

**CAROLINE AUBÉ**

**LA PROTÉOLYSE DE LA MOLÉCULE L-SÉLECTINE (CD62L)  
DANS LE DÉVELOPPEMENT DU LYMPHOME T MURIN.**

Mémoire (par article)  
présenté pour l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M. Sc.) en Immunologie et Virologie

Jury :

Yves St-Pierre : INRS-Institut Armand-Frappier  
Jacques Bernier : INRS-Institut Armand-Frappier  
Monique Doré : Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal

© Droits réservés  
NOVEMBRE 2009  
INRS-STITUT ARMAND-FRAPPIER  
Université du Québec

## Remerciements

Au terme de la rédaction de ce mémoire, je tiens à remercier tout ceux et celles qui m'ont appuyée dans cette grande étape et épreuve de ma vie qu'était la réalisation de cette maîtrise. Cette expérience de recherche m'a appris beaucoup tant au niveau scientifique qu'au niveau humain. Grâce aux activités réalisées dans le cadre de la maîtrise, j'ai développé plusieurs aptitudes telles que l'autonomie, la minutie, la persévérance, la communication et la vulgarisation. Je ne poursuivrai pas dans le monde de la recherche en laboratoire, mais je ne regrette aucunement d'avoir participé à ce programme scolaire, car le bagage d'expériences que j'y aie accumulé me sert déjà dans ma profession d'enseignement de la biologie au collégial.

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de recherche Yves St-Pierre qui a su se montrer compréhensif, patient et disponible pour me permettre de me dépasser. Je remercie également tous mes collègues de laboratoire qui m'ont aidée, soutenue et égayée. Un merci très spécial à Simon Bélanger, Mélanie Demers, Julie Couillard et Geneviève Lavoie qui ont guidé mes recherches. Je veux aussi mentionner les qualités scientifiques et personnelles des techniciennes Doris Legault et Diane Tremblay.

Finalement, je tiens à remercier ma famille pour leur soutien, leur confiance et leur fierté en moi. Toute ma gratitude va également à mes amis qui ont su me divertir dans mes moments libres et qui ont su me pousser à travailler dans les moments opportuns. Enfin, je suis particulièrement reconnaissante envers mon amie d'enfance, Eve Berthelette, qui a grandement participé à la relecture et à la correction de mon mémoire.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont pu être réalisés grâce au support financier de la Fondation Armand-Frappier, du CRSNG et de la Société de Recherche sur le Cancer.

## Table des matières

Remerciements.....	ii
Table des matières .....	iii
Liste des abréviations .....	v
Liste des figures et des tableaux .....	viii
Résumé général.....	x
PARTIE 1 .....	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
1- Introduction.....	2
2- Les lymphomes .....	2
2.1- Description générale des cancers.....	2
2.2- Les lymphomes.....	4
2.2.1- La maladie de Hodgkin .....	4
2.2.2- Le lymphome non hodgkinien .....	5
2.2.2.1- Les lymphomes T .....	7
2.3- Le modèle de Kaplan : un modèle d'étude des lymphomes .....	7
3- Les molécules d'adhésion cellulaire.....	8
3.1- Rôle général des molécules d'adhésion cellulaire .....	8
3.2- Étapes du processus d'adhésion et d'extravasation des leucocytes .....	8
3.3- Les familles de molécules d'adhésion impliquées dans le recrutement leucocytaire .....	14
3.3.1- Les intégrines.....	14
3.3.2- Les molécules d'adhésion de la superfamille des Ig.....	18
3.3.3- Les sélectines .....	22
3.3.3.1- Les ligands des sélectines .....	22
3.3.3.2- La P-sélectine .....	24
3.3.3.3- La E-sélectine .....	24
4- La L-sélectine .....	25
4.1- Les caractéristiques générales de la L-sélectine .....	25
4.2- Les ligands de la L-sélectine.....	25
4.2.1- GlyCAM-1.....	26
4.2.2- MadCAM-1 .....	27
4.2.3- Les ligands de la famille de type CD34.....	27
4.2.4- PSGL-1 .....	28
4.2.5- Les autres ligands potentiels.....	28
4.3- L'expression de la L-sélectine.....	28
4.3.1- Les stimuli entraînant une augmentation d'expression de la L-sélectine ....	28
4.3.2- Les modifications post-traductionnelles de la L-sélectine .....	29
4.4- La région cytoplasmique de la L-sélectine .....	29
4.5- Le rôle physiologique de la L-sélectine .....	31
4.5.1- Le rôle physiologique de la L-sélectine dans l'activation intracellulaire .....	31
4.5.2- Le rôle physiologique de la L-sélectine dans le recrutement leucocytaire ..	32
4.5.2.1- Les études démontrant l'importance de la L-sélectine dans le recrutement leucocytaire .....	32
4.5.3- Le rôle physiologique de la L-sélectine dans le développement embryonnaire .....	33
4.5.4- Le rôle physiologique de la L-sélectine dans l'agrégation leucocytaire .....	33
4.6- Le rôle de la L-sélectine dans le développement de pathologies .....	33

4.6.1- Implication de la L-sélectine dans les chocs septiques.....	33
4.6.2- Implication de la L-sélectine dans les réactions d'hypersensibilité .....	34
4.6.3- Implication de la L-sélectine dans les maladies auto-immunes .....	34
4.6.4- Implication de la L-sélectine dans les rejets de greffés.....	35
4.6.5- Implication de la L-sélectine dans le développement de cancer.....	35
4.6.5.1- L'expression des ligands de sélectines en lien avec les développements de cancer .....	35
4.6.5.2- L'expression des sélectines en lien avec les développements de cancer .....	36
4.6.5.3- L'expression de la L-sélectine en lien avec le développement de lymphome.....	37
5- Le clivage protéolytique de la L-sélectine .....	38
5.1- Les protéases impliquées dans le clivage de la L-sélectine .....	39
5.2- La régulation du clivage de la L-sélectine.....	44
5.3- L'importance physiologique du clivage de la L-sélectine .....	45
5.4- L'implication du clivage de la L-sélectine dans le développement pathologique	47
HYPOTHÈSE DE TRAVAIL .....	48
PARTIE 2 .....	49
ACCUSÉ DE RÉCEPTION .....	50
PARTICIPATION DES AUTEURS .....	51
ARTICLE .....	52
PARTIE 3 .....	70
DISCUSSION ET CONCLUSION .....	71
A- Rappel de la problématique et de l'objectif.....	71
B- Principaux résultats obtenus .....	71
C- Originalité des travaux et perspectives .....	73
D- Conclusion.....	75
PARTIE 4 .....	76
Annexe 1 .....	77
Annexe 2 .....	78
Annexe 3 .....	79
Annexe 4 .....	80
Annexe 5 .....	81
Annexe 6 .....	82
Annexe 7 .....	83
Annexe 8 .....	84
BIBLIOGRAPHIE .....	85

## Liste des abréviations

ADAM	<i>a disintegrin and metalloproteinase protein</i>
ADNc	acide désoxyribonucléique complémentaire
APMA	<i>aminophenyl mercuric acetate</i>
ARNm	acide ribonucléique messenger
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma 2</i>
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CLA	<i>cutaneous leukocyte antigen</i>
CMH	complexe majeur d'histocompatibilité
COMP	<i>cartilage oligomeric matrix protein</i>
Cyr61	<i>cysteine-rich, angiogenic inducer, 61</i>
DC-SIGN	<i>dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin</i>
DMSO	<i>dimethyl sulfoxide</i>
EBV	virus Epstein-Barr
EDTA	<i>ethylene diamine tetra acetic acid</i>
EGF	<i>epidermal growth factor</i>
ELAM	<i>endothelial leukocyte adhesion molecule</i>
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EORTC	<i>European Organization for Research and Treatment of Cancer</i>
ERM	ezrine/radixine/moesine
ESL	<i>E-selectin monospecific ligand</i>
ESM	<i>endothelial cell-specific molecule</i>
fMLP	N-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine
Gal	galectine
GDP	guanosine diphosphate
GlyCAM	<i>glycosylation-dependent cell adhesion molecule</i>
GMP	<i>granule membrane protein</i>
GPI	glycophosphatidylinositol
HEV	<i>high endothelium venule</i>
HL	<i>Hodgkin's lymphoma</i>
HLE	<i>human leukocyte elastase</i>
HSA	<i>heat stable antigen</i>
HTLV-1	<i>human T-cell lymphotropic virus type 1</i>
i.t.	intra-thymique
i.v.	intra-veineux
ICAM	<i>intercellular adhesion molecule</i>

IFN	interféron
Ig	immunoglobuline
IgSF	super famille des immunoglobulines
IL	interleukine
IP	<i>interferon-gamma-induced protein</i>
ITIM	<i>immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif</i>
JAM	<i>junctional adhesion molecule</i>
kDa	kilodalton
KOL	<i>knockout L-selectin</i>
KOMMP9	<i>knockout MMP9</i>
LAD	<i>leukocyte adhesion deficiency</i>
LAM	<i>leukocyte adhesion molecule</i>
LAP-TGFβ	<i>latency associated peptide - transforming growth factor beta</i>
LECAM	<i>leukocyte-endothelial cell adhesion molecule</i>
LFA	<i>lymphocyte function-associated antigen</i>
LPAM	<i>lymphocyte Peyer's patch adhesion molecule</i>
LPS	lipopolysaccharide
M.A.L.T.	<i>mucosa associated lymphoid tissue</i>
MadCAM	<i>mucosal addressin cell adhesion molecule</i>
MAP	<i>mitogen-activated protein</i>
MAPK	<i>mitogen-activated protein kinase</i>
MEC	matrice extracellulaire
MEP	<i>Myb-Ets-transformed progenitor</i>
MFI	<i>mean fluorescence intensity</i>
MIP	<i>macrophage inflammatory protein</i>
MMP	<i>matrix metalloproteinase</i>
NADP	<i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NFAT	<i>nuclear factor of activated T lymphocytes</i>
NHL	<i>non- Hodgkin lymphoma</i>
NK	<i>natural killer</i>
NSAIDs	<i>non-steroidal anti-inflammatory drugs</i>
PADGEM	<i>platelet activation-dependent granule to external membrane protein</i>
PAO	phenylarsine oxide
PCLP	<i>podocalyxin-like protein</i>
PDBu	phorbol dibutyrate
PDGFR	<i>platelet-derived growth factor receptor</i>
PDI	<i>protein disulfide isomerase</i>

PECAM	<i>platelet endothelial cell adhesion molecule</i>
PKC	<i>protéine kinase C</i>
PMA	<i>phorbol 12-myristate-13-acetate</i>
PSGL	<i>P-selectin glycoprotein ligand</i>
RANTES	<i>regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted</i>
REAL	<i>Revised European American Lymphoma</i>
ROS	<i>reactive oxygen specie</i>
RT-PCR	<i>reverse transcription polymerase chain reaction</i>
SDS-PAGE	<i>sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis</i>
Ser	<i>sérine</i>
SGNL	<i>3-sulfo-glucoronyl-neolactose</i>
Sgp	<i>sulfated glycoprotein</i>
sLe <sup>A</sup>	<i>sialyl Lewis A</i>
sLe <sup>X</sup>	<i>sialyl Lewis X</i>
sL-sél	<i>L-sélectine soluble</i>
TACE	<i>TNF-<math>\alpha</math> converting enzyme</i>
TCR	<i>T-cell receptor</i>
Thr	<i>thréonine</i>
TIMP	<i>tissue inhibitor of metalloproteinases</i>
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
Tyr	<i>tyrosine</i>
VCAM	<i>vascular cell adhesion molecule</i>
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VIH	<i>virus de l'immunodéficience humaine</i>
VLA	<i>very late antigen</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
WT	<i>wild-type</i>

## Liste des figures et des tableaux

### PARTIE 1

Figure 1: Identification des molécules d'adhésion cellulaire importantes dans le recrutement leucocytaire.....	10
Figure 2: Les 24 associations possibles entre les 18 sous-unités $\alpha$ et les 8 sous-unités $\beta$ . .....	14
Figure 3: Modification de la conformation des intégrines suite à une activation permettant la liaison au ligand. ....	15
Figure 4 : Représentation des sélectines schématisant leur structure et leur distribution. ....	23
Figure 5: Structure et fonction de TACE. ....	41
Tableau I : Résumé des lymphomes non hodgkiniens les plus importants aux États-Unis en 2007 ....	6
Tableau II: Liste des principales intégrines impliquées dans le recrutement leucocytaire ainsi que leur distribution et leurs principaux ligands.....	17
Tableau III: Liste des principales molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines impliquées dans le recrutement leucocytaire ainsi que leur distribution et leurs principaux ligands.....	19
Tableau IV: Liste des sélectines impliquées dans le recrutement leucocytaire ainsi que leur distribution et leurs principaux ligands.....	23
Tableau V : Liste d'agents et phénomènes inducteurs de clivage de la L-sélectine. ....	43
Tableau VI : Liste d'agents inhibant le clivage de la L-sélectine. ....	43

### PARTIE 2

Figure 1 : L-selectin shedding on T lymphoma cell lines.....	66
Figure 2 : Release of soluble forms of L-selectin from T lymphoma cells following treatment with PMA as determined by ELISA.....	67
Figure 3 : Lymphoma-induced shedding occurs in vivo by 164T2, S11 and L-selectin lymphoma cell lines.....	68
Figure 4 : Detection of soluble forms of L-selectin in L-selectin-deficient mice bearing T cell lymphoma.....	69

### PARTIE 3

Figure 1 : Séquences d'acides aminés à proximité du site de clivage de la L-sélectine et séquences de deux constructions ayant des mutations ainsi que leur réponse au clivage induit ou constitutif.....	73
---	----



## **PARTIE 4**

Annexe 1. Les niveaux de L-sélectine soluble dans le sérum de souris C57BL/6 (WT) et KOMMP-9 sont similaires. ....	77
Annexe 2 : Les pourcentages de clivage de la L-sélectine à la surface de cellules de lymphome de type 164T2, 267 et KOMMP9 sont similaires suite à une stimulation au PMA (20nm/ml)..	78
Annexe 3 : L'expression de la L-sélectine à la surface de cellules 164T2 à différents temps suite à une stimulation avec 10 µg/ml de HLE ne varie pas. ....	79
Annexe 4 : L'expression de la L-sélectine à la surface de cellules 164T2 et de cellules 267 suite à une stimulation avec 10 µg/ml de HLE pendant 4 heures et cela dans différents milieux de culture ne varie pas. ....	80
Annexe 5 : Aucune variation de concentration en L-sélectine soluble suite à la stimulation de cellules 164T2 avec différentes concentrations de Gal-7 recombinante.....	81
Annexe 6 : La surexpression de Gal-7 par des cellules 267 transfectées n'augmente pas le clivage de la L-sélectine suite à une stimulation au PMA (20 nm/ml) pendant 30 minutes.....	82
Annexe 7: Les injections intraveineuses de cellules 164T2 et de cellules S11 produisent des niveaux de L-sélectine soluble similaires dans le sérum de souris. ....	83
Annexe 8: L'expression de TACE chez les cellules 164T2 et S11 est similaire.....	84

## Résumé général

La L-sélectine (CD62L) est une molécule d'adhésion exprimée à la surface de plusieurs types de leucocytes. Cette molécule permet la migration ordonnée des lymphocytes naïfs ainsi que le recrutement leucocytaire. La L-sélectine est rapidement clivée suite à l'activation des lymphocytes. Une fraction soluble de L-sélectine est alors produite. Ce clivage protéolytique est nécessaire pour permettre un recrutement leucocytaire efficace. Les lymphomes, la contrepartie maligne des lymphocytes, expriment également la L-sélectine.

Une augmentation de la concentration de L-sélectine soluble est observée dans le sérum de patients atteints de lymphomes. Hors, cette concentration anormalement élevée pourrait jouer un rôle important dans le diagnostic et le pronostic de la maladie. L'origine de cette augmentation des niveaux de L-sélectine soluble demeure toutefois inconnue, bien que des études précédentes supposent que celles-ci puissent provenir des cellules de l'hôte, des cellules du lymphome ou d'une combinaison des deux types cellulaires. Dans le travail qui suit, nous avons déterminé la source de cette augmentation de L-sélectine soluble grâce à l'utilisation d'un modèle murin génétiquement modifié.

Plus spécifiquement, les résultats contenus dans ce mémoire démontrent : 1) que les lignées de lymphomes T démontrent une susceptibilité marquée au clivage de la L-sélectine suite à une activation au PMA, 2) qu'il y a effectivement une augmentation de L-sélectine soluble dans le sérum de souris atteintes d'un lymphome et que 3) les molécules de L-sélectine soluble dans le sérum des souris proviennent des cellules du lymphome car a) malgré l'absence de L-sélectine soluble dans le sérum de souris déficientes en L-sélectine, l'injection de cellules de lymphome entraîne la présence de L-sélectine soluble et que b) l'injection de cellules de lymphome déficientes en L-sélectine n'entraîne pas d'augmentation significative de la concentration en L-sélectine soluble. Ces recherches mettent en évidence pour la première fois que les cellules du lymphome sont la source majeure de l'augmentation du niveau de L-sélectine soluble lors du développement de lymphome.

## **PARTIE 1**

# **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **1- Introduction**

Dans le cadre de ce mémoire de maîtrise, j'ai effectuée des recherches sur un modèle de lymphome murin relié aux lymphomes non hodgkiniens chez l'humain. Il s'agit d'un type de cancer caractérisé par la transformation néoplasique de cellules lymphoïdes qui ont pour la plupart une dissémination agressive. Plus spécifiquement, nous avons utilisé ce modèle afin d'étudier la L-sélectine (CD62L) dans le lymphome.

La L-sélectine est une molécule d'adhésion qui est exprimée à la surface des lymphocytes et des lymphomes où elle est respectivement impliquée dans la migration lymphocytaire et la dissémination cancéreuse. L'expression de la L-sélectine est régulée par un clivage protéolytique. Des études précédentes ont démontré qu'une concentration élevée de la fraction soluble de L-sélectine se retrouve dans le sérum de patients atteints de diverses formes de cancer, dont une grande variété de cancers hématologiques. L'origine des niveaux anormalement élevés de la forme soluble de L-sélectine demeure toutefois peu connue.

Afin de permettre aux lecteurs d'avoir une bonne compréhension de la problématique et des résultats exposés dans ce mémoire, nous présenterons dans la revue de littérature qui suit les connaissances accumulées au sujet des lymphomes, des molécules d'adhésion cellulaire, de la L-sélectine et du clivage protéolytique de cette molécule.

## **2- Les lymphomes**

### **2.1- Description générale des cancers**

De façon générale, le cancer est une maladie qui est caractérisée par la présence de cellules échappant aux mécanismes de régulation qui limitent habituellement la croissance et la division cellulaire. Dans la plupart des cas où une cellule perd son contrôle de croissance, les cellules du système immunitaire telles que les cellules tueuses naturelles (ou cellules NK, de l'anglais «natural killer cells») éliminent ces cellules défectueuses (Chen *et al.*, 2005). Cependant, certaines cellules cancéreuses subissent des modifications et réussissent à déjouer le système immunitaire. Dans ce cas, la cellule se divise de façon excessive et anarchique sans être limitée par l'inhibition de contact, et une masse tumorale est alors formée (Weinberg, 1996).

Dépendamment des caractéristiques du néoplasme, celui-ci peut être bénin ou malin. Dans le cas d'une tumeur maligne, où la croissance est rapide et invasive, il peut y avoir formation de foyers secondaires métastatiques, un processus que l'on peut arbitrairement diviser en sept étapes. (Demers *et al.*, 2005)

- La première étape est caractérisée par le **détachement** de cellules tumorales de la tumeur primaire.

- Il doit alors y avoir une étape de **migration** des cellules cancéreuses à travers le stroma parenchymateux, une étape facilitée notamment par la sécrétion de protéases extracellulaires telles que les métalloprotéases de la matrice (MMP).

- Par la suite, pour que les cellules cancéreuses accèdent à la circulation lymphatique ou sanguine, il faut qu'il y ait une étape d'**intravasation**.

- Les cellules métastatiques ont généralement une courte durée de vie dans la circulation sanguine et/ou lymphatique. Elles migrent rapidement aux capillaires sanguins et elles entrent en **adhésion** avec l'endothélium vasculaire via les molécules d'adhésion cellulaire et/ou des interactions avec les plaquettes sanguines.

- La prochaine étape consiste à l'**extravasation**, c'est-à-dire la pénétration des cellules cancéreuses dans le tissu sous-jacent par diapédèse.

- Les cellules métastatiques initient un processus de **migration** jusqu'à un site secondaire. Ce processus est également facilité par la présence de MMP.

- La dernière étape est la **nidification** où les cellules cancéreuses modifient leur milieu, pour finalement entrer en croissance pour former une tumeur secondaire. C'est ce processus métastatique qui fait du cancer une maladie dévastatrice.

La plupart des cellules cancéreuses semblent avoir un site préférentiel pour la dissémination, ce qui explique l'association de certains types de métastases avec des formes de cancers spécifiques. Par exemple, il y a fréquemment présence de métastases hépatiques et pulmonaires dans le cas du mélanome et il y a fréquemment présence de métastases aux poumons et dans la moelle osseuse dans le cas du cancer du sein. Trois hypothèses semblent expliquer cette association : 1- les cellules métastatiques sont emprisonnées dans le premier lit capillaire qu'elles rencontrent (ce qui explique que plusieurs cancers causent des métastases aux poumons), 2- les cellules métastatiques sont attirées vers un tissu spécifique dû à l'affinité entre leurs molécules d'adhésion ou 3- les cellules métastatiques sont attirées et leur croissance favorisée par la production locale de hautes concentrations de facteurs de croissance ou d'hormones dans certains microenvironnements. (Ruoslahti, 1996)

## 2.2- Les lymphomes

Les lymphomes ont pour la plupart une dissémination agressive et ils altèrent, entre autres, les organes du système lymphatique. Aux États-Unis, ils occupent la troisième place dans la liste des cancers les plus communs chez les enfants de moins de 15 ans.

Les lymphomes s'apparentent aux leucémies dû au fait que ces deux types de cancers sont étiquetés comme étant des cancers du sang. Les différences majeures entre ces deux types de cancers reposent 1) sur l'origine des cellules cancéreuses et 2) sur leur forme. Les lymphomes dérivent de lymphocytes T ou B, immatures ou matures ainsi que de cellules NK et ils forment des tumeurs. Il s'agit de leucémie lorsque des cellules hématopoïétiques dans la moelle osseuse deviennent cancéreuses et entraînent la présence de cellules cancéreuses dans le sang.

Les lymphomes sont divisés en deux grands groupes : les lymphomes responsables de la maladie de Hodgkin aussi nommés lymphomes de Hodgkin (ou HL, de l'anglais «Hodgkin's lymphoma») et les lymphomes non hodgkiniens (ou NHL, de l'anglais «non- Hodgkin lymphoma»). (<http://www.leukemia-lymphoma.org>)

### 2.2.1- La maladie de Hodgkin

La maladie de Hodgkin a été nommée suite aux travaux de Thomas Hodgkin qui a décrit plusieurs cas de cette maladie en 1832. De façon générale, cette maladie est caractérisée par la présence de cellules de Reed-Sternberg dans la formation néoplasique. Ces cellules se reconnaissent par leur morphologie caractéristique de type polynucléaire. Elles ne représentent qu'un faible pourcentage de la masse totale (1 à 2%). (Drexler, 1992 ; Harris *et al.*, 1994 ; Harris, 1999 ; Küppers *et al.*, 2002).

La maladie de Hodgkin est reconnue comme un lymphome depuis que les cellules de Reed-Sternberg ont été établies comme étant d'origine lymphocytaire. En 1994, l'équipe de Küppers a en effet démontré que ces cellules possèdent des réarrangements au niveau des régions variables des gènes d'immunoglobuline, une caractéristique propre aux lymphocytes B (Küppers *et al.*, 1994). Ces cellules sont considérées comme des lymphocytes B transformés, bien que dans de très rares occasions, certaines dérivent de lymphocytes T (Müschen *et al.*, 2000 ; Seitz *et al.*, 2000).

Les patients chez qui un lymphome Hodgkinien est diagnostiqué sont majoritairement situés dans deux groupes d'âges, soit entre 15 et 30 ans ou supérieur à 55 ans (Ekstrand et Horning, 2002). En Amérique du Nord, les porteurs du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) présentent le risque le plus élevé de développer un lymphome de Hodgkin, bien que certaines études suggèrent un lien possible avec l'infection par le virus Epstein-Barr (EBV) (Flavell et Murray, 2000 ; Engels et Goedert, 2005). Le taux de rémission moyen pour les lymphomes de Hodgkin est de 65 à 95% (Byrne et

Gockerman, 2007 ; Klimm *et al.*, 2005). Au Canada, en 2007, les statistiques prévoient un total de 159 900 nouveaux cas de cancers. De ce nombre, il y aura 880 nouveaux cas de maladie de Hodgkin et 120 personnes décéderont des suites de ce cancer. (<http://www.cancer.ca> – statistiques canadiennes sur le cancer 2007)

### 2.2.2- Le lymphome non hodgkinien

Le lymphome non hodgkinien (LNH) est le 5<sup>e</sup> cancer en importance au Canada en 2009 (<http://www.cancer.ca> – statistiques canadiennes sur le cancer 2009). Le nombre de patients développant cette maladie augmente de 3-4% par année depuis 1970. C'est un des cancers progressant le plus rapidement. Bien que les causes de cette augmentation demeurent incertaines, certains facteurs comme l'amélioration des techniques de diagnostic, une meilleure tenue des registres, le vieillissement de la population, les virus d'Epstein-Barr (EBV), d'immunodéficience humaine (VIH) et de HTLV-1 (pour Human T-cell Lymphotropic Virus type 1), les substances chimiques agricoles, pourraient expliquer cette augmentation rapide (Chassagne-Clément *et al.*, 1999 ; Rizvi *et al.*, 2006). Karin Ekström-Smedby a rédigé en 2005 une revue de littérature exhaustive sur les facteurs de risques pour le développement des LNH (Ekström-Smedby, 2006). L'incidence des patients chez qui on diagnostique un LNH augmente significativement avec l'âge et débute dans le groupe d'âge dépassant 10 ans (<http://www.leukemia-lymphoma.org>).

Les LNH sont généralement divisés en deux grands groupes, selon l'origine de la cellule, soit les lymphomes T/NK et les lymphomes B. Cependant, étant donné que les lymphocytes T/NK et B peuvent devenir des lymphomes à n'importe quel moment dans leur développement, on retrouve une grande diversité de LNH. Ainsi, en Amérique du Nord, il y a plus de 30 types de LNH, dont environ 90% sont des contreparties malignes de lymphocytes B (<http://www.leukemia-lymphoma.org>).

Les LNH peuvent également être classés selon leur niveau d'agressivité. Les deux grandes catégories sont les lymphomes indolents et les lymphomes agressifs. Les lymphomes folliculaires, les lymphomes du tissu lymphoïde associés aux muqueuses (ou lymphomes du M.A.L.T., pour *Mucosa Associated Lymphoid Tissue*), les lymphomes du manteau et les lymphomes lymphoplasmocytoides sont, par exemple, des LNH de type indolent. Les LNH de type agressif comptent entre autres les lymphomes diffus à grandes cellules B, les lymphomes médiastinaux à grandes cellules B, les lymphomes T périphériques (sans autre précision), les lymphomes de Burkitt, les lymphomes lymphoblastiques T ainsi que les lymphomes anaplasiques à grandes cellules. Le **Tableau I** trace un résumé des LNH les plus importants aux États-Unis en 2007.

Depuis les années 1960, des efforts considérables ont été déployés pour concevoir un système de classification des LNH. En 1994, un groupe d'hématopathologistes a proposé un système de classification des lymphomes appelé système de classification REAL (*Revised European American*

*Lymphoma*) qui a pour objectif d'aider les oncologistes à sélectionner le traitement optimal à prodiguer à chacun de leurs patients. (Harris *et al.*, 1994) La classification REAL fut utilisée comme base pour établir un second système international de classification, c'est-à-dire la classification WHO (World Health Organization). De nouvelles études plus approfondies sur les lymphomes et leurs traitements spécifiques ainsi que sur les taux de rémission permettront dans l'avenir d'améliorer davantage la classification WHO. (Harris *et al.*, 1999 ; Jakic-Razumovic et Aurer, 2002 ; Vardiman *et al.*, 2002)

**Tableau I : Résumé des lymphomes non hodgkiniens les plus importants aux États-Unis en 2007**

<p>Lymphomes de précurseurs cellulaires</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- lymphome lymphoblastique B</li> <li>- lymphome lymphoblastique T (1,9%)</li> </ul> <p>Lymphomes B périphériques (~88%)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- leucémie lymphoïde chronique B/petit lymphome lymphocytaire (7%)</li> <li>- leucémie pro-lymphocytaire B</li> <li>- lymphome lymphoplasmocytaire/immunocytome (&lt; de 2%)</li> <li>- lymphome du manteau (6%)</li> <li>- lymphome folliculaire (22%)</li> <li>- lymphome B extraganglionnaire de la zone marginale de type MALT (7,5%)</li> <li>- lymphome B ganglionnaire de la zone marginale (+/- monocytoïde) (&lt; de 1%)</li> <li>- lymphome splénique de la zone marginale (+/- lymphocytes villeux) (&lt; de 1%)</li> <li>- leucémie à tricholeucocytes</li> <li>- plasmacytome/myélome plasmocytaire</li> <li>- lymphome diffus à grandes cellules B (31%)</li> <li>- lymphome de Burkitt (2,5%)</li> <li>- lymphome médiastinal à grandes cellules B (2,4%)</li> <li>- lymphome à grandes cellules B intravasculaire (&lt; de 1%)</li> </ul> <p>Lymphomes T et NK périphériques (~12%)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- leucémie lymphocytaire à grains</li> <li>- mycose fongoïde/syndrome de Sézary</li> <li>- lymphome T périphérique, sans autre précision (6,9%)</li> <li>- lymphome T gamma/delta hépatosplénique</li> <li>- lymphome T sous-cutané de type panniculite</li> <li>- lymphome T angio-immunoblastique</li> <li>- lymphome T/NK extraganglionnaire, de type nasal</li> <li>- lymphome T de type entéropathie (1%)</li> <li>- lymphome anaplasique à grandes cellules, systémique primitif (2,9%)</li> <li>- lymphome anaplasique à grandes cellules, cutané primitif (1%)</li> <li>- leucémie agressive NK</li> <li>- leucémie/lymphome T de l'adulte (HTLV1+)</li> <li>- leucémie lymphoïde chronique T/leucémie pro-lymphocytaire</li> </ul>
---

(Jakic-Razumovic et Aurer, 2002 ; Rizvi *et al.*, 2006 ; <http://www.leukemia-lymphoma.org>)



### 2.2.2.1- Les lymphomes T

Aux États-Unis en 2007, les LNH de type T comptaient pour environ 12% de tous les lymphomes observés chez les patients. Les quatre groupes de lymphomes T les plus communs sont :

- les lymphomes T périphériques sans autre précision;
- les lymphomes T lymphoblastiques;
- les lymphomes T cutanés;
- les lymphomes T de l'adulte.

En février 2007, la classification de WHO/EORTC<sup>1</sup> répertoriait un total de 9 sortes de lymphome T périphérique (Rizvi *et al.*, 2006). Les causes, les méthodes de diagnostic ainsi que les traitements sont différents d'un type de lymphome T à l'autre.

### 2.3- Le modèle de Kaplan : un modèle d'étude des lymphomes

Pour être en mesure d'étudier le mécanisme de croissance et de dissémination des lymphomes T, notre laboratoire a établi plusieurs lignées de lymphomes murins en s'inspirant des travaux de Henry S. Kaplan initiés au début des années 1950. Développé suite aux leucémies et lymphomes observés suivant les bombardements de Nagasaki et d'Hiroshima, ce modèle consiste à induire le développement de lymphomes T thymiques par l'exposition de jeunes souris C57BL/6 à de faibles doses (175 Rad) d'irradiation ionisantes (rayons X) une fois par semaine pendant 1 mois (Kaplan, 1948 ; Kaplan et Brown, 1952 ; Kaplan et Brown, 1952b ; Furth et Furth, 1936). Après une période de latence de 3 à 6 mois suivant l'irradiation, 90% des animaux irradiés développent un lymphome thymique (Kaplan, 1967; Kaplan, 1974 ; Boniver *et al.*, 1981). Bien que les cellules pré-néoplasiques dérivent de la moelle osseuse (Lieberman et Kaplan, 1966 ; Boniver *et al.*, 1981b ; Rongy *et al.*, 1990), les radiations ionisantes sont essentielles au processus leucémogénique en activant un rétrovirus endogène. (Kaplan, 1967 ; Baylac-Kalabokias *et al.*, 1989).

La plupart des souris développant un lymphome thymique suite aux irradiations meurent d'une insuffisance respiratoire créée par l'envahissement thoracique par la tumeur thymique primaire (Kaplan *et al.*, 1979). Dans de rares occasions, des foyers secondaires sont créés dans la rate, le foie et les reins suite à la dissémination de cellules de lymphome depuis la tumeur primaire (Kaplan, 1967). Le lymphome thymique peut être récolté et les cellules du lymphome thymique peuvent être mises en culture cellulaire (Lieberman *et al.*, 1979). Lorsque injectées par voie intrathymique (i.t.) dans de jeunes souris syngéniques, un lymphome thymique se développe après une période de latence qui varie de 2 à 8 semaines post-injection, selon la dose de cellule injectée. Il s'agit d'un modèle murin de lymphome thymique radio-induit bien adapté pour étudier le processus de croissance des lymphomes thymiques (Boniver *et al.*, 1981). Ce modèle peut également être utilisé

---

<sup>1</sup> pour World Health Organization/European Organization for Research and Treatment of Cancer

pour étudier la dissémination des lymphomes en injectant les cellules par voie intraveineuse (i.v.) à des souris syngéniques. Les cellules du lymphome se disséminent alors aux organes périphériques tels que les ganglions lymphatiques, la rate, le foie et les reins (Aoudjit *et al.*, 1998b ; Lalancette *et al.*, 2000 ; Williams *et al.*, 2001 ; Santos *et al.*, 2002). Ce modèle, comme la plupart des modèles de tumeurs murines, permet également de sélectionner des lignées de lymphomes de plus en plus agressives grâce à des passages *in vivo*. (Lalancette *et al.*, 2000). L'étude différentielle des transcriptomes entre les cellules parentales peu agressives et les variants agressifs peut alors permettre d'identifier les gènes responsables du phénotype agressif des lymphomes (Demers *et al.*, 2005 ; Demers *et al.*, 2007).

### **3- Les molécules d'adhésion cellulaire**

#### **3.1- Rôle général des molécules d'adhésion cellulaire**

Les molécules d'adhésion cellulaires (MAC) sont des protéines exprimées à la surface des cellules qui permettent d'induire des liaisons avec d'autres cellules ou avec des molécules non cellulaires, telles que le collagène, la laminine et la fibronectine, qui font partie de la matrice extracellulaire (MEC) (Rhodes et Simons, 2007 ; Smith, 2008). Les MAC jouent un rôle clé dans plusieurs événements physiologiques dont l'embryogenèse, le développement de la réponse inflammatoire et la carcinogenèse (Passalacqua *et al.*, 1996 ; Geng, 2003 ; Thiery, 2003 ; Hoozemans *et al.*, 2004). L'efficacité de la réponse immunitaire dépend également des MAC puisque les interactions engendrées par ces protéines à la surface des leucocytes sont requises pour la maturation, l'activation et la différenciation des leucocytes, ainsi que l'adhésion et la migration de ceux-ci vers les foyers d'infection (Yong et Khwaja, 1990 ; Smith, 2008). Les MAC permettent également aux leucocytes naïfs de circuler de façon ordonnée dans le système lymphatique pour ainsi augmenter l'efficacité de l'activation des cellules immunitaires (Fabbri *et al.*, 1999).

Que ce soit pour le "homing" des lymphocytes naïfs dans les organes lymphoïdes secondaires via les HEVs (de l'anglais, *high endothelium venules*) ou pour le recrutement de l'ensemble des leucocytes aux foyers d'inflammation via les veinules postcapillaires activées, les mécanismes impliqués sont similaires (Springer, 1995 ; Springer, 1995b). Le modèle de recrutement des leucocytes ainsi que les trois familles de molécules d'adhésion cellulaire impliquées dans ce mécanisme seront présentés dans les sections suivantes.

#### **3.2- Étapes du processus d'adhésion et d'extravasation des leucocytes**

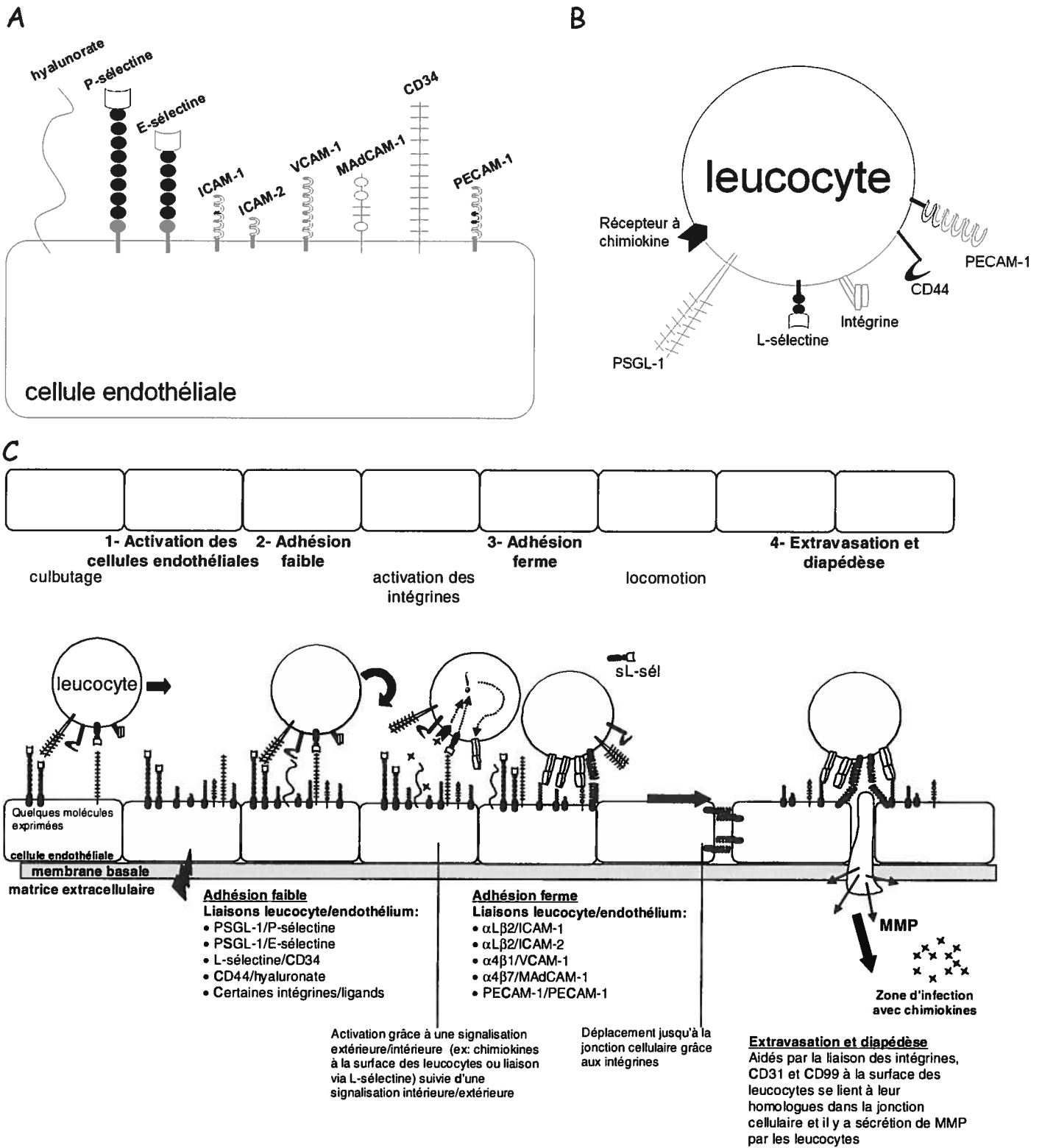
Le mécanisme de recrutement des leucocytes se doit d'être ordonné pour assurer une réponse immunitaire efficace face aux infections, aux blessures et aux développements cancéreux. Les molécules d'adhésion jouent un rôle crucial dans le recrutement leucocytaire en permettant aux

leucocytes circulant dans les vaisseaux sanguins de reconnaître les sites d'inflammation et en entraînant leur sortie de la circulation sanguine dans le but de provoquer une réponse immunitaire (Springer, 1994). Le recrutement des cellules immunitaires jusqu'à un site spécifique se fait en quatre étapes principales : 1- l'activation des cellules endothéliales, 2- l'adhésion faible, 3- l'adhésion ferme, 4- l'extravasation et la diapédèse. La **Figure 1** résume le paradigme multiphasique du recrutement leucocytaire.

**ÉTAPE 1 → Activation des cellules endothéliales** : Cette première étape est caractérisée par l'activation des cellules endothéliales tapissant les parois des veinules postcapillaires pour qu'elles augmentent l'expression des molécules d'adhésion telles que la E-sélectine, la P-sélectine, ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1 et MadCAM-1 (Garton *et al.*, 2006).

**ÉTAPE 2 → Adhésion faible** : Lorsque les cellules endothéliales sont activées, elles expriment une plus grande quantité de molécules d'adhésion. Conjugues aux forces hydrodynamiques qui jouent un rôle primordial dans le processus d'adhésion cellulaire en favorisant les interactions entre les sélectines et leurs ligands, les leucocytes initient d'abord des contacts de faibles affinités avec des CAM à de faible densité sur les cellules endothéliales, créant un processus de culbutage (ou *thethering* en anglais) (Butcher, 1991 ; Finger *et al.*, 1996b ; Chen et Springer, 1999 ; Thomas, 2006). Lorsque les leucocytes s'approchent du site inflammatoire et que la densité des CAM augmente, les leucocytes cessent de faire du culbutage et font du "rolling" toujours via les sélectines sans pour autant faire de l'adhésion ferme, car la liaison entre les sélectines et leurs ligands est de faible affinité (Fabbri *et al.*, 1999 ; Kelly *et al.*, 2007).

De façon générale, les molécules impliquées dans l'adhésion cellulaire faible sont exprimées à la surface des microvillosités des leucocytes. Ce positionnement favorise l'initiation du contact entre récepteurs leucocytaires et ligands endothéliaux pour ainsi engendrer le roulement leucocytaire (von Andrian *et al.*, 1995 ; Kahn *et al.*, 1998).



**Figure 1: Identification des molécules d'adhésion cellulaire importantes dans le recrutement leucocytaire.** A) à la surface des cellules endothéliales et B) à la surface des leucocytes. C) Schématisation du paradigme multiphasique du recrutement leucocytaire.

Même si les sélectines sont reconnues pour être les responsables de l'adhésion faible, il est admis que les leucocytes possèdent d'autres molécules à leur surface, comme les intégrines, qui peuvent participer à l'adhésion faible. Parmi les intégrines capables de médier des interactions de faible affinité sous certaines conditions, on retrouve  $\alpha$ L $\beta$ 2,  $\alpha$ 4 $\beta$ 1 et  $\alpha$ 4 $\beta$ 7, qui se lient avec leurs ligands respectifs exprimés par les cellules endothéliales activées (Alon *et al.*, 1995 ; Bargatze *et al.*, 1995 ; Berlin *et al.*, 1995 ; Butcher et Picker, 1996 ; Johnston *et al.*, 1996 ; Grabovsky *et al.*, 2000 ; Sigal *et al.*, 2000 ; Kubes, 2002 ; Green *et al.*, 2006 ; Woodside *et al.*, 2006). De plus, environ 6 heures après l'activation d'un leucocyte, la molécule CD44 exprimée à la surface des leucocytes, peut également favoriser l'adhésion faible (roulement) en se liant à son ligand, l'hyaluronate à la surface de l'endothélium activé (Butcher et Picker, 1996 ; DeGrendele *et al.*, 1997 ; DeGrendele *et al.*, 1997b).

**ÉTAPE 3 → Adhésion ferme** : Le roulement des leucocytes à la surface de l'endothélium vasculaire permet à ceux-ci d'entrer en contact avec les chimiokines inflammatoires, les médiateurs lipidiques et les autres molécules pro-inflammatoires retenus aux abords de l'endothélium par des éléments du glycocalix (Middleton *et al.*, 1997 ; Fabbri *et al.*, 1999 ; Proudfoot *et al.*, 2003). Les chimiokines sont des cytokines chimiotactiques qui forment une grande famille de petits (8-12 kDa) polypeptides semblables (Stein et Nombela-Arrieta, 2008). Dans le contexte de l'adhésion vasculaire, ces chimiokines, comme CCL19, CCL20, CCL21 et CXCL12, permettront d'induire l'activation des intégrines à la surface des lymphocytes via un signal passant par des récepteurs pluri-transmembranaires leucocytaires spécifiques couplés à des protéines G (Bargatze et Butcher, 1993 ; Campbell *et al.*, 1998 ; Pachynski *et al.*, 1998 ; Johnston et Butcher, 2002 ; Alon et Feigelson, 2002). L'activation des intégrines est un processus très rapide, c'est-à-dire de 1 à 2 secondes après l'interaction entre le leucocyte et l'endothélium (Butcher et Picker, 1996 ; Baggiolini, 1998). Les messages chimiotractants augmentent également le potentiel de liaison de la L-sélectine (Haribabu *et al.*, 1997). La L-sélectine et surtout les intégrines permettent alors aux leucocytes de se fixer fermement sur l'endothélium vasculaire (Spertini *et al.*, 1991 ; Constantin *et al.*, 2000). Les intégrines activées subissent alors un changement conformationnel leur permettant de médier des interactions de haute affinité avec leurs ligands, des molécules de la super famille des immunoglobulines (IgSF) exprimées à la surface des cellules endothéliales. L'activation des intégrines est spontanément réversible après quelques minutes, alors en absence de signaux induisant la diapédèse (étape 4), le leucocyte est de nouveau soumis au roulement (étape 2) (Dustin et Springer, 1989 ; Lo *et al.*, 1989).

**ÉTAPE 4 → Extravasation par diapédèse et migration au site inflammatoire** : L'adhésion ferme est nécessaire pour que les leucocytes puissent migrer vers le milieu extravasculaire. Deux voies d'extravasation semblent être utilisées par les leucocytes, soit la voie de migration entre les cellules endothéliales (voie paracellulaire) ou la voie de migration à travers les cellules endothéliales (voie transcellulaire) (Vestweber, 2007). Pour emprunter la voie paracellulaire, qui est la voie la plus

étudiée et acceptée par le monde de la recherche, il est reconnu que les leucocytes se déplacent de leur lieu d'adhésion ferme jusqu'à la jonction endothéliale la plus près grâce aux intégrines, une étape nommée locomotion (Schenkel *et al.*, 2004 ; Schreiber *et al.*, 2007).

Plusieurs médiateurs d'extravasation sont sollicités tels que les intégrines, CD31 (PECAM-1) et CD99 (Kubes, 2002 ; Lindbom et Werr, 2002 ; Garton *et al.*, 2006). CD31, une molécule d'adhésion de la super famille des immunoglobulines, est exprimée par les leucocytes activés et peut faciliter l'extravasation en favorisant l'adhésion homotypique en se liant à une molécule identique sur les cellules endothéliales (Liao *et al.*, 1995 ; Berman *et al.*, 1996 ; Christofidou-Solomidou *et al.*, 1997 ; Liao *et al.*, 1997). Cela entraîne une rupture des liaisons CD31-CD31 qui unissent les cellules endothéliales voisines permettant ainsi l'amorce de la diapédèse paracellulaire (Zocchi *et al.*, 1996 ; Bianchi *et al.*, 1997 ; Fabbri *et al.*, 1999). Chez les humains, CD99, qui est également exprimée par les leucocytes et par les cellules endothéliales, régule une étape subséquente de la diapédèse, car un traitement avec des anticorps spécifiques à CD99 entraîne l'arrêt des leucocytes à mi-chemin dans la jonction paracellulaire (Schenkel *et al.*, 2002).

Pour réaliser la diapédèse, les leucocytes doivent également changer de forme et altérer l'intégrité de l'endothélium grâce à un processus protéolytique. Les cellules endothéliales elles-mêmes participent à ce déplacement des leucocytes en modifiant les interactions engendrées par leurs molécules d'adhésion (Madri *et al.*, 1996 ; Luscinkas *et al.*, 2002). Une fois l'extravasation par diapédèse complétée, les leucocytes migrent à travers la membrane basale puis à travers la matrice extracellulaire pour atteindre le site d'intérêt suite à la production locale de chimiokines (Johnston et Butcher, 2002). Cette migration dépend de l'expression des intégrines à la surface des leucocytes, de l'activation de ces intégrines, de la composition de la MES et de sa dégradation via la production de MMP (de l'anglais, *matrix metalloproteinases*) par les leucocytes et les cellules du parenchyme (Leppert *et al.*, 1995 ; Leppert *et al.*, 1995b ; Xia *et al.*, 1996 ; Madri et Graesser, 2000 ; Khandoga *et al.*, 2006). L'expression des MMPs est régulée par l'interaction entre les intégrines à la surface des leucocytes et leurs ligands présents sur les cellules endothéliales et dans la MEC (Matias-Roman *et al.*, 2005 ; Madri et Graesser, 2000).

Le recrutement leucocytaire est donc un processus multiséquentiel hautement coordonné et doit être régulé à l'une ou l'autre de ces étapes par un ensemble complet d'éléments. La régulation peut se faire, notamment, au niveau de la transcription, de la traduction, de l'internalisation, de la dégradation, du clivage et de la phosphorylation (Butcher, 1991 ; Butcher et Picker, 1996). Par exemple, la L-sélectine, la molécule d'adhésion cellulaire d'intérêt de ce mémoire, est impliquée dans l'adhésion faible et subit un clivage protéolytique quelques instants après sa liaison intermoléculaire avec ses ligands exprimés à la surface des cellules endothéliales vasculaires. Ce clivage entraîne le

relâchement du leucocyte de la paroi vasculaire en absence des éléments importants pour les futures étapes du recrutement (Palecanda *et al.*, 1992). L'activation réversible des intégrines joue également un rôle dans la régulation en réduisant l'adhésion des leucocytes pour que leur mouvement de roulement se rétablisse en absence des signaux nécessaires à la diapédèse (Dustin et Springer, 1989 ; Lo *et al.*, 1989). La régulation de l'expression des signaux et des protéases induisant la diapédèse des leucocytes permet de sélectionner le type de leucocytes requis aux foyers d'inflammation.

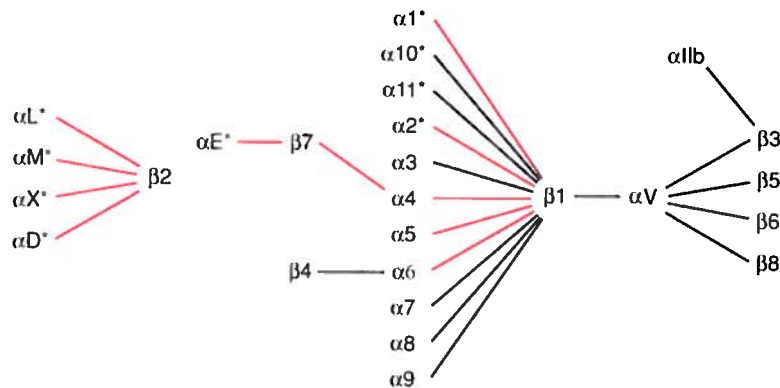
Une dérégulation du processus de recrutement leucocytaire peut avoir des conséquences néfastes. Alors qu'une diminution du recrutement peut engendrer une incapacité des leucocytes à migrer aux sites inflammatoires ou aux lésions tumorales, une dérégulation qui entraîne un trop grand recrutement leucocytaire produit des réactions inflammatoires inappropriées qui peuvent détruire les tissus, comme dans le cas d'un choc septique (Rizoli *et al.*, 1999). Une compétition entre les leucocytes peut même être observable lorsque la population leucocytaire augmente sans que la disponibilité des éléments nécessaires au recrutement s'accroisse (Cyster *et al.*, 1994 ; Koopman *et al.*, 1994 ; Cyster et Goodnow, 1995 ; Butcher et Picker, 1996).

Comme il a été mentionné précédemment, ce processus de recrutement leucocytaire nécessite entre autre la participation de trois grandes familles de molécules d'adhésion soit les intégrines, les molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines et les sélectines.

### 3.3- Les familles de molécules d'adhésion impliquées dans le recrutement leucocytaire

#### 3.3.1- Les intégrines

Les intégrines forment une superfamille de protéines composées de deux chaînes polypeptidiques transmembranaires (Hynes, 1992). Les deux chaînes,  $\alpha$  et  $\beta$ , sont assemblées par des liaisons non covalentes. Chez les vertébrés, 18 types de sous-unités  $\alpha$  et 8 types de sous-unités  $\beta$  ont été identifiées pour ainsi former 24 intégrines différentes. Une complémentarité structurale entre les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  est nécessaire pour qu'elles puissent se combiner, ce n'est donc pas n'importe quelle sous-unité  $\alpha$  qui peut s'associer à n'importe quelle sous-unité  $\beta$ . La **Figure 2** illustre les différentes associations possibles entre les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ .

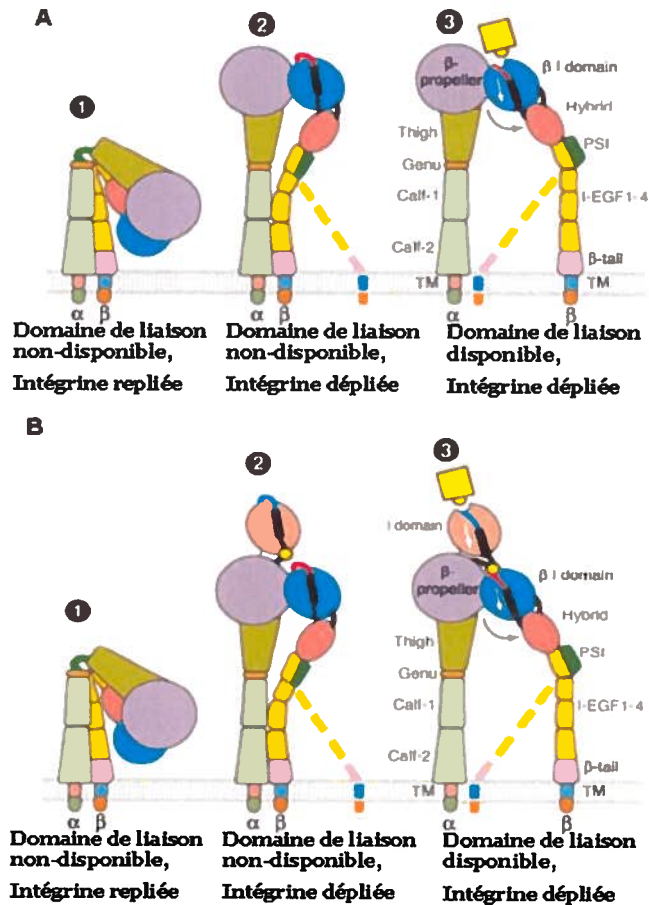


**Figure 2: Les 24 associations possibles entre les 18 sous-unités  $\alpha$  et les 8 sous-unités  $\beta$ .** Les intégrines exprimées à la surface des leucocytes sont présentées avec les traits rouges. Les sous-unités  $\alpha$  avec un astérisque sont des chaînes avec un domaine I (voir Figure 3). Schéma directement tiré de Luo et al., 2007.

Les intégrines ont deux petites portions cytoplasmiques (20 à 70 acides aminés ; à l'exception de la chaîne  $\beta_4$  qui s'étend beaucoup plus profondément dans le cytoplasme), deux segments transmembranaires simples et deux grands domaines extracellulaires (environ 950 acides aminés pour les chaînes  $\alpha$  et environ 650 acides aminés pour les chaînes  $\beta$ ) responsables de la liaison aux ligands spécifiques (Luo et Springer, 2006).

Une activation est nécessaire pour que les intégrines changent de conformation et ainsi puissent lier leurs ligands. La **Figure 3** schématise cette modification de conformation.





**Figure 3: Modification de la conformation des intégrines suite à une activation permettant la liaison au ligand. A) Modèle d'intégrine n'ayant pas de domaine I dans la chaîne  $\alpha$ . B) Modèle d'intégrine ayant un domaine I (ex :  $\alpha$ L,  $\alpha$ M,  $\alpha$ X,  $\alpha$ D,  $\alpha$ E,  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\alpha$ 10 et  $\alpha$ 11). Image modifiée de [Luo et al., 2007](#).**

Dans cette image, la modification de conformation des intégrines leur permettant d'entrer en interaction avec leurs ligands est représentée. Dans chacun des cas, que ce soit pour une intégrine avec ou sans domaine I, il y a au départ une expression de l'intégrine sous forme repliée. Les régions transmembranaires des chaînes alpha et beta sont alors rapprochées et les grandes régions extracellulaires sont repliées vers la membrane pour former un "V". Ensuite, une activation induit le redressement des régions extracellulaires. Un second évènement d'activation est nécessaire pour libérer le domaine de liaison au ligand. Dans le cas des intégrines sans domaine I (en A), le domaine de liaison au ligand se retrouve ainsi que sur la chaîne beta ainsi que sur la chaîne alpha. Pour les intégrines avec un domaine I (en B), le domaine de liaison au ligand se retrouve uniquement sur la chaîne alpha. Le domaine I porte également le nom de domaine "facteur de von Willebrand de type A".

L'activation est régulée par une signalisation intérieure/extérieure. Un mécanisme intracellulaire permettant la séparation des domaines cytoplasmiques des intégrines semble responsable pour la modification de conformation extracellulaire (Takagi *et al.*, 2002 ; Kim *et al.*, 2003). La liaison d'un antigène, de chimiokines ou de cytokines via des récepteurs cellulaires spécifiques induit une cascade signalétique à l'intérieur de la cellule entraînant une modification de la région cytoplasmique des intégrines. Cela résulte en une transformation des intégrines qui passent d'une forme repliée à faible affinité pour leur ligand à une forme dépliée de haute affinité (Xiong *et al.*, 2001 ; Laudanna *et al.*, 2002 ; Dustin *et al.*, 2004 ; Xiao *et al.*, 2004; Luo et Springer, 2006 ; Luo *et al.*, 2007). Les chimiokines les mieux connues pour activer les intégrines sont RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IP-10 et IL-8 (Baggiolini *et al.*, 1997 ; Baggiolini, 1998). En plus de la signalisation intérieure/extérieure nécessaire pour réguler l'affinité des intégrines, leur liaison avec leurs ligands induit une signalisation extérieure/intérieure (Smith, 2008). Plusieurs liaisons d'intégrines avec leurs ligands exigent la présence d'ions bivalents tels que Mg<sup>2+</sup> et Ca<sup>2+</sup> (Fabbri *et al.*, 1999 ; Luo et Springer, 2006).

En plus de se lier aux ligands mentionnés dans le **Tableau II**, certaines intégrines peuvent également interagir avec d'autres molécules de la MEC (laminine, fibronectine, fibrilline, néphronectine, thrombospondine), avec d'autres molécules d'adhésion de la famille des Ig (ICAM-4), avec des pathogènes (*Plasmodium falciparum*, rhinovirus), avec des enzymes membranaires (de la famille des ADAM), avec des enzymes solubles (MMP2, TIMP-1, plasminogène) ou avec des facteurs solubles (CD171, connective tissue growth factor, Cyr61, ESM-1, LAP-TGF $\beta$ , VEGF-C, VEGF-D). (Humphries *et al.*, 2006).

**Tableau II: Liste des principales intégrines impliquées dans le recrutement leucocytaire ainsi que leur distribution et leurs principaux ligands.**

<b>Molécule d'adhésion (synonyme)</b>	<b>Distribution</b>	<b>Principaux ligands</b>
$\alpha 1\beta 1$ (VLA-1, CD49a/CD29)	Lymphocyte, monocyte	Collagène
$\alpha 2\beta 1$ (VLA-2, GPIa, CD49b/CD29)	Lymphocyte, monocyte	Collagène
$\alpha 4\beta 1$ (VLA-4, CD49d/CD29)	Lymphocyte, monocyte, éosinophile, neutrophile	VCAM-1, fibronectine, JAM-B
$\alpha 4\beta 7$ (LPAM-1)	Lymphocyte, monocyte, cellule NK	MAdCAM-1, fibronectine
$\alpha 5\beta 1$ (VLA-5, CD49e/CD29)	Lymphocyte T, monocyte, neutrophile	Fibronectine
$\alpha 6\beta 1$ (VLA-6, GPIc, CD49f/CD29)	Lymphocyte T, monocyte, neutrophile	Laminine
$\alpha 9\beta 1$	Neutrophile	VCAM-1, tenascine, osteopontine
$\alpha E\beta 7$ (HML-1)	Lymphocyte T intra-épithélial	E-cadhérine
$\alpha L\beta 2$ (LFA-1, CD11a/CD18)	Lymphocyte, cellule NK, monocyte, macrophage, neutrophile, cellule dendritique, éosinophile	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, ICAM-5, JAM-A
$\alpha M\beta 2$ (Mac-1, CR3, CD11b/CD18)	Neutrophile, monocyte, macrophage, cellule NK, éosinophile, certain lymphocyte T * Principalement sur les cellules myéloïdes	ICAM-1, iC3b, fibrinogène, héparine, JAM-C, plusieurs autres
$\alpha X\beta 2$ (CR4, p150,95, CD11c/CD18)	Monocyte, macrophage, cellule NK, cellule dendritique, neutrophile	iC3b, ICAM-2, VCAM-1, fibrinogène, héparine, plusieurs autres
$\alpha D\beta 2$ (CD11d/CD18)	Monocyte, macrophage, éosinophile, neutrophile	ICAM-3, VCAM-1
$\alpha IIb\beta 3$	Plaquette	Fibrinogène
$\alpha V\beta 3$	Neutrophile	Vitronectine, CD31, fibronectine, tenascine

(Fabbri *et al.*, 1999 ; Kelly *et al.*, 2007 ; Luo *et al.*, 2007 ; Smith, 2008) VLA, very late antigen; LFA, lymphocyte function antigen; NK, natural killer; LPAM, lymphocyte Peyer's patch adhesion molecule; MAdCAM, mucosal addressin cell adhesion molecule; ICAM, intercellular adhesion molecule; VCAM, vascular cell adhesion molecule; JAM, junctional adhesion molecule; iC3b, un élément du système complément.

L'importance cruciale des intégrines dans l'embryogenèse et dans le développement d'une réponse immunitaire est bien connue. En effet, les patients atteints du syndrome de LAD1 (*leukocyte adhesion deficiency type 1*) ont une mutation génétique engendrant une production d'intégrine  $\beta 2$  non fonctionnelle. Ces patients sont sujets à davantage de complications suite aux infections et leur réparation tissulaire est déficiente (Anderson et Springer, 1987 ; Gallin, 1985). Chez les souris, cette maladie est caractérisée par une réduction de l'extravasation leucocytaire (Grabbe *et al.*, 2002). Le syndrome de LADIII est également reconnu pour être causé par un dérèglement au niveau des intégrines. Dans ce cas-ci, les intégrines  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  et  $\beta 3$  sont exprimées, mais elles n'accomplissent pas leur fonction, supposément dû à un problème de signalisation intérieure/extérieure (Etzioni et Alon, 2004 ; Kuijpers *et al.*, 2007). L'absence de certaines intégrines ( $\alpha 4$  et  $\alpha 5$ ) est même létale lors du développement embryonnaire de souris (Fabbri *et al.*, 1999 ; Bouvard *et al.*, 2001 ; Bokel et Brown, 2002).

En plus de leur rôle dans la migration leucocytaire et dans le développement embryonnaire, les intégrines sont impliquées dans la coagulation sanguine initiée par les plaquettes, dans la transmission de signaux bidirectionnels à travers la membrane plasmique, dans la production des adhérences focales et dans la production d'hémidesmosomes (Luo et Springer, 2006 ; Wilhelmsen *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2008).

### 3.3.2- Les molécules d'adhésion de la superfamille des Ig

La superfamille des immunoglobulines (Ig) forme un groupe très vaste comprenant des protéines membranaires ainsi que des protéines sécrétées. Elle comprend les récepteurs d'antigène et leurs molécules accessoires (anticorps, récepteur antigénique des lymphocytes T et B, les chaînes du complexe CD3  $\gamma$ ,  $\delta$  et  $\epsilon$ , CD79a, CD79b), les co-récepteurs CD4, CD8, et CD19, et les molécules de co-stimulation et de co-inhibition du système immunitaire telles que CD28, CD80 et CD86. Cette famille comprend également les protéines du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I et II responsable de la présentation des peptides antigéniques de même que la beta-2 microglobuline associée à la chaîne du CMH I, les récepteurs de cytokines et de facteurs de croissance (e.g. IL-1R-1, IL-1R-2, PDGFR, IL-6R-alpha) ainsi que les molécules d'adhésion (CD2, CD48, JAMs, ICAMs, VCAM-1, CD31, CD171). Le point commun entre les protéines de cette superfamille est la présence de domaines d'immunoglobuline (Ig) qui sont caractérisés par une structure secondaire composée de plusieurs feuillets  $\beta$ . Les molécules ICAM-2, ICAM-4, MAdCAM-1 et les JAMs possèdent ainsi 2 domaines d'immunoglobuline, alors que d'autres molécules comme ICAM-1 et ICAM-5 en contiennent 5 tandis que la forme humaine de VCAM-1 en comporte 6 ou 7, selon l'épissage alternatif du gène (Wang et Springer, 1998 ; Smith, 2008).

**Tableau III: Liste des principales molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines impliquées dans le recrutement leucocytaire ainsi que leur distribution et leurs principaux ligands.**

Molécule d'adhésion (synonyme)	Distribution	Principaux ligands
ICAM-1 (CD54)	Cellule endothéliale, cellule épithéliale, leucocyte, fibroblaste, hépatocyte	$\alpha$ L $\beta$ 2, $\alpha$ M $\beta$ 2
ICAM-2 (CD102)	Cellule endothéliale	$\alpha$ L $\beta$ 2, $\alpha$ M $\beta$ 2, $\alpha$ X $\beta$ 2
ICAM-3* (CD50)	Leucocyte	$\alpha$ L $\beta$ 2, $\alpha$ D $\beta$ 2
ICAM-4 (CD242, groupe sanguin Landsteiner-Wiener)	Érythrocyte	$\alpha$ L $\beta$ 2, $\alpha$ M $\beta$ 2, $\alpha$ X $\beta$ 2, $\alpha$ V4 $\beta$ 3, $\alpha$ IIb $\beta$ 3, $\alpha$ 4 $\beta$ 1
ICAM-5 (CD50, telencephalin)	Système nerveux central	$\alpha$ L $\beta$ 2
VCAM-1 (CD106, INCAM-110)	Endothélium, épithélium, fibroblaste, cellule des muscles lisses et de la moelle osseuse	$\alpha$ 4 $\beta$ 1, $\alpha$ 9 $\beta$ 1, $\alpha$ X $\beta$ 2, $\alpha$ DL $\beta$ 2
MAdCAM-1	Cellule endothéliale	$\alpha$ 4 $\beta$ 7, L-sélectine
PECAM-1 (CD31)	Cellule endothéliale, leucocyte, fibroblaste, plaquette	PECAM-1, $\alpha$ V $\beta$ 3, CD38
JAM-A (F11R, JAM1)	Endothélium, épithélium, plaquette, neutrophile, lymphocyte, monocyte	$\alpha$ L $\beta$ 2, JAM-A
JAM-B (JAM2)	Endothélium	$\alpha$ 4 $\beta$ 1, JAM-B, JAM-C
JAM-C (JAM3)	Endothélium	$\alpha$ M $\beta$ 2, JAM-B

(Wang et Springer, 1998 ; Fabbri *et al.*, 1999 ; Jackson, 2003 ; Woodside *et al.*, 2006 ; Kelly *et al.*, 2007 ; Smith, 2008) MAdCAM, mucosal addressin cell adhesion molecule; ICAM, intercellular adhesion molecule; VCAM, vascular cell adhesion molecule; JAM, junctional adhesion molecule.

\* non exprimée chez les souris.

Dans la section qui suit, nous nous attarderons aux molécules d'adhésion principales de la famille des Ig qui participent au recrutement leucocytaire. Le **Tableau III** résume les différentes interactions entre ces principales molécules d'adhésion de la superfamille des Ig et leurs ligands respectifs.

ICAM-1 est l'une des première MAC caractérisée. Elle est exprimée constitutivement en faible concentration sur les cellules endothéliales, les cellules épithéliales, les fibroblastes, les leucocytes, les kératinocytes, les hépatocytes et les cellules de muscles lisses (Wang et Springer, 1998 ; Finnegan et Roebuck, 1999). Cependant, l'acide rétinolique, certaines infections virales, le stress oxydatif et des cytokines pro-inflammatoires telles que IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) et IFN- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ ) entraînent une augmentation de son expression à la surface des cellules endothéliales activées (Shrikant *et al.*, 1994 ; Ballesta et Benveniste, 1995 ; Bassi *et al.*, 1995

; Finnegan et Roebuck, 1999). La combinaison des cytokines TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$  a un effet synergique sur l'expression de ICAM-1 (Jahnke et Johnston, 1995). L'expression de ICAM-1 est régulée au niveau de la transcription du gène (Finnegan et Roebuck, 1999). Des molécules anti-inflammatoires telles que des glucocorticoïdes, TGF- $\beta$ , IL-4 et IL-10 empêchent l'augmentation d'expression de ICAM-1 (Renkonen *et al.*, 1992 ; Shrikant *et al.*, 1996 ; Song *et al.*, 1997). En plus d'être nécessaire à l'efficacité du recrutement leucocytaire, ICAM-1 sert de molécule de co-stimulation pour activer les lymphocytes T (Zucherman *et al.*, 1998). ICAM-1 exprimée constitutivement sur les cellules épithéliales de la muqueuse nasale sert aussi de récepteur pour l'adsorption de rhinovirus (Sehti *et al.*, 1997). Des expériences avec des souris génétiquement déficientes pour le gène ICAM-1 ont démontré que cette MAC joue un rôle prépondérant dans le recrutement leucocytaire (Xu *et al.*, 1994).

À l'instar de ICAM-1, VCAM-1 est exprimée constitutivement sur les cellules endothéliales mais son expression augmente considérablement suite à une stimulation des cellules endothéliales par des cytokines inflammatoires (Bereta *et al.*, 1993 ; Wang et Springer, 1998). VCAM-1 est constitutivement exprimée sur les cellules endothéliales des veinules dans les ganglions lymphatiques (May *et al.*, 1993 ; Cook-Mills *et al.*, 1996). Chez l'humain, deux isoformes de VCAM-1 ont été identifiées; soit la forme intégrale qui contient 7 domaines d'Ig (VCAM-1 7D) et la forme VCAM-1 6D résultant d'un épissage alternatif dont le quatrième domaine est absent (Hession *et al.*, 1991). La forme intégrale est celle la plus exprimée à la surface des cellules (Hession *et al.*, 1991). VCAM-1 subit un clivage protéolytique en présence d'enzyme telle que TACE, la cathepsine G et l'élastase neutrophile (Lévesque *et al.*, 2001 ; Garton *et al.*, 2003). Malgré que la fraction soluble de VCAM-1 6D ait une plus grande affinité que la fraction soluble de VCAM-1 7D pour l'intégrine  $\alpha_4\beta_1$ , la forme intégrale de VCAM-1 est davantage impliquée dans le recrutement leucocytaire via l'adhésion ferme (Woodside *et al.*, 2006). La liaison de VCAM-1 avec l'intégrine  $\alpha_4\beta_1$  à la surface d'un leucocyte entraîne une cascade signalétique dans la cellule endothéliale où la NADPH oxydase tiendra son rôle. En effet, l'activation des NADPH oxydases présentes dans la membrane plasmique des cellules endothéliales génère la libération de ROS (reactive oxygen species) qui activent les MMPs présentes à la surface des leucocytes et des cellules endothéliales (Matheny *et al.*, 2000 ; Tudor *et al.*, 2001). L'action des MMPs permet alors aux leucocytes de franchir la barrière que forment les cellules endothéliales (Cook-Mills, 2002). En plus d'être nécessaire pour un recrutement leucocytaire efficace, VCAM-1 est essentielle lors du développement embryonnaire (Gurtner *et al.*, 1995).

ICAM-2 est une molécule possédant une forte homologie avec ICAM-1. Elle est exprimée constitutivement sur l'ensemble des cellules endothéliales ainsi que sur certains leucocytes et sur les plaquettes (deFougerolles *et al.*, 1991 ; Smith, 2008). À l'inverse de VCAM-1 et de ICAM-1, cependant, les cytokines pro-inflammatoires TNF- $\alpha$  et IL-1 $\beta$  réduisent l'expression de ICAM-2 et

entraînent sa redistribution hors des jonctions endothéliales (McLaughlin *et al.*, 1998). En plus de se lier à ces intégrines spécifiques, ICAM-2 peut également interagir avec le récepteur DC-SIGN (dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin) des cellules dendritiques contribuant ainsi au recrutement leucocytaire (Staunton *et al.*, 1989 ; Xie *et al.*, 1995 ; Geijtenbeek *et al.*, 2000). L'équipe de Huang a récemment démontré que ICAM-2 pouvait se lier à d'autres ICAM-2 (Huang *et al.*, 2005b). Les interactions engendrées par ICAM-2 semblent aussi jouer un rôle dans l'angiogenèse (Dejana *et al.*, 2001 ; Huang *et al.*, 2005b). Contrairement à ICAM-1, cependant, le rôle d'ICAM-2 dans le recrutement leucocytaire semble négligeable.

MAdCAM-1 est exprimée sur des cellules endothéliales de tissus spécialisés tels que les veinules des plaques de Peyer's, des ganglions lymphatiques, du cerveau, des glandes mammaires lors de la lactation ainsi que les veinules des laminae propriae (Nakache *et al.*, 1989 ; Sikorski *et al.*, 1993 ; Oshima *et al.*, 2001). L'expression de MAdCAM-1 augmente suite à une stimulation par des cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- $\alpha$  et IL-1 $\beta$  (Volpes *et al.*, 1992 ; Ando *et al.*, 2007). En plus de se lier à l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$ , MAdCAM-1 peut servir de ligand pour la L-sélectine (Fabbri *et al.*, 1999 ; Rosen, 2004).

PECAM-1 est exprimée en forte densité à la surface des cellules endothéliales, particulièrement dans les jonctions latérales. PECAM-1 se retrouve également, mais à plus faible densité, sur les plaquettes et différents leucocytes (Jackson *et al.*, 1997 ; Hua *et al.*, 1998). Ses ligands sont l'intégrine  $\alpha V\beta 3$  et CD38 ainsi qu'une autre molécule PECAM-1 (Newman, 1997). Une particularité intéressante de PECAM-1 est son motif ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif) dans la région cytoplasmique. Cette région protéique attire et active les tyrosines phosphatases engendrant ainsi une fonction inhibitrice (Henshall *et al.*, 2001 ; Newman *et al.*, 2001).

JAM-A se retrouve à la jonction intercellulaire sur les cellules endothéliales et épithéliales (Martin-Padura *et al.*, 1998). Cette protéine est également exprimée à la surface des plaquettes et de certains leucocytes (Malergue *et al.*, 1998). Elle participe à l'extravasation des leucocytes, à l'activation des plaquettes ainsi qu'à l'adhésion entre les cellules endothéliales pour permettre la formation d'un tissu (Bazzini, 2003).

Il existe plusieurs autres molécules d'adhésion dans la superfamille des Ig. Le but de cette section était donc de n'en donner qu'un aperçu pour être en mesure de concevoir le phénomène de recrutement leucocytaire qui nécessite l'interaction de plusieurs molécules d'adhésion. La prochaine section portera sur la troisième et dernière famille de molécules d'adhésion importantes pour le recrutement leucocytaire. Il s'agit des sélectines, le groupe de molécules d'adhésion impliqué dans les premières étapes du processus d'adhésion vasculaire.

### 3.3.3- Les sélectines

C'est en étudiant le principe de retour aux foyers ("homing") des lymphocytes dans les années 1960 que la présence des sélectines a été établie (Gowans et Knight, 1964). Trois sélectines ont été identifiées : la P-sélectine, retrouvée à la surface des plaquettes et des cellules endothéliales (Stenberg *et al.*, 1985 ; Berman *et al.*, 1986 ; Bonfanti *et al.*, 1989 ; McEver *et al.*, 1989); la E-sélectine, exprimée presque exclusivement à la surface des cellules endothéliales (Cotran *et al.*, 1986 ; Kansas, 1996 ; Reynolds *et al.*, 2006); et la L-sélectine, exprimée à la surface de leucocytes (Ohgama et Onoé, 1992). Les trois sélectines jouent des rôles importants dans la première étape du recrutement leucocytaire. La P-sélectine, de par son expression rapide et sa longueur, est la sélectine initialement sollicitée (Mayadas *et al.*, 1993). La E-sélectine, quant à elle, augmente cette adhésion des leucocytes (Frenette *et al.*, 1996 ; Kunkel et Ley, 1996). Finalement, la L-sélectine a un rôle subséquent aux deux premières sélectines (Jung et Ley, 1999). Le roulement leucocytaire engendré par la L-sélectine est 7 à 12 fois plus rapide que les roulements produits par la E- et la P-sélectine (Ley et Tedder, 1995 ; Puri *et al.*, 1997). Cette grande rapidité s'explique par la vitesse élevée à laquelle la L-sélectine peut se dissocier et se lier à ses ligands (Rosen, 2004).

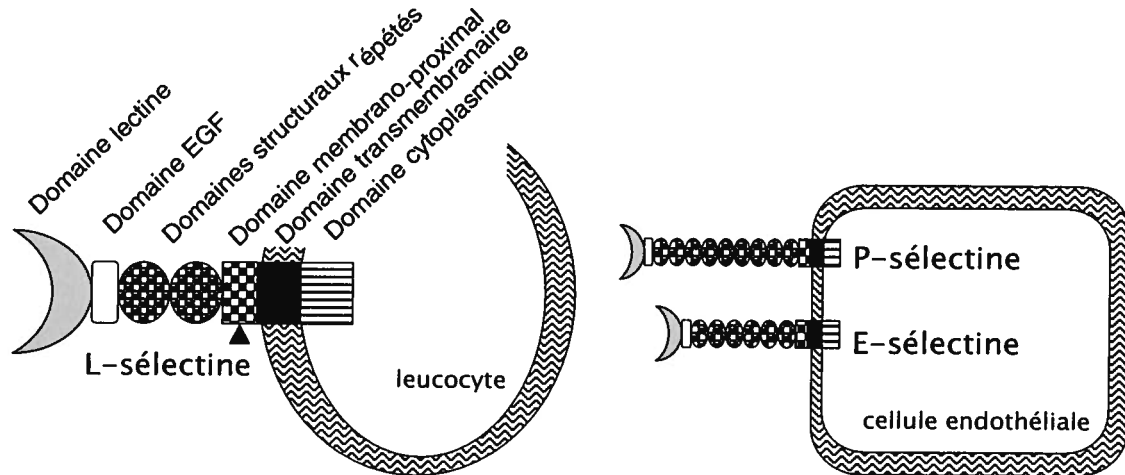
Les trois sélectines sont composées d'un court domaine cytoplasmique constitué d'une quinzaine d'acides aminés, d'un domaine transmembranaire et d'un long domaine extracellulaire de 318 acides aminés pour la L-sélectine, de 546 acides aminés pour la E-sélectine ou 760 acides aminés pour la P-sélectine. Le segment extracellulaire est constitué d'une section membrano-proximale, d'un certain nombre de domaines structuraux, dont le nombre dépend de la sélectine, d'un domaine de type EGF, et d'un domaine lectine de type C situé à l'extrémité amino-terminale. La L-sélectine est la seule à disposer d'un site protéolytique spécifique dans la région membrano-proximale (Ivetic et Ridley, 2004). Le domaine lectine est responsable de la liaison aux groupements glucidiques spécifiques présents sur les ligands des sélectines. La **Figure 4** illustre les domaines principaux retrouvés chez les 3 types de sélectines.

#### 3.3.3.1- Les ligands des sélectines

Les ligands des sélectines sont des protéines transmembranaires hautement O-glycosylées et riches en sérine et en thréonine (Kansas, 1996). Elles contiennent des motifs Sialyl Lewis X (sLe<sup>x</sup>) et Sialyl Lewis A (sLe<sup>a</sup>) qui sont responsables de la liaison avec les sélectines (Kansas, 1996 ; Rosen, 2004). De plus, des modifications post-traductionnelles comme la sulfatation et la fucosylation des carbohydrates sur les ligands sont nécessaires pour induire la liaison avec les sélectines (Hiraoka *et al.*, 1999 ; Rosen, 2004). Parmi les ligands principaux, on retrouve PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1 ou CD162), qui contient le tétrasaccharide sialylé, sLeX, lequel peut se lier aux trois sélectines. PSGL-1 est exprimé à la surface des neutrophiles, des monocytes, des cellules NK et de certaines sous-populations de lymphocytes (Sako *et al.*, 1993 ; Moore *et al.*, 1994; Zanetti *et al.*,



1995 ; Kansas, 1996 ; Spertini *et al.*, 1996 ; McEver et Cummings, 1997 ; Fabbri *et al.*, 1999). Le **Tableau IV** résume les principaux ligands des sélectines.



**Figure 4 : Représentation des sélectines schématisant leur structure et leur distribution.**

Cette figure illustre la présence de la L-sélectine à la surface des leucocytes alors que la P-sélectine et la E-sélectine sont exprimées à la surface des cellules endothéliales. La P-sélectine est également emmagasinée dans les corps de Weibel-Palade à l'intérieur des cellules endothéliales. La L-sélectine possède un domaine cytoplasmique, un domaine transmembranaire, un domaine membrano-proximal, deux domaines structuraux répétés, un domaine EGF et un domaine lectine responsable des liaisons. La P-sélectine et la E-sélectine possèdent la même composition à l'exception du nombre de domaines structuraux répétés qui sont respectivement de 9 et 6. EGF, epidermal growth factor.

**Tableau IV: Liste des sélectines impliquées dans le recrutement leucocytaire ainsi que leur distribution et leurs principaux ligands.**

Molécule d'adhésion (synonyme)	Distribution	Principaux ligands
L-sélectine (CD62L)	Lymphocyte, neutrophile, éosinophile, monocyte	GlyCAM-1, CD34, MAdCAM-1, PSGL-1 (CD162), PCLP, Sgp200, endomucine, endoglycan, glycoprotéine avec sLeX
E-sélectine (CD62E, ELAM-1)	Lymphocyte, monocyte	CD44, CD43, PSGL-1 (CD162), ESL-1, CLA, glycoprotéine avec sLeX
P-sélectine (CD62P, GMP-140, PADGEM)	Lymphocyte, monocyte, éosinophile, neutrophile	PSGL-1 (CD162), CD24, glycoprotéine avec sLeX

(Zhou *et al.*, 1991 ; Fabbri *et al.*, 1999 ; Kelly *et al.*, 2007 ; Smith, 2008) ELAM, endothelial leukocyte adhesion molecule; GMP, granule membrane protein; PADGEM, platelet activation-dependent granule to external membrane protein; GlyCAM, glycosylation-dependent cell adhesion molecule; MAdCAM, mucosal addressin cell adhesion molecule, PSGL, P-selectin glycoprotein ligand; sLeX, sialyl Lewis X ; PCLP, podocalyxin-like protein; Sgp, sulfated glycoprotein; ESL, E-selectin monospecific ligand.

### 3.3.3.2- La P-sélectine

L'expression de la P-sélectine est finement régulée. Elle augmente ainsi rapidement à la surface des cellules endothéliales et des plaquettes suite à une activation, car une grande quantité de P-sélectine est emmagasinée dans les corps de Weibel-Palade à l'intérieur des cellules endothéliales et dans les granules-alpha à l'intérieur des plaquettes (Hattori *et al.*, 1989 ; McEver *et al.*, 1989 ; Geng *et al.*, 1990). Ces vésicules de stockage fusionnent avec la membrane plasmique après activation des cellules permettant ainsi l'augmentation rapide de l'expression de la P-sélectine. Cette augmentation rapide de l'expression de la P-sélectine à la surface des cellules endothéliales s'effectue notamment en réponse à des médiateurs inflammatoires comme l'histamine, la thrombine, la fibrine, le facteur de perméabilité vasculaire, l'élément du complément C5b9, du LPS, des oxydants et des cystéinyl-leucotriènes (Spertini *et al.*, 1996 ; Kubes, 2002). L'expression de la P-sélectine est aussi régulée au niveau de la transcription. En effet, une activation par le TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-4 ou LPS induit la transcription du gène P-sélectine dans les cellules endothéliales murines (Pan *et al.*, 1998). Cette activation nécessite la présence de IL-4 ou IL-13 sur les cellules endothéliales humaines (Yao *et al.*, 1996 ; Woltmann *et al.*, 2000). Cette différence de médiateurs requis est due à la dissemblance des promoteurs de P-sélectine entre les deux espèces. Une fois exprimée dans la lumière vasculaire par les cellules endothéliales, la P-sélectine peut se lier à son ligand PSGL-1. Cette liaison permet l'interaction entre les cellules immunitaires et l'endothélium activé (Geng *et al.*, 1990). Le roulement engendré par la P-sélectine semble complètement dépendant de la présence de PSGL-1 (Moore *et al.*, 1995) malgré l'existence de d'autres ligands pour la P-sélectine tels que CD24 (HSA, 'heat stable antigen' chez la souris), le glycolipide SGNL (3-sulfo-glucoronyl-neolactose) et des sulfatides (Aruffo *et al.*, 1991 ; Needham et Schnaar, 1993 ; Sammar *et al.*, 1994 ; Aigner *et al.*, 1995 ; Aigner *et al.*, 1997). De plus, une fois exprimée par les plaquettes, la P-sélectine peut se lier à PSGL-1 à la surface des leucocytes pour engendrer des interactions plaquettes/leucocytes (Larsen *et al.*, 1989). Cette interaction avec les plaquettes pourrait selon certains aider les leucocytes à adhérer aux endothéliums activés, car les plaquettes activées présentes dans les sites d'inflammation peuvent recruter davantage de leucocytes portant PGSL-1 (McEver et Cummings, 1997). De plus, les importantes agrégations plaquettes/leucocytes semblent être plus sujettes à l'arrêt dans les petits vaisseaux sanguins (Kubes, 2002 ; Pitchford *et al.*, 2005 ; Zarbock *et al.*, 2006).

### 3.3.3.3- La E-sélectine

La E-sélectine (CD62E), tout comme la P-sélectine, est exprimée à la surface des cellules endothéliales suite à une activation, bien que l'induction de son expression soit moins rapide comparativement à la P-sélectine, étant donné que son expression *de novo* nécessite la transcription du gène et la traduction de l'ARNm (Read *et al.*, 1997). En réponse à des produits bactériens et des cytokines pro-inflammatoires comme IL-1 $\beta$  et TNF- $\alpha$ , l'expression maximale de la E-sélectine est ainsi observée une à quatre heures après la stimulation (Ye *et al.*, 1995 ; Spertini *et al.*, 1996).

Comme les autres sélectines, la E-sélectine se lie au PSGL-1, mais également à CD43, CD44, ESL-1 (E-selectin ligand-1), CLA (cutaneous leukocyte antigen) et à la L-sélectine sur les neutrophiles humains (Yang *et al.*, 1990 ; Asa *et al.*, 1995 ; Steegmaier *et al.*, 1995 ; Zöllner *et al.*, 1997 ; Fabbri *et al.*, 1999 ; Fuhlbrigge *et al.*, 2006 ; Hidalgo *et al.*, 2007). La E-sélectine permet donc à certains monocytes et cellules T mémoires d'adhérer à l'endothélium activé (Carlos *et al.*, 1991 ; Shimizu *et al.*, 1991).

#### **4- La L-sélectine**

##### **4.1- Les caractéristiques générales de la L-sélectine**

La présence de la L-sélectine a été décelée dans les années 1970 grâce notamment à un test d'adhésion *in vitro* où des lymphocytes interagissaient avec une coupe tissulaire de ganglion lymphatique et à la génération d'une série d'anticorps monoclonaux visant à identifier les molécules d'adhésion responsables des interactions intercellulaires entre les HEV et les lymphocytes (Stamper et Woodruff, 1976 ; Gallatin *et al.*, 1983). L'utilisation de l'anticorps MEL-14, un anticorps monoclonal spécifique au site fonctionnel de la L-sélectine, a permis d'identifier la L-sélectine et de la cloner (Gallatin *et al.*, 1983). Un autre anticorps, MECA-79, quant à lui, bloque également la capacité de liaison de la L-sélectine, car cet anticorps s'associe aux ligands de la L-sélectine ayant le motif Sialyl Lewis (CD15) (Streeter *et al.*, 1988 ; Hemmerich *et al.*, 1994b).

La L-sélectine (CD62L) a aussi porté les appellations : LECAM-1 (leukocyte-endothelial cell adhesion molecule-1), LEC.CAM-1, LNHR, PLNHR, hLHRc, LYAM1, MEL 14-Ag, gp90MEL-14, gp100MEL-14, Leu-8, Ly-22, DREG 56, TQ-1 ainsi que LAM-1 (leukocyte adhesion molecule-1) (Rainer, 2002). Il s'agit de la plus courte des trois sélectines, avec seulement deux domaines structuraux extracellulaires. La molécule de L-sélectine a une masse moléculaire de départ d'environ 42 kDa, qui peut atteindre 74 à 95 kDa suite à sa glycosylation. Cette protéine est exprimée de manière concentrée à la surface des extrémités des microvillosités (Erlandsen *et al.*, 1993). Cette distribution de la L-sélectine à l'extrémité des villosités favorise les contacts initiaux lors du recrutement leucocytaire (von Andrian *et al.*, 1995). On la retrouve ainsi à la surface de la plupart des leucocytes, incluant les neutrophiles, les cellules NK, les monocytes, les lymphocytes B et T, les éosinophiles et certaines cellules hématopoïétiques immatures et précurseurs (Gallatin *et al.*, 1983 ; Finger *et al.*, 1996a).

##### **4.2- Les ligands de la L-sélectine**

Dès les années 1960, des hydrates de carbone à la surface des cellules endothéliales étaient soupçonnés d'engendrer les interactions avec les lymphocytes pour permettre le "homing" (Gesner

et Ginsburg, 1964). En fait, les modifications post-traductionnelles jouent un rôle clé dans les interactions intercellulaires, notamment via la L-sélectine. Ainsi, en 1980, les résultats d'une étude indiquaient que des molécules sulfatées jouaient un rôle important dans la migration des lymphocytes (Andrews *et al.*, 1980). Puis en 1985, une équipe démontrait que la L-sélectine se lie à ses ligands via l'acide sialique (Rosen *et al.*, 1985). À présent, il est bien établi que la majorité des ligands de la L-sélectine sont des sialomucines, c'est-à-dire des glycoprotéines sialylées possédant plusieurs résidus thréonine (Thr) et sérine (Ser) O-glycosylés, et que les tétrasaccharides Sialyl Lewis X (sLe<sup>X</sup>) et Sialyl Lewis A (sLe<sup>A</sup>) présents dans les ligands sont responsables de la liaison avec les trois types de sélectines (Brandley *et al.*, 1990 ; Poppe *et al.*, 1997 ; Fukuda *et al.*, 1999).

Ces modifications post-traductionnelles régulent l'affinité des ligands envers les sélectines (McEver *et al.*, 1995 ; Rosen et Bertozzi, 1996 ; Feizi et Galustian, 1999). La sialylation, la fucosylation et la sulfatation des motifs sLe<sup>X/A</sup> sont en effet nécessaires pour rendre les ligands fonctionnels à une liaison avec la L-sélectine (Andrews *et al.*, 1982 ; Imai *et al.*, 1991 ; Imai *et al.*, 1993 ; Maly *et al.*, 1996 ; Bistrup *et al.*, 1999 ; Galustian *et al.*, 2002 ; Lowe, 2002 ; van Zante et Rosen, 2003 ; Rosen, 2004). Les modifications post-traductionnelles que l'on retrouve au niveau des ligands de la L-sélectine sont primordiales pour que le "homing" soit efficace (Rosen *et al.*, 1985 ; Homeister *et al.*, 2001 ; van Zante et Rosen, 2003 ; Rosen, 2004). Aucun des ligands de la L-sélectine ne semble cependant essentiel pour le "homing" des lymphocytes, car l'absence d'un ligand donné peut être compensée par les nombreux autres ligands alternatifs (Suzuki *et al.*, 1996 ; Rosen, 1999). De plus, certains ligands de la L-sélectine ne semblent pas interagir avec MECA-79, et demeurent également à être caractérisés (Clark *et al.*, 1998 ; Rosen, 2004). Il est cependant difficile d'établir précisément quels sont les véritables implications des différents ligands de la L-sélectine car les études *in vitro* ne reproduisent pas avec exactitude le milieu biologique initial et que les ligands varient selon les organes et les espèces (Varki, 1997 ; Sasseti *et al.*, 1998 ; Rosen, 2004).

#### 4.2.1- GlyCAM-1

GlyCAM-1 est une protéine transmembranaire exprimée principalement sur les cellules endothéliales et qui a été identifiée comme étant un ligand potentiel pour la L-sélectine via les O-glycans présents sur certaines glycoformes de cette mucine (Lasky *et al.*, 1992 ; Hemmerich *et al.*, 1995). Une sialylation, une sulfatation et probablement une fucosylation des oligosaccharides de GlyCAM-1 sont nécessaires pour permettre la liaison avec la L-sélectine (Rosen *et al.*, 1985 ; Imai *et al.*, 1992 ; Imai *et al.*, 1993). Comme la plupart des MAC intercellulaires, GlyCAM-1 se retrouve en grande concentration sous forme soluble dans le sérum (Brustein *et al.*, 1992 ; Kikuta et Rosen, 1994 ; Singer et Rosen, 1996). Cette fraction soluble peut se lier à la L-sélectine et empêcher alors les interactions avec les autres ligands à la surface des endothéliums (Brustein *et al.*, 1992 ; Hoke *et al.*, 1995).

#### 4.2.2- MadCAM-1

MAdCAM-1 est une autre molécule transmembranaire identifiée comme étant un ligand de la L-sélectine permettant le roulement des lymphocytes (Berg *et al.*, 1993). Les caractéristiques de cette molécule ont déjà été présentées dans une section précédente, car ce ligand fait partie de la superfamille des immunoglobulines et qu'il se lie également à l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$  (Berlin *et al.*, 1993).

#### 4.2.3- Les ligands de la famille de type CD34

La sialomucine transmembranaire CD34 est exprimée par la majorité des cellules endothéliales et des précurseurs hématopoïétiques (Baumhater *et al.*, 1993 ; Puri *et al.*, 1995 ; Young *et al.*, 1995). La structure de CD34 consiste en un large domaine de type mucine à l'extrémité N-terminale, suivi d'un domaine contenant des disulfides, puis de domaines transmembranaires et cytoplasmiques (Young *et al.*, 1995). CD34 est présente sous deux formes, et seule celle exprimée par les cellules endothéliales des HEVs (high endothelium venules) et des tissus enflammés peut interagir avec la L-sélectine (Renkonen *et al.*, 2002 ; Satomaa *et al.*, 2002 ; Rosen, 2004). Cela s'explique probablement par la présence de modifications post-traductionnelles spécifiques puisque des études ont démontré que la sulfatation et la sialylation de ce ligand sont nécessaires pour que la L-sélectine se lie à CD34 à la surface des HEVs porcins (Shailubhai *et al.*, 1997).

PCLP-1 (podocalyxin-like protein 1) est également une sialomucine possédant de multiples sucres. Elle porte aussi le nom de podocalyxine, de thrombomucine et de MEP21 (Myb-Ets-transformed progenitor 21) (Doyonnas *et al.*, 2001). La structure et le patron de distribution de cette protéine sont grandement similaires à CD34 (Kershaw *et al.*, 1997 ; Sasseti *et al.*, 1998). En plus de se retrouver à la surface des cellules endothéliales, la podocalyxine est également exprimée à la surface des podocytes de la membrane de filtration glomérulaire ainsi que sur les cellules mésothéliales, les plaquettes et les cellules souches hématopoïétiques (Kerjaschki *et al.*, 1984 ; Horvat *et al.*, 1986 ; McNagny *et al.*, 1997 ; Hara *et al.*, 1999 ; Miettinen *et al.*, 1999). Sur les HEVs humains, la podocalyxine est reconnue par l'anticorps MECA-79 et elle possède une masse moléculaire d'environ 160 kDa (Sasseti *et al.*, 1998 ; Doyonnas *et al.*, 2001).

L'endoglycan à la surface des lymphocytes B, des lymphocytes T, des monocytes périphériques, de précurseurs hématopoïétiques, de cellules de muscles lisses et de cellules d'endothélium vasculaire est également un ligand pour les sélectines malgré son absence d'affinité pour l'anticorps MECA-79 (Sasseti *et al.*, 2000 ; Fieger *et al.*, 2003 ; Kerr *et al.*, 2008). Ce ligand a été cloné à cause de l'homologie de sa séquence cytoplasmique avec celles de CD34 et de podocalyxine (Sasseti *et al.*, 2000). La structure générale de l'endoglycan est donc similaire à celle de CD34 et de podocalyxine, ce qui explique en partie leur regroupement exclusif pour former la famille de type CD34. Le mécanisme de liaison de l'endoglycan avec la L-sélectine est semblable à celui utilisé par PSGL-1.

L'endoglycan est un protéoglycan modifié par des chaînes de sulfate de chondroïtine. Sa région N-terminale de 171 acides aminés contient de nombreux résidus anioniques ainsi que deux résidus tyrosine (Tyr) qui peuvent subir une sulfatation (Fieger *et al.*, 2003).

#### 4.2.4- PSGL-1

La L-sélectine possède également des ligands à la surface des leucocytes. En effet, la P-sélectine et la E-sélectine partagent leur ligand, PSGL-1, avec la L-sélectine (Guyer *et al.*, 1996). PSGL-1 est une sialomucine homodimérique d'environ 240 kDa portant le motif SeL<sup>X</sup> O-glycosylé (Moore *et al.*, 1992 ; Moore *et al.*, 1994). Ce ligand possède aussi plusieurs résidus tyrosine (Tyr) sulfatés à l'extrémité N-terminale nécessaires pour accomplir sa fonction d'adhésion aux sélectines (Pouyani et Seed, 1995 ; Sako *et al.*, 1995). PSGL-1 est localisée à la surface des microvillosités de la majorité des leucocytes (Zanetti *et al.*, 1995 ; Spertini *et al.*, 1996). L'interaction entre PSGL-1 et la L-sélectine peut donc produire des liaisons interleucocytaires. Malgré le fait que la L-sélectine ait beaucoup moins d'affinité pour PSGL-1 que la P-sélectine, l'association L-sélectine/PSGL-1 pourrait accentuer le recrutement leucocytaire aux sites d'inflammation en permettant aux leucocytes en circulation d'adhérer aux leucocytes recouvrant déjà l'endothélium (Alon *et al.*, 1996 ; Spertini *et al.*, 1996 ; Tu *et al.*, 1996 ; Walcheck *et al.*, 1996). Ce principe nommé «seconde capture» est controversé, car plusieurs études *in vivo* ne parviennent pas à démontrer ce phénomène (Kunkel *et al.*, 1998 ; Mitchell *et al.*, 2000).

#### 4.2.5- Les autres ligands potentiels

L'endomucine est une sialomucine exprimée à la surface de la plupart des cellules endothéliales (Morgan *et al.*, 1999). Cette molécule pourrait également être un ligand de la L-sélectine étant donné son association avec l'anticorps MECA-79 (Samulowitz *et al.*, 2002). En 2004, une étude a effectivement permis d'établir que certaines formes d'endomucines exprimées par les HEVs peuvent induire le roulement leucocytaire via la L-sélectine (Kanda *et al.*, 2004).

Il existe aussi une glycoprotéine sulfatée de 200 kDa (Sgp200) qui semble servir de ligand pour la L-sélectine dans les HEVs murins, mais qui n'a pas encore été identifiée moléculairement (Hemmerich *et al.*, 1994 ; Bistrup *et al.*, 1999). Les glycoprotéines de 65, 105 et 200 kDa interagissant avec l'anticorps MECA-79 sont des ligands de la L-sélectine sur les HEVs humains qui restent à être caractérisées (Berg *et al.*, 1991 ; Sassetti *et al.*, 1998).

### 4.3- L'expression de la L-sélectine

#### 4.3.1- Les stimuli entraînant une augmentation d'expression de la L-sélectine

Dans une revue de littérature publiée en 2002, Rainer mentionne que beaucoup de connaissances doivent être acquises sur la régulation de l'expression à la hausse de la L-sélectine (Rainer, 2002). Voici les principales conclusions à ce sujet :

- À la surface des lymphocytes B humains, l'expression de la L-sélectine augmente lors d'une stimulation à l'interféron- $\alpha$  ; ce stimulus semble engendrer cet effet en majeure partie via l'augmentation du niveau de transcription du gène de la L-sélectine (Evans *et al.*, 1993).
- À la surface des monocytes, l'adrénaline entraîne une augmentation de l'expression de la L-sélectine (Rainer *et al.*, 1999).
- Les torsions engendrées par le flux sanguin semblent pouvoir provoquer une augmentation de l'expression de la L-sélectine (Finger *et al.*, 1996).
- Certaines techniques d'isolement, de purification et de stockage cellulaire peuvent produire des modifications de l'expression de la L-sélectine (Stibenz et Bühner, 1994 ; Wikman *et al.*, 1994 ; Macey *et al.*, 1995 ; Rainer, 2002).

#### 4.3.2- Les modifications post-traductionnelles de la L-sélectine

Tout comme ses ligands et la plupart des MAC, la L-sélectine est une protéine glycosylée (Lowe, 2002). Plusieurs configurations de glycosylation semblent être produites dépendamment du type cellulaire, comme en témoigne le profil de masse moléculaire sur gel de polyacrylamide de L-sélectines solubles isolées de neutrophiles, de lymphocytes et monocytes (Griffin *et al.*, 1990 ; Tedder *et al.*, 1990 ; Prystas *et al.*, 1993). La différence majeure se situe au niveau des sialylations terminales (Fieger *et al.*, 2000). Les polylectosamines jouent également un rôle important dans la glycosylation de la L-sélectine sur les neutrophiles et les fragments de la L-sélectine qui sont N-glycosylés et non O-glycosylés (Fieger *et al.*, 2000). De plus, sur un même type cellulaire, la glycosylation de la L-sélectine peut différer d'une espèce animale à l'autre, ce qui explique que la L-sélectine à la surface des neutrophiles humains puissent entrer en liaison avec la E-sélectine tandis que la L-sélectine à la surface des neutrophiles murins n'en a pas la capacité (Zöllner *et al.*, 1997).

#### 4.4- La région cytoplasmique de la L-sélectine

La forte différence de séquence d'acides aminés entre les domaines cytoplasmiques des sélectines et l'homologie des séquences des domaines cytoplasmiques de la L-sélectine entre la souris et l'humain ont été les éléments initiateurs qui ont poussé à vérifier l'importance de cette région (Tedder *et al.*, 1989 ; Bevilacqua et Nelson, 1993). La courte région cytoplasmique (17 acides aminés) de la L-sélectine est effectivement essentielle pour accomplir les fonctions de cette molécule d'adhésion (Ivetic et Ridley, 2004). Cette section tracera un portrait des rôles accomplis par la région cytoplasmique de la L-sélectine dans le roulement leucocytaire ainsi que dans le positionnement à la surface des microvillosités et dans le clivage protéolytique de cette molécule.

Tout d'abord, le domaine cytoplasmique de la L-sélectine compte plusieurs sites de phosphorylation potentiels. Il a été observé que certains de ces sites étaient phosphorylés via les PKC (protéines kinases C) suite à des traitements avec des agents chimiotactiques, avec de la thrombine, des agonistes de récepteurs d'IgE ou avec du PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) (Haribabu *et al.*,

1997). En conséquence, la phosphorylation de sérines dans le domaine cytoplasmique suite à l'activation des récepteurs d'agents chimiotactiques permet d'augmenter la force de liaison de la L-sélectine avec ses ligands (Spertini *et al.*, 1991 ; Haribabu *et al.*, 1997). Donc, en plus de permettre l'activation des intégrines pour induire une adhésion ferme, la stimulation des leucocytes par des chimiokines entraînerait une phosphorylation des régions cytoplasmiques de la L-sélectine (Springer, 1995 ; Haribabu *et al.*, 1997). Il s'agirait alors d'un autre mécanisme de régulation lors du recrutement leucocytaire.

De façon consistante avec ses résultats, il a été démontré que l'élimination des 11 acides aminés de l'extrémité carboxyl terminal empêche l'adhésion des lymphocytes sur les HEVs *in vitro* et le roulement leucocytaire dans les veinules *in vivo* (Kansas, *et al.*, 1993 ; Dwir *et al.*, 2001). Cette délétion n'affecte cependant pas la reconnaissance entre la L-sélectine et ses ligands ni la localisation de la L-sélectine à la surface des microvillosités (Kansas, *et al.*, 1993 ; Pavalko *et al.*, 1995). Plusieurs études ont démontré la participation du cytosquelette d'actine dans l'adhésion cellulaire via la L-sélectine (Kansas *et al.*, 1993 ; Pavalko *et al.*, 1995). Une délétion pourrait donc entraver la liaison du cytosquelette avec la région cytoplasmique de la L-sélectine, ce qui aurait comme conséquence d'inhiber l'adhésion intercellulaire.

Des études ont alors été menées pour vérifier avec quelles protéines le domaine cytoplasmique de la L-sélectine se lie. Le domaine cytoplasmique de la L-sélectine est connu pour se lier à au moins trois protéines différentes soit l'alpha-actinine, la calmoduline et des protéines du cytosquelette de la famille des ERM (ezrine/radixine/moesine).

L'**alpha-actinine** se lie directement au domaine cytoplasmique de la L-sélectine et la délétion des 11 derniers acides aminés cytoplasmiques de la L-sélectine empêche cette liaison (Pavalko *et al.*, 1995). L'alpha-actinine a comme rôle de faire la jonction entre la L-sélectine et le cytosquelette d'actine et cette association participe aux mécanismes qui confèrent aux leucocytes la capacité de faire des contacts initiaux ainsi que du roulement (Dwir *et al.*, 2001 ; Ivetic et Ridley, 2004).

La **calmoduline**, une protéine intracellulaire dépendante du calcium, s'associe directement au domaine cytoplasmique de la L-sélectine dans les leucocytes non activés (Kahn *et al.*, 1998 ; Ivetic et Ridley, 2004 ; Killock *et al.*, 2009). Lors de l'activation leucocytaire, la calmoduline se détache de la L-sélectine et le clivage protéolytique de la L-sélectine s'en suit (Kahn *et al.*, 1998). Une mutagenèse de deux acides aminés près de la membrane cellulaire interne empêche la liaison de la calmoduline avec la L-sélectine induisant ainsi une augmentation du clivage de la L-sélectine (Matala *et al.*, 2001). Lorsque liée à la L-sélectine, la calmoduline semble induire une conformation spéciale à la région extracellulaire de la L-sélectine qui lui permet de résister au clivage protéolytique. En 2001, une



publication avait pourtant fait part que la délétion de la totalité de la région cytoplasmique entraînait une grande diminution du clivage (de 84% à 44%) induit par PMA, un activateur de certaines isoformes de PKC (Zhao *et al.*, 2001). Cette délétion entraîne sûrement une modification dans la conformation spatiale de la région extracellulaire de la L-sélectine qui lui procure ainsi une résistance, malgré l'absence de liaison avec la calmoduline. La calmoduline régule également la protéolyse de diverses autres protéines (Diaz-Rodriguez *et al.*, 2000).

À l'encontre de la délétion de 11 acides aminés sur la région cytoplasmique de la L-sélectine qui ne perturbe pas la localisation de la L-sélectine à la surface des microvillosités, d'autres recherches ont pourtant indiqué qu'une délétion de 16 ou 17 acides aminés perturbe la localisation de la L-sélectine sur les microvillosités (Bretscher *et al.*, 2002 ; Ivetic et Ridley, 2004 ; Killock *et al.*, 2009). Cette apparente contradiction s'explique du fait que les acides aminés supplémentaires enlevés entrent normalement en liaison avec des protéines de la famille des ERM. Ces protéines font le pont entre le domaine cytoplasmique de la L-sélectine et les filaments d'actine (Ivetic *et al.*, 2002; Ivetic et Ridley, 2004c). Les études de l'équipe d'Ivetic (Ivetic *et al.*, 2004b) témoignent de l'importance de cette relation pour permettre la localisation de la L-sélectine sur les microvillosités et ainsi réguler le roulement via la L-sélectine et le clivage protéolytique de la L-sélectine.

#### 4.5- Le rôle physiologique de la L-sélectine

##### 4.5.1- Le rôle physiologique de la L-sélectine dans l'activation intracellulaire

Lorsque la L-sélectine se lie à son ligand, cette molécule joue aussi un rôle dans la transmission de messages à l'intérieur des neutrophiles pour réguler la libération de calcium intracellulaire, pour induire des changements dans le cytosquelette, pour activer le clivage de la L-sélectine, pour augmenter la production d'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), pour activer la sphingomyélinase neutrale, pour activer les MAP (mitogen-activated protein) kinases comme p38, pour accroître la phosphorylation de certaines protéines, pour stimuler l'adhésion des intégrines de type  $\beta 1$  et  $\beta 2$ , pour activer la cascade signalétique de Ras, pour activer le facteur de transcription NFAT (nuclear factor of activated T lymphocytes), ainsi que pour augmenter l'expression de certains gènes comme ceux de TNF- $\alpha$  et d'IL-8 (Laudanna *et al.*, 1994 ; Waddell *et al.*, 1994 ; Crockett-Torabi *et al.*, 1995 ; Simon *et al.*, 1995 ; Waddell *et al.*, 1995 ; Bengtsson *et al.*, 1996 ; Brenner *et al.*, 1996 ; Hwang *et al.*, 1996 ; Brenner *et al.*, 1997 ; Steeber *et al.*, 1997 ; Brenner *et al.*, 1998 ; Junge *et al.*, 1999 ; Rizoli *et al.*, 1999 ; Brenner *et al.*, 2002). Due à l'absence d'activation de la L-sélectine, les cellules T CD4+ déficientes en L-sélectine prolifèrent moins rapidement en culture que les cellules T CD4+ normales (Sauvage *et al.*, 2002).

#### 4.5.2- Le rôle physiologique de la L-sélectine dans le recrutement leucocytaire

En plus d'être responsable de la circulation ordonnée des lymphocytes vers les organes lymphatiques secondaires pour ainsi assurer une activation efficace du système immunitaire, la L-sélectine joue également un rôle important dans le recrutement leucocytaire lors d'une réponse inflammatoire (Lewinsohn *et al.*, 1987 ; Ley *et al.*, 1991 ; Michie *et al.*, 1993 ; Smalley et Ley, 2005). En effet, en absence de L-sélectine, le roulement des leucocytes sur l'endothélium vasculaire peut être assuré par la P-sélectine, mais il n'y a pas d'extravasation possible, car la liaison de la L-sélectine avec un ligand est importante pour permettre aux leucocytes de suivre efficacement les signaux chimiotactiques présents dans la MEC (Hickey *et al.*, 2000). Des études supportent l'hypothèse que la présence de ligands de la L-sélectine dans les régions extravasculaires pourraient guider et/ou stimuler les lymphocytes dans leur migration au travers de la MEC (Streeter *et al.*, 1988 ; Hickey *et al.*, 2000 ; Rosen, 2004).

Sur les microvaisseaux de certains organes comme le foie, les poumons et le cœur, les sélectines ne semblent pas être nécessaires pour qu'il y ait extravasation, car la lumière vasculaire est tellement petite que les leucocytes semblent adhérer sans même avoir à faire du roulement (Wong *et al.*, 1997). Ces organes doivent être constitués d'un environnement particulier, car en plus de ne pas nécessiter de sélectines, le processus se déroule en aval de veinules postcapillaires (Irijala *et al.*, 2001).

##### 4.5.2.1- Les études démontrant l'importance de la L-sélectine dans le recrutement leucocytaire

L'importance de la L-sélectine dans le recrutement leucocytaire a été établie grâce à plusieurs études. Premièrement, des expériences, *in vitro* et *in vivo*, utilisant l'anticorps MEL-14 dirigé contre la région fonctionnelle de la L-sélectine et empêchant les interactions des leucocytes avec l'endothélium, ont démontré que la L-sélectine est nécessaire pour que le processus de recrutement leucocytaire soit efficace (Lewinshon *et al.*, 1987 ; Jutila *et al.*, 1989; Ley *et al.*, 1991). Deuxièmement, la génération de souris déficientes en L-sélectine (souris KOL) a permis de confirmer l'importance de la L-sélectine dans l'attachement initial et le roulement des leucocytes *in vivo*. Les lymphocytes naïfs exempts de L-sélectine ne peuvent pas se rendre dans les ganglions lymphatiques périphériques et certains auteurs s'entendent pour dire que les neutrophiles déficients en L-sélectine n'ont pas la capacité de faire du roulement et d'entrer dans les sites d'inflammation (Arbonés *et al.*, 1994 ; Tedder *et al.*, 1995 ; Xu *et al.*, 1996). Les cellules hématopoïétiques déficientes en L-sélectine retrouvent leur capacité d'adhésion avec l'endothélium suite à une transfection avec de l'ADNc codant pour la L-sélectine (Rainer, 2002). Troisièmement, les patients atteints du syndrome de LADII (leukocyte adhesion deficiency type 2) ont une mutation génétique dans le gène qui code pour le transporteur de guanosine diphosphate (GDP)-fucose, ce qui occasionne une diminution importante de la fucosylation des glycostructures qui servent de ligands pour les sélectines. Le motif sLeX étant

non fonctionnel, l'adhésion faible des leucocytes est réduite et le recrutement leucocytaire est donc inefficace, rendant les sujets plus susceptibles aux infections (Helmus *et al.*, 2006 ; Hellbusch *et al.*, 2007).

#### 4.5.3- Le rôle physiologique de la L-sélectine dans le développement embryonnaire

La L-sélectine joue un rôle dans l'implantation lors du développement embryonnaire (Genbacev *et al.*, 2003 ; Kao *et al.*, 2003).

#### 4.5.4- Le rôle physiologique de la L-sélectine dans l'agrégation leucocytaire

La L-sélectine peut engendrer de l'agrégation leucocytaire en initiant des interactions leucocyte-leucocyte. La L-sélectine peut également engendrer des interactions leucocyte-cellule cancéreuse, ce qui favorise le développement cancéreux. (Bargatze *et al.*, 1994 ; Walcheck *et al.*, 1996 ; Rosen, 2004)

### 4.6- Le rôle de la L-sélectine dans le développement de pathologies

#### 4.6.1- Implication de la L-sélectine dans les chocs septiques

Des études ont démontré que la L-sélectine à la surface des neutrophiles joue un rôle dans l'établissement d'un choc septique et dans le développement du dysfonctionnement de multiples organes suite à une infection microbienne (Ma *et al.*, 1993 ; Mulligan *et al.*, 1993 ; Mulligan *et al.*, 1994 ; McGill *et al.*, 1996). Le système immunitaire induit ces effets néfastes et mortels en essayant de se débarrasser du pathogène établi de façon systémique dans le sang ou dans les tissus (Chandra *et al.*, 2006). En effet, un traitement avec des anticorps monoclonaux anti-L-sélectine et anti-E-sélectine réduit certains dommages causés par le système immunitaire suite à une infection par *Pseudomonas aeruginosa* chez les porcs (Ridings *et al.*, 1995). En 1998, une équipe prouve cependant le contraire en démontrant qu'un tel traitement empire le développement de la septicémie en termes de rapidité et d'envergure. En effet, les babouins *Papio cynocephalus* voient leur temps de survie chuter suite à une infection par *Escherichia coli* lorsqu'ils ont été prétraités avec ces mêmes anticorps monoclonaux (Carraway *et al.*, 1998). En 2005, une étude avec des rats explique la divergence de ces études, en établissant que des anticorps bloquant le site de liaison de la L-sélectine peuvent soit améliorer ou détériorer le sort des rats suite à une infection par *Escherichia coli*, dépendamment de la localisation, dans le sang ou dans les tissus, du pathogène (Haley *et al.*, 2005). En conclusion, il est évident que la L-sélectine peut jouer un rôle dans le développement de choc septique.

#### 4.6.2- Implication de la L-sélectine dans les réactions d'hypersensibilité

En 1996, une recherche démontrait l'implication des ligands de sélectines dans les réactions d'hypersensibilité de type anaphylactique (Wada *et al.*, 1996). Un inhibiteur de liaison des sélectines, imitant leurs ligands, diminue en effet l'accumulation de neutrophiles dans les tissus des oreilles, empêchant alors les réactions de peau qui dépendent des immunoglobulines (Ig) de type E. Chez les moutons, la L-sélectine est précisément impliquée dans les réactions d'hypersensibilité immédiate (hypersensibilité de type I) face à des allergènes entrant en contact avec les poumons (Abraham *et al.*, 1999). L'utilisation de souris déficientes en L-sélectine a permis de déterminer que la L-sélectine est importante dans le développement d'hypersensibilité dans les conduits pulmonaires (Fiscus *et al.*, 2001 ; Keramidaris *et al.*, 2001 ; Tang et Fiscus, 2001). Un groupe de recherche a également déterminé que l'absence de la L-sélectine réduit les réponses d'hypersensibilité de type I en diminuant le recrutement des mastocytes aux sites de contact de l'allergène avec la peau (Shimada *et al.*, 2003). Toujours en lien avec les hypersensibilités de type I, il semble que l'expression de la L-sélectine à la surface des neutrophiles chute dû au clivage de cette molécule suite au contact avec l'allergène spécifique, et cela pourrait être régulé via les récepteurs d'IgE (Monteseirin *et al.*, 2005). La L-sélectine est aussi reconnue comme jouant un rôle dans les phases de sensibilisation et de réaction lors d'hypersensibilité à médiation cellulaire (type IV) (Nasu *et al.*, 1997 ; Oostingh *et al.*, 2007). Bref, la L-sélectine participe au désordre immunitaire lors des réactions allergiques.

#### 4.6.3- Implication de la L-sélectine dans les maladies auto-immunes

Plusieurs développements de maladies auto-immunes semblent impliquer la L-sélectine.

- La gaine de myéline des axones du système nerveux central exprimant un ligand pour la L-sélectine, lors de maladies démyélinisantes comme la sclérose en plaques, la L-sélectine pourrait participer au recrutement des leucocytes qui détruisent les axones myélinisés (Huang *et al.*, 1991 ; Huang *et al.*, 1994 ; Archelos *et al.*, 1998 ; Grewal *et al.*, 2001 ; Rosen, 2004).
- Des études utilisant des anticorps anti-L-sélectine ont permis de démontrer l'implication de la L-sélectine dans le développement des diabètes auto-immuns. Toutefois, ces résultats sont contestés par des études avec des souris L-sélectine déficientes qui ne développent pas moins de diabète auto-immun (Friedline *et al.*, 2002 ; Mora *et al.*, 2004).
- D'autres recherches utilisant des anticorps monoclonaux contre la L-sélectine ont établi que l'inhibition de la L-sélectine réduit le développement de la maladie auto-immune du système nerveux périphérique, soit le syndrome de Guillain-Barré (Archelos *et al.*, 1997).
- La L-sélectine semble également impliquée dans le développement de plusieurs autres maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux et la maladie de Basedow (Wenisch *et al.*, 195 ; Sfrikakis *et al.*, 1999).

#### 4.6.4- Implication de la L-sélectine dans les rejets de greffes

Comme les organes et les tissus étrangers greffés sont reconnus par notre système immunitaire, il est normal, mais non souhaitable, que ces transplantations soient rejetées. Les rejets de greffes dépendent du recrutement leucocytaire et il est donc probable que la L-sélectine participe à ces processus. Il a effectivement été établi que la L-sélectine est impliquée dans le rejet d'allogreffe de peau chez les souris, car les souris déficientes en L-sélectine réagissent moins rapidement et moins fortement contre leur greffe (Tang *et al.*, 1997). La L-sélectine semble également jouer un rôle lors des rejets de greffe de cœur et de rein (Turunen *et al.*, 1994 ; Turunen *et al.*, 1995 ; Rosen, 1999 ; Toppila *et al.*, 1999 ; Kirveskari *et al.*, 2000). Suite à une greffe de moelle osseuse, il arrive que les cellules immunitaires du donneur réagissent contre l'ensemble des cellules du receveur ; ce développement est dépendant de la L-sélectine, car l'inhibition de la L-sélectine à la surface des cellules du donneur réduit le développement de cette complication (Li *et al.*, 2001 ; Taylor *et al.*, 2004 ; Dutt *et al.*, 2005).

#### 4.6.5- Implication de la L-sélectine dans le développement de cancer

Plusieurs recherches indiquent l'importance des molécules d'adhésion dans le processus de développement tumoral et le processus métastatique, et ce pour plusieurs types de cancer (Krause et Turner, 1999). En lien avec les molécules d'adhésion autres que les sélectines, mentionnons les études qui démontrent la relation entre l'expression du CD44 et l'agressivité de dissémination des lymphomes non hodgkiniens (Pals *et al.*, 1997 ; Liu et Jiang, 2006), ainsi que les études qui supposent que l'expression de LFA-1 favorise la dissémination des lymphomes non hodgkiniens (Soede *et al.*, 1998) et les études qui ont déterminé qu'ICAM-1, un ligand de LFA-1, doit être obligatoirement exprimé par les cellules de l'hôte pour qu'il y ait dissémination de lymphomes (Aoudjit *et al.*, 1998; St-Pierre *et al.*, 1999). De plus, le niveau d'expression du CD44 peut même être utilisé comme un moyen de pronostic (Drillenbourg et Pals, 2000).

Cette section exposera l'implication des sélectines dans les développements cancéreux en abordant tout d'abord les modifications au niveau de l'expression des ligands de sélectines sur les cellules cancéreuses, pour ensuite établir l'importance des sélectines dans divers types de cancer. Finalement, l'implication de la L-sélectine précisément dans le développement de lymphome sera présentée.

##### 4.6.5.1- L'expression des ligands de sélectines en lien avec les développements de cancer

C'est en faisant des études avec des carcinomes du côlon qu'une augmentation de l'expression de SLe<sup>x</sup>, un ligand de sélectine, a été reconnue comme favorisant le développement métastatique (Hoff *et al.*, 1989). D'autres types de cellules cancéreuses, et dépendamment de la lignée cellulaire, expriment des ligands de sélectines qui leur confèrent une capacité accrue à la métastase tels que

les cancers du sein, de l'estomac, du poumon, de la prostate, du pancréas, des conduits biliaires, de la vessie, de l'œsophage et des ovaires (Dennis et Laferte, 1987 ; Nakamori *et al.*, 1993 ; Mannori *et al.*, 1995 ; Hakomori, 1996 ; Narita *et al.*, 1996 ; Martin-Satué *et al.*, 1998 ; Borsig *et al.*, 2002 ; Dimitroff *et al.*, 2005 ; Jiang *et al.*, 2007).

Cette augmentation d'expression de ligands de sélectines corrèle avec une augmentation de la progression tumorale et de la métastase (Pals *et al.*, 1997 ; Rosen, 2004). Une forte expression de ligands de la E-sélectine est en effet reconnue pour favoriser le développement de métastases, mais seulement pour quelques types de cancers précis ainsi que dans des foyers secondaires spécifiques (Dimitroff *et al.*, 2005). Une des hypothèses retenue pour expliquer le phénomène est que les ligands exprimés à la surface des cellules cancéreuses se lient avec leurs récepteurs, la P-sélectine et la E-sélectine, à la surface d'un endothélium activé et que ces ligands peuvent également engendrer des liaisons avec des plaquettes et des leucocytes via la P-sélectine et la L-sélectine respectivement (Hakomori, 1996 ; Burdick *et al.*, 2006). Des interactions plaquettes/leucocytes ainsi que leucocyte/endothélium peuvent aussi amplifier l'agrégation (Borsig *et al.*, 2001 ; Borsig *et al.*, 2002 ; Borsig, 2004). Les liaisons établies par les sélectines sont donc soupçonnées d'augmenter la taille de l'agrégat et cela aurait comme effet, en plus de protéger les cellules cancéreuses d'une réponse immunitaire, de faciliter leur emprisonnement mécanique dans la circulation et ainsi, faciliter leur extravasation pour former un foyer secondaire, c'est-à-dire un foyer métastatique (Gasic, 1984 ; Kato *et al.*, 1997 ; Thorlacius *et al.*, 1997 ; Rosen, 2004).

Tout récemment, une équipe de recherche a identifié un tout nouveau ligand de la L-sélectine exprimé à la surface des carcinomes spinocellulaires qui permet l'interaction entre les cellules cancéreuses et les lymphocytes exprimant la L-sélectine (Resto *et al.*, 2008).

#### 4.6.5.2- L'expression des sélectines en lien avec les développements de cancer

En 1999, une revue de littérature exposait que les E-, P- et L-sélectine peuvent jouer un rôle dans la métastase des cancers (Krause et Turner, 1999). L'implication évidente de la E-sélectine dans le développement des cancers du sein et du côlon avait alors été établie, mais des études supplémentaires étaient nécessaires pour vérifier l'implication de la P- et la L-sélectine.

L'expression de la E-sélectine est accentuée à la surface des cellules de l'épithélium dans les cancers de la prostate (Bhaskar *et al.*, 2003) et une augmentation de la E-sélectine soluble est observée dans le sérum de patients atteints du cancer du sein avec métastases (Matsuura *et al.*, 1997 ; Hebbar *et al.*, 1998 ; Eichbaum *et al.*, 2004). Une augmentation de la E-sélectine soluble est également distinguable dans le sérum des patients atteints d'un cancer colorectal avec métastases au foie (Wittig *et al.*, 1996). Ces résultats ne permettent cependant pas de déterminer si l'expression de la E-sélectine accentue la métastase ou si l'augmentation de l'expression est une conséquence

de cette métastase. Dans une étude *in vitro* réalisée en 2001 où l'expression de la E-sélectine était induite sur des cellules endothéliales, la E-sélectine a été déterminée comme étant une molécule permettant implicitement la création de foyers secondaires pour les cancers du côlon en élicitant la migration transendothéliale (Laferrere *et al.*, 2001).

L'implication de la P-sélectine et de la L-sélectine dans le développement métastatique a été prouvée en observant une diminution de la dissémination de cellule de carcinome dans les souris déficientes en P-sélectine ainsi qu'en L-sélectine (Borsig *et al.*, 2001 ; Borsig *et al.*, 2002 ; Borsig, 2004). L'utilisation d'anticorps inhibant la fonction de la P-sélectine a également permis d'empêcher la métastase de cellules de cancers de l'estomac et ainsi d'établir l'importance de la P-sélectine dans le développement métastatique (Chen *et al.*, 2003).

De plus, un traitement à l'héparine, un inhibiteur de liaison de la P- et de la L-sélectine, réduit la métastase (Koenig *et al.*, 1998 ; Borsig, 2004 ; Borsig *et al.*, 2007). L'appui de la L-sélectine face à la métastase semble se dérouler via des interactions leucocytes/endothélium et nécessiterait l'induction de ligands de la L-sélectine à la surface de l'endothélium grâce à la fucostransférase-7 (Läubli *et al.*, 2006).

#### 4.6.5.3- L'expression de la L-sélectine en lien avec le développement de lymphome

Depuis plusieurs années, la présence de molécules d'adhésion cellulaire ou de leurs ligands à la surface des lymphomes est reconnue comme étant un facteur favorisant la dissémination (Drillenbourg et Pals, 2000). En effet, en 1987, une équipe a démontré que des lymphomes se fixant bien aux HEVs dans des études *in vitro* métastasent dans tous les ganglions lymphatiques des souris tandis que les lymphomes ne se fixant pas aux HEVs ne se disséminent que dans les ganglions adjacents au site d'injection (Bargatze *et al.*, 1987). De façon générale, les molécules d'adhésion normalement exprimées à la surface des lymphocytes peuvent aussi se retrouver à la surface de la contrepartie maligne, les lymphomes. Ces molécules d'adhésion peuvent donc contribuer à l'agressivité du développement métastatique et elles semblent être responsables de la dissémination vers des tissus/organes cibles (Drillenbourg et Pals, 2000). En 1997, la possible participation de la L-sélectine dans le développement métastatique avait d'ailleurs été soulevée (Pals *et al.*, 1997).

Les travaux de notre équipe de recherche démontrent que 1) l'expression de la L-sélectine sur les cellules de l'hôte n'est pas nécessaire pour qu'il y ait développement d'un lymphome thymique suite à un traitement d'irradiation ; 2) néanmoins, la L-sélectine joue un rôle important dans les échanges de signaux intrathymiques pour la croissance de lymphomes, et que 3) l'absence de L-sélectine à la surface des lymphomes diminue le potentiel tumoral (Bélanger *et al.*, 2005).

## 5- Le clivage protéolytique de la L-sélectine

À l'instar de la E- et la P-sélectine, la L-sélectine fait partie des nombreuses protéines de surface impliquées dans le recrutement leucocytaire qui sont régulées par un clivage précis de leur domaine extracellulaire (Garton *et al.*, 2006). En effet, l'expression de la L-sélectine baisse rapidement (en environ 4 minutes selon Kishimoto *et al.*, 1989) par protéolyse suite à l'activation des leucocytes ou suite à des interactions entre des L-sélectines (Palecanda *et al.*, 1992). Le clivage de la L-sélectine est d'une rapidité surprenante comparativement au clivage des autres molécules transmembranaires comme les CD43 et CD44 qui sont clivées de la membrane des neutrophiles en 15 à 60 minutes suite à une activation au PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate). La L-sélectine à la surface des neutrophiles se fait d'ailleurs cliver plus rapidement que la L-sélectine à la surface des lymphocytes (Kahn *et al.*, 1994).

Le site de protéolyse étant localisé près de la membrane cellulaire (entre Lys321 et Ser322 chez l'humain et entre Arg321 et Ser322 chez la souris), une portion transmembranaire de 62 kDa<sup>2</sup> et une portion extracellulaire soluble d'environ 68 kDa résultent du clivage de la L-sélectine (Kahn *et al.*, 1994 ; Migaki *et al.*, 1995; Zhao *et al.*, 2001b). La portion extracellulaire ainsi libérée porte le nom de L-sélectine soluble (sL-sel), dont la masse moléculaire varie selon le niveau de glycosylation et de l'espèce. Chez l'humain on retrouve des sL-sélectines de 62 kDa et de 75-100 kDa provenant respectivement du clivage de la L-sélectine à la surface des lymphocytes et des neutrophiles (Schleiffenbaum *et al.*, 1992). Chez le rat, la sL-sélectine dérivant des neutrophiles est de 65 kDa tandis que celle des lymphocytes est de 62 kDa (Tamatani *et al.*, 1993).

La L-sélectine soluble conserve une grande affinité pour ses ligands naturels et peut ainsi agir en tant qu'antagoniste bloquant les interactions impliquant la L-sélectine (Schleiffenbaum *et al.*, 1992).

Dans des conditions normales, la L-sélectine soluble est détectable dans le plasma. Environ 70% de la sL-sélectine provient de la surface des lymphocytes T et B (Tu *et al.*, 2002 ; Galkina *et al.*, 2003). La forme soluble de la L-sélectine est normalement détectable dans les sérums humains à des concentrations de 1,5 à 2 µg/ml tandis que les sérums de rat contiennent beaucoup moins de sL-sélectine ( $\leq 1$  ng/ml) (Schleiffenbaum *et al.*, 1992 ; Spertini *et al.*, 1992). Le niveau de L-sélectine soluble est encore plus élevé dans le plasma des patients atteints de maladies inflammatoires ainsi que des sidéens (Spertini *et al.*, 1992 ; Rainer, 2002 ; Wang *et al.*, 2004). De plus, suite à une activité physique intense, les niveaux de sL-sélectines sont plus élevés qu'à la normale (Nielsen et Lyberg, 2004). Chez les souris, le niveau de L-sélectine soluble est d'environ 1,7 µg/ml. Le niveau de sL-

---

<sup>2</sup> Des études antérieures avaient démontré que le fragment transmembranaire était de 4 à 12 kDa, mais leurs expérimentations prédisaient plutôt le poids de ce fragment en se fiant sur le poids du fragment soluble révélé par des résultats diffus de SDS-PAGE dû au caractère grandement glycosylé de cette protéine (Kishimoto *et al.*, 1989 ; Jung et Dailey, 1990).



sélectine pour les souris atteintes d'inflammation chronique est 2,5 fois plus élevé tandis que le niveau de sL-sélectine est réduit de 70% chez les souris n'ayant pas de lymphocytes matures (Tu *et al.*, 2002). La demi-vie de la L-sélectine soluble fonctionnellement active est de plus de 20 heures et elle peut être détectable pendant plus d'une semaine. (Schleiffenbaum *et al.*, 1992 ; Tu *et al.*, 2002)

Le clivage de la L-sélectine peut être de deux types, c'est-à-dire constitutif (spontané) ou induit. Le clivage constitutif est initié suite à une réaction entre les L-sélectines ('*cross-linking*') ou suite à la liaison de la L-sélectine avec un de ses ligands. Le clivage induit se produit suite à une activation des leucocytes par des chimiokines comme IL-8, une stimulation par TCR ('*T-cell receptor*', récepteur antigénique des lymphocytes T), du LPS (lipopolysaccharide) ou du phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA). Le clivage constitutif n'est pas répandu à l'ensemble des L-sélectines du leucocyte tandis que le clivage induit se déroule à un niveau beaucoup plus étendu (Kishimoto *et al.*, 1989 ; Jung et Dailey, 1990 ; Palecanda *et al.*, 1992). Le clivage constitutif pourrait expliquer les hauts niveaux de sL-sélectine dans les sérums.

La structure de la L-sélectine est importante pour qu'il puisse y avoir clivage (Chen *et al.*, 1995 ; Migaki *et al.*, 1995). La conformation tertiaire spécifique et la région extracellulaire de 15 acides aminés près de la membrane plasmique sont en effet nécessaires sans pour autant exiger une séquence d'acides aminés unique. Cependant, lorsque des modifications sont apportées près du site de clivage (K283-S284), il y a soit une augmentation du clivage constitutif ou soit une inhibition du clivage induit (Chen *et al.*, 1995). De plus, le domaine EGF de la L-sélectine semble servir de motif de reconnaissance pour les protéases impliquées dans le clivage de la L-sélectine activé par une stimulation au PMA (Zhao *et al.*, 2001b).

La L-sélectine subit un clivage même si elle n'est pas située à la surface des microvillosités. En effet, les protéines chimériques L-sélectine-CD31 et L-sélectine-CD44 sont clivées de façon similaire à la L-sélectine sauvage malgré une distribution uniforme ou une localisation exclusive à l'extérieur des microvillosités (Fors *et al.*, 2001).

#### 5.1- Les protéases impliquées dans le clivage de la L-sélectine

En 1994, aucune protéase n'était encore identifiée comme étant responsable du clivage de la L-sélectine (Kahn *et al.*, 1994). Dans les années suivantes, certaines études amenaient des informations supplémentaires sans pour autant distinguer précisément une protéase. Il fut alors reconnu que l'activation des leucocytes entraîne l'activation de la protéase de la L-sélectine et que cette protéase est une métalloprotéinase de surface distinctive des MMPs connues et agissant en *cis* (Black *et al.*, 1996 ; Preece *et al.*, 1996). Malgré leur capacité à cliver la L-sélectine, MMP1 (collagénase interstitielle) et MMP3 (stromélysine 1) ne pouvaient pas être les protéases recherchées, car ces molécules ne sont pas exprimées à la surface des lymphocytes (Preece *et al.*,

1996). Une autre équipe a avancé qu'il y a sûrement plus d'un mécanisme de clivage de la L-sélectine, car une construction de la L-sélectine mutante ne subissait pas de clivage suite à une stimulation au PMA, mais subissait tout de même un clivage constitutif (Stoddart *et al.*, 1996).

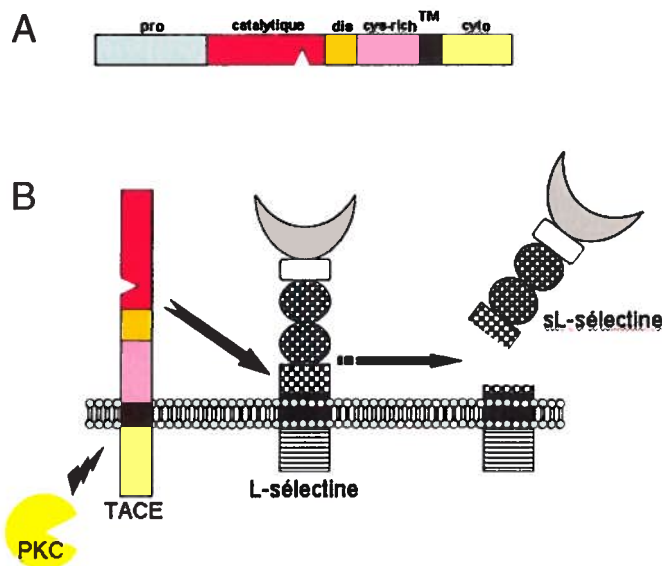
En 1997, l'enzyme responsable du clivage du précurseur membranaire de TNF- $\alpha$  a été isolé, cloné et étudié (Moss *et al.*, 1997 ; Mizui *et al.*, 1999). Il s'agissait de TACE ('TNF- $\alpha$  converting enzyme'), une protéine transmembranaire de type I de la famille des ADAMs ('a disintegrin and metalloprotease') aussi connue sous le nom de famille des adamalysines. Des 31 molécules qui composent la famille des ADAMs, ADAM10 est la seule qui partage une grande homologie de séquence avec ADAM17. Les ADAMs font partie de la superfamille des metzincines qui inclut également les MMPs. L'ARNm de TACE est exprimé dans la plupart des tissus. TACE qui porte aussi le nom de ADAM-17 et de CD156b, est formée, dans l'ordre, d'un peptide signalétique, d'un pro-domaine, d'un domaine catalytique, d'un domaine disintégrine, d'un domaine riche en cystéine, d'une région transmembranaire et d'un domaine cytoplasmique (Mizui *et al.*, 1999 ; Black, 2002). Le domaine disintégrine de TACE est connu pour se lier à l'intégrine  $\alpha 5\beta 1$  en inhibant ainsi la migration leucocytaire dépendante de cette intégrine (Huang *et al.*, 2005).

TACE est synthétisée sous une forme inactive pour ensuite être activée de façon constitutive dans les compartiments de Golgi par élimination de son pro-domaine via la présence de furine ou d'une enzyme apparentée (Schlondorff *et al.*, 2000). L'expression de TACE activée à la surface cellulaire est donc constitutive, mais il est important de mentionner que son expression est plus abondante dans les compartiments périnucléaires (Schlondorff *et al.*, 2000). Étant exprimée constitutivement, suite à une activation, l'effet de cette protéase se produit rapidement (Doedens *et al.*, 2003).

Plusieurs agents induisent l'activation de TACE comme un traitement au fMLP (N-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine), au LPS ou au PMA. Suite à une stimulation au fMLP ou au LPS, TACE demeure active et présente à la surface des neutrophiles pour une longue période de temps, c'est-à-dire plus de 20 heures (Walcheck *et al.*, 2006). Au contraire, suite à une stimulation au PMA, il y a une internalisation et une dégradation rapide de TACE (Doedens et Black, 2000). D'autres agents activateurs de TACE engendrent même une augmentation de son expression (Walcheck *et al.*, 2006). L'activité de TACE est grandement augmentée par une stimulation au PMA et cette activation dépend de protéines kinases intracellulaires, mais, étonnamment, le domaine cytoplasmique de TACE n'est pas nécessaire (Reddy *et al.*, 2000). La région cytoplasmique de TACE se fait effectivement cliver et ce clivage est induit par la molécule de TACE elle-même (Schlondorff *et al.*, 2000).

TACE pourrait également avoir un rôle d'adhésion et de régulation en plus de son rôle de protéase (Black *et al.*, 1997 ; Moss *et al.*, 1997; Black, 2002).

En 1998, la production de souris déficientes en TACE a permis de faire la corrélation entre TACE et le clivage de la L-sélectine. Les souris déficientes en TACE ne sont pas viables, mais leurs thymocytes embryonnaires récupérés et analysés ont un niveau de clivage de la L-sélectine extrêmement bas dans des conditions de stimulation avec PMA (Peschon *et al.*, 1998). Des recherches utilisant des fibroblastes déficients en TACE et des fibroblastes réexprimant TACE par transfection rétrovirale, démontrent que les fibroblastes reconstitués subissent trois fois plus de clivage de la L-sélectine que les fibroblastes TACE déficients, qui subissent tout de même un léger clivage de la L-sélectine malgré l'absence de TACE. De ce faible niveau de clivage, 19% n'est pas inhibé par KD-IX-73-4. Il est alors évident que TACE est la principale protéase responsable du clivage de la L-sélectine, mais que d'autres protéases sont impliquées également (Walcheck *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2006).



**Figure 5: Structure et fonction de TACE.** A) Schématisation des domaines de TACE incluant le prodomaine, le domaine catalytique, le domaine disintégrine, le domaine riche en cystéine, le domaine transmembranaire et le domaine cytoplasmique. B) Schématisation du clivage de la L-sélectine par TACE. Une fois le pro-domaine éliminé suite à une activation (ex : PMA), le domaine catalytique induit le clivage de plusieurs molécules transmembranaires (ex : L-sélectine) libérant ainsi une portion soluble (ex : sL-sélectine). Image modifiée de Black, 2002.

Des études sont présentement en cours pour vérifier si TACE interagit directement avec la L-sélectine pour induire le clivage ou si TACE est plutôt nécessaire pour activer une autre protéase. Des facteurs additionnels, tels que des protéines présentatrices de substrat sont également

recherchés pour ainsi expliquer le grand nombre de protéines sous le régime de clivage d'une même protéase. TACE participe effectivement au clivage de IL-15R $\alpha$ , TNFRII et II, IL-6R, CD30, CD40, CD44, HER4, Nectin-4, VCAM-1, ICAM-1 etc. (Rio *et al.*, 2000 ; Contin *et al.*, 2003 ; Garton *et al.*, 2003 ; Budagian *et al.*, 2004 ; Fabre-Lafay *et al.*, 2005 ; Singh *et al.*, 2005 ; Garton *et al.*, 2006). Des recherches ont déjà établi l'importance de molécules de régulation telle que la protéine membranaire disulfide isomérase (PDI) qui se lierait à la région extracellulaire de la L-sélectine pour empêcher son clivage (Bennett *et al.*, 2000). Les études de Zhao (2001 et 2001b) supportent ces avancés, car son équipe a découvert que la région EGF de la L-sélectine joue un rôle dans le processus protéolytique. Dernièrement, des études ont démontré que la région transmembranaire de TACE joue un rôle dans l'efficacité de la protéolyse, car la modification de la séquence d'acides aminés de ce domaine influence le clivage de certains substrats (Li *et al.*, 2007).

D'autres protéases ou agents protéolytiques sont soupçonnés d'être responsables du clivage de la L-sélectine tels que les élastases leucocytaires, les MMPs, les galectines, etc. Les élastases leucocytaires sont connues pour induire le clivage de plusieurs molécules de surface comme CD4, CD8, CD14, CD43, les récepteurs de thrombine et ICAM-1, il est alors judicieux de s'interroger sur leur pouvoir catalytique envers la L-sélectine (Doring *et al.*, 1995 ; Remold-O'Donnell et Parent, 1995 ; Renesto *et al.*, 1997 ; Arlel *et al.*, 1998 ; Champagne *et al.*, 1998 ; Nemoto *et al.*, 2000 ; Kuwahara *et al.*, 2006). Dans le cas des MMPs, il est connu que MMP1 et MMP3 peuvent induire le clivage de la L-sélectine (Preece *et al.*, 1996). Ces MMPs n'étant pas exprimées à la surface des lymphocytes, il est intéressant d'étudier l'effet de MMP9 (gélatinase B) et MMP2 (gélatinase A) sur la L-sélectine, car ces MMPs peuvent être présentes sur les lymphocytes et elles jouent un rôle dans la métastase (Hua et Muschel, 1996 ; Sato et Seiki, 1996 ; Choi *et al.*, 2005). Cependant, en 1996, l'équipe de Preece a démontré que MMP2 et MMP9 n'avaient aucun pouvoir de clivage sur la L-sélectine (Preece *et al.*, 1996).

Le **Tableau V** résume les principaux agents inducteurs du clivage de la L-sélectine et le **Tableau VI** résume les principaux inhibiteurs du clivage de la L-sélectine.

**Tableau V : Liste d'agents et phénomènes inducteurs de clivage de la L-sélectine.**

<b>Agents</b> <i>Détails</i>	<b>Références</b>
<b>Activité physique intense</b>	Nielsen et Lyber, 2004
<b>Anticorps</b> qui produisent la réticulation (cross-linking) de la L-sélectine	Stoddart <i>et al.</i> , 1996
<b>Blessure et chirurgie</b>	Seekamp <i>et al.</i> , 2001
<b>Calmidazolium</b> Inhibiteur de calmoduline	Kahn <i>et al.</i> , 1998
<b>Choc hypertonique ou hypotonique</b>	Rizoli <i>et al.</i> , 1999 ; Kaba et Knauf, 2001
<b>Chymotrypsine</b>	Jutila <i>et al.</i> , 1991
<b>Collagénase (MMP-1)</b>	Preece <i>et al.</i> , 1996
<b>Facteurs chimiotactiques</b> IL-8, C5a (facteurs du système du complément), LTB4 (leucotriène B4), N-formyl-méthionine leucylphenylalanine (fMLP), platelet activating factor, etc	Kishimoto <i>et al.</i> , 1989
<b>Glycoprotéines sulfonées synthétiques</b> Produisent de la réticulation grâce à leurs ligands multivalents (tel que les anticorps)	Mowery <i>et al.</i> , 2004
<b>LPS (lipopolysaccharide)</b>	Pédrón <i>et al.</i> , 2001
<b>NSAIDs (non-steroidal anti-inflammatory drugs), certaines</b> Mentionnons les acides flufenamique, meclofenamique et mefenamique ainsi que le diclofenac, l'Acéclofenac, l'aspirine, l'indométhacine, la nimesulide, la furbiprofen et la ketoprofen ; processus dépendant de TACE ; grâce à la capacité d'inhiber la phosphorylation oxydative.	Diaz-Gonzalez <i>et al.</i> , 1995 ; Gomez-Gaviro <i>et al.</i> , 2000 ; Gomez-Gaviro <i>et al.</i> , 2002
<b>PDBu (phorbol dibutyrate)</b>	Preece <i>et al.</i> , 1996
<b>Phenylarsine oxide (PAO)</b> Augmente le clivage de la L-sélectine en inhibant les agents qui ralentissent ce clivage	Bennett <i>et al.</i> , 2000
<b>PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate)</b> Puissant activateur non physiologique des protéines kinases C; l'activation de PKC entraîne la protéolyse de la L-sélectine ainsi que de plusieurs autres molécules; clivage de la L-sélectine presque complet une heure après stimulation au PMA (25 ng/ml)	Jung et Dailey, 1990 ; Kahn <i>et al.</i> , 1994
<b>Stromelysine (MMP3)</b>	Preece <i>et al.</i> , 1996
<b>Trifluoperazine</b> Inhibiteur de calmoduline	Kahn <i>et al.</i> , 1998

**Tableau VI : Liste d'agents inhibant le clivage de la L-sélectine.**

<b>Agents</b> <i>Détails</i>	<b>Références</b>
<b>Inhibiteurs de métalloprotéinases, plusieurs</b>  Ex : Ro31-9790, KD-IX-73-4, GW280264X, TAPI-1, TAPI-2, BB-3103	Feehan <i>et al.</i> , 1996 ; Preece <i>et al.</i> , 1996 ; Bennett <i>et al.</i> , 2000 ; Hafezi-Moghadam <i>et al.</i> , 2001 ; Savage <i>et al.</i> , 2002
<b>Morphine</b>	Hafezi-Moghadam <i>et al.</i> , 2001
<b>TIMP3</b> Les autres TIMP ne semblent pas produire d'effet inhibiteur	Preece <i>et al.</i> , 1996 ; Hafezi-Moghadam <i>et al.</i> , 2001

## 5.2- La régulation du clivage de la L-sélectine

En plus de la participation du domaine EGF de la L-sélectine, qui sert de motif de reconnaissance pour les protéases, et sa région cytoplasmique, qui lie la calmoduline et les molécules de la famille des ERM (ezrine/radixine/moesine), il est évident qu'il existe plusieurs autres subtilités au niveau de cette régulation.

Plusieurs études mettent en évidence la participation de différents mécanismes de régulation du clivage de la L-sélectine. Le clivage de la L-sélectine induit par un traitement au PMA nécessite la présence de PKC (Jung *et al.*, 1990 ; Stoddart *et al.*, 1996), tandis que le clivage induit par un traitement au streptolysine O dépend de l'activation de la sphingomyelinase neutre (Walev *et al.*, 2000). Le clivage induit par Leu-13 s'effectue par l'entremise de protéine kinase, mais indépendamment des PKCs (Frey, *et al.*, 1997), et le clivage induit par l'activation directe de la L-sélectine nécessite également une protéine kinase autre que PKC, mais dépend aussi de MAPK et de la sphingomyelinase neutre (Stoddart *et al.*, 1996 ; Phong *et al.*, 2003).

L'équipe de Rizoli (Rizoli *et al.*, 1999) a démontré que l'hypertonicité du milieu de culture induit le clivage de la L-sélectine. L'augmentation de la tonicité du sérum chez un patient au prise avec une réaction inflammatoire non appropriée permet effectivement d'arrêter les fonctions des neutrophiles en entraînant le clivage de la L-sélectine et en empêchant l'expression de CD11b. L'étude de Rizoli révèle que le rétrécissement cellulaire induit par l'hypertonicité est l'élément déclencheur qui active les métalloprotéinases via les protéines kinases p38.

L'équipe de Phong a également observé que les molécules de L-sélectine sont localisées dans des "rafts" et que ce regroupement est encore plus prononcé après une activation. Ces régions membranaires spécialisées pourraient favoriser les communications intracellulaires en rassemblant tous les éléments nécessaires aux cascades signalétiques. (Phong *et al.*, 2003)

Un autre phénomène surprenant qui pourrait être davantage étudié pour aider à la compréhension de la régulation du clivage de la L-sélectine est que des leucocytes transfectés avec un ADNc de la L-sélectine ont un niveau de clivage spontané de la L-sélectine plus élevé que la normale (Chen *et al.*, 1995 ; Kahn *et al.*, 1998).

### 5.3- L'importance physiologique du clivage de la L-sélectine

Lorsque le clivage de la L-sélectine fut observé, il a été supposé que celui-ci devait avoir lieu pour permettre l'extravasation. L'équipe d'Allport (Allport *et al.*, 1997) a démontré le contraire en établissant que l'inhibition du clivage protéolytique de la L-sélectine n'empêche pas l'extravasation et n'affecte aucunement les étapes d'adhésion lors du recrutement leucocytaire. Ces études avaient alors utilisé une activation au TNF- $\alpha$  ainsi que Ro31-9790<sup>3</sup>, un inhibiteur de métalloprotéinases dépendantes du zinc. En 1996, une équipe avait pourtant observé qu'un inhibiteur à base d'acide hydroxamique, inhibant le clivage de la L-sélectine, diminuait la vitesse du roulement des neutrophiles (Walcheck *et al.*, 1996b). La différence entre ces études vient certainement du fait que l'équipe d'Allport n'a pas isolé l'effet de la L-sélectine. En effet, lorsqu'il y a activation des cellules endothéliales, c'est-à-dire expression de E-selectine, l'inhibition du clivage de la L-sélectine n'affecte pas la vitesse du roulement leucocytaire (Hafezi-Moghadam et Ley, 1999).

En 1999, Hafezi-Moghadam et Ley ont appuyé les résultats de l'équipe de Walcheck en démontrant que l'inhibition du clivage de la L-sélectine affecte les étapes d'adhésion lors du recrutement leucocytaire en diminuant la vitesse de roulement des leucocytes. Chez les souris non traitées au TNF- $\alpha$ , le traitement par un dérivé d'acide hydroxamique<sup>4</sup> induit effectivement un roulement leucocytaire de 35  $\mu\text{m/s}$ , soit 20  $\mu\text{m/s}$  moins vite que la normale. De plus, la vitesse du roulement diminue de 29% (de 23  $\mu\text{m/s}$  à 16  $\mu\text{m/s}$ ) lors de l'inhibition du clivage de la L-sélectine chez des souris déficientes en E-sélectine activées au TNF- $\alpha$  (Hafezi-Moghadam et Ley, 1999).

En 2001, le groupe de recherche d'Hafezi-Moghadam a poussé davantage son étude en démontrant que l'inhibition du clivage de la L-sélectine par un dérivé d'acide hydroxamique<sup>5</sup> entraîne une augmentation de l'adhésion et de l'extravasation chez des souris traitées au TNF- $\alpha$ . L'augmentation du recrutement ainsi observé s'explique par le fait que les leucocytes roulent moins vite sur l'endothélium, car leurs L-sélectines ne se font pas cliver, ce qui a comme conséquence d'augmenter le temps d'exposition aux chimiokines inflammatoires et d'activer davantage les leucocytes par une plus grande quantité de signalisations extérieure-intérieure.

De son côté, l'équipe de Bennett a trouvé que l'inhibition du clivage de la L-sélectine avec un inhibiteur de métalloprotéinase à base d'hydroxamate<sup>6</sup> augmente grandement l'agrégation des neutrophiles (Bennett *et al.*, 1996).

---

<sup>3</sup> N-2-((2s)-[(hydroxycarbonyl)méthyl]-4-méthylvaléryl)-N-1,3 -diméthyl-L-valinamide

<sup>4</sup> KD-1X-73-4

<sup>5</sup> KD-1X-73-4

<sup>6</sup> N-(D,L-[2-hydroxyaminocarboxyl)-méthyl]-4-méthylpentano)-L-3-(tert-butyl)-alanyl-L-alanine, 2-aminoéthyl amide

La génération de souris avec une forme de L-sélectine résistante au clivage a permis de confirmer l'importance du clivage de la L-sélectine (Galkina *et al.*, 2003). Les souris  $\Delta P^{T-cell}$  possèdent des molécules de L-sélectine uniquement sur les cellules T et cette forme de L-sélectine est résistante au clivage constitutif et induit, car elle a été chimériquement conçue avec la région membrano-proximale de la P-sélectine. Le sérum de ces souris ne contient que des traces de la sL-sélectine. Ce modèle a permis de démontrer que l'inhibition du clivage n'entraîne pas de modifications au niveau du roulement, résultats contredisant ceux publiés par l'équipe d'Hafezi-Moghadam (Hafezi-Moghadam *et al.*, 2001). De plus, leurs recherches ont démontré une augmentation de l'extravasation chez les cellules ayant une forme de L-sélectine résistante au clivage, mais l'équipe de Galkina a pourtant démontré le contraire en décrivant que les cellules T des souris  $\Delta P^{T-cell}$  transmigrent les HEVs plus lentement que les cellules T des souris témoins (WT  $T-cell$ ). Les autres conclusions amenées par Galkina sont que l'incapacité de cliver la L-sélectine n'affecte pas la migration des cellules T naïves aux ganglions lymphatiques, mais que, par contre, les cellules T ayant les L-sélectines résistantes au clivage retournent aux ganglions lymphatiques après leur activation, ce que les cellules T normales ne font pas. Le clivage de la L-sélectine est alors nécessaire pour réguler efficacement les réponses immunitaires initiés par les lymphocytes T. (Galkina *et al.*, 2003) Les résultats de l'équipe de Galkina qui sont contradictoires à ceux de l'équipe d'Hafezi-Moghadam (2001) sont confirmés par Grabovsky *et al.* (2002).

Dans une autre étude, une variété de souris a été produite en remplaçant 7 acides aminés de la L-sélectine par ceux de la E-sélectine, conférant ainsi à la L-sélectine chimérique une résistance au clivage. Les cellules T activées de ces souris continuent de migrer vers les ganglions lymphatiques périphériques plutôt que de migrer vers les sites d'inflammation. Puis l'augmentation de l'expression de la L-sélectine à la surface des leucocytes, due à l'incapacité de clivage, favorise leur recrutement dans les sites d'inflammation. L'étude confirme que l'incapacité de cliver la L-sélectine ne diminue pas la vitesse du roulement et n'augmente pas l'adhésion cellulaire. Les auteurs de cette étude stipulent que la contribution du clivage de la L-sélectine peut varier selon la population cellulaire, les sites tissulaires et les stimuli inflammatoires étudiés. (Venturi *et al.*, 2003)

Une particularité du clivage de la L-sélectine s'observe en culture *in vitro*, où la majorité des cellules T CD4+ traitées au BB-3130, un inhibiteur de clivage de la L-sélectine, prolifèrent moins rapidement que les cellules T CD4+ non traitées (Sauvage *et al.*, 2002).

L'importance physiologique de la concentration élevée de la L-sélectine soluble fonctionnellement active dans les sérums humains et murins porte à croire que cette présence pourrait également réguler le recrutement leucocytaire. En effet, de hauts niveaux de sL-sélectine influencent la



migration lymphocytaire et peuvent inhiber l'attachement leucocytaire à l'endothélium. La concentration physiologique de la sL-sélectine entraîne une inhibition régulière et légère de l'attachement des lymphocytes, et l'attachement leucocytaire est complètement inhibé à des concentrations de 8-15  $\mu\text{g/ml}$  de L-sélectine soluble. La migration de leucocytes dans les ganglions lymphatiques périphériques diminue de 38% dans une souris déficiente en L-sélectine où le niveau de sL-sélectine a été rétabli en comparaison avec une souris déficiente en L-sélectine sans sL-sélectine dans son sérum. Ce phénomène est dose dépendant. (Schleiffenbaum *et al.*, 1992 ; Tu *et al.*, 2002).

#### 5.4- L'implication du clivage de la L-sélectine dans le développement pathologique

En 1997, une équipe a proposé l'utilisation du niveau de E-sélectine soluble comme moyen supplémentaire pour établir un pronostic chez les patients atteints d'un cancer du sein, des ovaires ou du côlon, car le niveau de E-sélectine soluble augmente bien avant que des métastases soient détectées par des examens médicaux ou par des techniques d'imagerie (Matsuura *et al.*, 1997).

Le niveau de L-sélectine soluble dans le sérum de patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes renseigne également sur le pronostic du développement de cette maladie (Extermann *et al.*, 1998). Le niveau de L-sélectine soluble pourrait aussi renseigner sur l'état des leucémies chroniques lymphoblastiques et myéloïdes ainsi que sur le pouvoir de progression des mélanomes (Spertini *et al.*, 1994 ; Herold *et al.*, 2002 ; Yamada *et al.*, 2005).

Chez les patients atteints d'un lymphome (NHL ou HL), le niveau de P-sélectine et L-sélectine soluble dans leur sérum est également significativement plus élevé en comparaison avec des sérums de patients sains (Haznedaroglu *et al.*, 2000). Chez les souris atteintes d'un lymphome, le niveau de sL-sélectine est 20 fois plus élevé (Tu *et al.*, 2002).

## **HYPOTHÈSE DE TRAVAIL**

Étant donné que 1) la L-sélectine joue un rôle dans le développement des lymphomes (Bélanger et St-Pierre, 2005) et que 2) la L-sélectine soluble conserve une grande affinité pour ses ligands et peut donc être un antagoniste en empêchant les interactions impliquant la L-sélectine telles que la migration, le recrutement et l'activation des leucocytes (Schleiffenbaum *et al.*, 1992), il serait pertinent de déterminer la source des molécules de L-sélectine soluble mesurées en grande concentration dans le sérum de patients atteints d'un lymphome (Haznedaroglu *et al.*, 2000 ; Tu *et al.*, 2002).

Mon hypothèse de travail est que l'augmentation en L-sélectine soluble provient 1) des leucocytes de l'hôte, 2) des cellules du lymphome ou 3) d'une combinaison de ces deux sources.

Grâce au modèle murin utilisé dans le laboratoire du Docteur St-Pierre, il était possible d'établir l'origine de la L-sélectine soluble. Ce modèle permet en effet l'utilisation de souris déficiente en L-sélectine ainsi que de lymphomes déficients en L-sélectine. Les résultats de ces recherches sont présentés dans ce mémoire.

## **PARTIE 2**

## **ACCUSÉ DE RÉCEPTION**

----- Message transféré

De : <jtbaker@aapt.net.au>

Date : Fri, 7 Aug 2009 21:46:55 -0400 (EDT)

À : <caroline.aube@iaf.inrs.ca>, <yves.st-pierre@iaf.inrs.ca>, <simon.belanger@iaf.inrs.ca>

Objet : Manuscript has been submitted - GLAL-2009-0541

07-Aug-2009

Dear Aubé, Caroline; St-Pierre, Yves; Bélanger, Simon

You have been listed as a co-author on a manuscript submitted to Leukemia and Lymphoma. The manuscript title is "Lymphoma cells are the major source of soluble forms of L-selectins in the serum of lymphoma-bearing mice". If you were not involved in the production of this manuscript, please contact the editorial office on jtbaker@aapt.net.au. If you are a co-author for this paper then no further action is needed.

Thank you for your attention to this matter.

Sincerely,

Tenille Gaylard  
Leukemia and Lymphoma Editorial Office

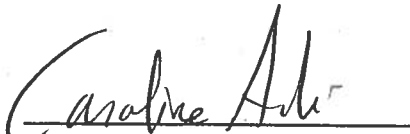
----- Fin du message transféré

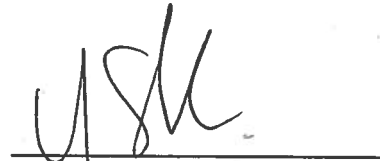
## **PARTICIPATION DES AUTEURS**

Caroline Aubé a effectué toutes les manipulations (analyses FASC, études ELISA, RT-PCR, manipulations avec les souris, c'est-à-dire injections et prises de sang) ayant mené aux résultats des figures 1 à 4. Elle a aussi participé à la rédaction de l'article.

Le Dr Simon Bélanger a supervisé le projet et il a participé à la rédaction de l'article.

Le Dr Yves St-Pierre a supervisé le projet, a élaboré le plan de la recherche, a analysé les résultats et a rédigé l'article.

  
Caroline Aubé

  
Yves St-Pierre

**ARTICLE**

Lymphoma cells are the major source of soluble forms of L-selectins  
in the serum of lymphoma-bearing mice.

Running title: Cleavage of L-selectin in T-cell lymphoma

Caroline Aubé, Simon D. Bélanger and Yves St-Pierre

INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, 531 Blvd des Prairies,  
Laval, Québec, Canada, H7V 1B7.

**Corresponding author.**

Yves St-Pierre, Ph.D.

INRS-Institut Armand-Frappier

531 Boul. des Prairies,

Laval, Québec, Canada

H7V1B7

Phone : 450-686-5354

Fax : 450-686-5501

E-mail: [yves.st-pierre@iaf.inrs.ca](mailto:yves.st-pierre@iaf.inrs.ca)

## **ABSTRACT**

Like many integral membrane glycoproteins, the extracellular domain of L-selectin undergoes rapid shedding, which occurs on both resting and activated leucocytes. Shedding of L-selectin can also be artificially induced by incubating normal or transformed leukocytes with phorbol esters, providing multiple possibilities for the source of soluble forms of L-selectins found in the serum of patients with hematological malignancies. Here, using genetically engineered L-selectin-deficient mouse models, we have measured the release of soluble circulating forms of L-selectin in serum of lymphoma bearing mice. We found that L-selectin-deficient lymphoma cells could not induce an elevation of circulating soluble forms of L-selectin in normal mice, as compared to lymphoma cells expressing L-selectin. Moreover, soluble forms of L-selectin were detected in the serum of mice bearing lymphoma induced by injection of T-lymphoma cells expressing L-selectins. Interestingly, we also found that lymphoma cells that are unable to shed L-selectin *in vitro* following exposure to phorbol ester can generate soluble forms of serum L-selectin *in vivo*. Taken together, these results indicate that lymphoma cells are the major contributors to levels of soluble forms of L-selectins in lymphoma bearing mice.



## INTRODUCTION

Members of the selectin family of adhesion molecules are involved in the initial contact between circulating leukocytes and vascular endothelial cells [1]. Members of the selectin family share a high degree of structural homology with each other and thus bind to sialylated, glycosylated, or sulfated glycans on glycoproteins, most notably the tetra-saccharides sialyl Lewis X (sLE<sup>x</sup>) and sialyl Lewis A (sLE<sup>a</sup>) found on a wide spectrum of cell types. E- and P-selectins are expressed on vascular endothelial cells and, like ICAM-1, their expression is rapidly upregulated upon stimulation. In contrast, L-selectin is constitutively expressed on a wide variety of inflammatory cells including monocytes, neutrophils, eosinophils, B cells, and subsets of T cells [2-4].

In addition to their role in the recruitment of circulating leukocytes at inflammation sites, it is now well established that selectins are also involved in cancer, most notably in hematological malignancies. For example, using genetically-engineered selectin-deficient mice, we have found that selectins are involved in the dissemination of lymphoma cells to peripheral organs [5]. We also reported that L-selectin-mediated interactions played an important role in the growth of lymphoma since L-selectin-negative lymphoma cells had a reduced capacity to grow in the thymic microenvironment of normal mice indicating that L-selectin-mediated interactions are biologically functional in the context of tumor growth [5]. These results confirmed the importance of L-selectin in tumor growth and metastasis that has previously been suspected from studies reporting that L-selectin-deficiency reduces metastasis of adenocarcinoma cells expressing functional L-selectin ligands [6].

It is now well established that L-selectin is rapidly shed from the surface of leukocytes following activation by diverse stimuli [7-8]. The TNF-alpha converting enzyme (TACE) appears to be one of the proteases needed for L-selectin shedding [9]. In normal leukocyte populations, exposure to phorbol ester is among the major mechanisms that is used to study shedding of L-selectin [10], while in normal physiological situations, L-selectin is lost on lymphocytes migrating across high endothelial

venules into lymph nodes, a process which is believed to prevent reentry of T cells to peripheral lymph nodes following activation by reducing receptor density [11]. In fact, a 50% reduction in leukocyte cell surface levels of L-selectin has been shown to result in a 70% decrease in leukocyte migration [12]. Proteolytic cleavage is thus believed to control the time of interaction of leukocytes with the endothelium [13]. In inflammatory diseases, this cleavage can be followed by measuring the release of the soluble forms of L-selectin in the serum of patients [14]. Similarly, in chronic myeloid leukemia and chronic lymphocytic leukemia, the serum level of the soluble form of L-selectin (sL-selectin) has been suggested as a helpful alternative for the early diagnosis of leukemia relapse [15]. In fact, in acute myeloid leukemia, an abnormally high level of sL-selectin is considered as a possible factor of poor prognosis, with higher risk for events such as relapse or death [16]. Nevertheless, although plasma sL-selectin may be a useful prognostic marker, the exact contribution of host leukocyte population versus L-selectin-bearing tumor cells to the level of plasma sL-selectin remains unclear. In the present work, we have used an experimental model of L-selectin-deficient T cell lymphoma to examine this issue.

## **MATERIALS AND METHODS**

**Mice.** All breeder pairs for mouse colony (normal and L-selectin deficient mice) were originally purchased from Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). Mutant L-selectin deficient mice were backcrossed on a C57BL/6 background using polymerase chain reaction (PCR) to screen for the appropriate mutation. Selectin-deficient mice (KOL) were healthy, fertile, and did not show any gross abnormalities. Mice were maintained according to the Institutional Animal Care and Use Committee.

**Cell lines and antibodies.** The different mouse T lymphoma cell lines were established in our laboratory from radiation-induced thymic lymphoma as previously described [17]. All cells were maintained in RPMI 1640 complete medium (supplemented with 10% (v/v) FCS, 2mmol/L L-glutamine, 10 mmol/L HEPES buffer, 0.1 unit/mL penicillin, 50 µg/mL streptomycin and 55 µmol/L B-mercaptoethanol). All products were from Life Technologies (Burlington, ON, Canada). For PMA

activation, cells were activated with 100 nm/ml of PMA (Sigma, St. Louis, MO) for 30 minutes in medium without FCS. Rat biotin-conjugated anti-mouse L-selectin mAb was purchased from eBioscience (San Diego, CA). Streptavidin-phycoerythrin (SA-PE) conjugates were obtained from BD bioscience Pharmingen (Mississauga, ON, Canada).

**Flow cytometry.** Cells were washed in ice-cold phosphate-buffered saline (PBS) and were incubated on ice for 20 minutes with PBA (PBS containing 1% (v/v) bovine serum albumin (BSA), 0.01% (v/v) sodium azide) containing 30 µg/mL human immunoglobulin G (IgG; Sigma). Anti-L-selectin mAb was then added for 20 minutes. For indirect staining, cells were washed twice after binding of the first mAb and were incubated again with a saturating concentration of SA-PE conjugate for 20 minutes on ice. After mAb binding, cells were washed with ice-cold PBA and were resuspended in 1 mL PBS containing 0.01% sodium azide. Samples were kept in the dark and were analyzed using a FACScalibur flow cytometer (BD Biosciences). Between 10 000 and 50 000 cellular events were analyzed for each sample.

**ELISA.** Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for s-L-selectin (DuoSet sL-Selectin ELISA Kit, from R&D Systems, Minneapolis, MN) was performed according to the manufacturers' instructions. Light emission was measured at 450 nm using a microplate reader (Molecular Devices).

**PCR.** The genotype of L-selectin-deficient cell lines established from radiation-induced thymic lymphoma was confirmed by PCR analysis using the following parameters: 120 seconds at 94°C and then 35 cycles of 3 steps consisting of 60 seconds at 94°C, 60 seconds at 58°C, and 60 seconds at 72°C. The following primers were used: for the detection of the L-selectin wild-type allele (728 bp): 5'-GGGAGCCCAACAACAAGAAG-3' (forward primer); and 5'-CTGCATCACAGATGCACGTG-3' (reverse primer); for the detection of the mutated allele (320 bp), 5'-GGGAGCCCAACAACAAGAAG-3' (forward allele) and 5'-ACACTGGACCACATACTGACACTG-3' (reverse primer).

**Experimental model of lymphoma.** The model used has been described in details in previous publications [5, 17]. Briefly, T lymphoma cells ( $10^6$ ) were injected i.v. via the tail vein of 6- to 10-week-old mice. Mice were then observed periodically for clinical signs of lymphoma (runtiness, splenomegaly, and dyspnea). When moribund, mice were sacrificed and serum and organs were collected at necropsy. The presence of lymphoma was confirmed by histological examination.

**Statistical analysis.** Statistical significance was measured using the Student's *t* test, and level of significance was established at *p* less than .05.

## RESULTS AND DISCUSSION.

**Release of soluble forms of L-selectin from lymphoma cells.** Before we examined the levels of sL-selectin in normal and L-Selectin-deficient mice bearing T lymphoma, we first confirmed the expression of L-selectin at the surface of T lymphoma cell lines and their ability to shed L-selectin upon stimulation with PMA, a pharmacological agent known to induce the shedding of L-selectin [10]. Flow cytometric analyses showed that incubation of lymphoma cells with PMA at 37°C for 30 min in serum-free medium decreased the expression of L-selectin on the surface of 164T2 and 374T1 T lymphoma cells, as compared of cells incubated without PMA (Fig. 1). Similar decrease in the intensity of L-selectin expression was observed using normal T cells (thymocytes) as a control. No such decrease following exposure to PMA was observed, however, in the case of S11 lymphoma cells, a variant derived from 164T2 cells upon *in vivo* passages [18].

To confirm that reduction in cell surface expression of L-selectin following PMA stimulation was due to shedding, soluble forms of L-selectin (sL-selectin) were measured from cell supernatants using a specific, sandwich ELISA test for soluble forms of sL-selectin. Our results showed that: 1) a significant level of sL-selectin was detected in the supernatants of unstimulated 164T2 and 374T1 T lymphoma cells, which indicate that like normal lymphocytes [19], T lymphoma cells constitutively shed membrane-bound L-selectin; normal T lymphocytes; 2) higher levels of sL-selectin were found

in supernatants from PMA-stimulated 164T2 and 374T1 lymphoma cells compared with medium from nonstimulated cells and; 3) no such constitutive release of soluble L-selectin was observed in the case of S11 cells nor following stimulation with PMA (Fig. 2). In the case of S11, these results were unexpected since these cells a) express high levels of L-selectin, b) were derived from 164T2 lymphoma cells, and c) expressed constitutive levels of *TACE* that are similar to other T lymphoma cell lines, such as 164T2 (*Data not shown*).

**Increases sL-selectin in mice bearing lymphoid tumors.** In the next series of experiments, we examined the plasma levels of normal syngeneic mice bearing lymphoid tumors induced by i.v. injections of T lymphoma cells expressing L-selectin or T lymphoma cells deficient for L-selectin. In this model, lymphoid tumors appear after a period of latency of 3-6 months after injection [18]. The tumorigenic 1682 L-selectin-deficient lymphoma cell line was used for this study [5]. The 1682 cell line was characterized at the genomic level and the presence of the homozygous mutation at the *L-selectin* locus was confirmed by PCR on the genomic DNA (Fig. 1A). Moreover, their inability to express L-selectin was confirmed at the protein level by flow cytometry (Fig. 1B). 1682, 164T2 or S11 lymphoma cells were thus injected in adult syngeneic C57BL/6 mice. We found that mice injected with 164T2, and also with S11, were equally superior in their levels of sL-selectins as compared to normal mice ( $p < 0.001$ ). In contrast, injection of 1682 L-selectin-deficient-lymphoma cells could not induce such elevation of circulating soluble forms of L-selectin (Fig. 3).

**The contribution of L-selectin from the tumor cells and from the host cells.** To further establish lymphoma as a source of soluble forms of L-selectin in the serum of tumor-bearing mice, 164T2 and S11 lymphoma cell lines were injected in L-selectin-deficient mice and the presence of sL-selectin in the serum of tumor bearing mice were measured by ELISA. Our results showed that while we could not detect any significant level of sL-selectin in control L-selectin-deficient mice, as compared to normal C57BL/6 mice which express constitutive levels of soluble forms of L-selectin resulting from constitutive shedding by normal leukocytes [19], significantly higher levels of sL-selectin ( $p < 0.01$ ) could be found in tumour-bearing L-selectin-deficient mice induced by 164T2 (Fig. 4). A significant ( $p$

< 0.01), although somewhat lower levels of soluble forms of sL-selectin were also found in L-Selectin-deficient mice injected with S11. Taken together, these results provide evidence that sL-selectin found in the serum of tumor bearing mice originate from shedding of T lymphoma cells.

In general, the presence of sL-selectin in the serum is believed to reflect circulating cell-endothelium interactions and endothelial damage. In the case of patients with hematological disorders, however, multiple possibilities exist regarding the source of soluble forms of L-selectin since transformed lymphocytes constitutively express high levels of L-selectin. Here, using a pre-clinical model of T lymphoma, we have shown that lymphoma cells constitutively shed L-selectin and are a major source of soluble forms of L-selectin found in serum of lymphoma bearing mice.

Shedding of L-selectin reduces leukocyte recruitment and releases soluble receptors [20]. Moreover, soluble L-selectins can antagonize leukocyte migration or induce leukocyte activation via cross-linking of its ligands at the surface of circulating leukocytes [21]. Since elevated levels of the soluble L-selectin are detected in the serum of patients with various forms of cancer, our findings suggest that tumour cells expressing higher levels of L-selectin may be more tumorigenic than L-selectin-deficient tumor cells. In our previous studies, however, no such differences were observed between lymphoma cells expressing L-selectin or not, at least in the cases of thymic lymphoma [20]. However, given our current observations that lymphoma cells may have distinct ability to shed L-selectin, these results should be interpreted with caution. Our current findings clearly show that resistance to shedding induced by PMA, a pharmacological agent known to induce *in vitro* shedding of L-selectin, is not predictive from its ability to shed L-selectin *in vivo*. Indeed, while the parental 164T2 cells were highly susceptible to PMA-induced L-selectin shedding, its metastatic variant S11 was resistant to PMA-induced shedding. A similar observation was found with the S19 lymphoma cells, another variant of 164T2 cells (*data not shown*). This difference in the ability to shed L-selectin is currently unclear and under investigation. Clearly, this difference does not correlate with *TACE* expression, as all of these cells express similar levels of this protease. These results are in fact consistent with the idea that mechanisms other than *TACE* are possibly involved in shedding of L-selectin [9, 20].

In conclusion, our results indicate that lymphoma cells are the major source of soluble forms of L-selectin in the serum of lymphoma bearing mice. They also provide a new experimental model system to study the mechanisms that control the shedding of L-selectin during the progression of lymphoma cells towards aggressiveness.

**Acknowledgements:** We would like to thank Diane Tremblay and Doris Legault for their excellent technical assistance. This study was supported by a grant from the Cancer Research Society of Canada. C.A. is supported by a studentship from the National Science and Engineering Research Council of Canada and La Fondation Armand-Frappier. S.D.B. was supported by a Scholarship from the Canadian Institutes of Health Research and the Terry Fox Foundation through the National Cancer Institute of Canada. There are no conflicts of interest to disclose.

**Contributions.** Caroline Aubé performed research, analyzed data, and reviewed the paper; Simon D. Bélanger performed research and reviewed the paper, and Yves St-Pierre designed research, analyzed data and wrote the manuscript.

## REFERENCES

1. Fukuda M, Hiraoka N, Yeh JC. C-type lectins and sialyl lewis X oligosaccharides. Versatile roles in cell-cell interaction. *J Cell Biol* 1999;147:467-70.
2. Griffin JD, Spertini O, Ernst TJ, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and other cytokines regulate surface expression of the leukocyte adhesion molecule-1 on human neutrophils, monocytes and their precursors. *J Immunol* 1990;145:576-84.
3. Spertini O, Freedman AS, Belvin MP, et al. Regulation of leukocyte adhesion molecule-1 (TQ1, Leu-8) expression and shedding by normal and malignant cells. *Leukemia* 1991;5:300-308.
4. Tedder TF, Penta AC, Levine HB, Freedman AS. Expression of the human leukocyte adhesion molecule, LAM1. Identity with the TQ1 and Leu-8 differentiation antigens. *J Immunol* 1990;144:532-540.
5. Bélanger SD, St-Pierre Y. Role of selectins in the triggering, growth, and dissemination of T-lymphoma cells: implication of L-selectin in growth of thymic lymphoma. *Blood* 2005;105:4800-4806.
6. Borsig L, Wong R, Feramisco J, et al. Heparin and cancer revisited: mechanistic connections involving platelets, P-selectin, carcinoma mucins, and tumor metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:3352-3357.
7. Rosen SD. Ligands for L-selectin: homing, inflammation, and beyond. *Annu Rev Immunol* 2004;22:129-156.
8. Kishimoto TK, Jutila MA, Berg EL, Butcher EC. Neutrophil Mac-1 and MEL-14 adhesion proteins inversely regulated by chemotactic factors. *Science* 1989; 245:1238-1241.
9. Smalley DM, Ley K. L-selectin: mechanisms and physiological significance of ectodomain cleavage. *J Cell Mol Med* 2005;9:255-266.
10. Jung JM, Dailey MO. Rapid modulation of homing receptors (gp90MEL-14) induced by activators of protein kinase C; Receptor shedding due to accelerated proteolytic cleavage at the cell surface. *J Immunol* 1990;144:3130-3136.
11. Schleiffenbaum B, Spertini O, Tedder T. Soluble L-selectin is present in human plasma at high levels and retains functional activity. *J Cell Biol* 1992;119:229-238.



12. Tang ML, Steeber DA, Zhang XQ, Tedder TF. Intrinsic differences in L-selectin expression levels affect T and B lymphocyte subset-specific recirculation pathways. *J Immunol* 1998;160:5113-5121.
13. Dunon D, Piali L, Imhof BA. To stick or not to stick: the new leukocyte homing paradigm. *Curr Opin Cell Biol* 1996;8:714-723.
14. Spertini O, Schleiffenbanm B, White-Owen C, et al. ELISA for quantification of L-selectin shed from leukocytes in vivo. *J Immunol Meth* 1992;156:115-123.
15. Spertini O, Callegari P, Cordey AS, et al. High levels of the shed form of L-selectin are present in patients with acute leukemia and inhibit blast cell adhesion to activated endothelium. *Blood* 1994;84:1249-1256.
16. Extermann M, Bacchi M, Monai N, et al. Relationship between cleaved L-selectin levels and the outcome of acute myeloid leukemia. *Blood* 1998;92:3115-3122.
17. Demers M, Biron-Pain K, Hébert J, et al. Galectin-7 in lymphoma: elevated expression in human lymphoid malignancies and decreased lymphoma dissemination by antisense strategies in experimental model. *Cancer Res* 2007;67:2824-2829.
18. Lalancette M, Aoudjit F, Potworowski EF, St-Pierre Y. Resistance of ICAM-1-deficient mice to metastasis overcome by increased aggressiveness of lymphoma cells. *Blood* 2000;95:314-319.
19. Zhao L, Shey M, Farnsworth M, Dailey MO. Regulation of membrane metalloproteolytic cleavage of L-selectin (CD62L) by the epidermal growth factor domain. *J Biol Chem* 2001;276:30631-30640.
20. Tedder TF, Steeber DA, Pizcueta P. L-selectin-deficient mice have impaired leukocyte recruitment into inflammatory sites. *J Exp Med* 1995;181:2259-2264.
21. Steeber DA, Engel P, Miller AS, Sheetz MP, Tedder TF. Ligation of L-selectin through conserved regions within the lectin domain activates signal transduction pathways and integrin function in human, mouse, and rat leukocytes *J Immunol* 1997;159:952-963.
22. Walcheck B, Alexander SR, St. Hill CA, Matala E. 2003. ADAM-17-independent shedding of L-selectin. *J Leuk Biol* 2003;74:389-394.

## FIGURE LEGENDS

**Figure 1: L-selectin shedding on T lymphoma cell lines.** Flow cytometric of L-selectin expression on the indicated T lymphoma cell lines and control thymocytes (THY) using the anti-L-selectin mAb. *Dark line*, untreated; *grey line*, PMA-treated. Controls included cells incubated with SA-PE alone (*thin line* histogram). The x-axis measures fluorescence intensity; the y-axis, cell counts. The results are representative of at least three independent experiments.

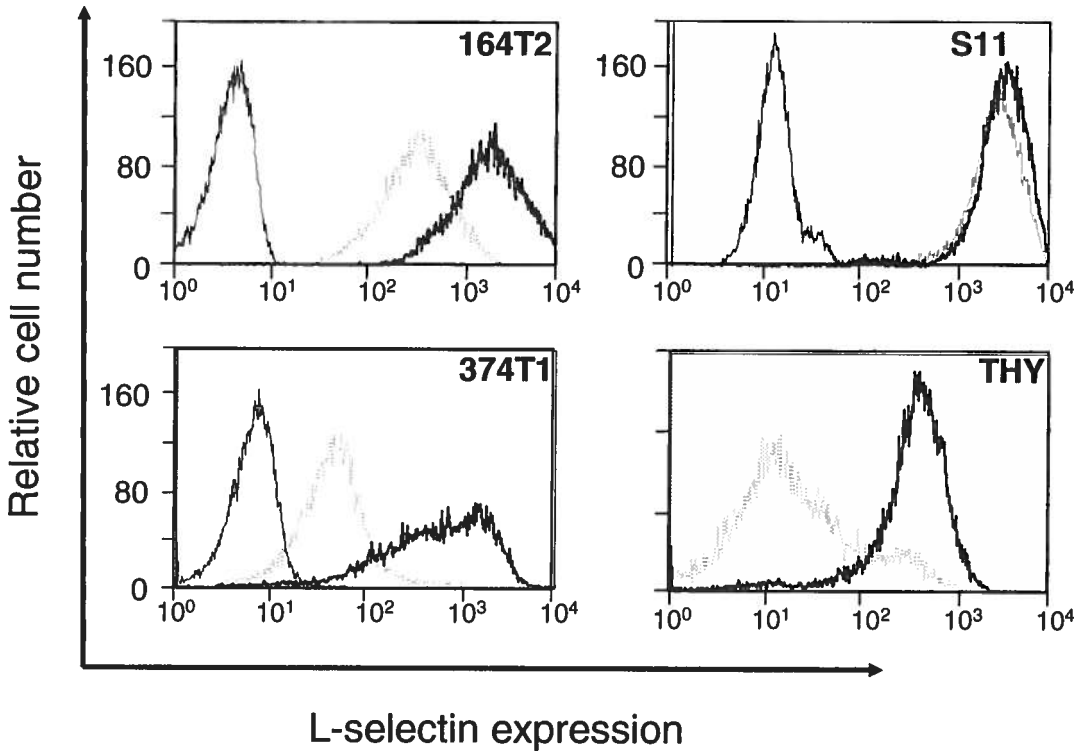
**Figure 2: Release of soluble forms of L-selectin from T lymphoma cells following treatment with PMA as determined by ELISA.** T lymphoma cells were plated and treated with 50 nm of PMA for 30 min at 37°C. The supernatants were then immediately collected and the levels of soluble L-selectin determined by ELISA. The y-axis represents ng/ml soluble L-selectin in untreated versus PMA-treated cells. The results are representative of at least three independent experiments.

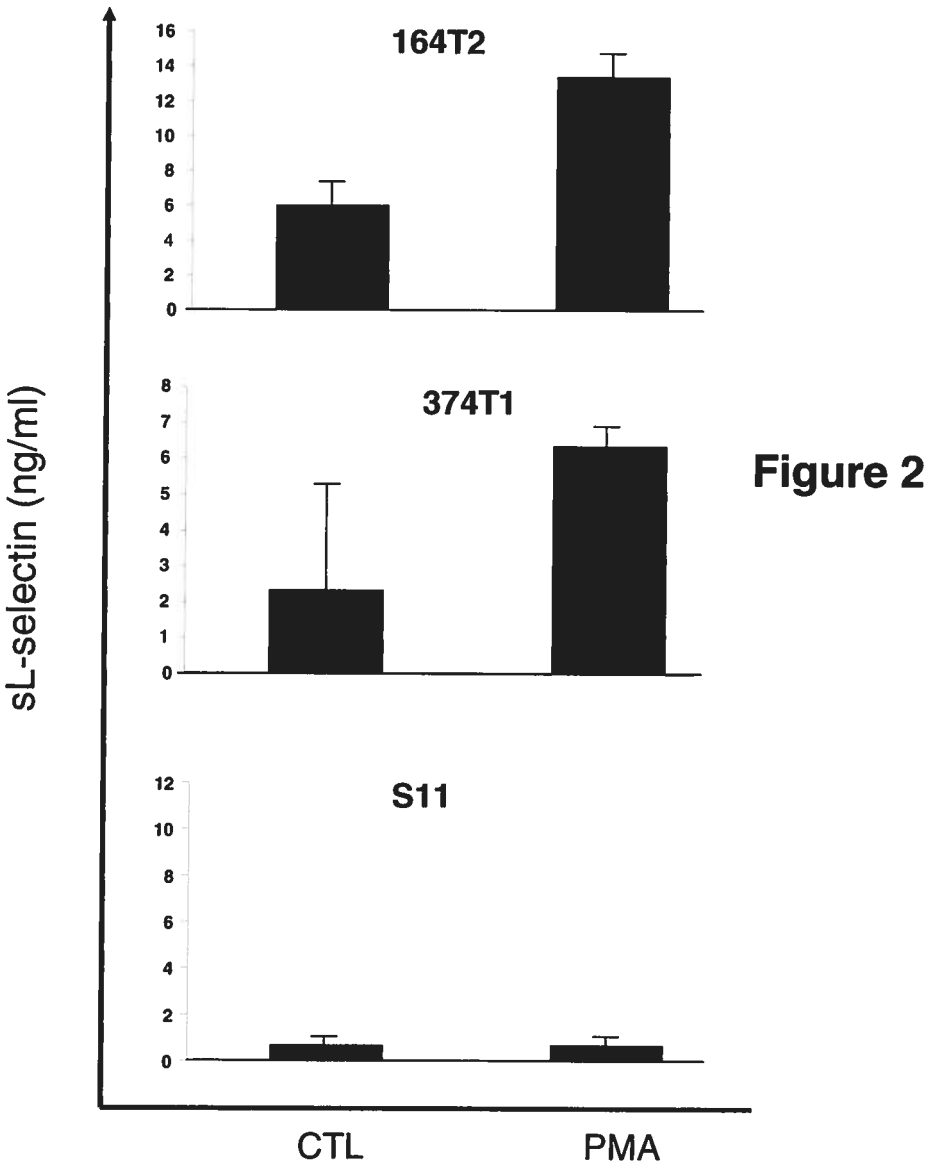
**Figure 3: Lymphoma-induced shedding occurs in vivo by 164T2, S11 and L-selectin-deficient lymphoma cell lines.** (A) The L-selectin-deficient 1682 T lymphoma line was obtained from an *in vitro* culture of a radiation-induced thymic lymphoma in C57BL/6 mice, as previously described. To ascertain the stability of the genotype and the mutation upon *in vitro* passaging of this cell line, genotyping at the L-selectin locus was carried out and compared to wild-type alleles. Genotypes of T-lymphoma cell lines generated from normal (164T2), heterozygous (1681), and L-selectin-deficient mice (1682) show the presence of the wild-type allele (728 base pair bp) and the puromycin-containing mutant alleles (320 bp). A 572 bp DNA sequence specific for the galectin-7 promoter was used as a non-coding genomic control. (B) Surface expression of L-selectin on lymphoma cell lines. Cells were stained for L-selectin using the L-selectin-specific mAb by flow cytometry. Controls included cells incubated with SA-PE alone. The T-cell origin of all lymphoma cell lines was established by their ability to express CD3 $\epsilon$  (*data not shown*). The x axis measures fluorescence intensity; the y axis, cell counts. (C) Serum was collected from normal mice (n = 28) or from lymphoma bearing C57BL/6 mice. Levels of sL-selectin were determined by ELISA, as described in

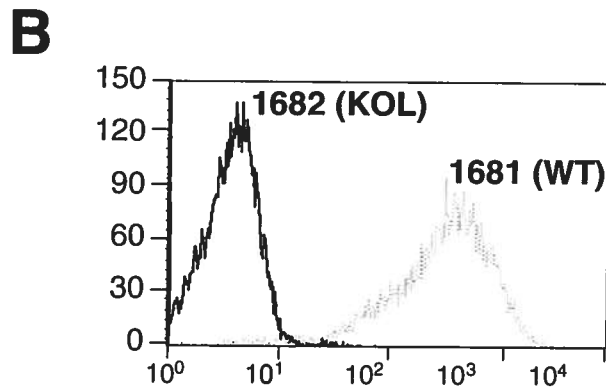
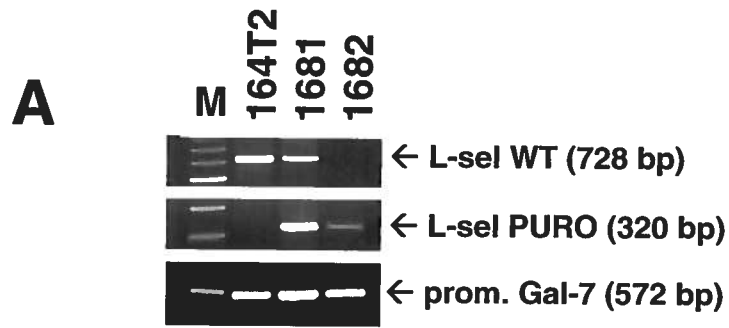
*Materials and Methods.* The mean values were  $1,31 \pm 0,21$   $\mu\text{g/ml}$  for control mice;  $0,94 \pm 0,19$   $\mu\text{g/ml}$  for lymphoma mice bearing lymphoma induced by injection of 1682 L-selectin-deficient lymphoma cells;  $3,67 \pm 1,61$   $\mu\text{g/ml}$  for lymphoma-bearing mice induced upon injection of S11 lymphoma cells, and  $3,33 \pm 1,91$   $\mu\text{g/ml}$  for lymphoma-bearing mice induced upon injection of 164T2 lymphoma cells.

**Figure 4. Detection of soluble forms of L-selectin in L-selectin-deficient mice bearing T cell lymphoma.** Serum was collected from normal mice ( $n = 28$ ) or from normal mice bearing lymphoma induced upon injection of (A) 164T2 or (B) S11 lymphoma cells. The mean values were  $1,31 \pm 0,21$   $\mu\text{g/ml}$  for control mice;  $2,39 \pm 0,98$   $\mu\text{g/ml}$  for lymphoma mice bearing lymphoma induced by injection of 164T2 lymphoma cells; and  $3,32 \pm 1,90$   $\mu\text{g/ml}$  for lymphoma-bearing mice induced upon injection of S11 lymphoma cells. No detectable levels of soluble L-selectins were detected in normal (non-injected control) L-selectin C57BL/6 mice;  $0,85 \pm 0,72$   $\mu\text{g/ml}$  for L-selectin-deficient mice bearing lymphoma induced by injection of 164T2 lymphoma cells;  $0,43 \pm 0,37$   $\mu\text{g/ml}$  for L-selectin-deficient mice bearing lymphoma induced by injection of S11 lymphoma cells.

Figure 1







**Figure 3**

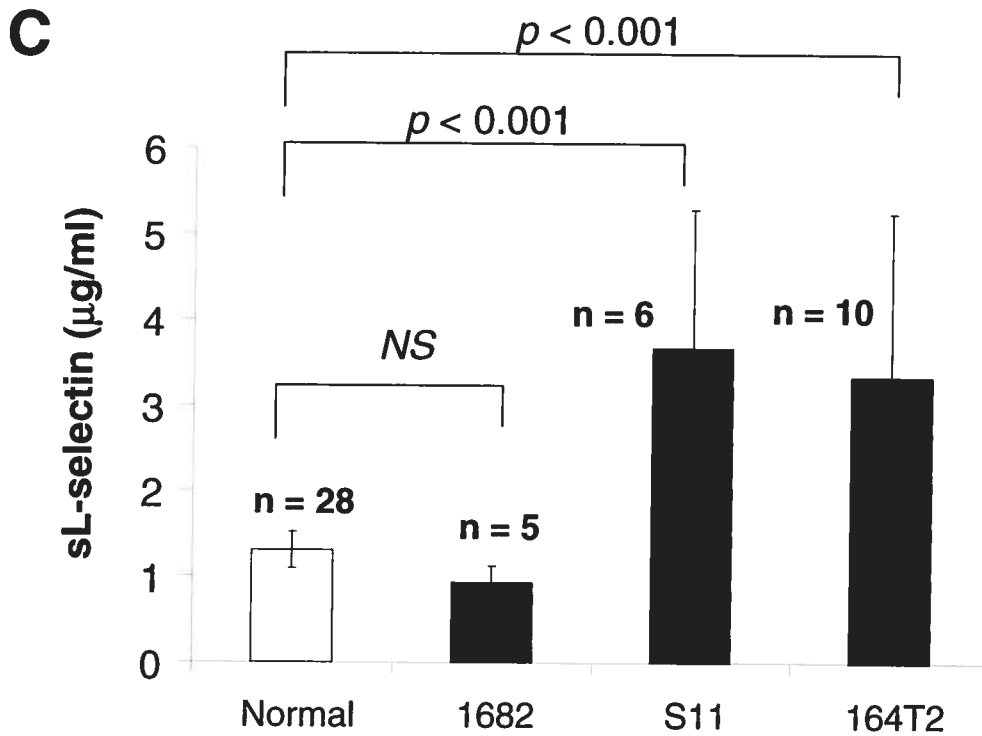
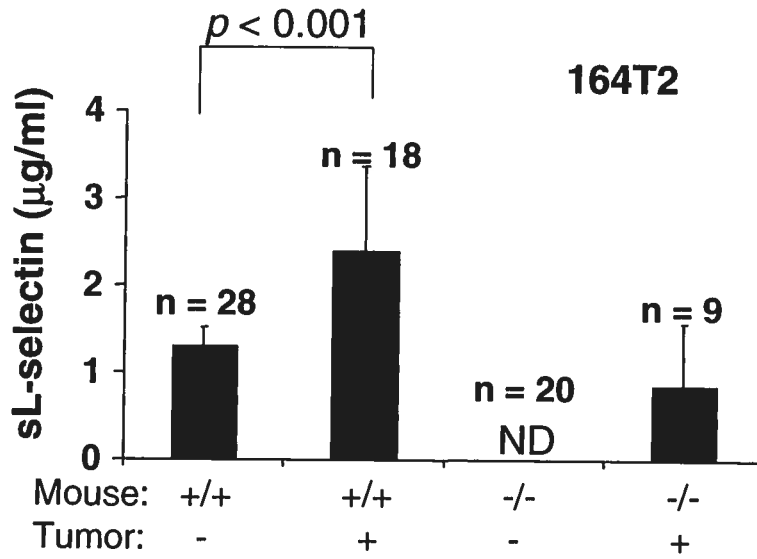
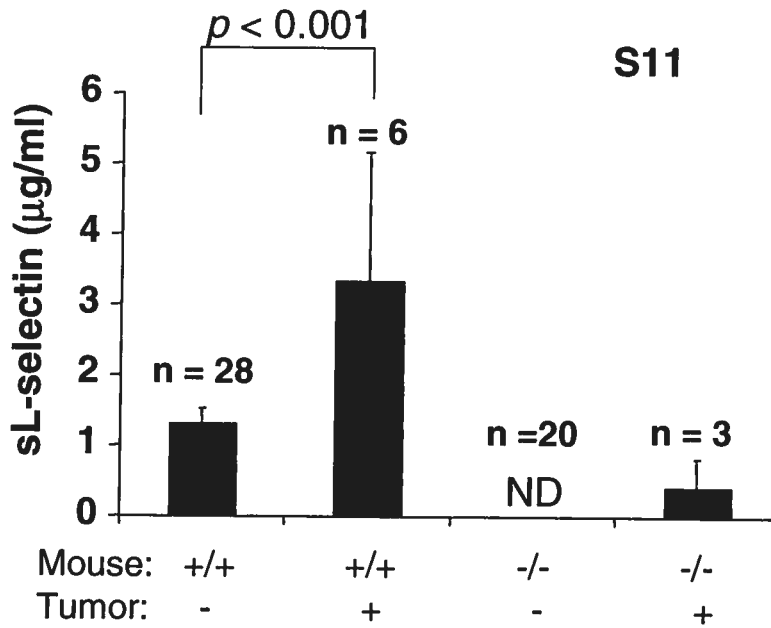


Figure 4

A



B



## **PARTIE 3**



## **DISCUSSION ET CONCLUSION**

### **A- Rappel de la problématique et de l'objectif**

Avant d'entreprendre les travaux présentés dans ce mémoire, nous savions que la L-sélectine est importante pour engendrer un recrutement leucocytaire efficace et que le clivage de cette molécule régule également le recrutement leucocytaire, car la fraction soluble de la L-sélectine clivée conserve une affinité pour ses ligands. De plus, des études réalisées dans notre laboratoire avaient permis de déterminer que la L-sélectine influence la dissémination des lymphomes et la croissance de lymphome thymique. Nous savions également que des taux élevés de L-sélectines solubles sont observés dans le sérum de patients atteints de lymphomes. Grâce aux souris déficientes en L-sélectine et à la lignée de lymphome déficiente en L-sélectine mise au point dans notre laboratoire, nous avons donc entrepris de déterminer l'origine de cette augmentation qui pouvait provenir des cellules immunitaires de l'hôte, des cellules du lymphome ou une combinaison de ces deux sources.

### **B- Principaux résultats obtenus**

Comme la L-sélectine subit un clivage à la surface des lymphocytes, il était soupçonné que la L-sélectine soit également clivée de la surface des contreparties malignes, les lymphomes. Des études en cytométrie en flux mesurant les niveaux d'expression de la L-sélectine à la surface des lymphomes et des études ÉLISA mesurant les niveaux de L-sélectines solubles dans les surnageants ont clairement démontré que la L-sélectine est clivée de la surface des lignées de lymphomes (voir **Figure 1** et **Figure 2**). Cependant, la lignée de lymphome S11, un variant agressif de la lignée 164T2, n'a pas réagi pas comme les autres lignées cellulaires, la L-sélectine à sa surface étant plus résistante au clivage induit par le PMA. Pour trouver une explication à cette divergence de clivage *in vitro* entre les lymphomes S11 et 164T2, nous avons vérifié le niveau d'expression de TACE dans ces deux lignées de lymphomes (voir **Annexe 8**). Nos résultats ont démontré que les niveaux d'expression de TACE ne diffèrent pas de façon significative entre ces deux lignées, du moins du point de vue de l'ARNm. De plus, les résultats d'études *in vivo* démontrent qu'il n'y a pas de différence significative au niveau de la concentration de L-sélectine soluble dans le sérum des souris injectées avec les lymphomes S11 ou 164T2 (voir **Figure 3**, **Figure 4**). Hors, la L-sélectine soluble provenant principalement des lymphomes, nos résultats indiquent que la L-sélectine à la surface de S11 se fait cliver *in vivo* malgré une résistance au clivage induit par le PMA *in vitro*. Les niveaux de clivage de la L-sélectine sur S11 et 164T2 *in vivo* étant similaires, on ne peut conclure qu'une diminution du clivage de la L-sélectine corrèle avec l'agressivité des lymphomes (voir **Annexe 7**). Bien que ces résultats soient consistants avec l'existence de mécanismes de clivage de la L-sélectine indépendant de PMA, ils démontrent surtout que la dépendance au PMA peut varier avec le temps dans une cellule cancéreuse, laquelle peut donc utiliser plusieurs mécanismes pour cliver la L-sélectine. Ils démontrent par surcroît que le clivage par le PMA n'est pas indicatif du clivage *in vivo*.

L'objectif principal de ce projet était de déterminer la source de l'augmentation de la forme soluble sérique de L-sélectine dans le cas de tumeurs lymphoïdes par l'utilisation d'un modèle pré-clinique falsant appel à des souris génétiquement modifiées. Le modèle pré-clinique utilisé est original en ce sens qu'il combine l'utilisation à la fois de lymphomes déficients en L-sélectine et de souris déficientes en L-sélectine. Ce modèle nous a permis de déterminer notamment que l'augmentation de la L-sélectine soluble dans le sérum de souris atteintes de lymphomes T provient principalement de la surface des cellules tumorales (voir **Figure 3** et **Figure 4**).

Tel qu'abordé précédemment dans le mémoire, nos études antérieures ont démontré que TACE est considéré comme la protéase majeure responsable du clivage de la L-sélectine. Nos résultats avec la résistance du clivage de la L-sélectine chez les cellules S11, un variant de 164T2 sensible au clivage, nous ont mené à déterminer l'implication de voies alternatives dans le clivage de la L-sélectine. Nous avons notamment vérifié l'implication de MMP-9 et HLE (*'human leukocyte elastase'*), deux protéases associées avec le développement de lymphomes et reconnues pour cliver les molécules d'adhésion intercellulaires (Champagne *et al.*, 1998 ; De Noncourt *et al.*, 2001). Nos résultats ont cependant démontré que MMP-9 et HLE n'induisent pas le clivage de la L-sélectine. De plus, la mesure des niveaux de L-sélectine soluble dans des sérums de souris déficientes en MMP-9 (KOMMP-9) en comparaison avec des sérums de souris sauvages (WT) démontre que l'absence de MMP-9 n'affecte pas les niveaux de L-sélectine soluble constitutifs (voir **Annexe 1**). Nous avons également comparé le clivage de la L-sélectine à la surface de lignées de lymphomes sauvages et de lymphomes déficients en MMP-9 (voir **Annexe 2**). Les résultats obtenus portent à croire que MMP-9 ne participe pas au clivage de la L-sélectine. Finalement, l'incapacité de MMP-9 à cliver la L-sélectine a été confirmée en stimulant les lymphomes à sécréter MMP-9 en utilisant la galectine-7 recombinante et des lymphomes surexprimant la galectine-7. Notre équipe de recherche a en effet démontré que la galectine-7 induit MMP-9 dans les lymphomes (Demers *et al.*, 2005). La stimulation de lymphomes avec différentes concentrations de Gal-7 (**Annexe 5**) ainsi que l'analyse du clivage de la L-sélectine à la surface de lymphomes surexprimant Gal-7 (**Annexe 6**) ont permis d'établir que la MMP-9 ne participe pas au clivage de la L-sélectine. Dans un deuxième temps, nous avons déterminé l'implication de HLE dans le clivage de la L-sélectine. Plusieurs expériences *in vitro* ont témoigné de l'incapacité de HLE à induire le clivage de la L-sélectine sur des lignées de lymphomes (voir **Annexe 3** et **Annexe 4**). L'enzyme HLE, comme MMP-9, ne semble donc pas être impliquée, du moins directement, au clivage de la L-sélectine.

### C- Originalité des travaux et perspectives

À notre connaissance, notre étude est la première à établir clairement que les molécules de L-sélectine soluble dans le sérum de souris atteintes d'un lymphome proviennent principalement de la surface des cellules du lymphome. Cette conclusion est basée sur deux séries d'expériences : 1) une première comparant les niveaux de L-sélectine soluble entre le sérum de souris normales et déficientes en L-sélectine injectées avec des lymphomes exprimant la L-sélectine et 2) une deuxième série comparant les niveaux de L-sélectine soluble entre le sérum de souris normales injectées avec des lymphomes exprimant la L-sélectine et des lymphomes déficients en L-sélectine.

Le clivage de la L-sélectine lors du développement de lymphomes T murins étant mieux caractérisé, il serait intéressant de poursuivre l'étude afin de vérifier la pertinence du clivage de la L-sélectine de la surface des cellules tumorales. Il serait particulièrement intéressant de déterminer comment se comportent des lymphomes exprimant des molécules de L-sélectines résistantes au clivage et comment se comportent des lymphomes surexprimant TACE, et ayant donc une augmentation du clivage de la L-sélectine.

Afin de produire des lignées de lymphomes ayant une forme de L-sélectine résistante au clivage, il est envisageable de transférer des lymphomes déficients en L-sélectine avec des vecteurs contenant le gène de la L-sélectine F323P,  $\Delta$ K-N ou WT (voir Figure 1). Une fois sélectionnés et vérifiés, les clones choisis pourraient être injectés dans des souris pour étudier le développement de lymphomes ayant des formes de L-sélectine résistantes au clivage. Il serait également possible d'irradier des souris possédant déjà une forme de L-sélectine résistante au clivage (L $\Delta$ P) pour produire des lignées de lymphome résistant au clivage de la L-sélectine (Galkina *et al.*, 2003).

		Clivage induit par PMA (%)	Présence de clivage constitutif
WT	<b>C Q E T N R S F S K I K E G D Y N P L</b>	84 ± 9	oui
F323P	- - - - - P - - - - -	-2 ± 9	oui
$\Delta$ K-N	- - - - - * * * * * - -	22 ± 35	non

**Figure 1 : Séquences d'acides aminés à proximité du site de clivage de la L-sélectine et séquences de deux constructions ayant des mutations ainsi que leur réponse au clivage induit ou constitutif. Les lettres en gras indiquent les acides aminés faisant partie de la région proximale à la membrane. Les astérisques (\*) indiquent une délétion des acides aminés de la séquence de la L-sélectine sauvage. Image modifiée de [Zhao \*et al.\*, 2001d](#).**

Une autre approche possible pour étudier l'importance du clivage de la L-sélectine consisterait à produire des lymphomes où le niveau de clivage de la L-sélectine est accentué. Pour arriver à cette fin, il serait possible d'envisager de générer des transfectants stables de lymphomes avec une construction codant pour TACE et un mutant de TACE sans activité enzymatique. Garton *et al.*, 2003 ont produit les constructions pour faire les transfections (pBM-IRES-PURO). Pour vérifier l'incorporation de TACE des analyses de RT-PCR<sup>7</sup>, d'immunobuvardage de type Western et de cytométrie peuvent être effectuées (Budagian *et al.*, 2004 ; Singh *et al.*, 2005). Une fois sélectionnés et vérifiés, les clones choisis seraient alors injectés dans des souris afin de comparer le développement de lymphomes en corrélation avec les niveaux de L-sélectine soluble, et ce chez des souris normales et déficientes en L-sélectine.

Il serait également intéressant d'expliquer le faible niveau de clivage de la L-sélectine à la surface des lymphomes S11 suite à une stimulation au PMA dans les études *in vitro*. Une des possibilités est que la L-sélectine exprimée à la surface de S11 ait une divergence de séquence d'acides aminés qui empêche le clivage de la L-sélectine via une activation par PMA, car il est démontré qu'une certaine construction de L-sélectine mutante ne subit pas de clivage suite à une stimulation au PMA (Stoddart *et al.*, 1996).

---

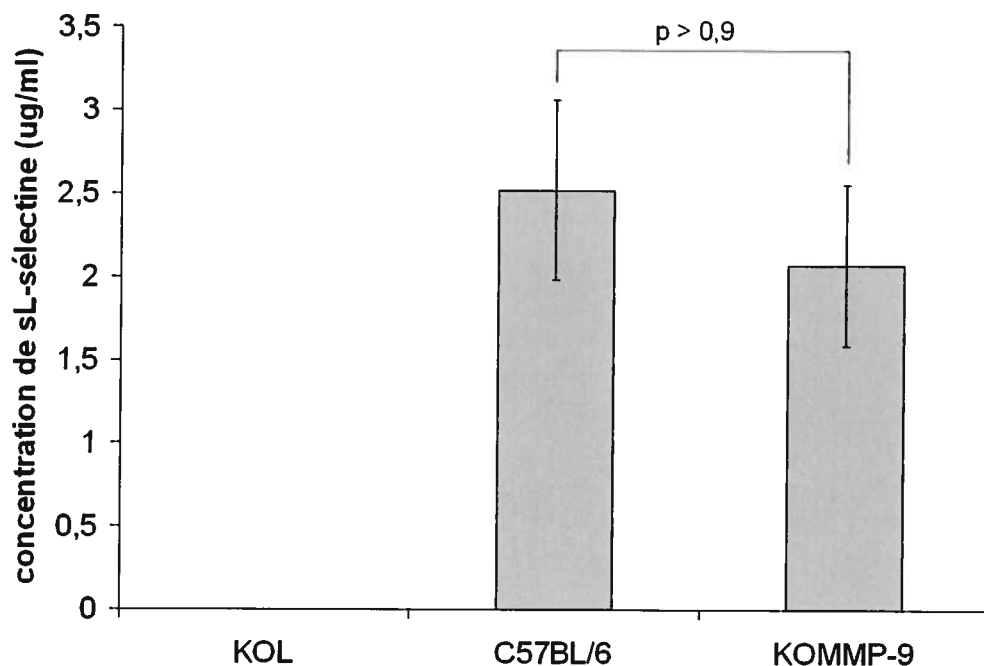
<sup>7</sup> Les amorces utilisées pour les RT-PCR sont :  
sens : 5'-GCGGCGTCTCCTCATCCT-3'    antisens : 5' -TTATATTCTGCCCCATCTGTGTTG-3'

## **D- Conclusion**

Nous avons établi pour la première fois l'origine lymphomateuse des molécules de L-sélectine soluble en concentration anormalement élevée dans le sérum de souris atteintes d'un lymphome T. Les prochains travaux devront permettre de déterminer l'importance du clivage de la L-sélectine dans le développement de lymphomes T murins, car la L-sélectine joue un rôle dans la dissémination des lymphomes (Bélanger et St-Pierre, 2005) et le clivage de la L-sélectine régule le recrutement leucocytaire dans un système sain (Tu *et al.*, 2002). Ces recherches pourraient permettre d'envisager de possibles traitements thérapeutiques en lien avec une inhibition du clivage de la L-sélectine, car une concentration élevée de sL-sélectine sérique semble corrélée avec un pronostic négatif chez les patients atteints d'un lymphome (Haznedaroglu *et al.*, 2000). Dans cette perspective, il serait également intéressant de connaître depuis quelle étape du processus métastatique est davantage clivée la L-sélectine à la surface des lymphomes. En effet, une hypothèse envisageable est que le clivage de la L-sélectine à la surface des lymphomes favorise le développement métastatique. Il pourrait effectivement y avoir une augmentation du clivage de la L-sélectine à la surface des lymphomes ayant atteint leur foyer secondaire (post-homing). Cela aurait comme conséquence d'augmenter le niveau de L-sélectine soluble et donc de diminuer les interactions leucocytes/endothélium activé. Les cellules du système immunitaire telles que les cellules NK ne pourraient donc pas répondre adéquatement au développement cancéreux (Gallatin *et al.*, 1983 ; Finger *et al.*, 1996a ; Ohyama *et al.*, 2002).

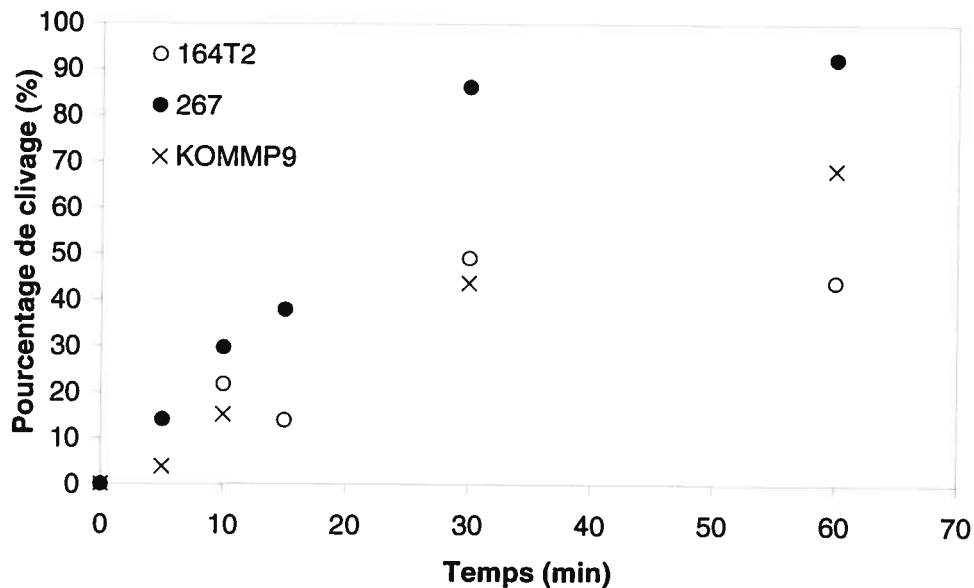
## **PARTIE 4**

## Annexe 1



**Annexe 1. Les niveaux de L-sélectine soluble dans le sérum de souris C57BL/6 (WT) et KOMMP-9 sont similaires.** Des prises de sang ont été effectuées sur 5 souris KOL, 5 souris C57BL/6 et 5 souris MMP-9 déficientes (KOMMP-9). Les sérums ont alors été analysés par ELISA pour mesurer les niveaux de L-sélectine soluble. Les sérums de souris KOL servent ici de témoin négatif. Chaque sérum fut testé en duplicata. Les résultats obtenus indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre les niveaux de L-sélectine soluble chez les souris C57BL/6 et KOMMP-9. L'absence de MMP-9 n'influence pas les niveaux sériques de L-sélectine soluble chez des souris normales.

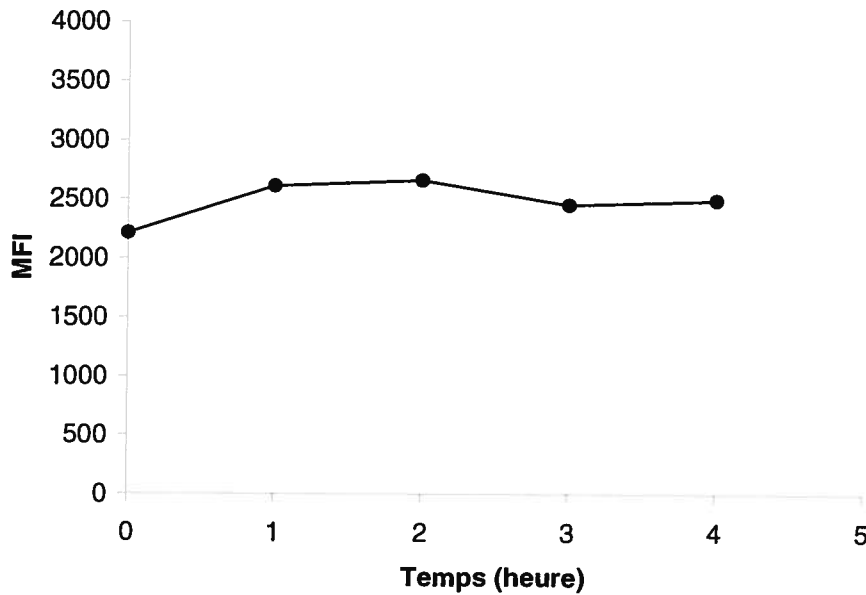
## Annexe 2



**Annexe 2 : Les pourcentages de clivage de la L-sélectine à la surface de cellules de lymphome de type 164T2, 267 et KOMMP9 sont similaires suite à une stimulation au PMA (20nm/ml).** Des suspensions cellulaires de 164T2, 267 et d'une lignée de lymphome MMP-9 déficiente (KOMMP9) ont été stimulées au PMA (20 nm/ml) pendant 5, 10, 15, 30 ou 60 minutes. L'expression de la L-sélectine à la surface des cellules a ensuite été analysée en cytométrie en flux. La L-sélectine à la surface des cellules déficientes en MMP-9 subit un pourcentage de clivage similaire aux cellules 267 ainsi qu'aux cellules 164T2. L'absence de MMP-9 n'influence pas les niveaux sériques de la L-sélectine soluble chez des souris normales.



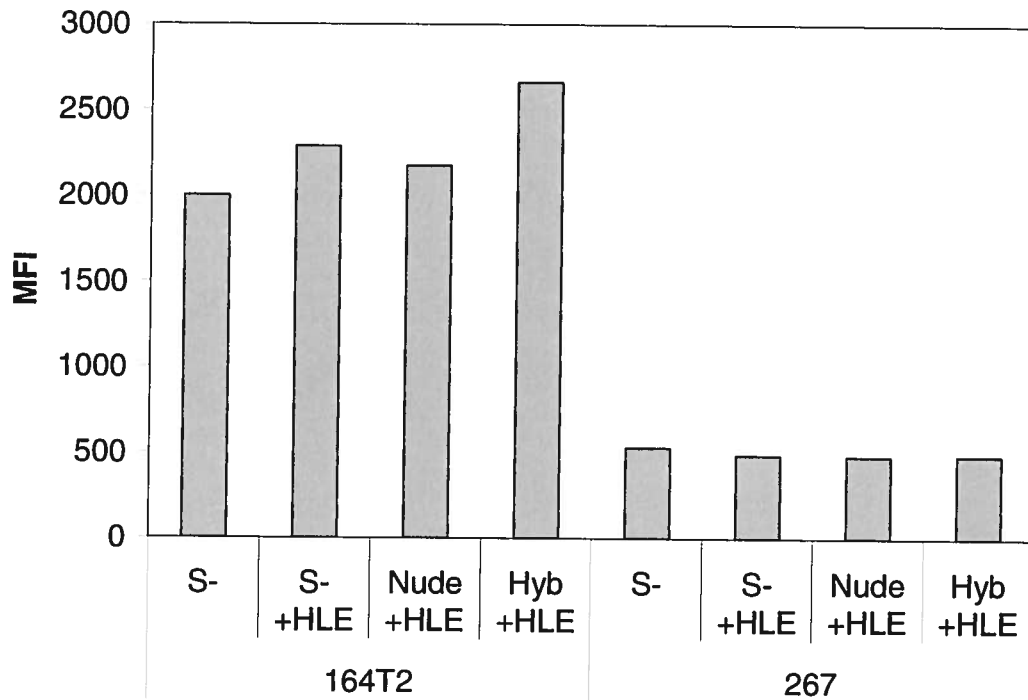
### Annexe 3



**Annexe 3 : L'expression de la L-sélectine à la surface de cellules 164T2 à différents temps suite à une stimulation avec 10 µg/ml de HLE ne varie pas.** Des suspensions cellulaires de 164T2 ont été incubées en présence de 10 µg/ml d'élastase de leucocytes humaine purifiée (HLE) pendant une, deux, trois ou quatre heures. L'expression de la L-sélectine à la surface des cellules a ensuite été analysée en cytométrie en flux. L'expression de la L-sélectine à la surface des cellules ne diminue pas en présence de HLE.

Cette absence de clivage de la L-sélectine a été confirmée par une étude ÉLISA mesurant les niveaux de L-sélectine soluble dans les surnageants de stimulations (Résultats non-publiés). HLE ne semble donc pas participer au clivage de la L-sélectine.

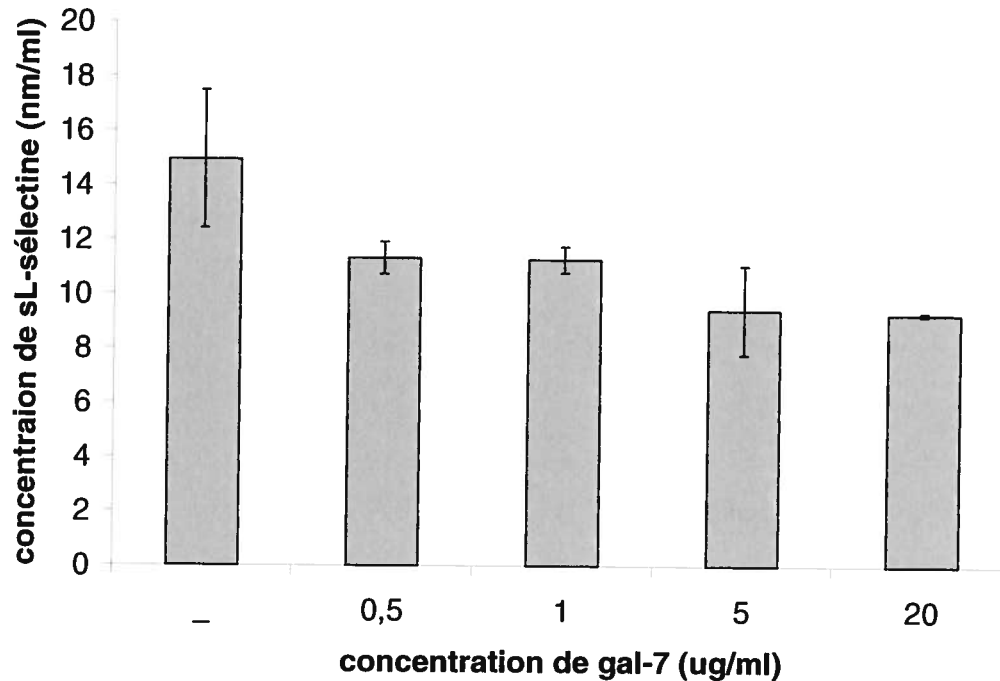
#### Annexe 4



**Annexe 4 : L'expression de la L-sélectine à la surface de cellules 164T2 et de cellules 267 suite à une stimulation avec 10 µg/ml de HLE pendant 4 heures et cela dans différents milieux de culture ne varie pas.** Pour vérifier si un inhibiteur présent dans le milieu de culture normalement utilisé était responsable de l'inhibition de HLE, des suspensions cellulaires de 164T2 et de 267 ont été préparées avec différents milieux de culture et stimulées avec 10 µg/ml de HLE pendant quatre heures. L'expression de la L-sélectine à la surface des cellules a ensuite été analysée en cytométrie en flux. Aucune des conditions testées ne permettait à HLE de cliver la L-sélectine. Cette absence de clivage de la L-sélectine a été confirmée par une étude ÉLISA mesurant les niveaux de L-sélectine soluble dans les surnageants de stimulations. HLE ne semble donc pas participer au clivage de la L-sélectine.

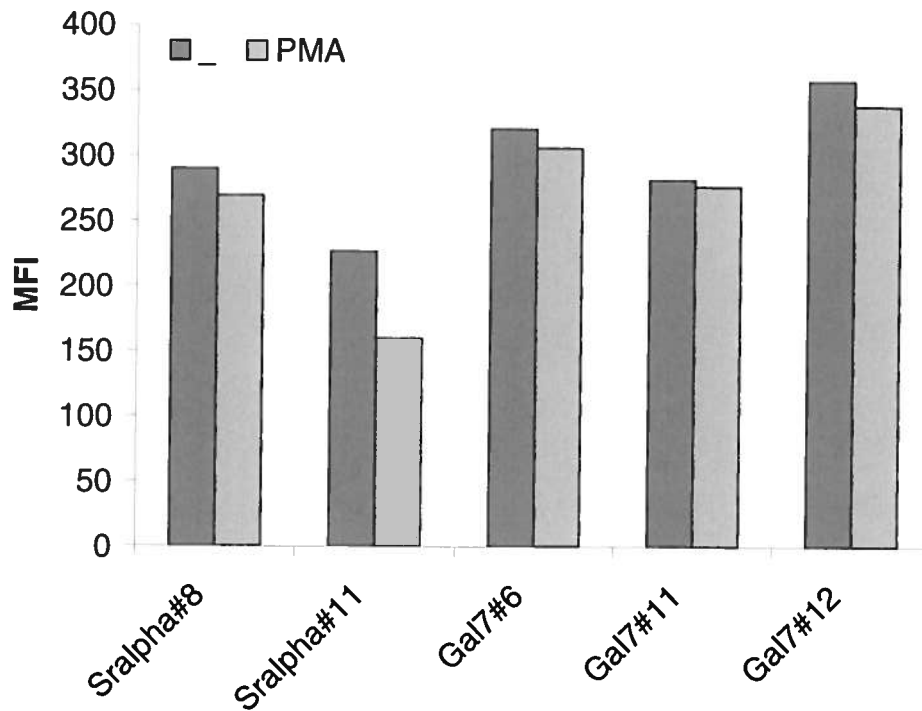
S-, milieu de culture sans sérum ; Nude, milieu de culture avec 1% de 'Nu serum' (sérum de remplacement synthétique à faible teneur en protéine et sans inhibiteur de protéase sérique) ; Hyb, milieu de culture hybridoma.

## Annexe 5



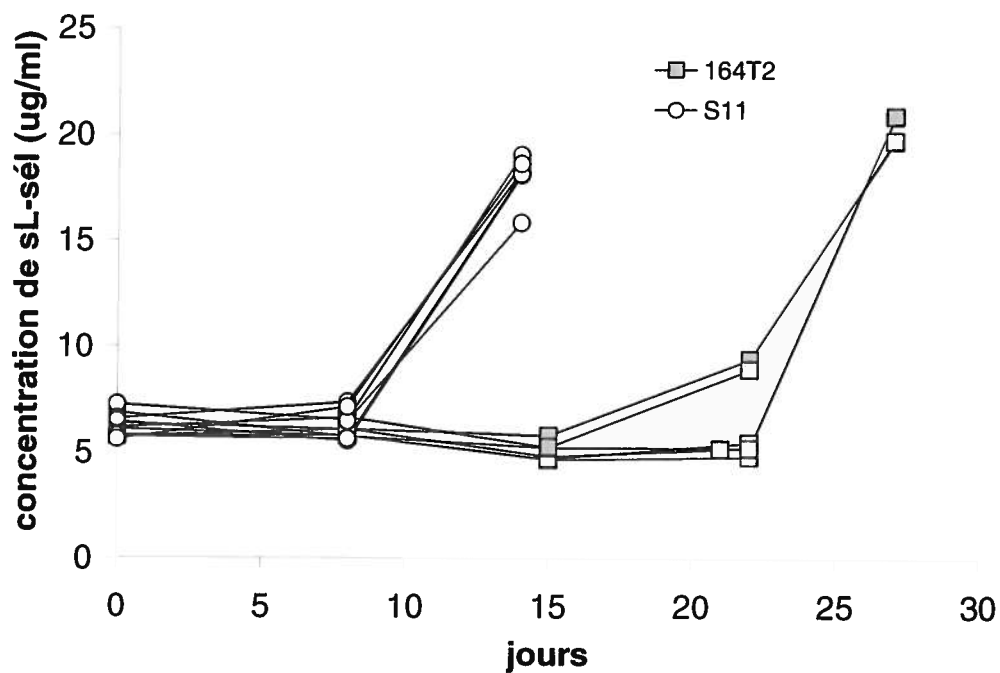
**Annexe 5 : Aucune variation de concentration en L-sélectine soluble suite à la stimulation de cellules 164T2 avec différentes concentrations de Gal-7 recombinante.** Des suspensions cellulaires de 164T2 ont été stimulées avec 0,5, 1, 5 et 20  $\mu\text{g/ml}$  de Gal-7 recombinante pendant 30 minutes pour ensuite quantifier via ELISA le niveau de L-sélectine soluble dans les surnageants d'expérimentation. Les niveaux de L-sélectines solubles n'augmentent pas. L'étude en cytométrie en flux analysant l'expression de la L-sélectine à la surface de ces mêmes cellules confirme l'absence de clivage. Les résultats sont représentatifs de deux expériences indépendantes. La Gal-7 ne semble donc pas participer au clivage de la L-sélectine.

## Annexe 6



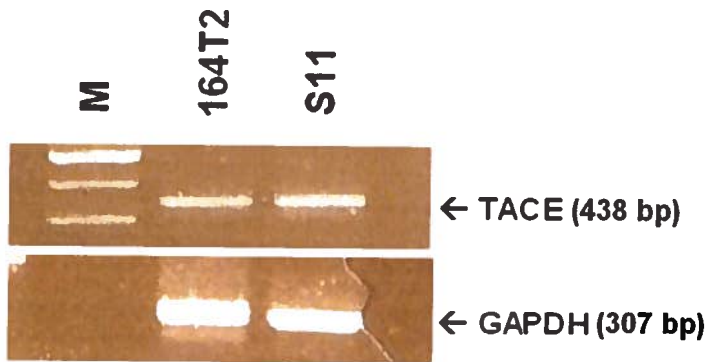
**Annexe 6 : La surexpression de Gal-7 par des cellules 267 transfectées n'augmente pas le clivage de la L-sélectine suite à une stimulation au PMA (20 nm/ml) pendant 30 minutes.** Des suspensions cellulaires de cellules 267 surexprimant la Gal-7 et de cellules 267 transfectées avec sr-alpha (contrôle) ont été stimulées avec 20 nm/ml de PMA pendant 30 minutes. Ces suspensions (■ PMA) ainsi que des suspensions contrôles non stimulées (■ -) ont ensuite été analysées en cytométrie en flux pour déterminer le niveau de clivage de la L-sélectine à la surface des cellules. Le niveau de clivage de la L-sélectine à la surface des cellules suite à une stimulation au PMA est comparable entre les cellules surexprimant la Gal-7 et les cellules contrôles. La Gal-7 ne semble donc pas participer au clivage de la L-sélectine.

## Annexe 7



**Annexe 7: Les injections intraveineuses de cellules 164T2 et de cellules S11 produisent des niveaux de L-sélectine soluble similaires dans le sérum de souris.** Ces résultats ont été obtenus en injectant par voie intraveineuse une suspension cellulaire de 164T2 (■) à 6 souris C57BL/6 et une suspension cellulaire de S11 à 5 souris C57BL/6 (○). Par la suite, des prélèvements étaient effectués à différents temps pour analyser via ELISA le niveau de L-sélectine soluble dans le sérum des souris. Cela permet de déterminer la cinétique de production de la L-sélectine soluble dans le sérum des souris atteintes d'un lymphome. Les tumeurs induites par injection intraveineuse de cellules 164T2 et de cellules S11 entraînent des niveaux de L-sélectine soluble similaires.

## Annexe 8



**Annexe 8: L'expression de TACE chez les cellules 164T2 et S11 est similaire.** Ces résultats ont été obtenus en effectuant une extraction d'ARN depuis un culot cellulaire de 164T2 et de S11. Une analyse par RT-PCR, avec un contrôle de GAPDH, a ensuite été réalisée pour déterminer le niveau d'ARNm de TACE dans les cellules. Les niveaux d'expression de TACE dans ces deux lignées de lymphomes semblent similaires.

## BIBLIOGRAPHIE

- Abraham, W.M., Ahmed, ., Sabater, J.R., Lauredo, I.T., Botvinnikova, Y., Bjercke, R.J., Hu, X., Mitch Reville, B., Kogan, T.P., Scott, I.L., Dixon, R.A.F., Yeh, E.T.H. et Beck, P.J. 1999. Selectin blockade prevents antigen-induced late bronchial responses and airway hyperresponsiveness in allergic sheep. *Am J Respir Crit Care Med* **159**(4): 1205-1214.
- Aigner, S., Ruppert, M., Hubbe, M., Sammar, M., Sthoeger, Z., Butcher, E.C., Vestweber, D. et Altevogt, P. 1995. Heat-stable (mouse CD24) supports myeloid cell binding to endothelial and platelet P-selectin. *Int Immunol* **7**(10): 1557-1565.
- Aigner, S., Sthoeger, Z.M., Fogel, M., Weber, E., Zam, J., Ruppert, M., Zeller, Y., Vestweber, D., Stahel, R., Sammar, M. et Altevogt, P. 1997. CD24, a mucin-type glycoprotein, is a ligand for P-selectin on human tumor cells. *Blood* **89**(9): 3385-3395.
- Albeda, S.M. 1993. Role of integrins and other cell adhesion molecules in tumor progression and metastasis. *Lab Invest* **68**(1): 4-17
- Allport, J.R., Ding, H.T., Ager, A., Steeber, D.A., Tedder, T.F. et Luscinskas, F.W. 1997. L-selectin shedding does not regulate human neutrophil attachment, rolling, or transmigration across human vascular endothelium in vitro. *J Immunol* **158**(9): 4365-4372.
- Alon, R., Kassner, P.D., Carr, M.W., Finger, E.B., Hemler, M.E. et Springer, T.A. 1995. The integrin VLA-4 supports tethering and rolling in flow on VCAM-1. *J Cell Biol* **128**(6): 1243-1253.
- Alon, R., Fuhlbrigge, R.C., Finger, E.B. et Springer, T.A. 1996. Interactions through L-selectin between leukocytes and adherent leukocytes nucleate rolling adhesions on selectins and VCAM-1 in shear flow. *J Cell Biol* **135**(3): 849-865.
- Alon, R. et Feigelson, S. 2002. From rolling to arrest on blood vessels: leukocyte tap dancing on endothelial integrin ligands and chemokines at sub-second contacts. *Semin Immunol* **14**(2): 93-104.
- Anderson, D.C. et Springer, T.A. 1987. Leukocyte adhesion deficiency: an inherited defect in the Mac-1, LFA-1, and p150,95 glycoproteins. *Annu Rev Med* **38**: 175-194.
- Ando, T., Langley, R.R., Wang, Y., Jordan, P.A., Minagar, A., Alexander, J.S. et Jennings, M.H. 2007. Inflammatory cytokines induce MAdCAM-1 in murine hepatic endothelial cells and mediate alpha-4 beta-7 integrin dependent lymphocyte endothelial adhesion In vitro. *BMC Physiology* **7**: 10-19.
- Andrews, P., Ford, W. et Stoddart, R. 1980. Metabolic studies of high-walled endothelium of postcapillary venules in rat lymph nodes. *CIBA symp* **71**: 211-230.
- Andrews, P., Milson, D. et Ford, W. 1982. Migration of lymphocytes across specialized vascular endothelium. V. Production of a sulphated macromolecule by high endothelial cells in lymph nodes. *J Cell Sci* **57**: 277- 292.
- Aoudjit, F., Potworowski, E.F., Springer, T.A. et St-Pierre, Y. 1998. Protection from lymphoma cell metastasis in ICAM-1 mutant mice: a posthoming event. *J Immunol* **161**: 2333-2338.
- Aoudjit, F., Potworowski, E.F. et St-Pierre, Y. 1998b. The metastatic characteristics of murine lymphoma cell lines in vivo are manifested after target organ invasion. *Blood* **91**(2): 623-629.

- Arbonés, M.L., Ord, D.C., Ley, K., Ratch, H., Maynard-Curry, C., Otten, G., Capon, D.J. et Tedder, T.F. 1994. Lymphocyte homing and leukocyte rolling and migration are impaired in L-selectin-deficient mice. *Immunity* **1**(4): 247-260.
- Archelos, J.J., Fortwangler, T. et Hartung, H.P. 1997. Attenuation of experimental autoimmune neuritis in the Lewis rat by treatment with an antibody to L-selectin. *Neurosci Lett* **235**(1-2): 9-12.
- Archelos, J.J., Jung, S., Rinner, W., Lassmann, H., Mivasaka, M. et Hartung, H.P. 1998. Role of the leukocyte-adhesion molecule L-selectin in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurol Sci* **159**(2): 127-134.
- Ariel, A., Yavin, E.J., Hershkoviz, R., Avron, A., Franitza, S., Hardan, I., Cahalon, L., Fridkin, M. et Lider, O. 1998. IL-2 induces T cell adherence to extracellular matrix: inhibition of adherence and migration by IL-2 peptides generated by leukocyte elastase. *J Immunol* **161**(5): 2465-2472.
- Armitage, J.O. 2005. Staging non-Hodgkin lymphoma. *CA Cancer J Clin* **55**: 368-376.
- Aruffo, A., Kolanus, W., Walz, G., Fredman, P. et Seed, B. 1991. CD62/P-selectin recognition of myeloid and tumor cell sulfatides. *Cell* **67**(1): 35-44.
- Asa, D., Raycroft, L., Ma, L., Aeed, P.A., Kaytes, P.S., Elhammer, A.P., et al. 1995. The P-selectin glycoprotein ligand functions as a common human leukocyte ligand for P- and E-selectins. *J Biol Chem* **270**: 11662-11670.
- Baggiolini, M., Dewald, B. et Moser, B. 1997. Human chemokines: an up-date. *Annu Rev Immunol* **15**: 675-705.
- Baggiolini, M. 1998. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* **392**: 565-568.
- Ballestas, M.E., et Benveniste, E.N. 1995. Interleukin 1-beta- and tumor necrosis factor-alpha-mediated regulation of ICAM-1 gene expression in astrocytes requires protein kinase C activity. *Glia* **14**: 267-278.
- Bargatze, R.F., Wu, N.W., Weissman, I.L. et Butcher, E.C. 1987. High endothelial venule binding as a predictor of the dissemination of passaged murine lymphomas. *J Exp Med* **166**(4): 1125-1131.
- Bargatze, R.F. et Butcher, E. 1993. Rapid G protein-regulated activation event involved in lymphocyte binding to high endothelial venules. *J Exp Med* **178**: 367-372.
- Bargatze, R.F., Kurk, S., Butcher, E.C. et Jutila, M.A. 1994. Neutrophils roll on adherent neutrophils bound to cytokine-induced endothelial cells via L-selectin on rolling cells. *J Exp Med* **180**(5): 1785-1792.
- Bargatze, R.E., Jutila, M.A. et Butcher, E.C. 1995. Distinct roles of L-selectin and integrins alpha 4 beta 7 and LFA-1 in lymphocyte homing to Peyer's patch-HEV in situ: the multistep model confirmed and refined. *Immunity* **3**(1): 99-108.
- Bassi, V., Vitale, M., Feliciello, A., DeRiu, S., Rossi, G. et Fenzi, G. 1995. Retinoic acid induces intercellular adhesion molecule-1 hyperexpression in human thyroid carcinoma cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* **80**: 1129-1135.



- Baumhueter, S., Singer, M.S., Henzel, W., Hemmerich, S., Renz, M., Rosen, S.D. et Lasky, L.A. 1993. Binding of L-selectin to the vascular sialomucin CD34. *Science* **262**(5132): 436-438.
- Baumhueter, S., Dybdal, N., Kyle, C. et Lasky, L.A. 1994. Global vascular expression of murine CD34, a sialomucin-like endothelial ligand for L-selectin. *Blood* **84**(8): 2554-2565.
- Baylac-Kalabokias, H., Astier-Gin, T., Borremans, B., Legrand, E., Hooghe, R., Houben-Defresnes, M.P., Janowski, M., Duplan, J.F. et Guillemain, B. 1989. Evidence of recombinant ecotropic provirus integration in thymic lymphomas induced by direct or indirect radiation effects. *Leuk Res* **3**(2): 131-143.
- Bazzoni, G. 2003. The JAM family of junctional adhesion molecules. *Curr Opin Cell Biol* **15**: 525-530.
- Bélanger, S.D. et St-Pierre, Y. 2003. Towards a better understanding of the role cell adhesion molecules play in the dissemination of T lymphoma using genetically-engineered mouse models. *Res Adv in Blood* **2**: 51-61.
- Bélanger, S.D. et St-Pierre, Y. 2005. Role of selectins in the triggering, growth, and dissemination of T-lymphoma cells : implication of L-selectin in growth of thymic lymphoma. *Blood* **105**(12): 4800-4806.
- Bengtsson, T., Grenegard, M., Olsson, A., Sjogren, F., Stendahl, O. et Zalavary, S. 1996. Sulfatide-induced L-selectin activation generates intracellular oxygen radicals in human neutrophils: modulation by extracellular adenosine. *Biochim. Biophys. Acta* **1313**: 119-129.
- Bennett, T.A., Lynam, E.B., Sklar, L.A. et Rogelj, S. 1996. Hydroxamate-based metalloprotease inhibitor blocks shedding of L-selectin adhesion molecule from leukocytes: functional consequences for neutrophil aggregation. *J Immunol* **156**(9): 3093-3097.
- Bennett, T.A., Edwards, B.S., Sklar, L.A. et Rogelj, S. 2000. Sulfhydryl regulation of L-selectin shedding: phenylarsine oxide promotes activation-independent L-selectin shedding from leukocytes. *The Journal of Immunology* **164**: 4120-4129.
- Bereta, J., Bereta, M., Cohen, S. et Cohen, M.C. 1993. Regulation of VCAM-1 expression and involvement in cell adhesion to murine microvascular endothelium. *Cellular Immunology* **147**: 313-330.
- Berg, E.L., Robinson, M.K., Warnock, R.A. et Butcher, E.C. 1991. The human peripheral lymph nodevascular addressin is a ligand for LECAM-1, the peripheral lymph node homing receptor. *J Cell Biol* **114**:343-349.
- Berg, E.L., McEvoy, L.M., Berlin, C., Bargatze, R.F. et Butcher, E.C. 1993. L-selectin-mediated lymphocyte rolling on MAdCAM-1. *Nature* **366**: 695-698.
- Berlin, C., Berg, E.L., Briskin, M.J., Andrews, D.P., Kilshaw, P.J., Holzmann, B., Weissman, I.L., Hamann, A. et Butcher, E.C. 1993. alpha4beta7 integrin mediates lymphocyte binding to the mucosal vascular addressin MAdCAM-1. *Cell* **74**: 185-195.
- Berlin, C., Bargatze, R.F., Campbell, J.J., vonAndrian, U.H., Szabo, M.C., Hasslen, S.R., Nelson, R.D., Berg, E.L., Erlandsen, S.L. et Butcher, E.C. 1995. Alpha 4 integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiologic flow. *Cell* **80**(3): 413-422.
- Berman, C.L., Yeo, E.L., Wencel-Drake, J.D., Furie, B.C., Ginsberg, M.H. et Furie, B. 1986. A platelet alpha granule membrane protein that is associated with plasma membrane after activation. *J Clin Invest* **78**: 130-137.

- Berman, M.E., Xie, Y. et Muller, W.A. 1996. Roles of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1, CD31) in natural killer cell transendothelial migration and beta2 integrin activation. *J Immunol* **156**: 1515-1524.
- Bevilacqua, M.P. et Nelson, R.M. 1993. Selectins. *J Clin Invest* **91** : 379-387.
- Bhaskar, V., Law, D.A., Ibsen, E., Breinberg, D., Cass, K.M., DuBridg, R.B., Evangelista, F., Henshall, S.M., Hevezi, P., Miller, J.C., Pong, M., Powers, R., Senter, P., Stockett, D., Sutherland, R.L., VonFrieden-Jeffry, U., Willhite, D., Murray, R., Afar, D.E. et Ramakrishnan, V. 2003. E-selectin up-regulation allows for targeted drug delivery in prostate cancer. *Cancer Research* **63**(19): 6387-6394.
- Bianchi, E., Bender, J.R., Blasi, F. et Pardi, R. 1997. Through and beyond the wall : late steps in leukocyte transendothelial migration. *Immunol Today* **18**(12): 586-591.
- Bistrup, A., Bhakta, S., Lee, J.K., Belov, Y.Y., Gunn, M.D., Zuo, F.-R., Huang, C.-C., Kannagi, R., Rosen, S.D. et Hemmerich, S. 1999. Sulfotransferases of two specificities function in the reconstitution of high endothelial cell ligands for L-selectin. *The journal of cell biology* **145**(4): 899-910.
- Black, R.A., Durie, F.H., Otten-Evans, C., Miller, R., Slack, J.L., Lynch, D.H., Castner, B., Mohler, K.M., Gerhart, M., Johnson, R.S., Itoh, Y., Okada, Y. et Nagase, H. 1996. Relaxed specificity of matrix metalloproteinases (MMPS) and TIMP insensitivity of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) production suggest the major TNF-alpha converting enzyme is not an MMP. *Biochem Biophys Res Commun* **225**: 400-405.
- Black, R.A., Rauch, C.T., Kozlosky, C.J., Peschon, J.J., Slack, J.L., Wolfson, M.F., Castner, B.J., Stocking, K.L., Reddy, P., Srinivasan, S., Nelson, N., Boiani, N., Schooley, K.A., Gerhart, M., Davis, R., Fitzner, J.N., Johnson, R.S., Paxton, R.J., March, C.J. et Cerretti, D.P. 1997. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- $\alpha$  from cells. *Nature* **385**: 729-733.
- Black, R.A. 2002. Molecules in focus: Tumor necrosis factor- $\alpha$  converting enzyme. *The International Journal of Biochemistry et Cell Biology* **34**: 1-5.
- Bokel, C. et Brown, N.H. 2002. Integrins in development : moving on, responding to, and sticking to the extracellular matrix. *Dev Cell* **3**: 311-321.
- Bonfanti, R., Furie, B.C., Furie, B. et Wagner, D.D. 1989. PADGEM (GMP140) is a component of Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. *Blood* **73**: 1109-1112.
- Boniver, J., Declève, A., Lieberman, M., Honsik, C., Travis, M. et Kaplan, H.S. 1981. Marrow-thymus interactions during radiation leukogenesis in C57BL/ka mice. *Cancer Res* **41**(2): 390-392.
- Boniver, J., Declève, A., Honsik, C., Lieberman, M. et Kaplan, H.S. 1981b. Phenotypic characterization in mice of thymus target cells susceptible to productive infection by the radiation leukemia virus. *J Natl Cancer Inst* **67**(5): 975-979.
- Borsig, L., Wong, R., Feramisco, J., Nadeau, D.R., Varki, N.M. et Varki, A. 2001. Heparin and cancer revisited: mechanistic connections involving platelets, P-selectin, carcinoma mucins, and tumor metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**: 3352-3357.
- Borsig, L., Wong, R., Hynes, R.O., Varki, N.M. et Varki, A. 2002. Synergistic effects of L- and P-selectin in facilitating tumor metastasis can involve non-mucin ligands and implicate leukocytes as enhancers of metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**: 2193-2198.

- Borsig, L. 2004. Selectins facilitate carcinoma metastasis and heparin can prevent them. *News Physiol Sci* **19**: 16-21.
- Borsig, L., Wang, L., Cavalcante, M.C.M., Cardilo-Reis, L., Ferreira, P.L., Mourao, P.A.S., Esko, J.D. et Pavao, M.S.G. 2007. Selectin blocking activity of a fucosylated chondroitin sulfate glycosaminoglycan from sea cucumber. *J Biol Chem* **282**(20): 14984-14991.
- Bouvard, D., Brakebusch, C., Gustafsson, E., Aszodi, A., Bengtsson, T., Berna, A. et Fassler, R. 2001. Functional consequences of integrin gene mutations in mice. *Circ Res* **89**: 211-223.
- Brandley, B.K., Swiedler, S.J. et Robbins, P.W. 1990. Carbohydrate ligands of the LEC cell adhesion molecules. *Cell* **63**: 861-863.
- Brenner, B., Gulbins, E., Schlottmann, K., Koppenhofer, U., Busch, G.L., Walzog, B., Steinhausen, M., Coggeshall, K.M., Linderkamp, O. et Lang, F. 1996. L-selectin activates the Ras pathway via the tyrosine kinase p56lck. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**: 15376-15381.
- Brenner, B., Gulbins, E., Busch, G.L., Koppenhofer, U., Lang, F. et Linderkamp, O. 1997. L-selectin regulates actin polymerisation via activation of the small G-protein Rac2. *Biochem Biophys Res Commun* **232**: 802-807.
- Brenner, B., Grassmé, H., Müller, C., Lang, F., Speer, C.P. et Gulbins, E. 1998. L-selectin stimulates the neutral sphingomyelinase and induces release of ceramide. *Exp Cell Res* **243**: 123-128.
- Brenner, B., Kadel, S., Grigorovich, S. et Linderkamp, O. 2002. Mechanisms of L-selectin-induced activation of the nuclear factor of activated T lymphocytes (NFAT). *Biochem Biophys Res Commun* **291**: 234-244.
- Bretscher, A., Edwards, K. et Fehon, R.G. 2002. ERM proteins and merlin : integrators at the cell cortex. *Nature reviews. Molecular cell biology* **3**(8): 586-599.
- Brustein, M., Kraal, G., Mebius, R.E. et Watson, S.R. 1992. Identification of a soluble form of a ligand for the lymphocyte homing receptor. *Journal of experimental medicine* **176**: 1415-1419.
- Budagian, V., Bulanova, E., Orinska, Z., Ludwig, A., Rose-John, S., Saftig, P., Borden, E.C. et Bulfone-Paus, S. 2004. Natural soluble interleukin-15R $\alpha$  is generated by cleavage that involves the tumor necrosis factor- $\alpha$ -converting enzyme (TACE/ADAM17). *The Journal of Biological Chemistry* **279**(39): 40368-40375.
- Burdick, M.M., Chu, J.T., Godar, S. et Sackstein, R. 2006. HCELL is the major E- and L-selectin ligand expressed on LS174T colon carcinoma cells. *J Biol Chem* **281**(20): 13899-13905.
- Butcher, E.C. 1991. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* **67**: 1033-1036.
- Butcher, E.C. et Picker, L.J. 1996. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* **272**: 60-66.
- Byrne, B.J. et Gockerman, J.P. 2007. Salvage therapy in Hodgkin's lymphoma. *The Oncologist* **12**: 156-167.
- Campbell, J.J., Hedrick, J., Zlotnik, A., Siani, M.A. et Thompson, D.A. 1998. Chemokines and the arrest of lymphocytes rolling under flow conditions. *Science* **279**: 381-384.

- Carlos, T., Kovach, N., Schwartz, B., Rosa, M., Newman, B., Wayner, E., Benjamin, C., Osborn, L., Lobb, R. et Harlan, J. 1991. Human monocytes bind to two cytokine-induced adhesive ligands on cultured human endothelial cells: endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule 1. *Blood* **77**: 2266-2271.
- Carraway, M.S., Welty-Wolf, K.E., Kantrow, S.P., Huang, Y.-C.T., Simonson, S.G., Que, L.G., Kishimoto, T.K. et Piantadosi, C.A. 1998. Antibody to E- and L-selectin does not prevent lung injury or mortality in septic baboons. *Am J Respir Crit Care Med* **157**(3): 938-949.
- Champagne, B., Tremblay, P., Cantin, A. et St-Pierre, Y. 1998. Proteolytic cleavage of ICAM-1 by human neutrophil elastase. *J Immunol* **161**(11): 6398-6405.
- Chandra, A., Enkhbaatar, P., Nakano, Y., Traber, L.D. et Traber, D.L. 2006. Sepsis: emerging role of nitric oxide and selectins. *Clinics* **61**(1): 71-76.
- Chao, C.C., Jensen, R. et Dailey, M.O. 1997. Mechanisms of L-selectin regulation by activated T cells. *J Immunol* **159**(4): 1686-1694.
- Chassagne-Clément, C., Blay, J.Y., Treilleux, I., Sebban, C., Bergeron, C., Biron, P. et Philip, T. 1999. *Bulletin du cancer* **86**(6) : 529-536.
- Chen, A., Engel, P. et Tedder, T.F. 1995. Structural requirements regulate endoproteolytic release of the L-selectin (CD62L) adhesion receptor from the cell surface of leukocytes. *J Exp Med* **182**(2): 519-530.
- Chen, S., Kawashima, H., Lowe, J.B., Lanier, L.L. et Fukuda, M. 2005. Suppression of tumor formation in lymph nodes by L-selectin-mediated natural killer cell recruitment. *JEM* **202**(12): 1679-1689.
- Chen, S.Q., Springer, T.A. 1999. An automatic braking system that stabilizes leukocyte rolling by an increase in selectin bond number with shear. *J cell biol* **144**: 185-200.
- Chen, J.L., Chen, W.X., Zhu, J.S., Chen, N.W., Zhou, T., Yao, M., Zhang, D.Q. et Wu, Y.L. 2003. Effect of P-selectin monoclonal antibody on metastasis of gastric cancer and immune function. *World J Gastroenterol* **9**(7): 1607-1610.
- Choi, J., Choi, K., Benveniste, E.N., Rho, S.B., Hong, Y.S., Lee, J.H., Kim, J. et Park, K. 2005. Bcl-2 promotes invasion and lung metastasis by inducing matrix metalloproteinase-2. *Cancer Res* **65**(13): 5554-5560.
- Christofidou-Solomidou, M., Nakada, N.T., Williams, J., Muller, W.A. et DeLisser, H.M. 1997. Neutrophil platelet endothelial cell adhesion molecule-1 participates in neutrophil recruitment at inflammatory sites and is down-regulated after leukocyte extravasation. *J immunol* **158**: 4872-4878.
- Clark, R.A., Fuhlbrigge, R.C. et Springer, T.A. 1998. L-selectin ligands that are O-glycoprotease resistant and distinct from MECA-79 antigen are sufficient for tethering and rolling of lymphocytes on human high endothelial venules. *J cell biol* **140**: 721-731.
- Constantin, G., Majeed, M., Giagulli, C., Piccio, L., Kim, J.Y., Butcher, E.C. et Laudanna, C. 2000. Chemokines trigger immediate beta2 integrin affinity and motility changes: differential regulation and roles in lymphocyte arrest under flow. *Immunity* **13**: 759-769.
- Contin, C., Pitard, V., Itai, T., Nagata, S., Moreau, J.-F. et Déchanet-Merville, J. 2003. Membrane-anchored CD40 is processed by tumor necrosis factor- $\alpha$ -converting enzyme. *The Journal of Biological Chemistry* **278**(35): 32801-32809.

- Cook-Mills, J.M., Gallagher, J.S. et Feldbush, T.L. 1996. Isolation and characterization of high endothelial cell lines derived from mouse lymph nodes. *In vitro cell Dev Biol* **32**: 167-177.
- Cook-Mills, J.M. 2002. VCAM-1 signals during lymphocyte migration: role of reactive oxygen species. *Molecular Immunology* **39**: 499-508.
- Cotran, R.S., Gimbrone, M.A. Jr, Bevilacqua, M.P., Mendrick, D.L., Pober, J.S. 1986. Induction and detection of a human endothelial activation antigen in vivo. *J Exp Med* **164**: 661-668.
- Crockett-Torabi, E., Sulenbarger, B., Smith, C.W. et Fantone, J.C. 1995. Activation of human neutrophils through L-selectin and Mac-1 molecules. *J Immunol* **154**: 2291-2302.
- Cyster, J.G., Hartley, S.B. et Goodnow, C.C. 1994. Competition for follicular niches excludes self-reactive cells from the recirculation B-cell repertoire. *Nature* **371**(6496): 389-395.
- Cyster, J.G. et Goodnow, C.C. 1995. Antigen-induced exclusion from follicles and anergy are separate and complementary processes that influence peripheral B cell fate. *Immunity* **3**(6): 691-701.
- DeFougerolles, A.R., Stacker, S.A., Schwarting, R. et Springer, T.A. 1991. Characterization of ICAM-2 and evidence for a third counter-receptor for LFA-1. *J Exp Med* **174**: 253-267.
- DeGrendele, H.C., Estess, P., Picker, L.J. et Siegelman, M.H. 1996. CD44 and its ligand hyaluronate mediate rolling under physiologic flow: a novel lymphocyte-endothelial cell primary adhesion pathway. *J Exp Med* **183**(3): 1119-1130.
- DeGrendele, H.C., Estess, P. et Siegelman, M.H. 1997b. REquirement for CD44 in activated T cell extravasation into an inflammatory site. *Science* **278**(5338): 672-675.
- Dejana, E., Spagnuolo, R. et Bazzoni, G. 2001. Interendothelial junctions and their role in the control of angiogenesis, vascular permeability and leukocyte transmigration. *Thromb Haemost* **86**: 308-315.
- Demers, M., Couillard, J., Bélanger, S. et St-Pierre, Y. 2005. New roles for matrix metalloproteinases in metastasis. *Critical Review in Immunology* **25**(6): 493-523.
- Demers, M. et St-Pierre, Y. 2005. Galectin-7: a novel gene associated with metastasis. *Med Sci (Paris)* **21**(10): 790-792.
- Demers, M., Magnaldo, T. et St-Pierre, Y. 2005. A novel function for galectin-7: promoting tumorigenesis by up-regulating MMP-9 gene expression. *Cancer Res* **65**(12): 5205-5210.
- Demers, M., Biron-Pain, K., Hébert, J., Lamarre, A., Magnaldo, T. et St-Pierre, Y. 2007. Galectin-7 in lymphoma: elevated expression in human lymphoid malignancies and decreased lymphoma dissemination by antisense strategies in experimental model. *Cancer Res* **67**(6): 2824-2829.
- Dennis, J.W. et Laferte, S. 1987. Tumor cell surface carbohydrate and the metastatic phenotype. *Cancer metastasis reviews* **5**: 185-204.
- DeNoncourt, P., Robledo, O., Alain, T., Kossakowska, A.E., Urbanski, S.J., Potworowski, E.F. et St-Pierre, Y. 2001. Leukocyte elastase in murine and human non-Hodgkin lymphomas. *J Leukoc Biol* **70**(4): 585-591.

- Diaz-Gonzalez, F., Gonzalez-Alvaro, I., Campanero, M.R., Mollinedo, F., del Pozo, M.A., Munoz, C., Pivel, J.P. et Sanchez-Madrid, F. 1995. Prevention of in vitro neutrophil-endothelial attachment through shedding of L-selectin by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Clin Invest* **95**: 1756-1765.
- Diaz-Rodriguez, E., Esparis-Ogando, A., Montero, J.C., Yuste, L. et Pandiella, A. 2000. Stimulation of cleavage of membrane proteins by calmodulin inhibitors. *Biochem J*. **346**: 359-367.
- Dimitroff, C.J., Descheny, L., Trujillo, N., Kim, R., Nguyen, V., Huang, W., Pienta, K.J., Kutok, J.L. et Rubin, M.A. 2005. Identification of leukocyte E-selectin ligands, P-selectin glycoprotein ligand-1 and E-selectin ligand-1, on human metastatic prostate tumor cells. *Cancer Research* **65**(13): 5750-5760.
- Doedens, J.R. et Black, R.A. 2000. Stimulation-induced down-regulation of tumor necrosis factor- $\alpha$  converting enzyme. *J Biol Chem* **275**: 14598-14607.
- Doedens, J.R., Mahimkar, R.M. et Black, R.A. 2003. TACE/ADAM-17 enzymatic activity is increased in response to cellular stimulation. *Biochem Biophys Res Commun* **308**: 331-338.
- Doring, G., Frank, F., Boudier, C., Herbert, S., Fleischer, B. et Bellon, G. 1995. Cleavage of lymphocyte surface antigens CD2, CD4, and CD8 by polymorphonuclear leukocyte elastase and cathepsin G in patients with cystic fibrosis. *The journal of immunology* **154**(9): 4842-4850.
- Doyonnas, R., Kershaw, D.B., Duhme, C., Merkens, H., Chelliah, S., Graf, T. et McNagny, K.M. 2001. Anuria, omphalocele, and perinatal lethality in mice lacking the CD34-related protein podocalyxin. *The journal of experimental medicine* **194**(1): 13-28.
- Drexler, H.G. 1992. Recent results on the biology of Hodgkin end Reed-Sternberg cells. I biopsy material. *Leuk lymphoma* **8**: 283-313.
- Drillenburger, P. et Pals, S.T. 2000. Cell adhesion receptors in lymphoma dissemination. *Blood* **95**(6): 1900-1910.
- Dustin, M.L. et Springer, T.A. 1989. T-cell receptor cross-linking transiently stimulates adhesiveness through LFA-1. *Nature* **341**: 619-624.
- Dustin, M. L., Bivona, T.G. et Philips, M.R. 2004. Membranes as messengers in T cell adhesion signaling. *Nat Immunol* **5**(4) : 363-372.
- Dutt, S., Ermann, J., Tseng, D., Liu, Y.P., George, T.I., Fathman, C.G. et Strober, S. 2005. L-selectin and beta7 integrin on donor CD4 T cells are required for the early migration to host mesenteric lymph nodes and acute colitis of graft-versus-host disease. *Blood* **106**(12): 4009-4015.
- Dwir, O., Kansas, G.S. et Alon, R. 2001. Cytoplasmic anchorage of L-selectin controls leukocyte capture and rolling by increasing the mechanical stability of the selectin tether. *The journal of cell biology* **155**(1): 145-156.
- Eichbaum, M.H., DeRossi, T.M., Kaul, S. et Bastert, G. 2004. Serum levels of soluble E-selectin are associated with the clinical course of metastatic disease in patients with liver metastases from breast cancer. *Oncol Res* **14**(11-12): 603-610.
- Ekstrand, B.C. et Horning, S.J. 2002. Hodgkin's disease. *Blood Rev* **16**: 111-117.

- Ekström-Smedby, K. 2006. Epidemiology and etiology of non-Hodgkin lymphoma – a review. *Acta Oncologica* **45**: 258-271.
- Engels, E.A. et Goedert, J.J. 2005. Human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome and cancer: past, present, and future. *J Natl Cancer Inst* **97**: 407-409.
- Erlandsen, S.L., Hasslen, S.R. et Nelson, R.D. 1993. Detection and spatial distribution of the beta 2 integrin (Mac-1) and L-selectin (LECAM-1) adherence receptors on human neutrophils by high-resolution field emission SEM. *J Histochem Cytochem* **41**: 327-333.
- Etzioni, A. et Alon, R. 2004. Leukocyte adhesion deficiency III : a group of integrin activation defects in hematopoietic lineage cells. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* **4**: 485-490.
- Evans, S.S., Collea, R.P., Appenheimer, M.M. et Gollnick, S.O. 1993. Interferon-alpha induces the expression of the L-selectin homing receptor in human B lymphoid cells. *J. Cell Biol.* **123**: 1889–1898.
- Extermann, M., Bacchi, M., Monai, N., Fopp, M., Fey, M., Tichelli, A., Schapira, M. et Spertini, O. 1998. Relationship between cleaved L-selectin levels and the outcome of acute myeloid leukemia. *Blood* **92**(9): 3115-3122.
- Fabbri, M., Bianchi, E., Fumagalli, L. et Pardi, R. 1999. Regulation of lymphocyte traffic by adhesion molecules. *Inflamm res* **48**: 239-246.
- Fabre-Lafay, S., Garrido-Urbani, S., Reymond, N., Gonçalves, A., Dubreuil, P. et Lopez, M. 2005. Nectin-4, a new serological breast cancer marker, is a substrate for TACE/ADAM-17. *J Biol Chem* **280**(20): 19543-19550.
- Feizi, T. et Galustian, C. 1999. Novel oligosaccharide ligands and ligand-processing pathways for the selectins. *Trends biochem sci* **24**: 369-372.
- Fieger, C.B., Emig-Vollmer, S., Petri, T., Gräfe, M., Gohlke, M., Debus, N., Semmler, W., Tauber, R. et Volz, B. 2000. The adhesive properties of recombinant soluble L-selectin are modulated by its glycosylation. *Biochimica et biophysica acta* **1524**: 75-85.
- Fieger, C.B., Sasseti, C.M. et Rosen, S.D. 2003. Endoglycan, a member of the CD34 family, functions as a L-selectin ligand through modification with tyrosine sulfation and sialyl Lewis x. *J biol chem* **278**: 27390-27398.
- Finger, E.B., Bruehl, R.E., Bainton, D.F. et Springer, T.A. 1996a. A differential role for cell shape in neutrophil tethering and rolling on endothelium selectins under flow. *J Immunol* **157**(11): 5085-5096.
- Finger, E.B., Puri, K.D., Alon, R., Lawrence, M.B., von Andrian, U.H. et Springer, T.A. 1996b. Adhesion through L-selectin requires athreshlod hydrodynamic shear. *Nature* **379**(6562): 266-269.
- Fiscus, L.C., Van Herpen, J., Steeber, D.A., Tedder, T.F et Tang, M.L. 2001. L-selectin is required for the development of airway hyperresponsiveness but not airway inflammation in a murine model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* **107**(6): 1019-1024.
- Flavell, K.J. et Murray, P.G. 2000. Hodgkin's disease and the Epstein-Barr virus. *J Clin Pathol: Mol Pathol* **53**: 262-269.
- Fors, B.P., Goodarzi, K. et von Andrian, U.H. 2001. L-selectin shedding is independent of its subsurface structures and topographic distribution. *J Immunol* **167**: 3642-3651.

- Frenette, P.S., Mayadas, T.N., Rayburn, H., Hynes, R.O. et Wagner, D.D. 1996. Susceptibility to infection and altered hematopoiesis in mice deficient in both P- and E-selectins. *Cell* **84**: 563-574.
- Frey, M., Appenheimer, M.M. et Evans, S.S. 1997. Tyrosine kinase-dependent regulation of L-selectin expression through the Leu-13 signal transduction molecule: evidence for a protein kinase C-independent mechanism of L-selectin shedding. *J Immunol* **158**: 5424-5434.
- Friedline, R.H., Wong, C.P., Steeber, D.A., Tedder, T.F. et Tisch, R. 2002. L-selectin is not required for T cell-mediated autoimmune diabetes. *J Immunol* **168**(6): 2659-2666.
- Fuhlbridge, R.C., King, S.L., Sackstein, R. et Kupper, T.S. 2006. CD43 is a ligand for E-selectin on CLA+ human T cells. *Blood* **107**: 1421-1426.
- Fukuda, M., Hiraoka, N. et Yeh, J.C. 1999. C-type lectins and sialyl lewis X oligosaccharides. Versatile roles in cell-cell interaction. *J cell biol* **147** (3): 467-470.
- Furth, J. et Furth, O.B. 1936. Neoplastic Disease Produced in mice by general irradiation with X-rays. *Am J Cancer* **28**: 54-65.
- Galkina, E., Tanousis, K., Preece, G., Tolaini, M., Kioussis, D., Florey, O., Haskard, D.O., Tedder, T.F. et Ager, A. 2003. L-selectin shedding does not regulate constitutive T cell trafficking but controls the migration pathways of antigen-activated T lymphocytes. *J Exp Med* **198**(9): 1323-1335.
- Gallatin, W.M., Weissmann, I.L. et Butcher, E.C. 1983. A cell-surface molecule involved in organ-specific homing of lymphocytes. *Nature* **304**: 30-34.
- Gallin, J.I. 1985. Leukocyte adherence-related glycoproteins LFA-1, Mo1, and p150,95: a new group of monoclonal antibodies, a new disease, and a possible opportunity to understand the molecular basis of leukocyte adherence. *J Infect Dis* **152**(4):661-664.
- Galustian, C., Childs, R.A., Stoll, M., Ishida, H., Kiso, M. et Feizi, T. 2002. Synergistic interactions of the two classes of ligand, sialyl-lewis/x fuco-oligosaccharides and short sulph-motifs, with the P- and L-selectins: implications for therapeutic inhibitor designs. *Immunology* **105**: 350-359.
- Garton, K.J., Gough, P.J., Philaley, J., Wille, P.T., Blobel, C.P., Whitehead, R.H., Dempsey, P.J. et Raines, E.W. 2003. Stimulated shedding of vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) is mediated by tumor necrosis factor- $\alpha$ -converting enzyme (ADAM 17). *The Journal of Biological Chemistry* **278**(39): 37459-37464.
- Garton, K.J., Gough, P.J. et Raines, E.W. 2006. Emerging roles for ectodomain shedding in the regulation of inflammatory responses. *Journal of Leukocyte Biology* **79**: 1105-1116.
- Gasic, G.L. 1984. Role of plasma, platelets, and endothelial cells in tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev* **3**:99-114.
- Geijtenbeek, T.B., Krooshoop, D.J., Bleijs, D.A., et al. 2000. DC-SIGN-ICAM-2 interaction mediates dendritic cell trafficking. *Nat Immunol* **1**: 353-357.
- Genbacev, O.D., Prakolbphol, A., Foulk, R.A., Krtolica, A.R., Ilic, D. et al. 2003. Trophoblast L-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. *Science* **299**: 405-408.



- Geng, J.G., Bevilacqua, M.P., Moore, K.L., McIntyre, T.M., Prescott, S.M., Kim, J.M., et al. 1990. Rapid neutrophil adhesion to activated endothelium mediated by GMP-140. *Nature* **343**: 757-760.
- Geng, J.G. 2003. Interaction of vascular endothelial cells with leukocytes, platelets and cancer cells in inflammation, thrombosis and cancer growth and metastasis. *Acta Pharmacol Sin* **24**(12): 1297-1300.
- Gesner, B.M. et Ginsburg, V. 1964. Effect of glycosidases on the fate of transfused lymphocytes. *Proc natl acad sci USA* **52**: 750-755.
- Giblin, P.A., Hwang, S.T., Katsumoto, T.R. et Rosen, S.D. 1997. Ligation of L-selectin on T lymphocytes activates beta1 integrins and promotes adhesion to fibronectine. *J Immunol* **159**: 3498-3507.
- Gomez-Gavira, M.V., Dominguez-Jiménez, C., Carretero, J.M., Sabando, P., Gonzalez-Alvaro, I., Sanchez-Madrid, F. et Diaz-Gonzalez, F. 2000. Down-regulation of L-selectin expression in neutrophils by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: role of intracellular ATP concentration. *Blood* **96**: 3592-3600.
- Gomez-Gavira, M.V., Gonzalez-Alvaro, I., Dominguez-Jiménez, C., Peschon, J., Black, R.A., Sanchez-Madrid, F. et Diaz-Gonzalez, F. 2002. Structure-function relationship and role of tumor necrosis factor- $\alpha$ -converting enzyme in the down-regulation of L-selectin by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *The Journal of Biological Chemistry* **277**(41): 38212-38221.
- Gowans, J.L. et Knight, E.J. 1964. The route of recirculation of lymphocytes in the rat. *Proc R Soc London Ser B* **159**: 257-282.
- Grabbe, S., Varga, G., Beissert, S., Steinert, M., Pendl, G., Seeliger, S., et al. 2002. Beta2 integrins are required for skin homing of primed T cells but not for priming naïve T cells. *Clin Invest* **109**: 183-192.
- Grabovsky, V., Feigelson, S., Chen, C., Bleljs, R., Peled, A., Cinamon, G., Baleux, F., Arenzana-Seisdedos, F., Lapidot, T., van Kooyk, Y., Lobb, R. et Alon, R. 2000. Sub-second induction of integrin clustering by immobilized chemokines enhances leukocyte capture and rolling under flow prior to firm adhesion to endothelium. *J Exp Med* **192**: 495-505.
- Grabovsky, V., Dwir, O. Alon, R. 2002. Endothelial chemokines destabilize L-selectin-mediated lymphocyte rolling without inducing selectin shedding. *J Biol Chem* **277**(23): 20640-20650.
- Green, C.E., Schaff, U.Y., Sarantos, M.R., Lum, A.F., Staunton, D.E. et Simon, S.I. 2006. Dynamic shifts in LFA-1 affinity regulate neutrophil rolling, arrest, and transmigration on inflamed endothelium. *Blood* **107**(5): 2101-2111.
- Grewal, I.S., Foellmer, H.G., Grewal, K.D., Wang, H., Lee, W.P. et al. 2001. CD62L is required on effector cells for local interactions in the CNS to cause myelin damage in experimental allergic encephalomyelitis. *Immunity* **14**: 291-302.
- Griffin, J.D., Spertini, O., Ernst, T.J., Belvin, M.P., Levine, H.B., Kanakura, Y. et Tedder, T.F. 1990. GM-CSF and other cytokines regulate surface expression of the leukocyte adhesion molecule-1 on human neutrophils, monocytes and their precursors. *J. Immunol.* **145**: 576-584.

- Gurtner, G.C., Davis, V., Li, H., McCoy, M.J., Sharpe, A. et Cybulsky, M.I. 1995. Targeted disruption of the murine VCAM1 gene: essential role of VCAM-1 in chorioallantoic fusion and placentation. *Genes develop* **9**: 1-14.
- Guyer, D.A., Moore, K.L., Lynam, E.B., Schammel, C.M.G., Rogelj, S., McEver, R.P. et Sklar, L.A. 1996. P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) is a ligand for L-selectin in neutrophil aggregation. *Blood* **88**(7): 2415-2421.
- Hafezi-Moghadam, A. et Ley, K. 1999. Relevance of L-selectin shedding for leukocyte rolling in vivo. *J Exp Med* **189**(6):939-947.
- Hafezi-Moghadam, A., Thomas, K.L., Prorock, A.J., Huo, Y. et Ley, K. 2001. L-selectin shedding regulates leukocytes recruitment. *J Exp Med* **193**(7): 863-872.
- Hakomori, S.-i. 1996. Tumor malignancy defined by aberrant glycosylation and sphingo(glyco)lipid metabolism. *Cancer research* **56**: 5309-5318.
- Haley, M., Parent, C., Cui, X., Kalil, A., Fitz, Y., Correa-Araujo, R., Natanson, C., Danner, R.L., Banks, S.M. et Eichacker, P.Q. 2005. Neutrophil inhibition with L-selectin-directed Mab improves or worsens survival dependent on the route but not severity of infection in a rat sepsis model. *J Appl Physiol* **99**: 2155-2162.
- Hara, T., Nakano, Y., Tanaka, M., Tamura, K., Sekiguchi, T., Minehata, K., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., Okabe, M. et Kogo, H. 1999. Identification of podocalyxin-like protein 1 as a novel cell surface marker for hemangioblasts in murine aorta-gonad-mesonephros region. *Immunity* **11**: 567-578.
- Haran-Ghera, N., Peled, A., Krautghamer, R. et Resnitzky, P. 1992. Initiation and promotion in radiation-induced myeloid leukemia. *Leukemia* **6**(7): 689-695.
- Haribabu, B., Steebers, D.A., Ali, H., Richardson, R.M., Snyderman, R. et Tedder, T.F. 1997. Chemoattractant receptor-induced phosphorylation of L-selectin. *The Journal of Biological Chemistry* **272**(21): 13961-13965.
- Harris, N.L., Jaffe, E.S., Stein, H., Banks, P.M., Chan, J.K.C., Cleary, M.L., Delsol, G., DeWolf-Peeters, C., Falani, B., Gatter, K.C., Grogan, T.M., Isaacson, P.G., Knowles, D.M., Mason, D.Y., Muller-Hermelink, H.-K., Pileri, S.A., Piris, M.A., Ralfkiaer, E. et Warnke, R.A. 1994. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* **84**(5): 1361-1392.
- Harris, N.L., Jaffe, E.S., Diebold, J., Flandrin, G., Muller-Hermelink, H.K., Vardiman, J., Lister, T.A. et Bloomfield, C.D. 1999. World Health Organization Classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the clinical advisory committee meeting-Airline house, Virginia, November 1997. *Ann Oncol* **10**(12): 1419-1432.
- Harris, N.L. 1999. Hodgkin's disease: Classification and differential diagnosis. *Mod Pathol* **12**:159-175.
- Hattori, R., Hamilton, K.K., Fugate, R.D., McEver, R.P. et Sims, P.J. 1989. Stimulated secretion of endothelial von Willebrand factor is accompanied by rapid redistribution to the cell surface of the intracellular granule membrane protein GMP-140. *J Biol Chem* **264**: 7768-7771.
- Haznedaroglu, I.C., Benekli, M., Ozcebe, O., Savas, M.C., Gullu, I.H., Dunbar, S.V. et Kirazli, S. 2000. Serum L-selectin and P-selectin levels in lymphomas. *Haematologia (Budap)* **30**(1): 27-30.

- Hebbar, M., Révillion, F., Louchez, M.M., Vilain, M.O., Fournier, C., Bonneterre, J. et Peyrat, J.P. 1998. The relationship between concentrations of circulating soluble E-selectin and clinical, pathological, and biological features in patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* **4**(2): 373-380.
- Hellbusch, C.C., Sperandio, M., Frommhold, D., Yakubenia, S., Wild, M.K., Popovici, D., et al. 2007. Golgi GDP-fucose transporter-deficient mice mimic congenital disorder of glycosylation iic/leukocyte adhesion deficiency II. *J Biol Chem* **282**: 10762-10772.
- Helmus, Y., Denecke, J., Yakubenia, S., Robinson, P., Luhn, K., Watson, D.L., et al. 2006. Leukocyte adhesion deficiency II patients with a dual defect of the GDP-fucose transporter. *Blood* **107**: 3959-3966.
- Hemmerich, S., Bertozzi, C.R., Leffler, H. et Rosen, S.D. 1994. Identification of the sulphated monosaccharides of GlyCAM-1, an endothelial-derived ligand for L-selectin. *Biochemistry* **33**(16): 4820-4829.
- Hemmerich, S., Butcher, E.C. et Rosen, S.D. 1994b. Sulfation-dependent recognition of HEV-ligands by L-selectin and MECA 79, an adhesion-blocking mAb. *J exp med* **180**: 2219-2226.
- Hemmerich, S., Leffler, H. et Rosen, S.D. 1995. Structure of O-glycans in GlyCAM-1, an endothelial-derived ligand for L-selectin, *J Biol Chem* **270**: 12035-12047.
- Henshall, T.L., Jones, K.L., Wilkinson, R. et Jackson, D.E. 2001. Src homology 2 domain-containing protein-tyrosine phosphatases, SHP-1 and SHP-2, are required for platelet endothelial cell adhesion molecule-1/CD31-mediated inhibitory signalling. *J Immunol* **166**(5): 3098-3106.
- Herold, R., Stibenz, D., Hartmann, R., Henze, G. et Bühner, C. 2002. Soluble L-selectin (sCD62L) in relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology* **119**: 677-684.
- Hession, C., Tizard, R., Vassallo, C., Schiffer, S.B., Goff, D., Moy, P., Chi-Rosso, G., Luhowskyj, S., Lobb, R. et Osborn, L. 1991. Cloning of an alternate form of vascular cell adhesion molecule-1 (VACAM1). *J Biol Chem* **266**: 6682-6685.
- Hickey, M.J., Kanwar, S., McCafferty, D.-M., Granger, D.N., Eppihimer, M.J. et Kubes, P. 1999. Varying roles of E-selectin and P-selectin in different microvascular beds in response to antigen. *J Immunol* **162**: 1137-1143.
- Hickey, M.J., Forster, M., Mitchell, D., Kaur, J., DeCaigny, C. et Kubes, P. 2000. L-selectin facilitates emigration and extravascular locomotion of leukocytes during acute inflammatory responses *in vivo*. *The Journal of Immunology* **165**: 7164-7170.
- Hidalgo, A., Peired, A.J., Wild, M.K., Vestweber, D. et Frenette, P.S. 2007. Complete identification of E-selectin ligands on neutrophils reveals distinct functions of PSGL-1, ESL-1, and CD44. *Immunity* **26**: 477-489.
- Hiraoka, N., Petryniak, B., Nakayama, J., Tsuboi, S., Suzuki, M., Yeh, J.-C., Izawa, D., Tanaka, T., Miyasaka, M., Lowe, J.B. et Fukuda, M. 1999. A novel, High Endothelium Venule-specific sulfotransferase expresses 6-sulfo sialyl lewis<sup>x</sup>, an L-selectin ligand displayed by CD34. *Immunity* **11**: 79-89.
- Hoff, S.D., Matsushita, Y. Ota, D.M., Cleary, K.R., Yamori, T., Hakomori, S. et Irimura, T. 1989. Increased expression of sialyl-dimeric Le<sup>x</sup> antigen in liver metastases of human colorectal carcinoma. *Cancer Res* **49**: 6883-6888.

- Hoke, D., Mebius, R.E., Dybdal, N., Dowbenko, D., Gribling, P., Kyle, C., Baumhueter, S. et Watson, S.R. 1995. Selective modulation of the expression of L-selectin ligands by an immune response. *Current biology* 5(6): 670-678.
- Homeister, J.W., Thall, A.D., Petryniak, B., Maly, P., Rogers, C.E. et al. 2001. The alpha(1,3)fucosyltransferases FucT-IV and FucT-VII exert collaborative control over selectin-dependent leukocyte recruitment and lymphocyte homing. *Immunity* 15: 115-126.
- Hoozemans, D.A., Schats, R., Lambalk, C.B., Homburg, R. et Hompes, P.G. 2004. Human embryo implantation: current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology. *Reprod Biomed Online* 9(6): 692-715.
- Horvat, R., Hovorka, A., Dekan, A., Poczewski, H. et Kerjaschki, D. 1986. Endothelial cell membranes contain podocalyxin –the major sialoprotein of visceral glomerular epithelial cells. *J cell boil* 102: 484-491.
- Hua, J. et Muschel, R.J. 1996. Inhibition of matrix metalloproteinase 9 expression by a ribozyme blocks metastasis in a rat sarcoma model system. *Cancer Res* 56(22): 5279-5284.
- Hua, C.T., Gamble, J.R., Vadas, M.A. et Jackson, D.E. 1998. Recruitment and activation of SHP-1 protein-tyroine phosphatase by human platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1). Identification of immunoreceptor tyrosine-ased inhibitory motif-like binding motifs and substrates. *J Biol Chem* 273(43): 28332-28340.
- Huang, K., Geoffroy, J.S., Singer, M.S. et Rosen, S.D. 1991. A lymphocyte homing receptor (L-selectin) mediates the in vitro attachment of lymphocytes to myelinated tracts of the central nervous system. *J clin invest* 88: 1778-1783.
- Huang, K., Kikuta, A. et Rosen, S.D. 1994. Myelin localization of a central nervous system ligand for L-selectin. *J neuroimmunol* 53: 133-141.
- Huang, Y.W., Baluna, W. et Vitetta, E.S. 1997. Adhesion molecules as targets for cancer therapy. *Histol Histopathol* 12(2): 467-477.
- Huang, J., Bridges, L.C. et White, J.M. 2005. Selective modulation of integrin-mediated cell migration by distinct ADAM family members. *Molecular Biology of the Cell* 16: 4982-4991.
- Huang, M.-T., Mason, J.C., Birdsey, G.M., Amsellem, V., Gerwin, N., Haskard, D.O., Ridley, A.J., et Randi, A.M. 2005. Endothelial intercellular adhesion molecule (ICAM)-2 regulates angiogenesis. *Blood* 106: 1636-1643.
- Humphries, J.D., Byron, A. et Humphries, M.J. 2006. Integrin ligands at a glance. *Journal of Cell Science* 119: 3901-3903.
- Hwang, S.T., Singer, M.S., Giblin, P.A., Yednock, T.A., Bacon, K.B., Simon, S.I. et Rosen, S.D. 1996. GlyCAM-1, a physiologic ligand for L-selectin, activates  $\beta$ -2 integrins on naïve peripheral lymphocytes. *J Exp Med* 184: 1343-1348.
- Hynes, R.O. 1992. Integrins: versatility, modulation, and signalling in cell adhesion. *Cell* 69(1): 11-25.
- Imai, Y., Singer, M.S., Fennie, L.A., Lasky, L.A. et Rosen, S.D. 1991. Identification of a carbohydrate-based endothelial ligand for a lymphocyte homing receptor. *J Cell Biol* 113: 1213-1221.
- Imai, Y., Lasky, L.A. et Rosen, S.D. 1992. Further characterization of the interaction between L-selectin and its endothelial ligands. *Glycobiology* 2(4): 373-381.

- Imai, Y., Lasky, L.A. et Rosen, S.D. 1993. Sulphation requirement for GlyCAM-1, an endothelial ligand for L-selectin. *Nature* **361**: 555-557.
- Irjala, H., Johansson, E.L., Grenman, R., Alanen, K., Salmi, M. et Jalkanen, S. 2001. Mannose receptor is a novel ligand for L-selectin and mediates lymphocyte binding to lymphatic endothelium. *J exp med* **194**: 1033-1042.
- Ivetic, A., Deka, J., Ridley, A. et Ager, A. 2002. The cytoplasmic tail of L-selectin interacts with members of the Ezrin-Radixin-Moesin (ERM) family of proteins: cell activation-dependent binding of moesin but not ezrin. *J Biol Chem* **277**(3): 2321-2329.
- Ivetic, A. et Ridley, A.J. 2004. The telling tail of L-selectin. *Biochemical Society* **32**(6): 1118-1121.
- Ivetic, A., Florey, O., Deka, J., Haskard, D.O., Ager, A. et Ridley, A.J. 2004b. Mutagenesis of the Ezrin-Radixin-Moesin binding domain of L-selectin tail affects shedding, microvillar positioning, and leukocyte tethering. *The Journal of Biological Chemistry* **279**(32): 33263-33272.
- Ivetic, A. et Ridley, A.J. 2004c. Ezrin/radixin/moesin proteins and Rho GTPase signalling in leukocytes. *Immunology* **112**(2): 165-176.
- Jackson, D.E., Ward, C.M., Wang, R. et Newman, P.J. 1997. The protein-tyrosine phosphatase SHP-2 binds platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) and forms a distinct signalling complex during platelet aggregation. Evidence for a mechanistic link between PECAM-1 and integrin-mediated cellular signalling. *J Biol Chem* **272**(11): 6986-6993.
- Jackson, D.E. 2003. The unfolding tale of PECAM-1. *FEBS letters* **540**: 7-14.
- Jahnke, A. et Jonhston, J.P. 1995. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) is synergistically activated by TNF-alpha and IFN-gamma responsive sites. *Immunobiol* **193**: 305-314.
- Jakic-Razumovic, J. et Aurer, I. 2002. The World Health Organization classification of lymphomas. *Croat Med J* **43**(5): 527-534.
- Jiang, C.G., Li, J.B., Liu, F.R., Wu, T., Yu, M. et Xu, H.M. 2007. Andrographolide inhibits the adhesion of gastric cancer cells to endothelial cells by blocking E-selectin expression. *Anticancer Res* **27**(4B): 2439-2447.
- Johnston, B., Issekutz, T.B. et Kubes, P. 1996. The alpha 4-integrin supports leukocyte rolling and adhesion in chronically inflamed postcapillary venules in vivo. *J Exp Med* **183**(5): 1995-2006.
- Johnston, B. et Butcher, E.C. 2002. Chemokines in rapid leukocyte adhesion triggering and migration. *Semin Immunol* **14**(2): 83-92.
- Jung, T.M. et Dailey, M.O. 1990. Rapid modulation of homing receptors (gp90MEL-14) induced by activators of protein kinase C ; Receptor shedding due to accelerated proteolytic cleavage at the cell surface. *The Journal of Immunology* **144**(8): 3130-3136.
- Jung, U. et Ley, K. 1999. Mice lacking two or all three selectins demonstrate overlapping and distinct functions for each selectin. *J Immunol* **162**: 6755-6762.
- Junge, S., Brenner, B., Lepple-Wienhues, A., Nilus, B., Lang, F., Linderkamp, O. et Gulbins, E. 1999. Intracellular mechanisms of L-selectin induced capping. *Cell Signal* **11**: 301-308.

- Jutila, M.A., Rott, L., Berg, E.L. et Butcher, E.C. 1989. Function and regulation of the neutrophil MEL-14 antigen in vivo: comparison with LFA-1 and MAC-1. *J. Immunol.* **143**: 3318-3324.
- Jutila, M.A., Kishimoto, T.K. et Finken, M. 1991. Low-dose chymotrypsin treatment inhibits neutrophil migration into sites of inflammation in vivo: effects on Mac-1 and MEL-14 adhesion protein expression and function. *Cell Immunol* **132**(1): 201-214.
- Kaba, N.K. et Knauf, P.A. 2001. Hypotonicity induces L-selectin shedding in human neutrophils. *Am J Physiol Cell Physiol* **281**: C1403-1407.
- Kahn, J., Ingraham, R.H., Shirley, F., Migaki, G.I. et Kishimoto, T.K. 1994. Membrane proximal cleavage of L-selectin: identification of the cleavage site and a 6-kD transmembrane peptide fragment of L-selectin. *The Journal of Cell Biology* **125**(2): 461-470.
- Kahn, J., Walcheck, B., Migaki, G.I., Jutila, M.A. et Kishimoto, T.K. 1998. Calmodulin regulates L-selectin adhesion molecule expression and function through a protease-dependent mechanism. *Cell* **92**: 809-818.
- Kaldjian, E.P. et Stoolman, L.M. 1995. Regulation of L-selectin mRNA in Jurkat cells. Opposing influences of calcium- and protein kinase C-dependent signaling pathways. *J Immunol* **154**(9): 4351-4362.
- Kanda, H., Tanaka, T., Matsumoto, M., Umemoto, E., Ebisuno, Y., Kinoshita, M., Noda, M., Kannaji, R., Hirata, T., Murai, T., Fukuda, M. et Miyasaka, M. 2004. Endomucin, a sialomucin expressed in high endothelial venules, supports L-selectin-mediated rolling. *International Immunology* **16**(9): 1265-1274.
- Kansas, G.S., Ley, K., Munro, J.M. et Tedder, T.F. 1993. Regulation of the leukocyte rolling and adhesion to high endothelial venules through the cytoplasmic domain of L-selectin. *J Exp Med* **177**(3): 833-838.
- Kansas, G.S. 1996. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood* **88**: 3259-3287.
- Kao, L.C., Germeyer, A., Tulac, S., Lobo, S., Yang, J.P. et al. 2003. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and fertility. *Endocrinology* **144**: 2870-2881.
- Kaplan, H.S. 1948. Influence of age on susceptibility of mice to the development of lymphoid tumors after irradiation. *J Natl Cancer Inst* **9**: 55-56.
- Kaplan, H.S. et Brown, M.B. 1952. A quantitative dose-responses study of lymphoid tumor development in irradiated C57 black mice. *J Natl Cancer Inst* **13**(1): 185-208.
- Kaplan, H.S. et Brown, M.B. 1952b. Effect of peripheral shielding on lymphoid tissue response to irradiation in C57 black mice. *Science* **116**: 195-196.
- Kaplan, H.S. 1967. On the natural history of murine leukemias: presidential address. *Cancer Res* **27**(8): 1325-1340.
- Kaplan, H.S. 1974. Leukemia and lymphoma in experimental and domestic animals. *Ser Haematol* **7**(2): 94-163.
- Kaplan, H.S., Lieberman, M., Declève, A., Ricciardi-Castagnoli, P., Boniver, J. et Finn, O.J. 1979. Establishment, characterization and virus expression of cell lines derived from radiation- and virus-induced lymphomas of C57BL/Ka mice. *Int J Cancer* **24**(2): 168-177.

- Kato, Y., Fujita, N., Yano, H. et Tsuruo, T. 1997. Suppression of experimental lung colonization of mouse colon adenocarcinoma 26 in vivo by an anti-idiotypic monoclonal antibody recognizing a platelet surface molecule. *Cancer Research* **57**: 3040-3045.
- Kelly, M., Hwang, J.M. et Kubes, P. 2007. Modulating leukocyte recruitment in inflammation. *J Allergy Clin Immunol* **120**: 3-10.
- Keramidas, E., Merson, T.D., Steeber, D.A., Tedder, T.F. et Tang, M.L. 2001. L-selectin and intercellular adhesion molecule 1 mediate lymphocyte migration to the inflamed airway/lung during an allergic inflammatory response in an animal model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* **107**(4): 734-738.
- Kerjaschki, D., Sharkey, D.J. et Farquhar, M.G. 1984. Identification and characterization of podocalyxin –the major sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. *J cell boil* **98**: 1591-1596.
- Kerr, S.C., Fieger, C.B., Snapp, K.R. et Rosen, S.D. 2008. Endoglycan, a member of the CD34 family of sialomucins, is a ligand for the vascular selectins. *The journal of immunology* **181**: 1480-1490.
- Kershaw, D.B., Beck, S.G., Wharram, B.L., Wiggins, J.E., Goyal, M., Thomas, P.E. et Wiggins, R.C. 1997. Molecular cloning and characterization of human podocalyxin-like protein. *J Biol Chem* **272**: 15708-15714.
- Khandoga, A., Kessler, J.S., Hanschen, M., Khandoga, A.G., Burggraf, D., Reichel, C., Hamann, G.F., Enders, G. et Krombach, F. 2006. Matrix metalloproteinase-9 promotes neutrophil and T cell recruitment and migration in the postischemic liver. *J Leuko Biol* **79**(6): 1295-1305.
- Kikuta, A. et Rosen, S.D. 1994. Localization of ligands for L-selectin in mouse peripheral lymph node high endothelial cells by colloidal gold conjugates. *Blood* **84**(11): 3766-3775.
- Killock, D.J., Parsons, M., Zarrouk, M., Ameer-Beg, S.M., Ridley, A.J., Haskard, D.O., Zvelebil, M. et Ivetic, A. 2009. In vitro and in vivo characterization of molecular interactions between calmodulin ezrin/radixin/moesin, and L-selectin. *J Biol Chem* **284**(13): 8833-8845.
- Kim, M., Carman, C.V. et Springer, T.A. 2003. Bidirectional transmembrane signalling by cytoplasmic domain separation in integrins. *Science* **301**: 1720-1725.
- Kirveskari, J., Paavonen, T., Hayry, P. et Renkonen, R. 2000. De novo induction of endothelial L-selectin ligands during kidney allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* **11**(12): 2358-2365.
- Kishimoto, T.K., Jutila, M.A., Berg, E.L. et Butcher, E.C. 1989. Neutrophil Mac-1 and MEL-14 adhesion proteins inversely regulated by chemotactic factors. *Science* **245**(4923): 1238-1241.
- Klimm, B., Schnell, R., Diehl, V. et Engert, A. 2005. Current treatment and immunotherapy of Hodgkin's lymphoma. *Haematologica/the haematology journal* **90**(12): 1680-1692.
- Koenig, A., Norgard-Sumnicht, K., Linhardt, R. et Varki, A. 1998. Differential interactions of heparin and heparan sulfate glycosaminoglycans with the selectins. Implications for the use of unfractionated and low molecular weight heparins as therapeutic agents. *J Clin Invest* **101**(4): 877-889.

- Koopman, G., Keehnen, R.M., Lindhout, E., Newman, W., Shimizu, Y., vanSeventer, G.A., deGroot, C. et Pals, S.T. 1994. Adhesion through the LFA-1 (CD11a/CD18)-ICAM-1 (CD54) and the VLA-4 (CD49d)-VCAM-1 (CD106) pathways prevents apoptosis of germinal center B cells. *J Immunol* **152**(8): 3760-3767.
- Kubes, P. 2002. Introduction: The complexities of leukocyte recruitment. *Semin Immunol* **14**(2): 65-72.
- Kuijpers, T. W., Hakkert, B. C., Hoogerwerf, M., Leeuwenberg, J.F.M et Roos, D. 1991. Role of endothelial leukocyte adhesion molecule-1 and platelet-activating factor in neutrophil adherence to IL-1-prestimulated endothelial cells. *The journal of Immunology* **147**(4): 1369-1376.
- Kuijpers, T.W., Bruggen, R., Kamerbeek, N., Tool, A.T., Hicsonmez, G., Gurgey, A., et al. 2007. Natural history and early diagnosis of LAD-1/variant syndrome. *Blood* **109**: 3529-3537.
- Kunkel, E.J. et Ley, K. 1996. Distinct phenotype of E-selectin-deficient mice. E-selectin is required for slow leukocyte rolling in vivo. *Circ Res* **79**: 1196-1204.
- Kunkel, E.J., Chomas, J.E. et Ley, K. 1998. Role of primary and secondary capture for leukocyte accumulation in vivo. *Circ Res* **82**: 30-38.
- Küppers, R., Rajewsky, K., Zhao, M., et al. 1994. Hodgkin disease: Hodgkin and Reed-Sternberg cells picked from histological sections show clonal immunoglobulin gene rearrangements and appear to be derived from B cells at various stages of development. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**: 10962-10966.
- Küppers, R., Schwering, I., Bräuninger, A., Rajewsky, K. et Hansmann, M.-L. 2002. Biology of Hodgkin's lymphoma. *Annals of Oncology* **13** (supplement 1): 11-18.
- Kuwahara, I., Lillehoj, E.P., Lu, W., Singh, I.S., Isohama, Y., Miyata, T. et Kim, K.C. 2006. Neutrophil elastase induces IL-8 gene transcription and protein release through p38/NF-kappaB activation via EGFR transactivation in a lung epithelial cell line. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **291**(3): L407-416.
- Laferriere, J., Houle, F., Taher, M.M., Valerie, K. et Huot, J. 2001. Transendothelial migration of colon carcinoma cells requires expression of E-selectin by endothelial cells and activation of stress-activated protein kinase-2 (SAPK2/p38) in the tumor cells. *J Biol Chem* **276**(36): 33762-33772.
- Lalancette, M., Aoudjit, F., Potworowski, E.F. et St-Pierre, Y. 2000. Resistance of ICAM-I-deficient mice to metastasis overcome by increased aggressiveness of lymphoma cells. *Blood* **95**(1): 314-319.
- Larsen, E., Celi, A., Gilbert, G.E., Furie, B.C., Erban, J.K., Bonfanti, R., Wagner, D.D. et Furie, B. 1989. PADGEM protein : a receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes. *Cell* **59**: 305-312.
- Lasky, L.A., Singer, M.S., Dowbenko, D., Imai, Y., Henzel, W.J., Grimley, C., Fennie, C., Gillett, N., Watson, S.R. et Rosen, S.D. 1992. An endothelial ligand for L-selectin is a novel mucin-like molecule. *Cell* **69**(6): 927-938.
- Läubli, H., Stevenson, J.L., Varki, A., Varki, N.M. et Borsig, L. 2006. L-selectin facilitation of metastasis involves temporal induction of Fut7-dependent ligands at sites of tumor cell arrest. *Cancer Res* **66**(3): 1536-1542.



- Laudanna, C., Constantin, G., Baron, P., Scarpini, E., Scarlato, G., Carbrini, G., Dehecchi, C., Rossi, F., Cassatella, M.A. et Berton, G. 1994. Sulfatides trigger increase of cytosolic free calcium and enhanced expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-8 mRNA in human neutrophils. Evidence for a role of L-selectin as a signalling molecule. *J Biol Chem* **269**: 4021-4026.
- Laudanna, C., Kim, J.Y., Constantin, G et Butcher, E. 2002. Rapid leukocyte integrin activation by chemokines. *Immunol Rev* **186**: 37-46.
- Leppert, D., Hauser, S.L., Kishiyama, J.L., An, S., Zeng, L. et Goetzl, E.J. 1995. Stimulation of matrix-metalloproteinase-dependent migration of T cells by eicosanoids. *FASEB J* **9**: 1473-1481.
- Leppert, D., Waubant, E., Galardy, R., Bunnet, N.W. et Hauser, S.L. 1995b. T cell gelatinases mediate basement membrane transmigration in vitro. *J Immunol* **154**: 43-79-4389.
- Lévesque, J.P., Takamatsu, Y., Nilsson, S.K., Haylock, D.N. et Simmons, P.J. 2001. Vascular cell adhesion molecule-1 (CD106) is cleaved by neutrophil proteases in the bone marrow following hematopoietic progenitor cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* **98**: 1289-1297.
- Lewinsohn, D.M., Bargatze, R.F. et Butcher E.C. 1987. Leukocyte-endothelial cell recognition: evidence of a common molecular mechanism shared by neutrophils, lymphocytes, and other leukocytes. *J Immunol* **138**: 4313-4321.
- Ley, K., Gaetgens, P., Fennie, C., Singer, M.S., Lasky, L.A. et Rosen, S.D. 1991. Lectin-like cell adhesion molecule 1 mediates leukocyte rolling in mesenteric venules in vivo. *Blood* **77**: 2553-2555.
- Ley, K. et Tedder, T.F. 1995. Leukocyte interactions with vascular endothelium. New insights into selectin-mediated attachment and rolling. *J Immunol* **155**: 525-528.
- Li, B., New, J.Y., Yap, E.H., Lu, J., Chan, S.H. et Hu, H. 2001. Blocking L-selectin and  $\alpha$ 4-integrin changes donor cell homing pattern and ameliorates murine acute graft versus host disease. *Eur J Immunol* **31**(2): 617-624.
- Li, Y., Brazzell, J.L., Herrera, A.H. et Walcheck, B. 2006. ADAM17-deficiency by mature neutrophils has differential effects on L-selectin shedding. *Blood* **108**(7): 2275-2279.
- Li, X., Pérez, L., Pan, Z. et Fan, H. 2007. The transmembrane domain of TACE regulates protein ectodomain shedding. *Cell Res* **17**(12): 985-998.
- Liao, F., Huynh, H.K., Eiroa, A., Greene, T., Polizzi, E. et Muller, W.A. 1995. Migration of monocytes across endothelium and passage through extracellular matrix involve separate molecular domains of PECAM-1. *J Exp Med* **182**: 1337-1343.
- Liao, F., Ali, J., Greene, T. et Muller, W.A. 1997. Soluble domain 1 of platelet-endothelial cell adhesion molecule (PECAM) is sufficient to block transendothelial migration in vitro and in vivo. *J Exp Med* **185**: 1349-1357.
- Lieberman, M., et Kaplan, H.S. 1966. Lymphoid tumor induction by mouse thymocytes infected in vitro with radiation leukemia virus. *Natl Cancer Inst Monogr* **22**: 549-557.
- Lieberman, M., Declève, A., Ricciardi-Castagnoli, P., Boniver, J., Finn, O.J. et Kaplan, H.S. 1979. Establishment, characterization and virus expression of cell lines derived from radiation- and virus-induced lymphomas of C57BL/Ka mice. *Int J Cancer* **24**(2): 168-177.

- Lindbom, L. et Werr, J. 2002. Integrin-dependant neutrophil migration in extravascular tissue. *Semin Immunol* **14**(2): 115-121.
- Liu, J. et Jiang, G. 2006. CD44 and hematologic malignancies. *Cellular et Molecular Immunology* **3**(5): 359-365.
- Lo, S.K., Detmers, P.A., Levin, S.M. et Wright, S.D. 1989. Transient adhesion of neutrophils to endothelium. *J Exp Med* **169**(5): 1779-1793.
- Lowe, J.B. 2002. Glycosylation in the control of selectin counter-receptor structure and function. *Immunol rev* **186**: 19-36.
- Lundahl, J. et Hed, J. 1994. Differences in altered expression of L-selectin and Mac-1 in monocytes and neutrophils. *Inflammation* **18**: 67-76.
- Luo, B.-H. et Springer, T.A. 2006. Integrin structures and conformational signalling. *Curr Opin Cell Biol* **18**(5): 579-586.
- Luo, B.-H., Carman, C.V. et Springer, T.A. 2007. Structural basis of intégriane regulation and signalling. *Annu Rev Immunol* **25**: 619-647.
- Luscinskas, F.W., Ma, S., Nusrat, A., Parkos, C.A. et Shaw, S.K. 2002. Leukocyte transendothelial migration: junctional affair. *Semin Immunol* **14**(2): 105-113.
- Ma, X.L., Weyrich, A.S., Lefer, D.J., Buerke, M., Albertine, K.H., Kishimoto, T.K. et Lefer, A.M. 1993. Monoclonal antibody to L-selectin attenuates neutrophil accumulation and protects ischemic reperfused cat myocardium. *Circulation* **88**: 649-658.
- Macey, G., McCarthy, D.A., Vordermeier, S., Newland, A.C. et Brown, K.A. 1995. Effects of cell purification methods on CD11b and L-selectin expression as well as the adherence and activation of leukocytes. *J. Immunol. Methods* **181**: 211-219.
- Madri, J.A., Graesser, D. et Haas, T. 1996. The roles of adhesion molecules and proteinases in lymphocyte transendothelial migration. *Biochem Cell Biol* **74**: 749-757.
- Malergue, F., Galland, F., Martin, F., Mansuelle, P., Aurrand-Lions, M. et Naquet, P. 1998. A novel immunoglobulin superfamily junctional molecule expressed by antigen presenting cells, endothelial cells and platelets. *Mol Immunol* **35**: 1111-1119.
- Maly, P., Thall, A.D., Petryniak, B., Rogers, C.E., Mith, P.L., Marks, R.M., Kelly, R.J., Gersten, K.M., Cheng, G., Saunders, T.L. et al. 1996. The alpha(1,3)fucosyltransferase Fuc-TVII controls lymphocyte homing, and blood leukocyte emigration through an essential role in L-, E- and P-selectin ligand biosynthesis. *Cell* **86**: 643-653.
- Mannori, G., Crottet, P., Cecconi, O., Hanasaki, K., Aruffo, A., Nelson, R.M., Varki, A. et Bevilacqua, M.P. 1995. Differential colon cancer cell adhesion to E-, P-, and L-selectin: role of mucin-type glycoproteins. *Cancer Research* **55**(19): 4425-4431.
- Martin-Padura, I., Lostaglio, S., Schneemann, M., Williams, L., Romano, M., Fruscella, P., Panzerl, C., Stoppacciaro, A., Ruco, L., Villa, A., et al. 1998. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol* **142**: 117-127.

- Martin-Satué, M., Marrugat, R., Cancelas, J.A. et Blanco, J. 1998. Enhanced expression of alpha(1,3)-fucosyltransferase genes correlates with E-selectin-mediated adhesion and metastatic potential of human lung adenocarcinoma cells. *Cancer Research* **58**(7): 1544-1550.
- Mascarell, L. et Truffa-Bachi, P. 2004. T lymphocyte activation initiates the degradation of the CD62L encoding mRNA and increases the transcription of the corresponding gene. *Immunology Letters* **94**: 115-122.
- Matala, E., Alexander, S.R., Kishimoto, T.K. et Walcheck, B. 2001. The cytoplasmic domain of L-selectin participates in regulating L-selectin endoproteolysis. *The Journal of Immunology* **167**: 1617-1623.
- Matheny, H.E., Deem, T.L. et Cook-Mills, J.M. 2000. Lymphocyte migration through monolayer of endothelial cell lines involves VCAM-1 signaling via endothelial cell NADPH oxidase. *J. Immunol.* **164**: 6550-6559.
- Matias-Roman, S., Galvez, B.G., Genis, L., Yanes-Mo, M., delaRosa, G., Sanchez-Mateos, P., Sanchez-Madrid, F. et Arroyo, A.G. 2005. Membrane type 1-matrix metalloproteinase is involved in migration of human monocytes and is regulated through their interaction with fibronectin or endothelium. *Blood* **105**(10): 3956-3964.
- Matsuura, N., Narita, T., Mitsuoka, C., Kimura, N., Kannagi, R., Imai, T., Funahashi, H. et Takagi, H. 1997. Increased level of circulating adhesion molecules in the sera of breast cancer patients with distant metastases. *Jpn J Clin Oncol* **27**(3): 135-139.
- Matsuura, N., Narita, T., Mitsuoka, C., Kimura, N., Kannagi, R., Imai, T., Funahashi, H. et Takagi, H. 1997. Increased concentration of soluble E-selectin in the sera of breast cancer patients. *Anticancer Res* **17**(2B): 1367-1372.
- May, M.J., Entwistle, G., Humpohries, M.J. et Ager, A. 1993. VCAM-1 is a CS1 peptide-inhibitable adhesion molecule expressed by lymph node high endothelium. *J. Cell Sci* **106**: 109-119.
- Mayadas, T.N., Johnson, R.C., Rayburn, H., Hynes, R.O. et Wagner, D.D. 1993. Leukocyte rolling and extravasation are severely compromised in P-selectin-deficient mice. *Cell* **74**: 541-554.
- McEver, R.P., Beckstead, J.H., Moore, K.L., Marshall-Carlson, L. et Bainton, D.F. 1989. GMP-140, a platelet alpha-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *J Clin Invest* **84**: 92-99.
- McEver, R.P. 1991. Selectins: novel receptors that mediate leukocyte adhesion during inflammation. *Thromb Haemostasis* **65**: 223-228.
- McEver, R.P., Moore, K.L. et Cummings, R.D. 1995. Leukocyte trafficking mediated by selectin-carbohydrate interactions. *J Biol Chem* **270**: 11025-11028.
- McEver, R.P. et Cummings, R.D. 1997. Role of PSGL-1 binding to selectins in leukocyte recruitment. *J Clin Invest* **100**(3): 485-492.
- McGill, S.N., Ahmed, N.A., Hu, F., Michel, R.P. et Christou, N.V. 1996. Shedding of L-selectin as a mechanism for reduced polymorphonuclear neutrophil exudation in patients with the systemic inflammatory response syndrome. *Arch Surg* **131**: 1141-1147.
- McLaughlin, F., Hayes, B.P., Horgan, C.M. et al. 1998. Tumor necrosis factor (TNF)-alpha and interleukin (IL)-1beta down-regulate intercellular adhesion molecule (ICAM)-2 expression on the endothelium. *Cell Adhes Commun* **6**: 381-400.

- McNagny, K.M., Pettersson, I., Rossi, F., Flamme, I., Shevchenko, A., Mann, M. et Graf, T. 1997. Thrombomucin, a novel cell surface protein that defines thrombocytes and multipotent hematopoietic progenitors. *J cell boil* **138**: 1395-1407.
- Michie, S.A., Streeter, P.R., Bolt, P.A., Butcher, E.C. et Picker, L.J. 1993. The human peripheral lymph node vascular addressin. *Am J Pathol* **143**: 1688-1698.
- Middleton, J., Neil, S., Wintle, J., Clark-Lewis, I., Moore, H., Lam, C., Auer, M., Hub, E. et Rot, A. 1997. TRanscytosis and surface presentation of IL-8 by venular endothelial cells. *Cell* **91**(3): 385-395.
- Miettinen, A., Solin, M.L., Reivinen, J., Juvonen, E., Vaisanen, R. et Holthofer, H. 1999. Podocalyxin in rat platelets and megakaryocytes. *Am j pathol* **154**: 813-822.
- Migaki, G.I., Kahn, J. et Kishimoto, T.K. 1995. Mutational analysis of the membrane-proximal cleavage site of L-selectin: relaxed sequence specificity surrounding the cleavage site. *J Exp Med* **182**(2): 549-557.
- Mitchell, D.J., Li, P., Reinhardt, P.H. et Kubes, P. 2000. Importance of L-selectin-dependent leukocyte-leukocyte interactions in human whole blood. *Blood* **95**: 2954-2959.
- Mizui, Y., Yamazaki, K., Sagane, K. et Tanaka, I. 1999. cDNA cloning of mouse tumor necrosis factor- $\alpha$ -converting enzyme (TACE) and partial analysis of its promoter. *Gene* **233**: 67-74.
- Monteseirin, J., Chacon, P., Vega, A., Sanchez-Monteseirin, H., Asturias, J.A., Martinez, A., Guardia, P., Perez-Cano, R. et Conde, J. 2005. L-selectin expression on neutrophils from allergic patients. *Clin Exp Allergy* **35**(9): 1204-1213.
- Moore, K.L., Stults, N.L., Diaz, S., Smith, D.F., Cummings, R.D., Varki, A. et McEver, P.R. 1992. Identification of a specific glycoprotein ligand for P-selectin (CD62) on myeloid cells. *J Cell Biol* **118**(2): 445-456.
- Moore, K.L., Eaton, S.F., Lyons, D.E., Liechtenstein, H.S., Cummings, R.D. et McEver, R.P. 1994. The P-selectin glycoprotein ligand from human neutrophils displays sialylated, fucosylated, O-linked poly-N-acetyllactosamine. *J Biol Chem* **269**(37): 23318-23327.
- Moore, K.L., Patel, K.D., Brehl, R.E., Johnson, D.A., Lichenstein, H.S., Cummings, R.D., et al. 1995. P-selectin glycoprotein ligand mediates rolling of human neutrophils on P-selectin. *J Cell Biol* **128**: 661-671.
- Mora, C., Grewal, I.S., Wong, F.S. et Flavell, R.A. 2004. Role of L-selectin in the development of autoimmune diabetes in non-obese mice. *Int Immunol* **16**(2): 257-264.
- Morgan, S.M., Samulowitz, U., Darley, L., Simmons, D.L. et Vestweber, D. 1999. Biochemical characterization and molecular cloning of a novel endothelial-specific sialomucin. *Blood* **93**(1): 165-175.
- Morse III, H.C., Anver, M.R., Fredrickson, T.N., Haines, D.C., Harris, A.W., Harris, N.L., Jaffe, E.S., Kogan, S.C., MacLennan, I.C.M., Pattengale, P.K. et Ward, J.M. 2002. Bethesda proposals for classification of lymphoid neoplasms in mice. *Blood* **100**(1): 246-258.
- Moss, M.L., Jin, S.L., Milla, M.E., Bickett, D.M., Burkhart, W., Carter, H.L., Chen, W.J., Clay, W.C., Didsbury, J.R., Hassler, D., Hoffman, C.R., Kost, T.A., Lambert, M.H., Leesnitzer, M.A., McCauley, P., McGeehan, G., Mitchell, J., Moyer, M., Pahel, G., Rocque, W., Overton, L.K., Schoenen, F., Seaton, T., Su, J.L. et Becherer, J.D. 1997. Cloning of a disintegrin metalloproteinase that processes precursor tumour-necrosis factor- $\alpha$ . *Nature* **385**: 733-736.

- Mowery, P., Yang, Z.G., Gordon, E.J., Dwir, O., Spencer, A.G., Alon, R. et Kiessling, L.L. 2004. Synthetic glycoprotein mimics inhibit L-selectin-mediated rolling and promote L-selectin shedding. *Chem Biol* **11**: 725-732.
- Mulligan, M.S., Watson, S.R., Fennie, C. et Ward, P.A. 1993. Protective effects of selectin chimeras in neutrophil-mediated lung injury. *Journal of Immunology* **151**: 6410-6417.
- Mulligan, M.S., Miyasaka, M., Tamatani, T., Jones, M.L. et Ward, P.A. 1994. Requirements for L-selectin in neutrophil-mediated lung injury in rats. *Journal of Immunology* **152**: 832-840.
- Müschen, M., Rajewsky, K., Bräuninger, A. et al. 2000. Rare occurrence of classical Hodgkin's disease as a T cell lymphoma. *J Exp Med* **191**: 387-394.
- Nakache, M., Berg, E.L., Streeter, P.R. et Butcher, E.C. 1989. The mucosal vascular addressin is a tissue-specific endothelial cell adhesion molecule for circulating lymphocytes. *Nature* **337**(6203): 179-181.
- Nakamori, S., Kameyama, M., Imaoka, S., Furukawa, H., Ishikawa, O. et al. 1993. Increased expression of sialyl Lewis x antigen correlates with poor survival in patients with colorectal carcinoma: clinicopathological and immunohistochemical study. *Cancer res* **53**: 3632-3637.
- Narita, T., Kawasaki-Kimura, N., Matsuura, N., Funahashi, H. et Kannagi, R. 1996. Adhesion of human breast cancer cells to vascular endothelium mediated by sialyl lewis x; /E-selectin. *Breast Cancer* **3**(1): 19-23.
- Nasu, T., Fukuda, Y., Nagahira, K., Kawashima, H., Noguchi, C. et Nakanishi, T. 1997. Fucoidin, a potent inhibitor of L-selectin function, reduces contact hypersensitivity reaction in mice. *Immunol Lett* **59**(1): 47-51.
- Needham, L.K. et Schnaar, R.L. 1993. The HNK-1 reactive sulfoglucuronyl glycolipids are ligand for L-selectin and P-selectin. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**(4): 1359-1363.
- Neeley, S.P., Hamann, K.J., White, S.R., Baranowski, S.L., Burch, R.A et Leff, A.R. 1993. Selective regulation of expression of surface adhesion molecules Mac-1, L-selectin, and VLA-4 on human eosinophils and neutrophils. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* **8**: 633-639.
- Nemoto, E., Sugawara, S., Tada, H., Takada, H., Shimauchi, H. et Horiuchi, H. 2000. Cleavage of CD14 on human gingival fibroblasts cocultured with activated neutrophils is mediated by human leukocyte elastase resulting in down-regulation of lipopolysaccharide-induced IL-8 production. *J Immunol* **165**(10): 5807-5813.
- Newman, P.J. 1997. The biology of PECAM-1. *J Clin Invest* **100**(11S): S25-29.
- Newman, D.K., Hamilton, C. et Newman, P.J. 2001. Inhibition of antigen-receptor signaling by platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31) requires functional ITIMs, SHP-2, and p56(lck). *Blood* **97**(8): 2351-2357.
- Nicholson, M.W., Barclay, A.N., Singer, M.S., Rosen, S.D. et van der Merwe, P.A. 1998. Affinity and kinetic analysis of L-selectin (CD62L) binding to glycosylation-dependent cell-adhesion molecule-1. *The journal of biological chemistry* **273**(2): 763-770.
- Nielsen, H.G. et Lyberg, T. 2004. Long-distance running modulates the expression of leucocyte and endothelial adhesion molecules. *Scandinavian Journal of Immunology* **60**: 356-362.

- Nieminen, J., St-Pierre, C. et Sato, S. 2005. Galectin-3 interacts with naïve and primed neutrophils, inducing innate immune responses. *Journal of Leukocyte Biology* **78**: 1127-1135.
- Ohgama, J. et Onoé, K. 1992. Quantitative analysis of MEL-14 expression on various lymphocyte subpopulations. *Immunobiology* **186**(3-4): 268-281.
- Ohyama, C., Kanto, S., Kato, K., Nakano, O., Arai, Y., Kato, T., Chen, S., Fukuda, M.N. et Fukuda, M. 2002. Natural killer cells attack tumor cells expressing high levels of sialyl Lewis x oligosaccharides. *PNAS* **99**(21): 13789-13794.
- Oken, M.M., Creech, R.H., Tormey, D.C., Horton, J., Davis, T.E., McFadden, E.T. et Carbone, P.P. 1982. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* **5**: 649-655.
- Oostingh, G.L., Ludwig, R.J., Enders, S., Gruner, S., Harms, G., Boehncke, W.H., Nieswandt, B., Tauber, R. et Schon, M.P. 2007. Diminished lymphocyte adhesion and alleviation of allergic responses by small-molecule- or antibody-mediated inhibition of L-selectin functions. *J Invest Dermatol* **127**(1): 90-97.
- Oshima, T., Pavlick, K.P., Laroux, F.S., Verma, S.K., Jordan, P., Grisham, M.B., et al. 2001. Regulation and distribution of MAdCAM-1 in endothelial cells in vitro. *Am J Physiol Cell Physiol* **281**(4): C1096-1105.
- Pachynski, R.K., Wu, S.W., Gunn, M.D. et Erle, D.J. 1998. Secondary lymphoid-tissue chemokine (SLC) stimulates integrin alpha 4 beta 7-mediated adhesion of lymphocytes to mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) under flow. *J Immunol* **161**: 952-956.
- Palecanda, A., Walcheck, B., Bishop, D.K. et Jutila, M.A. 1992. Rapid activation-independent shedding of leukocyte L-selectin induced by cross-linking of the surface antigen. *Eur J Immunol* **22**(5): 1279-1286.
- Pals, S.T., Horst, E., Ossekoppele, G.J., Figdor, C.G., Scheper, R.J. et Meijer, C.J. 1989. Expression of lymphocyte homing receptor as a mechanism of dissemination in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* **73**: 885-888.
- Pals, S.T., Drilenburg, P., Radaszkiewicz, T et Manten-Horst, E. 1997. Adhesion molecules in the dissemination of non-Hodgkin's lymphomas. *Acta Haematol* **97**(1-2): 73-80.
- Pan, J., Xia, L. et McEver, R.P. 1998. Comparison of promoters for the murine and human P-selectin genes suggests species-specific and conserved mechanisms for transcriptional regulation in endothelial cells. *J Biol Chem* **273**: 10058-10067.
- Passalacqua, G., Montagna, P., Pesce, G., Canonica, G.W. et Bagnasco, M. 1996. Adhesion molecules in allergy. *Allerg Immunol (Paris)* **28**(2) : 34-38.
- Patel, K.D., Nollert, M.U. et McEver, R.P. 1995. P-selectin must extend a sufficient length from the plasma membrane to mediate rolling of neutrophils. *J Cell Biol* **131**(suppl): 1893-1902.
- Patel, K.D., Cuvelier, S.L. et Wiehler, S. 2002. Selectins: critical mediators of leukocytes recruitment. *Semin Immunol* **14**(2): 73-81.
- Pattengale, P.K. et Taylor, C.R. 1983. Experimental models of lymphoproliferative disease: the mouse as a model for human non-Hodgkin's lymphomas and related leukemias. *Am J Pathol* **113**: 237-265.

- Pavalko, F.M., Walker, D.M., Graham, L., Goheen, M., Doerschuk, C.M. et Kansas, G.S. 1995. The cytoplasmic domain of L-selectin interacts with cytoskeletal proteins via  $\alpha$ -actinin: receptor positioning in microvilli does not require interaction with  $\alpha$ -actinin. *The Journal of Cell Biology* **129**(4): 155-1164.
- Pédrón, T., Glrard, R. et Chaby, R. 2001. Down-modulation of L-selectin by lipopolysaccharide is not required for lipopolysaccharide-induced expression of CD14 in mouse bone marrow granulocytes. *Infect Immun* **69**(7): 4287-4294.
- Peschon, J.J., Slack, J.L., Reddy, P., Stocking, K.L., Sunnarborg, S.W., Lee, D.C., Russell, W.E., Castner, B.J., Johnson, R.S., Fitzner, J.N., Boyce, R.W., Nelson, N., Kozlosky, C.J., Wolfson, M.F., Rauch, C.T., Cerretti, D.P., Paxton, R.J., March, C.J. et Black, R.A. 1998. An essential role for ectodomain shedding in mammalian development. *Science* **282**: 1281-1284.
- Phong, M.-C., Gutwein, P., Kadel, S., Hexel, K., Altevogt, P., Linderkamp, O. et Brenner, B. 2003. Molecular mechanisms of L-selectin-induced co-localization rafts and shedding. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **300**: 563-569.
- Pitchford, S.C., Momi, S., Giannini, S., Casali, L., Spina, D., Page, C.P., et al. 2005. Platelet P-selectin is required for pulmonary eosinophil and lymphocyte recruitment in a murine model of allergic inflammation. *Blood* **105**: 2074-2081.
- Poppe, L., Brown, G.S., Philo, S., Nikrad, P.V. et Shah, B.H. 1997. Conformation of sLex tetrasaccharide, free in solution and bound to E-, P-, and L-selectin. *J am chem soc* **119**: 1727-1736.
- Pouyani, T. et Seed, B. 1995. PSGL-1 recognition of P-selectin is controlled by a tyrosine-sulfatation consensus at the PSGL-1 amino terminus. *Cell* **83**(2): 333-343.
- Preece, G., Murphy, G. et Ager, A. 1996. Metalloproteinase-mediated regulation of L-selectin levels on leukocytes. *J Biol Chem* **271**(20): 11634-11640.
- Proudfoot, A.E., Handel, T.M., Johnson, Z., Lau, E.K., LiWang, P., Clark-Lewis, I., Borlat, F., Wells, T.N. et Kosco-Vilbois, M.H. 2003. Glycosaminoglycan binding and oligomerization are essential for the in vivo activity of certain chemokines. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**(4): 1885-1890.
- Prystas, E.M., Parker, C.J., Holguin, M.H. et Bohnsack, J.F. 1993. Aberrant glycosylation of L-selectin on the lymphocytes of chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* **7**(9): 1355-1362.
- Puri, K.D., Finger, E.B., Gaudernack, G. et Springer, T.A. 1995. Sialomucin CD34 is the major L-selectin ligand in human tonsil high endothelial venules. *J cell biol* **131**: 261-270.
- Puri, K.D., Finger, E.B., Springer, T.A. 1997. The faster kinetics of L-selectin than of E-selectin and P-selectin rolling at comparable binding strength. *J immunol* **158**: 4005-413.
- Rainer, T.H., Lam N. et Cocks, R.A. 1999. Adrenaline upregulates the expression of L-selectin on monocytes in vitro. *Resuscitation* **43**: 47-55.
- Rainer, T.H. 2002. L-selectin in health and disease. *Resuscitation* **52**: 127-141.
- Read, M.A., Whitley, M.Z., Gupta, S., Pierce, J.W., Best, J., Davis, R.J. et Collins, T. 1997. Tumor necrosis factor alpha-induced E-selectin expression is activated by the nuclear factor-kB and c-JUN N-terminal kinase/p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *The journal of biological chemistry* **272**(5): 2753-2761.

- Reddy, P., Slack, J.L., Davis, R., Cerretti, D.P., Kozlosky, C.J., Blanton, R.A., Shows, D., Peschon, J.J. et Black, R.A. 2000. Functional analysis of the domain structure of tumor necrosis factor- $\alpha$  converting enzyme. *J Biol Chem* **275**: 14608-14614.
- Remold-O'Donnell, E. et Parent, D. 1995. Specific sensitivity of CD43 to neutrophil elastase. *Blood* **86**(6): 2395-2402.
- Renesto, P., Si-Tahar, M., Moniatte, M., Balloy, V., VanDorselaer, A., Pidard, D. et Chignard, M. 1997. Specific inhibition of thrombin-induced cell activation by the neutrophil proteinases elastase, cathepsin G, and proteinase 3: evidence for distinct cleavage sites within the aminoterminal domain of the thrombin receptor. *Blood* **89**(6): 1944-1953.
- Renkonen, R., Mattila, P., Majuri, M.L., Paavonen, T. et Silvennoinen, O. 1992. IL-4 decreases IFN- $\gamma$ -induced endothelial ICAM-1 expression by a transcriptional mechanism. *Scand J Immunol* **35**: 525-530.
- Renkonen, J., Tynnenen, O., Hayry, P., Paavonen, T. et Renkonen, R. 2002. Glycosylation might provide endothelial zip codes for organ-specific leukocyte traffic into inflammatory sites. *Am j pathol* **161**: 543-550.
- Resto, V.A., Burdick, M.M., Dagia, N.M., McCammon, S.D., Fennewald, S.M. et Sackstein, R. 2008. L-selectin-mediated lymphocyte-cancer cell interactions under low fluid shear conditions. *J biol Chem* **283**(23): 15816-15824.
- Reynolds, P.R., Larkman, D.J., Haskard, D.O., Hajnal, J.V., Kennea, N.L., George, A.J.T. et Edwards, A.D. 2006. Detection of vascular expression of E-selectin in vivo with MR imaging. *Radiology* **241**(2): 469-476.
- Ridings, P.C., Windsor, A.C., Jutila, M.A., Blocher, C.R., Fisher, B.J., Sholley, M.M., Sugerman, H.J. et Fowler, A.A. 1995. A dual-binding antibody to E- and L-selectin attenuates sepsis-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* **152**(1): 247-253.
- Rio, C., Buxbaum, J.D., Peschon, J.J. et Corfas, G. 2000. Tumor necrosis factor- $\alpha$ -converting enzyme is required for cleavage of erbB4/HER4. *The Journal of Biological Chemistry* **275**(14): 10379-10387.
- Rizoli, S.B., Rotstein, O.D. et Kapus, A. 1999. Cell volume-dependent regulation of L-selectin shedding in neutrophils ; a role for p38 mitogen-activated protein kinase. *The Journal of Biological Chemistry* **274**(31):22072-22080.
- Rizvi, M.A., Evens, A.M., Tallman, M.S., Nelson, B.P. et Rosen, S.T. 2006. T-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* **107**(4): 1255-1264.
- Rhodes, J. M. et Simons, M. 2007. The extracellular matrix and blood vessel formation : not just a scaffold. *J Cell Mol Med* **11**(2): 176-205.
- Roebuck, K.A. et Finnegan, A. 1999. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) gene expression. *J Leukoc Biol* **66**: 876-888.
- Rongy, A.M., Humblet, C., Lelièvre, R., Greimers, R., Defresnes, M.P. et Boniver, J. 1990. Abnormal thymocyte subpopulations in split dose irradiated C57BL/Ka mice before the onset of lymphomas. Effects of bone marrow grafting. *Thymus* **16**(1): 7-27.
- Rosen, S.D., Singer, M.S., Yednock, T.A. et Stoolman, L.M. 1985. Involvement of sialic acid on endothelial cells in organ-specific lymphocyte recirculation. *Science* **228**(4702):1005-1007.



- Rosen, S.D. et Bertozzi, C.R. 1996. Leukocyte adhesion: two selectins converge on sulfate. *Current biology* **6**: 261-264.
- Rosen, S.D. 1999. Endothelial ligands for L-selectin: from lymphocyte recirculation to allograft rejection. *Am j pathol* **155**: 1013-1020.
- Rosen, S.D. 2004. Ligands for L-selectin: homing, inflammation, and beyond. *Annu Rev Immunol* **22**: 129-156.
- Ruoslahti, E. 1996. How cancer spreads. *Scientific American* **275**(3): 72-77.
- Sako, D., Chang, X.-J., Barone, K.M., Vachino, G., White, H.M., Shaw, G., Veldman, G.M., Bean, K.M., Ahern, T.J., Furie, B., Cummings, D.A. et Larsen, G.R. 1993. Expression cloning of a functional glycoprotein ligand for P-selectin. *Cell* **75**(6): 1179-1186.
- Sako, D., Comess, K.M., Barone, K.M., Camphausen, T.R., Cummings, D.A. et Shaw, G.D. 1995. A sulfated peptide segment at the amino terminus of PSGL-1 is critical for P-selectin binding. *Cell* **83**(2): 323-331.
- Sammar, M., Aigner, S., Hubbe, M., Schirmacher, V., Schachner, M., Vestweber, D. et Altevogt, P. 1994. Heat-stable antigen (CD24) as a ligand for mouse P-selectin. *Int Immunol* **6**(7): 1027-1036.
- Samulowitz, U., Kuhn, A., Brachtendorf, G., Nawroth, R., Braun, A., et al. 2002. Human endomucin: distribution pattern, expression on high endothelial venules, and decoration with the MECA-79 epitope. *Am j pathol* **160**: 1669-1681.
- Santos, J., Montagutelli, X., Acevedo, A. et al. 2002. A new locus for resistance to gamma-radiation-induced thymiclymphoma identified using inter-specific consomic and inter-specific recombinant congenic strains of mice. *Oncogene* **21**: 6680-6683.
- Sassetti, C., Tangemann, K., Singer, M.S., Kershaw, D.B. et Rosen, S.D. 1998. Identification of podocalyxin as an HEV ligand for L-selectin: parallels to CD34. *J exp med* **187**: 1965-1975.
- Sassetti, C., van Zante, A. et Rosen, S.D. 2000. Identification on endoglycan, a member of the CD34/podocalyxin family of sialomucins. *J boil chem.* **275**(12): 9001-9010.
- Sato, H. et Seiki, M. 1996. Membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMPs) in tumor metastasis. *J Biochem* **119**(2) : 209-215.
- Satoomaa, T., Renkonen, O., Helin, J., Kirveskari, J., Makitie, A. et Renkonen, R. 2002. O-glycans on human high endothelial CD34 putatively participating in L-selectin recognition. *Blood* **99**: 2609-2611.
- Savage, N.D.L., Harris, S.H., Rossi, A.G., DeSilva, B., Howie, S.E.M., Layton, G.T. et Lamb, J.R. 2002. Inhibition of TCR-mediated shedding of L-selectin (CD62L) on human and mouse CD4+ T cells by metalloproteinase inhibition: analysis of the regulation of Th1/Th2 function. *Eur J Immunol* **32**: 2905-2914.
- Schenkel, A.R., Mamdouh, Z., Chen, X., Liebman, R.M. et Muller, W.A. 2002. CD99 plays a major role in the migration of monocytes through endothelial junctions. *Nat Immunol* **3**(2): 143-150.
- Schenkel, A.R., Mamdouh, Z. et Muller, W.A. 2004. Locomotion of monocytes on endothelium is a critical step during extravasation. *Nat Immunol* **5**(4): 393-400.

- Schleiffenbaum, B., Spertini, O. et Tedder, T. 1992. Soluble L-selectin is present in human plasma at high levels and retains functional activity. *J Cell Biol* **119**: 229-238.
- Schlondorff, J., Becherer, J.D. et Blobel, C.P. 2000. Intracellular maturation and localization of the tumor necrosis factor alpha convertase (TACE). *Biochem J* **347**: 131-137.
- Schreiber, T.A., Shinder, V., Cain, D.W., Alon, R. et Sackstein, R. 2007. Shear flow-dependant integration of apical and subendothelial chemokines in T-cell transmigration : implications for locomotion and the multistep paradigm. *Blood* **109**: 1381-1386.
- Seekamp, A., VanGriensven, M., Hildebrandt, F., Brauer, N., Jochum, M. et Martin, M. 2001. The effect of trauma on neutrophil L-selectin expression and sL-selectin serum levels. *Shock* **15**(4): 254-260.
- Seitz, V., Hummel, M., Marafioti, T., et al. 2000. Detection of clonal T-cell receptor  $\gamma$ -chain gene rearrangements in Reed-Sternberg cells of classic Hodgkin's disease. *Blood* **95**: 3020-3024.
- Sethi, S.K., Bianco, A., Allen, J.T., Knight, R.A. et Spiteri, M.A. 1997. Interferon-gamma (AFN-gamma) down-regulates the rhinovirus-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) on human airway epithelial cells. *Clin Exp Immunol* **110**: 362-369.
- Sfikakis, P.P., Charalambopoulos, D., Vaiopoulos, G. et Mavrikakis, M. 1999. Circulating P- and L-selectin and T-lymphocyte activation and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Clin Rheumatol* **18**(1): 28-32.
- Shailubhai, K., Streeter, P., Smith, C.E. et Jacob, G.S. 1997. Sulfation and sialylation requirements for a glycoform of CD34, a major endothelial ligand for L-selectin in porcine peripheral lymph nodes. *Glycobiology* **7**: 305-314.
- Shimada, Y., Hasegawa, M., Kaburagi, Y., Hamaguchi, Y., Komura, K., Saito, E., Takehara, K., Steeber, D.A., Tedder, T.F. et Sato, S. 2003. L-selectin or ICAM-1 deficiency reduces an immediate-type hypersensitivity response by preventing mast cell recruitment in repeated elicitation of contact hypersensitivity. *J Immunol* **170**(8): 4325-4334.
- Shimizu, Y., Shaw, S., Graber, N., Gopal, T.V., Horgan, K.J., VanSevernter, G.A. et Newman, W. 1991. Activation-independent binding of human memory T cells to adhesion molecule ELAM-1. *Nature* **349**: 799-802.
- Shrikant, P., Chung, I., Ballestas, M.E. et Benveniste, E.N. 1994. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 gene expression by tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interferon-gamma in astrocytes. *J Neuroimmunol* **51**: 209-220.
- Shrikant, P., Lee, S.J., Kalvakolanu, I., Ransohoff, R.M. et Benveniste, E.N. 1996. Stimulus-specific inhibition of intracellular adhesion molecule-1 gene expression by TGF-beta. *J Immunol* **157**: 892-900.
- Sigal, A., Bleijs, D.A., Grabovsky, V., van Vliet, S.J., Dwir, O., Figdor, C.G., van Kooyk, Y. et Alon, R. 2000. The LFA-1 integrin supports rolling adhesions on ICAM-1 under physiological shear flow in a permissive cellular environment. *J Immunol* **165**(1): 442-452.
- Sikorski, E.E., Hallmann, R., Berg, E.L., Butcher, E.C. 1993. The Peyer's patch high endothelium receptor for lymphocytes, the mucosal vascular addressin, is induced on a murine endothelial cell line by tumor necrosis factor-alpha and IL-1. *J Immunol* **151**(10): 5239-5250.

- Simon, S.I., Burns, A.R., Taylor, A.D., Gopalan, P.K., Lynam, E.B., Sklar, L.A. et Smith, C.W. 1995. L-selectin (CD62L) cross-linking signals neutrophil adhesive functions via the Mac-1 (CD11b/CD18)  $\beta$ 2-integrin. *J Immunol* **155**: 1502-1514.
- Singer, M.S. et Rosen, S.D. 1996. Purification and quantification of L-selectin-reactive GlyCAM-1 from mouse serum. *Journal of immunological methods* **196**(2): 153-161.
- Singh, R.J.R., Mason, J.C., Lidington, E.A., Edwards, D.R., Nuttall, R.K., Khokha, R., Knauper, V., Murphy, G. et Gavrilovic, J. 2005. Cytokine stimulated vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) ectodomain release is regulated by TIMP-3. *Cardiovascular Research* **67**: 39-49.
- Smalley, D.M. et Ley, K. L-selectin: mechanisms and physiological significance of ectodomain cleavage. *J Cell Mol Med* **9**(2): 255-266.
- Smith, C.W. 2008. Adhesion molecules and receptors. *J Allergy Clin Immunol* **121**: S375-379.
- Soede, R.D., Wijnands, Y.M., Van Kouteren-Cobzaru, I. et Roos, E. 1998. ZAP-70 tyrosine kinase is required for LFA-1-dependent T cell migration. *J Cell Biol* **142**: 1371-1379.
- Song, S., Ling-Hu, H., Roebuck, K.A., Rabbi, M.F., Donnelly, R.P. et Finnegan, A. 1997. Interleukin-10 inhibits interferon-gamma-induced intercellular adhesion molecule-1 gene transcription in human monocytes. *Blood* **89**: 4461-4469.
- Spertini, O., Kansas, G.S., Munro, J.M., Griffin, J.D. et Tedder, T.F. 1991. Regulation of leukocyte migration by activation of the leukocyte adhesion molecule-1 (LAM-1) selectin. *Nature* **349**(6311): 691-694.
- Spertini, O., Schleiffenbanm, B., White-Owen, C., Ruiz, J.P. et Tedder, T.F. 1992. ELISA for quantification of L-selectin shed from leukocytes in vivo. *J Immunol Methods* **156**: 115-123.
- Spertini, O., Callegari, P., Cordey, A.S. 1994. High levels of the shed form of L-selectin are present in patients with acute leukemia and inhibit blast cell adhesion to activated endothelium. *Blood* **84**: 1249-1256.
- Spertini, O., Cordey, A.S., Monai, N., Giuffrè, L. et Schapira, M. 1996. P-selectin glycoprotein ligand 1 is a ligand for L-selectin on neutrophils, monocytes, and CD34+ hematopoietic progenitor cells. *The Journal of Cell Biology* **135**(2): 523-531.
- Springer, T.A., 1994. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* **76**(2): 301-314.
- Springer, T.A. 1995. Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu Rev Physiol* **57**: 827-872.
- Springer, T.A. 1995b. Signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the area code paradigm. *Harvey Lect Series* **89**: 53-103.
- Stamper, H. et Woodruff, J. 1976. Lymphocyte homing into lymph nodes: in vitro demonstration of the selective affinity of recirculating lymphocytes for high-endothelial venules. *J exp med* **144**: 828-833.
- Staunton, D.E., Dustin, M.L. et Springer, T.A. 1989. Functional cloning of ICAM-2, a cell adhesion ligand for LFA-1 homologous to ICAM-1. *Nature* **339**: 61-64.

- Stoddart, J.H.Jr, Jasuja, R.R., Sikorski, M.A., von Andrian, U.H. et Mier, J.W. 1996. Protease-resistant L-selectin mutants. Down-modulation by cross-linking but not cellular activation. *J Immunol* **157**: 5653-5659.
- Steeber, D.A., Engel, P., Miller, A.S., Sheetz, M.P. et Tedder, T.F. 1997. Ligation of L-selectin through conserved regions within the lectin domain activates signal transduction pathways and integrin function in human, mouse, and rat leukocytes. *J Immunol* **159**: 952-963.
- Steggmaier, M., Levinovitz, A., Isenmann, S., Borges, E., Lenter, M., Kocher, H.P., et al. 1995. The E-selectin-ligand ESL-1 is a variant of a receptor for fibroblast growth factor. *Nature* **373**: 615-620.
- Stein, J.V. et Nombela-Arrieta, C. 2005. Chemokine control of lymphocyte trafficking : a general overview. *Immunology* **116** : 1-12.
- Stenberg, P.E., McEver, R.P., Shuman, M.A., Jacques, Y.V. et Bainton, D.F. 1985. A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *J Cell Biol* **101**: 880-886.
- Stibenz D. et Bühner, C. 1994. Down-regulation of L-selectin surface expression by various leukocyte isolation procedures. *Scand. J. Immunol* **39**: 59-63.
- Streeter, P.R., Rouse, B.T.N. et Butcher, E.C. 1988. Immunohistologic and functional characterization of a vascular addressin involved in lymphocyte homing into peripheral lymph nodes. *The Journal of Cell Biology* **107**: 1853-1862.
- St-Pierre. Y., Aoudjit, F., Lalancette, M. et Potworowski, E.F. 1999. Dissemination of T cell lymphoma to target organs: a post-homing event implicating ICAM-1 and matrix metalloproteinases. *Leuk Lymphoma* **34**(1-2): 53-61.
- St-Pierre, Y. et Potworoski, E.F. 2000. T cell control of extracellular matrix degradation. *Developmental immunology* **8**: 1-7.
- Suzuki, A., Andrews, D.P., Gonzalo, J.A., Fukumoto, M., Spellberg, J., et al. 1996. CD34-deficient mice have reduced eosinophil accumulation after allergen exposure and show a novel crossreactive 90-kD protein. *Blood* **88**: 3550-3562.
- Takagi, J., Petre, B.M., Walz, T. et Springer, T.A. 2002. Global conformation rearrangements in integrin extracellular domains in outside-in and inside-out signaling. *Cell* **110**: 599-611.
- Tamatani, T., Kitamura, F., Kuida, K., Shirao, M., Mochizuki, M., Suematsu, M., Schmid-Schöbein, G., Watanabe, K., Tsurufuji, S. et Miyasaka, M. 1993. Characterization of rat LECAM-1 (L-selectin) by the use of monoclonal antibodies and evidence for the presence of soluble LECAM-1 in rat sera. *Eur J Immunol* **23**(9): 2181-2188.
- Tang, M.L., Hale, L.P., Steeber, D.A. et Tedder, T.F. 1997. L-selectin is involved in lymphocyte migration to sites of inflammation in the skin: delayed rejection of allografts in L-selectin-deficient mice. *J Immunol* **158**: 5191-5199.
- Tang, M.L. et Fiscus, L.C. 2001. Important roles for L-selectin and ICAM-1 in the development of allergic airway inflammation in asthma. *Pulm Pharmacol Ther* **14**(3): 203-210.
- Taylor, P.A., Panoskaltis-Mortari, A., Swedin, J.M., Lucas, P.J., Gress, R.E., Levine, B.L., June, C.H., Serody, J.S. et Blazar, B.R. 2004. L-selectin(hi) but not the L-selectin(lo) CD4+25+ T-regulatory cells are potent inhibitors of GVHD and BM graft rejection. *Blood* **104**(12): 3804-3812.

- Tedder, T.F., Ernst, T.J., Demetri, G.D., Isaacs, C.M., Adler, D.A. et Disteché, C.M. 1989. Isolation and chromosomal localization of cDNAs encoding a novel human lymphocyte cell surface molecule, LAM-1. Homology with the mouse lymphocyte homing receptor and other human adhesion proteins. *Journal of experimental medicine* **170**: 123-133.
- Tedder, T.F., Matsuyama, T., Rothstein, D., Schlossman, S.F. et Morimoto, C. 1990. Human antigen-specific memory T cells express the homing receptor (LAM-1) necessary for lymphocyte recirculation. *Eur J Immunol* **20**(6): 1351-1355.
- Tedder, T.F., Steeber, D.A. et Pizcueta, P. 1995. L-selectin-deficient mice have impaired leukocyte recruitment into inflammatory sites. *J Exp Med* **181**(6): 2259-2264.
- Thiery, J.P. 2003. Cell adhesion in development: a complex signalling network. *Curr Opin Genet Dev* **13**(4): 365-371.
- Thomas, W. 2006. For catch bonds, it all hinges on the interdomain region. *J Cell Biol* **174**: 911-913.
- Thorlacius, H., Prieto, J., Raud, J., Gautam, N., Patarroyo, M., Hedqvist, P. et Lindbom, L. 1997. Tumor cell arrest in the microcirculation: lack of evidence for a leucocyte-like rolling adhesive interaction with vascular endothelium in vivo. *Clin Immunol Immunopathol* **83**(1): 68-76.
- Toppila, S., Paavonen, T., Nieminen, M.S., Hayry, P. et Renkonen, R. 1999. Endothelial L-selectin ligands are likely to recruit lymphocytes into rejecting human heart transplant. *Am J Pathol* **155**(4): 1303-1310.
- Tu, L., Chen, A., Delahunty, M.D., Moore, K.L., Watson, S.R., McEver, R.P. et Tedder, T.F. 1996. L-selectin binds to P-selectin glycoprotein ligand-1 on leukocytes: interactions between the lectin, epidermal growth factor, and consensus repeat domains of the selectins determine ligand binding specificity. *J Immunol* **157**(9): 3995-4004.
- Tu, L., Poe, J.C., Kadono, T., Venturi, G.M., Bullard, D.C., Tedder, T.F. et Steeber, D.A. 2002. A functional role for circulating mouse L-selectin in regulating leukocyte/endothelial cell interactions in vivo. *The Journal of Immunology* **169**: 2034-2043.
- Tudor, K.S.R.S., Hess, K.L. et Cook-Mills, J.M. 2001. Cytokines modulate endothelial cell intracellular signal transduction required for VCAM-1-dependent lymphocyte transendothelial migration. *Cytokine* **15**: 196-211.
- Turunen, J.P., Paavonen, T., Majuri, M.L., Tiisala, S., Mattila, P., Mennander, A., Gahmberg, C.G., Hayry, P., Tamatani, T., Miyasaka, M. et al. 1994. Sialyl Lewis(x)- and L-selectin-dependent site-specific lymphocyte extravasation into renal transplants during acute rejection. *Eur J Immunol* **24**(5): 1130-1136.
- Turunen, J.P., Majuri, M.L., Seppo, A., Tiisala, S., Paavonen, T., Miyasaka, M., Lemstraom, K., Penttilaa, L., Renkonen, O. et Renkonen, R. 1995. De novo expression of endothelial sialyl Lewis(a) and sialyl Lewis(x) during cardiac transplant rejection: Superior capacity of a tetravalent sialyl Lewis(x) oligosaccharide in inhibiting L-selectin-dependent lymphocyte adhesion. *J Exp Med* **182**: 1134-1141.
- Van Zante, A. et Rosen, S.D. 2003. Sulphated endothelial ligands for L-selectin in lymphocyte homing and inflammation. *Biochem soc trans* **31**: 313-317.
- Vardiman, J.W., Harris, N.L. et Brunning, R.D. 2002. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* **100**(7): 2292-2302.

- Varki, A. 1997. Perspectives series: cell adhesion in vascular biology. Selectin Ligands: Will the real ones please stand up? *J Clin Invest* **99**(2): 158-162.
- Venturi, G.M., Tu, L., Kadono, T., Khan, A.I., Fujimoto, Y., Oshel, P., Bock, C.B., Miller, A.S., Albrecht, R.M., Kubes, P., Steeber, D.A. et Tedder, T.F. 2003. Leukocyte migration is regulated by L-selectin endoproteolytic release. *Immunity* **19**: 713-724.
- Vestweber, D. Adhesion and signalling molecules controlling the transmigration of leukocytes through endothelium. *Immunol Rev* **218**: 178-196.
- Volpes, R., VanDenOord, J.J. et Desmet, V.J. 1992. Vascular adhesion molecules in acute and chronic liver inflammation. *Hepatology* **15**(2): 269-275.
- Von Adrian, U.H., Hasslen, S.R., Nelson, R.D., Erlandsen, S.L. et Butcher, E.C. 1995. A central role for microvillous receptor presentation in leucocyte adhesion under flow. *Cell* **82**(6): 989-999.
- Wada, Y., Saito, T., Matsuda, N., Ohmoto, H., Yoshino, K., Ohashi, M. et Kondo, H. 1996. Studies on selectin blockers. 2. Novel selectin blocker as potential therapeutics for inflammatory disorders. *J Med Chem* **39**(10): 2055-2059.
- Waddell, T.K., Fialkow, L., Chan, C.K., Kishimoto, T.K. et Downey, G.P. 1994. Potentiation of the oxidative burst of human neutrophils. A signalling role for L-selectin. *J Biol Chem* **269**: 18485-18491.
- Waddell, T.K., Fialkow, L., Chan, C.K., Kishimoto, T.K. et Downey, G.P. 1995. Signaling functions of L-selectin – enhancement of tyrosine phosphorylation and activation of MAP kinase. *J Biol Chem* **270**: 15485-15411.
- Walcheck, B., Moore, K.L., McEver, R.P. et Kishimoto, T.K. 1996. Neutrophil-neutrophil interactions under hydrodynamic shear stress involve L-selectin and PSGL-1: a mechanism that amplifies initial leukocyte accumulation on P-selectin in vitro. *J Clin Invest* **98**(5): 1081-1087.
- Walcheck, B., Kahn, J., Fisher, J.M., Wang, B.B., Fisk, R.S., Paayan, D.G., Feehan, C., Betageri, R., Darlak, K., Spatola, A.F. et Kishimoto, T.K. 1996b. Neutrophil rolling altered by inhibition of L-selectin shedding in vitro. *Nature* **380**(6576): 720-723.
- Walcheck, B., Alexander, S.R., St-Hill, C.A. et Matala, E. 2003. ADAM-17-independent shedding of L-selectin. *J Leukoc Biol* **74**: 389-394.
- Walcheck, B., Herrera, A.H., St.Hill,C., Mattila, P.E., Whitney, A.R. et DeLeo,F.R. 2006. ADAM17 activity during human neutrophil activation and apoptosis. *Eur JImmunol* **36**: 968-976.
- Walev, I., Tappe, D., Gulbins, E. et Bhakdi, S. 2000. Strptolysin O-permeabilized granulocytes shed L-selectin concomitantly with ceramide generation via neutral sphingomyelinase. *J Leukoc Biol* **68**: 865-872.
- Wang, J. et Springer, T.A. 1998. Structural specializations of immunoglobulin superfamily members for adhesion to integrins and viruses. *Immunol Rev* **163**: 197-215.
- Wang, J.F., Marschner, S. et Finkel, T.H. 2004. CXCR4 engagement is required for HIV-1-induced L-selectin shedding. *Blood* **103**(4): 1218-1221.

- Wang, Z., Wang, M. et Carr, B.I. 2008. Integrin alpha5-induced EGFR activation by prothrombin triggers hepatocyte apoptosis via the JNK signalling pathway. *J Cell Physiol* **216**(2): 551-557.
- Weinberg, R.A. 1996. How cancer arises. *Scientific American* **275**(3): 62-70.
- Wenisch, C., Myskiw., D., Gessl., A. et Graninger, W. 1995. Circulating selectins, intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* **80**: 2122-2126.
- Wikman, A., Lundahl, J., Fernvik, E. et Shanwell, A. 1994. Altered expression of adhesion molecules (L-selectin and Mac-1) on granulocytes during storage. *Transfusion* **34**: 167-171.
- Wilhelmsen, K., Litjens, S.H., Kuikman, I., Margadant, C., vanRheenen, J. et Sonnenberg, A. 2007. Serine phosphorylation of the integrin beta4 subunit is necessary for epidermal growth factor receptor induced hemidesmosome disruption. *Mol Biol Cell* **18**(9): 3512-3522.
- Williams, C.J., Grandal, I., Vesprini, D.J., Wojtyra, U.U., Danska, J.S. et Guidos, C.J. 2001. Irradiation promotes V(D)J joining and RAG-dependent neoplastic transformation in SCID T-cell precursors. *Mol Cell Biol* **21**: 400-413.
- Wittig, B.M., Kaulen, H., Thees, R., Schmitt, C., Knolle, P., Stock, J., Meyer, Z., Buschenfelde, K.H. et Dippold, W. 1996. Elevated serum E-selectin in patients with liver metastases of colorectal cancer. *Eur J Cancer* **32A**(7): 1215-1218.
- Woltmann, G., McNulty, C.A., Dewson, G., Symon, F.A. et Wardlaw, A.J. 2000. Interleukin-13 induces PSGL-1/P-selectin-dependent adhesion of eosinophils, but not neutrophils, to human umbilical vein endothelial cells under flow. *Blood* **95**: 3146-3152.
- Wong, J., Johnston, B., Lee, S.S., Bullard, D.C., Smith, C.W., Beudet, A.L. et Kubes, P. 1997. A minimal role for selectins in the recruitment of leucocytes into the inflamed liver microvasculature. *J Clin Invest* **99**(11): 2782-2790.
- Woodside, D.G., Kram, R.M., Mitchell, J.S., Belsom, T., Billard, M.J., McIntyre, B.W. et Vanderslice, P. 2006. Contrasting roles for domain 4 of VCAM-1 in the regulation of cell adhesion and soluble VCAM-1 binding to integrin  $\alpha 4 \beta 1$ . *The journal of immunology* **176**: 5041-5049.
- Wulf, G.G., Boehnke, A., Chapuy, B., Glass, B., Hemmerlein, B., Schroers, R., Brenner, M.K. et Truemper, L. 2006. CD45 monoclonal antibody-mediated cytotoxicity of human NK and T lymphoma cells. *Haematologica/the haematology journal* **91**(7): 886-894.
- Xia, M., Leppert, D., Hauser, S., Sreedharan, D., Nelson, P. et Krensky, A. 1996. Stimulus specificity of matrix metalloproteinase: dependence of human T cell migration through a model basement membrane. *J Immunol* **156**: 160-167.
- Xiao, T., Takagi, J., Wang, J.-h., Collier, B.S. et Springer, T.A. 2004. Structural basis for allostery in integrins and binding of ligand-mimetic therapeutics to the platelet receptor for fibrinogen. *Nature* **432**: 59-67.
- Xie, J., Li, R., Kotovuori, P., et al. 1995. Intercellular adhesion molecule-2 (CD102) binds to the leukocyte integrin CD11b/CD18 through the A domain. *J Immunol* **155**: 3619-3628.
- Xiong, J.-P., Stehle, T., Diefenbach, B., Zhang, R., Dunker, R., Scott, D.L., Joachimiak, A., Goodman, S.L. et Arnaout, M.A. 2001. Crystal structure of the extracellular segment of integrin  $\alpha V \beta 3$ . *Science* **294**: 339-345.

- Xu, J., Grewal, I.S., Geba, G.P. et Flavell, R.A. 1996. Impaired primary T cell responses in L-selectin-deficient mice. *J Exp Med* **183**(2): 589-598.
- Yamada, M., Yanaba, K., Takehara, K. et Sato, S. 2005. Clinical significance of serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 and soluble L-selectin in malignant melanoma. *Arch Dermatol Res* **297**(6): 256-260.
- Yang, J., Hirata, T., Croce, K., Merrill-Skoloff, G., Tchernychev, B., Williams, E., et al. 1999. Targeted gene disruption demonstrates that P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is required for P-selectin-mediated but not E-selectin-mediated neutrophil rolling and migration. *J Exp Med* **190**: 1769-1782.
- Yao, L., Pan, J., Setiadi, H., Patel, K.D. et McEver, R.P. 1996. Interleukin 4 or oncostatin M induces a prolonged increase in P-selectin mRNA and protein in human endothelial cells. *J Exp Med* **184**: 81-92.
- Ye, C., Kiriyaama, K., Mistuoka, C., Kannagi, R. Ito, K., Watanabe, T., Kondo, K., Akiyama, S. et Takagi, H. 1995. Expression of E-selectin on endothelial cells of small veins in human colorectal cancer. *Int J Cancer* **61**(4): 455-460.
- Yong, K. et Khwaja, A. 1990. Leucocyte cellular adhesion molecules. *Blood Rev* **4**(4) : 211-225.
- Young, P.E., Baumhueter, S., et Lasky, L.A. 1995. The sialomucin CD34 is expressed on hematopoietic cells and blood vessels during murine development. *Blood* **85**: 96-105.
- Zanetti, A.C.W., Berndt, M.C., Butcher, C., Butcher, E.C., Vadas, M.A. et Simmons, P.J. 1995. Primitive human hematopoietic progenitors adhere to P-selectin (CD62P). *Blood* **85**(12) : 3466-3477.
- Zarbock, A., Polanowska-Grabowska, R.K. et Ley, K. 2006. Platelet-neutrophil-interactions : linking hemostasis and inflammation. *Blood Rev* **21**: 99-111.
- Zhao, L.-c., Shey, M., Farnsworth, M. et Dalley, M.O. 2001. Regulation of membrane metalloproteolytic cleavage of L-selectin (CD62L) by Epidermal Growth Factor domain. *The Journal of Biological Chemistry* **276**(33): 30631-30640.
- Zhao, L.C., Edgar, J.B. et Dalley, M.O. 2001b. Characterization of the rapid proteolytic shedding of murine L-selectin. *Dev Immunol* **8**(3-4):267-277.
- Zhou, Q., Moore, K.L., Smith, D.F., Varki, A., McEver, R.P. et Cummings, R.D. 1991. The selectin GMP-140 binds to sialylated, fucosylated lactosaminoglycans on both myeloid and nonmyeloid cells. *The journal of cell biology* **115**(2): 557-564.
- Zocchi, M.R., Ferrero, E., Leone, B.E., Rovere, P., Bianchi, E., Toninelli, E. et Pardi, R. 1996. CD31/PECAM-1-driven chemokine-independent transmigration of human T lymphocytes. *Eur J Immunol* **26**(4): 759-767.
- Zöllner, O., Lenter, M.C., Blanks, J.E., Borges, E., Steegmanier, M., Zerwes, H.G., et al. 1997. L-selectin from human, but not from mouse neutrophils binds directly to E-selectin. *J Cell Biol* **136**: 707-716.
- Zuckerman, L.A., Pullen, L. et Miller, J. 1998. Functional consequences of costimulation by ICAM-1 on IL-2 gene expression and T cell activation. *J Immunol* **160**: 3259-3268.

**Sites Internet :**

<http://www.leukemia-lymphoma.org>

<http://www.cancer.ca>