

Un nouveau mécanisme de détection des infections par le système immunitaire inné des animaux

Dominique Ferrandon, Marie Gottar, Vanessa Gobert

Équipe labellisée, Fondation Recherche Médicale, UPR 9022 CNRS, 15, rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France.

d.ferrandon@ibmc.u-strasbg.fr

M. Gottar : Novartis Institutes for Biomedical Research, Autoimmunity and Transplantation, Postfach, CH-4002 Bâle, Suisse.

V. Gobert : UMR 5547 CNRS et Université Paul Sabatier, Bâtiment 4R3b3, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse, France.



> La détection des infections est une étape primordiale de la réponse immunitaire. Longtemps considérés comme l'apanage de la réponse adaptative, les phénomènes de reconnaissance du « non-soi potentiellement pathogène » sont apparus, à la lumière des travaux de ces quinze dernières années, comme étant une propriété fondamentale de l'immunité innée [1]. La reconnaissance des micro-organismes se fait par l'intermédiaire d'une catégorie de récepteurs, les *patterns recognitions receptors* (PRR), qui ont été sélectionnés au cours de l'évolution en raison de leur capacité à reconnaître des composés d'origine microbienne relativement invariants, car essentiels au mode de vie des microorganismes. Il s'agit par exemple des constituants de leur paroi comme le lipopolysaccharide (LPS) des bactéries à Gram-négatif, les peptidoglycanes bactériens, ou les β -glucanes des champignons. Les plus célèbres PRR des vertébrés appartiennent à la famille des Toll-like receptors (TLR), par exemple TLR4 qui est requis pour l'activation de la réponse immunitaire par le LPS.

Le système immunitaire inné de la drosophile

Comme c'est le cas pour l'immense majorité des êtres vivants, la réponse immunitaire de la mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster* repose exclusivement sur l'immunité innée [2]. Il est vraisemblable que le dernier ancêtre commun à la drosophile et l'homme vivait déjà, il y a près de 750 millions d'années, dans un milieu dominé par les microbes, et à ce titre devait être capable de se défendre contre

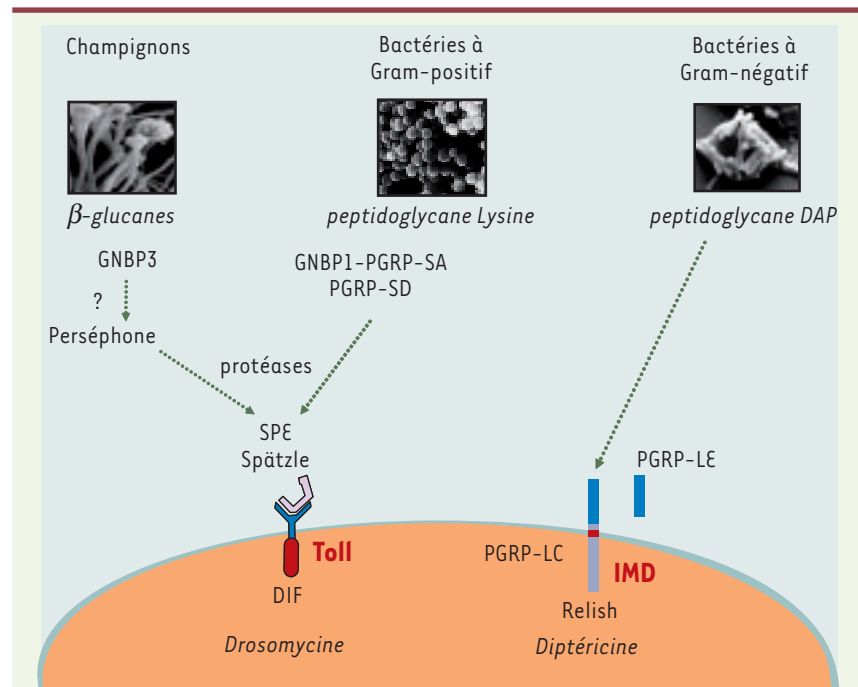


Figure 1. Reconnaissance des infections microbiennes par les récepteurs de type PRR. Le peptidoglycane est un composé de la paroi des bactéries qui se décline en de nombreuses variétés. Il s'agit de chaînes sucrées reliées entre elles par des ponts peptidiques. L'identité du troisième acide aminé de ces ponts, généralement une lysine ou l'acide diaminopimélique (DAP) est un déterminant structural reconnu par les récepteurs PGRP chez les invertébrés, et les récepteurs intracellulaires de la famille NOD chez les mammifères. La reconnaissance du peptidoglycane des bactéries à Gram-négatif (et de certaines bactéries à Gram-positif contenant le même type de peptidoglycane) se fait essentiellement par l'intermédiaire du récepteur membranaire PGRP-LC au niveau de la cellule du corps gras, la protéine sécrétée PGRP-LE augmentant l'affinité pour des petits fragments de peptidoglycane. L'activation de ce récepteur déclenche la signalisation intracellulaire IMD qui aboutit à la translocation nucléaire de Relish, un facteur de transcription de la famille NF- κ B. L'activation de Spätzle, ligand du récepteur Toll, se fait par l'intermédiaire de cascades protéolytiques suite à la reconnaissance de glucanes des champignons ou de peptidoglycane de type lysine. Le mutant *Perséphone* est sensible aux infections par des champignons entomopathogènes et résistant vis-à-vis des infections bactériennes alors que les mutants *GNBP1* ou *PGRP-SA* présentent un phénotype complémentaire de susceptibilité à certaines infections bactériennes à Gram (+) et de résistance aux infections fongiques. La *spätzle processing enzyme* (SPE) est le point de convergence de ces cascades protéolytiques. La localisation nucléaire du facteur de transcription DIF est régulée par la voie Toll et aboutit à l'expression de la *Drosomycine* et de nombreux autres gènes.

les infections. Cette origine ancestrale du système immunitaire inné se retrouve dans le rôle essentiel et conservé que jouent dans la réponse immunitaire les voies de transduction intracellulaire de type NF- κ B, chez la drosophile comme chez l'homme. Chez l'insecte, les deux voies IMD (*immune deficiency*) et Toll assurent d'une part la défense humorale contre les bactéries à Gram (-), et d'autre part celle contre les infections fongiques ou contre certains germes à Gram (+). Ces voies agissent essentiellement dans le corps gras, équivalent fonctionnel du foie, et contrôlent l'expression de centaines de gènes. L'activation de l'une ou l'autre de ces voies aboutit ainsi à la production de peptides antimicrobiens sécrétés dans l'hémolymphe (sang) des mouches.

Ainsi, la production de la Drosomycine, un puissant peptide antifongique, dépend de l'activation de la voie Toll tandis que celle de la Diptéricine, un peptide antibactérien, est sous le contrôle de la voie IMD.

En réponse à une blessure septique, la voie de défense appropriée est activée selon la nature de l'agresseur microbien [2]. Comment la drosophile est-elle capable de discriminer entre les différentes classes de microorganismes ? En ce qui concerne la distinction entre bactéries à Gram (+) et Gram (-), il s'est avéré que des protéines de la famille des PGRP (*peptidoglycan recognition proteins*) jouent un rôle fondamental de PRR dans l'activation de la réponse immunitaire systémique. Tandis que PGRP-LC et PGRP-LE reconnaissent préférentiellement un type de peptidoglycane contenant

l'acide diaminopimélique, présent dans les bactéries à Gram (-) et certaines souches à Gram (+), PGRP-SA et, dans une moindre mesure, PGRP-SD sont requis pour la détection du peptidoglycane de type lysine, présent chez de nombreuses bactéries pathogènes à Gram (+) [3-6] (Figure 1).

Alors que PGRP-LC est le récepteur membranaire de la voie IMD, Toll est le récepteur membranaire de la voie qui porte son nom et à l'origine de la dénomination TLR pour les vertébrés. Toll lui-même n'est cependant pas un PRR, mais un récepteur activé par une cytokine de la famille du NGF (*nerve growth factor*), Spätzle. La cytokine proSpätzle ne devient un ligand actif de Toll qu'à la suite d'une étape protéolytique de maturation qui est l'aboutissement de l'activation de cascades de protéases, dont l'une est activée par un complexe PGRP-SA/GNBPI/peptidoglycane de type lysine circulant dans l'hémolymphe de l'insecte [7]. La reconnaissance de ces bactéries s'effectue donc en amont du récepteur Toll qui est activé de manière indirecte. GNBPI est un membre divergent d'une autre famille de PRR, les *Gram negative binding proteins*/βGlucan recognition proteins, caractérisée par la présence de deux domaines d'interaction avec les β(1,3)glucanes. GNBPI permettrait de présenter le peptidoglycane à PGRP-SA et aussi d'activer la cascade de protéases.

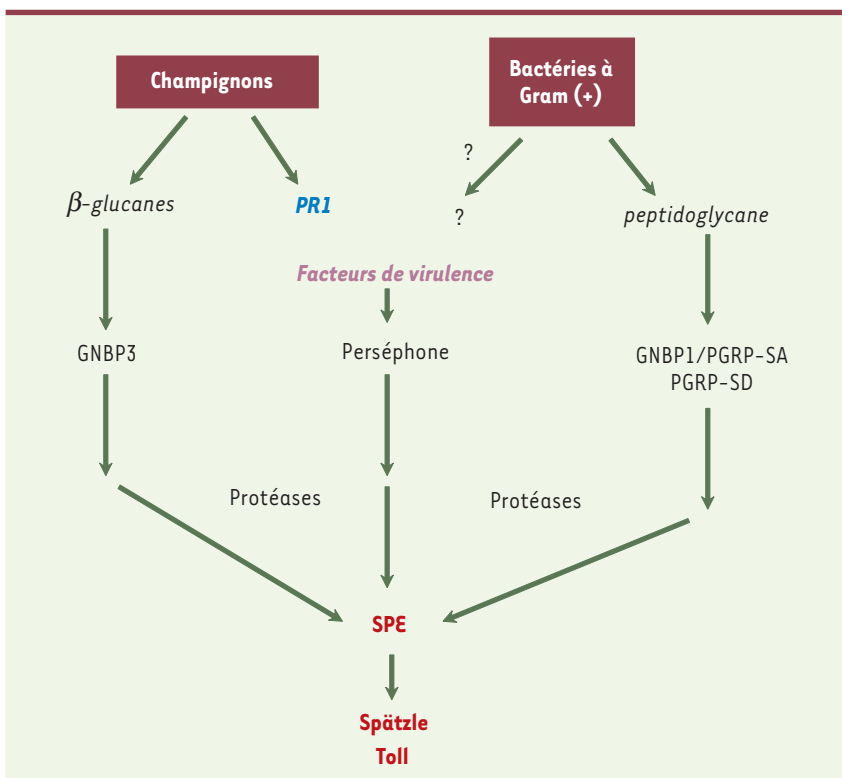


Figure 2. Reconnaissance des infections microbiennes par un système basal de PRR et de détection de l'activité de facteurs de virulence. Le système de récepteurs de type PRR constitue un système de détection basal capable de détecter la majorité des infections microbiennes. Cependant, certains pathogènes semblent capables de contourner ce système de détection, mais sont néanmoins reconnus par l'intermédiaire des facteurs de virulence qu'ils emploient pour pénétrer dans l'hôte (cas de la protéase PR1 des champignons entomopathogènes) ou pour neutraliser la réponse immunitaire basale de l'hôte (cas des plantes). À ce stade, une reconnaissance des facteurs de virulence ou protéases émis par les bactéries, par l'intermédiaire de la voie Perséphone ou par d'autres canaux, reste hypothétique.

Réponses de la drosophile aux entomopathogènes

L'activation de la voie Toll par un champignon entomopathogène, *Beauveria bassiana*¹, requiert une cascade protéolytique distincte dont la protéase Perséphone est l'un des éléments [8]. Nous avons tenté de déterminer l'identité du PRR activant cette cascade Perséphone. Parce qu'il est le membre de la famille le mieux conservé chez les insectes, GNBPI3 était un bon candidat pour un PRR des champignons. Effectivement, une fois une mutation du

¹ *Beauveria bassiana* est un champignon entomopathogène qui vit vraisemblablement en symbiose avec certaines plantes et assure leur protection contre les attaques par les insectes. Certaines variétés de *B. bassiana* sont capables de tuer des insectes très divers. Leur utilisation est envisagée dans la lutte contre l'anophèle, moustique vecteur du paludisme.



gène correspondant obtenue, nous avons observé que le mutant *GNBP3* succombait aux infections par une levure pathogène des humains, *Candida albicans* et que la voie Toll n'était pas activée par cette levure (absence d'induction de la Drosomycine) [9]. Nous avons alors établi que la protéine *GNBP3* recombinante était capable de se lier directement aux levures et aux $\beta(1,3)$ glucanes. La surexpression du gène entraînait l'activation de la voie Toll en l'absence d'infection et nécessitait Spätzle. Ces expériences indiquaient que *GNBP3* est effectivement un PRR des champignons. Si Perséphone fonctionne en aval de *GNBP3*, nous nous attendions à ce que ces deux mutants partagent le même phénotype. À notre grande surprise, nous avons trouvé que Perséphone n'intervient pas dans la défense contre *C. albicans* et n'est pas nécessaire à l'activation de la voie Toll par le pathogène. De plus, contrairement à Perséphone, *GNBP3* n'est pas requis pour l'activation de la voie Toll par *B. bassiana*. Notre analyse phénotypique suggérait donc l'existence de deux voies complémentaires d'activation de la voie Toll par les champignons (Figure 2). Nous avons déterminé que *GNBP3* est requis pour la reconnaissance des composés de la paroi des champignons tandis que l'activation de Perséphone nécessite des champignons vivants. Ce dernier résultat nous a amené à nous intéresser aux facteurs de virulence des champignons entomopathogènes.

Un autre mode de détection des infections

Alors que l'introduction de *C. albicans* dans la mouche nécessite une blessure expéri-

mentale, la contamination par *B. bassiana* requiert simplement de saupoudrer les mouches de spores. Celles-ci germent à la surface de la cuticule, différencient une structure spécialisée, l'*appressorium*, qui sécrète des facteurs de virulence, chitinases et protéases, dont la protéase PR1, qui vont digérer la cuticule. Le champignon passe alors par le trou microscopique (1/10 de la taille de la spore) ainsi formé dans la carapace de l'insecte. Nous avons utilisé un transgène, généré au laboratoire par le Pr J.M. Reichhart, qui permet d'exprimer chez la drosophile la protéase PR1. Cette expression ectopique active la voie Toll en l'absence d'infection et fait intervenir Perséphone et non *GNBP3*. La conversion du zymogène de Perséphone en protéase active nécessite le clivage de son prodomaine. Nous avons déterminé que le clivage de Perséphone immunoprécipité de l'hémolymphe de mouches non infectées est assuré directement par la protéase PR1 purifiée, démontrant ainsi qu'une cascade de protéases permettant l'activation de la voie Toll peut-être directement activée par un facteur de virulence microbien, Perséphone remplissant alors le rôle d'appât pour les protéases fongiques [9].


Il est vraisemblable que ce système double de reconnaissance des infections fongiques a été sélectionné par l'hôte en réponse à la capacité de certains champignons, tels *B. bassiana*, à éviter la détection par le système basé sur les PRR, en l'occurrence *GNBP3*. Ce phénomène présente des ressemblances frappantes avec le mode de détection des infections chez les plantes où coexistent un système basal de reconnaissance des microorganismes par les PRR

et un système de détection de l'activité des facteurs de virulence ciblant ce système basal de PRR. Des recherches futures permettront de déterminer si un tel système de détection de l'activité des facteurs de virulence existe aussi chez les vertébrés. L'activation de la voie NF- κ B par une protéase de *Serratia marcescens* via le récepteur PAR2 (*protease activated receptor*) est un phénomène en faveur d'une telle hypothèse [10]. ♦

The innate immune system of animals detects microbial infections by a newly identified sensing mechanism

RÉFÉRENCES

1. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science* 2002 ; 296 : 298-300.
2. Lemaitre B, Hoffmann J. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu Rev Immunol* 2007 (sous presse).
3. Michel T, Reichhart J, Hoffmann JA, Royet J. *Drosophila* Toll is activated by Gram-positive bacteria through a circulating peptidoglycan recognition protein. *Nature* 2001 ; 414 : 756-9.
4. Gottar M, Gobert V, Michel T, et al. The *Drosophila* immune response against Gram-negative bacteria is mediated by a peptidoglycan recognition protein. *Nature* 2002 ; 416 : 640-4.
5. Bischoff V, Vignal C, Boneca IG, et al. Function of the *drosophila* pattern-recognition receptor PGRP-SD in the detection of Gram-positive bacteria. *Nat Immunol* 2004 ; 5 : 1175-80.
6. Kaneko T, Yano T, Aggarwal K, et al. PGRP-LC and PGRP-LE have essential yet distinct functions in the *drosophila* immune response to monomeric DAP-type peptidoglycan. *Nat Immunol* 2006 ; 7 : 715-23.
7. Gobert V, Gottar M, Matskevich A, et al. Dual activation of the *Drosophila* Toll pathway by two pattern recognition receptors. *Science* 2003 ; 302 : 2126-30.
8. Ligoxygakis P, Pelte N, Hoffmann JA, Reichhart JM. Activation of *Drosophila* Toll during fungal infection by a blood serine protease. *Science* 2002 ; 297 : 114-6.
9. Gottar M, Gobert V, Matskevich AA, et al. Dual detection of fungal infections in *Drosophila* via recognition of glucans and sensing of virulence factors. *Cell* 2006 ; 127 : 1425-37.
10. Kida Y, Inoue H, Shimizu T, Kuwano K. *Serratia marcescens* serrallysin induces inflammatory responses through protease-activated receptor 2. *Infect Immun* 2007 ; 75 : 164-74.




Tarifs d'abonnement M/S - 2007

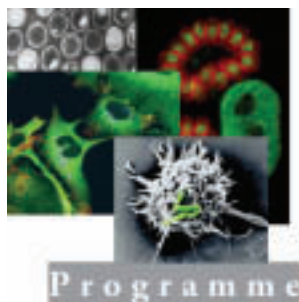
Abonnez-vous

à Médecine/Sciences

> Depuis 20 ans, grâce à m/s, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 678 dans ce numéro de m/s





XXIV^e JOURNÉE JEAN-CLAUDE DREYFUS
HOST-PATHOGEN RELATIONSHIPS
RELATIONS HÔTES-PATHOGENES
VENDREDI 21 SEPTEMBRE 2007

Ampithéâtre J.P. Lussan, Faculté de Médecine R. Descartes, 24 rue du Faubourg St Jacques, 75014, Paris

8h45 Ouverture par Axel Kahn, Directeur de l'Institut Cochin/IFR Alfred Jost

1^{re} SESSION : **BIOLOGIE CELLULAIRE DE L'INFECTION VIRALE – CELL BIOLOGY OF VIRAL INFECTION**

Modérateurs : Stéphane EMILIANI, Florence MARGOTTIN-GOGUET (Institut Cochin, Paris) France

Jean-Luc BATTINI, Institut de Génétique Moléculaire, Montpellier (France)

The glucose transporter GLUT1, a specific receptor for all human HTLV and STLV. Le transporteur de glucose GLUT1, un récepteur spécifique de tous les rétrovirus HTLV et STLV.

Mouaf BENKIRANE, Institut de Génétique Humaine, Montpellier (France)

Interplay between HIV-1 replication and microRNA machinery. Interaction entre la réplication de VIH-1 et la machinerie des micro-ARN.

Clarisse BERLIOZ-TORRENT, Institut Cochin, Paris, France

TIP 47, a cellular factor involved in HIV-1 envelope incorporation into virions. TIP 47, un co-facteur cellulaire important pour l'incorporation de l'enveloppe VIH-1 dans les virions.

Pause-Café (Coffee-break)

2^{me} SESSION : **L'IMAGERIE MODERNE AU SERVICE DE L'ETUDE DES INTERACTIONS PARASITE-HÔTE. NEW IMAGING TOOLS TO APPROACH PARASITE-HOST INTERACTIONS**

Modérateurs : Robert MENARD (Institut Pasteur, Paris) France, Isabelle TARDIEUX (Institut Cochin, Paris) France.

Antonio BARRAGAN, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

Migration of *Toxoplasma acrois* biological barriers during acute and reactivated infection – Traversée des barrières cellulaires par *Toxoplasma* au cours des phases aiguë et chronique de l'infection.

Philippe BASTIN, Institut Pasteur, Paris, France

The Flagellum: a key organelle in trypanosome cell and life cycle – Le Flagelle : un organe essentiel au cycle cellulaire du trypanosome.

Robert MENARD, Institut Pasteur, Paris, France

Imaging the malaria parasite in action – Imagerie du parasite du paludisme en pleine action.

Yasmine BELKAID, National Institute of Health (NIH), Bethesda, (USA)

Origins and roles of Treg during parasite infection – Rôles et origines des Treg au cours des infections parasitaires.

13h15-14h45 Buffet (lunch) et intermède musical

3^{me} SESSION : **REPONSE DE L'HÔTE A L'INFECTION MICROBIENNE. CELL RESPONSE TO BACTERIAL INFECTION**

Modérateurs : Claire POYART, Florence NIEDERGANG (Institut Cochin, Paris) France

Stéphane MERESSE, Centre d'Immunologie, Marseille-Luminy (France)

The type III effector repertoire of *Salmonella* and its role in virulence – Le répertoire des effecteurs du système de type III de *Salmonella* et son rôle dans la virulence.

Guy CORNELIS, Biocentrum des Universität Basel, Basel, (Switzerland)

The *Yersinia injectisome* – L'injectisome de *Yersinia*.

Brigitte GICQUEL, Institut Pasteur, Paris, France

The role of bacterial and host factors in tuberculosis – Rôle des facteurs de l'hôte et des bacilles dans l'infection tuberculeuse.

Pause-Café (Coffee-break)

4^{me} SESSION : **REPONSE IMMUNITAIRE A L'INFECTION VIRALE. IMMUNE RESPONSE TO VIRAL INFECTION**

Modérateurs : Anne HOSMALIN, Morgane BOMSEL (Institut Cochin, Paris) France

Barbara REHERMANN, National Institute of Health (NIH), Bethesda (USA)

Diverse KIR molecules affect the kinetics of the antiviral natural killer cell response. Des molécules KIR différentes affectent la cinétique de la réponse anti-virale naturel Killer

Rafick SEKALY, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CANADA)

T Cell Memory: loss or dysfunction – Mémoire T : perte ou dysfonction

Michaela MÜLLER-TRUTWIN, Institut Pasteur, Paris, France

Comparison of pathogenic and non-pathogenic SIV infection models: impact of early host-virus interactions. Comparaison des modèles d'infections pathogène et non pathogène SIV : impact des interactions précoces entre le virus et l'hôte.

Anne HOSMALIN, Institut Cochin, Paris, France

Role of different dendritic cell populations in HIV antigen presentation to CD8 T lymphocytes – Rôle des différentes populations de cellules dendritiques dans la présentation du VIH aux lymphocytes T CD8⁺.

19h00 – Conclusions

APEMM CONGRES, Institut COCHIN, 22, rue Méchain – 75014 PARIS Tél 01 40 51 64 57 – e-mail charli@cochin.inserm.fr

Inscriptions sur demande : 55 (avant le 30 août) – Paiement par chèque au nom de APEMM Gestion (Association loi 1901)