

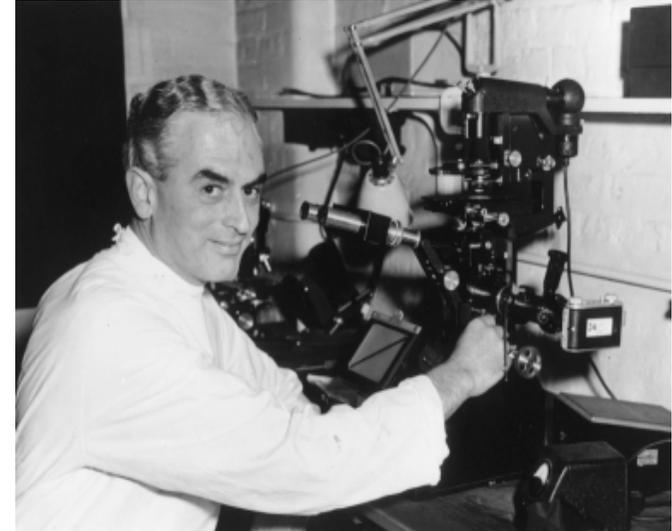
# Homéostasie de l'interface hôte-commensaux: furtivité ou tolérogénèse active ?

Leçon # 5: furtivité

Philippe Sansonetti  
Chaire de Microbiologie et Maladies Infectieuses



En 1948, Peter Medawar, l'un des pionniers de la transplantation, introduit le terme d' «organe immunoprivilégié » pour illustrer l'observation que des greffes de tissus allogéniques pouvaient survivre de façon prolongée, sans rejet, lorsque réalisées au sein de certains organes comme l'utérus gravide, l'ovaire, le testicule, ainsi que des régions de l'œil et du cerveau.



On crut initialement qu'il s'agissait de mécanismes passifs d' «ignorance immunologique », les cellules du tissu greffé étant cachées du système immunitaire du fait de barrières vasculaires et de l'absence de vaisseaux lymphatiques drainant ces sites.

Dès 1970, Kaplan et Streilein démontraient qu'un antigène placé dans la chambre antérieure de l'œil générait une réponse immunitaire, mais ne subissait pas de rejet (Kaplan HJ & Streilein JW. 1977. J.Immunol.,118:809-814).

La situation d' «immunoprivilège » fut dès lors considérée comme un phénomène actif plutôt que passif. Le concept inclus maintenant les régions/organes utilisant des processus immunorégulateurs qui suppriment activement les réponses immunitaires pathologiques, en particulier inflammatoires contre cellules et antigènes allogènes présents.

Le phénomène d' »**immunoprivilège** » concerne des organes qui bénéficient d'une protection immunitaire tout en évitant une réponse inflammatoire, immunopathologique interférant gravement avec leur physiologie (Strelein JW. 1993. Curr.Opin.Immunol.,5:428-432).

L'intestin est maintenant considéré comme un paradigme central à ce concept d'organe immunoprivilégié (Iweala OI & Nagler CL. 2006. Immunol.Rev.,213:82-100)

Rationnel de ce privilège: tolérer les deux entités allogènes auxquelles la muqueuse intestinale est constamment exposée: **les aliments** et le **microbiote**.

Cet immunoprivilège s'applique à d'autres sites exposés: cavité buccale (en particulier gencive), follicules pileux, muqueuse vaginale.

# Genres/espèces bactériennes prédominantes

## Surface

## Microorganismes prédominants



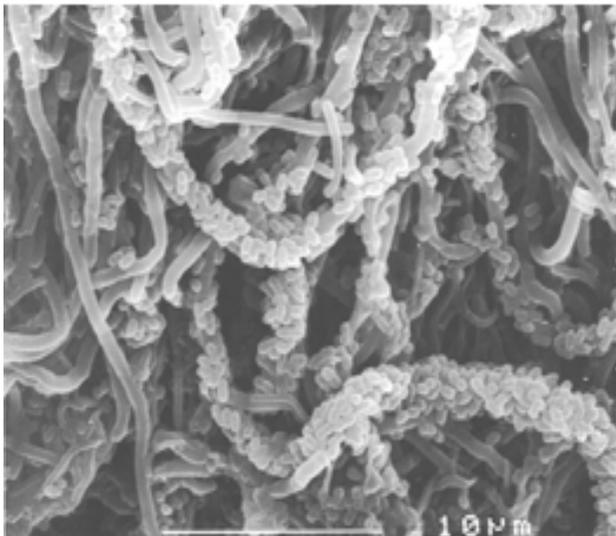
Peau / follicule pileux

Peau &  
follicules pileux

*Staphylococcus epidermidis*  
*Staphylococcus aureus* (40-60% porteurs)  
Propionibactéries (*P. acnes*)  
Corynébactéries  
Zones lipidiques:  $10^6$ - $10^7$  CFU/cm<sup>2</sup>  
Zones humides :  $10^5$ - $10^8$  CFU/cm<sup>2</sup>  
Zones sèches :  $10^3$ - $10^4$  CFU/cm<sup>2</sup>

Cavité buccale

500 espèces,  $10^{10}$  CFU/ml de salive  
Streptocoques +++  
*Staphylococcus epidermidis*  
*Neisseria* non pathogènes  
Corynébactéries  
Anaérobies



Surface émail dentaire

Voies aériennes  
supérieures

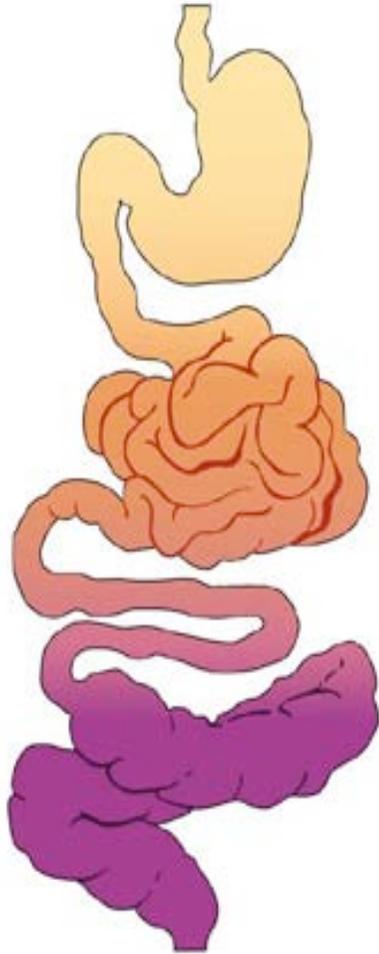
$10^8$ - $10^9$  CFU/cm<sup>2</sup>  
Streptocoques  $\alpha$ -hémolytiques  
*Neisseria* non pathogènes  
Corynébactéries  
*Staphylococcus epidermidis*  
Portage: *Streptococcus pneumoniae*,  
*Haemophilus influenzae*, Streptocoques  $\beta$ -hémolytiques,  
*Neisseria meningitidis*

Cavité vaginale

Lactobacilles  
 $10^5$ - $10^7$  CFU/ml ou g prélevé

Intestin...

# L'homme est un hybride primate-microbes



Estomac:  $10-10^3$  CFU/ml,  
*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, Entérobactéries,  
*Helicobacter*, levures

Duodénum et jéjunum:  $10^2-10^5$  CFU/ml,  
*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, Entérobactéries,  
*Staphylococcus*, levures

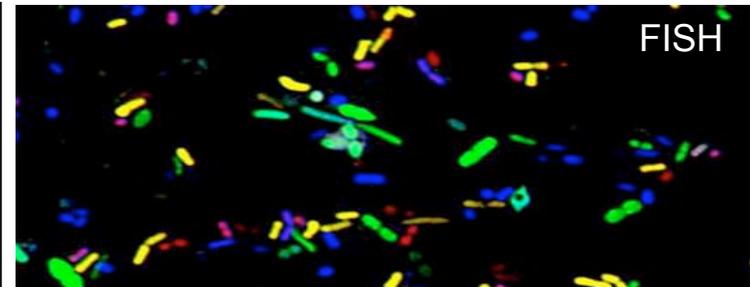
Iléon et caecum:  $10^3-10^9$  CFU/ml,  
*Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, Entérobactéries,  
*Staphylococcus*, *Clostridium*

Colon (500-1000 espèces, peut être 10000-30000 !):  $10^{10}-10^{12}$  CFU/g,  
*Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*,  
*Fusobacterium*, *Lactobacillus*, Entérobactéries, *Staphylococcus*, levures,  
Anaérobies méthanogènes (archaeobactéries en symbiose avec eubactéries  
anaérobies strictes: *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*)

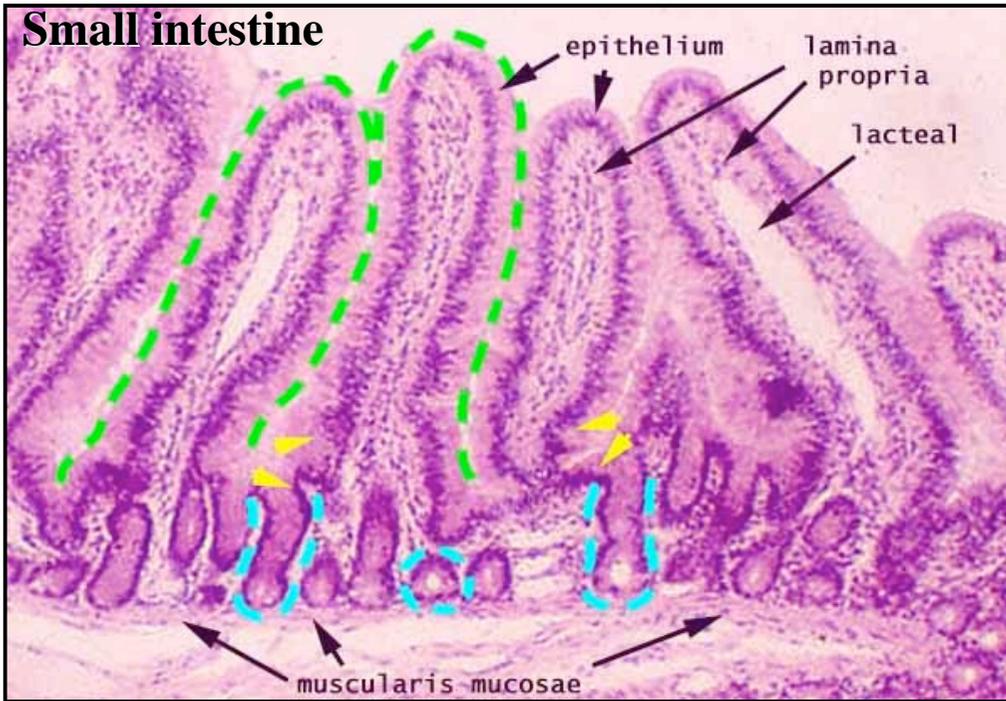
Les bactéries résidentes sont 10 fois plus nombreuses que les cellules somatiques et germinales du corps humain et représentent, combinées, un métagénome dont le nombre de gènes est 100 fois supérieur à celui du génome humain (Shanahan, 2002).

La flore intestinale a une activité métabolique globale égale à celle d'un organe comme le foie (Bocci, 1992).

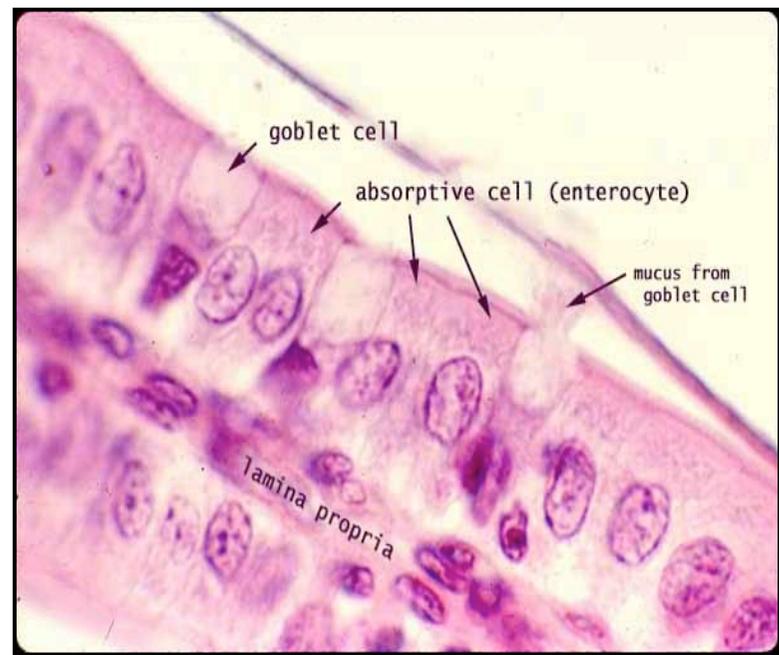
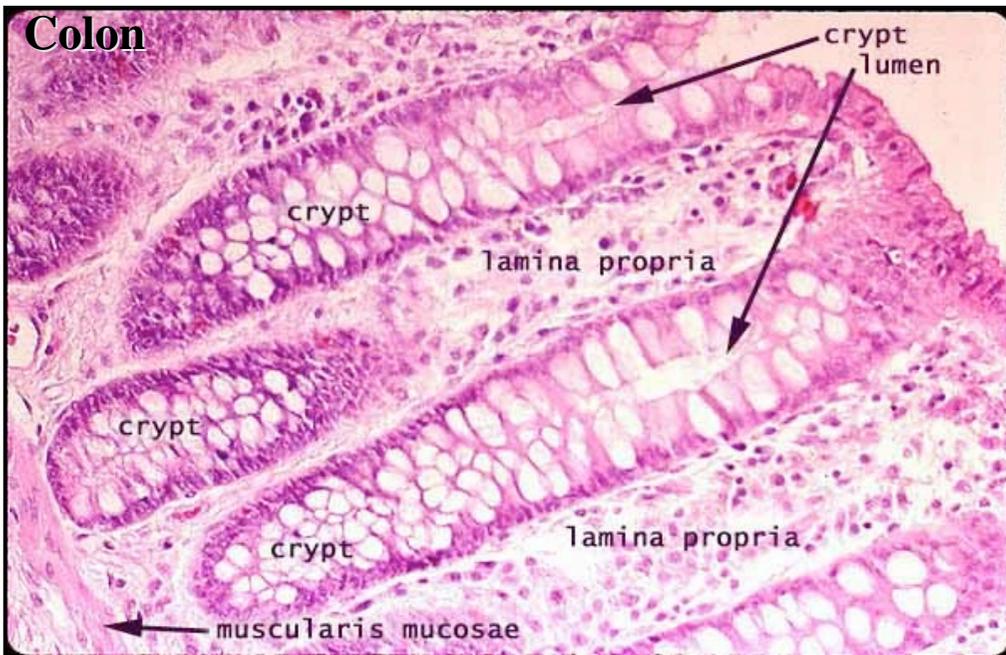
La séquence du métagénome de flores intestinales est en cours.



### Small intestine



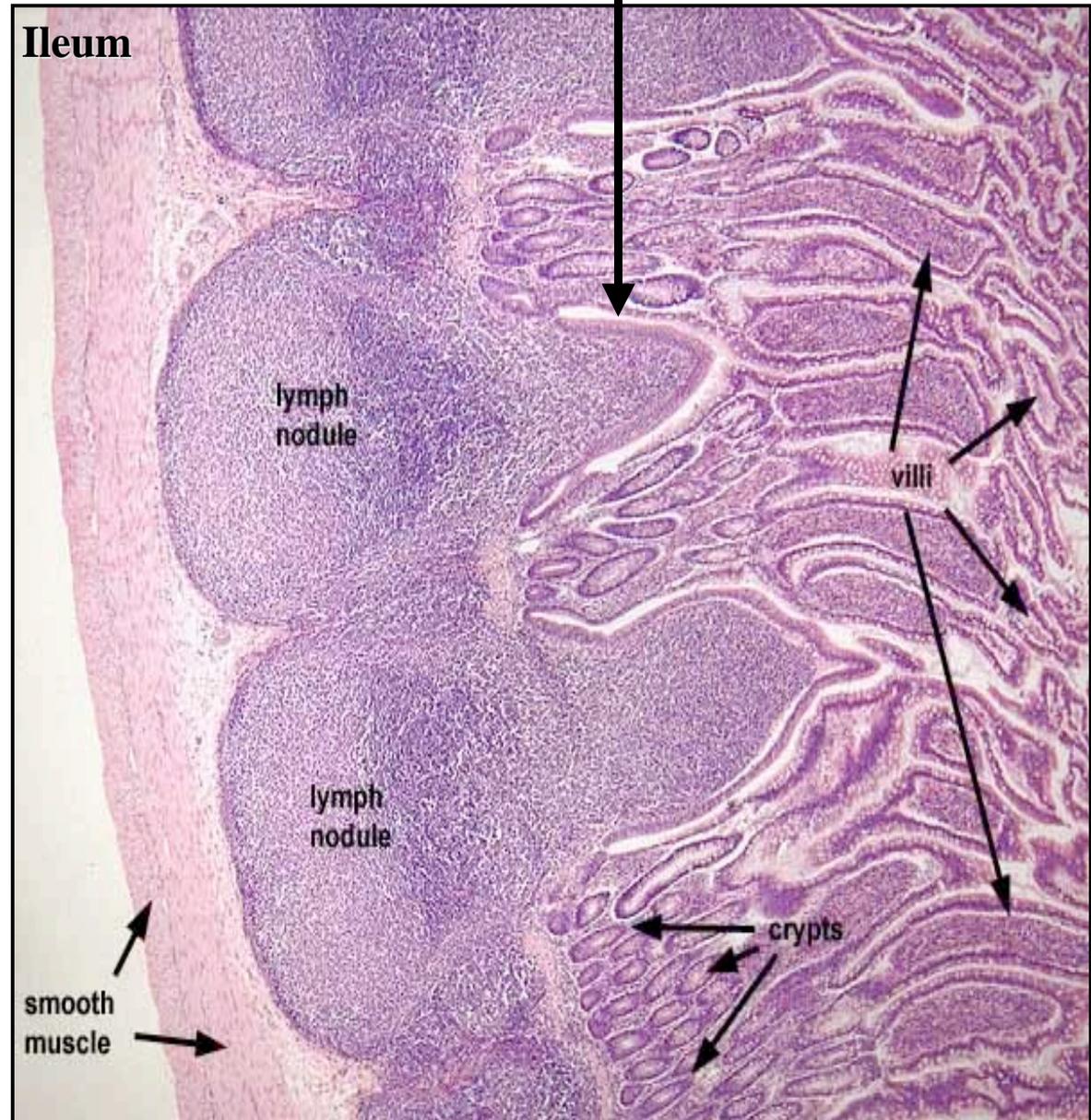
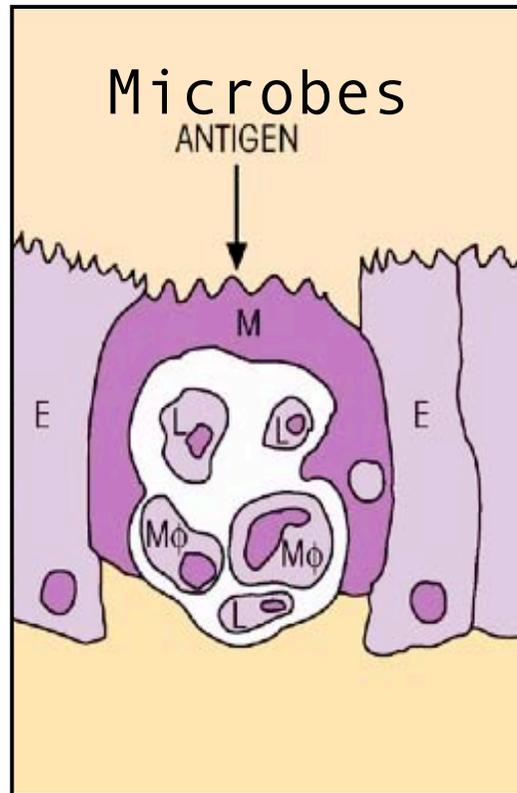
### Colon



# Follicle-Associated Epithelium (FAE)

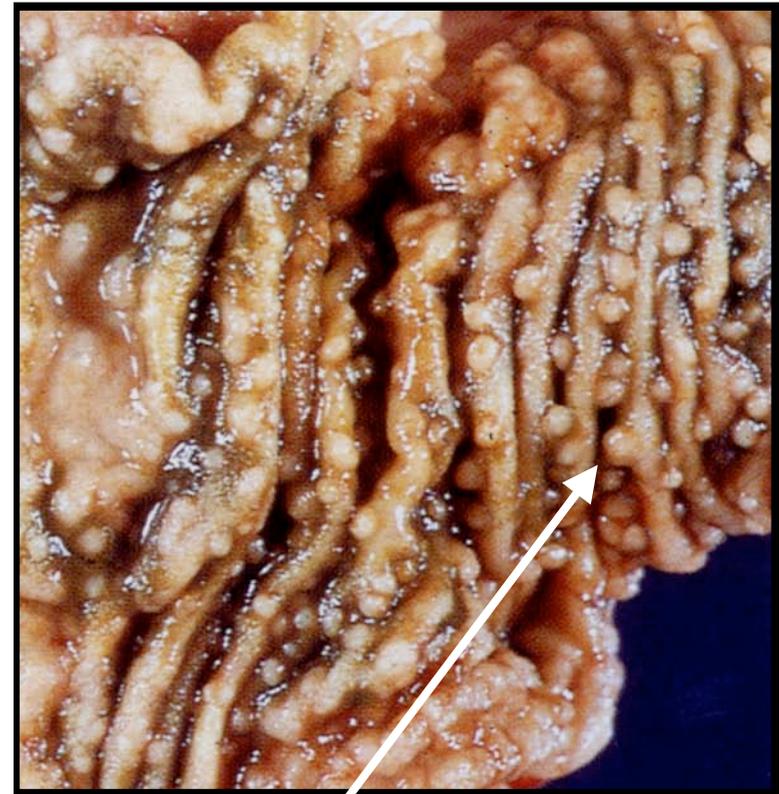
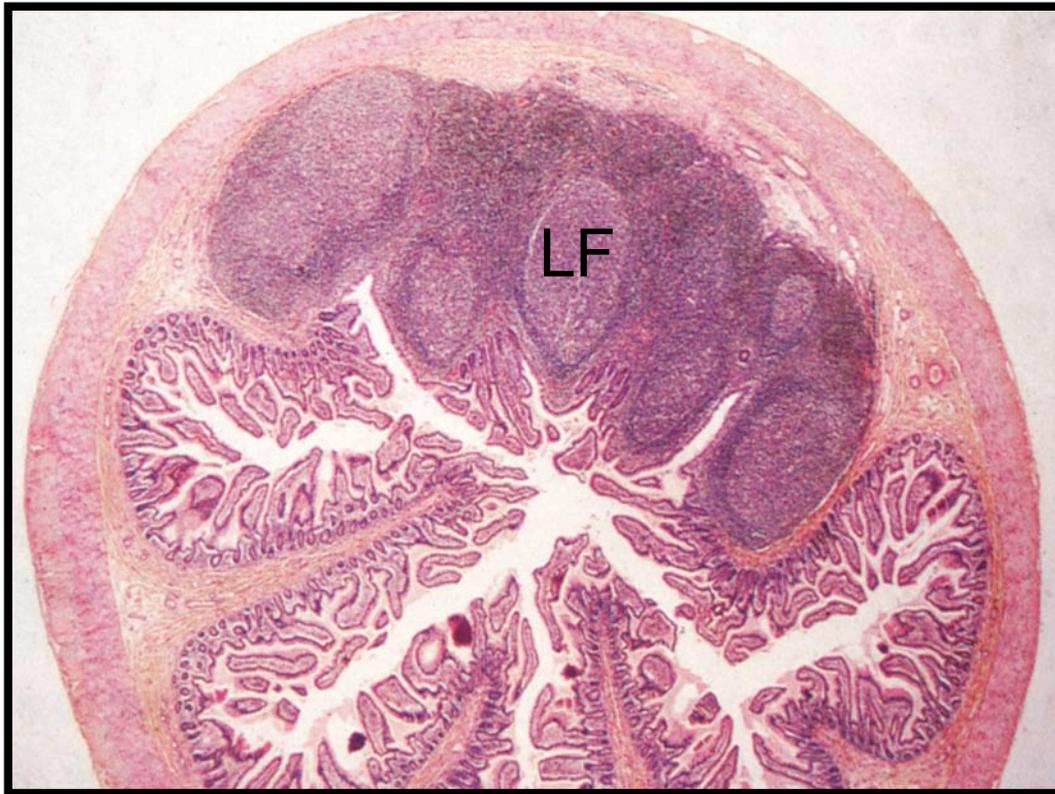
Plaque de Peyer →

Cellule M ↓



# Follicules lymphoïdes (LF) et Plaques de Peyer (PP) dans l'iléon humain

PP



Follicules lymphoïdes

# Fonctions majeures de la flore commensale colique

## Métabolisme et nutrition

- Hydrolyse et fermentation des polysides (amidon résistant et polysides végétaux complexes pour lesquels les enzymes ne sont pas disponibles)
- Hydrolyse du mucus endogène (ex.: *Akkermansia muciniphila*)
- Biosynthèse de vitamines (vitamine K, H, acide folique)
- Production d'acides gras à chaînes légères (ex.: le butyrate d'origine microbienne représente 50 % des sources d'hydrates de carbone des cellules épithéliales coliques)
- Métabolisme des xénobiotiques alimentaires

## Effet de barrière contre les microorganismes allogènes / pathogènes

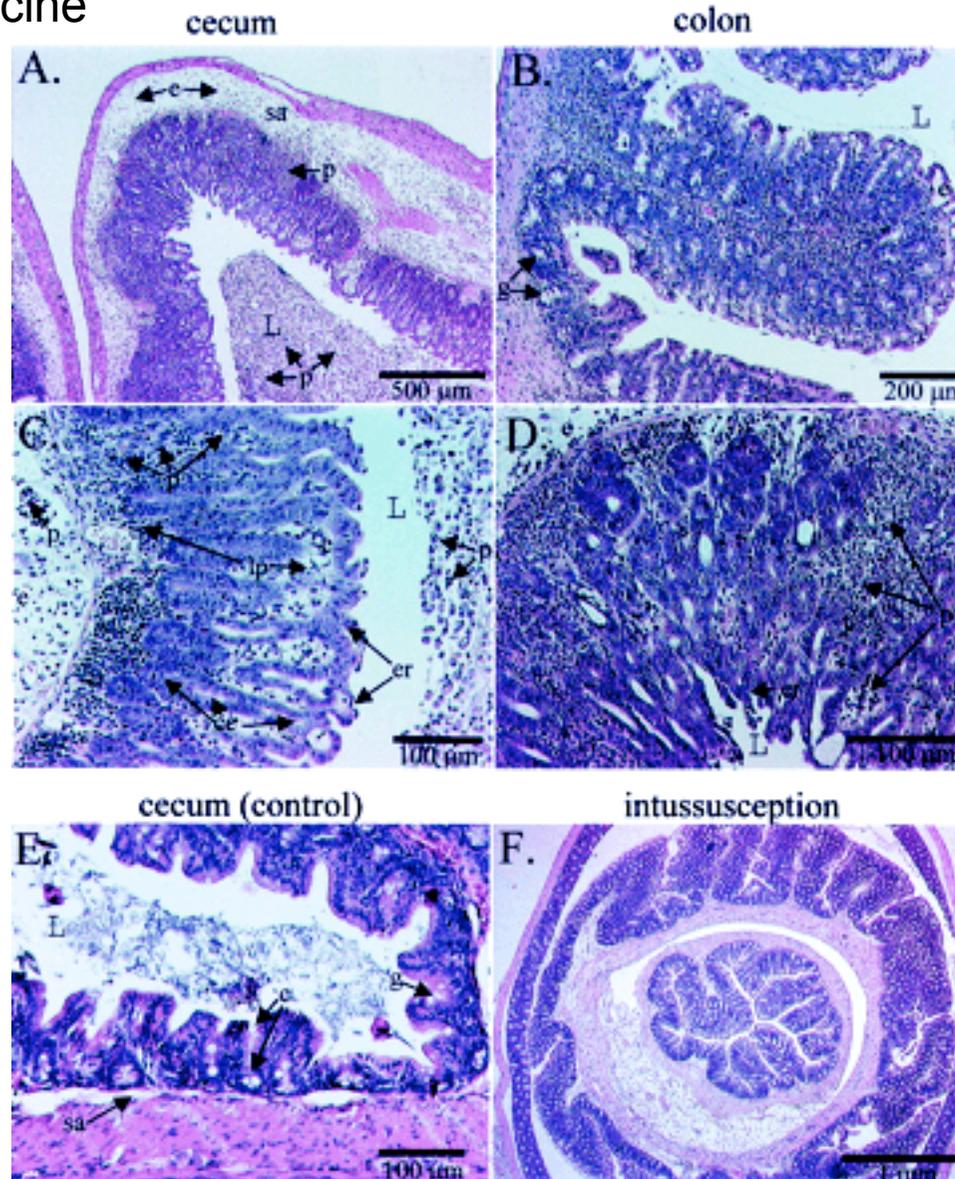
- Compétition pour des récepteurs et des nutriments
- Production de molécules bactéricides (acide lactique, bactériocines) et de bactériophages

## Homéostasie de la barrière épithéliale intestinale

- Renouvellement / restitution de l'épithélium, signalisation tolérogène
- Renforcement de la barrière épithéliales (jonctions serrées)
- Développement et maintien du système immunitaire muqueux, IgA
- Développement du tissu sous-épithélial (réseau vasculaire)

## Effet de barrière du microbiote résident

Iléo-colite causée par *Salmonella typhimurium* chez des souris traitées oralement par la streptomycine



Pré-traitement  
par la  
streptomycine

Pas de  
pré-traitement  
Par la  
streptomycine

## Effet de barrière du microbiote résident

### Effet de barrière des commensaux contre l'occupation de la niche intestinale par des pathogènes

(Stecher & Hardt, Trends Microbiol., 2008; Sansonetti, Curr.Opin.Gastroenterol., 2008)

---

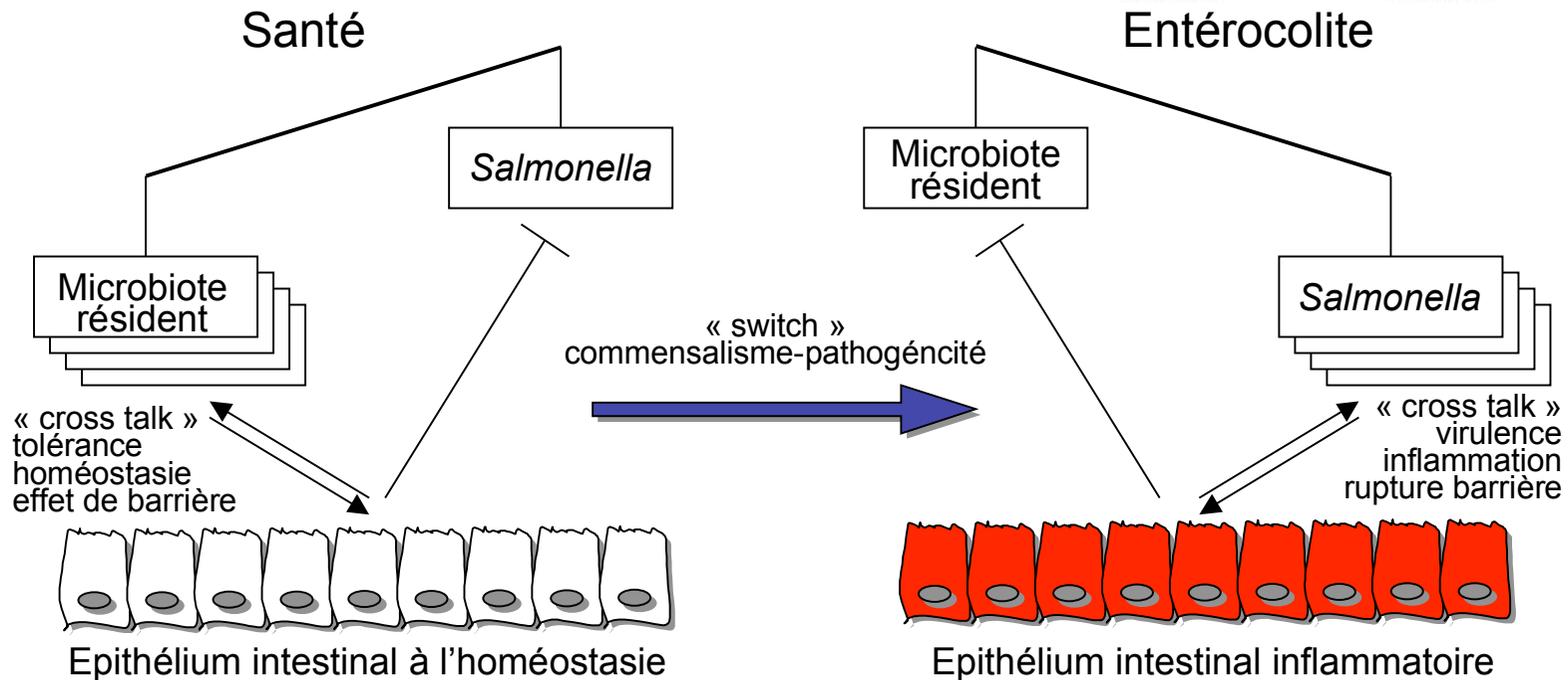
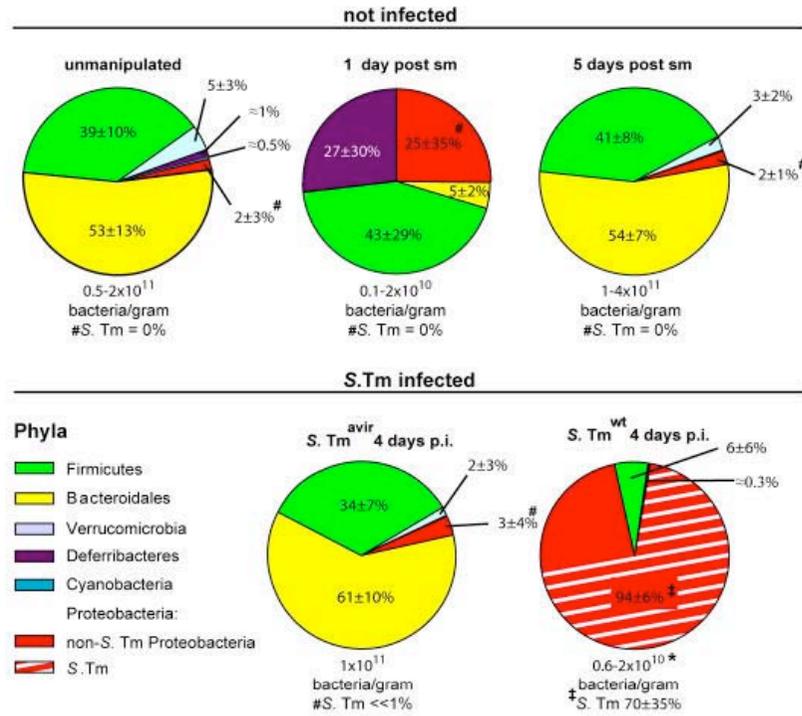
Les pathogènes altèrent la composition / éliminent la microflore résidente pour occuper la niche intestinale, essentiellement par stimulation d'effecteurs de la réponse immunitaire innée: ROS, NOS, etc...). (i) Infection de l'intestin murin par *Citrobacter rodentium* and *Campylobacter jejuni*. (ii) Entérocolite expérimentale murine en réponse à DDS/TNBZ  
Ces deux conditions causent une « rétraction » de la diversité de la flore résidente, particulièrement une diminution massive des Firmicutes et une augmentation importante des protéobactéries, surtout Entérobactéries (Lupp et coll., Cell Host Microb., 2007)

Les pathogènes bénéficient de l'inflammation si proprement maîtrisée. Démonstration dans un modèle murin d'infection intestinale par *Salmonella typhimurium* d'une rétraction de la flore résidente et d'un bénéfice pour la croissance des microorganismes d'une acquisition « inflammation-dépendante » de nutriments (Stecher et coll., PLoS Biol., 2007)

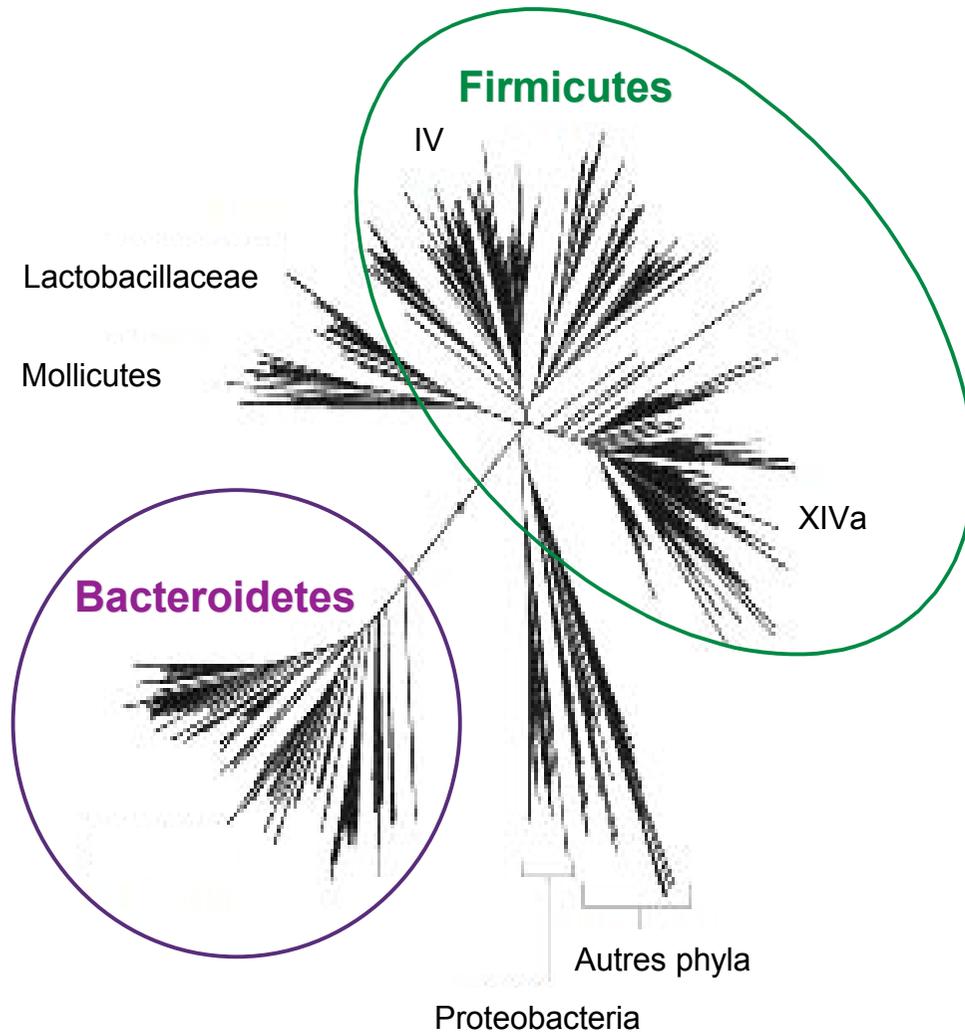
# Effet de barrière du microbiote résident

## « Ménage à trois » Microbiote - hôte - pathogène

(Stecher et coll., 2007, PLoS Biol  
Pédrón & Sansonetti, 2008, Cell Host & Microbe)

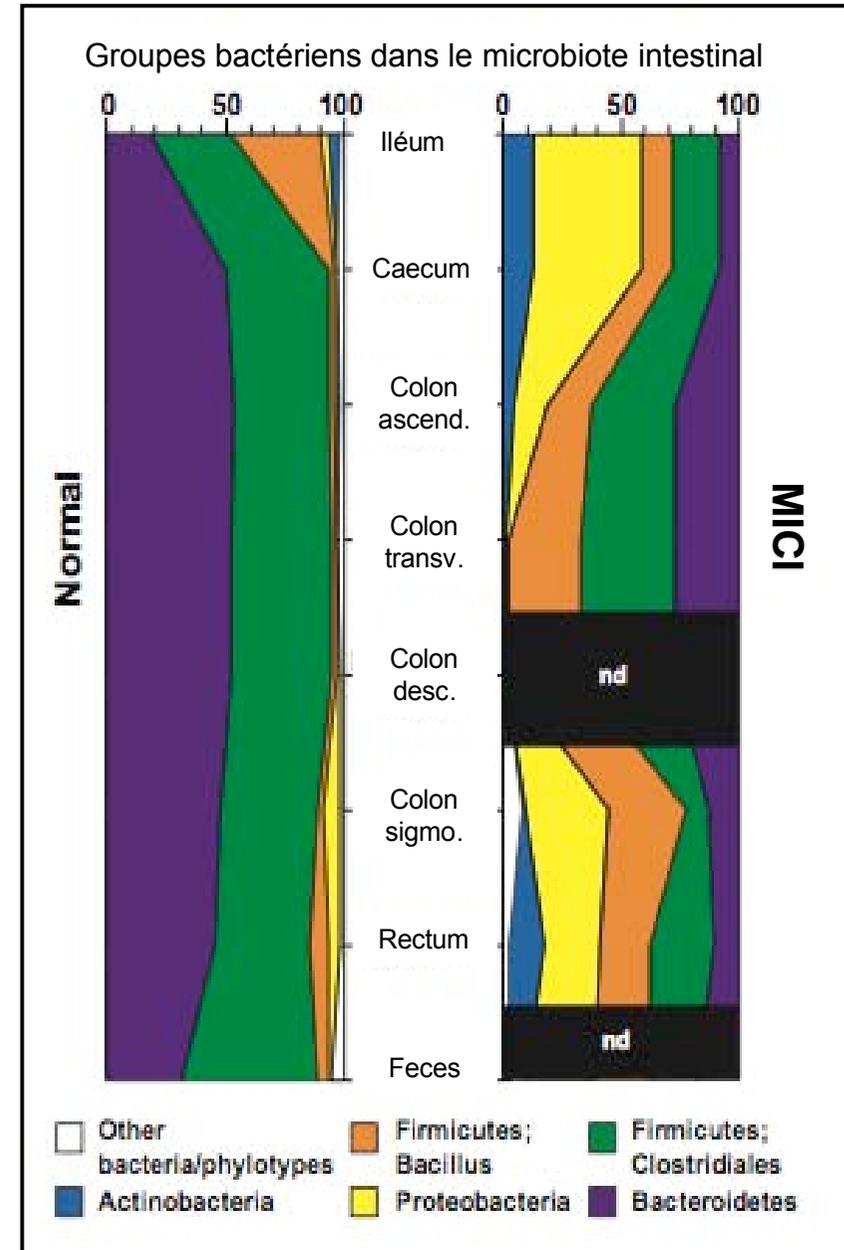


# Le microbiote de l'intestin humain



La majorité des bactéries intestinales appartiennent aux Firmicutes, surtout les « clusters » XIVa et IV regroupant des anaérobies à Gram positif de bas GC % extrêmement sensibles à l'oxygène (EOS) et largeent incultivables, et aux Bacteroidetes regroupant des anérobies à Gram négatif.

D'après Frank & Dale, 2007



D'après Peterson et coll., 2008

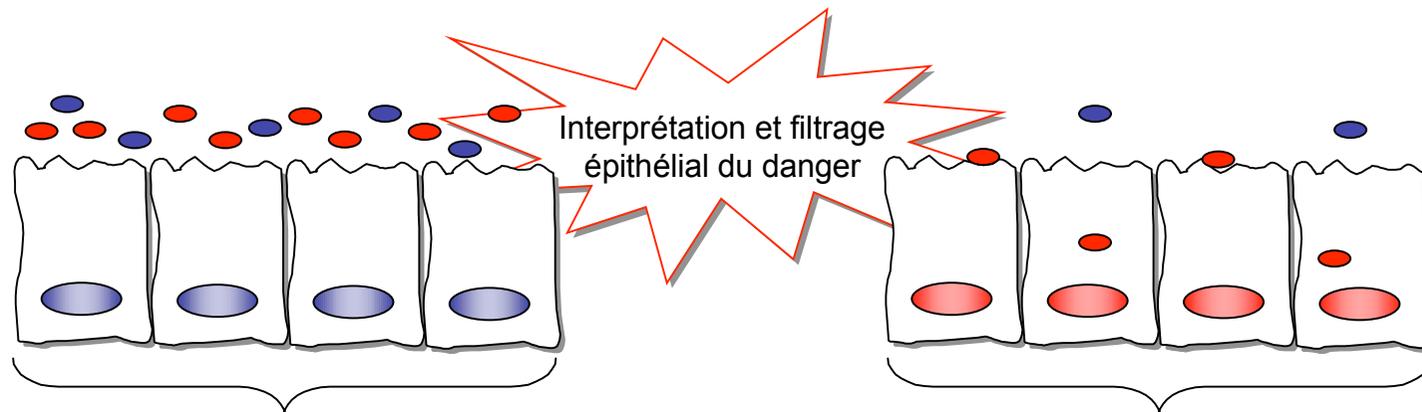
# Communication microbiote résident - hôte à la surface muqueuse

- Une défense optimale de l'hôte requiert l'interprétation très précise de son environnement microbien pour être en mesure de discriminer entre des bactéries commensales résidentes stablement établies à respecter et des pathogènes épisodiques à éradiquer. C'est le pré-requis au développement d'une réponse proportionnelle à la menace:

« inflammation physiologique » nécessitant des « signaux de danger ».

- L'épithélium représente la première ligne de défense grâce à ses propriétés de perception et d'échantillonnage des bactéries commensales et pathogènes, de production de facteurs antimicrobiens (peptides anti-microbiens) et d'orchestration des fonctions des cellules *bona fide* du système immunitaire: polynucléaires, cellules dendritiques (DC), macrophages résidents et lymphocytes T.

Nécessité de récepteurs assurant la perception de molécules propres au monde procaryote et une combinaison de signaux induits amenant à l'induction de l'expression de cytokines et chimiokines régulant le trafic, le niveau d'activation et l'orientation de la réponse des cellules immunitaires.

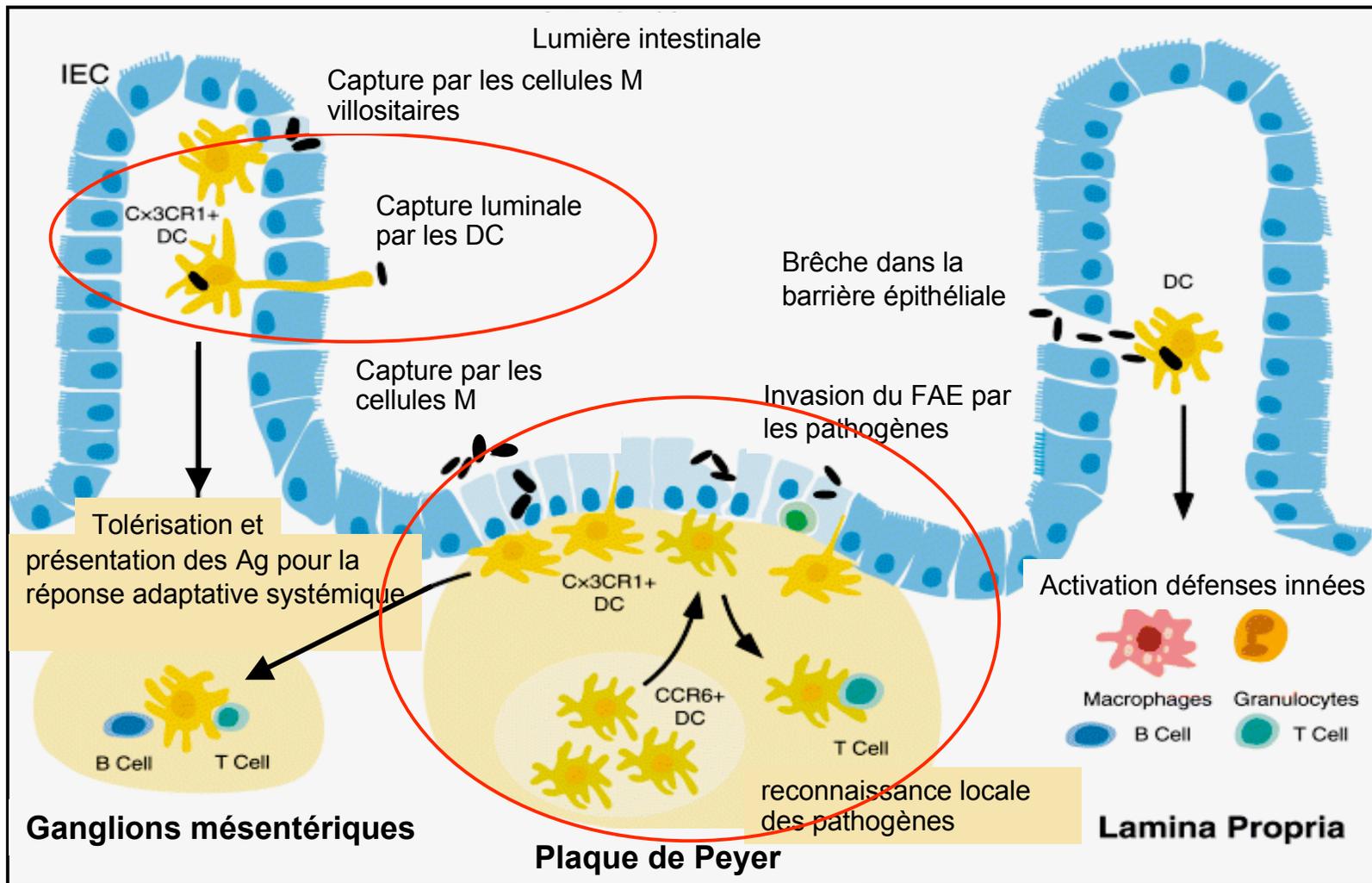


Molécules/signaux tolérogènes aux cellules immunes  
TLSP, TGF- $\beta$ ...

Molécules/signaux pro-inflammatoires aux cellules immunes  
IL-6, IL-8, CCL20, TNF $\alpha$ , ICAM-1...

# Echantillonnage des bactéries du microbiote résident et des pathogènes par l'épithélium intestinal

(D'après Niess & Reinecker, 2006, Cell.Microbiol.)



Echantillonnage des commensaux par les DC

Rescigno et coll., 2001, Nat.Immunol.  
Serano-Gomez et coll., 2004, J.Immunol.  
Niess et coll., 2005, Science

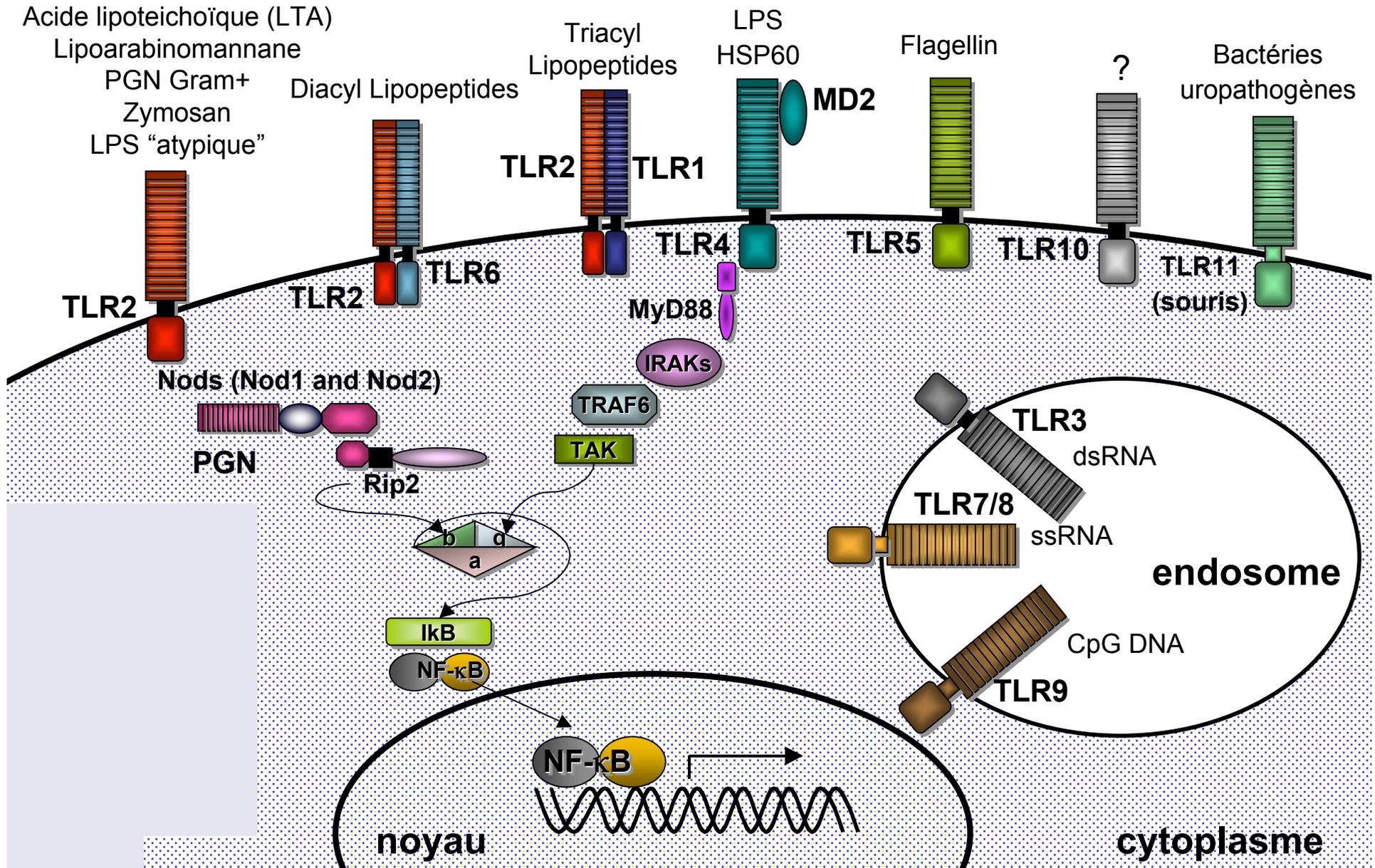
Echantillonnage des commensaux et des pathogènes par les cellules M

Sansonetti & Phalipon,  
1999, Semin.Immunol.

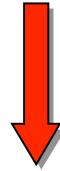
Autres mécanismes:  
Apoptose des IEC, capture par IEC ?

Vallon-Eberhard, 2006, J.Immunol.

# “PATHOGEN RECOGNITION RECEPTORS (PRRs)” & PAMPs



Microbiote / PAMPs

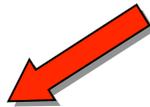


PRRs



Maturation du  
système immunitaire

Induction de la  
tolérance  
&  
Maintien de  
l'homéostasie



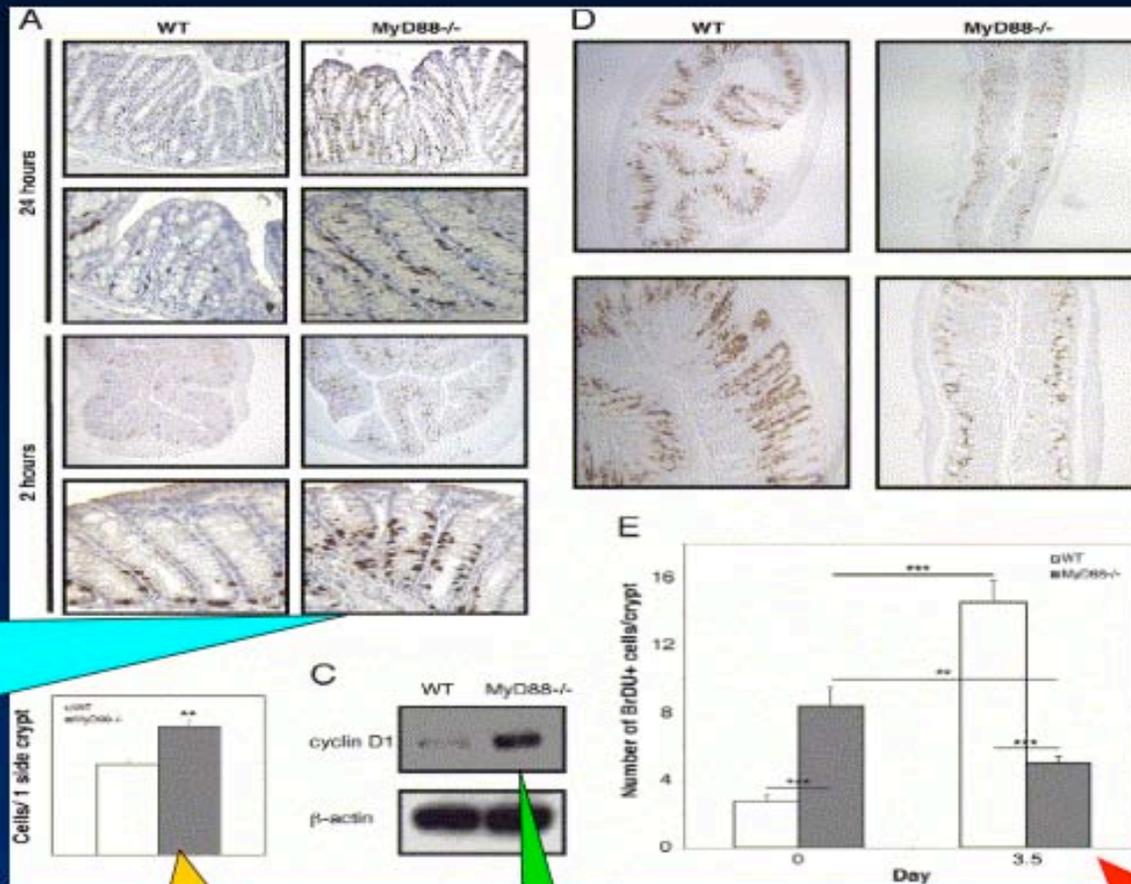
Muqueux

Systémique

# Les TLRs sont requis pour maintenir l'homéostasie de l'épithélium intestinal en présence du microbiote résident (Rakoff-Nahoum et al., Cell, 2005)

Dysregulated proliferation and differentiation of gut epithelium in absence of TLR signaling

Cells proliferating in middle and upper regions of crypt



More proliferating cells per crypt at baseline

More cycling cells

More sensitive to radiation injury

Deficient crypt repopulation following radiation injury

# Innate and Adaptive Immunity Cooperate Flexibly to Maintain Host-Microbiota Mutualism

Emma Slack,<sup>1,2\*</sup> Siegfried Hapfelmeier,<sup>1,3</sup> Bärbel Stecher,<sup>2</sup> Yuliya Velykoredko,<sup>1</sup> Maaike Stoel,<sup>1</sup> Melissa A. E. Lawson,<sup>1</sup> Markus B. Geuking,<sup>1</sup> Bruce Beutler,<sup>3</sup> Thomas F. Tedder,<sup>4</sup> Wolf-Dietrich Hardt,<sup>2</sup> Premysl Bercik,<sup>1</sup> Elena F. Verdu,<sup>1</sup> Kathy D. McCoy,<sup>1</sup> Andrew J. Macpherson<sup>1,5\*</sup>

Slack E et coll. 2009. Science,325:617-620

Un continuum « flexible » existe entre les fonctions immunitaires innées et adaptatives dans le contrôle du microbiote commensal.

Des souris déficientes dans un élément critique de la réponse innée aux microorganismes: voie TLR (*Myd 88*-/-) ou burst oxydatif (ttt. AINS) produisent spontanément des titres d'anticorps dirigés contre leur microbiote beaucoup plus élevés que ceux des animaux wt.

Cette réponse adaptative accrue est fonctionnellement essentielle pour maintenir le mutualisme hôte-microbiote dans des conditions de déficit de la réponse innée.

L'hyper-activation spontanée de la réponse adaptative en cas de défaut de la réponse innée ouvre une perspective intéressante sur les mécanismes sous-tendant la survenue de processus inflammatoire immunopathologiques (ex. Nod2 et Maladie de Crohn).

# Immunoprivilège de l'intestin

Le système immunitaire est exposé en permanence à des antigènes étrangers: antigènes alimentaires, composants du microbiote commensal et antigènes propres aux microorganismes pathogènes.

La plupart de ces antigènes pénètrent au travers des surfaces muqueuses, en particulier la muqueuse intestinale.

De ce fait, l'intestin et les organes lymphoïdes associés (GALT) contiennent plus de lymphocytes que l'ensemble des organes lymphoïdes secondaires réunis.

Cependant, chez le sujet en bonne santé, l'intestin garde son potentiel d'immunoréactivité sous contrôle en regard de cette masse antigénique énorme.

La tolérance orale correspond à la régulation négative spécifique des réponses cellulaires et humorales lors d'un second contact à un antigène (essentiellement alimentaire) acquis oralement.

La tolérance au microbiote commensal correspond à la capacité pour  $10^{14}$  microorganismes luminaux de survivre sans donner lieu à une réponse innée et adaptative de nature inflammatoire, alors que l'irruption accidentelle de certains de ces microorganismes dans la muqueuse causerait immédiatement une telle réponse.

Il apparaît que les mécanismes régulant la tolérance au microbiote commensal facilitent l'établissement et le maintien de la tolérance aux antigènes alimentaires (Prioult G & Nagler-Anderson C. 2005. Immunol.Rev.,206:204-218; Sudo N et coll. 1997. J.Immunol.,159:1739-1745) et participent à la protection de l'intestin contre tous types de lésions (Rakoff-Nahoum S et coll. 2004. Cell,118:229-241)

Les différents composants du système immunitaire intestinal (sensu lato) - barrière épithéliale, cellules phagocytaires, APC tolérogènes (DC) et cellules régulatrices du système immunitaire adaptatif (Treg) - intègrent les signaux induits par les antigènes de la lumière intestinale pour générer une tolérance aux antigènes alimentaires et un maintien de l'homéostasie intestinale en présence de son microbiote.

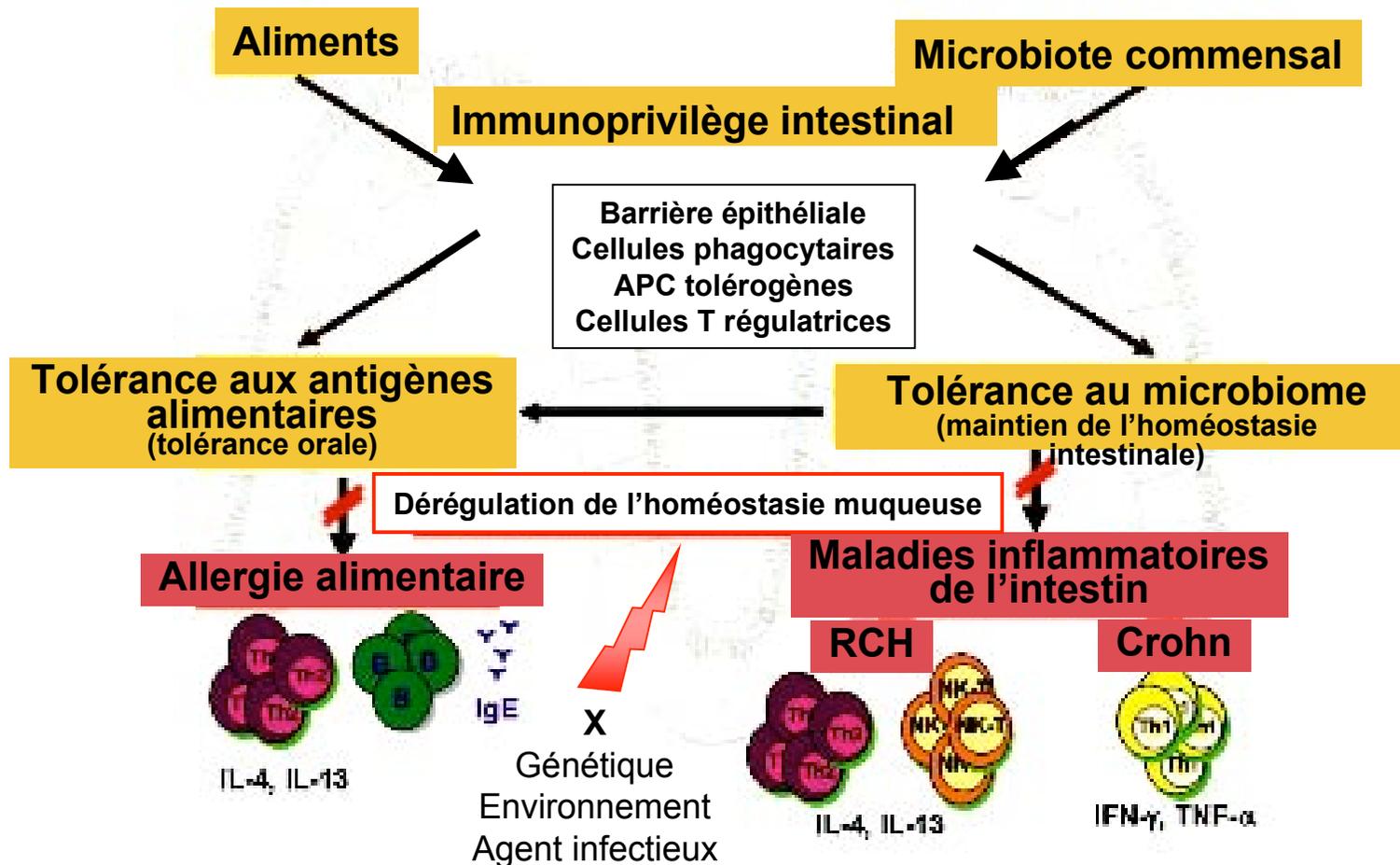
Chez des individus génétiquement prédisposés, la rupture de la tolérance aux antigènes alimentaires contribue à l'allergie alimentaire largement médiée par une réponse de type Th2 et caractérisée par la production excessive d'IgE;

L'abrogation de la tolérance au microbiote, liée aussi à une prédisposition génétique, contribue au développement de maladies inflammatoires chroniques de l'Intestin (MICI ou IBD) comme la Maladie de Crohn (CD) et la Rectocolite Hémorragique (RCH).

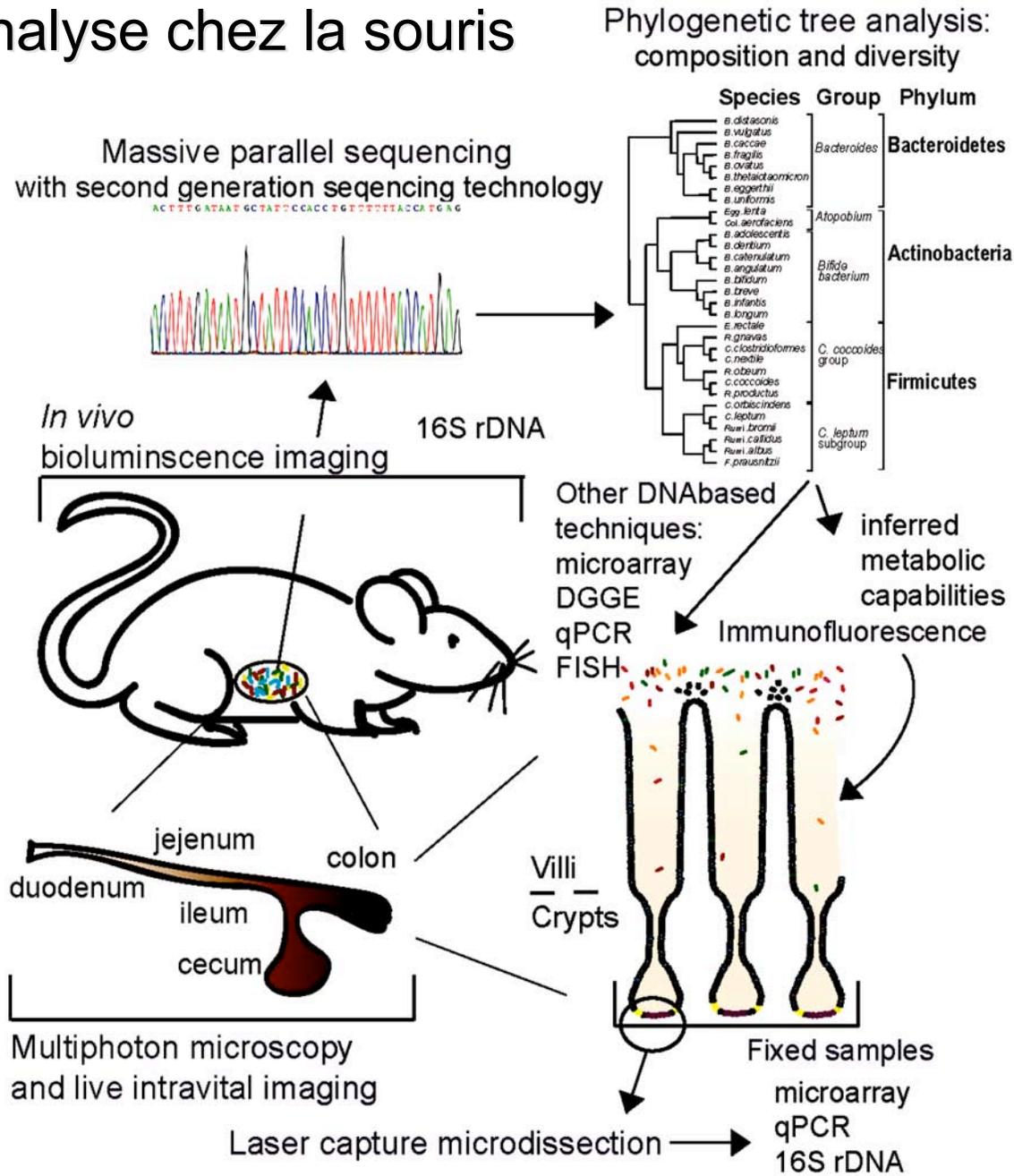
**CD** est une maladie de type Th1 marquée par la prédominance de cytokines inflammatoires comme IL-12, IFN- $\gamma$  et TNF- $\alpha$ .

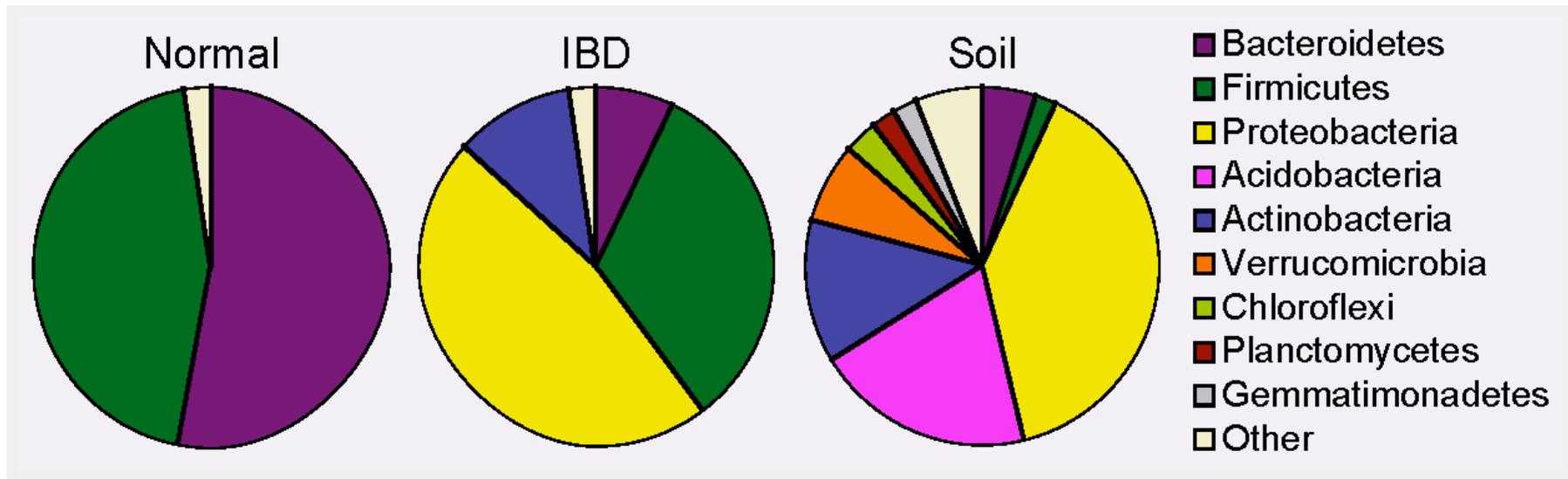
**RCH** est caractérisée par une réponse de type Th2 avec un haut niveau de production de cytokines en rapport: IL-4 et IL-13 produites par des lymphocytes CD4+ de la *lamina propria* et des cellules NK-T.

# Immunoprivilège intestinal: tolérance aux antigènes alimentaires et au microbiote commensal

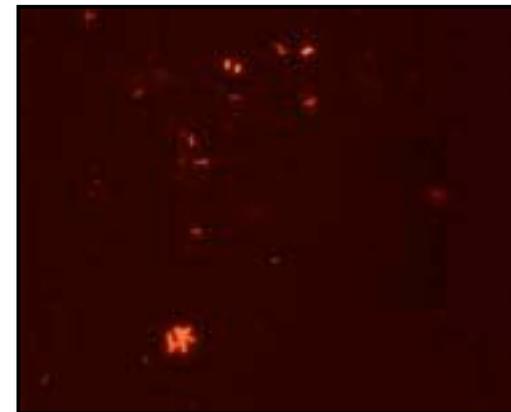
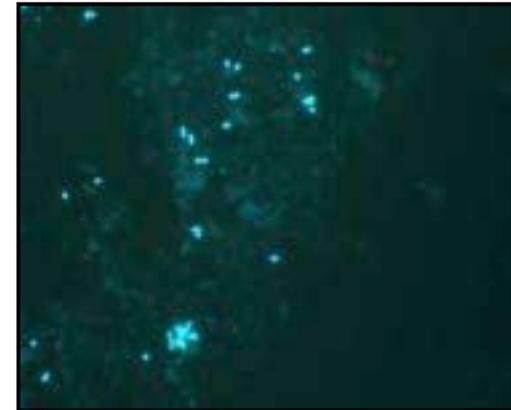
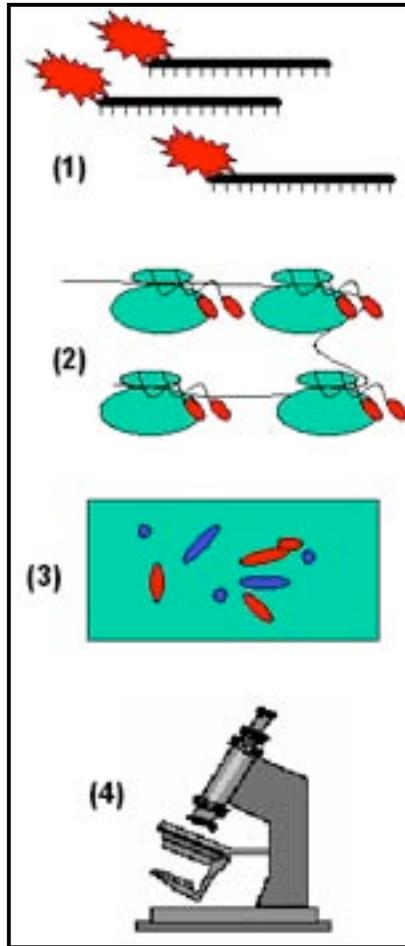


# Méthodes d'analyse chez la souris





## Fluorescent in situ hybridization (FISH)



Analyse de la flore intestinale par FISH:

**Bleu** = DAPI,

**Rouge** = sonde spécifique d'espèce marquée par CY3. En combinant des fluorochromes différents, on peut en une expérience FISH identifier plusieurs genres ou espèces bactériens.

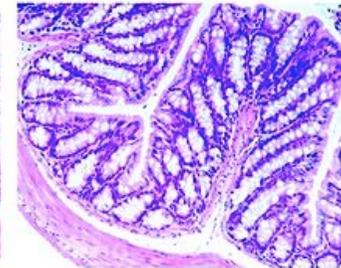
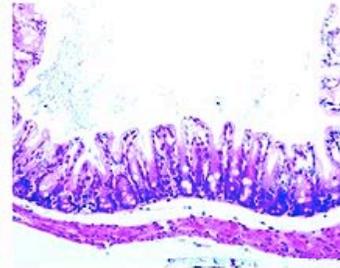
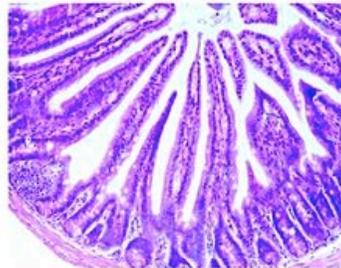
Intestin grêle

Gros intestin

Duodénum, jéjunum, iléon

Caecum

Colon



Intestin grêle

Caecum

Colon

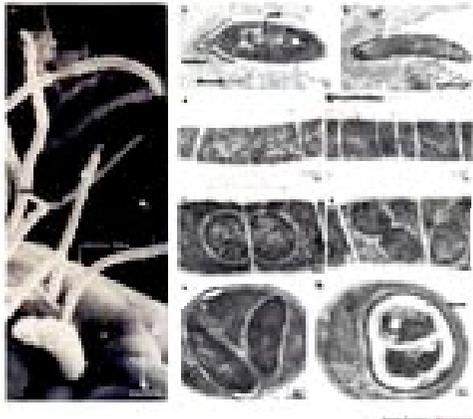
Antigènes alimentaires

*E. coli*, *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp.,  
*Proteus* spp., *Staphylococcus* spp.,  
*Bacteroides* spp., fusiform bacteria

*Helicobacter* spp.

SFM

Segmented filamentous  
bacteria

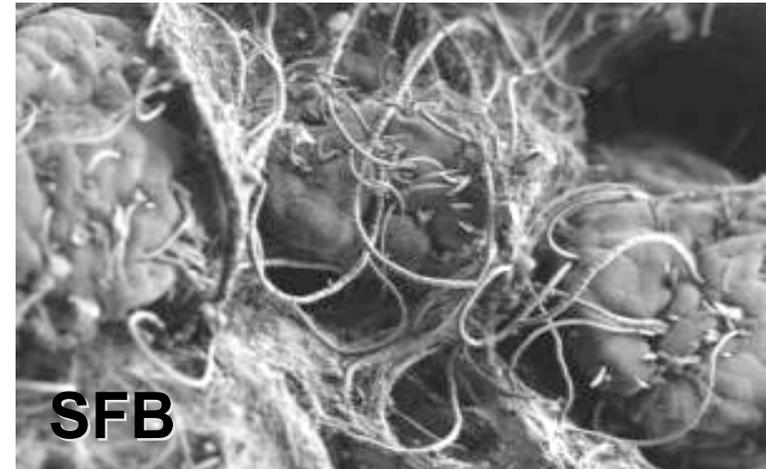


## Microbiote intestinal et système immunitaire

La notion de pression du microbiote intestinal sur le système immunitaire inné et adaptatif ne doit pas être vue comme la pression globale d'une masse de microorganismes individuels ajoutant une contribution similaire, mais plutôt comme la résultante d'autant de vecteurs non nécessairement orientés dans la même direction. Si c'est le cas, il convient maintenant d'identifier les espèces responsables.

*Commensal bacteria are highly heterogeneous and what counts is the combination of all of their individual properties. It is interesting to consider a “social” view of the ecology of this vast community. Genomic sequencing of individual species together with metagenomics undoubtedly will confirm that some commensal microorganisms are potentially more harmful than others. This may be particularly true for Proteobacteria including probiotic strains like the Nissle 1917 strain that carries virulence genes (Grozdanov L et coll. 2004. J.Bacteriol.186:5432-5441). These bacteria may be essential for the development of at least some signals that induce tolerance, such as those inducing tolerance to LPS in the epithelium, as long as their density is kept in check. Thus, the concept of “good” and “bad” commensals may not withstand a sociological view of the intestinal flora (Sansonetti PJ & Medzhitov R. 2009. Cell,138:416-420) .*

La production de cytokines / chimiokines par les cellules immunitaires de la muqueuse intestinale en réponse à la reconnaissance du microbiote régule le développement et l'homéostasie du système immunitaire muqueux. De leur équilibre dépend le maintien ou la rupture de l'homéostasie (pathogènes, environnement, thérapeutique, génétique).



La colonisation de souris axéniques par une flore totale de souris reconstruit un large spectre de cellules « pro-inflammatoires » (Th1, Th17 et « anti-inflammatoires » (cellules T régulatrices).

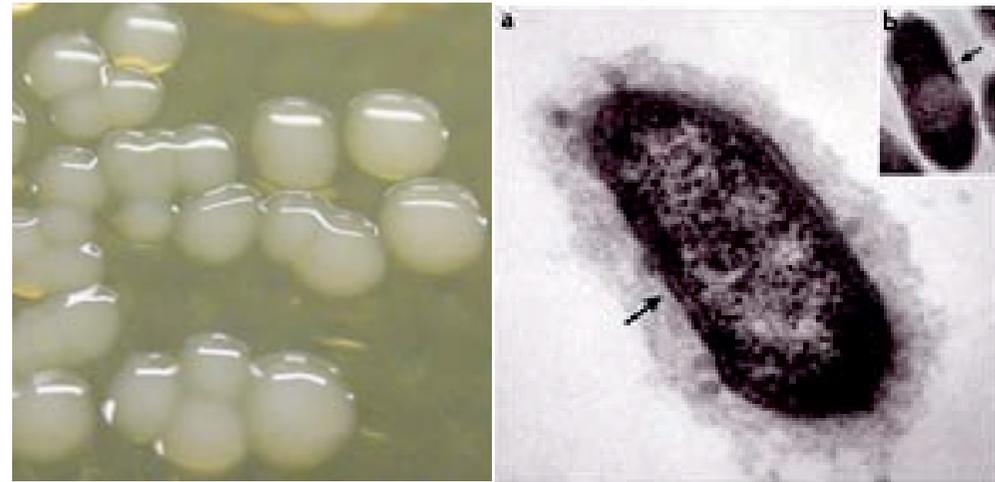
Il était jusqu'à présent impossible d'attribuer à une ou plusieurs espèces commensales un rôle particulier dans l'induction de l'un de ces deux états dont l'équilibre assure l'homéostasie (« résultante vectorielle »)

Une espèce bactérienne commensale du genre *Clostridium*, SFB ou Segmented Filamentous Bacteria, incultivable *in vitro*, vient d'être montrée capable d'assurer seule la fonction « pro-inflammatoire »: induction de cellules Th1 et Th17 (produisant IL-17 et IL-22). SFB était déjà connue pour fortement stimuler la production d'IgA (Talham GL et coll. 1999. *Infect.Immun.*,67:1992-2000).

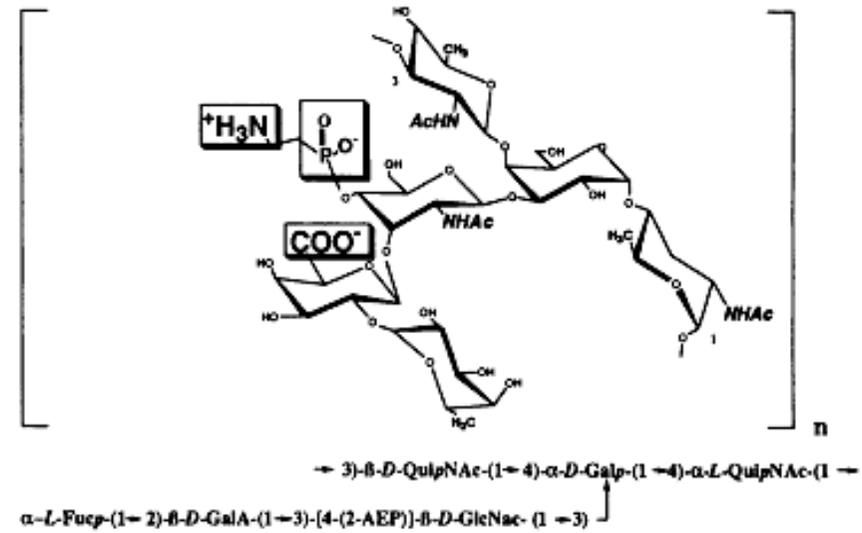
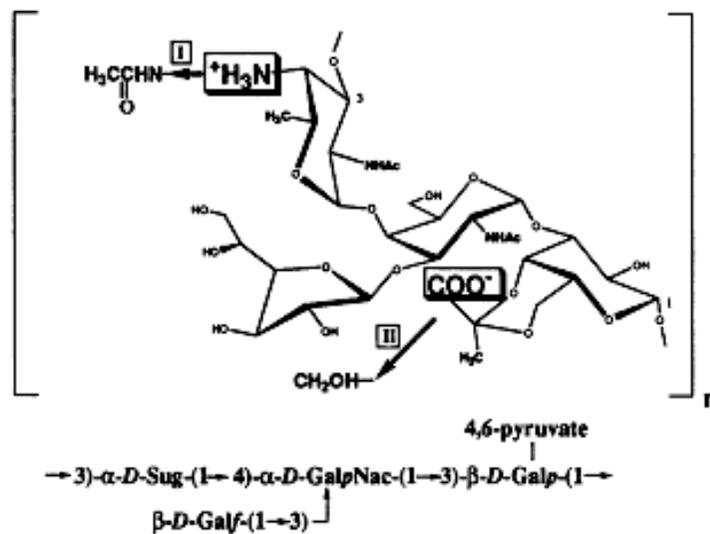
SFB stimule un profil d'expression muqueux pro-inflammatoire et anti-infectieux qui protège la souris contre une infection par le pathogène *Citrobacter rodentium*.

Gaboriau-Routhiau V et coll. 2009. *Immunity*,16:677-689

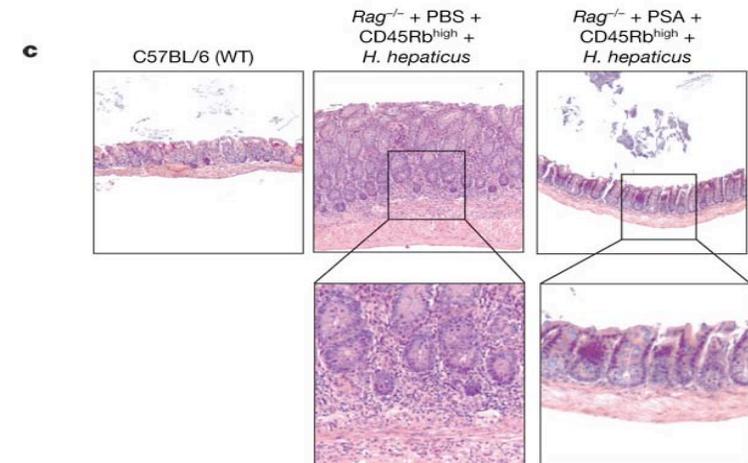
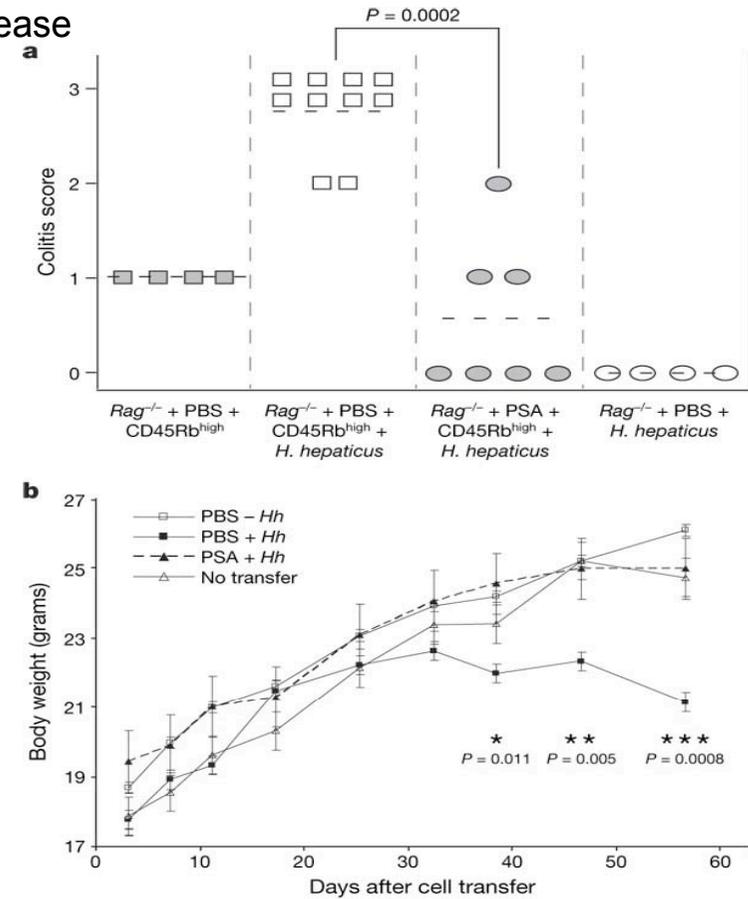
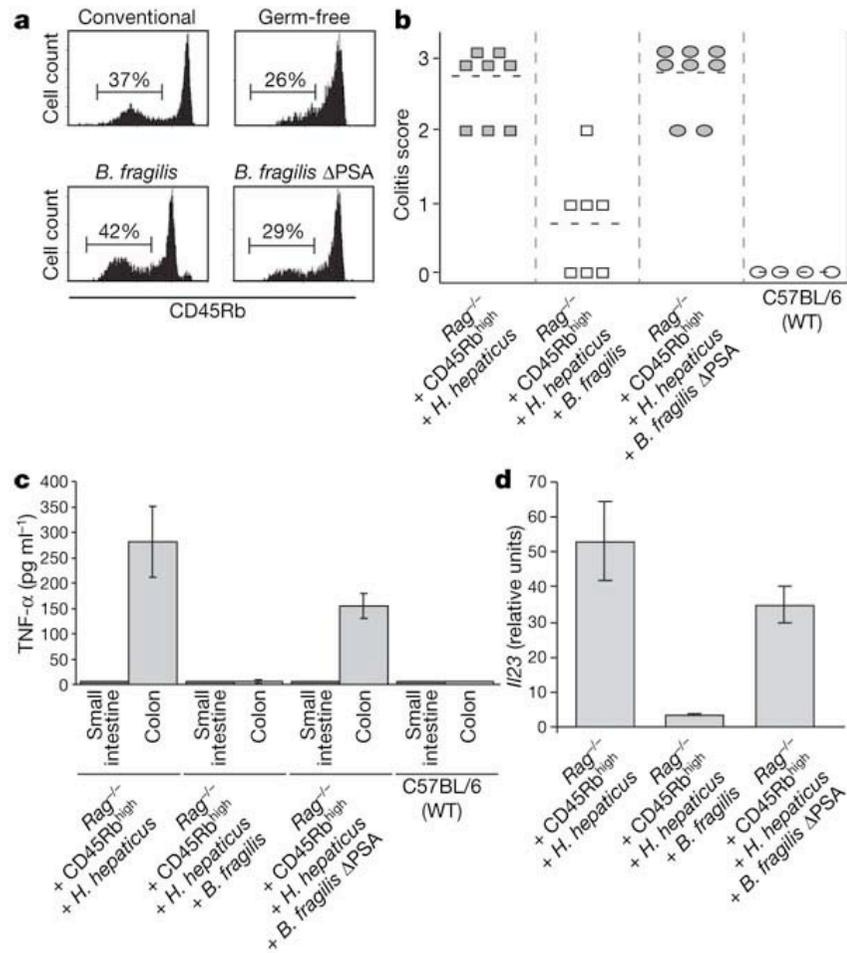
Ivanov II et coll. 2009. *Cell*,139:485-498

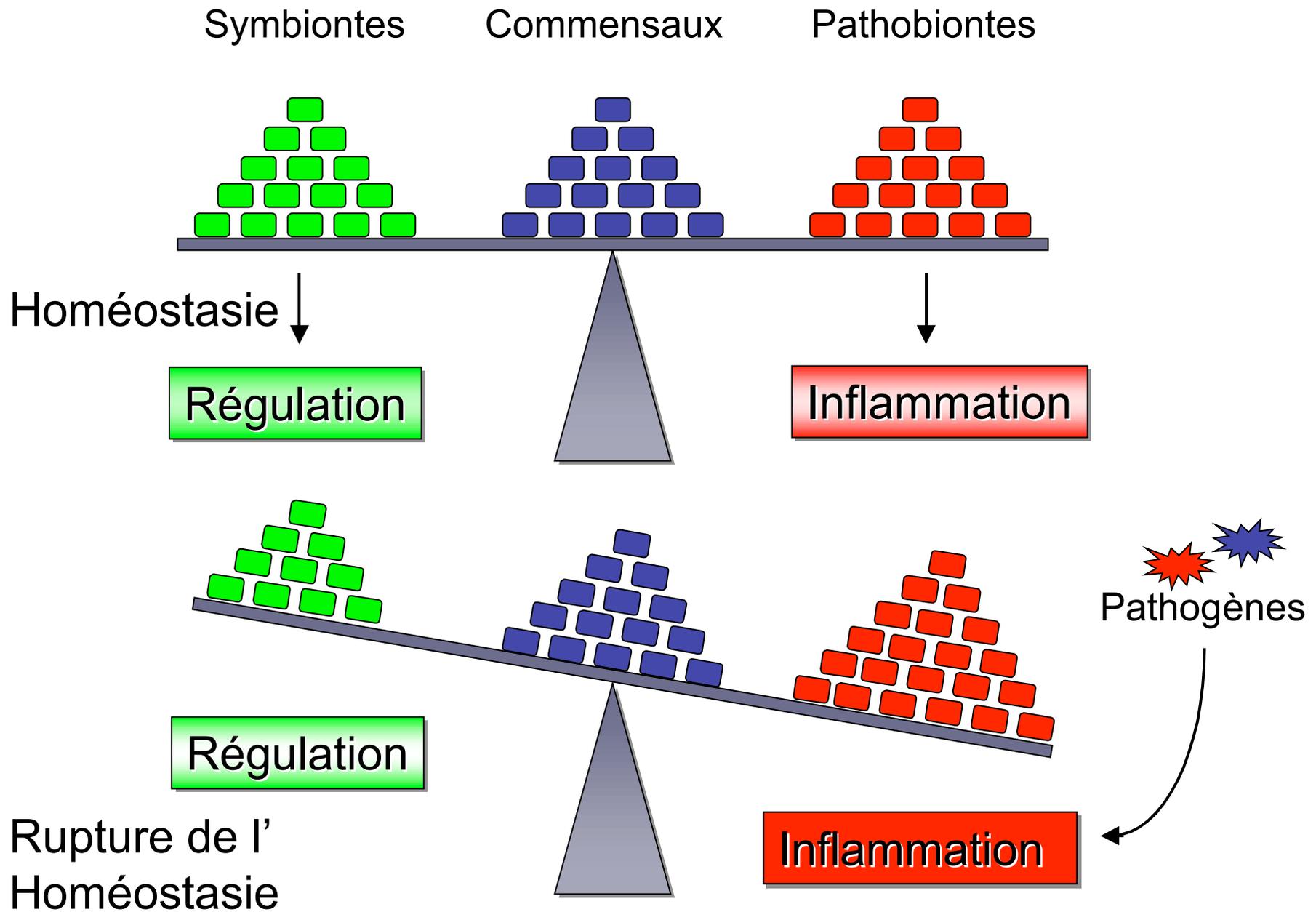


*Bacteroides fragilis* - capsule - EPS



A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease  
 Sarkis K. Mazmanian, June L. Round & Dennis L. Kasper  
 Nature 453, 620-625(29 May 2008)



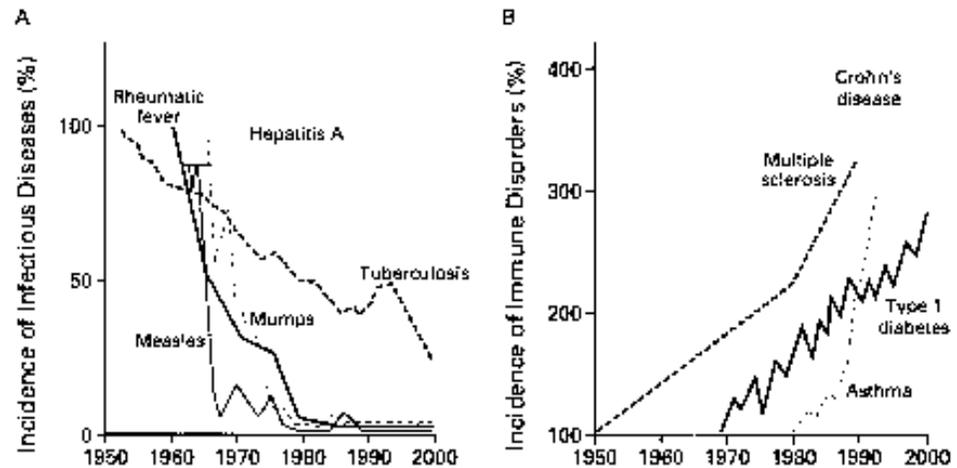


D'après Round JL & Mazmanian SK. 2009. Nat.Rev.Immunol.,9:313-323

# Rôle actif du microbiote dans le contrôle de l'inflammation intestinale

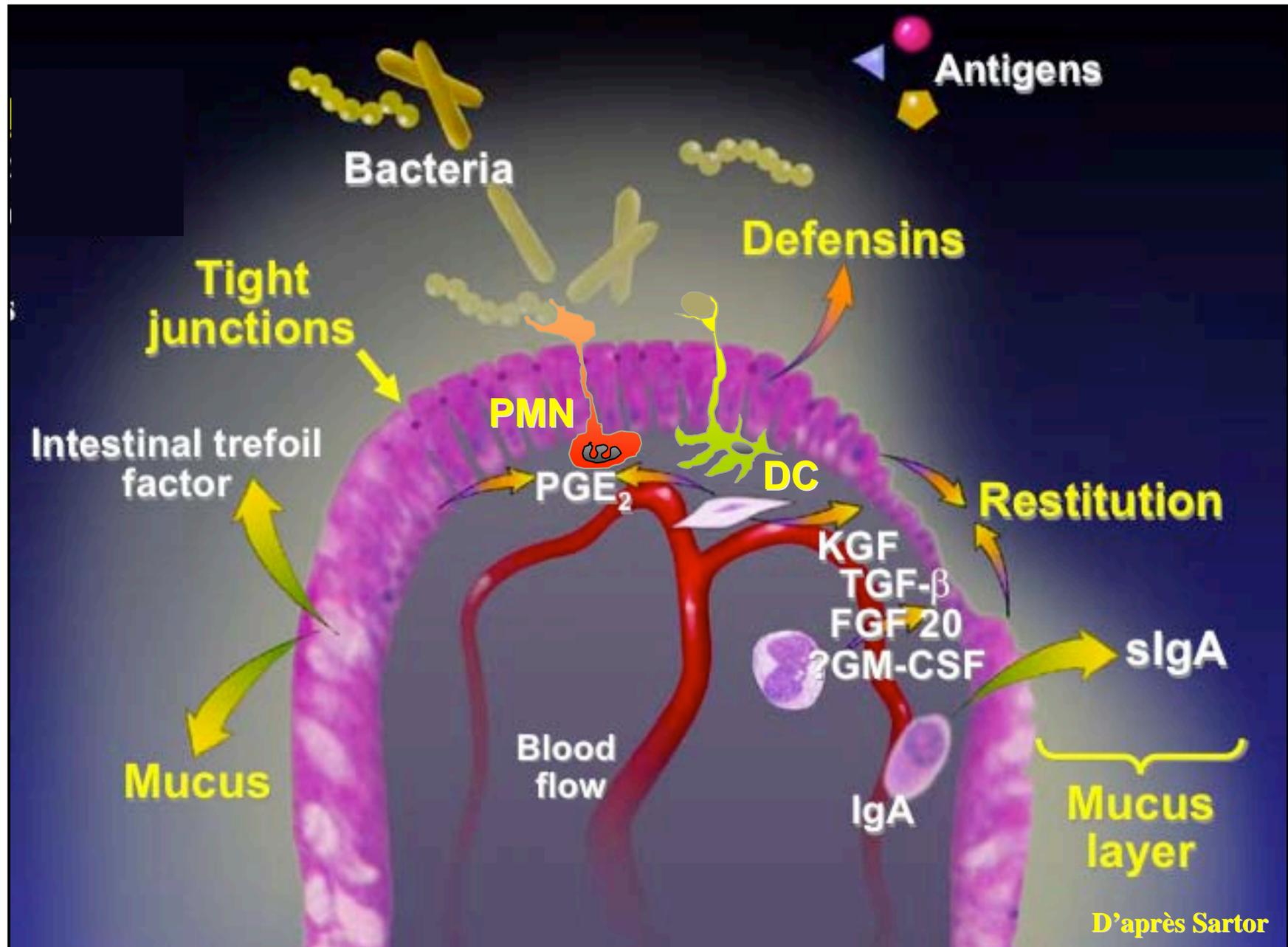
Le système immunitaire inné et adaptatif de l'intestin sont étroitement adaptés aux conditions exceptionnelles imposées par la masse de microorganismes composant le microbiote, une situation qui ne se retrouve dans aucun autre site de l'organisme. Ceci pose le problème de la capacité de discrimination entre les commensaux (contre lesquels une réponse immunitaire ne doit pas survenir, ou à un niveau modéré et très étroitement contrôlé) et les pathogènes (contre lesquels la réponse immunitaire doit être rapide et efficace (Artis D. 2008. Nat.Rev.Immunol.,8:411-)). Lorsque le processus de discrimination échoue, une maladie inflammatoire de l'intestin (MICI / IBD) comme la Maladie de Crohn ou la Rectocolite Hémorragique peut survenir. L'incidence de ces maladies et d'autres pathologies dysimmunitaires (eczéma, asthme, diabète de type 1, etc...) augmente rapidement dans les pays émergents (5 - 40/100 000/an en Chine en moins de 20 ans)

La « théorie hygiéniste » représente une hypothèse attractive postulant que l'utilisation des antibiotiques, des antiparasitaires, les environnements domestique et alimentaire propres, ainsi que des vaccins induit une situation d'hyperréaction à certains commensaux ou « pathobiontes » résultant en des pathologies inflammatoires (Mazmanian SK et coll. 2008. Nature,453:620-)



Début d'une pandémie de maladies dysimmunitaires ?  
(Bach JF. 2002. N.Engl.J.Med.,347:911-920)

# Garder l'épithélium intestinal intact et fonctionnel



# Mécanismes de tolérance au microbiote intestinal

## Furtivité

- 1 - Faible reconnaissance des bactéries commensales numériquement dominantes (Bacteroidetes et Firmicutes) et Effet antiinflammatoire de certains commensaux.
- 2 - Maintien à distance des bactéries commensales (mucus, molécules antimicrobiennes, barrière épithéliale, ...)
- 3 - Diminution d'expression et/ou séquestration des TLR au niveau des cellules épithéliales intestinales

## Tolérognèse active

- 4 - Induction de la tolérance au LPS
- 5 - Production d'IgA et compartimentalisation de la réponse aux bactéries commensales
- 6 - Mécanismes de tolérognèse active (T reg)



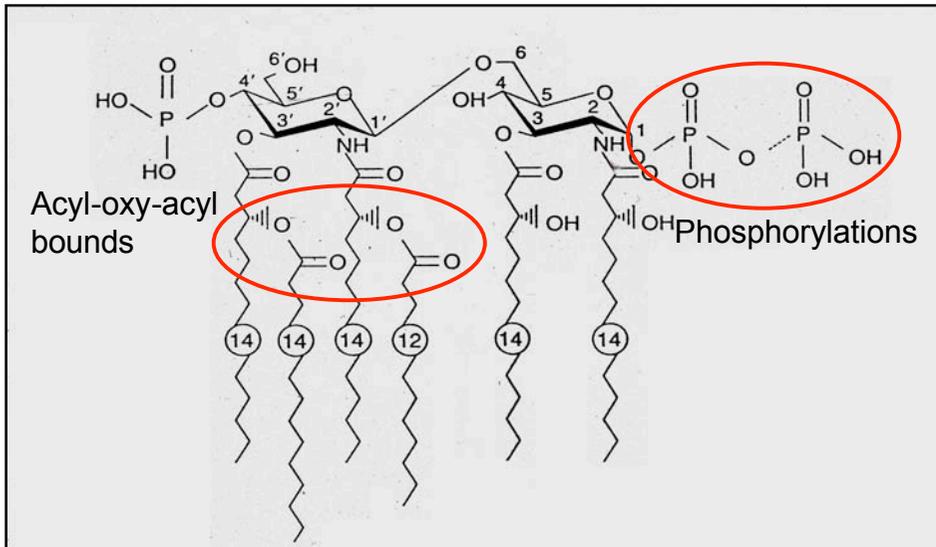
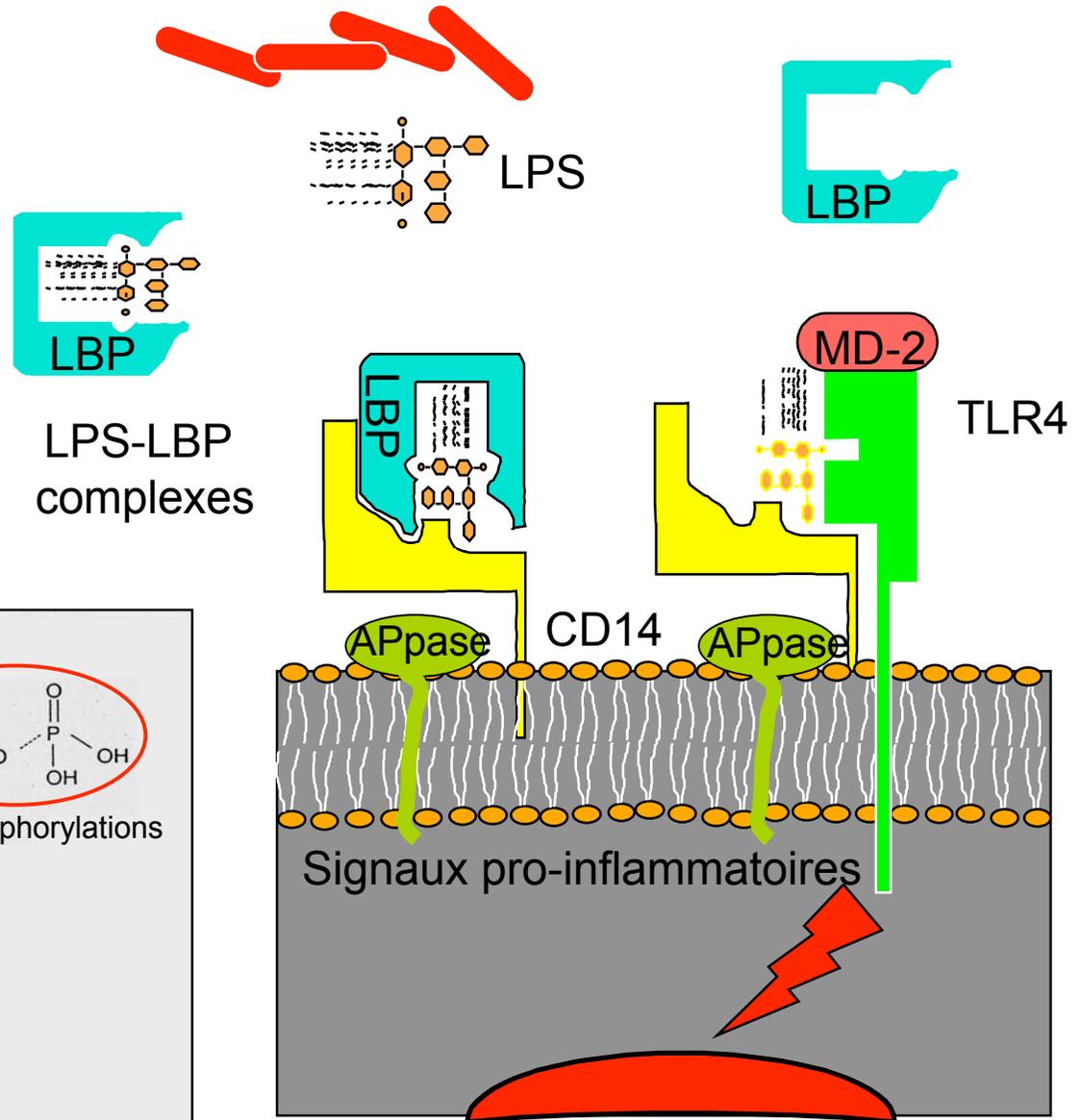
**Partie 1: la furtivité**

1 - Le lipide A des BG- anaérobies commensaux (Bacteroidetes) sont habituellement pentacylés, donc faiblement agonistes, voire antagonistes sur TLR4, contrairement au lipide A hexacylé des BG- aéro-anaérobies commensaux et pathogènes (Munford & Varley, PLoS Path., 2006).

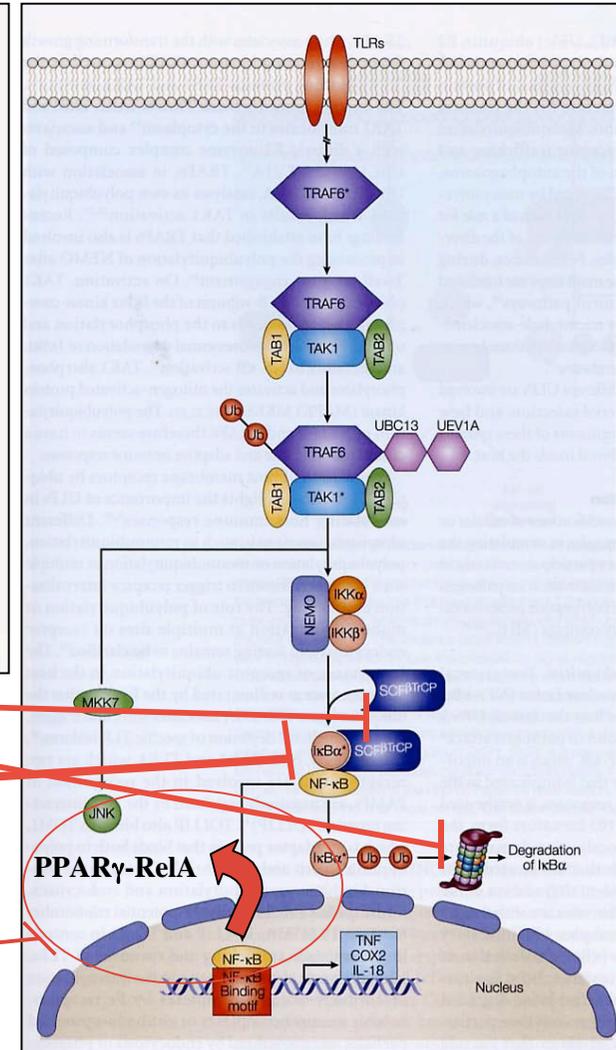
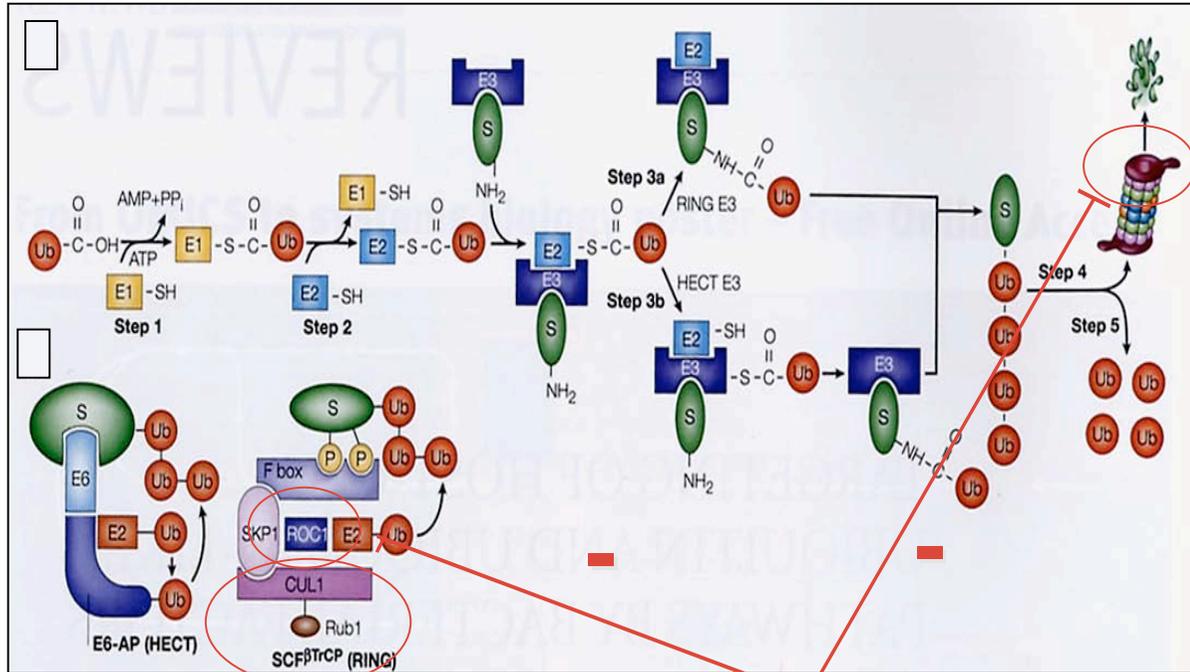
2 - La phosphatase alcaline intestinale (APase) de la bordure en brosse détoxifie le lipide A et prévient l'inflammation chez le Zebrafish en réponse aux G- commensaux (Bates et al., Cell host Microb., 2007).

3 - Peptidoglycanes ? Flagellines ?

# Stratégie de furtivité



# Mécanismes moléculaires de la régulation négative de l'activation de NF- $\kappa$ B par les bactéries commensales



*Lactobacillus casei*

*Salmonella Inv-* (commensal ?)

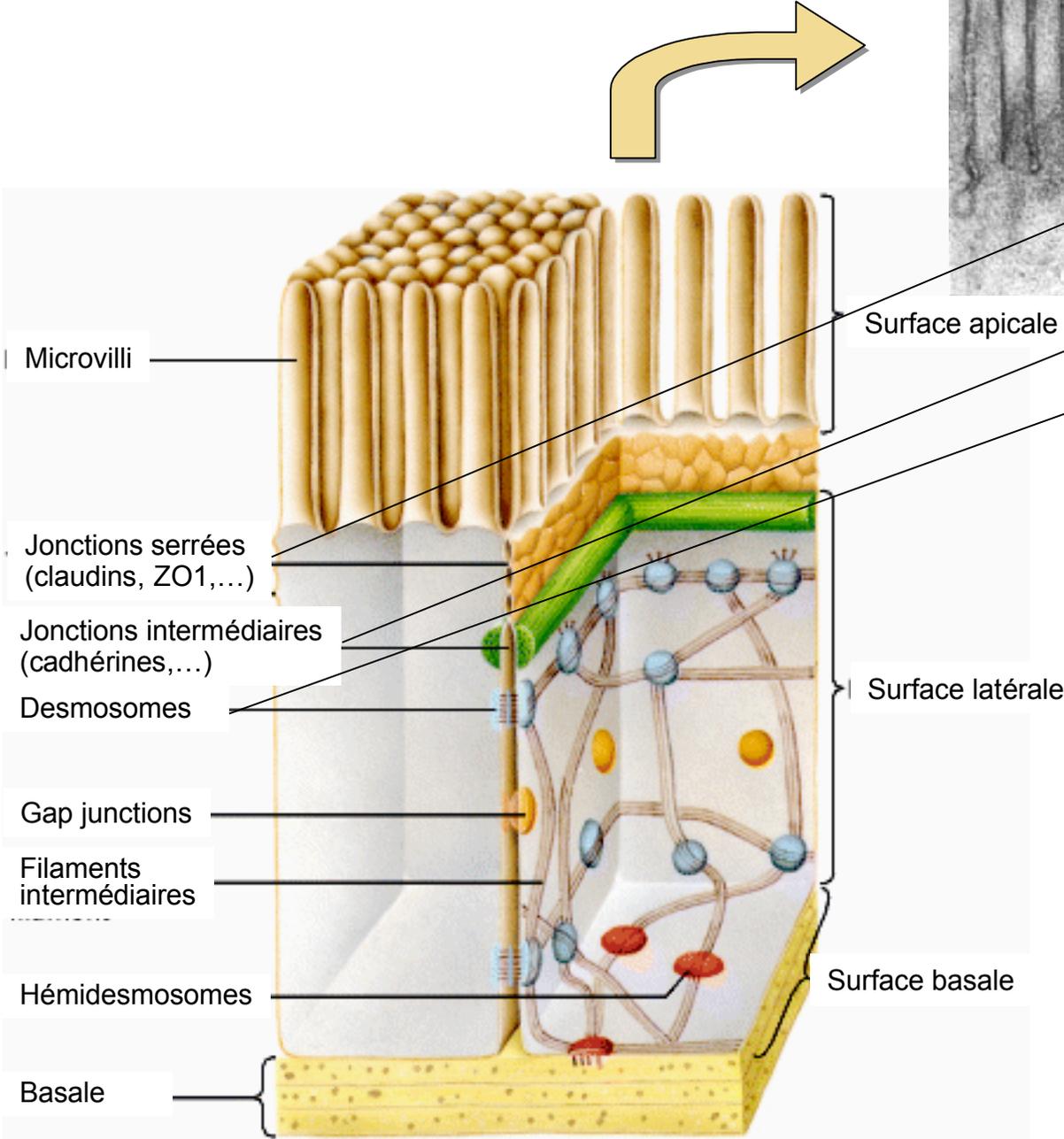
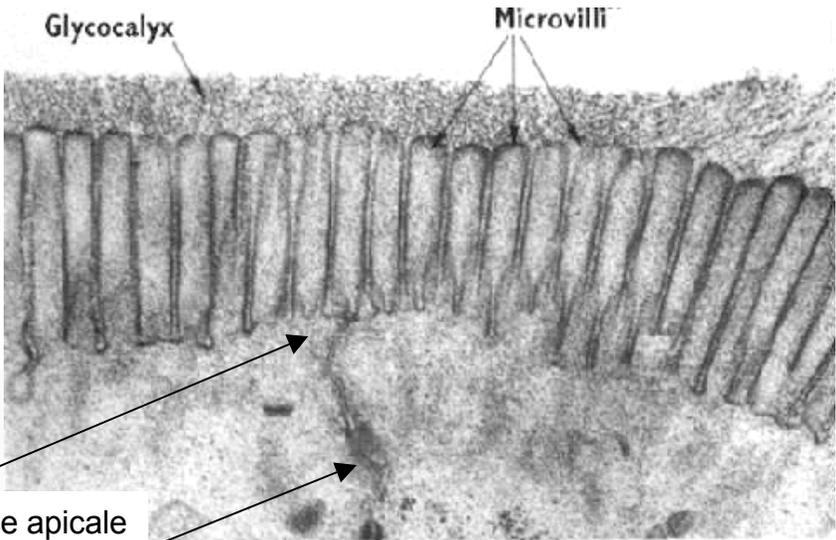
*Bacteroides thetaiotamicron*

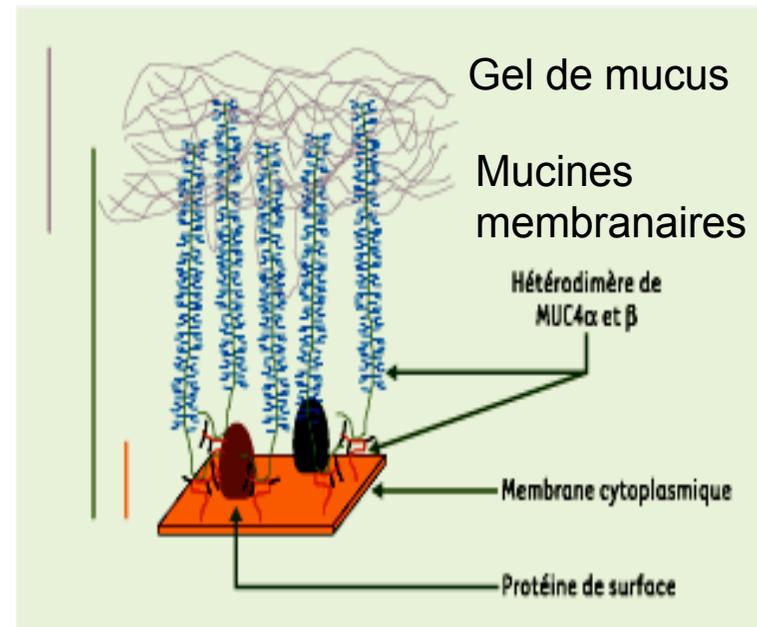
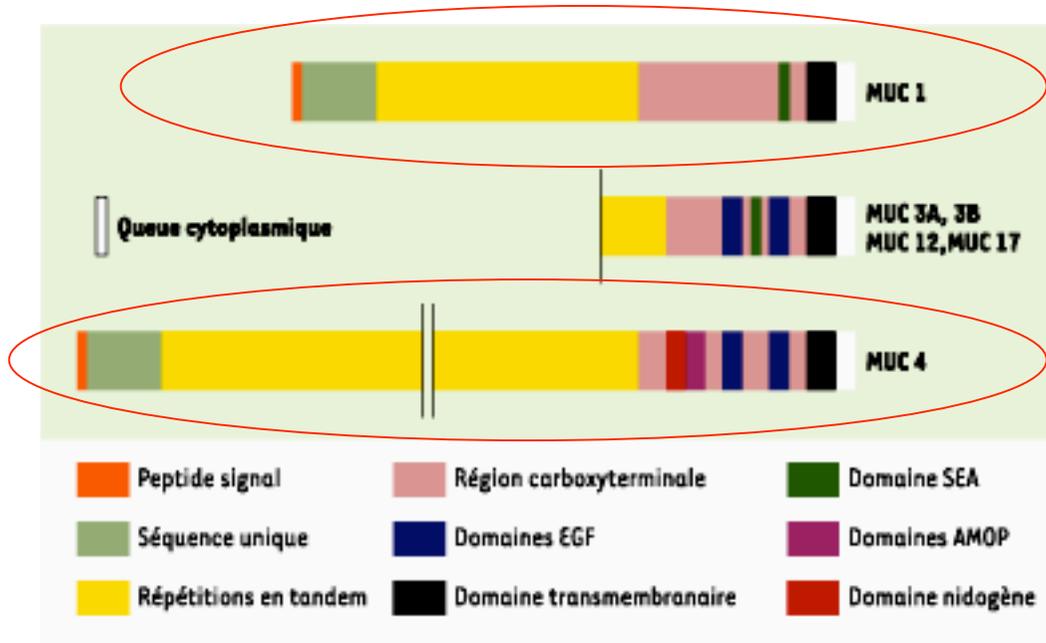
Neish et coll., 2006, Science

Tien et coll., 2006, J.Immunol.

Kelly et coll., 2004, Nat. Immunol.

# Cellule épithéliale intestinale





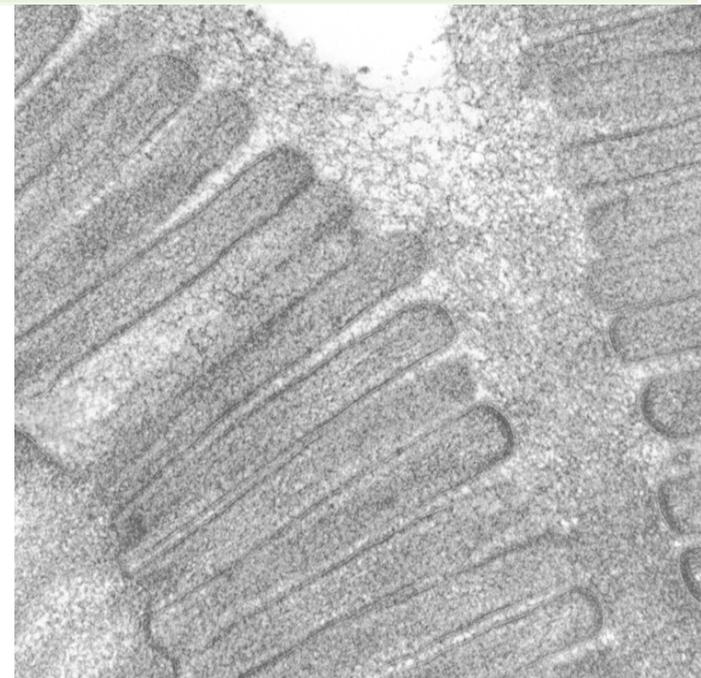
## Apomucines membranaires

Les apomucines épithéliales membranaires sont synthétisées par l'ensemble des cellules épithéliales. Elles possèdent toutes un domaine transmembranaire.

EGF = Epidermal Growth Factor

SEA = Sea Urchin Sperm Protein Enterokinase Agrin

AMOP = Adhesion-associated domain



	Localisation	Chromosome	Répétition (nombre d'acides aminés)	Taille de l'ARN (kb)
<b>Mucines sécrétées</b>				
MUC2	Côlon (LS174T)	11p15	23	14-16
MUC5AC	Trachée	11p15	8	17-18
MUC5B	Trachée	11p15	29	17,5
MUC6	Estomac	11p15	169	16,5-18
<b>Mucines membranaires</b>				
MUC1	Sein, pancréas	1q21-24	20	4-6, 8
MUC4	Trachée	3q29	16	16,5-24
MUC3 (A, B)	Intestin grêle	7q22	17	17-17,5
MUC11	Côlon	7q22	?	?
MUC12	Côlon	7q22	?	?
MUC17	Recherche informatique	7q22	59	?
<b>Inclassables ou non mucines ?</b>				
MUC7	Glandes salivaires	4q13-q21	23	2,7
MUC8	Trachée	12q24.3	14	?
MUC9	Oviducte	1p13	?	?
Muc10 (murin)	Glandes salivaires	?	13	0,85
MUC13	Recherche informatique	3q13	28	3,2
Muc14 (murin)	Endothélium	3	?	1,3
MUC15	Lait	11p14	?	?
MUC16	Cancer de l'ovaire (CA 125)	19p13	165	?
MUC18	Mélanocytes	?	?	3,3

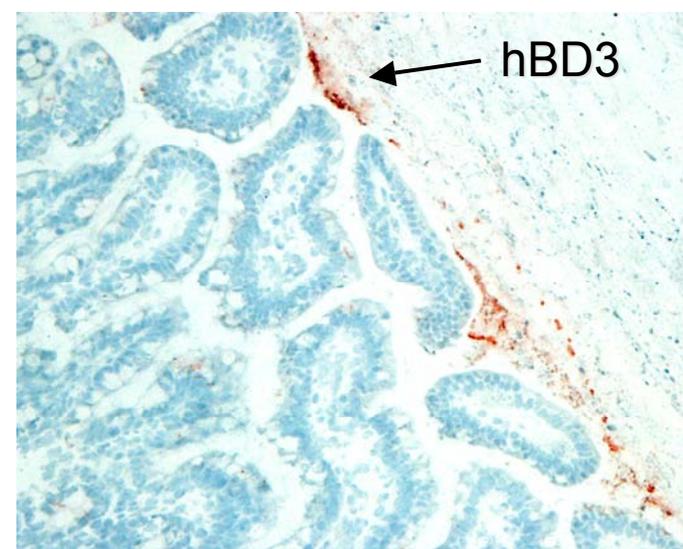
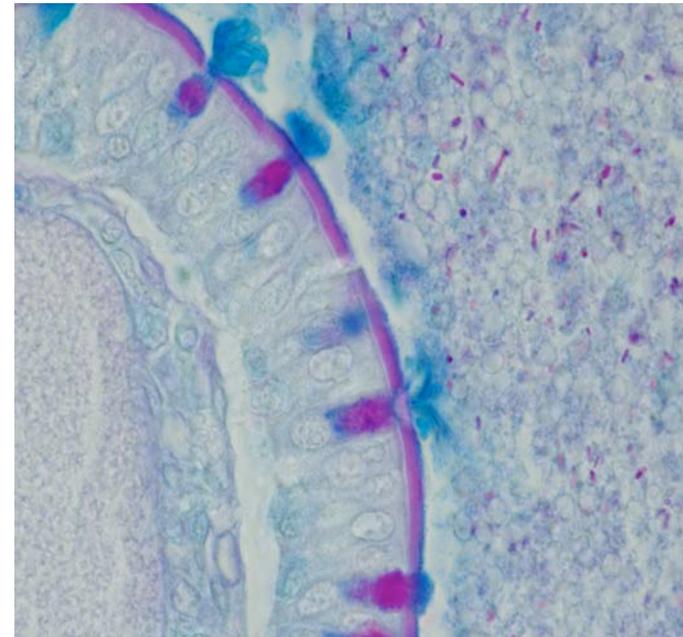
## Cellules caliciformes et couche de mucus

La muqueuse intestinale est protégée par une couche épaisse et imperméable de mucus qui augmente en épaisseur de l'estomac au colon (Atuma C et coll. 2001. *Am.J.Physiol.Gastroenterol.Liver Physiol.*,280:G222-229).

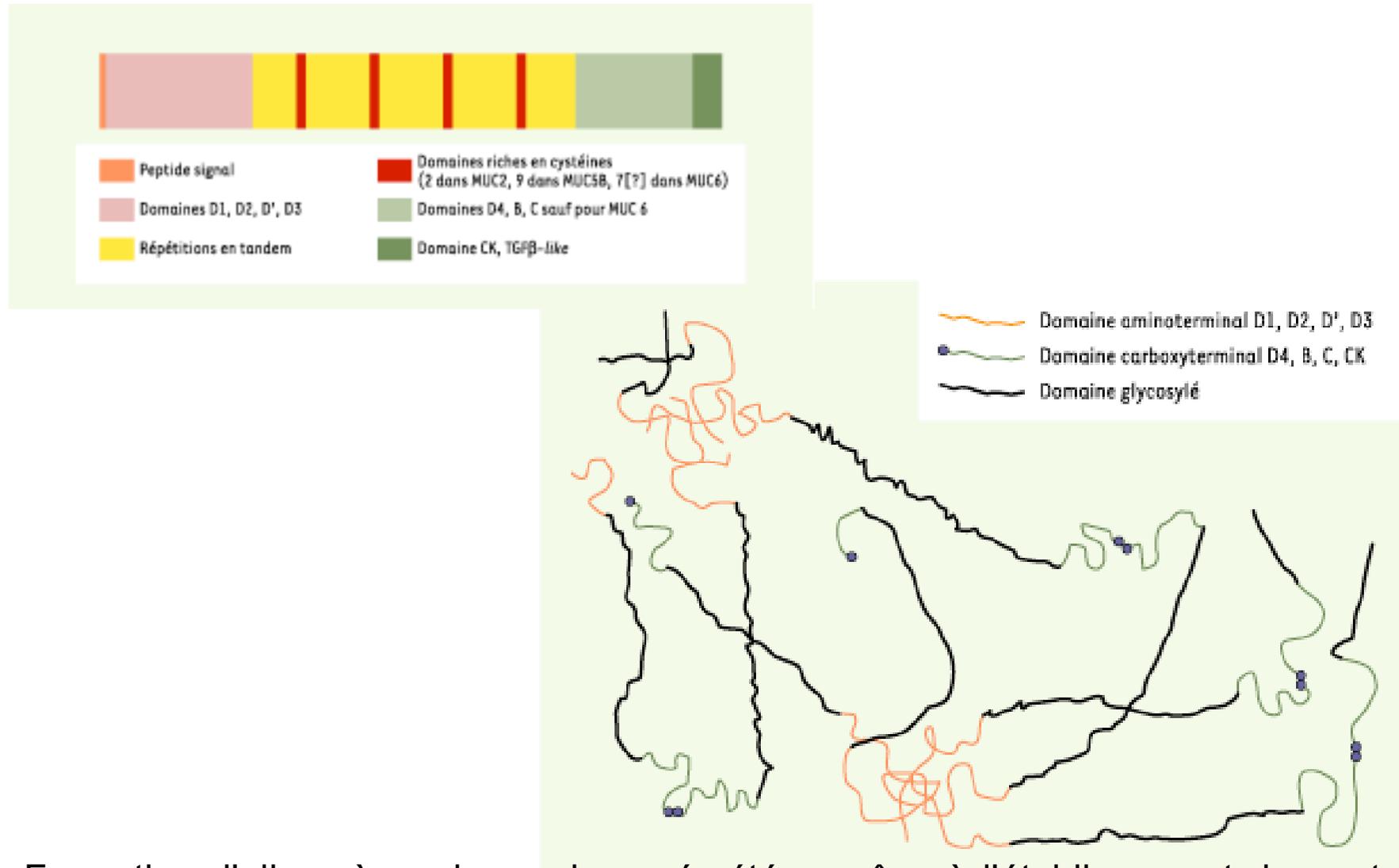
La mucine sécrétée dominante, MUC2, est stockée dans et sécrétée par les cellules caliciformes très nombreuses dans les cryptes coliques.

Trois fonctions principales peuvent être définies:

- Couche protectrice protéases-résistante assurant une protection physique de la surface de l'épithélium (Corazziari ES. 2009. *J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.*,48:Suppl.2:S54-55)
- Capture des bactéries par mimiquerie des récepteurs membranaires, élimination par péristaltisme (Sajan SU & Forstner JF. 1990. *Infect.Immun.*,58:868-873; Smith CJ et coll. 1995. *J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.*,21:269-276)
- Matrice maintenant et concentrant les molécules antimicrobiennes produites par l'épithélium (peptides antimicrobiens), les molécules cytoprotectives (TFF) et les sIgA (Taupin D & Podolsky DK. 2003. *Nat.Rev.Cell Biol.Dev.*,4:721-732)

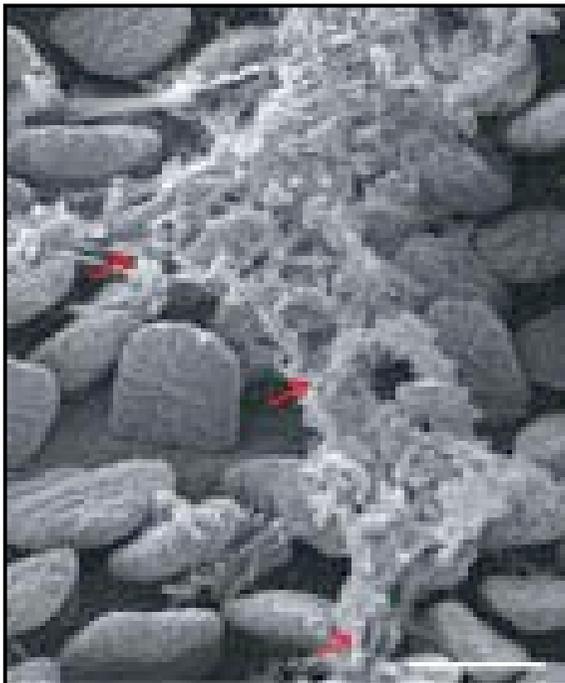
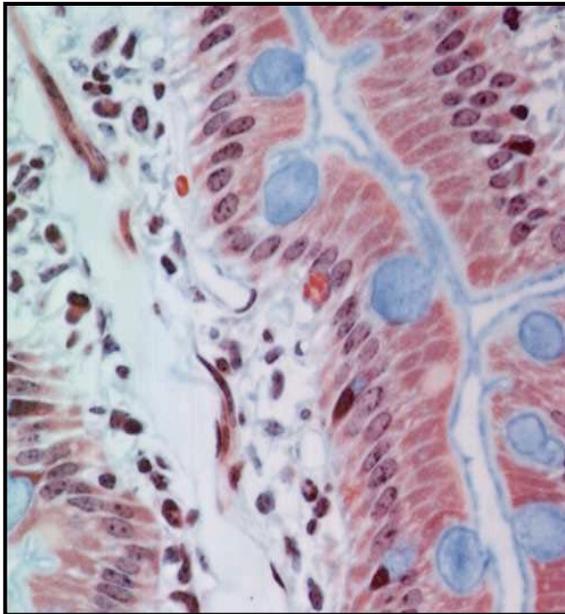


Sperandio B et Sansonetti PJ

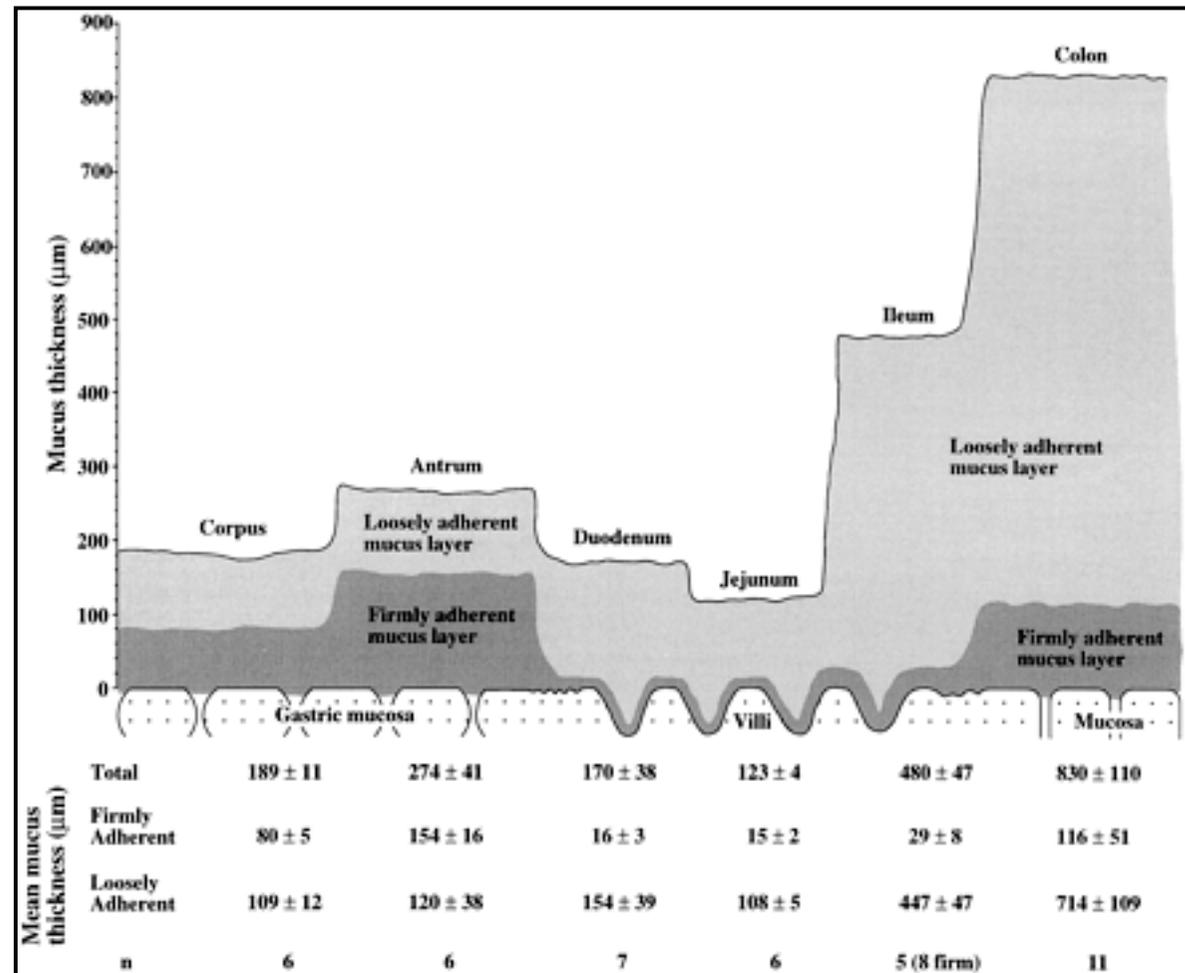


Formation d'oligomères de mucines sécrétées grâce à l'établissement de ponts disulfures. Les domaines carboxyterminaux contribuent à l'étape initiale de dimérisation par leur domaine CK (cystein knot), les domaines aminotermiaux permettent l'oligomérisation et l'organisation de la structure tridimensionnelle du gel de mucus (Porchet N & Aubert JP. 2004. Med.Sci.,20:569-574).

## Epaisseur de la couche de mucus en fonction du niveau dans l'intestin

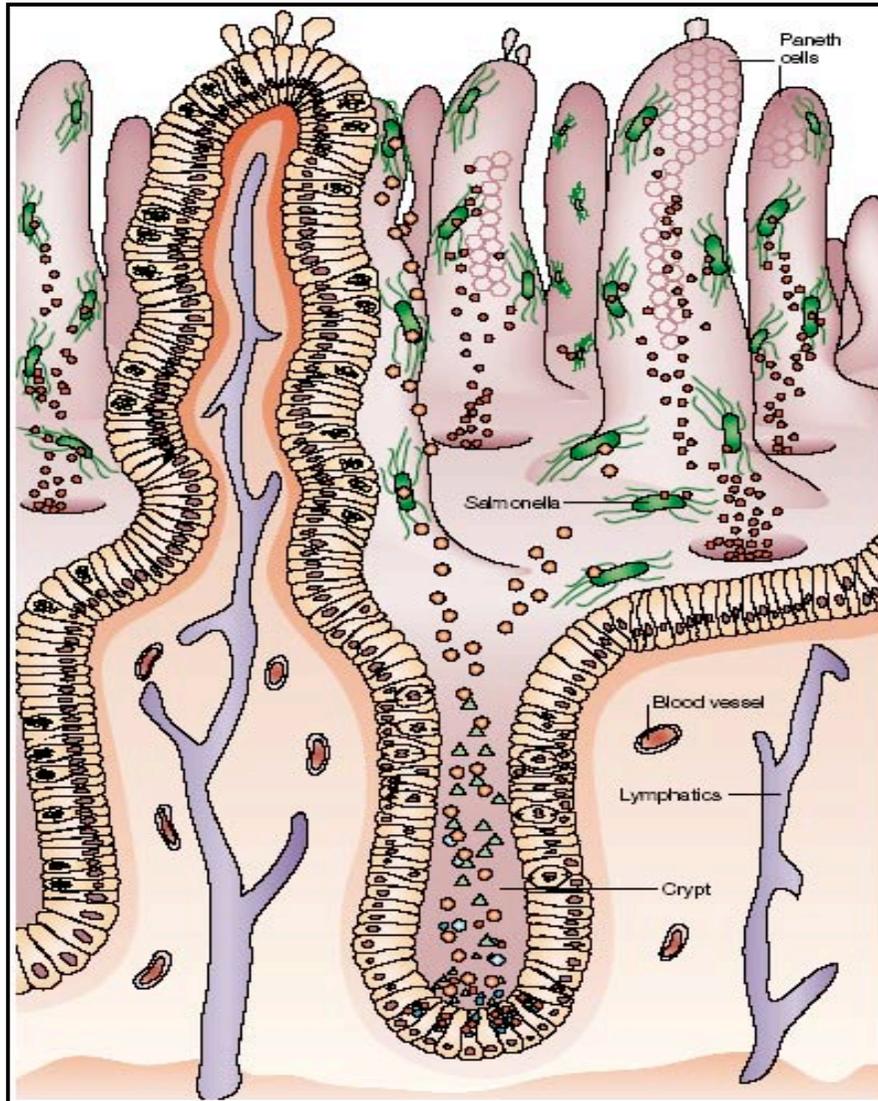


- Altérations de l'homéostasie des mucines dans les MICI.
- La RCH est caractérisée par une vacuité des cellules mucipares et une fine couche de mucus.
- L'assemblage aberrant de Muc2 chez la souris cause un stress du réticulum endoplasmique et un tableau proche de la RCH (Heazlewood et al., PLoS Med., 2008)



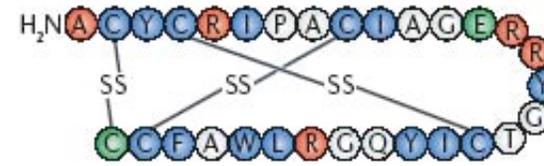
Matsuo et al., 1997, Gut; Atuma et al., 2001, Am.J.Physiol.Gastrointest.Liver.Physiol.

# Peptides antimicrobiens



## Cryptes

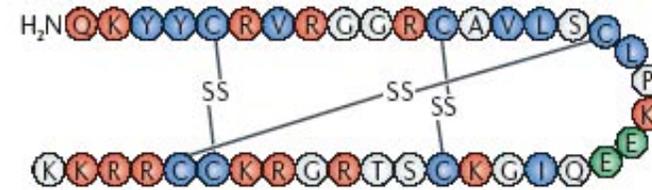
- ◆  $\alpha$ -défensine 5 (cellules de Paneth)
- ◆  $\alpha$ -défensine 6 (cellules de Paneth)



$\alpha$ -defensin 1

## Villi

- ◆  $\beta$ -défensine 1 (cellules épithéliales)
- ◆  $\beta$ -défensine 2 (cellules épithéliales)
- ◆  $\beta$ -défensine 3 (cellules épithéliales)



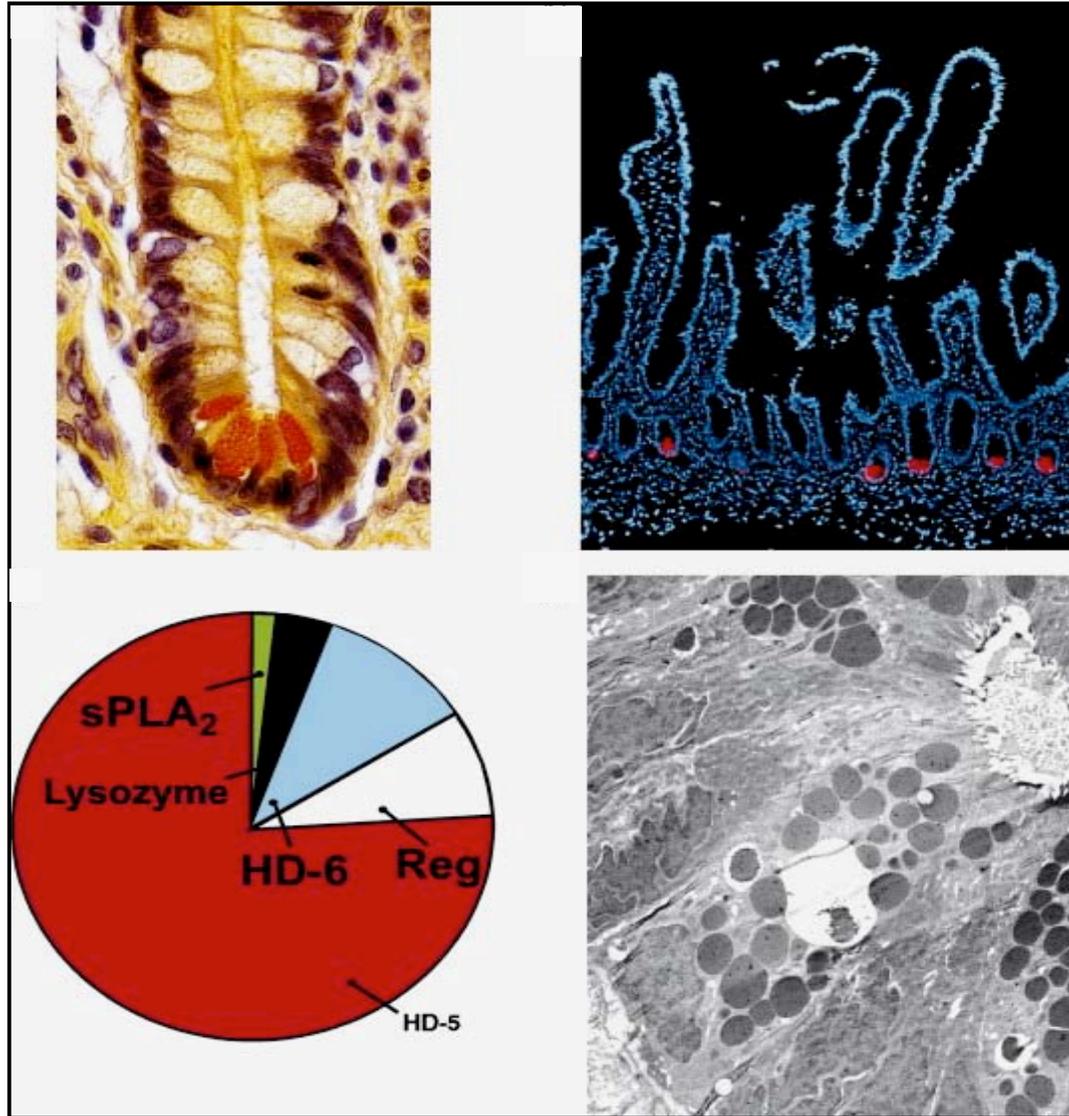
$\beta$ -défensine 3

- ◆ cathélicidine LL-37 (cellules épithéliales)



LL-37

# Cellules de Paneth



## Autres molécules bactéricides produites par l'épithélium intestinal

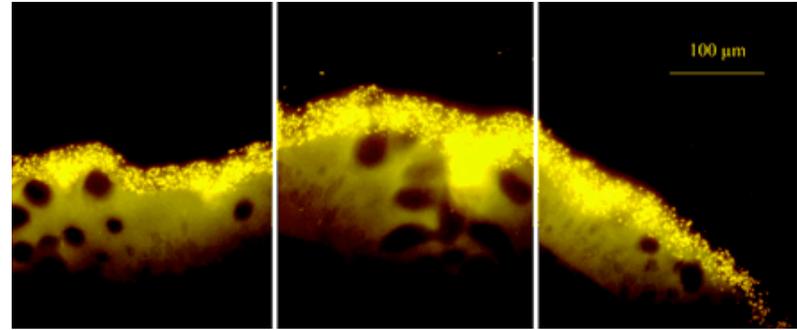
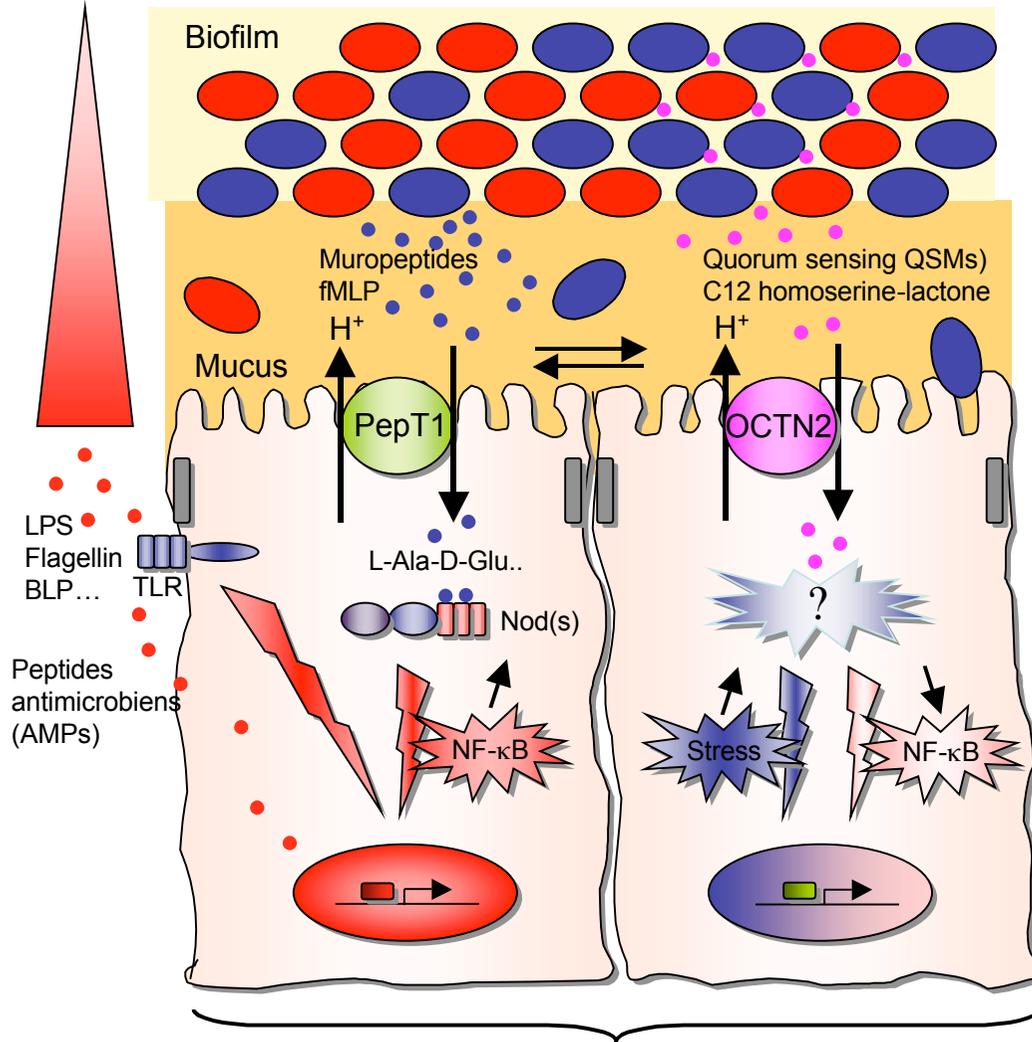
Nombre croissant de molécules à activité antimicrobienne produites par l'épithélium intestinal dont le mode d'action reste à clairement élucider:

**Angiogénine-4** (Ang-4) chez la souris, équivalent de Ang-1 chez l'homme, appartenant à la famille des ribonucléases (Hooper LV et coll. 2003. Nat.Immunol.,4:269-273).

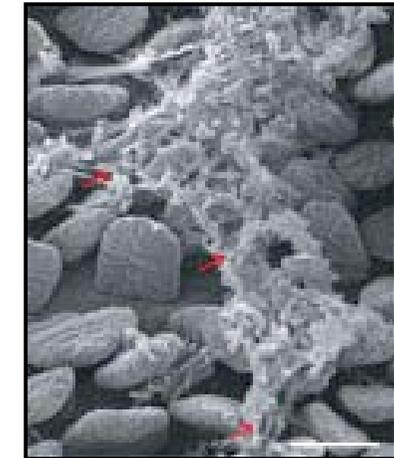
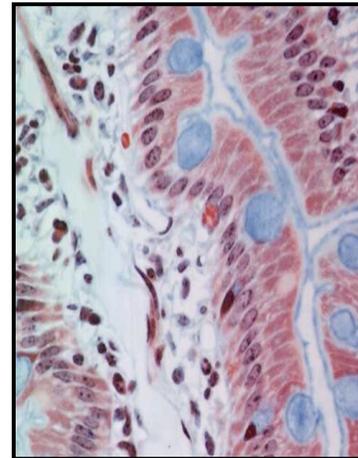
Lectines de type C: **RegIII $\gamma$**  chez la souris, équivalent de HIP/PAP chez l'homme, une lectine bactéricide se liant au peptidoglycane à la surface des bactéries à Gram + (Cash HL et coll. 2006. Science,313:1126-1130).

L'induction de RegIII $\gamma$  dépend de la flore intestinale par une voie dépendante de MyD88 (TLRs) et protège l'intestin murin contre l'infection par *Listeria monocytogenes* (Brandl K et coll. 2007. J.Exp.Med.56:1091-1097).

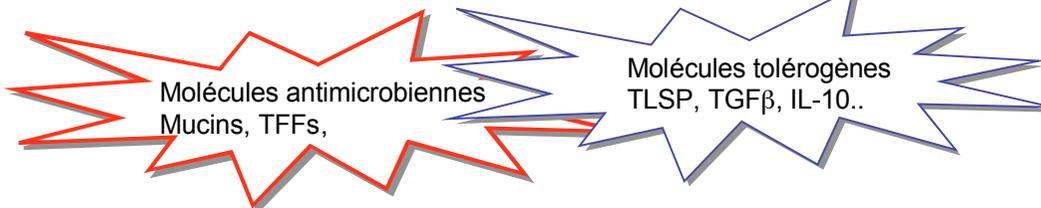
Gradient de concentration de facteurs antimicrobiens (AMPs, lysozyme..)



Swidsinski et al., 2005, J.Clin.Microbiol.

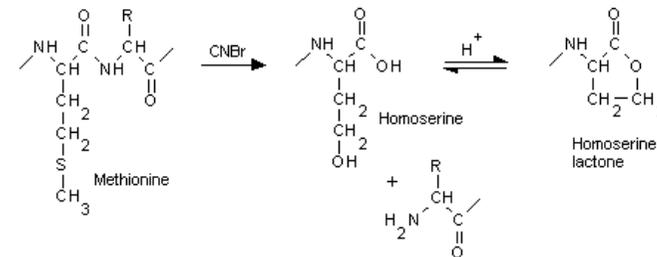


« Inflammation physiologique »



Défenses antimicrobiennes

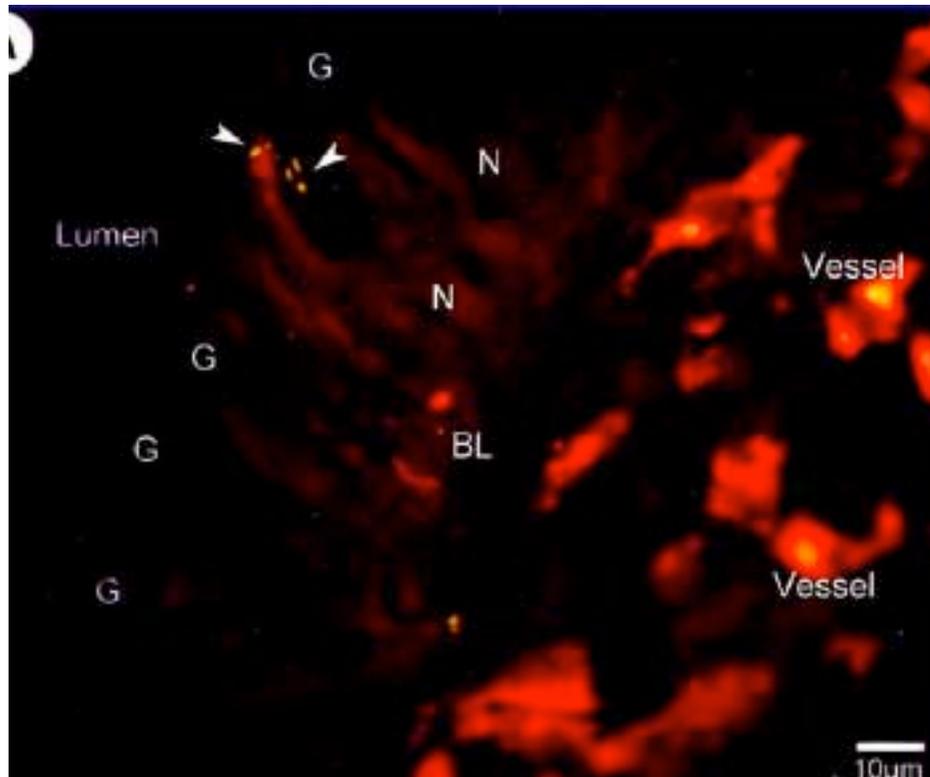
Tolérogénèse et restitution



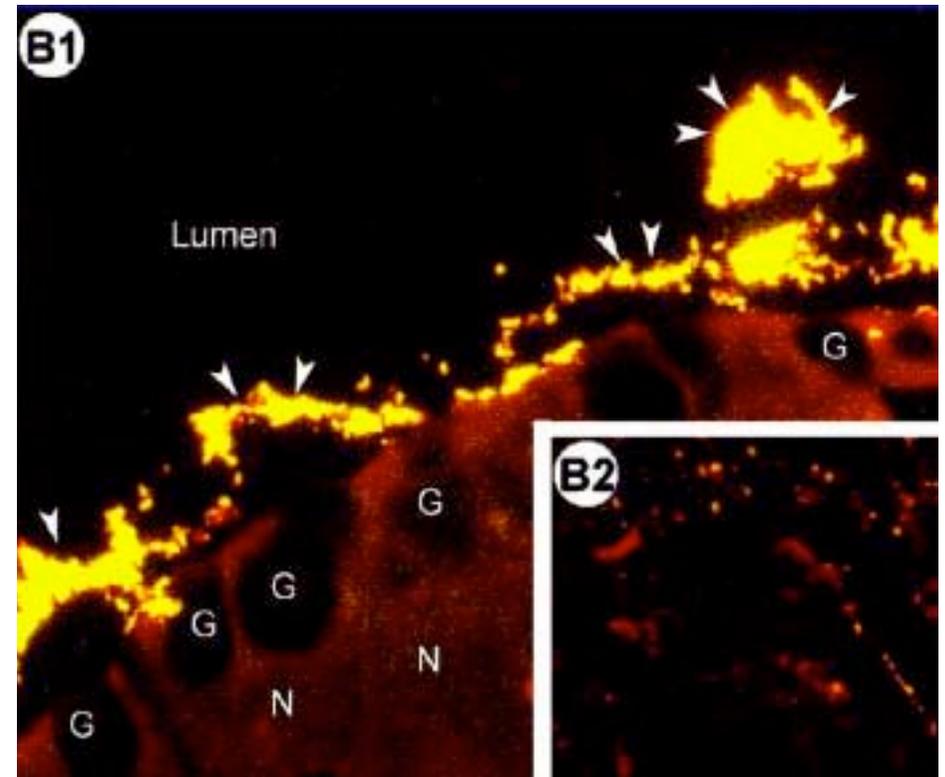
Vavricka et coll., 2004, Gastroenterology  
 Fujiya et coll., 2007, Cell Host Microbe  
 Kravchenko et coll., 2008, Science

# Développement d'une couche (biofilm) de bactéries étroitement associées à la surface de l'épithélium dans des biopsies de Maladie de Crohn active.

(Swidsinski A et coll. 2002. Gastroenterology, 122:44-54).



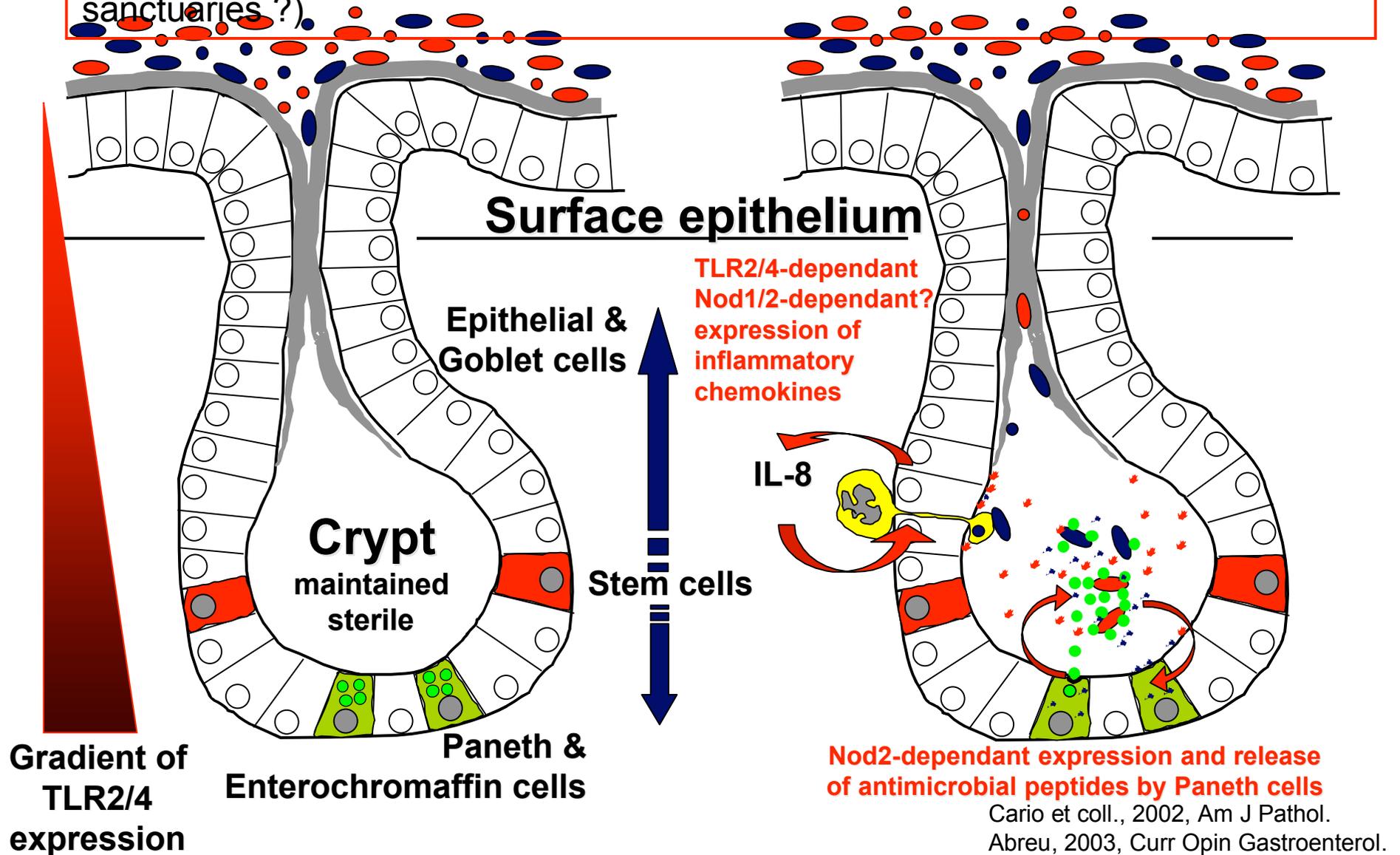
Contrôle



Maladie de Crohn active

G = Cellules caliciformes, BL = *lamina propria*, N = Noyaux

Sensing of the luminal flora. Not all epithelial cells are equal (Abreu et al., 2005):  
 (1) Sequestration/weak expression of sensing molecules (and cofactors) on surface epithelium.  
 (2) Expression in crypts (maintaining crypts as +/- sterile sanctuaries?).



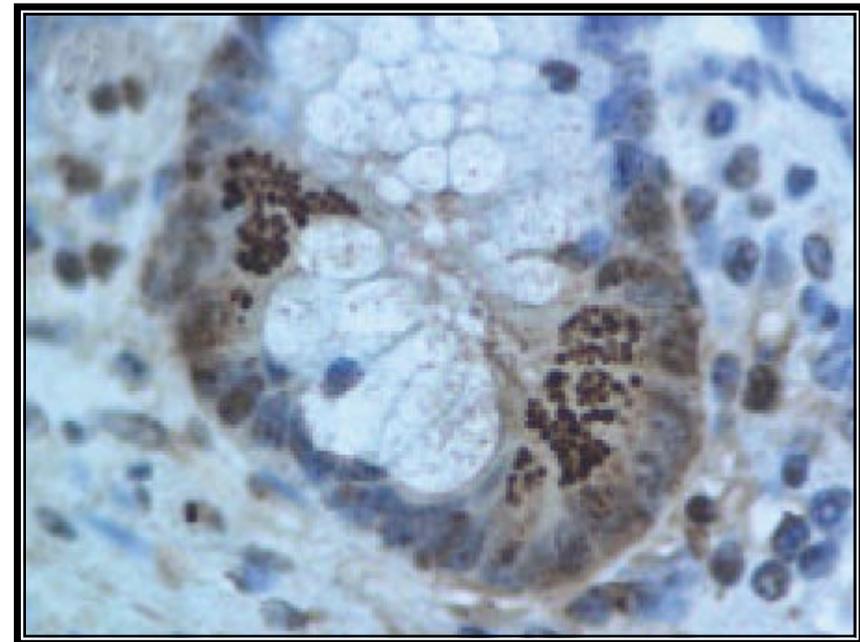
Cario et coll., 2002, Am J Pathol.  
 Abreu, 2003, Curr Opin Gastroenterol.  
 Lee et coll. 2006, Nat Cell Biol.

# Localisation de Nod2 dans la crypte intestinale

---

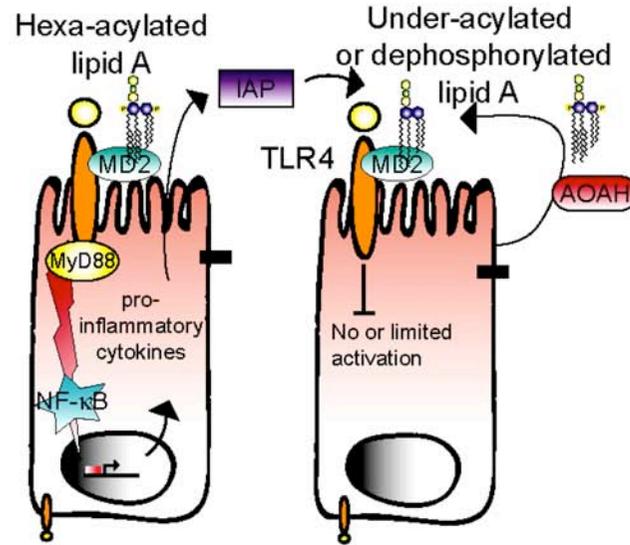


Iléon non inflammatoire  
Ab anti-NOD2

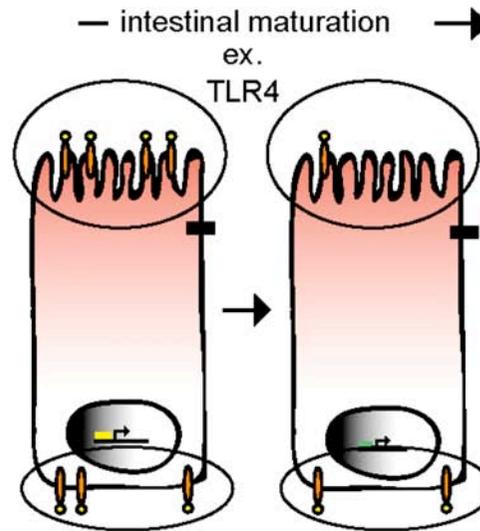


Iléon non inflammatoire  
Ab anti-NOD2  
Ab anti-lysozyme

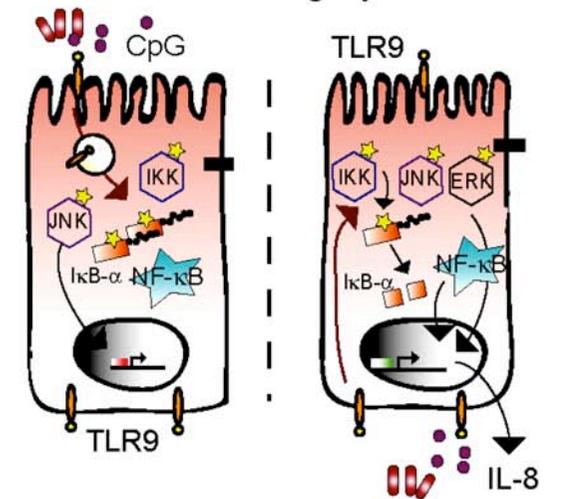
Detoxification of pro-inflammatory molecules



Down-regulation of TLR expression



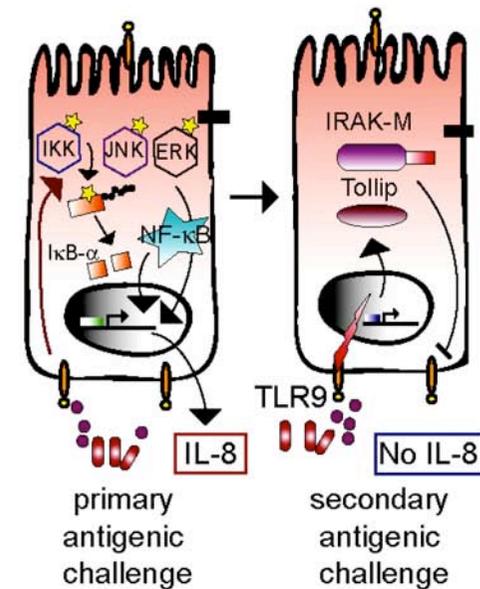
Restricted access to basolateral TLRs due to tight junctions



apical stimulation  
Tolerization

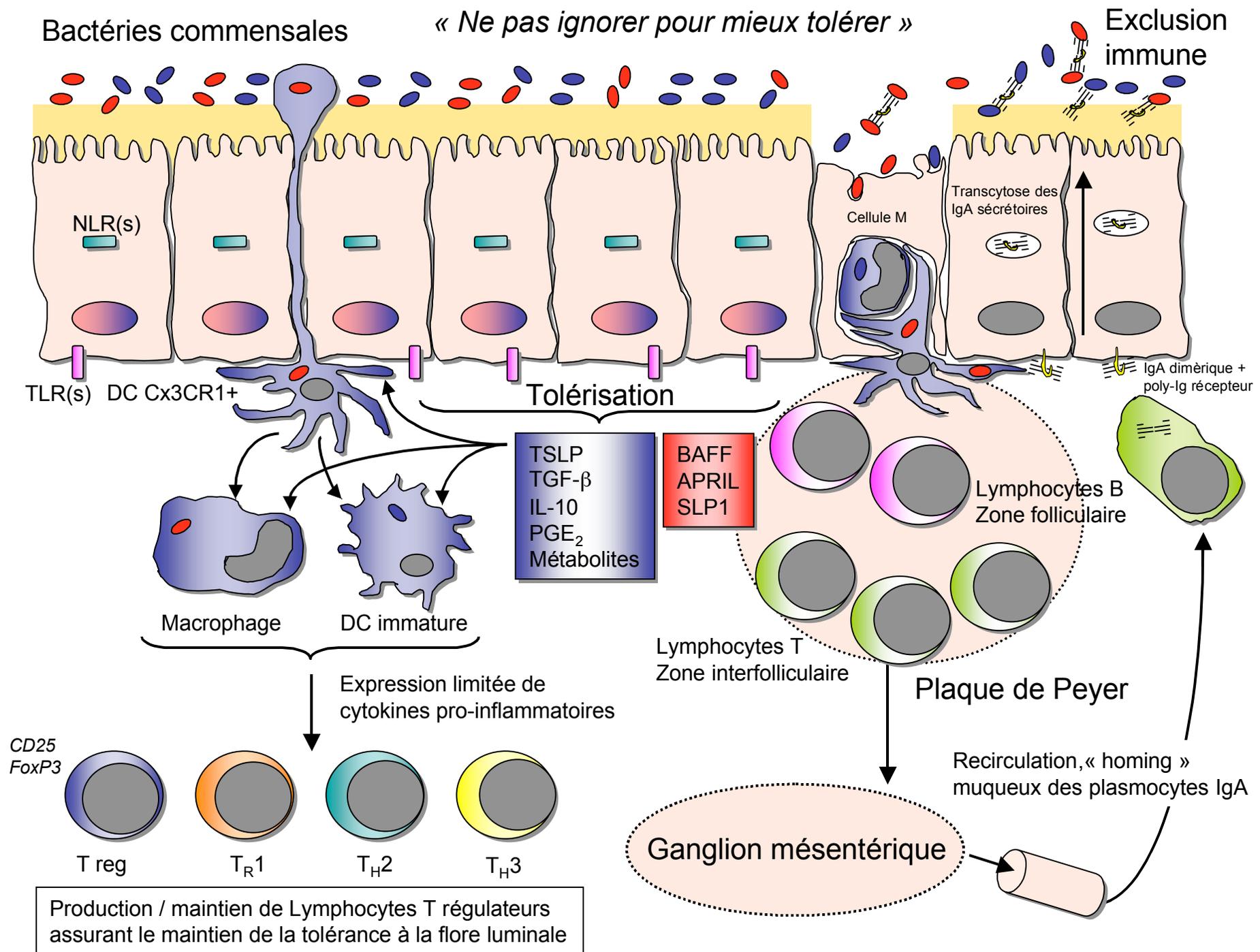
basolateral stimulation  
Pro-inflammatory

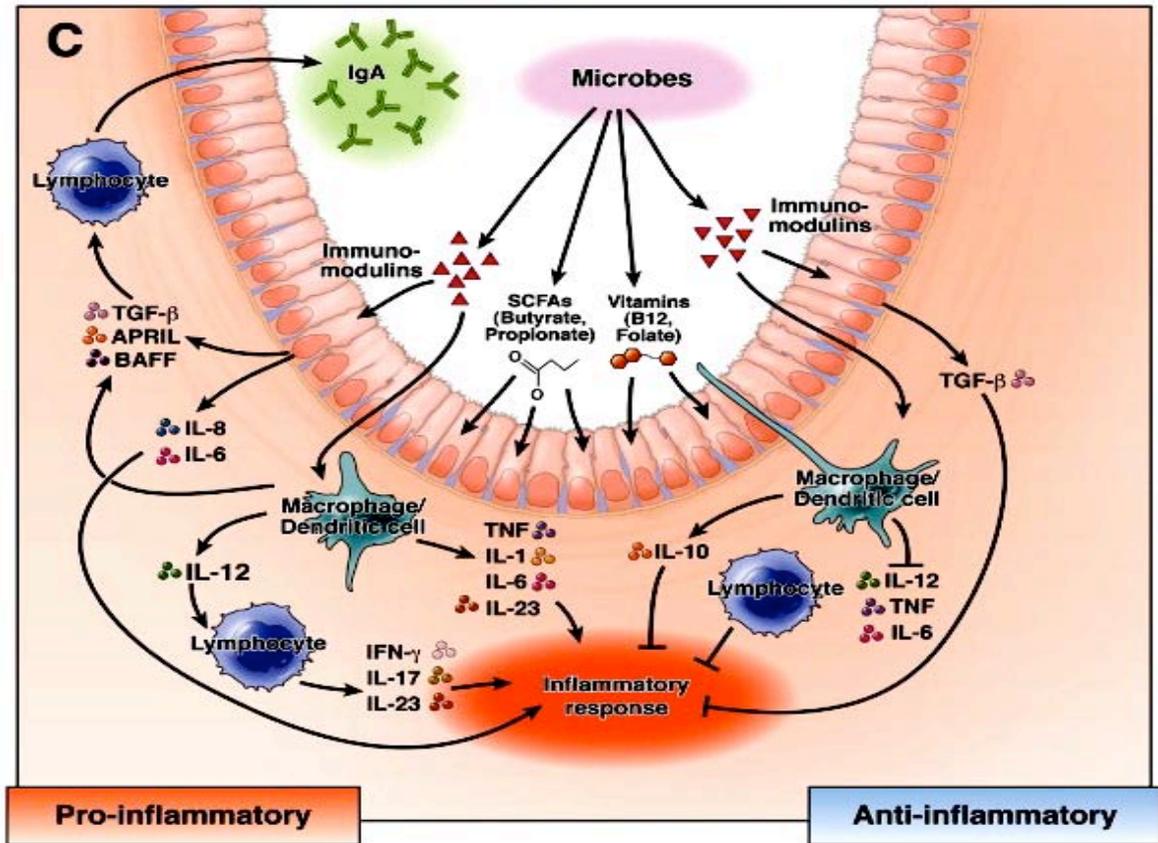
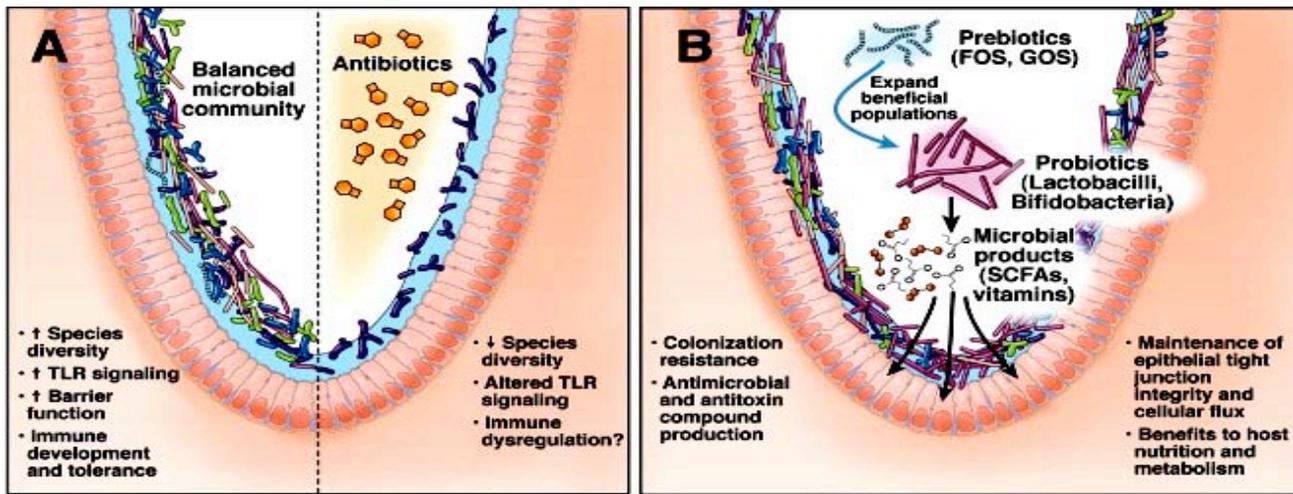
Desensitization/induction of tolerant state



primary antigenic challenge  
IL-8

secondary antigenic challenge  
No IL-8

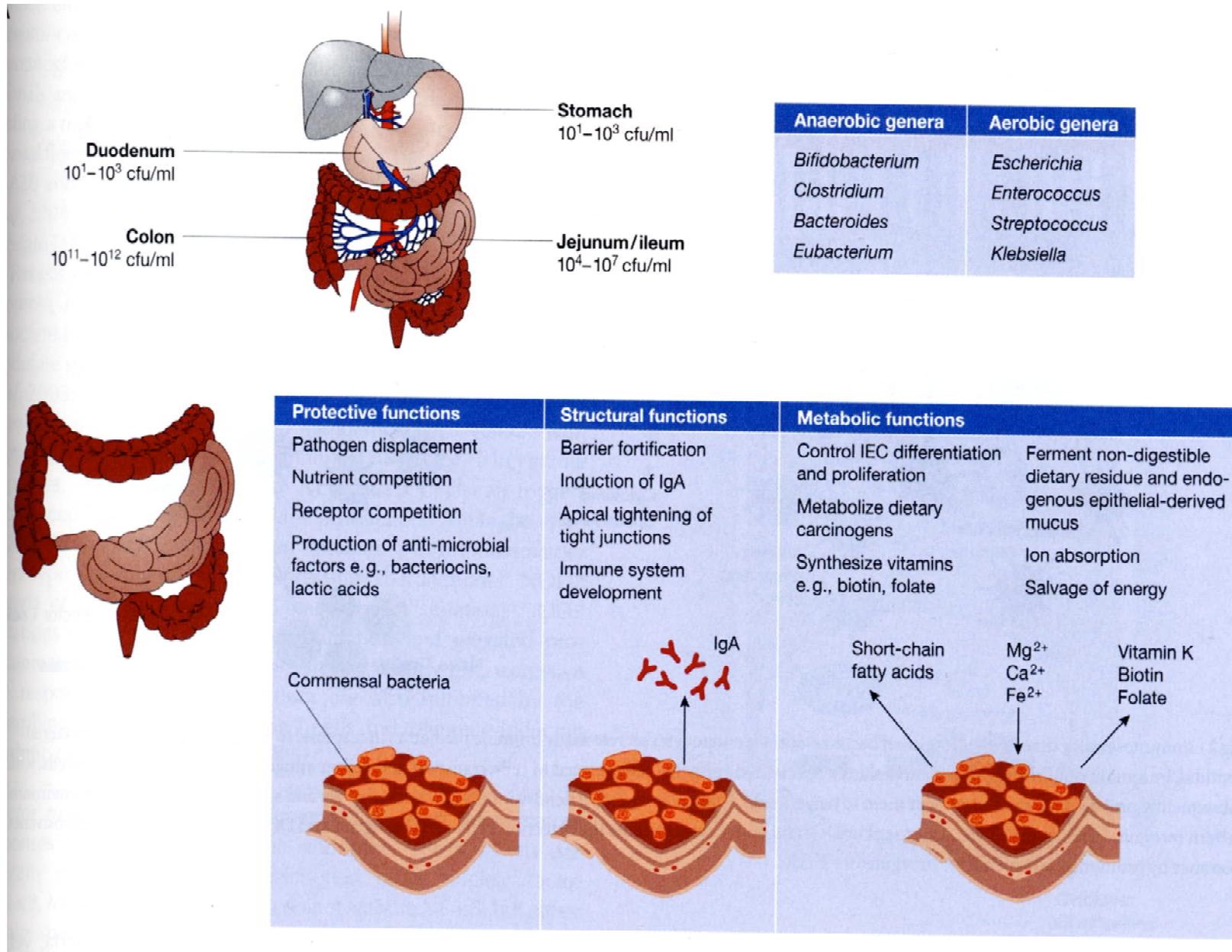






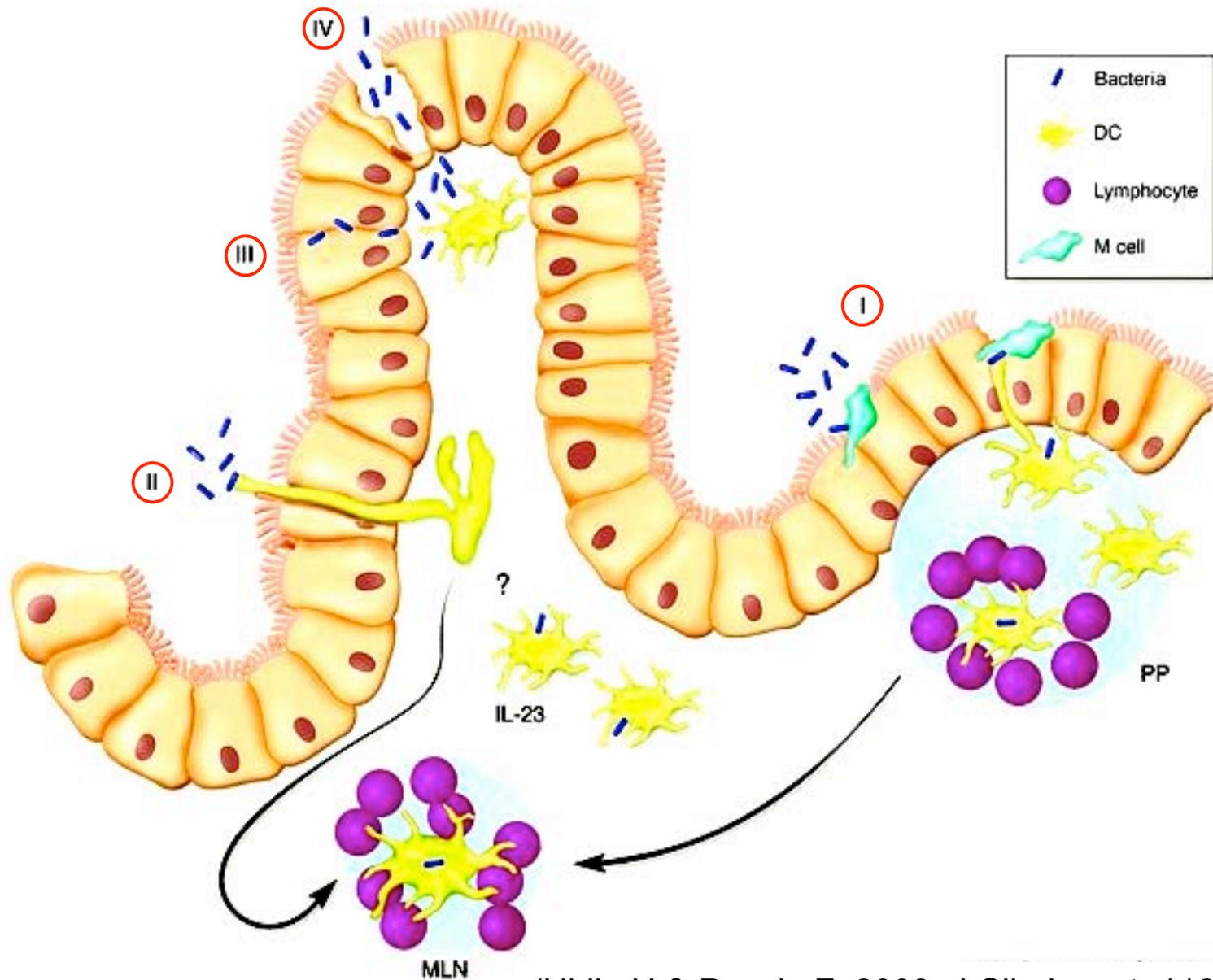


# Fonctions du microbiote commensal intestinal





# Comment les cellules dendritiques sentent les bactéries lumineales



(Uhlir H & Powrie F. 2003. J.Clin.Invest.,112:648-651)