

EFFETS DE TWEAK SUR LA BARRIERE HEMATO-ENCEPHALIQUE

Delphine Stephan

► **To cite this version:**

Delphine Stephan. EFFETS DE TWEAK SUR LA BARRIERE HEMATO-ENCEPHALIQUE. Biologie cellulaire. 2012. <hal-01472745>

HAL Id: hal-01472745

<https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-01472745>

Submitted on 21 Feb 2017

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.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES

Sciences de la Vie et de la Terre

MEMOIRE

Présenté

par

STEPHAN Delphine

pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes

EFFETS DE TWEAK SUR LA BARRIERE HEMATO-ENCEPHALIQUE

soutenu le 13 avril 2012 devant le jury suivant :

Anne Marcilhac	– Président
Sophie Desplat-Jégo	– Tuteur scientifique
Mireille Rossel	– Tuteur pédagogique
Françoise Dignat George	– Rapporteur
Philippe Berbis	– Examineur

Mémoire préparé sous la direction de :

Sophie Desplat-Jégo
Laboratoire de Neurobiologie des Interactions Cellulaires et Neurophysiopathologie
Faculté de Médecine Nord
51 Bd Pierre Dramard
13 015 Marseille
sophie.jego-desplat@mail.ap-hm.fr

et de

Mireille Rossel
Laboratoire de Mécanismes Moléculaires dans les Démences Neurodégénératives (EPHE)
Laboratoire MMDN EPHE INSERM U710
cc105
Place Eugène Bataillon
34095 Montpellier cedex 5
mireille.rossel@univ-montp2.fr

Résumé

TWEAK (TNF WEAKly inducer of apoptosis) est une protéine transmembranaire membre de la superfamille des TNF ligands qui peut être clivée pour agir sous forme de cytokine soluble. L'interaction de TWEAK avec son principal récepteur, Fn14, est impliquée dans de multiples réponses cellulaires allant de la prolifération à la mort et variant selon le type de cellule et le contexte micro-environnemental. Nous avons été les premiers à montrer les effets pro-inflammatoires de TWEAK sur le système nerveux central (SNC), modulables *in vivo* chez l'animal par l'injection d'anticorps anti-TWEAK bloquant. Notre hypothèse de travail est que TWEAK pourrait moduler les propriétés de la barrière hémato-encéphalique (BHE) car 1- les cellules endothéliales sont connues pour être des cibles de TWEAK et 2- des travaux récents de l'équipe montrent que TWEAK est exprimé par les monocytes infiltrants de patients atteints de sclérose en plaques. Les travaux présentés dans ce mémoire illustrent l'étude des effets de TWEAK sur un modèle *in vitro* de BHE humaine.

Mon premier objectif a été, avec le soutien financier de l'Agence Nationale de la Recherche (projet « TWEAKing the BBB »), de mettre en place dans le laboratoire un modèle *in vitro* de BHE humaine. Nous avons choisi d'importer le modèle utilisant la lignée microvasculaire endothéliale cérébrale humaine hcMEC/D3. J'ai d'abord validé l'expression de Fn14 par la lignée cellulaire puis étudié les effets biologiques de TWEAK sur cet endothélium cultivé sur inserts. J'ai montré que TWEAK induit la prolifération des cellules, la production de cytokines et module la perméabilité du modèle au Lucifer Yellow. Ensuite, afin de cerner les mécanismes mis en jeu par TWEAK dans l'altération de la BHE j'ai étudié les effets de TWEAK sur la modulation de l'expression de protéines candidates par les cellules hcMEC/D3, protéines connues pour réguler la perméabilité de la BHE. Pour avoir une vue d'ensemble des gènes des cellules hcMEC/D3 modulés en présence de TWEAK et dégager ainsi des voies métaboliques dérégulées par la cytokine, nous avons analysé le transcriptome des hcMEC/D3. Nos résultats confirment que TWEAK agit sur la perméabilité de la BHE en modulant l'expression 1- de la métalloprotéase MMP-9, 2- de la molécule de jonction ZO-1 et 3- de la protéine d'adhésion ICAM-1 .

L'ensemble de nos résultats suggère que TWEAK aurait un rôle modulateur sur la transmigration des leucocytes à travers l'endothélium cérébral au cours de l'inflammation. La poursuite de mes travaux se focalisera sur la validation de cette hypothèse.

MOTS-CLE_S : TWEAK, barrière hémato-encéphalique, neuro-inflammation, cytokines, cellules endothéliales cérébrales.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	2
TABLE DES MATIÈRES	3
ABRÉVIATIONS	4
I. INTRODUCTION	6
A PRÉSENTATION DE TWEAK, UN MEMBRE DE LA FAMILLE DU TNF	6
1. LA SUPERFAMILLE DU TNF	6
A) CARACTÉRISATION DES LIGANDS ET DES RÉCEPTEURS.....	7
B) TRANSDUCTION DES SIGNAUX INDUITS PAR L'INTERACTION LIGAND/RÉCEPTEUR	8
C) DIVERSITÉ DES EFFETS BIOLOGIQUES.....	9
2 TWEAK, UN MEMBRE « MODÉRÉ » DE LA FAMILLE DU TNF.....	9
A) DESCRIPTION DE TWEAK ET DE SON PRINCIPAL RÉCEPTEUR FN14	10
B) SOURCES ET CIBLES DE TWEAK.....	11
C) EFFETS BIOLOGIQUES DE L'INTERACTION ENTRE TWEAK/FN14.....	12
B LA BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE : À L'INTERFACE SANG/SYSTÈME NERVEUX CENTRAL	13
1 ORGANISATION STRUCTURELLE	14
A) COMPOSANTS CELLULAIRES	14
A1) LES CELLULES ENDOTHÉLIALES	14
A2) LES ASTROCYTES	15
A3) LES PÉRICYTES.....	15
B) LA LAME BASALE ET LA MATRICE EXTRACELLULAIRE.....	16
2 ÉLÉMENTS FONCTIONNELS DE LA BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE	16
A) LES ÉLÉMENTS D'ÉTANCHÉITÉ DE LA BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE.....	16
B) PASSAGE DES NUTRIMENTS AU TRAVERS DE LA BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE.....	17
C) TRANSMIGRATION DES LEUCOCYTES AU TRAVERS DE LA BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE.....	18
3 MODÈLES <i>IN VITRO</i> DE BHE.....	19
C INFLAMMATION DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL	22
1 LA GLIOSE RÉACTIONNELLE	23
2 INFILTRAT DE CELLULES IMMUNES DANS LE SNC.....	25
3 RÔLE DES CYTOKINES DANS L'INFILTRATION DES CELLULES.....	25
A) DÉFINITION.....	26
B) SOURCE DES CYTOKINES.....	26
4 RÔLE DE TWEAK DANS LA NEURO-INFLAMMATION.....	27
BIBLIOGRAPHIE	30

Abréviations

a.a. : Acide Aminé

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AJ : Adherent Junction

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

CIS : Syndrome Cliniquement Isolé

CPA : Cellule Présentatrice de l'Antigène

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EAE : Encéphalomyélite Auto-immune Expérimentale

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FITC : Fluorescein Isothiocyanate

GFP : Green Fluorescent Protein

HEK : Human Embryonic Kidney cells

HUVEC : Human Umbilical Vein Endothelial Cells

kDa : Kilo Dalton

LB : Lysogeny Broth

MAP : Microtubule Associated Protein

MMLV : Moloney Murine Leukemia Virus

MMP : Matrix Metalloprotase

NK : Natural Killer

NGF : Nerve Growth Factor

SVF : Sérum de Veau Foetal

PBMC : Peripheral Blood Mononuclear Cell

PCR : Polymerase Chain Reaction

PBS : Phosphate Buffered Saline

PFA : Paraformaldéhyde

Rh : Recombinant Humain

SEP : Sclérose En Plaque

SNC : Système Nerveux Central

TBE : Tris Borate EDTA pH 8,2

THP1 : Human acute monocytic leukemia cell line

TJ : Tight Junction

TNF : Tumor Necrosis Factor

TNF-R : Tumor Necrosis Factor – Receptor

TRAF : TNF Receptor-Associated Factor

TWEAK : TNF Weakly

ZO-1 : Zonula Occludens-1

I. Introduction

A Présentation de TWEAK, un membre de la famille du TNF

TWEAK a été décrit en 1997 par Yves Chicheportiche (Chicheportiche et al., 1997). Alors que ce chercheur travaillait sur les fonctions de l'érythropoïétine (Berney et al., 1992; Shibata et al., 1990) et qu'il recherchait des analogues de cette molécule à partir d'ARN de macrophages péritonéaux de souris. Différents clones ont été obtenus (Chicheportiche et al., 1995; Chicheportiche et al., 1997) dont un qui présentait une forte homologie structurale avec les membres de la famille du TNF. Ce gène a été cloné en parallèle de son homologue humain. La protéine codée par ce gène fût appelée TWEAK : « T » pour « TNF », et « WEAK » pour faiblement car elle peut faiblement induire la mort de certaines lignées cellulaires. Ce gène est situé sur la région p13 du chromosome 17 et ne colocalise pas avec les gènes des autres membres de la famille du TNF.

TWEAK appartient à la famille des ligands du TNF (TNF-SF12). C'est pourquoi nous allons nous intéresser dans cette première partie de l'introduction bibliographique aux éléments structuraux et fonctionnels qui caractérisent la famille du TNF.

1. La superfamille du TNF

En 1975, l'équipe de Carswell travaillant sur la nécrose hémorragique de tumeurs produites par les endotoxines découvre une nouvelle substance qu'elle nomme le TNF pour « tumor necrosis factor » (Carswell et al., 1975). De nombreuses études démontrent alors que le TNF n'est pas un résidu d'endotoxine mais un facteur produit par la cellule hôte après activation du système immunitaire. Le TNF- α existe sous deux formes actives, une forme transmembranaire de 26 kDa et une forme soluble de 17kDa.

Au cours des années suivantes, il apparut que le TNF était le chef de file d'une grande famille de molécules solubles ou membranaires structurellement proches et utilisant des récepteurs eux-mêmes similaires. La nomenclature actuelle tient compte de cette notion importante de famille car elle note ces différentes entités "TNF super family (TNFSF)" suivi

d'un chiffre évocateur de l'ordre de description successive des différents membres (de 1 jusqu'à 20 au jour d'aujourd'hui).

a) Caractérisation des ligands et des récepteurs

Les ligands de la famille du TNF sont en grande partie des protéines transmembranaires de type II (extrémité C-terminale du côté extracellulaire). Elles sont produites par un grand nombre de cellules incluant les macrophages, les lymphocytes T, les granulocytes, les mastocytes, les cellules natural killer (NK), mais également des cellules non immunitaires comme les cellules endothéliales, les ostéoblastes, les fibroblastes, les kératinocytes et les cellules des muscles lisses. Dans le système nerveux central (SNC), la microglie, les astrocytes et les neurones sont les sources principales de TNF- α .

Les formes solubles sont obtenues par clivage protéolytique des formes membranaires. Ces formes tronquées ont une action sur des cibles plus éloignées et hors contact cellulaire direct. C'est le cas, par exemple pour Fas et pour le TNF- α après l'action de métalloprotéases matricielles appelées adamalysines (ADAM-17, appelée TACE pour TNF- α converting enzyme). Les ligands exercent leurs effets biologiques en se fixant sur des récepteurs spécifiques.

La famille des récepteurs aux TNF (TNFRSF) comporte 19 membres, qui sont majoritairement des protéines de type I, c'est à dire que leur extrémité N-terminale est du côté extracellulaire.

Il existe deux récepteurs pour le TNF- α : le TNF-R1 (CD 120a) (50 kDa, 455 acides aminés), et le TNF-R2 (CD120b) (48 kDa, 461 acides aminés). TNF-R1 est exprimé de façon constitutive chez un grand nombre de types cellulaires alors que le TNF-R2, dont l'expression est inductible, n'est présent qu'au niveau des cellules endothéliales et des cellules dérivant de la lignée hématopoiétique. Le TNF-R1 possède un domaine de mort et interagit préférentiellement avec le TNF membranaire (interaction cellule-cellule) tandis que le deuxième lie principalement le TNF- α soluble (Idriss et Naismith, 2000) et active les voies de signalisation du NF- κ B et celles des kinases qui phosphorylent c-Jun (JNK). Dans les cellules, NF- κ B est présent sous forme d'un complexe associant une sous unité p65 à une sous unité p50. Tant que ce complexe est associé à la protéine I κ B l'ensemble est séquestré dans le cytoplasme sous forme inactive. Lorsqu'il y a liaison du TNF- α à son récepteur, un relargage

de I_B se fait par phosphorylation NF-_B. Le complexe p65/p50 libre peut alors se transloquer dans le noyau entraînant ainsi la transcription de gènes de l'inflammation.

La liaison des ligands sur leurs récepteurs entraîne la trimérisation de ces derniers et enclenche la transduction du signal. Cependant, les ligands peuvent aussi se lier à des récepteurs déjà pré-associés. Ils entraînent alors un réarrangement des chaînes du récepteur et permettent la formation de larges complexes ligands-récepteurs. Cette pré-association pourrait être critique pour une transduction rapide du signal en cas de faible expression des récepteurs à la membrane.

De même qu'un membre de la famille des TNF ligands peut se lier à plusieurs récepteurs, un même récepteur peut fixer plusieurs ligands comme par exemple TACI (transmembrane activator and CAML interactor) qui peut lier BAFF (B-cell activating factor of TNF family) ou APRIL (a proliferation-inducing ligand).

L'expression membranaire de la famille des récepteurs au TNF peut être régulée à différents niveaux : 1- transcriptionnel, 2- trafic intracellulaire (transport à la membrane de la protéine), 3- clivage protéolytique et 4- endocytose après liaison au ligand.

Comme leurs ligands les récepteurs peuvent subir un clivage protéolytique (CD27, CD30, CD40, TNF-R1, TNF-R2 sont clivés par ADAM-17) (Gruss et Dower, 1995). Ils peuvent également subir un épissage alternatif de l'exon codant pour le domaine transmembranaire (Fas et 4-1BB) (Smith et al., 1994). Le rôle essentiel de ces récepteurs solubles dans la modulation de l'activité de leurs ligands a été bien documenté, notamment pour TNF-R1 (McDermott et al., 1999).

L'ARN messager du TNF possède en 3' une séquence riche en uracile-adénine (ARE's) qui entraîne sa dégradation post-traductionnelle (Kontoyiannis et al., 1999). Ceci permet probablement de prévenir de toute production excessive de TNF-_α en l'absence d'inflammation.

b) Transduction des signaux induits par l'interaction ligand/récepteur

La signalisation, suite à la trimérisation des récepteurs, est complexe. Elle fait intervenir plusieurs voies : celles des caspases, du NF-_B et d'autres réponses cellulaires impliquant différentes kinases comme p38 et JNK, la sphingomyélinase, les flux calciques, et d'autres protéines de signalisation (Wajant et al., 2003). Le TNF-_α va se lier à la partie extracellulaire de son récepteur au niveau de domaines riches en cystéines appelés CDR2 et

CDR3 (Cysteine Domain Rich) et entraîne la transduction du signal via deux types de molécules adaptatrices : 1- les TRAFs (TNF receptor-associated factors) et 2- les molécules à domaines de mort (Death Domains ou « DD »). Il existe au moins 6 membres de la famille TRAF. La famille « DD » est représentée par de nombreuses molécules (Wajant et al., 1999). L'engagement des domaines de mort aboutit à leur association aux protéines adaptatrices, par exemple FADD (Fas Associated DD protein) pour le récepteur Fas et TRADD (TNFR Associated DD protein) pour TNF-R1. Le recrutement et l'activation des caspases 8 et 10 pro-apoptotiques sont liés à l'association des domaines DED (Death Effector Domain) de FADD avec leurs prodomaines.

Pour les récepteurs TNF-R1, la protéine adaptatrice TRADD sert de plateforme pour recruter d'autres protéines comme TRAF2. L'oligomérisation de TRAF2 entraîne la transcription de nombreux gènes codant pour des protéines de l'inflammation dont ses propres sous-unités.

La fixation du TNF sur ses deux récepteurs n'induit pas la même réponse. En effet, le récepteur TNF-R1 est impliqué dans l'apoptose et la cytotoxicité par la voie du NF- κ B, tandis que le TNF-R2 engendre une réponse de survie, de prolifération et de protection cellulaire (Montgomery et al., 2011).

Au total, 1- la complexité des différentes voies d'activation, 2- la combinaison de plusieurs signaux et de plusieurs récepteurs, 3- l'état d'activation de la cellule qui dépend en particulier de son interaction avec son environnement et notamment la matrice extracellulaire et enfin 4- les interférences avec les autres voies de signalisation expliquent que l'activation d'un de ces récepteurs puisse induire des réponses différentes, voire opposées en fonction du modèle cellulaire analysé.

c) Diversité des effets biologiques

La diversité des effets biologiques du TNF- α vient entre autres de la présence de ses récepteurs à la surface d'un grand nombre de cellules.

2 TWEAK, un membre « modéré » de la famille du TNF

TWEAK (CD255) appartient à la superfamille des ligands des TNFR (TNFSF12).

Cette nouvelle protéine, décrite en 1997, a été nommée TWEAK car elle présente des motifs consensus permettant de la classer parmi les membres de la famille du TNF (« T »

pour « TNF »). De plus, une des premières fonctions biologiques décrite est sa capacité d'induire faiblement la mort de certaines lignées cellulaires (« WEAK » pour faiblement) (Chicheportiche et al., 1997).

a) Description de TWEAK et de son principal récepteur Fn14

L'analyse des séquences en acides aminés de TWEAK suggère qu'il s'agit, comme pour les autres membres de la famille du TNF, d'une protéine membranaire de type II. Elle est composée d'une courte séquence N-terminale (N-ter) hydrophile intracellulaire de 18 acides aminés, d'un domaine transmembranaire (TM) suivi du domaine C-terminal (C-ter) extracellulaire qui contient un seul site de N-glycosylation. Entre les domaines TM et C-ter se trouve une région riche en acides aminés basiques (arginines) sensible à la protéolyse. La comparaison des séquences en acides aminés du domaine extracellulaire du TWEAK humain et murin présente une identité de séquence de 93%, pourcentage supérieur à ce qui est observé pour les autres membres de la famille du TNF (de l'ordre de 80%).

Comme pour la séquence nucléotidique du TNF, on retrouve des sites de polyadénylation et une région riche en adénine-uracile (ARE's). Ces régions, qui peuvent déstabiliser les ARNm, sont décrites dans plusieurs gènes codant pour des cytokines inflammatoires.

Le principal récepteur de TWEAK est la protéine Fn14 (TNFRSF12A, CD266).

L'identification de ce récepteur date de 2001. Il a été obtenu à partir d'une librairie d'ADNc issue de cellules endothéliales de veine de cordon ombilical humain (HUVEC) (Wiley et al., 2001). Fn14 est une molécule de 14 kDa constituée de 112 acides aminés, décrite pour la première fois lors de la recherche de molécules inductibles par les facteurs de croissance dans la lignée fibroblastique murine NIH3T3 (Meighan-Mantha et al., 1999). Fn14 présente un degré d'identité de séquence modéré avec les autres membres de la famille des récepteurs au TNF.

Fn14 est exprimé par de nombreux types cellulaires (cellules du cancer du sein, carcinome du colon, cellules de glioblastome...). Les seules cellules qui ne l'expriment pas sont les lymphocytes T et B (Burkly et al., 2007).

Fn14 est faiblement exprimé dans les tissus sains, cependant, il est fortement induit lors d'un stress oxydatif, chimique ou mécanique ainsi que dans des maladies inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, athérosclérose, sclérose en plaque (SEP)...). Au cours de la réaction inflammatoire, l'expression de Fn14 est modulé par les facteurs de croissances (des fibroblastes, des nerfs et des plaquettes) et les cytokines libérées (TNF- α , IL-1 α , IFN- γ , TGF- β et IL-13) (Winkles, 2008 ; Burkley et al., 2011).

Le domaine intracellulaire de Fn14 possède un motif (PIEET) qui permet les interactions avec TRAF. L'interaction TWEAK/Fn14 peut stimuler soit la voie de signalisation du NF- κ B (Brown et al., 2003) et/ou la voie des MAP kinase (MAPK). En revanche, Fn14 ne possède pas de domaine de mort.

Bien que Fn14 soit le seul récepteur avéré de TWEAK, il est néanmoins admis que ce dernier possède d'autres cibles. En effet, TWEAK induit la différenciation de macrophages murins (RAW264,7) qui ne présentent pas le récepteur Fn14 en ostéoclastes fonctionnels (Polek et al., 2010). Cela suggère la présence d'un autre récepteur. Une autre étude a montré que TWEAK peut se lier spécifiquement à un peptide cyclique contenant le motif consensus WXDDG (X : tous les a.a. sauf la proline), motif est présent sur le CD163. C'est un récepteur présent essentiellement à la surface des monocytes et des macrophages qui permet l'élimination des complexes haptoglobine-hémoglobine circulants (Bover et al., 2007). Cependant, d'autres travaux sont encore nécessaires pour vérifier cette hypothèse.

b) Sources et cibles de TWEAK

L'étude des transcrits de TWEAK sur tissus ou lignées cellulaires révèle une expression relativement ubiquitaire, tant chez l'Homme, que chez la souris.

Dans notre équipe, nous avons montré la présence de transcrits de TWEAK dans les astrocytes et la microglie de souris. En revanche, la protéine n'est détectable que dans la microglie après stimulation par de l'interféron gamma (IFN- γ) (Desplat-Jégo et al., 2002) comme ce qui a été décrit chez les monocytes humains (Nakayama et al., 2000). Une autre étude a confirmé la présence de TWEAK membranaire par immunohistochimie dans la microglie humaine (Tran et al., 2003). Plus récemment, nous avons démontré par cytométrie en flux que les monocytes de patients atteints de SEP expriment TWEAK à la membrane (Desplat-Jégo et al., 2009).

TWEAK peut être également détecté sous forme soluble. En effet, une forme soluble de 18 kDa est détectée après transfection *in vitro* ou produite par les monocytes *in vivo*, et peut représenter jusqu'à 50% de la quantité totale de TWEAK produit. Ceci est cohérent avec l'existence d'un site potentiel de clivage par des protéases de la famille des pro-protéines convertases comme la furine au niveau de la région « tige » située entre le domaine transmembranaire et le domaine de liaison au récepteur (Arg⁹²-Arg⁹³) (figure 2) (Bodmer et al., 2002; Chicheportiche et al., 1997).

c) Effets biologiques de l'interaction entre TWEAK/Fn14

Les effets biologiques du complexe TWEAK/ Fn14 sont dépendants du microenvironnement. Les premiers travaux sur les effets biologiques de TWEAK (Chicheportiche et al., 1997) aboutirent à deux conclusions :

1 - TWEAK induit la sécrétion d'IL-8, chimiokine sécrétée au cours de l'inflammation, par différentes lignées tumorales humaines : HT29 (adénocarcinome colique), A375 (mélanome), WI-38 (lignée fibroblastique), A549 (carcinome pulmonaire), à des concentrations variables (entre 1 et 110 ng/mL) selon le type cellulaire.

2 - TWEAK induit faiblement la mort des HT29 cultivées en présence d'IFN γ . Par contre, TWEAK n'a pas d'effet pro-apoptotique sur les autres lignées testées (lignées hématopoïétiques et non hématopoïétiques).

Cependant, Schneider et al ont montré dans un modèle de rhabdomyosarcome (cellules Kym-1) que la fixation de TWEAK sur Fn14 peut induire la mort des cellules tumorales par la voie apoptotique impliquant les caspases 3 et 8. TWEAK induit la mort cellulaire en augmentant l'interaction TNF-TNF-R1 (Schneider et al., 1999b). TWEAK peut également induire la mort par nécrose en impliquant la cathepsine B (Nakayama et al., 2002).

TWEAK présente néanmoins d'autres effets biologiques. Des travaux ont montré que TWEAK a un effet prolifératif sur les cellules endothéliales humaines en culture, issues de 1- veine de cordon ombilical (HUVEC), 2- capillaires cérébraux et dermiques et 3- d'aorte (Lynch et al., 1999). TWEAK possède aussi des propriétés angiogéniques puisqu'il induit la formation de néovaisseaux *in vivo* lorsqu'il est administré dans la cornée de rat (Lynch et al., 1999).

TWEAK présente également des effets pro-inflammatoires. Il augmente la libération de prostaglandine E2, MMP-1, IL-6, IL-8, RANTES et IP-10 dans les surnageants de culture de fibroblastes et de synoviocytes (cellules de la membrane synoviale). Cet effet est potentialisé par le TNF- α et l'IL-1 β , renforçant l'idée que TWEAK pourrait intervenir dans la physiopathologie des arthrites inflammatoires chroniques destructrices (Chicheportiche et al., 2002). D'autres travaux ont montré que TWEAK induisait aussi une sécrétion d'IL-8 et CCL2 par les cellules HUVEC ainsi qu'une augmentation de l'expression de molécules d'adhésion ICAM-1 et E-sélectine (Harada et al., 2002).

TWEAK module l'expression des MMPs (Li et al., 2009). Les MMPs constituent une famille multigénique (près de 25 membres à ce jour) de protéases dépendantes du zinc, sécrétées ou membranaires. Ces protéases régulent la biodisponibilité des protéines de la matrice extracellulaire, membranaires ou solubles, comme des cytokines, des chimiokines, des facteurs trophiques, des protéines d'adhérence et différents récepteurs. L'activité protéolytique des MMPs est contrôlée par quatre inhibiteurs : les TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases).

Bien que des effets sur l'angiogénèse et sur la prolifération cellulaire ont été observés sur des cellules endothéliales *in vitro* et *in vivo*, rien n'est connu à ce jour sur les effets potentiels de TWEAK sur l'endothélium microvasculaire cérébral qui constitue la BHE.

B La barrière hémato-encéphalique : à l'interface sang/système nerveux central

Les structures qui permettent le passage des cellules et des molécules entre les différents compartiments du SNC assurent une sélectivité des échanges, à l'origine de la notion de barrière. On décrit 3 types de barrières dans le SNC : hémato-encéphalique (entre sang et système nerveux), encéphalo-méningée (entre système nerveux et le liquide céphalo-rachidien (LCR)) et hémato-méningée (entre sang et LCR). La barrière hémato-encéphalique (BHE) est l'objet de notre étude.

L'existence de la BHE a été révélée par Ehrlich en 1885, lorsqu'il observa que seuls les tissus cérébraux n'étaient pas colorés lors de l'injection d'un colorant anilique dans la circulation sanguine systémique chez des rats. D'autres observations ont montré que certains composés étaient dénués d'activité pharmaceutique dans le SNC dans le cas d'injection par

voie intra-veineuse chez l'animal (Bield et Kraus, 1998 ; Lewandowsky, 1900). En revanche, les mêmes composés pharmaceutiques produisent des symptômes dramatiques lors d'injection dans le LCR (). Ces expériences suggèrent donc la présence d'une barrière entre le sang et le cerveau. Un peu plus tard, une autre expérience démontra que du bleu trypan injecté par voie sanguine colore tous les tissus à l'exception du cerveau, de la moelle épinière et du LCR, alors que, lorsque le colorant était injecté dans le liquide céphalo-rachidien, les tissus adjacents du SNC se teintaient, impliquant l'existence d'une barrière au niveau des micro-vaisseaux cérébraux.

Le terme de barrière hémato-encéphalique sera introduit en 1921 par Stern et Gaultier. La BHE est une interface active entre la circulation sanguine et le système nerveux central avec deux fonctions connues : 1- la fonction de barrière limitant le passage de substances potentiellement toxiques du sang vers le SNC et 2- la fonction de transport de nutriments du sang vers le cerveau.

1 Organisation structurelle

a) Composants cellulaires

La BHE est constituée essentiellement de cellules endothéliales qui forment les capillaires sanguins intracérébraux. Ces capillaires sont entourés et séparés des cellules nerveuses par des prolongements astrocytaires (ou pieds vasculaires des astrocytes). Entre ces prolongements et les cellules endothéliales se trouve la lame basale produite par les cellules endothéliales et les astrocytes. En plus des astrocytes d'autres cellules, les péricytes, entourent les cellules endothéliales.

a1) Les cellules endothéliales

Les capillaires du SNC sont continus et constitués de cellules endothéliales jointives entourées par une lame basale qui peut se dédoubler par endroits pour envelopper des péricytes.

Les capillaires du SNC se distinguent morphologiquement des capillaires de la circulation systémique par deux points essentiels :

1- la rareté des vésicules de pinocytose associée à un nombre accru de mitochondries

2- la présence de jonctions intercellulaires de type *zonula occludens* (tight junctions ou jonctions serrées), beaucoup plus obstructives que de simples *macula occludens* (adherent junctions ou jonctions adhérentes). Celles-ci contribuent à l'imperméabilité de la barrière qui limite ainsi les échanges entre le sang et le SNC (« barrière sang-cerveau »).

a2) Les astrocytes

Dans le SNC, les capillaires sont entièrement entourés par des prolongements cytoplasmiques des astrocytes (pieds astrocytaires).

Les astrocytes, de par le réseau tridimensionnel que forment leurs prolongements cytoplasmiques, jouent un rôle de support structural au sein du parenchyme du SNC. Ce réseau est responsable de la dissociation des fibres nerveuses en faisceaux et assure de plus la sélectivité de la transmission nerveuse. En effet, de petites languettes issues des prolongements cytoplasmiques des astrocytes entourent les synapses et empêchent ainsi la diffusion des neurotransmetteurs aux alentours. Les astrocytes participent aussi à la cohésion du tissu nerveux par l'expression de molécules d'adhésion qui interagissent avec celles exprimées par les neurones, comme par exemple les molécules N-CAM (Saad et al., 1991).

Les pieds astrocytaires 1- entourent les vaisseaux sanguins qui constituent la couche interne de la BHE et 2- enveloppent les nœuds de Ranvier et les synapses. Les astrocytes captent ainsi le glucose sanguin, puis le stockent sous forme de glycogène pour fournir l'énergie nécessaire à l'activité des cellules nerveuses.

a3) Les péricytes

On accorde aux péricytes un rôle proche de celui des cellules astrocytaires. Ils apporteraient un soutien structurel aux cellules endothéliales cérébrales (Ballabh et al., 2004) et pourraient grâce à leur modulation d'expression de l'actine, réguler le flux sanguin dans les capillaires (Bandopadhyay et al., 2001 ; Bonkowski et al., 2011). Les péricytes sont capables d'induire des propriétés de BHE en co-culture avec des cellules endothéliales cérébrales (Dohgu et al., 2005). L'équipe de Bonkowski a mis en évidence le lien étroit et essentiel entre les péricytes et les astrocytes (Bonkowski et al., 2011) au sein de la BHE. En effet, ils communiquent directement de cellule à cellule, afin de coordonner les fonctions de la BHE. Cette communication est essentielle pour maintenir les fonctions vasculaires et doit être complète. En effet, si un des deux acteurs est manquant, la cohérence du système est rompue et un état neuro-inflammatoire peut s'installer.

Les péricytes fonctionnent comme des macrophages. On trouve dans leurs cytoplasmes beaucoup de lysosomes. Ils possèdent par ailleurs *in vivo* la capacité d'absorption de traceurs solubles, apportés par le sang ou le LCR. Les péricytes sont doués de phagocytose et peuvent présenter les antigènes notamment dans le cortex cérébral humain (Hasan et Glee, 1990). Ces propriétés de macrocytes sont une « deuxième ligne de défense » contre les molécules neurotoxiques, qui ont déjà franchi la couche endothéliale en direction du cerveau. C'est pourquoi les péricytes contribuent substantiellement à l'immunité du SNC. De la même façon, ils peuvent participer au développement de certaines maladies (Dalkara et al., 2011). On discute aussi d'une participation indirecte à la maladie d'Alzheimer (Verbeek et al., 1997).

b) La lame basale et la matrice extracellulaire

Les péricytes et les cellules endothéliales sont enfermés dans la lame basale, une membrane de 30 à 40 nm d'épaisseur constituée de collagène de type IV, de protéoglycanes, de laminine, fibronectine et d'autres protéines matricielles. La lame basale est contiguë à la membrane plasmique des pieds des prolongements astrocytaires. Elle sert de support et d'attache.

Bien que les cellules du SNC, ainsi que leurs prolongements, soient tassées les unes contre les autres, il persiste entre elles un espace extracellulaire contenant un gel protéique fluide, la matrice extracellulaire (MEC). Elle joue un rôle fondamental dans les échanges entre les neurones qui n'ont aucun contact direct avec les capillaires sanguins et le sang. Ces échanges s'effectuent par l'intermédiaire des astrocytes et par diffusion dans les espaces extracellulaires. Les MMPs sont impliquées dans la dégradation de nombreuses protéines de la matrice extracellulaire.

2 Eléments fonctionnels de la barrière hémato-encéphalique

a) Les éléments d'étanchéité de la barrière hémato-encéphalique

Le passage des substances du sang vers le système nerveux est particulièrement complexe. La présence de jonctions cellulaires étanches empêche toute diffusion paracellulaire de composés solubles hydrophiles à travers l'endothélium cérébral et oriente le trafic moléculaire vers les voies de transcytose. Les cellules endothéliales des capillaires

cérébraux sont liées entre elles par des jonctions serrées (TJs) et des jonctions adhérentes (AJs).

Les jonctions serrées constituent une barrière physique qui force les molécules à passer par la voie transcellulaire plutôt que paracellulaire. Les composants moléculaires des TJs peuvent être séparés en deux catégories : les protéines transmembranaires et les protéines cytoplasmiques. Parmi les protéines transmembranaires, on retrouve l'occludine (Furuse et al., 1993), les molécules de jonctions (JAM) (Martin-Padura et al., 1998) et les membres de la famille des claudines (Furuse et al., 1998). Parmi les protéines cytoplasmiques, qui permettent de lier les protéines transmembranaires au cytosquelette, on retrouve la zonula-occludens (ZO-1) (Stevenson et al., 1986) et ZO-2 (Gumbiner et al., 1991 ; Wilhelm et al., 2011).

Les jonctions adhérentes se retrouvent sur l'ensemble du système vasculaire. Au niveau du SNC elles permettent l'adhésion de cellules sur la BHE, l'inhibition de contact lors du remodelage et de la croissance des vaisseaux, et la régulation de la perméabilité paracellulaire. Parmi cette famille de protéines on retrouve les cadhérines qui sont liées aux caténines, protéine de liaison au cytosquelette (Breier et al., 1996).

b) Passage des nutriments au travers de la barrière hémato-encéphalique.

Les principaux nutriments nécessaires au développement et à l'ensemble des fonctions cérébrales, en particulier le glucose et la plupart des acides aminés (à l'exception des acides aminés neurotransmetteurs tels que le glutamate, l'aspartate, la glycine ou le GABA qui sont synthétisés dans le cerveau), sont largement hydrosolubles et doivent emprunter un système de transport actif pour traverser la BHE par voie transcellulaire (Tamai et Tsuji, 2000).

La BHE possède de nombreuses protéines de transport permettant de réguler le passage de molécules, que ce soit pour l'efflux des xénobiotiques, le passage de molécules depuis le SNC vers le sang ou le passage depuis le sang vers le SNC.

Le passage des molécules du sang vers le SNC, par le biais de transporteurs d'influx, permet d'apporter au cerveau les nutriments et molécules essentielles à son fonctionnement, comme le glucose et les acides aminés.

Les transporteurs ABC (ATP Binding Cassette) ou transporteurs d'efflux, vont eux limiter l'entrée des xénobiotiques. D'autres transporteurs permettent d'éliminer les métabolites et les toxines du SNC vers le sang.

La transcytose permet également de faire passer des molécules de part et d'autre de la BHE via des vésicules. Ce mécanisme peut être médié par des récepteurs ou non. En l'absence de récepteur, la liaison se fait entre des substances poly-cationiques et les charges négatives de la membrane plasmique.

En revanche, les molécules naturelles ou médicamenteuses lipophiles de petite taille peuvent pénétrer dans le compartiment cérébral par voie transcellulaire et diffuser à travers la bicouche lipidique de la membrane plasmique endothéliale. Ce phénomène est cependant limité par la présence, au niveau de l'endothélium, de plusieurs pompes d'efflux qui diminuent fortement la rétention cérébrale d'un grand nombre de molécules lipophiles (éthanol, caféine, nicotine...) en les refoulant dans le compartiment sanguin.

Enfin, il existe un passage paracellulaire, notamment pour permettre aux cellules de l'immunité de pénétrer dans le SNC. Dans ce cadre, des molécules d'adhésion vont venir aider le processus que nous détaillerons davantage plus tard dans ce manuscrit.

c) Transmigration des leucocytes au travers de la barrière hémato-encéphalique

Les travaux de Paterson en 1960 ont décrit la migration des lymphocytes lors d'une neuro-inflammation. Ils sont capables de traverser la BHE. Les lymphocytes T activés vont reconnaître spécifiquement l'antigène en périphérie et commencer le processus inflammatoire en produisant des cytokines. Celles-ci vont entraîner une ouverture de la BHE et ainsi faciliter l'infiltration dans le SNC d'autres types cellulaires (Hickey, 1999).

Lors de la première étape de la neuro-inflammation on observe, après une étape d'activation, le passage de macrophages et de cellules T au travers de la BHE au niveau des veinules postcapillaires où le débit sanguin est largement ralenti.

La migration des leucocytes est observée dans les maladies cérébrales inflammatoires telles que la sclérose en plaques. Elle dépend des interactions entre les intégrines leucocytaires et leurs contre-récepteurs endothéliaux, dont ICAM-1 qui joue un rôle central.

ICAM-1 et la E-Sélectine font partie des molécules d'adhérences qui sont produites lors de la réponse inflammatoire par les cellules endothéliales.

- La E-Sélectine (figure 7) interagit avec les membres de la famille des Lewis X et des Lewis A. Cette liaison entraîne le ralentissement du mouvement des leucocytes dans le sang en les faisant rouler sur la surface endothéliale. Ce phénomène est appelé « rolling adhesion » et correspond à une adhésion faible. Cela permet à d'autres molécules d'interagir avec les leucocytes pour les arrêter et leur permettre une diapédèse.
- ICAM-1 est différemment exprimé dans les tissus. Il interagit avec LFA-1 (intégrine) présente sur la plupart des leucocytes. Cette interaction ligand-récepteur est responsable d'une adhésion ferme et permet la migration des leucocytes au travers la BHE.

3 Modèles *in vitro* de BHE

L'ensemble des modèles *in vitro* permettent d'approcher les fonctions de la BHE, mais aucun d'entre eux ne peut être considéré comme un modèle fidèle présentant toutes les caractéristiques de la BHE *in vivo* (Wilhelm et al., 2011).

Les modèles *in vitro* de BHE permettent une simplification de la structure mettant en avant les paramètres essentiels à étudier. Ainsi, il est possible de voir la réaction de la BHE en s'affranchissant de l'influence de tout organe, pathologie, état de stress ou autre. D'autre part, le modèle *in vitro* permet des études mécanistiques comme le transport de molécules ainsi que l'observation des processus biologiques et pathologiques. Le choix d'un modèle de BHE *in vitro* se fait sur plusieurs critères : la reproductibilité de la perméabilité, de bonnes capacités de criblage, des jonctions serrées étanches, une expression adéquate des transporteurs et une activité de transcytose satisfaisante. Cependant, les modèles de BHE *in vitro* présentent souvent une imperméabilité moindre en comparaison à celle observée *in vivo*.

Le matériel humain n'est pas considéré comme une option plausible pour des cultures primaires et cela pour des raisons éthiques. La restriction du matériel biologique humain, pour l'isolation et la culture de cellules primaires endothéliales cérébrales, favorise le développement de lignées cellulaires. L'utilisation de ces modèles humains peut avoir son importance lorsque que l'on doit considérer des aspects immunologiques et que l'on observe une différence de gènes codant pour des transporteurs entre l'Homme et les autres espèces

animales (modèle murin, bovin..). Toutefois, des études sur la BHE de rat permet d'obtenir des corrélations entre le *in vivo* et le *in vitro* si le même rat est utilisé pour générer les données *in vivo*.

Les modèles de barrières *in vitro* sont généralement cultivés sur des inserts. Il s'agit de membranes semi perméables qui permettent des cultures 2D avec des cellules endothéliales d'une part et des cellules gliales (astrocytes, microglie) d'autre part afin de mettre en jeu la complémentarité fonctionnelle des deux types cellulaires. Un autre moyen pour étudier l'influence gliale est d'utiliser le milieu conditionné par des cultures des cellules gliales pour cultiver les cellules de BHE *in vitro*.

De nombreux modèles *in vitro* d'origine animale de BHE se sont développés au cours des dernières années. Les modèles les plus utilisés sont composés de cellules endothéliales microvasculaires cérébrales (BMEC) qui sont isolées à partir de rats, souris, porcs ou bovins.

Les études sur les maladies neuro-dégénératives et neuro-inflammatoires se font le plus souvent chez la souris ou le rat. Ainsi, les études *in vivo* sur le transport des drogues faites sur des petits animaux de laboratoire comme la souris et le rat permettent de corréler les résultats obtenus *in vivo* et *in vitro*. Un modèle utilisé est la culture de BMEC de souris en co-culture avec des astrocytes de rat âgés de 1 jour. Ce modèle est choisi pour la qualité de sa perméabilité, de l'expression de ses molécules de jonction et de ses transporteurs (Shayan et al., 2010). Ils ont démontré que des co-cultures réalisées avec des inserts donnent de meilleurs résultats d'expression de protéines de jonction que lorsque les BMEC sont cultivées seules ou en co-culture non 2D (Shayan et al., 2011).

Un modèle de BHE développé à partir de lignées immortalisées de rat permet de s'affranchir des inconvénients d'une culture primaire. Plusieurs lignées ont été générées (Roux et Couraud, 2003).

L'ensemble de ces lignées expriment les enzymes et les transporteurs spécifiques de la BHE et en font un bon modèle pour étudier la perméabilité de la BHE à certaines drogues (Roux et Couraud, 2003). Cependant la perméabilité paracellulaire de tels modèles reste élevée notamment pour les petites molécules. Les études des pompes à efflux, des transporteurs, du métabolisme des enzymes, des récepteurs, de l'infiltration de cellules du sang vers le SNC ont tout de même largement bénéficié de la facilité d'accès de ces modèles *in vitro*.

Des modèles à partir des cellules endothéliales microvasculaires de cerveau de porc ont également été développés. Ceux-ci possèdent de bonnes caractéristiques de BHE, cependant ils restent difficiles à utiliser car l'expérience chez le porc supporte de nombreuses contraintes de manipulation.

Chez l'Homme, les cellules de cordon ombilical (HUVEC) sont très largement utilisées pour l'étude de BHE *in vitro* (Burns et al., 2000). Leurs points forts sont leur origine humaine et leur facilité d'obtention et d'entretien même s'il s'agit de cellules endothéliales non cérébrales. En culture, en présence d'héparine et d'extrait hypophysaire, les cellules HUVEC expriment des marqueurs spécifiques des cellules endothéliales tels que le facteur Von Willebrand, des molécules d'adhésion, CD31, des récepteurs aux facteurs de croissance, des cytokine. Lorsqu'elles sont cultivées sur des inserts, elles permettent l'étude des interactions entre les leucocytes et les cellules endothéliales (Park et al., 2006).

Certaines équipes développent des modèles *in vitro*, dynamiques, qui prennent en compte les conditions de flux sanguin afin de mimer le plus justement possible la BHE. Dans ce type de culture développé à Cleveland, des cellules hcMEC/D3 (décrites dans le paragraphe suivant) sont cultivées à l'intérieur de fibres creuses microporeuses et sont soumises à un flux de milieu de culture continu. Ce système permet d'avoir des modèles d'inflammation des cultures réversibles et présente de très bonnes conditions d'imperméabilité. Cependant, ce modèle reste compliqué à utiliser et très couteux.

En résumé, de multiples modèles de BHE sont disponibles. Leur diversité est liée à 1- l'origine animale des cellules, 2- au nombre de partenaires cellulaires utilisés et 3- aux conditions de flux.

Dans la mesure où nous souhaitons, à plus long terme, étudier l'influence du degré d'expression de TWEAK à la surface des monocytes de patients atteints de SEP sur leur migration transendothéliale cérébrale, nous nous sommes naturellement tournés vers un modèle *in vitro* de BHE humaine. La lignée de cellules hcMEC/D3 a été développée par l'équipe de Pierre Olivier Couraud à l'Institut Cochin de Paris. Des cellules endothéliales de cerveau humain (isolées chez une patiente souffrant d'épilepsie) ont été infectées avec un lentivirus comportant l'antigène SV40 T. Cette lignée présente, après différenciation, un grand nombre de propriétés de la BHE qui peuvent être maintenues pendant plusieurs passages sans co-culture avec des cellules gliales. Par ailleurs, la lignée cellulaire imite de manière satisfaisante les changements de perméabilité en réponse à des médiateurs

inflammatoires tout en conservant l'expression des protéines de jonctions et des transporteurs d'efflux (Weksler et al., 2005). Cet ensemble de critères nous a poussé à choisir ce modèle pour nos études.

C Inflammation du système nerveux central

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. De nombreuses pathologies neuro-inflammatoires du SNC ont comme composante une rupture de la BHE. Cette rupture peut être visualisée chez l'Homme par la prise de contraste à l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) et aider à la prise en charge diagnostique du patient. En conditions inflammatoires, des médiateurs anti-inflammatoires comme le TGF β ou des lipides cérébraux inhibent la prolifération des lymphocytes T circulants (Taylor et al., 1997).

La neuro-inflammation s'accompagne d'une infiltration massive de leucocytes. L'influence et les interactions exercées par les molécules produites par les cellules immunes sur les fonctions cérébrales sont encore peu connues. Un enjeu majeur des recherches cliniques et expérimentales réside en particulier dans la compréhension du rôle des facteurs inflammatoires (cytokines inflammatoires, eicosanoïdes, chimiokines, etc...) libérés par les macrophages périvasculaires et les cellules microgliales dans le contrôle et l'altération des fonctions cérébrales.

L'existence d'une réponse immune au sein du SNC sous-entend la présence locale de cellules capables de présenter l'antigène. La fonction de sentinelle est assurée, au niveau de la barrière hémato-encéphalique, par les macrophages périvasculaires qui entourent les vaisseaux de petit et moyen calibre du cerveau. Ces cellules sont connues pour être des cellules présentatrices d'antigènes mais leur capacité à atteindre les ganglions de drainage lymphatique des espaces périvasculaires pour stimuler les cellules T n'est pas encore établie. Le pool de ces macrophages périvasculaires est lentement mais continuellement renouvelé à partir de cellules de la périphérie, issues de la lignée monocytes - macrophages. Il n'est pas impossible que de telles cellules, sous l'effet de stimuli inflammatoires, acquièrent des propriétés semblables à celles des cellules dendritiques.

Lors de la première étape de la neuro-inflammation on observe, après une étape d'activation, le passage de macrophages et de cellules T au travers de la BHE au niveau des veinules postcapillaires où le flux est largement ralenti. Ce phénomène n'est pas obligatoirement lié à la pathologie.

La deuxième étape de la neuro-inflammation dépend des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) indispensables pour induire l'inflammation. Leur position n'est pas clairement définie : dans l'espace périvasculaire ou au sein de la microglie juxtavasculaire ? Des données récentes indiquent que MMP-2 et MMP-9 sont utiles dans ces mécanismes neuro-inflammatoires en participant à la déstructuration de la matrice extracellulaire entraînant une infiltration de plus en plus invasive des cellules immunitaires dans le SNC.

Une fois dans le tissu nerveux les cellules immunitaires de restimulées par contact avec l'antigène. L'adressage des lymphocytes T dans le SNC est probable mais aucun «homing receptor» ni «adressine» qui ciblerait un type de leucocyte vers l'endothélium cérébral n'a encore été identifié.

De nombreuses pathologies du SNC (tumeurs, ischémies, SEP, Alzheimer...) présentent, avec des degrés variables, une composante inflammatoire. Suivant la pathologie elle peut être primaire ou secondaire. Dans tous les cas, elle est caractérisée par une réaction gliale et une infiltration de cellules immunitaires.

1 La gliose réactionnelle

La réaction gliale ou gliose est constituée d'astrocytes dits « réactifs » qui diffèrent des astrocytes quiescents par 1- leur prolifération, 2- l'expression de marqueurs de différenciation et 3- l'acquisition de fonctions immunologiques comme la production d'interleukines, chimiokines et l'expression de molécules du CMH ainsi que des molécules d'adhésion. Les astrocytes réactifs participent aussi à la protection neuronale en sécrétant des neurotrophines et des cytokines.

Les autres cellules résidentes du SNC, comme la microglie, les oligodendrocytes et même les neurones participent aussi activement au déroulement de la réponse immune locale

en produisant des facteurs immuns régulateurs comme des cytokines, molécules d'adhésion ou facteurs de croissance (Hailer et al., 1998; Neumann et Wekerle, 1998).

Les astrocytes, représentent la majorité des cellules gliales. Il existe approximativement 10 astrocytes pour un neurone. Cette glie a longtemps été considérée à tort comme un ensemble de cellules comblant l'espace laissé libre par les neurones dans le cerveau, sans avoir de rôle spécifique sur les fonctions nerveuses.

Quand le système nerveux est lésé, des astrocytes réactifs apparaissent. Ils prolifèrent comme l'atteste le marquage par le BrdU (Kozlova, 2003) ; leur taille augmente et la synthèse de GFAP est stimulée (Eddelston et Mucke, 1993). La gliose réactionnelle est également associée à la sécrétion de cytokines (IFN γ , IL-1 α , IL-6, IL-10) et de facteurs de croissance (NGF, TGF β) (Bonavia et al., 2003; Ridet et al., 1997 ; Lafortue et al., 1996). Il est probable que ces cellules gliales réactives sont issues de la prolifération de progéniteurs gliaux plus que de celles des cellules gliales différenciées. *In vitro*, les astrocytes mis en culture présentent un phénotype proche de celui des astrocytes réactifs (Saas et al., 2000). L'astrocyte est la source majeure dans le système nerveux central de chimiokines comme CCL2 (Weiss et al., 1998). Les astrocytes sont aussi capables, même s'ils sont moins efficaces que la microglie, de phagocyter des cellules apoptotiques, lorsque les limites phagocytaires de la microglie sont atteintes (Magnus et al., 2002).

Un travail collaboratif avec l'équipe de Dietrich avait démontré que les effets pro-inflammatoires induits par TWEAK sur les astrocytes en culture regroupent plusieurs caractéristiques des astrocytes réactifs *in vivo* (sécrétion de cytokines pro-inflammatoire IL-8 et IL-6 et augmentation de molécules d'adhésion telles que ICAM-1). Cela suggère que TWEAK peut jouer un rôle important dans l'inflammation du SNC (Saas et al., 2000).

Les cellules microgliales (ou microglie) représentent environ 10 à 20% de la population gliale totale et sont plus représentées dans la substance grise que dans la substance blanche. Les cellules microgliales sont issues de précurseurs médullaires monocytaires qui colonisent le SNC à un stade précoce du développement. En cas de lésion du SNC, la microglie s'active, change de forme et cet état d'activation se traduit par l'acquisition progressive d'un phénotype de type macrophage. Comme pour les autres macrophages des tissus périphériques, une des principales fonctions de la microglie activée est la phagocytose et l'élimination des débris cellulaires.

2 Infiltrat de cellules immunes dans le SNC

En condition physiologique, l'infiltration des cellules immunes dans le SNC est faible, en revanche lors d'une neuro-inflammation celle-ci augmente de façon considérable. Les leucocytes (lymphocytes, monocytes et granulocytes) vont être attirés vers le site inflammatoire par des chimiokines qui diffusent à partir du foyer inflammatoire. Cela suggère la présence de récepteurs à la surface des leucocytes, mais également l'expression de molécules d'adhésion à la surface de ceux-ci et de l'épithélium vasculaire. Ces récepteurs et ces molécules d'adhésion vont permettre le passage des leucocytes au travers de l'endothélium pour parvenir jusqu'au site de l'inflammation. De nombreuses autres molécules participent au recrutement des cellules immunitaires (molécules du complément, neuropeptides, cytokines...) (Chavarría et Alcocer-Varela, 2003).

Les mastocytes, eux, sont la source de molécules (TNF- α , histamine, prostaglandines...) qui ont un effet direct sur l'endothélium vasculaire de la BHE. Celles-ci vont participer à la rupture de la barrière et à l'infiltration massive de leucocytes dans le SNC (Benoist et Mathis., 2002).

Une infiltration de cellules immunes est observée dans la plupart des neuropathologies. Cette infiltration est en partie liée à une fragilisation de la BHE. Cette infiltration est soit déclenchée, comme dans le modèle EAE, par l'entrée des effecteurs lymphocytaires dans le tissu nerveux, soit secondaire à des processus de neurodégénérescence. Au sein du tissu cible, les mécanismes moléculaires impliqués dans les interactions entre les cellules immunes et nerveuses restent mal connus. Les conséquences de l'interaction des cellules immunes avec des cellules du tissu nerveux sont très diverses : elles peuvent 1- induire des atteintes neuronales, 2- aggraver des atteintes induites par un événement primaire, mais aussi 3- les contrôler, ou exercer un effet neuroprotecteur. En effet, si les effecteurs cellulaires peuvent induire des lésions neuronales, par exemple par cytotoxicité, depuis quelques années, il est proposé que l'infiltration cellulaire puisse aussi participer aux phases de réparation tissulaire et même exercer des fonctions neuroprotectrices (Kipnis et al., 2001).

3 Rôle des cytokines dans l'infiltration des cellules

a) Définition

Les cytokines sont des glycoprotéines sécrétées 1- par les lymphocytes et les macrophages 2- par d'autres cellules et/ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction. Nous observons plusieurs modes d'action des cytokines : paracrine (action sur des cellules proches), endocrine (action sur des cellules ou tissus distants), juxtacrine (action sur des cellules en contact) ou autocrine (action sur la cellule productrice ou une cellule proche du même type). Les cytokines permettent aux cellules de communiquer entre elles.

Les cytokines ne peuvent agir que par l'intermédiaire de récepteurs qui doivent être présents sur les cellules cibles. Certains de ces récepteurs se clivent avant fixation du ligand et forment un récepteur soluble inhibant ainsi l'action de la cytokine. La plupart de ces récepteurs n'ont pas d'activités protéolytiques propres et doivent être associés à d'autres protéines cellulaires.

De nombreuses cytokines sont retrouvées au sein des foyers inflammatoires. Sous leur action, de nombreuses cellules produisent des médiateurs lipidiques, protéases, des radicaux libres, autant de facteurs directement responsables des effets délétères observés.

b) Source des cytokines

Les cytokines impliquées dans la neuro-inflammation sont regroupées dans le tableau qui suit.

L'IL-17, récemment impliquées dans plusieurs mécanismes pathologiques inflammatoires, est produite essentiellement à partir des cellules T « helpers » (Th) 17. Dans un contexte pro-inflammatoire, IL-17 entraîne la production d'autres cytokines et chimiokines qui vont aider au recrutement des monocytes et neutrophiles.

Les chimiokines sont de petites cytokines, dont la plupart sont produites lors d'une réponse inflammatoire et qui ont pour rôle d'activer les cellules immunitaires, ainsi que de les recruter au site de l'inflammation. Parmi elles, on compte l'IL-8 qui recrute les polynucléaires neutrophiles et CCL2 qui est un chimioattractant pour les monocytes et les macrophages.

Le TNF- α est la plus importante des cytokines pro-inflammatoires. Elle agit au niveau du foie lors d'une infection en induisant la synthèse de molécules de la phase aigüe de

l'inflammation, et agit également au niveau de l'endothélium vasculaire en induisant la synthèse de protéines membranaires qui seront indispensables à la diapédèse des cellules immunitaires.

L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire qui va agir au niveau du foie, lors d'une infection, afin d'activer la synthèse de molécules de la phase aiguë de l'inflammation : haptoglobine, C3, fibrinogène, α 1-antitrypsine, α 2-macroglobuline.... Cette cytokine possède également un rôle anti-inflammatoire en favorisant la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes, en stimulant la prolifération des lymphocytes T en association avec l'IL2 et en favorisant la génération de lymphocytes T cytotoxiques.

L'IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire, jouant un rôle de régulateur de la réaction inflammatoire.

Les interférons sont des cytokines dont la production est induite suite à une infection virale, bactérienne, parasitaire ou en présence de cellule tumorales. Ils ont pour action principale d'interférer avec la réplication virale, mais ils ont également une action anti-bactérienne, antiproliférative et activent d'autres cellules immunitaires telles que les cellules NK, les macrophages et les lymphocytes.

4 Rôle de TWEAK dans la neuro-inflammation

TWEAK ne possède pas seulement des effets significatifs sur l'angiogénèse mais induit également la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les cellules endothéliales humaines ainsi que l'augmentation de l'expression des molécules ICAM et E-sélectine à la surface de ces cellules. Ces effets, ne sont pas régis par l'induction endogène de TNF- α mais sont abrogés par l'activation préventive de NF- κ B. Par ailleurs, la sécrétion de CCL2 et IL-8 par des cellules stimulées par TWEAK est comparable à celle induite par la stimulation CD40L. TWEAK peut agir seul. On observe, par ailleurs, que son effet sur les cellules endothéliales diffère selon les études. Cela peut être dû aux variations des systèmes expérimentaux utilisés (Harada et al., 2002).

Le rôle pro-inflammatoire de la forme soluble de TWEAK dans le SNC a été démontré pour la première fois grâce à un modèle de souris transgéniques sur-exprimant la protéine TWEAK soluble. Chez ces souris transgéniques, on observe une réponse à une EAE

(encéphalomyélite auto-immune expérimentale) induite par une injection de MOG plus sévère que chez les souris contrôles (Desplat Jégo et al., 2002).

De nombreuses équipes utilisent le modèle murin EAE pour étudier les mécanismes immunologiques impliqués dans la SEP. Suivant la souche animale utilisée et l'antigène injecté, le profil d'évolution clinique de la maladie diffère. Dans le cas du modèle murin EAE utilisé pour étudier les effets de TWEAK, notre équipe a utilisé la souris C57B16 d'haplotype H2b et une immunisation avec le peptide 35-55 de la MOG (myelin oligodendrocyte glycoprotein) accompagnée d'une injection de toxine *Bordetella pertussis* qui contribue à l'ouverture de la BHE (Desplat-Jégo et al., 2002). La MOG est un composant quantitativement mineur de la myéline (0,05%) mais spécifique du SNC. Elle est présentée comme un antigène myélinique majeur, à la fois cible d'une réponse immunitaire cellulaire T et d'une réponse humorale chez les patients atteints de SEP.

Le traitement de souris MOG-EAE avec un anticorps bloquant anti-TWEAK en première phase de la maladie (immunisation et recrutement des lymphocytes spécifiques de l'antigène myélinique à travers la BHE) diminue la sévérité des symptômes observés lors de la phase chronique et le nombre de cellules immunes infiltrantes dans le cerveau et la moelle épinière (Desplat-Jégo et al., 2005). Cet effet protecteur n'a été observé que si les injections ont lieu pendant cette phase critique de la maladie. Par ailleurs, des études récentes montrent que TWEAK stimule la production de MMP-9 par les macrophages (Kim et al., 2004).

L'intégrité de la BHE, considérée comme la première ligne de défense du système nerveux, est essentielle. De nombreuses études impliquent les MMPs, en particulier MMP-2 et MMP-9, dans la rupture de la BHE lors d'un processus neuropathologique. L'injection intracérébrale de MMP-2 fragilise la BHE alors que des anticorps bloquants de MMP-9 ou des inhibiteurs de MMPs la protègent après une ischémie cérébrale (Asahi et al., 2001). La BHE de souris dont le gène *MMP-9* a été invalidé est moins fragile après une ischémie cérébrale que celle des souris sauvages. Dans ces situations pathologiques, les macrophages périvasculaires activés, qui expriment des concentrations élevées de MMP-9 et MMP-2, participent certainement à la dégradation de la lame basale, riche en collagène IV. Les MMPs exprimées par les leucocytes circulants facilitent leur extravasation à partir du sang ou de la lymphe. Chez des patients atteints de SEP ou chez les rats soumis à une EAE, les concentrations de MMP-9 sont très élevées dans le LCR. Dans l'EAE, des concentrations élevées d'ARNm de MMP-9 et MMP-7 coïncident avec le pic de sévérité de la maladie. La

modulation de l'expression de MMPs et TIMPs dans le système nerveux pathologique est étroitement lié à la production et à la libération dans le parenchyme nerveux de facteurs trophiques et de cytokines pro-inflammatoires, qui sont des inducteurs (ou des répresseurs) efficaces du système MMP/TIMP (Rivera et al., 2010). L'ensemble de ces données suggère que TWEAK serait une cytokine au centre des processus neuro-inflammatoires.

Un autre type de modèle animal est étudié afin de mieux comprendre la neuro-inflammation : le modèle cuprizone. Le cuprizone est un agent chélatant du cuivre qui entraîne la mort des oligodendrocytes et l'infiltration de la microglie sur le site de l'inflammation. Dans le modèle EAE, la démyélinisation est dépendante des cellules T CD4+ tandis que dans le modèle cuprizone elle est liée principalement à la microglie avec une faible contribution des macrophages (McMahon et al., 2002). Les lésions observées dans des modèles cuprizone imitent les lésions de type III et IV observées chez les patients atteints de SEP (les lésions actives de SEP sont classées en 4 types 1- la lésion de type I pendant laquelle on observe une démyélinisation ainsi que la production de produits relargués par les macrophages, 2- la lésion de type II qui est caractérisée par la présence d'immunoglobulines et de complément, 3- la lésion de type III au cours de laquelle on observe une absence d'immunoglobulines, de complément ainsi que de la MOG et une perte de la remyélinisation et 4- la lésion de type IV caractérisée par l'apoptose des oligodendrocytes).

Comme pour le modèle EAE (Desplat-Jégo et al., 2002), TWEAK exacerbe l'inflammation du SNC dans le modèle cuprizone (Iocca et al., 2008).

Notre équipe a aussi mis en évidence une augmentation de l'expression de l'ARN messager de TWEAK au cours de l'EAE (Desplat-Jégo et al., 2002). De même, l'expression de TWEAK est augmentée au cours de l'ischémie cérébrale (Potrovita et al., 2004). Par ailleurs, TWEAK est exprimé à la surface des monocytes des patients atteints de SEP lors de la phase du « syndrome cliniquement isolé » (Desplat-Jégo et al., 2009).

Plusieurs travaux placent donc TWEAK comme un agent modulateur de la réponse inflammatoire y compris dans le SNC. Les résultats les plus récents de notre équipe suggèrent qu'un point d'impact fort de TWEAK serait le recrutement des cellules immunitaires à travers la BHE. Ces résultats, qui doivent être validés chez l'Homme, semblent mettre en évidence des perspectives thérapeutiques intéressantes dans la SEP.

Bibliographie

- Abbott, N. J., Patabendige, A. a K., Dolman, D. E. M., Yusof, S. R., & Begley, D. J. (2010). Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiology of disease*, 37(1), 13-25.
- Aggarwal, B. B., Gupta, S. C., & Kim, J. H. (2012). Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: twenty-five years later, a golden journey. *Blood*, 119(3), 651-65.
- Asahi, M., Wang, X., Mori, T., Sumii, T., Jung, J. C., Moskowitz, M. A., et al. (2001). Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock-out on the proteolysis of blood-brain barrier and white matter components after cerebral ischemia. *The Journal of neuroscience*, 21(19), 7724-32.
- Ballabh, P., Braun, A., & Nedergaard, M. (2004). The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of disease*, 16(1), 1-13.
- Bandopadhyay, R., Orte, C., Lawrenson, J. G., Reid, a R., De Silva, S., & Allt, G. (2001). Contractile proteins in pericytes at the blood-brain and blood-retinal barriers. *Journal of neurocytology*, 30(1), 35-44.
- Bardin, N., Blot-Chaubaud, M., Despoix, N., Kebir, A., Harhour, K., Arsanto, J.-P., et al. (2009). CD146 and its soluble form regulate monocyte transendothelial migration. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 29(5), 746-53.
- Bechmann, I., Galea, I., & Perry, V. H. (2007). What is the blood-brain barrier (not)? *Trends in immunology*, 28(1), 5-11.
- Benoist, C., & Mathis, D. (2002). Mast cells in autoimmune disease. *Nature*, 420, 875-878.
- Berney, T., Shibata, T, Merino, R., Chicheportiche, Y, Kindler, V, Vassalli, P, et al. (1992). Murine autoimmune hemolytic anemia resulting from Fc gamma receptor-mediated erythrophagocytosis: protection by erythropoietin but not by interleukin-3, and aggravation by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 79(11), 2960-4.
- Bielecki, M., Kowal, K., Lapinska, A., Chwiecko, J., Skowronski, J., Sierakowski, S., et al. (2009). Diminished production of TWEAK by the peripheral blood mononuclear cells is associated with vascular involvement in patients with systemic sclerosis. *Folia histochemica et cytobiologica / Polish Academy of Sciences, Polish Histochemical and Cytochemical Society*, 47(3), 465-9.
- Bodmer, J.-L., Schneider, Pascal, & Tschopp, Jürg. (2002). The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends in biochemical sciences*, 27(1), 19-26.
- Bonavia, R., Bajetto, A., Barbero, S., Pirani, P., Florio, T., & Schettini, G. (2003). Chemokines and their receptors in the CNS: expression of CXCL12/SDF-1 and CXCR4 and their role in astrocyte proliferation. *Toxicology letters*, 139(2-3), 181-9.
- Bond, M., Fabunmi, R. P., Baker, a H., & Newby, a C. (1998). Synergistic upregulation of metalloproteinase-9 by growth factors and inflammatory cytokines: an absolute requirement for transcription factor NF-kappa B. *FEBS letters*, 435(1), 29-34.
- Bover, L. C., Cardó-Vila, M., Kuniyasu, A., Sun, J., Rangel, R., Takeya, M., et al. (2007). A previously unrecognized protein-protein interaction between TWEAK and CD163: potential biological implications. *Journal of immunology*, 178(12), 8183-94.
- Brown, S., Ghosh, A., & Winkles, Jeffrey A. (2010). Full-length, membrane-anchored TWEAK can function as a juxtacrine signaling molecule and activate the NF-KB pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 285(23), 17432-17441.

- Brown, S., Richards, C., & Hanscom, H. (2003). The Fn14 cytoplasmic tail binds tumour-necrosis-factor-receptor-associated factors 1, 2, 3 and 5 and mediates nuclear factor- κ B activation. *Biochemical*, 371, 395-403.
- Burkly, Linda C, Michaelson, Jennifer S, Hahm, K., Jakubowski, A., & Zheng, Timothy S. (2007). TWEAKing tissue remodeling by a multifunctional cytokine: role of TWEAK/Fn14 pathway in health and disease. *Cytokine*, 40(1), 1-16.
- Burns, a R., Bowden, R. A., MacDonell, S. D., Walker, D. C., Odeunmi, T. O., Donnachie, E. M., et al. (2000). Analysis of tight junctions during neutrophil transendothelial migration. *Journal of cell science*, 113, 45-57.
- Candelario-Jalil, E., Thompson, Jeffrey, Taheri, S., Grossetete, M., Adair, J. C., Edmonds, E., et al. (2011). Matrix metalloproteinases are associated with increased blood-brain barrier opening in vascular cognitive impairment. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 42(5), 1345-50.
- Carswell, E., Old, L., & Kassel, R. (1975). An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the*, 72(9), 3666-3670.
- Cecchelli, Romeo, Berezowski, V., Lundquist, S., Culot, M., Renftel, M., Dehouck, M.-P., et al. (2007). Modelling of the blood-brain barrier in drug discovery and development. *Nature reviews. Drug discovery*, 6(8), 650-61.
- Chaitanya, G. V., Cromer, W. E., Wells, S. R., Jennings, M. H., Couraud, P Oliver, Romero, Ignacio a, et al. (2011). Gliovascular and cytokine interactions modulate brain endothelial barrier in vitro. *Journal of neuroinflammation*, 8(1), 162.
- Chavarria, a, & Alcocer-Varela, J. (2004). Is damage in central nervous system due to inflammation?. *Autoimmunity reviews*, 3(4), 251-60.
- Chen, T., Guo, Z.-P., Li, M.-M., Li, J.-Y., Jiao, X.-Y., Zhang, Y.-H., et al. (2011). Tumour necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK), an important mediator of endothelial inflammation, is associated with the pathogenesis of Henoch-Schonlein purpura. *Clinical and experimental immunology*, 166(1), 64-71.
- Cheung, Y.-F., O, K., Tam, S. C. F., & Siow, Y. L. (2005). Induction of MCP1, CCR2, and iNOS expression in THP-1 macrophages by serum of children late after Kawasaki disease. *Pediatric research*, 58(6), 1306-10.
- Chicheportiche, Y, Bourdon, P. R., Xu, H., Hsu, Y. M., Scott, H., Hession, C., et al. (1997). TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *The Journal of biological chemistry*, 272(51), 32401-10.
- Chicheportiche, Y, Fossati-Jimack, L., Moll, S., Ibnou-Zekri, N., & Izui, S. (2000). Down-regulated expression of TWEAK mRNA in acute and chronic inflammatory pathologies. *Biochemical and biophysical research communications*, 279(1), 162-5.
- Chicheportiche, Y; Ody, C; Vassali, P. (1995). Identification in mouse macrophages of a new 4Kb mRNA present in hematopoietic tissues, which shares a short nucleotide sequence with erythropoietin mRNA+. *Biochemical and biophysical research communication*, 209(3), 1076-1081.
- Chicheportiche, Yves, Chicheportiche, R., Sizing, I., Thompson, Jeff, Benjamin, C. B., Ambrose, C., et al. (2002). Proinflammatory activity of TWEAK on human dermal fibroblasts and synoviocytes: blocking and enhancing effects of anti-TWEAK monoclonal antibodies. *Arthritis research*, 4(2), 126-33.
- Cicha, I., Regler, M., Urschel, K., Goppelt-Struebe, M., Daniel, W. G., & Garlichs, C. D. (2011). Resveratrol Inhibits Monocytic Cell Chemotaxis to MCP-1 and Prevents Spontaneous Endothelial Cell Migration Through Rho Kinase-Dependent Mechanism. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 18(12), 1031-1042.
- Cohen, I. R., & Schwartz, M. (1999). Autoimmune maintenance and neuroprotection of the central nervous system. *Journal of neuroimmunology*, 100(1-2), 111-4.

- Cucullo, L., Couraud, P.-O., Weksler, B., Romero, I.-A., Hossain, M., Rapp, E., et al. (2008). Immortalized human brain endothelial cells and flow-based vascular modeling: a marriage of convenience for rational neurovascular studies. *Journal of cerebral flow and metabolism*, 28(2), 312-28.
- Dalkara, T., Gursoy-Ozdemir, Y., & Yemisci, M. (2011). Brain microvascular pericytes in health and disease. *Acta neuropathologica*, 122(1), 1-9.
- Darnay, B. (1999). Signal transduction by tumour necrosis factor and tumour necrosis factor related ligands and their receptors. *Annals of the rheumatic diseases*, 58(Suppl I), 2-13.
- Deeken, J. F., & Löscher, W. (2007). The blood-brain barrier and cancer: transporters, treatment, and Trojan horses. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 13(6), 1663-74.
- DeGrendele, H., Estess, P., & Picker, L. (1996). CD44 and its ligand hyaluronate mediate rolling under physiologic flow: a novel lymphocyte-endothelial cell primary adhesion pathway. *The Journal of experimental Medicine*, 183(March), 1119-1130.
- Dekaban, G. A., & Rice, G. P. (1990). Retroviruses and multiple sclerosis. II. Failure of gene amplification techniques to detect viral sequences unique to the disease. *Neurology*, 40(8), 1254-8.
- Desplat-Jégo, S., Creidy, R., Varriale, S., Allaire, N., Luo, Y., Bernard, D., et al. (2005). Anti-TWEAK monoclonal antibodies reduce immune cell infiltration in the central nervous system and severity of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clinical immunology*, 117(1), 15-23.
- Desplat-Jégo, S., Feuillet, L., Creidy, R., Malikova, I., Rance, R., Khrestchatisky, M., et al. (2009). TWEAK is expressed at the cell surface of monocytes during multiple sclerosis. *Journal of leukocyte biology*, 85(1), 132-5.
- Dohgu, S., Takata, F., Yamauchi, A., Nakagawa, S., Egawa, T., Naito, M., et al. (2005). Brain pericytes contribute to the induction and up-regulation of blood-brain barrier functions through transforming growth factor-beta production. *Brain research*, 1038(2), 208-15.
- Donohue, P. J., Richards, Christine M, Brown, S. a N., Hanscom, H. N., Buschman, J., Thangada, S., et al. (2003). TWEAK is an endothelial cell growth and chemotactic factor that also potentiates FGF-2 and VEGF-A mitogenic activity. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(4), 594-600.
- Duffield, J. S. (2003). The inflammatory macrophage: a story of Jekyll and Hyde. *Clinical science*, 104(1), 27-38.
- Engelhardt, Britta. (2008). Immune cell entry into the central nervous system: involvement of adhesion molecules and chemokines. *Journal of the neurological sciences*, 274(1-2), 23-6.
- Eugenin, E. a, Osiecki, K., Lopez, L., Goldstein, H., Calderon, T. M., & Berman, Joan W. (2006). CCL2/monocyte chemoattractant protein-1 mediates enhanced transmigration of human immunodeficiency virus (HIV)-infected leukocytes across the blood-brain barrier: a potential mechanism of HIV-CNS invasion and NeuroAIDS. *The Journal of neuroscience*, 26(4), 1098-106.
- Feghali, C. a, & Wright, T. M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 2, d12-26.
- Ferrero, M. C., Bregante, J., Delpino, M. V., Barrionuevo, P., Fossati, C. a, Giambartolomei, G. H., et al. (2011). Proinflammatory response of human endothelial cells to Brucella infection. *Microbes and infection / Institut Pasteur*, 13(10), 852-61. Elsevier Masson SAS.
- Fesik, S. W. (2000). Insights into programmed cell death through structural biology. *Cell*, 103(2), 273-82.

- Fontana, A., Fierz, W., & Wekerle, H. (1984). Astrocytes present myelin basic protein to encephalitogenic T-cell lines. *Nature*, 307(5948), 273-6.
- Garcia, Irene, Olleros, M. L., Quesniaux, V. F. J., Jacobs, M., Allie, N., Nedospasov, S. A., et al. (2011). Advances in TNF Family Research. (D. Wallach, A. Kovalenko, & M. Feldmann, Eds.) *Medicine*, 691, 187-201. New York, NY: Springer New York.
- Gruss, H. J., & Dower, S. K. (1995). Tumor necrosis factor ligand superfamily: involvement in the pathology of malignant lymphomas. *Blood*, 85(12), 3378-404.
- Gumbiner, B., Lowenkopf, T., & Apatira, D. (1991). Identification of a 160-kDa polypeptide that binds to the tight junction protein ZO-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(8), 3460-4.
- Hailer, N. P., Heppner, F. L., Haas, D., & Nitsch, R. (1998). Astrocytic factors deactivate antigen presenting cells that invade the central nervous system. *Brain pathology*, 8(3), 459-74.
- Haithan, T. (2000). TNF- α and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship(s). *Microscopy Research and Technique*, 50(3), 184-195.
- Hamill, C., Michaelson, J., Hahm, K., Burkly, L.C., & Kessler, J. (2007). Age-dependent effects of TWEAK/Fn14 receptor activation on neural progenitor cells. *Journal of neuroscience research*, 85(16), 3535–3544. Wiley Online Library.
- Han, D., Hanawa, N., Saberi, B., & Kaplowitz, N. (2006, July). Mechanisms of liver injury. III. Role of glutathione redox status in liver injury. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*.
- Harada, N., Nakayama, Masafumi, Nakano, H., Fukuchi, Y., Yagita, H., & Okumura, K. (2002). Pro-inflammatory effect of TWEAK/Fn14 interaction on human umbilical vein endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 299(3), 488-93.
- Hasan, M., & Glees, P. (1990). The fine structure of human cerebral perivascular pericytes and juxtavascular phagocytes: their possible role in hydrocephalic edema resolution. *Journal für Hirnforschung*, 31(2), 237-49.
- Hatherell, K., Couraud, P.-O., Romero, Ignacio a, Weksler, B., & Pilkington, G. J. (2011). Development of a three-dimensional, all-human in vitro model of the blood-brain barrier using mono-, co-, and tri-cultivation Transwell models. *Journal of neuroscience methods*, 199(2), 223-229. Elsevier B.V.
- Hawkins, B. T., & Davis, T. P. (2005, June). The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacological reviews*.
- He, B., Xu, C., Yang, B., Landtblom, a M., Fredrikson, S., & Hillert, J. (1998). Linkage and association analysis of genes encoding cytokines and myelin proteins in multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*, 86(1), 13-9.
- Hickey, W. F. (1999). Leukocyte traffic in the central nervous system: the participants and their roles. *Seminars in immunology*, 11(2), 125-37.
- Ho, D. H., Vu, Hong, Brown, S. a N., Donohue, P. J., Hanscom, H. N., & Winkles, Jeffrey a. (2004). Soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis overexpression in HEK293 cells promotes tumor growth and angiogenesis in athymic nude mice. *Cancer research*, 64(24), 8968-72.
- Horga, A., & Tintoré, M. (2011). Natalizumab for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurologia*, 5(10), CD007621.
- Horiuchi, T., Mitoma, H., Harashima, S-ichi, Tsukamoto, H., & Shimoda, T. (2010). Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology*, 49(7), 1215-28.

- Hsuchou, H., Kastin, A., & Tu, H. (2010). Role of astrocytic leptin receptor subtypes on leptin permeation across hCMEC:D3 human brain endothelial cells. *Journal of Neurochemistry*, *115*(5), 1288-1298.
- Idriss, H. T., & Naismith, J. H. (2000). TNF- α and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship(s). *Microscopy research and technique*, *50*(3), 184–195. Wiley Online Library.
- Iocca, H. a, Plant, S. R., Wang, Ying, Runkel, L., O'Connor, B. P., Lundsmith, E. T., et al. (2008). TNF superfamily member TWEAK exacerbates inflammation and demyelination in the cuprizone-induced model. *Journal of neuroimmunology*, *194*(1-2), 97-106.
- Itoh, N., Yonehara, S., Ishii, A., Yonehara, M., Mizushima, S., Sameshima, M., et al. (1991). The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell*, *66*(2), 233-43.
- Jakubowski, A., Ambrose, C., Parr, M., Lincecum, J. M., Wang, M.Z., Zheng, T.S., et al., others. (2005). TWEAK induces liver progenitor cell proliferation. *Journal of Clinical Investigation*, *115*(9), 2330. Am Soc Clin Investig.
- Kaplan, M., Lewis, E., & Shelden, E. (2002). The Apoptotic Ligands TRAIL, TWEAK, and Fas Ligand Mediate Monocyte Death Induced by Autologous Lupus T Cells. *The Journal of Immunology*, *169*, 6020-6029.
- Kaplan, M., Ray, D., Mo, R., & Yung, R. (2000). TRAIL (Apo2 ligand) and TWEAK (Apo3 ligand) mediate CD4+ T cell killing of antigen-presenting macrophages. *The Journal of Immunology*, *164*, 2897-2904. Kaptein, A., Jansen, M., Dilaver, G., Kitson, J., & Dash, L. (2000). Studies on the interaction between TWEAK and the death receptor WSL-1/TRAMP (DR3). *FEBS letters*, *485*, 135-141.
- Karpas, A., Kampf, U., Sidèn, Å., Koch, M., & Poser, S. (1986). Lack of evidence for involvement of known human retroviruses in multiple sclerosis. *Nature Publishing Group*, *322*, 178. Nature Publishing Group. Kim, S. H., Kang, Y. J., Kim, W. J., Woo, D. K., Lee, Y., Kim, D. I., et al. (2004). TWEAK can induce pro-inflammatory cytokines and matrix metalloproteinase-9 in macrophages. *Circulation Journal*, *68*(4), 396–399.
- Kipnis, J., Yoles, E., Schori, H., Hauben, E., Shaked, I., & Schwartz, M. (2001, July). Neuronal survival after CNS insult is determined by a genetically encoded autoimmune response. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*.
- Kontoyiannis, D., Pasparakis, M., Pizarro, T. T., Cominelli, F., & Kollias, G. (1999). Impaired on/off regulation of TNF biosynthesis in mice lacking TNF AU-rich elements: implications for joint and gut-associated immunopathologies. *Immunity*, *10*(3), 387-98.
- Kozlova, E. N. (2003). Differentiation and migration of astrocytes in the spinal cord following dorsal root injury in the adult rat. *European Journal of Neuroscience*, *17*(4), 782–790. Wiley Online Library.
- Kurtzke, J. F., Beebe, G. W., & Norman, J. E. (1985). Epidemiology of multiple sclerosis in US veterans: III. Migration and the risk of MS. *Neurology*, *35*(5), 672-8.
- Lafortune, L., Nalbantoglu, J., & Antel, J. P. (1996). Expression of tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and interleukin 6 (IL-6) mRNA in adult human astrocytes: comparison with adult microglia and fetal astrocytes. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, *55*(5), 515-21.
- Larochelle, C., Alvarez, J. I., & Prat, A. (2011). How do immune cells overcome the blood-brain barrier in multiple sclerosis?. *FEBS letters*, *585*(23), 3770-3780. Federation of European Biochemical Societies.
- Lenercept, T., Sclerosis, M., & Group, S. (2011). TNF neutralization in MS: Results of a randomized, placebo-controlled multicenter study. *Neurology*, *77*(14), 1382.

- Lynch, C., Wang, Yc, Lund, J., & Chen, Y. (1999). TWEAK Induces Angiogenesis and Proliferation of Endothelial Cells *. *Journal of Biological*, 274(13), 8455-8459.
- McMahon, E. J., Suzuki, K., & Matsushima, G. K. (2002). Peripheral macrophage recruitment in cuprizone-induced CNS demyelination despite an intact blood-brain barrier. *Journal of neuroimmunology*, 130(1-2), 32-45.
- Magnus, T., Chan, A., Linker, R. A., Toyka, K. V., & Gold, R. (2002). Astrocytes are less efficient in the removal of apoptotic lymphocytes than microglia cells: implications for the role of glial cells in the inflamed central nervous system. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 61(9), 760-6.
- Man, S., Ubogu, E. E., Williams, K. a, Tucky, B., Callahan, M. K., & Ransohoff, R. M. Human brain microvascular endothelial cells and umbilical vein endothelial cells differentially facilitate leukocyte recruitment and utilize chemokines for T cell migration. *Clinical & developmental immunology*, 2008, 384982.
- Marella, M., & Chabry, J. (2004, January). Neurons and astrocytes respond to prion infection by inducing microglia recruitment. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*.
- Mark, K. (1999). Increased permeability of primary cultured brain microvessel endothelial cell monolayers following TNF- α exposure. *Life sciences*, 64(21), 1941-1953.
- Marsters, S., Sheridan, J., Pitti, R., & Brush, J. (1998). Identification of a ligand for the death-domain-containing receptor Apo3. *Current biology*, 8, 525-528.
- Matthews, P. M., & Arnold, D. L. (2001). Magnetic resonance imaging of multiple sclerosis: new insights linking pathology to clinical evolution. *Current opinion in neurology*, 14(3), 279-87.
- McDermott, M., Aksentijevich, I., & Galon, J. (1999). Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNF-R1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell*, 97, 133-144.
- Meighan-Mantha, R. L., Hsu, D. K., Guo, Y., Brown, S. a, Feng, S. L., Peifley, K. a, et al. (1999, November). The mitogen-inducible Fn14 gene encodes a type I transmembrane protein that modulates fibroblast adhesion and migration. *The Journal of biological chemistry*.
- Mitchell, R., & Edmundson, C. (2009). On the mechanism of oleate transport across human brain microvessel endothelial cells. *Journal of Neurochemistry*, 110(3), 1049-1057.
- Moniuszko, M., Kowal, K., & Rusak, M. (2006). Monocyte CD163 and CD36 expression in human whole blood and isolated mononuclear cell samples: influence of different anticoagulants. *Clinical and vaccine*, 13(6), 704-707.
- Montgomery, S. L., & Bowers, W. J. (2011). Tumor Necrosis Factor-alpha and the Roles it Plays in Homeostatic and Degenerative Processes Within the Central Nervous System. *Journal of neuroimmune pharmacology*.
- Morel, Y., & Colella, J. S. D. (2000). Reciprocal expression of the TNF family receptor herpes virus entry mediator and its ligand LIGHT on activated T cells: LIGHT down-regulates its own receptor. *The Journal of Immunology*, 165, 4397-4404.
- Naismith, J. (1998). Modularity in the TNF-receptor family. *Trends in biochemical sciences*, 968(4), 74-79.
- Nakayama, M, Kayagaki, N., & Yamaguchi, N. (2000). Involvement of TWEAK in Interferon γ -stimulated Monocyte Cytotoxicity. *The Journal of experimental Medecine*, 192(9), 1373-1379.
- Nakayama, Masafumi, Ishidoh, K., Kayagaki, N., Kojima, Y., Yamaguchi, N., Nakano, H., et al. (2002, January). Multiple pathways of TWEAK-induced cell death. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 734-753.

- Neumann, H., & Wekerle, H. (1998). Neuronal control of the immune response in the central nervous system: linking brain immunity to neurodegeneration. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 57(1), 1-9.
- Olerup, O., & Hillert, J. (1991). HLA class II-associated genetic susceptibility in multiple sclerosis: a critical evaluation. *Tissue antigens*, 38(1), 1-15.
- Pakula, R., Melchior, A., Denys, A., Vanpouille, C., Mazurier, J., & Allain, F. (2007, May). Syndecan-1/CD147 association is essential for cyclophilin B-induced activation of p44/42 mitogen-activated protein kinases and promotion of cell adhesion and chemotaxis. *Glycobiology*, 492-503.
- Paterson, P. Y. (1960). Transfer of allergic encephalomyelitis in rats by means of lymph node cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 111(1), 119. Rockefeller Univ Press.
- Petitbarat, M., Serazin, V., Dubanchet, S., Wayner, R., Mazancourt, P. de, Chaouat, G., et al. (2010). Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK)/fibroblast growth factor inducible-14 might regulate the effects of interleukin 18 and 15 in the human endometrium. *Fertility and sterility*, 94(3), 1141-3.
- Polavarapu, R., Gongora, M. C., Winkles, Jeffrey a, & Yepes, M. (2005). Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis increases the permeability of the neurovascular unit through nuclear factor-kappa B pathway activation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(44), 10094-100.
- Polek, T. C., Talpaz, M., Darnay, B. G., & Spivak-Kroizman, T. (2003). TWEAK mediates signal transduction and differentiation of RAW264.7 cells in the absence of Fn14/TweakR. Evidence for a second TWEAK receptor. *The Journal of biological chemistry*, 278(34), 32317-23.
- Potrovita, I., Zhang, W., Burkly, L., Hahm, K., Lincecum, J., Wang, Monica Z, et al. (2004). Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis-induced neurodegeneration. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(38), 8237-44.
- Rammohan, K. W. (2003). Axonal injury in multiple sclerosis. *Current neurology and neuroscience reports*, 3(3), 231-7.
- Ridet, J. L., Malhotra, S. K., Privat, a, & Gage, F. H. (1997). Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function. *Trends in neurosciences*, 20(12), 570-7.
- Rivera, S., Jourquin, J., Ogier, C., Bernard, A., Charton, G., Tremblay, É., et al. (2004). MMP/TIMP dans le système nerveux. *Medecine / Science*, 20(1), 55-60.
- Rivera, S., Khrestchatsky, M., Kaczmarek, L., Rosenberg, G. a, & Jaworski, D. M. (2010). Metzincin proteases and their inhibitors: foes or friends in nervous system physiology?. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(46), 15337-57.
- Roux, Françoise, & Couraud, P.-O. (2005). Rat Brain Endothelial Cell Lines for the Study of Blood-Brain Barrier Permeability and Transport Functions. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 25(1), 41-57.
- Saad, B., Constam, D. B., Ortmann, R., Moos, M., Fontana, a, & Schachner, M. (1991, October). Astrocyte-derived TGF-beta 2 and NGF differentially regulate neural recognition molecule expression by cultured astrocytes. *The Journal of cell biology*, 473-484.
- Saas, P., Boucraut, J, Walker, P., & Quiquerez, A. (2000). TWEAK stimulation of astrocytes and the proinflammatory consequences. *Glia*, 32(1), 102-107.
- Schneider, P., Schwenzer, R., Haas, E., M\"uhlenbeck, F., Schubert, G., Scheurich, P., et al. (1999). TWEAK can induce cell death via endogenous TNF and TNF receptor 1 - Schneider. *European journal of immunology*, 29(6), 1785-1792. Wiley Online Library.

- Schulze, C., & Firth, J. A. (1993). Immunohistochemical localization of adherens junction components in blood-brain barrier microvessels of the rat. *Journal of cell science*, 104(3), 773-82.
- Schölzke, M. N., Röttinger, A., Murikinati, S., Gehrig, N., Leib, C., & Schwaninger, M. (2010). TWEAK regulates proliferation and differentiation of adult neural progenitor cells. *Molecular and cellular neurosciences*, 46(1), 325-332.
- Sean Campbell, Jennifer Michaelson, L. B. and C. P. (2011). The role of TWEAK/Fn14 in the pathogenesis of inflammation and systemic autoimmunity. *American journal of medical genetics. Part A*, 155(12), 2273-2284.
- Seifert, G., Schilling, K., & Steinhäuser, C. (2006). Astrocyte dysfunction in neurological disorders: a molecular perspective. *Nature reviews. Neuroscience*, 7(3), 194-206.
- Shayan, G., Choi, Y. S., Shusta, E. V., Shuler, M. L., & Lee, K. H. (2011). Murine in vitro model of the blood-brain barrier for evaluating drug transport. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 42(1-2), 148-55.
- Shibata, T., Kindler, V., Chicheportiche, Y., Vassalli, Pierre, & Izui, Shozo. (1990). Interleukin 3 perfusion prevents death due to acute anemia induced by monoclonal antierythrocyte autoantibody. *The Journal of experimental medicine*, 171(5), 1809. Rockefeller Univ Press.
- Shui, Y., Guan, Z.-B., & Zhang, S.-Q. (2008). Molecular characterization of cytokine TWEAK and its receptor Fn14 in pig (*Sus scrofa*). *Veterinary immunology and immunopathology*, 126(3-4), 396-402.
- Simonet, W., Lacey, D., Dunstan, C., & Kelley, M. (1997). Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 89, 309-319.
- Smith, C. A., Farrah, T., & Goodwin, R. G. (1994). The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation, and death. *Cell*, 76(6), 959-62.
- Smith, R., Kirstein, M., & Fiers, W. (1986). Species specificity of human and murine tumor necrosis factor. A comparative study of tumor necrosis factor receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 261(32), 14871-14874.
- Steiner, O., Coisne, C., Cecchelli, R., Boscacci, R., Deutsch, U., Engelhardt, B., et al. (2010). Differential Roles for Endothelial ICAM-1, ICAM-2, and VCAM-1 in Shear-Resistant T Cell Arrest, Polarization, and Directed Crawling on Blood–Brain Barrier Endothelium. *The Journal of Immunology*, 185(8), 4846. Am Assoc Immunol.
- Steiner, Oliver, Coisne, Caroline, Cecchelli, Roméo, Boscacci, Rémy, Deutsch, Urban, Engelhardt, Britta, et al. (2010). Differential roles for endothelial ICAM-1, ICAM-2, and VCAM-1 in shear-resistant T cell arrest, polarization, and directed crawling on blood-brain barrier endothelium. *Journal of immunology*, 185(8), 4846-55.
- Swanborg, R. H., Whittum-Hudson, J. a, & Hudson, A. P. (2003). Infectious agents and multiple sclerosis—are Chlamydia pneumoniae and human herpes virus 6 involved?. *Journal of Neuroimmunology*, 136(1-2), 1-8.
- Takata, F., Dohgu, S., Matsumoto, J., Takahashi, H., Machida, T., Wakigawa, T., et al. (2011). Brain pericytes among cells constituting the blood-brain barrier are highly sensitive to tumor necrosis factor-alpha, releasing matrix metalloproteinase-9 and migrating in vitro. *Journal of neuroinflammation*, 8(1), 106. BioMed Central Ltd.
- Tamai, I., & Tsuji, A. (2000). Transporter-mediated permeation of drugs across the blood–brain barrier. *Journal of pharmaceutical sciences*, 89(11), 1371–1388. Wiley Online Library.
- Tansey, M. G., & Szymkowski, D. E. (2009). The TNF superfamily in 2009: new pathways, new indications, and new drugs. *Drug discovery today*, 14(23-24), 1082-8.

- Taylor, A. W., Alard, P., Yee, D. G., & Streilein, J. W. (1997). Aqueous humor induces transforming growth factor-beta (TGF-beta)-producing regulatory T-cells. *Ocular immunology and inflammation*, *15*(3), 215-24.
- Titelbaum, D. S., Degenhardt, A., & Kinkel, R. P. (2005). Anti-tumor necrosis factor alpha-associated multiple sclerosis. *American journal of neuroradiology*, *26*(6), 1548–1550. *Am Soc Neuroradiology*.
- Tran, Nhan L, McDonough, Wendy S, Donohue, P. J., Winkles, Jeffrey a, Berens, T. J., Ross, K. R., et al. (2003). The human Fn14 receptor gene is up-regulated in migrating glioma cells in vitro and overexpressed in advanced glial tumors. *The American journal of pathology*, *162*(4), 1313-21.
- Tran, Nhan L, McDonough, Wendy S, Savitch, B. a, Sawyer, T. F., Winkles, Jeffrey a, & Berens, M. E. (2005). The tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK)-fibroblast growth factor-inducible 14 (Fn14) signaling system regulates glioma cell survival via NFkappaB pathway activation and BCL-XL/BCL-W expression. *The Journal of biological chemistry*, *280*(5), 3483-92.
- Tribouley, C., Wallroth, M., Chan, V., Paliard, X., Fang, E., Lamson, G., et al. (1999). Characterization of a new member of the TNF family expressed on antigen presenting cells. *Biological chemistry*, *380*(12), 1443-7.
- Vanpouille, C., Deligny, A., Delehedde, M., Denys, A., Melchior, A., Liénard, X., et al. (2007, August). The heparin/heparan sulfate sequence that interacts with cyclophilin B contains a 3-O-sulfated N-unsubstituted glucosamine residue. *The Journal of biological chemistry*, 24416-29.
- Verbeek, M. M., de Waal, R. M., Schipper, J. J., & Van Nostrand, W. E. (1997). Rapid degeneration of cultured human brain pericytes by amyloid beta protein. *Journal of neurochemistry*, *68*(3), 1135-41.
- Wajant, H, Grell, M., & Scheurich, P. (1999). TNF receptor associated factors in cytokine signaling. *Cytokine & growth factor reviews*, *10*(1), 15–26. Elsevier.
- Wajant, H, Pfizenmaier, K., & Scheurich, P. (2003). Tumor necrosis factor signaling. *Cell death and differentiation*, *10*(1), 45-65.
- Weiss, J. M., Downie, S. a, Lyman, W. D., & Berman, J W. (1998, December). Astrocyte-derived monocyte-chemoattractant protein-1 directs the transmigration of leukocytes across a model of the human blood-brain barrier. *Journal of immunology*, 6896-903 (*Baltimore, Md. : 1950*).
- Weksler, B. B., Subileau, E. a, Perrière, N., Charneau, P., Holloway, K., Leveque, M., et al. (2005). Blood-brain barrier-specific properties of a human adult brain endothelial cell line. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *19*(13), 1872-4.
- Wiley, S. (2003). TWEAK, a member of the TNF superfamily, is a multifunctional cytokine that binds the TweakR/Fn14 receptor. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, *14*(3-4), 241-249.
- Wiley, S. R., Cassiano, L., Lofton, T., Davis-Smith, T., Winkles, J a, Lindner, V., et al. (2001). A novel TNF receptor family member binds TWEAK and is implicated in angiogenesis. *Immunity*, *15*(5), 837-46.
- Wilhelm, I., Fazakas, C., & Krizbai, I. a. (2011). In vitro models of the blood-brain barrier. *Acta neurobiologiae experimentalis*, *71*(1), 113-28.
- Williamson, R. a, Burgoon, M. P., Owens, G. P., Ghausi, O., Leclerc, E., Firme, L., et al. (2001). Anti-DNA antibodies are a major component of the intrathecal B cell response in multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(4), 1793-8.

- Willis, A. L., Tran, N.L., Chatigny, J. M., Charlton, N., Vu, H., Brown, S. A. N., et al., others. (2008). The Fibroblast Growth Factor–Inducible 14 Receptor Is Highly Expressed in HER2-Positive Breast Tumors and Regulates Breast Cancer Cell Invasive Capacity. *Molecular Cancer Research*, 6(5), 725. AACR. Winkles, J.A. (2008). The TWEAK–Fn14 cytokine–receptor axis: discovery, biology and therapeutic targeting. *Nature reviews. Drug discovery*, 7(5), 411. NIH Public Access. doi: 10.1038/nrd2488.The.
- Yamagishi, S.-I., Cheng-Chin, H., Kobayashi, K.-I., & Yamamoto, H. (1993). Endothelin 1 mediates endothelial cell-dependent proliferation of vascular pericytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 191(3), 840-846. Elsevier.
- Yang, L., Froio, R. M., Sciuto, T. E., Dvorak, A. M., Alon, R., & Luscinskas, F. W. (2005). ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF-alpha-activated vascular endothelium under flow. *Blood*, 106(2), 584-92.
- Yeager, M. P., DeLeo, J. A., Hoopes, P. J., Hartov, A., Hildebrandt, L., & Hickey, W. F. (2000). Trauma and inflammation modulate lymphocyte localization in vivo: quantitation of tissue entry and retention using indium-111-labeled lymphocytes. *Critical care medicine*, 28(5), 1477-82.
- Yepes, M. (2007). TWEAK and the Central Nervous System. *Molecular Neurobiology*, 35(3), 255-265.
- Zhang, J.-X., Sang, M., Li, J.-F., Zhao, W., Ma, H.-W., Min, C., et al. (2011). Molecular structure and characterization of the cytokine TWEAK and its receptor Fn14 in bovine. *Veterinary immunology and immunopathology*, 144(3-4), 238-246. Elsevier B.V.
- Zhang, Y., Li, C. S. W., Ye, Y., Johnson, K., Poe, J., Johnson, S., et al. (2006). Porcine brain microvessel endothelial cells as an in vitro model to predict in vivo blood-brain barrier permeability. *Drug metabolism and disposition*, 34(11), 1935–1943. ASPET.
- Zheng, Y.-W., Mi, X.-Y., Fang, C.-Q., Liu, S.-L., Liu, N., & Wei, M.-J. (2008). Expression of TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) and its relationship to microvessel density in breast cancer. *Chinese journal of cancer*, 27(11), 1177-81.