

Etre ou ne pas être un pathogène, telle est la question...

Philippe J Sansonetti

Chaire de Microbiologie et Maladies Infectieuses



Remerciements à Nicole Sansonetti

Collège de France
18 décembre 2013



INSTITUT PASTEUR



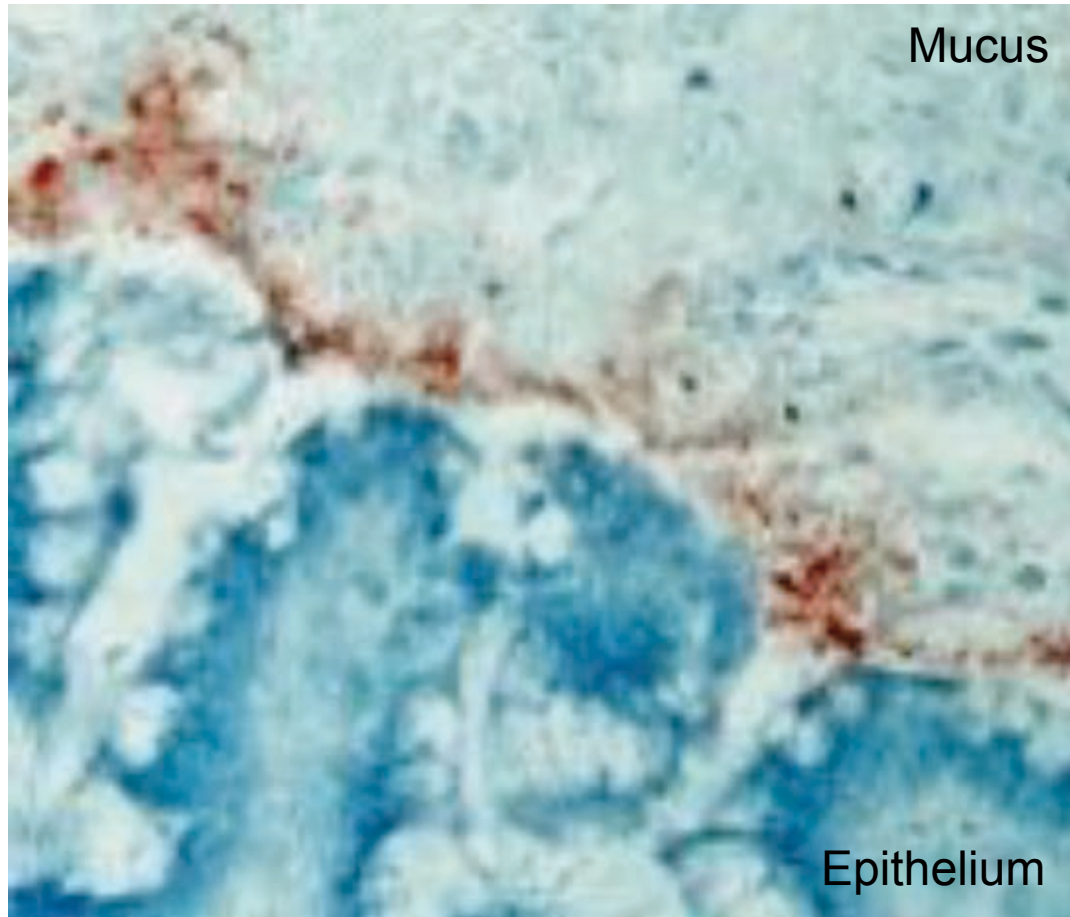
COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Vie des bactéries à la surface des muqueuses

« Seating on a volcano »



Symbiotes/commensaux: survivent à distance ou dans des niches particulières, échappent(régulent) les défenses innées

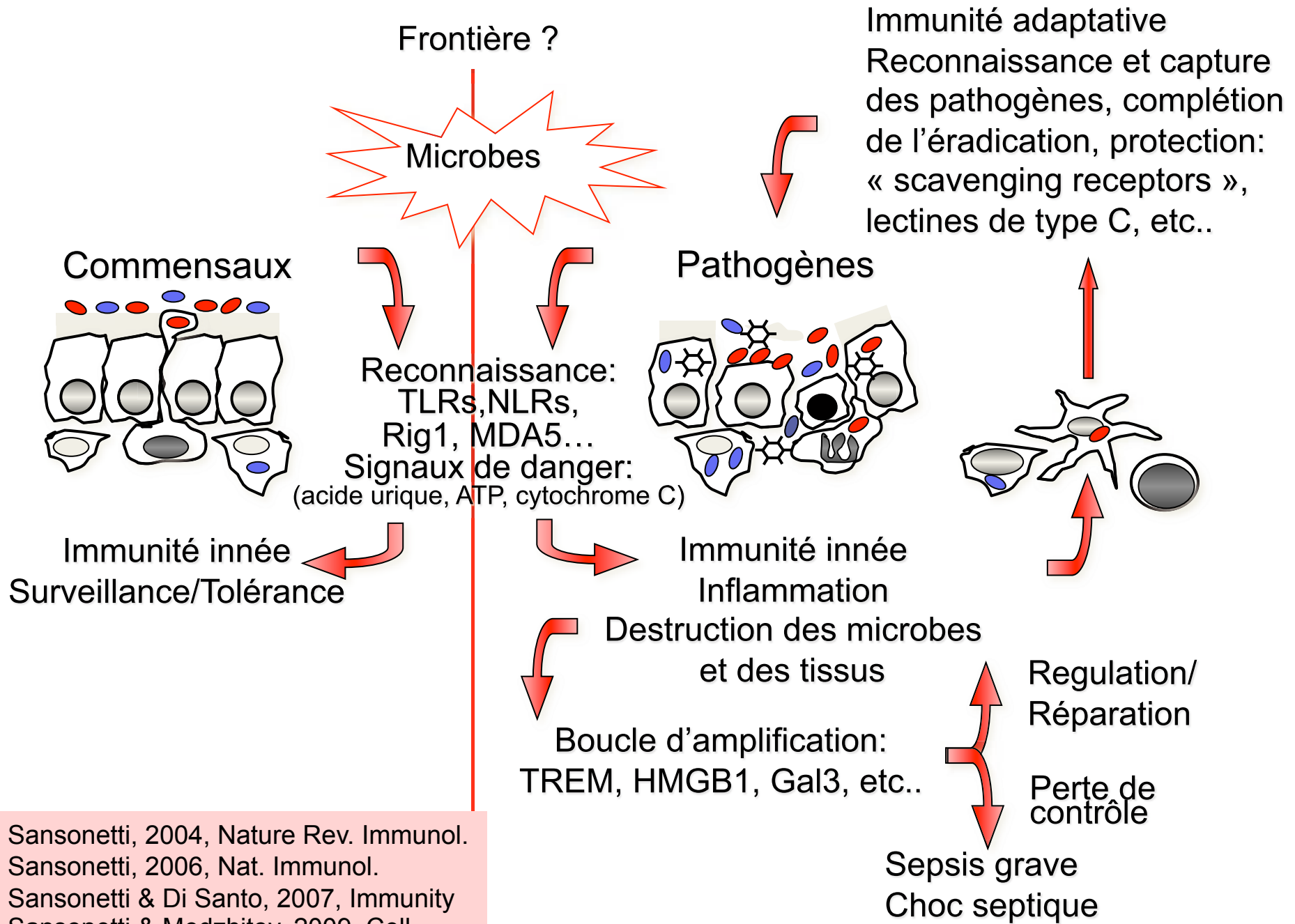
Pathogènes: subversion défenses immunitaires

- Blocage des signaux de danger
- Modifications post-traductionnelles de molécules clés de la signalisation

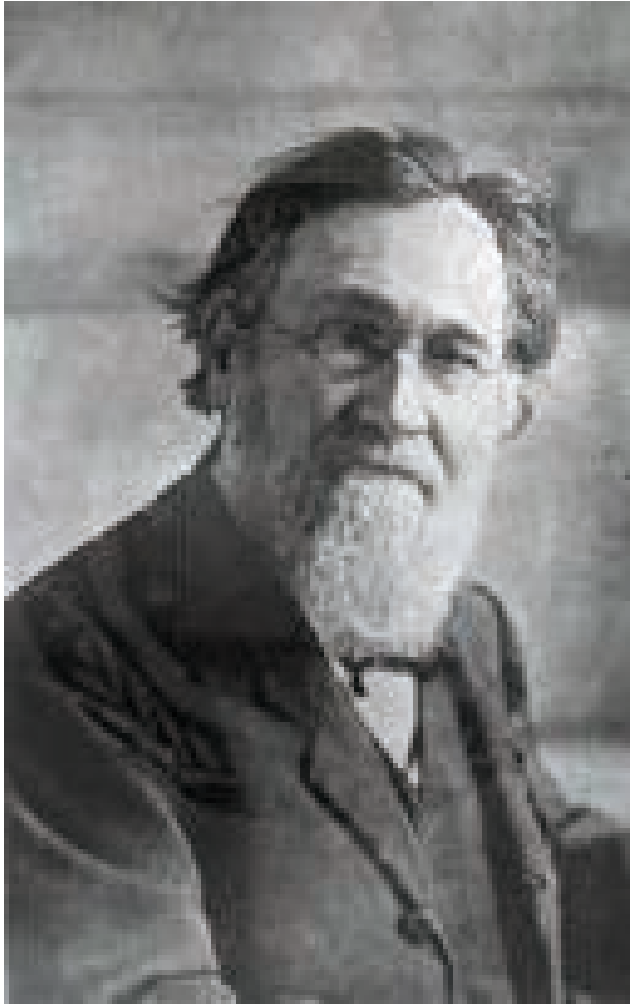
- O₂, NO, ROS
- Peptides antimicrobiens
- Lysozyme, protéases, lectines, phospholipases
- Cellules phagocytaires
- sIgA

Peptide cationique antimicrobien hBD3 ■

Kim et al., PNAS, 2005
Arbibe et al., Nature Immunol., 2007
Sperandio et al., J. Exp. Med., 2008
Marteyn et al., Nature, 2010
Konradt et al., Cell Host Microbe, 2011
Puhar et al., Immunity, 2013



Sansonetti, 2004, Nature Rev. Immunol.
 Sansonetti, 2006, Nat. Immunol.
 Sansonetti & Di Santo, 2007, Immunity
 Sansonetti & Medzhitov, 2009, Cell
 Sansonetti, 2010, Mucosal Immunology



Elie Metchnikoff, 1845-1916
Professeur de Microbiologie à
L'Institut Pasteur, 1893-1914
Prix Nobel de Physiologie ou
Médecine (avec Paul Ehrlich)
en 1908

Inflammation physiologique

La co-évolution mammifères-microbes a créé un "paradoxe immunologique" encore appelé "inflammation physiologique" qui permet de conjuguer **tolérance** aux microorganismes symbiotiques / commensaux et **reconnaissance rapide et efficace suivie de destruction** des microorganismes pathogènes

Un changement de paradigme

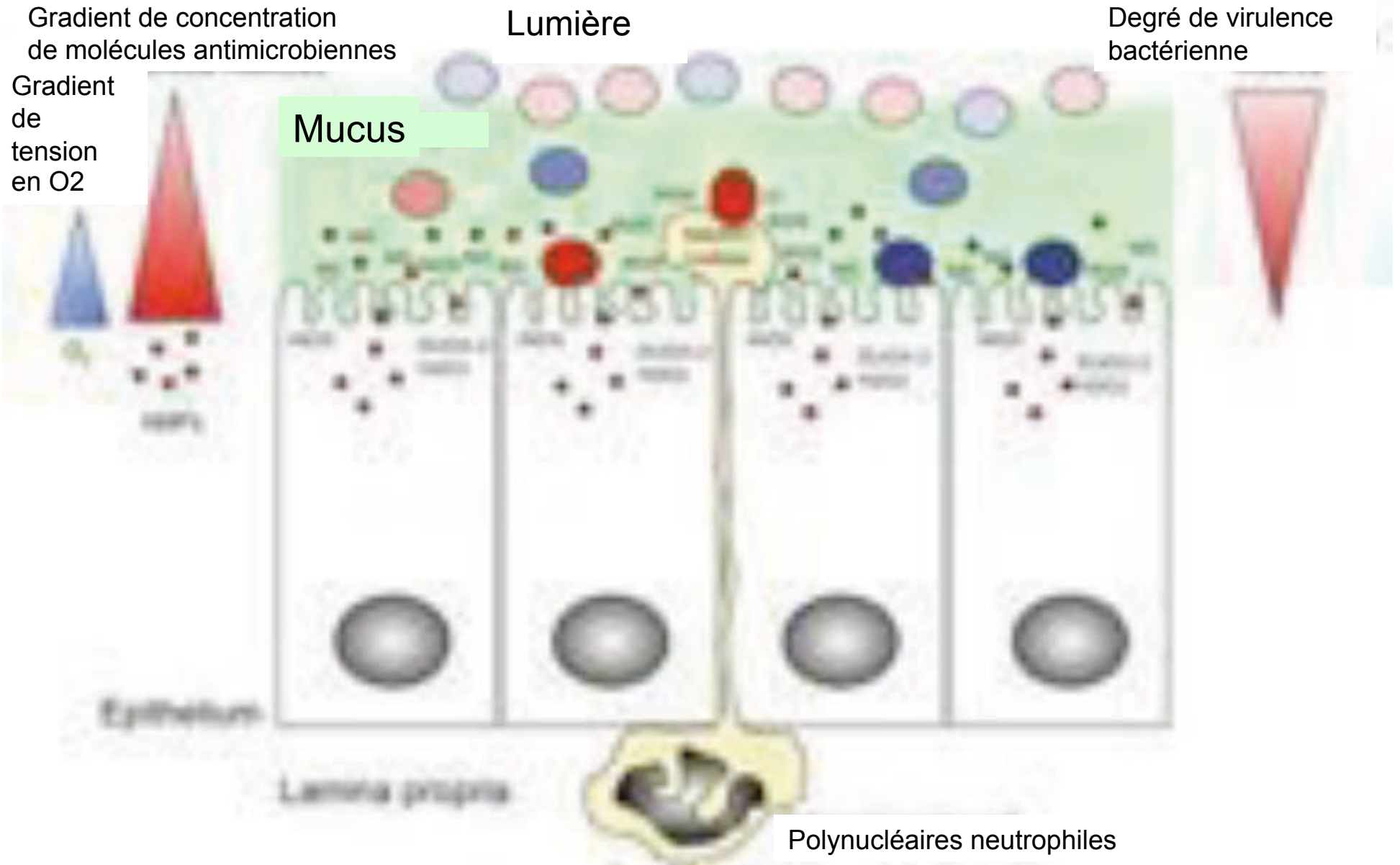
La vue prévaut, du fait d'un biais historique évident, que l'interaction entre les êtres multicellulaires complexes et les microbes existe et a évolué afin d'assurer le contrôle des pathogènes.

Les travaux sur le microbiome incitent à penser que l'interaction hôte-pathogène n'est qu'un aspect minoritaire de cette interaction qui est en fait marquée par une interaction bien plus vaste avec le microbiome.

L'essential de cette interaction est bénéfique. Ses dysfonctionnements peuvent sous-tendre de larges domaines de la médecine humaine

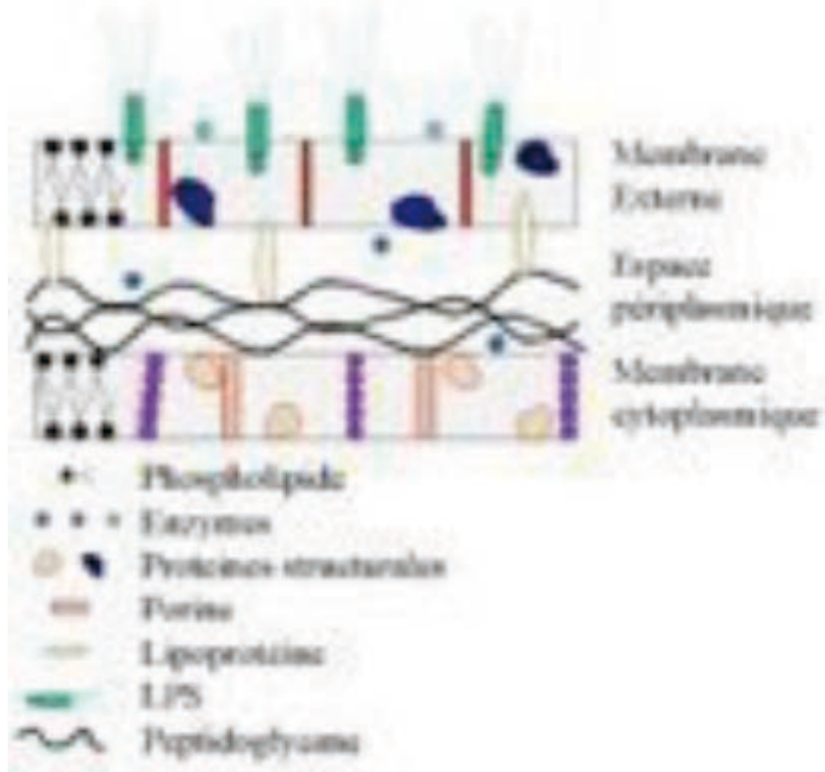
Il faut donc considérer que la fonction du système immunitaire peut être aussi vue sous l'angle du maintien du microbiome.

Inflammation physiologique

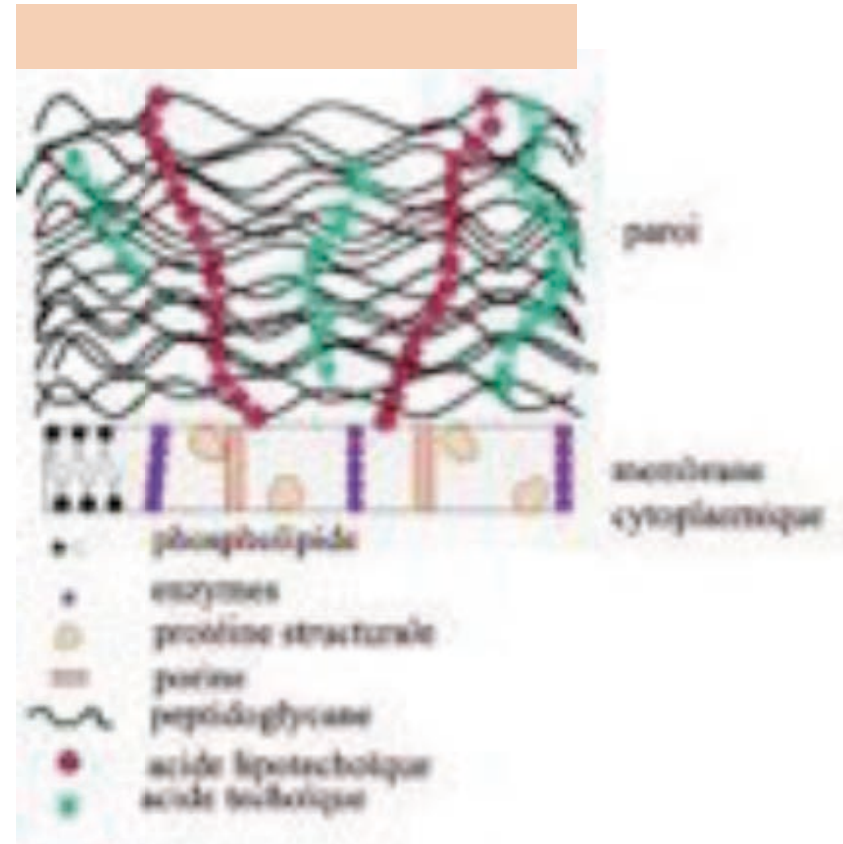


Différences structurales entre les enveloppes des bactéries à Gram + et à Gram -

Capsule

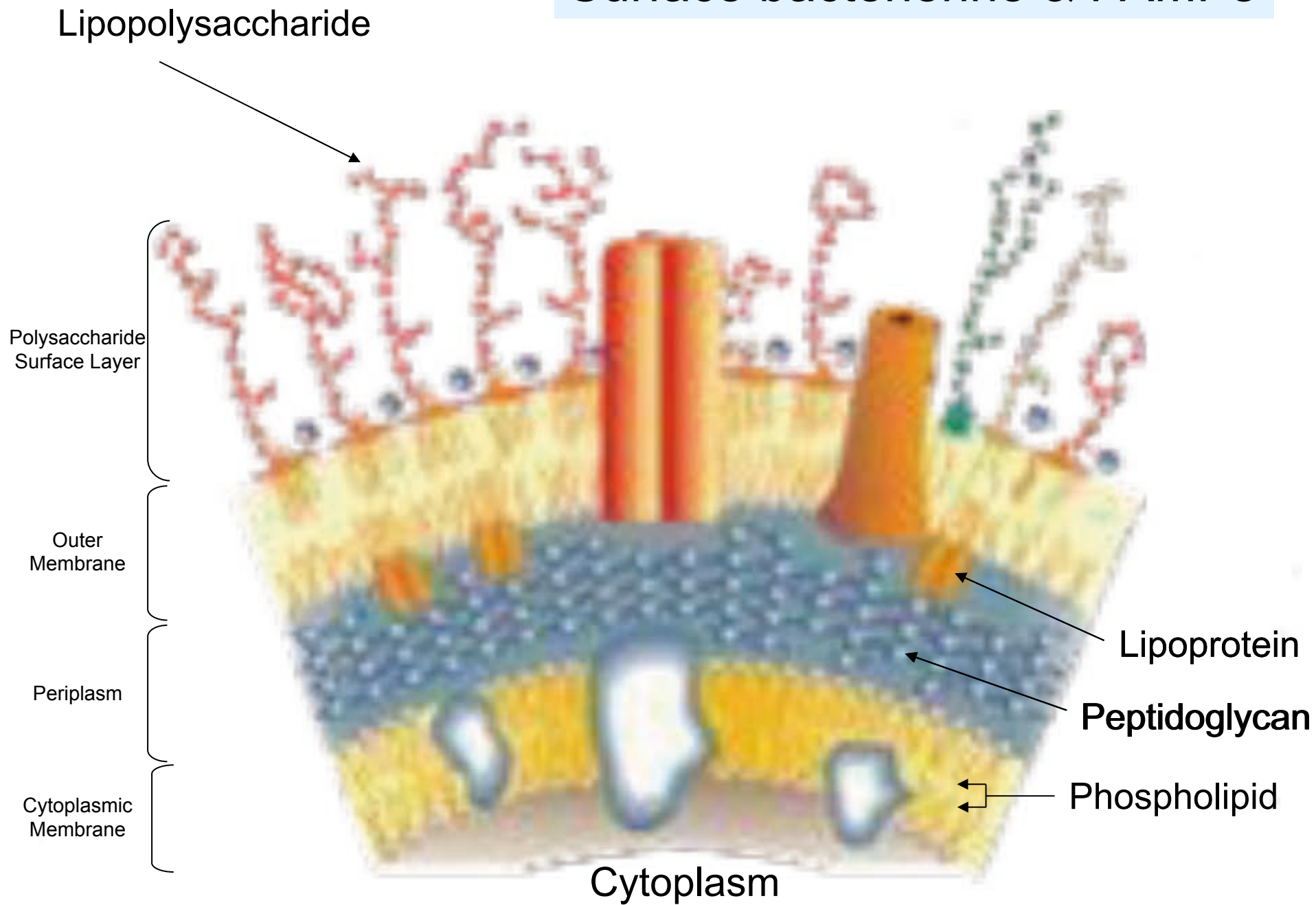


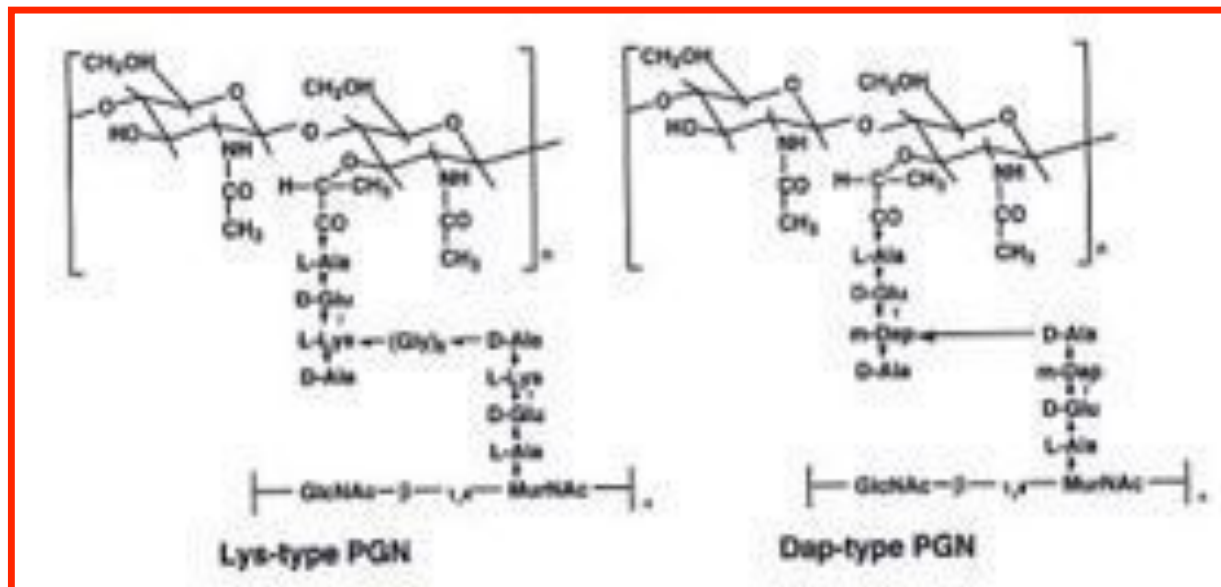
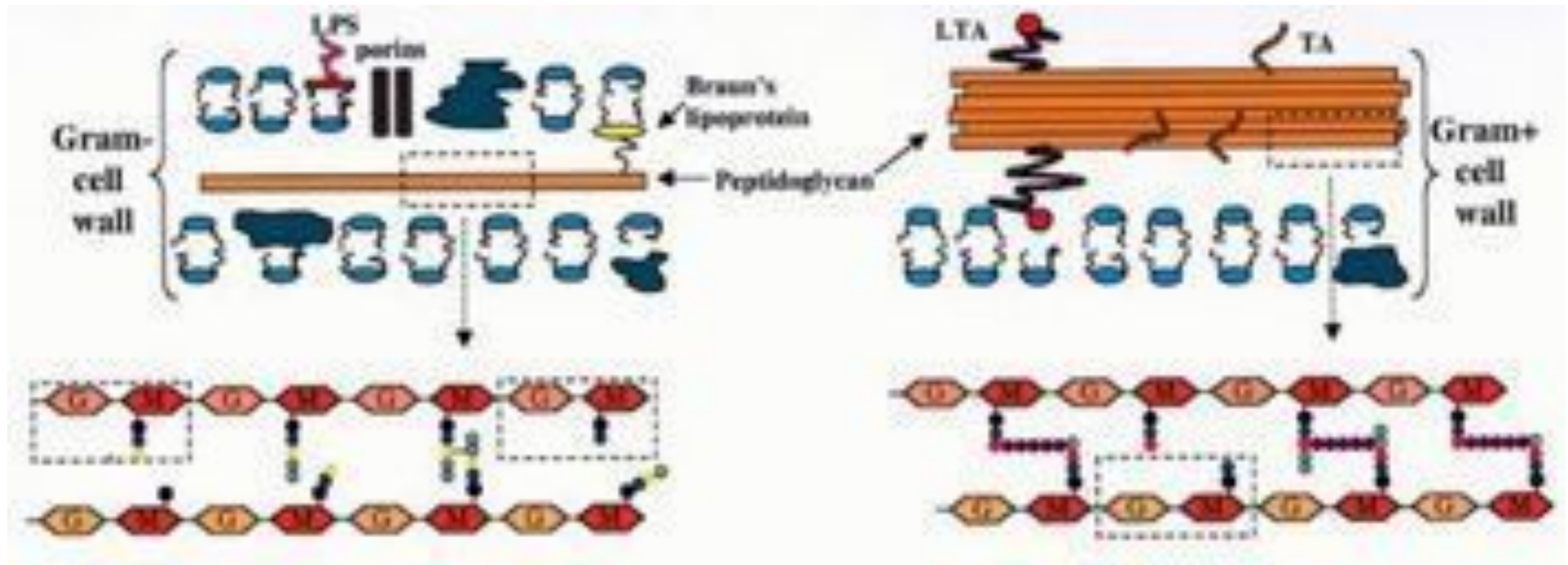
Gram négatif



Gram positif

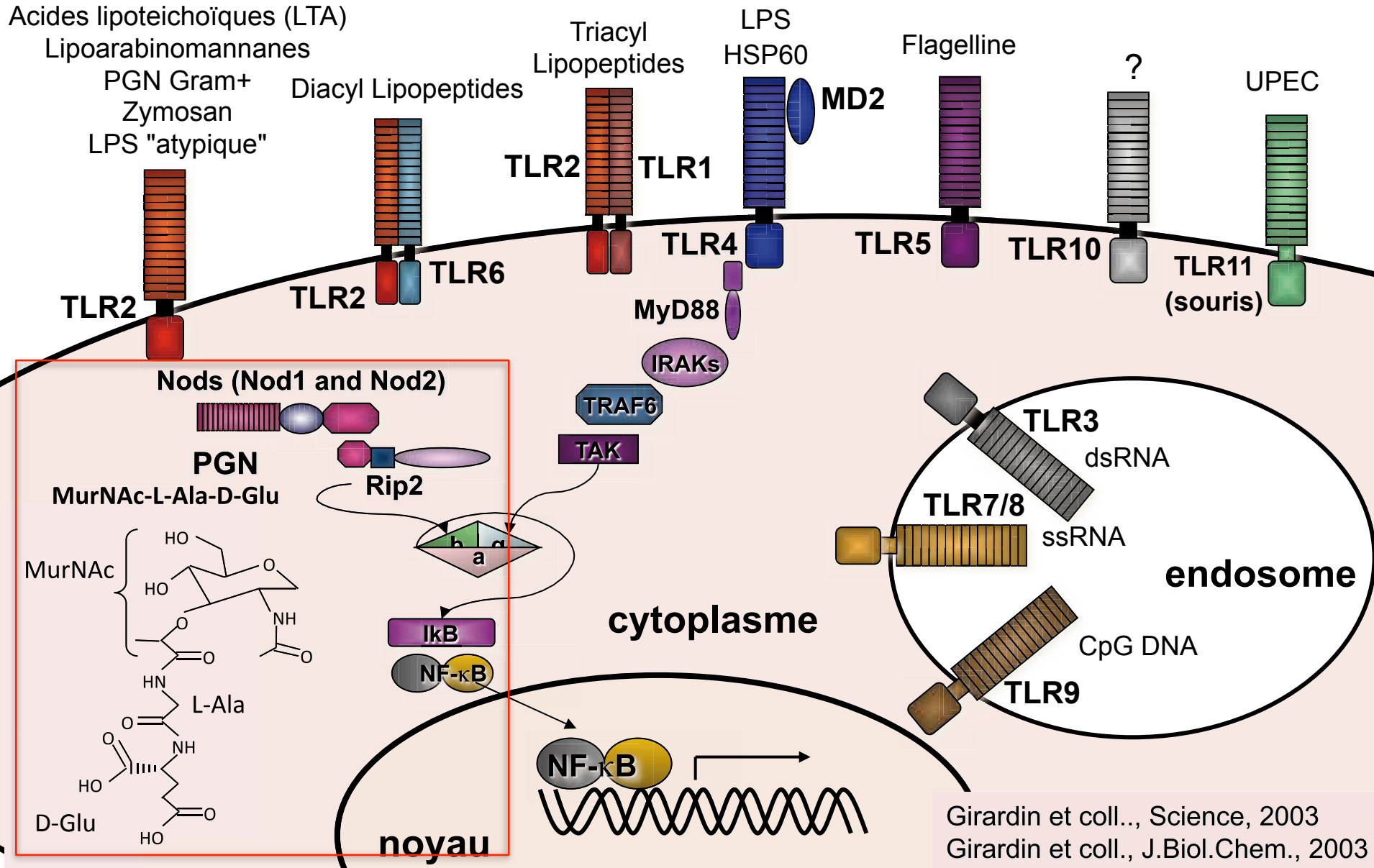
Surface bactérienne & PAMPs





- L-Alanine
- D-Glutamate
- *meso*DAP
- L-Lysine
- D-Alanine
- Penta-Glycine
- M N-Acetylmuramic acid
- G N-Acetylglucosamine

"Pathogens Recognition Receptors (PRRs)" & PAMPs/MAMPs



Girardin et coll., Science, 2003
 Girardin et coll., J.Biol.Chem., 2003

Mécanismes de tolérance au microbiote intestinal

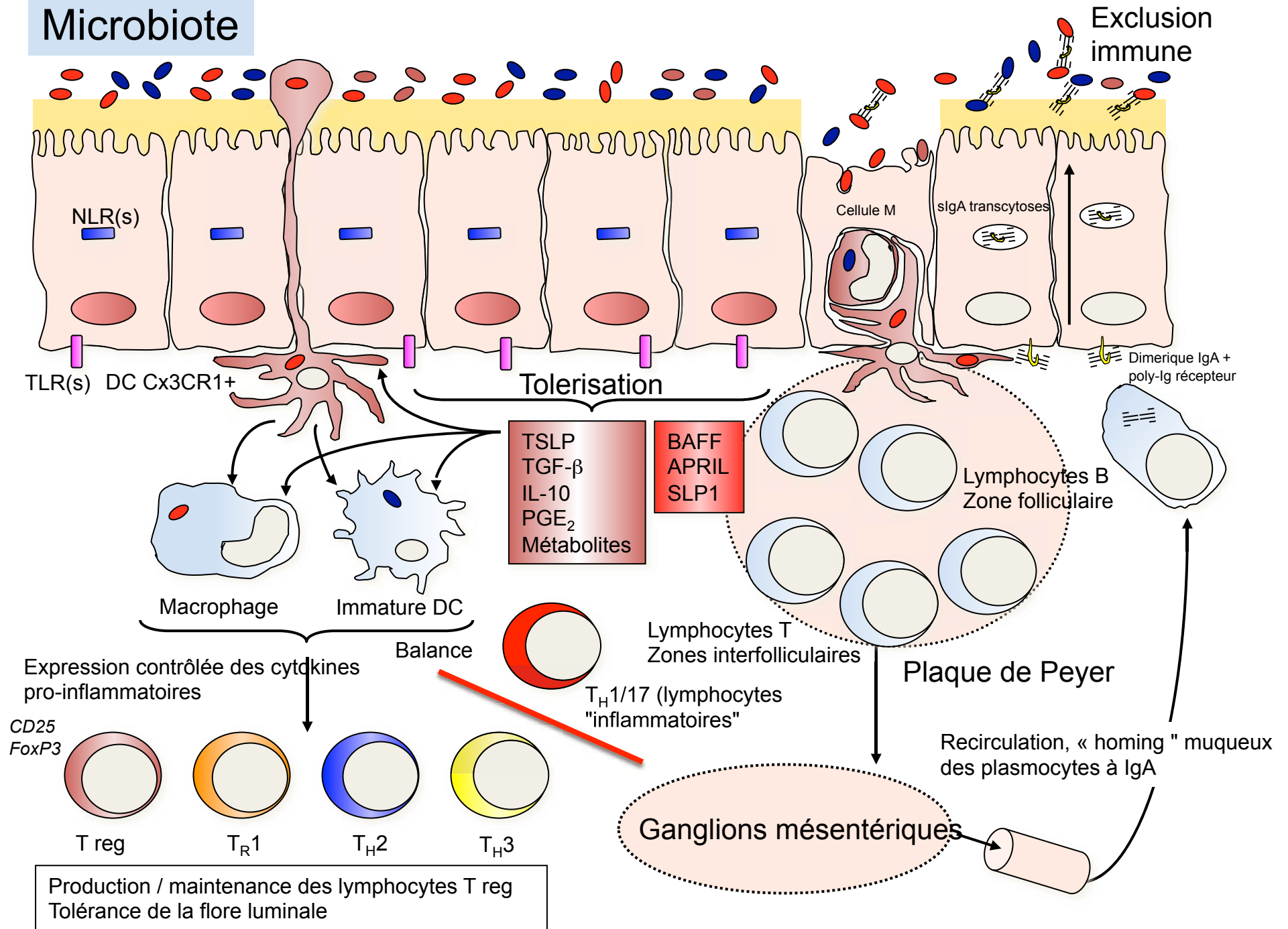
Furtivité

- 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

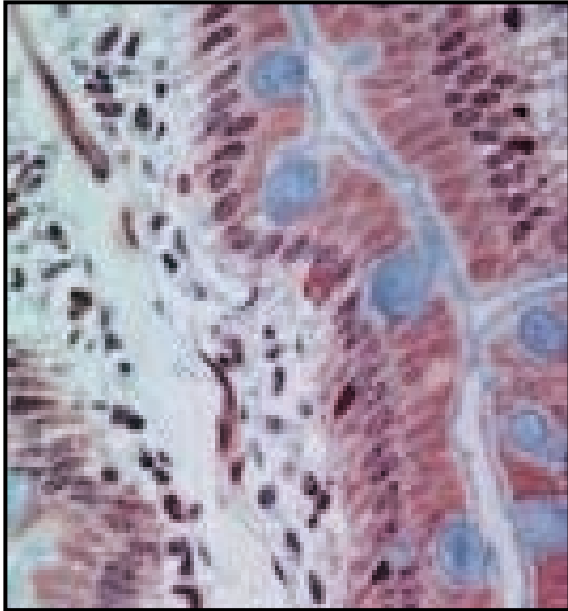
Tolérognèse active

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

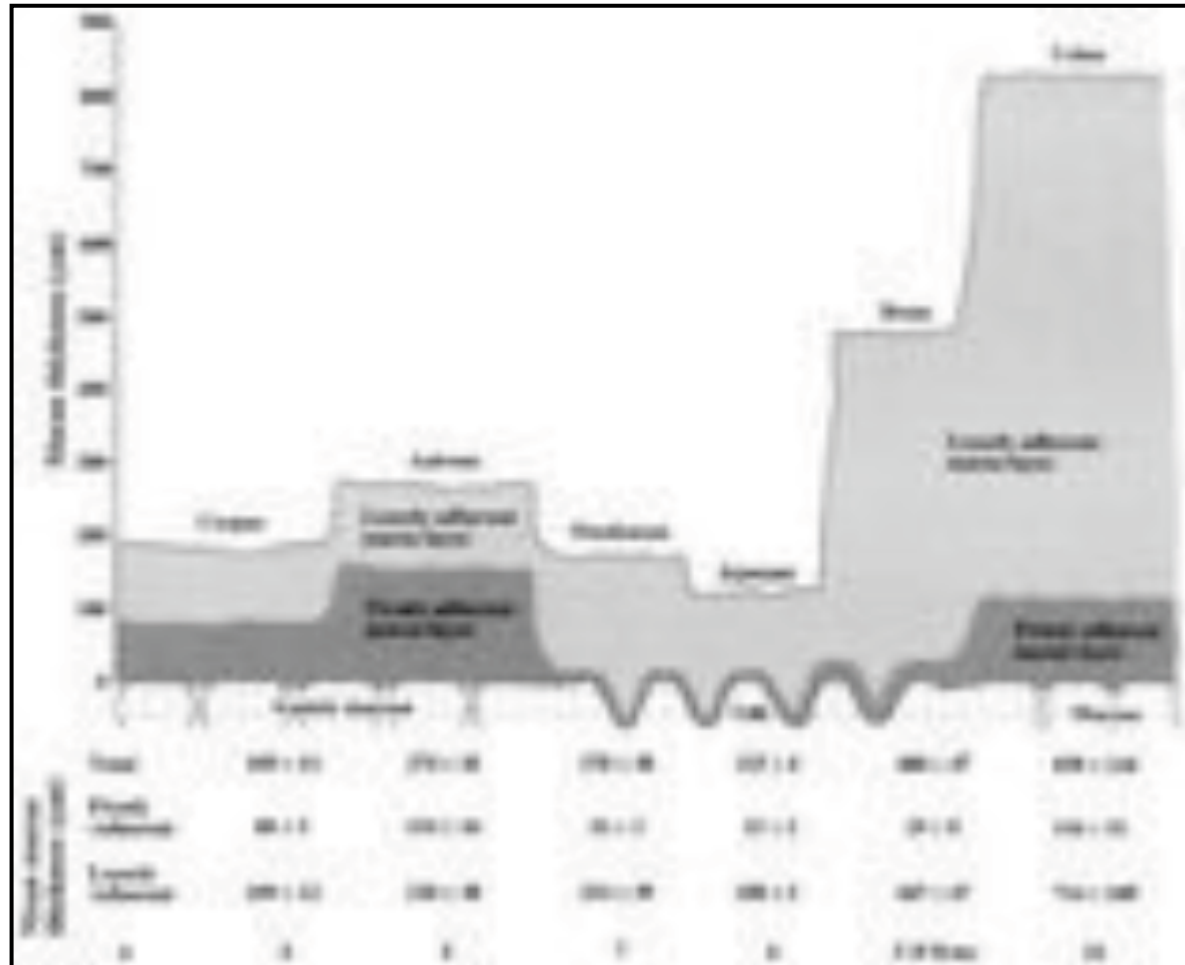
Microbiote



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

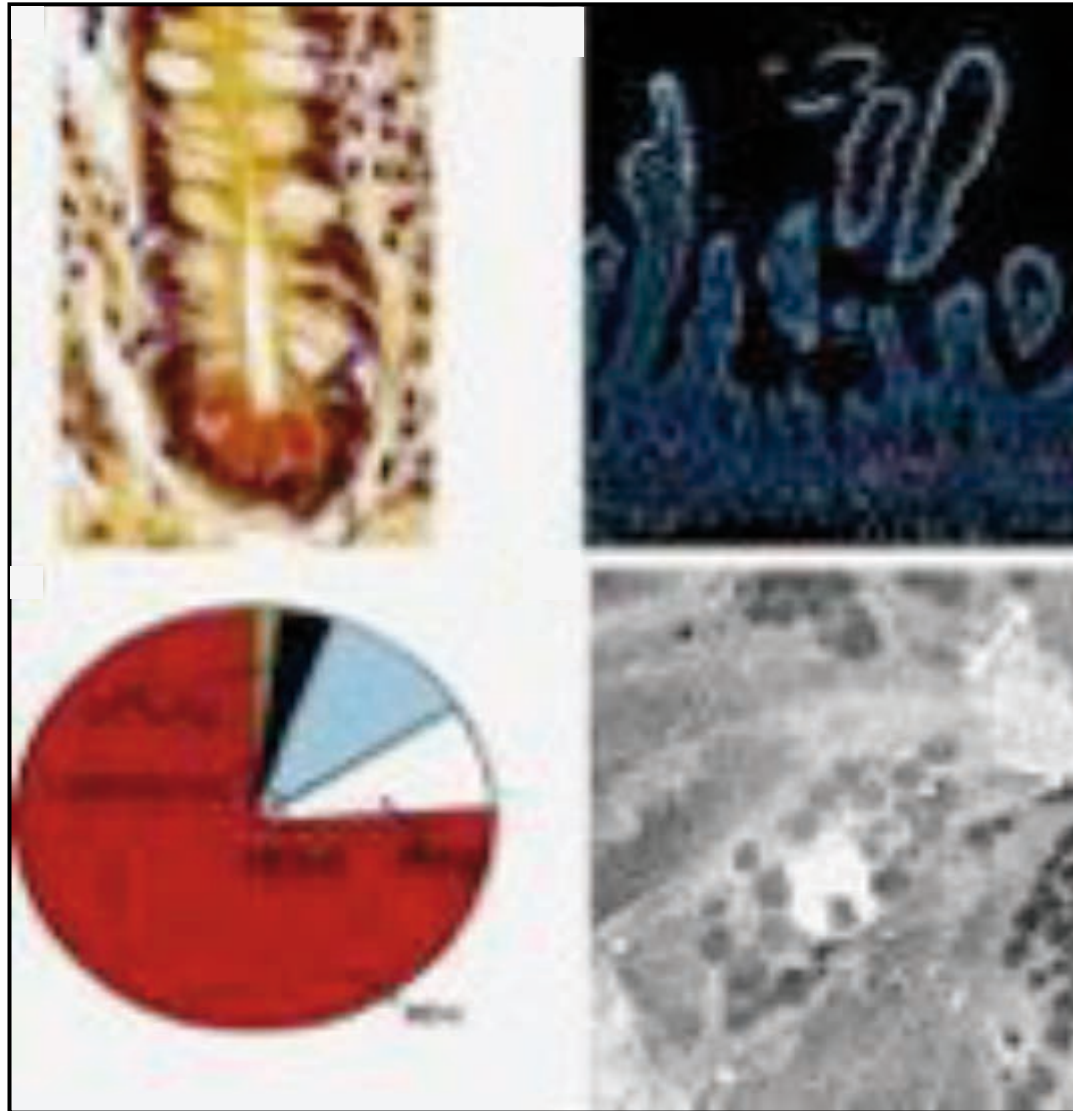


- Altérations de l'homéostasie des mucines dans les MICI.
- La RCH est caractérisée par une vacuité des cellules mucipares et une fine couche de mucus.
- L'assemblage aberrant de Muc2 chez la souris cause un stress du réticulum endoplasmique et un tableau proche de la RCH (Heazlewood et al., PLoS Med.,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



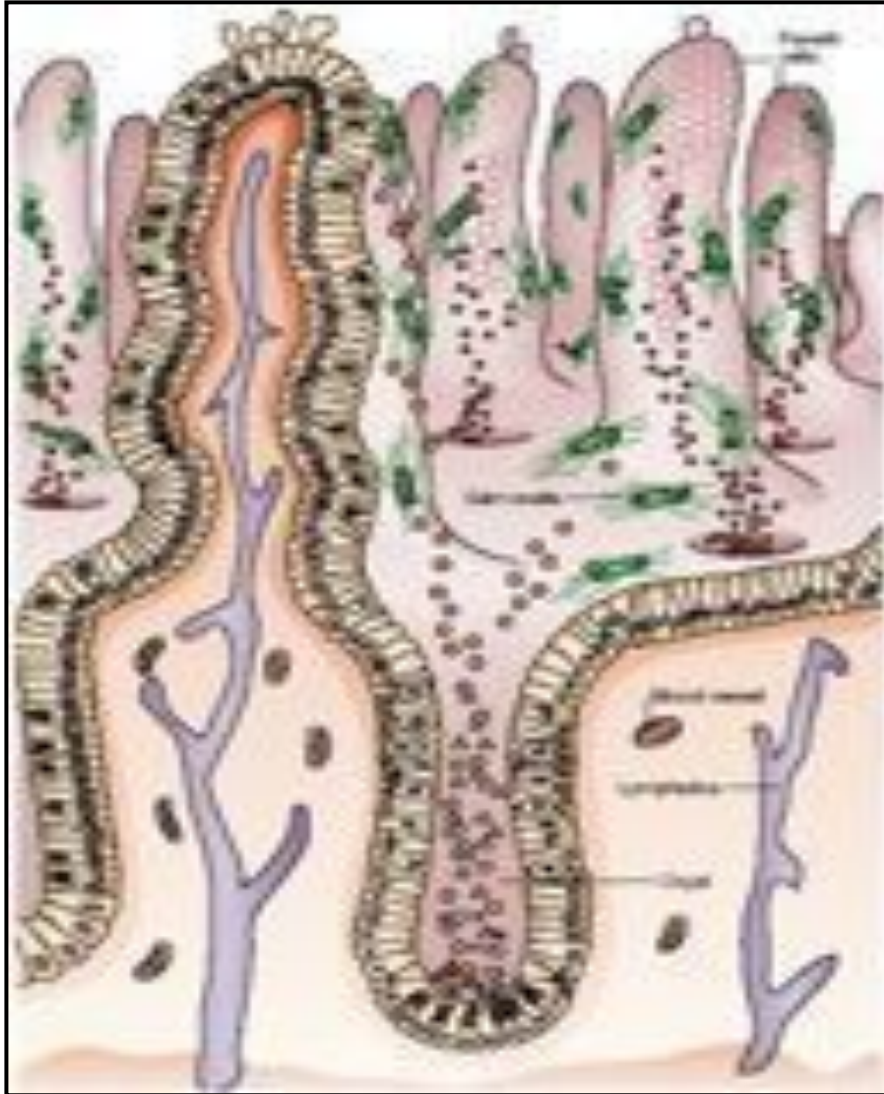
Matsuo et al., 1997, Gut; Atuma et al., 2001, Am.J.Physiol.Gastrointest.Liver.Physiol.

Cellules de Paneth



Salzman & Bevins, 2007

Peptides antimicrobiens



Cryptes

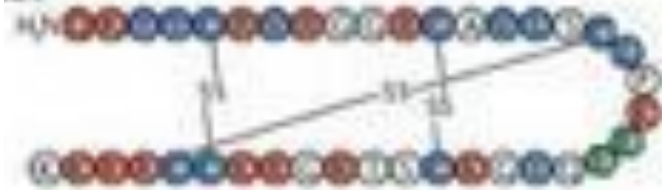
- ◆ α -défensine 5 (cellules de Paneth)
- ◆ α -défensine 6 (cellules de Paneth)



α -defensin 1

Villi

- ◆ β -défensine 1 (cellules épithéliales)
- ◆ β -défensine 2 (cellules épithéliales)
- ◆ β -défensine 3 (cellules épithéliales)

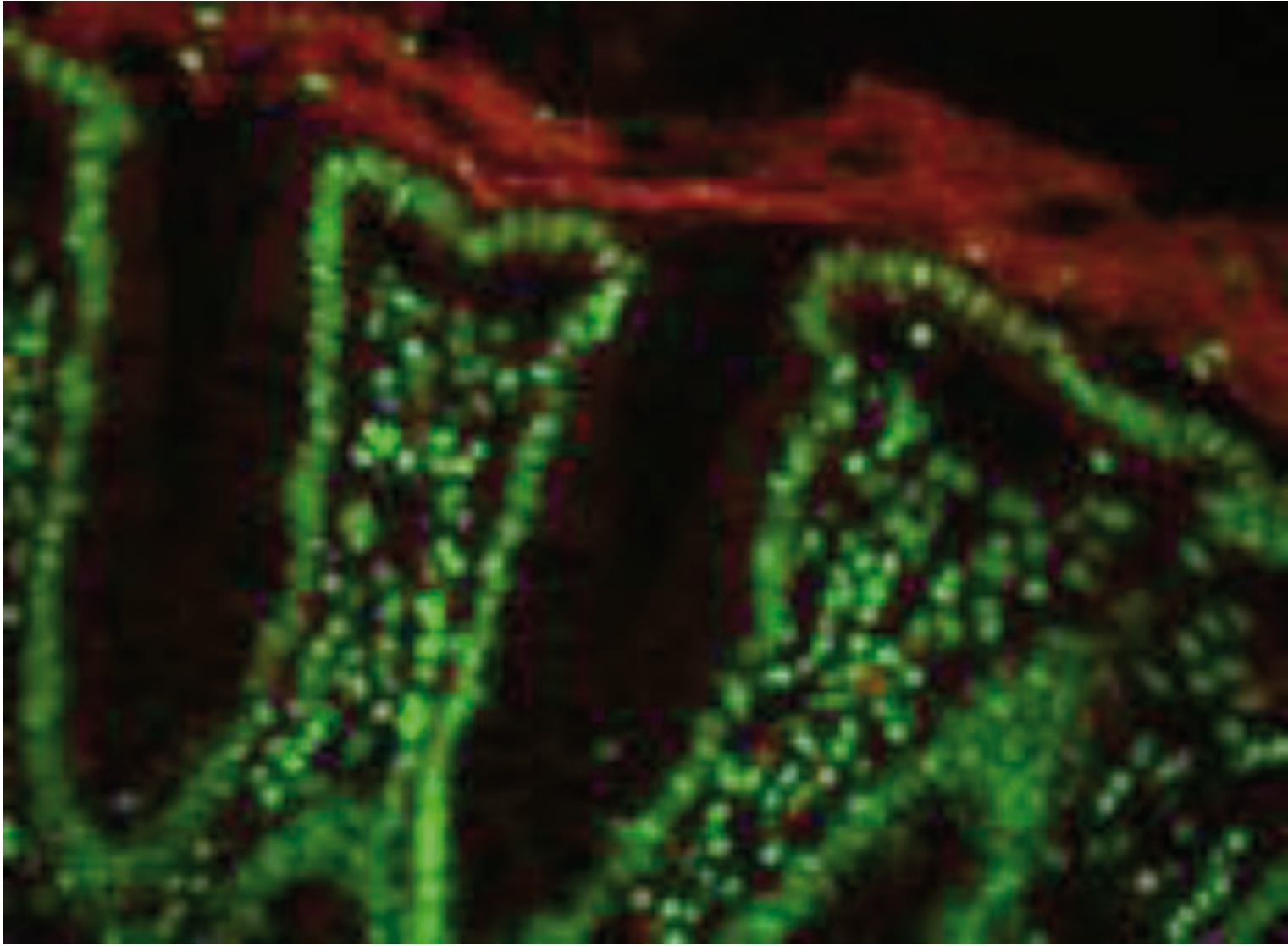


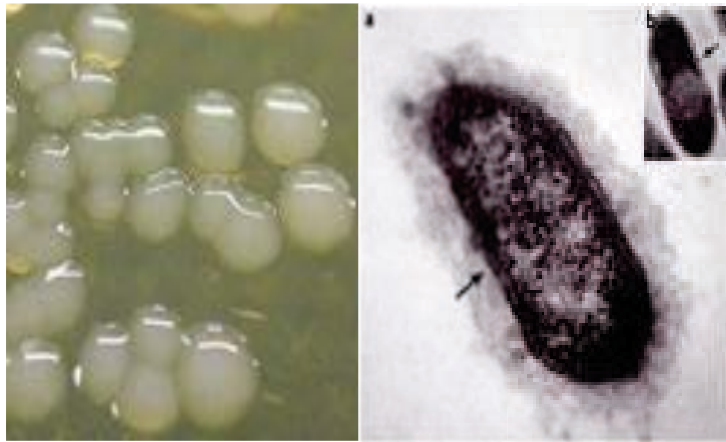
β -défensine 3

- ◆ cathélicidine LL-37 (cellules épithéliales)



LL-37





Bacteroides fragilis - capsule - PSA
Mazmanian et al., 2005, Cell

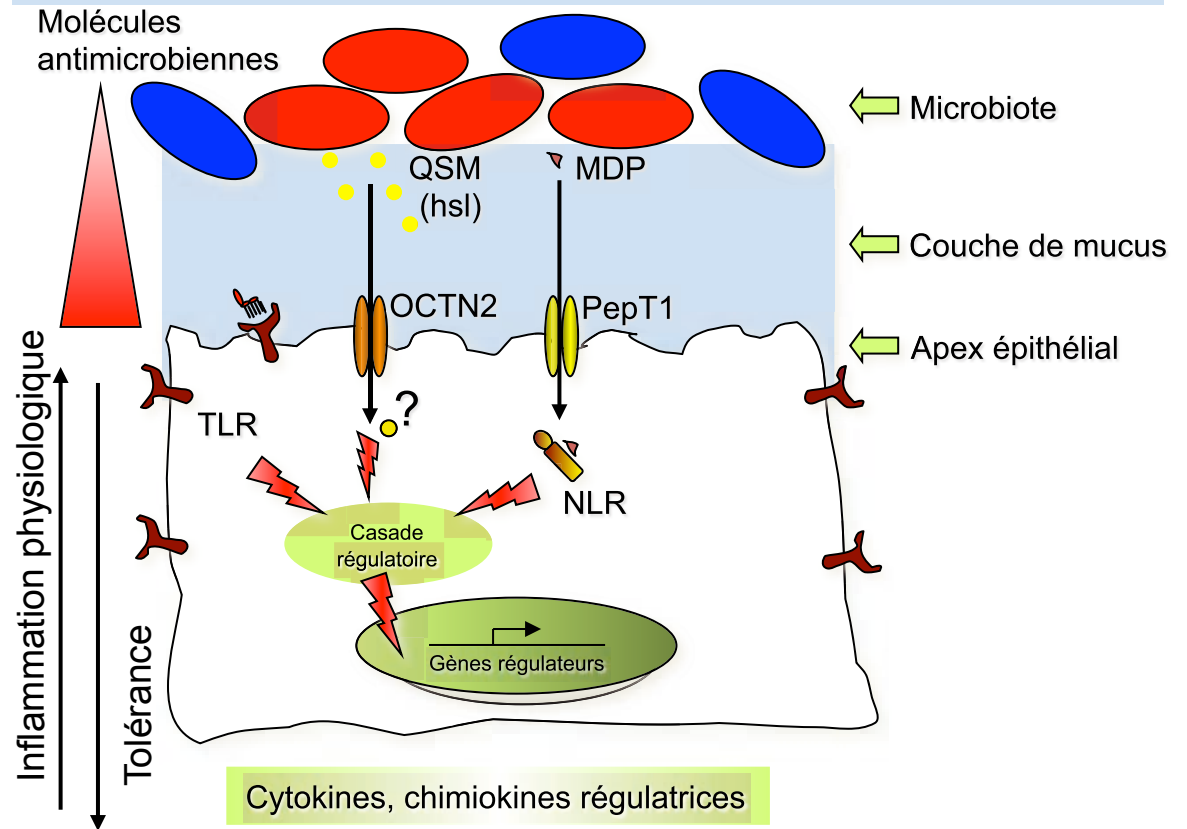


Production de molécules tolérogéniques: lipid A pentacyclé, polysaccharides zwitterioniques

SYMBIOTES

Absence (limitation) ode facteurs de virulence moins agonistes?
Séquestration faible activité des TLRs
Vie en biofilms sur la surface muqueuse
Diffusion et échantillonnage contrôlé des PAMPs et des molécules procaryotes de signalisation

La Paix: mécanismes de l'homéostasie intestinale entre symbiotes et muqueuse

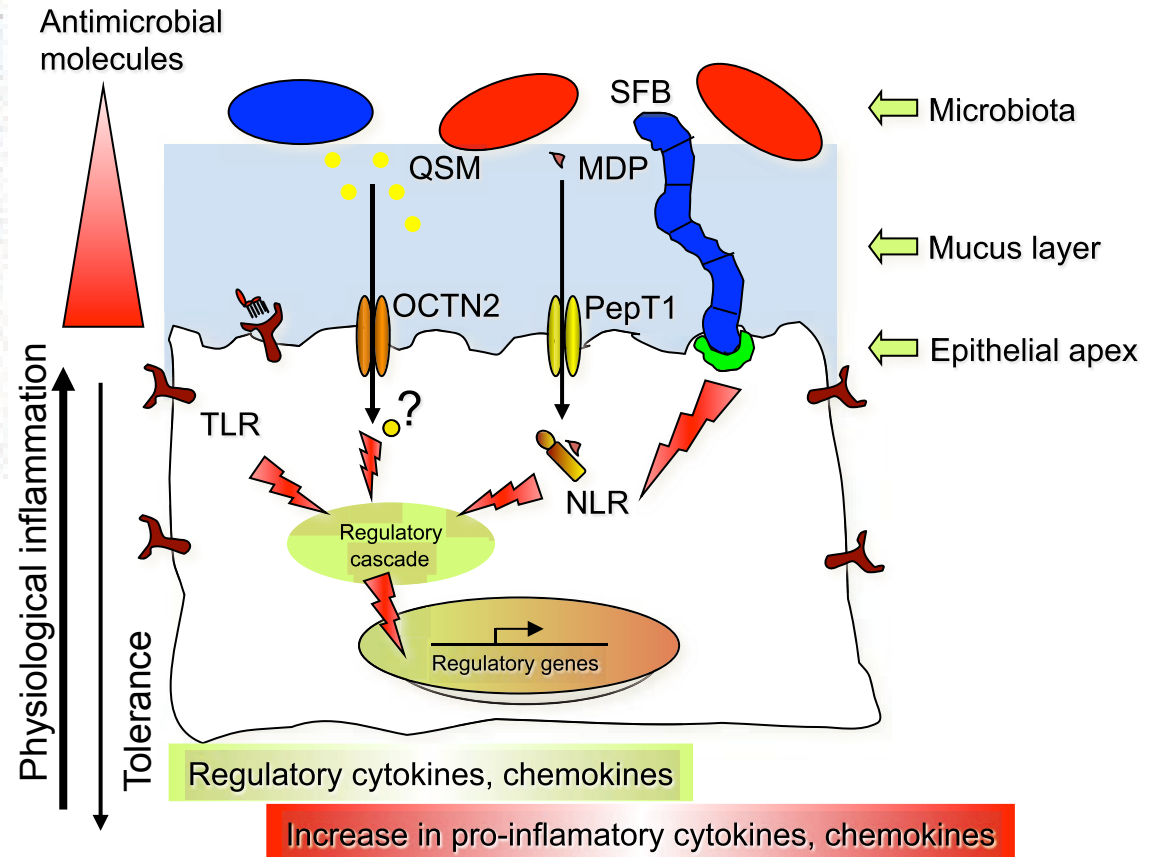


Augmentation du rapport DC and MΦ Immatures/matures

Augmentation du rapport Lymphocytes Treg/Th1, Th17

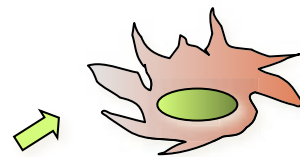
Mazmanian et al., 2010

Components of the gut microbiota are not equal, concept of « pathobionts » Chow & Mazmanian, 2010

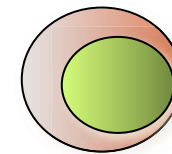


Segmented filamentous bacterium (SFB, *Arthromitus candidatus*, uncultivable *Clostridium*)

Gaboriau et al., 2009, Immunity
 Ivanoff et al., 2009, Cell
 Sczesnak et al., 2011, Cell Host Microbe
 Pamela Schnupf, in revision

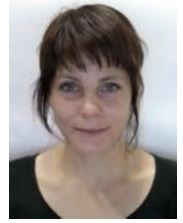


Decrease in ratio
 Immature/mature
 DC and MΦ



Decrease in ratio
 Treg/Th1, Th17
 lymphocytes

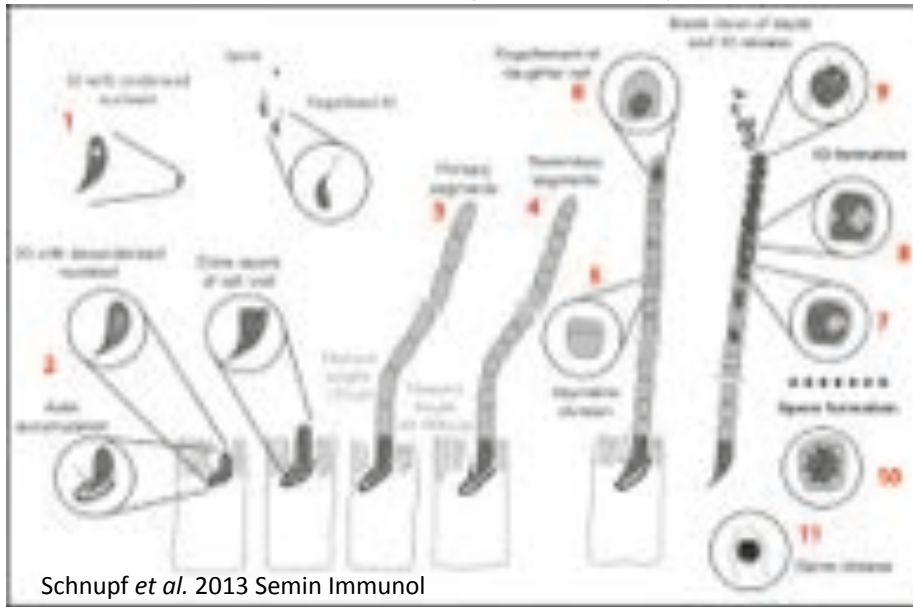
Growth and differentiation of SFB *in vitro*



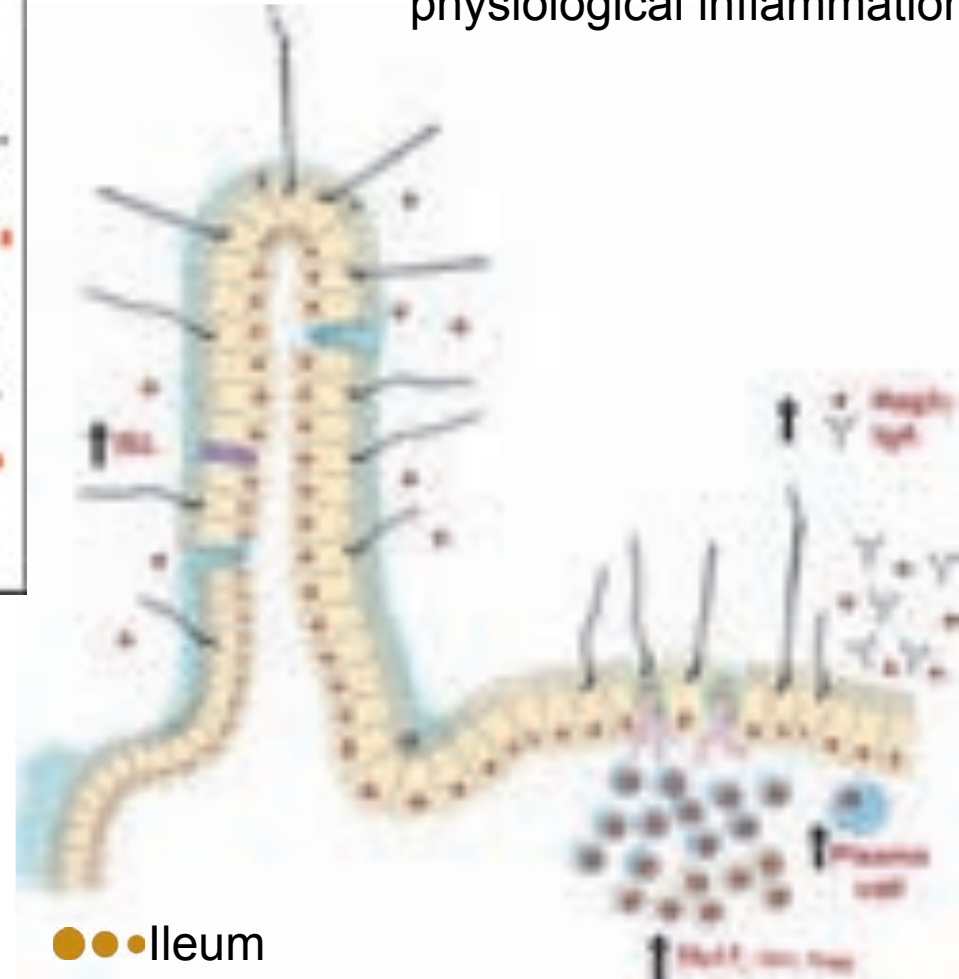
Collaboration with N Cerf-Bensussan & V Gaboriau, INSERM, Necker

Pamela Schnupf

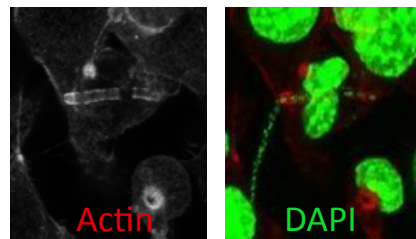
- The SFB growth cycle



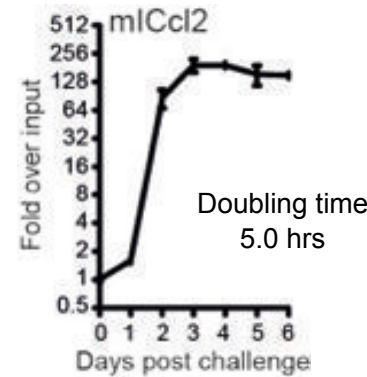
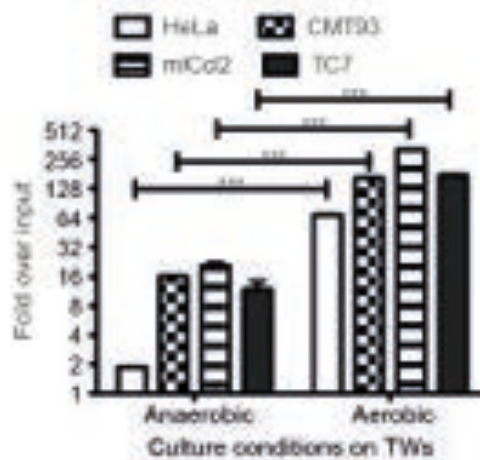
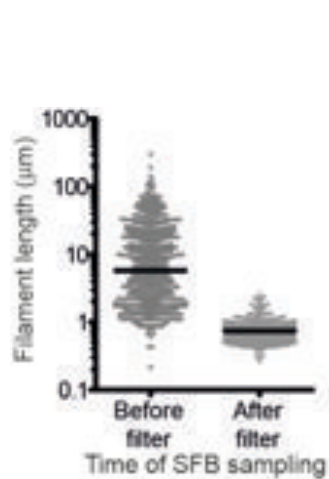
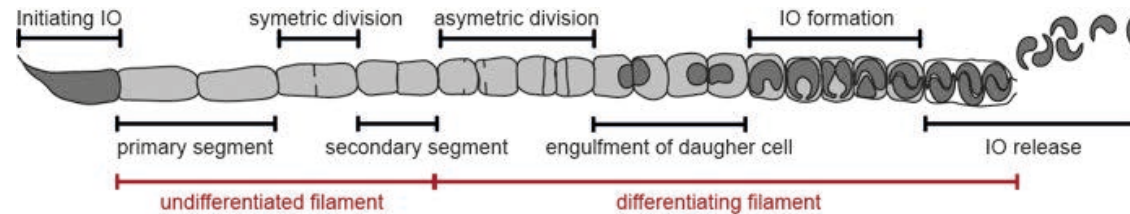
- SFB establishes a protective state of physiological inflammation



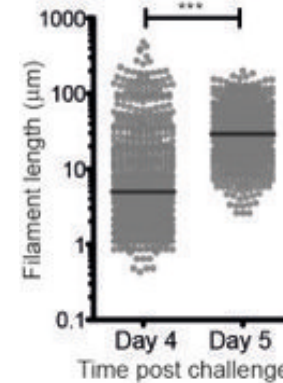
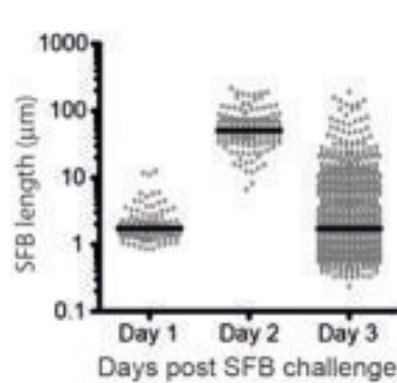
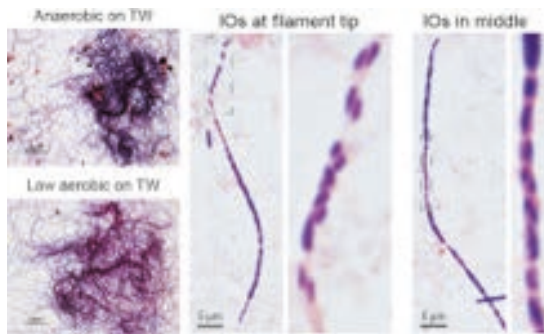
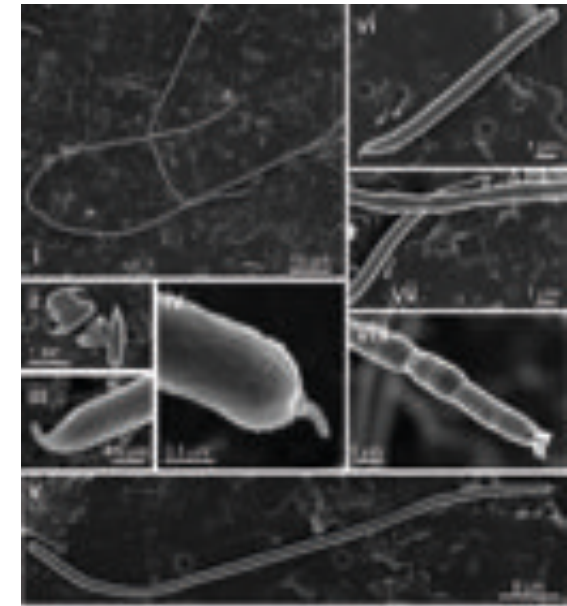
- SFB recruits host actin



Growth and differentiation of SFB *in vitro*



- SEM of *in vitro*



Symbiotes

Bacteroides fragilis (ET-)
(Mazmanian SK et al., Nature, 2008)
(Round JL & Mazmanian SK, PNAS, 2010)

Helicobacter hepaticus (+ T6SS)
(Chow J & Mazmanian SK, Cell Host
Microbe, 2010)

Bacteroides thetaiotaomicron
(Xu J & Gordon JI, PNAS, 2003)

Lactobacillaceae
(Zhang ZC et al., BMC Evol. Biol., 2011)

Pathobiontes

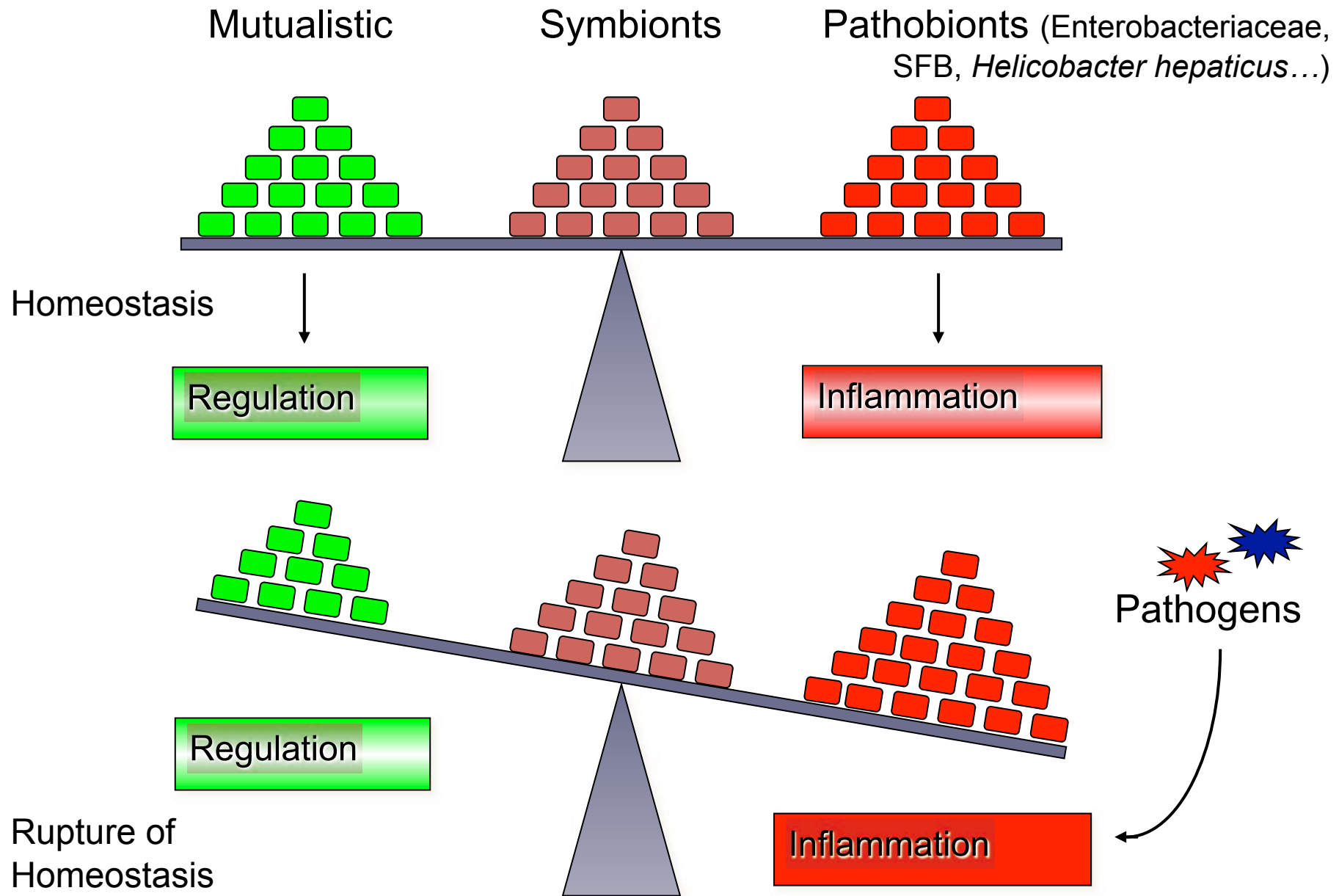
Bacteroides fragilis (ET+ = ETBF)
(Sears CL, Clin Microbiol Rev, 2009)

Helicobacter hepaticus (- T6SS)
(Chow J & Mazmanian SK, Cell Host
Microbe, 2010)

SFB
(Gaboriau-Routhiau V et al. Immunity, 2009;
Ivanov II et al, Cell, 2009)

Enterobacteriaceae
(Munford RS & Varley AW, PLoS Pathogens, 2006)
Crohn disease associated Adherent-
Invasive *E. coli*
(Chassaing B, Darfeuille-Michaud A, Gastroenterology, 2011)

Enterococcus faecalis/faecium
Streptococcus gallolyticus
(Enterococci in general)
(Gilmore MS & Ferretti JJ, Science, 2003;
Willems RJL & van Shaik W, Future Microbiology, 2009)



**How does one identify a pathogen hidden amidst
a herd of harmless symbionts ?**



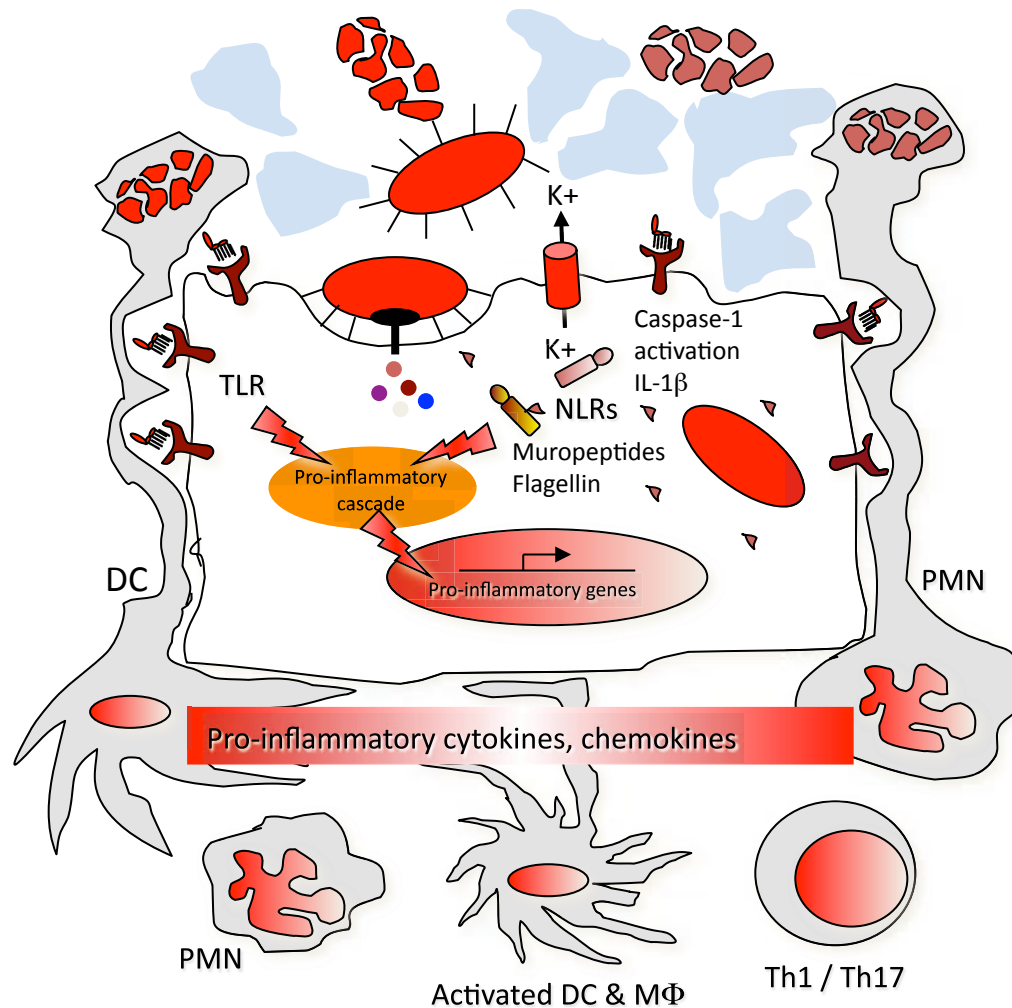


Charles Nicolle, 1866-1936
Membre de l'Institut
Directeur de l'Institut Pasteur de
Tunis
Professeur au Collège de France,
Chaire de Médecine et
Physiologie
Prix Nobel de Physiologie ou
Médecine, 1928

Au sein de la complexité du monde microbien, parmi les critères de forme, de voies métaboliques, de spécificités antigéniques: ***la mosaïque de pouvoirs***, un seul critère émerge : ***ce qui fait la spécificité d'un agent pathogène, ce sont ses propriétés virulentes... il y a donc de bonnes raisons de penser que la virulence est liée à un support matériel. Ne la voyons nous pas subir parfois des variations brusques auxquelles on peut donner légitimement le sens et le nom de mutations et ces variations subites se traduire en dehors de l'adaptation à un être nouveau, par l'acquisition de propriétés pathogènes nouvelles vis-à-vis de l'espèce animale qu'elle infecte ordinairement ?***

Naissance, Vie et Mort des Maladies Infectieuses
1930

Les bactéries pathogènes engagent l'épithélium, rompent les mécanismes tolérogènes et induisent une inflammation pathologique



PATHOGENES

Mucinases

Adhésines / Invasines

Sécrétons Type III / IV/VI...

Hémolysines

Engagement massif des TLRs,
NLRs

Eradication du microbiote
(occupation de niche)

**+ Subversion des mécanismes
de défense immunitaire innée
et adaptative**

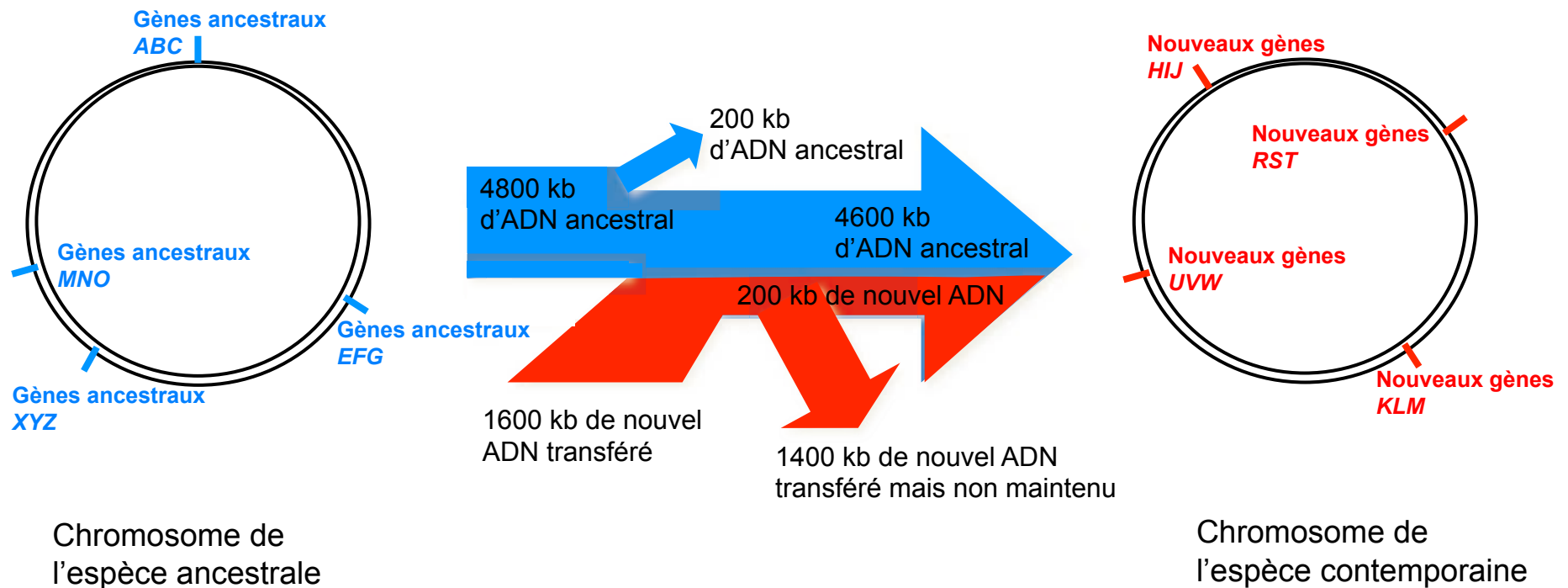
Propriétés pathogènes senties
comme des signaux de danger
en plus du paradigme de
Janeway PAMPs-PRRs.

Reconnaissance en deux étapes
des pathogènes.

Evolution des génomes bactériens requiert l'acquisition horizontale et la perte ordonnées d'information génétique

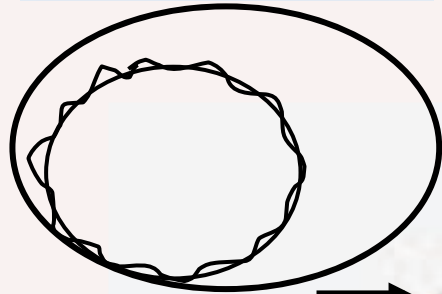
100 millions d'années d'évolution

(16 kb transférés en moyenne/million d'années à taille de génome constante)



"Fabrication" génomique d'un pathogène

Bactérie ancestrale



Acquisition de traits génétiques permettant l'adaptation aux conditions environnementales de la niche de l'hôte eucaryote (adaptation physiologique et aux défenses)

Gènes de régulation

Acquisition de gènes de virulence/pathogénicité par transfert horizontal: transduction, conjugaison, transformation

Etablissement d'une hiérarchie de régulation par le pool de gènes régulateurs préexistants ("harnessing") ou par des gènes dédiés acquis en même temps que les gènes de virulence/pathogénicité

Symbiote
Commensal

Pathogène

-

-

+

-

+

-

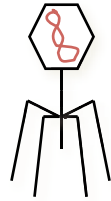
+

Bactériophages lysogènes
Ilôts de pathogénicité (PAI)
Gènes de virulence (Vir) plasmidiques



Mécanismes impliqués dans l'évolution des génomes bactériens

Bactériophages



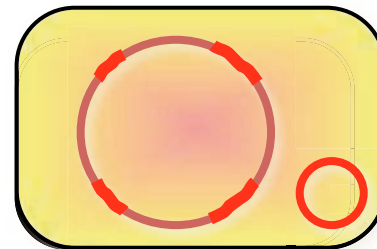
Ilôts génomiques
Ilôts de pathogénicité (PAI)



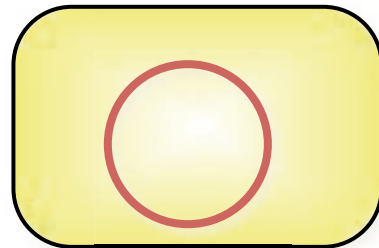
Plasmides



Vir -

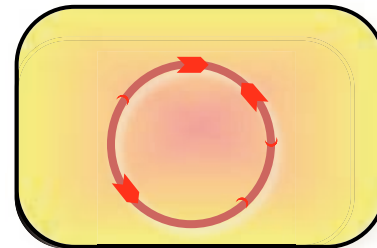


Acquisitions géniques

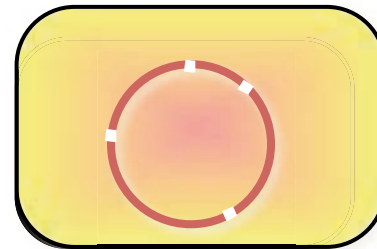


Chromosome bactérien
(commensal)

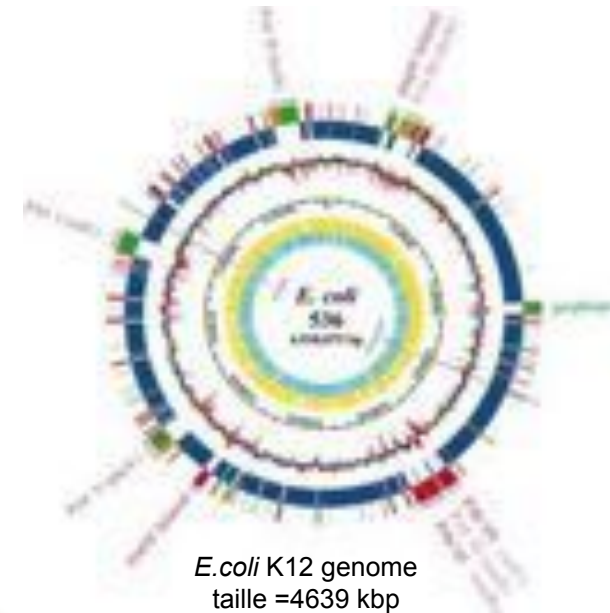
Vir -



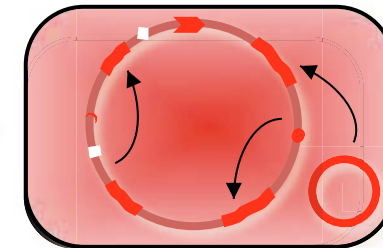
Réarrangements / Mutations



Réduction génomique



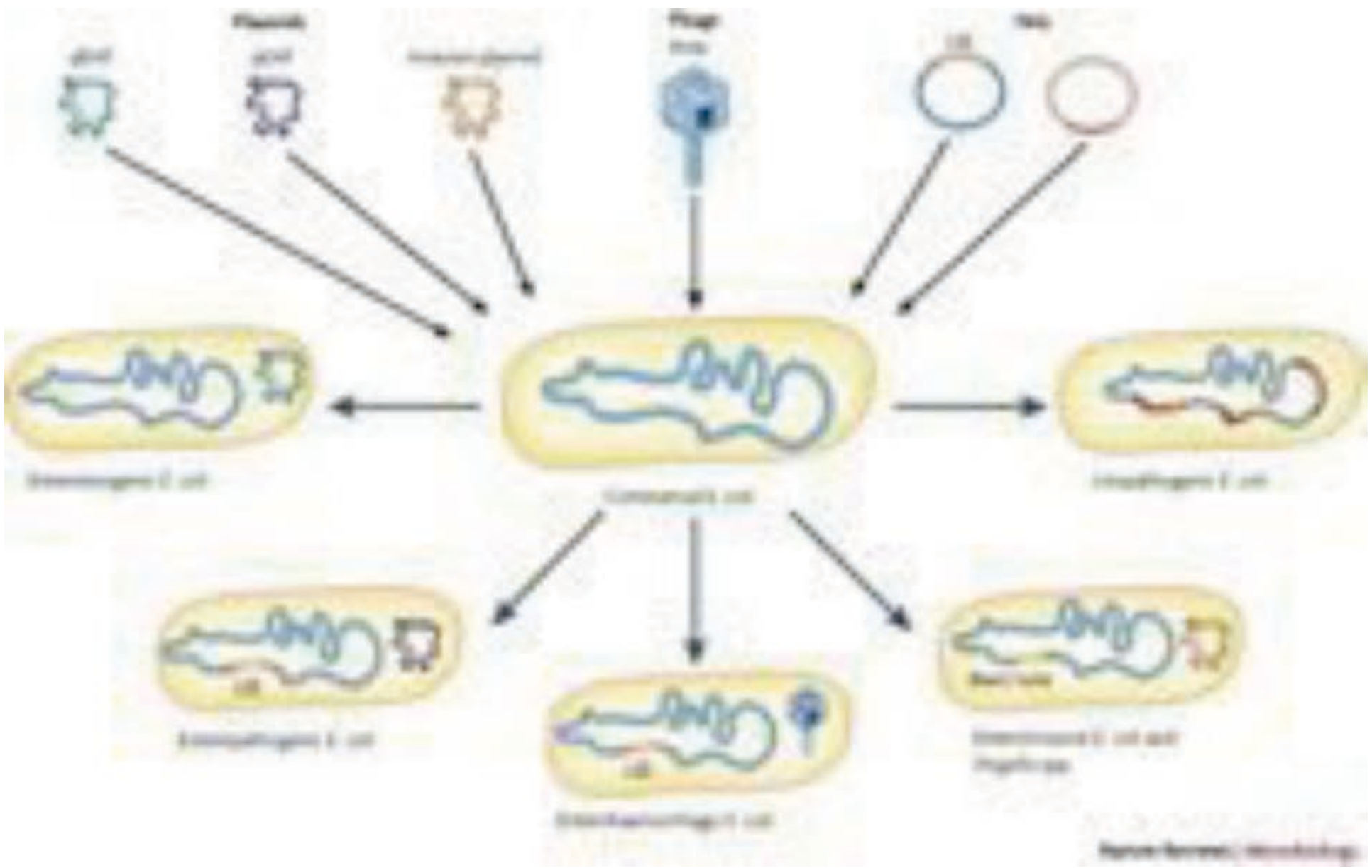
E. coli K12 genome
taille = 4639 kbp



Génome mosaïque du pathogène
+ hiérarchie de régulation

Vir +

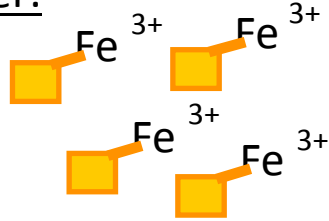
Mécanismes de transfert horizontal de gènes



Facteurs de pathogénicité des UPEC

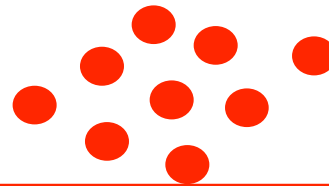
Captation du Fer:

Entérobactine
Yersiniabactine
Aérobactine
Salmochéline
Sit système
Capture de l'hémine

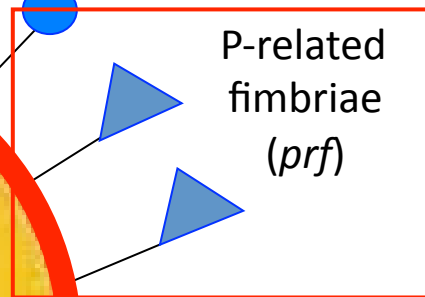


Toxines:

α -Hémolysine, CNF-1, CDT



S-fimbriae
(*sfa I*)



Flagelle
(H)

Antigène K
(K)

Antigène O
(O)

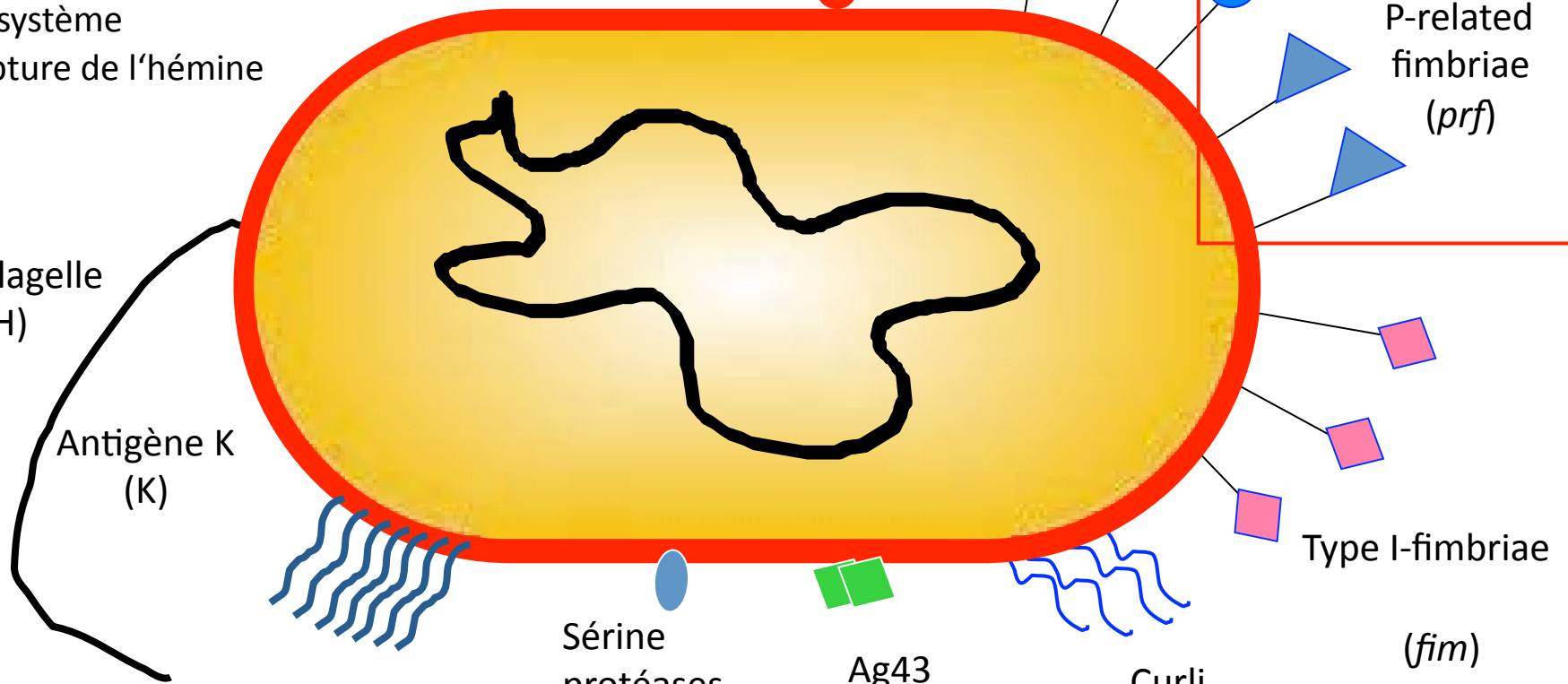
Sérine
protéases
(SPATEs)

Ag43

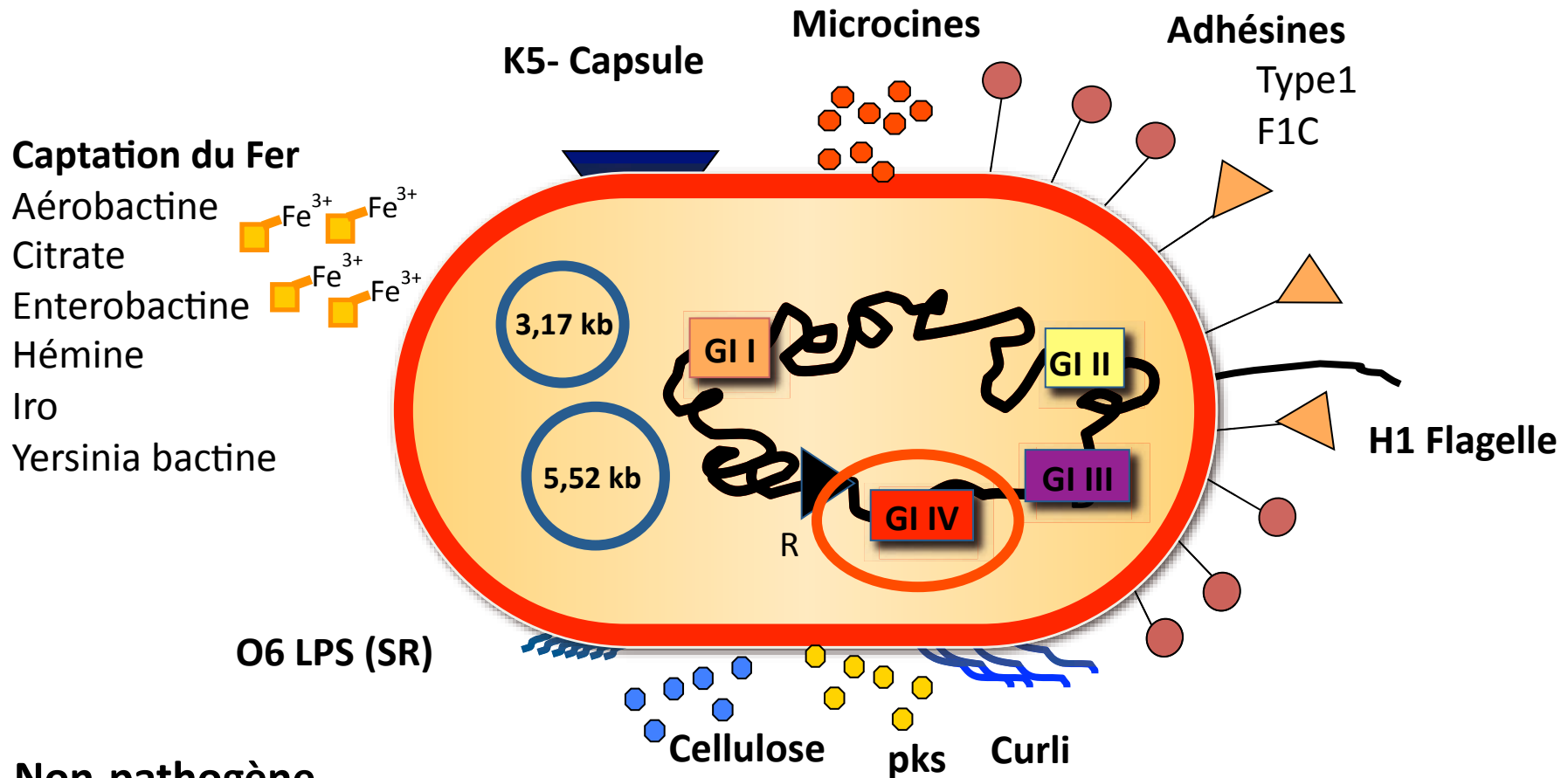
Curli

Type I-fimbriae
(*fim*)

+ traits métaboliques



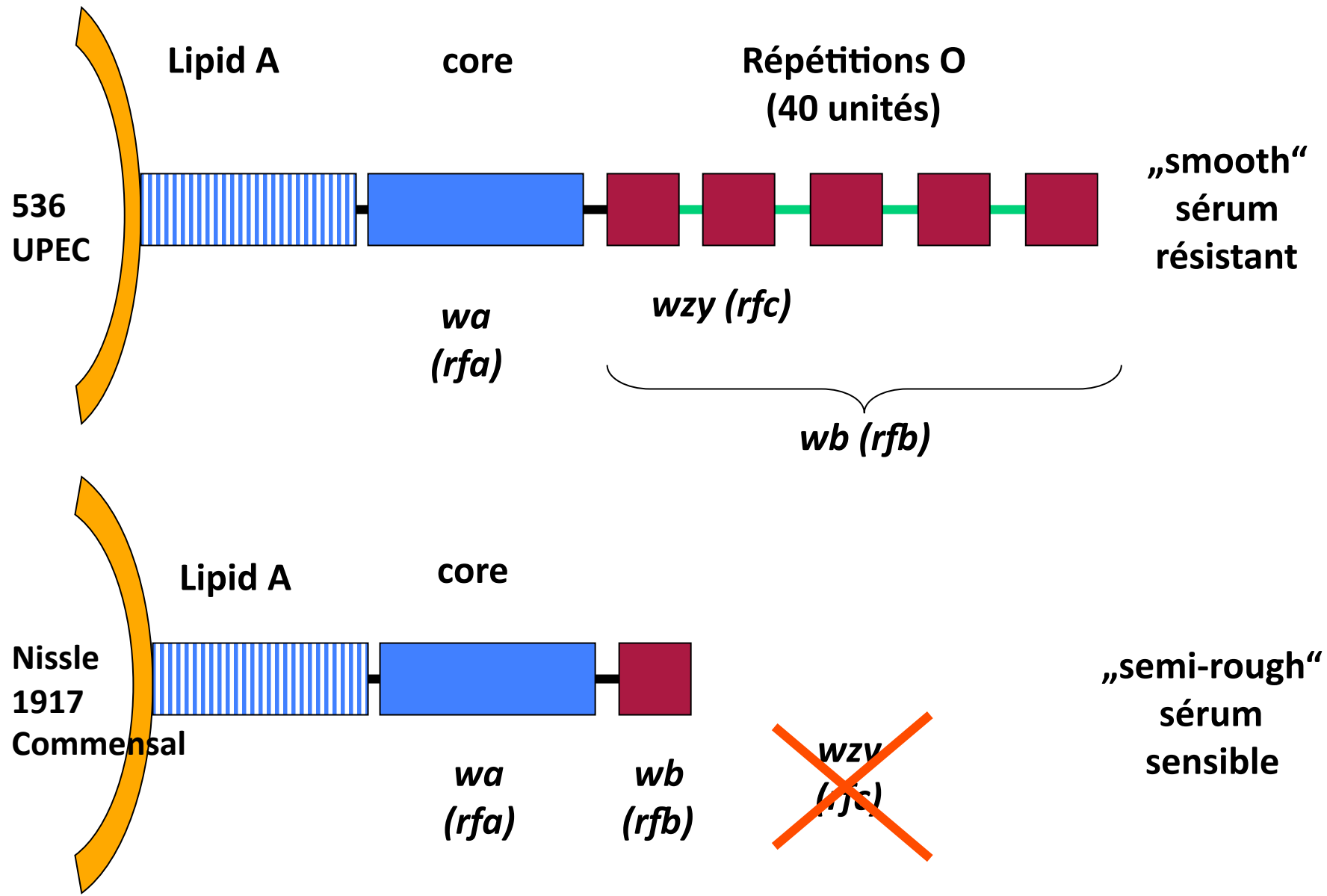
Propriétés de la souche commensale d' *E. coli* commensale / probiotique Nissle 1917



- Non-pathogène
- Sensible au sérum (SR-LPS)
- Bonne capacité de colonisation
- Formation de biofilm

D'après Dobrindt et coll

Illustration schématique de la structure du LPS d'*E.coli*



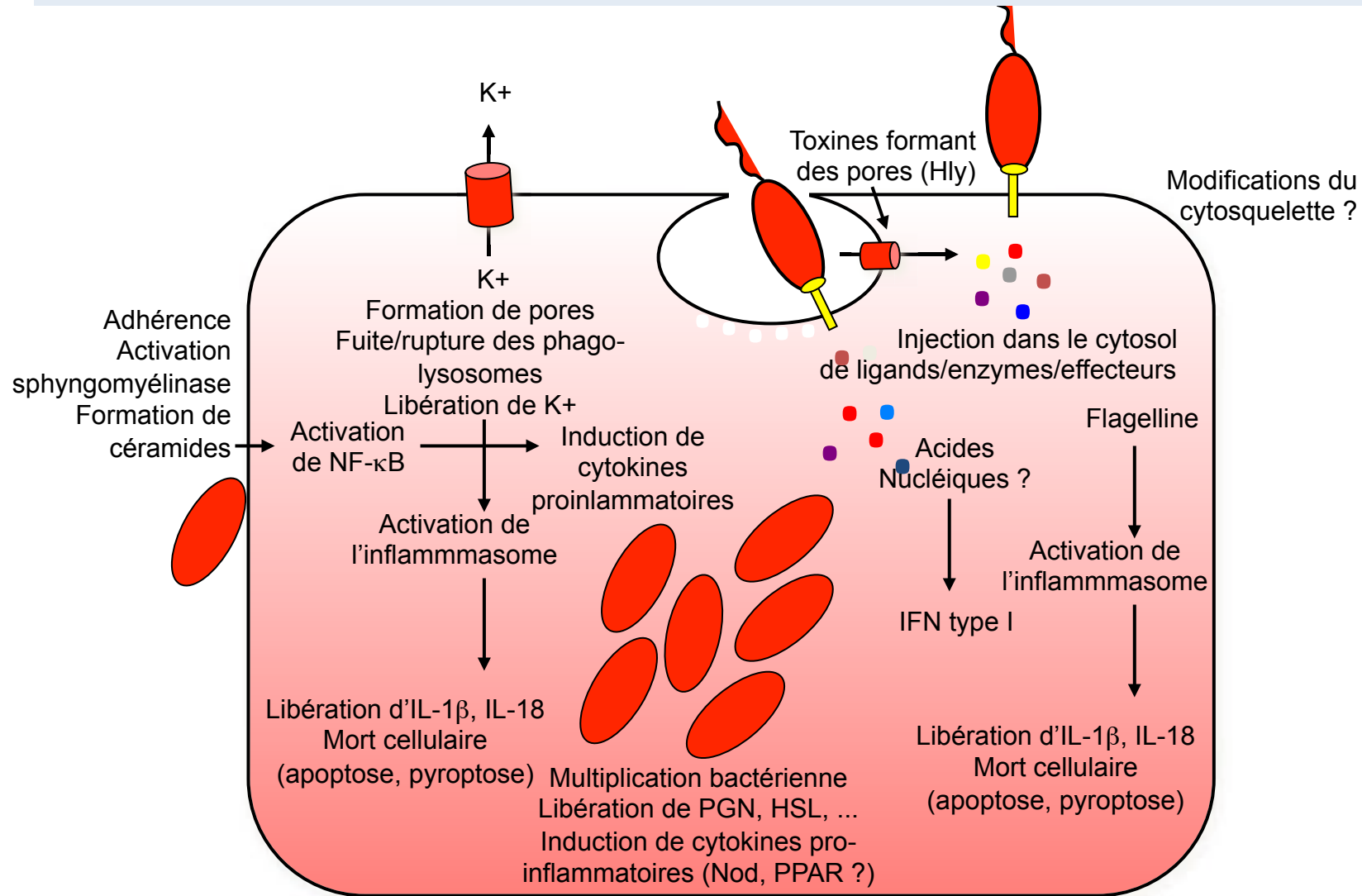
Signaux associés à la pathogénicité

- 1 - Croissance microbienne, vie/mort bactérienne, médiateurs du quorum sensing (reflétant la densité de la communauté microbienne à laquelle la cellule/ le tissu sont confrontés).
- 2 - Accès microbien aux surfaces, colonisation/adhérence
 - Augmentation de la concentration de PAMPs perçue
 - Signalisation induite par le processus d'adhérence
- 3 - Introduction de PAMPs dans le cytoplasme cellulaire
- 4 - Altération des membranes cellulaires/double signal
- 5 - Entrée des microorganismes dans les cellules

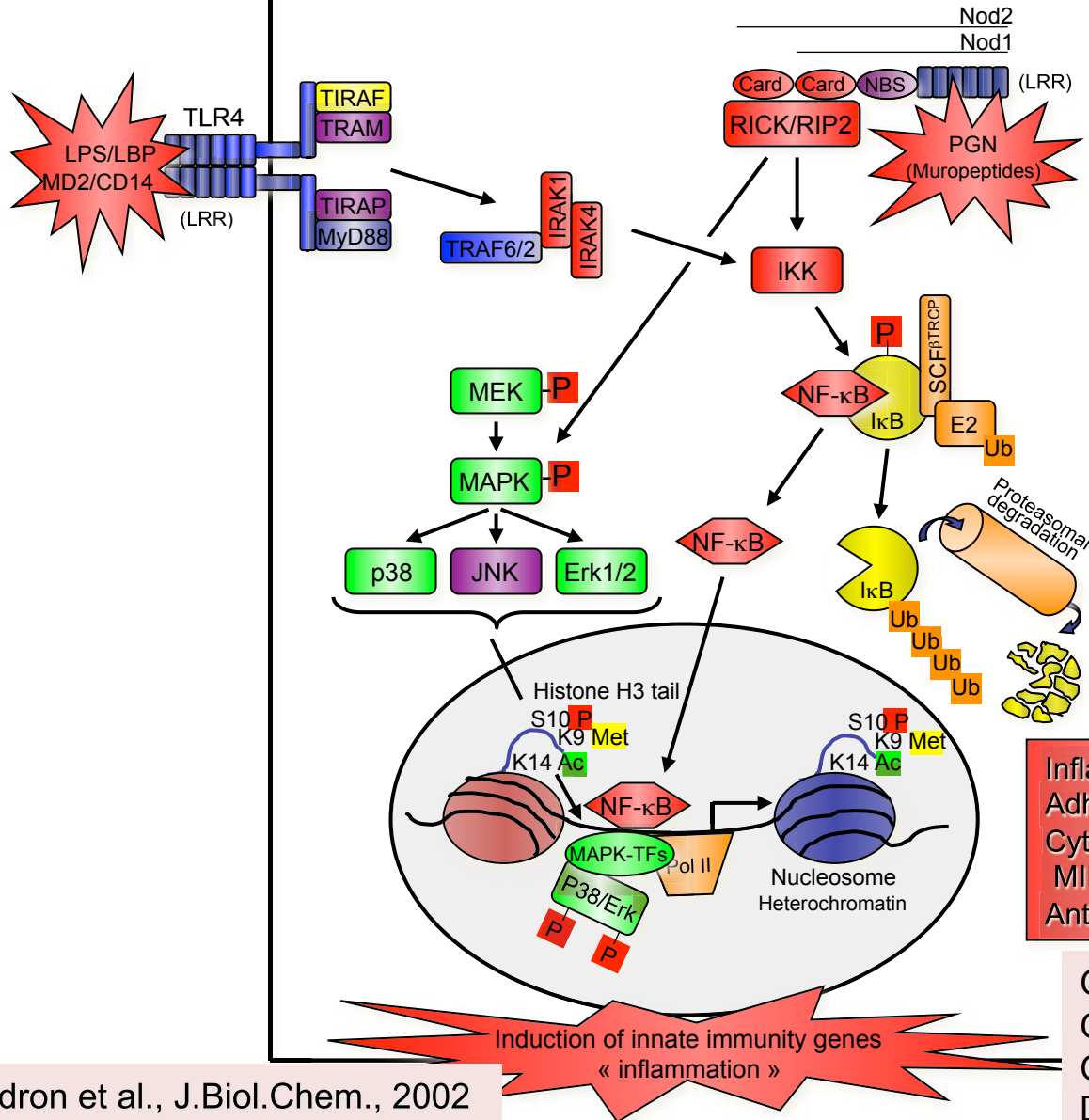
Sansonetti, PJ. 2004. Nature Rev.Immunol., 4:953-964

Vance RE, Isberg RR, Portnoy DA. 2009. Cell Host Microbe, 6:10-21

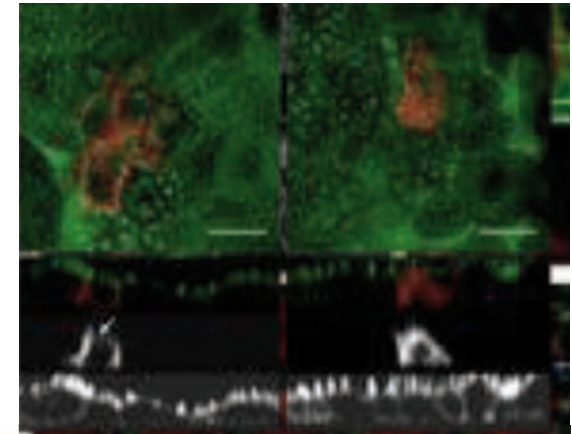
Propriétés des pathogènes permettant leur discrimination par le système immunitaire inné



Premier signal



Pédrón et al., J.Biol.Chem., 2002



Nod1 apical staining in TC7 epithelial cells
(confirmed *in vivo*)
Kufer et al., Cell.Microbiol., 2008



Colocalization of Nod1 and IKK γ (NEMO)

Inflammatory mediators: iNOS, Cox2
Adhesion molecules: VCAM, ICAM, E-Selectin
Cytokines/chemokines: IL-6, IL-8, TNF α , MCP-1, MIP-1 α , CCL20, ...
Antimicrobial peptides and associated molecules

Girardin et al., EMBO Repts, 2001
Girardin et al., Science, 2003
Girardin et al., J.Biol.Chem., 2003
Dupont et al., Cell Host Microbe, 2009

Le second signal

Sur un fond de reconnaissance de molécules ou de combinatoire de molécules (PAMPs) signalant via les PRR qu'il semble difficile de considérer comme le fond exclusif de la discrimination commensaux/pathogènes, il est un aspect jusqu'à présent mal intégré dans le schéma: **les signaux associés à la pathogénicité elle même.**

La pathogénicité peut fortement affecter les signaux de reconnaissance en induisant des **signaux de danger.**

Deux sortes:

- Signaux (non PRR) émis en réponse à l'engagement de structures cellulaires/organelles.
- DAMPs = "damage-associated molecular patterns" libérés par les cellules/tissus de l'hôte altérés par l'infection, eux même reconnus par des récepteurs.

Signaux de danger et danger des signaux



Polly Matziger et coll.

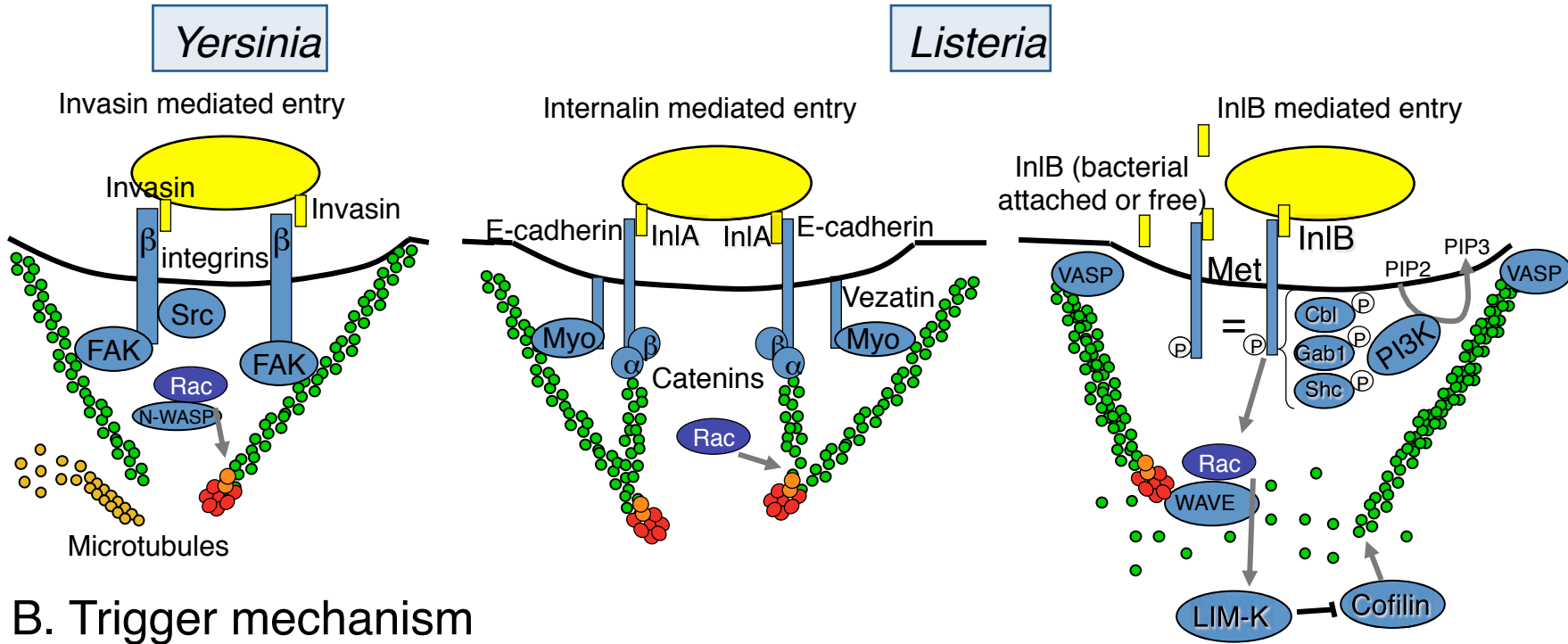
Faisant face à une menace possible, le premier dilemme du système immunitaire est:

"répondre ou ne pas répondre" ?

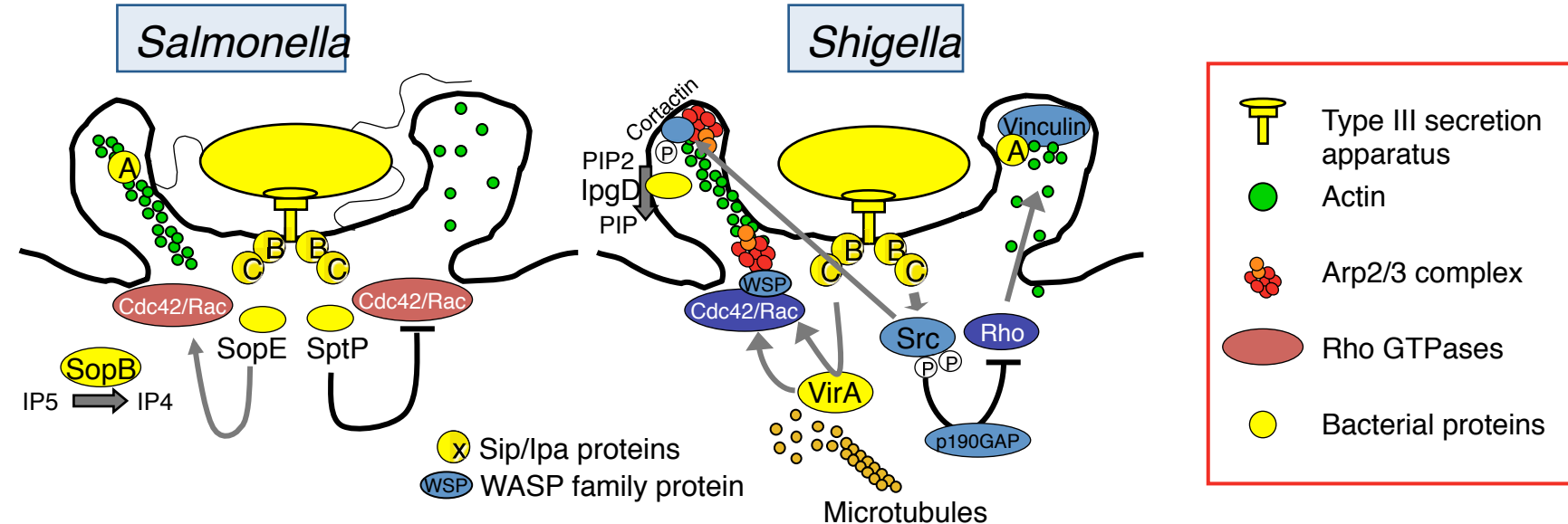
Le second dilemme est: "Si il y a réponse, quelle intensité et quelle orientation doit prendre cette réponse"

Mais le système immunitaire contrôle-t-il totalement la situation ?

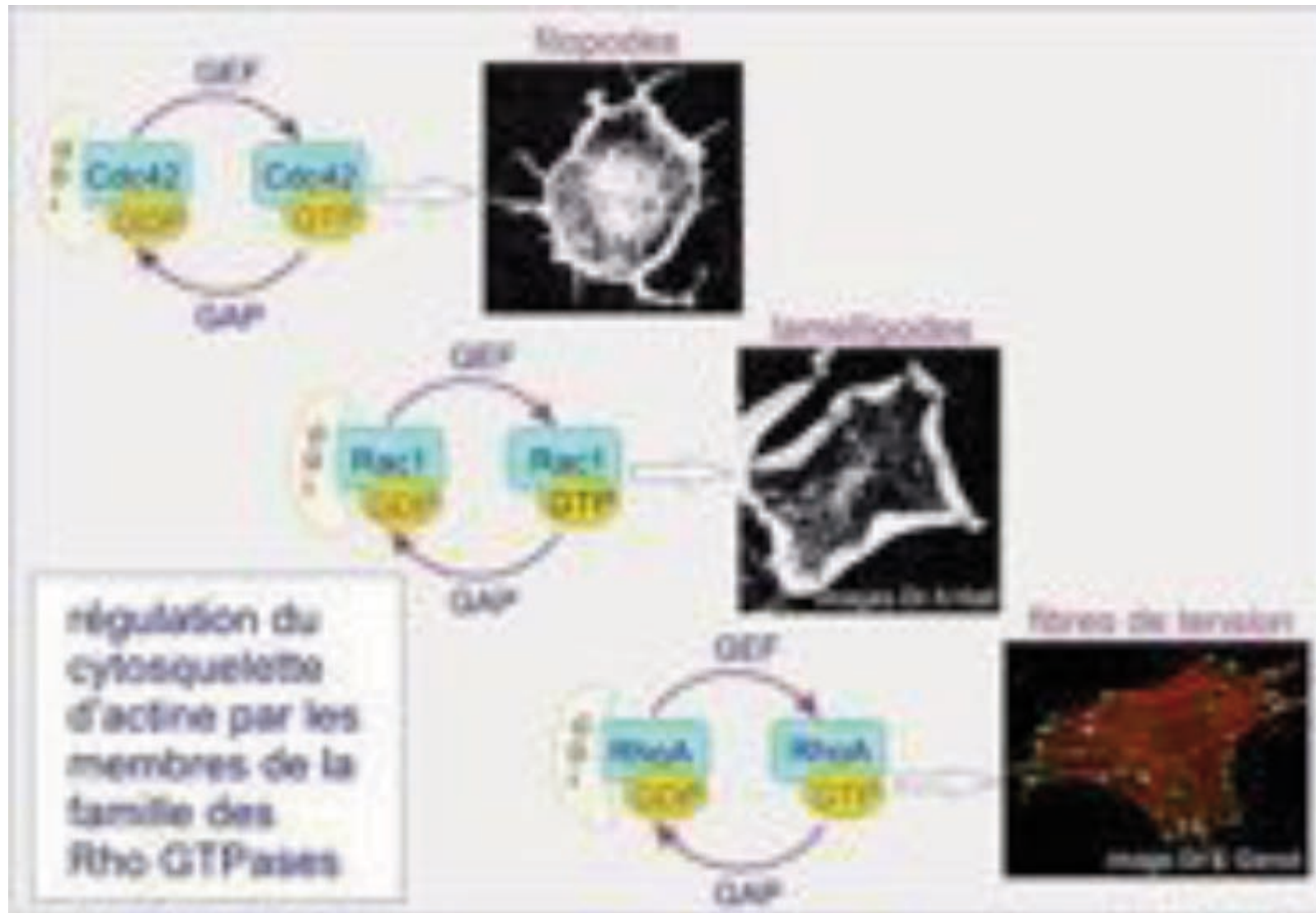
A. Zipper mechanism



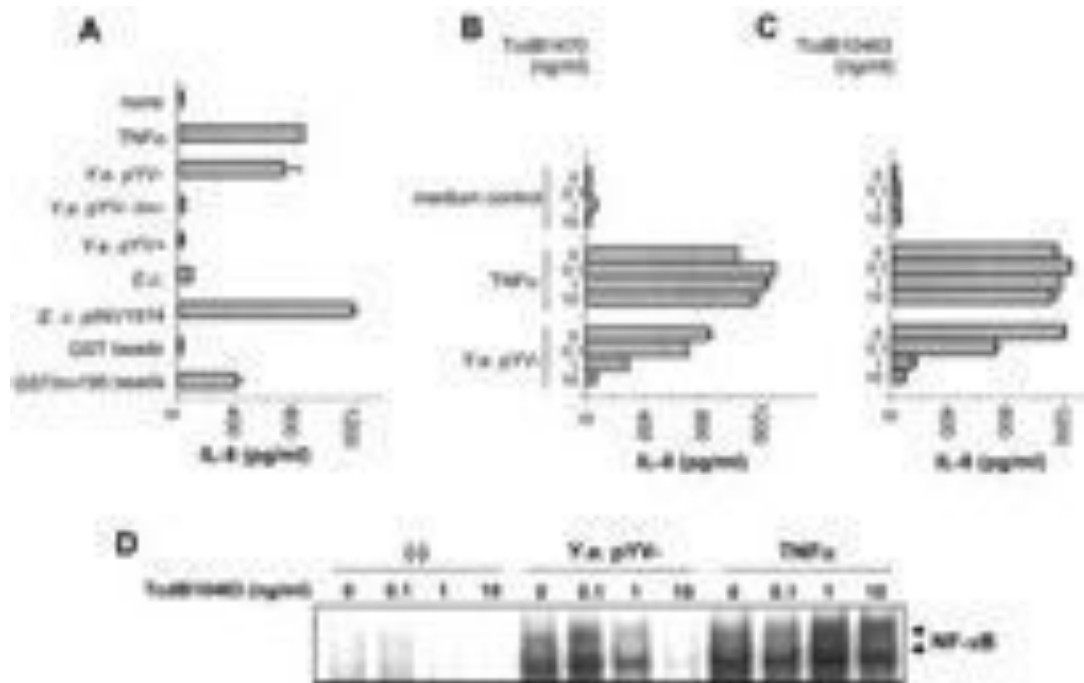
B. Trigger mechanism



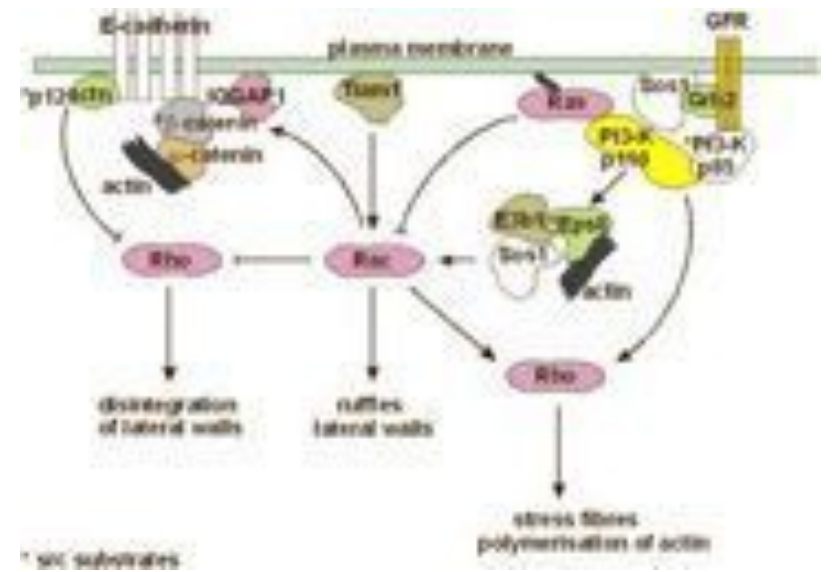
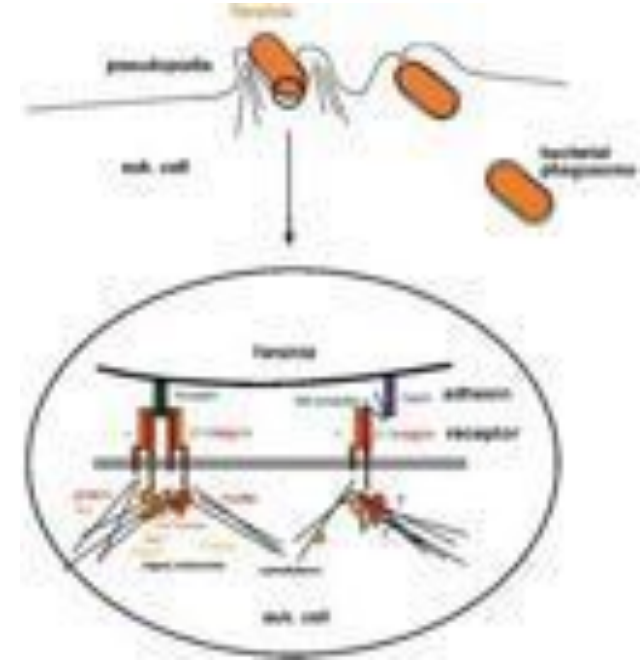
GTPases de la famille Rho: commutateurs de la signalisation au cytosquelette



Grassi GA et coll., 2003. Cell.Microbiol., 5:957-971



L'activation de NF- κ B et de IL-8 par l'Invasine de *Yersinia enterocolitica* est conférée par l'engagement de Rac1 et de la cascade des MAP kinases



Hobert ME, Sands KA, Mrsny RJ, Madara JL.2002. J Biol Chem. 2002 Dec 27;277(52):51025-51032

Cdc42 and Rac1 regulate late events in *Salmonella typhimurium* induced interleukin-8 secretion from polarized epithelial cells.

LETTER

Manipulation of small Rho GTPases is a pathogen-induced process detected by NOD1

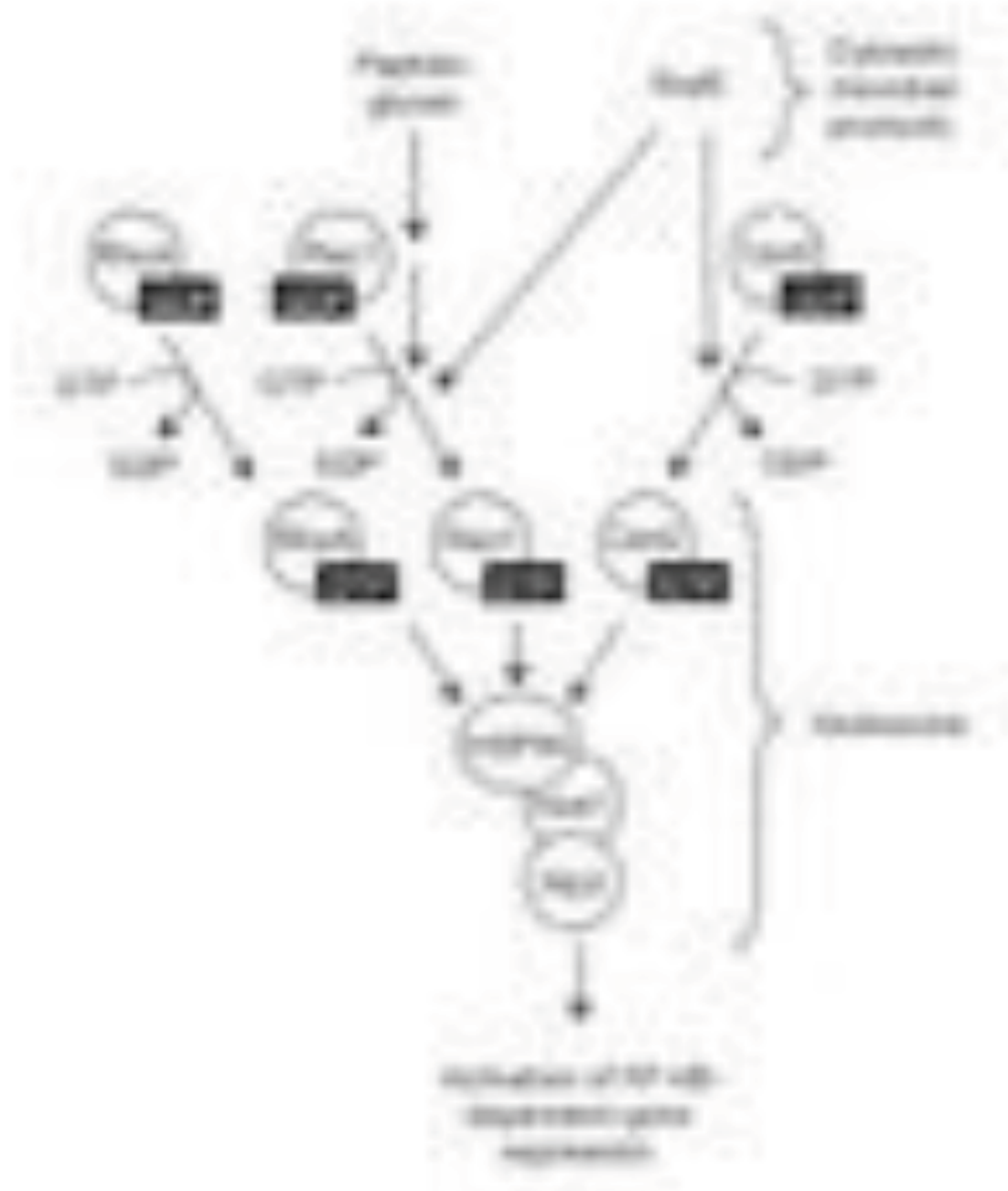
A. Marijke Kestra, Maria G. Winter, Josef J. Auburger, Simon P. Fräßle, Mariana N. Xavier, Sebastian E. Winter, Anita Kim, Victor Poon, Mariëtta M. Ravesloot, Julian F. T. Waldenmaier, Renée M. Tsolis, Richard A. Eigenheer & Andreas J. Bäumler

Nature. 2013. 496:233-237

Salmonella typhimurium SopE délivré par le T3SS active Rac1 et Cdc42

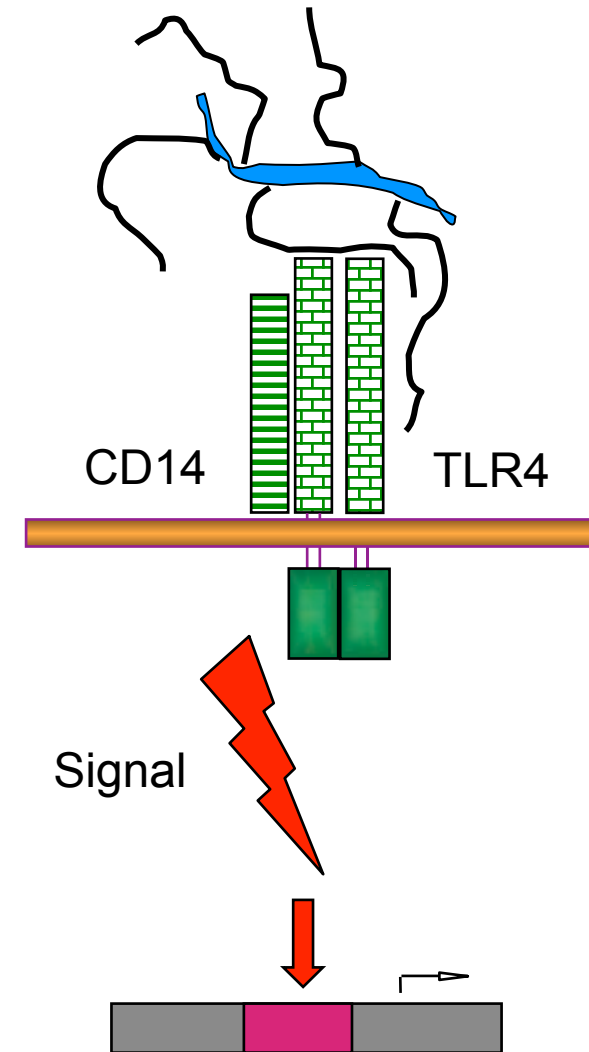
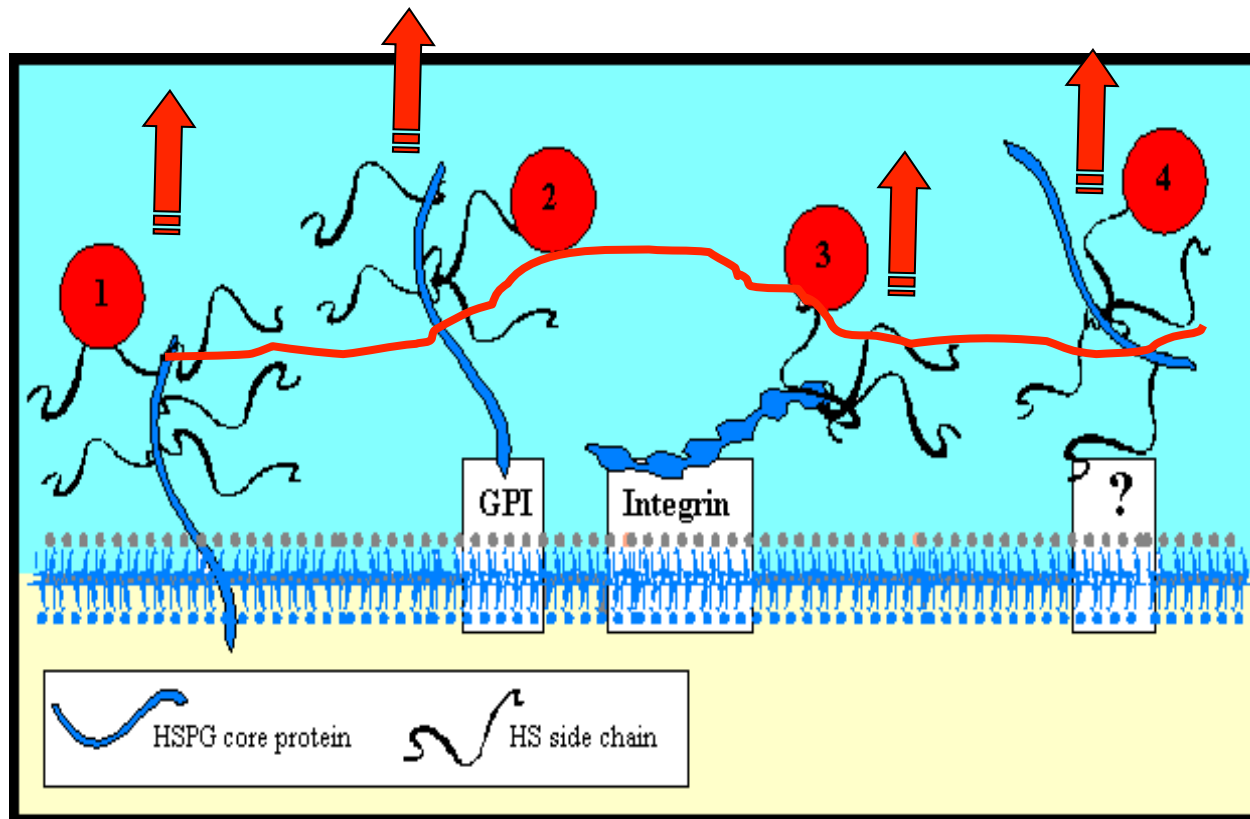
Cette activation à son tour active Nod1-Rip2 et la voie NF- κ B

SopE forme un complexe multiprotéique avec Rac1, Cdc42, Nid1 et HSP90



DAMPs: Héparane Sulfates: substitut du LPS ?

Le clivage protéolytique des composants matriciels par les protéases activées/ libérées en réponse à l'activation et à la souffrance cellulaire entraîne la libération d'agonistes des TLRs comme les héparane-sulfates.



Signaux de danger endogènes

"Endogenous: Damage Associated Molecular Patterns" (DAMPs):

ATP, adenosine, acide urique extracellulaires, "high mobility group protein B1" (HMGB1), cytokines (IL-1beta) ...

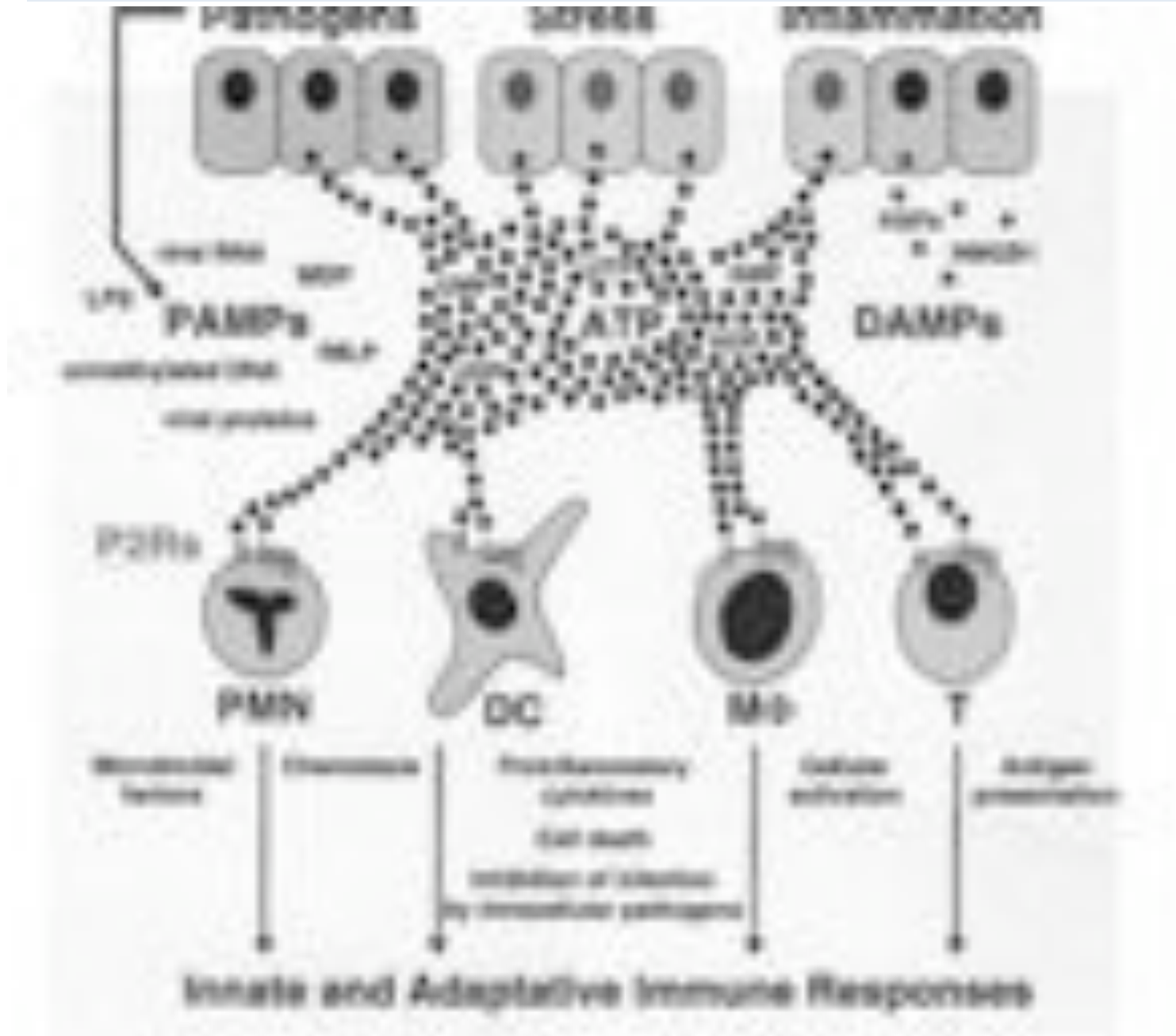
Molécules présentes à haute concentration intracellulaire et à concentration extracellulaire négligeable dans les tissus sains.

Facilement et rapidement libérées en réponse à une agression infectieuse, inflammatoire, toxique...

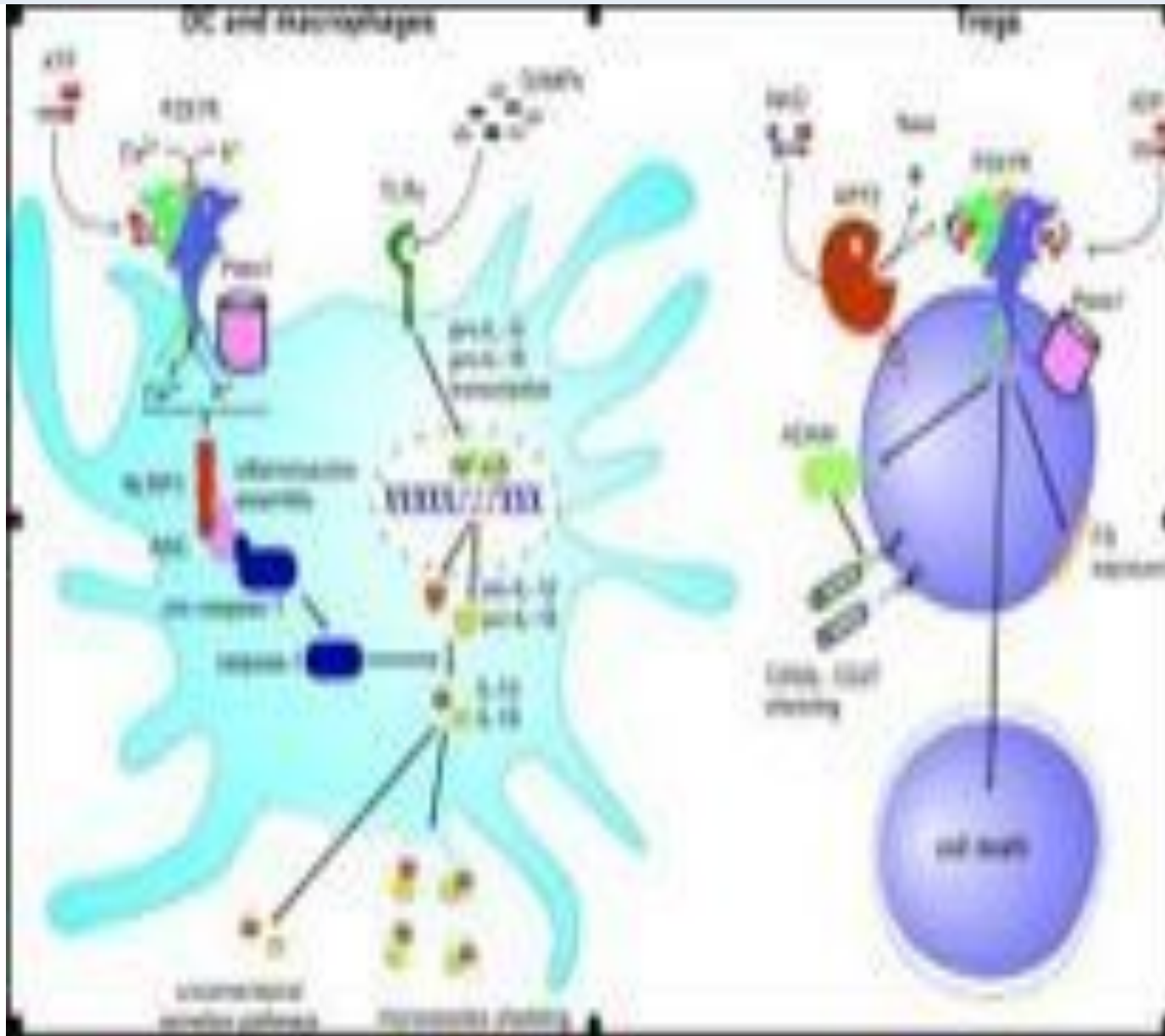
Leur libération survient avant la reprogrammation cellulaire transcriptionnelle amenant à l'expression des cytokines/chimiokines proinflammatoires, mais le premier signal peut en induire ou maintenir le haut niveau d'expression (IL-1beta)

Activent des récepteurs spécifiques de manière concentration-dépendante. Rapidement dégradées dans le milieu extracellulaire après libération.

Intégration de la réponse au danger



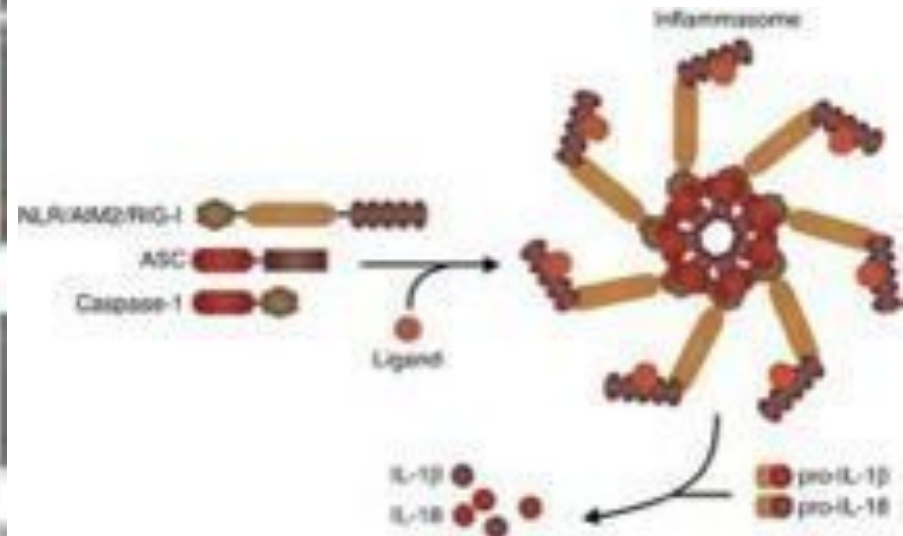
Récepteurs purinergiques, inflammation et mort cellulaire



Inflammasome

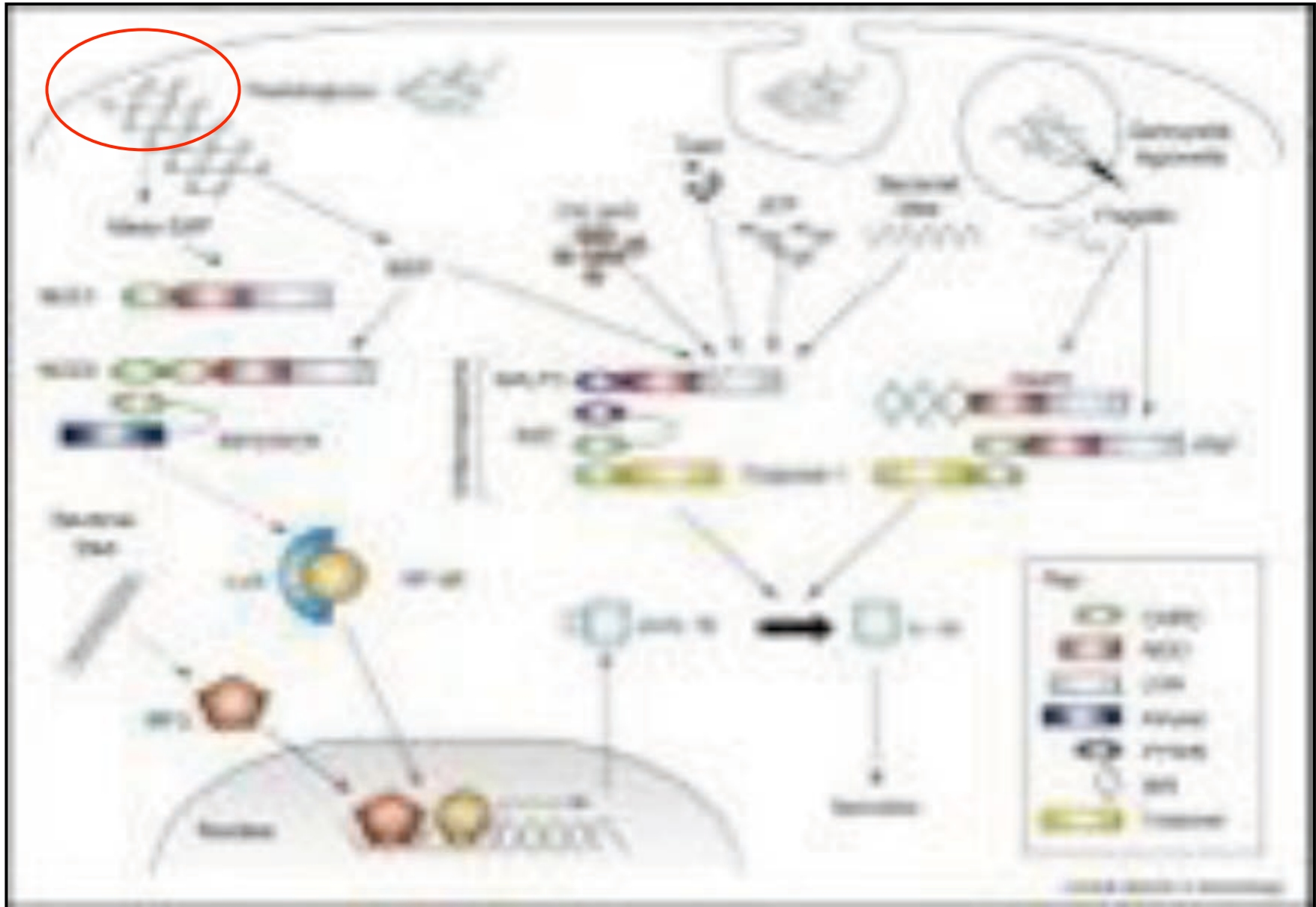


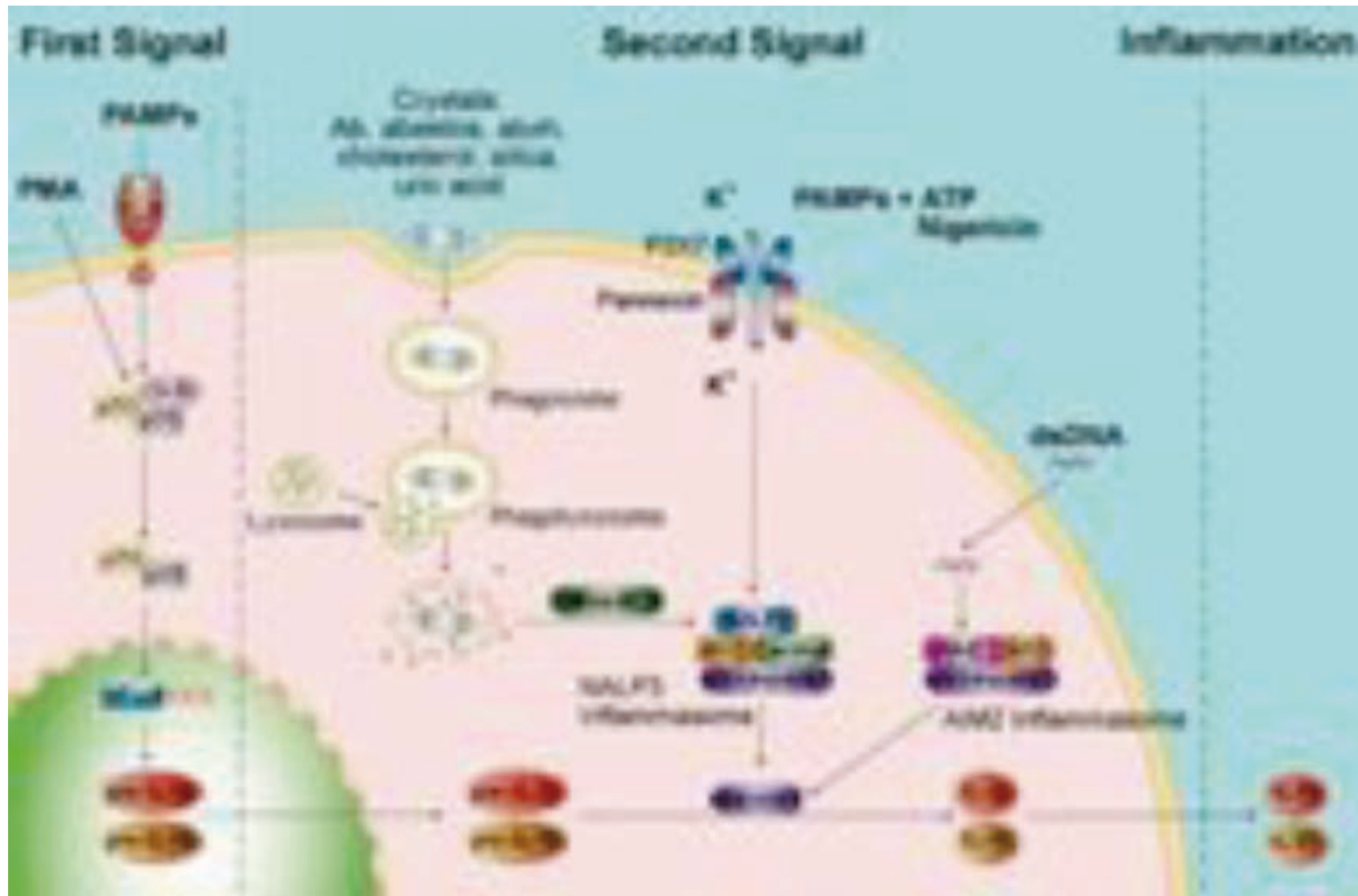
Jurg Tschopp
1951-2011



Martinon F et al. 2002. Mol Cell
Dagenais M et al. 2012. Cell Death Differ

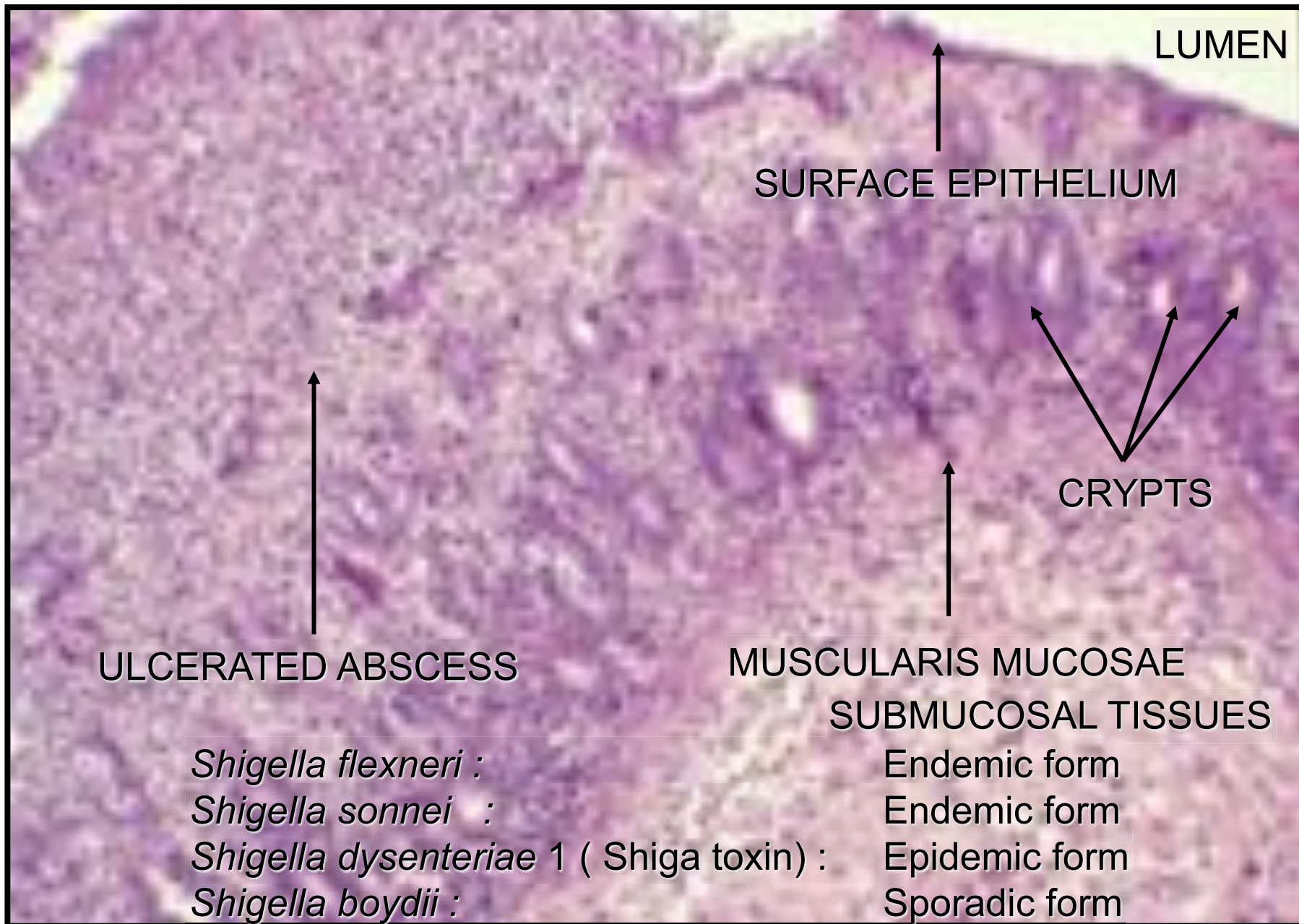
NLR : chiens de garde intracellulaires





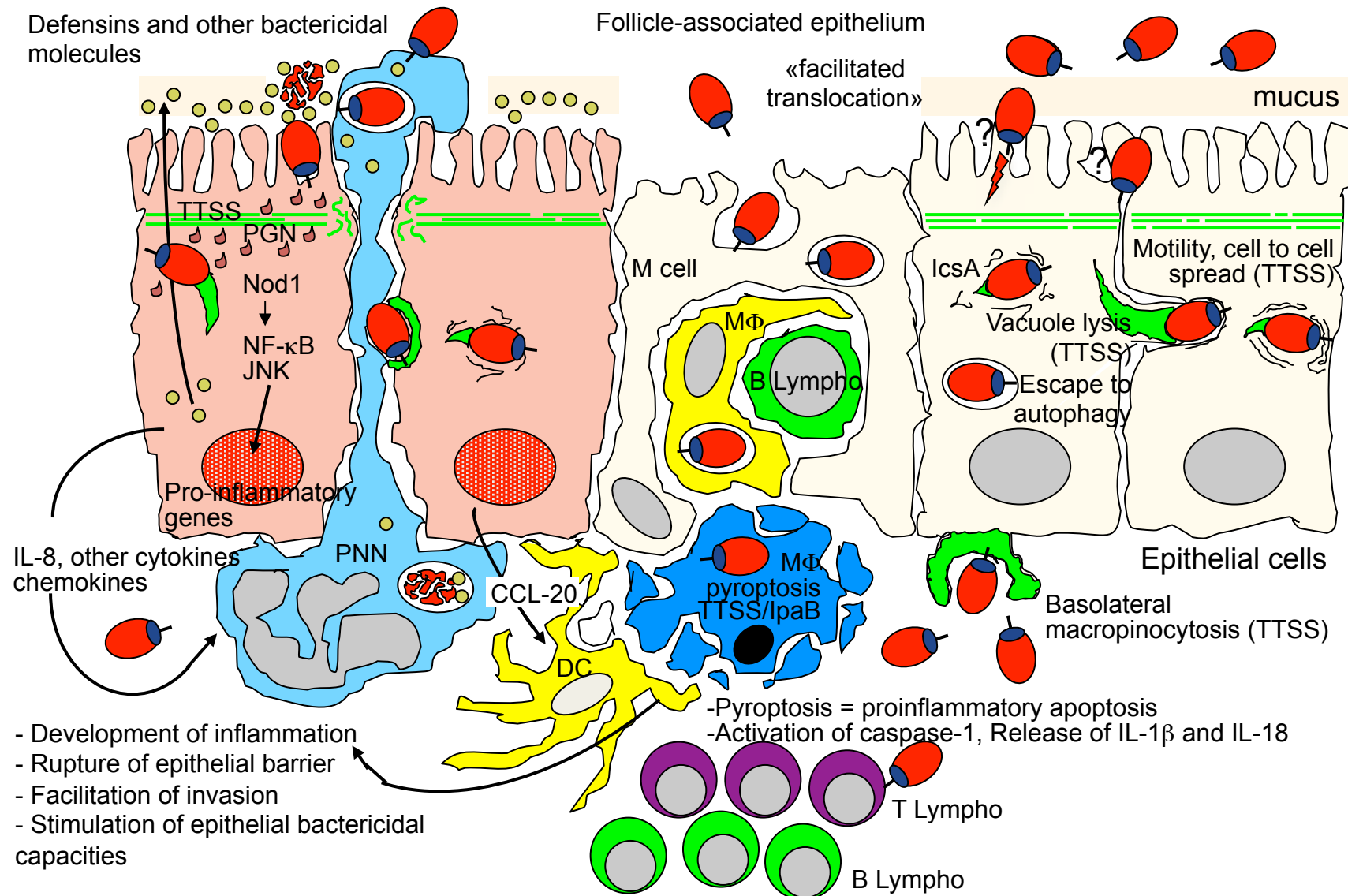
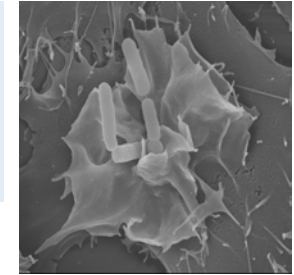
Martinon F, Burns K, Tschopp J. 2002. Mol. Cell
 Fink S & Cookson B. 2005. Infect. Immun.
 Bergsbaken T et coll. 2009. Nat. Microbiol. Rev.

HISTOPATHOLOGY OF SHIGELLOSIS ELEMENTARY LESIONS IN HUMAN COLON

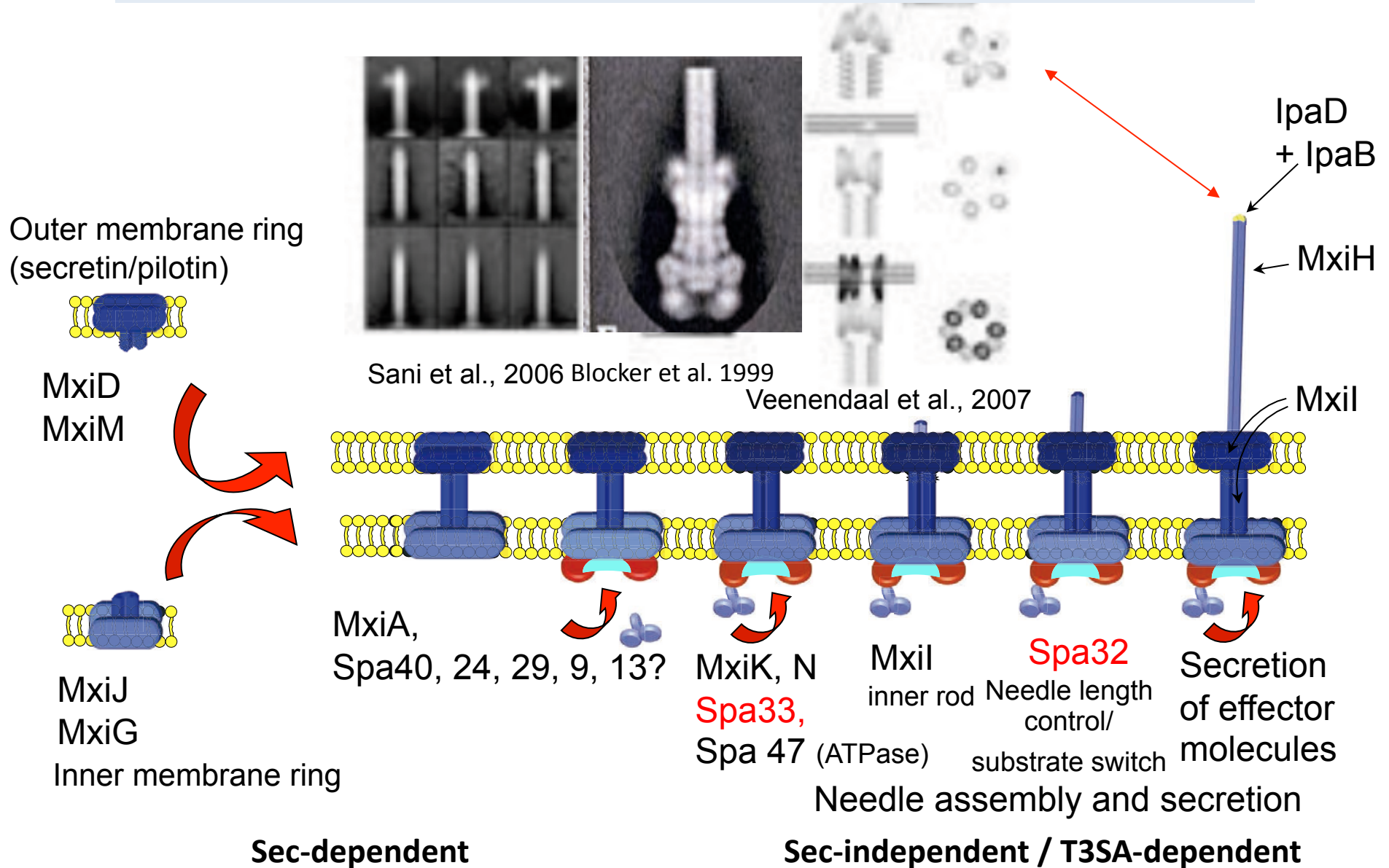


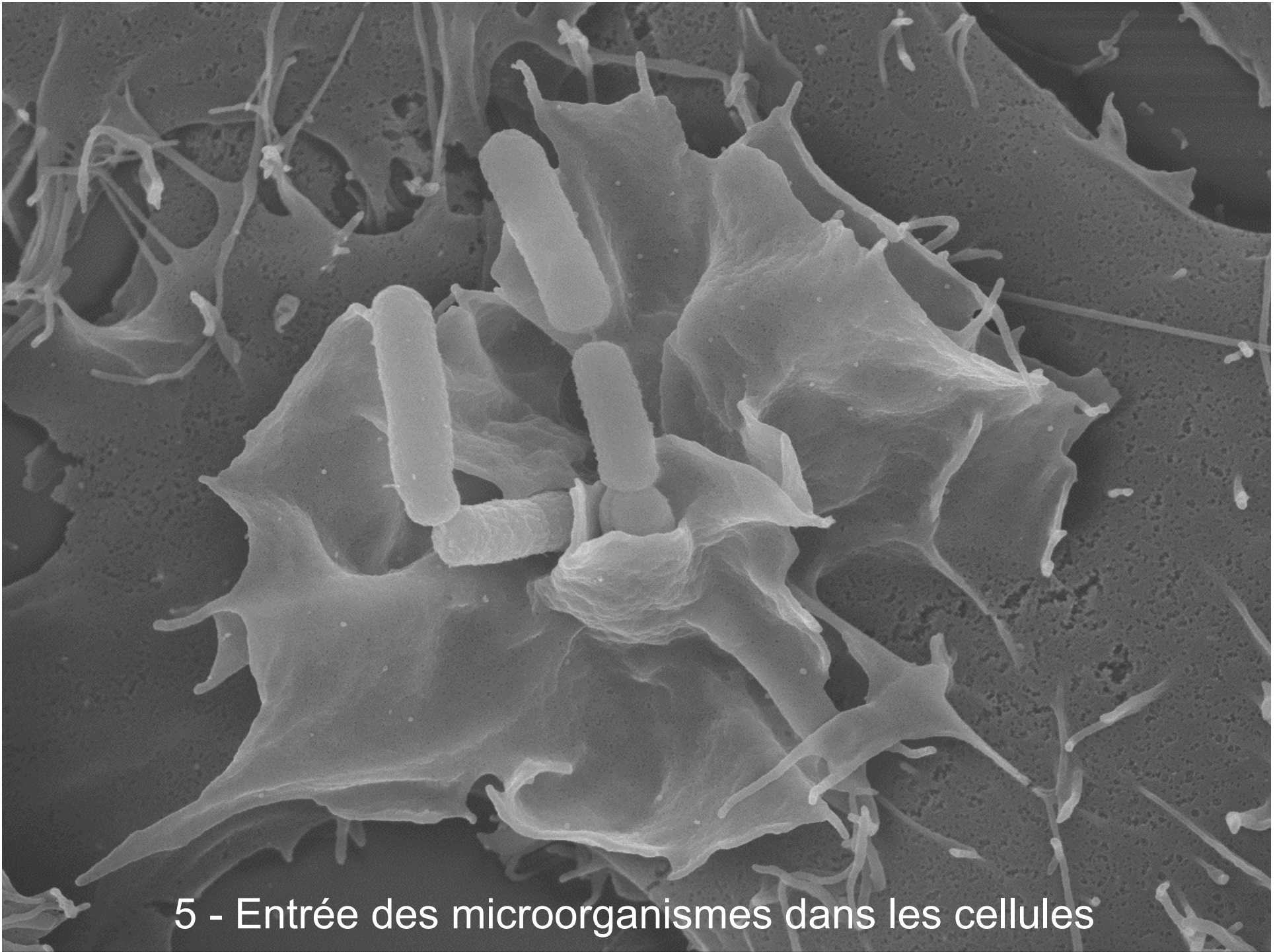
The War: pathogenesis of *Shigella* infection

Central role of Type Three Secretory Apparatus



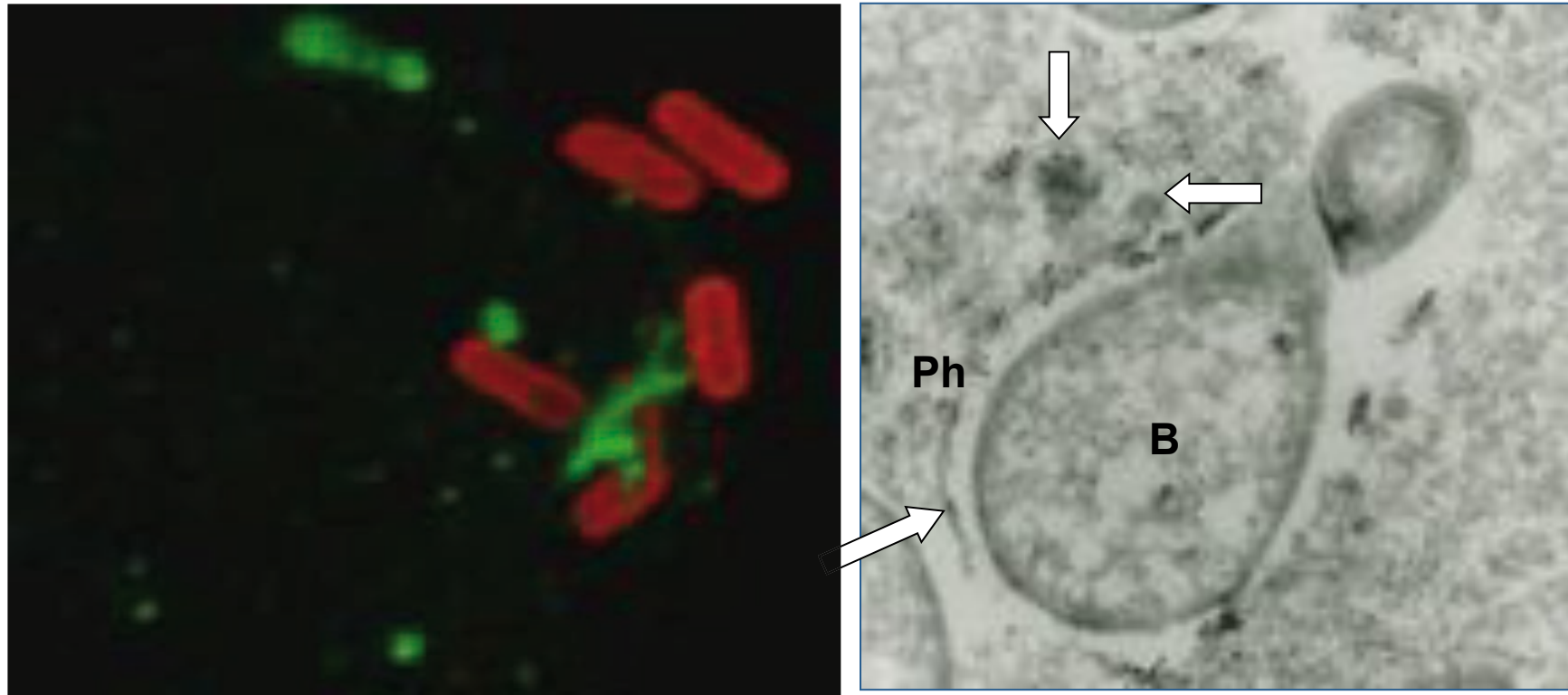
Model of assembly of the *Shigella* Type Three Secretory Apparatus (T3SA)



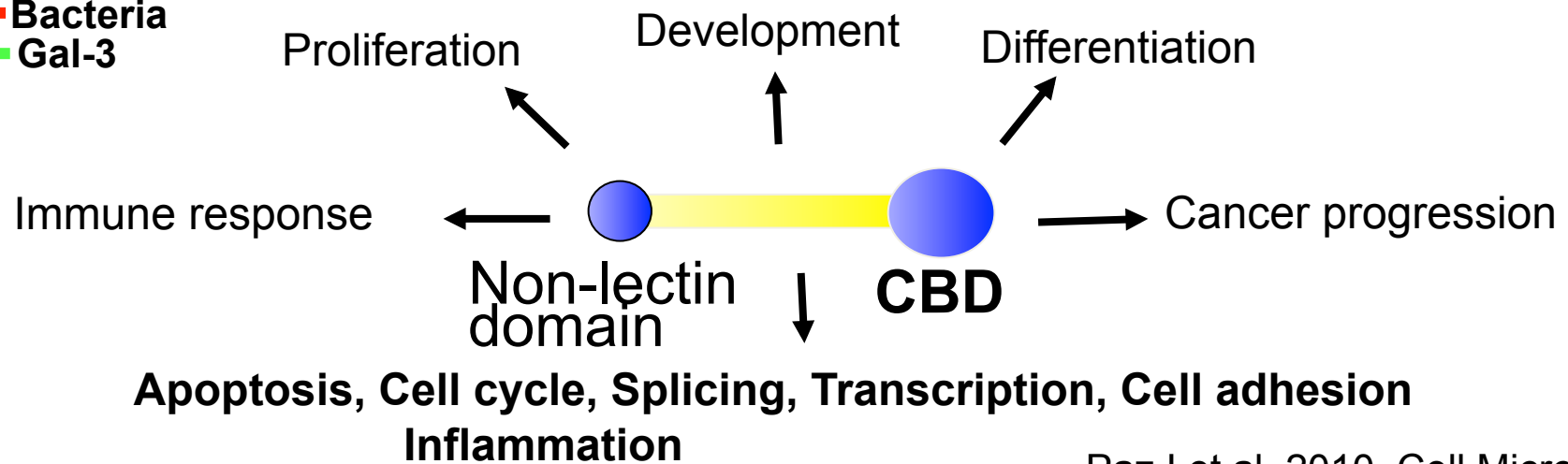


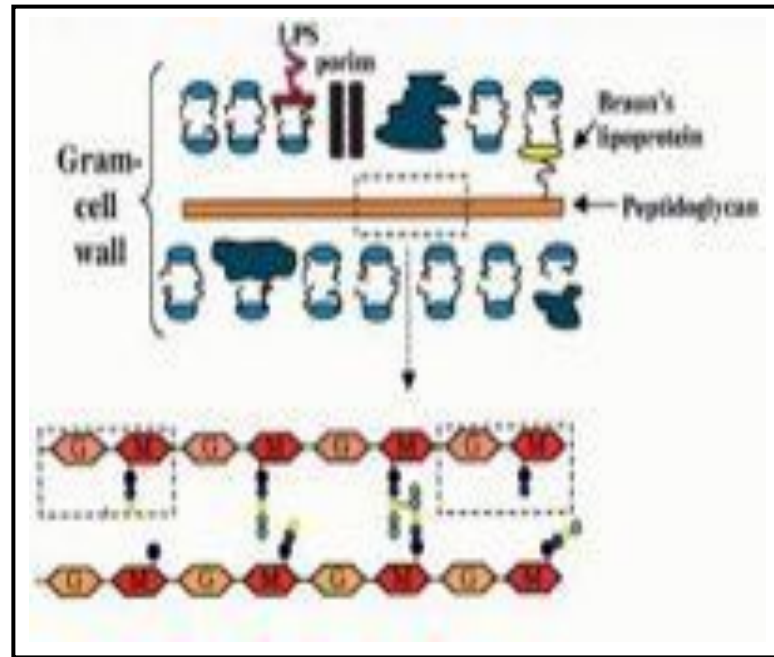
5 - Entrée des microorganismes dans les cellules

Gal-3 localizes to the phagosomal membrane and fusing structures

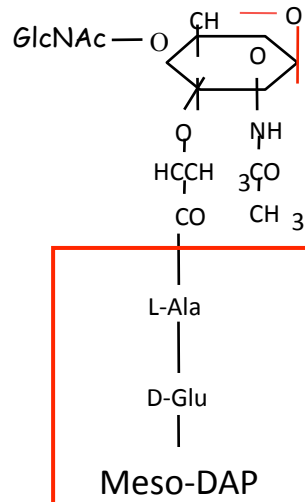


█ Bacteria
█ Gal-3

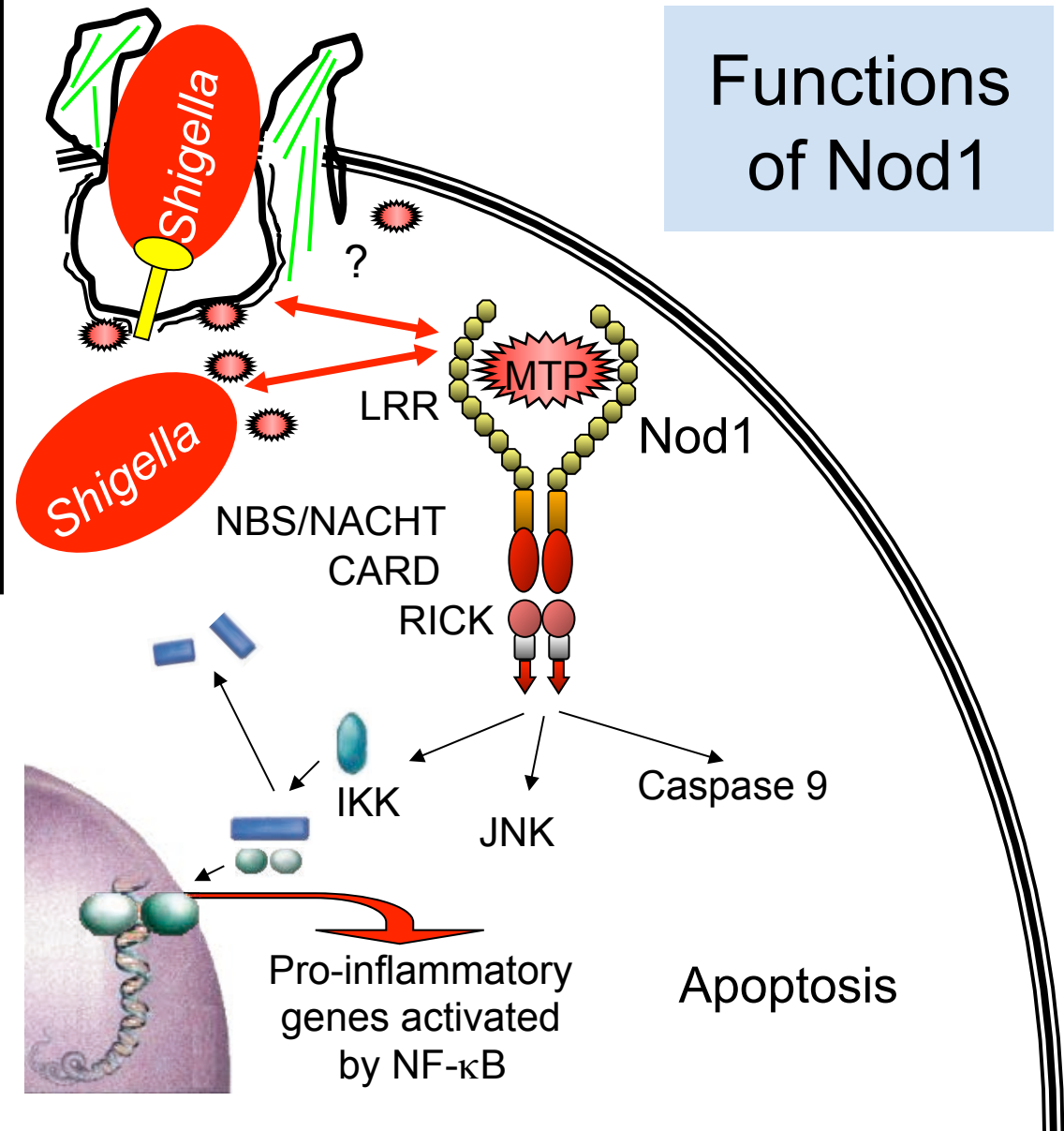




MurNAc



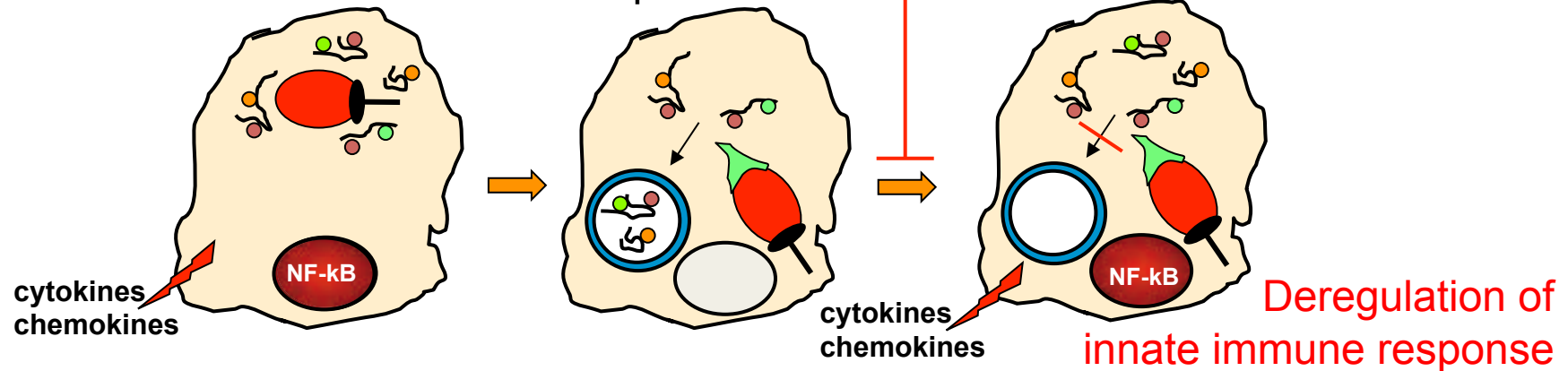
Functions of Nod1



Girardin et al., EMBO Repts, 2001
 Girardin et al., Science, 2003
 Girardin et al., J.Biol.Chem., 2003
 Dupont et al., Cell Host Microbe, 2009

Inhibition of autophagy
(Atg4BC74A)

Autophagy dept.regulation of
innate immune response



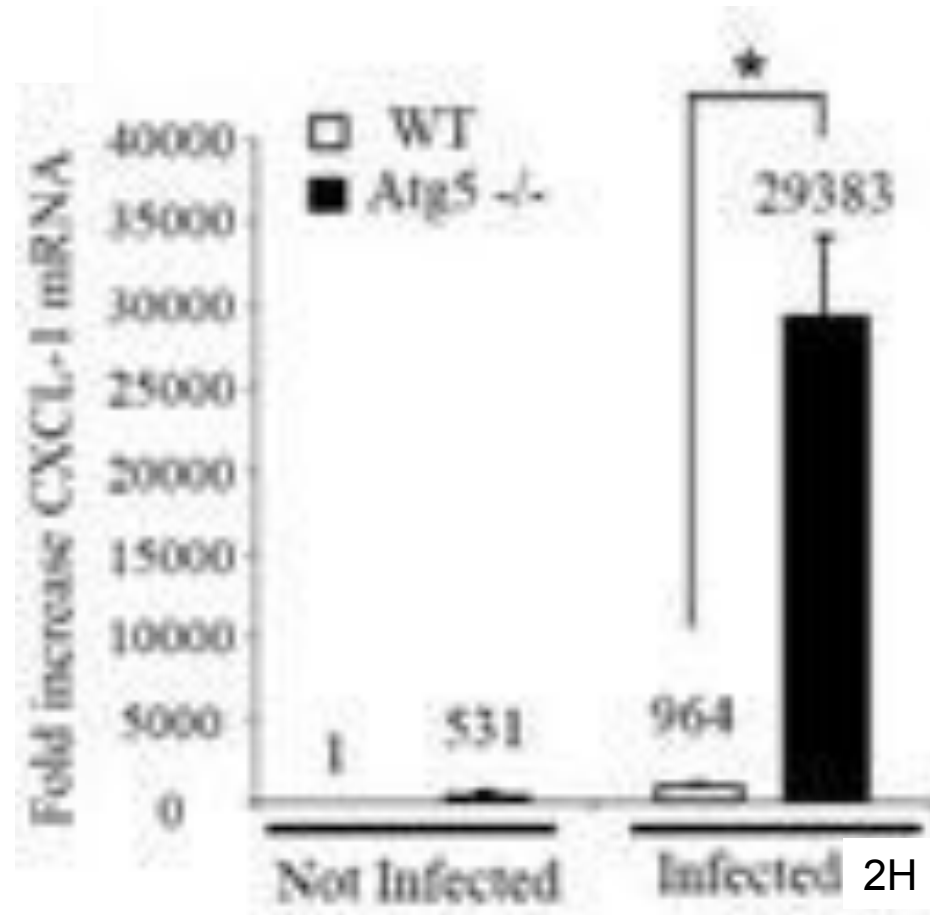
- Polyubiquitinated proteins (bacteria/host cell ?)
- Recruitment of pro-inflammatory signaling platform (TRAF6-Ub, NEMO)
- Recruitment of Autophagy, Sequestosome proteins (LC3, P62)

- Preliminary evidence for recruitment of inflammasome at membrane remnants (Nalp3, IpaF, ASC, Caspase 1)
- Nod , Muropeptides transfer ?

Participation of membrane remnants in NF- κ B response to pathogen invasion in MEF cells

(autophagy-dependent modulation of the inflammatory response)

Increase of NF- κ B activation



Membrane remnants: pro-inflammatory signaling platform upon *Shigella* invasion. To be checked with Nod/PGN-mediated signaling.

A *Shigella* Effector Dampens Inflammation by Regulating Epithelial Release of Danger Signal ATP through Production of the Lipid Mediator PtdIns5P

Andrés Pulgar,^{1,2} Melissa Tranchesi,^{1,2} Bernard Pignatelli,^{1,3} Guy Tom Van Meurs,^{1,4,5} and Philippe A. Sansonetti^{1,2}

1INSERM U1163

2INSERM U1133

Unité de Pathogènes Intra-Cellulaires Bactériens, 75013 Paris Cedex 13, France

3INSERM U1018

4INSERM U1153

5MRC, U1162 Toulouse Cedex 3, France

INSERM U1043 Toulouse, Université-Chimie Toulouse, CNRS Toulouse Cedex 4, France

6INSERM U1018

INSERM U1163

Toulouse 31 France

INSERM U1043 Toulouse, Université-Chimie Toulouse, CNRS Toulouse Cedex 4, France

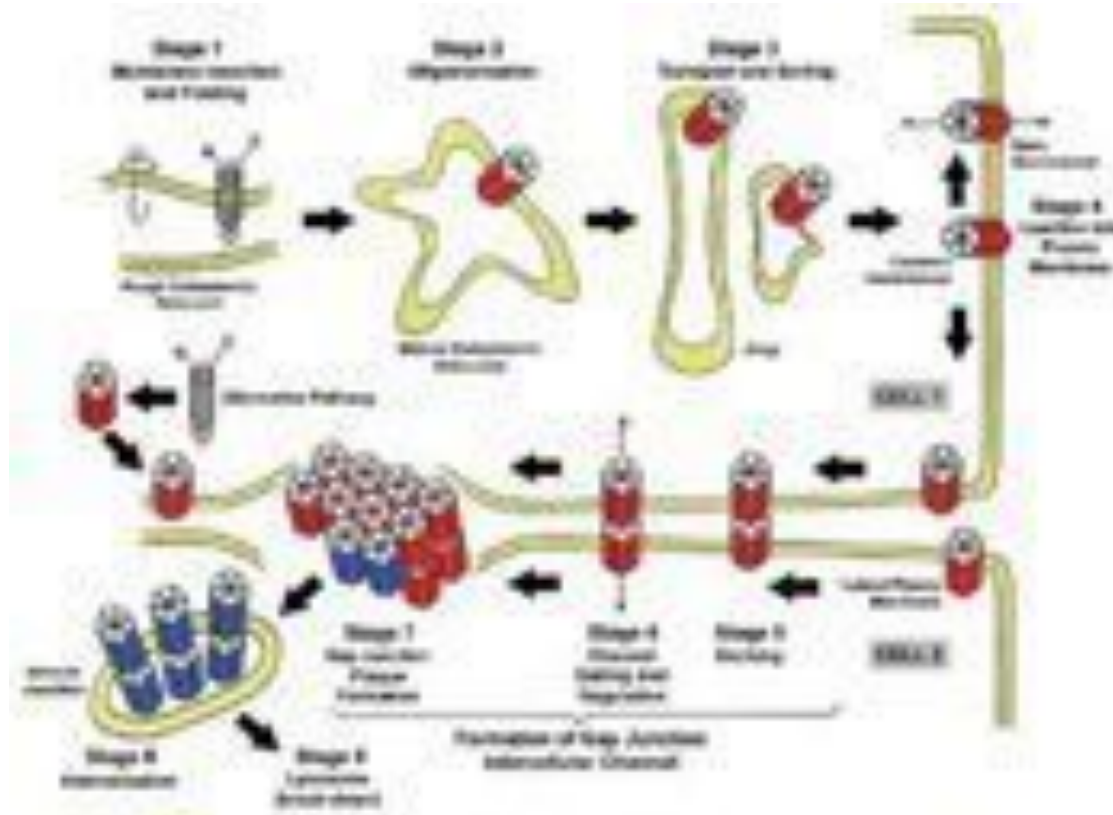
Toulouse Cedex 3, France

Correspondence: andrés.pulgar@inserm.fr (A.P.) or philippe.sansonetti@inserm.fr (P.A.S.)

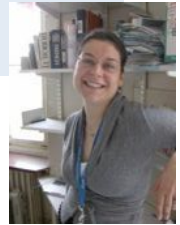
DOI: 10.1016/j.cell.2014.08.015

Connexins (Cxs), hemichannels and gap junctions

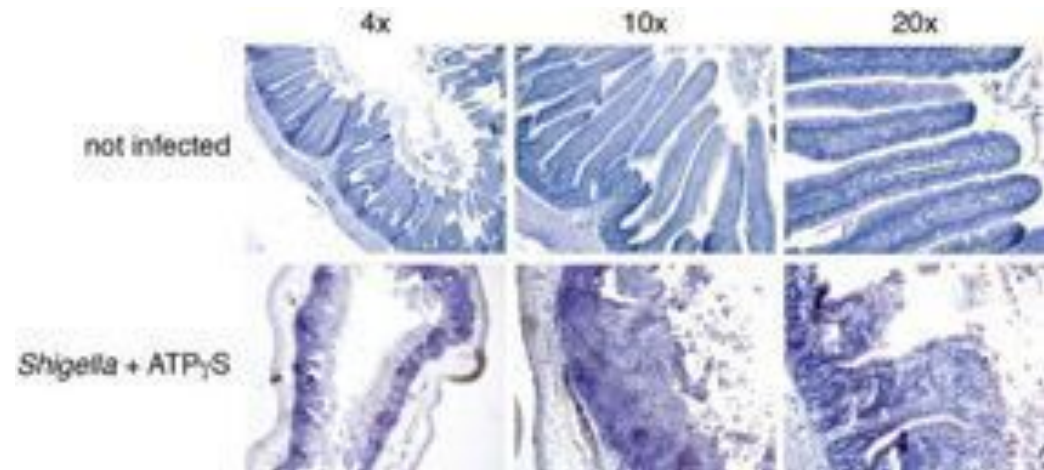
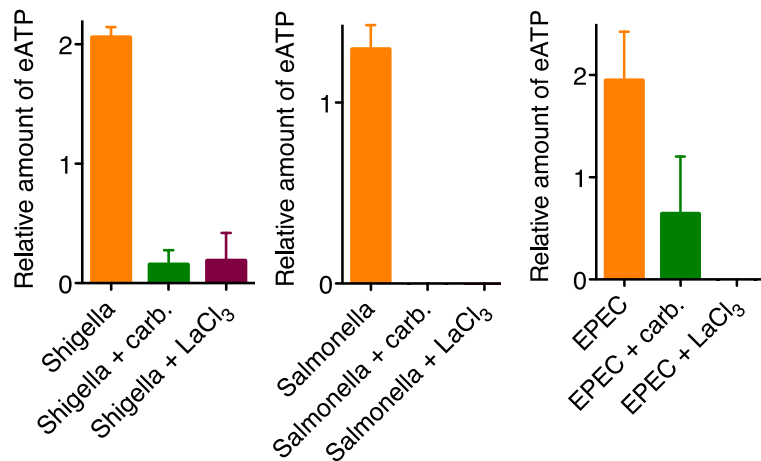
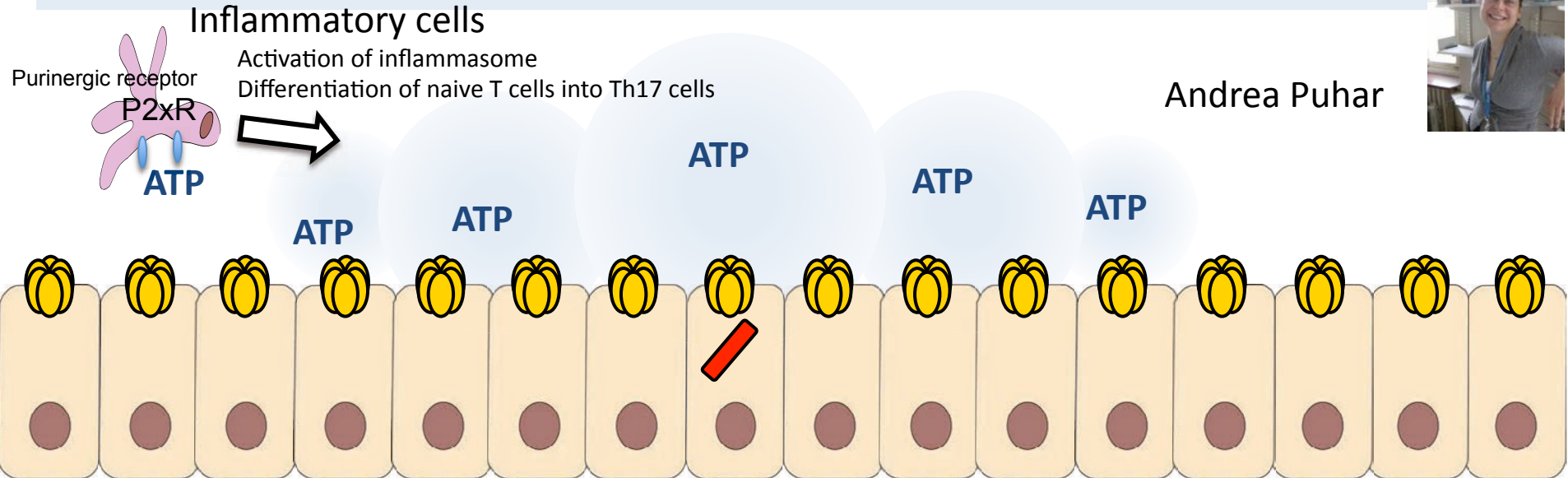
- 4 transmembrane segments, intracellular C-terminus with different lengths
- Cx names according to molecular mass (25-62 kDa), 21 types
- Cxs → hemichannel → gap junction
- Hemichannel opening induced by membrane depolarization, mechanical stress, metabolic inhibition, low extracellular $[Ca^{2+}]$
- Release molecules of 1-2 kDa (i.e. ATP)
- Regulation by phosphorylation and Ca^{2+} binding.



Intestinal epithelial cells release the endogenous danger signal ATP across connexin-based hemichannels as early alert response to infection and major pro-inflammatory signal



Andrea Puhar



IpgD inhibits the production of pro-inflammatory cytokines in infected rabbit ligated ileal loop tissues, qPCR

	non-invasive	NI	wt	<i>ipgD</i> -deficient	<i>ipgD</i> -compl.
IL-1β	1.00 (0.47-1.53)	0.59 (0.46-0.71)	9.76 (7.73-11.79)	23.48 (16.14-30.55)	1.85 (0.84-2.86)
IL-2	1.00 (0.95-1.05)	1.23 (1.02-1.44)	1.17 (0.85-1.48)	1.39 (1.18-1.61)	0.95 (0.78-1.13)
IL-4	1.00 (0.54-1.46)	1.37 (1.25-1.49)	2.88 (2.76-2.99)	4.65 (3.64-5.66)	1.76 (1.27-2.25)
IL-6	1.00 (0.44-1.56)	0.71 (0.65-0.76)	5.06 (3.67-6.45)	14.29 (10.32-18.25)	2.30 (0.66-3.94)
IL-8	1.00 (0.65-1.35)	0.93 (0.91-0.94)	6.11 (4.68-7.54)	15.79 (10.22-21.35)	2.22 (1.08-3.36)
IL-10	1.00 (0.86-1.14)	0.75 (0.72-0.79)	1.61 (0.96-2.25)	1.91 (1.55-2.27)	1.11 (0.63-1.59)
IL-12p35	1.00 (0.52-1.48)	1.70 (0.86-2.53)	2.35 (1.11-3.59)	1.08 (1.06-1.09)	1.68 (1.51-1.84)
IL-12p40	1.00 (0.82-1.18)	0.22	56.50 (40.31-72.70)	116.70 (116.34-117.06)	2.00 (0.40-3.61)
IL-17A	1.00 (0.72-1.28)	-	10.66	44.62 (29.36-59.88)	2.21
IL-23	1.00 (0.64-1.36)	0.78 (0.73-0.83)	17.97 (16.62-19.33)	59.29 (41.60-76.97)	1.97 (1.45-2.49)
IFNβ	1.00 (0.29-1.71)	1.83 (0.26-3.40)	7.56 (2.46-12.66)	1.88 (1.65-2.11)	1.02 (0.27-1.77)
IFNγ	1.00 (0.77-1.23)	0.85 (0.74-0.97)	28.31 (24.91-31.72)	40.53 (35.17-45.88)	5.00 (3.40-6.61)
TNFα	1.00 (0.74-1.26)	0.55 (0.48-0.61)	21.05 (17.56-24.55)	40.52 (31.27-49.76)	3.13 (1.83-4.44)
TGFβ	1.00 (0.59-1.41)	1.22 (1.03-1.42)	2.02 (1.26-2.78)	2.08 (1.91-2.26)	2.59 (1.27-3.91)
CX3CR1	1.00 (0.68-1.32)	1.07 (0.59-1.55)	0.79 (0.60-0.98)	0.40 (0.34-0.46)	1.21 (0.63-1.80)
LeuP	1.00 (0.81-1.19)	0.73 (0.72-0.73)	6.54 (5.08-7.90)	12.92 (8.65-17.19)	1.73 (0.78-2.69)
NP3a	1.00 (0.74-1.26)	1.11 (1.01-1.21)	1.51 (1.11-1.92)	1.31 (1.24-1.37)	1.56 (1.09-2.04)
NP4/5	1.00 (0.87-1.13)	0.70 (0.63-0.77)	1.40 (1.31-1.48)	1.91 (1.72-2.10)	0.81 (0.65-0.97)
CAP18	1.00 (0.80-1.20)	0.71 (0.68-0.74)	7.56 (6.06-9.07)	15.44 (11.16-19.72)	1.85 (0.87-2.82)

Yellow: 2-3 times up

Light orange: 3-10 times up

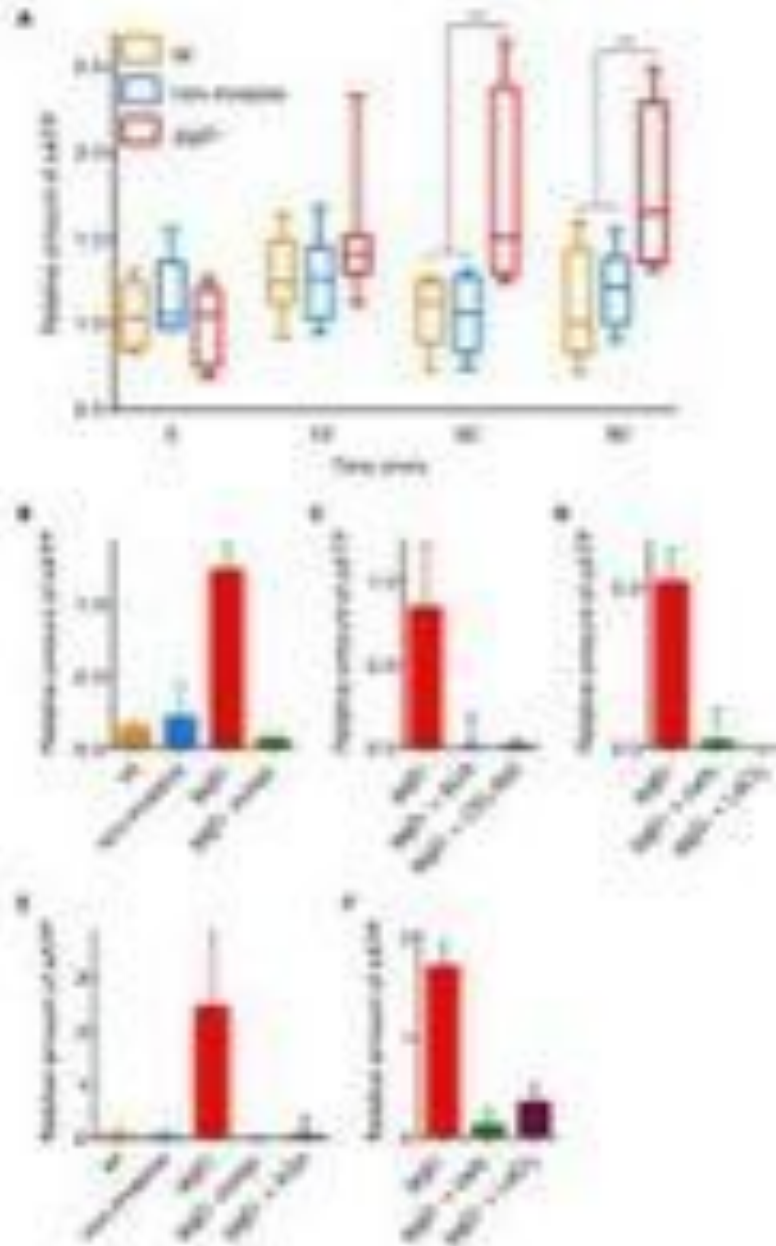
Dark orange: 10-100 times up

Red: > 100 times up

Blue: down-regulated

Representative experiment (7h)
Average fold expression, duplicates
n = 4, infection 6-8 h

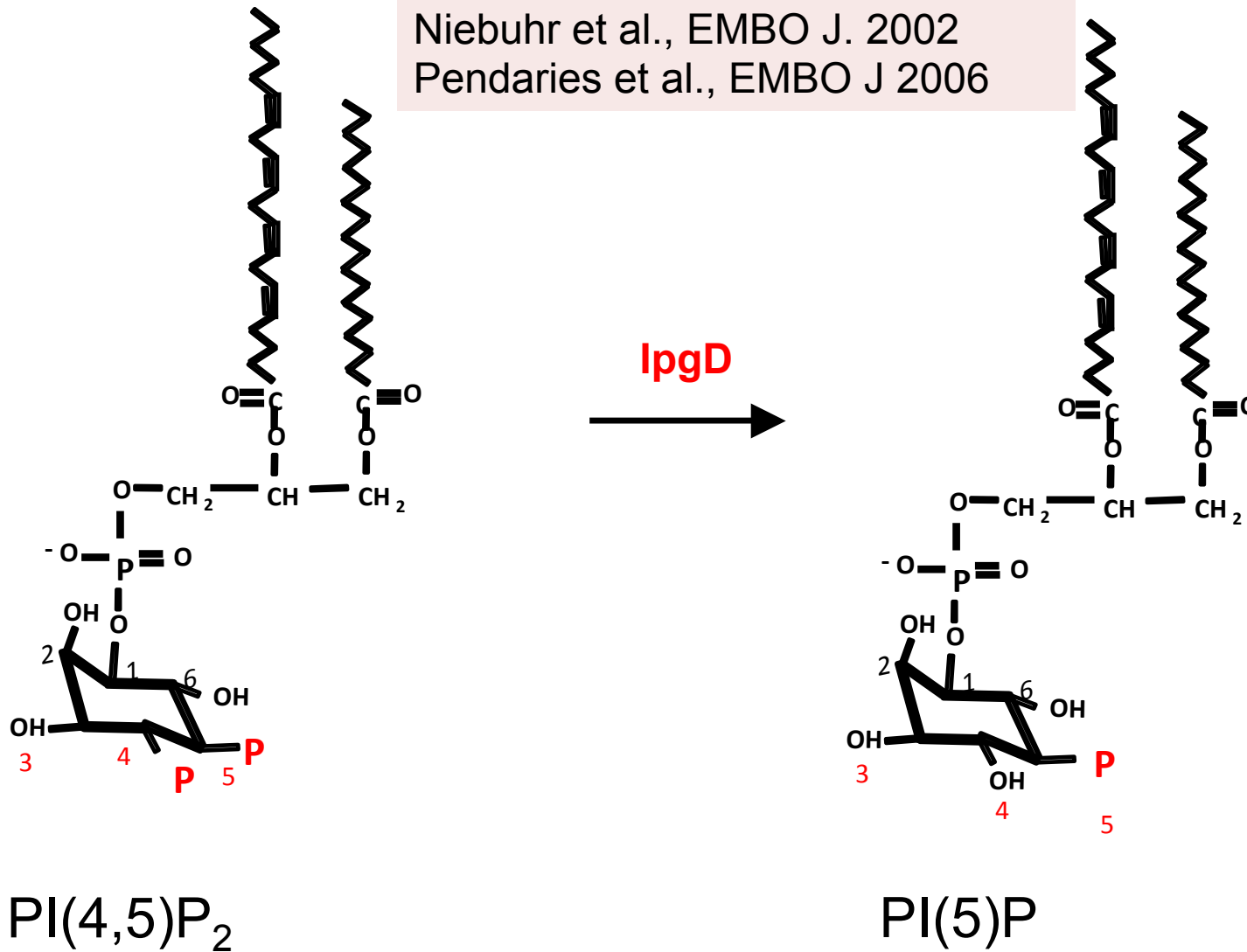
IpgD inhibe la libération d'ATP dépendante des hémicanaux à connexines dans les cellules épithéliales infectées *in vitro* par *Shigella*



IpgD is a PtdIns(4,5)P₂ 4-phosphatase

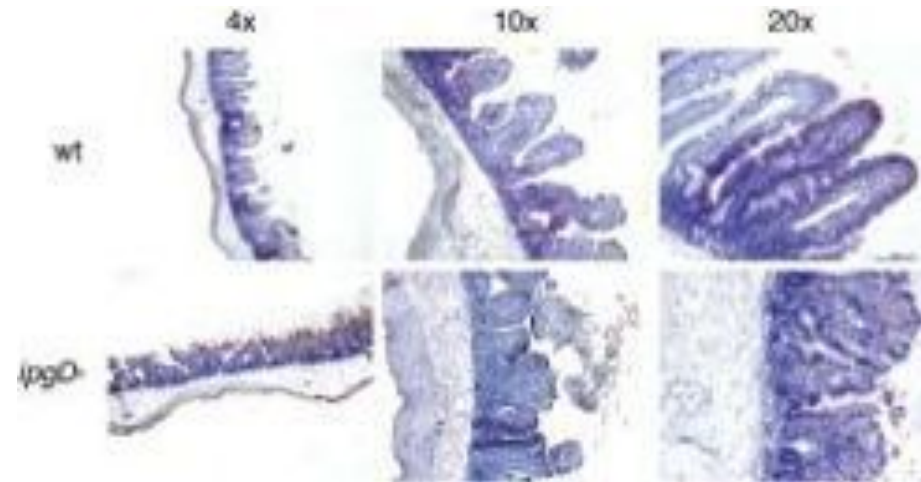
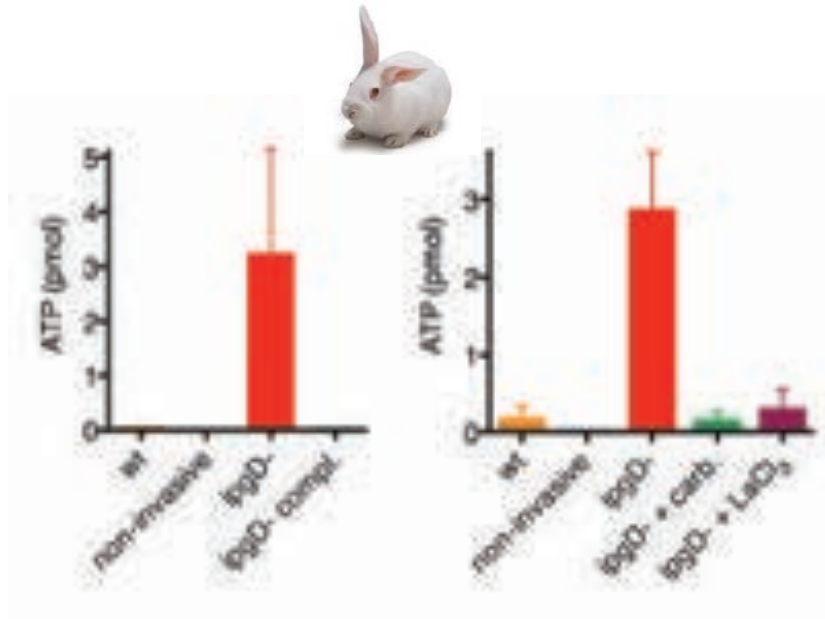
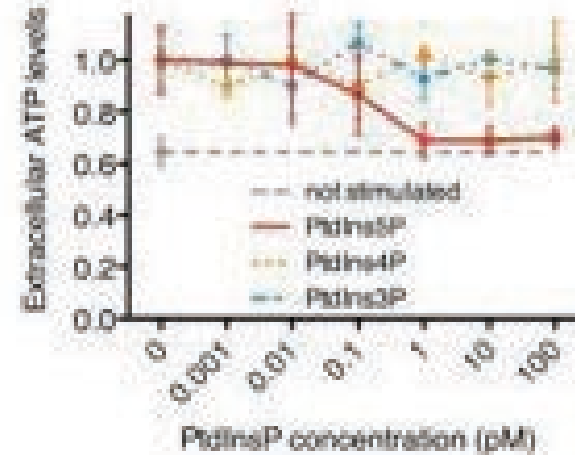
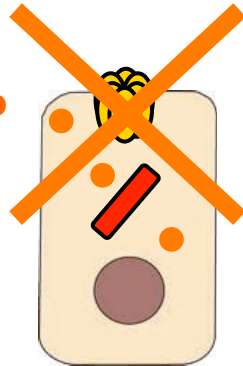
Collaboration, Bernard Payrastre, INSERM, Toulouse

Niebuhr et al., Mol. Micro. 2000
Niebuhr et al., EMBO J. 2002
Pendaries et al., EMBO J 2006



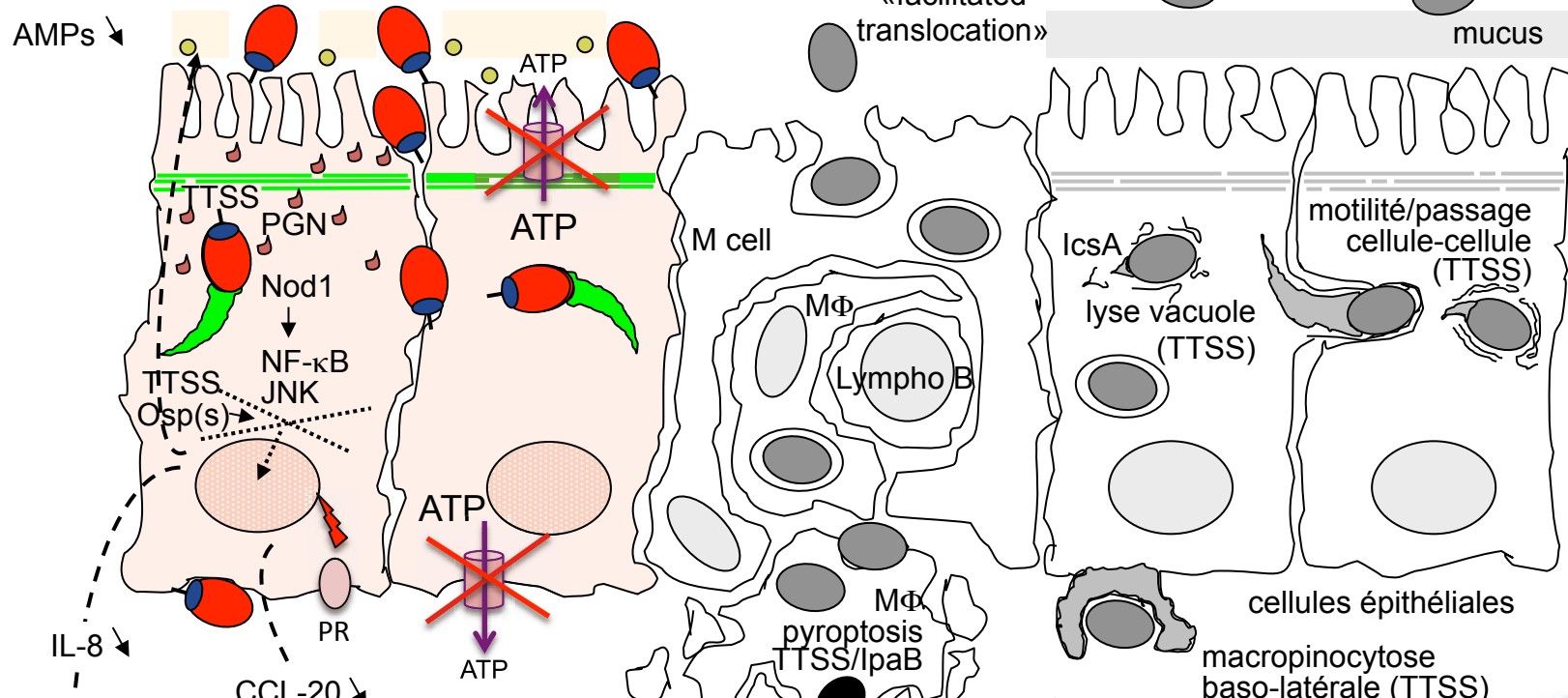
The *Shigella* effector IpgD induces hemichannel closure through production of the lipid mediator PtdIns5P to evade the immune response

PtdIns(4,5)P₂ → PtdIns5P



follicle-associated epithelium

Suppression of humoral defense mechanisms



Suppression of danger signaling

- activation of caspase-1
- pyroptosis = pro-inflammatory apoptosis
- release of IL-1β et IL-18

Suppression of cellular defense mechanisms

Kim et al. PNAS. 2005
 Arbibe et al. Nat. Immunol., 2007
 Sperandio et al., J. Exp. Med., 2008
 Puhar et al., Immunity, 2013



St Augustin et le Diable,
Michael Pacher
(Alte Pinakothek, Munich)

