Nouveau Regard sur la Physiopathologie de l'Hypertension Artérielle Pulmonaire

Jennifer Bordenave^{1,2}, Ly Tu^{1,2}, Laurent Savale^{1,2,3}, Alice Huertas^{1,2,3},
Marc Humbert^{1,2,3}, Christophe Guignabert^{1,2}

¹INSERM UMR_S 999, Hôpital Marie Lannelongue, Le Plessis-Robinson, France.

²Faculté de Médecine, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Le Kremlin-Bicêtre, France.

³AP-HP, Service de Pneumologie, Centre de Référence de l'Hypertension Pulmonaire Sévère, DHU Thorax Innovation, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France.

Résumé

Dans l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP), les récentes découvertes physiopathologiques illustrent bien la complexité et l'aspect multifactoriel des mécanismes impliqués dans l'accumulation inadéquate de cellules vasculaires pulmonaires dans les parois des artères pulmonaires. Néanmoins, ces dernières avancées dans le domaine ont aussi permis de mieux comprendre les trois composantes motrices à la base de ce remodelage vasculaire pulmonaire et apportent un éclairage nouveau sur les mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents. Parmi ces acteurs au centre de la pathogenèse, les perturbations des fonctions de l'endothélium pulmonaire et des processus inflammatoires jouent des rôles critiques, tout comme la perte d'activité du BMPRII et les altérations des communications entre cellules au sein des parois des artères pulmonaires.

Mots-clefs : *Hypertension pulmonaire, remodelage vasculaire pulmonaire, cellule musculaire lisse, cible thérapeutique.*

Summary

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a severe and incurable cardiopulmonary disorder. Research from the past 10 years illustrates the complex and multifactorial aspects of PAH pathophysiology. Furthermore, latest advances in the field have led to a better understanding of the key components underlying this inadequate accumulation of pulmonary vascular cells within the pulmonary arterial walls, leading to pulmonary vascular remodeling.

Among the underlying molecular and cellular mechanisms, pulmonary endothelial dysfunction, alterations of the inter-cell communications within the pulmonary arterial walls as well as defects of the inflammatory component and the loss of BMPRII activity play critical roles in the pathogenesis of the disease.

Keywords: *Pulmonary hypertension, vascular remodelling, smooth muscle cell, therapeutic target.*

1. Contexte

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) regroupe un ensemble de maladies cardio-pulmonaires impactant les artères pulmonaires de petit calibre qui se caractérise par un remodelage structurel et fonctionnel entraînant une réduction anormale et progressive des lumières vasculaires [1, 2]. Ce remodelage vasculaire pulmonaire est la cause de l'augmentation progressive et anormale des résistances vasculaires pulmonaires (RVP) pouvant mener à une insuffisance cardiaque droite et au décès. Actuellement, malgré une prise en charge qui a considérablement évolué ses dernières années, aucun traitement curatif n'existe. En cas d'échappement thérapeutique, la transplantation bi-pulmonaire ou éventuellement cardio-pulmonaire est alors la seule alternative [3, 4].

Bien que la physiopathologie de l'HTAP reste obscure, les récentes avancées permettent maintenant de mieux comprendre les trois composantes motrices à la base des modifications structurelles et fonctionnelles du lit vasculaire pulmonaire : 1) la dysfonction endothéliale pulmonaire, 2) la dysfonction du muscle lisse vasculaire, 3) les désordres inflammatoires et immunitaires (**Figure 1**). L'évolution des connaissances a également permis l'émergence de nouveaux concepts autour des mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents à ces composantes clés du remodelage vasculaire pulmonaire associé à l'HTAP.

2. Evolution du concept de dysfonction endothéliale pulmonaire

Dans l'HTAP, la mise en évidence d'un déséquilibre entre les processus de vasoconstriction et de vasodilatation a permis de mettre au point l'ensemble des thérapies aujourd'hui disponibles. Cependant, les récentes avancées dans le domaine ont permis de mettre en lumière que l'endothélium pulmonaire acquiert également d'autres dysfonctionnements qui vont enclencher et/ou entretenir le remodelage vasculaire pulmonaire associé à l'HTAP. L'approfondissement des connaissances des mécanismes physiopathologiques à l'origine de ces dysfonctions des cellules endothéliales (CE) pulmonaires est donc essentiel pour améliorer les stratégies thérapeutiques déjà existantes et

développer de nouvelles voies thérapeutiques.

Dans ce contexte, nous avons déjà mis en évidence plusieurs manifestations témoignant d'une dysfonction majeure de l'endothélium vasculaire pulmonaire, incluant entre autres un phénotype pro-prolifératif et résistant à l'induction d'apoptose, une transition d'un état quiescent (ne présentant pas de capacité d'adhésion) à un état activé et un phénotype pro-inflammatoire [5]. Dans l'HTAP humaine et expérimentale, en effet, l'endothélium pulmonaire dysfonctionnel est une source locale et anormale de divers facteurs qui vont avoir des répercussions plus ou moins importantes sur leur propre fonctionnement, mais également sur le comportement des autres cellules vasculaires pulmonaires, dont les cellules musculaires lisses d'artère pulmonaire (CML-AP), fibroblastes, myofibroblastes et péricytes pulmonaires [5, 6]. En particulier, ces différents aspects dysfonctionnels de l'endothélium pulmonaire retentissent sur les interactions entre CE et CML-AP et favorisent la contraction, la prolifération et la survie cellulaire de ces dernières [7-9]. De plus, des données récentes du laboratoire ont permis de mettre en évidence que ces anomalies influencent également les liens étroits entre CE et cellules inflammatoires [10-12], mais sont aussi à l'origine du recrutement et la différenciation de divers progéniteurs cellulaires, comme les péricytes pulmonaires [13]. De plus, les CE pulmonaires de patients HTAP présentent une signature pro-inflammatoire très marquée [10]. En effet, nous avons pu démontrer que l'endothélium pulmonaire dysfonctionnel HTAP produit et sécrète un certain nombre de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 α , IL-6, IL8, IL12, CCL2) et qu'il exprime de manière exagérée diverses protéines impliquées dans le recrutement et l'adhésion des leucocytes comme l'E-sélectine, la molécule d'adhésion intercellulaire (ICAM-1) et la molécule d'adhésion vasculaire (VCAM-1). Parmi les mécanismes responsables de l'acquisition de ce phénotype pro-inflammatoire par l'endothélium pulmonaire, l'activation de la voie de signalisation endothéliale liée au CD74 joue un rôle central [10, 14]. Nous avons pu également identifier qu'une production endothéliale exagérée de *fibroblast growth factor* (FGF)-2 et d'interleukine (IL)-6 font parties, entre autres, des mécanismes impliqués dans l'augmentation de cette couverture péricytaire

des artères pulmonaires remodelées [13]. La perte d'activité du *bone morphogenetic protein receptor* (BMPR) II, de *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR)- γ et de l'activation constitutive de la voie *hypoxia-inducible factor* (HIF) sont également centrales dans la mise en place de ces anomalies de la CE pulmonaire HTAP, tout comme l'augmentation des forces hémodynamiques (*shear stress*) [1, 15-17].

3. Les nouveaux concepts de dysfonction du muscle lisse vasculaire

Les CML-AP font parties des éléments constitutifs majeurs de la média des artères pulmonaires. Dans l'HTAP, la présence de plusieurs anomalies intrinsèques majeures des CML-AP et la perturbation de leurs liens étroits avec les CE pulmonaires sous-jacentes vont contribuer à l'augmentation significative de leur nombre dans les parois artérielles (**Figure 2**).

La prolifération et la migration excessives des CML-AP, ainsi que la différenciation de cellules progénitrices résidentes (dont les péricytes), expliquent en partie la néo-muscularisation et la muscularisation exagérée des plus grosses artères pulmonaires [8, 13]. Bien que les mécanismes impliqués restent encore à identifier, plusieurs facteurs et voies de signalisation sont impliqués dans la prolifération et migration exagérées des CML-AP ainsi que dans leur survie anormale : comme le *platelet-derived growth factor* ou PDGF, l'*epidermal growth factor* ou EGF, le *basic-fibroblast growth factor* ou FGF-2), le *nerve growth factor* ou NGF [1, 6]. Toutes ces activations anormalement élevées des voies de signalisation des facteurs de croissance ont souligné le côté pro-prolifératif et résistant à l'apoptose des cellules vasculaires pulmonaires et donné naissance au concept de « *cancer-like* » dans le domaine de l'HTAP. Cependant, ce concept est en pleine remise en question. Contrairement aux cellules cancéreuses, les cellules vasculaires pulmonaires de patients atteints d'HTAP présentent un faible taux de prolifération et n'acquièrent pas la capacité de proliférer de manière incontrôlable. Ces cellules sont également sensibles à l'inhibition de la croissance cellulaire dépendante de la densité (inhibition de contact) et généralement se différencient normalement et

progressent vers leur état complètement différencié. De plus, elles conservent également leurs fonctionnalités et aucune activation constitutive de récepteurs (par exemple, EGFR) ou de régulateurs clés connus dans le cycle cellulaire n'a jamais été retrouvé. Enfin, même si l'HTAP survient dans un contexte génétique, les pénétrances des mutations des gènes de prédisposition à l'HTAP sont généralement incomplètes et aucune n'a été décrite dans le cancer. Sur la base de ces constatations de nouveaux concepts ont émergé pour expliquer l'accumulation cellulaire progressive observée dans l'HTAP (**Figure 2**). Le premier de ces concepts fait appel au processus de transition endothélio-mésenchymateuse ou endoMT. Au cours de ce processus, les CE pulmonaires en transition perdent progressivement les protéines impliquées dans la cohésion cellulaire ainsi que leurs marqueurs endothéliaux (comme le CD31, CD34, le facteur von Willebrand et VE-cadhérine) et se mettent à exprimer des protéines caractéristiques de cellules mésenchymateuses (l' α -actine du muscle lisse, la vimentine ou encore les collagènes interstitiels de type I et III). Cette transition d'un phénotype endothélial vers un phénotype proche de celui de cellules mésenchymateuses va faciliter la migration et l'accumulation de certaines CE dans la couche sous-endothéliale et donc contribuer à la fermeture de la lumière vasculaire. Si le lien de cause à effet n'est que supposé, l'endoMT étant un processus réversible, il représente un réel espoir d'innovation thérapeutique. Le second concept élargit les sources à l'origine des différentes cellules vasculaires qui s'accumulent au sein des lésions vasculaires. En effet, il est admis que les CML-AP et autres cellules vasculaires proviennent de la prolifération des cellules résidentes dans les parois vasculaires. Néanmoins, de récentes données ont clairement mis en lumière un rôle, plus ou moins important, du recrutement et de la différenciation anormale de progéniteurs résidents et circulants dans les parois des artères pulmonaires au cours de l'HTAP [13, 18-22]. Dans ce contexte, les péricytes sont fortement suspectés de jouer un rôle déterminant dans cette pathogenèse, non seulement en raison de leur position et distribution, de leur rôle dans l'homéostasie vasculaire, de leur plasticité et spécificité tissulaire, mais aussi vu leur nette augmentation en nombre autour des artérioles pulmonaires remodelées [13]. En accord avec cette

notion, il a récemment pu être mis en évidence des altérations fonctionnelles des péricytes pulmonaires et de leurs interactions avec les CE pulmonaires dans l'HTAP [21, 22]. C'est pourquoi il est important de clarifier le rôle pathogénique des péricytes et autres progéniteurs résidents et circulants dans l'HTAP afin d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Dans ce contexte, nous testons actuellement les répercussions et l'efficacité de modulateurs de la voie CXCL12-CXCR4-CXCR7 [23] qui est une voie centrale pour le recrutement et la migration cellulaire.

4. Altération de l'immunité adaptative et développement de l'autoimmunité

Une forte augmentation de facteurs de l'inflammation, au niveau circulant et au niveau pulmonaire ainsi que des infiltrats inflammatoires transmuraux et périvasculaires sont caractéristiques des désordres affectant la composante inflammatoire dans l'HTAP [24]. Des données récentes de notre laboratoire montrent que les sur-abondances de leptine (Ob), de *macrophage migration inhibitory factor* (MIF) et d'interleukine (IL)-6 participent à la dysfonction endothéliale pulmonaire par l'intermédiaire de leurs récepteurs respectifs qui sont anormalement présents ou surexprimés par les cellules vasculaires pulmonaires dans l'HTAP [10-12]. Dans les modèles précliniques d'étude du remodelage vasculaire pulmonaire, l'inhibition de ces trois médiateurs inflammatoires a permis de corriger les anomalies vasculaires pulmonaires retrouvées dans ces modèles expérimentaux, ouvrant les champs à de nouvelles options thérapeutiques.

Plusieurs récentes évidences supportent également la présence de désordres autoimmuns tel que la présence d'autoanticorps circulants anti-nucléaires, anti-endothélium et anti-fibroblastes, de tissus ou organes lymphoïdes tertiaires (TLT) périvasculaires, d'anomalies fonctionnelles des cellules T régulatrices ou Treg. Cependant, seuls quelques patients répondent aux traitements anti-inflammatoires et/ou immunosuppresseurs, surtout dans les cas d'HTAP associées à des maladies autoimmunes [24], soulignant la nécessité de mieux comprendre la complexité et le rôle des altérations de l'immunité innée et adaptative afin d'améliorer le transfert des connaissances vers la

clinique.

5. Conclusion et Perspectives

L'enrichissement de nos connaissances autour de la physiopathologie de l'HTAP ne cesse de s'enrichir et met en lumière un rôle central joué par les perturbations des communications entre CE, CML-AP, fibroblastes, péricytes pulmonaires et cellules inflammatoires. Le déchiffrement de ces échanges intercellulaires est au centre de plusieurs travaux dans notre laboratoire et devrait permettre d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques afin de mieux maîtriser cette pathologie.

Références :

1. Humbert M, Guignabert C, Bonnet S, Dorfmüller P, Klinger JR, Nicolls MR, Olschewski AJ, Pullamsetti SS, Schermuly RT, Stenmark KR, Rabinovitch M. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. *Eur Respir J* 2019; 53.
2. Simonneau G, Montani D, Celermajer DS, Denton CP, Gatzoulis MA, Krowka M, Williams PG, Souza R. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2019; 53.
3. Galie N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Hansmann G, Klepetko W, Lancellotti P, Matucci M, McDonagh T, Pierard LA, Trindade PT, Zompatori M, Hoeper M. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J* 2015; 46: 903-975.
4. Savale L, Le Pavée J, Mercier O, Mussot S, Jais X, Fabre D, O'Connell C, Montani D, Stephan F, Sitbon O, Simonneau G, Darteville P, Humbert M, Fadel E. Impact of High-Priority Allocation on Lung and Heart-Lung Transplantation for Pulmonary Hypertension. *Ann Thorac Surg* 2017; 104: 404-411.
5. Guignabert C, Tu L, Girerd B, Ricard N, Huertas A, Montani D, Humbert M. New molecular targets of pulmonary vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension: importance of endothelial communication. *Chest* 2015; 147: 529-537.
6. Huertas A, Tu L, Guignabert C. New targets for pulmonary arterial hypertension: going beyond the currently targeted three pathways. *Curr Opin Pulm Med* 2017; 23: 377-385.
7. Eddahibi S, Guignabert C, Barlier-Mur AM, Dewachter L, Fadel E, Darteville P, Humbert M, Simonneau G, Hanoun N, Saurini F, Hamon M, Adnot S. Cross talk between endothelial and smooth muscle cells in pulmonary hypertension: critical role for serotonin-induced smooth muscle hyperplasia. *Circulation* 2006; 113: 1857-1864.
8. Tu L, De Man FS, Girerd B, Huertas A, Chaumais MC, Lecerf F, Francois C, Perros F, Dorfmüller P, Fadel E, Montani D, Eddahibi S, Humbert M, Guignabert C. A critical role for p130Cas in the progression of pulmonary hypertension in humans and rodents. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 186: 666-676.
9. Tu L, Dewachter L, Gore B, Fadel E, Darteville P, Simonneau G, Humbert M, Eddahibi S, Guignabert C. Autocrine fibroblast growth factor-2 signaling contributes to altered endothelial phenotype in pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 45: 311-322.
10. Le Hiress M, Tu L, Ricard N, Phan C, Thuillet R, Fadel E, Dorfmüller P, Montani D, de Man F, Humbert M, Huertas A, Guignabert C. Proinflammatory Signature of the Dysfunctional Endothelium in Pulmonary Hypertension. Role of the Macrophage Migration Inhibitory Factor/CD74 Complex. *Am J Respir Crit Care Med* 2015; 192: 983-997.
11. Huertas A, Tu L, Thuillet R, Le Hiress M, Phan C, Ricard N, Nadaud S, Fadel E, Humbert M, Guignabert C. Leptin signalling system as a target for pulmonary arterial hypertension therapy. *Eur Respir J* 2015; 45: 1066-1080.
12. Tamura Y, Phan C, Tu L, Le Hiress M, Thuillet R, Jutant EM, Fadel E, Savale L, Huertas A, Humbert M, Guignabert C. Ectopic upregulation of membrane-bound IL6R drives vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension. *J Clin Invest* 2018; 128: 1956-1970.

13. Ricard N, Tu L, Le Hiress M, Huertas A, Phan C, Thuillet R, Sattler C, Fadel E, Seferian A, Montani D, Dorfmueller P, Humbert M, Guignabert C. Increased pericyte coverage mediated by endothelial-derived fibroblast growth factor-2 and interleukin-6 is a source of smooth muscle-like cells in pulmonary hypertension. *Circulation* 2014; 129: 1586-1597.
14. Le Hiress M, Akagah B, Bernadat G, Tu L, Thuillet R, Huertas A, Phan C, Fadel E, Simonneau G, Humbert M, Jalce G, Guignabert C. Design, Synthesis, and Biological Activity of New N-(Phenylmethyl)-benzoxazol-2-thiones as Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) Antagonists: Efficacies in Experimental Pulmonary Hypertension. *J Med Chem* 2018; 61: 2725-2736.
15. Guignabert C, Alvira CM, Alastalo TP, Sawada H, Hansmann G, Zhao M, Wang L, El-Bizri N, Rabinovitch M. Tie2-mediated loss of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in mice causes PDGF receptor-beta-dependent pulmonary arterial muscularization. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 297: L1082-1090.
16. Guignabert C, Bailly S, Humbert M. Restoring BMPRII functions in pulmonary arterial hypertension: opportunities, challenges and limitations. *Expert Opin Ther Targets* 2017; 21: 181-190.
17. Tu L, Desroches-Castan A, Mallet C, Guyon L, Cumont A, Phan C, Robert F, Thuillet R, Bordenave J, Sekine A, Huertas A, Ritvos O, Savale L, Feige JJ, Humbert M, Bailly S, Guignabert C. Selective BMP-9 Inhibition Partially Protects Against Experimental Pulmonary Hypertension. *Circ Res* 2019.
18. Dierick F, Hery T, Hoareau-Coudert B, Mougnot N, Monceau V, Claude C, Crisan M, Besson V, Dorfmueller P, Marodon G, Fadel E, Humbert M, Yaniz-Galende E, Hulot JS, Marazzi G, Sassoon D, Soubrier F, Nadaud S. Resident PW1+ Progenitor Cells Participate in Vascular Remodeling During Pulmonary Arterial Hypertension. *Circ Res* 2016; 118: 822-833.
19. Sheikh AQ, Misra A, Rosas IO, Adams RH, Greif DM. Smooth muscle cell progenitors are primed to muscularize in pulmonary hypertension. *Sci Transl Med* 2015; 7: 308ra159.
20. Sheikh AQ, Saddouk FZ, Ntokou A, Mazurek R, Greif DM. Cell Autonomous and Non-cell Autonomous Regulation of SMC Progenitors in Pulmonary Hypertension. *Cell Rep* 2018; 23: 1152-1165.
21. Yuan K, Shamskhov EA, Orcholski ME, Nathan A, Reddy S, Honda H, Mani V, Zeng Y, Ozen MO, Wang L, Demirci U, Tian W, Nicolls MR, de Jesus Perez VA. Loss of Endothelial Derived WNT5A is Associated with Reduced Pericyte Recruitment and Small Vessel Loss in Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation* 2018.
22. Yuan K, Shao NY, Hennigs JK, Discipulo M, Orcholski ME, Shamskhov E, Richter A, Hu X, Wu JC, de Jesus Perez VA. Increased Pyruvate Dehydrogenase Kinase 4 Expression in Lung Pericytes Is Associated with Reduced Endothelial-Pericyte Interactions and Small Vessel Loss in Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Pathol* 2016; 186: 2500-2514.
23. Bordenave J, Thuillet R, Tu L, Phan C, Simonneau G, Huertas A, Hibert M, Bonnet D, Humbert M, Frossard N, Guignabert C. Neutralization of CXCL12 reverses established pulmonary hypertension in the sugen-hypoxia rat model. *Eur Respir J* 2017; 50: PA2385.
24. Huertas A, Perros F, Tu L, Cohen-Kaminsky S, Montani D, Dorfmueller P, Guignabert C, Humbert M. Immune dysregulation and endothelial dysfunction in pulmonary arterial hypertension: a complex interplay. *Circulation* 2014; 129: 1332-1340.

Figure 1 : Les trois composantes du remodelage vasculaire pulmonaire associé à l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP). Dans l'HTAP, le remodelage vasculaire pulmonaire associe des perturbations dynamiques et locales des fonctions de l'endothélium et du muscle lisse vasculaire, mais également des cellules inflammatoires et immunitaires.

Figure 2 : Les mécanismes à l'origine de l'accumulation progressive des cellules musculaires lisses (CML-AP) et autres cellules vasculaires dans les parois des artères pulmonaires au cours de l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP).

Anomalies intrinsèques de la CML-AP :

- Hyperpolarisation (perte de certains canaux ioniques, dont Kv1.5, KCNK3 ...)
- Pro-prolifération
- Augmentation des capacités migratoires
- Résistance à l'induction d'apoptose
- Désordres métabolique

Perturbation des communications entre CE et CML-AP :

Nouveaux concepts :

- Transition endothélio-mésenchymateuse (ou EndMT)
- Recrutement et différenciation de progéniteurs résidents :
 - *Primed SMCs*
 - Cellules PW1⁺
 - Péricytes pulmonaires