

# L'inhibiteur de type 1 des activateurs du plasminogène : physiologie et rôle en physiopathologie rénale

J.-Ph. Rerolle, C. Vigneau, A. Hertig, J. Berrou et E. Rondeau  
Service de néphrologie A, INSERM U 489 et Association Claude Bernard, Hôpital Tenon, Paris

## Résumé • Summary

L'inhibiteur de type 1 des activateurs du plasminogène (PAI-1) joue un rôle essentiel dans la régulation de la fibrinolyse intra- et extravasculaire en inhibant la formation de plasmine à partir du plasminogène. Le PAI-1 est aussi impliqué dans la migration cellulaire, le remodelage de la matrice extracellulaire, la nidation, le développement embryonnaire et l'invasion tumorale. Son rôle dans de nombreux processus pathologiques tels que les maladies thromboemboliques et l'athérosclérose est bien démontré. Plus récemment, il a aussi été impliqué dans le développement de fibrose en particulier au niveau rénal et pulmonaire. L'inhibition de la synthèse ou de l'activité du PAI-1 par des anticorps spécifiques, des antagonistes peptidiques, des oligonucléotides leurres ou antisens a été obtenue *in vitro* mais les conséquences *in vivo* de ces manipulations restent à déterminer. L'ensemble de ces constatations ouvre de nombreuses perspectives, particulièrement sur le plan thérapeutique, expliquant l'intérêt porté actuellement aux systèmes de régulation et de production du PAI-1.

Mots clés : PAI-1 – Migration cellulaire – Fibrose – Rein.

Plasminogen activator inhibitor type 1 plays a prominent part in the regulation of extra and intra-vascular fibrinolysis through the inhibition of plasmin formation. In addition to its role in the resolution of blood clots, PAI-1 is involved in a variety of other biological processes including extracellular remodeling, cellular mobility, embryo implantation, development and tumoral proliferation. Moreover, PAI-1 is also implicated in various pathological processes such as thromboembolic diseases, atherosclerosis and fibrosis formation, particularly in the kidney and the lung. Inhibition of PAI-1 activity or of PAI-1 synthesis by specific antibodies, peptidic antagonists, antisens oligonucleotides or decoy oligonucleotides has been obtained *in vitro* but need to be evaluated *in vivo*. All these findings may have new therapeutical implications, explaining the importance of studies on PAI-1 production and regulation.

Key words : PAI-1 – Cellular mobility – Fibrosis – Kidney.

## ● Abréviations

Angio II, IV : angiotensine II et IV  
IDM : infarctus du myocarde  
IL-1 : interleukine 1  
LPS : lipopolysaccharide  
MEC : matrice extracellulaire  
MMP : métalloprotéases matricielles  
NF-kB : Nuclear Factor Kappa B

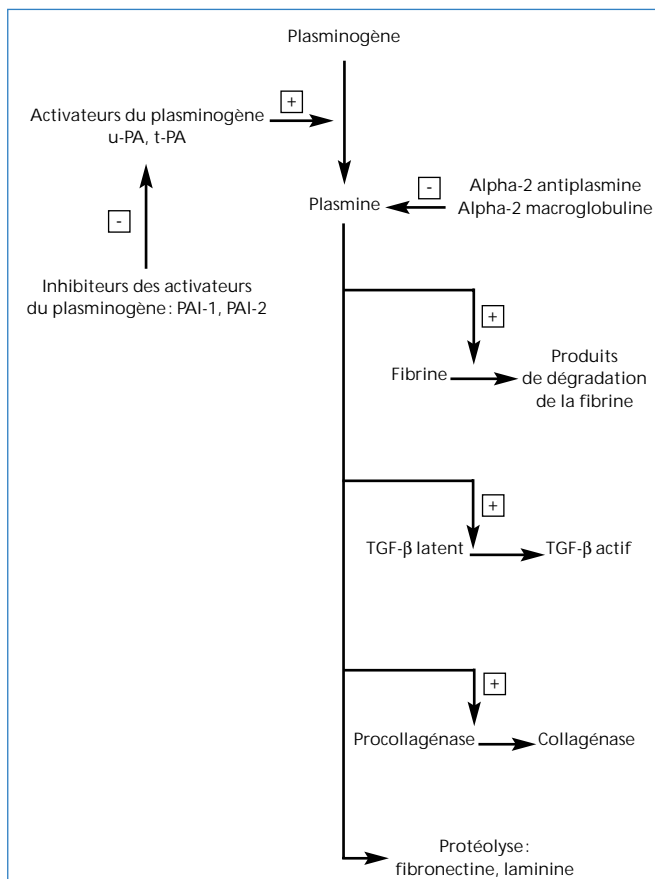
PAI-1 : Plasminogen Activator Inhibitor type 1  
PAR : Protease Activated Receptor  
PDGF-B : Platelet-Derived Growth Factor B  
SERPINE : Serine Protease Inhibitor  
TGF- $\beta$  : Transforming Growth Factor Bêta  
TIMPs : Tissu Inhibitor of Metalloprotease  
TNF $\alpha$  : Tumor Necrosis Factor alpha  
t-PA : activateur tissulaire du plasminogène  
u-PA : activateur urinaire du plasminogène

Le système d'activation du plasminogène est impliqué dans le contrôle de la fibrinolyse intra- et extravasculaire. Il est aussi impliqué dans de nombreux autres processus physiologiques et pathologiques tels que la migration cellulaire, le remodelage de la matrice extracellulaire (MEC), l'organogenèse, l'inflammation, l'invasion tumorale et le développement des métastases.<sup>1,2,3,4,5</sup> Après une présentation du système fibrinolytique dont les composants ont été peu à peu identifiés, cette revue sera centrée sur un des composants de ce système : l'inhibiteur de type 1 des activateurs du plasminogène ou PAI-1. Outre ses propriétés biochimiques et physiologiques, seront évoquées ses implications phy-

siopathologiques en insistant sur son rôle potentiel dans la fibrogenèse rénale et sa capacité à médier les effets fibrosants de différents médiateurs. Enfin, nous décrirons les prémices interventionnels d'inhibition de la synthèse ou de l'activité du PAI-1 obtenus *in vitro*.

## ■ Le système fibrinolytique (fig. 1)

L'enzyme-clé de ce système est la plasmine, dérivée d'un pré-curseur inactif circulant, le plasminogène, grâce à l'intervention



**Fig. 1 :** Le système fibrinolytique.

La plasmine est produite à partir du plasminogène grâce à l'action de l'u-PA et du t-PA. Le PAI-1 s'oppose à cette formation en inhibant ces deux activateurs. La plasmine produite a une action fibrinolytique mais active aussi les métalloprotéases, certains facteurs de croissance et a une action protéolytique propre sur certaines protéines constitutives de la MEC.

d'activateurs spécifiques appartenant à la famille des sérines protéases, l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA) et l'urokinase (u-PA), qui clivent le plasminogène au niveau de la liaison entre une arginine en position 561 et une valine en position 562. L'u-PA et le t-PA ont une homologie de 40% dans leur séquence en acides aminés mais sont codés par deux gènes différents localisés sur deux chromosomes différents. Les principales caractéristiques biochimiques et génétiques des différents constituants du système fibrinolytique sont résumées dans le tableau I.

**Tableau I :** Caractéristiques biochimiques et génétiques des différents composants du système fibrinolytique.

	Poids moléculaires	Acides aminés	ARNm	Gène
Plasminogène	92 kDa	791	2,9 kb	52,5 kb chromosome 6
t-PA	70 kDa	527	2,7 kb	33 kb chromosome 8
u-PA	33-54 kDa	411	2,5 kb	6,4 kb chromosome 10
PAI-1	46-54 kDa	379	2,3 et 3,2 kb	12,2 kb chromosome 7

Au niveau rénal, il a été montré que le t-PA est exprimé par les cellules endothéliales, les cellules épithéliales du canal collecteur médullaire interne et par les cellules mésangiales.<sup>6</sup> Une expression d'u-PA a été localisée au niveau des cellules épithéliales du tube contourné proximal, particulièrement au niveau du segment S3, ainsi que dans la branche ascendante large de l'anse de Henle. L'u-PA n'est pas détectable dans les cellules mésangiales humaines contrairement à ce qui est constaté chez le rat.<sup>7</sup>

Bien qu'il existe des inhibiteurs circulants de la plasmine tels que l'alpha-2 anti-plasmine, le principal facteur limitant la quantité de plasmine produite est la quantité de t-PA et d'u-PA présents sous forme active. L'activité de ces deux protéases est étroitement contrôlée par des inhibiteurs spécifiques tels que le PAI-1 (inhibiteur de type I de l'activateur tissulaire du plasminogène), le PAI-2 et le PAI-3.<sup>8</sup> La majeure partie des cellules synthétisant les activateurs du plasminogène synthétisent simultanément leurs inhibiteurs, ce qui permet une régulation fine de la formation de la plasmine dans l'environnement cellulaire.<sup>4,9</sup>

## ■ L'inhibiteur de l'activateur tissulaire du plasminogène ou PAI-1

### ● Structure

Le PAI-1 est un inhibiteur rapide de l'u-PA et du t-PA appartenant à la famille des inhibiteurs des sérines protéases ou SERPIN. Les différentes protéines constitutives de cette famille dérivent d'un gène ancestral commun<sup>10</sup> et régulent les principaux systèmes protéasiques de l'organisme représentés par le système fibrinolytique, la cascade de la coagulation et la cascade du complément. Le PAI-1 est synthétisé par différents types cellulaires tels que les cellules endothéliales, les hépatocytes, différentes lignées de cellules d'hépatome, les cellules de la granulosa, les cellules musculaires lisses, les cellules épithéliales et mésangiales rénales, les plaquettes et enfin des fibroblastes immortalisés par l'antigène T du virus SV 40.<sup>11</sup>

Le PAI-1 est une glycoprotéine de 50 kD synthétisée sous forme active mais qui est ensuite très rapidement inactivée<sup>12</sup> en particulier par la formation de complexe u-PA-PAI-1.<sup>13</sup> La concentration plasmatique de la forme active chez le sujet sain est extrêmement variable, allant de 0 à 1,3 nmol/L.<sup>11</sup> Le PAI-1 est aussi un composant de la MEC où il se lie au domaine somatomédine B de la vitronectine.<sup>14</sup> Cette interaction stabilise le PAI-1 dans une conformation active lui permettant d'inhiber de manière prolongée la formation de plasmine.<sup>4,15</sup>

Le gène du PAI-1 a été cloné et séquencé par le groupe de Loskutoff en 1987. Il s'agit d'un gène de 12,2 kilobases constitué de neuf exons et de huit introns ainsi que d'une partie terminale 3' non transcrite de 1800 paires de bases contenant des sites de polyadénylation (tableau I).<sup>4,16</sup> La transcription du gène du PAI-1 est activée dans différents types de cellules rénales par de nombreuses cytokines, principalement l'interleukine 1 (IL-1)<sup>17</sup>, le TNF- $\alpha$ ,<sup>18</sup> le TGF- $\beta$ ,<sup>19</sup> les glucocorticoïdes et la thrombine.<sup>20</sup> Un polymorphisme de ce gène correspondant à l'insertion (5G) ou à la délétion (4G) d'une guanine en position -675 du promoteur a été retrouvé.<sup>21</sup> In vitro, ce polymorphisme est à l'origine d'une différence de réponse du promoteur du PAI-1 à l'IL-1. Les cellules transfectées avec la forme « 4G » ont une réponse six fois plus

importante à l'IL-1, via NF- $\kappa$ B, que les cellules transfectées avec la forme « 5G ». Le mécanisme moléculaire à l'origine de cette augmentation de synthèse de PAI-1 par les cellules « 4G » par rapport aux cellules « 5G » est expliqué par le fait que le site de polymorphisme correspond au site de fixation de NF- $\kappa$ B sur le promoteur du gène du PAI-1. Dans la forme « 5G », une protéine régulatrice inhibitrice de la transcription peut entrer en compétition avec NF- $\kappa$ B au niveau de son site de fixation, ce qui n'est pas le cas chez les sujets « 4G ». <sup>21</sup> In vivo, les homozygotes 4G/4G ont un taux circulant de PAI-1 plus élevé et seraient à risque accru d'infarctus du myocarde (IDM) comparés aux sujets 4G/5G et 5G/5G. <sup>22,23</sup>

## ● Fonctions

Le PAI-1 est un inhibiteur des activateurs du plasminogène et aboutit ainsi à une diminution de la production de plasmine. La plasmine, à côté de son action fibrinolytique, est capable d'activer des enzymes telles que les métalloprotéases matricielles et d'inhiber leurs inhibiteurs, les TIMP. Elle a aussi une action protéolytique propre sur différentes protéines constitutives de la MEC comme la fibronectine et la vitronectine (fig. 1). Le PAI-1 en s'opposant à tous ces effets inhibe ainsi la fibrinolyse intra- et extravasculaire et le remodelage de la MEC. <sup>11,15,24</sup>

Le PAI-1 semble impliqué par ailleurs dans la migration cellulaire. Celle-ci nécessite une protéolyse péricellulaire ainsi qu'une alternance de détachement et d'adhésion des cellules à la MEC. <sup>25</sup> Les cellules utilisent plusieurs variétés de récepteurs membranaires pour se lier à la MEC incluant les protéoglycans, <sup>26</sup> les intégrines <sup>27</sup> et un récepteur membranaire de l'urokinase : u-PAR. Les intégrines semblent être les molécules de liaisons à la MEC les plus importantes. <sup>28</sup> Ainsi, l'adhésion de la partie antérieure de la cellule à la MEC par l'intermédiaire des intégrines permet un mouvement de traction tandis que la partie postérieure se détache, le tout aboutissant au déplacement cellulaire. Le PAI-1 en se liant à la vitronectine pourrait s'opposer à ce mécanisme en inhibant la liaison de l'intégrine cellulaire  $\alpha v \beta 3$  à la vitronectine empêchant ainsi le mouvement de traction. <sup>29</sup> Par ailleurs, l'urokinase en se fixant à un récepteur membranaire spécifique (u-PAR), focalise l'activité protéolytique à la surface cellulaire permettant aux cellules migrantes de dégrader ou modifier la barrière tissulaire environnante qui s'oppose à leur mouvement. <sup>30</sup> Ce récepteur est présent à la surface de différents types cellulaires, dont les cellules mésangiales, et est ancré à la membrane par l'intermédiaire d'un groupement glycosylphosphatidylinositol. Le PAI-1 est capable d'inactiver l'urokinase liée à son récepteur en formant un complexe PAI-1/urokinase/u-PAR qui rapidement va être internalisé. PAI-1 et urokinase vont être dégradés tandis que u-PAR est recyclé. Le PAI-1 limite donc par ce biais la protéolyse péricellulaire et donc l'espace libre disponible pour la migration cellulaire. <sup>25</sup>

Des arguments opposés, montrant que le PAI-1 favorise la migration cellulaire ont été rapportés. À côté de son rôle de fixation de l'urokinase, u-PAR joue aussi le rôle d'une molécule d'adhésion à la MEC. Il contient un site de liaison à la vitronectine dont l'affinité est d'autant plus grande que u-PAR est saturé en urokinase. <sup>31</sup> Deng et coll. <sup>14</sup> ont montré que le PAI-1, qui est le ligand naturel de la vitronectine, <sup>32</sup> entre en compétition avec u-PAR dans sa liaison à la vitronectine, prévenant par ce biais l'adhésion cellulaire à la vitronectine (fig. 2). Par ailleurs, des concentrations faibles

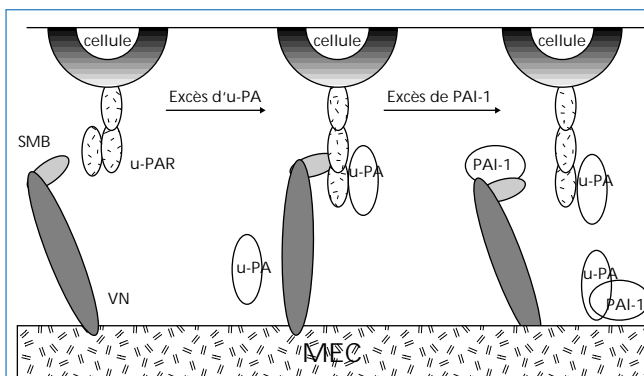


Fig. 2 : Régulation de l'adhésion cellulaire dépendante de u-PAR par le PAI-1 et u-PA (d'après référence).

En présence d'un excès d'u-PA, u-PAR est saturé au niveau de son site de fixation pour u-PA. Ceci augmente son affinité de liaison à la vitronectine aboutissant à la fixation de u-PAR sur le domaine somatomédine B (SMB) de la vitronectine et l'adhésion cellulaire à la MEC.

En présence d'un excès de PAI-1, celui-ci se fixe sur le domaine somatomédine B de la vitronectine et forme un complexe avec l'u-PA libre empêchant par ce biais toute liaison de u-PAR à la vitronectine et donc toute adhésion cellulaire à la MEC.

de PAI-1 entraînent le détachement rapide des cellules déjà ancrées à la vitronectine. Des résultats similaires ont été obtenus par Waltz. <sup>5</sup> Cette action du PAI-1 peut s'expliquer par deux mécanismes différents. Un mécanisme direct de compétition entre le PAI-1 et u-PAR au niveau d'un même site de fixation sur la vitronectine (le domaine somatomédine B) et un mécanisme indirect dans lequel l'augmentation de la clearance de l'urokinase induite par le PAI-1 entraîne une diminution de l'occupation de u-PAR, donc une diminution d'affinité de u-PAR pour la vitronectine et une diminution de l'attachement cellulaire. <sup>5,14</sup>

Le groupe de Foidart <sup>1</sup> a montré récemment que des kératinocytes malins, issus de la lignée cellulaire PDVA, greffés chez des souris invalidées pour le gène du PAI-1 (PAI-1  $-/-$ ) ne sont pas capables d'envahir les tissus de l'hôte alors que cette invasion est possible en cas de greffe chez des souris exprimant normalement le PAI-1. Par contre, lorsque les souris PAI-1  $-/-$  sont transfectées avec un adénovirus recombinant porteur du gène murin du PAI-1, elles récupèrent une capacité de synthèse du PAI-1 identique à celle des souris normales et l'invasion tumorale devient alors possible. Ceci montre que dans ces conditions expérimentales, le PAI-1 favorise la migration cellulaire in vivo.

Les résultats de ces études montrent bien l'intrication qui existe entre le PAI-1, l'adhésion et la migration cellulaire. Cette dernière est probablement favorisée et retardée dans le même temps par le jeu complexe d'adhésion à la MEC. Le rôle du PAI-1 dans la migration cellulaire est probablement variable en fonction des conditions physiopathologiques. Ainsi l'effet prédominant du PAI-1 dans le cadre du cancer est de favoriser la migration cellulaire comme cela a été démontré par Bajou et coll. <sup>1</sup> et différentes études cliniques qui suggèrent qu'un taux élevé de PAI-1 circulant est un facteur de mauvais pronostic dans différents types de cancer. <sup>33</sup> À l'inverse, Carmeliet a montré que le PAI-1 inhibe la migration des cellules musculaires lisses des parois artérielles lors du processus de réparation suivant une lésion pariétale. <sup>3</sup>

- Implications physiopathologiques

#### *Maladie thromboembolique*

Chez la souris, il a été montré que le déficit en t-PA, u-PA, plasminogène<sup>34</sup> ou la surexpression du PAI-1<sup>35</sup> augmente le risque de thrombose induit par l'endotoxine bactérienne tandis que le déficit en PAI-1 le réduit.<sup>36</sup> Chez l'homme, une activité fibrinolytique accrue due à un excès d'activateur du plasminogène ou à un déficit en PAI-1 prédispose aux accidents hémorragiques<sup>37</sup> tandis qu'une activité fibrinolytique déficiente par augmentation du PAI-1 circulant favorise les thromboses.<sup>38</sup> Par ailleurs, des taux élevés de PAI-1 sont corrélés chez la souris avec un risque accru de thrombose au cours de la coagulation intravasculaire disséminée, de sepsis, d'intervention chirurgicale.<sup>39</sup>

#### *Athérosclérose et resténose*

Des données épidémiologiques et génétiques suggèrent qu'une activité fibrinolytique déficiente, résultant d'une augmentation du PAI-1 ou d'une diminution des activateurs du plasmino