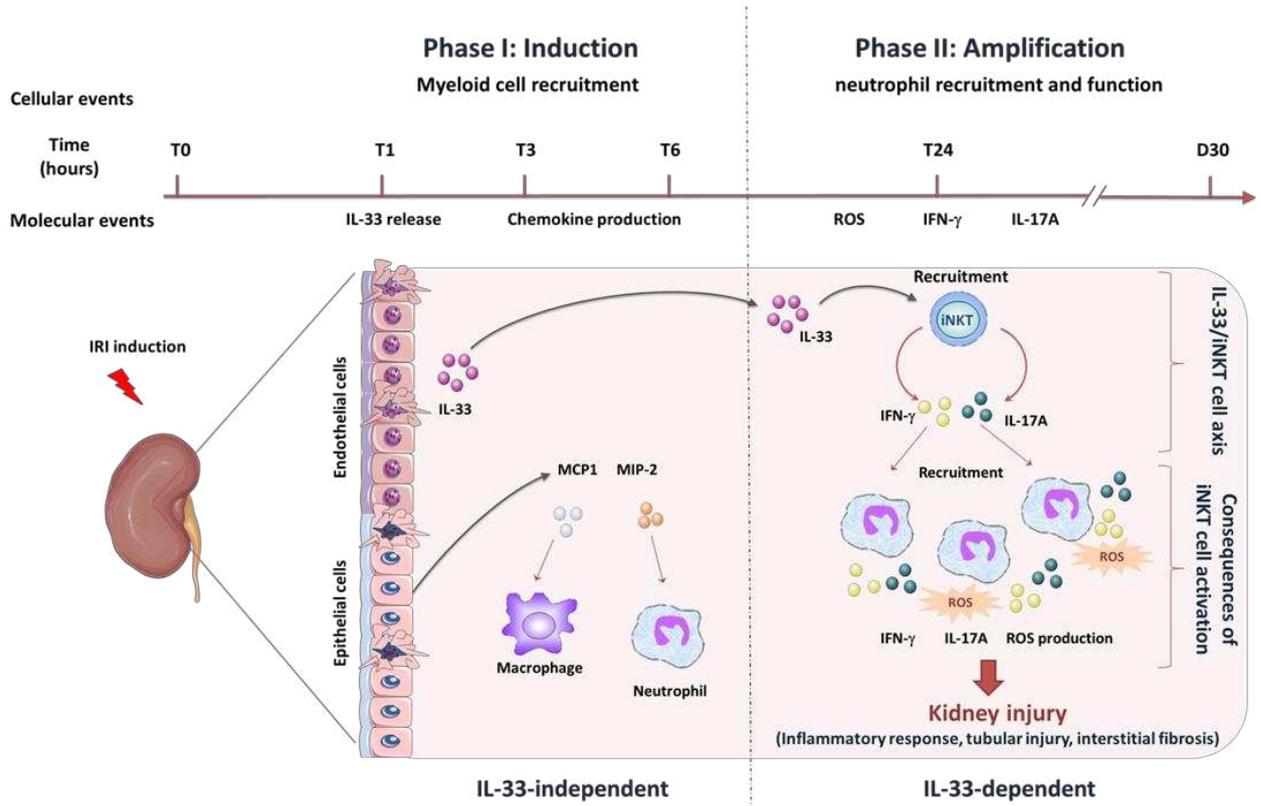
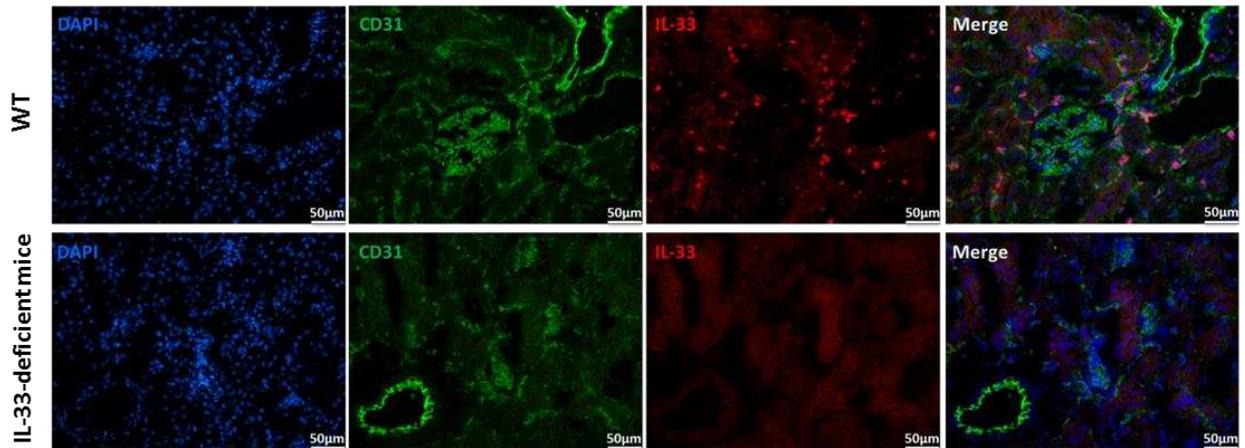


Figure 11

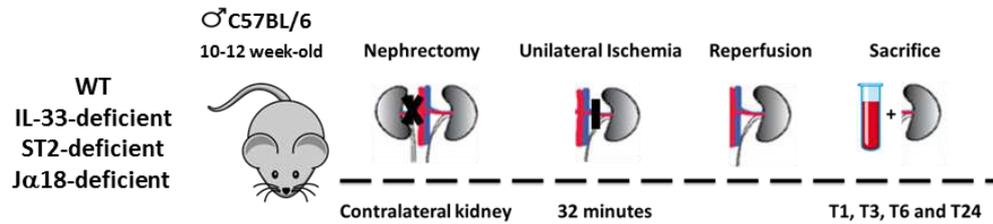


Supplemental Figure 1



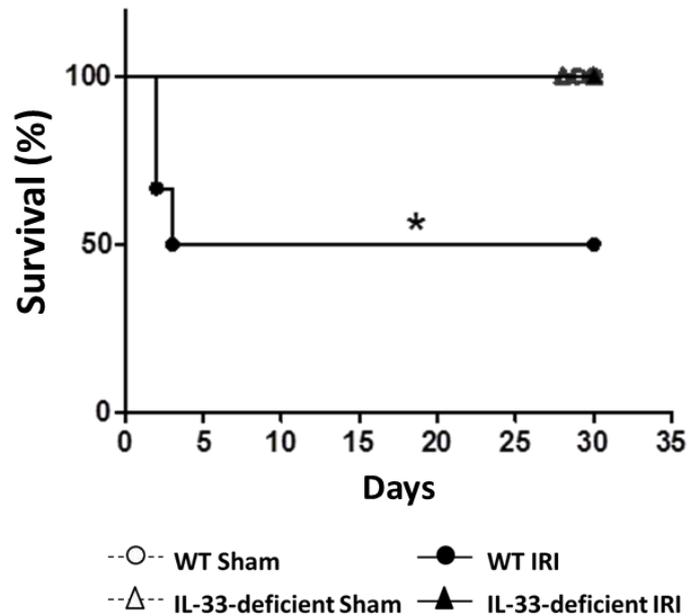
Immunofluorescence staining for IL-33 on non-ischemic kidneys from wild-type and IL-33^{Gt/Gt} mice. IL-33 (red), CD31 (green) and DAPI (blue) in non-ischemic kidneys from wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice. Note the absence of staining in healthy kidney tissues from IL-33-deficient mice used as controls.

Supplemental Figure 2



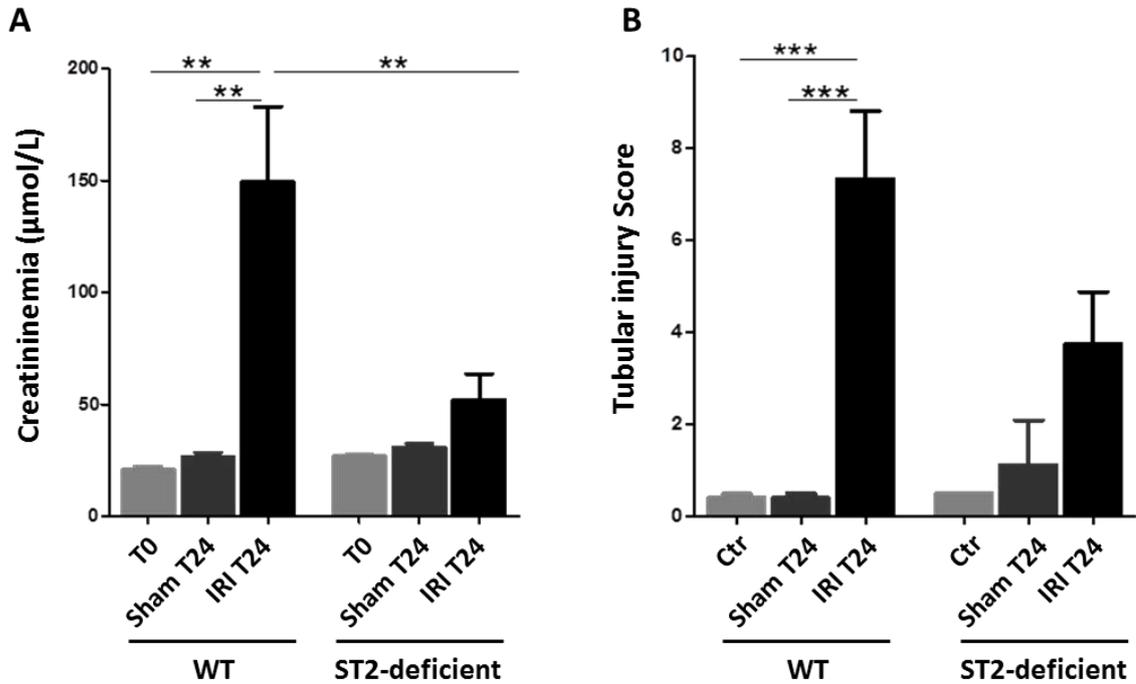
Experimental procedure of renal IRI. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) male C57BL/6 mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) following contralateral nephrectomy (Ctr). After 1, 3, 6 or 24 hours (T1, T3, T6, or T24) of reperfusion (from the end of the ischemic period), kidneys and peripheral blood were obtained. The healthy left Ctr kidney, ligated and removed before IRI induction, was used as for comparison with IRI and Sham kidneys. Control plasma (T0) was obtained from naive animals.

Supplemental Figure 3



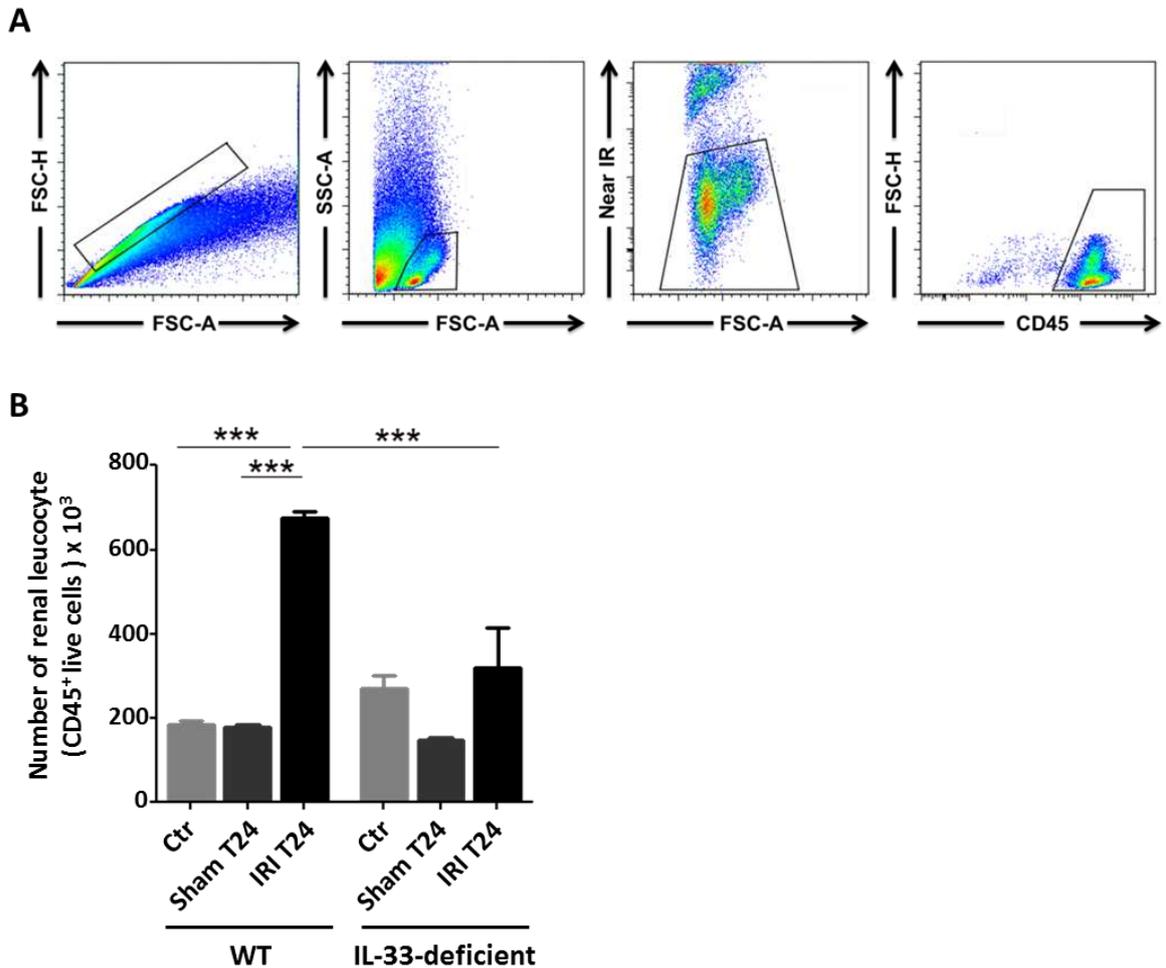
Mortality is reduced in IL-33-deficient mice. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham; 3 animals per group) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI; 6 animals per group) after contralateral nephrectomy. Kaplan-Meier survival curves for sham-operated and IRI WT and IL-33-deficient mice. Thirty days after IRI induction, a survival rate of 100% was observed in IL-33-deficient mice whereas 50% of WT mice succumbed within the first 3-4 days. Survival distribution of the WT IR group was significantly different from all other groups of mice. (Mantel-Cox, *P<0.05).

Supplemental Figure 4



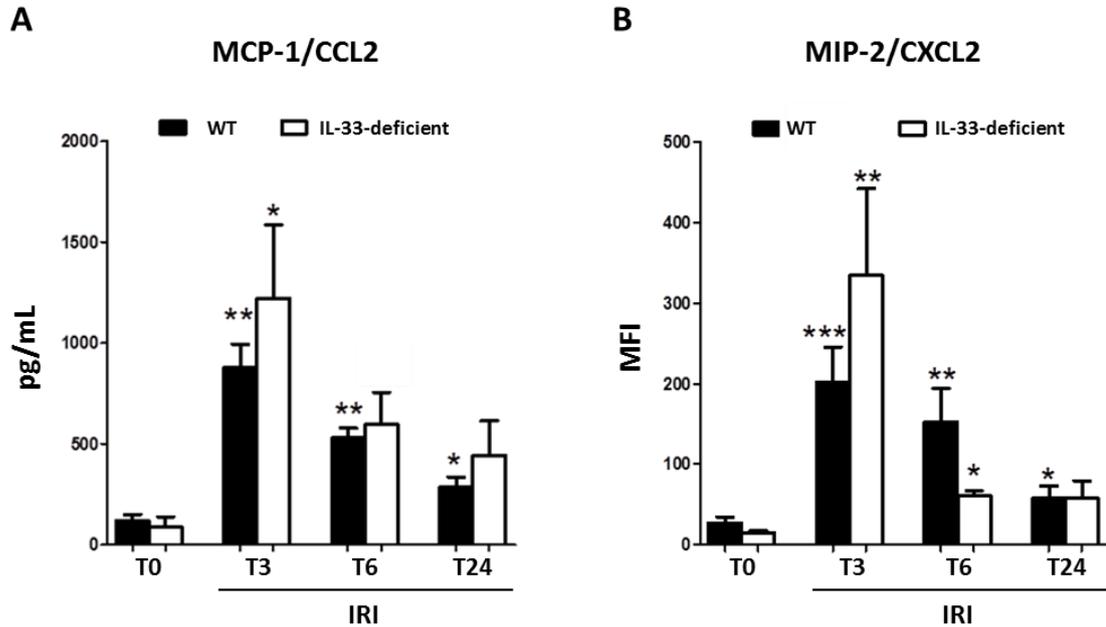
ST2-deficient mice are protected against IRI. Wild-type (WT) and ST2KO (ST2-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) following contralateral nephrectomy (Ctr). After 24 hours (T24) of reperfusion, kidneys were obtained (4-6 animals per group). At T24 post-IRI, ST2-deficient mice demonstrated less elevated blood creatinine levels (A) and attenuated tubulointerstitial damage (B) as compared to their WT counterparts. Control plasma (T0) was obtained from naïve animals. Tubular injury was assessed with periodic acid-Shiff (PAS) staining. Sham and healthy Ctr kidneys from both WT and ST2-deficient mice exhibited normal tubular structure. One-way ANOVA followed by Tukey post-test was used for three or more group comparisons. ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Supplemental Figure 5



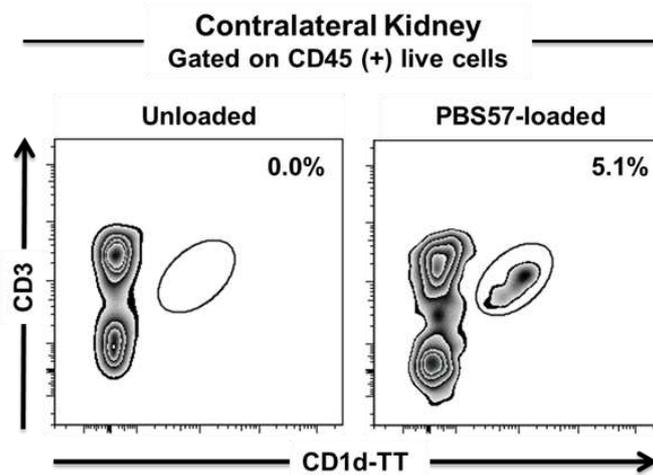
Identification of kidney leukocytes by flow cytometry. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to sham surgery (Sham) or 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) after contralateral nephrectomy (Ctr). After 24 hours, kidneys were obtained and leukocytes freshly isolated to examine the number of total leukocytes (CD45+) cells. **(A)** Gating strategy. Kidney cell suspensions were prepared from ischemic WT mouse kidneys. Cells were first gated on size (FCS-A) and granularity (SSC-A) followed by Near IR exclusion to identify live cells for further analysis. Live cells were gated on CD45 expression to identify leukocytes. **(B)** Number (per kidney) of CD45(+) cells. Data are expressed as means \pm SEM (5-8 animals per group). One-way ANOVA followed by Tukey post-test was used for three or more group comparisons. ***P<0.001.

Supplemental Figure 6



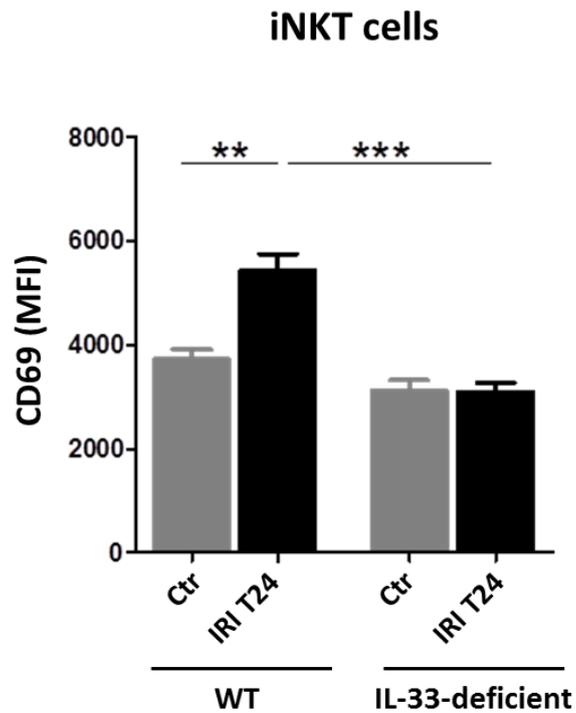
Early increase of plasma levels of MCP-1 and MIP-2 after IRI induction does not depend on IL-33. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) following contralateral nephrectomy. After 3, 6 or 24 hours (T3, T6, or T24) of reperfusion, peripheral blood was collected. Plasma levels of MCP-1/CCL2 (pg/mL) (A) and MIP-2/CXCL2 (relative MFI) (B) were significantly increased following IRI, as soon as 3 hours after reperfusion in both WT and IL-33-deficient mice, compared to their basal levels in untreated (T0) mice (6 animals per group). There was no significant difference in MCP-1 and MIP-2 levels between WT and IL-33-deficient mice at all time points. Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons. For each WT or IL-33-deficient group of mice: *P<0.05 and **P<0.01 versus T0.

Supplemental Figure 7



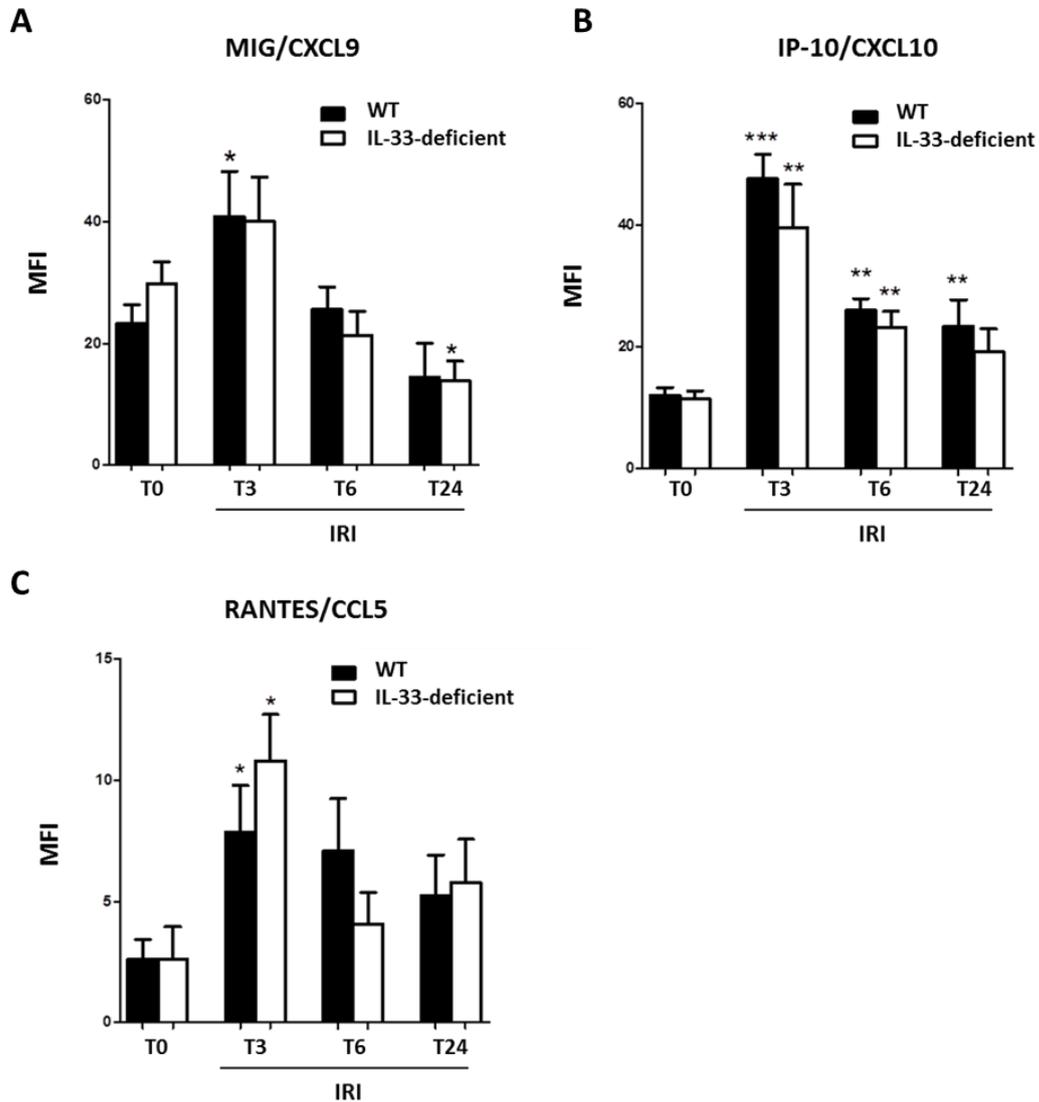
Gating strategy to identify iNKT cells among leukocytes freshly isolated from kidneys. Leukocytes (CD45(+)) cells were membrane-labeled with anti-CD3 mAb and an empty CD1d TT (without PBS57) (**left panel**) or with anti-CD3 mAb and PBS57-loaded CD1d TT (**right panel**) to validate the staining of the PBS57-loaded CD1d TT. iNKT cells were defined as PBS57-loaded CD1d TT(+) cells with intermediate CD3 expression. A representative case of leukocytes isolated from a healthy contralateral kidney is shown. Numbers indicate the percentage of cells of interest among total leukocytes after gating on live CD45(+) cells.

Supplemental Figure 8



Augmentation of surface CD69 expression on iNKT cells induced by ischemia-perfusion is altered in the kidneys of IL-33-deficient mice relative to WT mice. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to 32 minutes of unilateral IRI after contralateral nephrectomy (Ctr). After 24 hours, kidneys were obtained and leukocytes freshly isolated to examine CD69 Mean Fluorescence Intensity (MFI) levels on iNKT (PBS57-loaded CD1d TT(+) CD3(+)) cells after gating on CD45(+) cells. Each group was composed of 3 animals. Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons. *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

Supplemental Figure 9



Early increase in plasma levels of MIG, IP-10 and RANTES after IRI induction does not depend on IL-33. Wild-type (WT) and IL-33^{Gt/Gt} (IL-33-deficient) mice were subjected to 32 minutes of unilateral ischemia (IRI) following contralateral nephrectomy. After 3, 6 or 24 hours (T3, T6, or T24) of reperfusion, peripheral blood was collected. Plasma levels (relative MFI) of MIG/CXCL9 (A), IP-10/CXCL10 (B) reperfusion in both WT and IL-33-deficient mice, compared to their basal levels in untreated (T0) mice (6 animals per group). There was no significant difference in MIG, IP-10 and RANTES levels between WT and IL-33-deficient mice at all time points. Two-tailed Mann-Whitney U test was used for two group comparisons. *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

Discussion générale et perspectives

Discussion générale et perspectives

Dans ce travail, nous avons étudié deux éléments, l'un cellulaire et l'autre moléculaire, clés du système immunitaire inné capables d'influencer les événements initiés par la séquence d'IR rénale qui constitue un enjeu majeur en transplantation d'organe. Ces deux éléments sont **l'alarmine/cytokine IL-33 et les lymphocytes iNKT**.

Sur la base de nos résultats et en prenant appui sur la littérature, y compris celle de notre laboratoire, nous développerons dans cette discussion générale la question de l'influence de l'alarmine/cytokine IL-33 et des lymphocytes iNKT dans les phénomènes d'IR rénale puis nous tenterons de mettre en perspective l'apport de nos travaux dans la compréhension des mécanismes d'action impliqués dans le développement de l'IR en lien avec la transplantation rénale. Enfin, nous discuterons différentes stratégies thérapeutiques, ceci en prenant en compte le rôle important de ces deux facteurs innés mis en jeu au cours de l'IR rénale in vivo.

1. L'IL-33 une alarmine du stress cellulaire associé à l'IR rénale

La libération des molécules de danger DAMP, en particulier les alarmines HMGB1 et IL-33, au décours immédiat de la transplantation rénale chez l'homme, démontrée au sein de notre équipe, a permis de proposer une association étroite entre la genèse de lésions rénales et la libération d'alarmines (Thierry et al., 2014). A cela vient s'ajouter des études expérimentales in vivo démontrant l'implication directe de l'alarmine HMGB1 dans la pathogénie de l'IR rénale (Wu et al., 2010) (Chen et al., 2016). Toutefois, la démonstration d'une action directe de l'IL-33 et son implication dans les phénomènes d'IR rénale restait à ce jour non documentée.

Dans le présent travail, nous apportons la démonstration princeps d'une implication directe de l'alarmine IL-33 comme élément clé dans la genèse des lésions d'IR rénale et facteur déterminant dans l'activation du système immunitaire inné associée. Cette démonstration a été apportée par l'utilisation d'un modèle murin d'IR rénale unilatérale par clampage/déclampage du pédicule rénal appliqué à des souris sauvages et déficientes en IL-33 (souris IL-33^{Gt/Gt}), décrites dans la partie II de notre introduction générale. Sur le plan mécanistique, nos résultats montrent un rôle essentiel de l'IL-33 dans l'activation et le recrutement des cellules iNKT suite à la séquence d'IR chaude. Ces cellules iNKT activées participent à la réponse immunitaire stérile associée à l'IR, ceci en produisant les cytokines pro-inflammatoires IFN- γ et IL-17A, et en amplifiant le recrutement de PNN, eux-mêmes producteurs d'IFN- γ et d'IL-17A et responsables des lésions tubulaires aiguës caractéristiques de l'IR rénale.

Nous avons montré, tant chez les souris déficientes en IL-33 que chez celles dépourvues du récepteur spécifique ST2 de l'IL-33, une préservation de la fonction rénale après la séquence

d'ischémie chaude résultant d'une atténuation significative des lésions tissulaires. Ces données sont fortement en faveur de l'existence d'un **axe IL-33/ST2** régissant les phénomènes d'IR rénale. L'IL-33 avait été décrite comme un médiateur inflammatoire puissant dans la genèse des lésions tissulaires dans deux modèles d'IRA, d'origine néphrotoxique induite par le cisplatine (Akçay et al., 2011) et obstructive (Chen et al., 2016). Dans ces deux modèles d'IRA, comme au cours de l'IR rénale, une nécrose tubulaire aiguë ainsi qu'un infiltrat inflammatoire sont observés.

Notre travail élargit donc le champ d'application de l'IL-33 à l'IRA rénale d'origine ischémique. Il est aussi le premier à montrer que l'IL-33 agit en tant qu'alarmine dans un modèle d'IRA. Ainsi, nous montrons bien une libération très rapide de l'IL-33 stockée au niveau nucléaire dans les cellules rénales endommagées, principalement endothéliales, dès la première heure de reperfusion suivant la séquence d'ischémie chaude, ceci sans requérir une néosynthèse inductible du gène codant l'IL-33. De plus, dans notre modèle, l'IL-33 alerte bien le système immunitaire, ceci en recrutant des populations cellulaires effectrices innées, en particulier les cellules iNKT dont les fonctions pro-inflammatoires seront activées.

1.1. Libération suite à une nécrose

La définition des alarmines englobe des molécules qui sont libérées dans le milieu extracellulaire par des cellules endommagées suite à un stress ou un traumatisme tissulaire. Ces molécules servent de signal de danger pour alerter le système immunitaire inné déclenchant ainsi une réponse inflammatoire (Shi et al., 2003). En IR rénale, les lésions tissulaires sont le résultat d'une nécrose tubulaire aiguë ainsi que d'une nécrose des cellules endothéliales due à une perte des capillaires péri-tubulaires qui est responsable du dysfonctionnement de la microvascularisation rénale (Kramann, Tanaka et Humphreys, 2014).

Dans notre modèle d'inflammation stérile, la séquence d'IR chaude induit la libération très précoce de l'IL-33 par les cellules endothéliales endommagées. En effet, dès 1 heure après la reperfusion, une perte de l'IL-33 stockée dans le noyau des cellules CD31(+) est observée in situ et accompagnée d'une augmentation des taux plasmatiques d'IL-33 sans modification de l'expression transcriptionnelle de l'IL-33. Ces données sont conciliables avec un mode de libération de « type alarmine ». De plus, l'analyse protéique par western-blot de broyats tissulaires de reins sains et « ischémiés » nous a permis de détecter une seule forme d'IL-33 ayant un poids moléculaire compris entre 32 et 34 kDa. Cette forme, dite « full-length », correspond à la protéine entière, non clivée par les caspases apoptotiques. Ceci suggère une libération d'IL-33 résultant d'un processus de nécrose plutôt que d'apoptose. En effet, au cours de l'apoptose, la protéine IL-33 est clivée par les caspases pro-apoptotiques 3 et 7 générant ainsi deux produits biologiquement

inactifs d'environ 19 kDa (Lüthi et al., 2009) (Cayrol et Girard, 2009). Ce mode de mise en action de l'IL-33 est donc bien caractéristique d'une alarmine. Aussi l'IL-33 libérée par nécrose dès l'initiation du stress tissulaire agit-elle dans notre modèle comme un médiateur des réponses immunitaires locale et systémique. A cet égard, soulignons les modèles pathologiques de stress cellulaire provoqué par une infection parasitaire à helminthe (Shimokawa et al., 2017) ou des lésions cérébrales (Gadani et al., 2015), dans lesquels l'IL-33 agit aussi avec les mêmes caractéristiques d'alarmine que nous décrivons dans notre modèle d'IR rénale.

1.2. L'IL-33 participe au recrutement et à l'activation du système immunitaire inné et en particulier des cellules iNKT après IR rénale

Le recrutement précoce de cellules de l'immunité innée est une caractéristique de l'inflammation stérile induite par la séquence d'IR rénale (Eltzschig et Eckle, 2011). Pour cette raison, nous avons réalisé à partir de reins provenant de souris sauvage et de souris IL-33^{Gt/Gt}, 24 heures après la séquence d'IR, une étude par cytométrie en flux du recrutement des principaux effecteurs de l'immunité innée, avec un intérêt particulier porté aux PNN et aux lymphocytes iNKT qui sont réputés être réactifs à l'IL-33 (Bourgeois et al., 2009) et auxquels on attribue un rôle délétère majeur dans les phénomènes d'IR rénale (Li et al., 2007).

1.2.1. Axe IL-33/ cellules iNKT/PNN

Comparativement aux souris sauvages, le nombre de PNN recrutés dans le rein « ischémié » est apparu très réduit chez les souris déficientes en IL-33. De la même manière, l'analyse des cellules iNKT intra-rénales, a montré une augmentation de leur nombre chez les souris sauvages après la séquence d'IR chaude, augmentation non retrouvée chez les souris déficientes en IL-33.

Cette partie de notre travail suggère un rôle de l'IL-33 dans la genèse des lésions ischémiques via le recrutement de cellules immunitaires effectrices composées de PNN et de cellules iNKT. L'IL-33 pourrait jouer un rôle dans le recrutement des PNN, soit par une action directe sur ces cellules qui expriment son récepteur spécifique ST2, soit par la mise en jeu d'autres acteurs cellulaires tels que les cellules iNKT décrites dans la littérature comme impliquées dans la genèse des lésions d'IR rénales via leur activation des PNN (Li et al., 2007).

L'IL-33 a bien été décrite pour ses activités chimio-attractantes sur les PNN tant in vitro qu'en situation expérimentale in vivo (Verri et al., 2010). Cependant, nos résultats montrant que la libération d'IL-33 chez les souris déficientes en cellules iNKT (souris $J\alpha 18^{-/-}$), bien que quantitativement équivalente à celle des souris sauvages, n'est pas accompagnée d'un recrutement de PNN, privilégient le second scénario.

Notre travail permet de conclure en l'existence d'une influence de l'IL-33 sur les cellules iNKT non seulement dans leur recrutement mais aussi dans leur statut fonctionnel. Ainsi, les cellules iNKT dont le recrutement dans le rein des souris dépourvues d'IL-33 est réduit, ont aussi un niveau d'expression diminué du marqueur précoce d'activation CD69 et des cytokines IFN- γ et IL-17A.

Nous postulons que dans notre modèle, l'IL-33 cible directement les cellules iNKT. En effet, les cellules iNKT expriment constitutivement le récepteur ST2 spécifique de l'IL-33 (Bourgeois et al., 2009). Surtout, notre étude *in vitro* réalisée à partir de lymphocytes iNKT purifiés montre un effet amplificateur majeur de l'IL-33 sur les productions d'IFN- γ et d'IL-17A. Ces données sont en faveur d'une action directe *in vivo* dans notre modèle d'IR rénale de l'IL-33 sur les cellules iNKT et leur production de cytokines pro-inflammatoires, à l'image de ce qui a été décrit dans un modèle expérimental d'inflammation pulmonaire aigu dans lequel l'IL-33 joue également un rôle majeur dans le recrutement de cellules iNKT productrices d'IFN- γ (Bourgeois et al., 2011).

Afin d'apporter la démonstration définitive d'une action directe de l'IL-33 sur les cellules iNKT au cours des phénomènes d'IR rénale chez la souris, nous proposons des expériences de reconstitution de souris $J\alpha 18^{-/-}$ par des cellules iNKT provenant de souris sauvages ou insensible à l'IL-33 ($ST2^{-/-}$). Les résultats attendus sont un dysfonctionnement rénal et des lésions tissulaires après IR chez les souris $J\alpha 18^{-/-}$ reconstituées avec des cellules iNKT provenant de souris sauvage mais non de souris $ST2^{-/-}$ (**Figure 24**). La population iNKT est très minoritaire et hétérogène. Ces expériences de reconstitution, qui requièrent des sources cellulaires purifiées, seraient donc facilitées par l'emploi de souris génétiquement modifiées sur-exprimant le compartiment iNKT (souris transgéniques $V\alpha 14$ - $J\alpha 18$) (Bendelac, Hunziker, et Lantz, 1996) chez lesquelles on introduirait préalablement la déficience $ST2$.

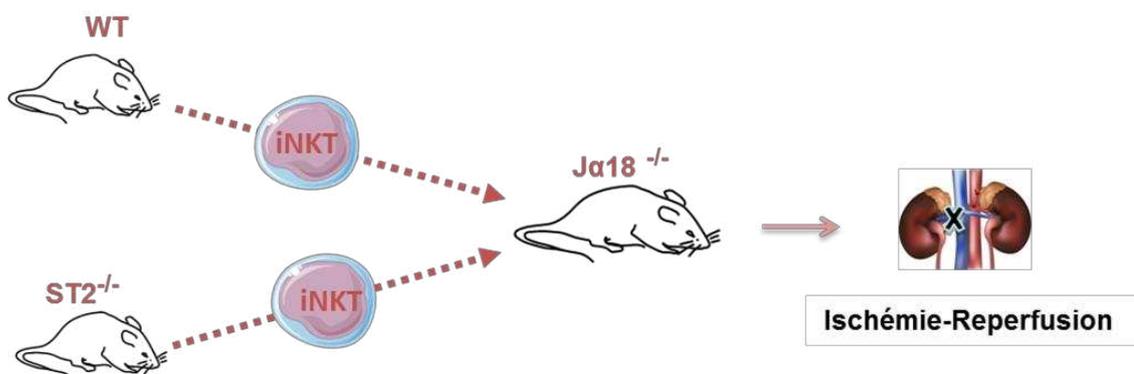


Figure 24 : Schéma expérimental du transfert cellulaire adoptif avant IR rénale. Les souris déficientes en cellules iNKT (souris $J\alpha 18^{-/-}$) seront reconstituées avec des cellules iNKT provenant de souris sauvages (WT) et de souris dépourvues du récepteur membranaire ST2 ($ST2^{-/-}$) puis soumises à la séquence d'IR afin d'apporter la preuve définitive de l'existence d'un axe IL-33/ST2/cellules iNKT en IRI rénale.

1.2.2. L'IL-33 dans le recrutement d'autres effecteurs leucocytaires

A côté des PNN et des cellules iNKT, d'autres types cellulaires appartenant à l'immunité innée et réactifs à l'IL-33 ont été proposés comme contribuant aux phénomènes d'IR rénale. C'est le cas en particulier des DC, des monocytes/macrophages et des cellules NK. Dans notre modèle, nous avons pu confirmer (**Figures 25 et manuscrit**) les données de la littérature rapportant un recrutement de ces trois populations effectrices au cours des 24 premières heures post-IR (Li et Okusa, 2010) (Jang et Rabb, 2015) et montrer par l'utilisation des souris déficientes en IL-33 une influence de l'alarmine sur leur recrutement.

Les monocytes/macrophages et les DC sont décrits comme les initiateurs de la réponse innée et de l'inflammation stérile au niveau du rein qu'ils orchestrent en réponse à l'IR et leur contribution dans le recrutement des cellules iNKT a été proposé (Li et al., 2010). Nous devons donc envisager que l'IL-33 agit sur les cellules iNKT non seulement directement mais aussi via le recrutement de ces compartiments cellulaires.

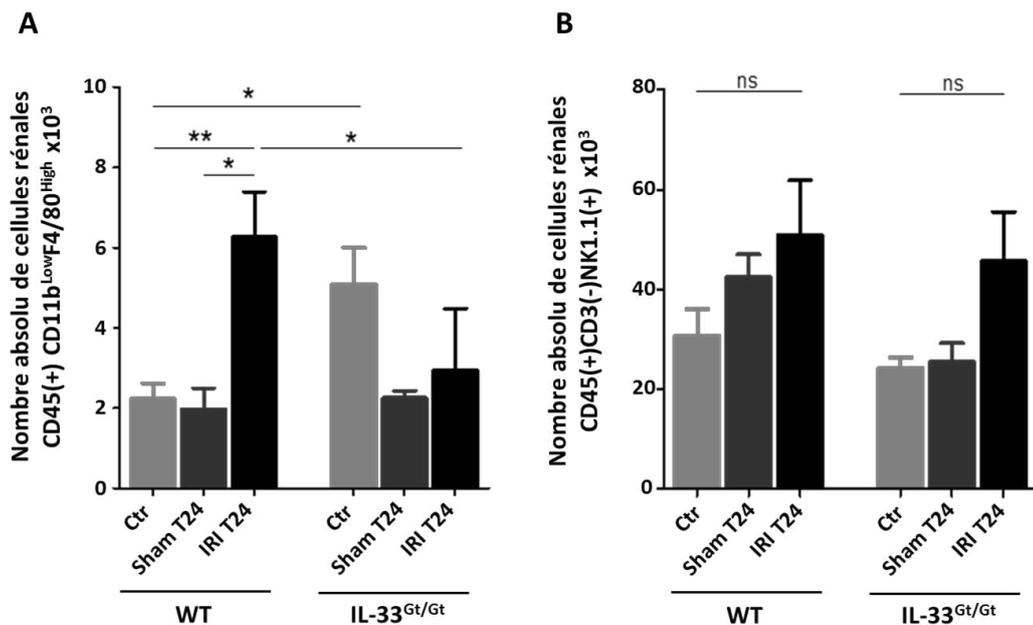


Figure 25 : Identification des leucocytes intra-rénaux par cytométrie en flux. Des reins provenant de souris de type sauvage (WT) et de souris déficientes en IL-33 (IL-33^{Gt/Gt}) ayant subi une IR de 32 minutes ou contrôles ont été analysés par cytométrie en flux, 24 heures après la reperfusion, pour déterminer le nombre absolu de DC (CD45(+)CD11^{low}F4/80^{high}) (A) et de cellules NK (CD45(+)CD3(-)NK1.1(+)) (B) infiltrant les reins. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM (5-8 /groupe). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du test One-way ANOVA. n.s : non significatif ; *p<0.05 et **p<0.01.

Enfin se pose la contribution, même partielle, des cellules NK dans notre modèle d'IR rénale dont le recrutement dépend aussi de l'IL-33. Il est possible que leur caractère délétère décrit

antérieurement dépende des cellules iNKT sous l'effet de l'IL-33. En effet, il a été décrit que les cellules iNKT, via leur IFN- γ , « transactivent » les cellules NK (Carnaud et al., 1999).

1.3 L'IL-33 et ses partenaires privilégiés dans l'activation des cellules iNKT après IR rénale

Dans la 3^{ème} partie de l'introduction générale, nous avons évoqué les différents mécanismes conduisant à l'activation des cellules iNKT. Parmi ces modes d'activation figurent ceux mettant en jeu les cytokines, leur TCR ou bien les deux combinés. Dans la situation de l'IR rénale, il avait jusqu'ici été proposé la possibilité d'un engagement du TCR des cellules iNKT sans que la place des cytokines ait été abordée.

Cette question est discutée ci-après en recherchant à y intégrer la place de l'IL-33.

La cytokine IL-12 comme partenaire privilégié de l'IL-33 en IR rénale ? De nombreuses études ont montré que l'IL-12 est capable seule ou en combinaison avec l'IL-18 d'activer les cellules iNKT en l'absence de stimulation dépendante du TCR, soulignant le caractère inné de ces cellules. De plus, l'IL-12 est capable de synergiser avec le TCR et de contribuer ainsi à activer plus efficacement les cellules iNKT.

Un faisceau d'arguments nous conduits a présumer que l'IL-33 agit de manière concertée avec l'IL-12 dans notre modèle d'IR rénale : **1)** Contrairement à l'IL-12 et à l'image de l'IL-18, l'IL-33 agit sur les cellules iNKT plutôt comme un cofacteur amplificateur que comme un facteur stimulateur autonome (Bourgeois et al., 2009); **2)** En accord avec ce principe, in vitro comme in vivo, les actions de l'IL-33 sur les cellules iNKT dépendent de l'IL-12 endogène (Bourgeois et al., 2009) (Bourgeois et al., 2011); **3)** Nous avons noté une augmentation significative des taux plasmatiques d'IL-12 mais non d'IL-18 en réponse à la séquence d'IR rénale (**Figure 26**); et enfin, **4)** Les souris IL-12^{-/-} ont été décrites comme étant protégées des lésions d'IR rénale (Marques et al., 2006).

Il serait donc pertinent d'analyser dans notre modèle d'IR rénale le recrutement dans le rein et le statut fonctionnel intra-rénal de la population iNKT chez les souris déficientes en IL-12.

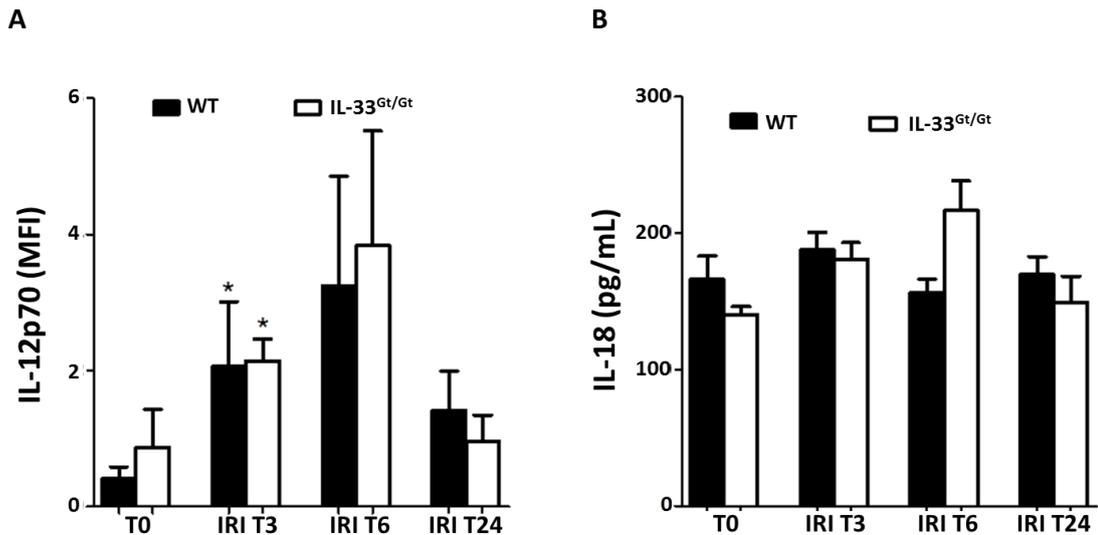


Figure 26 : Dosage des cytokines IL-12 et IL-18, partenaires de l'IL-33, après IR rénale. Le sang provenant de souris sauvages et de souris déficientes en IL-33 (IL-33^{Gt/Gt}) a été récupéré avant et après la séquence d'IR rénale et les variations des cytokines IL-12p70 (A) et IL-18 (B) ont été recherchées respectivement par techniques Luminex et ELISA.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM (5/groupe). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du test non paramétrique Mann-Whitney. * $p < 0.05$.

Les DAMP comme partenaires de l'IL-33 ? Dans le modèle de dommage tissulaire induit par l'infection par helminthe (Shimokawa et al., 2017), l'IL-33 semble agir en concertation avec l'ATP dans la production d'IL-13 des mastocytes. Une recherche par similitude consisterait à tester in vitro si l'IL-33 et l'ATP sont capables en concertation d'induire ou d'amplifier les productions d'IFN- γ et/ou d'IL-17A des cellules iNKT.

La place des chimiokines comme partenaires de l'IL-33 ? Dans la littérature, les cellules iNKT sont décrites pour exprimer les récepteurs CCR2, CCR5 et CXCR3 (Kim, Johnston, et Butcher, 2002) et répondent respectivement à leurs ligands MCP-1, CCL5 et CXCL9/CXCL10 (ces deux chimiokines partageant le même récepteur CXCR3) (Farber, 1997) (Panzer et al., 2006) qui sont largement produits par les cellules des tissus non lymphoïdes et qui sont régulés par des signaux inflammatoires, y compris en IR rénale (Panzer et al., 2006).

Bien que l'IL-33 ait été décrite pour ses fonctions chimiotactiques sur les cellules iNKT, les mécanismes sous-jacents en jeu ne sont pas élucidés. Il serait pertinent de rechercher si l'IL-33 ne régule pas positivement l'expression des récepteurs de chimiokines CCR2, CCR5 et/ou CXCR3 à la surface des cellules iNKT.

La place de l'IL-33 dans la mise en jeu du TCR des cellules iNKT ? Du fait de leur caractère ambivalent, les cellules iNKT, qui sont à l'interface entre l'immunité innée et adaptative, répondent de façon rapide et innée aux cytokines IL-33 et IL-12 qui sont rapidement libérées au

cours de l'IR rénale. On ne peut cependant pas exclure une activation concomitante via leur TCR par la reconnaissance de ligands endogènes présentés par CD1d à la surface de CPA comme cela a été proposé par le groupe d'Okusa (Li et al., 2010).

Dans ce contexte, nos résultats obtenus *in vitro* (**Figure 27**) décrivant que l'IL-33, seule ou associée avec l'IL-12, amplifie les productions d'IFN- γ et d'IL-17A des cellules iNKT stimulées via leur TCR, sont en accord avec une action *in vivo* de l'IL-33 accompagnant les deux modes d'activation des cellules iNKT engageant le TCR et l'IL-12 que nous présumons tous les deux être mis en jeu au cours de l'IR rénale.

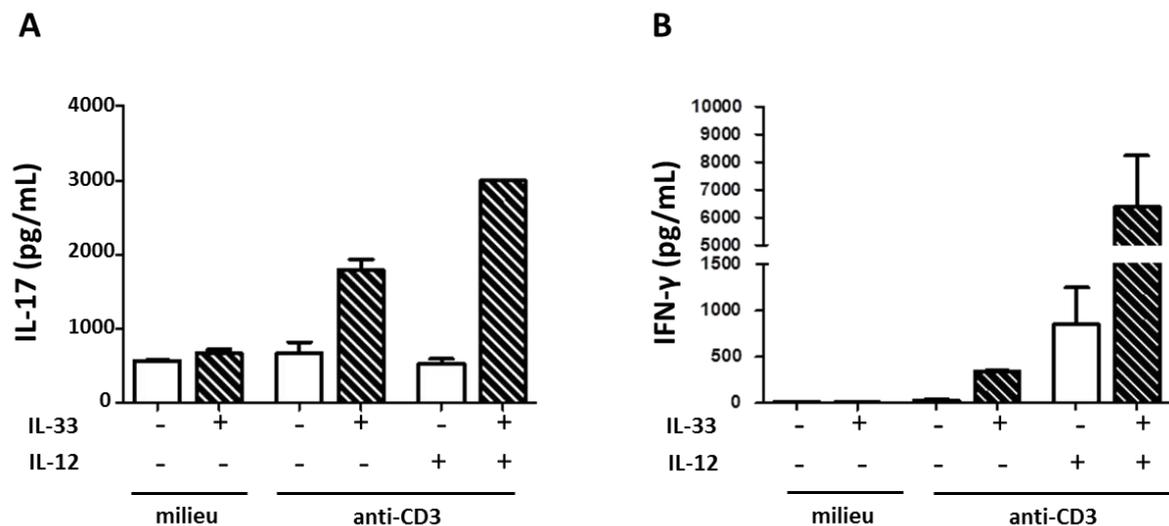


Figure 27 : Analyse in vitro de la production cytokinique des cellules iNKT médiée par l'IL-33. Des cellules iNKT (PBS57-loaded TT(+) CD5(+)) purifiées à partir de rates de souris sauvages ont été mises en culture ($2,5 \times 10^4$ /puits) avec ou sans stimulation du CD3 (1 μ g/mL) en présence ou en absence d'IL-33 (10 ng/mL) et d'IL-12 (20 ng/mL) puis les surnageants de culture ont été dosés pour l'IL-17A (A) et l'IFN- γ (B) par technique ELISA.

Un mécanisme complémentaire de l'IL-33 reposerait sur sa capacité à cibler les CPA. Nous proposons de rechercher si les monocytes/macrophages et les DC recrutés dans les reins post-IR de manière dépendante de l'IL-33 (cf. paragraphe ci-avant 1.2.2) sur-expriment CD1d et/ou ont une plus grande capacité à activer *ex vivo* des cellules iNKT naïves via leur TCR. A cette fin, nous comparerons les compartiments DC et monocytes/macrophages isolés des souris post-IR sauvages et déficientes en IL-33 en la présence ou l'absence de faibles doses du ligand α -GalCer. Nous envisagerons des expériences de blocage de la présentation d'antigènes endogènes par l'utilisation d'un anticorps monoclonal neutralisant CD1d.

2. Schéma séquentiel hypothétique du recrutement des cellules immunitaires innées en IR rénale : mise en évidence d'une phase initiale ne requérant pas l'IL-33 suivie d'une phase amplificatrice mettant en jeu l'IL-33

Un autre résultat important de notre travail repose sur notre mise en évidence de deux phases successives de recrutement dans le rein de cellules immuno-inflammatoires induites par l'IR. Ces deux phases se distinguent par leur dépendance vis-à-vis de l'IL-33. Cette conclusion a été permise grâce à notre étude comparative chez les souris sauvages et déficientes en IL-33 des cinétiques de recrutement des différents compartiments cellulaires d'intérêt, issue de l'analyse en cytométrie en flux des infiltrats cellulaires constitués 3 heures, 6 heures et 24 heures post-IR. La première phase comprise entre 3 à 6 heures suivant la reperfusion comprend un recrutement initial de PNN et de monocytes/macrophages qui ne requiert pas l'IL-33. En revanche, la seconde phase observée au bout de 24 heures comprend un recrutement amplifié des mêmes types cellulaires accompagné de ceux des cellules iNKT et NK, lesquels dépendent tous de l'IL-33.

Phase d'induction. L'infiltration leucocytaire précoce est probablement médiée par l'action de molécules chimio-attractantes libérées par les cellules endothéliales et épithéliales endommagées. Ce résultat coïncide avec une augmentation significative des taux circulants des chimiokines MCP-1/CCL2 et de MIP-2/CXCL2 chez les souris sauvages comme chez les souris déficientes en IL-33. Les deux molécules MCP-1 et MIP-2 jouent un rôle crucial dans la réponse inflammatoire en participant respectivement au recrutement des monocytes/macrophages et des PNN sur le site de lésion (Zou et al., 1999). Nous postulons que dans cette phase précoce, la production de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines par les cellules rénales endommagées ainsi que par les cellules immunitaires résidentes est suffisante pour initier le recrutement des PMN et des monocytes/macrophages mais pas des cellules iNKT et NK.

A cet égard, soulignons que les taux sériques des chimiokines CCL5/RANTES, MIG/CXCL9 et IP-10/CXCL10, connues pour participer au recrutement des cellules iNKT (McEwen-Smith, Salio, et Cerundolo, 2015) mais également à celui des cellules NK, sont bien augmentés au bout de 3 heures après la reperfusion, ceci tant chez les souris déficientes en IL-33 que chez les souris sauvages. Ces données laissent donc bien penser que ces chimiokines ne sont pas suffisantes à elles seules pour recruter les cellules iNKT et NK dans notre modèle et qu'un autre facteur est indispensable pour ce recrutement. On pense à l'IL-33 car elle peut cibler ces cellules et a été décrite dans la littérature comme chimio-attractrice pour les leucocytes.

Phase d'amplification. Durant la deuxième phase qui commence 24 heures après la reperfusion, l'IL-33 semble être cruciale pour le recrutement des cellules iNKT, des cellules NK, des PNN, des

monocytes/macrophages, des DC ainsi que pour la production d'ERO que nous présumons résulter de l'amplification de l'infiltrat leucocytaire impulsé par l'IL-33.

De manière intéressante, l'IL-33 est requise non seulement pour le recrutement des cellules iNKT dans le rein mais aussi pour leur production locale des cytokines IFN- γ et d'IL-17A. Or comme nous l'avons déjà évoqué, on attribue aux cellules iNKT productrices d'IFN- γ le recrutement des PNN au cours de l'IR rénale expérimentale (Li et al., 2007). De plus, l'IL-17A a également été décrite comme une cytokine impliquée dans le recrutement des neutrophiles (Li et al., 2010) tandis que dans notre étude, nous montrons que la production in situ des deux cytokines IFN- γ et IL-17A au cours de l'IR rénale nécessite un signal apporté par l'IL-33 pour optimiser ces productions par les cellules iNKT, lesquelles peuvent par ce mode d'action de l'IL-33 amplifier le recrutement et les fonctions des PNN.

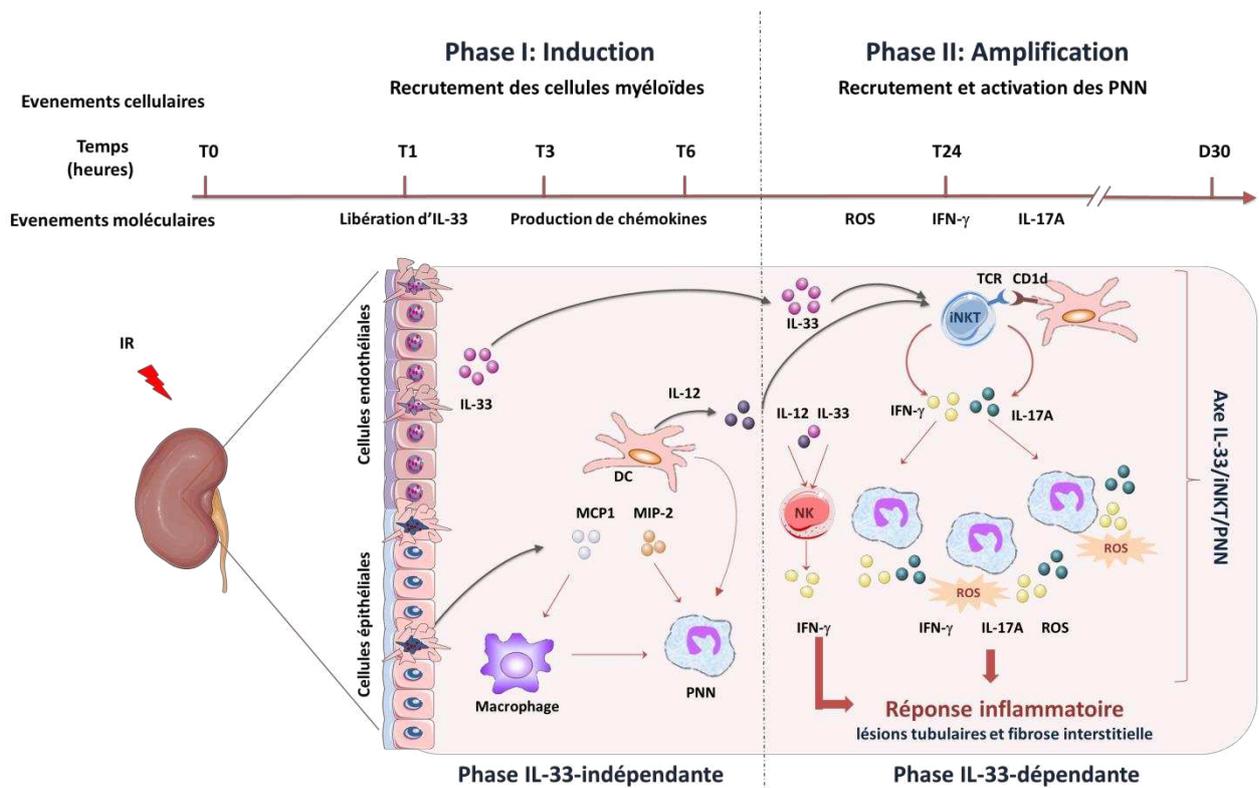


Figure 28 : Schéma séquentiel hypothétique du recrutement des cellules immunitaires innées en IR rénale : mise en évidence d'une phase initiale ne requérant pas l'IL-33 suivie d'une phase amplificatrice mettant en jeu l'IL-33.

3. L'IL-33, un élément précoce d'adaptation cellulaire au cours de l'IR rénale ?

Comme nous l'avons précédemment décrit, la chute des concentrations d'O₂ tissulaire lors de la phase d'ischémie provoque l'installation d'un environnement hypoxique. Ainsi ce

microenvironnement unique induit l'activation des protéines d'adaptation au stress oxydant comme les protéines HIF.

La relation entre la libération de l'alarmine IL-33 et l'expression de HIF-1 α après IR n'a pas encore été recherchée au niveau rénal. Cette question mérite pourtant une attention particulière si l'on considère qu'un axe IL-33/HIF-1 α a pu être proposé en situation inflammatoire chez l'homme lors de la polyarthrite rhumatoïde, soit une maladie caractérisée par une hypoxie tissulaire, un infiltrat de cellules inflammatoires et une hyperplasie des fibroblastes synoviaux (**Figure 29**) (Hu et al., 2013). Les auteurs ont montré qu'un traitement des fibroblastes synoviaux par l'IL-33 favorise leur expression de HIF-1 α tandis que l'inhibition de leur expression d'IL-33 s'accompagne d'une diminution des taux de HIF-1 α .

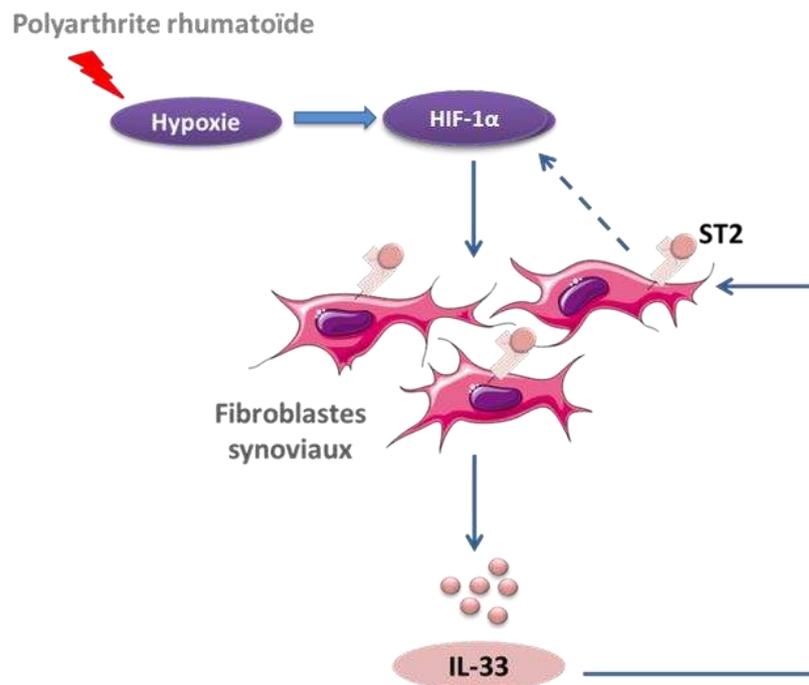


Figure 29 : Axe IL-33/HIF-1 α dans la polyarthrite rhumatoïde.

Nous avons réalisé une analyse transcriptomique du tissu rénal par RT-qPCR à différents temps de reperfusion, pour *Hif-1 α* et son gène cible *Vegf*. Comme attendu, une augmentation significative des taux de transcrit *Hif-1 α* a été observée chez les souris sauvages après 24 heures d'IR (**Figure 30**). De manière frappante, cette augmentation de *Hif-1 α* n'a pas été retrouvée chez la souris déficiente en IL-33 suggérant l'existence d'un axe HIF-1 α /IL-33 en IR rénale. Il reste à confirmer ce phénomène au niveau protéique par western-blot en comparant les tissus rénaux des souris sauvages et déficientes en IL-33. Nous souhaiterions aussi modéliser in vitro ce phénomène en mettant en culture des cellules rénales en situation d'hypoxie/réoxygénation. Nous rechercherons

en particulier dans ce contexte si les expressions transcriptomique et protéique de HIF-1 α sont modifiées après incubation des cellules épithéliales tubulaires en présence d'IL-33 ou bien encore de cellules endothéliales traitées avec un siARN ciblant l'IL-33.

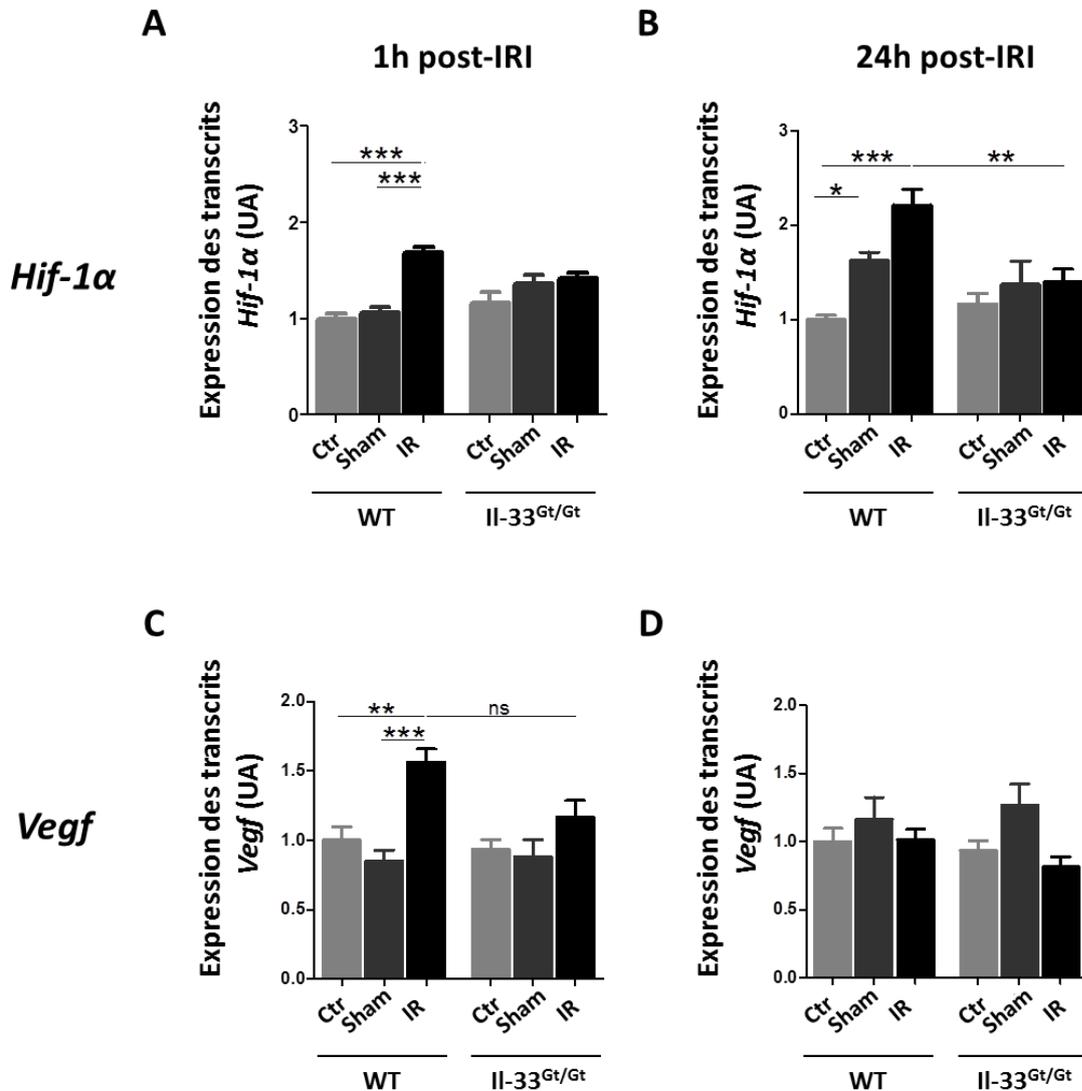


Figure 30 : Analyse des transcrits Hif-1 α et Vegf après IR rénale chez la souris. Des reins contrôles ou ayant subi la séquence d'IR rénale (32 minutes) provenant de souris sauvages ou déficientes en IL-33, ont été broyés, leurs ARNm extraits puis analysés par RTqPCR pour Hif-1 α (A, B) et Vegf (C, D) à 1 heure (A-C) et 24 heures (B, D) après la reperfusion. Les souris Sham sont soumises à la même procédure chirurgicale à l'exception du clampage du pédicule rénal.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM (5/groupe). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du test One-way ANOVA. n.s : non significatif. **p<0.01; ***p<0.001.

En situation hypoxique, faisant suite à l'induction de l'expression de HIF-1 α et à la séquence de reperfusion, la cellule met en place un arsenal antioxydant qui comprend l'enzyme HO-1 pour faire face au stress oxydant et s'adapter à son nouvel environnement.

De manière intéressante, à l'image de Hif-1 α , un taux du transcrit intra-rénal de Ho-1 significativement augmenté a pu être mis en évidence chez les souris sauvages 24 heures après la

séquence d'IR. Chez la souris déficiente en IL-33, cette augmentation a aussi été observée mais à un niveau significativement moins élevé que chez la souris sauvage (**Figure 31**). L'ensemble de ces données indique que l'IL-33 pourrait contribuer indirectement mais précocément à l'adaptation cellulaire aux variations des concentrations d'O₂ tissulaire durant l'IR rénale.

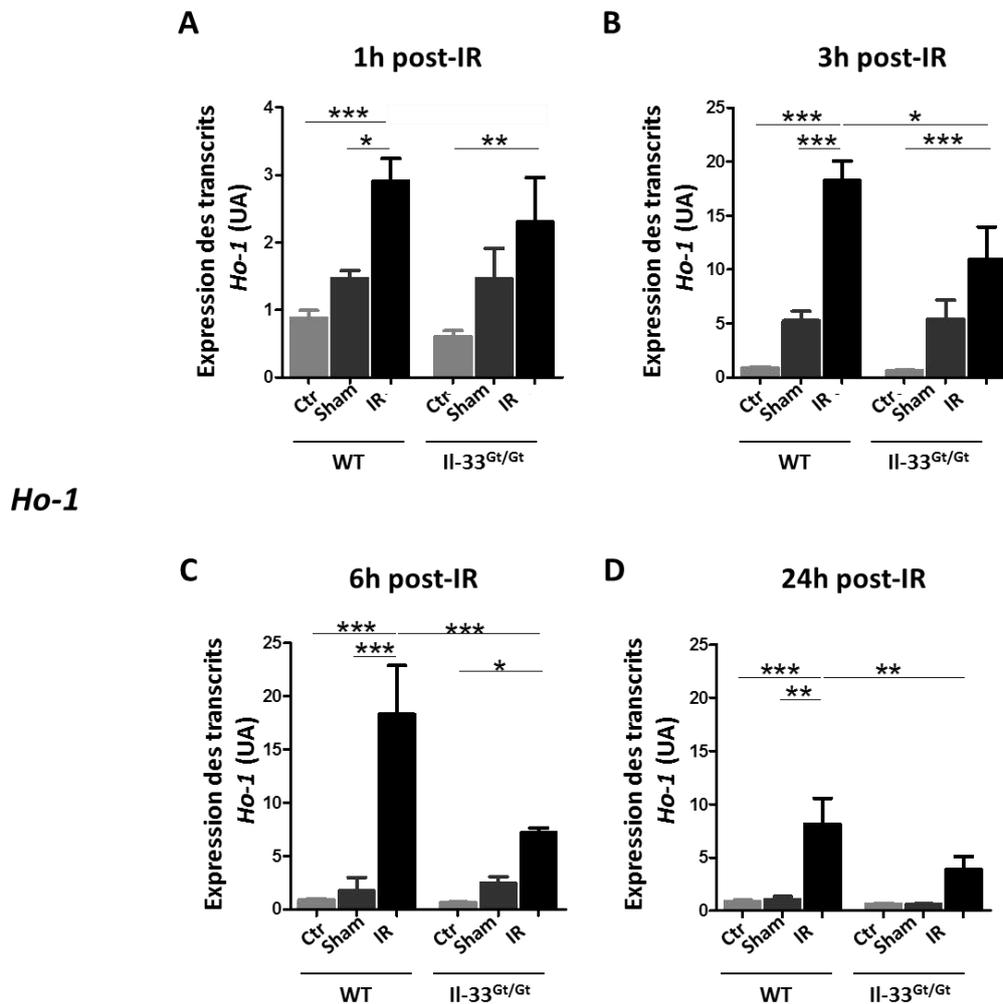


Figure 31 : Analyse des transcrits de Ho-1 après IR rénale chez la souris. Des reins contrôles ou ayant subi une séquence d'IR rénale (32 minutes) provenant de sauvages ou déficientes en IL-33, ont été broyés, leurs ARNm extraits puis analysés par RTqPCR pour Ho-1 à différents temps de reperfusion : 1 heure (A) ; 3 heures (B) ; 6 heures (C) et 24 heures (D). Les souris Sham sont soumises à la même procédure chirurgicale à l'exception du clampage du pédicule rénal. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM (5/groupe). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du test One-way ANOVA. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.

4. IL-33 dans la réparation tissulaire et la fibrose interstitielle ?

Dans la première partie de notre introduction générale, nous avons évoqué la capacité des cellules tubulaires à se régénérer après un stress cellulaire comme celui induit par la séquence d'IR rénale ainsi que lors de la mise en place du processus de fibrose tissulaire le cas échéant. Des facteurs solubles comme l'IL-6, l'IL-13, le TGF-β, le VEGF et HMGB1 sont impliqués dans l'activation des fibroblastes et dans le développement et la progression de la fibrose (Kendall et

Feghali-Bostwick, 2014). En IR associée à la transplantation rénale, la fibrose conduit à un dysfonctionnement global du greffon et à son rejet. Nous avons donc recherché dans notre modèle expérimental la contribution de l'IL-33 dans la fibrogénèse en analysant le dépôt de collagène interstitiel dans le tissu rénal 30 jours après la séquence d'IR chaude. A ce stade, les souris sauvages ayant survécu ont développé une fibrose tubulo-interstitielle modérée et quasi inexistante chez les souris déficientes en IL-33, lesquelles étaient protégées du processus de fibrose. Ainsi, nos résultats suggèrent que la perte en IL-33 améliore la fonction rénale après une lésion ischémique, mais ralentit aussi le développement d'une fibrose interstitielle au niveau rénal.

Il est cependant fortement probable que ce résultat dépende fortement de la durée d'ischémie. La durée de 32 minutes que nous avons choisie est considérée dans la littérature comme modérée, permettant à la fois d'évaluer la survie des animaux, la réparation tissulaire et le développement de la fibrose. Nous postulons que pour révéler un possible rôle de l'IL-33 dans la réparation tissulaire/fibrose, il serait nécessaire de tester des durées d'ischémie plus courtes, moins pro-inflammatoires. Par ailleurs, il paraît important d'examiner l'expression du récepteur ST2 à la surface des cellules intra-rénales impliquées dans les processus de fibrose et réparation tissulaires, à savoir les cellules tubulaires, les péricytes, les fibroblastes et aussi les macrophages M2. Une fois l'expression de ST2 mise en évidence, une modélisation *in vitro* permettrait de déterminer si ces cellules en réponse à l'IL-33 sont capables de sécréter les médiateurs impliqués dans la fibrose et/ou la réparation tissulaire, et si elles sont capables de suivre une transition épithélio-mésenchymateuse, laquelle est essentielle dans le maintien de l'homéostasie tissulaire après stress cellulaire.

5. L'IL-33, une cytokine en IR rénale ?

L'ensemble de nos données a montré une libération de l'IL-33 en tant qu'alarmine responsable de l'activation du système immunitaire inné et dont la conséquence est la genèse de lésions ischémiques précoces. Dans notre étude, nous n'avons cependant pas exploré l'IL-33 en tant que cytokine qui probablement relaie l'alarmine.

Néanmoins, nous avons noté dans nos analyses une activité transcriptionnelle du gène Il-33 qui débute après 3 heures de reperfusion et qui persiste à 6 à 24 heures (**Figure 32**) tandis qu'au bout de 7 à 30 jours, le stock protéique intra-rénal d'IL-33 est apparu entièrement régénéré dans les cellules interstitielles du rein (**Figure 33**).

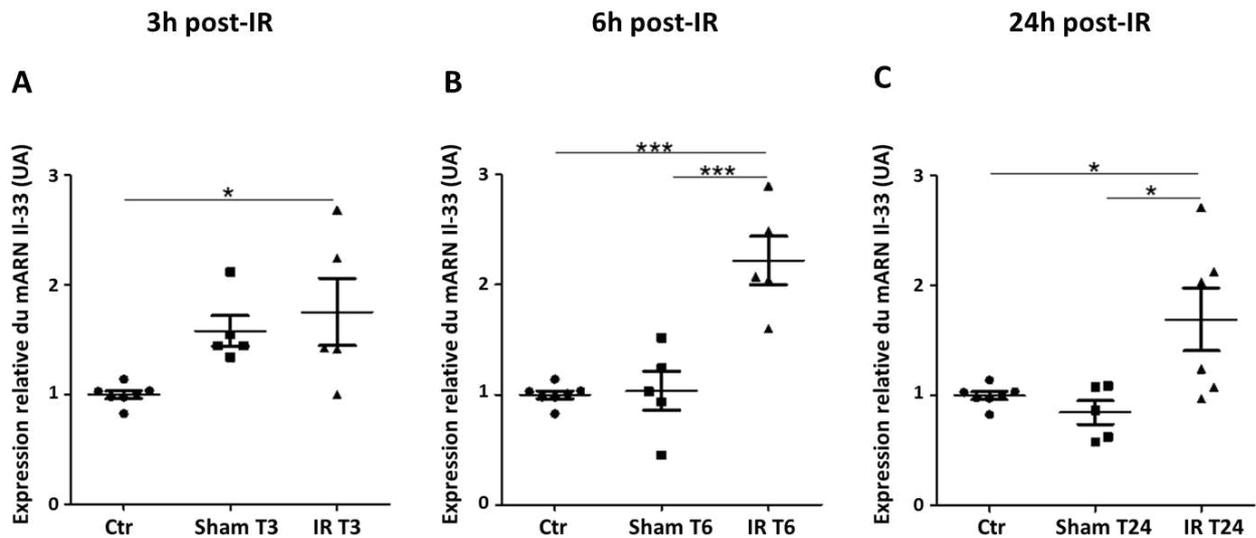


Figure 32 : Analyse des transcrits IL-33 après IR rénale chez la souris. Des reins contrôles ou ayant subi une séquence d'IR rénale (32 minutes) provenant de souris sauvages ont été broyés, leurs ARNm extraits puis analysés par RTqPCR à différents temps de reperfusion. La néosynthèse de l'IL-33 débute 3 heures après la séquence d'IR rénale (A) et se poursuit à 6 heures (B) et 24 heures post-IRI (C). Les souris Sham sont soumises à la même procédure chirurgicale à l'exception du clampage du pédicule rénal. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM (5/groupe). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du test One-way ANOVA. * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$.

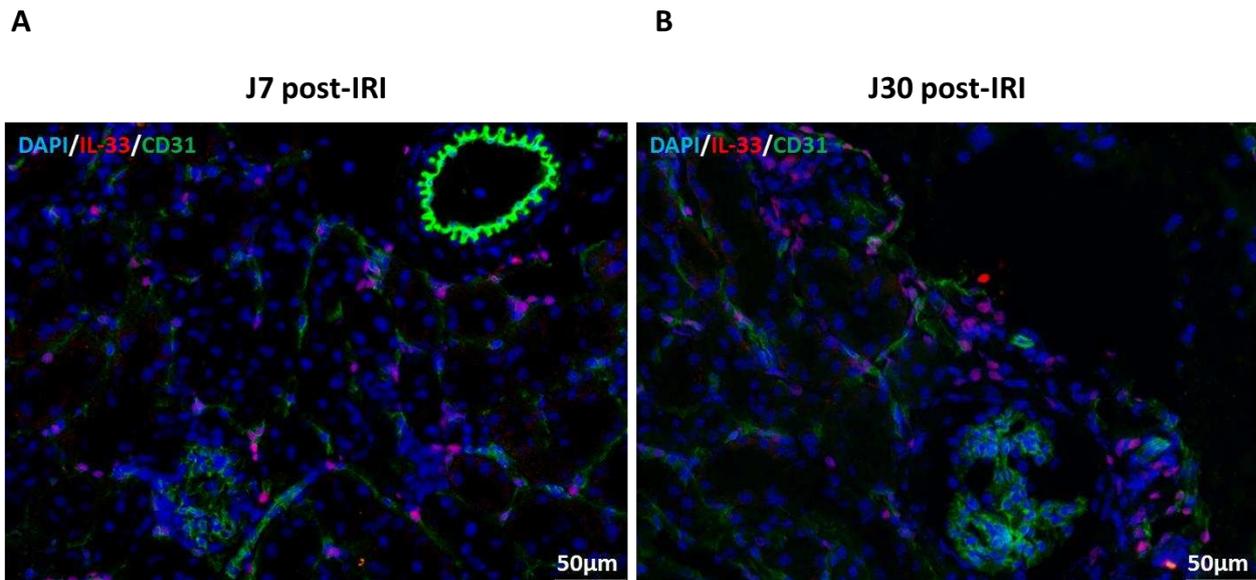


Figure 33 : Expression de l'IL-33 intra-rénale par immunofluorescence J7 et J30 après IR rénale chez la souris. Des reins provenant de souris ayant subi la séquence d'IR rénale ont été analysés par technique d'immunofluorescence. Le stock nucléaire d'IL-33 est restauré au niveau interstitiel au bout de 7 jours (A) et 30 jours (B) post-IRI. Observation de 3 souris/groupe. IL-33 (en rouge), marqueur endothélial CD31 (en vert) et marqueur DAPI des noyaux (en bleu).

D'après la littérature, c'est principalement au sein des cellules hématopoïétiques en situation inflammatoire, en particulier des monocytes/macrophages (Ohno et al., 2009), des DC (Yanagawa et al., 2011) ou des mastocytes (Shimokawa et al., 2017) que l'IL-33 est inductible, pouvant être néosynthétisée et agir de manière autocrine/paracrine comme une cytokine.

Il n'est pas documenté si les cellules hématopoïétiques CD45(+) en situation de stress ischémique constituent une source protéique importante d'IL-33 in vivo. Il serait de ce fait intéressant de rechercher si une expression inductible de l'IL-33 est retrouvée dans le système hématopoïétique rénal après IR chaude et d'identifier sa source cellulaire, ceci en prenant appui sur le système LacZ des souris IL-33^{Gt/Gt}.

Nous présumons que c'est à travers les mécanismes de réparation tissulaire et/ou de la mise en place de la fibrose interstitielle via ses fonctions immunorégulatrices que l'IL-33 pourrait agir comme une cytokine. En effet, en situation chronique d'inflammation pulmonaire induite par la bléomycine, il a été montré un rôle de l'IL-33 dans la polarisation M2 des macrophages et leur production d'IL-13 et de TGF- β . De plus, l'IL-33 semble induire l'expansion des ILC2 et la production d'IL-13 in vitro et in vivo (Li et al., 2014). Dans ce modèle, l'IL-33 a été identifiée comme cytokine impliquée dans l'initiation et la progression de la fibrose pulmonaire de manière dépendante de ST2 et des macrophages (Li et al., 2014). En tant que cytokines, l'IL-33 agirait aussi sur les populations de cellules Treg connues pour leur potentiel immunosuppresseur. Ainsi, dans un modèle animal d'inflammation du colon médié par *Helicobacter hepaticus*, l'IL-33 participe à la différenciation des cellules Treg CD4(+)ST2(+) du colon, au maintien de leur expression de FoxP3 mais aussi à leur homéostasie au niveau du site de l'inflammation, en présence de TGF- β in vitro et in vivo, contrôlant ainsi la réponse inflammatoire (Schiering et al., 2014). De plus, l'équipe de Turnquist a montré que les DC stimulées par la cytokine IL-33 sécrètent l'IL-2, participant ainsi à l'expansion sélective des cellules Treg CD4(+)FoxP3(+)ST2(+) suppressives (Matta et al., 2014).

Sur la base de ces données de la littérature, il serait donc intéressant de déterminer, dans notre situation expérimentale, si l'IL-33 participe au shift M1-M2 des macrophages, à la modulation des fonctions Treg après IR rénale et de rechercher la place des ILC2 dans notre modèle.

6. L'IL-33 comme cible thérapeutique en IR rénale associée à la transplantation

Nos résultats, en montrant une augmentation très rapide, dès 1 heure, de l'IL-33 dans le sang circulant des souris ayant subi une séquence d'IR rénale, font de l'IL-33 un candidat pertinent comme biomarqueur de la souffrance tissulaire induite par les séquences d'IR, lesquelles sont inhérentes à la transplantation d'organe.

6.1. L'IL-33, un potentiel biomarqueur en transplantation rénale chez l'homme ?

Nos données antérieures du laboratoire avec l'étude menée par Thierry et al., sur une cohorte de patient transplantés rénaux ont révélé des niveaux significativement élevés de HMGB1 et d'IL-33 dans les urines des patients au décours immédiat de la transplantation rénale (dès 3

heures). Cette augmentation dans les urines d'IL-33 qui était corrélée avec la durée d'ischémie froide suggère une libération par les greffons ayant subi les événements d'IR. Cette libération précoce de l'alarmine IL-33 s'accompagnait d'une augmentation sérique et urinaire de sST2 ainsi que d'une augmentation de l'activité transcriptionnelle du récepteur ST2L au sein des leucocytes périphériques. De manière intéressante, une activation rapide des cellules iNKT attestée par la surexpression du marqueur CD69, dès 3 heures après la transplantation rénale, a été observée suggérant une activation médiée par l'action de l'IL-33 sur les cellules iNKT (Thierry et al., 2014).

Ces données permettent d'entrevoir l'IL-33 comme un biomarqueur prédictif de l'atteinte rénale. Pour valider cette hypothèse il serait important de mettre en place une large étude prospective avec des biopsies, à un mois et à un an post-transplantation, et des dosages d'IL-33 dans les liquides biologiques dans le but de rechercher une corrélation entre la libération d'alarmine, la fonction rénale ainsi que la fibrose interstitielle. Cette étude pourrait confirmer ou non l'utilisation de l'IL-33 comme facteur pronostique de la reprise différée de fonction rénale.

6.2. Neutralisation de l'IL-33

L'ensemble de nos résultats nous permet d'envisager une perspective plus lointaine qui réside dans le développement de nouvelles approches thérapeutiques visant à moduler l'action des alarmines ou qui seront capables d'agir sur le système immunitaire pour atténuer les lésions d'IR rénale.

Notre démonstration de l'implication de la voie de signalisation IL-33/ST2 en IR rénale étant nouvelle, elle ne fait bien sûr pas encore l'objet d'essais thérapeutiques chez l'homme. Il est essentiel de valider le ciblage thérapeutique de cette voie dans des expériences utilisant des modèles animaux d'IR rénale. Prenons à titre d'exemple l'étude de Yin et al., dans laquelle l'injection chez la souris d'une molécule de fusion purifiée associe le sST2 et un fragment Fc d'une IgG1 humaine (sST2-Fc) avant la séquence d'IR hépatique. Ce traitement protège le foie des lésions d'IR (Yin et al., 2006). De la même manière, l'administration in vivo du sST2-Fc 10 minutes avant le déclampage de l'artère mésentérique dans un modèle murin d'IR intestinale, réduit les lésions histologiques et la production de TNF- α au niveau du tube digestif (Fagundes et al., 2007).

La protéine IL-33 peut également être inhibée par l'utilisation d'anticorps neutralisants. Ainsi, dans un modèle murin d'insuffisance hépatique induite par la concanavaline A, le blocage des fonctions biologiques de l'IL-33 par un anticorps polyclonal dirigé contre l'IL-33 inhibe l'activation des cellules iNKT (Chen et al., 2012).

De telles approches constituent une piste thérapeutique potentielle ciblant l'IR rénale qui mérite d'être entreprise.

6.3. Modélisation sur gros animal du rôle de l'IL-33 et IR rénale après transplantation d'organe

Les résultats prometteurs observés dans les études expérimentales d'IR rénale portant sur le petit animal restent peu transposables en clinique humaine. Ces études ne prennent pas en compte les animaux qui décèdent en cours d'opération, les problèmes d'alloréactivité conduisant aux rejets de greffe, ni même les facteurs liés à la mort encéphalique ou de co-morbidité du donneur de greffon. Dans ces modèles, l'absence d'ischémie froide et de traitements immunosuppresseurs constitue un autre problème rendant difficile la transposition en clinique chez l'homme. De plus, la disparité des systèmes immunitaires entre l'homme et la souris constitue une autre limite des modèles murins.

L'ensemble de ces contraintes vient renforcer l'idée de l'importance de la mise en place de modèles expérimentaux de greffe rénale utilisant le gros animal. Des modèles d'auto-transplantation rénale porcine existent et sont développés au sein de notre unité INSERM U1082.

Ces modèles permettraient d'étudier les variations d'expression intra-rénale de l'alarmine IL-33 et de son récepteur ainsi que l'infiltrat inflammatoire après reperfusion et de confirmer l'implication de l'axe IL-33/iNKT chez le porc. Nous pourrions envisager plusieurs travaux à partir de ces modèles d'auto-transplantation rénale comme l'analyse de la fréquence et du phénotype des cellules iNKT circulantes et recrutées dans le rein greffé ainsi que des dosages d'IL-33 dans ses formes circulante et urinaire à différents temps après IR. Ce dernier point nécessitera la mise en place et la validation de méthodes de dosage de l'IL-33 porcine.

Conclusion générale

Conclusion générale

La compréhension des mécanismes immunologiques intervenant au cours de l'IR rénale constitue un enjeu scientifique et thérapeutique important.

Pris dans leur ensemble, les résultats de ce travail de thèse permettent de mettre en avant le rôle essentiel de l'alarmine IL-33 dans l'activation et le recrutement des cellules du système immunitaire inné, en particulier des cellules iNKT au cours de l'IR rénale, et par voie de conséquence dans la genèse des lésions rénales post-ischémiques.

Ce travail, en contribuant ainsi à une meilleure compréhension des processus impliqués dans l'IR rénale, devrait aussi servir de base à de futures études précliniques de greffe rénale et in fine à la recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques visant à moduler les signaux de danger et leurs cellules immunitaires cibles dans le but d'améliorer la reprise de fonction et d'atténuer les lésions tissulaires après IR rénale, lesquelles sont susceptibles de déterminer la survie à long-terme du greffon.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abeyama, Kazuhiro, David M. Stern, Yuji Ito, Ko-ichi Kawahara, Yasushi Yoshimoto, Motoyuki Tanaka, Tomonori Uchimura, et al. 2005. « The N-Terminal Domain of Thrombomodulin Sequesters High-Mobility Group-B1 Protein, a Novel Antiinflammatory Mechanism ». *The Journal of Clinical Investigation* 115 (5): 1267-74. doi:10.1172/JCI22782.
- « Agence de la biomédecine - Le rapport annuel médical et scientifique 2015 ». 2017. Consulté le avril 11. <https://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2015/donnees/organes/06-rein/synthese.htm>.
- Abou Ayach R et Robert R. Insuffisance rénale aiguë. Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Elsevier SAS, Paris), Anesthésie-Réanimation, 36-920-A-10,2003, 14p.
- Agrati, C., F. Martini, C. Nisii, A. Oliva, G. D'Offizi, P. Narciso, R. Nardacci, et al. 2005. « CD1d Expression by Hepatocytes Is a Main Restriction Element for Intrahepatic T-Cell Recognition ». *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents* 19 (1-2): 41-48.
- Agresti, Alessandra, Rossella Lupo, Marco E. Bianchi, et Susanne Müller. 2003. « HMGB1 Interacts Differentially with Members of the Rel Family of Transcription Factors ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 302 (2): 421-26.
- Akçay, Ali, Quocan Nguyen, Zhibin He, Kultigin Turkmen, Dong Won Lee, Ana Andres Hernando, Christopher Altmann, et al. 2011. « IL-33 Exacerbates Acute Kidney Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology* 22 (11): 2057-67. doi:10.1681/ASN.2010091011.
- Ali, Shafaqat, Antje Mohs, Meike Thomas, Jan Klare, Ralf Ross, Michael Lienhard Schmitz, et Michael Uwe Martin. 2011. « The Dual Function Cytokine IL-33 Interacts with the Transcription Factor NF- κ B to Dampen NF- κ B-Stimulated Gene Transcription ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 187 (4): 1609-16. doi:10.4049/jimmunol.1003080.
- Allam, Ramanjaneyulu, Christina Rebecca Scherbaum, Murthy Narayana Darisipudi, Shrikant R. Mulay, Holger Hägele, Julia Lichtnekert, Jan Henrik Hagemann, et al. 2012. « Histones from Dying Renal Cells Aggravate Kidney Injury via TLR2 and TLR4 ». *Journal of the American Society of Nephrology*, juin, ASN.2011111077. doi:10.1681/ASN.2011111077.
- Amrouche, Lucile, Geoffroy Desbuissons, Marion Rabant, Virginia Sauvaget, Clément Nguyen, Aurélien Benon, Pauline Barre, et al. 2017. « MicroRNA-146a in Human and Experimental Ischemic AKI: CXCL8-Dependent Mechanism of Action ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 28 (2): 479-93. doi:10.1681/ASN.2016010045.
- Anders, Hans-Joachim. 2016. « Of Inflammasomes and Alarmins: IL-1 β and IL-1 α in Kidney Disease ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 27 (9): 2564-75. doi:10.1681/ASN.2016020177.
- Angénieux, Catherine, J. Salamero, Dominique Fricker, Jean-Pierre Cazenave, Bruno Goud, Daniel Hanau, et Henri de la Salle. 2000. « Characterization of CD1e, a Third Type of CD1 Molecule Expressed in Dendritic Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 275 (48): 37757-64. doi:10.1074/jbc.M007082200.
- Arase, H., N. Arase, K. Nakagawa, R. A. Good, et K. Onoé. 1993. « NK1.1+ CD4+ CD8- Thymocytes with Specific Lymphokine Secretion ». *European Journal of Immunology* 23 (1): 307-10. doi:10.1002/eji.1830230151.
- Arase, H., N. Arase, K. Ogasawara, R. A. Good, et K. Onoé. 1992. « An NK1.1+ CD4+8- Single-Positive Thymocyte Subpopulation That Expresses a Highly Skewed T-Cell Antigen Receptor V Beta Family ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89 (14): 6506-10.

- Armulik, Annika, Alexandra Abramsson, et Christer Betsholtz. 2005. « Endothelial/Pericyte Interactions ». *Circulation Research* 97 (6): 512-23. doi:10.1161/01.RES.0000182903.16652.d7.
- Arshad, Muhammad Imran, Hilal Ahmad Khan, Gregory Noel, Claire Piquet-Pellorce, et Michel Samson. 2016. « Potential Therapeutic Aspects of Alarmin Cytokine Interleukin 33 or Its Inhibitors in Various Diseases ». *Clinical Therapeutics* 38 (5): 1000-1016.e1. doi:10.1016/j.clinthera.2016.02.021.
- Ascon, Dolores B., Miguel Ascon, Shailesh Satpute, Sergio Lopez-Briones, Lorraine Racusen, Robert B. Colvin, Mark J. Soloski, et Hamid Rabb. 2008. « Normal Mouse Kidneys Contain Activated and CD3+CD4-CD8- Double-Negative T Lymphocytes with a Distinct TCR Repertoire ». *Journal of Leukocyte Biology* 84 (6): 1400. doi:10.1189/jlb.0907651.
- Ascon, Dolores B., Sergio Lopez-Briones, Manchang Liu, Miguel Ascon, Vladimir Savransky, Robert B. Colvin, Mark J. Soloski, et Hamid Rabb. 2006. « Phenotypic and Functional Characterization of Kidney-Infiltrating Lymphocytes in Renal Ischemia Reperfusion Injury ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 177 (5): 3380-87.
- Ascon, Miguel, Dolores B. Ascon, Manchang Liu, Chris Cheadle, Chaitali Sarkar, Lorraine Racusen, Heitham T. Hassoun, et Hamid Rabb. 2009. « Renal Ischemia-Reperfusion Leads to Long Term Infiltration of Activated and Effector-Memory T Lymphocytes ». *Kidney International* 75 (5): 526-35. doi:10.1038/ki.2008.602.
- Asea, Alexander, Michael Rehli, Edith Kabingu, Jason A. Boch, Olivia Bare, Philip E. Auron, Mary Ann Stevenson, et Stuart K. Calderwood. 2002. « Novel Signal Transduction Pathway Utilized by Extracellular HSP70: Role of Toll-like Receptor (TLR) 2 and TLR4 ». *The Journal of Biological Chemistry* 277 (17): 15028-34. doi:10.1074/jbc.M200497200.
- Aspeshlagh, Sandrine, Yali Li, Esther Dawen Yu, Nora Pauwels, Matthias Trappeniers, Enrico Girardi, Tine Decruy, et al. 2011. « Galactose-Modified INKT Cell Agonists Stabilized by an Induced Fit of CD1d Prevent Tumour Metastasis ». *The EMBO Journal* 30 (11): 2294-2305. doi:10.1038/emboj.2011.145.
- Baekkevold, Espen S., Myriam Roussigné, Takeshi Yamanaka, Finn-Eirik Johansen, Frode L. Jahnsen, François Amalric, Per Brandtzaeg, Monique Erard, Guttorm Haraldsen, et Jean-Philippe Girard. 2003. « Molecular Characterization of NF-HEV, a Nuclear Factor Preferentially Expressed in Human High Endothelial Venules ». *The American Journal of Pathology* 163 (1): 69-79. doi:10.1016/S0002-9440(10)63631-0.
- Baev, Denis V., Xiao-Hui Peng, Liping Song, Jerry R. Barnhart, Gay M. Crooks, Kenneth I. Weinberg, et Leonid S. Metelitsa. 2004. « Distinct Homeostatic Requirements of CD4+ and CD4- Subsets of Valpha24-Invariant Natural Killer T Cells in Humans ». *Blood* 104 (13): 4150-56. doi:10.1182/blood-2004-04-1629.
- Bajwa, Amandeep, Liping Huang, Hong Ye, Krishna Dondeti, Steven Song, Diane L. Rosin, Kevin R. Lynch, Peter I. Lobo, Li Li, et Mark D. Okusa. 2012. « Dendritic Cell Sphingosine 1-Phosphate Receptor-3 Regulates Th1-Th2 Polarity in Kidney Ischemia-Reperfusion Injury ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 189 (5): 2584-96. doi:10.4049/jimmunol.1200999.
- Bao, Yu-Shi, Shi-Ping Na, Ping Zhang, Xi-Bei Jia, Rui-Chan Liu, Cheng-Yuan Yu, Su-Hong Mu, et Ru-Juan Xie. 2012. « Characterization of Interleukin-33 and Soluble ST2 in Serum and Their Association with Disease Severity in Patients with Chronic Kidney Disease ». *Journal of Clinical Immunology* 32 (3): 587-94. doi:10.1007/s10875-011-9622-7.
- Barbarin, Alice, Emilie Cayssials, Florence Jacomet, Nicolas Gonzalo Nunez, Sara Basbous, Lucie Lefèvre, Myriam Abdallah, et al. 2017. « Phenotype of NK-Like CD8(+) T Cells

- with Innate Features in Humans and Their Relevance in Cancer Diseases ». *Frontiers in Immunology* 8: 316. doi:10.3389/fimmu.2017.00316.
- Basile, D. P., D. Donohoe, K. Roethe, et J. L. Osborn. 2001. « Renal Ischemic Injury Results in Permanent Damage to Peritubular Capillaries and Influences Long-Term Function ». *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 281 (5): F887-899.
- Bassiri, Hamid, Rupali Das, Peng Guan, David M. Barrett, Patrick J. Brennan, Pinaki P. Banerjee, Susan J. Wiener, et al. 2014. « iNKT cell cytotoxic responses control T-lymphoma growth in vitro and in vivo ». *Cancer immunology research* 2 (1): 59-69. doi:10.1158/2326-6066.CIR-13-0104.
- Baumann, Claudia, Weldy V. Bonilla, Anja Fröhlich, Caroline Helmstetter, Michael Peine, Ahmed N. Hegazy, Daniel D. Pinschewer, et Max Löhning. 2015. « T-Bet- and STAT4-Dependent IL-33 Receptor Expression Directly Promotes Antiviral Th1 Cell Responses ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (13): 4056-61. doi:10.1073/pnas.1418549112.
- B'chir, Wafa, Anne-Catherine Maurin, Valérie Carraro, Julien Averous, Céline Jousse, Yuki Muranishi, Laurent Parry, Georges Stepien, Pierre Fafournoux, et Alain Bruhat. 2013. « The EIF2 α /ATF4 Pathway Is Essential for Stress-Induced Autophagy Gene Expression ». *Nucleic Acids Research* 41 (16): 7683-99. doi:10.1093/nar/gkt563.
- Bendelac, A. 1995. « Positive Selection of Mouse NK1+ T Cells by CD1-Expressing Cortical Thymocytes ». *The Journal of Experimental Medicine* 182 (6): 2091-96.
- Bendelac, A., R. D. Hunziker, et O. Lantz. 1996. « Increased Interleukin 4 and Immunoglobulin E Production in Transgenic Mice Overexpressing NK1 T Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 184 (4): 1285-93.
- Bendelac, A., M. N. Rivera, S. H. Park, et J. H. Roark. 1997. « Mouse CD1-Specific NK1 T Cells: Development, Specificity, and Function ». *Annual Review of Immunology* 15: 535-62. doi:10.1146/annurev.immunol.15.1.535.
- Bendelac, Albert, Paul B. Savage, et Luc Teyton. 2007. « The Biology of NKT Cells ». *Annual Review of Immunology* 25: 297-336. doi:10.1146/annurev.immunol.25.022106.141711.
- Benlagha, Kamel, Tim Kyin, Andrew Beavis, Luc Teyton, et Albert Bendelac. 2002. « A Thymic Precursor to the NK T Cell Lineage ». *Science (New York, N.Y.)* 296 (5567): 553-55.
- Benlagha, Kamel, Datsen G. Wei, Joel Veiga, Luc Teyton, et Albert Bendelac. 2005. « Characterization of the early stages of thymic NKT cell development ». *The Journal of Experimental Medicine* 202 (4): 485-92. doi:10.1084/jem.20050456.
- Bertram, John F., Rebecca N. Douglas-Denton, Boucar Diouf, Michael D. Hughson, et Wendy E. Hoy. 2011. « Human Nephron Number: Implications for Health and Disease ». *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)* 26 (9): 1529-33. doi:10.1007/s00467-011-1843-8.
- Berzins, Stuart P., Andrew D. Cochrane, Daniel G. Pellicci, Mark J. Smyth, et Dale I. Godfrey. 2005. « Limited Correlation between Human Thymus and Blood NKT Cell Content Revealed by an Ontogeny Study of Paired Tissue Samples ». *European Journal of Immunology* 35 (5): 1399-1407. doi:10.1002/eji.200425958.
- Berzins, Stuart P., Mark J. Smyth, et Alan G. Baxter. 2011. « Presumed Guilty: Natural Killer T Cell Defects and Human Disease ». *Nature Reviews. Immunology* 11 (2): 131-42. doi:10.1038/nri2904.
- Bessa, Juliana, Claas Aiko Meyer, Maria Cristina de Vera Mudry, Sonja Schlicht, Susan H. Smith, Antonio Iglesias, et Javier Cote-Sierra. 2014. « Altered Subcellular Localization of IL-33 Leads to Non-Resolving Lethal Inflammation ». *Journal of Autoimmunity* 55 (décembre): 33-41. doi:10.1016/j.jaut.2014.02.012.
- Bezradica, Jelena S., Timothy Hill, Aleksandar K. Stanic, Luc Van Kaer, et Sebastian Joyce. 2005. « Commitment toward the Natural T (iNKT) Cell Lineage Occurs at the CD4+8+

- Stage of Thymic Ontogeny ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (14): 5114-19. doi:10.1073/pnas.0408449102.
- Bianchi, Marco E. 2007. « DAMPs, PAMPs and Alarmins: All We Need to Know about Danger ». *Journal of Leukocyte Biology* 81 (1): 1-5. doi:10.1189/jlb.0306164.
- Bianchi, 2009. « HMGB1 Loves Company ». *Journal of Leukocyte Biology* 86 (3): 573-76. doi:10.1189/jlb.1008585.
- Bierhaus, Angelika, Per M. Humpert, Michael Morcos, Thoralf Wendt, Triantafyllos Chavakis, Bernd Arnold, David M. Stern, et Peter P. Nawroth. 2005. « Understanding RAGE, the Receptor for Advanced Glycation End Products ». *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)* 83 (11): 876-86. doi:10.1007/s00109-005-0688-7.
- Bonaldi, Tiziana, Fabio Talamo, Paola Scaffidi, Denise Ferrera, Annalisa Porto, Angela Bachi, Anna Rubartelli, Alessandra Agresti, et Marco E. Bianchi. 2003. « Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion ». *The EMBO Journal* 22 (20): 5551-60. doi:10.1093/emboj/cdg516.
- Bonventre, Joseph V., et Li Yang. 2011. « Cellular Pathophysiology of Ischemic Acute Kidney Injury ». *The Journal of Clinical Investigation* 121 (11): 4210-21. doi:10.1172/JCI45161.
- Bourgeois, Elvire A., Anaïs Levescot, Séverine Diem, Angélique Chauvineau, Hortense Bergès, Pierre Milpied, Agnès Lehen, et al. 2011. « A Natural Protective Function of Invariant NKT Cells in a Mouse Model of Innate-Cell-Driven Lung Inflammation ». *European Journal of Immunology* 41 (2): 299-305. doi:10.1002/eji.201040647.
- Bourgeois, Elvire, Linh Pham Van, Michel Samson, Séverine Diem, Anne Barra, Stéphane Roga, Jean-Marc Gombert, et al. 2009. « The Pro-Th2 Cytokine IL-33 Directly Interacts with Invariant NKT and NK Cells to Induce IFN-Gamma Production ». *European Journal of Immunology* 39 (4): 1046-55. doi:10.1002/eji.200838575.
- Brennan, Patrick J., Manfred Brigl, et Michael B. Brenner. 2013. « Invariant Natural Killer T Cells: An Innate Activation Scheme Linked to Diverse Effector Functions ». *Nature Reviews. Immunology* 13 (2): 101-17. doi:10.1038/nri3369.
- Brigl, Manfred, et Michael B. Brenner. 2004. « CD1: Antigen Presentation and T Cell Function ». *Annual Review of Immunology* 22: 817-90. doi:10.1146/annurev.immunol.22.012703.104608.
- Brigl, Manfred, et Michael B. Brenner. 2010. « How Invariant Natural Killer T Cells Respond to Infection by Recognizing Microbial or Endogenous Lipid Antigens ». *Seminars in Immunology* 22 (2): 79-86. doi:10.1016/j.smim.2009.10.006.
- Brigl, Manfred, Lynn Bry, Sally C. Kent, Jenny E. Gumperz, et Michael B. Brenner. 2003. « Mechanism of CD1d-Restricted Natural Killer T Cell Activation during Microbial Infection ». *Nature Immunology* 4 (12): 1230-37. doi:10.1038/ni1002.
- Brigl, Manfred, Raju V. V. Tatituri, Gerald F. M. Watts, Veemal Bhowruth, Elizabeth A. Leadbetter, Nathaniel Barton, Nadia R. Cohen, Fong-Fu Hsu, Gurdyal S. Besra, et Michael B. Brenner. 2011. « Innate and Cytokine-Driven Signals, Rather than Microbial Antigens, Dominate in Natural Killer T Cell Activation during Microbial Infection ». *The Journal of Experimental Medicine* 208 (6): 1163-77. doi:10.1084/jem.20102555.
- Brodsky, Sergey V., Tokunori Yamamoto, Tetsuhiro Tada, Byungsoo Kim, Jun Chen, Fumihiko Kajiya, et Michael S. Goligorsky. 2002. « Endothelial Dysfunction in Ischemic Acute Renal Failure: Rescue by Transplanted Endothelial Cells ». *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 282 (6): F1140-1149. doi:10.1152/ajprenal.00329.2001.
- Brooks, Craig R., et Joseph V. Bonventre. 2015. « KIM-1/TIM-1 in proximal tubular cell immune response ». *Oncotarget* 6 (42): 44059-60.

- Brooks, E. G., S. P. Balk, K. Aupeix, M. Colonna, J. L. Strominger, et V. Groh-Spies. 1993. « Human T-Cell Receptor (TCR) Alpha/Beta + CD4-CD8- T Cells Express Oligoclonal TCRs, Share Junctional Motifs across TCR V Beta-Gene Families, and Phenotypically Resemble Memory T Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (24): 11787-91.
- Brozovic, Suzana, Takashi Nagaishi, Masaru Yoshida, Stephanie Betz, Azucena Salas, Daohong Chen, Arthur Kaser, et al. 2004. « CD1d Function Is Regulated by Microsomal Triglyceride Transfer Protein ». *Nature Medicine* 10 (5): 535-39. doi:10.1038/nm1043.
- Bruchfeld, Annette, Abdul Rashid Qureshi, Bengt Lindholm, Peter Barany, Lihong Yang, Peter Stenvinkel, et Kevin J. Tracey. 2008. « High Mobility Group Box Protein-1 Correlates with Renal Function in Chronic Kidney Disease (CKD) ». *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)* 14 (3-4): 109-15. doi:10.2119/2007-00107.Bruchfeld.
- Bruneau, Sarah, Ludmilla Le Berre, Caroline Hervé, Asta Valanciuté, Maud Kamal, Jeanne Naulet, Laurent Tesson, et al. 2009. « Potential Role of Soluble ST2 Protein in Idiopathic Nephrotic Syndrome Recurrence Following Kidney Transplantation ». *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation* 54 (3): 522-32. doi:10.1053/j.ajkd.2009.03.021.
- Brutkiewicz, R. R., J. R. Bennink, J. W. Yewdell, et A. Bendelac. 1995. « TAP-Independent, Beta 2-Microglobulin-Dependent Surface Expression of Functional Mouse CD1.1 ». *The Journal of Experimental Medicine* 182 (6): 1913-19.
- Buchner, J. 1996. « Supervising the Fold: Functional Principles of Molecular Chaperones ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 10 (1): 10-19.
- Buck, Amy H., Gillian Coakley, Fabio Simbari, Henry J. McSorley, Juan F. Quintana, Thierry Le Bihan, Sujai Kumar, et al. 2014. « Exosomes Secreted by Nematode Parasites Transfer Small RNAs to Mammalian Cells and Modulate Innate Immunity ». *Nature Communications* 5 (novembre): 5488. doi:10.1038/ncomms6488.
- Budd, R. C., G. C. Miescher, R. C. Howe, R. K. Lees, C. Bron, et H. R. MacDonald. 1987. « Developmentally Regulated Expression of T Cell Receptor Beta Chain Variable Domains in Immature Thymocytes ». *The Journal of Experimental Medicine* 166 (2): 577-82.
- Bulek, Katarzyna, Shadi Swaidani, Jinzhong Qin, Yi Lu, Muhammet F. Gulen, Tomasz Herjan, Booki Min, et al. 2009. « The Essential Role of Single Ig IL-1 Receptor-Related Molecule/Toll IL-1R8 in Regulation of Th2 Immune Response ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 182 (5): 2601-9. doi:10.4049/jimmunol.0802729.
- Burne, Melissa J., Asmaa Elghandour, Mahmud Haq, Sabiha R. Saba, James Norman, Thomas Condon, Frank Bennett, et Hamid Rabb. 2001. « IL-1 and TNF Independent Pathways Mediate ICAM-1/VCAM-1 up-Regulation in Ischemia Reperfusion Injury ». *Journal of Leukocyte Biology* 70 (2): 192-98.
- Burne-Taney, Melissa J., Dolores B. Ascon, Frank Daniels, Lorraine Racusen, William Baldwin, et Hamid Rabb. 2003. « B Cell Deficiency Confers Protection from Renal Ischemia Reperfusion Injury ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 171 (6): 3210-15.
- Burzyn, Dalia, Wilson Kuswanto, Dmitriy Kolodin, Jennifer L. Shadrach, Massimiliano Cerletti, Young Jang, Esen Sefik, et al. 2013. « A Special Population of Regulatory T Cells Potentiates Muscle Repair ». *Cell* 155 (6): 1282-95. doi:10.1016/j.cell.2013.10.054.
- Canchis, P. W., A. K. Bhan, S. B. Landau, L. Yang, S. P. Balk, et R. S. Blumberg. 1993. « Tissue Distribution of the Non-Polymorphic Major Histocompatibility Complex Class I-like Molecule, CD1d ». *Immunology* 80 (4): 561-65.

- Caner, Sedat, Celil Alper Usluoğulları, Fevzi Balkan, Fatih Büyükcım, Cafer Kaya, Muhammed Saçıkara, Cemile Koca, Reyhan Ersoy, et Bekir Çakır. 2014. « Is IL-33 Useful to Detect Early Stage of Renal Failure? » *Renal Failure* 36 (1): 78-80. doi:10.3109/0886022X.2013.832313.
- Cao, Qi, Changqi Wang, Dong Zheng, Ya Wang, Vincent W. S. Lee, Yuan Min Wang, Guoping Zheng, et al. 2011. « IL-25 Induces M2 Macrophages and Reduces Renal Injury in Proteinuric Kidney Disease ». *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 22 (7): 1229-39. doi:10.1681/ASN.2010070693.
- Cao, Qi, Yiping Wang, Dong Zheng, Yan Sun, Ya Wang, Vincent W.S. Lee, Guoping Zheng, et al. 2010. « IL-10/TGF- β -Modified Macrophages Induce Regulatory T Cells and Protect against Adriamycin Nephrosis ». *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 21 (6): 933-42. doi:10.1681/ASN.2009060592.
- Carnaud, C., D. Lee, O. Donnars, S. H. Park, A. Beavis, Y. Koezuka, et A. Bendelac. 1999. « Cutting Edge: Cross-Talk between Cells of the Innate Immune System: NKT Cells Rapidly Activate NK Cells ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 163 (9): 4647-50.
- Carreño, Leandro J, Noemí A Saavedra-Ávila, et Steven A Porcelli. 2016. « Synthetic glycolipid activators of natural killer T cells as immunotherapeutic agents ». *Clinical & Translational Immunology* 5 (4): e69. doi:10.1038/cti.2016.14.
- Carriere, Virginie, Lucie Roussel, Nathalie Ortega, Delphine-Armelle Lacorre, Laure Americh, Luc Aguilar, Gérard Bouche, et Jean-Philippe Girard. 2007. « IL-33, the IL-1-like Cytokine Ligand for ST2 Receptor, Is a Chromatin-Associated Nuclear Factor in Vivo ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (1): 282-87. doi:10.1073/pnas.0606854104.
- Casellas, D., et A. Mimran. 1981. « Shunting in Renal Microvasculature of the Rat: A Scanning Electron Microscopic Study of Corrosion Casts ». *The Anatomical Record* 201 (2): 237-48. doi:10.1002/ar.1092010204.
- Cayrol, Corinne, et Jean-Philippe Girard. 2009. « The IL-1-like Cytokine IL-33 Is Inactivated after Maturation by Caspase-1 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (22): 9021-26. doi:10.1073/pnas.0812690106.
- Cayrol, Corinne, et Jean-Philippe Girard. 2014. « IL-33: An Alarmin Cytokine with Crucial Roles in Innate Immunity, Inflammation and Allergy ». *Current Opinion in Immunology* 31 (décembre): 31-37. doi:10.1016/j.coi.2014.09.004.
- Ceredig, R., F. Lynch, et P. Newman. 1987. « Phenotypic Properties, Interleukin 2 Production, and Developmental Origin of a "Mature" Subpopulation of Lyt-2- L3T4- Mouse Thymocytes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84 (23): 8578-82.
- Cerwenka, Adelheid, Jürgen Kopitz, Peter Schirmacher, Wilfried Roth, et Georg Gdynia. 2016. « HMGB1: The metabolic weapon in the arsenal of NK cells ». *Molecular & Cellular Oncology* 3 (4). doi:10.1080/23723556.2016.1175538.
- Chang, Peh-Ping, Patricia Barral, Jessica Fitch, Alvin Pratama, Cindy S. Ma, Axel Kallies, Jennifer J. Hogan, et al. 2011. « Identification of Bcl-6-Dependent Follicular Helper NKT Cells That Provide Cognate Help for B Cell Responses ». *Nature Immunology* 13 (1): 35-43. doi:10.1038/ni.2166.
- Chen, Grace Y., et Gabriel Nuñez. 2010. « Sterile Inflammation: Sensing and Reacting to Damage ». *Nature Reviews. Immunology* 10 (12): 826-37. doi:10.1038/nri2873.
- Chen, Hsin-Hung, Pei-Jung Lu, Bo-Ron Chen, Michael Hsiao, Wen-Yu Ho, et Ching-Jiunn Tseng. 2015. « Heme Oxygenase-1 Ameliorates Kidney Ischemia-Reperfusion Injury in Mice through Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2-Enhanced Tubular Epithelium

- Proliferation ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1852 (10 Pt A): 2195-2201.
doi:10.1016/j.bbadis.2015.07.018.
- Chen, Jianlin, Reji John, James A. Richardson, John M. Shelton, Xin J. Zhou, Yanxia Wang, Qing Qing Wu, John R. Hartono, Pamela D. Winterberg, et Christopher Y. Lu. 2011. « Toll-like Receptor 4 Regulates Early Endothelial Activation during Ischemic Acute Kidney Injury ». *Kidney International* 79 (3): 288-99. doi:10.1038/ki.2010.381.
- Chen, Jie, Lihua Duan, Ali Xiong, Hongwei Zhang, Fang Zheng, Zheng Tan, Feili Gong, et Min Fang. 2012. « Blockade of IL-33 Ameliorates Con A-Induced Hepatic Injury by Reducing NKT Cell Activation and IFN- γ Production in Mice ». *Journal of Molecular Medicine* 90 (12): 1505-15. doi:10.1007/s00109-012-0938-4.
- Chen, Man, Yao Liu, Patrick Varley, Ying Chang, Xing-xing He, Hai Huang, Daolin Tang, Michael T. Lotze, Jusheng Lin, et Allan Tsung. 2015. « High mobility group box-1 promotes hepatocellular carcinoma progression through miR-21-mediated matrix metalloproteinase activity ». *Cancer research* 75 (8): 1645-56. doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-2147.
- Chen, Ruochan, Wen Hou, Qihong Zhang, Rui Kang, Xue-Gong Fan, et Daolin Tang. 2013. « Emerging Role of High-Mobility Group Box 1 (HMGB1) in Liver Diseases ». *Molecular Medicine* 19 (1): 357-66. doi:10.2119/molmed.2013.00099.
- Chen, Shasha, Chenxu Cai, Zehua Li, Guangao Liu, Yuande Wang, Marzenna Blonska, Dan Li, et al. 2017. « Dissection of SAP-Dependent and SAP-Independent SLAM Family Signaling in NKT Cell Development and Humoral Immunity ». *Journal of Experimental Medicine* 214 (2): 475-89. doi:10.1084/jem.20161312.
- Chen, W., U. Syldath, K. Bellmann, V. Burkart, et H. Kolb. 1999. « Human 60-KDa Heat-Shock Protein: A Danger Signal to the Innate Immune System ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 162 (6): 3212-19.
- Chen, Wei-Yu, Ya-Jen Chang, Chia-Hao Su, Tzu-Hsien Tsai, Shang-Der Chen, Chung-Hsi Hsing, et Jenq-Lin Yang. 2016. « Upregulation of Interleukin-33 in Obstructive Renal Injury ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 473 (4): 1026-32. doi:10.1016/j.bbrc.2016.04.010.
- Chen, Wei-Yu, Jaewoo Hong, Joseph Gannon, Rahul Kakkar, et Richard T. Lee. 2015. « Myocardial Pressure Overload Induces Systemic Inflammation through Endothelial Cell IL-33 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (23): 7249-54. doi:10.1073/pnas.1424236112.
- Chen, Wei-Yu, Lung-Chih Li, et Jenq-Lin Yang. 2017. « Emerging Roles of IL-33/ST2 Axis in Renal Diseases ». *International Journal of Molecular Sciences* 18 (4). doi:10.3390/ijms18040783.
- Chen, Yi-Ting, Fan-Chi Chang, Ching-Fang Wu, Yu-Hsiang Chou, Huan-Lun Hsu, Wen-Chih Chiang, Juqun Shen, et al. 2011. « Platelet-Derived Growth Factor Receptor Signaling Activates Pericyte-Myofibroblast Transition in Obstructive and Post-Ischemic Kidney Fibrosis ». *Kidney International* 80 (11): 1170-81. doi:10.1038/ki.2011.208.
- Cho, Won Yong, Hye Min Choi, So Young Lee, Myung Gyu Kim, Hyoung-Kyu Kim, et Sang-Kyung Jo. 2010. « The Role of Tregs and CD11c(+) Macrophages/Dendritic Cells in Ischemic Preconditioning of the Kidney ». *Kidney International* 78 (10): 981-92. doi:10.1038/ki.2010.266.
- Choi, Hoon Young, Sung Jin Moon, Brian B. Ratliff, Sun Hee Ahn, Ara Jung, Mirae Lee, Seol Lee, et al. 2014. « Microparticles from Kidney-Derived Mesenchymal Stem Cells Act as Carriers of Proangiogenic Signals and Contribute to Recovery from Acute Kidney Injury ». *PLoS One* 9 (2): e87853. doi:10.1371/journal.pone.0087853.

- Choi, Yeon-Sook, Hyun-Jung Choi, Jeong-Ki Min, Bo-Jeong Pyun, Yong-Sun Maeng, Hongryeol Park, Jihye Kim, Young-Myeong Kim, et Young-Guen Kwon. 2009. « Interleukin-33 Induces Angiogenesis and Vascular Permeability through ST2/TRAF6-Mediated Endothelial Nitric Oxide Production ». *Blood* 114 (14): 3117-26. doi:10.1182/blood-2009-02-203372.
- Chun, Taehoon, Michael J. Page, Laurent Gapin, Jennifer L. Matsuda, Honglin Xu, Hanh Nguyen, Hyung-Sik Kang, et al. 2003. « CD1d-Expressing Dendritic Cells but Not Thymic Epithelial Cells Can Mediate Negative Selection of NKT Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 197 (7): 907-18. doi:10.1084/jem.20021366.
- Chung, Arthur C. K., et Hui Y. Lan. 2011. « Chemokines in Renal Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology* 22 (5): 802-9. doi:10.1681/ASN.2010050510.
- Cohen, E. Suzanne, Ian C. Scott, Jayesh B. Majithiya, Laura Rapley, Benjamin P. Kemp, Elizabeth England, D. Gareth Rees, et al. 2015. « Oxidation of the Alarmin IL-33 Regulates ST2-Dependent Inflammation ». *Nature Communications* 6 (septembre): 8327. doi:10.1038/ncomms9327.
- Conde, Elisa, Sara Giménez-Moyano, Laura Martín-Gómez, Macarena Rodríguez, M. Edurne Ramos, Elia Aguado-Fraile, Ignacio Blanco-Sanchez, Ana Saiz, et María Laura García-Bermejo. 2017. « HIF-1 α induction during reperfusion avoids maladaptive repair after renal ischemia/reperfusion involving miR127-3p ». *Scientific Reports* 7 (janvier). doi:10.1038/srep41099.
- Constantinides, Michael G., et Albert Bendelac. 2013. « Transcriptional regulation of the NKT cell lineage ». *Current opinion in immunology* 25 (2): 161-67. doi:10.1016/j.coi.2013.01.003.
- Crawford, C., T. M. Kennedy-Lydon, H. Callaghan, C. Sprott, R. L. Simmons, L. Sawbridge, H. M. Syme, R. J. Unwin, S. S. P. Wildman, et C. M. Peppiatt-Wildman. 2011. « Extracellular Nucleotides Affect Pericyte-Mediated Regulation of Rat in Situ Vasa Recta Diameter ». *Acta Physiologica (Oxford, England)* 202 (3): 241-51. doi:10.1111/j.1748-1716.2011.02310.x.
- Creagh, Emma M., Helen Conroy, et Seamus J. Martin. 2003. « Caspase-Activation Pathways in Apoptosis and Immunity ». *Immunological Reviews* 193 (juin): 10-21.
- Cullen, Robyn, Elitza Germanov, Takeshi Shimaoka, et Brent Johnston. 2009. « Enhanced Tumor Metastasis in Response to Blockade of the Chemokine Receptor CXCR6 Is Overcome by NKT Cell Activation ». *The Journal of Immunology* 183 (9): 5807-15. doi:10.4049/jimmunol.0803520.
- Das, Rupali, Derek B. Sant'Angelo, et Kim E. Nichols. 2010. « Transcriptional Control of Invariant NKT Cell Development ». *Immunological Reviews* 238 (1): 195-215. doi:10.1111/j.1600-065X.2010.00962.x.
- Dascher, Christopher C., et Michael B. Brenner. 2003. « Evolutionary Constraints on CD1 Structure: Insights from Comparative Genomic Analysis ». *Trends in Immunology* 24 (8): 412-18.
- Dashtsoodol, Nyambayar, Tomokuni Shigeura, Minako Aihara, Ritsuko Ozawa, Satoshi Kojo, Michishige Harada, Takaho A. Endo, Takashi Watanabe, Osamu Ohara, et Masaru Taniguchi. 2017. « Alternative Pathway for the Development of V α 14(+) NKT Cells Directly from CD4(-)CD8(-) Thymocytes That Bypasses the CD4(+)CD8(+) Stage ». *Nature Immunology* 18 (3): 274-82. doi:10.1038/ni.3668.
- Day, Yuan-Ji, Liping Huang, Hong Ye, Li Li, Joel Linden, et Mark D. Okusa. 2006. « Renal Ischemia-Reperfusion Injury and Adenosine 2A Receptor-Mediated Tissue Protection: The Role of CD4+ T Cells and IFN- γ ». *The Journal of Immunology* 176 (5): 3108-14. doi:10.4049/jimmunol.176.5.3108.

- D’Cruz, Louise M., Cliff Y. Yang, et Ananda W. Goldrath. 2010. « Transcriptional Regulation of NKT Cell Development and Homeostasis ». *Current Opinion in Immunology* 22 (2): 199-205. doi:10.1016/j.coi.2010.01.014.
- De Nardo, Dominic, et Eicke Latz. 2011. « NLRP3 Inflammasomes Link Inflammation and Metabolic Disease ». *Trends in Immunology* 32 (8): 373-79. doi:10.1016/j.it.2011.05.004.
- Degryse, Bernard, Tiziana Bonaldi, Paola Scaffidi, Susanne Müller, Massimo Resnati, Francesca Sanvito, Gianluigi Arrighoni, et Marco E. Bianchi. 2001. « The High Mobility Group (Hmg) Boxes of the Nuclear Protein Hmg1 Induce Chemotaxis and Cytoskeleton Reorganization in Rat Smooth Muscle Cells ». *The Journal of Cell Biology* 152 (6): 1197-1206.
- Dessing, Mark C., Alessandra Tamaro, Wilco P. Pulskens, Gwendoline J. Teske, Loes M. Butter, Nike Claessen, Marco van Eijk, et al. 2015. « The Calcium-Binding Protein Complex S100A8/A9 Has a Crucial Role in Controlling Macrophage-Mediated Renal Repair Following Ischemia/Reperfusion ». *Kidney International* 87 (1): 85-94. doi:10.1038/ki.2014.216.
- Dickgreber, Nina, Kathryn J. Farrand, Nicholas van Panhuys, Deborah A. Knight, Sara J. McKee, Mei L. Chong, Socorro Miranda-Hernandez, et al. 2012. « Immature Murine NKT Cells Pass through a Stage of Developmentally Programmed Innate IL-4 Secretion ». *Journal of Leukocyte Biology* 92 (5): 999-1009. doi:10.1189/jlb.0512242.
- Dinarelo, C. A. 2000. « Proinflammatory Cytokines ». *Chest* 118 (2): 503-8.
- Dobashi, K., B. Ghosh, J. K. Orak, I. Singh, et A. K. Singh. 2000. « Kidney Ischemia-Reperfusion: Modulation of Antioxidant Defenses ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 205 (1-2): 1-11.
- Doisne, Jean-Marc, Chantal Becourt, Latiffa Amniai, Nadia Duarte, Jean-Benoît Le Luduec, Gérard Eberl, et Kamel Benlagha. 2009. « Skin and Peripheral Lymph Node Invariant NKT Cells Are Mainly Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor (Gamma)T+ and Respond Preferentially under Inflammatory Conditions ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 183 (3): 2142-49. doi:10.4049/jimmunol.0901059.
- Doisne, Jean-Marc, Valérie Soulard, Chantal Bécourt, Latiffa Amniai, Pauline Henrot, Colin Havenar-Daughton, Charlène Blanchet, et al. 2011. « Cutting Edge: Crucial Role of IL-1 and IL-23 in the Innate IL-17 Response of Peripheral Lymph Node NK1.1- Invariant NKT Cells to Bacteria ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 186 (2): 662-66. doi:10.4049/jimmunol.1002725.
- Dokladny, Karol, Orrin B. Myers, et Pope L. Moseley. 2015. « Heat Shock Response and Autophagy--Cooperation and Control ». *Autophagy* 11 (2): 200-213. doi:10.1080/15548627.2015.1009776.
- Donato, R., B.R. Cannon, G. Sorci, F. Riuzzi, K. Hsu, D.J. Weber, et C.L. Geczy. 2013. « Functions of S100 Proteins ». *Current molecular medicine* 13 (1): 24-57.
- Dong, Yingying, Yun Gu, Youjuan Huan, Yingjie Wang, Yan Liu, Mei Liu, Fei Ding, Xiaosong Gu, et Yongjun Wang. 2013. « HMGB1 Protein Does Not Mediate the Inflammatory Response in Spontaneous Spinal Cord Regeneration ». *The Journal of Biological Chemistry* 288 (25): 18204-18. doi:10.1074/jbc.M113.463810.
- Dougan, Stephanie K., Azucena Salas, Paul Rava, Amma Agyemang, Arthur Kaser, Jamin Morrison, Archana Khurana, et al. 2005. « Microsomal Triglyceride Transfer Protein Lipidation and Control of CD1d on Antigen-Presenting Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 202 (4): 529-39. doi:10.1084/jem.20050183.
- Duan, Lihua, Yan Huang, Qun Su, Qingyan Lin, Wen Liu, Jiao Luo, Bing Yu, et al. 2016. « Potential of IL-33 for Preventing the Kidney Injury via Regulating the Lipid Metabolism in Gout Patients ». *Journal of Diabetes Research* 2016. doi:10.1155/2016/1028401.

- Ducloux, Didier, Marina Deschamps, Maria Yannaraki, Christophe Ferrand, Jamal Bamoulid, Philippe Saas, Amir Kazory, Jean-Marc Chalopin, et Pierre Tiberghien. 2005. « Relevance of Toll-like Receptor-4 Polymorphisms in Renal Transplantation ». *Kidney International* 67 (6): 2454-61. doi:10.1111/j.1523-1755.2005.00354.x.
- Dumitriu, Ingrid E., Paramita Baruah, Marco E. Bianchi, Angelo A. Manfredi, et Patrizia Rovere-Querini. 2005. « Requirement of HMGB1 and RAGE for the Maturation of Human Plasmacytoid Dendritic Cells ». *European Journal of Immunology* 35 (7): 2184-90. doi:10.1002/eji.200526066.
- Dutta, Mala, Zachary J. Kraus, Julio Gomez-Rodriguez, Sun-Hee Hwang, Jennifer L. Cannons, Jun Cheng, Sang-Yun Lee, David L. Wiest, Edward K. Wakeland, et Pamela L. Schwartzberg. 2013. « A Role for Ly108 in the Induction of Promyelocytic Zinc Finger Transcription Factor in Developing Thymocytes ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 190 (5): 2121-28. doi:10.4049/jimmunol.1202145.
- Eberl, G., B. Lowin-Kropf, et H. R. MacDonald. 1999. « Cutting Edge: NKT Cell Development Is Selectively Impaired in Fyn- Deficient Mice ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 163 (8): 4091-94.
- Edwards, Aurélie, Chunhua Cao, et Thomas L. Pallone. 2011. « Cellular Mechanisms Underlying Nitric Oxide-Induced Vasodilation of Descending Vasa Recta ». *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 300 (2): F441-456. doi:10.1152/ajprenal.00499.2010.
- Egawa, Takeshi, Gerard Eberl, Ichiro Taniuchi, Kamel Benlagha, Frederic Geissmann, Lothar Hennighausen, Albert Bendelac, et Dan R. Littman. 2005. « Genetic Evidence Supporting Selection of the V α 14i NKT Cell Lineage from Double-Positive Thymocyte Precursors ». *Immunity* 22 (6): 705-16. doi:10.1016/j.immuni.2005.03.011.
- Eltzschig, Holger K., et Tobias Eckle. 2011. « Ischemia and Reperfusion--from Mechanism to Translation ». *Nature Medicine* 17 (11): 1391-1401. doi:10.1038/nm.2507.
- Emoto, M., H. W. Mittrücker, R. Schmits, T. W. Mak, et S. H. Kaufmann. 1999. « Critical Role of Leukocyte Function-Associated Antigen-1 in Liver Accumulation of CD4+NKT Cells ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 162 (9): 5094-98.
- Erbatur, Meral Erdal, Şaban Cem Sezen, Aslihan Cavunt Bayraktar, Mustafa Arslan, Mustafa Kavutçu, et Muhammed Enes Aydın. 2017. « Effects of dexmedetomidine on renal tissue after lower limb ischemia reperfusion injury in streptozotocin induced diabetic rats ». *The Libyan Journal of Medicine* 12 (1). doi:10.1080/19932820.2017.1270021.
- Exley, Mark, Jorge Garcia, Steven P. Balk, et Steven Porcelli. 1997. « Requirements for CD1d Recognition by Human Invariant V α 24+ CD4-CD8- T Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 186 (1): 109-20.
- Fagundes, Caio T., Flávio A. Amaral, Adriano L. S. Souza, Angélica T. Vieira, Damo Xu, Foo Y. Liew, Danielle G. Souza, et Mauro M. Teixeira. 2007. « ST2, an IL-1R Family Member, Attenuates Inflammation and Lethality after Intestinal Ischemia and Reperfusion ». *Journal of Leukocyte Biology* 81 (2): 492-99. doi:10.1189/jlb.0606422.
- Farber, J. M. 1997. « Mig and IP-10: CXC Chemokines That Target Lymphocytes ». *Journal of Leukocyte Biology* 61 (3): 246-57.
- Feghali, K., K. Iwasaki, K. Tanaka, M. Komaki, M. Machigashira, I. Ishikawa, et Y. Izumi. 2009. « Human Gingival Fibroblasts Release High-Mobility Group Box-1 Protein through Active and Passive Pathways ». *Oral Microbiology and Immunology* 24 (4): 292-98. doi:10.1111/j.1399-302X.2009.00508.x.
- Fowlkes, B. J., A. M. Kruisbeek, H. Ton-That, M. A. Weston, J. E. Coligan, R. H. Schwartz, et D. M. Pardoll. 1987. « A Novel Population of T-Cell Receptor Alpha Beta-Bearing Thymocytes Which Predominantly Expresses a Single V Beta Gene Family ». *Nature* 329 (6136): 251-54. doi:10.1038/329251a0.

- Fujii, Shin-Ichiro, Kanako Shimizu, Caroline Smith, Laura Bonifaz, et Ralph M. Steinman. 2003. « Activation of Natural Killer T Cells by Alpha-Galactosylceramide Rapidly Induces the Full Maturation of Dendritic Cells in Vivo and Thereby Acts as an Adjuvant for Combined CD4 and CD8 T Cell Immunity to a Coadministered Protein ». *The Journal of Experimental Medicine* 198 (2): 267-79. doi:10.1084/jem.20030324.
- Gadani, Sachin P., James T. Walsh, Igor Smirnov, Jingjing Zheng, et Jonathan Kipnis. 2015. « The Glia-Derived Alarmin IL-33 Orchestrates the Immune Response and Promotes Recovery Following CNS Injury ». *Neuron* 85 (4): 703-9. doi:10.1016/j.neuron.2015.01.013.
- Gandolfo, Maria Teresa, Hye Ryoung Jang, Serena M. Bagnasco, Gang-Jee Ko, Patricia Agreda, Shailesh R. Satpute, Michael T. Crow, Landon S. King, et Hamid Rabb. 2009. « FoxP3+ Regulatory T Cells Participate in Repair of Ischemic Acute Kidney Injury ». *Kidney International* 76 (7): 717-29. doi:10.1038/ki.2009.259.
- Gapin, L., J. L. Matsuda, C. D. Surh, et M. Kronenberg. 2001. « NKT Cells Derive from Double-Positive Thymocytes That Are Positively Selected by CD1d ». *Nature Immunology* 2 (10): 971-78. doi:10.1038/ni710.
- Gapin, Laurent. 2016. « Development of Invariant Natural Killer T Cells ». *Current Opinion in Immunology* 39 (avril): 68-74. doi:10.1016/j.coi.2016.01.001.
- Gardella, Stefania, Cristina Andrei, Denise Ferrera, Lavinia V. Lotti, Maria R. Torrisi, Marco E. Bianchi, et Anna Rubartelli. 2002. « The Nuclear Protein HMGB1 Is Secreted by Monocytes via a Non-Classical, Vesicle-Mediated Secretory Pathway ». *EMBO Reports* 3 (10): 995-1001. doi:10.1093/embo-reports/kvf198.
- Garlanda, Cecilia, Charles A. Dinarello, et Alberto Mantovani. 2013. « The Interleukin-1 Family: Back to the Future ». *Immunity* 39 (6): 1003-18. doi:10.1016/j.immuni.2013.11.010.
- Gautier, Violette, Corinne Cayrol, Dorian Farache, Stéphane Roga, Bernard Monsarrat, Odile Bulet-Schiltz, Anne Gonzalez de Peredo, et Jean-Philippe Girard. 2016. « Extracellular IL-33 Cytokine, but Not Endogenous Nuclear IL-33, Regulates Protein Expression in Endothelial Cells ». *Scientific Reports* 6 (octobre): 34255. doi:10.1038/srep34255.
- Geissmann, Frederic, Thomas O. Cameron, Stephane Sidobre, Natasha Manlongat, Mitchell Kronenberg, Michael J. Briskin, Michael L. Dustin, et Dan R. Littman. 2005. « Intravascular Immune Surveillance by CXCR6+ NKT Cells Patrolling Liver Sinusoids ». *PLOS Biology* 3 (4): e113. doi:10.1371/journal.pbio.0030113.
- Gerlitz, Gabi, Robert Hock, Tetsuya Ueda, et Michael Bustin. 2009. « The dynamics of HMG protein–chromatin interactions in living cells ». *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire* 87 (1): 127-37. doi:10.1139/O08-110.
- Ghavami, Saeid, Mehdi Eshragi, Sudharsana R Ande, Walter J Chazin, Thomas Klonisch, Andrew J Halayko, Karol Mcneill, Mohammad Hashemi, Claus Kerkhoff, et Marek Los. 2010. « S100A8/A9 induces autophagy and apoptosis via ROS-mediated cross-talk between mitochondria and lysosomes that involves BNIP3 ». *Cell research* 20 (3): 314-31. doi:10.1038/cr.2009.129.
- Ginhoux, Florent, Kang Liu, Julie Helft, Milena Bogunovic, Melanie Greter, Daigo Hashimoto, Jeremy Price, et al. 2009. « The Origin and Development of Nonlymphoid Tissue CD103+ DCs ». *The Journal of Experimental Medicine* 206 (13): 3115-30. doi:10.1084/jem.20091756.
- Godfrey, Dale I., Adam P. Uldrich, James McCluskey, Jamie Rossjohn, et D. Branch Moody. 2015. « The Burgeoning Family of Unconventional T Cells ». *Nature Immunology* 16 (11): 1114-23. doi:10.1038/ni.3298.
- Gong, Li, Hua Yu, Yifeng ZhuGe, et Qing Yu. 2012. « Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Protects Renal Tubular Epithelial Cell in Ischemic/Reperfusion Injury Rats via

- Apoptosis-Regulating Proteins ». *Renal Failure* 34 (6): 777-83.
doi:10.3109/0886022X.2012.678173.
- Gordy, Laura E., Jelena S. Bezbradica, Andrew I. Flyak, Charles T. Spencer, Alexis Dunkle, Jingchun Sun, Aleksandar K. Stanic, et al. 2011. « IL-15 regulates homeostasis and terminal maturation of NKT cells ». *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 187 (12): 6335-45. doi:10.4049/jimmunol.1003965.
- Griewank, Klaus, Christine Borowski, Svend Rietdijk, Ninghai Wang, Aimee Julien, Datsen G. Wei, Alusha A. Mamchak, Cox Terhorst, et Albert Bendelac. 2007. « Homotypic Interactions Mediated by Slamf1 and Slamf6 Receptors Control NKT Cell Lineage Development ». *Immunity* 27 (5): 751-62. doi:10.1016/j.immuni.2007.08.020.
- Guillaume, Joren, Nora Pauwels, Sandrine Aspeslagh, Dirk M. Zajonc, Dirk Elewaut, et Serge Van Calenbergh. 2015. « Synthesis of C-5'' and C-6''-modified α -GalCer analogues as iNKT-cell agonists ». *Bioorganic & medicinal chemistry* 23 (13): 3175-82.
doi:10.1016/j.bmc.2015.04.068.
- Gumperz, J. E., C. Roy, A. Makowska, D. Lum, M. Sugita, T. Podrebarac, Y. Koezuka, et al. 2000. « Murine CD1d-Restricted T Cell Recognition of Cellular Lipids ». *Immunity* 12 (2): 211-21.
- Ham, Ahrom, Mihwa Kim, Joo Yun Kim, Kevin M. Brown, Marcus Fruttiger, Vivette D. D'Agati, et H. Thomas Lee. 2014. « Selective Deletion of the Endothelial Sphingosine-1-Phosphate 1 Receptor Exacerbates Kidney Ischemia-Reperfusion Injury ». *Kidney International* 85 (4): 807-23. doi:10.1038/ki.2013.345.
- Hammond, Kirsten J. L., Daniel G. Pellicci, Lynn D. Poulton, Olga V. Naidenko, Anthony A. Scalzo, Alan G. Baxter, et Dale I. Godfrey. 2001. « CD1d-Restricted NKT Cells: An Interstrain Comparison ». *The Journal of Immunology* 167 (3): 1164-73.
doi:10.4049/jimmunol.167.3.1164.
- Haraldsen, Guttorm, Johanna Balogh, Jürgen Pollheimer, Jon Sponheim, et Axel M. Küchler. 2009. « Interleukin-33 - Cytokine of Dual Function or Novel Alarmin? » *Trends in Immunology* 30 (5): 227-33. doi:10.1016/j.it.2009.03.003.
- Havasi, Andrea, et Steven C. Borkan. 2011. « Apoptosis and Acute Kidney Injury ». *Kidney International* 80 (1): 29-40. doi:10.1038/ki.2011.120.
- He, Mei, Hiroshi Kubo, Kota Ishizawa, Ahmed E. Hegab, Yasuhiko Yamamoto, Hiroshi Yamamoto, et Mutsuo Yamaya. 2007. « The Role of the Receptor for Advanced Glycation End-Products in Lung Fibrosis ». *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* 293 (6): L1427-36. doi:10.1152/ajplung.00075.2007.
- Heylen, L., B. Thienpont, M. Naesens, D. Lambrechts, et B. Sprangers. 2016. « The Emerging Role of DNA Methylation in Kidney Transplantation: A Perspective ». *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 16 (4): 1070-78. doi:10.1111/ajt.13585.
- Holzappel, Keli L., Aaron J. Tyznik, Mitchell Kronenberg, et Kristin A. Hogquist. 2014. « Antigen-Dependent versus -Independent Activation of Invariant NKT Cells during Infection ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 192 (12): 5490-98.
doi:10.4049/jimmunol.1400722.
- Hooper, W. Craig. 2004. « The Relationship between Inflammation and the Anticoagulant Pathway: The Emerging Role of Endothelial Nitric Oxide Synthase (ENOS) ». *Current Pharmaceutical Design* 10 (8): 923-27.
- Hotchkiss, Richard S., Andreas Strasser, Jonathan E. McDunn, et Paul E. Swanson. 2009. « Cell Death in Disease: Mechanisms and Emerging Therapeutic Concepts ». *The New England Journal of Medicine* 361 (16): 1570. doi:10.1056/NEJMr0901217.

- Hu, Fanlei, Lianjie Shi, Rong Mu, Jiabin Zhu, Yingni Li, Xiaoxu Ma, Chun Li, et al. 2013. « Hypoxia-Inducible Factor-1 α and Interleukin 33 Form a Regulatory Circuit to Perpetuate the Inflammation in Rheumatoid Arthritis ». *PLoS ONE* 8 (8). doi:10.1371/journal.pone.0072650.
- Hu, Ming Chang, Mingjun Shi, Nancy Gillings, Brianna Flores, Masaya Takahashi, Makoto Kuro-O, et Orson W. Moe. 2017. « Recombinant α -Klotho May Be Prophylactic and Therapeutic for Acute to Chronic Kidney Disease Progression and Uremic Cardiomyopathy ». *Kidney International*, janvier. doi:10.1016/j.kint.2016.10.034.
- Hu, Taishan, Amie Simmons, Joan Yuan, Timothy P. Bender, et Jose Alberola-Ila. 2010. « The Transcription Factor C-Myb Primes CD4+CD8+ Immature Thymocytes for Selection into the INKT Lineage ». *Nature Immunology* 11 (5): 435-41. doi:10.1038/ni.1865.
- Huang, Bihui, Azure N. Faucette, Michael D. Pawlitz, Bo Pei, Joshua W. Goyert, Jordan Zheng Zhou, Nadim G. El-Hage, et al. 2017. « Interleukin-33-Induced Expression of PIBF1 by Decidual B Cells Protects against Preterm Labor ». *Nature Medicine* 23 (1): 128-35. doi:10.1038/nm.4244.
- Huang, Jun, Jiangdong Ni, Ke Liu, Yan Yu, Min Xie, Rui Kang, Philip Vernon, Lizhi Cao, et Daolin Tang. 2012. « HMGB1 Promotes Drug Resistance in Osteosarcoma ». *Cancer Research* 72 (1): 230-38. doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-2001.
- Huang, Wenchang, Yiyun Liu, Lei Li, Ruyuan Zhang, Wei Liu, Jun Wu, Enqiang Mao, et Yaoqing Tang. 2012. « HMGB1 Increases Permeability of the Endothelial Cell Monolayer via RAGE and Src Family Tyrosine Kinase Pathways ». *Inflammation* 35 (1): 350-62. doi:10.1007/s10753-011-9325-5.
- Huang, Y., H. Yin, J. Han, B. Huang, J. Xu, F. Zheng, Z. Tan, et al. 2007. « Extracellular Hmgb1 Functions as an Innate Immune-Mediator Implicated in Murine Cardiac Allograft Acute Rejection ». *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 7 (4): 799-808. doi:10.1111/j.1600-6143.2007.01734.x.
- Huen, Sarah C., et Lloyd G. Cantley. 2017. « Macrophages in Renal Injury and Repair ». *Annual Review of Physiology* 79 (février): 449-69. doi:10.1146/annurev-physiol-022516-034219.
- Hull, Travis D., Ahmed I. Kamal, Ravindra Boddu, Subhashini Bolisetty, Lingling Guo, Cornelia C. Tisher, Sunil Rangarajan, et al. 2015. « Heme Oxygenase-1 Regulates Myeloid Cell Trafficking in AKI ». *Journal of the American Society of Nephrology* 26 (9): 2139-51. doi:10.1681/ASN.2014080770.
- Imai, K., M. Kanno, H. Kimoto, K. Shigemoto, S. Yamamoto, et M. Taniguchi. 1986. « Sequence and Expression of Transcripts of the T-Cell Antigen Receptor Alpha-Chain Gene in a Functional, Antigen-Specific Suppressor-T-Cell Hybridoma ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83 (22): 8708-12.
- Ito, Norimasa, Richard A. DeMarco, Robbie B. Mailliard, Jie Han, Hannah Rabinowich, Pawel Kalinski, Donna Beer Stolz, Herbert J. Zeh, et Michael T. Lotze. 2007. « Cytolytic Cells Induce HMGB1 Release from Melanoma Cell Lines ». *Journal of Leukocyte Biology* 81 (1): 75-83. doi:10.1189/jlb.0306169.
- Jacomets, Florence, Emilie Cayssials, Alice Barbarin, Deborah Desmier, Sara Basbous, Lucie Lefèvre, Anaïs Levescot, et al. 2016. « The Hypothesis of the Human INKT/Innate CD8(+) T-Cell Axis Applied to Cancer: Evidence for a Deficiency in Chronic Myeloid Leukemia ». *Frontiers in Immunology* 7: 688. doi:10.3389/fimmu.2016.00688.
- Janeway, C. A. 1989. « Approaching the Asymptote? Evolution and Revolution in Immunology ». *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 54 Pt 1: 1-13.
- Jang, Hye Ryoun, Maria Teresa Gandolfo, Gang Jee Ko, Shailesh R. Satpute, Lorraine Racusen, et Hamid Rabb. 2010. « B Cells Limit Repair after Ischemic Acute Kidney Injury ». *Journal*

- of the American Society of Nephrology : JASN* 21 (4): 654-65.
doi:10.1681/ASN.2009020182.
- Jang, Hye Ryoun, et Hamid Rabb. 2015. « Immune Cells in Experimental Acute Kidney Injury ». *Nature Reviews Nephrology* 11 (2): 88-101. doi:10.1038/nrneph.2014.180.
- Januzzi, James L., W. Frank Peacock, Alan S. Maisel, Claudia U. Chae, Robert L. Jesse, Aaron L. Baggish, Michelle O'Donoghue, et al. 2007. « Measurement of the Interleukin Family Member ST2 in Patients with Acute Dyspnea: Results from the PRIDE (Pro-Brain Natriuretic Peptide Investigation of Dyspnea in the Emergency Department) Study ». *Journal of the American College of Cardiology* 50 (7): 607-13.
doi:10.1016/j.jacc.2007.05.014.
- Johnson, Geoffrey B., Gregory J. Brunn, Yuzo Kodaira, et Jeffrey L. Platt. 2002. « Receptor-Mediated Monitoring of Tissue Well-Being via Detection of Soluble Heparan Sulfate by Toll-like Receptor 4 ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 168 (10): 5233-39.
- Jordan, Margaret A., Julie M. Fletcher, Daniel Pellicci, et Alan G. Baxter. 2007. « Slamf1, the NKT Cell Control Gene Nkt1 ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 178 (3): 1618-27.
- Kain, Lisa, Bill Webb, Brian L. Anderson, Shenglou Deng, Marie Holt, Anne Costanzo, Anne Costanzo, et al. 2014. « The Identification of the Endogenous Ligands of Natural Killer T Cells Reveals the Presence of Mammalian α -Linked Glycosylceramides ». *Immunity* 41 (4): 543-54. doi:10.1016/j.immuni.2014.08.017.
- Kaissling, B., I. Hegyi, J. Loffing, et M. Le Hir. 1996. « Morphology of Interstitial Cells in the Healthy Kidney ». *Anatomy and Embryology* 193 (4): 303-18.
- Kalogeris, Theodore, Christopher P. Baines, Maïke Krenz, et Ronald J. Korthuis. 2012. « Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury ». *International Review of Cell and Molecular Biology* 298: 229-317. doi:10.1016/B978-0-12-394309-5.00006-7.
- Kandemir, Fatih Mehmet, Sefa Kucukler, Eyup Eldutar, Cuneyt Caglayan, et İlhami Gülçin. 2017. « Chrysin Protects Rat Kidney from Paracetamol-Induced Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, and Autophagy: A Multi-Biomarker Approach ». *Scientia Pharmaceutica* 85 (1). doi:10.3390/scipharm85010004.
- Kang, Rui, Ruochan Chen, Qihong Zhang, Wen Hou, Sha Wu, Lizhi Cao, Jin Huang, et al. 2014. « HMGB1 in Health and Disease ». *Molecular aspects of medicine* 0 (décembre): 1-116.
doi:10.1016/j.mam.2014.05.001.
- Kaul, Gautam, et Hitesh Thippeswamy. 2011. « Role of Heat Shock Proteins in Diseases and Their Therapeutic Potential ». *Indian Journal of Microbiology* 51 (2): 124-31.
doi:10.1007/s12088-011-0147-9.
- Kawakami, Takahisa, Julia Lichtnekert, Lucas J. Thompson, Prasanthi Karna, Hicham Bouabe, Tobias M. Hohl, Jay W. Heinecke, Steven F. Ziegler, Peter J. Nelson, et Jeremy S. Duffield. 2013. « Resident Renal Mononuclear Phagocytes Comprise Five Discrete Populations with Distinct Phenotypes and Functions ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 191 (6): 3358-72. doi:10.4049/jimmunol.1300342.
- Kawano, T., J. Cui, Y. Koezuka, I. Toura, Y. Kaneko, K. Motoki, H. Ueno, et al. 1997. « CD1d-Restricted and TCR-Mediated Activation of Valpha14 NKT Cells by Glycosylceramides ». *Science (New York, N.Y.)* 278 (5343): 1626-29.
- Kazama, Hirotaka, Jean-Ehrland Ricci, John M. Herndon, George Hoppe, Douglas R. Green, et Thomas A. Ferguson. 2008. « IMMUNE TOLERANCE INDUCTION BY APOPTOTIC CELLS REQUIRES CASPASE-DEPENDENT OXIDATION OF HMGB1 ». *Immunity* 29 (1): 21-32. doi:10.1016/j.immuni.2008.05.013.

- Kelly, K J, W W Williams, R B Colvin, S M Meehan, T A Springer, J C Gutierrez-Ramos, et J V Bonventre. 1996. « Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are protected against ischemic renal injury. » *Journal of Clinical Investigation* 97 (4): 1056-63.
- Kendall, Ryan T., et Carol A. Feghali-Bostwick. 2014. « Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators ». *Frontiers in Pharmacology* 5 (mai). doi:10.3389/fphar.2014.00123.
- Kezic, Aleksandra, Ivan Spasojevic, Visnja Lezaic, et Milica Bajcetic. 2016. « Mitochondria-Targeted Antioxidants: Future Perspectives in Kidney Ischemia Reperfusion Injury ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016. doi:10.1155/2016/2950503.
- Kim, Chang H., Brent Johnston, et Eugene C. Butcher. 2002. « Trafficking Machinery of NKT Cells: Shared and Differential Chemokine Receptor Expression among V α 24+V β 11+ NKT Cell Subsets with Distinct Cytokine-Producing Capacity ». *Blood* 100 (1): 11-16. doi:10.1182/blood-2001-12-0196.
- Kim, Hyoun-Ah, Jae Ho Han, Woo-Jung Kim, Hyun Jin Noh, Jeong-Mi An, Hyunee Yim, Ju-Yang Jung, You-Sun Kim, et Chang-Hee Suh. 2016. « TLR4 Endogenous Ligand S100A8/A9 Levels in Adult-Onset Still's Disease and Their Association with Disease Activity and Clinical Manifestations ». *International Journal of Molecular Sciences* 17 (8). doi:10.3390/ijms17081342.
- Kim, Jessica, Ji Hyung Kim, et Florian Winau. 2014. « Thinking inside the Box: Endogenous α -Anomeric Lipid Antigens ». *Immunity* 41 (4): 505-6. doi:10.1016/j.immuni.2014.09.020.
- Kim, Junghyun, Eunjin Sohn, Chan-Sik Kim, Kyuhyung Jo, et Jin Sook Kim. 2011. « The Role of High-Mobility Group Box-1 Protein in the Development of Diabetic Nephropathy ». *American Journal of Nephrology* 33 (6): 524-29. doi:10.1159/000327992.
- Kim, Myung-Gyu, Eun Jung Cho, Jae Won Lee, Yoon Sook Ko, Hee Young Lee, Sang-Kyung Jo, Won Yong Cho, et Hyoung Kyu Kim. 2014. « The Heat-Shock Protein-70-Induced Renoprotective Effect Is Partially Mediated by CD4+ CD25+ Foxp3 + Regulatory T Cells in Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Kidney Injury ». *Kidney International* 85 (1): 62-71. doi:10.1038/ki.2013.277.
- King, Irah L., Anne Fortier, Michael Tighe, John Dibble, Gerald F. M. Watts, Natacha Veerapen, Ann M. Haberman, et al. 2011. « Invariant Natural Killer T Cells Direct B Cell Responses to Cognate Lipid Antigen in an IL-21-Dependent Manner ». *Nature Immunology* 13 (1): 44-50. doi:10.1038/ni.2172.
- Kinjo, Yuki, Emmanuel Tupin, Douglass Wu, Masakazu Fujio, Raquel Garcia-Navarro, Mohammed Raffi-El-Idrissi Benhnia, Dirk M. Zajonc, et al. 2006. « Natural Killer T Cells Recognize Diacylglycerol Antigens from Pathogenic Bacteria ». *Nature Immunology* 7 (9): 978-86. doi:10.1038/ni1380.
- Kinsey, Gilbert R., Liping Huang, Amy L. Vergis, Li Li, et Mark D. Okusa. 2010. « Regulatory T Cells Contribute to the Protective Effect of Ischemic Preconditioning in the Kidney ». *Kidney International* 77 (9): 771-80. doi:10.1038/ki.2010.12.
- Kinsey, Gilbert R., Rahul Sharma, Liping Huang, Li Li, Amy L. Vergis, Hong Ye, Shyr-Te Ju, et Mark D. Okusa. 2009. « Regulatory T Cells Suppress Innate Immunity in Kidney Ischemia-Reperfusion Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 20 (8): 1744-53. doi:10.1681/ASN.2008111160.
- Kitamura, Hidemitsu, Kenji Iwakabe, Takashi Yahata, Shin-ichiro Nishimura, Akio Ohta, Yasushi Ohmi, Marimo Sato, et al. 1999. « The Natural Killer T (NKT) Cell Ligand α -Galactosylceramide Demonstrates Its Immunopotentiating Effect by Inducing Interleukin (IL)-12 Production by Dendritic Cells and IL-12 Receptor Expression on NKT Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 189 (7): 1121-28.

- Klahr, S., et J. J. Morrissey. 2000. « The Role of Vasoactive Compounds, Growth Factors and Cytokines in the Progression of Renal Disease ». *Kidney International. Supplement 75* (avril): S7-14.
- Klemenz, R., S. Hoffmann, et A. K. Werenskiold. 1989. « Serum- and Oncoprotein-Mediated Induction of a Gene with Sequence Similarity to the Gene Encoding Carcinoembryonic Antigen ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86 (15): 5708-12.
- Kloc, Malgorzata, Jacek Z. Kubiak, Xian C. Li, et Rafik M. Ghobrial. 2015. « Pericytes, Microvascular Dysfunction and Chronic Rejection ». *Transplantation* 99 (4): 658. doi:10.1097/TP.0000000000000648.
- Klune, J. R., T. R. Billiar, et A. Tsung. 2008. « HMGB1 Preconditioning: Therapeutic Application for a Danger Signal? » *Journal of Leukocyte Biology* 83 (3): 558-63. doi:10.1189/jlb.0607406.
- Kobayashi, E., K. Motoki, T. Uchida, H. Fukushima, et Y. Koezuka. 1995. « KRN7000, a Novel Immunomodulator, and Its Antitumor Activities ». *Oncology Research* 7 (10-11): 529-34.
- Koch, Michael, Victoria S. Stronge, Dawn Shepherd, Stephan D. Gadola, Bini Mathew, Gerd Ritter, Alan R. Fersht, et al. 2005. « The Crystal Structure of Human CD1d with and without Alpha-Galactosylceramide ». *Nature Immunology* 6 (8): 819-26. doi:10.1038/ni1225.
- Kol, A., T. Bourcier, A. H. Lichtman, et P. Libby. 1999. « Chlamydial and Human Heat Shock Protein 60s Activate Human Vascular Endothelium, Smooth Muscle Cells, and Macrophages ». *The Journal of Clinical Investigation* 103 (4): 571-77. doi:10.1172/JCI5310.
- Korkmaz, Asli, et Dürdane Kolankaya. 2009. « The Protective Effects of Ascorbic Acid against Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Male Rats ». *Renal Failure* 31 (1): 36-43. doi:10.1080/08860220802546271.
- Koseki, H., H. Asano, T. Inaba, N. Miyashita, K. Moriwaki, K. F. Lindahl, Y. Mizutani, K. Imai, et M. Taniguchi. 1991. « Dominant Expression of a Distinctive V14+ T-Cell Antigen Receptor Alpha Chain in Mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88 (17): 7518-22.
- Koseki, H., K. Imai, F. Nakayama, T. Sado, K. Moriwaki, et M. Taniguchi. 1990. « Homogenous Junctional Sequence of the V14+ T-Cell Antigen Receptor Alpha Chain Expanded in Unprimed Mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (14): 5248-52.
- Kouzaki, Hideaki, Koji Iijima, Takao Kobayashi, Scott M. O'Grady, et Hirohito Kita. 2011. « The Danger Signal, Extracellular ATP, Is a Sensor for an Airborne Allergen and Triggers IL-33 Release and Innate Th2-Type Responses ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 186 (7): 4375-87. doi:10.4049/jimmunol.1003020.
- Kovalchin, Joseph T., Ruibo Wang, Mihir S. Wagh, Jason Azoulay, Melinda Sanders, et Rajiv Y. Chandawarkar. 2006. « In Vivo Delivery of Heat Shock Protein 70 Accelerates Wound Healing by Up-Regulating Macrophage-Mediated Phagocytosis ». *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 14 (2): 129-37. doi:10.1111/j.1743-6109.2006.00102.x.
- Kramann, Rafael, et Benjamin D. Humphreys. 2014. « Kidney Pericytes: Roles in Regeneration and Fibrosis ». *Seminars in Nephrology* 34 (4): 374-83. doi:10.1016/j.semnephrol.2014.06.004.
- Kronenberg, Mitchell, et Laurent Gapin. 2002. « The Unconventional Lifestyle of NKT Cells ». *Nature Reviews. Immunology* 2 (8): 557-68. doi:10.1038/nri854.

- Krüger, Bernd, Stefanie Krick, Navdeep Dhillon, Susan M. Lerner, Scott Ames, Jonathan S. Bromberg, Marvin Lin, et al. 2009. « Donor Toll-like Receptor 4 Contributes to Ischemia and Reperfusion Injury Following Human Kidney Transplantation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (9): 3390-95. doi:10.1073/pnas.0810169106.
- Krüger, Thilo, Dirk Benke, Frank Eitner, Andreas Lang, Monika Wirtz, Emma E. Hamilton-Williams, Daniel Engel, et al. 2004. « Identification and Functional Characterization of Dendritic Cells in the Healthy Murine Kidney and in Experimental Glomerulonephritis ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 15 (3): 613-21.
- Krumm, Brian, Yan Xiang, et Junpeng Deng. 2014. « Structural Biology of the IL-1 Superfamily: Key Cytokines in the Regulation of Immune and Inflammatory Responses ». *Protein Science: A Publication of the Protein Society* 23 (5): 526-38. doi:10.1002/pro.2441.
- Kumar, Sudhanshu, et Bruce A. Molitoris. 2015. « Renal Endothelial Injury and Microvascular Dysfunction in Acute Kidney Injury ». *Seminars in Nephrology* 35 (1): 96. doi:10.1016/j.semnephrol.2015.01.010.
- Kume, Tsutomu. 2010. « Specification of Arterial, Venous, and Lymphatic Endothelial Cells during Embryonic Development ». *Histology and Histopathology* 25 (5): 637-46. doi:10.14670/HH-25.637.
- Kurts, Christian, Ulf Panzer, Hans-Joachim Anders, et Andrew J. Rees. 2013. « The Immune System and Kidney Disease: Basic Concepts and Clinical Implications ». *Nature Reviews. Immunology* 13 (10): 738-53. doi:10.1038/nri3523.
- Lambert, Elisabeth, et Markus Schlaich. 2017. « The Role of Renal Sympathetic Nerves in Ischemia Reperfusion Injury ». *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, janvier. doi:10.1016/j.autneu.2017.01.002.
- Land, Walter G. 2015. « The Role of Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) in Human Diseases ». *Sultan Qaboos University Medical Journal* 15 (2): e157-70.
- Lange, Sabine S., David L. Mitchell, et Karen M. Vasquez. 2008. « High mobility group protein B1 enhances DNA repair and chromatin modification after DNA damage ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (30): 10320-25. doi:10.1073/pnas.0803181105.
- Lantz, O., et A. Bendelac. 1994. « An Invariant T Cell Receptor Alpha Chain Is Used by a Unique Subset of Major Histocompatibility Complex Class I-Specific CD4+ and CD4-8- T Cells in Mice and Humans ». *The Journal of Experimental Medicine* 180 (3): 1097-1106.
- Laursen, Tea Lund, Sidsel Støy, Bent Deleuran, Hendrik Vilstrup, Henning Grønbaek, et Thomas Damgaard Sandahl. 2016. « The Damage-Associated Molecular Pattern HMGB1 Is Elevated in Human Alcoholic Hepatitis, but Does Not Seem to Be a Primary Driver of Inflammation ». *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica* 124 (9): 741-47. doi:10.1111/apm.12568.
- Lazarevic, Vanja, Alfred J. Zullo, Michelle N. Schweitzer, Tracy L. Staton, Elena M. Gallo, Gerald R. Crabtree, et Laurie H. Glimcher. 2009. « The Gene Encoding Early Growth Response 2, a Target of the Transcription Factor NFAT, Is Required for the Development and Maturation of Natural Killer T Cells ». *Nature Immunology* 10 (3): 306-13. doi:10.1038/ni.1696.
- LeBleu, Valerie S., Gangadhar Taduri, Joyce O'Connell, Yingqi Teng, Vesselina G. Cooke, Craig Woda, Hikaru Sugimoto, et Raghu Kalluri. 2013. « Origin and Function of Myofibroblasts in Kidney Fibrosis ». *Nature Medicine* 19 (8): 1047. doi:10.1038/nm.3218.
- Lee, Ara, Seung Pyo Park, Chan Hee Park, Byung Hyun Kang, Seong Hoe Park, Sang-Jun Ha, et Kyeong Cheon Jung. 2015. « IL-4 Induced Innate CD8+ T Cells Control Persistent Viral Infection ». *PLoS Pathogens* 11 (10). doi:10.1371/journal.ppat.1005193.

- Lee, Chen-Chen, Yu-Ting Lai, Hao-Teng Chang, Jiunn-Wang Liao, Woei-Cherng Shyu, Chi-Yuan Li, et Chien-Neng Wang. 2013. « Inhibition of High-Mobility Group Box 1 in Lung Reduced Airway Inflammation and Remodeling in a Mouse Model of Chronic Asthma ». *Biochemical Pharmacology* 86 (7): 940-49. doi:10.1016/j.bcp.2013.08.003.
- Lee, Kyoung Eun, et M. Celeste Simon. 2015. « SnapShot: Hypoxia-Inducible Factors ». *Cell* 163 (5): 1288-1288.e1. doi:10.1016/j.cell.2015.11.011.
- Lee, Sarah J., Emily Borsting, Anne-Emilie Declèves, Prabhleen Singh, et Robyn Cunard. 2013. « Podocytes Express IL-6 and Lipocalin 2/ Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in Lipopolysaccharide-Induced Acute Glomerular Injury ». *Nephron. Experimental Nephrology* 121 (3-4): e86-96. doi:10.1159/000345151.
- Lee, You Jeong, Keli L. Holzappel, Jinfang Zhu, Stephen C. Jameson, et Kristin A. Hogquist. 2013. « Steady state production of IL-4 modulates immunity in different strains and is determined by lineage diversity of iNKT cells ». *Nature immunology* 14 (11). doi:10.1038/ni.2731.
- Lee, You Jeong, Haiguang Wang, Gabriel J. Starrett, Vanessa Phuong, Stephen C. Jameson, et Kristin A. Hogquist. 2015. « Tissue specific distribution of iNKT cells impacts their cytokine response ». *Immunity* 43 (3): 566-78. doi:10.1016/j.immuni.2015.06.025.
- Leelahavanichkul, Asada, Yuning Huang, Xuzhen Hu, Hua Zhou, Takayuki Tsuji, Richard Chen, Jeffrey B. Kopp, Jürgen Schnermann, Peter S. T. Yuen, et Robert A. Star. 2011. « Chronic Kidney Disease Worsens Sepsis and Sepsis-Induced Acute Kidney Injury by Releasing High Mobility Group Box Protein-1 ». *Kidney International* 80 (11): 1198-1211. doi:10.1038/ki.2011.261.
- Leemans, Jaklien C., Geurt Stokman, Nike Claessen, Kasper M. Rouschop, Gwendoline J. D. Teske, Carsten J. Kirschning, Shizuo Akira, Tom van der Poll, Jan J. Weening, et Sandrine Florquin. 2005. « Renal-Associated TLR2 Mediates Ischemia/Reperfusion Injury in the Kidney ». *The Journal of Clinical Investigation* 115 (10): 2894-2903. doi:10.1172/JCI22832.
- Lefrançais, Emma, Anais Duval, Emilie Mirey, Stéphane Roga, Eric Espinosa, Corinne Cayrol, et Jean-Philippe Girard. 2014. « Central Domain of IL-33 Is Cleaved by Mast Cell Proteases for Potent Activation of Group-2 Innate Lymphoid Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (43): 15502-7. doi:10.1073/pnas.1410700111.
- Lefrançais, Emma, Stephane Roga, Violette Gautier, Anne Gonzalez-de-Peredo, Bernard Monsarrat, Jean-Philippe Girard, et Corinne Cayrol. 2012. « IL-33 Is Processed into Mature Bioactive Forms by Neutrophil Elastase and Cathepsin G ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (5): 1673-78. doi:10.1073/pnas.1115884109.
- Lemos, Dario R., Graham Marsh, Angela Huang, Gabriela Campanholle, Takahide Aburatani, Lan Dang, Ivan Gomez, et al. 2016. « Maintenance of Vascular Integrity by Pericytes Is Essential for Normal Kidney Function ». *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 311 (6): F1230-42. doi:10.1152/ajprenal.00030.2016.
- Li, Dong, Rodrigo Guabiraba, Anne-Gaëlle Besnard, Mousa Komai-Koma, Majid S. Jabir, Li Zhang, Gerard J. Graham, et al. 2014. « IL-33 promotes ST2-dependent lung fibrosis by the induction of alternatively activated macrophages and innate lymphoid cells in mice ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 134 (6): 1422-1432.e11. doi:10.1016/j.jaci.2014.05.011.
- Li, Guanqiao, Xiaoyan Liang, et Michael T. Lotze. 2013. « HMGB1: The Central Cytokine for All Lymphoid Cells ». *Frontiers in Immunology* 4 (mars). doi:10.3389/fimmu.2013.00068.

- Li, Junhua, Quan Gong, Shan Zhong, Lu Wang, Hui Guo, Ying Xiang, Tomas E. Ichim, et al. 2011. « Neutralization of the Extracellular HMGB1 Released by Ischaemic Damaged Renal Cells Protects against Renal Ischaemia-Reperfusion Injury ». *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 26 (2): 469-78. doi:10.1093/ndt/gfq466.
- Li, Li, Liping Huang, Sun-sang J. Sung, Peter I. Lobo, Michael G. Brown, Randal K. Gregg, Victor H. Engelhard, et Mark D. Okusa. 2007. « NKT Cell Activation Mediates Neutrophil IFN-Gamma Production and Renal Ischemia-Reperfusion Injury ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 178 (9): 5899-5911.
- Li, Li, Liping Huang, Sun-Sang J. Sung, Amy L. Vergis, Diane L. Rosin, C. Edward Rose, Peter I. Lobo, et Mark D. Okusa. 2008. « The Chemokine Receptors CCR2 and CX3CR1 Mediate Monocyte/Macrophage Trafficking in Kidney Ischemia-Reperfusion Injury ». *Kidney International* 74 (12): 1526-37. doi:10.1038/ki.2008.500.
- Li, Li, Liping Huang, Amy L. Vergis, Hong Ye, Amandeep Bajwa, Vivek Narayan, Robert M. Strieter, Diane L. Rosin, et Mark D. Okusa. 2010. « IL-17 Produced by Neutrophils Regulates IFN-Gamma-Mediated Neutrophil Migration in Mouse Kidney Ischemia-Reperfusion Injury ». *The Journal of Clinical Investigation* 120 (1): 331-42. doi:10.1172/JCI38702.
- Li, Li, et Mark D. Okusa. 2010. « Macrophages, Dendritic Cells, and Kidney Ischemia-Reperfusion Injury ». *Seminars in Nephrology* 30 (3): 268-77. doi:10.1016/j.semnephrol.2010.03.005.
- Li, Xiaoyun, Yan Yue, Yuanyuan Zhu, et Sidong Xiong. 2015. « Extracellular, but Not Intracellular HMGB1, Facilitates Self-DNA Induced Macrophage Activation via Promoting DNA Accumulation in Endosomes and Contributes to the Pathogenesis of Lupus Nephritis ». *Molecular Immunology* 65 (1): 177-88. doi:10.1016/j.molimm.2015.01.023.
- Li, Zhen, Lili Zhou, Yongping Wang, Jinhua Miao, Xue Hong, Fan Fan Hou, et Youhua Liu. 2017. « (Pro)Renin Receptor Is an Amplifier of Wnt/ β -Catenin Signaling in Kidney Injury and Fibrosis ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN, mars*. doi:10.1681/ASN.2016070811.
- Little, Melissa H., Dennis Brown, Benjamin D. Humphreys, Andrew P. McMahon, Jeffrey H. Miner, Jeff M. Sands, Ora A. Weisz, Chris Mullins, et Deborah Hoshizaki. 2014. « Defining Kidney Biology to Understand Renal Disease ». *Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 9 (4): 809. doi:10.2215/CJN.10851013.
- Liu, Shiguang, Donna B. Stolz, Penny L. Sappington, Carlos A. Macias, Meaghan E. Killeen, Jyrki J. Tenhunen, Russell L. Delude, et Mitchell P. Fink. 2006. « HMGB1 Is Secreted by Immunostimulated Enterocytes and Contributes to Cytomix-Induced Hyperpermeability of Caco-2 Monolayers ». *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 290 (4): C990-999. doi:10.1152/ajpcell.00308.2005.
- Liu, Xi, Michal Hammel, Yanfeng He, John A. Tainer, U.-Ser Jeng, Linqi Zhang, Shuying Wang, et Xinquan Wang. 2013. « Structural Insights into the Interaction of IL-33 with Its Receptors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (37): 14918-23. doi:10.1073/pnas.1308651110.
- Löhning, M., A. Stroehmann, A. J. Coyle, J. L. Grogan, S. Lin, J. C. Gutierrez-Ramos, D. Levinson, A. Radbruch, et T. Kamradt. 1998. « T1/ST2 Is Preferentially Expressed on Murine Th2 Cells, Independent of Interleukin 4, Interleukin 5, and Interleukin 10, and Important for Th2 Effector Function ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (12): 6930-35.

- Looringh van Beeck, Frank A., Peter Reinink, Roel Hermsen, Dirk M. Zajonc, Marielle J. Laven, Axel Fun, Milana Troskie, et al. 2009. « Functional CD1d and/or NKT cell invariant chain transcript in horse, pig, African elephant and guinea pig, but not in ruminants ». *Molecular Immunology* 46 (7): 1424-31. doi:10.1016/j.molimm.2008.12.009.
- Lotter, Hannelore, Nestor González-Roldán, Buko Lindner, Florian Winau, Armando Isibasi, Martha Moreno-Lafont, Artur J. Ulmer, Otto Holst, Egbert Tannich, et Thomas Jacobs. 2009. « Natural Killer T Cells Activated by a Lipopeptidophosphoglycan from *Entamoeba Histolytica* Are Critically Important to Control Amebic Liver Abscess ». *PLoS Pathogens* 5 (5): e1000434. doi:10.1371/journal.ppat.1000434.
- Lu, Ben, Takahisa Nakamura, Karen Inouye, Jianhua Li, Yiting Tang, Peter Lundbäck, Sergio I Valdes-Ferrer, et al. 2012. « Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release ». *Nature* 488 (7413): 670-74. doi:10.1038/nature11290.
- Lu, Rui-Chun, Meng-Shan Tan, Hao Wang, An-Mu Xie, Jin-Tai Yu, et Lan Tan. 2014. « Heat Shock Protein 70 in Alzheimer's Disease ». *BioMed Research International* 2014 (novembre): e435203. doi:10.1155/2014/435203.
- Lugrin, Jérôme, Roumen Parapanov, Nathalie Rosenblatt-Velin, Stéphanie Rignault-Clerc, François Feihl, Bernard Waeber, Olivier Müller, et al. 2015. « Cutting Edge: IL-1 α Is a Crucial Danger Signal Triggering Acute Myocardial Inflammation during Myocardial Infarction ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 194 (2): 499-503. doi:10.4049/jimmunol.1401948.
- Lukacs-Kornek, Veronika, Sven Burgdorf, Linda Diehl, Sabine Specht, Mirosław Kornek, et Christian Kurts. 2008. « The Kidney-Renal Lymph Node-System Contributes to Cross-Tolerance against Innocuous Circulating Antigen ». *The Journal of Immunology* 180 (2): 706-15. doi:10.4049/jimmunol.180.2.706.
- Luo, Yi, Yongqin Zhou, Wei Xiao, Zhihui Liang, Jiawei Dai, Xiufang Weng, et Xiongwen Wu. 2014. « Interleukin-33 Ameliorates Ischemic Brain Injury in Experimental Stroke through Promoting Th2 Response and Suppressing Th17 Response ». *Brain Research*, décembre. doi:10.1016/j.brainres.2014.12.005.
- Lüthi, Alexander U., Sean P. Cullen, Edel A. McNeela, Patrick J. Duriez, Inna S. Afonina, Clare Sheridan, Gabriela Brumatti, et al. 2009. « Suppression of Interleukin-33 Bioactivity through Proteolysis by Apoptotic Caspases ». *Immunity* 31 (1): 84-98. doi:10.1016/j.immuni.2009.05.007.
- Lynch, Lydia, Xavier Michelet, Sai Zhang, Patrick J. Brennan, Ashley Moseman, Chantel Lester, Gurdyal Besra, et al. 2015. « Regulatory INKT Cells Lack Expression of the Transcription Factor PLZF and Control the Homeostasis of T(Reg) Cells and Macrophages in Adipose Tissue ». *Nature Immunology* 16 (1): 85-95. doi:10.1038/ni.3047.
- Lynch, Lydia, Donal O'Shea, Desmond C. Winter, Justin Geoghegan, Derek G. Doherty, et Cliona O'Farrelly. 2009. « Invariant NKT Cells and CD1d(+) Cells Amass in Human Omentum and Are Depleted in Patients with Cancer and Obesity ». *European Journal of Immunology* 39 (7): 1893-1901. doi:10.1002/eji.200939349.
- MacDonald, H. Robson. 2000. « Cd1d-Glycolipid Tetramers ». *The Journal of Experimental Medicine* 192 (5): f15-20.
- Madouri, Fahima, Noëlline Guillou, Louis Fauconnier, Tiffany Marchiol, Nathalie Rouxel, Pauline Chenuet, Aurélie Ledru, et al. 2015. « Caspase-1 Activation by NLRP3 Inflammasome Dampens IL-33-Dependent House Dust Mite-Induced Allergic Lung Inflammation ». *Journal of Molecular Cell Biology* 7 (4): 351-65. doi:10.1093/jmcb/mjv012.

- Makino, Y., N. Yamagata, T. Sasho, Y. Adachi, R. Kanno, H. Koseki, M. Kanno, et M. Taniguchi. 1993. « Extrathymic Development of V Alpha 14-Positive T Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 177 (5): 1399-1408.
- Mansell, Holly, Mahmoud Soliman, Hamdi Elmoselhi, et Ahmed Shoker. 2015. « Elevated Circulating Interleukin 33 Levels in Stable Renal Transplant Recipients at High Risk for Cardiovascular Events ». *PLOS ONE* 10 (11): e0142141. doi:10.1371/journal.pone.0142141.
- Mar, Daniel, Sina A. Gharib, Richard A. Zager, Ali Johnson, Oleg Denisenko, et Karol Bomsztyk. 2015. « Heterogeneity of Epigenetic Changes at Ischemia/Reperfusion- and Endotoxin-Induced Acute Kidney Injury Genes ». *Kidney International* 88 (4): 734-44. doi:10.1038/ki.2015.164.
- Marques, Vilmar Paiva, Giselle Martins Gonçalves, Carla Quarin Feitoza, Marcos Antonio Cenedeze, Ana Paula Fernandes Bertocchi, Marcio Jose Damião, Helady Sanders Pinheiro, et al. 2006. « Influence of TH1/TH2 Switched Immune Response on Renal Ischemia-Reperfusion Injury ». *Nephron. Experimental Nephrology* 104 (1): e48-56. doi:10.1159/000093676.
- Martina, Maria N., Sanjeev Noel, Ankit Saxena, Samatha Bandapalle, Richa Majithia, Chunfa Jie, Lois J. Arend, Mohamad E. Allaf, Hamid Rabb, et Abdel Rahim A. Hamad. 2016. « Double-Negative A β T Cells Are Early Responders to AKI and Are Found in Human Kidney ». *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 27 (4): 1113. doi:10.1681/ASN.2014121214.
- Martin-Sanchez, Diego, Olga Ruiz-Andres, Jonay Poveda, Susana Carrasco, Pablo Cannata-Ortiz, Maria D. Sanchez-Niño, Marta Ruiz Ortega, et al. 2017. « Ferroptosis, but Not Necroptosis, Is Important in Nephrotoxic Folic Acid-Induced AKI ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 28 (1): 218-29. doi:10.1681/ASN.2015121376.
- Matsuda, Jennifer L., Laurent Gapin, Stéphane Sidobre, William C. Kieper, Joyce T. Tan, Rhodri Ceredig, Charles D. Surh, et Mitchell Kronenberg. 2002. « Homeostasis of V Alpha 14i NKT Cells ». *Nature Immunology* 3 (10): 966-74. doi:10.1038/ni837.
- Matsuda, Jennifer L., Thierry Mallevaey, James Scott-Browne, et Laurent Gapin. 2008. « CD1d-restricted iNKT cells, the “Swiss-Army knife” of the immune system ». *Current opinion in immunology* 20 (3): 358-68. doi:10.1016/j.coi.2008.03.018.
- Matsuda, Jennifer L., Olga V. Naidenko, Laurent Gapin, Toshinori Nakayama, Masaru Taniguchi, Chyung-Ru Wang, Yasuhiko Koezuka, et Mitchell Kronenberg. 2000. « Tracking the Response of Natural Killer T Cells to a Glycolipid Antigen Using Cd1d Tetramers ». *The Journal of Experimental Medicine* 192 (5): 741-54.
- Matsuda, Jennifer L., Qianjun Zhang, Rachel Ndonye, Stewart K. Richardson, Amy R. Howell, et Laurent Gapin. 2006. « T-bet concomitantly controls migration, survival, and effector functions during the development of V α 14i NKT cells ». *Blood* 107 (7): 2797-2805. doi:10.1182/blood-2005-08-3103.
- Matta, Benjamin M., Jeremy M. Lott, Lisa R. Mathews, Quan Liu, Brian R. Rosborough, Bruce R. Blazar, et Hēth R. Turnquist. 2014. « IL-33 Is an Unconventional Alarmin That Stimulates IL-2 Secretion by Dendritic Cells to Selectively Expand IL-33R/ST2+ Regulatory T Cells ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 193 (8): 4010-20. doi:10.4049/jimmunol.1400481.
- Mattner, Jochen, Kristin L. DeBord, Nahed Ismail, Randal D. Goff, Carlos Cantu, Dapeng Zhou, Pierre Saint-Mezard, et al. 2005. « Exogenous and Endogenous Glycolipid Antigens Activate NKT Cells during Microbial Infections ». *Nature* 434 (7032): 525-29. doi:10.1038/nature03408.

- Mattner, Jochen, Kristin L. Debord, Nahed Ismail, Randal D. Goff, Carlos Cantu, Dapeng Zhou, Pierre Saint-Mezard, et al. 2005. « Exogenous and Endogenous Glycolipid Antigens Activate NKT Cells during Microbial Infections ». *Nature* 434 (7032): 525-29. doi:10.1038/nature03408.
- Matzinger, P. 1994. « Tolerance, Danger, and the Extended Family ». *Annual Review of Immunology* 12: 991-1045. doi:10.1146/annurev.iy.12.040194.005015.
- McEver, Rodger P. 2015. « Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall ». *Cardiovascular Research* 107 (3): 331-39. doi:10.1093/cvr/cvv154.
- McEwen-Smith, Rosanna M, Mariolina Salio, et Vincenzo Cerundolo. 2015. « The regulatory role of invariant NKT cells in tumor immunity ». *Cancer immunology research* 3 (5): 425-35. doi:10.1158/2326-6066.CIR-15-0062.
- McMahon, Andrew P. 2016. « Development of the Mammalian Kidney ». *Current Topics in Developmental Biology* 117: 31. doi:10.1016/bs.ctdb.2015.10.010.
- Meng, Xiao-Ming, David J. Nikolic-Paterson, et Hui Yao Lan. 2014. « Inflammatory Processes in Renal Fibrosis ». *Nature Reviews. Nephrology* 10 (9): 493-503. doi:10.1038/nrneph.2014.114.
- Merad, Miriam, Priyanka Sathe, Julie Helft, Jennifer Miller, et Arthur Mortha. 2013. « The Dendritic Cell Lineage: Ontogeny and Function of Dendritic Cells and Their Subsets in the Steady State and the Inflamed Setting ». *Annual Review of Immunology* 31. doi:10.1146/annurev-immunol-020711-074950.
- Messmer, Davorka, Huan Yang, Gloria Telusma, Faye Knoll, Jianhua Li, Bradley Messmer, Kevin J. Tracey, et Nicholas Chiorazzi. 2004. « High Mobility Group Box Protein 1: An Endogenous Signal for Dendritic Cell Maturation and Th1 Polarization ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 173 (1): 307-13.
- Mirchandani, Ananda S., Robert J. Salmond, et Foo Y. Liew. 2012. « Interleukin-33 and the Function of Innate Lymphoid Cells ». *Trends in Immunology* 33 (8): 389-96. doi:10.1016/j.it.2012.04.005.
- Mise, Naoko, Mariko Takami, Akane Suzuki, Toshiko Kamata, Kazuaki Harada, Tomoro Hishiki, Takeshi Saito, et al. 2016. « Antibody-dependent cellular cytotoxicity toward neuroblastoma enhanced by activated invariant natural killer T cells ». *Cancer Science* 107 (3): 233-41. doi:10.1111/cas.12882.
- Mishra, Jaya, Qing Ma, Anne Prada, Mark Mitsnefes, Kamyar Zahedi, Jun Yang, Jonathan Barasch, et Prasad Devarajan. 2003. « Identification of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Novel Early Urinary Biomarker for Ischemic Renal Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 14 (10): 2534-43.
- Mitola, Stefania, Mirella Belleri, Chiara Urbinati, Daniela Coltrini, Bianca Sparatore, Marco Pedrazzi, Edon Melloni, et Marco Presta. 2006. « Cutting Edge: Extracellular High Mobility Group Box-1 Protein Is a Proangiogenic Cytokine ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 176 (1): 12-15.
- Miyamoto, K., S. Miyake, et T. Yamamura. 2001. « A Synthetic Glycolipid Prevents Autoimmune Encephalomyelitis by Inducing TH2 Bias of Natural Killer T Cells ». *Nature* 413 (6855): 531-34. doi:10.1038/35097097.
- Mogensen, Trine H. 2009. « Pathogen Recognition and Inflammatory Signaling in Innate Immune Defenses ». *Clinical Microbiology Reviews* 22 (2): 240-73. doi:10.1128/CMR.00046-08.
- Mohapatra, A., S. J. Van Dyken, C. Schneider, J. C. Nussbaum, H.-E. Liang, et R. M. Locksley. 2016. « Group 2 Innate Lymphoid Cells Utilize the IRF4-IL-9 Module to Coordinate Epithelial Cell Maintenance of Lung Homeostasis ». *Mucosal Immunology* 9 (1): 275-86. doi:10.1038/mi.2015.59.

- Molitoris, Bruce A., et Timothy A. Sutton. 2004. « Endothelial Injury and Dysfunction: Role in the Extension Phase of Acute Renal Failure ». *Kidney International* 66 (2): 496-99. doi:10.1111/j.1523-1755.2004.761_5.x.
- Molofsky, Ari B., Adam Savage, et Richard M. Locksley. 2015. « Interleukin-33 in tissue homeostasis, injury and inflammation ». *Immunity* 42 (6): 1005-19. doi:10.1016/j.immuni.2015.06.006.
- Monteiro, Marta, Catarina F. Almeida, Marta Caridade, Julie C. Ribot, Joana Duarte, Ana Aguiar-Doce, Ivonne Wollenberg, Bruno Silva-Santos, et Luis Graca. 2010. « Identification of Regulatory Foxp3+ Invariant NKT Cells Induced by TGF-Beta ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 185 (4): 2157-63. doi:10.4049/jimmunol.1000359.
- Montoya, Carlos J, David Pollard, Jeffrey Martinson, Kumud Kumari, Clive Wasserfall, Candice B Mulder, Maria T Rugeles, Mark A Atkinson, Alan L Landay, et S Brian Wilson. 2007. « Characterization of human invariant natural killer T subsets in health and disease using a novel invariant natural killer T cell-clonotypic monoclonal antibody, 6B11 ». *Immunology* 122 (1): 1-14. doi:10.1111/j.1365-2567.2007.02647.x.
- Moody, D. B., B. B. Reinhold, M. R. Guy, E. M. Beckman, D. E. Frederique, S. T. Furlong, S. Ye, et al. 1997. « Structural Requirements for Glycolipid Antigen Recognition by CD1b-Restricted T Cells ». *Science (New York, N.Y.)* 278 (5336): 283-86.
- Moody, D. Branch, Dirk M. Zajonc, et Ian A. Wilson. 2005. « Anatomy of CD1-lipid Antigen Complexes ». *Nature Reviews Immunology* 5 (5): 387-99. doi:10.1038/nri1605.
- Moran, Amy E., Keli L. Holzapfel, Yan Xing, Nicole R. Cunningham, Jonathan S. Maltzman, Jennifer Punt, et Kristin A. Hogquist. 2011. « T Cell Receptor Signal Strength in Treg and INKT Cell Development Demonstrated by a Novel Fluorescent Reporter Mouse ». *The Journal of Experimental Medicine* 208 (6): 1279-89. doi:10.1084/jem.20110308.
- Moreira-Teixeira, Lúcia, Mariana Resende, Odile Devergne, Jean-Philippe Herbeuval, Olivier Hermine, Elke Schneider, Michel Dy, Anabela Cordeiro-da-Silva, et Maria C. Leite-de-Moraes. 2012. « Rapamycin Combined with TGF- β Converts Human Invariant NKT Cells into Suppressive Foxp3+ Regulatory Cells ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 188 (2): 624-31. doi:10.4049/jimmunol.1102281.
- Morimoto, R. I. 1998. « Regulation of the Heat Shock Transcriptional Response: Cross Talk between a Family of Heat Shock Factors, Molecular Chaperones, and Negative Regulators ». *Genes & Development* 12 (24): 3788-96.
- Morita, Hideaki, Ken Arae, Hiroto Unno, Kousuke Miyauchi, Sumika Toyama, Aya Nambu, Keisuke Oboki, et al. 2015. « An Interleukin-33-Mast Cell-Interleukin-2 Axis Suppresses Papain-Induced Allergic Inflammation by Promoting Regulatory T Cell Numbers ». *Immunity* 43 (1): 175-86. doi:10.1016/j.immuni.2015.06.021.
- Morita, M., K. Motoki, K. Akimoto, T. Natori, T. Sakai, E. Sawa, K. Yamaji, Y. Koezuka, E. Kobayashi, et H. Fukushima. 1995. « Structure-Activity Relationship of Alpha-Galactosylceramides against B16-Bearing Mice ». *Journal of Medicinal Chemistry* 38 (12): 2176-87.
- Mou, Kuanhou, Wei Liu, Dan Han, et Pan Li. 2017. « HMGB1/RAGE axis promotes autophagy and protects keratinocytes from ultraviolet radiation-induced cell death ». *Journal of Dermatological Science* 85 (3): 162-69. doi:10.1016/j.jdermsci.2016.12.011.
- Moussion, Christine, Nathalie Ortega, et Jean-Philippe Girard. 2008. « The IL-1-like Cytokine IL-33 Is Constitutively Expressed in the Nucleus of Endothelial Cells and Epithelial Cells in Vivo: A Novel "Alarmin"? ». *PloS One* 3 (10): e3331. doi:10.1371/journal.pone.0003331.
- Mycko, Marcin P., Isabel Ferrero, Anne Wilson, Wei Jiang, Teresa Bianchi, Andreas Trumpp, et H. Robson MacDonald. 2009. « Selective Requirement for C-Myc at an Early Stage of

- V(Alpha)14i NKT Cell Development ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 182 (8): 4641-48. doi:10.4049/jimmunol.0803394.
- Nakajima, Atsuo. 2006. « Application of cellular gene therapy for rheumatoid arthritis ». *Modern Rheumatology* 16 (5): 269-75. doi:10.1007/s10165-006-0501-7.
- Nakazawa, Michael S., Brian Keith, et M. Celeste Simon. 2016. « Oxygen Availability and Metabolic Adaptations ». *Nature Reviews Cancer* 16 (10): 663-73. doi:10.1038/nrc.2016.84.
- Negre-Salvayre, Anne, Robert Salvayre, Nathalie Augé, Reinald Pamplona, et Manuel Portero-Otín. 2009. « Hyperglycemia and Glycation in Diabetic Complications ». *Antioxidants & Redox Signaling* 11 (12): 3071-3109. doi:10.1089/ars.2009.2484.
- Nezu, Masahiro, Tomokazu Souma, Lei Yu, Takafumi Suzuki, Daisuke Saigusa, Sadayoshi Ito, Norio Suzuki, et Masayuki Yamamoto. 2017. « Transcription Factor Nrf2 Hyperactivation in Early-Phase Renal Ischemia-Reperfusion Injury Prevents Tubular Damage Progression ». *Kidney International* 91 (2): 387-401. doi:10.1016/j.kint.2016.08.023.
- Niehues, T., B. Gulwani-Akolkar, P. N. Akolkar, W. Tax, et J. Silver. 1994. « Unique Phenotype and Distinct TCR V Beta Repertoire in Human Peripheral Blood Alpha Beta TCR+, CD4-, and CD8- Double Negative T Cells ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 152 (3): 1072-81.
- Niemann-Masanek, Ulrike, Alexander Mueller, Benito A. Yard, Ruediger Waldherr, et Fokko J. van der Woude. 2002. « B7-1 (CD80) and B7-2 (CD 86) Expression in Human Tubular Epithelial Cells in Vivo and in Vitro ». *Nephron* 92 (3): 542-56. doi:64084.
- Noël, Laure-Hélène. 2008. *Atlas de pathologie rénale*. Médecine Sciences Publications.
- Nogueira, António, Maria João Pires, et Paula Alexandra Oliveira. 2017. « Pathophysiological Mechanisms of Renal Fibrosis: A Review of Animal Models and Therapeutic Strategies ». *In Vivo* 31 (1): 1. doi:10.21873/invivo.11019.
- Nours, Jérôme Le, T. Praveena, Daniel G. Pellicci, Nicholas A. Gherardin, Fiona J. Ross, Ricky T. Lim, Gurdyal S. Besra, et al. 2016. « Atypical Natural Killer T-Cell Receptor Recognition of CD1d–lipid Antigens ». *Nature Communications* 7 (février): 10570. doi:10.1038/ncomms10570.
- Nunez-Cruz, Selene, W.C. Janice Yeo, Jennifer Rothman, Priti Ojha, Hamid Bassiri, Marisa Juntilla, Dominique Davidson, André Veillette, Gary A. Koretzky, et Kim E. Nichols. 2008. « Differential requirement for the SAP-Fyn interaction during natural killer T cell development and function ». *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 181 (4): 2311-20.
- Ohno, Tatsukuni, Keisuke Oboki, Naoki Kajiwara, Eiichi Morii, Katsuyuki Aozasa, Richard A. Flavell, Ko Okumura, Hirohisa Saito, et Susumu Nakae. 2009. « Caspase-1, Caspase-8, and Calpain Are Dispensable for IL-33 Release by Macrophages ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 183 (12): 7890-97. doi:10.4049/jimmunol.0802449.
- Ojo, Oluwaseun O., Min Hyung Ryu, Aruni Jha, Helmut Unruh, et Andrew J. Halayko. 2015. « High-Mobility Group Box 1 Promotes Extracellular Matrix Synthesis and Wound Repair in Human Bronchial Epithelial Cells ». *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* 309 (11): L1354-66. doi:10.1152/ajplung.00054.2015.
- Onda, H., H. Kasuya, K. Takakura, T. Hori, T. Imaizumi, T. Takeuchi, I. Inoue, et J. Takeda. 1999. « Identification of Genes Differentially Expressed in Canine Vasospastic Cerebral Arteries after Subarachnoid Hemorrhage ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 19 (11): 1279-88. doi:10.1097/00004647-199911000-00013.

- Ou, Jiang-Rong, Meng-Shan Tan, An-Mu Xie, Jin-Tai Yu, et Lan Tan. 2014. « Heat Shock Protein 90 in Alzheimer's Disease ». *BioMed Research International* 2014 (octobre): e796869. doi:10.1155/2014/796869.
- Oyama, Yoko, Teruto Hashiguchi, Noboru Taniguchi, Salunya Tancharoen, Tomonori Uchimura, Kamal K. Biswas, Ko-Ichi Kawahara, et al. 2010. « High-Mobility Group Box-1 Protein Promotes Granulomatous Nephritis in Adenine-Induced Nephropathy ». *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 90 (6): 853-66. doi:10.1038/labinvest.2010.64.
- Pacher, Pal, et Csaba Szabo. 2008. « Role of the Peroxynitrite-Poly(ADP-Ribose) Polymerase Pathway in Human Disease ». *The American Journal of Pathology* 173 (1): 2-13. doi:10.2353/ajpath.2008.080019.
- Paget, Christophe, Stoyan Ivanov, Josette Fontaine, Joelle Renneson, Fany Blanc, Muriel Pichavant, Laure Dumoutier, et al. 2012. « Interleukin-22 Is Produced by Invariant Natural Killer T Lymphocytes during Influenza A Virus Infection: Potential Role in Protection against Lung Epithelial Damages ». *The Journal of Biological Chemistry* 287 (12): 8816-29. doi:10.1074/jbc.M111.304758.
- Paget, Christophe, Thierry Malleveay, Anneliese O. Speak, David Torres, Josette Fontaine, Kathleen C. F. Sheehan, Monique Capron, et al. 2007. « Activation of Invariant NKT Cells by Toll-like Receptor 9-Stimulated Dendritic Cells Requires Type I Interferon and Charged Glycosphingolipids ». *Immunity* 27 (4): 597-609. doi:10.1016/j.immuni.2007.08.017.
- Pannabecker, Thomas L., et Anita T. Layton. 2014. « Targeted Delivery of Solutes and Oxygen in the Renal Medulla: Role of Microvessel Architecture ». *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 307 (6): F649-55. doi:10.1152/ajprenal.00276.2014.
- Panzer, Ulf, Oliver M. Steinmetz, Rüdiger R. Reinking, Tobias N. Meyer, Susanne Fehr, André Schneider, Gunther Zahner, et al. 2006. « Compartment-Specific Expression and Function of the Chemokine IP-10/CXCL10 in a Model of Renal Endothelial Microvascular Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology* 17 (2): 454-64. doi:10.1681/ASN.2005040364.
- Park, Geun Ho, Helen Ki Shinn, Ju-Hee Kang, Won Ju Na, Young Hyo Kim, et Chang-Shin Park. 2016. « Anti-Interleukin-33 Reduces Ovalbumin-Induced Nephrotoxicity and Expression of Kidney Injury Molecule-1 ». *International Neurology Journal* 20 (2): 114-21. doi:10.5213/inj.1632578.289.
- Park, Sang Won, Mihwa Kim, Kevin M. Brown, Vivette D. D'Agati, et H. Thomas Lee. 2011. « Paneth Cell-Derived Interleukin-17A Causes Multiorgan Dysfunction after Hepatic Ischemia and Reperfusion Injury ». *Hepatology (Baltimore, Md.)* 53 (5): 1662-75. doi:10.1002/hep.24253.
- Parker, George A. 2017. *Immunopathology in Toxicology and Drug Development: Volume 2, Organ Systems*. Springer.
- Pascual-Figal, Domingo A., et James L. Januzzi. 2015. « The Biology of ST2: The International ST2 Consensus Panel ». *The American Journal of Cardiology* 115 (7 Suppl): 3B-7B. doi:10.1016/j.amjcard.2015.01.034.
- Pellicci, Daniel G., Kirsten J. L. Hammond, Adam P. Uldrich, Alan G. Baxter, Mark J. Smyth, et Dale I. Godfrey. 2002. « A Natural Killer T (NKT) Cell Developmental Pathway Involving a Thymus-Dependent NK1.1(-)CD4(+) CD1d-Dependent Precursor Stage ». *The Journal of Experimental Medicine* 195 (7): 835-44.
- Penzo, Marianna, Raffaella Molteni, Tomomi Suda, Sylvia Samaniego, Angela Raucchi, David M. Habel, Frederick Miller, et al. 2010. « Inhibitor of NF- κ B Kinases α and β Are Both

- Essential for High Mobility Group Box 1-Mediated Chemotaxis ». *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 184 (8): 4497-4509. doi:10.4049/jimmunol.0903131.
- Pichery, Mélanie, Emilie Mirey, Pascale Mercier, Emma Lefrancais, Arnaud Dujardin, Nathalie Ortega, et Jean-Philippe Girard. 2012. « Endogenous IL-33 Is Highly Expressed in Mouse Epithelial Barrier Tissues, Lymphoid Organs, Brain, Embryos, and Inflamed Tissues: In Situ Analysis Using a Novel Il-33-LacZ Gene Trap Reporter Strain ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 188 (7): 3488-95. doi:10.4049/jimmunol.1101977.
- Pluznick, Jennifer L. 2016. « Gut Microbiota in Renal Physiology: Focus on Short-Chain Fatty Acids and Their Receptors ». *Kidney International* 90 (6): 1191-98. doi:10.1016/j.kint.2016.06.033.
- Porcelli, S., C. E. Yockey, M. B. Brenner, et S. P. Balk. 1993. « Analysis of T Cell Antigen Receptor (TCR) Expression by Human Peripheral Blood CD4-8- Alpha/Beta T Cells Demonstrates Preferential Use of Several V Beta Genes and an Invariant TCR Alpha Chain ». *The Journal of Experimental Medicine* 178 (1): 1-16.
- Porto, Annalisa, Roberta Palumbo, Maurizio Pieroni, Gianfranco Aprigliano, Roberto Chiesa, Francesca Sanvito, Attilio Maseri, et Marco E. Bianchi. 2006. « Smooth Muscle Cells in Human Atherosclerotic Plaques Secrete and Proliferate in Response to High Mobility Group Box 1 Protein ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 20 (14): 2565-66. doi:10.1096/fj.06-5867fje.
- Porubsky, Stefan, Anneliese O. Speak, Bruno Luckow, Vincenzo Cerundolo, Frances M. Platt, et Hermann-Josef Gröne. 2007. « Normal Development and Function of Invariant Natural Killer T Cells in Mice with Isoglobotrihexosylceramide (IGb3) Deficiency ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (14): 5977-82. doi:10.1073/pnas.0611139104.
- Pradeu, Thomas, et Edwin L. Cooper. 2012. « The Danger Theory: 20 Years Later ». *Frontiers in Immunology* 3. doi:10.3389/fimmu.2012.00287.
- Prakash, Jai, Martin H. de Borst, Marie Lacombe, Frank Opdam, Pieter A. Klok, Harry van Goor, Dirk K.F. Meijer, Frits Moolenaar, Klaas Poelstra, et Robbert J. Kok. 2008. « Inhibition of Renal Rho Kinase Attenuates Ischemia/Reperfusion-Induced Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 19 (11): 2086-97. doi:10.1681/ASN.2007070794.
- Pressly, Jeffrey D., Taketsugu Hama, Shannon O' Brien, Kevin R. Regner, et Frank Park. 2017. « TRIP13-Deficient Tubular Epithelial Cells Are Susceptible to Apoptosis Following Acute Kidney Injury ». *Scientific Reports* 7 (mars): 43196. doi:10.1038/srep43196.
- Qi, Weier, Xinming Chen, Philip Poronnik, et Carol A. Pollock. 2006. « The Renal Cortical Fibroblast in Renal Tubulointerstitial Fibrosis ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38 (1): 1-5. doi:10.1016/j.biocel.2005.09.005.
- Qiao, Xiaohong, Xiaotian Xie, Wei Shi, Jinqing Tang, Yuexia Shao, et Fuxing Li. 2015. « OCH-Mediated Shift of Th1 and Th2 Cytokines by NKT Cells in Mice with Aplastic Anemia ». *Medical Oncology (Northwood, London, England)* 32 (3): 67. doi:10.1007/s12032-015-0523-0.
- Qiu, Bo, et M. Celeste Simon. 2015. « Oncogenes Strike a Balance between Cellular Growth and Homeostasis ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 43 (juillet): 3-10. doi:10.1016/j.semcdb.2015.08.005.
- Rak, Gregory D., Lisa C. Osborne, Mark C. Siracusa, Brian S. Kim, Kelvin Wang, Ardeshir Bayat, David Artis, et Susan W. Volk. 2016. « IL-33-Dependent Group 2 Innate Lymphoid Cells Promote Cutaneous Wound Healing ». *The Journal of Investigative Dermatology* 136 (2): 487-96. doi:10.1038/JID.2015.406.
- Ranganathan, Punithavathi V., Calpurnia Jayakumar, Riyaz Mohamed, Zheng Dong, et Ganesan Ramesh. 2013. « Netrin-1 Regulates the Inflammatory Response of Neutrophils and

- Macrophages, and Suppresses Ischemic Acute Kidney Injury by Inhibiting COX-2-Mediated PGE2 Production ». *Kidney International* 83 (6): 1087-98. doi:10.1038/ki.2012.423.
- Rao, Jianhua, Ling Lu, et Yuan Zhai. 2014. « T cells in Organ Ischemia Reperfusion Injury ». *Current opinion in organ transplantation* 19 (2): 115-20. doi:10.1097/MOT.0000000000000064.
- Ratcliffe, Peter J. 2013. « Oxygen sensing and hypoxia signalling pathways in animals: the implications of physiology for cancer ». *The Journal of Physiology* 591 (Pt 8): 2027-42. doi:10.1113/jphysiol.2013.251470.
- Rauvala, H., J. Merenmies, R. Pihlaskari, M. Korkolainen, M. L. Huhtala, et P. Panula. 1988. « The Adhesive and Neurite-Promoting Molecule P30: Analysis of the Amino-Terminal Sequence and Production of Antipeptide Antibodies That Detect P30 at the Surface of Neuroblastoma Cells and of Brain Neurons ». *The Journal of Cell Biology* 107 (6 Pt 1): 2293-2305.
- Renner, Brandon, Derek Strassheim, Claudia R. Amura, Liudmila Kulik, Danica Ljubanovic, Magdalena J. Glogowska, Kazue Takahashi, Michael C. Carroll, V. Michael Holers, et Joshua M. Thurman. 2010. « B Cell Subsets Contribute to Renal Injury and Renal Protection after Ischemia/Reperfusion ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 185 (7): 4393-4400. doi:10.4049/jimmunol.0903239.
- Rickard, James A., Joanne A. O'Donnell, Joseph M. Evans, Najoua Lalaoui, Ashleigh R. Poh, TeWhiti Rogers, James E. Vince, et al. 2014. « RIPK1 Regulates RIPK3-MLKL-Driven Systemic Inflammation and Emergency Hematopoiesis ». *Cell* 157 (5): 1175-88. doi:10.1016/j.cell.2014.04.019.
- Riedel, Jan-Hendrik, Hans-Joachim Paust, Sonja Krohn, Jan-Eric Turner, Malte A. Kluger, Oliver M. Steinmetz, Christian F. Krebs, Rolf A. K. Stahl, et Ulf Panzer. 2016. « IL-17F Promotes Tissue Injury in Autoimmune Kidney Diseases ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 27 (12): 3666-77. doi:10.1681/ASN.2015101077.
- Roberts, W. G., et G. E. Palade. 1995. « Increased Microvascular Permeability and Endothelial Fenestration Induced by Vascular Endothelial Growth Factor ». *Journal of Cell Science* 108 (Pt 6) (juin): 2369-79.
- Rossjohn, Jamie, Stephanie Gras, John J. Miles, Stephen J. Turner, Dale I. Godfrey, et James McCluskey. 2015. « T Cell Antigen Receptor Recognition of Antigen-Presenting Molecules ». *Annual Review of Immunology* 33: 169-200. doi:10.1146/annurev-immunol-032414-112334.
- Rostan, Octavie, Muhammad Imran Arshad, Claire Piquet-Pellorce, Florence Robert-Gangneux, Jean-Pierre Gangneux, et Michel Samson. 2015. « Crucial and Diverse Role of the Interleukin-33/ST2 Axis in Infectious Diseases ». *Infection and Immunity* 83 (5): 1738-48. doi:10.1128/IAI.02908-14.
- Roussel, Lucie, Monique Erard, Corinne Cayrol, et Jean-Philippe Girard. 2008. « Molecular Mimicry between IL-33 and KSHV for Attachment to Chromatin through the H2A-H2B Acidic Pocket ». *EMBO Reports* 9 (10): 1006-12. doi:10.1038/embor.2008.145.
- Ruan, Yongle, Lu Wang, Yue Zhao, Ying Yao, Song Chen, Junhua Li, Hui Guo, et al. 2014. « Carbon Monoxide Potently Prevents Ischemia-Induced High-Mobility Group Box 1 Translocation and Release and Protects against Lethal Renal Ischemia-Reperfusion Injury ». *Kidney International* 86 (3): 525-37. doi:10.1038/ki.2014.80.
- Sag, Duygu, Petra Krause, Catherine C. Hedrick, Mitchell Kronenberg, et Gerhard Wingender. 2014. « IL-10-Producing NKT10 Cells Are a Distinct Regulatory Invariant NKT Cell Subset ». *The Journal of Clinical Investigation* 124 (9): 3725-40. doi:10.1172/JCI72308.

- Salio, Mariolina, Jonathan D. Silk, E. Yvonne Jones, et Vincenzo Cerundolo. 2014. « Biology of CD1- and MR1-Restricted T Cells ». *Annual Review of Immunology* 32: 323-66. doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120243.
- Salle, Henri de la, Sabrina Mariotti, Catherine Angenieux, Martine Gilleron, Luis-Fernando Garcia-Alles, Dag Malm, Thomas Berg, et al. 2005. « Assistance of Microbial Glycolipid Antigen Processing by CD1e ». *Science* 310 (5752): 1321-24. doi:10.1126/science.1115301.
- Saluja, Rohit, Mahejibin Khan, Martin K. Church, et Marcus Maurer. 2015. « The role of IL-33 and mast cells in allergy and inflammation ». *Clinical and Translational Allergy* 5 (septembre). doi:10.1186/s13601-015-0076-5.
- Samuel, Terry, Wendy E. Hoy, Rebecca Douglas-Denton, Michael D. Hughson, et John F. Bertram. 2005. « Determinants of Glomerular Volume in Different Cortical Zones of the Human Kidney ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 16 (10): 3102-9. doi:10.1681/ASN.2005010123.
- Sanada, Shoji, Daihiko Hakuno, Luke J. Higgins, Eric R. Schreiter, Andrew N. J. McKenzie, et Richard T. Lee. 2007. « IL-33 and ST2 Comprise a Critical Biomechanically Induced and Cardioprotective Signaling System ». *The Journal of Clinical Investigation* 117 (6): 1538-49. doi:10.1172/JCI30634.
- Sappington, Penny L., Runkuan Yang, Huan Yang, Kevin J. Tracey, Russell L. Delude, et Mitchell P. Fink. 2002. « HMGB1 B Box Increases the Permeability of Caco-2 Enterocytic Monolayers and Impairs Intestinal Barrier Function in Mice ». *Gastroenterology* 123 (3): 790-802.
- Sato, Hiroshi, Toshinori Nakayama, Yujiro Tanaka, Masakatsu Yamashita, Yoichi Shibata, Eisuke Kondo, Yasushi Saito, et Masaru Taniguchi. 1999. « Induction of differentiation of pre-NKT cells to mature V α 14 NKT cells by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (13): 7439-44.
- Savage, Adam K., Michael G. Constantinides, Jin Han, Damien Picard, Emmanuel Martin, Bofeng Li, Olivier Lantz, et Albert Bendelac. 2008. « The Transcription Factor PLZF Directs the Effector Program of the NKT Cell Lineage ». *Immunity* 29 (3): 391-403. doi:10.1016/j.immuni.2008.07.011.
- Scaffidi, Paola, Tom Misteli, et Marco E. Bianchi. 2002. « Release of Chromatin Protein HMGB1 by Necrotic Cells Triggers Inflammation ». *Nature* 418 (6894): 191-95. doi:10.1038/nature00858.
- Schiaffino, Stefano, Marcelo G. Pereira, Stefano Ciciliot, et Patrizia Rovere-Querini. 2017. « Regulatory T Cells and Skeletal Muscle Regeneration ». *The FEBS Journal* 284 (4): 517-24. doi:10.1111/febs.13827.
- Schiering, Chris, Thomas Krausgruber, Agnieszka Chomka, Anja Fröhlich, Krista Adelman, Elizabeth A. Wohlfert, Johanna Pott, et al. 2014. « The Alarmin IL-33 Promotes Regulatory T-Cell Function in the Intestine ». *Nature* 513 (7519): 564-68. doi:10.1038/nature13577.
- Schiraldi, Milena, Angela Raucci, Laura Martínez Muñoz, Elsa Livoti, Barbara Celona, Emilie Venereau, Tiziana Apuzzo, et al. 2012. « HMGB1 Promotes Recruitment of Inflammatory Cells to Damaged Tissues by Forming a Complex with CXCL12 and Signaling via CXCR4 ». *The Journal of Experimental Medicine* 209 (3): 551-63. doi:10.1084/jem.20111739.
- Schmitz, Jochen, Alexander Owyang, Elizabeth Oldham, Yaoli Song, Erin Murphy, Terri K. McClanahan, Gerard Zurawski, et al. 2005. « IL-33, an Interleukin-1-like Cytokine That

- Signals via the IL-1 Receptor-Related Protein ST2 and Induces T Helper Type 2-Associated Cytokines ». *Immunity* 23 (5): 479-90. doi:10.1016/j.immuni.2005.09.015.
- Schrimpf, Claudia, Cuiyan Xin, Gabriella Campanholle, Sean E. Gill, William Stallcup, Shuei-Liong Lin, George E. Davis, Sina A. Gharib, Benjamin D. Humphreys, et Jeremy S. Duffield. 2012. « Pericyte TIMP3 and ADAMTS1 Modulate Vascular Stability after Kidney Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 23 (5): 868-83. doi:10.1681/ASN.2011080851.
- Schwarz, Martin, Anela Taubitz, Nuru Eltrich, Shrikant R. Mulay, Ramanjaneyulu Allam, et Volker Vielhauer. 2013. « Analysis of TNF-Mediated Recruitment and Activation of Glomerular Dendritic Cells in Mouse Kidneys by Compartment-Specific Flow Cytometry ». *Kidney International* 84 (1): 116-29. doi:10.1038/ki.2013.46.
- Seiler, Michael P., Rebecca Mathew, Megan K. Liszewski, Chauncey J. Spooner, Chauncey Spooner, Kenneth Barr, Fanyong Meng, Harinder Singh, et Albert Bendelac. 2012. « Elevated and Sustained Expression of the Transcription Factors Egr1 and Egr2 Controls NKT Lineage Differentiation in Response to TCR Signaling ». *Nature Immunology* 13 (3): 264-71. doi:10.1038/ni.2230.
- Senft, Daniela, et Ze'ev A. Ronai. 2015. « UPR, Autophagy, and Mitochondria Crosstalk Underlies the ER Stress Response ». *Trends in Biochemical Sciences* 40 (3): 141-48. doi:10.1016/j.tibs.2015.01.002.
- Sharma, A. K., D. J. LaPar, M. L. Stone, Y. Zhao, I. L. Kron, et V. E. Laubach. 2013. « Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) on iNKT Cells Mediates Lung Ischemia-Reperfusion Injury ». *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 13 (9): 2255-67. doi:10.1111/ajt.12368.
- Sharma, Ashish Arunkumar, Leon Chew, Mihoko Ladd, Roger Jen, et Pascal M. Lavoie. 2011. « Ex vivo purification and characterization of human invariant Natural Killer T cells ». *Journal of immunological methods* 373 (0): 1-7. doi:10.1016/j.jim.2011.08.002.
- Sharma, Ashish K., Damien J. LaPar, Yunge Zhao, Li Li, Christine L. Lau, Irving L. Kron, Yoichiro Iwakura, Mark D. Okusa, et Victor E. Laubach. 2011. « Natural Killer T Cell-derived IL-17 Mediates Lung Ischemia-Reperfusion Injury ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 183 (11): 1539-49. doi:10.1164/rccm.201007-1173OC.
- Shelite, Thomas R., Yuejin Liang, Hui Wang, Nicole L. Mendell, Brandon J. Trent, Jiaren Sun, Bin Gong, et al. 2016. « IL-33-Dependent Endothelial Activation Contributes to Apoptosis and Renal Injury in *Orientia tsutsugamushi* -Infected Mice ». *PLOS Negl Trop Dis* 10 (3): e0004467. doi:10.1371/journal.pntd.0004467.
- Shen, Hua, Yang Song, Christopher M. Colangelo, Terence Wu, Can Bruce, Gaia Scabia, Anjela Galan, Margherita Maffei, et Daniel R. Goldstein. 2012. « Haptoglobin Activates Innate Immunity to Enhance Acute Transplant Rejection in Mice ». *The Journal of Clinical Investigation* 122 (1): 383-87. doi:10.1172/JCI58344.
- Shi, Yan, James E. Evans, et Kenneth L. Rock. 2003. « Molecular Identification of a Danger Signal That Alerts the Immune System to Dying Cells ». *Nature* 425 (6957): 516-21. doi:10.1038/nature01991.
- Shimamura, Kazuhiko, Hiroki Kawamura, Toru Nagura, Takashi Kato, Tetsuya Naito, Hitoshi Kameyama, Katsuyoshi Hatakeyama, et Toru Abo. 2005. « Association of NKT cells and granulocytes with liver injury after reperfusion of the portal vein ». *Cellular Immunology* 234 (1): 31-38. doi:10.1016/j.cellimm.2005.04.022.
- Shimokawa, Chikako, Takashi Kanaya, Masami Hachisuka, Kenji Ishiwata, Hajime Hisaeda, Yosuke Kurashima, Hiroshi Kiyono, Tomohiro Yoshimoto, Tsuneyasu Kaisho, et Hiroshi

- Ohno. 2017. « Mast Cells Are Crucial for Induction of Group 2 Innate Lymphoid Cells and Clearance of Helminth Infections ». *Immunity* 46 (5): 863-874.e4.
doi:10.1016/j.immuni.2017.04.017.
- Short, Kieran M., Alexander N. Combes, James Lefevre, Adler L. Ju, Kylie M. Georgas, Timothy Lamberton, Oliver Cairncross, et al. 2014. « Global Quantification of Tissue Dynamics in the Developing Mouse Kidney ». *Developmental Cell* 29 (2): 188-202.
doi:10.1016/j.devcel.2014.02.017.
- Simoni, Y, J Diana, L Ghazarian, L Beaudoin, et A Lehuen. 2013. « Therapeutic manipulation of natural killer (NK) T cells in autoimmunity: are we close to reality? » *Clinical and Experimental Immunology* 171 (1): 8-19. doi:10.1111/j.1365-2249.2012.04625.x.
- Singer, E., L. Markó, N. Paragas, J. Barasch, D. Dragun, D. N. Müller, K. Budde, et K. M. Schmidt-Ott. 2013. « Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin: Pathophysiology and Clinical Applications ». *Acta Physiologica (Oxford, England)* 207 (4): 663-72.
doi:10.1111/apha.12054.
- Singh, Mansher, Kristo Nuutila, Indranil Sinha, et Elof Eriksson. 2016. « Endotoxin-Induced Inflammation in a Rodent Model up-Regulates IL-1a Expression and CD45+ Leukocyte Recruitment and Increases the Rate of Reepithelialization and Wound Closure ». *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 24 (5): 820-28. doi:10.1111/wrr.12461.
- Smithgall, Molly D., Michael R. Comeau, Bo-Rin Park Yoon, Dawn Kaufman, Richard Armitage, et Dirk E. Smith. 2008. « IL-33 Amplifies Both Th1- and Th2-Type Responses through Its Activity on Human Basophils, Allergen-Reactive Th2 Cells, INKT and NK Cells ». *International Immunology* 20 (8): 1019-30. doi:10.1093/intimm/dxn060.
- Song, Juhyun, Won Taek Lee, Kyung Ah Park, et Jong Eun Lee. 2014. « Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) and Its Ligands: Focus on Spinal Cord Injury ». *International Journal of Molecular Sciences* 15 (8): 13172-91.
doi:10.3390/ijms150813172.
- Sponheim, Jon, Jürgen Pollheimer, Trine Olsen, Johanna Balogh, Clara Hammarström, Tamara Loos, Monika Kasprzycka, et al. 2010. « Inflammatory Bowel Disease-Associated Interleukin-33 Is Preferentially Expressed in Ulceration-Associated Myofibroblasts ». *The American Journal of Pathology* 177 (6): 2804-15. doi:10.2353/ajpath.2010.100378.
- Sriram, Venkataraman, Wenjun Du, Jacquelyn Gervay-Hague, et Randy R. Brutkiewicz. 2005. « Cell Wall Glycosphingolipids of *Sphingomonas Paucimobilis* Are CD1d-Specific Ligands for NKT Cells ». *European Journal of Immunology* 35 (6): 1692-1701.
doi:10.1002/eji.200526157.
- Srivastava, Pramod. 2002. « Interaction of Heat Shock Proteins with Peptides and Antigen Presenting Cells: Chaperoning of the Innate and Adaptive Immune Responses ». *Annual Review of Immunology* 20: 395-425. doi:10.1146/annurev.immunol.20.100301.064801.
- Stanic, Aleksandar K., Jelena S. Bezbradica, Jang-June Park, Luc Van Kaer, Mark R. Boothby, et Sebastian Joyce. 2004. « Cutting Edge: The Ontogeny and Function of Va14Ja18 Natural T Lymphocytes Require Signal Processing by Protein Kinase C Theta and NF-Kappa B ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 172 (8): 4667-71.
- Stefanska, Ania, Diana Eng, Natalya Kaverina, Jeremy S. Duffield, Jeffrey W. Pippin, Peter Rabinovitch, et Stuart J. Shankland. 2015. « Interstitial Pericytes Decrease in Aged Mouse Kidneys ». *Aging (Albany NY)* 7 (6): 370. doi:10.18632/aging.100756.
- Stock, Philippe, et Omid Akbari. 2008. « Recent Advances in the Role of NKT Cells in Allergic Diseases and Asthma ». *Current Allergy and Asthma Reports* 8 (2): 165-70.

- Stolz, Donna Beer, et Sunder Sims-Lucas. 2015. « Unwrapping the Origins and Roles of the Renal Endothelium ». *Pediatric Nephrology* (Berlin, Germany) 30 (6): 865. doi:10.1007/s00467-014-2798-3.
- Sykes, M. 1990. « Unusual T Cell Populations in Adult Murine Bone Marrow. Prevalence of CD3+CD4-CD8- and Alpha Beta TCR+NK1.1+ Cells ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 145 (10): 3209-15.
- Szczepanski, Mirosław J., Michał Luczak, Ewa Olszewska, Marta Molinska-Glura, Mariola Zagor, Antoni Krzeski, Henryk Skarzynski, et al. 2015. « Molecular Signaling of the HMGB1/RAGE Axis Contributes to Cholesteatoma Pathogenesis ». *Journal of Molecular Medicine* (Berlin, Germany) 93 (3): 305-14. doi:10.1007/s00109-014-1217-3.
- Taguchi, A., D. C. Blood, G. del Toro, A. Canet, D. C. Lee, W. Qu, N. Tanji, et al. 2000. « Blockade of RAGE-Amphoterin Signalling Suppresses Tumour Growth and Metastases ». *Nature* 405 (6784): 354-60. doi:10.1038/35012626.
- Takahashi, Tsuyoshi, Sussan Dejbakhsh-Jones, et Samuel Strober. 2006. « Expression of CD161 (NKR-P1A) Defines Subsets of Human CD4 and CD8 T Cells with Different Functional Activities ». *The Journal of Immunology* 176 (1): 211-16. doi:10.4049/jimmunol.176.1.211.
- Takeuchi, Takumi, Koichi Sakazume, Akiko Tonooka, Masayoshi Zaitso, Yuta Takeshima, Koji Mikami, et Toshimasa Uekusa. 2013. « Cytosolic HMGB1 Expression in Human Renal Clear Cell Cancer Indicates Higher Pathological T Classifications and Tumor Grades ». *Urology Journal* 10 (3): 960-65.
- Talabot-Ayer, Dominique, Nicolas Calo, Solenne Vigne, Céline Lamacchia, Cem Gabay, et Gaby Palmer. 2012. « The Mouse Interleukin (Il)33 Gene Is Expressed in a Cell Type- and Stimulus-Dependent Manner from Two Alternative Promoters ». *Journal of Leukocyte Biology* 91 (1): 119-25. doi:10.1189/jlb.0811425.
- Tan, Roderick J., Dong Zhou, Liangxiang Xiao, Lili Zhou, Yingjian Li, Sheldon I. Bastacky, Tim D. Oury, et Youhua Liu. 2015. « Extracellular Superoxide Dismutase Protects against Proteinuric Kidney Disease ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 26 (10): 2447-59. doi:10.1681/ASN.2014060613.
- Tang, Daolin, Rui Kang, Chun-Wei Cheh, Kristen M. Livesey, Xiaoyan Liang, Nicole E. Schapiro, Robert Benschop, et al. 2010. « HMGB1 Release and Redox Regulates Autophagy and Apoptosis in Cancer Cells ». *Oncogene* 29 (38): 5299-5310. doi:10.1038/onc.2010.261.
- Tang, Daolin, Rui Kang, Kristen M. Livesey, Chun-Wei Cheh, Adam Farkas, Patricia Loughran, George Hoppe, et al. 2010. « Endogenous HMGB1 regulates autophagy ». *The Journal of Cell Biology* 190 (5): 881-92. doi:10.1083/jcb.200911078.
- Tang, Daolin, Rui Kang, Herbert J. Zeh, et Michael T. Lotze. 2011. « High-Mobility Group Box 1, Oxidative Stress, and Disease ». *Antioxidants & Redox Signaling* 14 (7): 1315-35. doi:10.1089/ars.2010.3356.
- Thadhani, R., M. Pascual, et J. V. Bonventre. 1996. « Acute Renal Failure ». *The New England Journal of Medicine* 334 (22): 1448-60. doi:10.1056/NEJM199605303342207.
- Thierry, A., A. Robin, S. Giraud, S. Minouflet, A. Barra, F. Bridoux, T. Hauet, G. Touchard, A. Herbelin, et J.-M. Gombert. 2012. « Identification of Invariant Natural Killer T Cells in Porcine Peripheral Blood ». *Veterinary Immunology and Immunopathology* 149 (3-4): 272-79. doi:10.1016/j.vetimm.2012.06.023.
- Thierry, Antoine, Sébastien Giraud, Aurélie Robin, Anne Barra, Franck Bridoux, Virginie Ameteau, Thierry Hauet, et al. 2014. « The Alarmin Concept Applied to Human Renal Transplantation: Evidence for a Differential Implication of HMGB1 and IL-33 ». *PloS One* 9 (2): e88742. doi:10.1371/journal.pone.0088742.

- Thomas, Seddon Y., Runhua Hou, Jonathan E. Boyson, Terry K. Means, Christoph Hess, Douglas P. Olson, Jack L. Strominger, et al. 2003. « CD1d-Restricted NKT Cells Express a Chemokine Receptor Profile Indicative of Th1-Type Inflammatory Homing Cells ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 171 (5): 2571-80.
- Thomas, Seddon Y., Seth T. Scanlon, Klaus G. Griewank, Michael G. Constantinides, Adam K. Savage, Kenneth A. Barr, Fanyong Meng, Andrew D. Luster, et Albert Bendelac. 2011. « PLZF Induces an Intravascular Surveillance Program Mediated by Long-Lived LFA-1–ICAM-1 Interactions ». *Journal of Experimental Medicine*, mai, jem.20102630. doi:10.1084/jem.20102630.
- Thomson, Scott C., et Roland C. Blantz. 2008. « Glomerulotubular Balance, Tubuloglomerular Feedback, and Salt Homeostasis ». *Journal of the American Society of Nephrology* 19 (12): 2272-75. doi:10.1681/ASN.2007121326.
- Tominaga, S. 1989. « A Putative Protein of a Growth Specific cDNA from BALB/c-3T3 Cells Is Highly Similar to the Extracellular Portion of Mouse Interleukin 1 Receptor ». *FEBS Letters* 258 (2): 301-4.
- Touchard G. *Histologie fonctionnelle du rein. Encyclopédie Medico-chirurgicale* (Elsevier, Paris), Néphrologie-Urologie, 18-016-A-10, 1986, 8p.
- Tripathi, G., D. Rangaswamy, M. Borkar, N. Prasad, R. K. Sharma, S. N. Sankhwar, et S. Agrawal. 2015. « Interleukin-1 gene cluster variants in hemodialysis patients with end stage renal disease: An association and meta-analysis ». *Indian Journal of Nephrology* 25 (1): 34-42. doi:10.4103/0971-4065.135350.
- Tsuneyama, Koichi, Mitsue Yasoshima, Kenichi Harada, Katsushi Hiramatsu, M. Eric Gershwin, et Yasuni Nakanuma. 1998. « Increased Cd1d Expression on Small Bile Duct Epithelium and Epithelioid Granuloma in Livers in Primary Biliary Cirrhosis ». *Hepatology* 28 (3): 620-23. doi:10.1002/hep.510280303.
- Tsung, Allan, John R. Klune, Xianghong Zhang, Geetha Jeyabalan, Zongxian Cao, Ximei Peng, Donna B. Stolz, David A. Geller, Matthew R. Rosengart, et Timothy R. Billiar. 2007. « HMGB1 release induced by liver ischemia involves Toll-like receptor 4–dependent reactive oxygen species production and calcium-mediated signaling ». *The Journal of Experimental Medicine* 204 (12): 2913-23. doi:10.1084/jem.20070247.
- Tyznik, Aaron J., Emmanuel Tupin, Niranjana A. Nagarajan, Min J. Her, Chris A. Benedict, et Mitchell Kronenberg. 2008. « The mechanism of invariant NKT cell responses to viral danger signals ». *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 181 (7): 4452-56.
- Vahl, J. Christoph, Klaus Heger, Nathalie Knies, Marco Y. Hein, Louis Boon, Hideo Yagita, Bojan Polic, et Marc Schmidt-Supprian. 2013. « NKT Cell-TCR Expression Activates Conventional T Cells in Vivo, but Is Largely Dispensable for Mature NKT Cell Biology ». *PLoS Biology* 11 (6): e1001589. doi:10.1371/journal.pbio.1001589.
- Van Kaer, Luc, Vrajesh V. Parekh, et Lan Wu. 2013. « Invariant Natural Killer T Cells as Sensors and Managers of Inflammation ». *Trends in Immunology* 34 (2): 50-58. doi:10.1016/j.it.2012.08.009.
- Venkatachalam, Manjeri A., Karen A. Griffin, Rongpei Lan, Hui Geng, Pothana Saikumar, et Anil K. Bidani. 2010. « Acute Kidney Injury: A Springboard for Progression in Chronic Kidney Disease ». *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 298 (5): F1078-1094. doi:10.1152/ajprenal.00017.2010.
- Verri, Waldiceu A., Fabrício O. Souto, Silvio M. Vieira, Sergio C. L. Almeida, Sandra Y. Fukada, Damo Xu, Jose C. Alves-Filho, et al. 2010. « IL-33 Induces Neutrophil Migration in Rheumatoid Arthritis and Is a Target of Anti-TNF Therapy ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 69 (9): 1697-1703. doi:10.1136/ard.2009.122655.

- Victorino, Francisco, Dorothy K. Sojka, Kelley S. Brodsky, Eoin N. McNamee, Joanne C. Masterson, Dirk Homann, Wayne M. Yokoyama, Holger K. Eltzschig, et Eric T. Clambey. 2015. « Tissue Resident NK Cells Mediate Ischemic Kidney Injury and Are Not Depleted by Anti-Asialo GM1 Antibody ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 195 (10): 4973. doi:10.4049/jimmunol.1500651.
- Vivier, Eric, Sophie Ugolini, Didier Blaise, Christian Chabannon, et Laurent Brossay. 2012. « Targeting Natural Killer Cells and Natural Killer T Cells in Cancer ». *Nature Reviews Immunology* 12 (4): 239-52. doi:10.1038/nri3174.
- Wang, H., O. Bloom, M. Zhang, J. M. Vishnubhakat, M. Ombrellino, J. Che, A. Frazier, et al. 1999. « HMG-1 as a Late Mediator of Endotoxin Lethality in Mice ». *Science (New York, N.Y.)* 285 (5425): 248-51.
- Wang, Li, Li Yu, Tianliang Zhang, Lina Wang, Zhaoting Leng, Yingjun Guan, et Xin Wang. 2014. « HMGB1 Enhances Embryonic Neural Stem Cell Proliferation by Activating the MAPK Signaling Pathway ». *Biotechnology Letters* 36 (8): 1631-39. doi:10.1007/s10529-014-1525-2.
- Wang, Shijun, Christoph Schmaderer, Eva Kiss, Claudia Schmidt, Mahnaz Bonrouhi, Stefan Porubsky, Norbert Gretz, et al. 2010. « Recipient Toll-like Receptors Contribute to Chronic Graft Dysfunction by Both MyD88- and TRIF-Dependent Signaling ». *Disease Models & Mechanisms* 3 (1-2): 92-103. doi:10.1242/dmm.003533.
- Wang, Xiaohua, Xiuxu Chen, Lance Rodenkirch, William Simonson, Sarah Wernimont, Rachel M. Ndonge, Natacha Veerapen, et al. 2008. « Natural killer T-cell autoreactivity leads to a specialized activation state ». *Blood* 112 (10): 4128-38. doi:10.1182/blood-2008-05-157529.
- Wang, Zewei, Le Xu, Yuan Chang, Lin Zhou, Hangcheng Fu, Weijuan Zhang, Yuanfeng Yang, et Jiejie Xu. 2016. « IL-33 Is Associated with Unfavorable Postoperative Survival of Patients with Clear-Cell Renal Cell Carcinoma ». *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 37 (8): 11127-34. doi:10.1007/s13277-016-4879-3.
- Wang, Zhiyong, Jonathan M. Gall, Ramon G. B. Bonegio, Andrea Havasi, Clayton R. Hunt, Michael Y. Sherman, John H. Schwartz, et Steven C. Borkan. 2011. « Induction of Heat Shock Protein 70 Inhibits Ischemic Renal Injury ». *Kidney International* 79 (8): 861-70. doi:10.1038/ki.2010.527.
- Watarai, Hiroshi, Etsuko Sekine-Kondo, Tomokuni Shigeura, Yasutaka Motomura, Takuwa Yasuda, Rumi Satoh, Hisahiro Yoshida, et al. 2012. « Development and Function of Invariant Natural Killer T Cells Producing T(h)2- and T(h)17-Cytokines ». *PLoS Biology* 10 (2): e1001255. doi:10.1371/journal.pbio.1001255.
- Wen, Xiangshu, Ping Rao, Leandro J. Carreño, Seil Kim, Agnieszka Lawrenczyk, Steven A. Porcelli, Peter Cresswell, et Weiming Yuan. 2013. « Human CD1d Knock-in Mouse Model Demonstrates Potent Antitumor Potential of Human CD1d-Restricted Invariant Natural Killer T Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (8): 2963-68. doi:10.1073/pnas.1300200110.
- Wesley, Johnna D., Marlowe S. Tessmer, Deanna Chaukos, et Laurent Brossay. 2008. « NK Cell-Like Behavior of V α 14i NK T Cells during MCMV Infection ». *PLoS Pathogens* 4 (7). doi:10.1371/journal.ppat.1000106.
- Wicher, Grzegorz, Ulrika Wallenquist, Ying Lei, Mattias Enoksson, Xiaofei Li, Barbara Fuchs, Sami Abu Hamdeh, et al. 2017. « IL-33 Promotes Recruitment of Microglia/Macrophages in Response to Traumatic Brain Injury ». *Journal of Neurotrauma*, mai. doi:10.1089/neu.2016.4900.

- Wiese, Carrie B., Cynthia L. Toth, Fatiha Tabet, Robert C. Taylor, Stuart R. Landstreet, Kerry-Anne Rye, Lucas H. Hofmeister, David G. Harrison, Valentina Kon, et Kasey C. Vickers. 2014. « Abstract 3: HDL-MicroRNA-92a and Interleukin-33 Axis Underlies Endothelial Dysfunction Associated With Atherosclerosis and Chronic Kidney Disease ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 34 (Suppl 1): A3-A3.
- Winterberg, Pamela D., Yanxia Wang, Keng-Mean Lin, John R. Hartono, Glenn T. Nagami, Xin J. Zhou, John M. Shelton, James A. Richardson, et Christopher Y. Lu. 2013. « Reactive oxygen species and IRF1 stimulate IFN α production by proximal tubules during ischemic AKI ». *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 305 (2): F164-72. doi:10.1152/ajprenal.00487.2012.
- Wong, Wei. 2016. « A Signal to Warm up To ». *Sci. Signal.* 9 (442): ec190-ec190. doi:10.1126/scisignal.aai8444.
- Wu, Huiling, Jin Ma, Peng Wang, Theresa M. Corpuz, Usha Panchapakesan, Kate R. Wyburn, et Steven J. Chadban. 2010. « HMGB1 Contributes to Kidney Ischemia Reperfusion Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 21 (11): 1878-90. doi:10.1681/ASN.2009101048.
- Wu, Huiling, Gerda A. Noordmans, Maya R. O'Brien, Jin Ma, Cathy Y. Zhao, Geoff Y. Zhang, Tony K. T. Kwan, Stephen I. Alexander, et Steven J. Chadban. 2012. « Absence of MyD88 Signaling Induces Donor-Specific Kidney Allograft Tolerance ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 23 (10): 1701-16. doi:10.1681/ASN.2012010052.
- Wu, Lan, et Luc Van Kaer. 2009. « Natural Killer T Cells and Autoimmune Disease ». *Current Molecular Medicine* 9 (1): 4-14.
- Xu, D., W. L. Chan, B. P. Leung, D. Hunter, K. Schulz, R. W. Carter, I. B. McInnes, J. H. Robinson, et F. Y. Liew. 1998. « Selective Expression and Functions of Interleukin 18 Receptor on T Helper (Th) Type 1 but Not Th2 Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 188 (8): 1485-92.
- Yamaguchi, Y., K. Motoki, H. Ueno, K. Maeda, E. Kobayashi, H. Inoue, H. Fukushima, et Y. Koezuka. 1996. « Enhancing Effects of (2S,3S,4R)-1-O-(Alpha-D-Galactopyranosyl)-2-(N-Hexacosanoylamino) -1,3,4-Octadecanetriol (KRN7000) on Antigen-Presenting Function of Antigen-Presenting Cells and Antimetastatic Activity of KRN7000-Pretreated Antigen-Presenting Cells ». *Oncology Research* 8 (10-11): 399-407.
- Yanagawa, Yoshiki, Machiko Matsumoto, et Hiroko Togashi. 2011. « Adrenoceptor-Mediated Enhancement of Interleukin-33 Production by Dendritic Cells ». *Brain, Behavior, and Immunity* 25 (7): 1427-33. doi:10.1016/j.bbi.2011.04.012.
- Yanagisawa, K., T. Takagi, T. Tsukamoto, T. Tetsuka, et S. Tominaga. 1993. « Presence of a Novel Primary Response Gene ST2L, Encoding a Product Highly Similar to the Interleukin 1 Receptor Type 1 ». *FEBS Letters* 318 (1): 83-87.
- Yang, Huan, Peter Lundbäck, Lars Ottosson, Helena Erlandsson-Harris, Emilie Venereau, Marco E. Bianchi, Yousef Al-Abed, Ulf Andersson, Kevin J. Tracey, et Daniel J. Antoine. 2012. « Redox Modification of Cysteine Residues Regulates the Cytokine Activity of High Mobility Group Box-1 (HMGB1) ». *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)* 18 (mars): 250-59. doi:10.2119/molmed.2011.00389.
- Yang, Li, Craig R. Brooks, Sheng Xiao, Venkata Sabbiseti, Melissa Y. Yeung, Li-Li Hsiao, Takaharu Ichimura, Vijay Kuchroo, et Joseph V. Bonventre. 2015. « KIM-1-mediated phagocytosis reduces acute injury to the kidney ». *The Journal of Clinical Investigation* 125 (4): 1620-36. doi:10.1172/JCI75417.
- Yang, Seung Hee, Jung Pyo Lee, Hye Ryoung Jang, Ran-hui Cha, Seung Seok Han, Un Sil Jeon, Dong Ki Kim, Junghan Song, Dong-Sup Lee, et Yon Su Kim. 2011. « Sulfatide-Reactive

- Natural Killer T Cells Abrogate Ischemia-Reperfusion Injury ». *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 22 (7): 1305-14. doi:10.1681/ASN.2010080815.
- Yang, Yunbo, Zhu-Xu Zhang, Dameng Lian, Aaron Haig, Rabindra N. Bhattacharjee, et Anthony M. Jevnikar. 2015. « IL-37 Inhibits IL-18-Induced Tubular Epithelial Cell Expression of pro-Inflammatory Cytokines and Renal Ischemia-Reperfusion Injury ». *Kidney International* 87 (2): 396-408. doi:10.1038/ki.2014.295.
- Yasuoka, Satoko, Jun Kawanokuchi, Bijay Parajuli, Shijie Jin, Yukiko Doi, Mariko Noda, Yoshifumi Sonobe, Hideyuki Takeuchi, Tetsuya Mizuno, et Akio Suzumura. 2011. « Production and Functions of IL-33 in the Central Nervous System ». *Brain Research* 1385 (avril): 8-17. doi:10.1016/j.brainres.2011.02.045.
- Yin, Hui, Bao-Jun Huang, Heng Yang, Ya-Fei Huang, Ping Xiong, Fang Zheng, Xiao-Ping Chen, Yi-Fa Chen, et Fei-Li Gong. 2006. « Pretreatment with Soluble ST2 Reduces Warm Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 351 (4): 940-46. doi:10.1016/j.bbrc.2006.10.166.
- Yin, M., M. D. Wheeler, H. D. Connor, Z. Zhong, H. Bunzendahl, A. Dikalova, R. J. Samulski, et al. 2001. « Cu/Zn-Superoxide Dismutase Gene Attenuates Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat Kidney ». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 12 (12): 2691-2700.
- Ysebaert, Dirk K., Kathleen E. De Greef, Sven R. Vercauteren, Manuela Ghielli, et Gert A. Verpooten. 2000. « Identification and kinetics of leukocytes after severe ischaemia/reperfusion renal injury ». *Nephrology Dialysis Transplantation*, n° 15/10 (octobre). doi:10.1093/ndt/15.10.1562.
- Yu, Rong, Darong Yang, Shaohua Lei, Xiaohong Wang, Xianghe Meng, Binbin Xue, et Haizhen Zhu. 2015. « HMGB1 Promotes Hepatitis C Virus Replication by Interaction with Stem-Loop 4 in the Viral 5' Untranslated Region ». *Journal of Virology* 90 (5): 2332-44. doi:10.1128/JVI.02795-15.
- Zajonc, Dirk M., Carlos Cantu, Jochen Mattner, Dapeng Zhou, Paul B. Savage, Albert Bendelac, Ian A. Wilson, et Luc Teyton. 2005. « Structure and Function of a Potent Agonist for the Semi-Invariant Natural Killer T Cell Receptor ». *Nature Immunology* 6 (8): 810-18. doi:10.1038/ni1224.
- Zakiyanov, Oskar, Vitezslav Kriha, Jan Vachek, Tomas Zima, Vladimir Tesar, et Marta Kalousova. 2013. « Placental Growth Factor, Pregnancy-Associated Plasma Protein-A, Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products, Extracellular Newly Identified Receptor for Receptor for Advanced Glycation End Products Binding Protein and High Mobility Group Box 1 Levels in Patients with Acute Kidney Injury: A Cross Sectional Study ». *BMC Nephrology* 14 (novembre): 245. doi:10.1186/1471-2369-14-245.
- Zeng, Z., A. R. Castaño, B. W. Segelke, E. A. Stura, P. A. Peterson, et I. A. Wilson. 1997. « Crystal Structure of Mouse CD1: An MHC-like Fold with a Large Hydrophobic Binding Groove ». *Science (New York, N.Y.)* 277 (5324): 339-45.
- Zhang, Jiexiu, Zijie Wang, Zhen Xu, Zhijian Han, Jun Tao, Pei Lu, Zhengkai Huang, et al. 2016. « The Potential Role of IL-33 in Renal Transplant Recipients with Chronic Allograft Dysfunction ». *Annals of Transplantation* 21 (octobre): 611-18.
- Zhang, Jiong, Jumei Xia, Ying Zhang, Fang Xiao, Jin Wang, Hongyu Gao, Yanyan Liu, et al. 2016. « HMGB1-TLR4 Signaling Participates in Renal Ischemia Reperfusion Injury and Could Be Attenuated by Dexamethasone-Mediated Inhibition of the ERK/NF-KB Pathway ». *American Journal of Translational Research* 8 (10): 4054-67.
- Zhang, Weigang, Sen Guo, Bing Li, Lin Liu, Rui Ge, Tianyu Cao, Huina Wang, Tianwen Gao, Gang Wang, et Chunying Li. 2017. « Proinflammatory Effect of High-Mobility Group

- Protein B1 on Keratinocytes: An Autocrine Mechanism Underlying Psoriasis Development ». *The Journal of Pathology* 241 (3): 392-404. doi:10.1002/path.4848.
- Zhang, Wenjing, Shuo Yang, Liyan Cui, et Jie Zhang. 2016. « Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Worsens Ischemia/Reperfusion Damage of Kidney Cells by Autophagy ». *Renal Failure* 38 (7): 1136-40. doi:10.3109/0886022X.2016.1158041.
- Zhang, Zhu-Xu, Shuang Wang, Xuyan Huang, Wei-Ping Min, Hongtao Sun, Weihua Liu, Bertha Garcia, et Anthony M. Jevnikar. 2008. « NK Cells Induce Apoptosis in Tubular Epithelial Cells and Contribute to Renal Ischemia-Reperfusion Injury ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 181 (11): 7489-98.
- Zhao, Hailin, Jessica Santiviáñez Perez, Kaizhi Lu, Andrew J. T. George, et Daqing Ma. 2014. « Role of Toll-like Receptor-4 in Renal Graft Ischemia-Reperfusion Injury ». *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 306 (8): F801-11. doi:10.1152/ajprenal.00469.2013.
- Zhao, Jing, Jianxin Wei, Rachel K. Mialki, Daniel F. Mallampalli, Bill B. Chen, Tiffany Coon, Chunbin Zou, Rama K. Mallampalli, et Yutong Zhao. 2012. « F-Box Protein FBXL19-Mediated Ubiquitination and Degradation of the Receptor for IL-33 Limits Pulmonary Inflammation ». *Nature Immunology* 13 (7): 651-58. doi:10.1038/ni.2341.
- Zhao, Weihua, et Zhiqing Hu. 2010. « The enigmatic processing and secretion of interleukin-33 ». *Cellular and Molecular Immunology* 7 (4): 260-62. doi:10.1038/cmi.2010.3.
- Zhou, Dapeng, Jochen Mattner, Carlos Cantu, Nicolas Schrantz, Ning Yin, Ying Gao, Yuval Sagiv, et al. 2004. « Lysosomal Glycosphingolipid Recognition by NKT Cells ». *Science* (New York, N.Y.) 306 (5702): 1786-89. doi:10.1126/science.1103440.
- Zhuo, Jia L., et Xiao C. Li. 2013. « Proximal Nephron ». *Comprehensive Physiology* 3 (3): 1079-1123. doi:10.1002/cphy.c110061.
- Zickert, Agneta, Karin Palmblad, Birgitta Sundelin, Sangeeta Chavan, Kevin J. Tracey, Annette Bruchfeld, et Iva Gunnarsson. 2012. « Renal Expression and Serum Levels of High Mobility Group Box 1 Protein in Lupus Nephritis ». *Arthritis Research & Therapy* 14 (1): R36. doi:10.1186/ar3747.
- Zimmerman, Michael A., Alicia Martin, Jennifer Yee, Jennifer Schiller, et Johnny C. Hong. 2017. « Natural Killer T Cells in Liver Ischemia–Reperfusion Injury ». *Journal of Clinical Medicine* 6 (4). doi:10.3390/jcm6040041.
- Zou, L. P., S. H. Pelidou, N. Abbas, G. Deretzi, E. Mix, M. Schaltzbeerg, B. Winblad, et J. Zhu. 1999. « Dynamics of Production of MIP-1alpha, MCP-1 and MIP-2 and Potential Role of Neutralization of These Chemokines in the Regulation of Immune Responses during Experimental Autoimmune Neuritis in Lewis Rats ». *Journal of Neuroimmunology* 98 (2): 168-75.
- Zwacka, R. M., Y. Zhang, J. Halldorson, H. Schlossberg, L. Dudus, et J. F. Engelhardt. 1997. « CD4(+) T-Lymphocytes Mediate Ischemia/Reperfusion-Induced Inflammatory Responses in Mouse Liver. » *Journal of Clinical Investigation* 100 (2): 279. doi:10.1172/JCI119533.

Annexes

