

01 Hématopoïèse

01-01 Rôle d'une voie miR-150/TET3 dans la conversion des monocytes classiques en monocytes non classiques

D. Selimoglu-Buet¹, J. Rivière¹, H. Ghamlouch¹, L. Bencheikh¹, M. Morabito¹, M. Diop², G. Meurice², M. Breckler², A. Chauveau³, C. Debord⁴, F. Debeurme¹, R. Itzykson⁵, N. Chapuis⁶, C. Willekens¹, O. Wagner-Ballon⁷, O. Bernard¹, N. Droin¹, E. Solary¹

¹ Inserm U1170, Gustave Roussy - Inserm U1170, Villejuif ; ² Inserm US23, CNRS UMS 3655, Gustave Roussy, Villejuif ; ³ Laboratoire d'hématologie, CHRU de Brest, Brest ; ⁴ Laboratoire d'hématologie, CHU de Nantes, Nantes ; ⁵ Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁶ Hématologie biologique, Hôpital Cochin, Paris ; ⁷ Département Hématologie et Immunologie Biologiques, Hôpital Henri Mondor, Créteil

Introduction. Les monocytes sont des cellules clés de la réponse immunitaire innée et de la réponse inflammatoire. On décrit 3 populations de monocytes circulants chez l'homme, les monocytes classiques (CMo) CD14⁺/CD16⁻, intermédiaires (IMo) CD14⁺⁺/CD16⁺ et non-classiques (NCMo) CD14⁻/CD16⁺. Chez la souris, on distingue le plus souvent 2 populations, classiques (Ly6C⁺) et non-classiques (Ly6C⁻) qui correspondent aux monocytes humains CMo et NCMo. L'origine de cette hétérogénéité monocytaire reste controversée. Les expériences de transfert adoptif de monocytes montrent cependant que des CMo peuvent se convertir en NCMo. Ces données suggèrent qu'il existe un continuum de maturation des monocytes, les NCMo étant l'étape ultime de différenciation.

Nous avons montré que, dans la leucémie myélomonoocytaire chronique (LMMC), le nombre de NCMo est diminué, suggérant un défaut de conversion des monocytes CMo en NCMo. Nous avons utilisé cette maladie comme modèle pour explorer les mécanismes moléculaires qui régulent cette conversion.

Résultats. Un criblage des microARN anormalement exprimés dans les monocytes circulants de 33 patients LMMC comparés à ceux de 5 sujets

sains a révélé une diminution de l'expression de miR-150 dans les monocytes leucémiques.

Les souris miR150^{-/-} ne développent pas de monocytose, même en vieillissant. En revanche, elles présentent constamment une augmentation de la fraction des monocytes Ly6C⁺ au détriment des Ly6C⁻. Une répartition normale des populations monocytaires est restaurée par la ré-expression de miR150 dans les cellules de la moelle osseuse de souris miR150^{-/-} avant greffe. Le nombre de progéniteurs myéloïdes est normal chez les souris miR150^{-/-} et les monocytes Ly6C⁻ qui restent ne présentent pas de sensibilité accrue à l'apoptose. Des expériences de reconstitution compétitive indiquent que les cellules miR150^{-/-} développent un nombre réduit de monocytes Ly6C⁻ par rapport aux donneurs WT.

Dans les cellules humaines CD34⁺, la déplétion ou la surexpression de miR-150 modifie la répartition des cellules CD14⁺⁺/CD16⁻ et CD14⁺/CD16⁺ générées en culture. Chez les souris et les humains, l'expression de miR-150 est plus faible dans les monocytes CMo que dans les NCMo. En combinant des expériences de ChIP-seq des marques d'histone et de « gene editing » utilisant CRISPR/Cas9, nous avons démontré que l'expression de MIR150 dans les monocytes humains est sous le contrôle d'un promoteur spécifique du lignage monocytaire. Ce promoteur est hyperméthylé dans la LMMC et déméthylé chez les patients qui répondent à l'azacitidine. Finalement, par microARN pull down, nous avons montré que TET3 (Ten-Eleven-Translocation-3) est une des cibles de miR-150 qui intervient dans la conversion des monocytes CMo en NCMo, ce qu'a confirmé l'analyse des souris Tet3^{-/-} montrant un nombre accru de Ly6C⁻.

Conclusion. Nous avons donc identifié une voie miR-150/TET3 qui, chez l'homme comme chez la souris, est impliquée dans la conversion des monocytes classiques en non-classiques. Sa dérégulation dans la LMMC par un mécanisme épigénétique, contribue à la répartition caractéristique des populations monocytaires dans cette maladie.