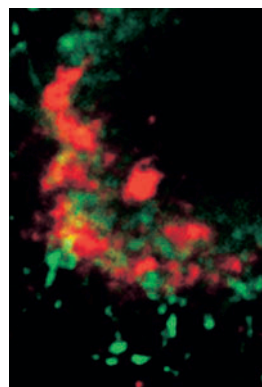


> Les organismes étant en permanence exposés à des micro-organismes, leur survie est liée à leur capacité à reconnaître efficacement les agents pathogènes et à déclencher une réponse immune protectrice. L'évolution a conservé une stratégie de reconnaissance de motifs microbiens, non exprimés par les organismes supérieurs. Cette discrimination est réalisée par des récepteurs (dits « de l'immunité innée, ou non spécifique ») capables de reconnaître sélectivement ces différents motifs. Ces récepteurs sont impliqués soit dans l'internalisation des micro-organismes pour leur destruction, soit dans l'activation des cellules immunitaires. Parmi les récepteurs d'activation, les molécules *Toll-like receptors* (TLR) jouent un rôle primordial, car leur recrutement est nécessaire pour induire des réponses immunes protectrices. Les molécules TLR se comportent donc comme des interfaces moléculaires entre la phase de reconnaissance des agents pathogènes et la phase de production d'une réponse immune protectrice. <

## Immunité naturelle

### Structure et fonction des Toll-like receptors

Yves Delneste, Céline Beauvillain, Pascale Jeannin



Y. Delneste : Inserm U564, Équipe Avenir, Université d'Angers, 4, rue Larrey, 49933 Angers Cedex 9, France.  
 C. Beauvillain, P. Jeannin : Inserm U564, Équipe Avenir, Université d'Angers, 4, rue Larrey, 49933 Angers Cedex 9 et Laboratoire d'immunologie et allergologie, Centre Hospitalier Universitaire, 4, rue Larrey, 49100 Angers, France.  
[yves.delneste@univ-angers.fr](mailto:yves.delneste@univ-angers.fr)

Pendant de nombreuses années, les immunologistes ont dissocié les deux types de réponses immunes, innée et adaptative. En 1999, Charles Janeway proposait une théorie intégrative suggérant une liaison étroite entre les deux types de réponses, les mécanismes moléculaires mis en jeu lors de la reconnaissance des micro-organismes contrôlant la nature de la réponse immune adaptative [3]. Depuis, de nombreux travaux ont confirmé la pertinence de cette hypothèse et explicité les fondements cellulaires et moléculaires de cette interconnexion.

#### Récepteurs de l'immunité innée

Lorsqu'un micro-organisme entre en contact avec les cellules de l'organisme, il doit être détecté comme agent étranger, c'est-à-dire être discriminé du soi, par les cellules du système immunitaire. Cette étape de reconnaissance fait intervenir les récepteurs de l'immunité innée, les PRR [1]. Ces récepteurs, dont la spécificité est génétiquement déterminée (d'où le terme inné), reconnaissent des molécules appelées PAMP [3] (le terme PAMP est en réalité impropre, car ces structures sont également exprimées par

Le rôle du système immunitaire est de contrôler l'invasion et la prolifération des agents pathogènes. De manière chronologique, un microbe est confronté à une première ligne de défense, cellulaire et humorale, regroupée sous le terme d'immunité naturelle ou innée [1]. Cette étape fait intervenir des barrières physiques (épithéliums digestif, bronchique et uro-génital), une composante cellulaire (cellules tueuses : neutrophiles et macrophages) et une composante humorale (facteurs du complément) (Figure 1). La réponse immune innée est suivie d'une réponse immune adaptative [2], caractérisée par la mise en place de réponses lymphocytaires B et T spécifiques, et adaptées à la destruction du pathogène rencontré (anticorps dans le cas des bactéries, cellules cytotoxiques dans le cas des virus) (Figure 1). Cette réponse spécifique est caractérisée par une mémoire immunologique qui permettra une destruction plus efficace et plus rapide lors d'un deuxième contact avec le même pathogène.

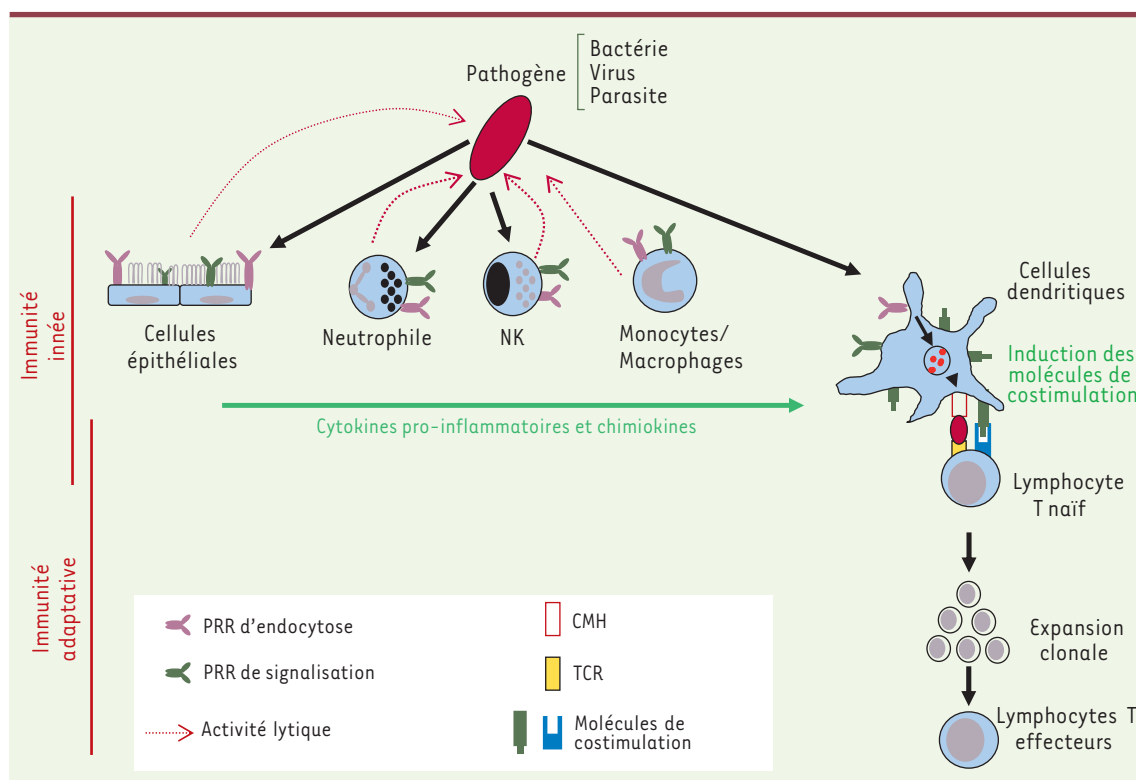
Article reçu le 4 avril 2006, accepté le 20 août 2006.

les micro-organismes non pathogènes de la flore commensale). Les PAMP, véritables signatures moléculaires des micro-organismes, sont conservés durant l'évolution ; ils sont absents des cellules de l'hôte et nécessaires à la survie des micro-organismes, dont la prolifération et la survie sont affectées en l'absence d'expression des PAMP. Ces molécules sont donc peu sujettes à mutation, ce qui rend improbable une mutation permettant aux micro-organismes d'échapper à la reconnaissance par le système immunitaire inné. En ce qui concerne les PRR, trois familles ont été décrites : les PRR solubles (opsonines) et deux types de récepteurs cellulaires, les récepteurs d'endocytose et les récepteurs de signalisation. Les opsonines se fixent aux micro-organismes et facilitent leur élimination par les cellules phagocytaires ; il s'agit notamment des facteurs du complément [4] et des molécules de la famille des pentraxines : les molécules de la phase aiguë de l'inflammation CRP et SAP, et la molécule PTX 3 [5]. Les récepteurs d'endocytose, membranaires, sont impliqués dans la reconnaissance et l'internalisation des micro-organismes (Figure 1). Ces récepteurs, parmi lesquels figurent la famille des *scavenger receptors* [6] et les lectines de type C (DC-SIGN, par exemple) [7], sont exprimés sélectivement par les cellules à forte activité d'endocytose, telles que les monocytes et les

macrophages. Les récepteurs de signalisation sont, quant à eux, impliqués dans l'activation des cellules ayant rencontré un micro-organisme (Figure 1). Ils appartiennent à la famille des molécules TLR [8], à la famille des molécules NOD [9] et à la famille des hélicases [10]. Ces molécules sont soit d'expression membranaire, à la surface des cellules (TLR1, 2, 4, 6) ou dans les endosomes/lysosomes (TLR3, 7, 8, 9), soit d'expression cytosolique (NOD, hélicases). Parmi les différents types de PRR, les molécules d'activation TLR jouent un rôle prépondérant dans l'activation des cellules de l'immunité innée et constituent des interfaces moléculaires entre immunité innée et immunité adaptative.

### Molécules TLR : classification et nature des ligands

La molécule transmembranaire Toll a été identifiée par son rôle dans la mise en place de l'axe dorsoventral



**Figure 1. Interconnexion immunité innée - immunité adaptative.** Lors d'un contact avec un agent pathogène, les cellules de l'immunité innée (cellules épithéliales, neutrophiles, monocytes/macrophages, cellules NK, cellules dendritiques), activées via les récepteurs de signalisation TLR, produisent des médiateurs bactéricides ainsi que des chimiokines et cytokines proinflammatoires. Les antigènes capturés par les cellules dendritiques sont présentés dans les molécules du système majeur d'histocompatibilité (CMH). Les cellules dendritiques, activées par des ligands des TLR, subissent un processus de maturation caractérisé par une augmentation d'expression des molécules de costimulation nécessaires à l'activation des lymphocytes T naïfs. Les cellules dendritiques activées migrent vers les ganglions proximaux, où elles rencontrent les lymphocytes T spécifiques des antigènes microbiens. Les lymphocytes T activés par les cellules dendritiques se divisent et se différencient en cellules effectrices.

chez l'embryon de drosophile [11] ; elle présente des motifs riches en leucine (LRR) semblables à ceux retrouvés dans la molécule CD14 [11], récepteur pour le lipopolysaccharide (LPS), ainsi qu'un domaine intracellulaire proche de celui du récepteur de l'interleukine 1 (IL1) et appelé TIR. Toll active une molé-

cule homologue au facteur de transcription NF- $\kappa$ B. Des drosophiles déficientes en molécule Toll présentent une sensibilité accrue aux infections fongiques [12]. Ces caractéristiques structurales et fonctionnelles suggèrent un rôle de Toll dans l'immunité. Une recherche de molécules similaires à Toll chez les mammifères a permis d'identifier une famille de molécules apparentées, appelées *Toll-like receptors*, qui présentent les mêmes spécificités structurales que la molécule Toll [13]. À ce jour, 10 molécules ont été identifiées chez l'homme et 11 chez la souris.

Le *Tableau 1* présente les principaux ligands connus des TLR humains, qu'ils soient endogènes ou exogènes. Les agonistes endogènes regroupent essentiellement les molécules de choc thermique (HSP), l'ADN génomique complexé à des

anticorps anti-ADN ou des constituants de la matrice extracellulaire. Ces ligands, normalement strictement intracellulaires (HSP, ADN) ou produits par dégradation de la matrice extracellulaire, signalent une destruction cellulaire ou tissulaire et représentent donc des motifs de danger pour le système immunitaire. Dans cette section, nous ne présentons que les agonistes issus des micro-organismes, qui sont les plus puissants activateurs *via* les molécules TLR.

### TLR2, TLR4 et ligands de nature lipidique

Le LPS, composant majeur des parois des bactéries Gram négatif, se fixe à la molécule LBP présente dans le sérum ; ce complexe LPS-LBP se fixe alors au récepteur membranaire CD14. Un clonage positionnel a montré que les souris résistantes au LPS (souris *lps/lps*) présentent une mutation dans un gène codant pour une molécule apparentée à Toll, appelée plus tard TLR4

[14]. TLR4 s'associe à la molécule MD2 pour reconnaître le complexe CD14-LPS-LBP [15]. TLR2 a été initialement associée à la reconnaissance des composants des parois des bactéries Gram positif (peptidoglycane et acide lipotéichoïque) [16], du lipo-arabinomane des mycobactéries et des LPS atypiques de *Liptospira interrogans* ou de *Porphyromonas gingivalis*. La coopération de TLR2 avec TLR1 et TLR6 participerait à la discrimination des diacyl- et triacyl-lipopeptides bactériens, respectivement. Cependant, différentes études ont montré que l'activation par le peptidoglycane et l'acide lipotéichoïque ne s'effectuerait pas *via* TLR2, les premiers résultats obtenus apparaissant liés à une contamination des préparations utilisées [17, 18].

### TLR et ligands de nature protéique

La flagelline, protéine majoritaire du flagelle des bactéries flagellées, est reconnue par TLR5 [19]. Nous avons également montré que la molécule OmpA, protéine majeure de la paroi externe des bactéries à Gram négatif, active les cellules *via* TLR2 [20]. La molécule TLR11, qui n'est retrouvée que chez la souris, a été identifiée par sa capacité à reconnaître des bactéries uropathogènes [21] ; elle est également activée par une protéine de type profiline, issue du parasite *Toxoplasma gondii*.

### TLR et ligands de nature nucléotidique

Les ADN bactériens sont caractérisés par des motifs hypométhylés (motifs CpG), absents chez les mammifères ; cette différence structurale est discriminée par TLR9 [22]. Les molécules TLR7 et TLR8, très homologues entre elles et à TLR9, recon-

Famille	Agonistes microbiens	Agonistes du soi	Autres
TLR1 (+ TLR2)	Triacyl lipopeptides (bactéries, mycobactéries)		
TLR2	Lipoprotéines/lipopeptides (nombreux pathogènes) Peptidoglycane et acide lipotéichoïque (bactéries Gram positif)* Lipoarabinomannane (mycobactérie) OmpA (bactérie à Gram négatif)	HSP70**	
TLR3	ARN double brin (virus)		Poly[I :C]
TLR4	Lipopolysaccharide (bactérie à Gram négatif) Protéines virales (RSV, MMTV)	HSP2 Domaines de fibronectine, acide hyaluronique et héparane sulfate	
TLR5	Flagelline (bactérie)		
TLR6 (+ TLR2)	Diacyl lipopeptides (mycoplasme)		
TLR7	ARN simple brin (virus)		Drogues (imidazoquinoline, loxoribine, bropirimine)
TLR8	ARN simple brin (virus)		Imidazoquinoline
TLR9	ADN hypométhylé (bactérie) Hémozoïne	Complexes auto-anticorps/ADN génomique	
TLR10	?		

**Tableau 1. Agonistes des molécules TLR humaines.** \* Résultats controversés (voir [17, 18]). \*\* Différentes études suspectent que le LPS contaminant serait responsable des activités immunostimulatrices de ces molécules endogènes.

naissent les ARN simple brin [23]. TLR3 reconnaît quant à lui les ARN double brins viraux [24], ainsi que l'homologue structural synthétique (poly[I:C]).

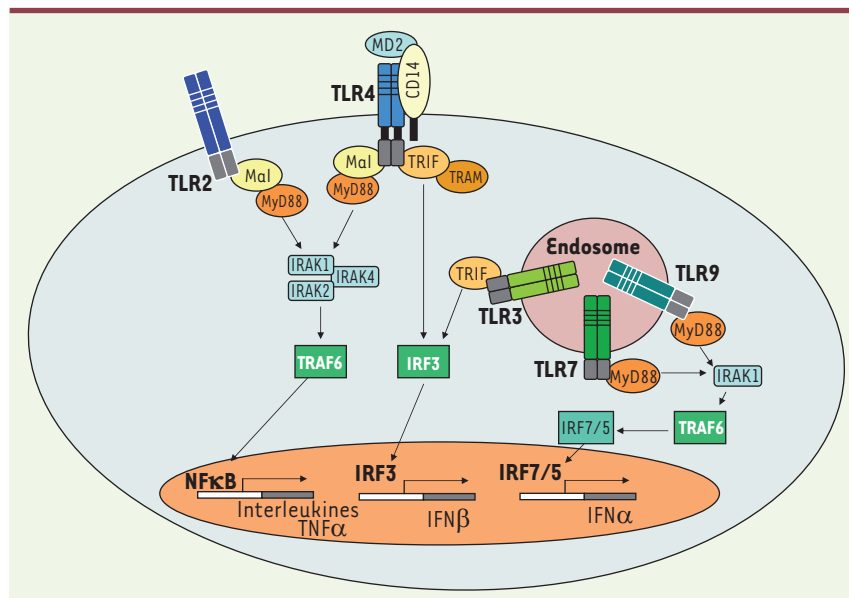
Il est important de noter que la distribution subcellulaire des molécules TLR est associée à la nature des ligands qu'elles reconnaissent, plutôt qu'à une similitude de leurs séquences. Les molécules TLR1, 2, 4, 5 et 6, spécialisées dans la reconnaissance de composés microbiens, sont exprimées à la surface des cellules. À l'inverse, les molécules TLR3, 7, 8 et 9, spécialisées dans la détection des acides nucléiques (molécules non restreintes aux pathogènes), sont localisées dans des endosomes/lysosomes [25]. Contrairement aux acides nucléiques microbiens, et notamment viraux, les acides nucléiques de l'hôte n'ont pas accès à ces compartiments et ne peuvent donc pas les activer.

### Signalisation et spécificité de la réponse via les molécules TLR

#### Modalités de réponses multiples aux ligands des molécules TLR

Malgré un nombre restreint de molécules, des réponses diversifiées sont possibles en raison de la capacité de reconnaissance des multiples ligands potentiels des molécules TLR. Cette multiplicité de réponses a plusieurs origines :

- l'expression d'un profil restreint de TLR par les cellules, qui ne répondent donc qu'aux agents pathogènes pour lesquels elles ont le profil approprié. Ainsi, les cellules dendritiques plasmacytoïdes, spécialisées dans la réponse antivirale, n'expriment que TLR3, 7, 8 et 9 ; en corollaire, les cellules spécialisées sont localisées dans des organes différents, qui ne sont en contact qu'avec un certain type de micro-organisme ;
- la localisation subcellulaire des molécules TLR (voir plus haut) ;
- l'existence de combinaisons différentes de molécules adaptatrices, qui conduit à l'activation de différentes voies de signalisation en fonction du (ou des) TLR recruté(s) et de la nature du ligand ;
- la coopération entre PRR d'endocytose et PRR de signalisation : ainsi, les PRR d'internalisation Dectin-1 et CD36 coopèrent avec TLR2 lors de l'activation par le zymosan [26], tandis que les *scavenger receptors* LOX-1 et SREC-1 coopèrent avec TLR2 dans l'activation cellulaire par la protéine OmpA [27] ;
- le rôle des molécules accessoires (CD14, MD2) [15], impliquées dans la reconnaissance des ligands ou la discrimination entre différents ligands pouvant être reconnus par un même TLR.



#### Signalisation via les molécules TLR

Le schéma de signalisation via les molécules TLR s'est particulièrement compliqué ces dernières années. Une revue exhaustive a récemment été publiée sur ce sujet [28]. Globalement, toutes les molécules TLR, à l'exception de la molécule TLR3, empruntent une voie de signalisation impliquant la molécule cytoplasmique MyD88 qui contient un domaine TIR et un « domaine de mort » (DD) [29] (Figure 2). Après recrutement par un agoniste des molécules TLR, la molécule MyD88 induit le recrutement et l'activation des kinases IRAK 1 et 4, elles-mêmes responsables de l'activation de la molécule TRAF6. Celle-ci active alors le facteur de transcription NF-κB, impliqué dans l'induction de nombreux gènes, principalement pro-inflammatoires. TLR4 (en plus de la signalisation via MyD88) et TLR3 induisent l'activation de la molécule TRIF [30], étape nécessaire pour la production d'interféron de type I : TRIF active le facteur de transcription IRF3 [31] et sa fixation sur le promoteur du gène *IFNβ*. Les cellules dendritiques (DC) plasmacytoïdes (sous-population de cellules dendritiques caractérisées par leur capacité à produire de l'*IFNα*) isolées de souris déficientes en facteur de transcription IRF7 ne produisent plus d'*IFNα* en réponse aux agonistes des molécules TLR7,

**Figure 2. Voies de signalisation via les TLR.** La transduction du signal d'activation via les TLR fait intervenir principalement deux voies de signalisation : une voie dépendante de MyD88, qui aboutit à l'activation des facteurs de transcription NF-κB (ex : TLR2) et IRF7/5 (ex : TLR7 et TLR9), et une voie indépendante de MyD88 mais dépendante de IRF3 (TLR3). Certains TLR, dont TLR4, utilisent des voies mixtes dépendantes et indépendantes de MyD88. Le facteur de transcription NF-κB est impliqué dans l'expression de nombreux gènes pro-inflammatoires, tandis que les molécules IRF3 et IRF7/5 sont impliquées dans l'expression des interférons de type I (*IFNα* et *IFNβ*). Les molécules accessoires de TLR4 sont représentées. Les molécules inhibitrices de ces voies de signalisation ne sont pas présentées dans ce schéma. On peut noter la diversité de recrutement des molécules de signalisation en fonction des molécules TLR recrutées (pour plus d'information, voir [28]).

8 et 9 [31]. La molécule IRF7 est constitutivement exprimée par les DC de type plasmacytoïde, alors qu'elle est inducible dans les autres types cellulaires.

Ainsi, la multiplicité de réponses *via* un nombre restreint de molécules TLR peut être expliquée par une diversité fonctionnelle liée à une activation combinée de plusieurs TLR, leur coopération avec d'autres PRR ou leur expression restreinte à certaines sous-populations cellulaires. De plus, le profil d'expression des molécules TLR est finement régulé par les cytokines.

### Fonctions biologiques des molécules TLR

Les molécules TLR sont exprimées par de nombreux types cellulaires et sont donc impliquées dans de nombreux processus d'activation.

#### Activation des cellules dendritiques

Les cellules dendritiques, seules cellules présentatrices d'antigène (CPA) capables d'activer les lymphocytes T naïfs, se situent à l'interface entre immunité innée et immunité adaptative [32]. Les DC existent sous deux états de différenciation : les DC immatures, localisées en périphérie, analysent en permanence leur environnement pour détecter des agents étrangers et sont spécialisés dans la capture des micro-organismes. Après contact avec les micro-organismes, les DC subissent un processus de maturation et migrent vers les ganglions périphériques proximaux, pour présenter aux lymphocytes T naïfs les antigènes issus des micro-organismes capturés. Lors de la rencontre avec les composants microbiens, les DC sont activées *via* les molécules TLR. Quel que soit le type de molécule TLR recrutée, les DC activées expriment davantage de molécules de costimulation (nécessaires à l'activation des lymphocytes T naïfs) et produisent des molécules à activité chimio-attractante (chimiokines) qui vont attirer les cellules immunes sur le lieu de l'infection (Figure 1). La majorité des agonistes des molécules TLR induisent la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et TNF $\alpha$ ) et de cytokines immunostimulatrices pro-Th1 (IL-12, IL-18). À ce jour, les agonistes des TLR3, 7 et 9 sont les seules molécules connues pour induire l'expression des IFN de type I impliqués dans l'immunité antivirale [33]. Les macrophages, CPA non professionnelles, produisent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines en réponse aux agonistes des molécules TLR.

#### Activation des autres cellules de l'immunité innée

De manière générale, une activation *via* les molécules TLR augmente les activités cytotoxiques des cellules immunes. L'activation des cellules NK [34, 35] induit la production de peptides antimicrobiens (défensines) et de cytokines immunostimulatrices (IFN $\gamma$ , IL-6, IL-8), et potentialise leurs activités cytotoxiques. L'activité phagocytaire des macrophages est également augmentée en réponse aux ligands des molécules TLR (Figure 1). Ainsi, une exposition au composé synthétique R-848, agoniste des molécules TLR7 et TLR8, déclenche la sécrétion, par les polynucléaires éosinophiles, du TNF $\alpha$ , de la protéine ECP, puissant médiateur cytotoxique, et de radicaux libres [36]. Les polynucléaires neutrophiles sont également activés (libération du contenu des granules) en réponse aux agonistes des molécules TLR.

#### Activation des cellules de l'immunité adaptative

Les molécules TLR sont exprimées par les cellules de l'immunité adaptative (lymphocytes B et lymphocytes T). Les lymphocytes B expriment la molécule RP105 (homologue à TLR4) qui, en s'associant à la molécule adaptatrice MD1,

leur permet d'être activés par le LPS [37]. Les cellules B sont également activées par les séquences CpG, agonistes de la molécule TLR9 [38, 39]. Ces études ont souligné l'importance de l'activation des cellules B par les agonistes des molécules TLR pour la mise en place et le maintien d'une réponse anticorps spécifique d'antigène.

L'activation des lymphocytes T humains naïfs et mémoires par les agonistes des molécules TLR2, TLR5 et TLR8 potentialise leur prolifération et leur production de cytokines (IFN $\gamma$ ) lorsqu'ils sont activés par un anticorps activateur anti-CD3 ou l'interleukine 2 [40, 41]. Ces résultats suggèrent que les lymphocytes T mémoires, présents dans les tissus périphériques, peuvent être activés par des ligands des molécules TLR, et sont donc capables de déclencher rapidement une réponse immune protectrice. Cette observation a été étendue aux lymphocytes T régulateurs (Treg), qui participent activement au contrôle des réponses immunes [42]. Les lymphocytes Treg expriment les ARNm codant pour les molécules TLR et peuvent également être co-activés par des agonistes de molécules TLR. Différentes études ont montré que l'activation par des agonistes des molécules TLR induit une prolifération et une potentialisation des propriétés immunosuppressives des lymphocytes Treg [43, 44]. Cependant, d'autres auteurs ont rapporté que l'activation induit une perte transitoire d'activité régulatrice [45], qui peut être associée à une réversion de l'activité immunosuppressive *in vivo* [46].

#### Activation des fibroblastes, des cellules épithéliales et des cellules endothéliales

Les ARN codant pour les molécules TLR sont exprimés par les cellules épithéliales. Leur activation induit la production de cytokines immunostimulatrices (IFN $\gamma$ , IL-6, IL-8), ainsi que l'expression de molécules d'adhérence impliquées dans le recrutement, l'activation et la migration des cellules immunes au site de l'infection. Cependant, une stimulation prolongée des cellules épithéliales rendrait ces cellules résistantes à une activation ultérieure [47]; cet état d'hyporéactivité serait essentiel pour maintenir l'homéostasie tissulaire locale, en évitant une activation permanente des cellules au contact des micro-organismes (tractus digestif, respiratoire et génital). De plus, la localisation intracellulaire des molécules TLR dans les cellules épithéliales, comme cela a été rapporté pour la molécule TLR4, participe à cette homéostasie tissulaire [48]. Les agonistes des molécules TLR induisent également l'activation des fibroblastes (objectivée par la production de cytokines, de chimiokines et de peptides antimicrobiens) et des cellules endothéliales (production de cytokines et de chimiokines). L'ensemble de ces données montre que la majorité des cellules exprimant les molécules TLR peuvent être activées, directement ou en présence de molécules costimulatrices (lymphocytes B et T, cellules NK), par des agonistes des molécules TLR. Cependant, la plupart des auteurs s'accordent sur le fait que les CPA, et en particulier les cellules dendritiques, sont les

principales cibles des agonistes TLR, alors qu'ils agissent comme facteurs de potentialisation de l'activation des cellules de l'immunité adaptative.

## TLR, immunopathologie et immuno-intervention

### Immunopathologie

Les molécules TLR jouent un rôle essentiel dans l'homéostasie immunitaire (activation *versus* tolérance). Certaines pathologies auto-immunes ont été associées à des mutations dans les molécules de transduction impliquées dans la signalisation TLR. Des formes non fonctionnelles de la molécule IRAK 4 ont été décrites chez des patients présentant une pathologie auto-immune [49]. À l'opposé, une activation excessive des molécules TLR est suspectée dans des maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux disséminé. Chez les patients lupiques, la présence de complexes histone-ADN circulants, provenant de cellules mortes par apoptose, aboutit à l'activation des DC *via* TLR9 [50].

### Immuno-intervention

Du fait de leur rôle dans l'initiation d'une réponse immunitaire effectrice, les molécules TLR constituent des cibles de choix en terme d'immunomodulation. Des stratégies d'inhibition des molécules TLR, à l'aide d'anticorps neutralisants ou de molécules antagonistes, sont actuellement évaluées lors d'une activation excessive des cellules immunitaires par des agents pathogènes, comme lors des septicémies. Au contraire, des agonistes des molécules TLR sont recherchés en tant qu'adjuvants dans les vaccins [51]. Des oligonucléotides synthétiques contenant des motifs CpG sont parmi les plus puissants activateurs des cellules immunitaires.

## Conclusions

L'évolution a sélectionné des molécules impliquées dans la reconnaissance des micro-organismes et dans l'activation cellulaire. La spécificité de reconnaissance des antigènes microbiens, les coopérations entre les différents types de récepteurs et le recrutement de différentes voies de signalisation sont responsables de la diversité des réponses immunitaires engendrées en réponse à la multitude des antigènes microbiens. Impliquées dans l'activation cellulaire, les molécules TLR se comportent comme des interfaces moléculaires entre l'immunité innée (ou naturelle) et l'immunité adaptative. Du fait de leurs propriétés immunologiques, les molécules TLR sont la cible de nombreuses stratégies d'immuno-intervention pour contrôler une réponse immunitaire excessive ou favoriser le développement d'une réponse protectrice. ♦

## SUMMARY

### Innate immunity: structure and function of TLRs

The innate immune system provides the first line of defence against infection. Through a limited number of germline-encoded receptors called pattern recognition receptors (PRRs), innate cells recognize and are activated by highly conserved structures expressed by large group of microorganisms called pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). PRRs are involved either in recognition (scavenger receptors, C-type lectins) or in cell activation (Toll-like receptors or TLR, helicases and NOD molecules). TLRs play a pivotal role in cell activation in response to PAMPs. TLR are type I transmembrane proteins characterized by an intracellular Toll/IL 1 receptor homology domain that are expressed by innate

immune cells (dendritic cells, macrophages, NK cells), cells of the adaptive immunity (T and B lymphocytes) and non immune cells (epithelial and endothelial cells, fibroblasts). In all the cell types analyzed, TLR agonists, alone or in combination with costimulatory molecules, induce cell activation. The crucial role played by TLR in immune cell activation has been detailed in dendritic cells. A TLR-dependent activation of dendritic cells is required to induce their maturation and migration to regional lymph nodes and to activate naïve T cells. The ability of different cell types to respond to TLR agonists is related to the pattern of expression of the TLRs and its regulation as well as their intracellular localization. Recent studies suggest that the nature of the endocytic and signaling receptors engaged by PAMPs may determine the nature of the immune response generated against the microbial molecules, highlighting the role of TLRs as molecular interfaces between innate and adaptive immunity. In this review are summarized the main biological properties of the TLR molecules. ♦

### GLOSSAIRE

- CPA** : cellules présentatrices d'antigène
- CRP** : *C-reactive protein*
- DC** : cellules dendritiques
- DC-SIGN** : *dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 (ICAM-3) grabbing nonintegrin*
- DD** : *death domain*
- ECP** : *eosinophil cationic protein*
- HSP** : *heat shock proteins*
- IFN** : interféron
- IL** : interleukine
- IRAK** : *IL-1R-associated kinase*
- IRF 3** : *interferon regulatory factor 3*
- LBP** : *LPS-binding protein*
- LOX 1 (récepteur)** : *lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor*
- LPS** : lipopolysaccharide
- LRR** : *leucine-rich region*
- MyD 88** : *myeloid differentiation factor 88*
- MMTV** : *mouse mammary tumor virus*
- NK** : *natural killer*
- NOD** : *nuclear oligomerization domain*
- OmpA** : *outer membrane protein A*
- PAMP** : *pathogen-associated molecular pattern*
- PRR** : *pattern-recognition receptors*
- PTX 3** : *pentaxine 3*
- RSV** : *Rous sarcoma virus*
- SAP** : *serum amyloid protein*
- SREC 1** : *scavenger receptor expressed by endothelial cells 1*
- TIR** : *Toll-IL 1 receptor domain*
- TLR** : *Toll-like receptors*
- TNF $\alpha$**  : *tumor necrosis factor  $\alpha$*
- TRAF 6** : *TNF $\alpha$  receptor-associated factor 6*
- Treg** : lymphocytes T régulateurs
- TRIF** : *TIR domain-containing adaptor inducing interferon- $\beta$*



## REMERCIEMENTS

L'équipe Inserm Avenir (Inserm U564) bénéficie de financements de l'Inserm, de la Ligue contre le cancer (Comité départemental de Maine-et-Loire) et du Cancéropole Grand-Ouest.

## RÉFÉRENCES

1. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006 ; 124 : 783-801.
2. Pulendran B, Ahmed R. Translating innate immunity into immunological memory: implications for vaccine development. *Cell* 2006 ; 124 : 849-63.
3. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immune induction of the adaptive immune response. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1999 ; 64 : 429-35.
4. Rus H, Cudrici C, Niculescu F. The role of the complement system in innate immunity. *Immunol Res* 2005 ; 33 : 103-12.
5. Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani A. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annu Rev Immunol* 2005 ; 23 : 337-66.
6. Peiser L, Mukhopadhyay S, Gordon S. Scavenger receptors in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 2002 ; 14 : 123-8.
7. Cambi A, Figdor CG. Levels of complexity in pathogen recognition by C-type lectins. *Curr Opin Immunol* 2005 ; 17 : 345-51.
8. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003 ; 21 : 335-76.
9. Girardin SE, Boneca IG, Carneiro LA, et al. Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science* 2003 ; 300 : 1584-7.
10. Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, et al. Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. *J Immunol* 2005 ; 175 : 2851-8.
11. Hashimoto C, Hudson KL, Anderson KV. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell* 1988 ; 52 : 269-79.
12. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, et al. The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 1996 ; 86 : 973-83.
13. Rock FL, Hardiman G, Timans JC, et al. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 588-93.
14. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998 ; 282 : 2085-8.
15. Nagai Y, Akashi S, Nagafuku M, et al. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nat Immunol* 2002 ; 3 : 667-72.
16. Schwandner R, Dziarski R, Wesche H, et al. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by Toll-like receptor 2. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 17406-9.
17. Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* 1999 ; 11 : 443-51.
18. Travassos LH, Girardin SE, Philippot DJ, et al. Toll-like receptor 2-dependent bacterial sensing does not occur via peptidoglycan recognition. *EMBO Rep* 2004 ; 5 : 1000-6.
19. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 2001 ; 410 : 1099-103.
20. Jeannin P, Renno T, Goetsch L, et al. OmpA targets dendritic cells, induces their maturation and delivers antigen into the MHC class I presentation pathway. *Nat Immunol* 2000 ; 1 : 502-9.
21. Zhang D, Zhang G, Hayden MS, et al. A Toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science* 2004 ; 303 : 1522-6.
22. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000 ; 408 : 740-5.
23. Heil F, Hemmi H, Hochrein H, et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via Toll-like receptor 7 and 8. *Science* 2004 ; 303 : 1526-9.
24. Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* 2001 ; 413 : 732-8.
25. Barton GM, Kagan JC, Medzhitov R. Intracellular localization of Toll-like receptor 9 prevents recognition of self DNA but facilitates access to viral DNA. *Nat Immunol* 2006 ; 7 : 49-56.
26. Gantner BN, Simmons RM, Canavera SJ, et al. Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. *J Exp Med* 2003 ; 197 : 1107-17.
27. Jeannin P, Bottazzi B, Sironi M, et al. Complexity and complementarity of outer membrane protein A recognition by cellular and humoral innate immunity receptors. *Immunity* 2005 ; 22 : 551-60.
28. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004 ; 4 : 499-511.
29. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Kopp E, et al. MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL-1 receptor family signalling pathways. *Mol Cell* 1998 ; 2 : 253-8.
30. Jiang Z, Mak TW, Sen G, Li X. Toll-like receptor 3-mediated activation of NF-kappaB and IRF3 diverges at Toll-IL-1 receptor domain-containing adapter inducing IFN-beta. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 3533-8.
31. Moynagh PN. TLR signalling and activation of IRFs: revisiting old friends from the NF-kappaB pathway. *Trends Immunol* 2005 ; 26 : 469-76.
32. Banchereau J, Briere F, Caux C, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2000 ; 18 : 767-811.
33. Ito T, Wang YH, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cell precursors/type I interferon-producing cells sense viral infection by Toll-like receptor (TLR) 7 and TLR9. *Springer Semin Immunopathol* 2005 ; 26 : 221-9.
34. Chalifour A, Jeannin P, Gauchat JF, et al. Direct bacterial protein PAMP recognition by human NK cells involves TLRs and triggers alpha-defensin production. *Blood* 2004 ; 104 : 1778-83.
35. Sivori S, Falco M, Della Chiesa M, et al. CpG and double-stranded RNA trigger human NK cells by Toll-like receptors: induction of cytokine release and cytotoxicity against tumors and dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 10116-21.
36. Nagase H, Okugawa S, Ota Y, et al. Expression and function of Toll-like receptors in eosinophils: activation by Toll-like receptor 7 ligand. *J Immunol* 2003 ; 171 : 3977-82.
37. Nagai Y, Shimazu R, Ogata H, et al. Requirement for MD-1 in cell surface expression of RP105/CD180 and B-cell responsiveness to lipopolysaccharide. *Blood* 2002 ; 99 : 1699-705.
38. Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature* 2005 ; 438 : 364-8.
39. Ruprecht CR, Lanzavecchia A. Toll-like receptor stimulation as a third signal required for activation of human naive B cells. *Eur J Immunol* 2006 ; 36 : 810-6.
40. Komai-Koma M, Jones L, Ogg GS, Xu D, Liew FY. TLR2 is expressed on activated T cells as a costimulatory receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 3029-34.
41. Caron G, Duluc D, Fremaux I, et al. Direct stimulation of human T cells via TLR5 and TLR7/8: flagellin and R-848 up-regulate proliferation and IFN-gamma production by memory CD4+ T cells. *J Immunol* 2005 ; 175 : 1551-7.
42. Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2006 ; 6 : 295-307.
43. Caramalho I, Lopes-Carvalho T, Ostler D, et al. Regulatory T cells selectively express Toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med* 2003 ; 197 : 403-11.
44. Crellin NK, Garcia RV, Hadisfar O, et al. Human CD4+ T cells express TLR5 and its ligand flagellin enhances the suppressive capacity and expression of FOXP3 in CD4+CD25+ T regulatory cells. *J Immunol* 2005 ; 175 : 8051-9.
45. Liu H, Komai-Koma M, Xu D, et al. Toll-like receptor 2 signaling modulates the functions of CD4+ CD25+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 7048-53.
46. Yang Y, Huang CT, Huang X, et al. Persistent Toll-like receptor signals are required for reversal of regulatory T cell-mediated CD8 tolerance. *Nat Immunol* 2004 ; 5 : 508-15.
47. Abreu MT, Vora P, Faure E, et al. Decreased expression of Toll-like receptor-4 and MD-2 correlates with intestinal epithelial cell protection against dysregulated proinflammatory gene expression in response to bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol* 2001 ; 167 : 1609-16.
48. Horne MW, Frisan T, Vandewalle A, et al. Toll-like receptor 4 resides in the Golgi apparatus and colocalizes with internalized lipopolysaccharide in intestinal epithelial cells. *J Exp Med* 2002 ; 195 : 559-70.
49. Puel A, Yang K, Ku CL, et al. Heritable defects of the human TLR signalling pathways. *J Endotoxin Res* 2005 ; 11 : 220-4.
50. Means TK, Latz E, Hayashi F, et al. Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9. *J Clin Invest* 2005 ; 115 : 407-17.
51. Van Duin D, Medzhitov R, Shaw AC. Triggering TLR signaling in vaccination. *Trends Immunol* 2006 ; 27 : 49-55.

**TIRÉS À PART**  
Y. Delneste



## Ateliers de formation 2007

Renseignements et inscriptions :  
Ateliers de formation Inserm  
101, rue de Tolbiac  
75654 Paris Cedex 13  
Tél. : 33 (0)1 44 23 62 03 — Fax : 33 (0)1 44 23 62 93  
ateliers@tolbiac.inserm.fr

# Inserm



Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

## ■ Atelier de formation n° 176

### Modélisation des observations incomplètes : analyses de sensibilité

**Organisateurs :** Michel Chavance (Inserm U780, Villejuif), Hélène Jacqmin-Gadda (Inserm E338, Bordeaux),  
Geert Molenberghs (Center for Statistics, Hasselt University, Diepenbeek)

#### Phase I • Le point sur...

3-4 mai 2007 • La Londe-Les-Maures (Toulon)

**Objectifs** • L'observation incomplète des échantillons est la règle, plutôt que l'exception. Elle pose des problèmes de biais et de précision pour lesquels des solutions existent dans le cas favorable où le processus d'observation ne dépend que de quantités connues. La limite de ces méthodes vient de ce qu'il est impossible de déterminer si l'on se trouve dans ce cas favorable sans retrouver les valeurs manquantes pour un sous-échantillon représentatif. Les analyses de sensibilité les complètent en évaluant dans quelle mesure les conclusions de l'étude sont susceptibles d'être ou non modifiées par les hypothèses que l'on peut formuler sur le processus d'observation. L'Atelier devrait permettre aux participants de mieux comprendre les problèmes associés aux observations incomplètes ; savoir modéliser conjointement l'effet de variables explicatives sur une variable réponse et sur le processus d'observation de ces variables ; savoir interpréter les résultats d'une analyse de sensibilité.

**Public** • Biostatisticiens, doctorants et post-docs en biostatistique, chercheurs (biologistes, cliniciens, épidémiologistes...) possédant une bonne formation statistique et une solide expérience dans l'analyse de leurs données. Les exemples illustrant les conférences relèveront essentiellement du domaine biomédical, mais la problématique n'est pas limitée à ce domaine d'application.

Les conférences seront données en français et en anglais.

**Nombre maximum de participants :** 60.

**Programme** • – Modélisation des observations incomplètes : typologie des données incomplètes (données manquantes complètement au hasard, au hasard ou non au hasard). Survol des méthodes appliquées aux données manquantes au hasard (maximum de vraisemblance, imputation multiple, analyse pondérée).

– Analyse de sensibilité pour données transversales : modèles par mélange et modèles par sélection pour réponses binaires ou réponses normales.

– Analyse de sensibilité pour données longitudinales : modèles par mélange et modèles par sélection pour réponses binaires, réponses normales ou délais censurés.

– Sensibilité locale.

**Avec la participation de** • Jean-Marie Boher (Chilly-Mazarin, France), Stefen van Buuren (Leiden, Pays-Bas), Michel Chavance (Villejuif, France), John Copas (Conventry, Grande-Bretagne), Hélène Jacqmin-Gadda (Bordeaux, France), Mike Kenward (Londres, Grande-Bretagne), Pascal Minini (Chilly-Mazarin, France), Geert Molenberghs (Diepenbeek, Belgique), Myunghee Cho Paik (New York, Etats-Unis), Geert Verbeke (Louvain, Belgique).

#### Phase II • Maîtrise technique

14-16 mai 2007 • Villejuif

**Programme** • Cette partie sera consacrée à la mise en oeuvre informatique des méthodes : présentation et discussion de programmes (Splus, R, SAS...), analyse de données apportées par les participants.

**Sélection** • Une dizaine de candidats seront sélectionnés parmi les participants de la phase I pour mettre en oeuvre les techniques proposées, de préférence sur la base de leurs propres données.

---

**Date limite d'inscription :** 2 mars 2007