Rspo2 contrôle l'issue de l'infection par *C. rodentium* chez la souris

Olivier Papapietro, Samantha Gruenheid

Department of microbiology and immunology,
McGill University, Montréal, Québec,
H3A 2B4 Canada.

McGill Life Sciences Complex, Bellini Pavilion,
Room 365, 3649 Promenade Sir William Osler,
Montréal, QC, H3G 0B1 Canada.

olivier.papapietro@mail.mcgill.ca

samantha.gruenheid@mcgill.ca

> *Escherichia coli* entérotoxigène (EPEC) et *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) sont des entérobactéries liées par un mécanisme pathogénique commun. Responsables d'infections alimentaires accompagnées de diarrhées sévères, elles constituent un problème de santé publique important à l'échelle mondiale. EPEC et EHEC adhèrent aux entérocytes du tractus intestinal et injectent dans leurs cellules hôtes des protéines effectrices via un système de sécrétion de type III. Ces effecteurs ainsi transloqués induisent différentes réponses cellulaires ciblant notamment le cytosquelette et provoquent l'effacement des microvillosités (lésions d'attachement et d'effacement) [1].

Citrobacter rodentium, un modèle pour EPEC et EHEC

EPEC et EHEC sont des pathogènes spécifiques de l'homme et l'absence de modèle expérimental limite la compréhension des mécanismes régulant le processus infectieux. *Citrobacter rodentium* est une entérobactérie, pathogène naturel de la souris, qui partage avec EPEC et EHEC les facteurs de virulence nécessaires à l'établissement des lésions d'attachement et d'effacement, ainsi que la même stratégie infectieuse. Le fond génétique de l'hôte joue un rôle majeur dans l'issue de l'infection par *C. rodentium*. En effet, celle-ci peut conduire au développement d'une colite modérée et limitée dans le temps chez des souches résistantes (B6, Balbc, 129S1) ou, à l'inverse, provoquer le développement de diarrhées fatales chez des souches sensibles (C3Ou, FVB, AKR) [2-4]. Ces différences de sus-

ceptibilité font de la souris un modèle de choix pour étudier les facteurs génétiques contrôlant l'issue de l'infection, et pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pour lutter contre EPEC et EHEC.

Rspo2 contrôle la susceptibilité des souris à l'infection par *C. rodentium*

Une étude de liaison, réalisée sur des souris hybrides de deuxième génération issues du croisement entre la souche résistante B6 et la souche sensible C3Ou, a permis l'identification d'un locus majeur sur le chromosome 15 (locus *Cri1*) contrôlant la résistance à l'infection par *C. rodentium* [3]. Des lignées congéniques, de fond génétique C3Ou chez lesquelles différentes régions du chromosome 15 d'origine B6 (résistant) ont été introduites, ont permis de valider l'implication de *Cri1* puis d'affiner la localisation du locus dans un intervalle réduit [3, 5]. Après un travail de séquençage et d'analyse de l'expression des gènes candidats, nous avons identifié le gène *Rspo2* comme étant spécifiquement induit au cours de l'infection chez les souris sensibles, mais pas chez les souris résistantes [5].

Rspo2 est un membre de la famille de gènes codant pour les protéines R-spondines (RSPO1-4). Ces protéines, de structures très conservées, sont des molécules sécrétées, initialement décrites chez la souris comme des facteurs de croissance pour l'épithélium intestinal. Des travaux récents ont permis de préciser les mécanismes d'action ainsi que les fonctions normales et pathologiques des protéines R-spondines, dans les processus de pro-

lifération, de différenciation, de survie et de polarisation cellulaires dans de nombreux tissus et au cours de développement [6]. Les protéines RSPO sont des activateurs de la voie canonique Wnt/ β -caténine (Figure 1). Dans l'intestin, les R-spondines ont été impliquées comme facteurs de survie pour les cellules souches épithéliales [7] et des événements de fusion génétique, entraînant l'expression non régulée de RSPO2 et RSPO3, ont été identifiés dans 10 % des cancers colorectaux chez l'homme [8].

Rspo2 contrôle la différenciation fonctionnelle de l'épithélium intestinal

Nous avons caractérisé l'implication fonctionnelle de *Rspo2* dans la susceptibilité à l'infection par *C. rodentium*. Dans le côlon des souris sensibles, *Rspo2* est induit rapidement au cours de l'infection, et son expression augmente de façon continue jusqu'à la mort des animaux. *Rspo2* est induit dans la muqueuse de la *lamina propria*. En accord avec sa nature de protéine sécrétée, l'expression de *Rspo2* dans la muqueuse est associée à une activation massive de la voie canonique Wnt/ β -caténine dans les cellules des cryptes et de l'épithélium intestinal. Cette activation s'accompagne d'une forte réponse proliférative. À l'inverse, chez les animaux résistants, en l'absence d'expression de *Rspo2*, la voie Wnt/ β -caténine n'est pas suractivée et la prolifération épithéliale est limitée.

Une fine régulation de la voie canonique Wnt/ β -caténine permet le fonctionnement normal de l'intestin [9]. Elle per-

Figure 1. Représentation schématisée de la voie d'activation Wnt/ β -caténine. En l'absence de Wnt ou de Rspo2 (**A**), la forme cytoplasmique de la β -caténine est séquestrée dans un complexe de dégradation composé de l'axine, APC et des kinases GSK3 et CK1. La β -caténine phosphorylée par GSK3 et CK1 va être ubiquitinée et dégradée par le protéasome. En présence de Wnt et/ou de Rspo2 (**B**), le complexe de destruction est recruté à la membrane par le récepteur Frizzled/LRP5/6 permettant l'accumulation cytoplasmique de β -caténine et sa translocation dans le noyau, où, en synergie avec le facteur de transcription TCF, elle va induire l'expression des gènes de réponses de la voie Wnt. APC : *adenomatous polyposis coli* ; GSK3 : *glycogen synthase kinase 3* ; TCF : *T-cell factor*.

met la survie des cellules souches épithéliales et la génération de précurseurs indifférenciés qui migrent de la base des cryptes vers l'épithélium intestinal, mais doit en revanche être strictement inhibée pour permettre la différenciation des précurseurs en entérocytes matures et cellules sécrétoires différenciées [10]. L'activation constitutive de cette cascade induit la génération d'un épithélium non différencié et caractérise la première étape de cancer du côlon [11]. Cependant l'implication de *Rspo2* dans l'issue de l'infection par *C. rodentium* démontre un rôle inattendu de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine dans le développement de diarrhées infectieuses.

Nous avons étudié l'impact de l'activation par *Rspo2* de la voie Wnt/ β -caténine sur la fonctionnalité de l'épithélium intestinal. Deux marqueurs des entérocytes matures ont été particulièrement caractérisés : Slc26a3 et Car4. Ces deux protéines fonctionnent en synergie pour la production et l'export du bicarbonate et l'import de Cl^- . Slc26a3 joue un rôle majeur dans l'absorption de sel et d'eau dans le côlon, et des mutations dans ce gène provoquent des diarrhées fatales chez l'homme comme chez la souris. L'expression de ces deux marqueurs est limitée aux entérocytes matures et, de façon importante, la perte d'expression de Slc26a3 et Car4 par l'épithélium du côlon a été associée à une susceptibilité

à l'infection par *C. rodentium* [2]. Nous avons montré que l'expression de *Rspo2* chez les souris susceptibles induit l'expansion de précurseurs indifférenciés et la perte d'expression de Slc26a3 et Car4 par l'épithélium intestinal, par un mécanisme dépendant de la voie canonique Wnt/ β -caténine. L'inhibition de cette cascade permet de limiter ces événements de dédifférenciation fonctionnelle de l'épithélium et de protéger les animaux, avec une réduction de la mortalité suite à l'infection par *C. rodentium*.

Conclusion

La caractérisation du locus *Cri1* a permis d'identifier le gène *Rspo2* comme un régulateur essentiel de la susceptibilité

Figure 2. Un modèle de susceptibilité à l'infection par *C. rodentium*.

à l'infection par *C. rodentium* et d'illustrer un mécanisme inattendu dans l'étiologie des diarrhées infectieuses chez la souris. Notre travail permet de proposer un modèle (Figure 2) dans lequel l'activation de la voie Wnt/ β -caténine par *Rspo2* induit l'expansion de précurseurs indifférenciés et l'inhibition

de la différenciation des entérocytes matures. Ces événements conduisent *in fine* à la génération d'un épithélium peu différencié exprimant des défauts critiques pour l'absorption de sel et d'eau, et au développement de diarrhées. **Rspo2 controls *C. rodentium* infection outcome in mice**

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Croxen MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 2010 ; 8 : 26-38.
2. Borenstein D, Fry RC, Groff EB, et al. Diarrhea as a cause of mortality in a mouse model of infectious colitis. *Genome Biol* 2008 ; 9 : R122.
3. Diez E, Zhu L, Teatero SA, et al. Identification and characterization of *Cri1*, a locus controlling mortality during *Citrobacter rodentium* infection in mice. *Genes Immun* 2011 ; 12 : 280-90.
4. Vallance BA, Deng W, Jacobson K, Finlay BB. Host susceptibility to the attaching and effacing bacterial pathogen *Citrobacter rodentium*. *Infect Immun* 2003 ; 71 : 3443-53.
5. Papapietro O, Teatero S, Thanabalasuriya A, et al. R-spondin2 signalling mediates susceptibility to fatal infectious diarrhoea. *Nat Commun* 2013 ; 4 : 1898.
6. Jin YR, Yoon JK. The R-spondin family of proteins: emerging regulators of WNT signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 2012 ; 44 : 2278-87.
7. de Lau W, Barker N, Low TY, et al. Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling. *Nature* 2011 ; 476 : 293-7.
8. Seshagiri S, Stawiski EW, Durinck S, et al. Recurrent R-spondin fusions in colon cancer. *Nature* 2012 ; 488 : 660-4.
9. Andreu P, Perret C, Romagnolo B. Wnt et cellules souches intestinales : des liaisons dangereuses. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 693-5.
10. van de Wetering M, Sancho E, Verweij C, et al. The beta-catenin/TCF-4 complex imposes a crypt progenitor phenotype on colorectal cancer cells. *Cell* 2002 ; 111 : 241-50.
11. Bienz M, Clevers H. Linking colorectal cancer to Wnt signaling. *Cell* 2000 ; 103 : 311-20.

Bon de commande

À retourner à EDK, 25, rue Daviel - 75013 Paris
Tél : 01 58 10 19 05 - Fax : 01 43 29 32 62 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **L'imagerie dans la prise en charge des cancers des voies aérodigestives supérieures** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

☐ Par chèque, à l'ordre de **EDK**

☐ Par carte bancaire : ☐ Visa ☐ Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |