



Faculté des Sciences,  
de la Technologie  
et de la Communication

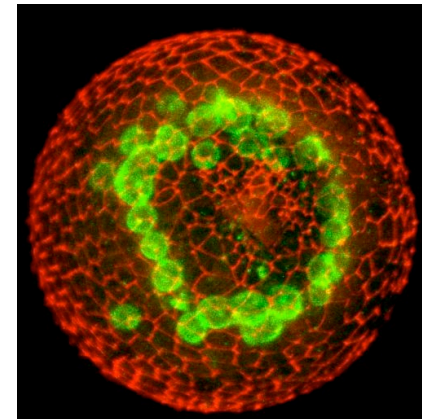
# L'endothélium vasculaire, un facteur de l'inflammation

Jean-Luc Bueb

# Feuillets embryonnaires

## 3 feuillets, à l'origine des différents tissus

- **Ectoderme**
  - système nerveux
  - peau
- **Mésoderme**
  - tissu conjonctif
  - muscles, os
  - Sang, vaisseaux lymphatiques et sanguins
- **Endoderme**
  - tissu épithélial de l'appareil digestif
  - poumons
  - foie
  - pancréas...



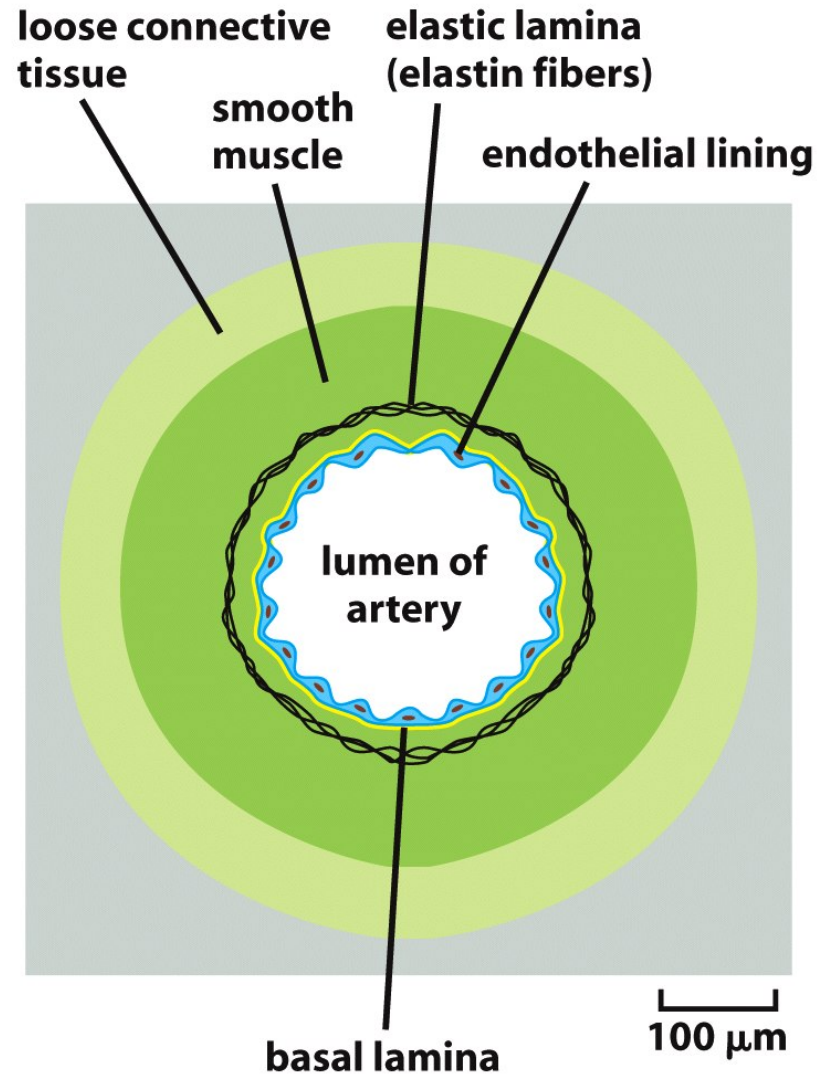
embryon d'oursin  
150  $\mu\text{m}$

*Iconographie, si non précisée :  
Molecular Biology of the Cell  
Biology Image Library*

# Cellule endothéliale, capillaire

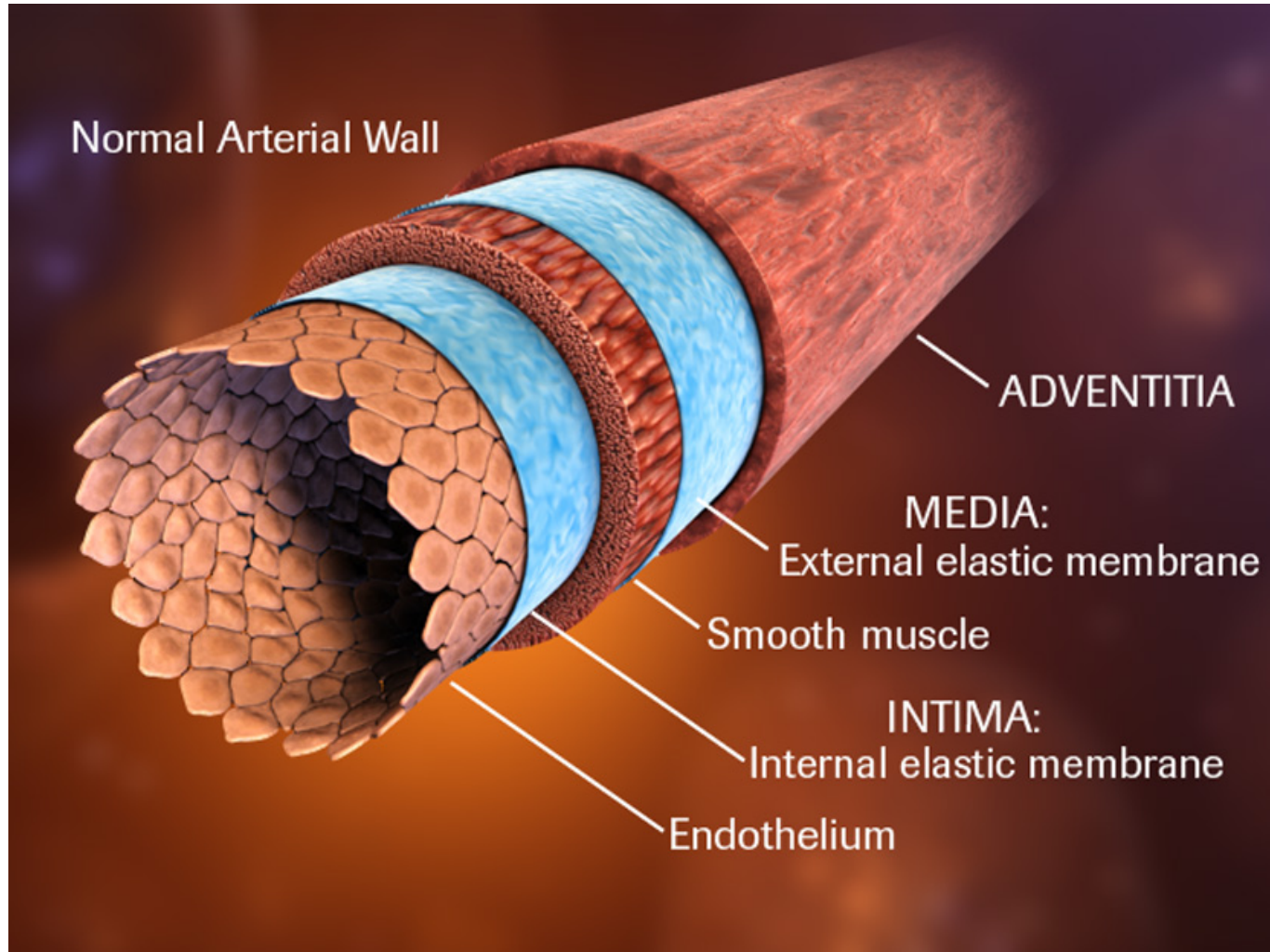


# Coupe transversale d'artère





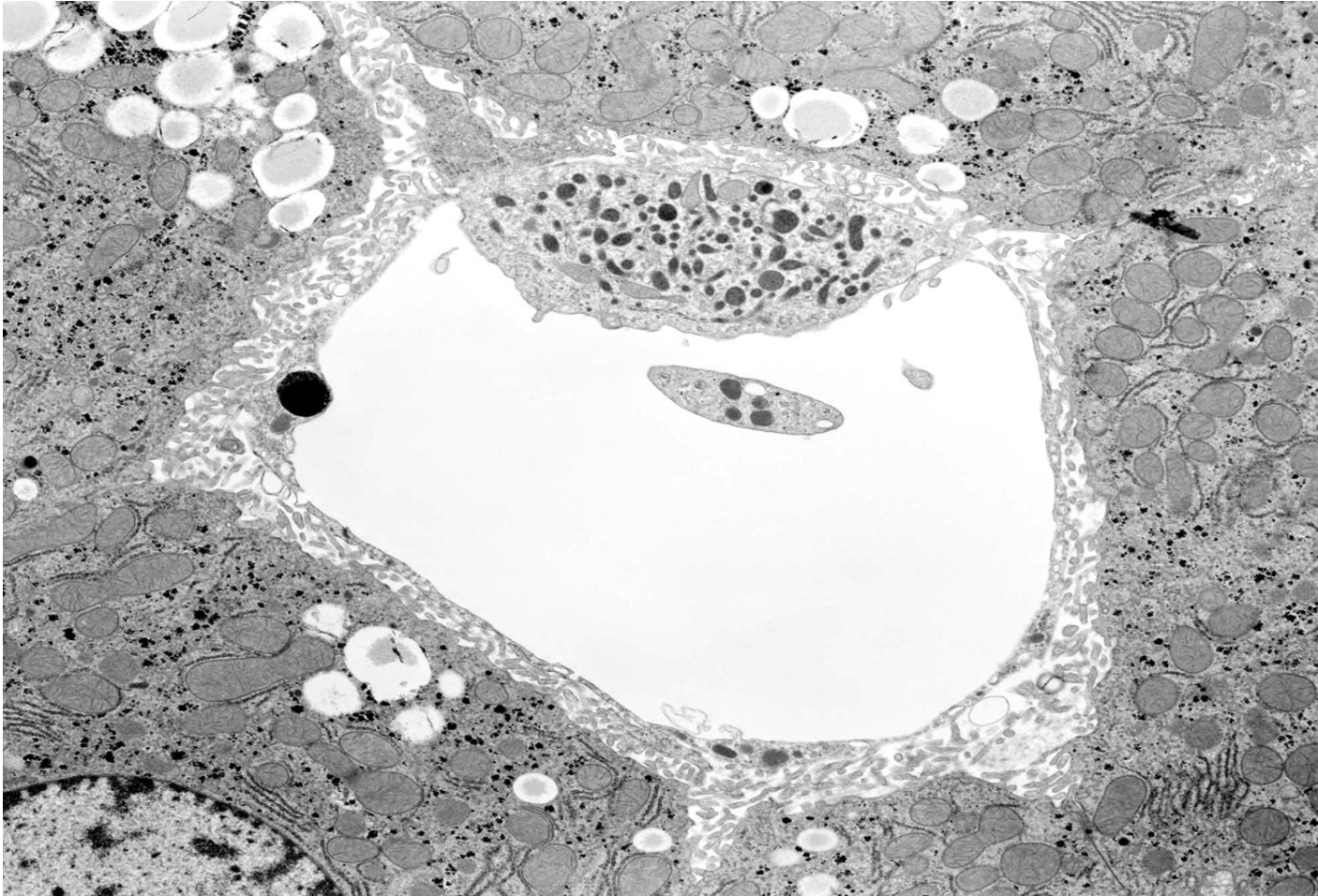
# Coupe transversale d'artère



3fx.com

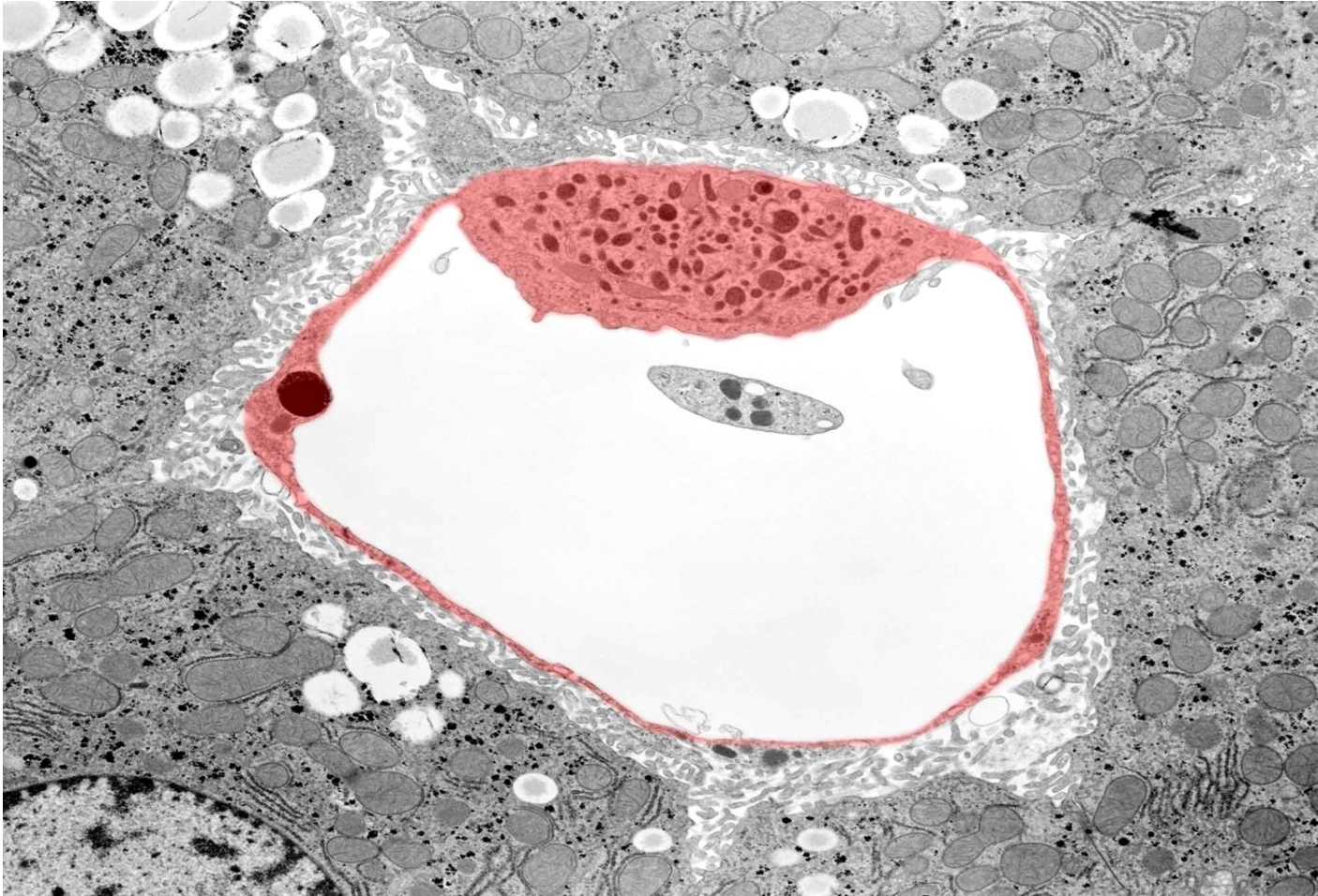


# Cellule endothéliale, foie





# Cellule endothéliale, foie

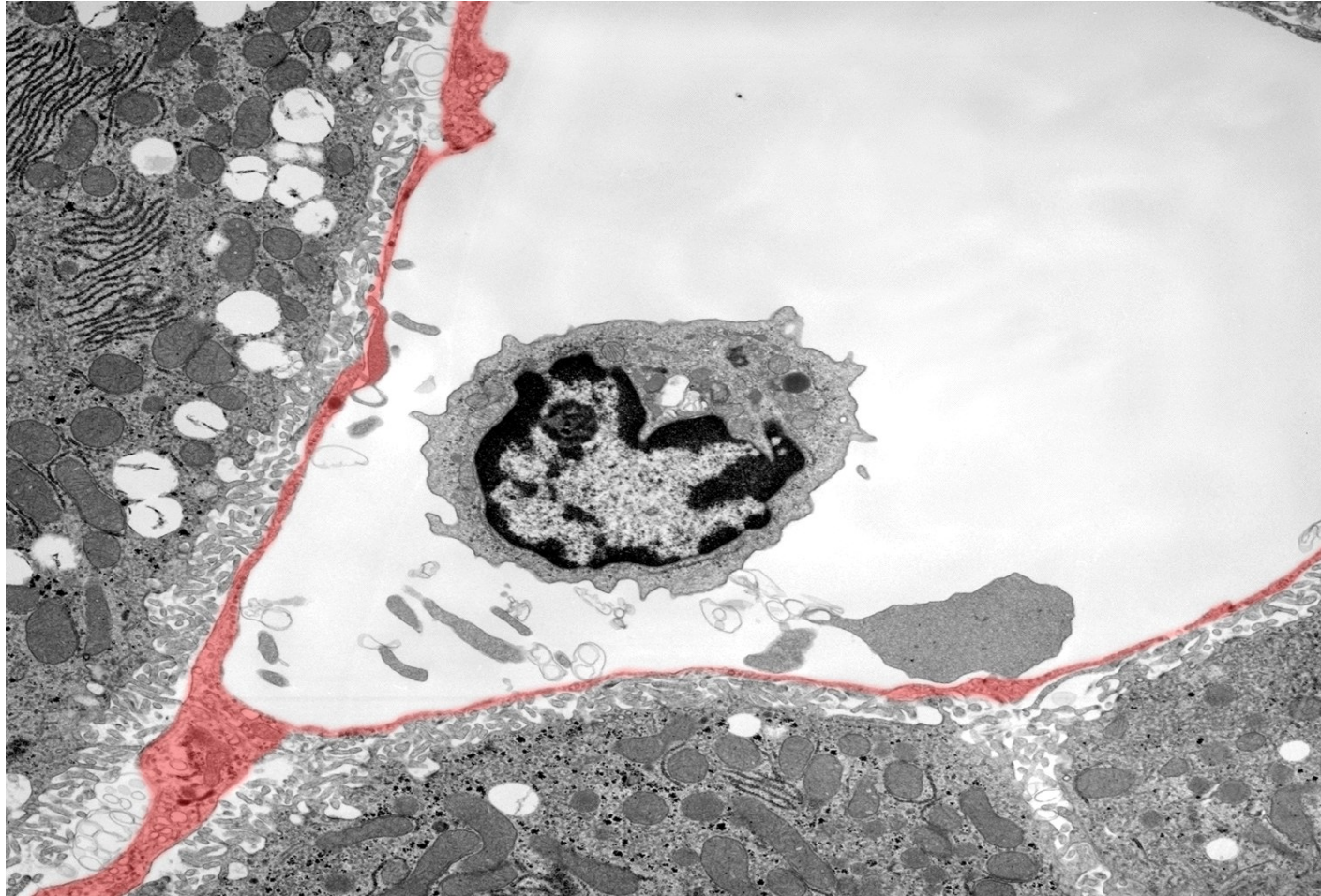


# Endothélium, acinus hépatique



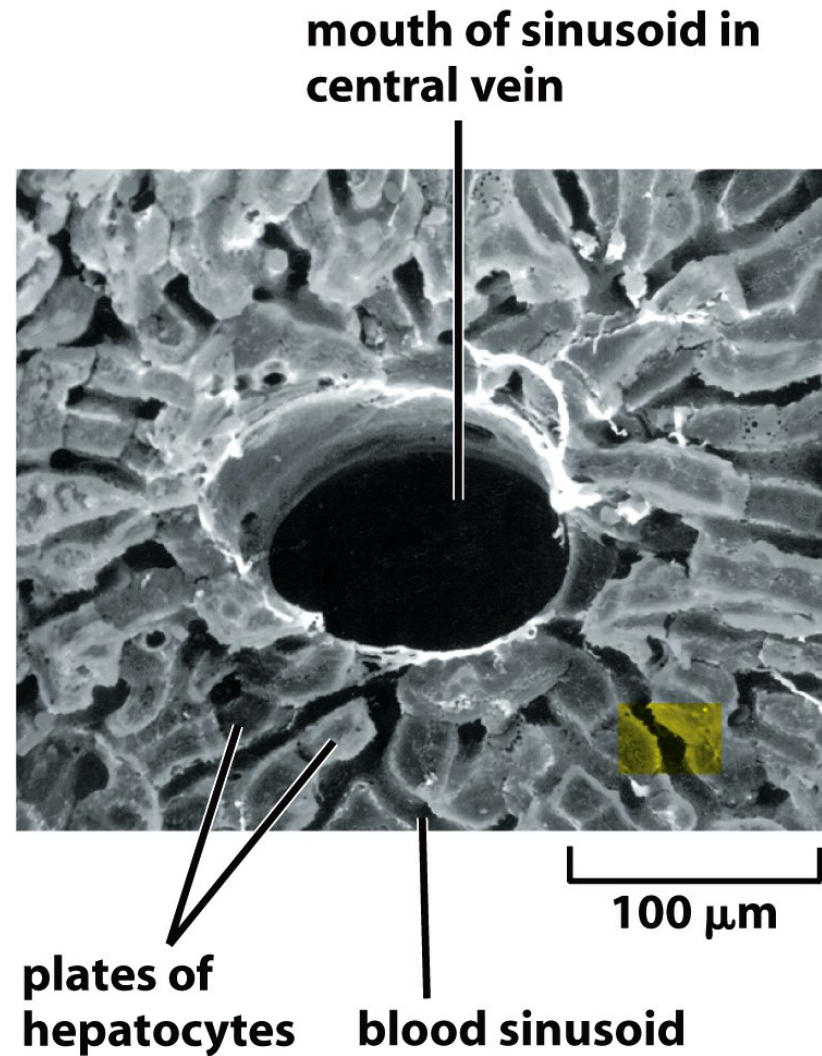


# Endothélium, acinus hépatique

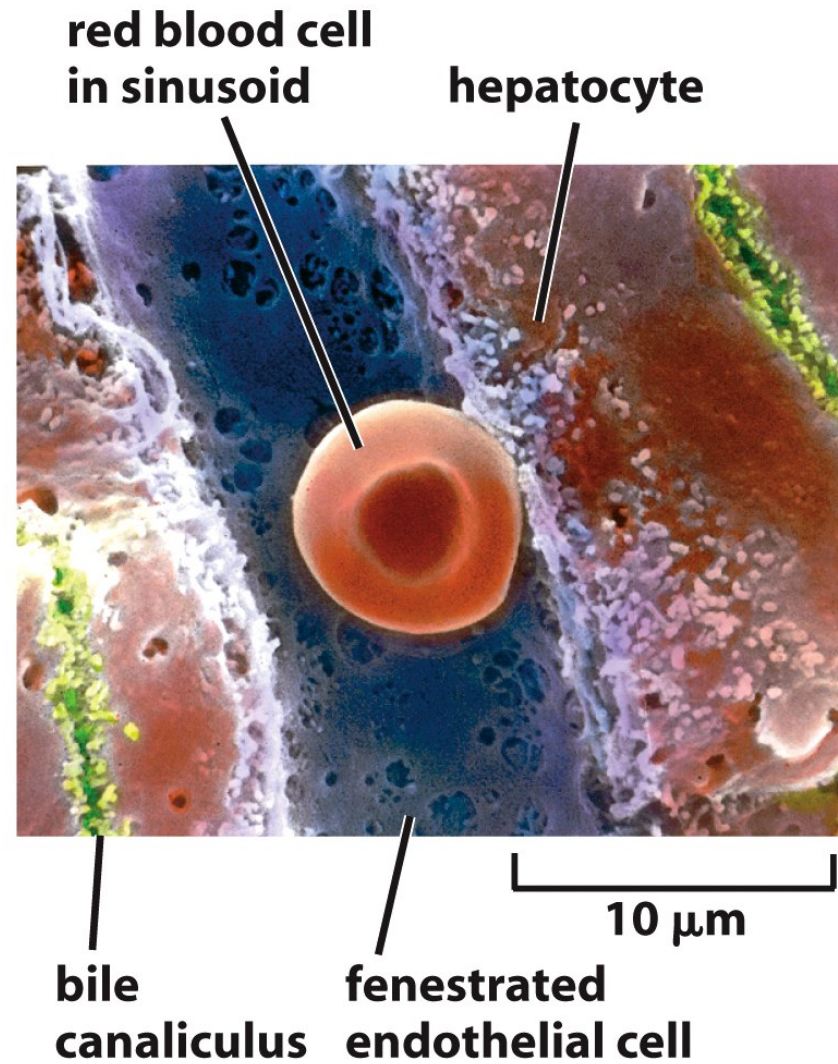




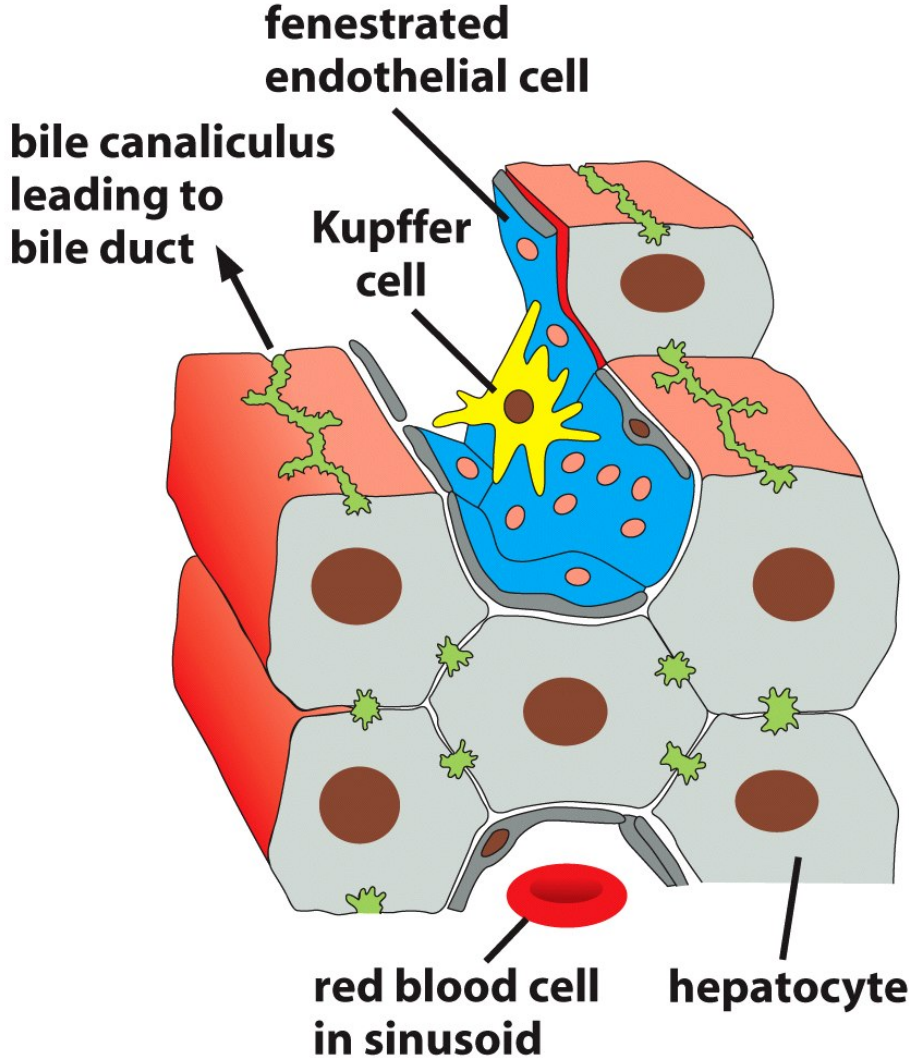
# Endothélium, acinus hépatique



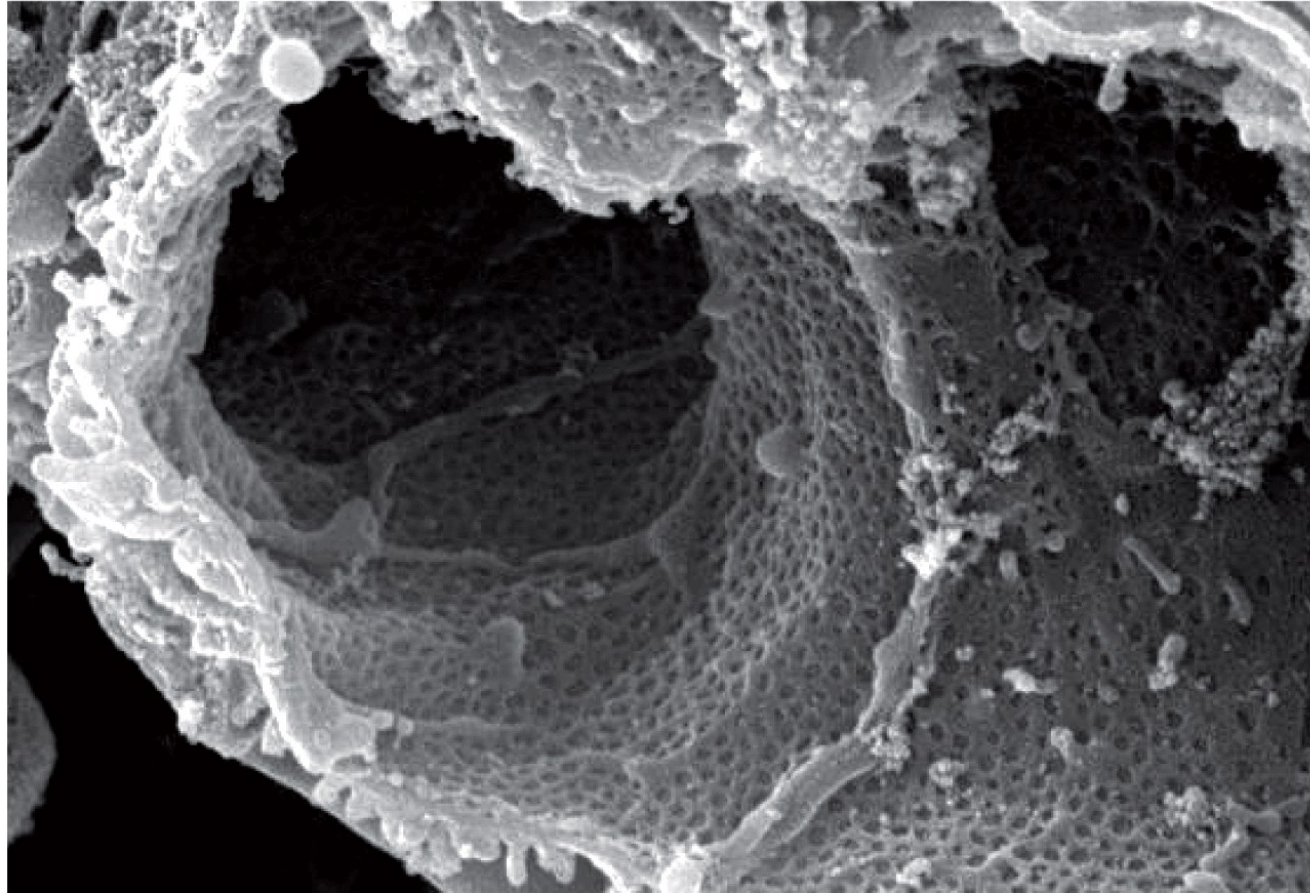
# Endothélium, acinus hépatique



# Endothélium, acinus hépatique



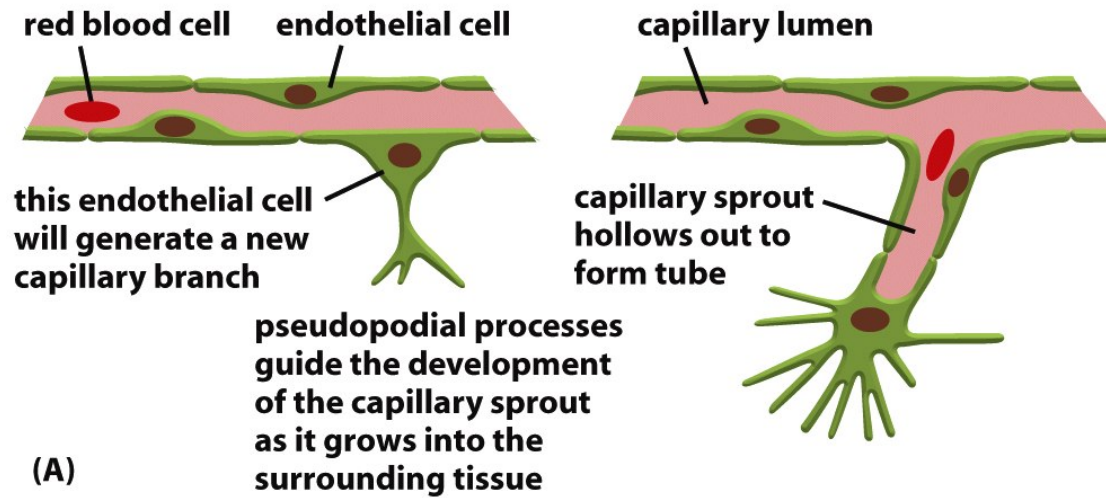
# Endothélium, glomérule rénal



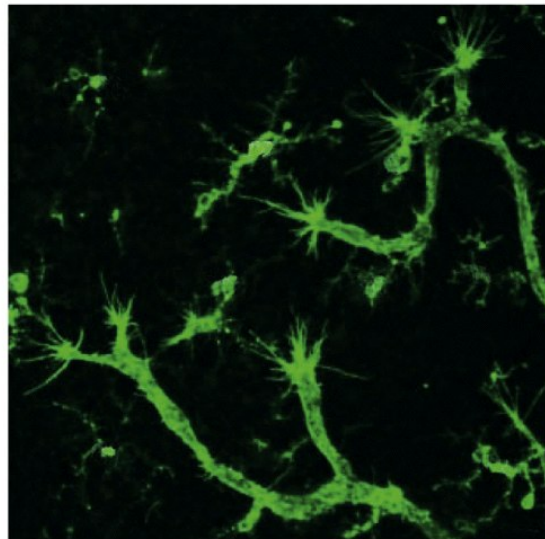
1 μm



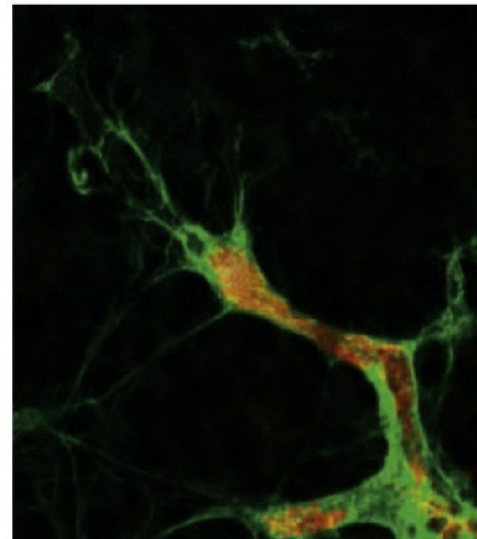
# Vasculogenèse / Angiogenèse



rétine  
embryon de souris



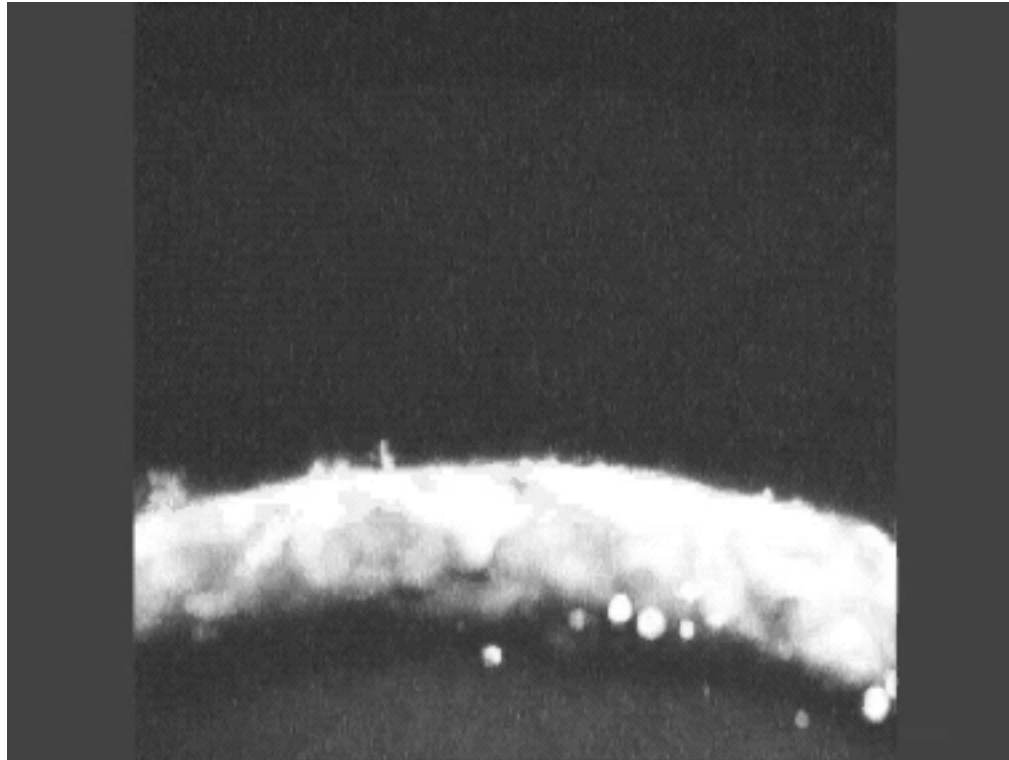
(B)



(C)

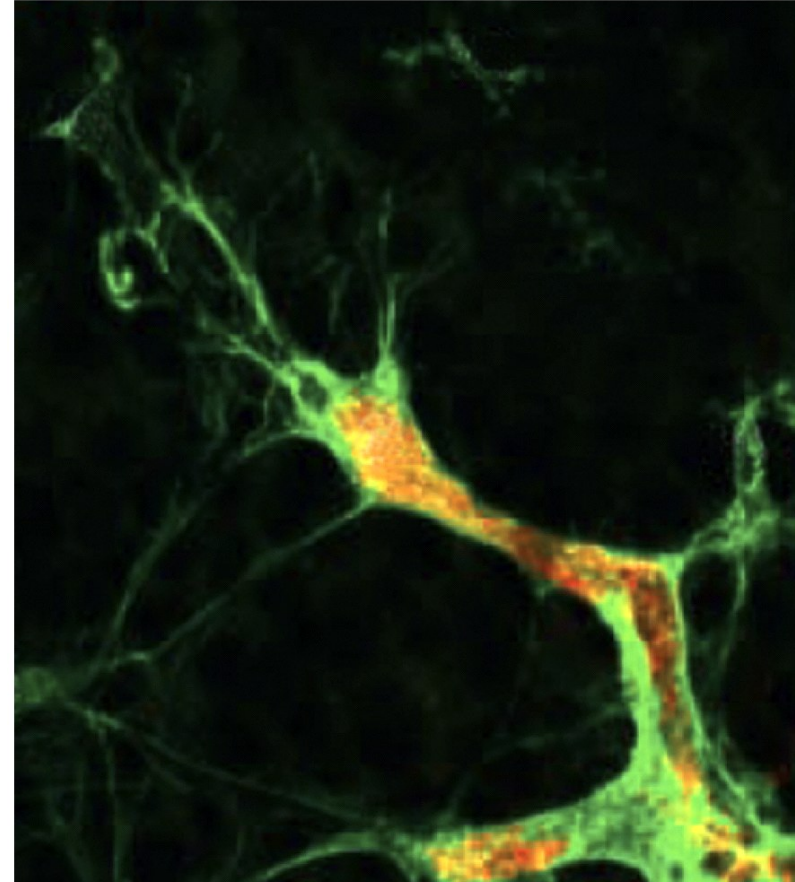
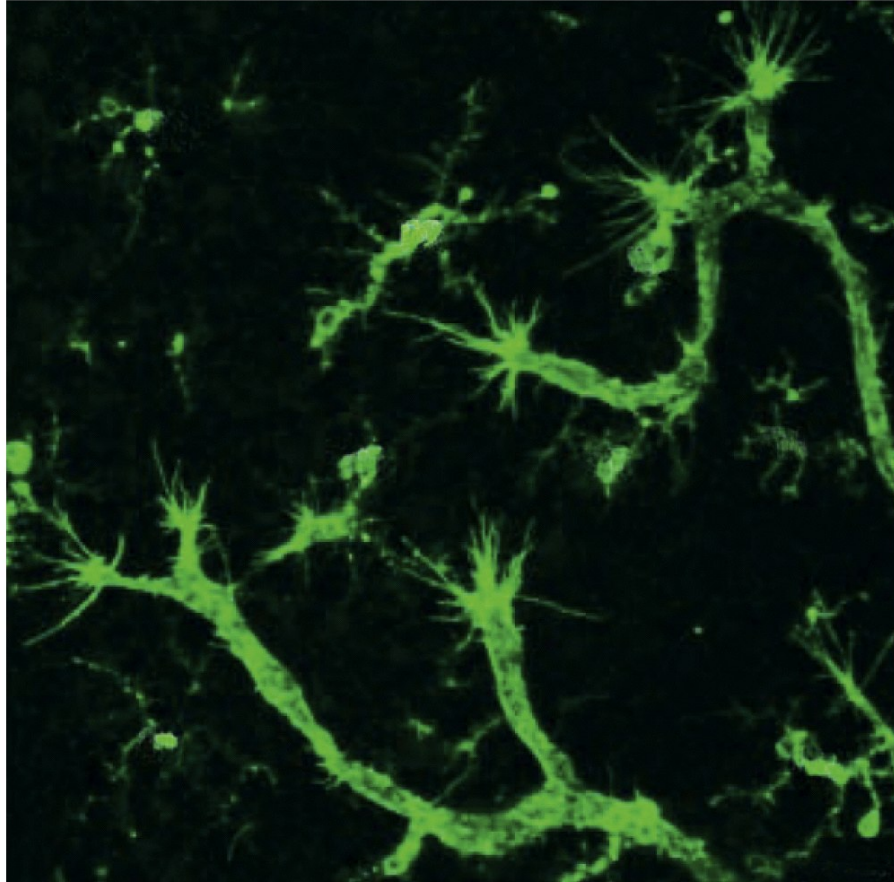


# Angiogenèse



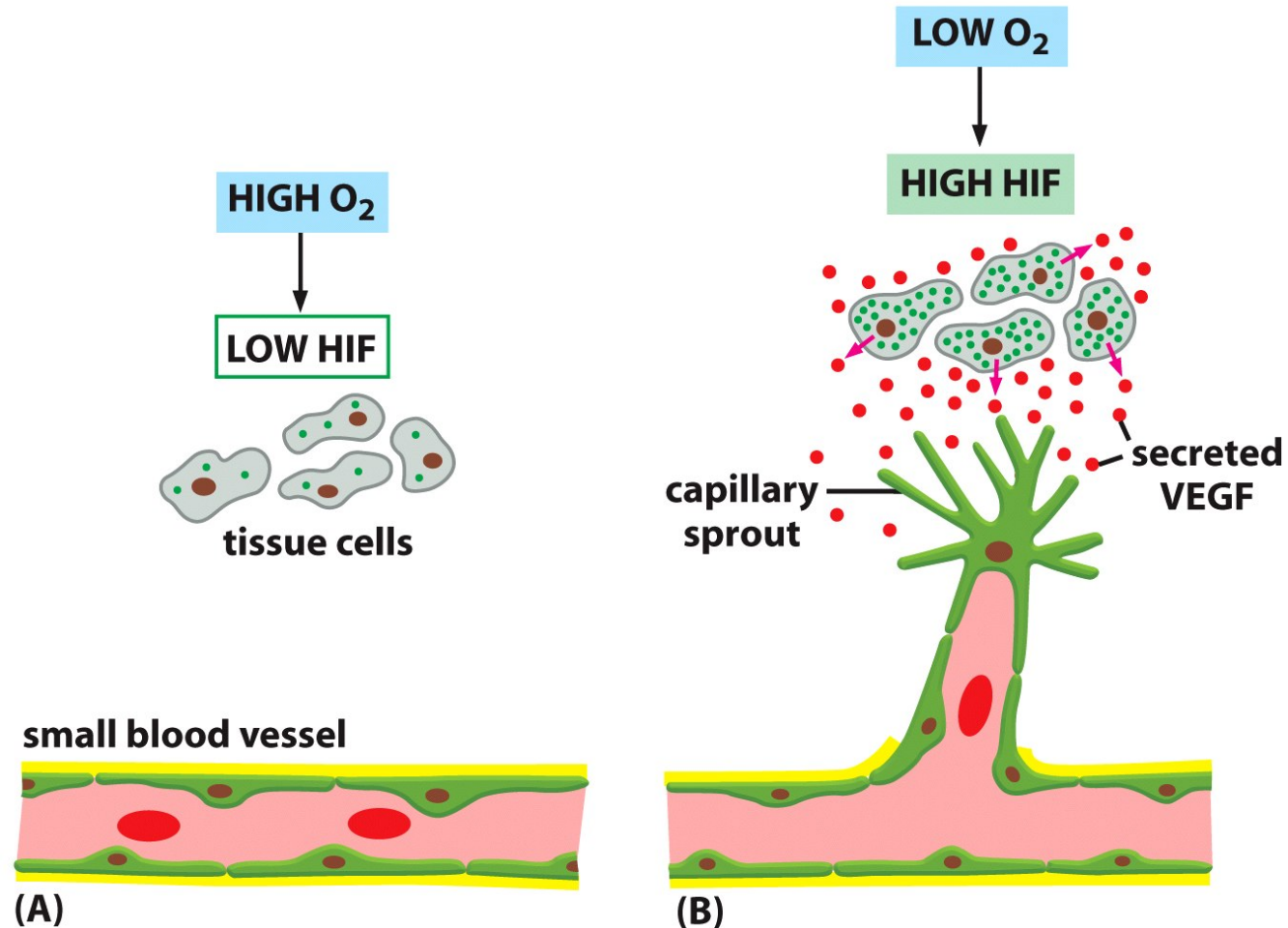
aorte  
embryon de poisson-zèbre

# Angiogenèse



# Facteur induit par l'hypoxie

## Facteur de transcription





# Cicatrisation



**control**

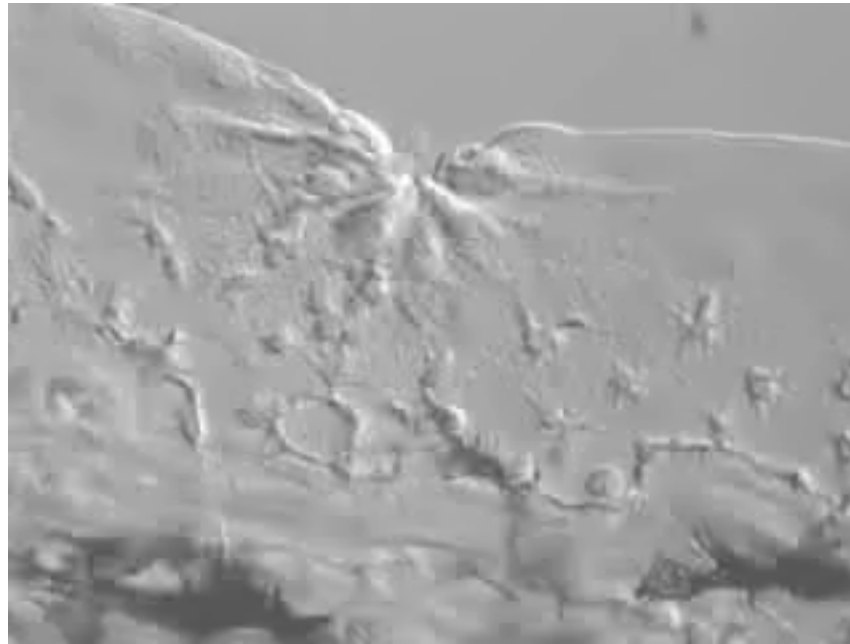
100  $\mu\text{m}$



**60 hours after wounding**

100  $\mu\text{m}$

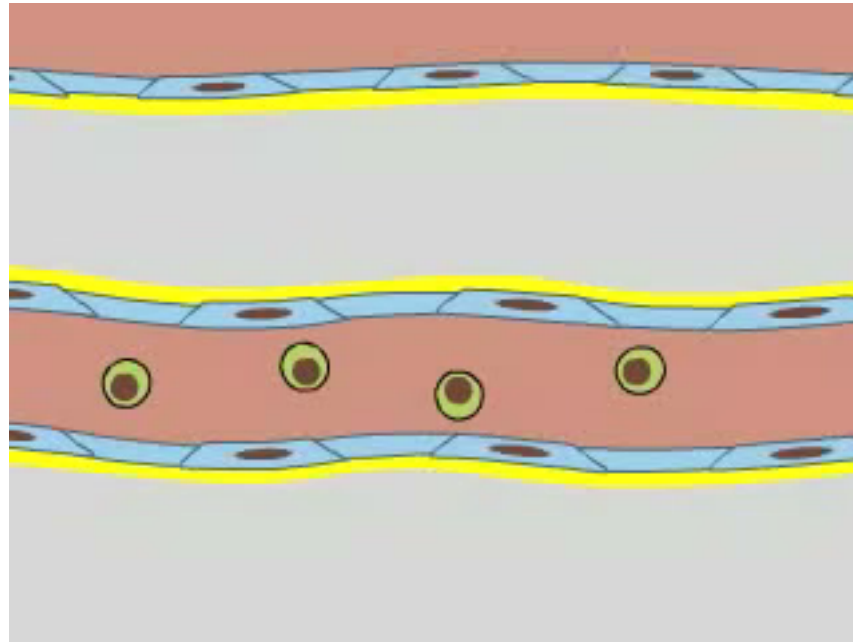
# Cicatrisation



nageoire  
larve de poisson-zèbre

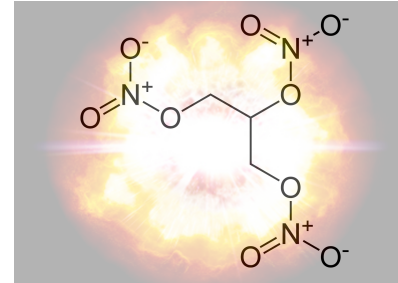
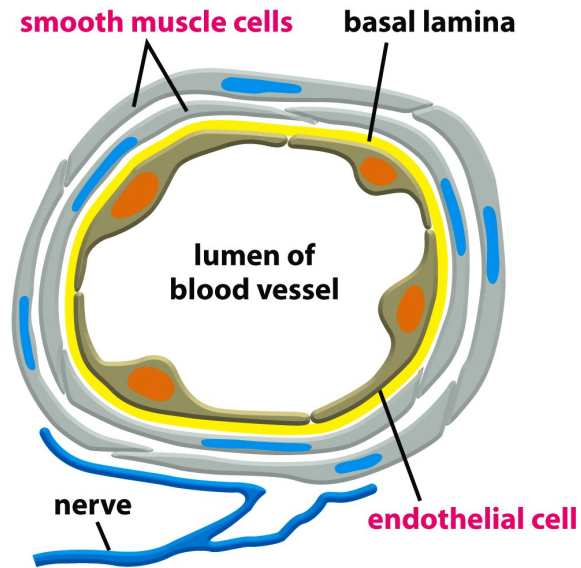


# Migration de leucocytes



souris

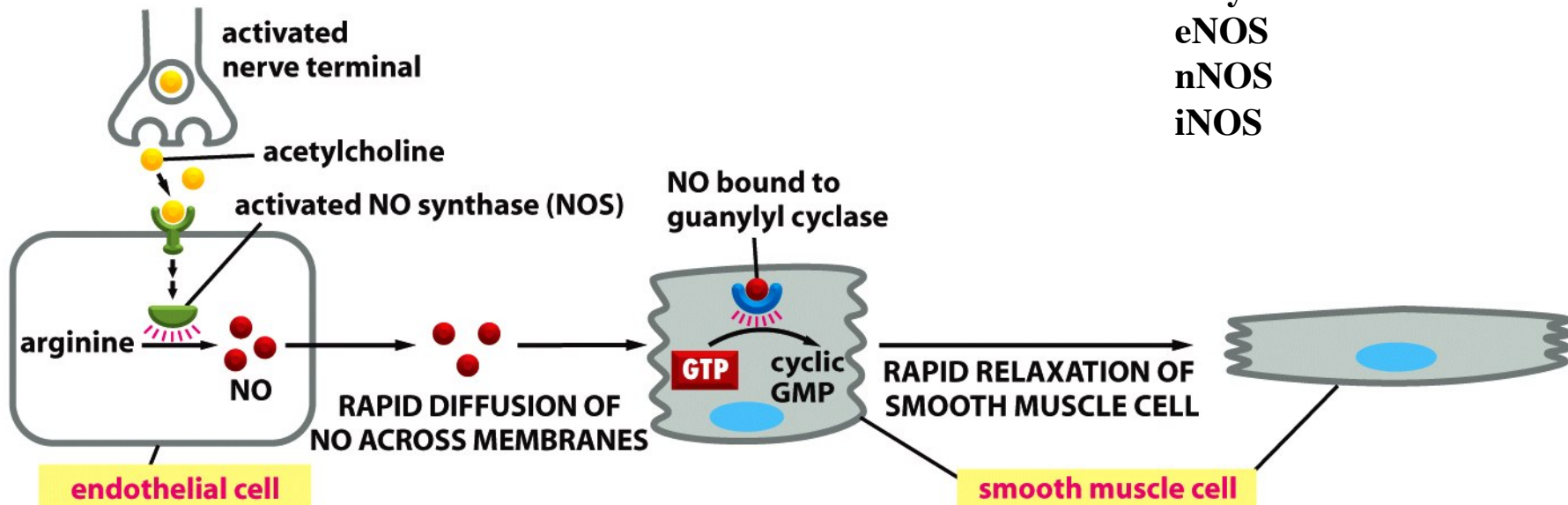
# EDRF...



Silfenadil (citrate) :  
inhibiteur PDE5

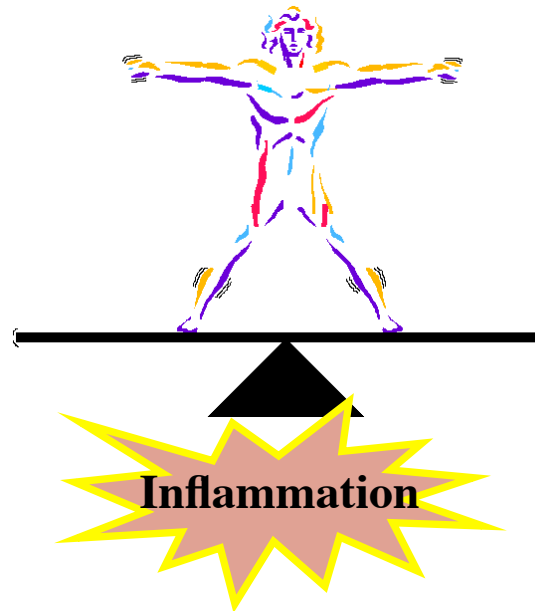
Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro, Ferid Murad  
*Nobel Prize in Medicine, 1998*

**NO synthases:**  
eNOS  
nNOS  
iNOS



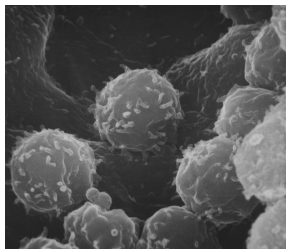
# Homéostasie

- NO
- PGI<sub>2</sub>



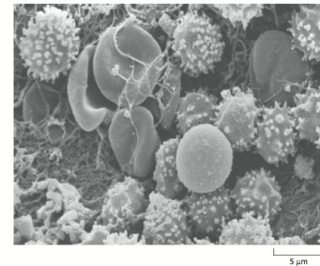
- Endothéline-1
- PAF

- MCP-1

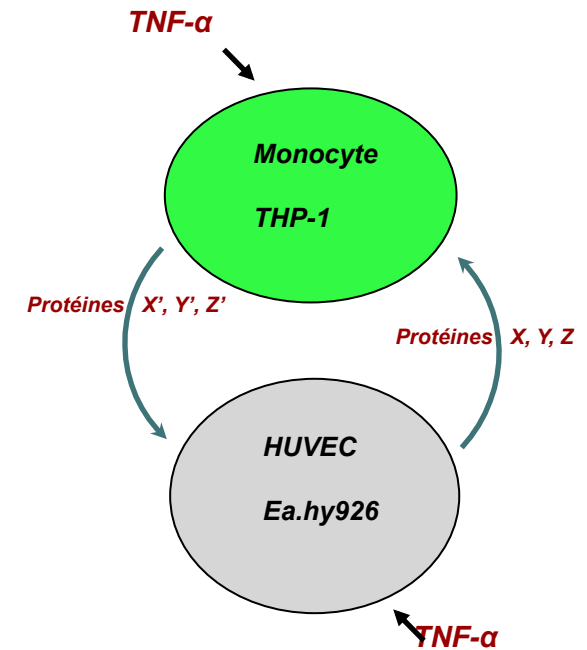
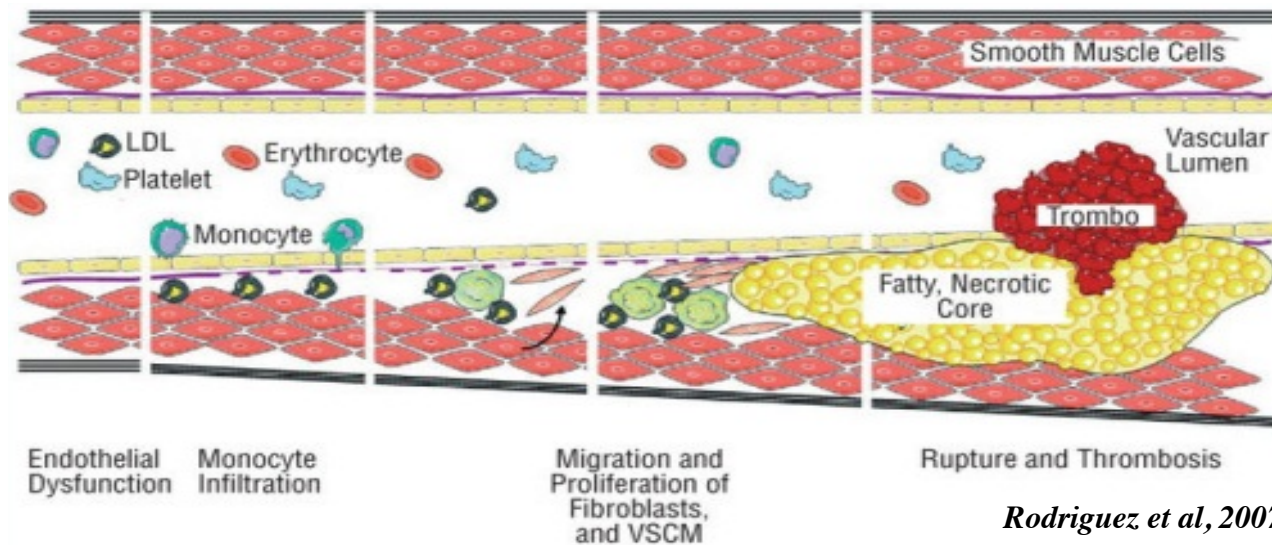


- vWF

- PAF



# Communication entre endothélium et monocytes en conditions inflammatoires



± Vitamine D3

- protéines sécrétées
- adhésion : modèle original de coating ICAM-1, pour LFA-1

# Microarray

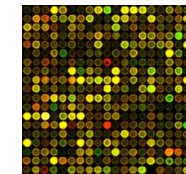
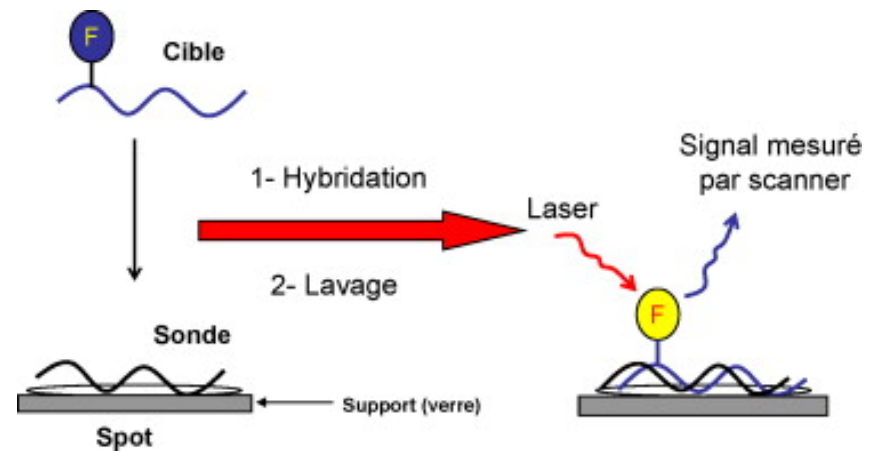
- **Traitement**
  - avec et sans TNF  
et / ou
  - avec et sans Vitamine D3

- **Temps**
  - 1h
  - 4h
  - 24h

- **illumina human 12 v 4.0**



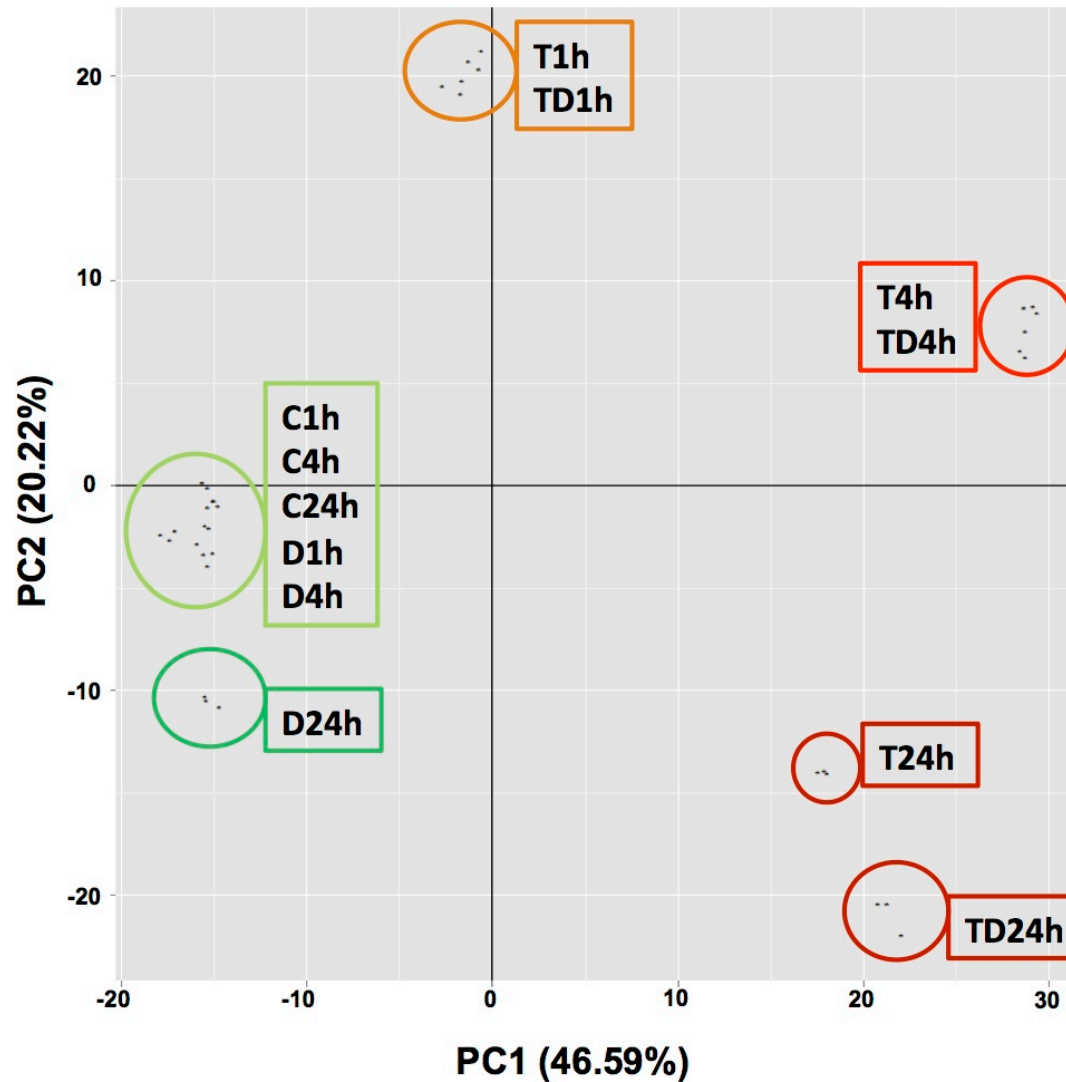
47000 sondes





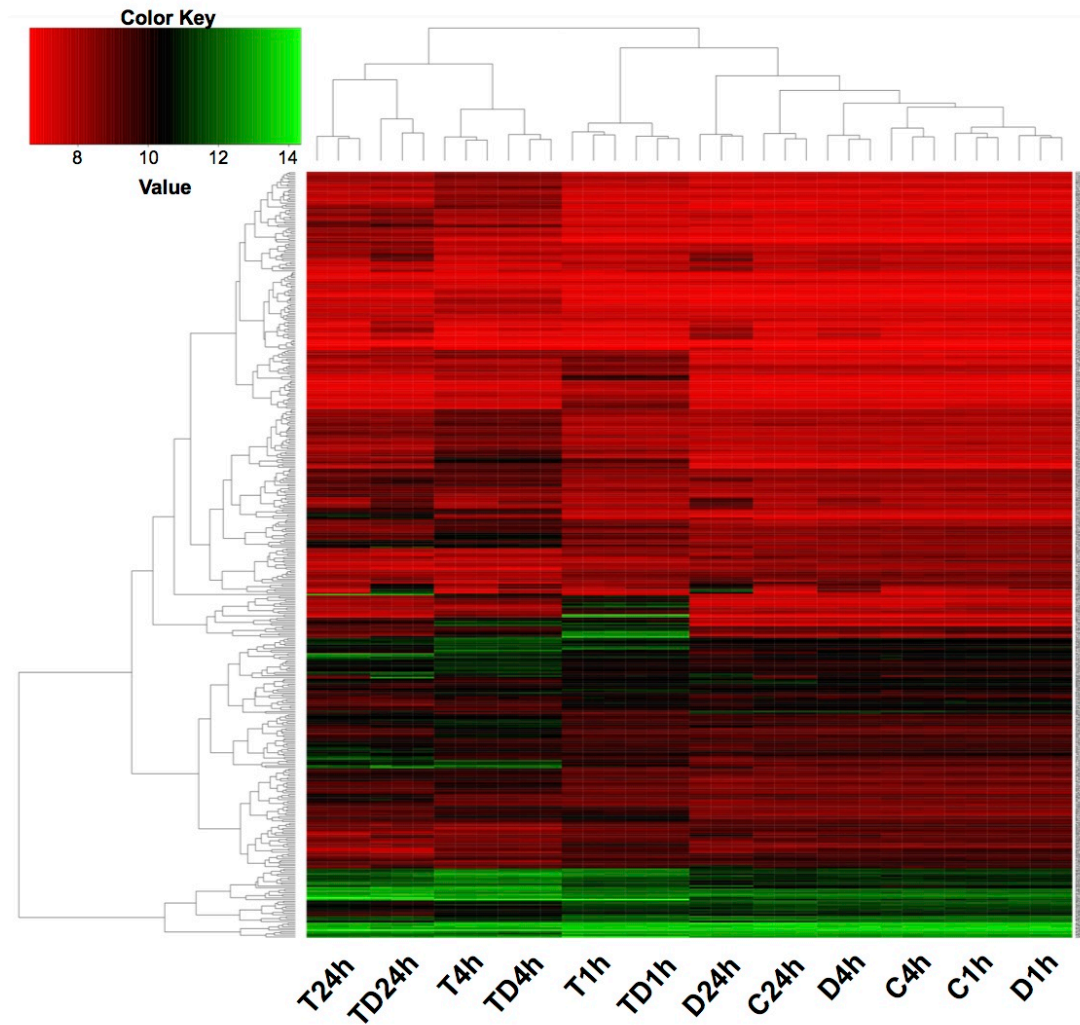
# Analyse en composantes principales

Principle Component Analysis



36 microarrays

# Heatmap



**463 genes**

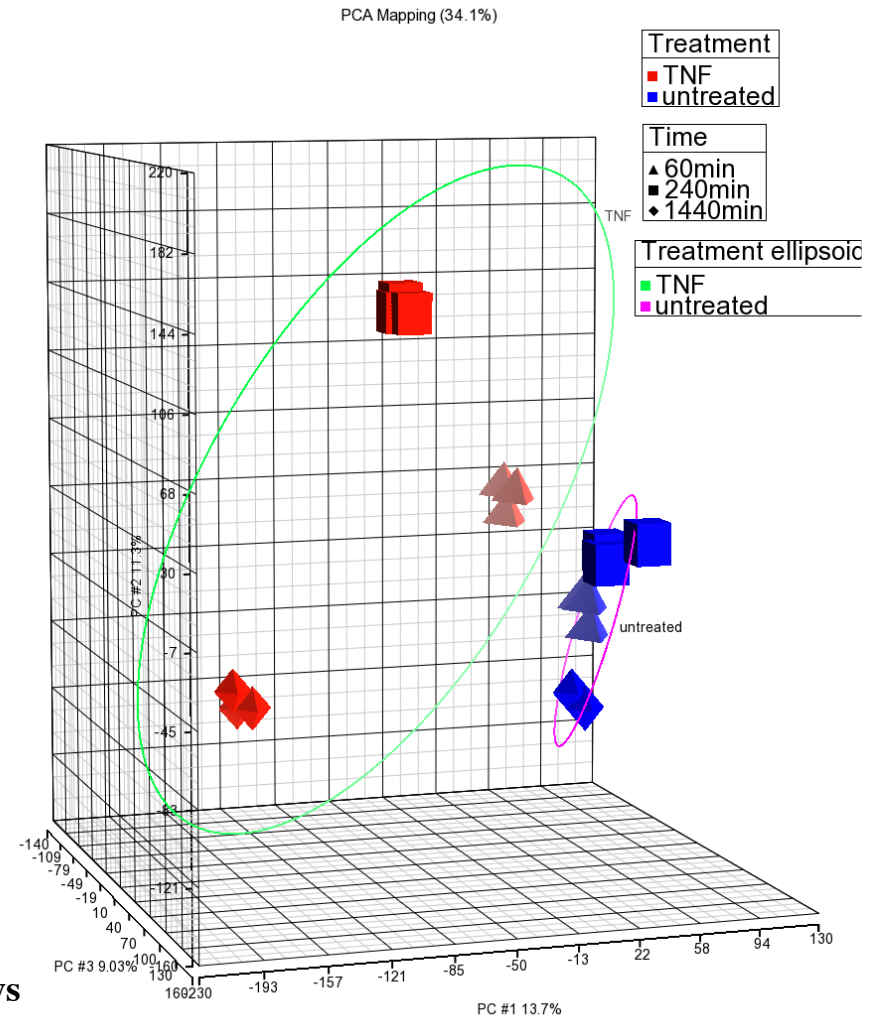
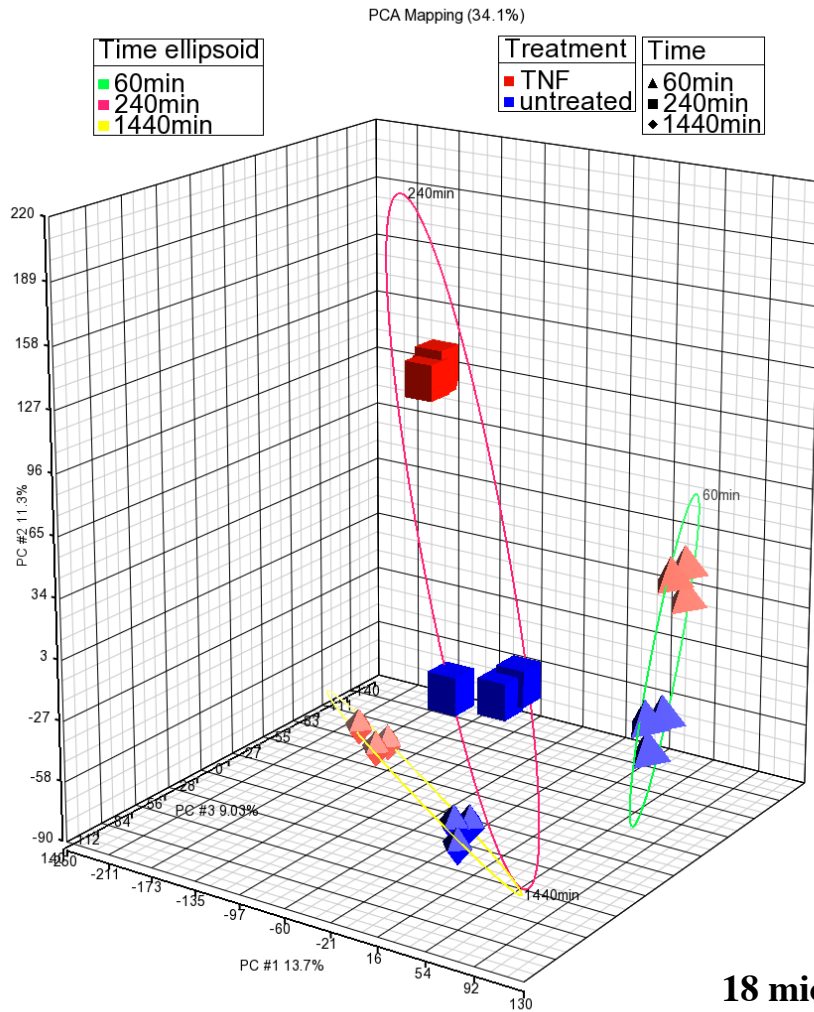
- p-values < 0.01
- $-\log_{10}(\text{FCI}) > 1$

# Analyse en composantes principales

Principle Component Analysis

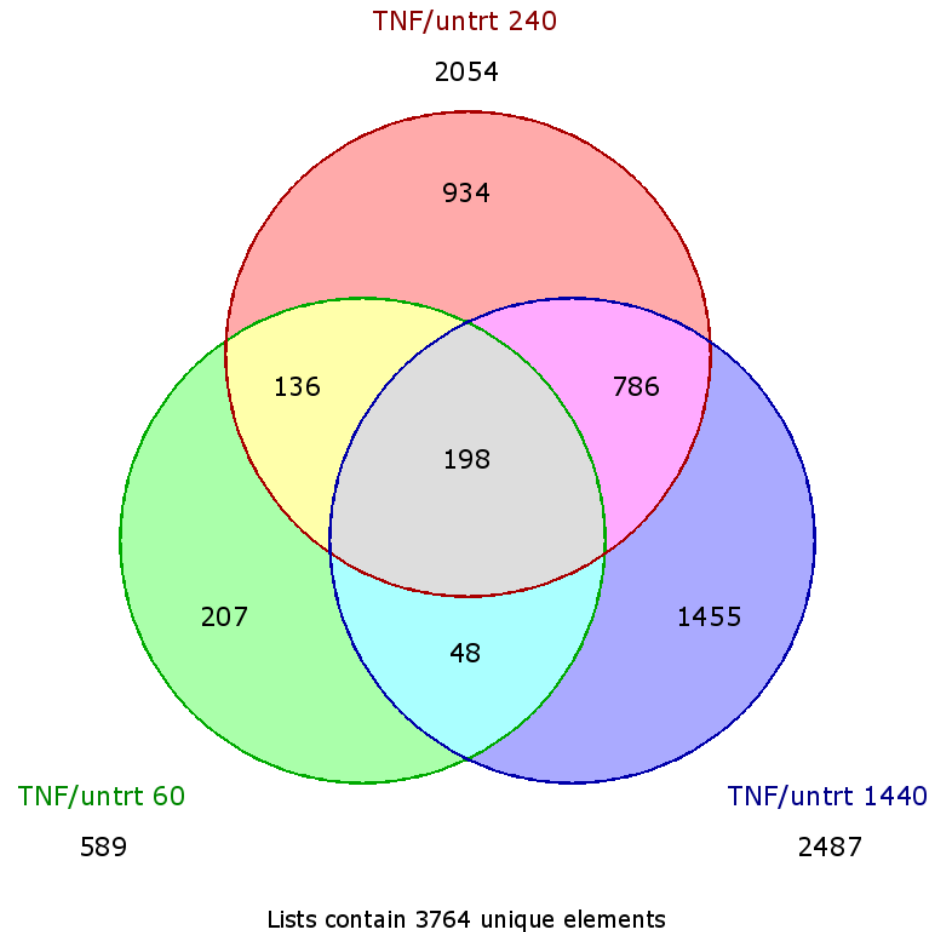
*ellipses des temps*

*ellipses des traitements*



# Diagramme de Venn

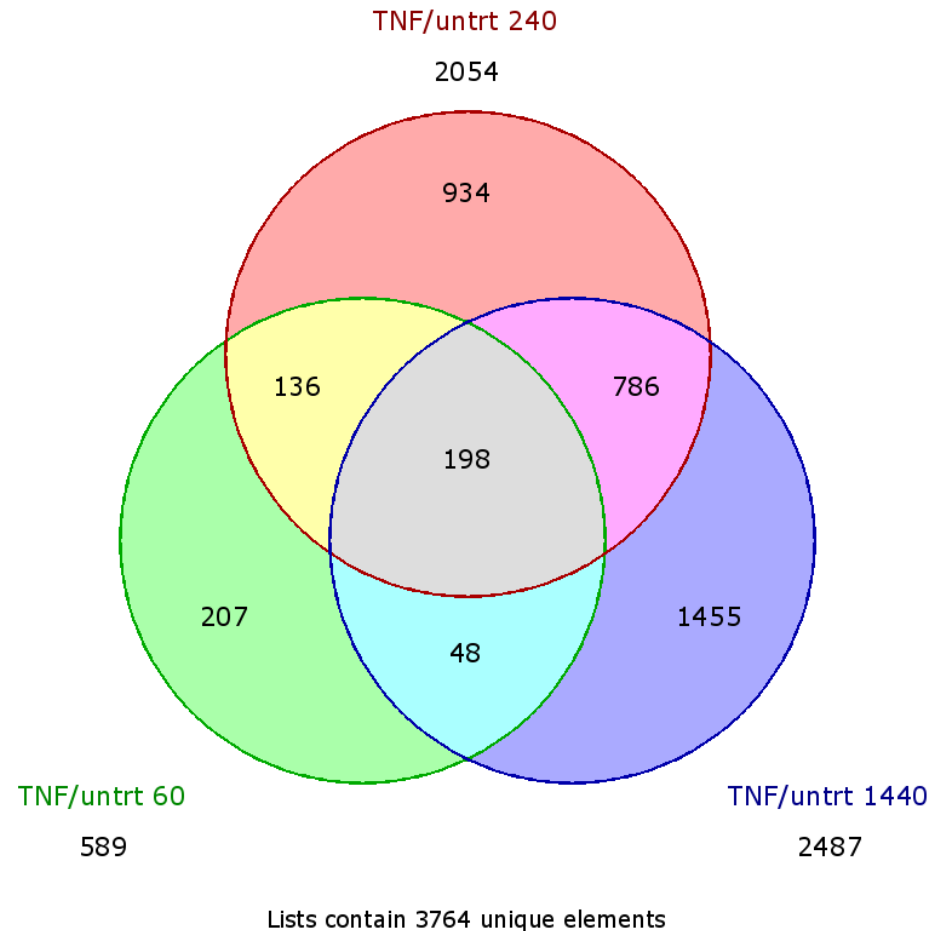
- Visualisation des gènes
- Comparaison traité vs. non-traité aux différents temps
- Tous les gènes dont l'expression a changé





# Diagramme de Venn

- Peu de gènes pour 1h, par comparaison avec 4 et 24h
- Donc plus de gènes dont l'expression change en commun à 4 et 24h
- 198 gènes don't l'expression change aux 3 temps



# Ingenuity Pathway Analysis IPA®

- **Base de données payante**
- **Analyse bioinformatique fonctionnelle**
- **2 approches, toutes 2 basées sur des données expérimentales**
  - “Non supervisée”  
analyse fonctionnelle globale  
analyse descriptive (pas de question biologique posée)
  - “Supervisée”  
approche plus directe  
en relation avec une question ou un sujet de recherche

*-> nous intégrons nos 3764 gènes dans l'étude “supervisée”*

# IPA, analyse fonctionnelle

1. Cellular Growth and Proliferation
2. Cell Death and Survival
3. Cancer
4. Cellular Development
5. Gene Expression
6. Hematological Disease
7. Connective Tissue Disorders
8. Immunological Disease
9. Inflammatory Disease
10. Skeletal and Muscular Disorders
11. Reproductive System Disease
12. Dermatological Diseases and Conditions
13. Tumor Morphology
14. Cellular Function and Maintenance
- 15. Cardiovascular Disease**
16. Infectious Disease
17. Respiratory Disease
- 18. Inflammatory Response**
19. Cardiovascular System Development and Function
- 20. Cellular Movement**
21. Cell Cycle
22. Embryonic Development

# Analyse fonctionnelle

- **TNF 1h**
- **6 fonctions d'intérêt pour nous**

Rank	Category	p-value
15	Cardiovascular Disease	2.27E-08-2.8E-04
18	Inflammatory Response	3.94E-08-2.55E-03
20	Cellular Movement	3.61E-07-2.5E-03
23	Cell-To-Cell Signaling and Interaction	1.5E-06-2.55E-03
25	Immune Cell Trafficking	1.5E-06-2.55E-03
40	Cell-mediated Immune Response	3.95E-05-9.72E-04

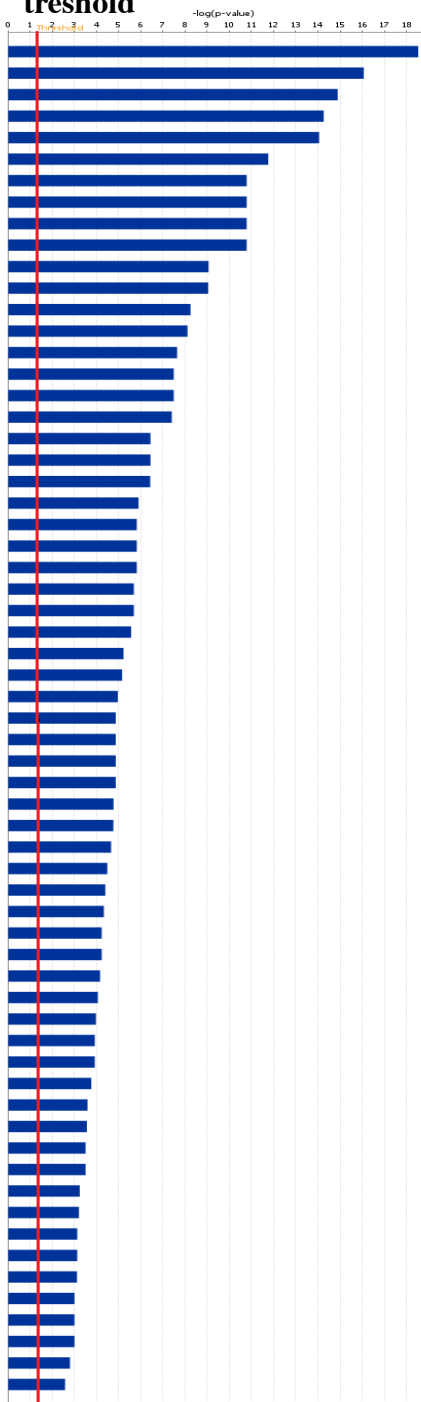
- 15 →
- 18 →
- 20 →
- 23 →
- 25 →

40 →

Analysis: TNF6vsUntreatedGene\_lists\_10012013

TNF6vsUntreatedGene\_lists\_10012013

threshold

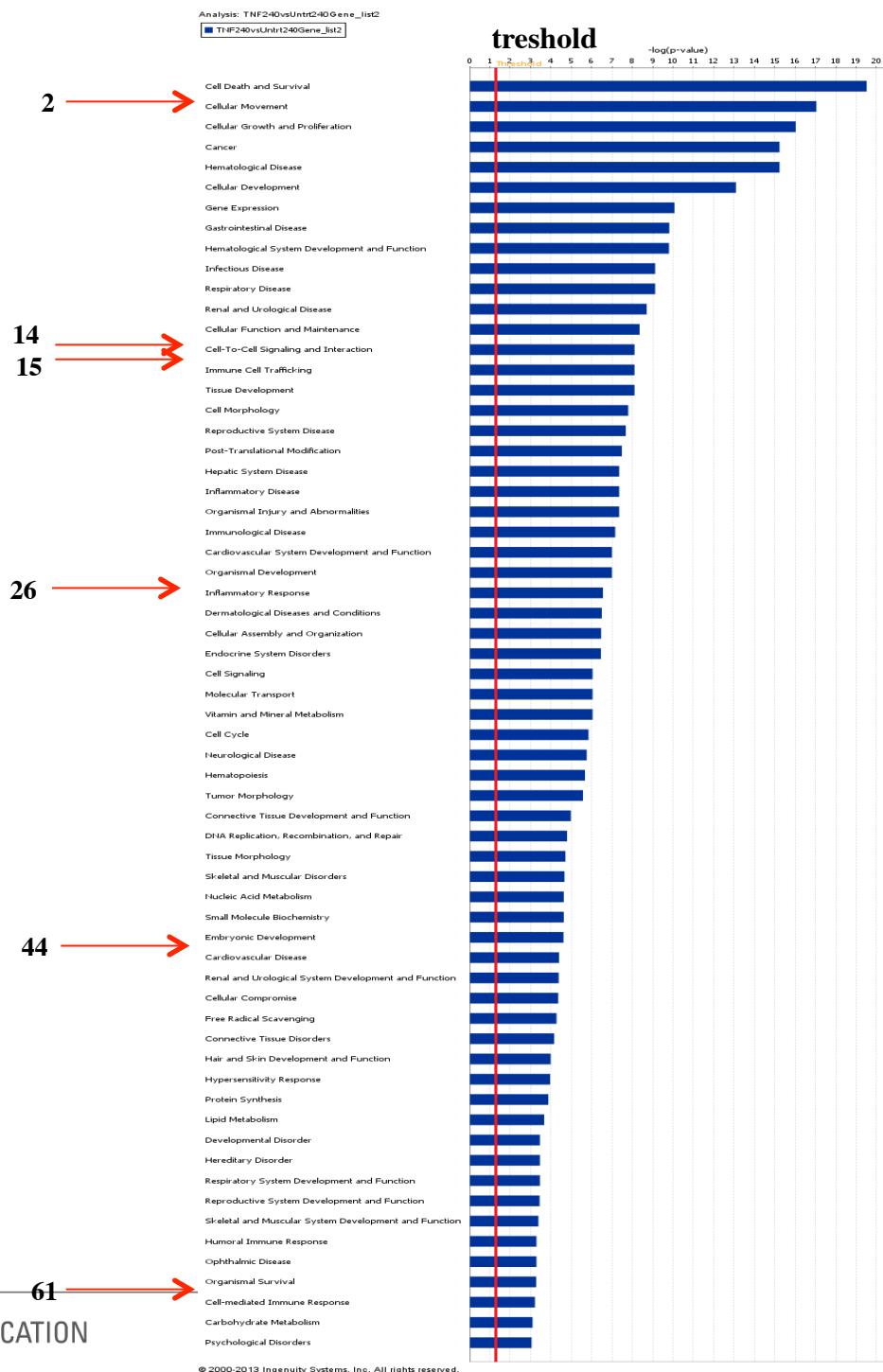




# Analyse fonctionnelle

- **TNF 4h**
- **6 mêmes fonctions d'intérêt**

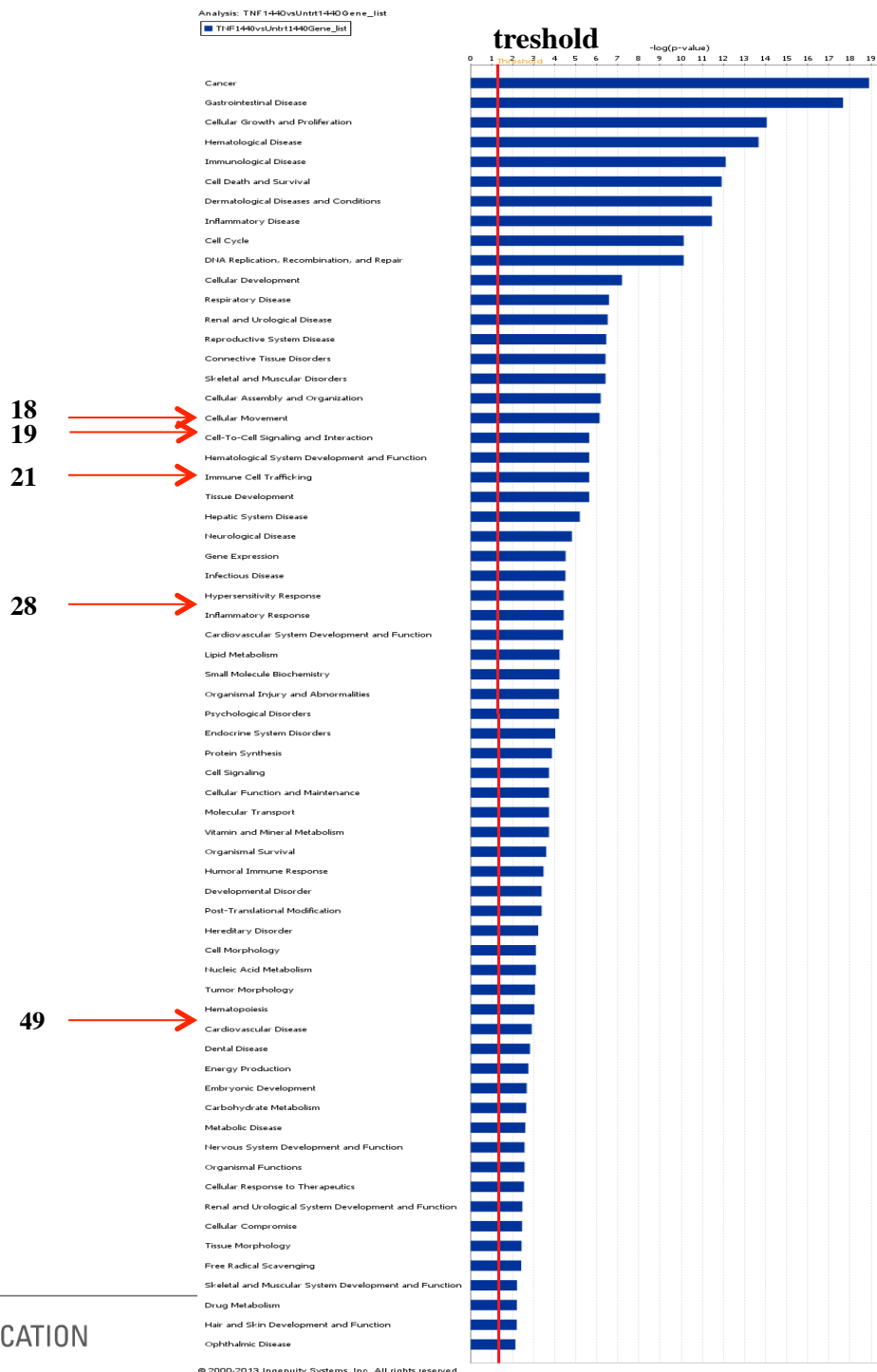
Rank	Category	p-value
44	Cardiovascular Disease	3.96E-05-1.02E-03
26	Inflammatory Response	2.76E-07-1.26E-03
2	Cellular Movement	9.02E-18-1.3E-03
14	Cell-To-Cell Signaling and Interaction	7.74E-09-1.29E-03
15	Immune Cell Trafficking	7.74E-09-1.26E-03
61	Cell-mediated Immune Response	6.08E-04-6.08E-04



# Analyse fonctionnelle

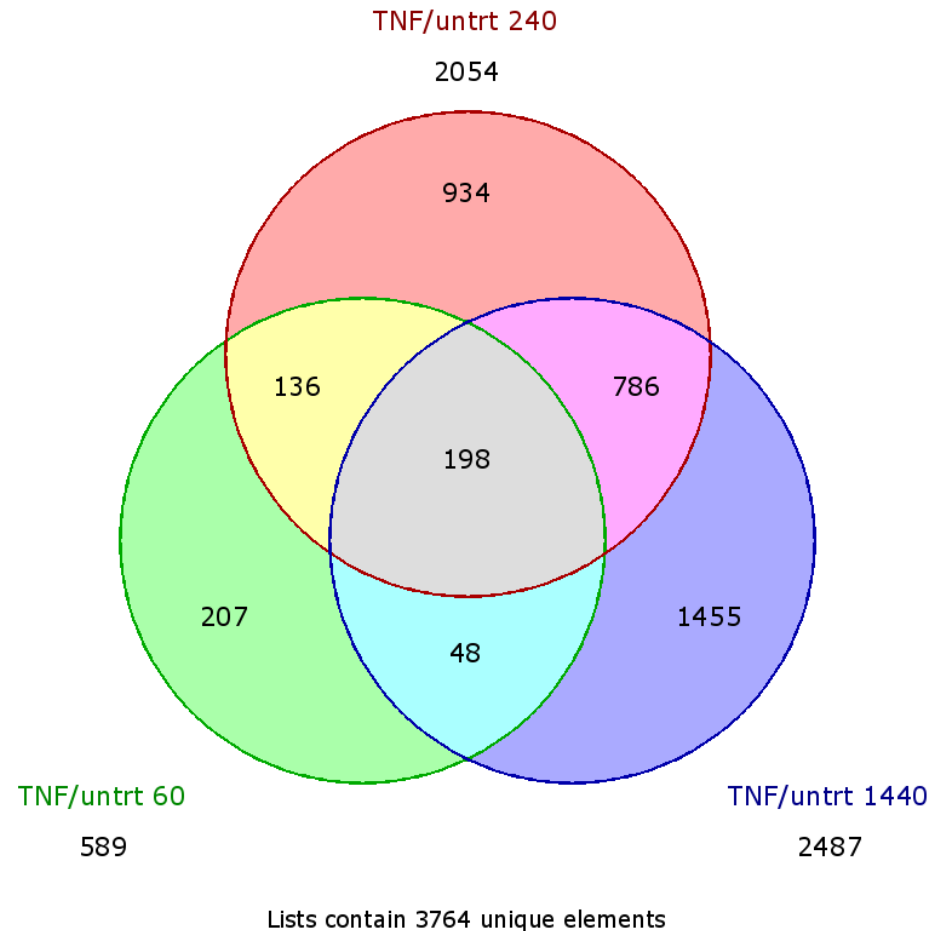
- TNF 24h
- 6 mêmes fonctions d'intérêt

Rank	Category	p-value
49	Cardiovascular Disease	1.22E-03-3.02E-03
28	Inflammatory Response	3.71E-05-6.82E-03
18	Cellular Movement	7.38E-07-8.32E-03
19	Cell-To-Cell Signaling and Interaction	2.29E-06-6.93E-03
21	Immune Cell Trafficking	2.29E-06-6.82E-03
/	Cell-mediated Immune Response	/



# Analyse fonctionnelle

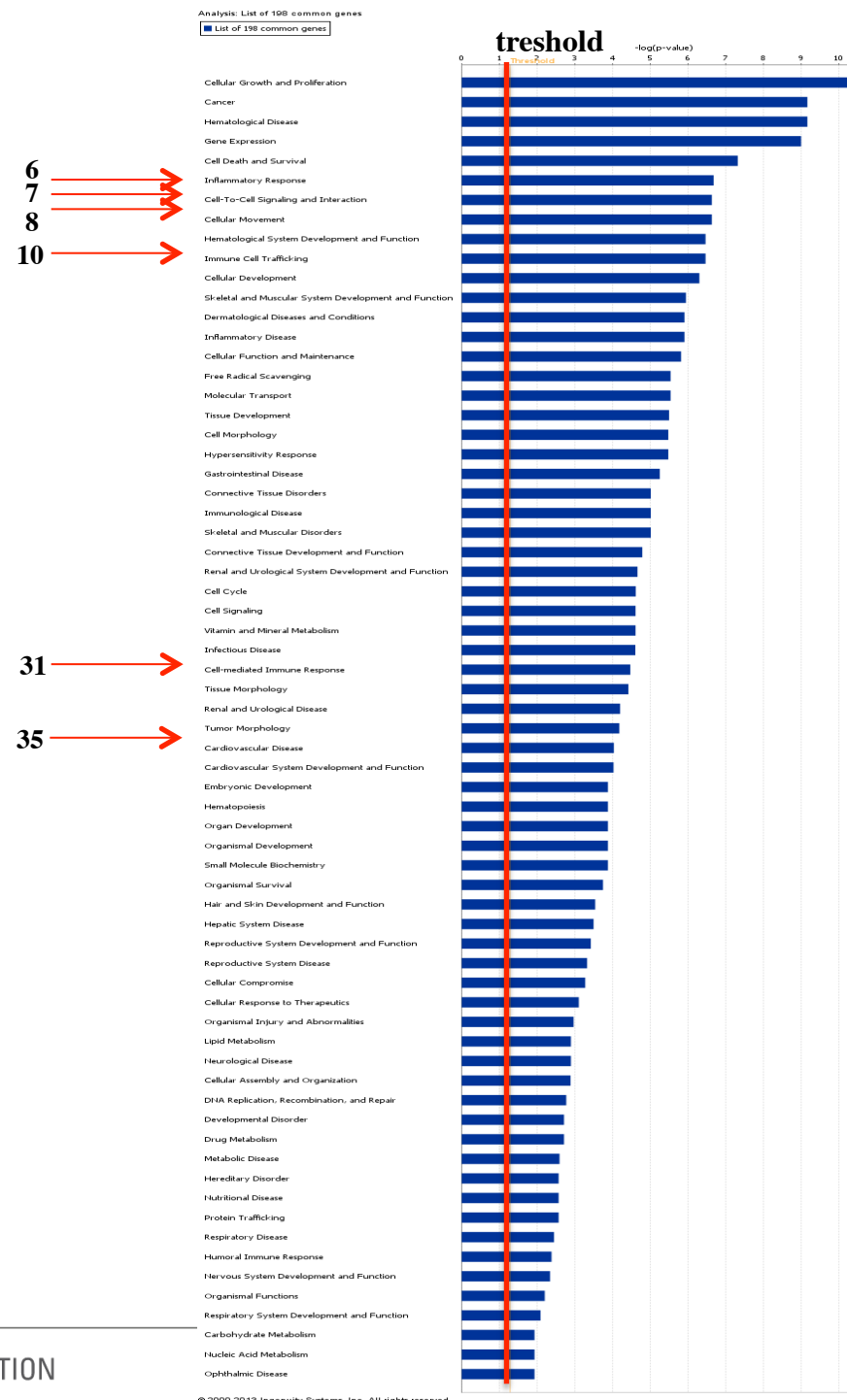
- **Nouvelle analyse en ne tenant compte que des 198 gènes en commun**
- **Quelles fonctions vont apparaître dans ce groupe ?**



# Analyse fonctionnelle

- TNF 1, 4 et 24h
- 6 fonctions d'intérêt toujours présentes
- en meilleure position !

Rank	Category	p-value
6	Inflammatory Response	2.04E-07-1.08E-02
7	Cell-To-Cell Signaling and Interaction	2.28E-07-1.14E-02
8	Cellular Movement	2.28E-07-1.14E-02
10	Immune Cell Trafficking	3.35E-07-1.08E-02
31	Cell-mediated Immune Response	3.3E-05-3.49E-05
35	Cardiovascular Disease	9.02E-05-1.14E-02



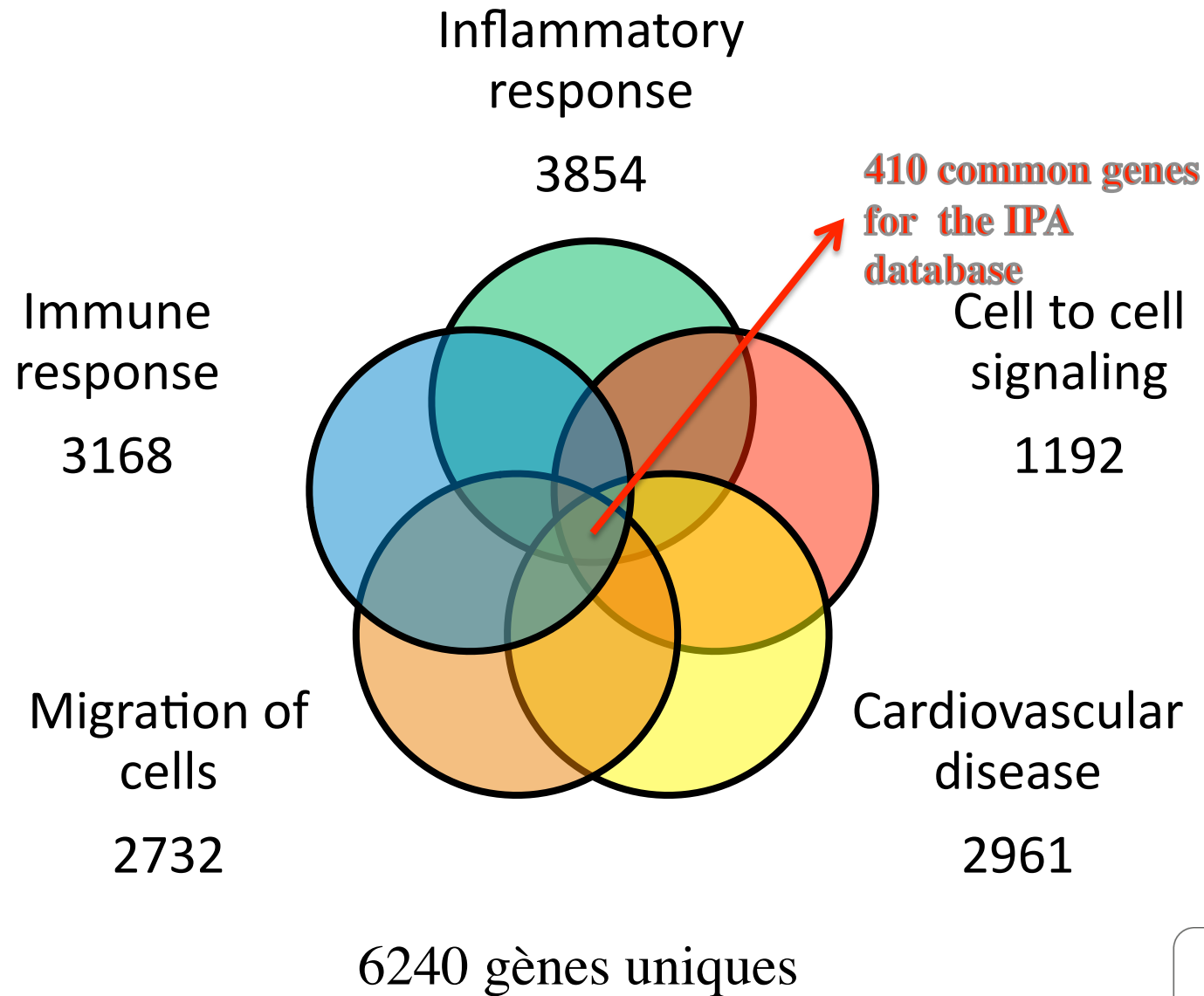


# Génération d'un réseau

- Recherche IPA pour nos fonctions d'intérêt
- Extraire la liste de tous les gènes pour ces fonctions
- Comparer les fonctions et extraire les gènes communs
  
- Nos fonctions d'intérêt :
  - Inflammatory response
  - Immune response
  - Cardiovascular disease
  - Migration of cells (cell movement + immune cell trafficking)
  - Cell to cell signaling

*-> 6240 gènes au total (union des fonctions)*

# Génération d'un réseau



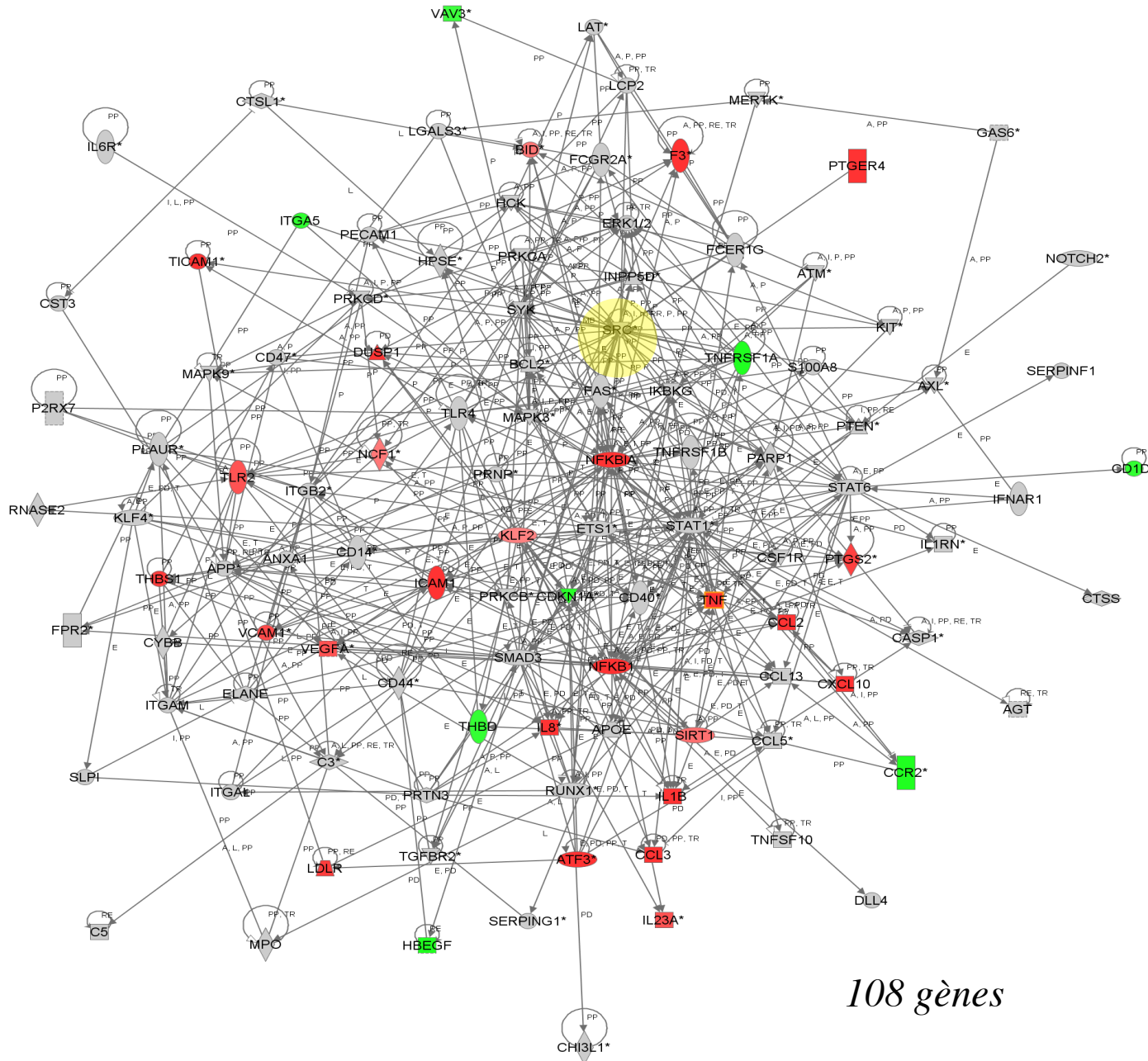
# Génération d'un réseau

- **410 gènes communs, chargés dans IPA**
- **recoupement avec nos données expérimentales**
- **Connexion des gènes communs et élimination des gènes orphelins**

*-> réduction à une liste de 108 gènes d'intérêt,  
à monter en réseau*





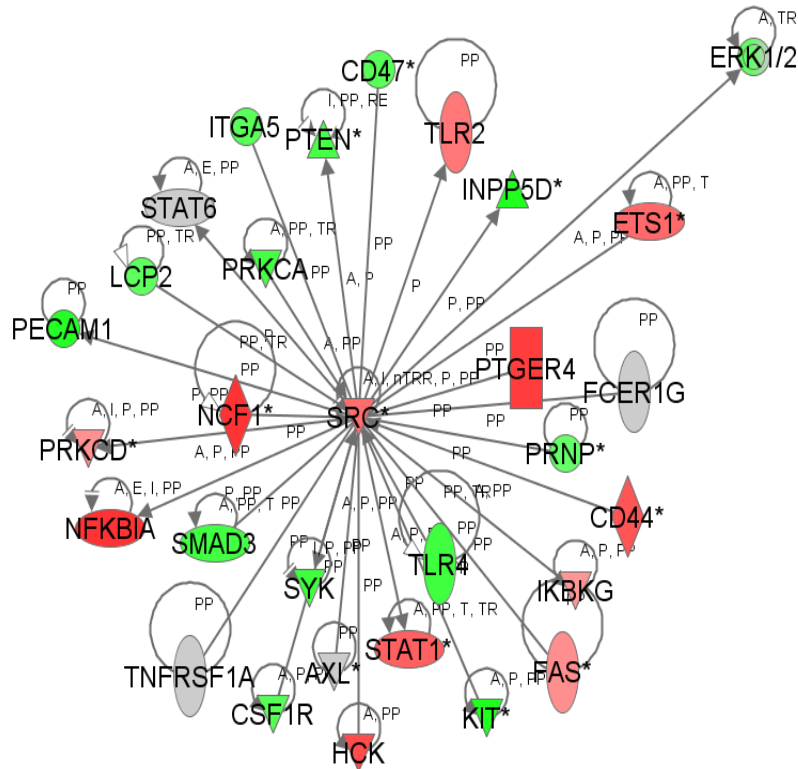


108 gènes

Etudes précédentes au laboratoire :  
 importance de SRC dans l'adhésion des monocytes THP-1 aux ICAM-1 endothéliales

# Voisins de SRC

SRC neighbours



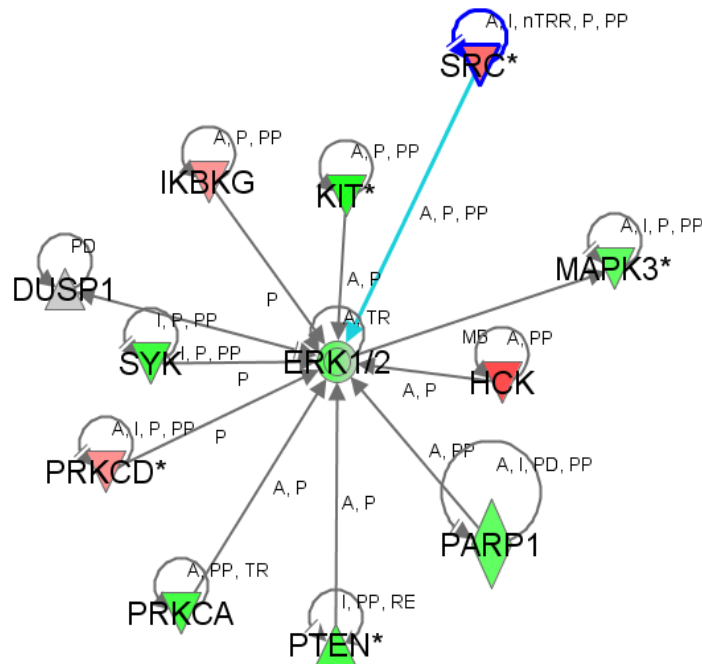
**30 gènes**

- **lien direct entre SRC et ERK1/2**
- **SRC en amont**
- **ERK et adhésion**

© 2000-2013 Ingenuity Systems, Inc. All rights reserved.

# Voisins de ERK1/2

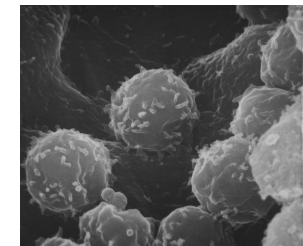
ERK neighbours



© 2000-2013 Ingenuity Systems, Inc. All rights reserved.

## 11 gènes

*aucune information sur le rôle de DUSP1 sur l'adhésion de THP-1 aux ICAM-1 en conditions inflammatoires*



*-> c'est donc là que nous allons concentrer nos prochains efforts !*

# *Ca<sup>2+</sup> Signalling and Inflammation lab*

Eric Tschirhart

Jean-Luc Bueb

Sabrina Brécard

Sébastien Plançon

Alexandre Salsmann

Fabrice Tolle



Thorben Kätzel

Susann Mudrich

Isabelle Naegelen

Alessandro Spigarelli



*Iconographie :*  
*Molecular Biology of the Cell*  
*Biology Image Library*





*Merci de votre attention !*



*Molecular Biology of the Cell  
Biology Image Library*

