



HAL
open science

L'hétérogénéité insoupçonnée du système immunitaire de la drosophile *Multis e gentibus vires*

Pierre Cattenoz, Angela Giangrande

► To cite this version:

Pierre Cattenoz, Angela Giangrande. L'hétérogénéité insoupçonnée du système immunitaire de la drosophile *Multis e gentibus vires*. *Médecine/Sciences, A paraître*, 37 (1), pp.18-22. <10.1051/medsci/2020251>. <hal-03099711>

HAL Id: hal-03099711

<https://hal.science/hal-03099711v1>

Submitted on 19 Jan 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

L'hétérogénéité insoupçonnée du système immunitaire de la drosophile : *Multis e gentibus*

vires

Pierre B. Cattenoz, Angela Giangrande

Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, CNRS UMR7104, Inserm U1258, Université de Strasbourg, 67400 Illkirch, France

angela@igbmc.fr

cattenoz@igbmc.fr

Les macrophages sont en première ligne dans la défense contre les microorganismes pathogènes, qu'ils phagocytent et dont ils signalent la présence en sécrétant des cytokines.

Des études récentes ont cependant révélé d'autres fonctions de ces cellules qui, par leur potentiel migratoire, mettent en liaison des tissus et organes distants [1]. Ainsi, les macrophages constituent des senseurs de notre état intérieur qui contribuent à l'homéostasie de l'organisme par une action systémique affectant à la fois son développement et son fonctionnement. Cette versatilité fait des macrophages de puissants facteurs d'adaptation aux conditions externes/internes, ainsi que des cibles thérapeutiques de choix dans diverses maladies (*e.g.*, maladies neuro-développementales, cancers, *etc.*) [2, 3]. La compréhension du fonctionnement des macrophages constitue donc non seulement un défi pour la recherche fondamentale, mais aussi un enjeu majeur pour la recherche médicale.

Curieusement, les macrophages semblent avoir à la fois des effets positifs et des effets négatifs sur l'évolution de certaines maladies, ce qui pourrait indiquer une hétérogénéité de cette population cellulaire. S'agit-il en fait d'une population homogène à l'origine, mais dont le potentiel change selon les besoins de notre organisme ou en fonction de l'environnement?

Ou s'agit-il d'une population cellulaire d'emblée hétérogène, chacune des sous-populations accomplissant une tâche spécifique? Ces deux hypothèses ne sont d'ailleurs pas incompatibles, et il est également possible que la population des macrophages soit à la fois hétérogène et versatile.

Les techniques de séquençage à haut débit du transcriptome de cellules isolées permettent désormais d'étudier la complexité d'une population cellulaire [4]. Nous avons analysé, chez la mouche drosophile, la population des plasmatoctes, des cellules apparentées aux monocytes et macrophages des vertébrés. Le système immunitaire de la drosophile produit une réponse humorale et cellulaire innée, qui présente des similitudes avec celle des vertébrés. Il est composé de cellules appelées hémocytes. Jusqu'à présent, trois types d'hémocytes avaient été décrits chez la larve de drosophile : les plasmatoctes, qui constituent la population majoritaire (environ 95 %), les cellules à cristaux, qui sont impliquées dans la réponse aux blessures et dans la mélanisation et qui ont été comparées aux plaquettes (2-5 %), et les lamellocytes, une population cellulaire qui apparaît après un défi immunitaire et peut se différencier à partir des plasmatoctes [5] (**Figure 1**). Nous avons donc posé les questions suivantes : Les plasmatoctes changent-ils en fonction de l'environnement ? Constituent-ils une population hétérogène ?

Le fonctionnement des cellules immunitaires change au cours du développement

Pour répondre à la première question, nous avons d'abord comparé les transcriptomes globaux de l'ensemble des hémocytes de la drosophile au stade embryonnaire et au stade larvaire [6]. L'embryon de drosophile constitue un système fermé, protégé de l'environnement extérieur par une membrane semi-rigide, la membrane chorionique, et une membrane souple, la membrane vitelline. Chez la drosophile, les tissus et les organes se

construisent durant l'embryogénèse et sont fonctionnels dès l'éclosion de la larve, un processus qui consomme beaucoup d'énergie. En revanche, la larve constitue un système ouvert, et se développe sur des fruits fermentés riches en microorganismes. La larve doit constamment répondre aux défis immunitaires dus à la nourriture, aux blessures ou aux infections par des microorganismes pathogènes. Elle subit également les variations des conditions environnementales et doit répondre au stress oxydant.

Nous avons pu montrer, par l'analyse transcriptomique, que ces différences physiologiques entre l'embryon et la larve de drosophile sont associées à des profils transcriptionnels spécifiques de chaque stade. Les hémocytes de l'embryon produisent en abondance les molécules constituant la matrice extracellulaire, un composant tissulaire crucial pour la morphogénèse et l'organogénèse. Leur métabolisme énergétique est assuré par les voies glycolytiques. Les hémocytes de la larve expriment les protéines des voies de signalisation de la réponse immunitaire et divers récepteurs impliqués dans la phagocytose, qui sont nécessaires à leur fonction de défense contre les microorganismes pathogènes. Leur métabolisme énergétique dépend principalement du catabolisme des lipides.

Le système immunitaire est composé de plusieurs populations d'hémocytes avec des potentiels distincts

Afin de répondre à la question concernant la diversité des hémocytes de la larve, nous avons utilisé une technique de séquençage à haut débit permettant d'analyser le transcriptome de cellules isolées [6]. Cette technique, qui permet d'établir une signature moléculaire de plusieurs milliers de cellules différentes, fournit une vision assez précise de l'hétérogénéité d'une population cellulaire. Nous avons ainsi mis en évidence la présence de 13 sous-populations de plasmatocytes et d'une population de cellules à cristaux en condition basale

(*c.a.d.* en condition d'élevage classique, sans stimulation du système immunitaire) (**Figure 2A**).

La plupart des sous-populations de plasmacytes présentent de fortes homologues entre elles, mais certaines se démarquent en acquérant des propriétés spécifiques. Les premières apparaissent donc versatiles, s'adaptant aux besoins de l'organisme, tandis que les autres semblent plus spécialisées, constituant ainsi des lignées spécifiques. Les signatures moléculaires permettent d'identifier par exemple des sous-populations spécialisées dans la production de peptides antimicrobiens (PL-Rel), dans la réponse immunitaire aux attaques bactériennes ou virales (PL-Rel, PL-vir1), dans la phagocytose (PL-robo2), ou encore dans la production de protéines de réserve (PL-Lsp).

Une analyse bio-informatique destinée à prédire la filiation entre les sous-populations de plasmacytes indique que la majorité d'entre elles proviendrait de quelques progéniteurs mitotiques qui se différencient ensuite pour produire ces différentes sous-populations. En revanche, certaines sous-populations semblent provenir d'une voie de différenciation parallèle (**Figure 2A**). La réversibilité des voies de différenciation ainsi que la présence de voies de différenciation horizontale restent à déterminer.

Les hémocytes changent lors de la réponse immunitaire

Pour observer la dynamique de chaque sous-population lors de la réponse immunitaire, nous avons utilisé la même technique de séquençage de cellules uniques pour analyser les hémocytes après avoir stimulé le système immunitaire des mouches avec des guêpes parasitoïdes. Dans la nature, la majorité des larves de drosophile est parasitée par des œufs de guêpes. La drosophile a évolué en présence du parasite et a développé une réponse immunitaire adaptée : le parasitisme a induit la différenciation d'hémocytes en lamellocytes, qui forment une gangue mélanisée autour de l'œuf de guêpe et empêchent ainsi son

développement. Si la réponse immunitaire n'est pas suffisamment efficace, les œufs de guêpe éclosent à l'intérieur de la mouche et les larves parasitoïdes l'utilisent comme nourriture.

Des analyses précédentes de lignage par cytométrie de flux indiquaient que des lamellocytes sont produits par transdifférenciation des plasmatoctes [7]. Nos résultats suggèrent que tous les plasmatoctes n'ont pas le même potentiel de transdifférenciation. La prédiction des liens existant entre les différentes sous-populations de plasmatoctes indique que les lamellocytes sont produits principalement par la sous-population PL-vir1 (**Figure 2B**). Cette sous-population est notamment caractérisée par une expression significative des protéines de la voie JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) de réponse au stress, qui est impliquée dans la différenciation des lamellocytes [5].

Perspectives

Cette analyse transcriptomique des plasmatoctes de la drosophile nous permet désormais de concentrer nos travaux de recherche sur les fonctions des différentes sous-populations de cellules du système immunitaire de la mouche et sur leurs interactions. Une analyse approfondie des lignages permettra de préciser les liens entre les sous-populations d'hémocytes, et ainsi de déterminer si les différents types de plasmatoctes identifiés correspondent à des populations singulières ou à des états développementaux transitoires. Une question essentielle sera aussi de déterminer les facteurs qui conditionnent la différenciation des différentes sous-populations à partir des cellules progénitrices. Enfin, nous étudierons le rôle du microenvironnement sur les propriétés de certaines sous-populations de plasmatoctes, qui pourraient s'expliquer par une association de ces cellules avec des tissus spécifiques, comme cela semble être le cas pour les macrophages des vertébrés [8]. Étant donné la conservation des processus hématopoïétiques au cours de l'évolution, ces résultats

pourront aider à mieux comprendre l'importance de l'hétérogénéité des cellules de l'immunité innée chez les organismes plus complexes, dans des conditions physiologiques et pathologiques.

Titre en anglais :

The surprising heterogeneity of the *Drosophila* immune system: *Multis e gentibus vires*

Références

1. Theret M, Mounier R, Rossi F. The origins and non-canonical functions of macrophages in development and regeneration. *Development* 2019; 146.
2. Poh AR, Ernst M. Targeting Macrophages in Cancer: From Bench to Bedside. *Front Oncol* 2018; 8 : 49.
3. Li Q, Barres BA. Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease. *Nat Rev Immunol* 2018; 18 : 225-42.
4. Khrameeva E, Kurochkin I, Han D, *et al.* Single-cell-resolution transcriptome map of human, chimpanzee, bonobo, and macaque brains. *Genome Res* 2020; 30 : 776-89.
5. Banerjee U, Girard JR, Goins LM, Spratford CM. *Drosophila* as a Genetic Model for Hematopoiesis. *Genetics* 2019; 211 : 367-417.
6. Cattenoz PB, Sakr R, Pavlidaki A, *et al.* Temporal specificity and heterogeneity of *Drosophila* immune cells. *EMBO J* 2020; n/a : e104486.
7. Stofanko M, Kwon SY, Badenhorst P. Lineage tracing of lamellocytes demonstrates *Drosophila* macrophage plasticity. *PLoS One* 2010; 5 : e14051.
8. Mowat AM, Scott CL, Bain CC. Barrier-tissue macrophages: functional adaptation to environmental challenges. *Nat Med* 2017; 23 : 1258-70.
9. La Manno G, Soldatov R, Zeisel A, *et al.* RNA velocity of single cells. *Nature* 2018; 560 : 494-8.
10. Qiu X, Mao Q, Tang Y, *et al.* Reversed graph embedding resolves complex single-cell trajectories. *Nat Methods* 2017; 14 : 979-82.

Figures

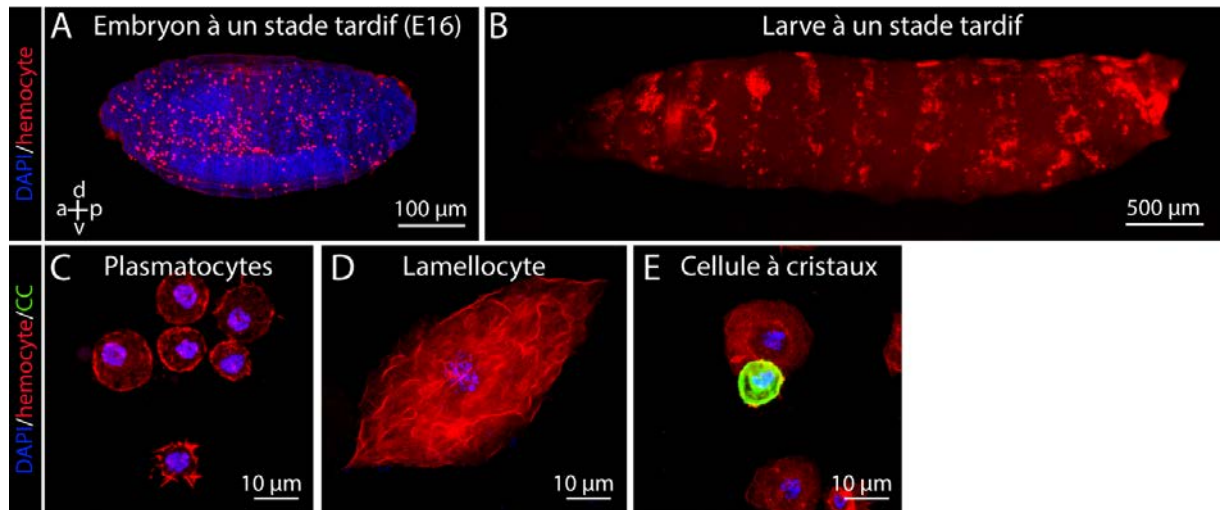


Figure 1 : (A, B) Hémocytes de drosophile en fin d'embryogénèse (A, embryon au stade 16) et en fin de stade larvaire (B, 3^{ème} stade larvaire). a, antérieur; p, postérieur; d, dorsal; v, ventral. **(C-E) On distingue trois classes d'hémocytes chez la drosophile.** Les plasmatocytes, comparables aux macrophages des vertébrés, phagocytent les corps étrangers et les fragments cellulaires issus de l'apoptose. La stimulation du système immunitaire conduit à la différenciation des plasmatocytes en lamellocytes, qui se présentent sous la forme de grandes cellules fortement marquées par la phalloïdine (en rouge, **D**). Les cellules à cristaux (CC) constituent la troisième classe d'hémocytes. Elles sont peu nombreuses (< 5% des hémocytes), et expriment ici le rapporteur fluorescent Lz-GFP (en vert, **E**). Les noyaux des cellules ont été marqués au DAPI (en bleu) dans les préparations **A,C,D,E**.

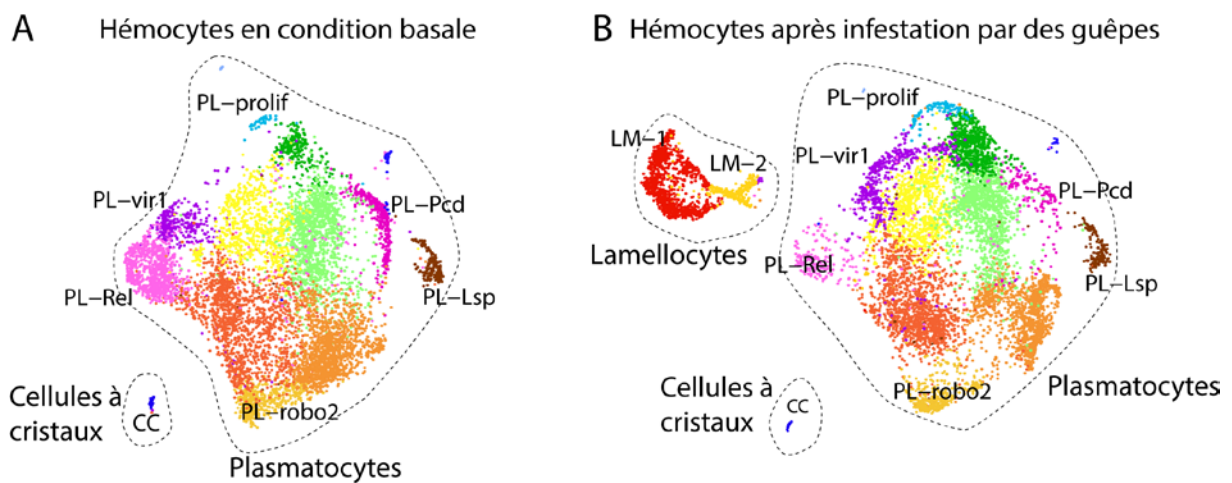


Figure 2 : (A, B) Représentations graphiques de type UMAP (*uniform manifold approximation and projection*) montrant les sous-populations principales des hémocytes de drosophile

identifiées par l'analyse transcriptomique de cellules uniques en condition basale (**A**) et après infestation par des guêpes parasitoïdes(**B**) [6]. Sur cette représentation, chaque point représente un hémocyte, et la distance entre les points reflète les différences de profil d'expression entre les cellules. Les liens entre les différentes sous-populations ont été prédits par une analyse bio-informatique (*RNA velocity* [9] et monocle [10]), qui suggère que la majorité des hémocytes provient de la sous-population proliférative PL-prolif (**A**). Cette majorité inclut les sous-populations PL-vir1 et PL-Rel, qui présentent des signatures moléculaires associées à la réponse inflammatoire, et PL-robo2, qui se distingue par un enrichissement en transcrits impliqués dans la phagocytose. D'autres sous-populations, telles que PL-Pcd et PL-Lsp, ne montrent pas de lien direct avec PL-prolif, suggérant des voies de différenciation propres à chacune (**A**). Enfin, le parasitisme des larves de drosophile par les œufs des guêpes parasitoïdes entraîne la production des lamellocytes (sous-populations LM-1 et LM-2) à partir de la sous-population PL-vir1 (**B**). Figure adaptée de [6].