

## Nouvelles cibles thérapeutiques du sepsis — HMGB1 : bon acteur mais mauvais marqueur ?

### Novel therapeutic targets in sepsis — HMGB1: an active agent but a poor marker?

V. Maréchal · S. Barnay-Verdier

© SRLF et Springer-Verlag France 2010

#### Introduction

Les organismes supérieurs sont capables d'opposer une réponse adaptée — c'est-à-dire efficace et limitée — à des agressions diverses dont les origines peuvent être liées à la rencontre avec des corps étrangers, parfois infectieux, ou à des lésions (brûlures, déchirure des tissus, etc.). Cette réponse est adaptée dans le sens où elle assure la mise en place coordonnée et séquentielle d'une réponse physiologique qui va signaler l'agression (inflammation), la limiter dans l'espace et le temps, puis coordonner la réparation des tissus lésés. Cette réponse s'appuie largement sur l'engagement de types cellulaires associés à la réponse immune innée, comme les monocytes/macrophages ou les neutrophiles, ainsi que d'autres cellules qui contribuent à la maturation de la réponse adaptative, comme les cellules dendritiques.

Au cours des infections, l'activation de l'immunité innée passe par la reconnaissance de molécules qui dérivent des agents pathogènes — les PAMPs (*pathogen associated molecular patterns*) — par des récepteurs dédiés, les récepteurs *toll like* (TLR) (Fig. 1). L'engagement des TLR dans les cellules qui assurent l'immunité innée conduit à la production de cytokines qui vont coordonner la réponse immune (innée et adaptative) et induire des réactions physiologiques variées : mise en place de l'inflammation, production de molécules à activité antimicrobienne (défensines, formes réactives de l'oxygène, etc.). On a longtemps séparé les stress infectieux et non infectieux alors que tous deux ont au moins un point commun : le processus inflammatoire. En effet, lors d'une

agression aseptique, les cellules lésées libèrent des facteurs de signalisation qui activent les cellules de la réponse innée et induisent une réponse inflammatoire. Par analogie avec les PAMPs, ces molécules sont désignées sous le terme de DAMP (*damage associated molecular patterns*).

HMGB1 (*high mobility group B1*) est une protéine cellulaire de 215 acides aminés, abondante, ubiquitaire, chargée de réguler la structure et l'activité de la chromatine. De façon surprenante, HMGB1 est également libérée hors de la cellule dans des situations de stress d'origine septique ou aseptique ; elle agit alors comme une molécule de signalisation essentielle à l'initiation du processus inflammatoire. Des travaux récents ont montré qu'elle intervient aussi dans les phases plus tardives en coordonnant les processus de réparation tissulaire, notamment dans la peau. Ces processus requièrent l'engagement de TLR que l'on croyait exclusivement dédiés à la reconnaissance des antigènes microbiens, comme les TLR-2, -4 et -9 (voir infra). L'implication quasi systématique d'HMGB1 dans les situations de stress cellulaire, indépendamment de leur origine, en fait aujourd'hui le chef de file d'une famille de molécules regroupées sous le terme d'alarmines. Cette classification a notamment l'avantage d'éloigner HMGB1 de la famille des cytokines, avec lesquelles elle ne partage, somme toute, que très peu de propriétés.

#### HMGB1 : facteur architectural de la chromatine

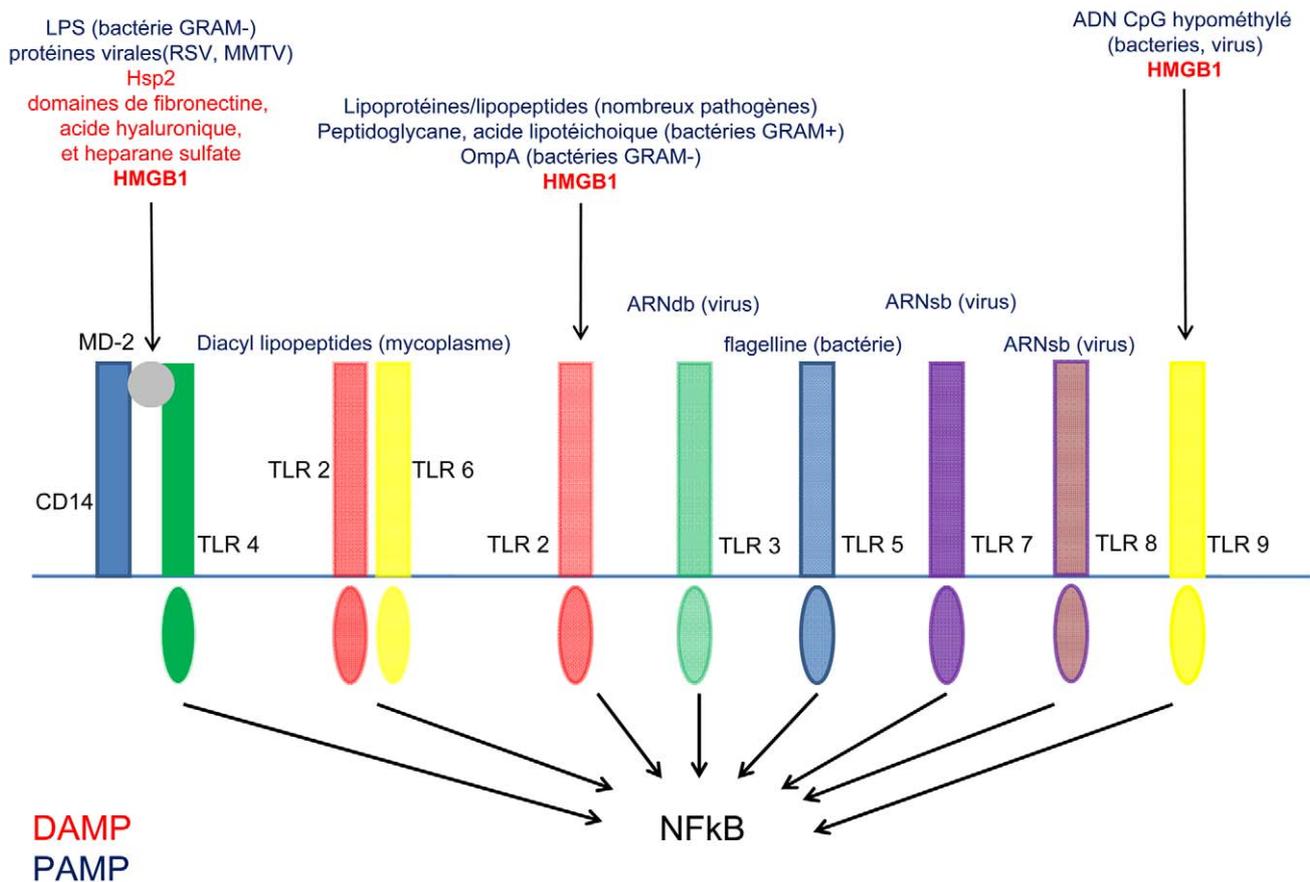
Les protéines HMG (*high mobility group*), dont HMGB1 (*high mobility group b1*), ont été identifiées en 1973 par Goodwin et Johns comme des protéines acides, non-histones, abondantes, associées à la chromatine [1,2]. Plus spécifiquement, HMGB1 peut interagir de façon non spécifique et labile avec l'ADN de forme B ; elle manifeste, en revanche, une affinité élevée pour des formes d'ADN atypiques, comme l'ADN cruciforme ou les structures hémicaténées. Capable de moduler la topologie locale de l'ADN et d'interagir avec certains facteurs cellulaires ou viraux, dont elle augmente ou réduit

---

V. Maréchal (✉) · S. Barnay-Verdier (✉)  
Centre de recherche des Cordeliers,  
université Pierre-et-Marie-Curie, UMRS 872,  
F-75006 Paris, France  
e-mail : vincent.marechal@cre.jussieu.fr,  
stephanie.barnay-verdier@upmc.fr

Université Paris-Descartes, UMRS 872,  
F-75006 Paris, France

Inserm U872, F-75006 Paris, France



**Fig. 1** Divers signaux extracellulaires dérivant des organismes infectieux (PAMPs) ou des cellules stressées (HMGB1) stimulent la réponse innée en engageant, à la surface de cellules spécialisées (macrophages, monocytes, lymphocytes, cellules dendritiques, etc.) des récepteurs spécifiques, les *toll like receptors* (TLR). L'engagement de ces récepteurs induit des réponses cellulaires variées, dont la production de cytokines pro-inflammatoires (d'après Barnay-Verdier et al, RFL 2009).

l'activité, HMGB1 prend une part active à des processus nucléaires essentiels tels que la réplication, la recombinaison, la réparation de l'ADN ou la transcription [3].

### HMGB1 est une molécule de signalisation, spécifique des situations de stress

Les activités multiples d'HMGB1 au sein du noyau ont progressivement abouti à en donner l'image d'une protéine essentielle au maintien et à la modulation de la structure de la chromatine, une propriété essentielle à l'activité et au maintien de l'intégrité de l'ADN. La découverte des fonctions extracellulaires de cette protéine est plus fortuite. On peut même dire — sans exagération — qu'elle a longtemps laissé le monde scientifique et médical assez dubitatif. L'équipe dirigée par Rauvala a été la première à démontrer que la protéine HMGB1 (également appelée amphotérine) pouvait agir hors de la cellule et, dans le cas présent, stimuler la croissance des neurites [4]. Cette même équipe découvrit quelque temps

après que l'activité d'HMGB1 passait par l'engagement d'un récepteur membranaire spécifique, la molécule RAGE (*recepteur for advanced glycation endproducts*), un récepteur d'expression très large ciblé par les protéines glyquées, des formes modifiées des protéines circulantes qui s'accumulent dans le sérum et les tissus de certains patients diabétiques. Malgré leur caractère novateur, la portée de ces résultats a été minorée par la découverte, près de dix ans plus tard, du rôle d'HMGB1 dans une pathologie de premier plan : le choc septique. Il n'est pas inutile de rappeler les grandes lignes d'une publication qui constitue, aujourd'hui encore, une référence dans ce domaine d'investigation [5]. L'idée directrice de ce projet, conduit par Tracey s'appuie sur le modèle — assez communément admis aujourd'hui — selon lequel le choc septique induit par le LPS (endotoxémie) s'appuierait sur une dysrégulation majeure affectant des cytokines pro-inflammatoires induites en réponse au LPS. Dans les modèles animaux, des molécules pro-inflammatoires, le TNF-alpha ou l'IL-1 $\beta$ , sont produites quelques minutes ou quelques heures après l'administration de LPS. Paradoxalement, les animaux traités ne

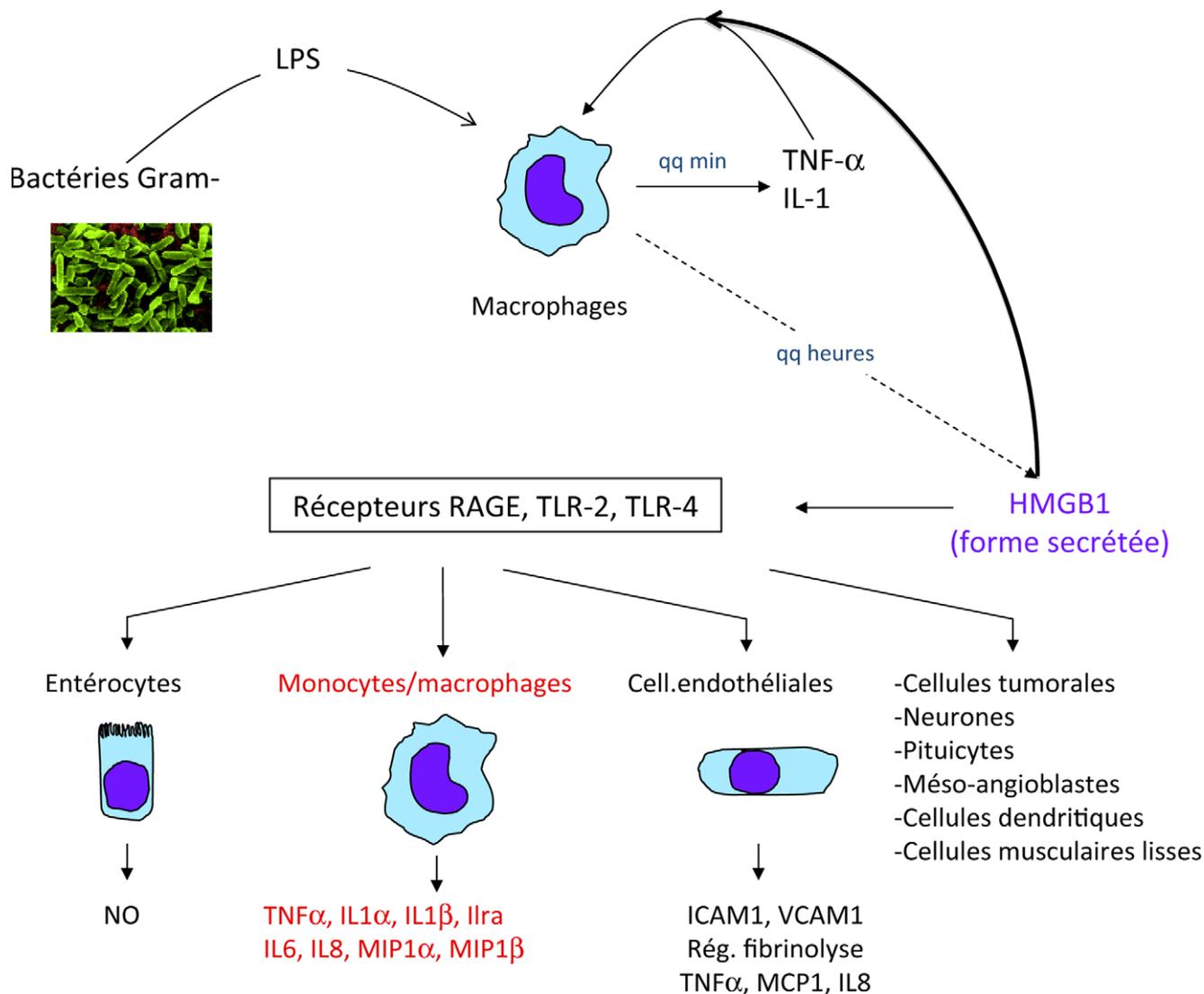
meurent que plusieurs jours après, alors que les taux sériques d'IL-1 $\beta$  et de TNF-alpha ont le plus souvent rejoint des valeurs « normales » et que les traitements qui visent ces cytokines sont sans effet. Selon Tracey et al., le choc septique induit par le LPS suivrait un schéma bimodal. À la sécrétion précoce d'IL-1 $\beta$  et de TNF-alpha par les macrophages exposés au LPS, répondrait l'induction de médiateurs plus tardifs qui seraient essentiels à l'amplification anormale de la réponse inflammatoire. Ces médiateurs constitueraient de fait des cibles thérapeutiques de choix pour la mise en place d'un traitement tardif du choc septique. Les expériences conduites par Tracey et al. sur des macrophages cultivés confirmèrent cette hypothèse : une protéine de 30 kDa, rapidement identifiée comme étant HMGB1, est produite de 4 à 16 heures après exposition des macrophages au LPS. Dans un modèle d'endotoxémie murin, cette même protéine s'accumule dans le sérum des souris traitées au LPS à des niveaux proches de 300 ng/ml de 10 à 15 heures après injection du LPS. Une étude conduite sur une petite cohorte de patients confirme qu'HMGB1 n'est pas détectable chez les sujets sains (huit cas), qu'elle s'accumule significativement chez les patients en phase de sepsis (25,2 ng/ml en moyenne chez les survivants) et qu'elle est plus élevée chez les patients qui décèdent de choc septique (83,7 ng/ml). Plus remarquable encore, l'administration d'anticorps neutralisant HMGB1 améliore très significativement la survie des souris recevant des doses létales de LPS, même lorsque ces anticorps sont injectés tardivement (dans des fenêtres temporelles dans lesquelles des anticorps anti-TNF sont inactifs). Selon le modèle proposé, qui sera largement étayé par des travaux postérieurs, HMGB1 serait libérée par les macrophages activés par le LPS et agirait en retour sur des cellules de l'immunité innée pour amplifier la sécrétion exagérée de cytokines pro-inflammatoires, au titre desquelles se trouvent notamment l'IL-1 $\beta$  et le TNF-alpha (Fig. 2). Parallèlement, HMGB1 agirait sur les cellules endothéliales, les cellules T, les cellules dendritiques, les fibroblastes, les cellules musculaires lisses et d'autres types encore, entraînant des effets biologiques variés dont la contribution aux signes cliniques de l'endotoxémie n'est pas toujours évidente à cerner (Fig. 3). En conclusion, HMGB1 se voit placée au centre d'une boucle d'autorégulation positive qui conduirait à la fameuse « tempête cytokinique » que l'on place au centre du sepsis sévère et du choc septique. Ce travail, néanmoins, pose de nombreuses questions : est-ce que la protéine HMGB1 seule, purifiée, est capable de reproduire les signes cliniques du choc ? Comment est-elle libérée dans le milieu extérieur ? Sous quels stimuli ? Quel est son mode d'action hors de la cellule ? Pourquoi la présence d'HMGB1 dans le sérum n'est-elle pas systématiquement associée à la présence d'autres cytokines pro-inflammatoires ? Sans aborder l'ensemble de ces interrogations, la publication de Tracey et al. a ouvert la porte à un formidable champ d'exploration et a nourri l'espoir de

voir émerger une nouvelle cible thérapeutique adaptée au traitement tardif des formes graves de sepsis.

## HMGB1 serait un marqueur « général » de l'inflammation

La publication princeps de Wang et al. que nous venons de détailler va rapidement motiver d'autres travaux. Ces derniers aboutiront à démontrer l'implication d'HMGB1 dans de nombreuses situations inflammatoires (sepsis, lésions associées à l'ischémie-reperfusion, athérosclérose, arthrite, etc.) [6], à établir un lien avec la progression tumorale et à souligner son rôle dans diverses infections parasitaires ou virales, notamment l'infection au VIH, des notions qui ne seront pas abordées en détail ici.

Le processus qui conduit HMGB1 hors de la cellule apparaît de plus en plus complexe, quoiqu'il reste associé à des situations de stress cellulaire : libération passive lorsque les cellules meurent par nécrose ou lors de certaines formes d'apoptose, libération éventuellement couplée à des processus d'autophagie, sécrétion par diverses cellules immunes activées en réponse à des cytokines ou à des antigènes étrangers [5,7–9] (Fig. 4). À l'opposé, les cellules apoptotiques sont souvent incapables de libérer HMGB1 sous une forme biologiquement active : la protéine reste associée à la chromatine et/ou est libérée sous une forme a priori inactive [7]. Enfin, l'activité extracellulaire d'HMGB1 elle-même s'est révélée particulièrement difficile à définir. Plusieurs récepteurs membranaires ont été identifiés, dont les mieux documentés sont RAGE, TLR-2 et -4 [10] (Fig. 5). L'engagement de ces récepteurs, dont l'expression est très largement répandue, aboutit à des réponses cellulaires variées qu'il est difficile de résumer en quelques lignes seulement : production de cytokines inflammatoires, inhibition de la prolifération, progression tumorale, activation des cellules de l'immunité, migration cellulaire, etc. Le plus surprenant tient sans doute à l'apparition d'une controverse très active sur une question essentielle : est-ce que la protéine HMGB1 — pure — est biologiquement active ? De nombreux articles ont initialement démontré que des formes recombinantes purifiées d'HMGB1, produites dans des systèmes bactériens, pouvaient effectivement agir comme des cytokines pro-inflammatoires — notamment en stimulant la production de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages. D'autres équipes, dont la nôtre, ne sont jamais parvenues à reproduire ces résultats ; à l'opposé, notre équipe a été la première à démontrer que, si la protéine HMGB1 pure est peu active, elle est capable d'agir de façon coopérative avec l'IL-1 $\beta$  [11]. Une approche biochimique rigoureuse a permis de résoudre ce conflit, en apportant la preuve [1] que la protéine HMGB1 recombinante pure n'exerce pas d'activité pro-inflammatoire et [2] que sa



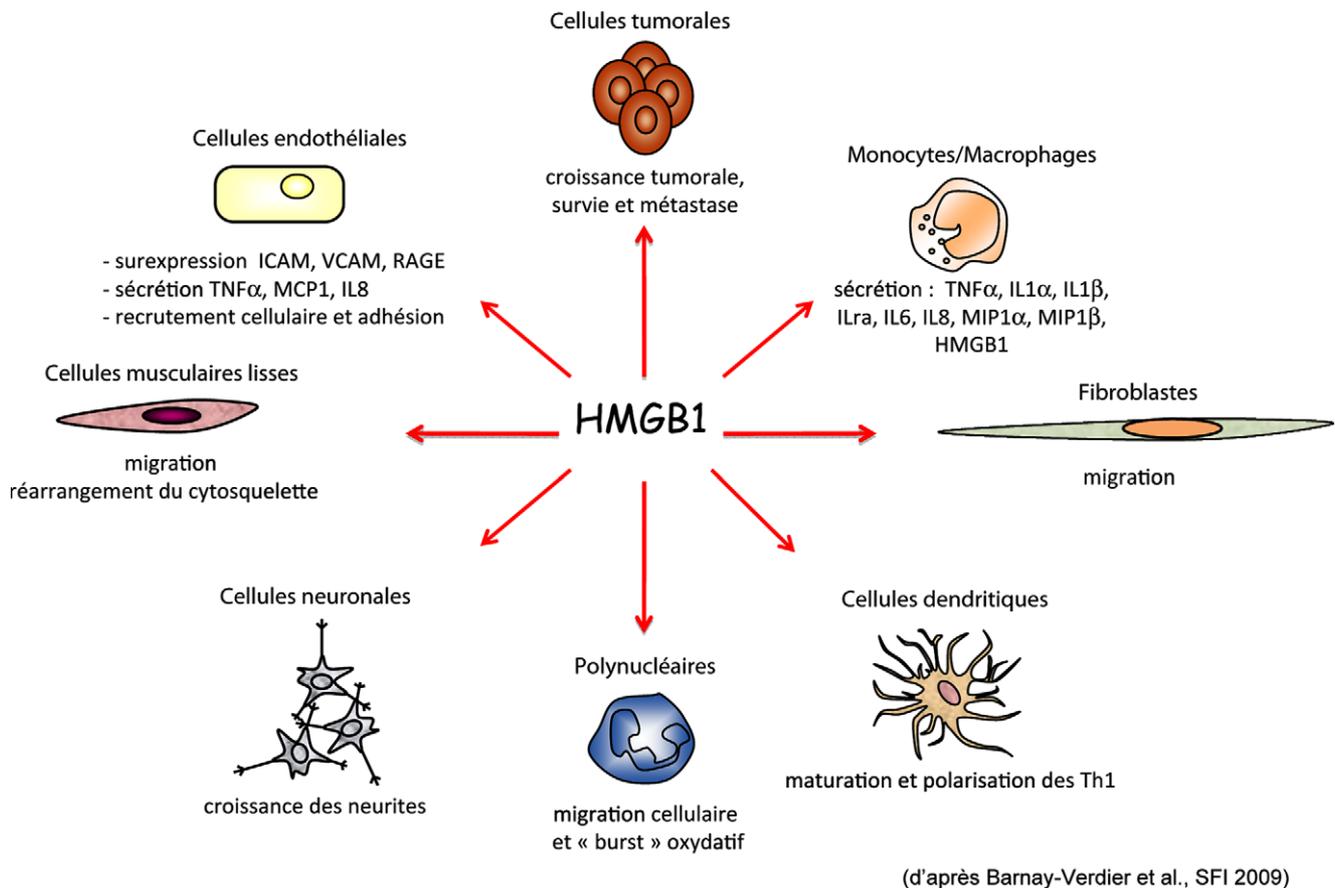
**Fig. 2** L'exposition de macrophages au LPS induit la sécrétion tardive d'HMGB1 qui agit en retour sur les macrophages pour amplifier la production de cytokines pro-inflammatoires. HMGB1 peut agir sur un nombre important de cibles cellulaires, induisant ainsi des effets biologiques variés.

capacité à stimuler les macrophages est associée à la formation de complexes (pro-inflammatoires) avec des composants bactériens présents à l'état de trace dans les préparations de laboratoire (LPS, acides nucléiques bactériens, phosphatidyl sérine, etc.) [12]. Cette découverte, qui aurait pu tuer l'intérêt de la communauté scientifique pour HMGB1, a paradoxalement permis de revisiter en profondeur le mode d'action de cette protéine. Selon le dogme actuel, HMGB1 serait une molécule de signalisation cellulaire de spectre très large, produite dans des conditions de stress septique ou aseptique. Sa capacité pro-inflammatoire serait en grande partie associée à sa capacité à former des complexes bioactifs avec des cytokines comme l'IL-1β ou des antigènes étrangers (LPS, ARN ou ADN CpG) qui sont responsables de l'engagement des TLR ou du récepteur

à l'IL-1β [13–15]. Récemment, l'équipe de Tracey a publié des travaux confirmant que les formes pures d'HMGB1 peuvent activer, seules, mais à doses élevées (de 10 ng à 1 µg/ml), des macrophages en culture. L'activité biologique des formes pures d'HMGB1 serait tributaire de leur niveau d'oxydation, un mécanisme de régulation physiologique mis en jeu notamment au cours de l'apoptose, ou lors des stress oxydatifs [16].

### HMGB1 : un bon acteur, mais un mauvais marqueur

Les travaux de Tracey et al. ont été rapidement suivis par des études visant à évaluer la valeur d'HMGB1 en tant que



**Fig. 3** La distribution assez large des récepteurs à HMGB1 (TLR2, TLR4 et RAGE, entre autres) explique les effets pleiotropes de cette protéine sur un vaste spectre de types cellulaires.

marqueur biologique dans le suivi des patients atteints de sepsis, et à valider ou à infirmer l'intérêt thérapeutique des stratégies visant HMGB1.

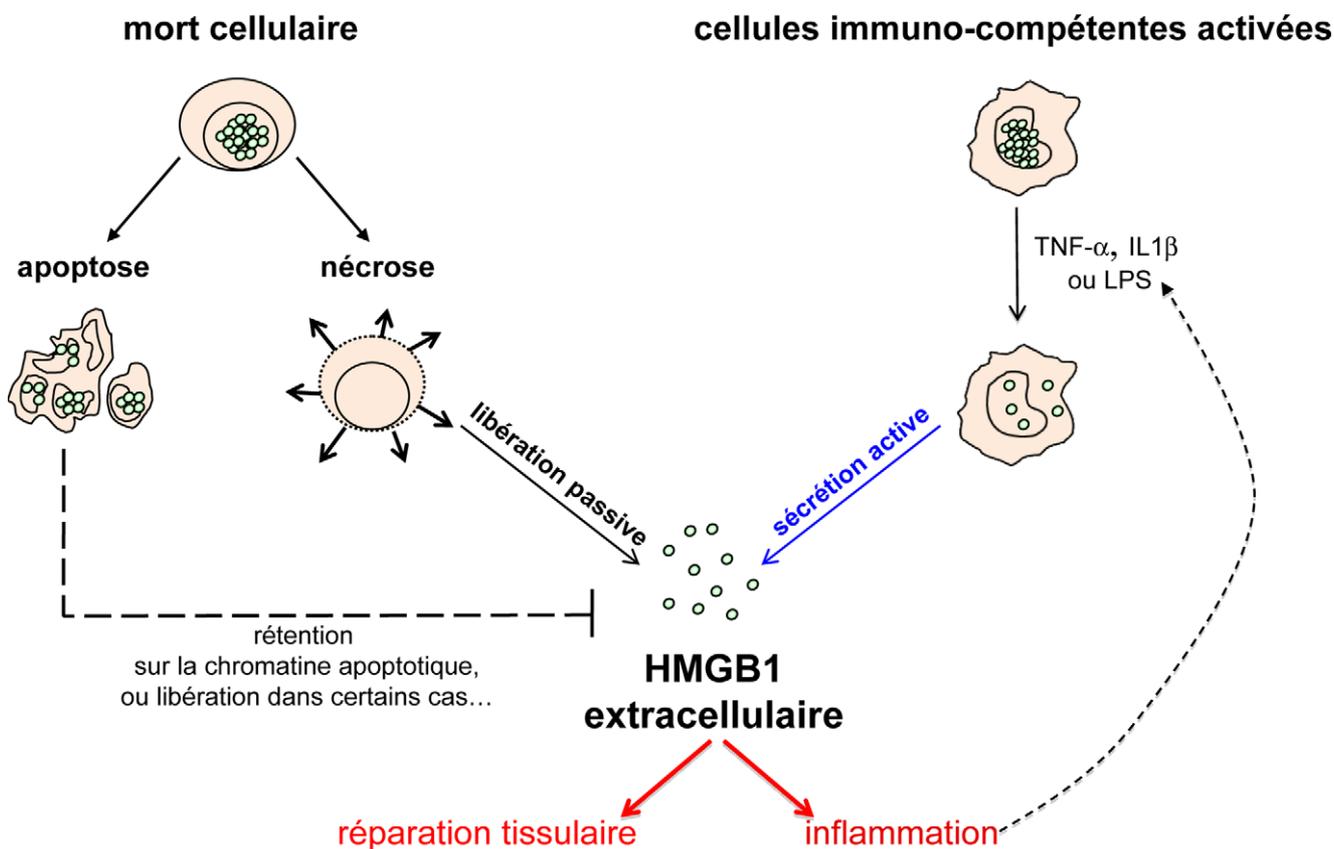
### Est-ce que HMGB1 est un marqueur biologique utile pour le suivi du sepsis ?

Les données préliminaires publiées par Tracey et al. — sur un faible nombre d'échantillons — associaient la présence d'HMGB1 dans le sérum à la survie des patients, les patients décédés montrant des concentrations significativement plus élevées. Plusieurs études postérieures ont abouti à des conclusions plus nuancées qui rendent l'exploitation de ce marqueur plus discutable aujourd'hui :

- la protéine HMGB1 peut être retrouvée, par différentes techniques, dans le sérum/plasma de sujets en bonne santé (apparemment au moins) à des niveaux qui ont été observés parfois au cours de chocs septiques [17]. Il n'existe donc pas aujourd'hui de valeur critique de référence pour les concentrations sériques/plasmiques d'HMGB1 ;

- au cours du sepsis sévère, des concentrations élevées n'ont été associées à une augmentation de la mortalité chez les patients que dans une seule étude à notre connaissance [5].

Il faut rappeler que ce travail a été mené sur de petits effectifs et chez des patients présentant des infections bactériennes de nature et de localisation très hétérogènes. Une étude postérieure [18], conduite par Sunden-Cullberg et al., s'est attachée à suivre l'évolution de la concentration d'HMGB1 au cours de la maladie. Chez les patients atteints de sepsis sévère, les auteurs observent une élévation persistante d'HMGB1 dans le sérum, sans qu'il soit possible d'établir une relation avec la sévérité de la maladie ou la mortalité des patients. Des conclusions proches ont été formulées dans une étude finlandaise qui relève même des concentrations plus faibles chez les patients manifestant les dysfonctionnements organiques les plus sévères [19]. Une étude longitudinale menée par Gibot et al. confirme que la mesure des concentrations plasmatiques le jour de l'admission des patients ne permet pas de prédire leur survie, même si des concentrations persistantes et plus élevées sont



**Fig. 4** HMGB1 peut être libérée dans le milieu extérieur lorsque les cellules sont exposées à divers stress et/ou stimulations liées à l'activation du système immunitaire : libération passive lors de la nécrose et dans certaines formes d'apoptose, ou sécrétion active par certaines cellules immunes activées (macrophages exposés au LPS par exemple) (d'après Barnay-Verdier et al, RFL 2009).

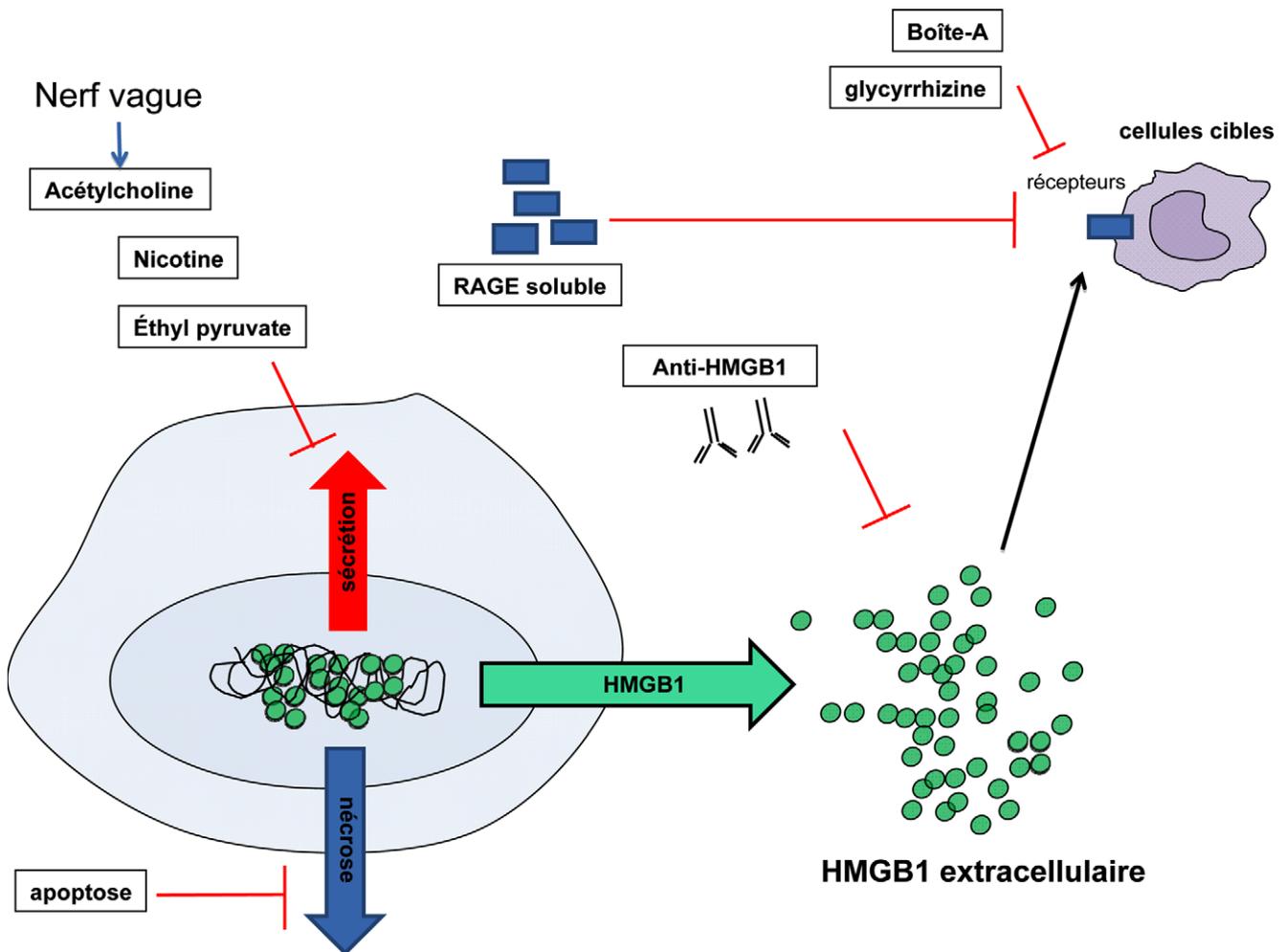
effectivement mesurées à des stades plus tardifs chez ceux qui décèdent de choc septique [20]. Cette difficulté transparaît également à travers les conclusions d'une étude récente portant sur le suivi de patients atteints de pneumonies communautaires, dans laquelle il apparaît impossible de corrélérer les concentrations d'HMGB1 circulantes et la sévérité de la maladie [21].

Pris ensemble, ces travaux donnent une image pour le moins contrastée de l'apport diagnostique et/ou prédictif du dosage d'HMGB1 dans le sérum ou le plasma, alors que la contribution de cette protéine au processus physiopathologique qui conduit au sepsis sévère et au choc septique est attestée par le succès des essais précliniques qui la prennent pour cible (voir infra). Ce hiatus trouve son origine dans deux limites majeures : notre méconnaissance des formes biologiquement actives d'HMGB1 (formes libres, complexées au LPS, à des cytokines pro-inflammatoires, formes réduites ou oxydées ?) et notre incapacité à les doser individuellement, ce qui explique en grande part les incohérences observées dans les méthodes de dosage. Enfin, il faut souligner que les patients inclus dans ces différentes études souffrent d'infections de nature et de localisation variées,

ce qui contribue sans doute à accroître la variabilité des résultats obtenus.

#### **Dosages des formes circulantes d'HMGB1 : pas encore de consensus**

Il existe, depuis peu, un test commercial de type Elisa, adapté au dosage spécifique d'HMGB1 dans les liquides biologiques (Shinotest, Kanagawa, Japan). Brièvement, ce test repose sur la capture d'HMGB1 dans le sérum/plasma et sa détection à l'aide de deux séries d'anticorps dirigés contre des épitopes différents. Ce test a remporté un succès rapide auprès de la communauté des biologistes. Il remplaçait, avantageusement, des techniques de dosage réservées, a priori à des laboratoires experts, et non normalisées, comme le *western-blot* (WB) sur sérum. Si ces deux essais donnent des résultats globalement cohérents, ils montrent également d'intrigantes disparités, le WB donnant des valeurs globalement plus élevées que l'Elisa sur certains échantillons. Une étude comparative menée par Urbonaviciute et al. [22] a confirmé que le test Elisa n'est pas en mesure de détecter toutes les formes d'HMGB1 détectées par WB, en particulier



**Fig. 5** Différentes approches ont été proposées pour bloquer HMGB1 soit en limitant sa libération (induction de l'apoptose, blocage de la sécrétion), son activité hors de la cellule (formation d'un complexe inactif avec le récepteur RAGE soluble, des anticorps neutralisants) ou son interaction avec ses récepteurs cibles (d'après Barnay-Verdier et al, RFL 2009).

en raison du traitement chimique appliqué aux échantillons analysés par WB, qui dénature les protéines et dissocie la plupart des complexes protéine-protéine. Deux hypothèses ont été avancées. La première suppose que la protéine HMGB1 serait fréquemment complexée avec des facteurs sériques, des anticorps anti-HMGB1 naturels notamment, qui en masquent la détection par Elisa. Nous avons récemment développé une technique alternative qui apporte une solution à ce problème [17]. La seconde suggère que des formes variées de la protéine HMGB1 sont présentes dans le sérum, dont certaines (formes clivées, formes modifiées post-traductionnellement) ne seraient pas accessibles aux anticorps utilisés dans le test Elisa commercial. Ces deux propositions n'expliqueraient cependant pas l'ensemble des discordances observées (S. Barnay-Verdier et V. Maréchal, soumis). Certains biologistes ont donc proposé d'attacher une attention toute particulière à la préparation des échantillons (plasma versus, sérum, temps de décantation, durée de conservation,

nombre de congélations-décongélations des échantillons), qui serait la source d'une variabilité non négligeable dans les mesures.

### Approches thérapeutiques : faut-il investir sur les stratégies qui visent HMGB1 ?

La caractérisation des processus biologiques qui induisent la libération d'HMGB1 au cours du sepsis sévère (libération passive par les tissus nécrotiques et par certaines cellules apoptotiques, sécrétion active des cellules immunes activées, comme les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques...) et l'identification de cette protéine comme acteur majeur des phases tardives du sepsis sévère ont permis de proposer de nombreuses approches thérapeutiques, dont la plupart ont pu être validées dans des modèles d'études pré-cliniques. Ces stratégies ont fait l'objet d'une revue récente

dont nous conseillons la lecture [6]. On peut classer ces approches en fonction de l'étape visée :

- sa sécrétion par les cellules immunes activées ;
- sa neutralisation hors de la cellule ;
- le blocage de ses récepteurs (TLR-2, -4 et RAGE).

Divers traitements pharmacologiques inhibent le processus moléculaire qui conduit à la sécrétion d'HMGB1 ; ils ont donné des résultats très encourageants dans des modèles expérimentaux d'endotoxémie et de sepsis induit par ponction cœcale chez la souris. Certains, comme les extraits de thé vert, le cisplatine ou l'éthyl pyruvate, agissent directement sur les macrophages et bloquent la libération d'HMGB1 dans le milieu extracellulaire. Plusieurs publications récentes ont démontré l'activité anti-inflammatoire d'une stimulation du nerf vague. L'activation des efférences vagales centrifuges aboutit en effet à la libération, dans les terminaisons, de médiateurs anti-inflammatoires. En particulier, l'acétylcholine libérée après stimulation du nerf vague agirait directement sur les macrophages, par l'intermédiaire de récepteurs alpha-7-nicotiniques, en bloquant la libération de TNF-alpha et d'HMGB1 [23,24]. Cette réponse physiologique peut être reproduite en utilisant des agonistes de ce récepteur. Ainsi, il a été démontré que l'administration de nicotine améliore l'état des souris dans un modèle murin d'endotoxémie.

Une autre stratégie vise à bloquer les formes circulantes d'HMGB1 hors de la cellule. C'est le mode d'action privilégié des anticorps (mono- et polyclonaux) anti-HMGB1, mais également celui d'antagonistes naturels d'HMGB1, comme les formes circulantes du récepteur RAGE. La troisième stratégie, évaluée avec succès *in vitro* ainsi que dans plusieurs essais précliniques, repose sur l'utilisation d'un inhibiteur compétitif d'HMGB1. Connu sur le nom de *DNA box A*, il s'agit en fait d'un sous-domaine biologiquement inactif d'HMGB1, capable d'entrer en compétition avec HMGB1 pour sa fixation à ses récepteurs cibles. D'autres approches, plus indirectes, visent à éliminer les complexes HMGB-LPS qui constituent probablement les formes actives les plus pro-inflammatoires ; c'est l'objectif du traitement des liquides par des filtres chargés en polymyxine B, une molécule de capture présentant une très forte affinité pour le LPS [6,25].

### Voies de régulation naturelle d'HMGB1 au cours du sepsis

Les résultats des études précliniques menées dans des modèles d'endotoxémie ou de sepsis induit par ponction cœcale ont confirmé que la neutralisation d'HMGB1, de ses voies de libération ou de ses récepteurs limite la sévérité des formes les plus graves de sepsis, au moins chez l'animal. Des résultats similaires, très encourageants, ont été obtenus dans d'autres modèles animaux reproduisant des pathologies humaines

inflammatoires aiguës ou chroniques, septiques ou aseptiques : arthrite rhumatoïde, atteintes organiques liées à l'ischémie-reperfusion, dysfonctionnements de la barrière intestinale, pancréatite, infections respiratoires d'origine virale ou bactérienne, choc hémorragique, transplantations... Parallèlement, le nombre d'approches thérapeutiques proposées ne cesse de croître, conjuguant les innovations de la médecine moléculaire aux apports de molécules issues de la médecine traditionnelle et, en particulier, des extraits de diverses plantes aux vertus anti-inflammatoires (thé vert et réglisse, en particulier). Notre équipe s'est plus récemment intéressée aux processus physiologiques qui permettent à l'organisme d'apporter une réponse adaptée, régulée, à la présence d'HMGB1. Cette question revêt deux aspects au moins, très différents. D'une part, il est vraisemblable que la diversité génétique des voies de réponse à HMGB1 (variations naturelles des gènes codant les TLR, RAGE et des acteurs des voies de signalisation qui sont en aval) soit au moins en partie à l'origine d'une certaine variabilité interindividuelle dans la réponse des organismes à HMGB1. D'autre part, il existe probablement des voies de rétrorégulation négatives des formes circulantes d'HMGB1, notamment lors du sepsis. Le contrôle de la libération d'HMGB1 par stimulation du nerf vague en constitue une première preuve. Nous avons posé l'hypothèse d'une régulation physiologique d'HMGB1 basée sur la production d'anticorps naturels dirigés contre HMGB1. De tels anticorps apparaissent, à des titres élevés et de façon persistante, chez des patients atteints de pathologies auto-immunes notamment, mais leur présence et leur activité biologique hors du contexte auto-immun n'ont pas été explorées. Des travaux déjà anciens ont montré l'émergence d'anticorps dirigés contre l'interféron gamma ou le TNF-alpha dans un modèle expérimental de méningite induite par *Haemophilus influenzae* [26,27]. Nous avons récemment démontré que des anticorps naturels dirigés contre HMGB1 apparaissent, à bas niveau, chez certains patients au cours du choc septique. Nous avons pu mettre en évidence une corrélation forte entre l'apparition de ces anticorps et la survie des patients. Enfin, nous avons rapporté pour la première fois l'apparition, chez deux patients, d'anticorps anti-HMGB1 doués d'une activité catalytique spécifique. Pris ensemble, ces résultats suggèrent que la production régulée d'anticorps naturels dirigés contre HMGB1 — mais, nous supposons que d'autres médiateurs du choc septique pourraient être visés — pourrait être une voie de rétrorégulation négative efficace d'HMGB1 et, plus généralement des cytokines précoces et tardives qui agissent de façon exacerbée dans les formes les plus graves de la maladie. Ces travaux ouvrent la voie à une étude raisonnée des processus d'immunomodulation et de clairance d'HMGB1 chez les patients atteints de sepsis.

**Conflit d'intérêt :** les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

## Références

- Goodwin GH, Johns EW (1973) Isolation and characterisation of two calf-thymus chromatin non-histone proteins with high contents of acidic and basic amino acids. *Eur J Biochem* 40:215–9
- Goodwin GH, Sanders C, Johns EW (1973) A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acidic and basic amino acids. *Eur J Biochem* 38:14–9
- Stros M (2010) HMGB1 proteins: interactions with DNA and chromatin. *Biochim Biophys Acta* 1799:101–13
- Rauvala H, Pihlaskari R (1987) Isolation and some characteristics of an adhesive factor of brain that enhances neurite outgrowth in central neurons. *J Biol Chem* 262:16625–35
- Wang H, Bloom O, Zhang M, et al (1999) HMGB1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 285:248–51
- Yang H, Tracey KJ (2009) Targeting HMGB1 in inflammation. *Biochim Biophys Acta* 1799:149–56
- Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME (2002) Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 418:191–5
- Thorburn J, Horita H, Redzic J, et al (2009) Autophagy regulates selective HMGB1 release in tumor cells that are destined to die. *Cell Death Differ* 16:175–83
- Bell CW, Jiang W, Reich CF 3rd, Pisetsky DS (2006) The extracellular release of HMGB1 during apoptotic cell death. *Am J Physiol Cell Physiol* 291:C1318–C25
- Rauvala H, Rouhiainen A (2009) Physiological and pathophysiological outcomes of the interactions of HMGB1 with cell surface receptors. *Biochim Biophys Acta* 1799:164–70
- Jaulmes A, Thierry S, Janvier B, et al (2006) Activation of sPLA2-IIA and PGE2 production by high mobility group protein B1 in vascular smooth muscle cells sensitized by IL-1beta. *FASEB J* 20:1727–9
- Rouhiainen A, Tumova S, Valmu L, et al (2007) Pivotal advance: analysis of proinflammatory activity of highly purified eukaryotic recombinant HMGB1 (amphoterin). *J Leukoc Biol* 81:49–58
- Sha Y, Zmijewski J, Xu Z, Abraham E (2008) HMGB1 develops enhanced proinflammatory activity by binding to cytokines. *J Immunol* 180:2531–7
- Tian J, Avalos AM, Mao SY, et al (2007) Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE. *Nat Immunol* 8:487–96
- Youn JH, Oh YJ, Kim ES, et al (2008) High mobility group box 1 protein binding to lipopolysaccharide facilitates transfer of lipopolysaccharide to CD14 and enhances lipopolysaccharide-mediated TNF-alpha production in human monocytes. *J Immunol* 180:5067–74
- Yang H, Hreggvidsdottir HS, Palmblad K, et al (2010) A critical cysteine is required for HMGB1 binding to toll-like receptor 4 and activation of macrophage cytokine release. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:11942–7
- Gaillard C, Borde C, Gozlan J, et al (2008) A high-sensitivity method for detection and measurement of HMGB1 protein concentration by high-affinity binding to DNA hemicatenanes. *PLoS One* 3:e2855
- Sunden-Cullberg J, Norrby-Teglund A, Rouhiainen A, et al (2005) Persistent elevation of high mobility group box-1 protein (HMGB1) in patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 33:564–73
- Karlsson S, Pettila V, Tenhunen J, et al (2008) HMGB1 as a predictor of organ dysfunction and outcome in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med* 34:1046–53
- Gibot S, Massin F, Cravoisy A, et al (2007) High-mobility group box 1 protein plasma concentrations during septic shock. *Intensive Care Med* 33:1347–53
- Angus DC, Yang L, Kong L, et al (2007) Circulating high-mobility group box 1 (HMGB1) concentrations are elevated in both uncomplicated pneumonia and pneumonia with severe sepsis. *Crit Care Med* 35:1061–7
- Urbanaviciute V, Furnrohr BG, Weber C, et al (2007) Factors masking HMGB1 in human serum and plasma. *J Leukoc Biol* 81:67–74
- Wang H, Yu M, Ochani M, et al (2003) Nicotinic acetylcholine receptor alpha-7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 421:384–8
- Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al (2000) Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 405:458–62
- Huang W, Tang Y, Li L (2010) HMGB1, a potent pro-inflammatory cytokine in sepsis. *Cytokine* 51:119–26
- Bakhiet M, Diab A, Mahamustafa J, et al (1997) Potential role of autoantibodies in the regulation of cytokine responses during bacterial infections. *Infect Immun* 65:3300–3
- Bakhiet M, Elkarim R, Diab A, et al (1999) A novel mechanism for cytokine regulation: screening, selection, and characterization of anticytokine monoclonal and polyclonal autoantibodies. *J Interferon Cytokine Res* 19:439–45