

## **Microbiologie et maladies infectieuses**

M. Philippe SANSONETTI, professeur

Ce rapport d'activité annuel de la chaire de Microbiologie et maladies infectieuses comprendra un rapport sur l'enseignement, un rapport sur la recherche et se conclura par quelques perspectives concernant ces deux domaines pour l'année académique 2010-2011. Cette chaire veut offrir une vision renouvelée de la microbiologie et des maladies infectieuses en présentant les travaux les plus fondamentaux en microbiologie, le cœur de la discipline et ses interfaces, particulièrement avec la biologie cellulaire et l'immunologie, qui sont très fécondes de découvertes originales. Sur ce socle fondamental sont présentés les développements récents concernant les maladies infectieuses : mécanismes physiopathologiques et immunopathologiques, applications dans le domaine du diagnostic, de l'épidémiologie, de la thérapeutique et de la prévention, en particulier vaccinale.

### ENSEIGNEMENT

#### **Cours : L'homme et les microbes, une symbiose (presque) parfaite**

Le 20 novembre 2008, j'avais donné ma leçon inaugurale intitulée « Des microbes et des hommes ». Elle comportait trois parties principales qui affichaient ce que seraient les grands thèmes de mon enseignement pour les premières années : (1) le monde microbien qui nous environne, commensaux et pathogènes, (2) les mécanismes moléculaires et cellulaire des infections illustrés par une revue de notre travail sur les processus d'invasion de l'épithélium intestinal par *Shigella*, (3) enfin, les grands défis du contrôle des maladies infectieuses avec un plaidoyer fort pour le rôle que doit y jouer la recherche.

Les cours 2009-2010 se sont déroulés de fin-novembre à fin-janvier. Le titre de cette session était : L'homme et les microbes, une symbiose (presque) parfaite. Elle faisait suite à une session 2008-2009 présentant de manière générique les grands mécanismes d'interaction entre les microbes et l'homme, avec un accent particulier

sur la définition génétique et moléculaire des microorganismes pathogènes et les mécanismes moléculaires des maladies infectieuses. Cette nouvelle session était donc centrée sur l'interaction des flores commensales, le microbiote, en particulier intestinal, et explorait les aspects multiples d'une symbiose homme-microbes aboutissant à une homéostasie et une tolérance dont l'analyse génétique, moléculaire et cellulaire devient un des grands défis de la microbiologie. De ce domaine, en particulier dans les ruptures de cet équilibre homme-microbiote, réside un pan nouveau de la médecine couvrant par exemple les maladies inflammatoires de l'intestin, l'obésité, le diabète et certains aspects de l'athérosclérose, ainsi que certains cancers comme le cancer du colon. On peut gager que la connaissance de la complexité des flores qui nous colonisent permettra à terme une meilleure compréhension et un meilleur contrôle de ces maladies. D'où le « presque » introduit dans le titre de la session de cette année.

Le premier cours a porté, en réponse à la session précédente visant à définir l'identité moléculaire et cellulaire des pathogènes, sur la manière dont l'hôte distingue bactéries commensales et bactéries pathogènes. Il a montré que le paradigme classique de Janeway concernant la reconnaissance de motifs moléculaires spécifiques du monde procaryote (PAMP) par des récepteurs dédiés (PRR), particulièrement les *Toll-like receptors* (TLR) n'était pas suffisant et devait s'enrichir de l'intégration de la notion de perception de danger par l'hôte. Ceci met en première ligne les facteurs propres de la pathogénicité, cette discrimination reposant sur un paradigme mixte associant les complexes PAMP-PRR et les signaux propres induits par les facteurs de pathogénicité : adhésion, invasion, altération de membranes, présence et croissance intracellulaire, etc. Ce cours a été complété par Gérard Eberl (Institut Pasteur, Paris) dont le séminaire a mis en évidence le rôle majeur joué par le microbiote intestinal dans le développement du système immunitaire muqueux, en particulier la maturation des organes lymphoïdes secondaires et l'apparition d'organes lymphoïdes tertiaires.

Le second cours, intitulé « Histoires de symbioses », a montré que la symbiose hôte-microbes remonte très loin dans l'évolution, l'un des plus jolis exemples étant la formation et le maintien de l'organe lumineux du calamar par la bactérie *Vibrio fischeri* dont l'enzyme luciférase permet à cet invertébré marin de produire une bioluminescence assurant sa « contre-illumination », donc sa protection contre les prédateurs lors de ses sorties marines nocturnes. Ce cours a dégagé un certain nombre d'autres exemples, parfois inattendus, et a par exemple insisté sur le rôle majeur de symbiotes bactériens établis chez certains parasites multicellulaires comme les filaires et chez certains vecteurs arthropodes y compris ceux transmettant des infections virales ou parasitaires. Ces découvertes récentes offrent des possibilités d'intervention dans la lutte anti-vectorielle et anti-parasitaire. L'aspect génomique de ces évolutions vers la symbiose a été largement traité comme reflet de la co-adaptation microbe-hôte. Ce cours a été illustré par un séminaire de Bruno Lemaître (EPFL, Lausanne) qui a développé ses travaux actuels sur l'étude de l'homéostasie hôte-microbe dans le système modèle de *Drosophila melanogaster*.

Le troisième cours était intitulé « Vie bactérienne communautaire, on se compte et on s'adapte : le *quorum sensing* ». Ce cours visait à déchiffrer les mécanismes moléculaires assurant le maintien de la vie en communauté des bactéries, qu'il s'agisse de communautés monomicrobiennes (l'exception) ou de communautés multimicrobiennes (la règle). Les bactéries se comptent et s'adaptent à leur propre densité grâce à la production et à la perception de petites molécules, les auto-inducteurs, essentiellement des dérivés de molécules à fonction lactone chez les bactéries à Gram négatif et de petits peptides chez les bactéries à Gram positif. Ce cours a montré que ces mécanismes de base de la vie communautaire microbienne existaient dans une infinité de situations, y compris dans les processus de colonisation au cours des infections chez l'homme. Ce cours a été complété par un séminaire de Jonathan Ewbank (CIML, Marseille) qui est l'un des spécialistes internationaux de l'étude des mécanismes de pathogénicité microbienne chez le ver *Caenorhabditis elegans*. Comme dans le cas de *Drosophila*, ce cours a démontré la puissance de modèles alternatifs plus simples et plus faciles à soumettre à une analyse génétique globale pour l'étude de mécanismes très fondamentaux de la vie comme la gestion de l'interface hôte-microbes dont beaucoup de composants, pour ce qui concerne la partie innée de la réponse, ont été conservés et largement « recyclés » au cours de l'évolution.

Le quatrième cours intitulé : « Vie bactérienne communautaire, l'union fait la force : les biofilms » visait à montrer que, dans la plupart des environnements et écosystèmes, les bactéries ne vivent pas à l'état libre (planctonique), mais en communautés organisées, des biofilms, prises dans une matrice et protégées des facteurs environnementaux, y compris des effecteurs immunitaires et des antibiotiques chez l'homme. Le *quorum sensing* décrit dans le cours précédent est un élément essentiel de l'adaptation des bactéries dans ces biofilms. Le biofilm représente environ 60 % des sources de foyer infectieux ou de dissémination microbienne dans l'organisme au cours des maladies infectieuses. Il crée une situation de « récalcitrance » aux traitements antibiotiques qui complique considérablement les traitements et nécessite des approches visant à la dissolution de ces structures, restaurant ainsi la sensibilité des microbes en cause. Ce cours a été complété par un séminaire de Jean-Marc Ghigo (Institut Pasteur, Paris), un des experts internationalement reconnus dans le domaine de la génétique des biofilms et qui a considérablement contribué à la connaissance des gènes et produits impliqués dans les étapes initiales de la constitution du biofilm, ainsi que de ceux qui gouvernent la transition entre la forme « plancton » et la forme « biofilm » des bactéries. C'est probablement dans la connaissance de ces étapes clés que résident les solutions thérapeutiques à la dissolution, voire mieux la prévention de la formation des biofilms.

Le cinquième cours intitulé : « Homéostasie de l'interface hôte-commensaux : furtivité et/ou tolérogénèse active ? » visait à établir une véritable vision intégrée et dynamique des mécanismes permettant la tolérance du microbiote commensal en dépit de la reconnaissance de ses composants bactériens par le système immunitaire inné et adaptatif. « Combattre l'ignorance pour apprendre la tolérance » était le

thème finalement hautement sociétal de cette présentation qui a décrit de façon intégrée les facteurs bactériens, épithéliaux et immunitaires se conjuguant pour établir la tolérance de ces flores. Toute rupture de ces mécanismes homéostatiques de tolérogénèse peut conduire à des pathologies, en particulier inflammatoires. C'est le cas des maladies inflammatoires de l'intestin (MICI). Le séminaire donné par Jean-Pierre Hugot illustre ce dernier point. Le présentateur a en effet été l'un de ceux qui les premiers ont démontré qu'un fort pourcentage de maladies de Crohn familiales, une MICI d'incidence croissante dans nos populations, étaient liés à une mutation dans *nod2/card 15*, un gène codant pour une protéine cytosolique dont notre groupe a concurremment montré qu'elle était un senseur du muramyl-dipeptide (MDP), un composant du mur bactérien ou peptidoglycane. Nous avons montré, en collaboration, que ces mutations entraînaient une perte de fonction de Nod2, incapable, même en présence de son agoniste MDP, d'activer les voies innées de signalisation pro-inflammatoire NF- $\kappa$ B et MAPKineses. Ce travail de génétique humaine et ceux qui l'ont suivi ont donc confirmé que la perte d'un mécanisme de reconnaissance de la flore bactérienne pouvait conduire à une rupture, parfois dramatique, de l'homéostasie et du processus de tolérance.

Le sixième cours était intitulé : « Fonctions métaboliques de la flore intestinale, le microbiote intestinal peut-il nous rendre obèses et diabétiques ? » ; il reprenait une évolution récente de notre vision du microbiote, partie de nous mêmes et représentant l'équivalent métabolique du foie. D'où la notion de superorganisme ou d'hologénome qui prend forme et ouvre la possibilité de considérer la responsabilité de la flore microbienne non seulement dans des situations pathologiques inflammatoires, mais aussi dans des situations de dysfonction métabolique, ces bactéries pouvant assurer par exemple un excès de production de nutriments énergétiques participant au développement d'une obésité, ou transloquer à travers la barrière intestinale et causer une inflammation des adipocytes causant une résistance à l'insuline génératrice de diabète. Ces sujets encore controversés sont l'objet actuel de recherches fondamentales très élaborées qui incluent l'analyse métagénomique, c'est-à-dire la séquence du pool de l'ensemble des gènes constituant, par exemple, le microbiote d'individus choisis. Le séminaire complémentaire de ce cours a été donné par Rémy Burcelin (INSERM, Toulouse), l'un des premiers à avoir avancé la possibilité d'un rôle pour des composants du microbiote intestinal dans la survenue du diabète de type II.

L'ensemble de ces cours est disponible en vidéos et sous forme de fichiers PDF téléchargeables comportant outre les schémas pertinents, l'essentiel des références à jour.

**Séminaire : *Vaccines of the future : learning from nature to identify new targets and do better than nature***

Le point d'orgue de cet enseignement a été un symposium international sur les vaccins organisé sous les auspices des chaires d'Immunologie moléculaire (Philippe Kourilsky) et de Microbiologie et maladies infectieuses (Philippe Sansonetti) et

avec l'aide de deux chercheurs de l'Institut Pasteur, Armelle Phalipon et Frédéric Tangy. Ce symposium intitulé : « Vaccines of the future : learning from nature to identify new targets and do better than nature » s'est tenu dans l'amphithéâtre Marguerite de Navarre les 12 et 13 avril 2010. Le concept central de ce symposium reposait sur un constat simple : certains vaccins apparaissent extrêmement complexes à concevoir et développer en dépit de la nécessité vitale qu'il y aurait à en disposer afin de protéger contre des maladies dont l'impact reste prédominant en santé publique telles l'infection par le VIH, le paludisme, la tuberculose, la dengue, les infections à *Herpes virus*, l'hépatite C, les infections entériques et certaines infections respiratoires aiguës de l'enfant. Pourquoi ces difficultés, et quelles pistes suivre afin d'innover voire simplement d'améliorer les chances de succès ? Peut-être est-il temps de revenir à l'étude des bases des maladies infectieuses et de la connaissance des réponses protectrices de l'hôte.

Le symposium a été introduit par Stanley Plotkin, expert international dans le domaine de la vaccinologie.

Les sessions de ce symposium ont successivement porté sur les thèmes suivant :

- Que pouvons-nous apprendre de la nature ? Leçons de l'étude de l'hôte. La variation génétique de la réponse aux agents infectieux, la qualité de la mémoire immunitaire induite, l'immaturation en la sénescence du système immunitaire sont autant de paramètres mal connus. Ceci est particulièrement aigu pour la vaccination de la population des séniors dont le nombre va croissant.

- Que pouvons-nous apprendre de la nature ? Leçons apprises des études du dialogue moléculaire microbes-hôte. Ce domaine fondamental est essentiel à l'identification de nouveaux antigènes, particulièrement ceux correspondant à des facteurs de pathogénicité car l'obtention de réponses immunitaires humorales, voire cellulaires, contre de tels antigènes peut protéger de façon immunologiquement classique, mais aussi fonctionnelle en bloquant spécifiquement les mécanismes du processus infectieux. Ces dernières molécules permettent par ailleurs, dans certaines situations, d'échapper à la problématique des sérotypes en sélectionnant des molécules conservées parmi les pathogènes du fait de leur sélection pour assurer une fonction précise de signalisation. Ce concept s'est avéré valide pour les bactéries comme pour les virus tel le VIH et les parasites tel *Toxoplasma gondii*. C'est l'objectif même du vaccin qui dans ces conditions peut être revisité, passant d'un vaccin dirigé contre un agent infectieux dont on veut obtenir l'éradication (vaccin stérilisant) à un vaccin dirigé contre les interactions causant l'infection (vaccin anti-maladie).

- Que peut-on apprendre des réponses immunitaires contre les infections et les vaccins ? Un seul exemple : des vaccins, bien que disponibles, sont d'efficacité protectrice très variables, comme le BCG dont la capacité de protection contre la tuberculose pulmonaire est très aléatoire dans le pays du sud alors qu'elle est satisfaisante dans les pays du nord. Quelles peuvent être les causes de cette incohérence entre populations vaccinées ? Ce type d'approche nécessite l'intégration de plusieurs disciplines : microbiologie, épidémiologie, génétique humaine, immunologie. Elle ne peut s'effectuer, pour être pertinente, que chez l'homme.

Aucun modèle animal n'est susceptible de mimer une problématique de cette difficulté. D'où la nécessité soulignée à plusieurs occasions de développer des méthodes, plates-formes technologiques et laboratoires dédiés à l'étude des réponses immunitaires chez l'homme.

- Faire mieux que la nature : succès et défis. Un vaccin universel contre la grippe ? Des vaccins contre les infections virales chroniques, y compris celles comme le CMV qui semblent accélérer la sénescence du système immunitaire ? De nouveaux vaccins dessinés « à la carte » grâce à la biologie synthétique, en particulier à la synthèse de génomes entiers ? Des défis que la biologie peut se donner les moyens de saisir si les priorités de la recherche en vaccinologie sont mieux définies. Nous espérons que ce symposium aura contribué en toute modestie à cette réflexion.

Si une seule conclusion devait être tirée de ce symposium, ce serait sans doute que du concept de science vaccinale, nous sommes passés à un concept plus large et plus complexe de vaccinologie qui devrait passionner les jeunes chercheurs et fournir de fait une discipline où, comme le disait Louis Pasteur, la recherche fondamentale et la recherche appliquée sont unies comme le fruit à sa branche.

#### RECHERCHE

L'unité de Pathogénie microbienne moléculaire (PMM) que je dirige à l'Institut Pasteur est naturellement rattachée à la chaire de Microbiologie et maladie infectieuse. Elle représente par ailleurs une des deux équipes de l'unité INSERM 786 dont je suis directeur. Je suis par ailleurs, jusqu'en 2011, car le programme s'arrêtera à ce moment, chercheur étranger du Howard Hughes Medical Institute. Notre unité était ces dernières années largement centrée sur l'analyse moléculaire et cellulaire de la rupture, de l'invasion et de la destruction inflammatoire de l'épithélium intestinal par la bactérie *Shigella*, l'agent étiologique de la dysenterie bacillaire et le développement de vaccins contre cette infection. Cette bactérie à Gram négatif invasive a été déterminante dans plusieurs axes de recherche fondamentale qui ont montré la valeur d'organismes modèles pertinents comme moteurs de découverte fondamentale : naissance du concept de microbiologie cellulaire, découverte des mécanismes d'invasion cellulaire par le processus du « trigger », découverte des systèmes de sécrétion de type III (TTSS) chez les protéobactéries pathogènes, découverte de la motilité intracytosolique actine-dépendante de certaines bactéries invasives comme *Shigella* et *Listeria monocytogenes*, découverte des systèmes de perception intracellulaire des bactéries par les cellules (molécules Nod), découverte et analyse des mécanismes de modulation de la réponse innée de l'hôte par les microorganismes pathogènes, y compris par des mécanismes épigénétiques, ce que j'appelle volontiers le Yin et le Yang de l'immunité innée aux pathogènes. De ce cœur de recherche se sont récemment développées de nouvelles thématiques qui viennent enrichir la multidisciplinarité de l'unité PMM : l'étude de l'homéostasie de l'axe crypto-villositaire épithélial intestinal. Ceci correspond non seulement à une

étude visant à découvrir les mécanismes fondamentaux du rôle que joue le microbiote commensal sur la maturation de l'épithélium intestinal, mais aussi à mieux comprendre comment ces mêmes microorganismes peuvent participer à la restitution de cet épithélium après un processus infectieux et/ou inflammatoire ou comment une dysbiose de la crypte intestinale colique peut participer à la survenue d'un cancer colique. L'autre axe de recherche récent correspond à l'analyse des mécanismes moléculaires et cellulaires de l'infection de la muqueuse respiratoire par les bactéries du genre *Klebsiella*. L'objectif est de comparer deux microorganismes appartenant à la même espèce d'entérobactérie : *Klebsiella pneumoniae* var. *pneumoniae* responsable d'une pneumonie aiguë nécrosante, bénéficiant d'un excellent modèle murin mimant la maladie humaine et *Klebsiella pneumoniae* var. *rhinoscleromatis* responsable d'une infection granulomateuse chronique des voies aériennes supérieures, le rhinosclérome. Face à la séquence de plusieurs génomes de *K. pneumoniae*, nous avons fait séquencer le génome de *K. rhinoscleromatis* que nous annotons actuellement, de manière à assurer une analyse de génomique fonctionnelle comparative permettant de dégager des éléments génomiques candidats à la différence physiopathologique majeure existant entre ces deux microorganismes. Nous avons aussi développé un modèle murin à l'évidence pertinent, car il donne lieu à l'apparition de cellules de Mickulicz, des macrophages spumeux caractéristiques du rhinosclérome, liés à la phagocytose de *K. rhinoscleromatis* qui produit une quantité massive de capsule polysidique.

Cette année est dans une certaine mesure une année de transition où mon groupe et moi-même nous sommes mobilisés, suite à l'évaluation très positive de notre programme de recherche par l'AERES afin de mettre en route les nouveaux axes et nouvelles approches proposées.

Pour l'étude de l'impact du microbiote sur l'homéostasie de l'axe cryptovillositaire, outre l'« *advanced grant* » de l'ERC (HOMEOPITH) qui a débuté en 2009, nous avons obtenu, sous la coordination de Sven Pettersson (Karolinska Institute) un financement FP7 de l'Union Européenne (TORNADO), visant à étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires de l'homéostasie de la crypte intestinale induits par les bactéries commensales et rompus par les pathogènes. Avec Rémy Burcelin (INSERM, Toulouse) comme coordinateur, nous avons obtenu un financement de l'ANR (TRANSFLORA) afin d'étudier les mécanismes de la translocation des bactéries à Gram négatif à travers la barrière intestinale épithéliale et leur rôle subséquent dans l'induction de l'inflammation de la graisse mésentérique et la résistance à l'insuline. Avec Nadine Cerf-Bensussan (INSERM, Necker) comme coordinatrice, nous avons obtenu un autre financement ANR sur l'étude des dysbiontes comme la bactérie SFB (*segmented filamentous bacteria*) qui entraînent un niveau inhabituel de réponse innée/inflammatoire au niveau de la muqueuse intestinale et semblent faire partie du contingent des bactéries entretenant l'« inflammation physiologique » qui est nécessaire à l'état de préparation de la réponse anti-infectieuse de la muqueuse : *si vis pacem, para bellum*. J'ai par ailleurs obtenu en tant que coordinateur deux projets, l'un financé par l'ANR (PATHIMMUN) dans le cadre de l'action thématique « Inflammation » ; il vise à

identifier de nouvelles cibles pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires en se laissant guider par l'analyse de la fonction des effecteurs anti-immunité des bactéries pathogènes comme *Shigella* qui régulent la réponse innée de l'hôte par l'injection d'effecteurs protéiques dédiés. L'accent sera mis sur IpgD, une phosphatidyl-inositol phosphatase qui se comporte *in vitro* et *in vivo* comme une puissante molécule anti-inflammatoire. Enfin, j'ai obtenu la coordination d'un très gros programme européen dans le cadre de la vaccination contre les maladies infectieuses négligées (STOPENTERICS). Ce programme doté de 12 millions d'euros vise à renouveler totalement la recherche de nouveaux vaccins contre *Shigella* et les *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC).

Nous avons par ailleurs, dans l'année écoulée obtenu un financement du DIM Ile-de-France qui nous a permis d'acheter un microscope à deux photons qui vient d'être installé dans le couloir de notre laboratoire et servira un consortium de six groupes de recherches que je pilote, l'un de ces groupes (Guy Tran Van Nhieu) étant localisé au Collège de France.

Je puis donc dire que les grands axes de recherche de l'unité de Pathogénie microbienne moléculaire vont pouvoir être soutenus dans les années qui viennent à un niveau tout à fait satisfaisant.

## PROJETS SCIENTIFIQUES

### **Microbiote et homéostasie de l'axe crypto-villositaire intestinal**

#### *1. Identification d'une flore spécifique de la crypte intestinale*

Un projet vise à identifier, initialement chez la souris, mais maintenant aussi chez l'homme, des bactéries spécifiques de la crypte intestinale, au niveau de l'intestin grêle et du colon. Les conditions extrêmes régnant dans la crypte du fait de la production de puissants facteurs anti-microbiens par l'épithélium nous font émettre l'hypothèse que des bactéries « extrêmophiles » habitent ces zones et ont probablement été sélectionnées comme telles car elles permettent l'établissement d'une relation symbiotique avec l'hôte. Nous qualifions ces bactéries encore hypothétiques de « vrais probiotiques ». Nos résultats préliminaires, après avoir coloré les coupes intestinales par la technique de Whartin-Starry et mis au point une méthode de microdissection LASER des cryptes et de leur contenu, montrent qu'il existe une population bactérienne limitée mais constante dans la crypte colique, rare et inconstante dans la crypte de l'intestin grêle. Ceci soulève la question passionnante du rôle possible de la flore commensale de la crypte colique dans la carcinogénèse colique, en cas de déséquilibre ou de substitution. Nous avons débuté l'identification moléculaire de ces microorganismes par la mise au point de deux techniques complémentaires utilisant comme sondes des séquences conservées ou spécifiques des gènes codant pour la sous-unité 16S du ribosome bactérien : le PCR et le FISH. Après amplification du matériel collecté, si possible

à l'abri de contaminations de la lumière intestinale, nous avons amplifié les séquences variables des gènes codant les ARN 16S et avons procédé à la séquence en masse de ces multiples amplicons. Après analyse bioinformatique, nous disposons d'une liste très intéressante de microorganismes, en particulier de bactéries aérobies strictes très inattendues dans un tel environnement. Nous procédons actuellement aux nombreux contrôles requis par ce type d'approche afin de pouvoir éliminer toute possibilité de contamination.

### *2. Conséquences de l'interaction avec les cellules épithéliales intestinales de bactéries commensales généralement considérées comme probiotiques tels les *Lactobacillus* et les bifidobactéries*

Nous avons mis au point un système de culture de cellules de la crypte murine (lignée mICcl2) à des stades variés de densité, polarité et différenciation et exposons ces cellules à des espèces représentatives des deux groupes mentionnés, en particulier *Lactobacillus casei* et *Bifidobacterium breve*. Nous avons pu démontrer par une combinaison d'approches moléculaires et cellulaires que *L. casei* affectait le cycle cellulaire, activait la différenciation et diminuait la programmation pro-inflammatoire de ces cellules épithéliales. L'arrêt du cycle cellulaire est essentiellement lié à l'arrêt de la transcription de la Cycline E1. Cet arrêt de transcription survient en réponse au lactate qui est produit par *L. casei*. Nous avons donc pu identifier l'effecteur principal de l'arrêt du cycle cellulaire, ce qui nous amène maintenant à étudier plus précisément la réponse de la cellule aux acides monocarboxyliques et plus généralement au stress acide. Nous avons aussi noté que les acides gras à chaîne légère comme le butyrate bloquent aussi le cycle cellulaire, mais en induisant le blocage transcriptionnel de la Cycline D1, et ceci indépendamment du pH. Nos efforts sont maintenant centrés sur les mécanismes de la régulation du cycle. Il est donc intéressant de noter que le rôle des probiotiques peut être d'agir sur le compartiment prolifératif de la crypte intestinale et de permettre d'arrêter la prolifération tout en induisant la différenciation en cellules épithéliales intestinales matures.

### *3. Développement d'un système de mutagenèse chez *Lactobacillus casei*, comprenant si possible une approche STM (Signature Tagged Mutagenesis) visant, à terme, à identifier les effecteurs de ce commensal/probiotique affectant l'axe crypto-villositaire intestinal, ainsi que les facteurs permettant la colonisation de la niche intestinale par cette espèce modèle*

Ce travail est réalisé en collaboration avec le groupe de Jean-François Cavin à l'université de Bourgogne (Dijon). Durant l'année écoulée, la chercheuse post-doctorale en charge de ce projet a mis au point la technique de mutagenèse chez *L. casei* et a généré une librairie de mutants marqués (signés) par de courtes séquences différentes (tag). La banque de mutants est maintenant prête. L'ensemble va être séquencé au Sanger Center afin d'identifier, avant de pratiquer le criblage chez l'animal, la nature et localisation des mutations. Ceci permettra de constituer

des « *input pulls* » administrés par gavage chez la souris dont la nature des mutants les constituant aura été préalablement fixée. Ces expériences devraient être réalisées dans les 2-3 mois à venir.

*4. Étude de l'interaction des cellules souches avec les produits microbiens (PAMPs) et nos bactéries modèles (L. casei et S. flexneri en particulier) ainsi que les microorganismes en cours d'identification dont nous espérons qu'ils représentent une flore spécifique de la crypte intestinale*

Nous avons commencé avec des cellules ES dont nous avons mis au point les conditions de culture. Nous voulons voir si la cellule souche reconnaît le microbiote auquel elle est éventuellement exposée, comment elle y organise sa réponse, et si cette réponse comporte un effet sur l'engagement vers un ou plusieurs des lignages caractéristiques de l'épithélium intestinal. Il apparaît jusqu'à présent que la cellule ES est réfractaire tant aux motifs microbiens (PAMPs), qu'à des bactéries, même pathogènes. L'exposition à ces différents facteurs ne semble changer ni le niveau d'expression des marqueurs de « *stemness* » des cellules (OCT4 et Nanog). Nous avons mis au point la production d'organoïdes à partir des cryptes intestinales et la préparation directe à partir des cryptes de cellules souches intestinales exprimant le marqueur Lgr5. Ces cryptes sont obtenues à partir de souris rapporteurs lgr5-GFP.

*5. Étude de l'effet du microbiote (global ou représenté par les bactéries modèles déjà citées) dans la dynamique du développement de l'axe crypto-villositaire*

Ce travail va essentiellement s'efforcer au début de déchiffrer l'effet des microorganismes sur les grandes voies de différenciation de l'intestin tels Wnt et Notch. Il comportera des modèles cellulaires et des modèles de monocolonisation de l'intestin de souris axéniques. Pour réaliser ceci, nous avons obtenu de l'Institut Pasteur une extension en surfaces, équipements et ressources humaines afin de pouvoir élever des souris axéniques indispensables à ces approches. à l'Institut Pasteur de structures d'animaleries axéniques. Le travail se poursuit en collaboration avec le groupe de Philippe Jay à Montpellier.

**Étude du dialogue moléculaire établi entre un pathogène et la bordure en brosse de l'*epithelium* intestinal : un « *cross talk* » singulier**

*1. Étude des microconditions prévalant à la surface cellulaire et des mécanismes génétiques et moléculaires par lesquels la bactérie s'y adapte*

Cette étude représente un domaine d'intérêt croissant pour notre groupe. Nous avons récemment démontré que l'appareil de sécrétion de type III de *Shigella* (TTSS) qui permet l'injection des effecteurs de pathogénicité dans les cellules eucaryotes est incompetent lorsque la bactérie fait face à des conditions

d'anaérobiose, ce qui correspond essentiellement aux conditions rencontrées dans la lumière intestinale, mais acquiert cette compétence en présence d'oxygène. L'incompétence est due à la régulation négative par le régulateur transcriptionnel FNR du mécanisme moléculaire permettant, lors de la construction du TTSS, le passage de la sécrétion de la protéine MxiH qui assure la formation de l'aiguille à la sécrétion des effecteurs de l'invasion cellulaire. De ce fait, les aiguilles du TTSS apparaissent démesurément allongées et sont non fonctionnelles. Nous avons pu montrer que l'oxygène rétrodiffusait de la cellule épithéliale vers la lumière intestinale, permettant ainsi à la bactérie de réacquérir sa compétence au site stratégique où elle doit envahir la cellule grâce à un TTSS fonctionnel. La suite de ce travail précisera les conditions d'oxygénation tissulaires au cours de l'infection et comment elles affectent les propriétés pathogènes du microorganisme. Elle visera aussi à mettre en évidence le rôle d'autres facteurs anti-infectieux produits par les cellules épithéliales et myéloïdes au cours de l'infection (NO, radicaux oxygène, peptides anti-microbiens), non tant sous l'angle de la bactéricidie que de l'altération de fonctions propres à la pathogénicité, comme la sécrétion, la motilité bactérienne intracellulaire et la capacité de tuer les cellules cibles.

## 2. Étude très précise des mécanismes de subversion des systèmes de défense cellulaire par *Shigella*

Nous avons démontré que la bactérie sauvage, grâce à l'injection dans les cellules, *via* le TTSS, d'effecteurs microbiens comme les protéines Osp et IpaH, était capable de supprimer trois composants essentiels de la réponse muqueuse : la production par l'épithélium des peptides anti-microbiens, ce qui permet à *Shigella* de coloniser profondément l'épithélium, jusque dans la crypte; la production d'IL-8 qui assure le recrutement des polynucléaires neutrophiles et la production de CCL-20, bloquant ainsi le recrutement de cellules dendritiques. *Shigella* se livre donc à une subversion des mécanismes intégrés de la défense anti-infectieuse de l'épithélium intestinal. D'autres chimiokines/cytokines pro-inflammatoires sont d'ailleurs affectées et nous avons par ailleurs observé que *Shigella* entraînait des modifications majeures du mucus de l'apex cellulaire, à la fois en composition chimique, mais aussi en organisation spatiale. Ce sujet est développé en collaboration avec le groupe de glycochimie de Jean-Pierre Michalsky à Lille. Par ailleurs, nous avons démontré, dans un projet collaboratif avec Guy Tran Van Nhieu (INSERM U971, Collège de France) que les cellules épithéliales infectées par une bactérie produisaient de l'ATP rapidement libéré *via* l'ouverture des héli-canaux-connexines dans le milieu extracellulaire. Cette libération est un signal de danger alertant l'hôte de son engagement par un pathogène. Cependant, *Shigella* est capable, lors de l'infection, d'entraîner la fermeture des héli-canaux-connexines, empêchant ainsi la sortie de l'ATP et supprimant de fait ce signal de danger. Nous avons pu identifier IpgD, un enzyme à activité phosphatidyl-inositol phosphatase (hydrolysant le Pi(4,5)P2 en Pi5P) comme l'effecteur microbien injecté par le TTSS assurant cette fermeture des héli-canaux et la suppression du signal de danger – autre exemple des stratégies

subtiles des pathogènes pour déjouer les défenses immunitaires de l'hôte. Dans le cadre du programme thématique de l'ANR sur l'inflammation, nous avons obtenu un financement qui va nous permettre de prendre ce modèle comme modèle de stratégie de découverte de nouveaux agents anti-inflammatoires *via* la régulation de l'émission de signaux de danger cellulaire comme la libération de l'ATP.

### 3. Interaction de *Shigella* avec la bordure en brosse de l'apex cellulaire épithélial

Nous avons démontré que l'absence de villine, un composant majeur de la régénération de la bordure en brosse, bloquait totalement les capacités invasives de *Shigella*. En collaboration avec le groupe de Sylvie Robine (Institut Curie) et de Françoise Poirier (Institut Jacques Monod), nous étudions le rôle de la villine dans l'invasion ainsi que de la Galectin-3 qui est recrutée aux foyers d'entrée de *Shigella* et est maintenant démontrée être un facteur important de la mise en place de la polarité de la cellule épithéliale. Nous avons mis en place les outils cellulaires et les modèles animaux nécessaires à cette étude que nous avons élargie, de manière comparative, à *Salmonella*. En effet, curieusement, *Shigella* est très inefficace pour envahir l'apex de l'épithélium, en particulier la bordure en brosse, ce qui n'est pas le cas de *Salmonella* qui remanie les microvillosités à son site d'interaction et pénètre très efficacement. La biologie comparative de ces deux systèmes devrait beaucoup nous apprendre sur les événements très précoces d'interaction entre des pathogènes invasifs et les barrières épithéliales.

Dans le cadre du projet MAXIMMUN sélectionné comme « Programme transversal de recherche » par l'Institut Pasteur, nous avons commencé à très précisément caractériser les mécanismes de la régulation transcriptionnelle, génétique et épigénétique, des gènes codant pour les facteurs anti-microbiens de l'épithélium intestinal, en comparaison des gènes codant pour les médiateurs de l'inflammation (IL-8, TNF, IL-6) et des gènes codant pour les facteurs de restitution (TGF $\beta$ , Mucines, *Trefoil factors*). Nous espérons trouver des éléments permettant d'induire une expression différentielle en combinant une analyse fondamentale des systèmes transcriptionnels et un criblage à haut débit de molécules permettant d'obtenir, sur une batterie de cellules rapporteurs de chacun de ces gènes, le profil espéré : molécules anti-infectieuses (+++), molécules pro-inflammatoires (+/-), si possible molécules de restitution (+++). Ce criblage sera réalisé à l'Institut Pasteur de Corée. Les cellules-rapporteurs sont maintenant construites, plusieurs clones sont disponibles pour chacune d'entre elles qui sont en cours de validation pour s'assurer que le transgène est régulé génétiquement et épigénétiquement comme le gène sauvage. Ce point est essentiel. La construction de souris-rapporteurs est en cours en collaboration avec le groupe de Sylvie Mémet à l'Institut Pasteur. Une première génération de souris exprimant la beta-défensine 3 humaine est disponible, le gène humain étant couplé à la luciférase et à la GFP afin d'assurer un suivi de l'expression dans les tissus. L'objectif est de trouver des molécules exerçant un puissant effet stimulateur des défenses innées épithéliales dont le besoin se fait sentir dans de nombreuses situations cliniques : (1) infections entériques (voire

respiratoires) itératives chez l'enfant dans les pays en voie de développement, amenant à des situations de dénutrition responsables de retards staturaux-pondéraux et psycho-moteurs, (2) translocations de microorganismes de la flore intestinale dans la circulation chez des patients aplasiques sous polychimiothérapie causant une septicémie souvent mortelle, (3) maladies inflammatoires de l'intestin, comme la maladie de Crohn, où un déficit des mécanismes anti-infectieux innés semblent faire partie de la physiopathologie. Dans toutes ces situations où les antibiotiques ont des limites, voire de sérieux inconvénients, la stimulation des mécanismes anti-infectieux innés apparaît comme une approche prometteuse.

### **Travaux de C. Parsot, L. Arbibe, A. Phalipon et R. Tournebize**

D'autres travaux de fondamentaux se sont déroulés dans l'unité PMM, sous la supervision directe de mes collaboratrices et collaborateurs chercheurs permanents dans l'unité : Claude Parsot, Laurence Arbibe, Armelle Phalipon et Régis Tournebize

#### *1. Identification et caractérisation de la fonction d'un groupe d'effecteurs sécrétés par le TTSS de Shigella*

Nous avons continué à identifier et caractériser la fonction d'un groupe d'effecteurs sécrétés par le TTSS de *Shigella*, les protéines Osp et IpaH qui sont des régulateurs de l'immunité innée. Pour certains d'entre eux, nous avons pu non seulement identifier leurs cibles et mécanismes moléculaires d'action, mais aussi démontrer comment, *in vivo*, ils assurent la subversion de la barrière épithéliale intestinale. Ceci fait définitivement de *Shigella* un modèle d'étude de la manipulation du système immunitaire par un pathogène. OspG est une kinase bloquant l'ubiquitination de I- $\kappa$ B, OspF déphosphoryle Erk et P38 dans le noyau, régulant ainsi l'expression de gènes clés de l'immunité innée au niveau épigénétique, les protéines IpaH sont une nouvelle famille d'enzymes E3/ubiquitine ligases. Cette dernière propriété a été définie sur la base d'une étude de la structure d'une des 10 protéines IpaH réalisée en collaboration avec le Canadian Genomic Consortium à Toronto. L'ensemble de ces effecteurs régule le trafic des cellules immunitaires, polynucléaires neutrophiles et cellules dendritiques et, comme déjà mentionné, supprime l'expression par l'épithélium des principaux peptides anti-microbiens, les beta-défensines. L'accent est actuellement mis sur l'analyse de la fonction de deux catégories d'effecteurs sécrétés: les molécules OspC1,2,3 et les molécules IpaH dont la fonction d'E3 ligase justifie maintenant d'identifier les cibles protéiques ubiquitinylées dans les cellules infectées par *Shigella*.

#### *2. Mécanismes de sécrétion des effecteurs*

Nous avons précisé les mécanismes de sécrétion des effecteurs, démontré leur polarité initiale, et découvert une nouvelle structure de la surface cellulaire, les micropodes, capables de capter les bactéries dans le milieu, de se rétracter activement et d'amener le corps bactérien à la surface de la cellule, permettant la mise en place

du processus d'internalisation. Nous avons aussi montré le rôle essentiel de la kinase c-src dans l'extension des remaniements du cytosquelette cellulaire amenant à l'entrée efficace de *Shigella* dans la cellule épithéliale. L'ensemble de ces projets sont maintenant pris en compte et développés par Guy tran van Nhieu au sein de sa nouvelle unité INSERM au Collège de France.

### 3. Subversion de la réponse innée et réponse adaptative

Nous avons par ailleurs montré que la subversion de la réponse innée affectait considérablement le profil de la réponse adaptative, ceci en particulier du fait de l'expression de la protéine OspF dont l'étude de la spécificité de la régulation épigénétique pour un certain nombre de promoteurs de la réponse immunitaire innée, y compris ceux qui comme l'IL-12 et l'IFN $\gamma$  orientent la réponse adaptative. Nous avons par ailleurs débuté une analyse dynamique des interactions entre lymphocytes T et cellules présentatrices d'antigènes au sein des ganglions infectés par *Shigella*. Il s'agit d'une combinaison d'approches *in vitro* et *in vivo* par observation en microscopie bi-photonique. Une première série de données indique que l'injection d'effecteurs par le TTSS entraîne un net ralentissement de la motilité des lymphocytes T. Nous tentons actuellement d'identifier le ou les effecteurs injectés qui rendent compte de ce ralentissement et quels en sont les mécanismes moléculaires.

### 4. Les diverses formes de l'infection pulmonaire par Klebsiella

Enfin, notre projet plus récent portant sur les diverses formes de l'infection pulmonaire par *Klebsiella* émerge avec l'identification de cibles originales dans l'appareil respiratoire pour *K. pneumoniae* et la caractérisation de la nature de la cellule clé (cellule de Mickulicz) du rhinosclérome, infection chronique des voies aériennes supérieures causée par *K. rhinoscleromatis*. Nous avons maintenant obtenu que soient réalisées les séquences de plusieurs génomes de klebsielles dont *K. rhinoscleromatis* et une chercheuse post-doctorale qui vient de rejoindre le laboratoire assure l'analyse génétique comparative entre ces différentes espèces et sous-espèces afin d'identifier des gènes candidats à l'expression différentielle de la pathogénicité. En parallèle, une étudiante développe une analyse génétique par mutagenèse de *K. rhinoscleromatis*, en particulier des bases moléculaires de l'induction des macrophages spumeux ou cellules de Mickulicz caractéristiques du rhinosclérome.

### Projet européen Stopenterics

L'année écoulée a été marquée, comme déjà mentionné, par mon obtention de la coordination d'un projet européen (FP7) appelé STOPENTERICS. Ce programme de 12 millions d'euros va permettre de stimuler la recherche européenne dans le domaine des vaccins contre des maladies infectieuses négligées comme les diarrhées, particulièrement celles, souvent graves chez le jeune enfant, causées par *Shigella* et par les ETEC. Ce programme va nous permettre un véritable changement de

paradigme de développement vaccinal puisque pour la première fois nous allons tenter dans les deux cas de nous extraire de la logique d'une protection dépendante des multiples sérotypes pour entrer dans la recherche d'antigènes protéiques entraînant une protection croisée sérotype-indépendante. Les premiers résultats sont encourageants et font aussi l'objet, pour *Shigella*, d'une collaboration étroite avec Sanofi-Pasteur. Par ailleurs, nous avons aussi progressé dans la preuve du concept d'un nouveau vaccin sous-unité basé sur la synthèse chimique de polyosides complexes couplés à une protéine porteuse. La longueur et la densité de greffage idéales ont été déterminées et l'immunogénicité prouvée chez la souris. Ce vaccin candidat dirigé contre le sérotype 2a de *S. flexneri* est maintenant au stade de production d'un lot GMP pour un essai clinique et sera testé au cours d'une phase I dans le cadre de STOPENTERICS.

### **Perspectives pour l'année 2010-2011**

L'enseignement que je prévois de dispenser sera centré sur le passage des barrières de l'hôte par les pathogènes. Outre l'analyse du processus de passage de la barrière d'espèce qui est au cœur du principe de l'émergence infectieuse, puisque plus de la moitié de ces émergences correspondent au passage réussi d'un pathogène de l'animal à l'homme, l'enseignement reprendra les grands mécanismes de subversion et de traversée des grandes barrières de l'organisme humain : barrière cutanée, intestinale, hémato-encéphalique, placentaire. Ces étapes clés du succès d'un processus infectieux représentent un superbe modèle intégré de pathogénicité dont l'issue peut être dramatique pour l'hôte.

En outre, le point d'orgue de cet enseignement sera au mois de mai un symposium international de deux jours que j'organiserai avec le professeur Brett Finlay (UBC Vancouver) dans le cadre de la collaboration entre le Collège de France et le Peter Wall Institute, sur le thème du microbiote commensal de l'homme. Des anomalies de celui-ci (dysbiose) semblent pouvoir naître des maladies, pour certaines attendues comme les maladies inflammatoires de l'intestin (maladie de Crohn par exemple), et d'autres inattendues comme l'obésité et le diabète. Ce pan émergent de la médecine vaut vraiment que l'on s'y attache et que l'on fasse le point en détail sur la nature de ces flores commensales, leur composition, leur stabilité, leur résilience après des altérations, leurs fonctions métaboliques et homéostatiques, les mécanismes immunologiques de leur tolérance et les anomalies amenant à la rupture de cette tolérance.

### **PUBLICATIONS 2009-2010**

#### **Articles originaux**

Mounier J., Popoff M.R., Enninga J., Frame M.C., Sansonetti P.J., Van Nhieu G.T., « The IpaC carboxyterminal effector domain mediates Src-dependent actin polymerization during *Shigella* invasion of epithelial cells », *PLoS Pathog.*, 2009, 5(1), e1000271.

Launay O., Sadorge C., Jolly N., Poirier B., Bechet S., van der Vliet D., Seffer V., Fenner N., Dowling K., Giemza R., Johnson J., Ndiaye A., Vray M., Sansonetti P., Morand P., Poyart C., Lewis D., Gougeon M.L., « Safety and immunogenicity of SC599, an oral live attenuated *Shigella dysenteriae* type-1 vaccine in healthy volunteers: results of a Phase 2, randomized, double-blind placebo-controlled trial », *Vaccine*, 2009 Feb 18, 27(8), 1184-91.

Carneiro L.A., Travassos L.H., Soares F., Tattoli I., Magalhaes J.G., Bozza M.T., Plotkowski M.C., Sansonetti P.J., Molkentin J.D., Philpott D.J., Girardin S.E., « *Shigella* induces mitochondrial dysfunction and cell death in nonmyeloid cells », *Cell Host Microbe*, 2009 Feb 19, 5(2), 123-36.

Phalipon A., Tanguy M., Grandjean C., Guerreiro C., Belot F., Cohen D., Sansonetti P.J., Mulard L.A., « A synthetic carbohydrate-protein conjugate vaccine conjugate against *Shigella flexneri* 2a infection », *J. Immunol.*, 2009 Feb 15, 182(4), 2241-7.

Viklund I.M., Aspenström P., Meas-Yedid V., Zhang B., Kopec J., Agren D., Schneider G., D'Amato M., Olivo-Marin J.C., Sansonetti P., Van Nhieu G.T., Pettersson S., « WAFL, a new protein involved in regulation of early endocytic transport at the intersection of actin and microtubule dynamics », *Exp. Cell Res.*, 2009 Apr 1, 315(6), 1040-52.

Dupont N., Lacas-Gervais S., Bertout J., Paz I., Freche B., Van Nhieu G.T., van der Goot F.G., Sansonetti P.J., Lafont F., « *Shigella* phagocytic vacuolar membrane remnants participate in the cellular response to pathogen invasion and are regulated by autophagy », *Cell Host Microbe*, 2009 Aug 20, 6(2), 137-49.

Bielig H., Zurek B., Kutsch A., Menning M., Philpott D.J., Sansonetti P.J., Kufer T.A., « A function for AAMP in Nod2-mediated NF-kappaB activation », *Mol. Immunol.*, 2009 Aug, 46(13), 2647-54.

Boullier S., Tanguy M., Kadaoui K.A., Caubet C., Sansonetti P., Corthesy B., Phalipon A., « Secretary IgA-mediated neutralization of *Shigella flexneri* prevents intestinal tissue destruction by down-regulating inflammatory circuits », *J. Immunol.* 2009 Nov 1, 183(9), 5879-85.

Coron E., Flamant M., Aubert P., Wedel T., Pedron T., Letessier E., Galmiche J.P., Sansonetti P.J., Neunlist M., « Characterisation of early mucosal and neuronal lesions following *Shigella flexneri* infection in human colon », *PLoS One*, 2009, 4(3), e4713.

Paz I., Sachse M., Dupont N., Mounier J., Cederfur C., Enninga J., Leffler H., Poirier F., Prevost M.C., Lafont F., Sansonetti P., « Galectin-3, a marker for vacuole lysis by invasive pathogens », *Cell Microbiol.*, 2009 Nov 27.

Sellge G., Magalhaes J.G., Konradt C., Fritz J.H., Salgado-Pabon W., Eberl G., Bandeira A., Di Santo J.P., Sansonetti P.J., Phalipon A., « Th17 cells are the dominant T cell subtype primed by *Shigella flexneri* mediating protective immunity », *J. Immunol.*, 2010 Feb 15, 184(4), 2076-85.

Ray K., Bobard A., Danckaert A., Paz-Haftel I., Clair C., Ehsani S., Tang C., Sansonetti P., Tran G.V., Enninga J., « Tracking the dynamic interplay between bacterial and host factors during pathogen-induced vacuole rupture in real time », *Cell Microbiol.*, 2010 Apr 1, 12(4), 545-56.

Dharancy S., Body-Malapel M., Louvet A., Berrebi D., Gantier E., Gosset P., Viala J., Hollebèque A., Moreno C., Philpott D.J., Girardin S.E., Sansonetti P.J., Desreumaux P., Mathurin P., Dubuquoy L., « Neutrophil migration during liver injury is under nucleotide-binding oligomerization domain 1 control », *Gastroenterology*, 2010 Apr, 138(4), 1546-56, 1556.e1-5.

Marteyn B., West N.P., Browning D.F., Cole J.A., Shaw J.G., Palm F., Mounier J., Prevost M.C., Sansonetti P., Tang C.M., « Modulation of *Shigella* virulence in response to available oxygen *in vivo* », *Nature*, 2010 May 20, 465(7296), 355-8.

## Revue

Bhattacharya S., Black R., Bourgeois L., Clemens J., Cravioto A., Deen J.L., Dougan G., Glass R., Grais R.F., Greco M., Gust I., Holmgren J., Kariuki S., Lambert Ph., Liu M.A., Longini I., Nair G.B., Norrby R., Nossal G.J., Ogra P., Sansonetti P., Von Seidlein L., Songane F., Svennerholm A.M., Steele D., Walker R., « Public health. The cholera crisis in Africa », *Science*, 2009 May 15, 324(5929), 885.

Ray K., Marteyn B., Sansonetti P.J., Tang C.M., « Life on the inside: the intracellular lifestyle of cytosolic bacteria », *Nat. Rev. Microbiol.*, 2009 May, 7(5), 333-40.

Sansonetti P.J., « Framing a concept and an agenda for infectious diseases in EMBO Molecular Medicine », *EMBO Mol. Med.*, 2009 Jul, 1(4), 193-4.

Sansonetti P.J., Medzhitov R., « Learning tolerance while fighting ignorance », *Cell*, 2009 Aug 7, 138(3), 416-20.

## Rédaction de chapitre ou édition d'ouvrages

Éditeur de « Bacterial Virulence, Basic Principles, Models and Global Approaches », *Infection Biology Handbook Series*, Wiley-Blackwell, 2010.

Schnupf P., Sansonetti P.J., « The gut microbiota and its contribution to homeostasis », in Sansonetti P.J. (éd.), *Bacterial Virulence, Basic Principles, Models and Global Approaches*, Wiley Blackwell, 2010, 195-214.

Sellge G., Schnupf P., Sansonetti P.J., « Anatomy of the Gut Barrier and Establishment of Gut Homeostasis », in, Sansonetti P.J. (éd.), *Bacterial Virulence, Basic Principles, Models and Global Approaches*, Wiley Blackwell, 2010, 215-249.

## Activités en tant qu'éditeur de journaux scientifiques internationaux

Durant l'année 2009-2010, j'ai poursuivi mes activités d'éditeur de *Cellular Microbiology*, le journal de référence de notre discipline que j'ai créé en 1999 avec Richard Stephens (États-Unis) et David Sibley (États-Unis).

J'ai par ailleurs participé au lancement en 2009, en tant que « senior editor », d'un nouveau Journal de la série *EMBO : EMBO Molecular Medicine*. Je m'occupe dans ce journal de la section « Molecular Medicine and Infectious Diseases » et j'ai écrit l'éditorial fondateur assurant le cadrage du champ des articles attendus dans ce journal dans notre discipline.

## RÉUNIONS ET COLLOQUES SCIENTIFIQUES

### Organisation de réunions scientifiques

J'ai créé cette année une nouvelle section de la Société française de microbiologie (SFM), la section de Pathogénicité microbienne. Il semblait indispensable que notre discipline soit clairement représentée au sein de la SFM. Cette création a donné lieu à deux minicolloques inauguraux que j'ai organisés avec mes collègues Xavier Nassif, Jean Dubuisson et Éric Oswald lors du congrès de la SFM qui s'est tenu à Marseille du 2 au 4 juin 2010. L'un des minicolloques portait sur les

mécanismes de passage des barrières de l'organisme par les pathogènes et l'autre sur les mécanismes de modulation de la réponse immunitaire par les pathogènes.

J'ai organisé les 12 et 13 avril 2010, au Collège de France, en collaboration avec Philippe Kourilsky, titulaire de la chaire d'Immunologie moléculaire, un symposium international de vaccinologie intitulé : *Vaccines of the future, learning from nature to do better than nature*.

### Participation à des cours/événements scientifiques internationaux

- BIOVISION, Lyon, 8-9/03/2009, Chair session : « Managing urban epidemics, Infectious Diseases ».
- Pasteur Cell Biology Course, Hong Kong, 4-8/04/2009, « The cell biology of *Shigella* invasion ».
- Inaugural lecture, Inauguration of Institut Pasteur – Korea, Seoul, 6-10/05/2009.
- 109th General Meeting of the American Society for Microbiology, Philadelphie, 16-21/05/2009, GSK Award of the ASM Scientist of the Year, « Meeting challenges at epithelial cell surface: learning lessons from *Shigella* ».
- International Conference on Intracellular Niches of Microbes, Borstel, 17-19/06/2009, « Herman Fröhlich Memorial Lecture ».
- First World Health Summit, Charité, Berlin, 16-18/09/2009, « Infectious diseases : a research agenda ».
- Keynote Lecture, 3rd Annual Scientific Symposium on Enteric bacterial pathogens : from mechanisms to therapeutics, Harvard Medical School, 10/11/2009, « *Shigella* as a model to study subversion of innate epithelial defense mechanisms of the gut ».
- Keynote lecture : SAIB Meeting, San Miguel de Tucuman, Argentine, 11-15/11/2009, XLV Annual meeting of the Argentina Society for Biochemistry and Molecular Biology.
- Cours à l'Institut Pasteur de Montevideo et à la Faculté de Médecine de l'Université d'Uruguay, 15-25/11/2009 : « Rupture invasion and inflammatory destruction of the gut epithelium by *Shigella* : the Yin and the Yang of innate immunity » ; « The gut microbiota : learning tolerance while fighting ignorance ».
- Keynote lecture : 83rd Meeting of the Japanese Society for Bacteriology, Yokohama, Japan, 27-29/03/2010, « Pathogens and commensals at mucosal surfaces : the Yin and the Yang of innate immunity ».
- Keynote seminar : « Frontier leaders of today for the scientists of tomorrow » itqb Phd Program, Lisbonne, 30/04/2010, « *Shigella* at intestinal mucosal surface : the Yin and the Yang of innate immunity ».
- Honorary lecture : First « Emmanuelle Caron Lecture », Imperial College, London, 16/06/2010, « From commensals to pathogens, the Yin and the Yang of innate immunity ».

### Séminaires scientifiques en France et à l'étranger

J'ai donné de nombreux séminaires scientifiques sur invitation dans des universités, centres de recherche, ou à l'occasion de colloques/conférences scientifiques. J'en propose ici une sélection.

- Séminaire, Sanger Institute, Cambridge, UK, 20/03/2009 : « Molecular and cellular strategies of *Shigella* survival on epithelial surfaces : the Yin and Yang of innate immunity ».
- Séminaire, Institut Gustave Roussy, 03/06/2009: « Epithelial invasion by *Shigella* : the Yin and the Yang of innate immunity ».
- FEMS 2009, Göteborg, 28/06/2009, Microbial Pathogens, Host Susceptibility and Response, Chairman of the Session : « *Shigella* as a model of subversion of immune responses by bacterial pathogens ».

- Gordon Research Conference, Salve Regina, Newport, 26-30/07/2009, Discussion leader Infection & Immunity session.
- EMBO Meeting, Amsterdam, 29/08/2009, Microbial Pathogenesis session.
- Howard Hughes Medical Institute Investigators Meeting, Chevy Chase (USA), 13-17/09/2009 : « Molecular Cross talks between a microbial invader and the epithelial surface ».
- Annual Conference of the German Genetics Society, Cologne (Allemagne), 17-18/09/2009 :« Invasion of the intestinal epithelium by *Shigella* : The Yin and the Yang of innate immunity ».
- Séminaire, MRC National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, 10/06/2010 :« Life at epithelial surface : how *Shigella* deals with this microenvironment and controls innate defences ».

### ÉVALUATION SCIENTIFIQUE

J'ai effectué plusieurs missions d'évaluation scientifique. Parmi celles-ci, les plus importantes ont été :

- Présidence du Comité AERES d'évaluation de l'institut de Pharmacologie et biologie structurale de Toulouse, 13-16/12/2009
- Participation à l'évaluation du Programme « Immunology and Infection », Instituto de Medicina Molecular, Lisbonne, 18-19/01/2010
- Présidence du Panel Infection & Immunity (LS6) European Research Council Young Investigators Program. ERC, Bruxelles, 24-26/02 and 2-4 /05/2010 (même activité en 2009).

J'ai participé à, voire présidé, plusieurs jury de thèse en France.

J'ai été nommé en mai 2010 membre du conseil de fondation de la Fondation Louis Jeantet, faisant suite à ma participation au conseil scientifique de cette Fondation depuis 2003.

