Les sélectines : acteurs de l'adhérence cellulaire et potentiel cible thérapeutique

Jed J. Jebali, Charlotte Ch Jeanneau, Amine A. Bazaa, Sylvie S. Mathieu, Mohamed M. El Ayeb, José J. Luis, Assou A. El Battari, Naziha N. Marrakchi

▶ **To cite this version:**

Jed J. Jebali, Charlotte Ch Jeanneau, Amine A. Bazaa, Sylvie S. Mathieu, Mohamed M. El Ayeb, et al.. Les sélectines : acteurs de l'adhérence cellulaire et potentiel cible thérapeutique. Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 2011, 88 (1-4), pp.3-18. pasteur-00755430

HAL Id: pasteur-00755430
https://riip.hal.science/pasteur-00755430

Submitted on 11 May 2013

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.

LES SELECTINES : ACTEURS DE L'ADHERENCE CELLULAIRE ET POTENTIEL CIBLE THERAPEUTIQUE

J. JEBALI[1,2], CH. JEANNEAU[3], A. BAZAA[1], S. MATHIEU[3], M. EL AYEB[1], J. LUIS[3], A. EL BATTARI[3] ET N. MARRAKCHI[1, 4*]

[1] *Laboratoire des Venins et Toxines, Institut Pasteur de Tunis, 13, Place Pasteur, 1002 Tunis Belvédère, Tunisie.*
[2] *Laboratoire de Valorisation de la biomasse et Production de proteines chez les eucaryotes, Centre de la Biotechnologie (CBS)*
[3] *INSERM U911 (CRO2) Faculté de pharmacie 27, Bd Jean Moulin 13385 Marseille Cedex 5.*
[4] *Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie.*

* *Corresponding author : E-mail: naziha.marrakchi@pasteur.rns.tn.*

RESUME

Les sélectines font partie de la famille des molécules d'adhérence et ont la particularité de posséder un domaine de liaison aux sucres, le CRD (Carbohydrate Recognition Domain). On distingue trois types de sélectine: la L-sélectine (CD62L) qui est exprimée constitutivement par la plupart des populations leucocytaires, la P-sélectine (CD62P) qui est retrouvée sur les plaquettes et les cellules endothéliales et la E-sélectine (CD62E) exprimée par les cellules endothéliales activées. Ces trois molécules possèdent une forte homologie au niveau de leur séquence primaire et de leurs structures. Les interactions sélectine-ligand sont les plus étudiées parmi les interactions protéine-glycanne connues en biologie. Elles sont impliquées dans la régulation des évènements inflammatoires et immunologiques à l'interface paroi vasculaire/ circulation sanguine. Leurs partenaires moléculaires sont des glycoconjugués de surface exprimant des groupements de la famille des sialyl-Lewis.

Cette revue présente l'état des lieux des connaissances sur la structure et l'expression des sélectines et de leurs ligands. Elle fait aussi le point sur leur implication en physiopathologie, principalement lors de l'inflammation et du développement tumoral

Mots clés : *sélectines, sialyl-Lewis, adhérence, inflammation, progression tumorales.*

ABSTRACT

Selectins belong to the family of adhesion molecules that recognize sugars as ligands through their Carbohydrate Recognition Domain (CRD). There are three types of selectin: the L-selectin (CD62L), which is constitutively expressed by most leukocyte populations, the P-selectin (CD62P) is found on activated platelets and endothelial cells, and the E-selectin (CD62E) expressed by activated endothelial cells. These three molecules exhibit high homology in their structures. Selectin-ligand interactions are among the most studied protein-glycan interactions in biology.

The selectins and theirs ligands are involved in regulating inflammatory and immunological events that occur at the interface of the bloodstream and vessel walls. Their molecular partners are surface glycoconjugates harboring groups of the sialyl-Lewis antigens.

This review presents an inventory of our current knowledge on the structures and functions of selectins and their ligands. We also provide an update on their involvement in pathophysiological processes, especially during inflammation and tumor development.

Key words: *Selectins, sialyl-Lewis, adhesion, inflammation, tumor progression.*

INTRODUCTION

L'adhérence cellulaire est un processus complexe incluant des contacts cellule-matrice et des contacts homo- et hétérotypiques entre cellules. Elle joue un rôle prépondérant dans la migration cellulaire et est impliquée dans de nombreux phénomènes physiopathologiques comme l'inflammation, la vascularisation des tumeurs par les cellules endothéliales ou bien la métastase des tumeurs primaires. L'adhérence cellulaire est fortement modulée par le micro-environnement qui inclut non seulement des facteurs solubles (cytokines, facteurs de croissance, …) ou matriciels, mais aussi les entités cellulaires (cellules tumorales, endothéliales, immunitaires, stromales, …) et leurs récepteurs de surface. Les molécules d'adhérence regroupent quatre familles que sont les intégrines, les cadhérines, les immunoglobulines et les sélectines. Les sélectines ont été découvertes dans les années 1990 grâce aux des travaux portés sur les composantes cellulaires de l'inflammation [1]. Plusieurs laboratoires travaillant sur le recrutement des leucocytes depuis le milieu intravasculaire vers les organes lymphoïdes secondaires ont identifié de manière indépendante trois nouvelles molécules d'adhérence, la LAM (Lymphocyte Adhesion Molecule), la ELAM-1 (Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule 1) et la GMP-140 (Granule Membrane Protein-140). La LAM a été désignée comme le récepteur responsable du recrutement lymphocytaire [1, 2]. Son ADNc a été identifié grâce à sa capacité d'exprimer un antigène reconnu par MEL-14, un anticorps bloquant l'adhésion des lymphocytes aux nœuds lymphoides secondaires. L'ELAM-1 a été identifiée lors d'études portant sur l'endothélium vasculaire au cours de l'inflammation. Des anticorps monoclonaux dirigés contre les molécules de surface exprimées par les cellules endothéliales après induction au TNFα ont été isolés pour leur capacité de bloquer la capture des neutrophiles par cet endothélium. Ils ont par la suite servi à cloner l'ADNc codant pour une glycoprotéine membranaire, la ELAM-1 [3]. La GMP-140 a, quant à elle, été identifiée comme un antigène exprimé à la surface des plaquettes activées [4, 5]. Le fait que ces trois molécules d'adhérence soient toutes des glycoprotéines membranaires de surface possédant un domaine C-lectinique à l'extrémité C-terminale, a conduit à leur groupement en une nouvelle famille : les sélectines. Ainsi, LAM, ELAM-1 et la GMP-140 ont été respectivement renommées L-, E- et P-sélectines.

Les sélectines sont les lectines de type C les plus étudiées et les mieux caractérisées en raison de leur intervention dans les premières étapes de capture des leucocytes avant leur migration transendothéliale. Les interactions entre les sélectines et leurs ligands vont permettre la capture et le roulement des leucocytes sur les surfaces vasculaires, avant leur recrutement vers les organes lymphoïdes secondaires ou vers les sites d'inflammation et de blessure. Les partenaires des sélectines sont des glycoconjugués de surface constituant un groupe de molécules très hétérogènes décorées par des oligosaccharides de type Lewis apparentés aux groupes sanguins, dont le tétrasaccharide sialyl-Lewis x (sLex) [5, 6, 8]. La présence des sLex à la surface des cellules cancéreuses permettent aussi à ces dernières d'interagir avec les cellules endothéliales, via les sélectines, au cours de l'angiogenèse tumorale et du processus métastatique.

Dans cette revue nous présenterons un aperçu sur la structure, l'expression des sélectines et de leurs ligands ainsi que les processus physiopathologiques dans lesquels sont impliquées ces interactions. Nous finirons par montrer l'effet de venin de vipère sur l'adhérence médiée par la L-sélectine.

STRUCTURE ET EXPRESSION DES SELECTINES

Les sélectines appartiennent à la famille des lectines de type C. Les membres de cette famille ont la particularité de posséder un domaine appelé CRD (carbohydrate recognition domaine)[9], qui reconnaît les sucres d'une manière dépendante de l'ion calcium Ca^{2+} [10]. Les sélectines sont au nombre de trois : la E-sélectine, la P-sélectine et la L-sélectine. La lettre désigne le type cellulaire où la molécule a été identifiée pour la première fois. Ainsi, la plupart des leucocytes expriment la L-sélectine, l'endothélium activé la E-sélectine et la P-sélectine est exprimée par les granules α plaquettaires ou les corps de Weibel-Palade endothéliaux.

Les sélectines sont des glycoprotéines transmembranaires de type I (Figure 1) constituées d'un large domaine N-terminal extracellulaire, d'un segment transmembranaire et d'une courte queue cytoplasmique C-terminale [11,12]. La taille du domaine cytoplasmique est variable suivant la sélectine, il est de 17 acides aminés pour la L-sélectine, de 32 pour la E-sélectine et de 35 pour la P-sélectine. Le domaine extracellulaire, qui correspond à la région

la plus conservée de cette famille, possède des fonctions importantes. Il est composé de trois domaines caractéristiques :
- un domaine lectinique de type C de 120 acides aminés, qui permet la reconnaissance du motif oligosaccharidique présent sur les ligands
- un domaine homologue au facteur de croissance EGF (Epidermal Growth Factor) de 35-40 acides aminés.
- un nombre variable de séquences répétées et bien conservées de 60 acides aminés. La différence de taille entre les trois sélectines est dûe à la présence d'un nombre variable de ces séquences. La L-sélectine possède 2 répétitions, la E-sélectine 6, et la P-sélectine 9 [13, 14]. Ces domaines sont homologues aux protéines régulatrices du complément et leur fonction reste encore mal connue. Cependant, les techniques de biologie moléculaire ont permis de montrer que la délétion d'un nombre croissant de ces domaines affecte l'efficacité de roulement des leucocytes [15].

Bien que les trois sélectines aient d'importantes homologies de séquence et une organisation structurale commune leurs profils d'expression et leurs mécanismes d'action restent différents.

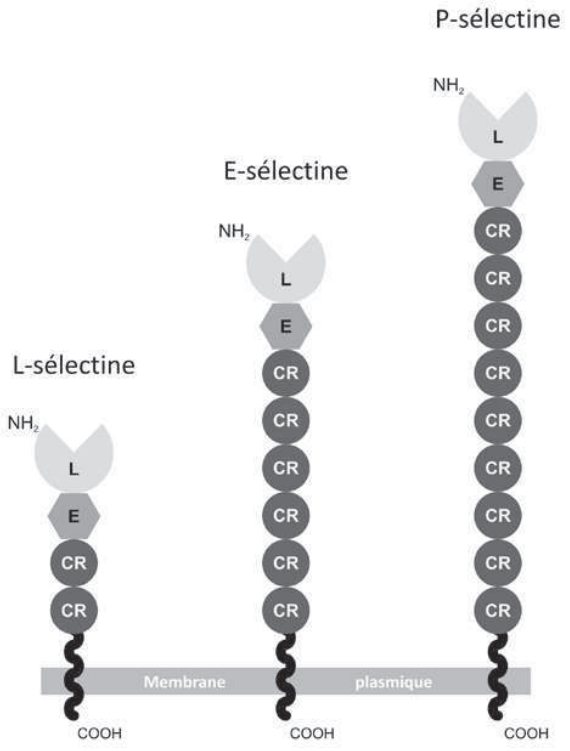

Figure 1 *: (Représentation schématique de la structure des sélectines. CR : domaine homologue aux protéines régulatrices du complément, E : domaine homologue au facteur de croissance EGF (Epidermal Growth Factor), L : domaine lectinique de type C (calcium dépendant).*

La L-sélectine

La L-sélectine (CD62L) est une glycoprotéine transmembranaire de 110 kDa. Elle est exprimée de manière constitutive à la surface des cellules myéloïdes et de la plupart des lymphocytes où elle est sélectivement localisée au sommet des microvillosités. Son ligand est exprimé sur les cellules endothéliales HEV (high endothelial venules) ce qui permet la domiciliation des lymphocytes aux nodules lymphatiques. C'est d'ailleurs le seul endroit où les deux autres sélectines ne sont pas impliquées [12]. Le ligand de la L-sélectine a été détecté sur d'autres cellules du système immunitaire incluant les neutrophiles, les monocytes, les éosinophiles et les basophiles. L'importance de profil d'expression démontre le rôle de la L-sélectine dans le recrutement et la régulation du passage de ces cellules dans la microcirculation systémique [16]. En absence de signal d'adhérence complémentaire après contact des leucocytes avec les cellules endothéliales, la L-sélectine est rapidement éliminée de la surface cellulaire par clivage enzymatique garantissant ainsi un rapide détachement et/ou la progression des leucocytes lors du roulement. Ce clivage a lieu entre deux résidus du domaine extracellulaire (Lys321-Ser322), qui sont situés à proximité de la région membranaire [17]. Le clivage apparaît rapidement, de quelques minutes pour les neutrophiles à une demi-heure pour les lymphocytes. Il est induit par différents facteurs activateurs et chemoattractants ainsi que par la liaison d'anticorps monoclonaux à la L-sélectine. TACE (TNFα Converting Enzyme) est impliquée dans cette protéolyse, ainsi que d'autres protéases et/ou cofacteurs enzymatiques [18].

La E-sélectine

La E-sélectine (CD62E) est une glycoprotéine membranaire de 115kDa exprimée exclusivement à la surface des cellules endothéliales activées. Elle n'est pas exprimée de manière constitutive, sauf lors des inflammations chroniques ou aiguës. Sa transcription est induite par des agents pro-inflammatoires comme les lipopolysaccharides la cytokine TNFα (Tumor Necrosis Factor α) et l'IL-β1. Cette induction est due à la présence de séquences régulatrices spécifiques de facteurs activant la transcription dans la partie 5' non codante de son gène. Le taux d'expression de la E-sélectine est maximal après 4-6 heures d'activation et retrouve son niveau basal en 24-48 heures [3]. Elle est ensuite internalisée et dégradée

dans les lysosomes. La E-sélectine intervient dans la reconnaissance des leucocytes aux premiers stades de leur transmigration endothéliale [19].

La P-sélectine

La P-sélectine (CD62P) est une glycoprotéine membranaire de 140 kDa fortement glycosylée. Elle est exprimée par les plaquettes et les cellules endothéliales activées. Dans les deux types cellulaires, la P-sélectine est exprimée dans des granules de sécrétion, granules α pour les plaquettes et le corps de Weibel-Palade pour les cellules endothéliales [20]. L'expression de la P-sélectine à la surface des cellules endothéliales activées pourrait être induite au bout de quelques minutes, alors que l'induction de l'expression des ces récepteurs est beaucoup plus rapide (quelques secondes). Il existe deux mécanismes de régulation de cette expression. Le premier implique l'induction de la sécrétion à la surface de la P-sélectine stockée dans les granules α ou dans les corps de Weibel-Pallade. De nombreux facteurs solubles, tels que la thrombine et l'histamine, stimulent en quelques minutes la fusion des granules sécrétoires à la membrane plasmique et, par conséquent, son expression à la surface cellulaire. Elle n'y transite qu'un court moment puisqu'elle est rapidement internalisée pour être soit dégradée dans les lysosomes, soit recyclée via l'appareil de Golgi [12]. Ce type de traffic cellulaire est contrôlé, à différentes étapes, par la queue cytoplasmique de la P-sélectine [21]. Le second mécanisme correspond à une activation transcriptionnelle du gène induite par des cytokines telles que l'IL-4 et l'oncostatine M.

Il est à noter que les E- et P-sélectines sont exprimées de façon constitutive dans certains tissus comme les vaisseaux irriguant la moelle osseuse [22].

LES LIGANDS DES SELECTINES

Chaque sélectine possède un domaine de reconnaissance des glucides, CRD, doté d'une haute affinité à un oligosaccharide spécifique appartenant à la famille des sialyl-Lewis (sLe), présenté par des glycoprotéines ou des protéoglycannes de surface. Les glycoprotéines appartiennent principalement à la famille des sialomucines. Plusieurs ligands (Tableau I) ont été décrits pour chaque type de sélectine. Pour la L-sélectine quatre ligands naturels ont été identifiés : Le MAdCAM-1 (mucosal vascular addressin cell adhesion molecule1), GlyCAM-1(Glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1), CD34 et Spg200 [13]. Dans le cas de la E et la P- sélectine les ligands les plus connus sont respectivement ESL-1 (E-selectin-ligand-1) et PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1). D'autres ligands ont été décrits tels que les glycolipides sulfatés (sulfatides) et les sulfoglucuronyl-glycosphingolipides [23]. Les glycosphingolipides sont présents sur l'endothélium microvasculaire cérébral et sur les cellules endothéliales, suggérant un rôle potentiel de ces molécules dans la régulation tissu-spécifique de liaison de sous-populations de leucocytes.

Il est intéressant de noter aussi que la E-sélectine peut lier des structures complexes de type N-glycannes sans la contribution d'un squelette polypeptidique [24].

Déterminant sucré

Les oligosaccharides les plus connus sont les épitopes sialyl-Lewis a (NeuAcα2, 3Galβ1, 4 (Fucα1, 4) GlcNAc) et les sialyl-Lewis x (NeuAcα2, 3Galβ1, 3 (Fucα1, 3) GlcNAc) et ses dérivés sulfatés le 6-sulfosialyl-Lewis x, 6'-sulfosialyl-Lewis x et 6-6'-sulfosialyl-Lewis x (Figure 2).

Tableau I : Caractéristiques (a) structurales et (b) fonctionnelles des principaux ligands des sélectines. HEV : cellules endothéliales des veinules, Tm : transmembranaire, GPI : ancre glycophospbatidyl-inositol, Sol : soluble.
(a)

Ligand	*Taille (Kda)*	*Topologie*	*Modifications post-traductionnelles*			
			O-glycosylation	*N-glycosylation*	*sialylation*	*sulfatation*
GlyCAM-1	50	Sol	+	+	+	+
MadCAM-1	60	Tm	+	+	+	+
ESL-1	150	Tm	-	+	+	-
PSGL1	110	Tm	+	+	+	+
CD24	28	GPI	+	-	+	+
CD34	90	Tm	+	+	+	+
CD44/HCELL	150	Tm	+	+	+	+
spg200	200	Tm	+	**nd**	+	**nd**

(b)

Ligand	*Distribution*	*Interactions*		
		E-sélectine	*L-sélectine*	*P-sélectine*
GlyCAM-1	*HEV des ganglions lymphatiques*	-	+	-
MadCAM-1	*HEV des ganglions lymphatiques, veinules de la muqueuse intestinale*	-	+	-
ESL-1	*Cellules myéloïdes*	+	-	-
PSGL1	*Cellules myéloïdes et lymphocytes*	+	-	+
CD24	*Lymphocytes, neutrophiles, érythrocytes*	-	-	+
CD34	*HEV des ganglions lymphatiques, endothélium vasculaire, cellules souches hématopoïétiques*	-	+	-
CD44/HCELL	*Cellules souches hématopoïétiques, lymphocytes T*	+	+	-
spg200	*HEV des ganglions lymphatiques*	-	+	-

Les résidus de fucose et d'acide sialique sont nécessaires pour l'interaction des ligands avec les sélectines. D'autres oligosaccharides non fucosylés, différents du sLex ont été décrits [25]. On peut citer les sulfatides et les polysaccharides sulfatés tels que la fucoïdine, l'héparine et les glycosaminoglycannes.
Ces derniers contenant du sulfate et de nombreux résidus d'acide hexuronique [26, 27, 28]. Ces épitopes possèdent une faible affinité de liaison avec les sélectines [29, 30, 31]. Cependant, d'autres auteurs ont montré que ces différents polysaccharides sulfatés ont une forte affinité de liaison pour les sélectines [22].
La sulfatation joue un rôle-clé dans les interactions sélectine-ligand. La sulfatation des sLex est nécessaire à la fixation de la P- et de la L-sélectine. En revanche, la E-sélectine se lie au sLex indépendamment de la présence de sulfatation [25, 32, 33, 34].
Les structures glycanniques sont synthétisées par les glycosyltransférases, enzymes localisées principalement dans l'appareil de Golgi. Elles ajoutent des monosaccharides de façon séquentielle à des positions spécifiques sur des accepteurs qui peuvent être des lipides, des protéines ou des oligosaccharides en cours d'élongation [35].

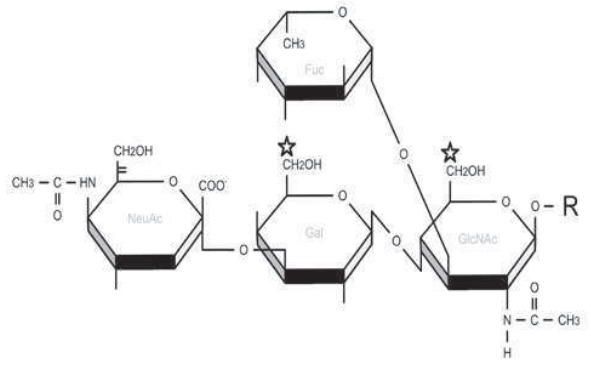

***Figure 2** : Repésentation de l'épitope sialyl-Lewis x. GlcNAc : N-acétylglucosamine, Gal : galactose, Fuc : fucose, NeuAc : acide sialique. ☆ : 7 sites potentiels de sulfatation.*

MAdCAM-1

MAdCAM-1 (Molécule dAdhérence Cellulaire de la Muqueuse-1) est une glycoprotéine de 60 kDa. Elle est exprimée de façon ubiquitaire au cours du développement fœtal, puis disparaît dans la plupart des tissus après la naissance à l'exception de l'intestin grêle, du côlon, des plaques de Peyer et les cellules endothéliales (HEV) des ganglions lymphatiques mésentériques [36, 37]. MAdCAM-1 possède trois domaines homologues aux immunoglobulines responsables de l'interaction avec l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ [12]. Cette protéine joue un rôle important dans le recrutement des leucocytes au cours de l'inflammation chronique de l'intestin comme dans le cas de la maladie de Crohn [38]. Récemment, l'expression de MAdCAM-1 a été détectée dans l'inflammation chronique du foie [39], des tissus cérébraux [40], des vaisseaux maternels au niveau de la zone vasculaire du placenta [41] et dans la moelle osseuse [42].

GlyCAM-1

GlyCAM-1 joue un rôle-clé dans le homing des lymphocytes vers les tissus lymphoïdes, tissus à partir desquels elle a été purifiée [43, 44]. Cette protéine de 50 kDa est dépourvue de région transmembranaire et par conséquent, présente les caractéristiques d'une molécule sécrétée. La détermination de la séquence primaire a montré qu'elle est composée de 132 acides aminés et qu'elle contient de nombreuses sérines et thréonines, sites potentiels de O-glycosylation [45, 46].

CD34

CD34 (ou sgp90) est une glycoprotéine sulfatée de type mucine [47, 48] exprimée sur les HEV des ganglions lymphatiques périphériques ainsi qu'à la surface des cellules souches hématopoïétiques [49]. Sa chaîne polypeptidique comprend un domaine N-terminal mucine-like de 145 acides aminés riche en Ser et Thr, un domaine globulaire de 66 acides aminés et un domaine transmembranaire C-terminal [49]. Ce ligand doit être correctement glycosylé et sulfaté pour être reconnu par la L-sélectine.

Toutefois, la sialomucine CD34 des HEV ne représente que 50% de l'ensemble de l'activité adhésive de la L-sélectine. De plus, le « homing » des lymphocytes sur les cellules HEV et le recrutement des leucocytes vers les sites de l'inflammation se maintiennent chez la souris n'exprimant pas le CD34 [50]. Ainsi, il existerait un autre ligand pour la L-sélectine sur les ganglions lymphatiques. La glycoprotéine 200 (sgp200), une glycoprotéine sulfatée de 200 kDa, serait un candidat car elle est reconnue par une L-sélectine recombinante au niveau des cellules endothéliales des ganglions lymphatiques [25, 30].

PSGL-1

PSGL-1 (P-Selectin Glycoprotein Ligand-1) a été caractérisé comme le ligand potentiel de la P-sélectine par Moore en 1992 [51]. PSGL-1 est exprimé par tous les neutrophiles, les monocytes et les lymphocytes. Cependant, une glycosylation spécifique est nécessaire pour sa fonction. Structuralement, PSGL-1 est une protéine transmembranaire de type I avec une courte queue cytoplasmique C-terminale hautement conservée et un domaine transmembranaire suivi de 16 répétitions d'un décapeptide dont la séquence consensus est : A-T/M-E-A-Q-T-T-X-P/L-A/T, ou X = P, A, Q, E ou R). Ces domaines répétés sont abondamment O-glycosylés [52]. L'extrémité N-terminale du domaine extracellulaire possède trois résidus tyrosine susceptibles d'être sulfatés (QATEYEYLDYDFLPET). La sulfatation d'un seul résidu tyrosine est nécessaire pour obtenir une fixation de haute affinité de la P-sélectine [53, 54].

Sur les leucocytes, le PSGL-1 est exprimé sous forme homodimérique. Un pont disulfure lie les 2 sous-unités de 120 kDa [51, 52, 55]. L'étude de la relation structure-fonction de ce ligand montre l'importance de la partie N-terminale. Des anticorps monoclonaux dirigés contre les épitopes proches des trois tyrosines sulfatées bloquent complètement le roulement des neutrophiles *in vitro* [56] et in vivo [57]. La délétion de dix acides aminés de la partie N-terminale bloque l'activité du PSGL-1 [58]. L'élimination sélective du domaine extracellulaire du PSGL-1 par la O-sialoglycoprotein endopeptidase (OSGE) [59] ou le remplacement des résidus tyrosine par le tryptophane, empêchent le roulement des leucocytes sur les cellules endothéliales [53].

Grâce à son affinité pour les différentes sélectines, le PSGL-1 joue un rôle important dans le maintien du roulement des leucocytes [60, 61]. Son expression est concentrée à l'extrémité des microvillosités des leucocytes [62, 63]. PSGL-1 a un rôle crucial dans la signalisation intracellulaire en activant entre autre la protéine Syk [64, 65].

Il apparaît qu'en absence de PSGL-1 la glycoprotéine CD24 pourrait être un ligand de la P-sélectine. En effet, il a été montré que certaines lignées cellulaires issues de carcinomes mammaires, qui n'expriment pas le PSGL1, sont capables d'interagir avec la P-sélectine via le CD24 [66].

ESL-1

ESL-1 (E-selectin ligand-1) est une glycoprotéine golgienne de 150 kDa purifiée par affinité à partir des cellules myéloïdes [67]. ESL-1 possède une grande homologie de séquence avec MG-160, une sialylglycoprotéine membranaire de l'appareil de Golgi, et avec le récepteur du facteur de croissance des fibroblastes basique (Basic Fibroblast Growth Factor, bFGFR) [68, 69]. Cette homologie suggèrerait une activité tyrosine kinase de ESL-1 qui pourrait être impliquée dans la signalisation à la suite de son interaction avec la E-sélectine. D'ailleurs, il est situé dans les interfaces destinées au contact cellule–cellule des leucocytes [70]. Il est aussi présent sur les microvillosités de la surface des cellules myéloïdes et lymphoïdes [69].

ESL-1 est décoré seulement par des N-glycannes [67]. Des données récentes indiquent que ESL-1 coopère avec PSGL-1 et CD44 pour obtenir une efficacité optimale de roulement [71]. En effet, l'utilisation de la stratégie des siRNA ciblant les ARNm codant pour ESL-1 et/ou les souris KO PSGL1 et/ou CD44 montre l'importance de cette synergie dans le roulement des leucocytes. Le même travail montre que ESL-1 et CD44 sont impliqués dans le contrôle de la vitesse de roulement des leucocytes, tandis que

PSGL-1 est principalement impliqué dans leur capture.

CD44

C'est à la surface des lymphocytes T que l'antigène CD44 a été décrit pour la première fois comme un récepteur de l'acide hyaluronique, composant crucial de la matrice extracellulaire [72]. CD44 représente une famille de glycoprotéines transmembranaires de type I. La diversité de cette famille s'explique par l'épissage alternatif des 10 exons qui composent le gène et par de multiples modifications post-traductionnelles, principalement des N- et O-glycosylations et des sulfatations [73]. Le variant CD44 appelé aussi HCELL est un ligand de la E- et de la L-sélectine. Il est impliqué dans l'activation des lymphocytes et leur recrutement au niveau des sites d'inflammation[74].

Des travaux sur le carcinome mammaire [75] ont permis d'identifier un variant d'épissage de CD44 (CD44v4). Cette isoforme, décorée avec le sialyl-Lewis x, permet l'interaction du CD44 avec la E-sélectine. Le groupe de Siegelman a démontré que le CD44, outre son rôle de récepteur de la E-sélectine, peut interagir avec l'intégrine $\alpha 4\beta 1$ via son domaine cytoplasmique. Cette association a une influence significative sur le roulement et l'adhérence ferme des lignées de lymphocytes T [76].

SIGNALISATION

Bien que le rôle joué par les sélectines dans l'adhérence des leucocytes à l'endothélium ait été largement étudié, leur rôle potentiel dans la signalisation intracellulaire n'a été que plus récemment décrit. Les premières observations montrant un rôle de la L-sélectine dans la transduction des signaux ont été décrites dans des cellules humaines activées. Une augmentation du Ca^{2+} cytosolique libre, suivie d'une expression des ARNm du TNF-α et de l'IL-8, ont été observées dans les neutrophiles [77]. Des travaux de Waddell et ses collaborateurs réalisés sur les neutrophiles montrent que la liaison de la L-sélectine à son ligand augmente la phosphorylation des tyrosines de plusieurs protéines dont la MAP kinase [78]. Plusieurs travaux ont ensuite démontré qu'il existe une séquence d'événements partant des sélectines et conduisant à l'activation des intégrines. En effet, la liaison de GlyCAM-1 à la L-sélectine des lymphocytes humains induit l'activation de l'intégrine $\alpha M\beta 2$ (Mac-1) qui, par la suite, lie son contre-récepteur ICAM-1 [79].

Certaines étapes de la cascade de transduction des signaux déclenchée par le PSGL-1 ont également été identifiées. La liaison des lymphocytes T humains provenant du sang périphérique à la P-sélectine immobilisée stimule la phosphorylation sur les tyrosines de la FAK (Focal Adhesion Kinase), protéine initiatrice des voies de signalisation activées par les intégrines. Cette activation de la protéine FAK entraîne une cascade de phosphorylation aboutissant à l'activation de certains facteurs de transcription qui vont réguler la survie, la migration et la prolifération cellulaire. Une anomalie de la protéine FAK favoriserait donc l'invasivité des cellules cancéreuses et le développement tumoral [80].

Hu et coll. ont rapporté une activation de la voie Erk suite à l'adhésion des leucocytes via la E-sélectine et de l'agrégation de la E-sélectine de surface par des anticorps, ainsi qu'une augmentation concomitante de la transcription du gène codant pour c-fos. Il s'avère donc que la E-sélectine est capable de délivrer un signal activateur de la cascade MAP kinase dans la cellule endothéliale lors de son interaction avec les leucocytes et de contrôler l'expression de gènes précoces [81]. Les mêmes auteurs ont également montré que le domaine cytoplasmique de la E-sélectine est essentiel pour la transduction du signal, puisque sa délétion supprime l'activation de la voie Erk et l'induction de l'expression de c-fos [81].

ROLES PHYSIOPATHOLOGIQUES DES SELECTINES

Inflammation

L'inflammation survient à la suite d'une agression constituée par une blessure, un traumatisme post-chirurgical ou une invasion par un agent pathogène. Elle se manifeste par quatre signes principaux : rougeur, chaleur, gonflement et douleur. Le mécanisme inflammatoire fait intervenir un grand nombre de substances présentes dans le sang, entre autres des hormones, des prostaglandines, de l'histamine, des protéines du complément et des cytokines. L'adhérence intercellulaire, entre cellules endothéliales et cellules sanguines, joue un rôle majeur dans la régulation de la cascade inflammatoire. L'adhérence des leucocytes sur la paroi interne des vaisseaux sanguins est un processus important qui précède leur extravasation vers les organes lymphoïdes secondaires, ou vers les zones inflammées. La cascade d'adhérence roulement et transmigration des

leucocytes à travers les cellules[82] se déroule en quatre étapes successives (Figure 3):

• La capture, étape transitoire et réversible.

• Le roulement des leucocytes sur la surface endothéliale

Ces deux premières étapes sont dépendantes essentiellement des sélectines.

• l'activation leucocytaire, étape rapide et dépendante des chimiokines, est suivie de l'adhérence ferme et stable à la surface endothéliale contrôlée par les intégrines.

• La transmigration des leucocytes à travers les cellules endothéliales ou diapédèse.

Les travaux de Vestweber et ses collaborateurs ont montré l'importance de la P-sélectine dans le processus inflammatoire et son intervention précoce dans les interactions des leucocytes avec les plaquettes ou l'endothélium activé. En effet, des expériences sur des souris déficientes dans l'expression du gène de la P- et de la E-sélectine, ont montré une diminution de la migration des neutrophiles sur des temps courts et une diminution du roulement des leucocytes [12, 83]. D'autres travaux ont montré que la P-sélectine peut également amener une spécificité dans le recrutement des leucocytes. En effet, les cellules traitées par l'interleukine IL-4 recrutent principalement des éosinophiles [84]. Il a été constaté qu'une déficience en L-sélectine induit une réduction significative de la migration des neutrophiles, des monocytes et des lymphocytes [85]. Les souris double ou triple KO pour la E- et/ou P- et/ou L-sélectine montrent des perturbations importantes de la migration et du roulement des neutrophiles associés à une leucocytose et une sensibilité accrue aux infections bactériennes [86, 87, 88]. Pendant l'inflammation, le rôle principal des groupements sLea et x a été associé au roulement des leucocytes sur l'endothélium via leurs interactions avec les différentes sélectines [35, 89]. Même si ce rôle est généralement associé aux deux formes de sialyl-Lewis, on leur attribue des rôles spécifiques. Les sLea seraient impliqués essentiellement dans les premiers contacts et un peu dans le roulement via leur interaction avec la L-sélectine, alors que les sLex permettraient davantage le roulement et peut-être même l'adhérence ferme via leurs interactions avec la E- et la P- sélectine [90].

Le système immunitaire est une organisation de cellules et de molécules ayant un rôle spécialisé dans la défense de l'organisme contre les infections. Normalement, l'inflammation a une fonction bénéfique de protection contre une agression. Cependant, dans certains cas la réponse inflammatoire, excessive ou inadaptée, est à l'origine de pathologies inflammatoires aiguës et chroniques. Par exemple, un recrutement excessif des leucocytes est impliqué dans des maladies comme la polyarthrite rhumatoïde et l'asthme. Une modification de l'interaction des oligosaccharides sLex avec les sélectines est une des causes de l'augmentation de la réponse immunitaire pendant l'inflammation pathologique [91]. L'inhibition de l'activité des sélectines ou de leur expression pourrait alors constituer un traitement potentiel des maladies inflammatoires.

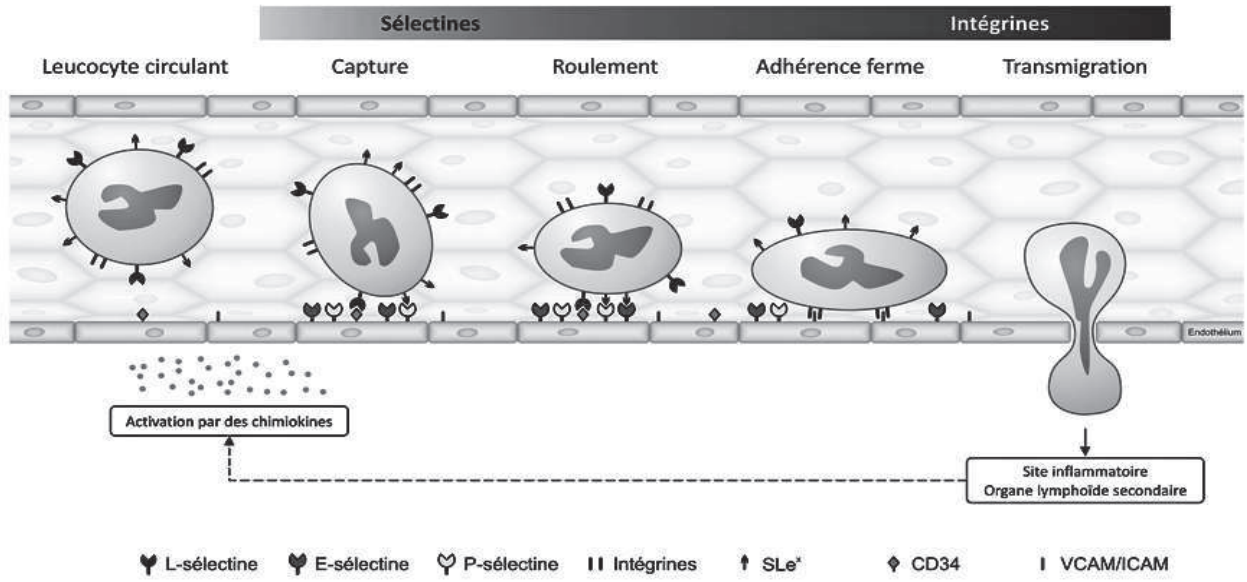

Figure 3 *: Cascade d'évènements menant au recrutement des leucocytes. (D'après le livre Essentials of Glycobiology. Chapitre 26).*

Des anticorps monoclonaux dirigés contre les sélectines ont été utilisés dans des essais cliniques pour les inhiber. Cependant, ils ont donné au mieux une réduction du processus inflammatoire [91] pourtant les résultats d'essais cliniques qui ciblent les interactions P-sélectine/ligand intervenant dans des pathologies inflammatoires (asthme, allergies…) sont encourageants [92, 93]. De plus, une forme recombinante soluble du PSGL-1 a été montrée capable d'inhiber de manière compétitive l'interaction entre leucocytes circulants l'endothélium activé [94, 95].

Angiogenèse tumorale et métastase

Il est maintenant établi que la présence de structures glucidiques de la famille des sialyl-Lewis à la surface de cellules cancéreuses est un indice de mauvais pronostic pour les patients, à cause du potentiel métastatique élevé de ces cancers. Cependant le mécanisme impliqué reste encore flou. La E-sélectine permet l'adhérence des cellules cancéreuses humaines à l'endothélium en se liant aux ligands oligosaccharidiques de type sLea et x qui se trouvent à leur surface [96, 97, 98, 99]. Par ailleurs, la cimétidine, une drogue qui empêche l'expression de la E-sélectine, bloque l'adhérence des cellules tumorales à l'endothélium et empêche la formation de métastases [100]. Il a été démontré, sur des cellules d'hépatocarcinome, que les structures sLex permettent aux cellules cancéreuses d'interagir avec les cellules endothéliales activées via la E-sélectine [101, 102] et que la modification des ces structures inhibe cette interaction. Ce ci entraîne une inhibition des deux étapes initiatrices du processus métastatique que sont le roulement et l'adhérence aux cellules HUVEC activées [103].

L'implication des P- et L-sélectines dans le développement des cancers a également été décrite 104. Cependant, la plupart des cellules cancéreuses n'expriment pas le ligand potentiel PSGL-1 de la P-sélectine, d'où l'idée que la sélectine P jouerait un rôle moins important dans l'adhérence des cellules cancéreuses [104, 105].

Toute glycoprotéine ou tout glycolipide exprimé par les cellules tumorales et possédant la structure sLea ou x pourrait être un ligand potentiel des sélectines [98]. Le sLex et le sLea sont par conséquent des marqueurs tumoraux avec des applications possibles dans le diagnostic et le suivi des tumeurs après traitement [106]. Moduler ou diminuer la formation de ces motifs oligosaccharidiques peut donc s'avérer potentiellement intéressant. Ainsi, Mathieu et al ont démontré, par surexpression du gène de la fucosyltransférase 1 (FUT1), que la diminution de l'expression des antigènes sLex dans des cellules d'hépatocarcinome inhibe l'angiogenèse et la croissance tumorale *in vivo* [107]. L'intérêt serait donc de mettre au point de façon la plus simple possible des analogues possédant une grande affinité et une spécificité pour la P-, la E- et la L-sélectine et pouvant donc entrer en compétition avec les ligands présents sur les cellules cancéreuses. L'exemple du peptide synthétique IELLQAR, reconnu par les anticorps anti sLea et sLex, et qui a permis d'inhiber la colonisation de cellules tumorales de poumon [108] exprimant l'épitope sLex confirme l'importance de cette voie thérapeutique contre le cancer.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'ensemble de ces études montre que les trois sélectines sont dotées de fonctions, à la fois, communes et distinctes dans la régulation des reponses immunitaires inflammatoires et que cette dualité fonctionnelle aboutit à un recrutement leucocytaire optimal. La P-sélectine endothéliale a un rôle prépondérant puisqu'elle peut, à elle seule, supporter la capture et le roulement des leucocytes, tandis que la E-sélectine permet essentiellement l'amplification du phénomène en supportant des interactions entre leucocytes circulants et ceux ayant déjà adhéré à l'endothélium. De plus, de nombreuses études ont montré que les sélectines pourraient être impliquées dans la progression tumorale et le développement des métastases. Récemment, notre laboratoire associé à une équipe de l'unité INSERM UMR911 (CRO2, Marseille) a permis montrer que le venins de *Macrovipera Lebetina* inhibe spécifiquement l'adhérence médiée par la L-sélectine (résultats non publiés). L'approche expérimentale par immunofluorescence (Figure 4) démontre que ce venin est capable de prévenir la fixation de la L-sélectine via une interaction directe qui semble dépendante du domaine lectinique. Cette activité est très spécifique des L-sélectines, puisque la P-sélectine est peu affectée, alors que la E-sélectine était totalement insensible à ce traitement. L'identification des molécules bioactives pouvant bloquer la fonction des sélectines pourrait s'avérer d'un grand intérêt dans la mise en place de nouvelles thérapies anticancéreuses.

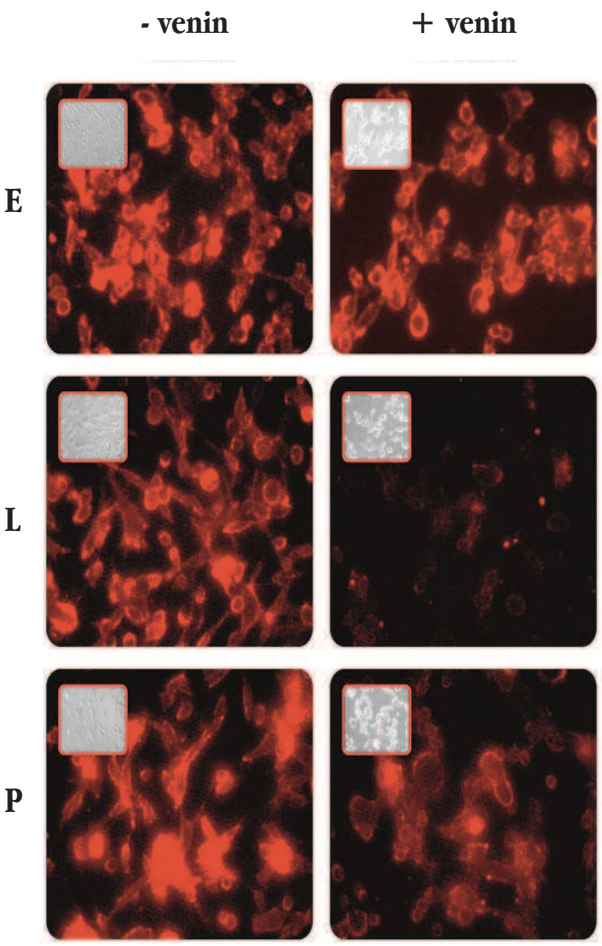

Figure 4 *: Effet du venin de Macrovipera Lebetina sur la fixation de sélectines solubles recombinantes. Les CHO271 adhérentes, cellules modèles qui fixent les trois sélectines, sont incubées à 4°C pendant une heure en présence des sélectines recombinantes +/- 0,5 µl de venin de Cerastes cerastes. La fixation est observée au microscope à fluorescence (objectif X40) après 45 min d'incubation avec un anticorps secondaire couplé au fluorochrome alexa 594.*

REFERENCES

1- **L.A. Lasky, M.S. Singer, T.A. Yednock, D. Dowbenko, C. Fennie, H. Rodriguez, T. Nguyen, S. Stachel et S.D. Rosen** (1989). Cloning of a lymphocyte homing receptor reveals a lectin domain. *Cell.*, **24,** 1045-1055.

2- **B.R. Bowen, T. Nguyen et L.A. Lasky** (1989). Characterization of a human homologue of the murine peripheral lymph node homing receptor. *J. Cell. Biol.*, **109,** 421-427.

3- **M.P. Bevilacqua, S. Stengelin, M.A. Jr. Gimbrone et B. Seed** (1989). Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. *Science*, **243,** 1160-1165.

4- **G.I. Johnston, R.G. Cook et R.P. McEver** (1989). Cloning of GMP-140, a granule membrane protein of platelets and endothelium: sequence similarity to proteins involved in cell adhesion and inflammation. *Cell.*, **24,** 1033-1044.

5- **M. Xue, H. Yin, L. Zhang, C. Guo, Y. Jiang, C. Wu, X. Li et K. Chen** (2011). Dynamic expression of the main related indicators of thrombosis, inflammatory reaction and tissue damage in a rat model of myocardial infarction. *Mol. Med. Report. Sous presse*.

6- **M. Fukuda, E. Spooncer, J.E. Oates, A. Dell et J.C. Klock** (1984). Structure of sialylated fucosyl lactosaminoglycan isolated from human granulocytes. *J. Biol. Chem.*, **259,** 10925-10935.

7- **Mizoguchi, S. Takasaki, S. Maeda et A. Kobata** (1984). Changes in asparagine-linked sugar chains of human promyelocytic leukemic cells (HL-60) during monocytoid differentiation and myeloid differentiation. Decrease of high-molecular-weight oligosaccharides in acidic fraction. *J. Biol. Chem.*, **259,** 11949-11957.

8- **M. Trinchera, N. Malagolini, M. Chiricolo, D. Santini, F. Minni, A. Caretti et F. Dall'olio** (2011). The biosynthesis of the selectin-ligand sialyl Lewis x in colorectal cancer tissues is regulated by fucosyltransferase VI and can be inhibited by an RNA interference-based approach. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, **43,** 130-139.

9- **M.E. Taylor and K. Drickamer** (1992). Expression and purification of the cytoplasmic tail of an endocytic receptor by fusion to a carbohydrate-recognition domain. *Protein. Expr. Purif.*, **3,** 308-312.

10- **K. Drickamer** (1999). C-type lectin-like domains. *Curr. Opin. Struct. Biol*, **9,** 585-590.

11- **M.P. Bevilacqua et R.M. Nelson** (1993). Selectins. *J. Clin. Invest.*, **91,** 379-387.

12- **D.Vestweber et J.E. Blanks** (1999). Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol. Rev.*, **79,** 181-213.

13- **A.E. Aplin, A. Howe, S.K. Alahari et R.L. Juliano** (1998). Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacol. Rev*., **50,** 197-263.

14- **T.A. Springer** (1994). Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*., **76,** 301-314.

15- **K.D. Patel, M.U. Nollert et R.P. McEver** (1995). P-selectin must extend a sufficient length from the plasma membrane to mediate rolling of neutrophils. *J. Cell. Biol*., **131,** 1893-1902.

16- **K. Ley** (2003). The role of selectins in inflammation and disease. *Trends. Mol. Med.*, **9,** 263-268.

17- **S. Srinivasan, W. Deng, R. Li** (2011). L-selectin transmembrane and cytoplasmic domains are monomeric in membranes. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1808,** 1709-1715

18- **D.M. Smalley and K. Ley** (2005). L-selectin: mechanisms and physiological significance of ectodomaine cleavage. *J. Cell. Mol. Med.*, **9,** 255-266.

19- **H. Ulbrich, E.E. Eriksson et L. Lindbom** (2003). Leukocyte and endothelial cell adhesion molecules as targets for therapeutic interventions in inflammatory disease. *Trends. Pharmacol. Sci*., **24,** 640-647.

20- **M.B. Lawrence and T.A. Springer** (1991). Leukocytes roll on a selectin at physiologic flow rates: distinction from and prerequisite for adhesion through integrins. *Cell.*, **65,** 859-873.

21- **D.W. Hartwell, T.N. Mayadas, G. Berger, P.S. Frennette, H. Rayburn, R.O. Hynes et D.D. Wagner** (1998). Role of P-selectin cytoplasmic domain in granular targeting *in vivo* and in early inflammatory responses. *J. Cell. Biol.*, **143,** 1129-1141.

22- **K.M. Schweitzer, A.M. Dräger, P. van der Valk, S.F. Thijsen, A. Zevenbergen, A.P. Theijsmeijer, C.E. Van der Schoot et M.M. Langenhuijsen** (1996). Constitutive expression of E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 on endothelial cells of hematopoietic tissues. *Am. J. Pathol.*, **148,** 165-175.

23- **L.K. Needham & R.L. Schnaar** (1993). The HNK-1 reactive sulfoglucuronyl glycolipids are ligands for L-selectin and P-selectin but not E-selectin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90,** 1359-1363.

24- **T.P. Patel, S.E. Goelz, R.R. Lobb et R.B. Parekh** (1994). Isolation and characterization of natural protein-associated carbohydrate ligands for E-selectin. *Biochemistry*, **33,** 14815-14824.

25- **Varki** (1994). Selectin ligands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **91,** 7390-7397.

26- **K.E. Norgard-Sumnicht, N.M. Varki et A. Varki** (1993). Calcium-dependent heparin-like ligands for L-selectin in nonlymphoid endothelial cells. *Science*, **23,** 480-483.

27- **P.J. Green, T. Tamatâni, T. Watanabe, M. Miyasaka, A. Hasegawa, M. Kiso, C.T. Yuen, M.S. Stoll et T. Feizï** (1992). High affinity binding of the leucocyte adhesion molecule L-selectin to 3'-sulphated-Le(a) and -Le(x) oligosaccharides and the predominance of suiphale in this interaction demonstrated by binding studies with a series of lipid-linked oligosaccharides. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **188,** 244-251.

28- **L. Giuffrè, A.S. Cordey, N. Monai, Y. Tardy, M. Schapira, O. Spertini** (1997). Monocyte adhesion to activated aortic endothelium: role of L-selectin and heparan sulfate proteoglycans. *J. Cell. Biol.*, **136,** 945-956.

29- **R.P. McEver, K.L. Moore et R.D. Cummings** (1995). Leukocyte trafficking mediated by selectin-carbohydrate interactions. *J. Biol. Chem*., **270,** 11025-11028.

30- **S.D. Rosen et C.R. Bertozzi** (1994). The selectins and their ligands. *Curr. Opin. Cell. Biol*., **6,** 663-73.

31- **P. Crottet, Y.J. Kim et A. Varki** (1996). Subsets of sialylated, sulfated mucins of diverse origins are recognized by L-selectin. Lack of evidence for unique oligosaccharide sequences mediating binding. *Glycobiology*, **6,** 191-208.

32- **H. Arata-Kawai, M.S. Singer, A. Bistrup, A. Zante, Y.Q. Wang, Y. Ito, X. Bao, S. Hemmerich, M. Fukuda et**

S.D. Rosen (2011). Functional contributions of N- and O-glycans to L-selectin ligands in murine and human lymphoid organs. *Am. J. Pathol.*, **178,** 423-433.

33- A. Leppänen, V. Parviainen, E. Ahola-Iivarinen, N. Kalkkinen et R.D. Cummings (2010). Human L-selectin preferentially binds synthetic glycosulfopeptides modeled after endoglycan and containing tyrosine sulfate residues and sialyl Lewis x in core 2 O-glycans. *Glycobiology*. **20,** 1170-1185

34- R. Wang, J. Huang, M. Wei et X. Zeng (2010). The synergy of 6-O-sulfation and N- or 3-O-sulfation of chitosan is required for efficient inhibition of P-selectin-mediated human melanoma A375 cell adhesion. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*,74, 1697-700.

35- J.B. Lowe (2002). Glycosylation in the control of selectin counter-receptor structure and function. *Immunol. Rev*., **186,** 19-36.

36- M.J. Briskin, L.M. McEvoy et E.C. Butcher (1993). MAdCAM-1 has homology to immunoglobulin and mucin-like adhesion receptors and to IgA1. *Nature*, **363,** 461-463.

37- H. Ogawa, D.G. Binion, J. Heidemann, M. Theriot, P.J. Fisher, N.A. Johnson, M.F. Otterson et P. Rafiee (2005). Mechanisms of MAdCAM-1 gene expression in human intestinal microvascular endothelial cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol*., **288,** 272-281.

38- J. Rivera-Nieves, T. Olson, G. Bamias, A. Bruce, M. Solga, R.F. Knight, S. Hoang, F. Cominelli et K. Ley (2005). L-selectin, alpha 4 beta **1,** and alpha 4 beta 7 integrins participate in CD4+ T cell recruitment to chronically inflamed small intestine. *J. Immunol*., **174,** 2343-2352.

39- A.J. Grant, P.F. Lalor, S.G. Hübscher, M. Briskin et D.H. Adams (2001). MAdCAM-1 expressed in chronic inflammatory liver disease supports mucosal lymphocyte adhesion to hepatic endothelium (MAdCAM-1 in chronic inflammatory liver disease). *Hepatology*, **33,** 1065-1072.

40- E. Leung, J. Greene, J. Ni, L.G. Raymond, K. Lehnert, R. Langley et G.W. Krissansen (1996). Cloning of the mucosal addressin MAdCAM-1 from human brain: identification of novel alternatively spliced transcripts. *Immunol. Cell. Biol.*, **74,** 490-496.

41- U. Fernekorn, E.C. Butcher, J. Behrends, S. Hartz et A. Kruse (2004). Functional involvement of P-selectin and MAdCAM-1 in the recruitment of alpha4beta7-integrin-expressing monocyte-like cells to the pregnant mouse uterus. *Eur. J. Immunol.*, **34,** 3423-3433.

42- Y. Katayama, A. Hidalgo, A. Peired et P.S. Frenette (2004). Integrin alpha4beta7 and its counterreceptor MAdCAM-1 contribute to hematopoietic progenitor recruitment into bone marrow following transplantation. *Blood*, **104,** 2020-2026.

43- L.A. Lasky, M.S. Singer, D. Dowbenko, Y. Imai, W.J. Henzel, C. Grimley, C. Fennie, N. Gillett, S. R. Watson et S. D. Rosen (1992). An endothelial ligand for L-selectin is a novel mucin-like molecule. *Cell.*, **69,** 927-938.

44- A. Klinger, A. Gebert, K. Bieber, K. Kalies, A. Ager, E.B. Bell et J. Westermann (2009). Cyclical expression of L-selectin (CD62L) by recirculating T cells. *Int. Immunol. Int. Immunol.,* **21,** 443-455.

45- Kikuta et S.D. Rosen (1994). Localization of ligands for L-selectin in mouse peripheral lymph node high endothelial cells by colloidal gold conjugates. *Blood*, **84,** 3766-3775.

46- D. Dowbenko, A. Kikuta, C. Fennie, N. Gillette et L. A. Lasky (1993). Structure and chromosomal localization of the murine gene encoding GLYCAM 1. A mucin-like endothelial ligand for L selectin. *J. Clin. Invest*., **92,** 952-960.

47- L. Fina, H. Molgaard, D. Robertson, N. Bradley, P. Monoghan, E. Delia, D. Sutherlan et M. Baker et M. Greaves (1990). Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells. *Blood*, **75,** 2417-2426.

48- S. Baumhueter, M. S. Singer, W. Henzel, S. Hemmerich, M. Renz, S. D. Rosen et L. A. Lasky (1993). Binding of L-selectin to the vascular sialomucin CD34. *Science*, **262,** 436-438.

49- D.L. Simmons, A.B. Satterthwaite, D.G. Tenen et B. Seed (1992). Molecular

cloning of a cDNA encoding CD34, a sialomucin of human hematopoietic stem cells. *J. Immunol*., **148,** 267-271.

50- Suzuki, D.P. Andrew, J.A. Gonzalo, M. Fukumoto, J. Spellberg, M. Hashiyama, H. Takimoto, N. Gerwin, I. Webb, G. Molineux, R. Amakawa, Y. Tada, A. Wakeham, J. Brown, I. McNiece, K. Ley, E.C. Butcher, T. Suda, J.C. Gutierrez-Ramos et T.W. Mak (1996). CD34-deficient mice have reduced eosinophil accumulation after allergen exposure and show a novel crossreactive 90-kD protein. *Blood*, **87,** 3550-3562.

51- K.L. Moore, N.L. Stults, S. Diaz, D.F. Smith, R.D. Cummings, A. Varki et R.P. McEver (1992). Identification of a specific glycoprotein ligand for P-selectin (CD62) on myeloid cells. *J. Cell. Biol*, **118,** 445-456.

52- D. Sako, X.J. Chang, K.M. Barone, G. Vachino, H.M. White, G. Shaw, G.M. Veldman, K.M. Bean, T.J. Ahern, B. Furie, D.A. Cumming et G.R. Larsen (1993). Expression cloning of a functional glycoprotein ligand for P-selectin. *Cell.*, **75,** 1179-1186.

53- D. Sako, K.M. Comess, K.M. Barone, R.T. Camphausen, D.A. Cumming et G.D. Shaw (1995). A sulfated peptide segment at the amino terminus of PSGL-1 is critical for P-selectin binding. *Cell.*, **83,** 323-331.

54- P.P. Wilkins, K.L. Moore, R.P. McEver et R.D. Cummings (1995). Tyrosine sulfation of P-selectin glycoprotein ligand-1 is required for high-affinity binding to P-selectin. *J. Biol. Chem.*, **270,** 22677-22680.

55- J.J. Miner, B. Shao, Y. Wang, G.R. Chichili, Z. Liu, A.G. Klopocki, T. Yago, J.M. McDaniel, W. Rodgers, L. Xia et R.P. McEver (2011). Cytoplasmic domain of P-selectin glycoprotein ligand-1 facilitates dimerization and export from the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, **286,** 9577-9586

56- K.L. Moore, K.D. Patel, R.E. Bruehl, F. Li, D.A. Johnson, H.S. Lichenstein, R.D. Cummings, D.F. Bainton et R.P. McEver (1995). P-selectin glycoprotein ligand-1 mediates rolling of human neutrophils on P-selectin. *J. Cell. Biol*., **128,** 661-671.

57- K.E. Norman, K.L. Moore, R.P. McEver et K. Ley (1995). Leukocyte rolling in vivo is mediated by P-selectin glycoprotein ligand-1. *Blood*, **86,** 4417-4421.

58- M. De Luca, L.C. Dunlop, R.K. Andrews, J.V. Jr. Flannery, R. Ettling, D.A. Cumming, G.M. Veldman et M.C. Berndt (1995). A novel cobra venom metalloproteinase, mocarhagin, cleaves a 10-amino acid peptide from the mature N terminus of P-selectin glycoprotein ligand receptor, PSGL-1, and abolishes P-selectin binding. *J. Biol. Chem*., **270,** 26734-26737.

59- K.E. Norgard, K.L. Moore, S. Diaz, N.L. Stults, S. Ushiyama, R.P. McEver, R.D. Cummings et A. Varki (1993). Characterization of a specific ligand for P-selectin on myeloid cells. A minor glycoprotein with sialylated O-linked oligosaccharides. *J Biol Chem*, **268,** 12764-74.

60- R.P. McEver et R.D. Cummings (1997). Role of PSGL-1 binding to selectins in leukocyte recruitment. *J Clin Invest*, **100,** 97–103.

61- M. Martinez, M. Joffraud, S. Giraud, B. Baïsse, M.P. Bernimoulin, M. Schapira et O. Spertini (2005). Regulation of PSGL-1 interactions with L-selectin, P-selectin, and E-selectin: role of human fucosyltransferase-IV and -VII. *J. Biol. Chem*, **280,** 5378-5390.

62- R.E. Bruehl, K.L. Moore, D.E. Lorant, N. Borregaard, G.A. Zimmerman, R.P. McEver et D.F. Bainton (1997). Leukocyte activation induces surface redistribution of P-selectin glycoprotein ligand-1. *J. Leukoc. Biol.*, **61,**489-499.

63- J.M. Serrador, A. Urzainqui, J.L. Alonso-Lebrero, J.R. Cabrero, M.C. Montoya, M. Vicente-Manzanares, M. Yáñez-Mó et F. Sánchez-Madrid (2002). A juxta-membrane amino acid sequence of P-selectin glycoprotein ligand-1 is involved in moesin binding and ezrin/radixin/moesin-directed targeting at the trailing edge of migrating lymphocytes. *Eur. J. Immunol.*, **32,** 1560-1566.

64- Zarbock, C.A. Lowell et K. Ley (2007). Spleen tyrosine kinase Syk is necessary for E-selectin-induced alpha(L)beta(2) integrin-mediated rolling on intercellular adhesion molecule-1. *Immunity*, **26,** 773-783.

65- Zarbock et K. Ley (2008). Mechanisms and consequences of neutrophil interaction with the endothelium. *Am. J. Pathol*, **172,** 1-7.

66- S. Aigner, C.L. Ramos, A. Hafezi-Moghadam, M.B. Lawrence, J. Friederichs, P. Altevogt et K. Ley (1998). CD24 mediates rolling of breast carcinoma cells on P-selectin. *FASEB J*, **12,** 1241-51.

67- J.O. Gonatas, S.G. Mezitis, A. Stieber, B. Fleischer et N.K. Gonatas (1989). MG-160. A novel sialoglycoprotein of the medial cisternae of the Golgi apparatus. *J. Biol. Chem.*, **264,** 646-53.

68- L.W. Burrus, M.E. Zuber, B.A. Lueddecke et B.B. Olwin (1992). Identification of a cysteine-rich receptor for fibroblast growth factors. *Mol Cell Biol*, **12,** 5600-9.

69- M. Steegmaier, E. Borges, J. Berger, H. Schwarz et D. Vestweber (1997). The E-selectin-ligand ESL-1 is located in the Golgi as well as on microvilli on the cell surface. *J. Cell. Sci.*, **110,** 687-94.

70- M. Lenter, A. Levinovitz, S. Isenmann, D. Vestweber (1994). Monospecific and common glycoprotein ligands for E- and P-selectin on myeloid cells. *J. Cell Biol*, **125,** 471-81.

71- Hidalgo, A.J. Peired, M.K. Wild, D. Vestweber et P.S. Frenette (2007). Complete identification of E-selectin ligands on neutrophils reveals distinct functions of PSGL-1, ESL-1, and CD44. *Immunity*, **26,** 477-89.

72- R. Dalchau, J. Kirkley et J.W. Fabre (1980). Monoclonal antibody to a human brain-granulocyte-T lymphocyte antigen probably homologous to the W 3/13 antigen of the rat. *Eur. J. Immunol.*, **10,** 745-9.

73- D. Naor, R.V. Sionov et D. Ish-Shalom (1997). CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv. Cancer. Res.*, **71,** 241-319.

74- B.F. Haynes, M.J. Telen, L.P. Hale et S.M. Denning (1990). CD44--a molecule involved in leukocyte adherence and T-cell activation. *Immunol. Today*., **10,** 423-428.

75- K. Zen, D.Q. Liu, Y.L. Guo, C. Wang, J. Shan, M. Fang, C.Y. Zhang et Y. Liu (2008). CD44v4 is a major E-selectin ligand that mediates breast cancer cell transendothelial migration. *PLoS One*, **19,** e1826.

76- Nandi, P. Estess et M. Siegelman (2004). Bimolecular complex between rolling and firm adhesion receptors required for cell arrest; CD44 association with VLA-4 in T cell extravasation. *Immunity*, **20,** 455-65.

77- Laudanna, G. Constantin, P. Baron, E. Scarpini, G. Scarlato, G. Cabrini, C. Dechecchi, F. Rossi, M.A. Cassatella et G. Berton (1994). Sulfatides trigger increase of cytosolic free calcium and enhanced expression of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-8 mRNA in human neutrophils. Evidence for a role of L-selectin as a signaling molecule. *J. Biol. Chem.*, **269,** 4021-4026.

78- T.K. Waddell, L. Fialkow, C.K. Chan, T.K. Kishimoto et G.P. Downey (1995). Signaling functions of L-selectin. Enhancement of tyrosine phosphorylation and activation of MAP kinase. *J. Biol. Chem*., **270,** 15403-11.

79- S.T. Hwang, M.S. Singer, P.A. Giblin, T.A. Yednock, K.B. Bacon, S.J. Simon et S.D. Rosen (1996). GlyCAM-1, a physiologic ligand for L-selectin, activates beta 2 integrins on naive peripheral lymphocytes. *J. Exp. Med*., **184,** 1343-1348.

80- H. Haller, U. Kunzendorf, K. Sacherer, C. Lindschau, G. Walz, A. Distler et F.C. Luft (1997). T cell adhesion to P-selectin induces tyrosine phosphorylation of pp125 focal adhesion kinase and other substrates. *J. Immunol*., **158,** 1061-1067.

81- Y. Hu, J.M. Kiely, B.E. Szente, A. Rosenzweig et M.A. Arone Gimbrone Jr (2000). E-selectin-dependent signaling via the mitogen-activated protein kinase pathway in vascular endothelial cells. *J. Immunol*., **165,** 2142-2148.

82- G.M. Edelman (1993). A golden age for adhesion. *Cell. Adhes. Commun*., **1,** 1-7.

83- P.S. Frenette, T.N. Mayadas, H. Rayburn, R.O. Hynes et D.D. Wagner

(1996). Susceptibility to infection and altered hematopoiesis in mice deficient in both P- and E-selectins. *Cell*., **84,** 563-574.

84- K.D. Patel (1999). Mechanisms of selective leukocyte recruitment from whole blood on cytokine-activated endothelial cells under flow conditions. *J. Immunol*., **162,** 6209-6216.

85- T.F. Tedder, D.A. Steeber et P. Pizcueta (1995). L-selectin-deficient mice have impaired leukocyte recruitment into inflammatory sites. *J. Exp. Med*., **181,** 2259-2264.

86- D.C. Bullard, E.J. Kunkel, H. Kubo, M.J. Hicks, I. Lorenzo, N.A. Doyle, C.M. Doerschuk, K. Ley et A.L. Beaudet (1996). Infectious susceptibility and severe deficiency of leukocyte rolling and recruitment in E-selectin and P-selectin double mutant mice. *J. Exp. Med*., **183,** 2329-2336.

87- U. Jung et K. Ley (1999). Mice lacking two or all three selectins demonstrate overlapping and distinct functions for each selectin. *J. Immunol*., **162,** 6755-6762.

88- R.G. Collins, U. Jung, M. Ramirez, D.C. Bullard, M.J. Hicks, C.W. Smith, K. Ley, A.L. Beaudet (2001). Dermal and pulmonary inflammatory disease in E-selectin and P-selectin double-null mice is reduced in triple-selectin-null mice. *Blood*, **98,** 727-35.

89- M.A. Jutila, R.F. Bargatze, S. Kurk, R.A. Warnock, N. Ehsani, S.R. Watson et B. Walcheck (1994). Cell surface P- and E-selectin support shear-dependent rolling of bovine gamma/delta T cells. *J. Immunol.*, **153,** 3917-3928.

90- J. Kitayama, N. Tsuno, E. Sunami, T. Osada, T. Muto et H. Nagawa (2000). E-selectin can mediate the arrest type of adhesion of colon cancer cells under physiological shear flow. *Eur. J. Cancer.,* **36,** 121-127.

91- R. Kannagi (2002). Regulatory roles of carbohydrate ligands for selectins in the homing of lymphocytes. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **12,** 599-608.

92- R.J. Ludwig, M.P. Schön et W. H. Boehncke (2007). P-selectin: a common therapeutic target for cardiovascular disorders, inflammation and tumour metastasis. *Expert. Opin Ther. Targets.*, **11,** 1103-1117.

93- R.C. Fuhlbrigge et C. Weishaupt (2007). Adhesion molecules in cutaneous immunity. *Semin. Immunopathol*., **29,** 45-57.

94- M.J. Eppihimer et R.G. Schaub (2001). Soluble P-selectin antagonist mediates rolling velocity and adhesion of leukocytes in acutely inflamed venules. *Microcirculation*, **8,** 15-24.

95- A.E. Hicks, S.L. Nolan, V.C. Ridger, P.G. Hellewell et K.E. Norman (2002). Recombinant P-selectin glycoprotein ligand-1 directly inhibits leukocyte rolling by all 3 selectins in vivo: complete inhibition of rolling is not required for anti-inflammatory effect. *Blood*, **15,** 3249-3256.

96- M.L. Phillips, E. Nudelman, F.C.A. Gaeta, M. Perez, A.K. Singhal, S. Hakomori et J.C. Paulson (1990). ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand, sialyl-Lex. *Science*, **250,** 1130-1132.

97- Takada, K. Ohmori, N. Takahashi, K. Tsuyuoka, A. Yago, K. Zenita, A. Hasegawa et R. Kannagi (1991). Adhesion of human cancer cells to vascular endothelium mediated by a carbohydrate antigen, sialyl Lewis *A. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **179,** 713-719.

98- M. Ugorski et A. Laskowska (2002). Sialyl Lewis(a): a tumor-associated carbohydrate antigen involved in adhesion and metastatic potential of cancer cells. *Acta. Biochim. Pol.,* **49,** 303-311.

99- U. Richter, C. Schröder, D. Wicklein, T. Lange, S. Geleff, V. Dippel, U. Schumacher et S. Klutmann (2011). Adhesion of small cell lung cancer cells to E- and P-Selectin under physiological flow conditions: implications for metastasis formation. *Histochem. Cell. Biol.*, **135,** 499-512

100- K. Kobayashi, S. Matsumoto, T. Morishita, T. Kawabe et T. Okamoto (2000). Cimetidine inhibits cancer cell adhesion to endothelial cells and prevents metastasis by blocking E-selectin expression. *Cancer. Res.*, **60,** 3978-3984.

101- S. Mathieu et A. El-Battari (2003). Monitoring E-selectin-mediated adhesion using green and red fluorescent proteins. *J. Immunol. Methods.*, **15, 81-92.**

102- C. A. St Hill, D. Baharo-Hassan et M. Farooqui (2011). C2-O-sLeX glycoproteins are E-selectin ligands that regulate invasion of human colon and hepatic carcinoma cells. *PLoS One*. **6** (1), e16281.

103- S. Mathieu, M. Prorok, A. M. Benoliel, R. Uch, C. Langlet, P. Bongrand, R. Gerolami et A. El-Battari (2004). Transgene expression of alpha(1,2)-fucosyltransferase-I (FUT1) in tumor cells selectively inhibits sialyl-Lewis x expression and binding to E-selectin without affecting synthesis of sialyl-Lewis a or binding to P-selectin. *Am. J. Pathol.,* **164,** 371-383.

104- Y.J. Kim, L. Borsig, N.M. Varki et A. Varki. (1998). P-selectin deficiency attenuates tumor growth and metastasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* **95,** 9325-9330.

105- L. Borsig, R. Wong, R.O. Hynes, N.M. Varki et A. Varki (2002). Synergistic effects of L- and P-selectin in facilitating tumor metastasis can involve non mucin ligands and implicate leukocytes as enhancers of metastasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **99,** 2193-2198.

106- J.L. Magnani (2004). The discovery, biology, and drug development of sialyl Lea and sialyl Lex. *Arch. Biochem. Biophys.*, **426,** 122-131.

107- S. Mathieu, R. Gerolami, J. Luis, S. Carmona, O. Kol, L. Crescence, S. Garcia, P. Borentain et A. El-Battari (2007). Introducing alpha(1,2)-linked fucose into hepatocarcinoma cells inhibits vasculogenesis and tumor growth. *Int. J. Cancer.*, **121,** 1680-1689.

108- M.N. Fukuda, C. Ohyama, K. Lowitz, O. Matsuo, R. Pasqualini, E. Ruoslahti et M. Fukuda (2000). A peptide mimic of E-selectin ligand inhibits sialyl Lewis X-dependent lung colonization of tumor cells. *Cancer Research*, **60,** 450-456.