

## L'élastase du polynucléaire neutrophile est un anti-facteur de virulence bactérienne

Gilles L'Allemain

Centre de biochimie Cnrs-Inserm,  
Faculté des Sciences, Parc Valrose,  
06108 Nice Cedex 02, France.  
[lallemai@unice.fr](mailto:lallemai@unice.fr)

► La bactérie *Shigella* est la cause de la dysenterie bacillaire qui touche chaque année environ 150 millions de personnes à travers le monde, parmi lesquelles un million décèderont, dont une majorité d'enfants [1]. Lors d'une infection, *Shigella* envahit le cytoplasme des cellules cibles, les cellules épithéliales et les macrophages. La bactérie utilise alors le cytosquelette de la cellule hôte pour se déplacer et pour se propager d'une cellule à l'autre. Une très forte réaction inflammatoire se produit au niveau de la muqueuse colique, en particulier lors du recrutement massif de polynucléaires neutrophiles [2]. *Shigella* possède un grand plasmide de virulence qui code pour les quatre gènes requis pour l'invasion IpaA, IpaB, IpaC et IpaD (*invasion plasmid antigen*); ceux-ci sont ensuite exportés par un système de sécrétion dit de type III, ne comprenant pas moins de 30 protéines et présent chez plusieurs bactéries entéropathogènes [3]. Les neutrophiles ont la capacité de phagocyter, puis de détruire les micro-organismes mais les enzymes-clés de cette destruction restent mal connus.

Un travail récent indique que l'ajout de quantités croissantes d'extraits de neutrophiles enrichis en granules [4] permet la dégradation des protéines IpaA, IpaB et IpaC, sans agir sur d'autres compartiments puisque ni la protéine OmpA (*outer-membrane protein A*) de la membrane externe, ni la MBP (*maltose-binding protein*) du périplasme, ni la protéine cytosolique RecA (*recombinase A*) ne sont affectées. Sur la base d'inhibitions spécifiques, soit de nature chimique avec des dérivés chloro-méthyl-cétones [5], soit biologiques en présence de protéine SLPI

(*secretory leukocyte protease inhibitor*), il est à présent établi que la protéine responsable de la lyse des antigènes virulents IpaA, IpaB et IpaC est l'élastase du polynucléaire neutrophile [4]. En fait, l'élastase purifiée des neutrophiles est capable de cliver ces facteurs de *Shigella* à des concentrations de l'ordre du micromolaire, soit à une dose 1000 fois inférieure à celle requise pour la dégradation d'autres protéines bactériennes comme OmpA ou RecA [4]. En revanche, la cathepsine G, une autre protéase à sérine présente dans les granules des neutrophiles, n'a aucun effet sur la protéolyse des IpaA, IpaB ou IpaC.

Le site reconnu par l'élastase étant très peu spécifique (un résidu valine ou alanine en position P1), quel mécanisme explique la restriction d'action de l'enzyme? L'action de l'élastase n'est pas due à un simple effet de masse. D'abord, l'élastase ne peut pas accélérer en amont le système bactérien de sécrétion protéique puisqu'elle n'affecte aucun composant de l'appareil de type III présent chez *Shigella* [4]. Ensuite, une analyse fine en spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (*matrix-assisted laser desorption/ionization - time-of-flight*) ne montre aucune variation d'activité lorsque les facteurs de virulence sont majoritaires en quantité protéique [4]. L'infection par *Shigella* de neutrophiles entiers confirme la dégradation en 10 minutes des mêmes protéines. En parallèle, la cytotoxicité de *Shigella* sur les neutrophiles d'origine humaine est fortement augmentée lorsque l'élastase est inhibée chimiquement [4].

Bien que les neutrophiles murins ne possè-

dent pas les mêmes composants antimicrobiens que les neutrophiles humains, le modèle est utile: en effet, l'utilisation de souris invalidées pour le gène de l'élastase des neutrophiles et infectées par *Shigella* permet de déterminer qu'en l'absence de cette enzyme, 12 % des bactéries sont localisées hors du phagolysosome, libres dans le cytoplasme des neutrophiles murins [4]. Par comparaison, chez les animaux normaux, les bactéries *Shigella* sont toutes visualisées dans le phagosome des neutrophiles. En outre, la localisation subcellulaire d'une forme non virulente de *Shigella* dans les neutrophiles de souris invalidées pour l'élastase, ou dans des neutrophiles humains pré-traités avec l'inhibiteur de l'élastase, est identique à celle des formes virulentes de la bactérie [4]. Ainsi, lorsque l'élastase des neutrophiles est inhibée soit pharmacologiquement, soit génétiquement, la bactérie *Shigella* peut échapper aux phagosomes. Mais, hors de ce contexte particulier, l'élastase des neutrophiles est aussi capable de dégrader les facteurs de virulence issus de deux autres bactéries à Gram négatif, *Salmonella* et *Yersinia* [4]. Il était connu que l'élastase intervenait au niveau tissulaire [6], pouvait cliver plusieurs molécules de la matrice extracellulaire ou activer des peptides antimicrobiens, mais c'est la première fois qu'elle est décrite comme ciblant spécifiquement les facteurs de virulence de plusieurs bactéries très pathogènes. Ce travail constitue donc un point de départ important pour une approche endogène de la lutte anti-bactérienne. ♦

**Neutrophil elastase as an anti-bacterial virulence factor**



## RÉFÉRENCES

1. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, *et al.* Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull WHO* 1999; 77: 651-66.
2. Perdomo OJ, Cavaillon JM, Huerre, Ohayon H, Gounon P, Sansonetti PJ. Acute inflammation causes epithelial invasion and mucosal destruction in experimental shigellosis. *J Exp Med* 1994; 180: 1307-19.
3. Cornelis, GR, Van Gijsegem F. Assembly and function of type III secretory systems. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54: 735-74.
4. Weinrauch Y, Drujan D, Shapiro SD, Weiss J, Zychlinsky A. Neutrophil elastase targets virulence factors of enterobacteria *Nature* 2002; 417: 91-4.
5. Veale CA, Bernstein PR, Bohnert CM, *et al.* Orally active trifluoromethyl ketone inhibitors of human leukocyte elastase. *J Med Chem* 1997; 40: 3173-81.
6. Owen CA, Campbell EJ. The cell biology of leukocyte-mediated proteolysis. *J Leuk Biol* 1999; 65: 137-50.

## NOUVELLE

### Les astrocytes contrôlent la neurogenèse dans le système nerveux central adulte

Hervé Chneiweiss

> Les astrocytes forment la principale population de cellules gliales du système nerveux. Depuis le milieu du XIX<sup>e</sup> siècle, où le tissu nerveux non-neuronal fut qualifié de « glue » par Virchow, et jusqu'à ces dernières années, les astrocytes ont été considérés comme des éléments passifs, des cellules de soutien. De fait, les étroites interactions que ces cellules entretiennent les unes avec les autres par l'intermédiaire de jonctions serrées de type *gap* ont longtemps laissé croire aux électrophysiologistes que le syncytium astrocytaire était inerte. Une conception balayée dès l'apparition des techniques de *patch-clamp*, démontrant la vaste gamme de canaux ioniques, dépendant ou non du voltage, exprimés à la surface cellulaire. En parallèle, leur faible imprégnation par la technique de coloration argentique développée par Golgi ne permettait pas de trancher nettement en faveur de la théorie cellulaire, tandis que les neurones offraient à Cajal un magnifique champ de démonstration. Ici encore le progrès technique, et l'apparition de la microscopie électronique, vinrent bouleverser les dogmes et établir la réalité.

Ainsi, au cours des dernières années, de nombreuses fonctions ont été reconnues aux astrocytes [1]. Parmi celles-ci figure la

constitution de l'architecture cérébrale au cours du développement. Les astrocytes embryonnaires de la glie radiaire servent de « rails » lors de la migration des neurones immatures de l'espace périventriculaire vers les couches externes du cortex cérébral. L'astrocyte est également nécessaire à la formation de la barrière hémato-cérébrale. De plus, son rôle majeur dans la formation et la plasticité des synapses entre neurones a été mis en évidence [2, 3]. Par ailleurs l'astrocyte est le seul lieu de stockage du glucose dans le système nerveux, donc la seule source énergétique des neurones, et les facteurs de croissance sécrétés par les astrocytes sont essentiels à la conservation des fonctions neurales et à la survie cellulaire.

L'ensemble de ces données permet de modifier profondément notre conception de l'astrocyte, qui apparaît maintenant comme une cellule très active qui participe en particulier au contrôle de l'environnement local dans le système nerveux central.

Un autre dogme mis à mal au cours de la dernière décennie a été celui de neurones immuables de la naissance à la mort [4]. Deux zones du cerveau, la zone sous-ventriculaire et la zone sous-granulaire de l'hip-

pocampe, abritent des cellules souches qui donnent naissance à de nouveaux neurones tout au long de la vie, y compris à l'âge adulte. Mais il existe également des cellules souches adultes capables de donner nais-

sance aux différentes

Inserm U.114, Collège de France, 11, place Marcellin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05, France.  
[herve.chneiweiss@college-de-france.fr](mailto:herve.chneiweiss@college-de-france.fr)

lignées cellulaires du système nerveux central, y compris des neurones, dans d'autres régions du cerveau, comme le striatum, ou la moelle

épinière. Toutefois ces cellules restent quiescentes dans le contexte de la physiologie normale du système nerveux. D'où l'idée simple: l'environnement local conditionne la capacité des cellules souches adultes à proliférer et à se différencier. Reste à le démontrer et à en déterminer les mécanismes. Un article du groupe de Fred Gage [5], l'un des pionniers du domaine avec Sam Weiss et Arturo Alvarez-Buylla, a récemment mis en évidence le rôle des astrocytes dans le contrôle de la neurogenèse dans l'hippocampe chez l'adulte.

Pour suivre le devenir des cellules souches, les auteurs utilisent une technique préalablement décrite qui leur permet d'isoler de façon clonale des cellules souches d'hippocampe de rat adulte, puis de les transfecter avec un rétrovirus qui s'intègre dans le génome des cellules hôte, et permet l'expression du marqueur fluorescent (GFP) dans la descendance de ces cellules. En présence de FGF-2 (*fibroblast growth factor-2*), les cellules prolifèrent et restent indifférenciées. Les auteurs observent, après retrait du FGF-2, une différenciation spon-