



> Cette année encore, dans le cadre du module d'enseignement « Physiopathologie de la signalisation » proposé par l'université Paris-sud, les étudiants du Master « Biologie Santé » de l'université Paris-Saclay se sont confrontés à l'écriture scientifique. Ils ont sélectionné 12 articles scientifiques récents dans le domaine de la signalisation cellulaire présentant des résultats originaux, via des approches expérimentales variées, sur des thèmes allant des interactions hôte-pathogène au métabolisme en passant par la compétition cellulaire et le microbiote. Après un travail préparatoire réalisé avec l'équipe pédagogique, les étudiants organisés en binômes/trinômes ont ensuite rédigé, guidés par des chercheurs, une Nouvelle soulignant les résultats majeurs et l'originalité de l'article étudié. Ils ont beaucoup apprécié cette initiation à l'écriture d'articles scientifiques et, comme vous pourrez le lire, se sont investis dans ce travail avec enthousiasme ! <

Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales (7)

L'actualité scientifique vue par les étudiants du Master Biologie Santé, module physiopathologie de la signalisation, Université Paris-Saclay

université PARIS-SACLAY	SCHOOL	MASTER
	BIOLOGIE, MÉDECINE, PHARMACIE	Biologie Santé

Équipe pédagogique

Karim Benihoud (professeur, université Paris-Sud)
 Sophie Dupré (maître de conférences, université Paris-Sud)
 Olivier Guittet (maître de conférences, université Paris-Sud)
 Boris Julien (maître de conférences, université Paris-Sud)
 Hervé Le Stunff (professeur, université Paris-Sud)
 Philippe Robin (maître de conférences, université Paris-Sud)
karim.benihoud@u-psud.fr

Série coordonnée par Laure Coulombel.

NOUVELLE

Contrôle de la virulence de *Salmonella enterica* par la machinerie de biogenèse des centres Fe-S

Alexis Carreaux^{1*}, Ségolène de Champs de Saint-Leger^{1*}, Yousra Kouidri^{1*}, Marie-Pierre Golinelli-Cohen²

¹ M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France ;

² Institut de chimie des substances naturelles, CNRS UPR2301, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

alexisbiotechnologie@gmail.com

segolene.de-champs-de-saint-leger@u-psud.fr

yousra.kouidri@u-psud.fr

marie-pierre.golinelli@cnrs.fr

* Ces trois auteurs ont de façon égale participé au travail

> La salmonellose, maladie infectieuse intestinale pouvant évoluer vers une septicémie ou une méningite, est causée par les entérobactéries de type *Salmonella* dont *S. enterica* serovar Typhimurium. Ces bactéries représentent encore aujourd'hui la princi-

pale cause d'intoxication alimentaire. Le cycle infectieux de *S. enterica* serovar Typhimurium débute par l'invasion des cellules épithéliales intestinales. Celle-ci nécessite l'activation de Spi1 (*Salmonella pathogenicity island 1*), un système de sécrétion de type III (TTSS ou *type three secretion system*) (voir Encadré) très finement régulé en réponse à des variations de signaux environnementaux [1, 2]. Chez les bactéries comme

dans tous les organismes, les protéines Fe-S sont impliquées dans de nombreuses voies essentielles, et l'assemblage de ces centres métalliques fait intervenir deux voies de biogenèse, ISC (*iron-sulfur cluster*) et SUF (*sulfur assimilation*). Cette dernière est activée uniquement en condition de stress [3] (→).

(→) Pour une revue sur les centres Fe-S, voir la Synthèse de B. Py et F. Barras, *m/s* n° 12, décembre 2014, page 1110

Cette Nouvelle fait partie d'une série de 12 Nouvelles rédigées par les étudiants du Master « Biologie Santé » de l'université Paris-Saclay, qui paraîtront dans les numéros 6-7, 8-9 et 10 (2017) de *médecine/sciences*.

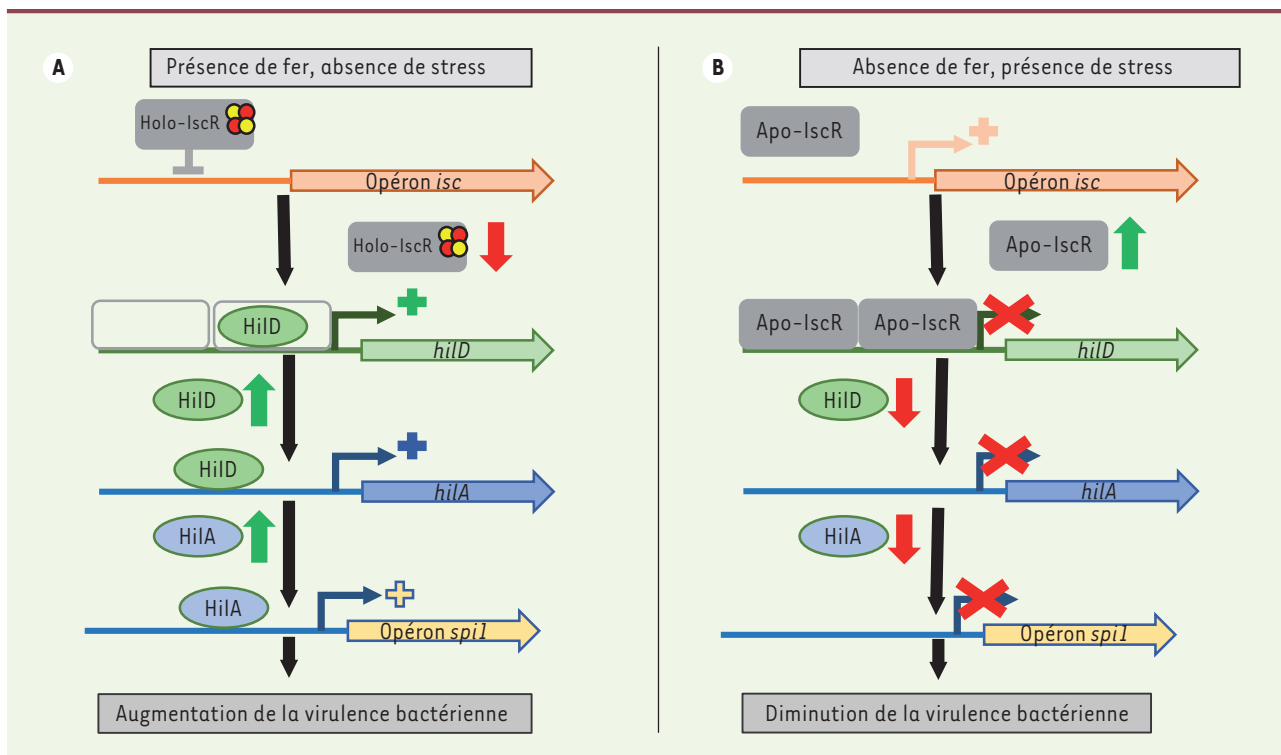


Figure 1. Mécanisme moléculaire de la régulation de la virulence bactérienne de *S. enterica* par *IscR*, un senseur de Fe-S. **A.** En présence de fer et absence de stress, *IscR* possède un centre Fe-S (holo-*IscR*). Il réprime alors l'expression de l'opéron *isc*, ce qui diminue la concentration en *IscR*. Ainsi, *HiID* peut se fixer sur son propre promoteur et réguler positivement l'expression. La concentration en *HiID* augmente, ce qui va réguler positivement l'expression de *HiIA* et donc de *SpiI*. Il en résulte une hausse de la virulence bactérienne. **B.** Inversement, en absence de fer ou en présence d'un stress oxydatif, *IscR* perd son centre Fe-S (apo-*IscR*). Cette forme ne réprime pas l'opéron *isc*, la concentration en *IscR* augmente alors. Apo-*IscR* se fixe sur le promoteur d'*hiID* et en réprime l'expression. Par conséquent, la quantité en *HiID* diminue et les synthèses d'*HiIA* et donc de *SpiI* ne sont plus activées. La virulence bactérienne diminue alors.

Les centres Fe-S sont typiquement sensibles au stress oxydatif ainsi qu'à une carence en fer, conditions retrouvées notamment lors de l'infection de l'hôte par un organisme pathogène comme *S. enterica*. Or, depuis quelques années, beaucoup d'arguments plaident en faveur d'une implication des voies ISC et SUF dans la virulence de nombreuses bactéries, dont *S. enterica* [4]. Ainsi, récemment, Vergnes *et al.*, une équipe française, ont clairement démontré un nouveau mécanisme moléculaire impliquant la protéine iron-sulfur cluster regulator (*IscR*), senseur de centre Fe-S [5].

La machinerie ISC est un régulateur majeur du facteur de virulence *SpiI* chez *S. enterica*

Dans un premier temps, les auteurs ont évalué la contribution respective des

Le système de sécrétion de type III (TTSS) *SpiI*

Ce système fonctionne comme une aiguille moléculaire qui permet d'injecter des protéines effectrices dans la cellule cible infectée. *HiIA*, *HiIC*, *HiID* et *RtsA* sont les principaux régulateurs du système. *HiIA* est un membre de la famille des régulateurs transcriptionnels OmpR/ToxR ; ces molécules activent l'expression des gènes structuraux et des effecteurs de *SpiI*, qui semble être directement dépendante du niveau d'expression de *HiIA*. Trois protéines homologues, *RtsA*, *HiIC* and *HiID*, qui appartiennent à la famille des régulateurs transcriptionnels AraC/XyIS, se lient au locus en amont de *hiIA* et en stimulent l'expression. Selon le modèle actuellement admis, *HiID* est le principal responsable du contrôle de l'expression du système car son expression va activer la transcription de *HiIC* et *RtsA*, qui s'autorégulent et se régulent aussi entre eux. Ces trois activateurs induisent alors l'expression de *hiIA* et, par conséquent, de l'ensemble de *SpiI*.

machineries ISC et SUF dans la prolifération de *S. enterica* dans différents contextes cellulaires en introduisant une mutation dans l'une ou l'autre des deux voies de biogenèse des centres Fe-S de cette bactérie. Ils ont alors observé que seule la voie ISC est requise pour

l'infection *in vitro* de la lignée cellulaire épithéliale modèle HeLa, ou *in vivo* de la souris. Or, l'expression du facteur de virulence *SpiI* est régulée positivement par la protéine *HiIA*. De plus, *HiID* (voir encadré 1), qui fait elle-même partie du TTSS *SpiI*, régule positivement sa propre



expression ainsi que celle d'HilA et donc de Spi1 lui-même [2]. En utilisant le gène *gfp* (codant la *green fluorescent protein*) placé sous le contrôle du promoteur d'*hilD* (*PhilD*) dans les mêmes souches que celles précédemment utilisées, il apparaît que la machinerie ISC est nécessaire à l'activation de l'expression d'*hilD* et donc de Spi1. Ainsi, la machinerie ISC est un régulateur majeur de la synthèse du facteur de virulence Spi1.

IscR réprime l'expression d'HilD et de ses cibles indépendamment de la présence de son centre Fe-S

IscR est une protéine Fe-S de la machinerie ISC qui agit dans la cellule comme un senseur de centre Fe-S et permet la régulation concertée de l'expression d'ISC et SUF. En situation de carence en fer ou en présence d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), IscR perd son centre Fe-S (forme apo) et active l'opéron *suf*. Inversement, en présence de fer, IscR possède son centre Fe-S (forme holo) et réprime l'expression d'ISC et donc sa propre expression [6]. L'analyse bioinformatique de *PhilD* montre qu'il possède deux sites de liaison putatifs pour IscR, dont un se superpose partiellement au site de fixation de HilD. La fixation de deux dimères d'IscR sur *PhilD* a été démontrée par des expériences de retard sur gel et par interférométrie à l'aide de la protéine purifiée. La spécificité de la fixation d'IscR sur le promoteur de *hilD* (*PhilD*) a ensuite été confirmée par mutagenèse du promoteur. De nouveau, en utilisant *gfp* comme gène rapporteur, les auteurs montrent qu'IscR agit comme un régulateur négatif de l'expression d'*hilD* et, par conséquent, des gènes régulés par HilD dont Spi1. De manière intéressante, la surexpression de la forme holo d'IscR (contenant un centre Fe-S) ou d'une forme mutante incapable d'assembler un centre Fe-S (apo-IscR) conduit aux mêmes observations. Ces observations montrent que IscR réprime l'expression d'*hilD* et des gènes de Spi1 indépendamment de la présence de son centre Fe-S.

IscR contrôle la régulation, dépendante du fer, des gènes du TTSS Spi1

Des études précédentes avaient montré que l'expression de l'opéron *Spi1* était réprimée lors d'une carence en fer. Or, lorsque la bactérie est mutée pour IscR (absence d'expression de la protéine) et carencée en fer, l'expression de TTSS Spi1 est moins efficacement régulée. IscR semble donc être un intermédiaire dans la régulation de l'expression de Spi1 par le fer. Pour finir, les auteurs ont montré que l'invasion par *S. enterica* mutée pour IscR était augmentée dans le cas d'infection de cellules épithéliales *in vitro*, mais aussi lors d'une infection de la souris par la bactérie. Cependant, dans ce dernier cas, la virulence des bactéries mutées était diminuée par rapport à celle des bactéries sauvages, ce qui pourrait s'expliquer par l'implication d'IscR dans la régulation d'autres gènes liés à la pathogénicité de la bactérie. Donc, alors que la fixation de IscR sur *PhilD* – gène qui contrôle la régulation de Spi1 – ne requiert pas le centre Fe-S, ce dernier intervient néanmoins dans l'invasion bactérienne. Comment ?

Les protéines Fe-S, nouveaux régulateurs majeurs de la virulence bactérienne

Cette étude démontre très clairement le mécanisme moléculaire de la régulation de l'expression du facteur de virulence Spi1 de *S. enterica* par IscR, protéine Fe-S qui agit comme régulateur transcriptionnel des voies de biogenèse des centres Fe-S. Les auteurs démontrent qu'il y a compétition entre IscR et HilD pour la fixation au promoteur du gène *hilD*, dont IscR régule négativement l'expression, indépendamment de la présence d'un centre Fe-S dans IscR. C'est la concentration de IscR elle-même, et donc sa régulation, qui sont alors déterminantes pour le contrôle de la virulence. Or, en présence de fer et en l'absence de stress, IscR possède un centre Fe-S et régule négativement la voie ISC. La concentration de IscR

diminue donc, et celui-ci n'entre plus en compétition avec HilD. Celle-ci peut alors se lier à son propre promoteur et réguler positivement son expression et, par conséquent, celles de HilA et de Spi1. Inversement, en absence de fer et/ou en présence de stress, IscR perd son centre Fe-S et ne régule plus la voie ISC. Sa concentration restant élevée, IscR se lie au promoteur de *hilD* et le régule négativement (Figure 1). Ainsi, *Salmonella* utilise IscR pour moduler son infectiosité en fonction de la disponibilité en fer et en oxygène : elle favorise l'invasion des tissus à faible teneur en oxygène et forte concentration en fer comme l'intestin.

Récemment, il a été montré qu'un autre régulateur majeur de l'homéostasie du fer chez la bactérie, la protéine Fur (*ferric uptake regulator*), est aussi capable de se lier au promoteur d'*hilD* en présence de fer (forme Fur-Fe²⁺) et de réguler positivement son expression [7]. Ainsi, chez *S. enterica*, les systèmes Fur et IscR régulent l'expression du facteur de virulence Spi1 en fonction de la disponibilité en fer. De manière très intéressante, IscR est aussi impliqué dans la régulation de la virulence d'une autre bactérie pathogène, *Yersinia*, mais, dans ce cas, IscR la régule de manière positive [8]. Ainsi, ces deux pathogènes utilisent IscR de manière opposée pour réguler leur virulence. Pour finir, chez *Staphylococcus aureus*, c'est le système à deux composants AirSR qui contrôle finement la virulence. Or, la kinase AirS est une protéine Fe-S dont l'activité (qui se traduit *in fine* dans la virulence de la bactérie) est contrôlée par l'état d'oxydation de son centre Fe-S [9]. On voit ainsi que différentes bactéries pathogènes utilisent diverses stratégies faisant intervenir des protéines Fe-S et/ou les voies de biogenèse de ces agrégats métalliques afin de rapidement coordonner la production de facteurs de virulence en réponse à des variations de la concentration en fer ou en oxygène chez l'hôte. Les protéines Fe-S apparaissent ainsi comme de nouvelles cibles potentielles pour le développement de molécules anti-

bactériennes comme récemment démontré pour *S. aureus* [10]. ♦

Control of the *Salmonella enterica* virulence by iron-sulfur cluster biogenesis machinery

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Que F, Wu S, Huang R. Salmonella pathogenicity island 1 (SPI-1) at work. *Curr Microbiol* 2013 ; 66 : 582-7.

2. Ellermeier JR, Schlauch JM. Adaptation to the host environment: regulation of the SPI1 type III secretion system in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Curr Opin Microbiol* 2007 ; 10 : 24-9.

3. Py B, Barras F. Du fer et du soufre dans les protéines. Comment la cellule construit-elle les cofacteurs fer-soufre essentiels à son fonctionnement ? *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 1110-22.

4. Velayudhan J, Karlinsey JE, Frawley ER, et al. Distinct roles of the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium CyaY and YggX proteins in the biosynthesis and repair of iron-sulfur clusters. *Infect Immun* 2014 ; 82 : 1390-401.

5. Vergnes A, Viala JP, Ouadah-Tsabet R, et al. The iron-sulfur cluster sensor IscR is a negative regulator of Spi1 type III secretion system in *Salmonella enterica*. *Cell Microbiol* 2016 ; 19 : doi: 10.1111/cmi.12680.

6. Santos JA, Pereira PJ, Macedo-Ribeiro S. What a difference a cluster makes: The multifaceted roles of

IscR in gene regulation and DNA recognition. *Biochim Biophys Acta* 2015 ; 1854 : 1101-12.

7. Teixido L, Carrasco B, Alonso JC, et al. Fur activates the expression of *Salmonella enterica* pathogenicity island 1 by directly interacting with the hliD operator in vivo and in vitro. *PLoS One* 2011 ; 6 : e19711.

8. Miller HK, Kwuan L, Schwiesow L, et al. IscR is essential for *Yersinia pseudotuberculosis* type III secretion and virulence. *PLoS Pathog* 2014 ; 10 : e1004194.

9. Golinelli-Cohen MP, Bouton C. Fe-S proteins acting as redox switch: new key actor of cellular adaptive responses. *Curr Chem Biol* 2017 (sous presse).

10. Choby JE, Mike LA, Mashruwala AA, et al. A small-molecule inhibitor of iron-sulfur cluster assembly uncovers a link between virulence regulation and metabolism in *Staphylococcus aureus*. *Cell Chem Biol* 2016 ; 23 : 1351-61.

NOUVELLE

Les lésions hépatiques induites par la cholestase : le rôle de S1PR2

Louise Dissous¹, Elizabeth Cesard¹, Arnaud Dance¹, Thierry Tordjmann²

Les acides biliaires et leurs récepteurs

Les maladies cholestatiques sont des pathologies associées à une diminution, ou un arrêt, de l'écoulement de la bile vers le duodénum ; il en résulte une augmentation des concentrations hépatique et systémique en acides biliaires. Les cholestases peuvent schématiquement résulter d'un défaut de sécrétion biliaire par les hépatocytes, ou d'une obstruction des voies biliaires par une lithiase, une tumeur, ou dans le cadre de maladies chroniques (cholangite biliaire primitive ou cholangite sclérosante primitive). Les acides biliaires ayant des effets cytotoxiques directs et indirects, leur accumulation dans le foie induit des lésions hépatiques (nécrose et inflammation) qui contribuent au développement d'une fibrose, puis d'une cirrhose. Dans des conditions

cholestatiques, on observe une prolifération excessive des cellules épithéliales des canaux biliaires (cholangiocytes), constituant la « réaction ductulaire » dont la contribution aux processus de réparation et de fibrose est connue [1].

Les acides biliaires sont produits à partir du cholestérol et sont sécrétés dans la bile par les hépatocytes. Historiquement connus pour être indispensables à la digestion des lipides, ils sont aujourd'hui également considérés comme des molécules de signalisation paracrine et endocrine [2]. Plusieurs récepteurs des acides biliaires ont en effet été identifiés, dont les plus étudiés sont le récepteur nucléaire FXR (*farnesoid X receptor*), TGR5 (*Takeda G-protein-coupled receptor 5*) [11] (→) et S1PR2 (*sphingosine-1-phosphate receptor 2*, un récepteur membranaire couplé aux protéines

(→) Voir la Nouvelle de C. Barichon et al., m/s n° 6-7, juin-juillet 2016, page 585

G). L'activation de FXR en cas de surcharge en acides biliaires conduit à une réponse

¹ M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay 91405 Orsay, France ;

² Équipe interactions cellulaires et physiopathologie hépatique (ICPH), Inserm UMR S1174, Université Paris-Saclay, bâtiments 440-443, rue des Adèles, 91400 Orsay, France.

louise.dissous@u-psud.fr

elizabeth.cesard@u-psud.fr

arnaud.dance@u-psud.fr

thierry.tordjmann@u-psud.fr

adaptative protégeant l'hépatocyte de la toxicité des acides biliaires [3, 4]. L'activation de TGR5 par les acides biliaires secondaires stimule la prolifération et inhibe l'apoptose des cholangiocytes [5]. Au niveau des macrophages, TGR5 limite la production de cytokines pro-inflammatoires [6]. Ainsi, les récepteurs FXR et TGR5 sont aujourd'hui associés à la régénération et la protection hépatiques en cas de surcharge en acides biliaires [3, 4, 6], et pourraient représenter des cibles thérapeutiques intéressantes lors de certaines pathologies biliaires. Le récepteur S1PR2, fortement exprimé dans le foie, est l'un des cinq récepteurs membranaires de la S1P (sphingosine-1-phosphate). Cette famille de récepteurs est connue pour réguler la prolifération, la migration et la survie de différents types cellulaires [2, 12] (→). Plus récemment, il a été montré que S1PR2 pouvait être activé par les acides

(→) Voir la Synthèse de O. Cuvillier, m/s n° 11, novembre 2011, page 951

Cette Nouvelle fait partie d'une série de 12 Nouvelles rédigées par les étudiants du Master « Biologie Santé » de l'université Paris-Saclay, qui paraîtront dans les numéros 6-7, 8-9 et 10 (2017) de *médecine/sciences*.