

# Thrombopoietin-dependent Myelo-megakaryopoiesis Fuels Thromboinflammation and Worsens Antibody-mediated Chronic Renal Microvascular Injury

Douté, Mélodie MSc<sup>1,2</sup>; Sannier, Aurélie MD, PhD<sup>1,3</sup>; Even, Guillaume BS<sup>1</sup>; Tran, Thi-Thu PhD<sup>1</sup>; Gaston, Ahn-Tu BS<sup>1</sup>; Delbosc, Sandrine PhD<sup>1</sup>; Loyau, Stéphane PhD<sup>1</sup>; Bruneval, Patrick MD, PhD<sup>4</sup>; Witko-Sarsat, Véronique PhD<sup>2,5</sup>; Mouthon, Luc MD, PhD<sup>2,5,6,7</sup>; Nicoletti, Antonino PhD<sup>1,2</sup>; Caligiuri, Giuseppina MD, PhD<sup>1,2,8</sup>; Clement, Marc PhD.<sup>1,2,a</sup>

## Publication:

*Journal of the American Society of Nephrology* [34\(7\):p 1207-1221, July 2023](#) -  
DOI: 10.1681/ASN.0000000000000127

Editorial by M.J. Hickey, in *JASN* :

[https://journals.lww.com/jasn/Citation/9000/Kidney\\_Derived\\_Thrombopoietin\\_and\\_Platelet.99899.aspx](https://journals.lww.com/jasn/Citation/9000/Kidney_Derived_Thrombopoietin_and_Platelet.99899.aspx)

**Mots-clés :** plaquettes - mégacaryopoïèse – inflammation – microvasculaire - glomérulonéphrite extracapillaire – fibrose glomérulaire.

## Introduction

La thrombo-inflammation est un processus impliquant l'activation plaquettaire (thrombose) et l'inflammation. Elle contribue à un large éventail de pathologies et affecte différents organes, y compris les reins. Ce processus perturbe les fonctions vasculaires et favorise l'acquisition d'un phénotype pro-thrombotique, pro-inflammatoire et pro-fibrosant par les cellules du vaisseau, ce qui contribue à la raréfaction capillaire, la dysfonction d'organe et la fibrose. Cependant, les mécanismes qui induisent et perpétuent la thrombo-inflammation restent peu connus.

La thrombo-inflammation consomme à la fois les plaquettes et les leucocytes, ce qui stimule une "hématopoïèse d'urgence" qui pourrait favoriser la thrombo-inflammation chronique. La production de plaquettes et de leucocytes dépend de la disponibilité de facteurs de croissance hématopoïétiques, tels que le « stem cell factor » (SCF) et la thrombopoïétine (TPO). En particulier, la TPO favorise la maturation et l'expansion des cellules souches hématopoïétiques et leur différenciation en mégacaryocytes. Une disponibilité accrue de TPO stimule la production de plaquettes, qui métabolisent ensuite la TPO lorsqu'elle se lie à son récepteur à leur surface. Les reins et le foie produisent de la TPO en conditions physiologiques. En revanche, en conditions inflammatoires, la régulation de la production de TPO, par ces deux organes, est mal connue.

Les plaquettes sont essentielles à la cicatrisation en raison de leurs propriétés hémostatiques, et de leur capacité à produire des facteurs de croissance et des facteurs stimulant la production de matrice extracellulaire, tel que le TGF $\beta$ . Ces molécules sont stockées dans leurs granules alpha. La concentration sanguine de TGF $\beta$  est régulée par la masse plaquettaire. Dans un contexte de lésion vasculaire, l'activation chronique des plaquettes et de la signalisation du récepteur au TGF $\beta$  peut aggraver la dysfonction vasculaire et favoriser la fibrose.

## Hypothèse

Les lésions inflammatoires associées aux glomérulonéphrites pourraient stimuler la production de TPO par le rein « inflammé ». Cette surproduction de TPO stimulerait la mégakaryopoïèse dans la moelle osseuse, la production de plaquettes et la thrombo-inflammation chronique. Le TGF $\beta$  relargué par l'activation chronique des plaquettes favoriserait la fibrose glomérulaire.

## Méthodes

Un modèle murin de glomérulonéphrite expérimentale induit par des anticorps anti-membrane basale glomérulaire (anti-MBG), a été utilisé pour caractériser les lésions microvasculaires et la thrombo-inflammation chronique. Dans ce modèle, des traitements pharmacologiques ciblant les plaquettes (immuno-déplétion), l'inflammation (neutralisation de l'IL6, dexaméthasone), le TGF $\beta$  ou la TPO (anticorps neutralisant) ont été utilisés.

Chez l'homme, la thrombo-inflammation dans les capillaires glomérulaires, ainsi que le remodelage tissulaire, ont été évalués sur des biopsies rénales (Anti-MBG, ANCA, GN post infectieuse). La concentration sérique de TPO a été évaluée chez des patients présentant une vascularite à ANCA (anti-PR3) associée à une atteinte rénale (Cohorte NeutroVasc).

## Résultats

Chez la souris, l'injection d'un bolus d'anti-MBG stimule l'activation (CD62P plasmatique) et l'accumulation chronique de plaquettes et de leucocytes dans les glomérules (immunofluorescence et microscopie électronique) pendant une période de 14 jours. Rapidement après l'injection d'anti-MBG, le rein surexprime la TPO (ARNm), ce qui augmente la concentration plasmatique de TPO et les mégacaryocytes s'accumulent dans la moelle osseuse. Toutes les souris développent une thrombocytose (à J+5) et une augmentation de la quantité de TGF $\beta$  plasmatique.

L'immuno-déplétion des plaquettes réduit l'albuminurie, les signes d'insuffisance rénale, la quantité de TGF $\beta$  plasmatique, la signalisation du récepteur au TGF $\beta$  (SMAD) dans les glomérules et la fibrose.

Les traitements anti-inflammatoires (dexaméthasone et anti-IL6) réduisent la production de TPO par le rein, la thrombocytose, l'augmentation de la concentration de TGF $\beta$  plasmatique et la fibrose dans ce modèle.

La neutralisation du TGF $\beta$  pendant la phase de thrombocytose réduit l'insuffisance rénale et la fibrose, sans modifier la thrombocytose, suggérant que le TGF $\beta$  joue un rôle majeur dans la fibrose.

Enfin la neutralisation de la TPO, à l'aide d'un anticorps monoclonal, prévient l'activation de la mégacaryopoïèse et l'induction d'une thrombocytose, réduit la thrombo-inflammation chronique dans les glomérules, la dysfonction rénale, l'augmentation de la concentration de TGF $\beta$  plasmatique, et la fibrose, dans ce modèle.

De ce fait, la TPO dérivée du rein inflammé induit la thrombocytose qui contribue au processus thrombo-inflammatoire chronique et à la fibrose glomérulaire, via le TGF $\beta$  dans ce modèle de glomérulonéphrite.

Chez les patients (Anti-MBG, ANCA, post-infectieux), les plaquettes et les leucocytes s'accumulent dans les capillaires glomérulaires, en parallèle de l'activation de la voie signalisation du récepteur au TGF $\beta$  et du développement de la fibrose. Le taux sérique de TPO augmente lors de la phase active de la maladie (vascularite ANCA avec atteinte rénale), et se

normalise en phase de rémission (après traitement). En association avec d'autres biomarqueurs (albumine sérique, SCF, IL6 et IL1•), la TPO permet d'identifier les patients répondant positivement aux traitements.

### **Points forts**

Cette étude translationnelle a permis d'identifier un mécanisme original liant la réponse de l'organe cible (production de TPO par le rein « inflammé ») à l'induction d'une réponse médullaire (mégacaryopoïèse et production de plaquettes). En retour, la thrombocytose stimule le processus chronique de thrombo-inflammation microvasculaire, délétère pour le rein lésé. L'identification de ce mécanisme permet d'imaginer de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant la production de plaquettes ou la thrombo-inflammation au cours des glomérulonéphrites. De plus, ces données suggèrent que la TPO peut être utilisée comme biomarqueur d'activité de la maladie et comme outils pronostique de réponse au traitement chez l'homme.

### **Points faibles**

Les facteurs (cellulaires et moléculaires) responsables de la production de TPO au cours des glomérulonéphrites n'ont pas encore été identifiés. Même si l'analyse de la production de TPO suggère que le rein produit ce facteur chez la souris, la source exacte de TPO n'a pas été identifiée chez l'Homme. Il est possible que d'autres organes, en réponse à l'inflammation systémique, puissent également produire de la TPO dans certaines conditions. L'identification de la source de TPO nécessite des études complémentaires.

Par les auteurs de l'étude et de la publication **Dr Douté et Dr Clément**