

Comment l'hôte discrimine-t-il entre microorganismes commensaux et pathogènes ?

Philippe Sansonetti

Jeudi 26 novembre 2009

Leçon #1



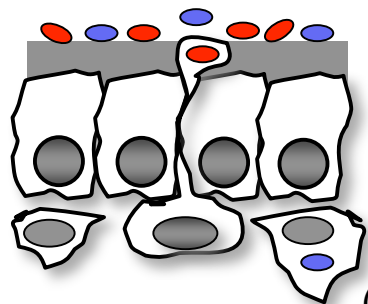
St Augustin et le Démon, Michael Pacher (Alte Pinakothek, Munich)

Frontière ?

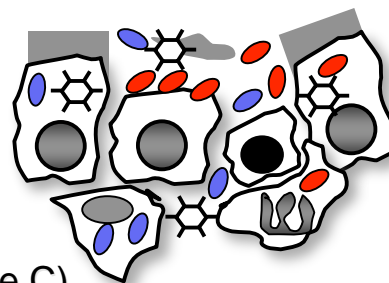


Immunité adaptative
Reconnaissance et capture
des pathogènes,
complétion
de l'éradication, protection:
« scavenging receptors »,
etc..

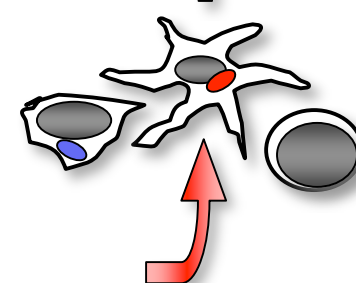
Commensaux



Pathogènes
lectines de type C, etc..



Reconnaissance:
TLRs, NLRs,
Rig1, MDA5...
Signaux de danger:
(acide urique, ATP, cytochrome C)



Immunité innée

Surveillance/Tolérance

- Rupture de l'homéostasie:

maladies inflammatoires

(MICI = Crohn, RCH)

- Dysbiose: obésité, diabète...

(Turnbaugh PJ & Gordon JI. 2009.

J.Physiol., 587:4153-4158)

Immunité innée

Inflammation

Destruction des microbes

et des tissus

Boucle d'amplification:

TREM, HMGB1, Gal3, etc..

Regulation/
Réparation

Perte de
contrôle

Sepsis grave

Choc septique

Sansonetti, 2004, Nat. Rev. Immunol.

Sansonetti, 2006, Nat. Immunol.

Sansonetti & Di Santo, 2007, Immunity

Sansonetti & Medzhitov, 2009, Cell



Charles A Janeway
1943-2003

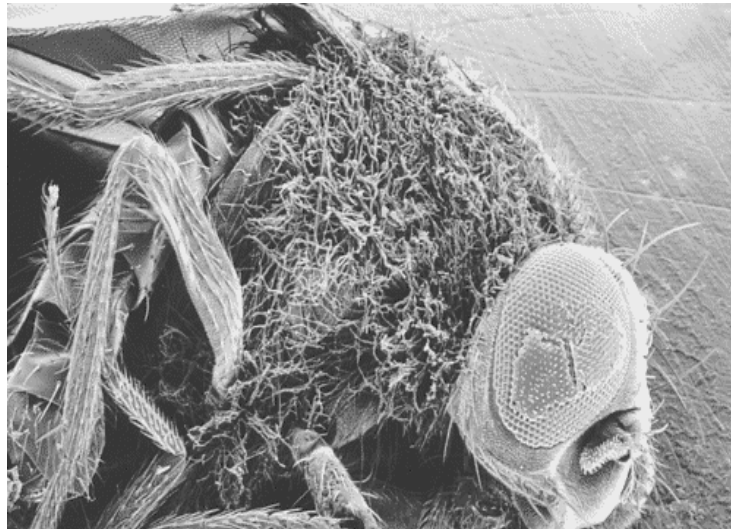
Revealing the « dirty little secret of immunologists »

« The immune system evolved under selective pressure imposed by infectious microorganisms. As a result, all multicellular organisms have developed various defense mechanisms that have the capacity to be triggered by infection and to protect the host organism by destroying the invading microbes and neutralizing their virulence factors.

These phylogenetically ancient defense mechanisms, also known as the innate immune system, use germline-encoded receptors for the recognition of microbial pathogens. This feature distinguishes the innate immune system from the other component of immunity, the adaptive immune system, found only in vertebrates ».

Janeway CA. 1989. Approaching the asymptote?: Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.54:1-13

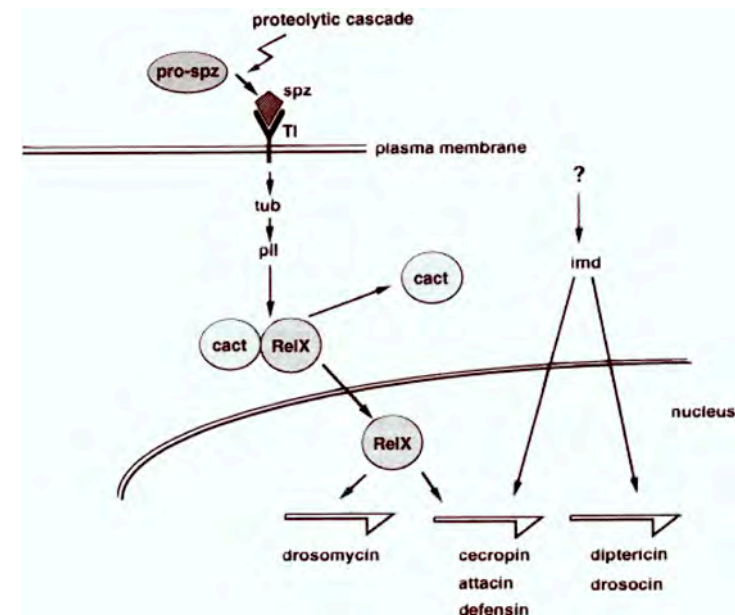
Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA. **1996**. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 86:973-983



Survival of Dorsoventral Mutant Adults to Bacterial and Fungal Infections

| Genotype Tested | Fungal Infection | Bacterial Infection |
|---|------------------|---------------------|
| <i>Or^R</i> | 89 (4.2; 9) | 95 (5.3; 14) |
| <i>dl¹/dl¹</i> | 94 (4.3; 5) | 92 (3.0; 6) |
| <i>pl¹⁰⁷⁸/pl²¹</i> | 4 (7.4; 5) | 87 (8.5; 8) |
| <i>tub²³⁸/tub³</i> | 3 (5.3; 6) | 71 (27; 4) |
| <i>Tl⁶³²/Tl^{1-RXA}</i> | 8 (10.8; 8) | 93 (6.6; 9) |
| <i>spz^{rm7}/spz¹⁹⁷</i> | 3 (5.6; 7) | 84 (11; 9) |
| <i>ea¹lea²</i> | 98 (8.8; 5) | 87 (5.7; 8) |
| <i>imdlimd</i> | 93 (5.6; 5) | 8 (7.4; 13) |
| <i>imdlimd; Tl⁶³²/Tl^{1-RXA}</i> | 1 (2.3; 5) | 3 (4.4; 6) |

The cytokine-induced activation cascade of NF-kappaB in mammals and the activation of the morphogen dorsal in *Drosophila* embryos show striking structural and functional similarities (Toll/IL-1, Cactus/I-kappaB, and dorsal/NF-kappaB). Here we demonstrate that these parallels extend to the immune response of *Drosophila*. **In particular, the intracellular components of the dorsoventral signaling pathway (except for dorsal) and the extracellular Toll ligand, spätzle, control expression of the antifungal peptide gene drosomycin in adults.** We also show that mutations in the Toll signaling pathway dramatically reduce survival after fungal infection. Antibacterial genes are induced either by a distinct pathway involving the immune deficiency gene (*imd*) or by combined activation of both *imd* and dorsoventral pathways.



Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA. **1997**. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 388:394-397

letters to nature

A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity

Ruslan Medzhitov*, Paula Preston-Hurlburt & Charles A. Janeway Jr*

*Section of Immunobiology, Yale University School of Medicine, and *Howard Hughes Medical Institute, New Haven, Connecticut 06520-8011, USA*

We report here the cloning and characterization of a human homologue of the *Drosophila* toll protein (Toll) which has been shown to induce the innate immune response in adult *Drosophila*. Like *Drosophila* Toll, human Toll is a type I transmembrane protein with an extracellular domain consisting of a leucine-rich repeat (LRR) domain, and a cytoplasmic domain homologous to the cytoplasmic domain of the human interleukin (IL)-1 receptor. Both *Drosophila* Toll and the IL-1 receptor are known to signal through the NF-kappaB pathway. We show that a constitutively active mutant of human Toll transfected into human cell lines can induce the activation of NF-kappaB and the expression of NF-kappaB-controlled genes for the inflammatory cytokines IL-1, IL-6 and IL-8, as well as the expression of the co-stimulatory molecule B7.1, which is required for the activation of naive T cells.

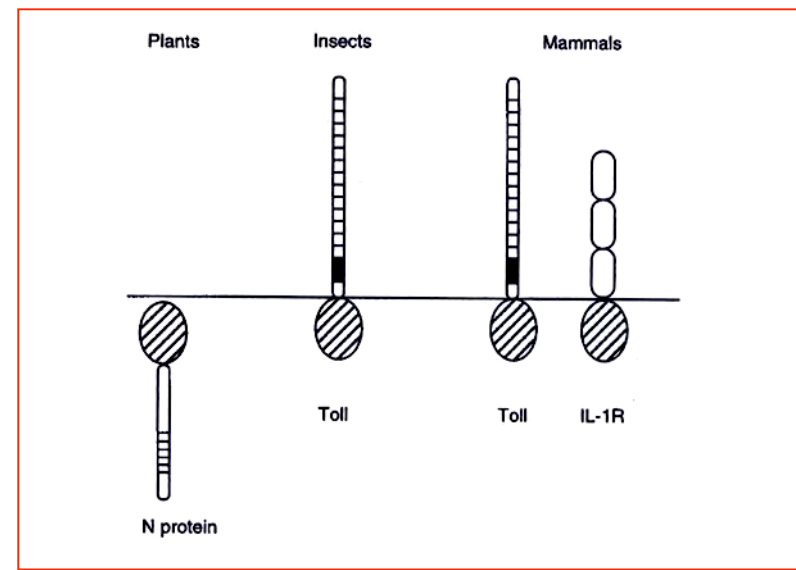
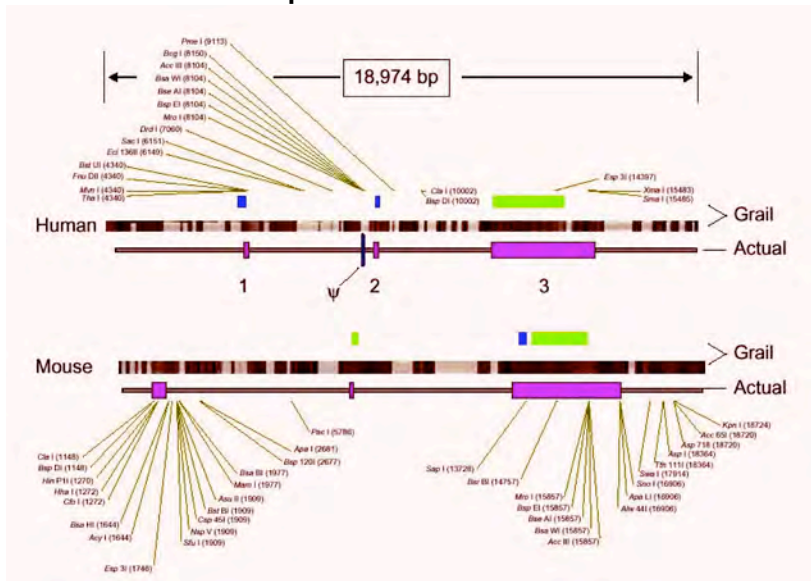


Figure 1 Ancient immune defence systems of plants, insects and vertebrates. A homologous immune response system based on the Toll signalling domain is used in plants, insects and vertebrates. In mammals, Toll induces signals required for the activation of both an innate and an adaptive immune response (see text). The figure is modified from ref. 6. Diagonal hatching represents the Toll signalling domain; striped rods, leucine-rich repeat domains; black rectangles, C-terminal cysteine-rich domains; white ellipsoids, immunoglobulin domains.

Poltorak A, He X, Smirnova X, Liu MY, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B. **1998**. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutation in Tlr4 gene. *Science*, 282:2085-2088.

Mutations of the gene *Lps* selectively impede lipopolysaccharide (LPS) signal transduction in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice, rendering them resistant to endotoxin yet highly susceptible to Gram-negative infection. **The codominant *Lpsd* allele of C3H/HeJ mice was shown to correspond to a missense mutation in the third exon of the Toll-like receptor-4 gene (*Tlr4*), predicted to replace proline with histidine at position 712 of the polypeptide chain. C57BL/10ScCr mice are homozygous for a null mutation of *Tlr4*.** Thus, the mammalian *Tlr4* protein has been adapted primarily to subserve the recognition of LPS and presumably transduces the LPS signal across the plasma membrane. Destructive mutations of *Tlr4* predispose to the development of Gram-negative sepsis, leaving most aspects of immune function intact.



| | mouse/rat | 712 | |
|-------------------------------|-----------|--------------------------|--|
| C3H/HeJ (700) ...RFHLCLHYRDFI | H | GVAIAANIIQEGFHKS...(730) | |
| C3H/HeN(700) ...RFHLCLHYRDFI | P | GVAIAANIIQEGFHKS...(730) | |
| rat (700) ...RFQLCLHYRDFI | P | GVAIAANIIQEGFHKS...(730) | |
| human (702) ...PFQLCLHYRDFI | P | GVAIAANIIHEGFHKS...(732) | |

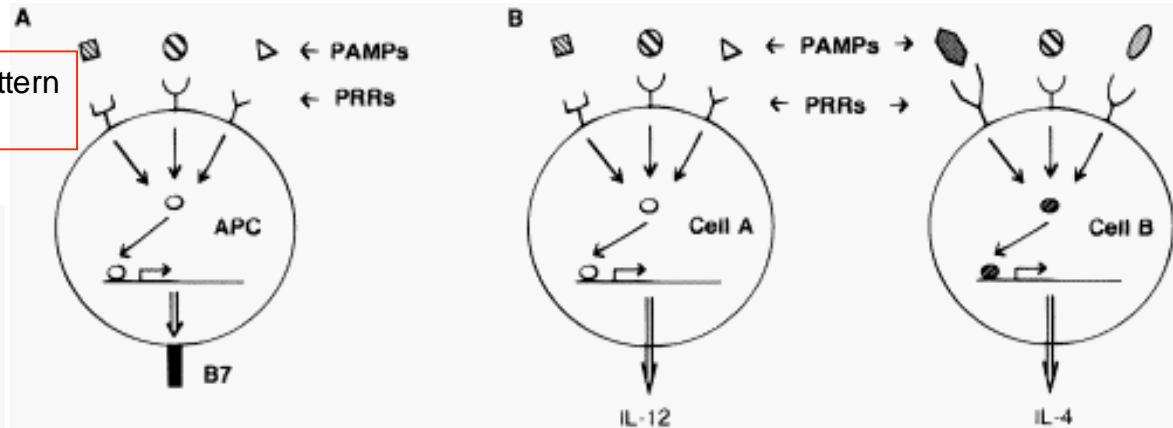
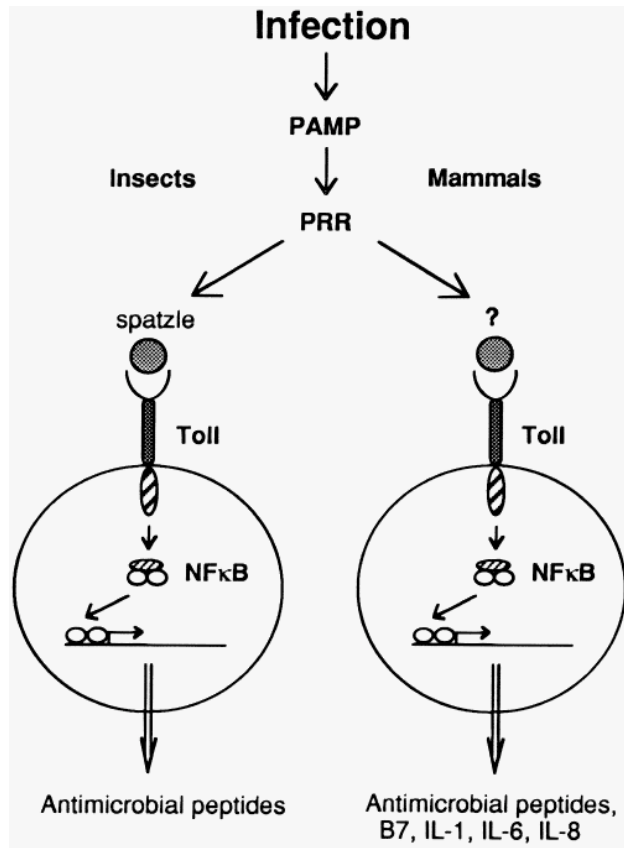
• • ↑ •

Domaine intracytoplasmique

L'ensemble du gène défini à partir de la rétrotranscription du mRNA est de 2951 nucléotides

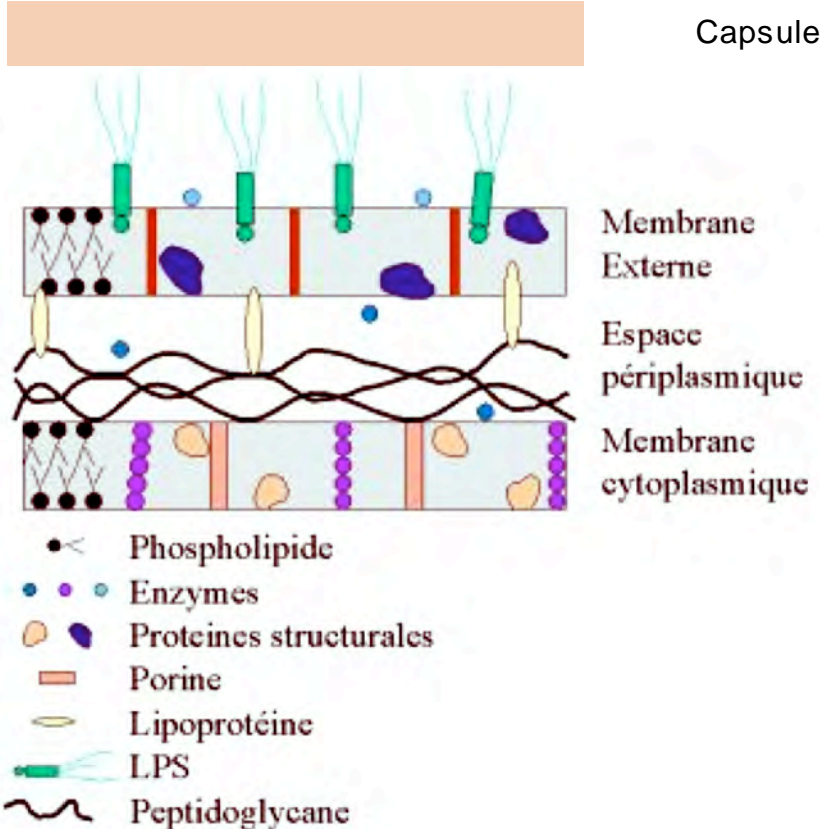
Le « paradigme de Janeway » suffit-il à rendre compte de la reconnaissance des pathogènes ou doit-il être (ré)actualisé ?

PAMP = Pathogen Associated Molecular Pattern
 PRR = PAMP Recognition Receptor

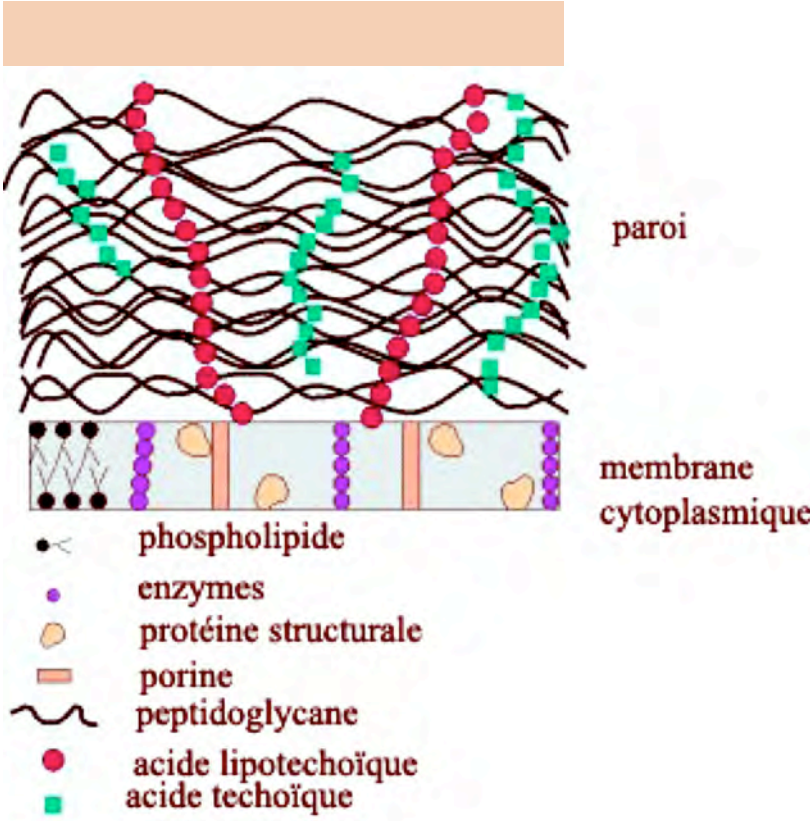


PRRs Recognize PAMPs and Translate Them into a Set of Endogenous Signals that Induce an Adaptive Immune Response and Direct the Differentiation of Lymphocytes into Particular Types of Effector Cells(A) Various PAMPs recognized by cognate PRRs expressed on APCs induce the expression of B7 molecules, thus signaling the presence of pathogens and allowing activation of lymphocytes specific for antigens derived from the pathogens.(B) PRRs strategically expressed on the effector cells of the innate immune system (here shown as cell type A and cell type B) induce the expression of corresponding sets of effector cytokines, which in turn direct the induction of the appropriate effector mechanisms in the adaptive immune response. Induction of distinct effector cytokines can be either due to the recognition of different PAMPs, or recognition of the same PAMP on different cell types. IL-12 and IL-4 exemplify prototype effector cytokines controlling distinct effector functions.

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

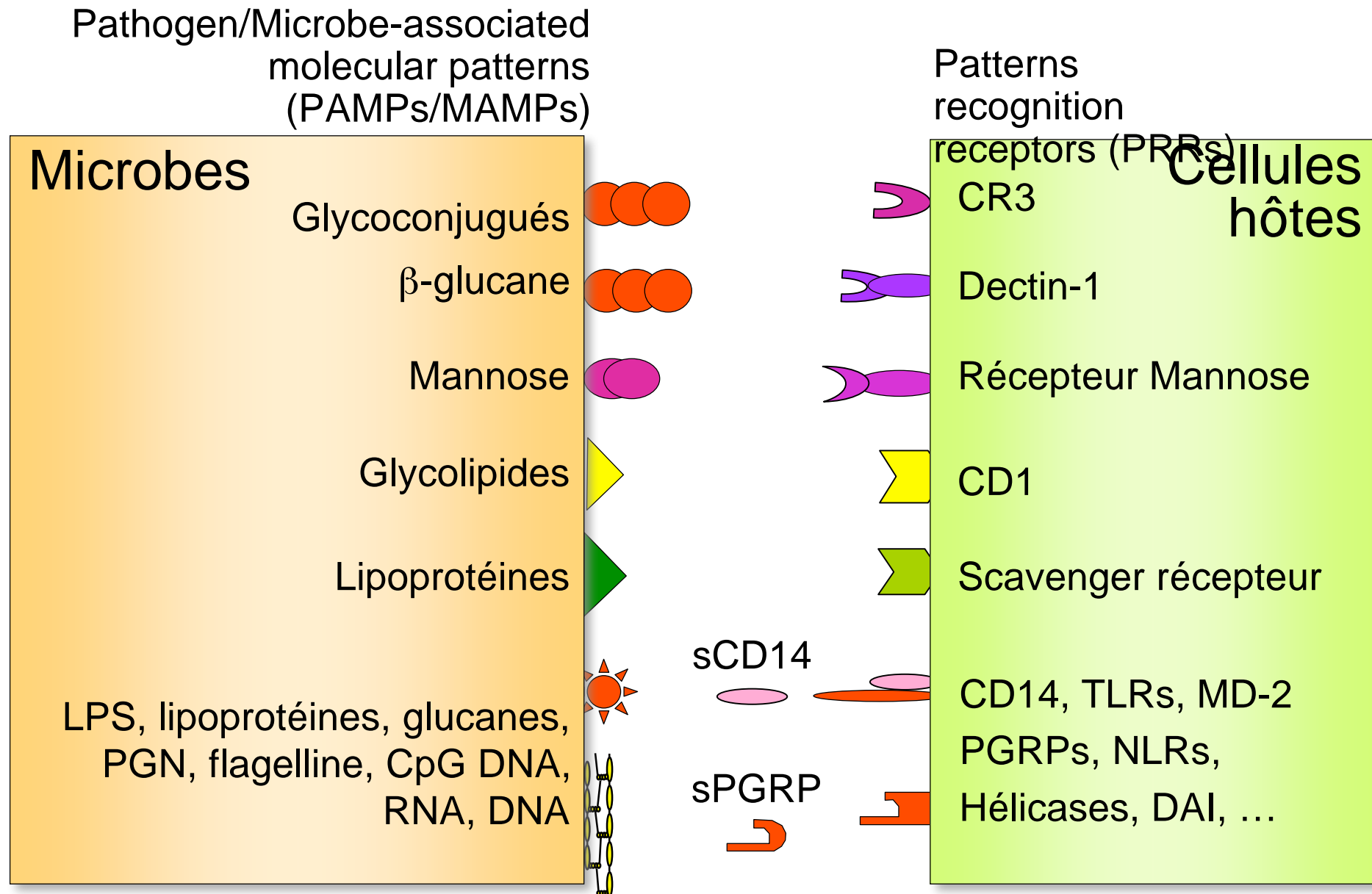


Gram négatif

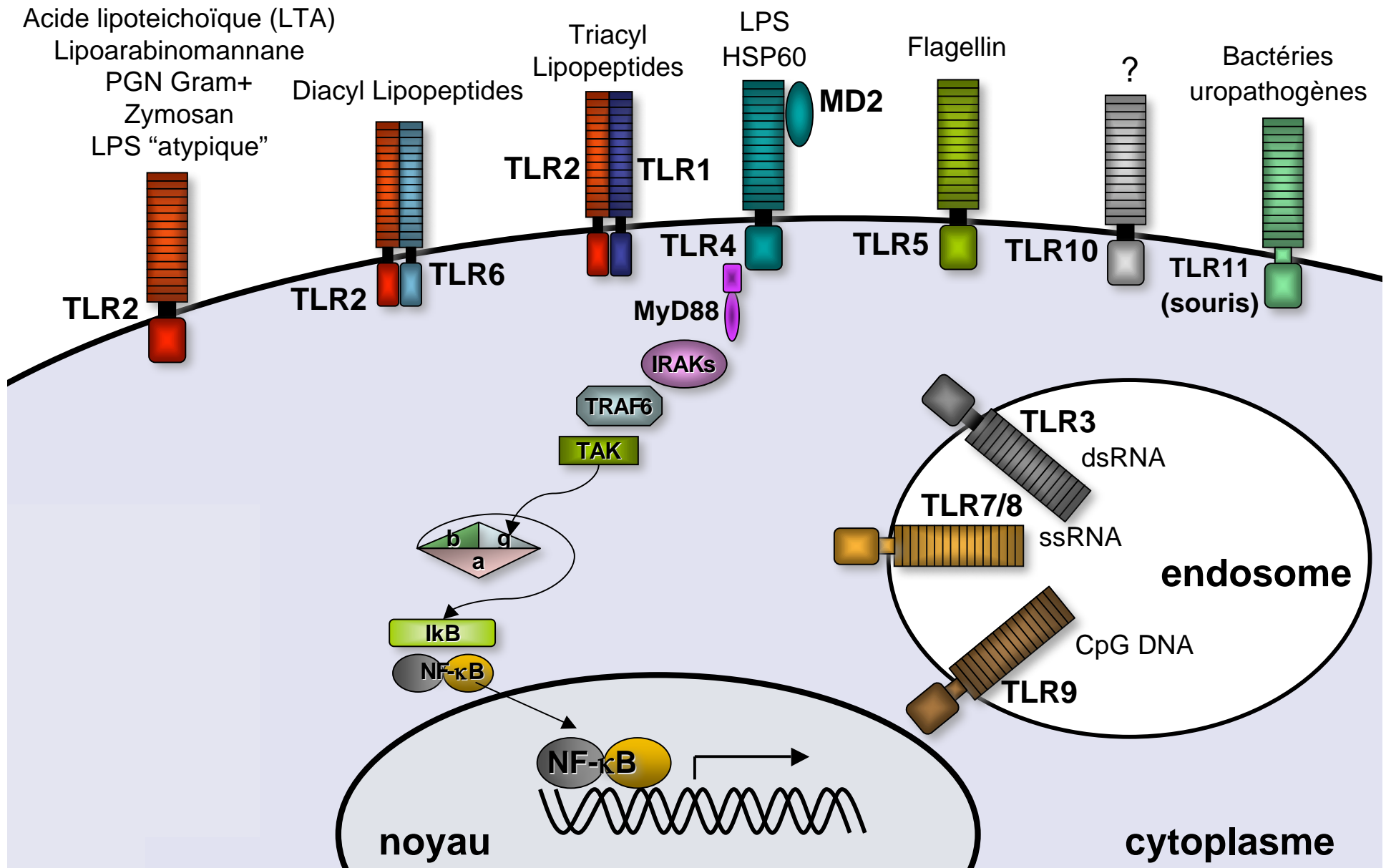


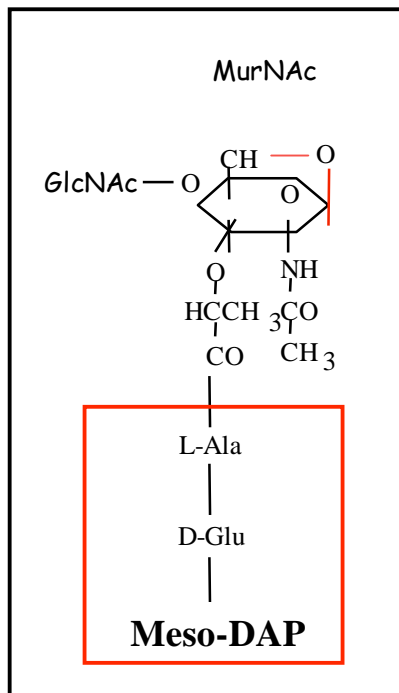
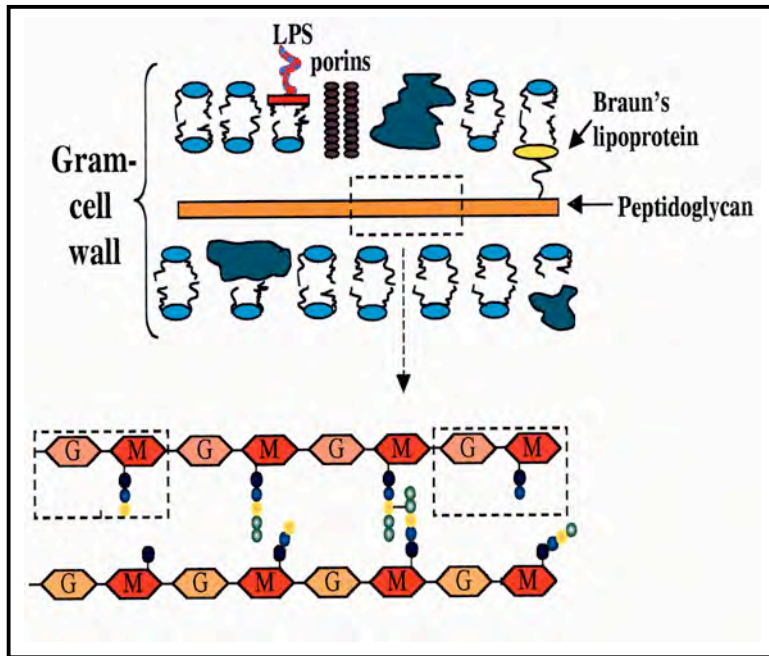
Gram positif

Reconnaissance des microbes et immunité innée: le « paradigme de Janeway »

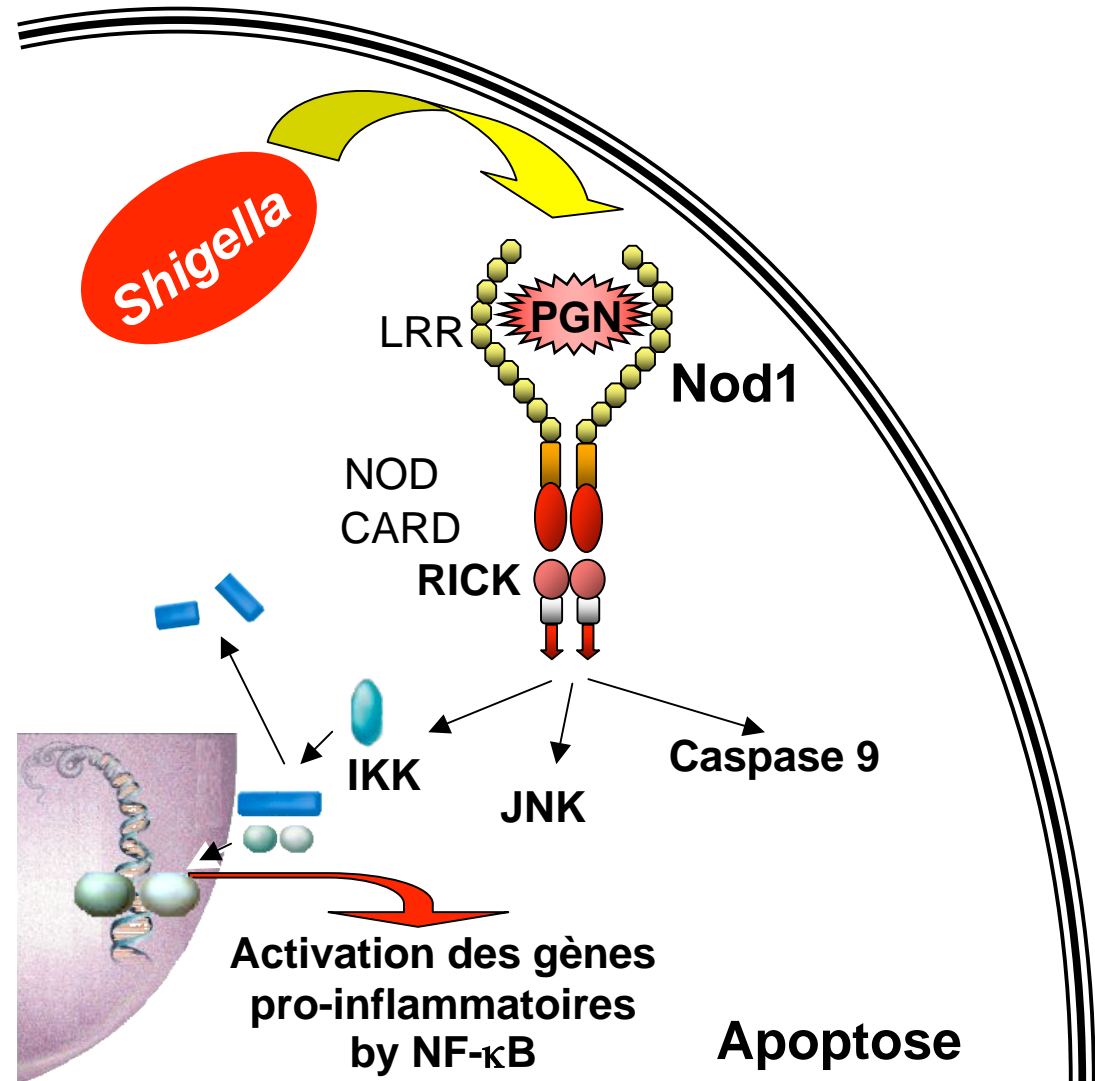


“PATHOGEN RECOGNITION RECEPTORS (PRRs)” & PAMPs





Fonctions de Nod1



Girardin et coll. 2001. EMBO Repts, 8:736-742

Girardin et coll. 2003. Science, 300:1584-1587

Girardin et coll. 2003. J.Biol.Chem., 278:8869-8872

NLR et pathologies

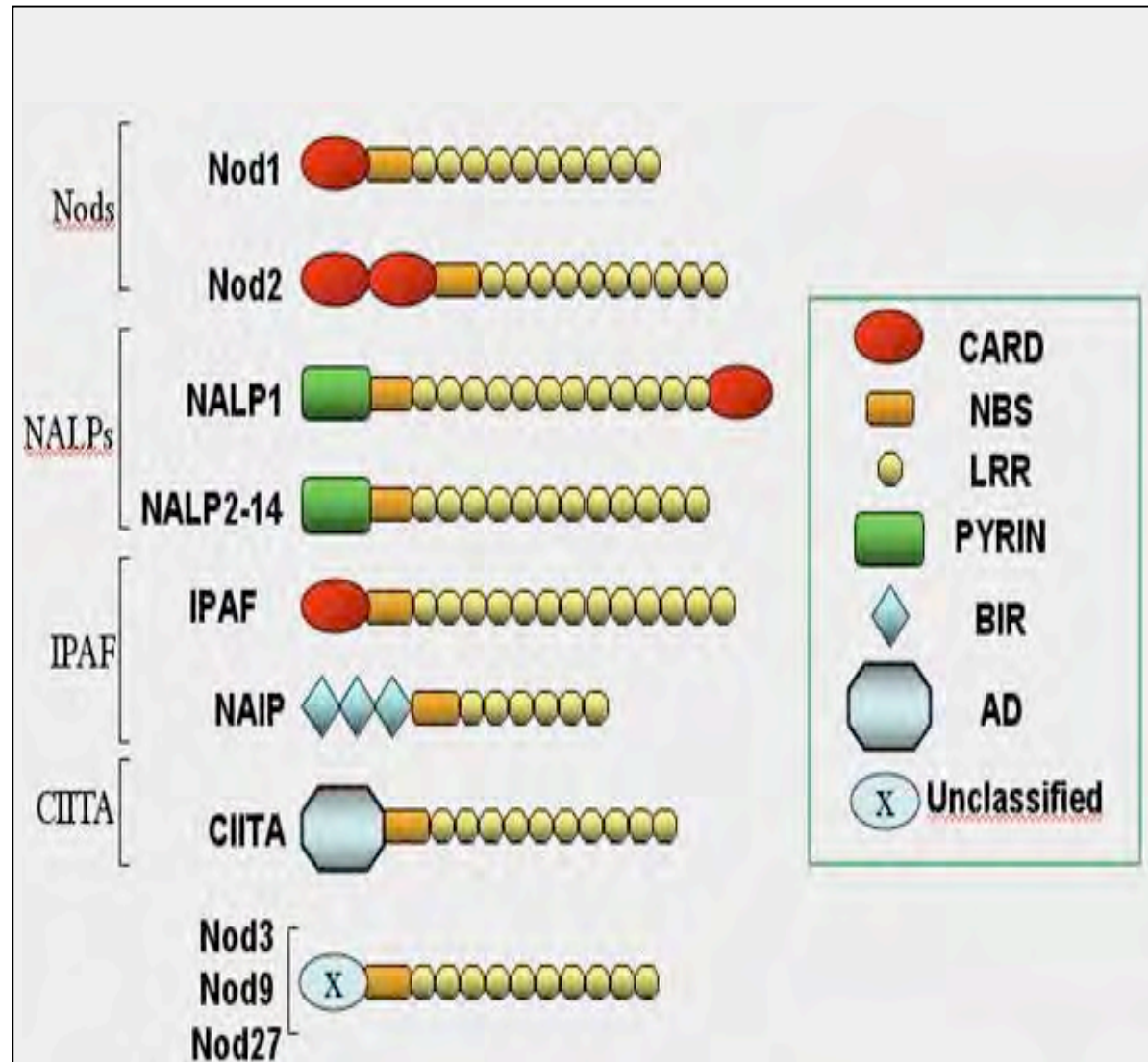
Asthme ? RCH ? CD ?

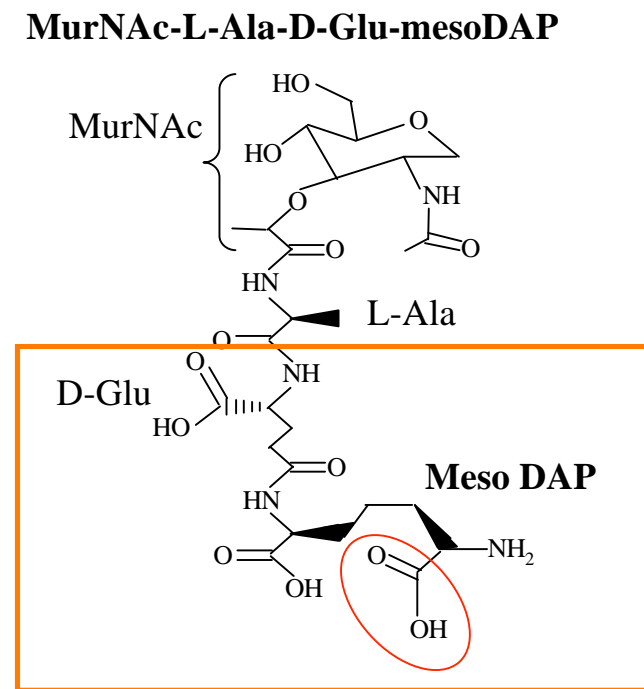
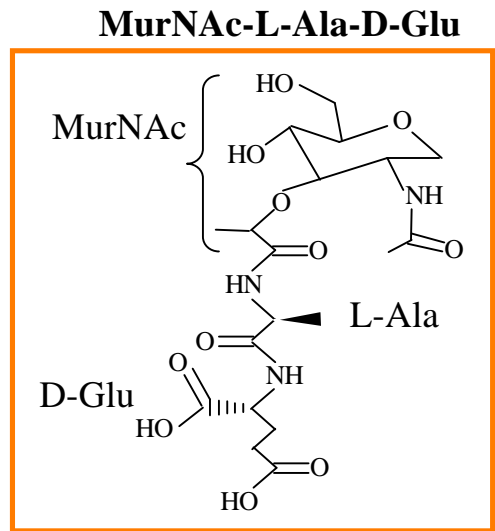
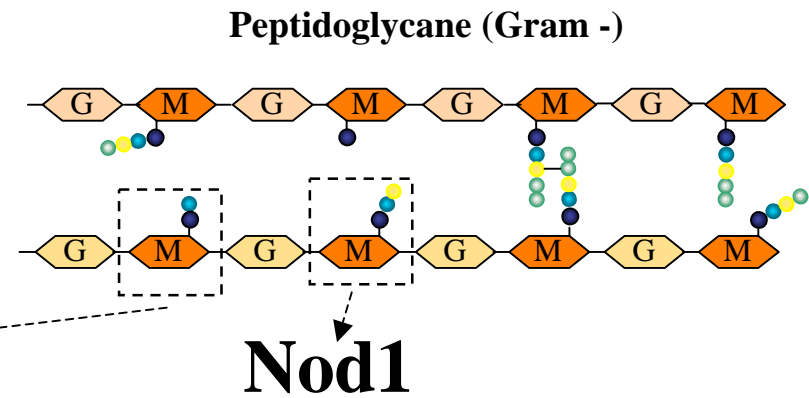
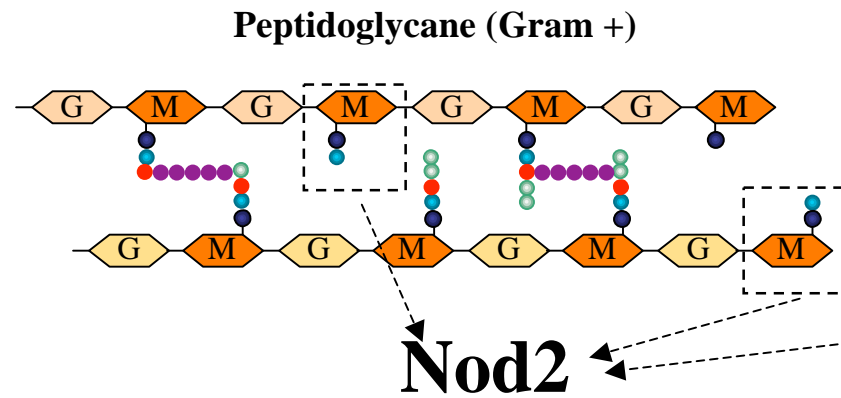
Mal. de Crohn (CD)
Synd. de Blau

NALP3/Pypaf1/CIAS1/Cryopyrin :
Synd. de Muckle-Wells
Cold stress syndrome
CINCA syndrome

Reconnaissance de la flagelline
indépendante de TLR-5
Susceptibilité à *Legionella* (souris)

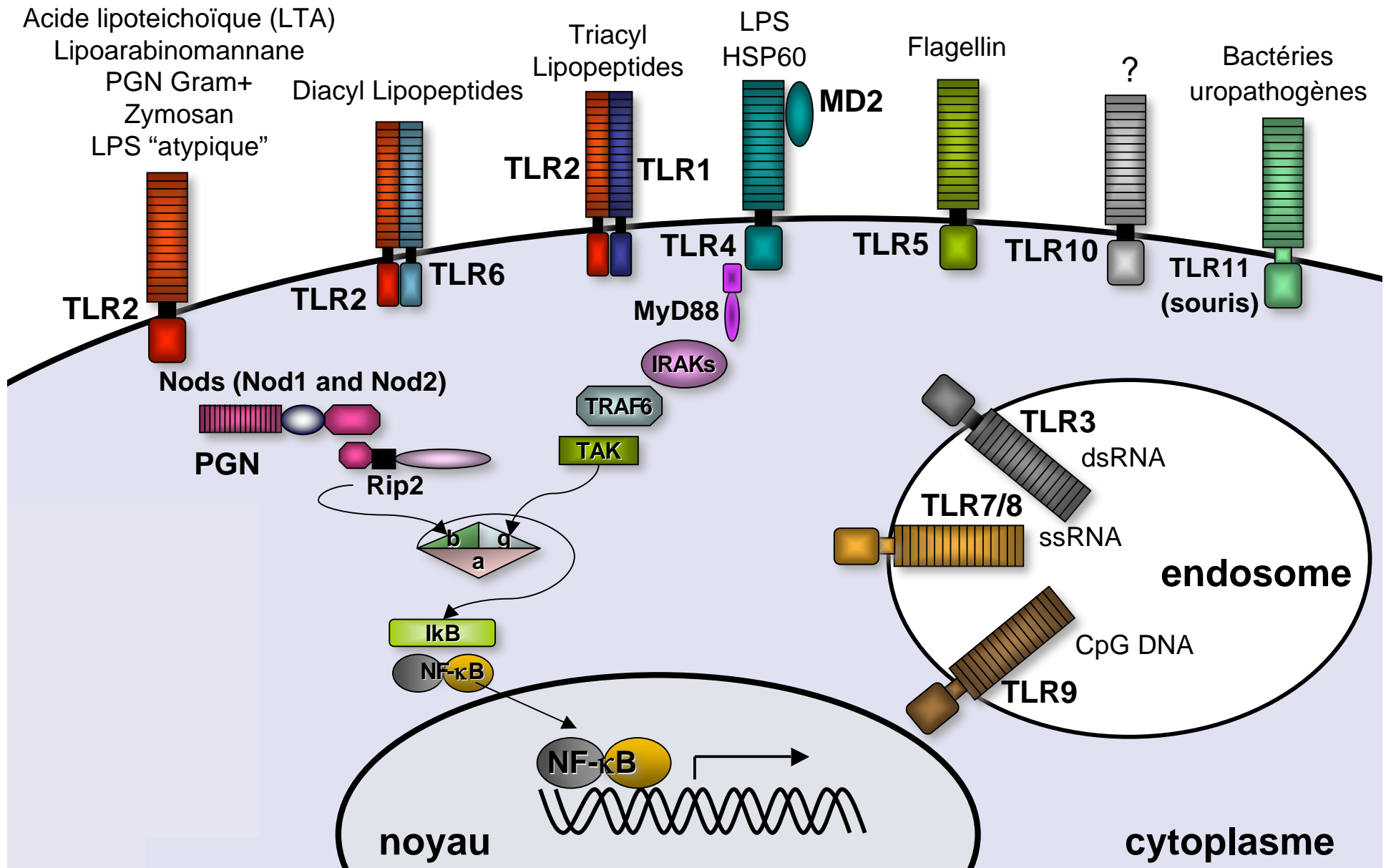
Syndrome des lymphocytes nus





Structure minimale

“PATHOGEN RECOGNITION RECEPTORS (PRRs)” & PAMPs

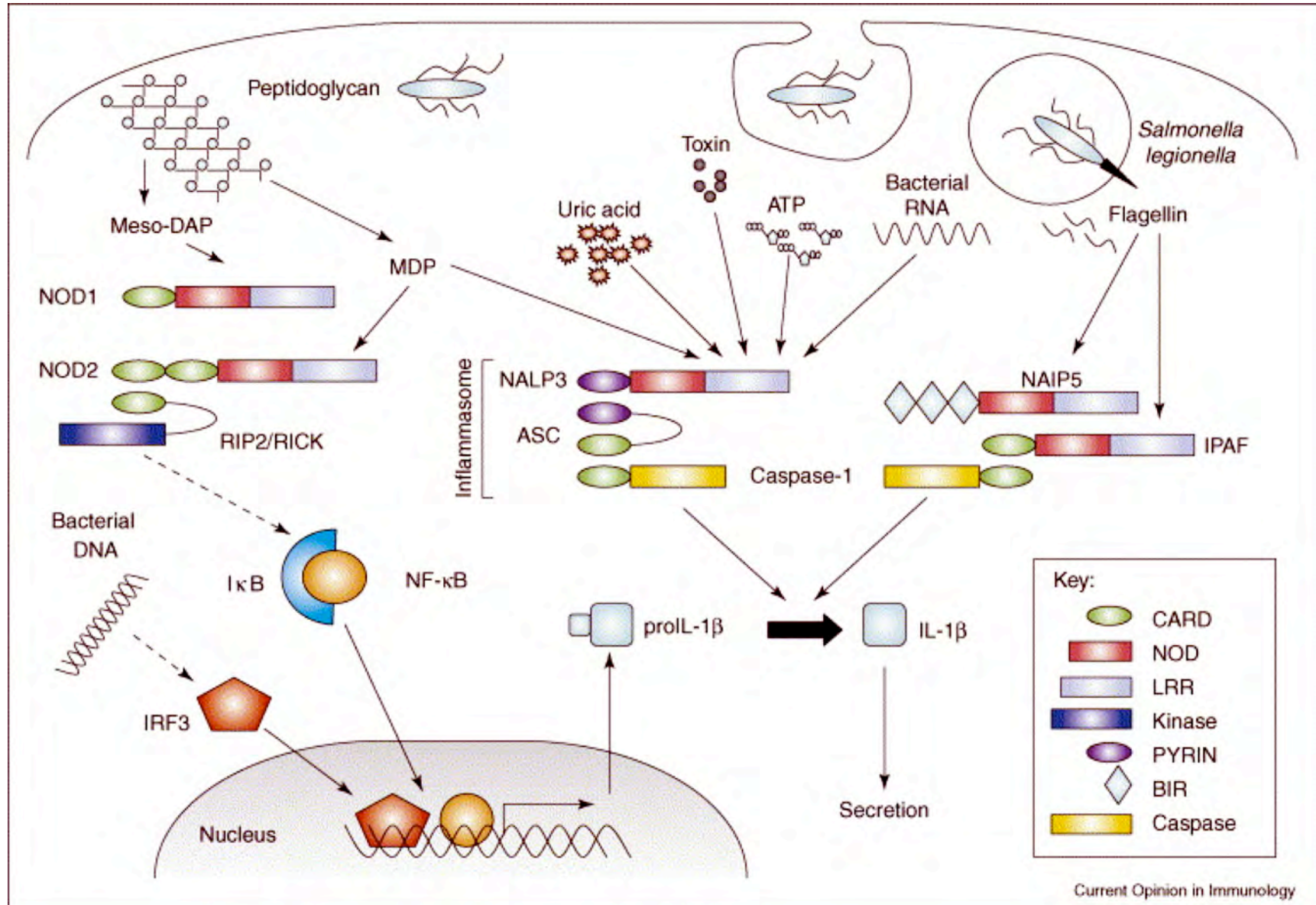


Il y a tout lieu de penser que ce paradigme est bon si considéré comme le mécanisme générique de reconnaissance des microbes.

Il pose problème si l'on considère **les bactéries** (ou les champignons) car commensaux comme pathogènes partagent (a priori) les mêmes PAMPs. Si l'on considère que le système immunitaire est largement en charge de discriminer entre commensaux qu'il faut tolérer et pathogènes qu'il faut éliminer, sur quelle base se fait la discrimination si les deux « portent les mêmes habits » ?

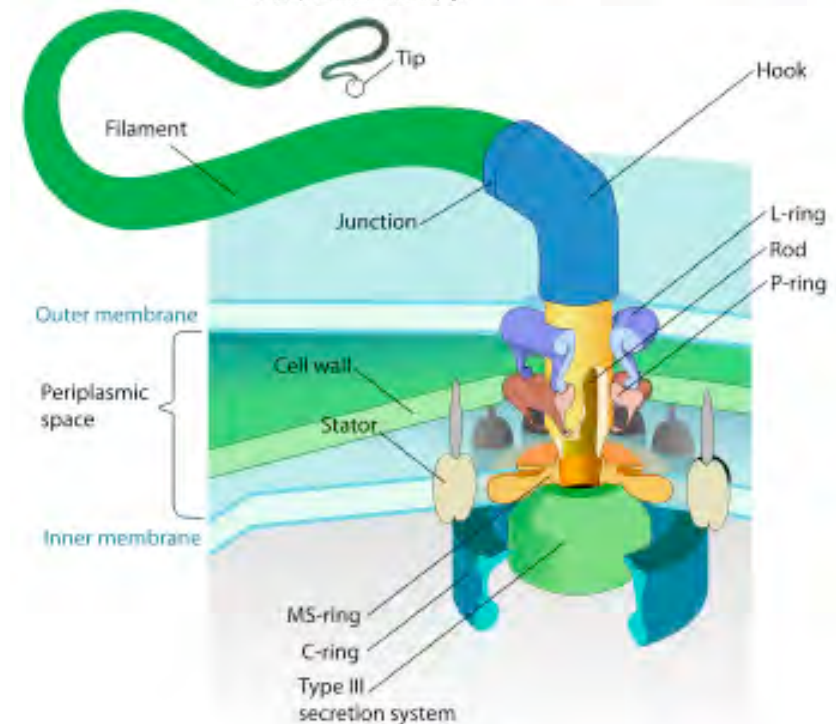
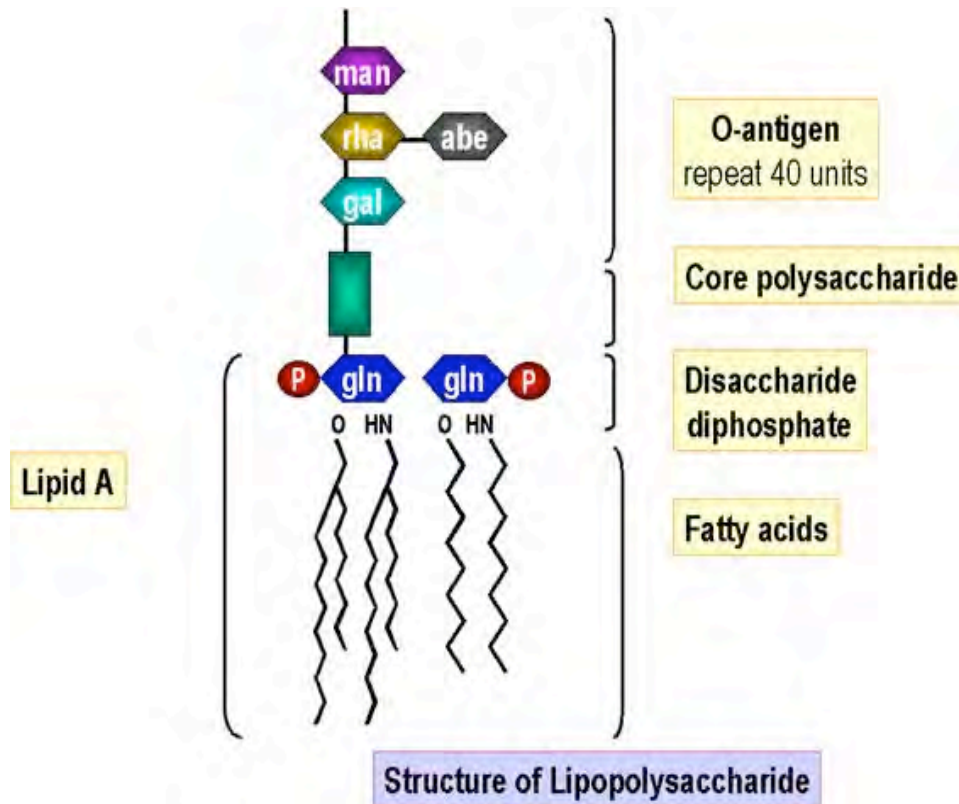
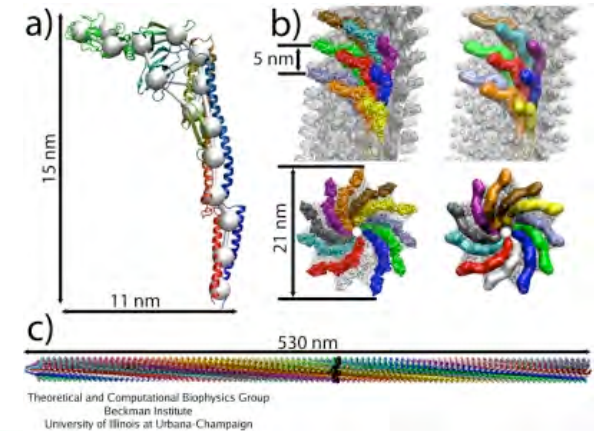


NLRs : « chiens de garde » intracellulaires:
 Introduction à un changement de paradigme: perception des PAMPs
 complétée par perception du danger

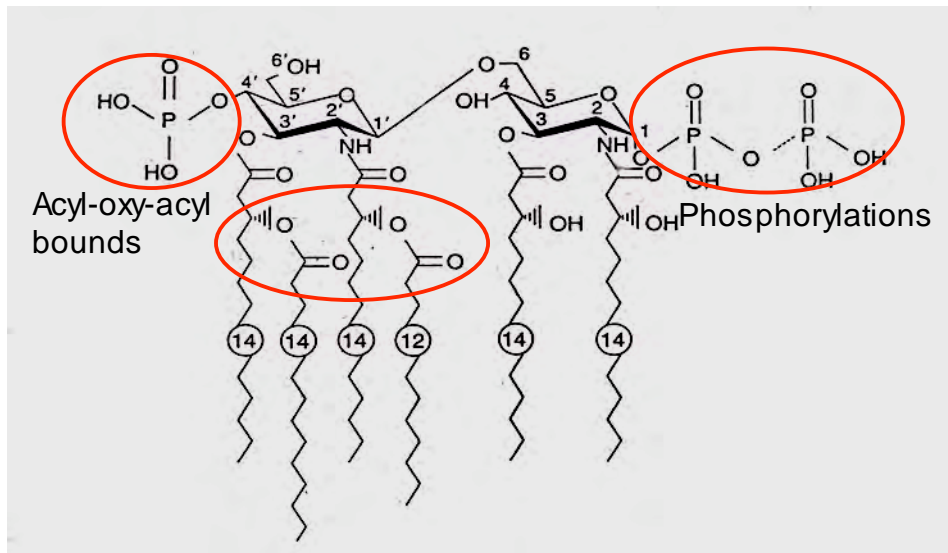


1^{ère} hypothèse: les PAMPs des pathogènes sont plus agonistes sur les PRR que les PAMPs (MAMPs) des commensaux (effet de furtivité ?)

Exemples: LPS, flagelline



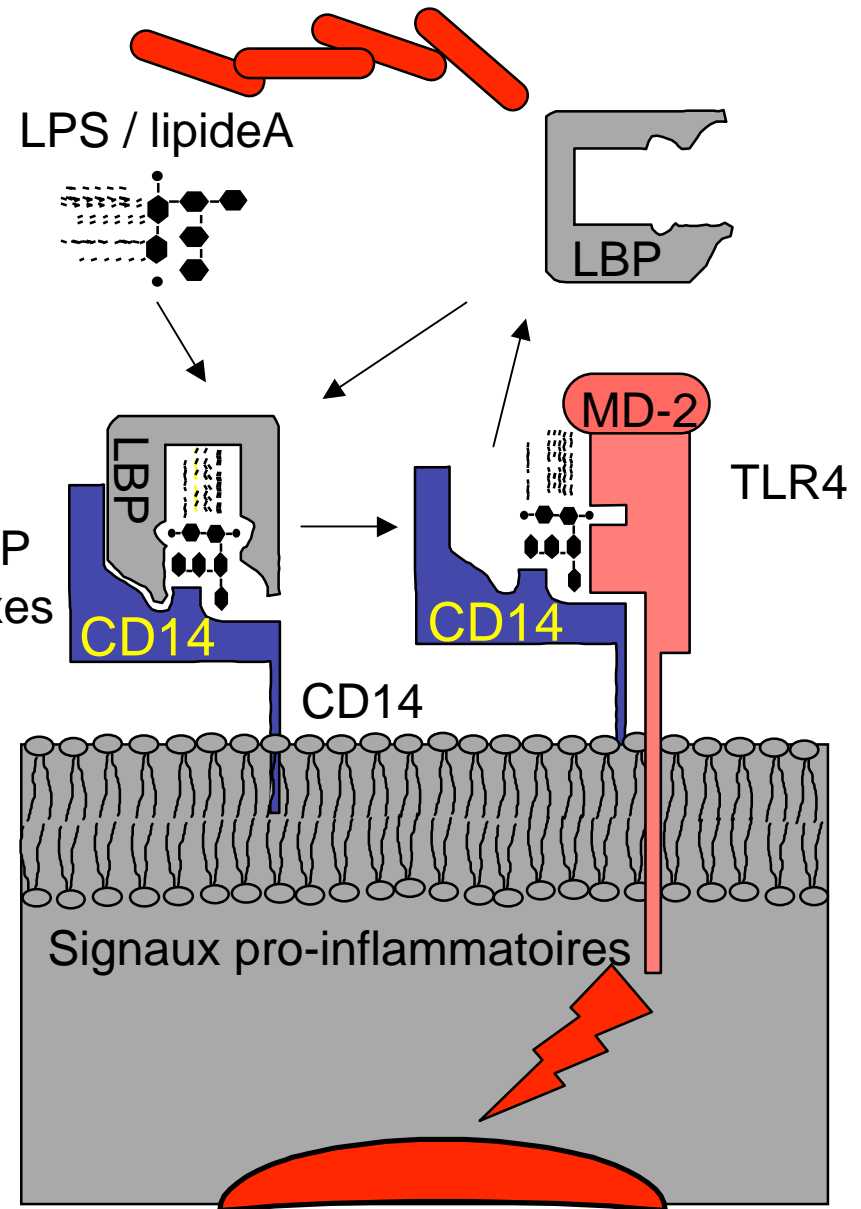
Reconnaissance du Lipopolysaccharide (LPS) par TLR4



Lipide A « classique » d'*E. coli*

○ Eléments assurant le niveau d'endotoxicité du lipide A

Le lipide A des BG- anaérobies commensaux (Bacteroidetes) sont tetra/pentacylés, donc faiblement agonistes, voire antagonistes sur TLR4, contrairement au lipide A hexacylé des BG - aéro-anaérobies commensaux et pathogènes (Munford RS & Varley AW. 2006. PLoS Path., 2:e67).

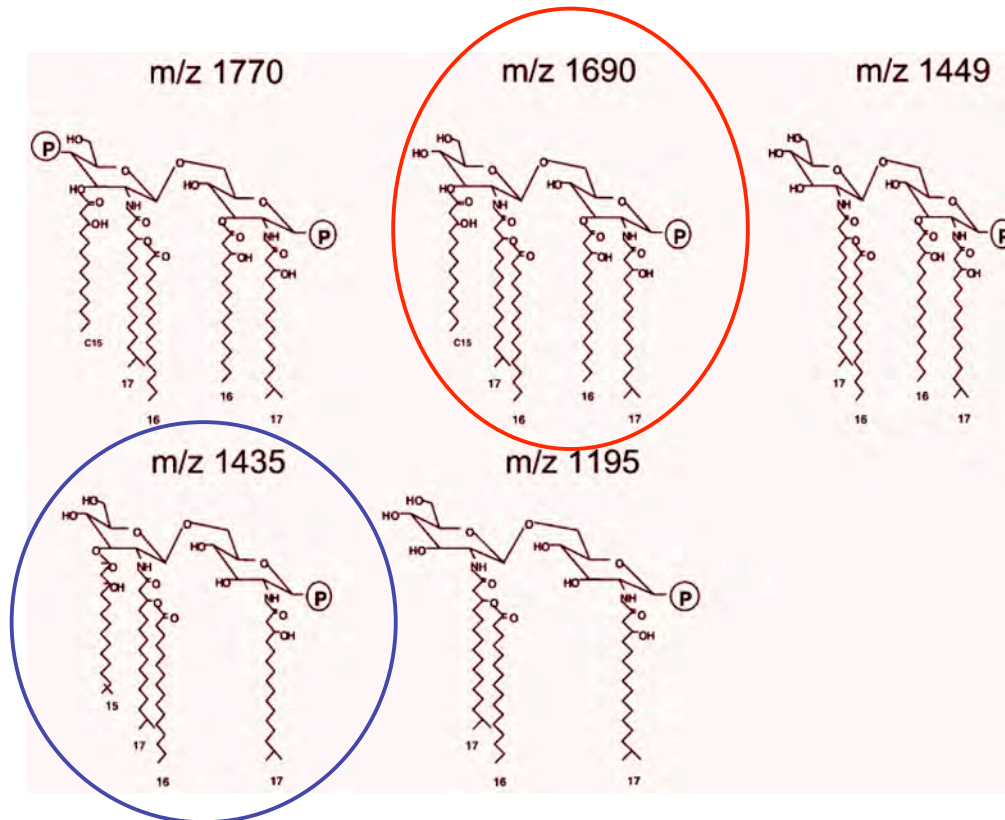


LPS-LBP complexes

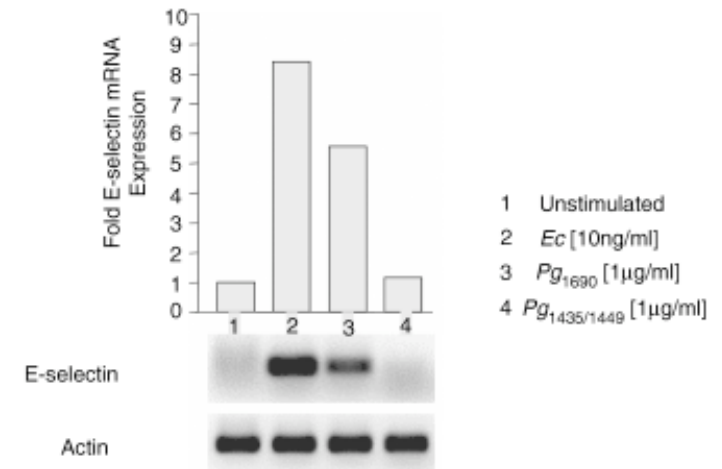
Porphyromonas gingivalis

Espèce Gram - retrouvée dans la flore associée à la parodontite alvéolo-dentaire.

Produit 12 variétés de lipides A (Reife RA et coll. 2006. Cell.Microbiol., 8:857-868)



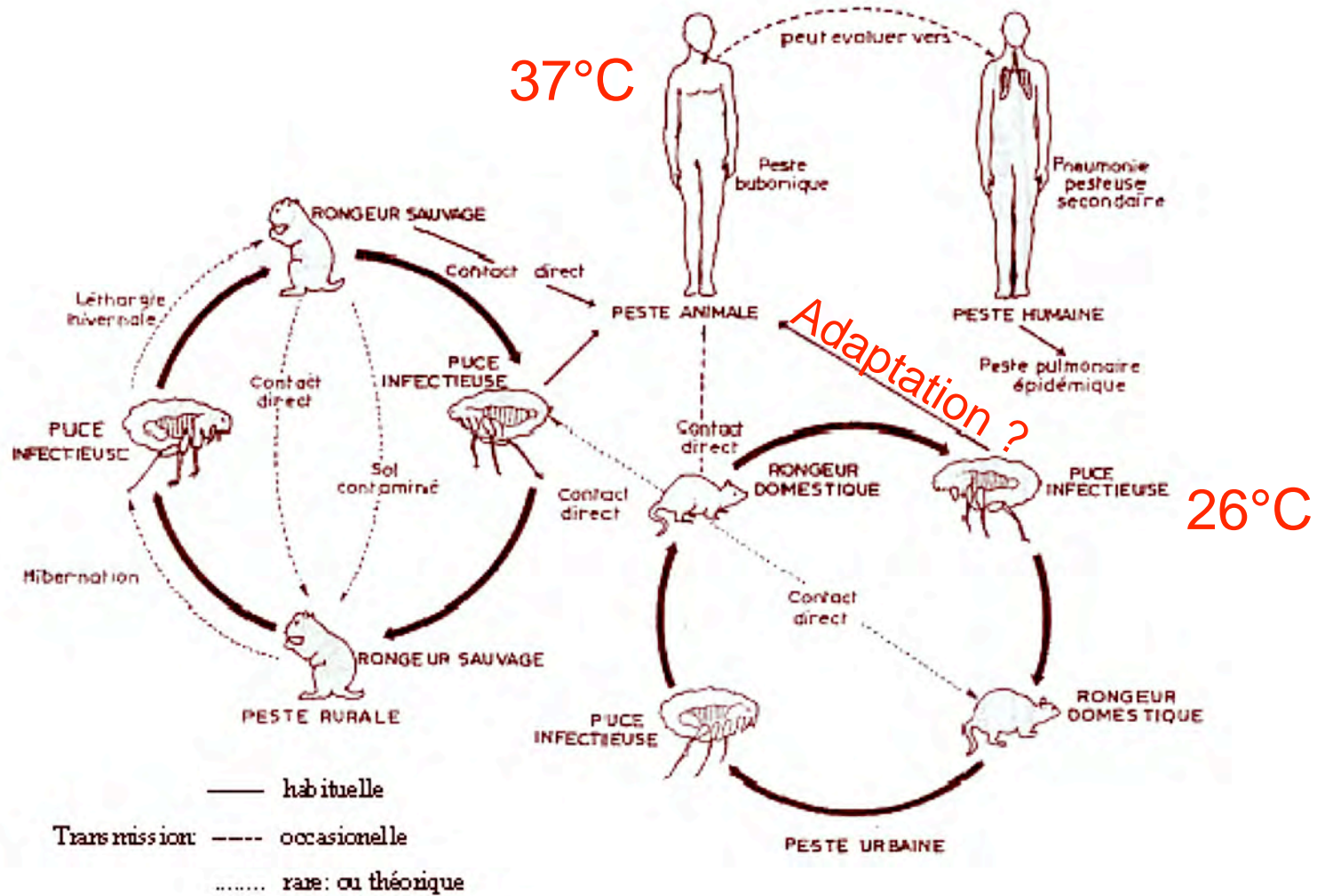
5 variétés principales (mass. spectro.) montrant des différences caractéristiques dans le degré d'acylation et de phosphorylation du résidu glucosamine



m/z 1435 (tetracylé) non seulement n'est pas agoniste pour TLR4 (mesuré par l'induction de l'expression de E-sélectine dans des cellules endothéliales), mais il antagonise la signalisation induite par m/z 1690 (pentacylé) fortement agoniste.

Possibilité de moduler la réponse immunitaire en modifiant le lipide A. Stratégie d'infection chronique ?

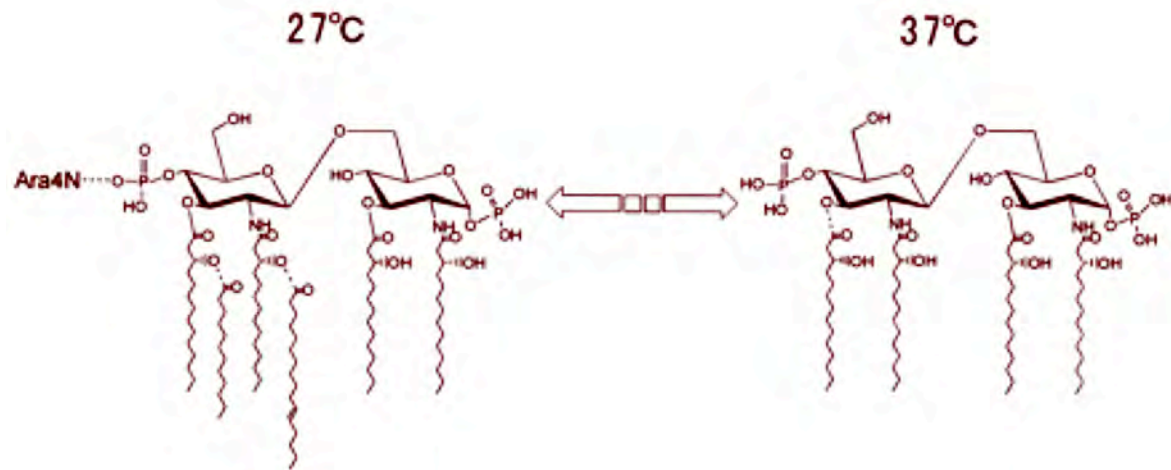
Cycle de transmission de *Yersinia pestis*



Certaines bactéries modifient leur LPS au cours de l'infection: *Yersinia pestis* (Kawahara K et coll. 2002. J.Bacteriol., 70:4092-4098)

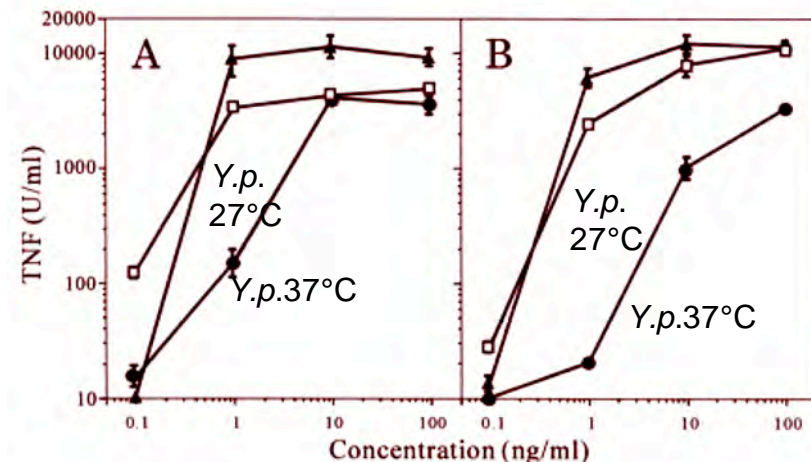


LPS/lipide A (SDS PAGE)
 1- *S. minnesota* wt (37°C)
 2 - *S. minnesota* Ra (37°C)
 3 - *S. minnesota* Re (37°C)
 4 - *Y. pestis* (27°C)
 5 - *Y. pestis* (37°C)

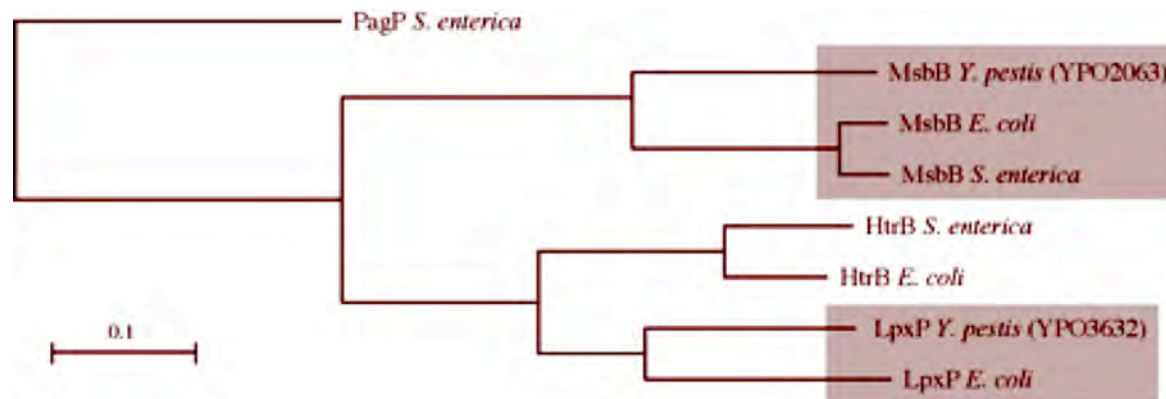


Modification structurale du lipide A de *Y. pestis* en fonction de la température de croissance.

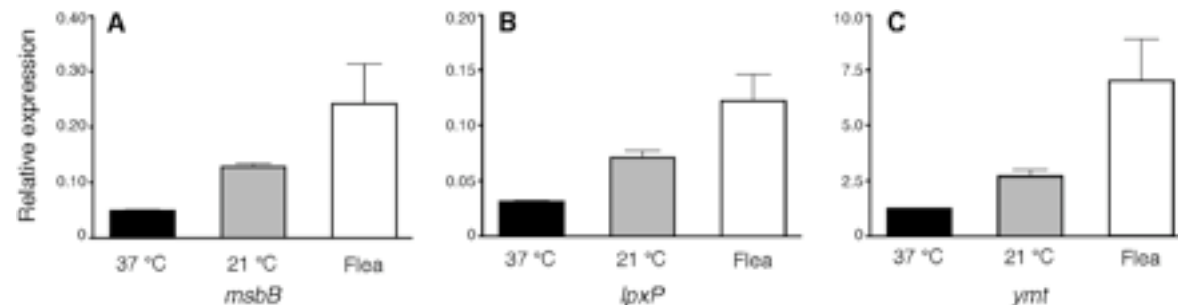
Production de $TNF\alpha$, RAW264.7 macrophages incubés en concentrations croissantes de LPS
 A: Lipide A synthétique, LPS de *Y. pestis* cultivé à 27°C et 37°C
 B: LPS de *Salmonella*, LPS de *Y. pestis* cultivé à 27°C et 37°C



Identification des gènes de *Y. pestis* responsables de l'hexacylation du lipide A à 27°C (Rebeil R et coll. 2006. J.Bacteriol., 188:1381-1388)



Expression relative de *msbB* (A), *lpxP* (B) et *ymt* (C) après culture à 37°C (noir), 27°C (gris), ou culture chez la puce (blanc)

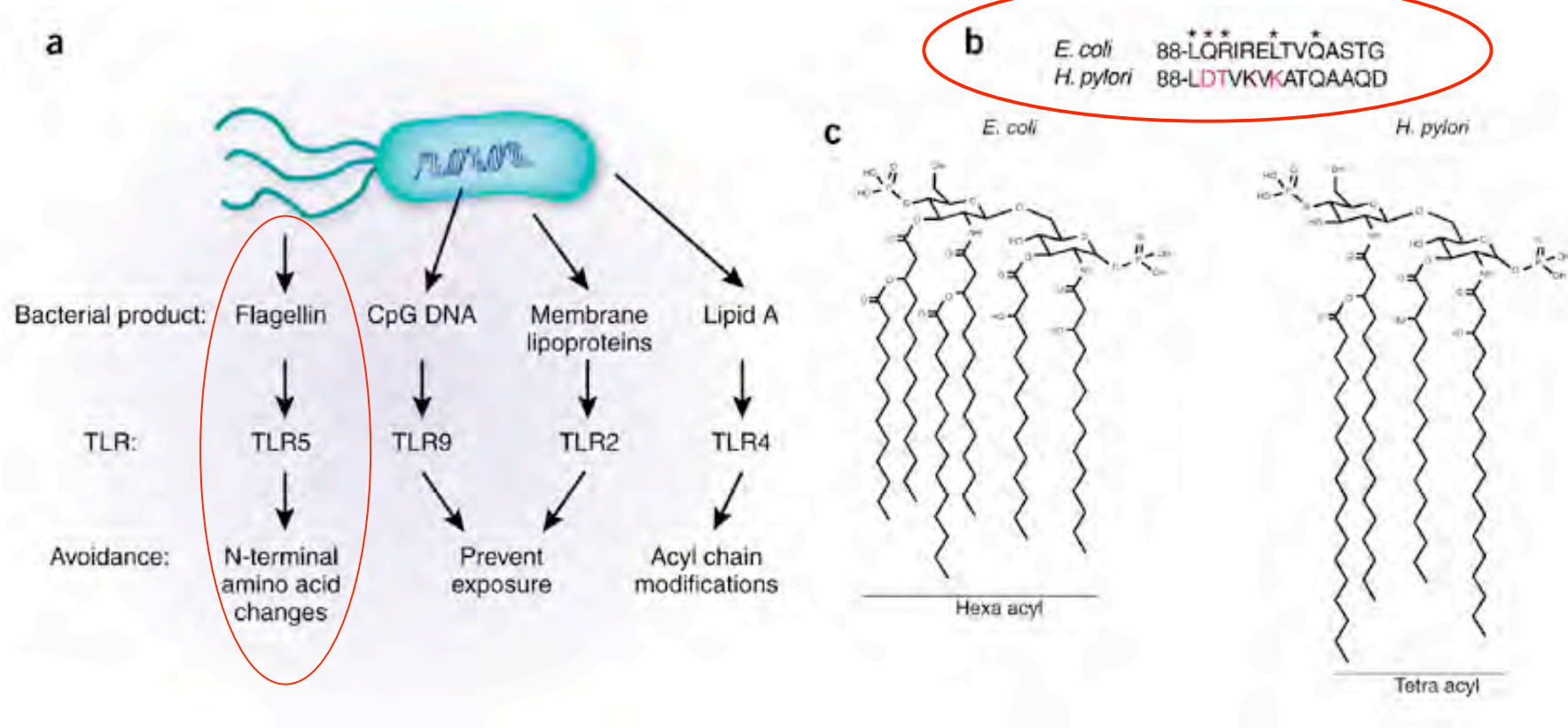


Construction d'un recombinant de *Y. pestis* exprimant constitutivement un lipide A hexacylé (Montminy SW et coll. 2006. Nat.Immunol., 7:1066-1073)

Afin d'analyser le rôle dans la virulence de la déacylation du lipide A à 37°C, un recombinant de *Y. pestis* a été construit dans lequel le gène *lpxL* a été placé sous le contrôle d'un promoteur constitutif permettant la synthèse d'un lipide A hexacylé à 37°C. Cette souche recombinante est avirulente dans le modèle d'injection sous cutanée chez la souris, même à fort inoculum. La résistance à cette souche recombinante *lpxL* (const.) est TLR4/MD2/CD14/MyD88 dépendante. Les souris infectées par cette souche sont totalement résistantes au challenge par une souche wt. Ce trait génétique prédomine donc sur tous les autres facteurs de virulence de *Y. pestis*.

Les mécanismes d'évasions ne sont pas spécifiques au LPS
 (Roy CR & Mocarsky ES. 2007. Nat.Immunol., 8:1179-1187)

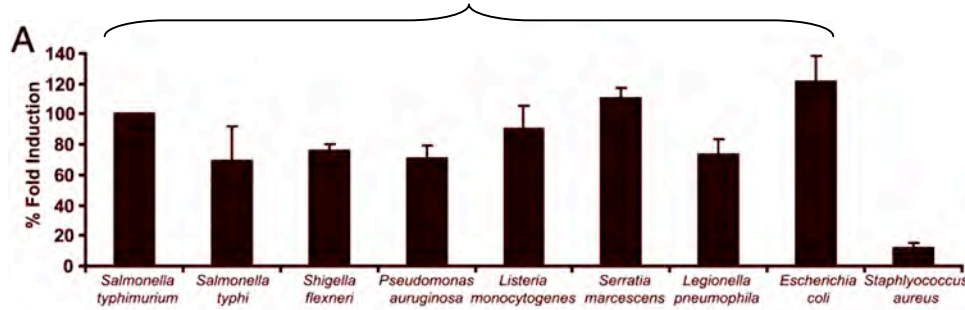
Flagellin



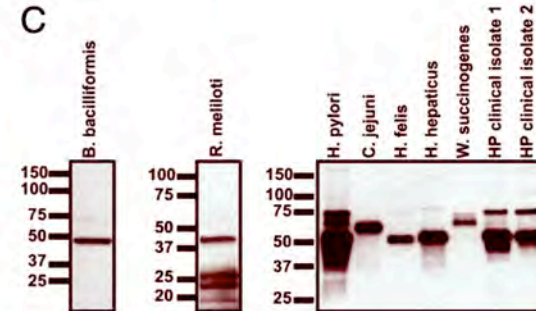
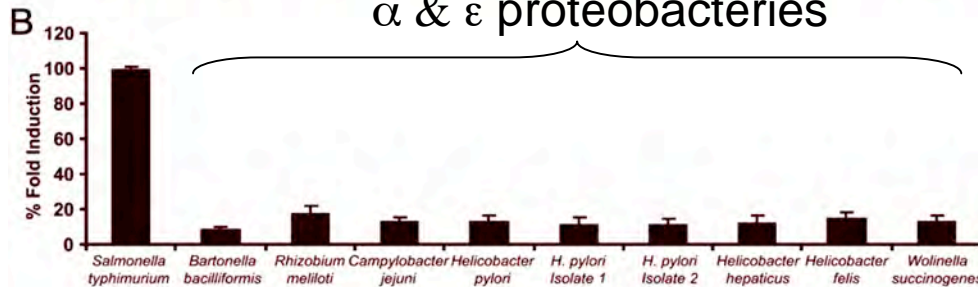
Mécanismes d'évasion de TLR5 par les bactéries flagellées

(Andersen-Nissen E et coll. 2005. PNAS,28:9247-9252)

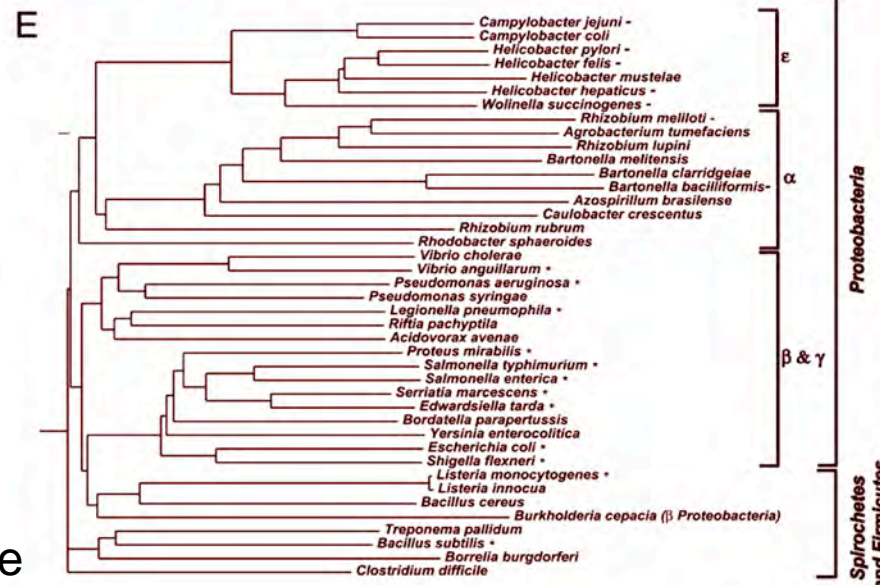
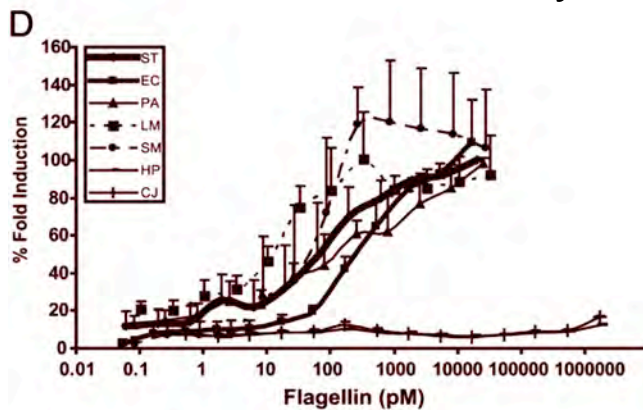
β & γ protéobactéries



α & ϵ protéobactéries



NF- κ B luciferase assay



Cellules CHO exprimant stablement TLR5 et un reporteur NF- κ B luciférase

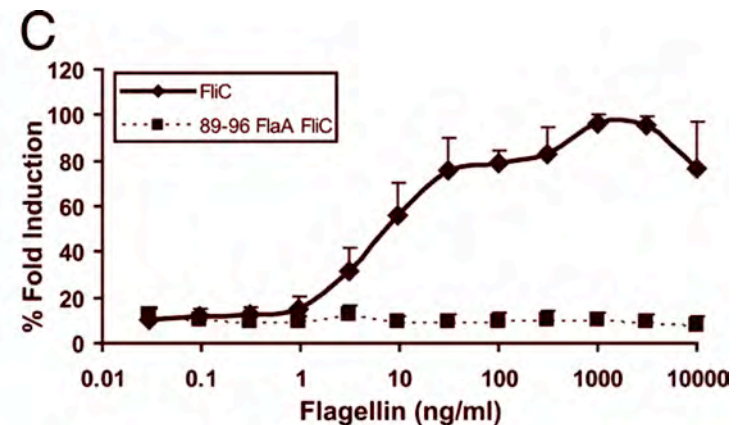
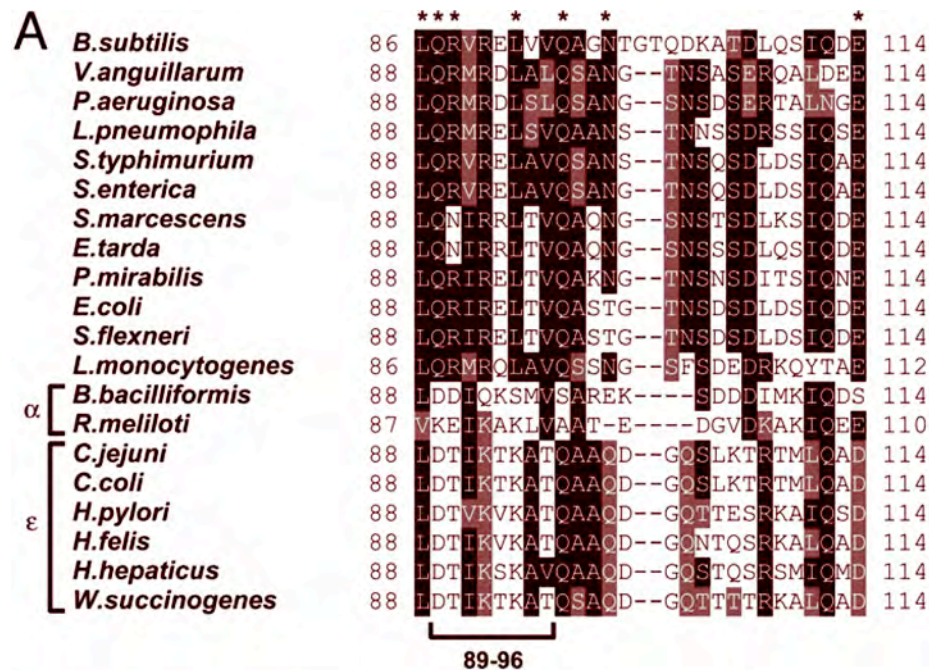
Les acides aminés 89-96 sont requis pour l'activation de TLR5.

A - Alignement des séquences des flagellines des espèces activant TLR5 avec celles des α et ϵ protéobactéries qui n'activent pas.

B - Rôle de la séquence 89-96 dans l'activation de TLR5: perte de l'induction par l'hybride FliC-89-96 FlaA.

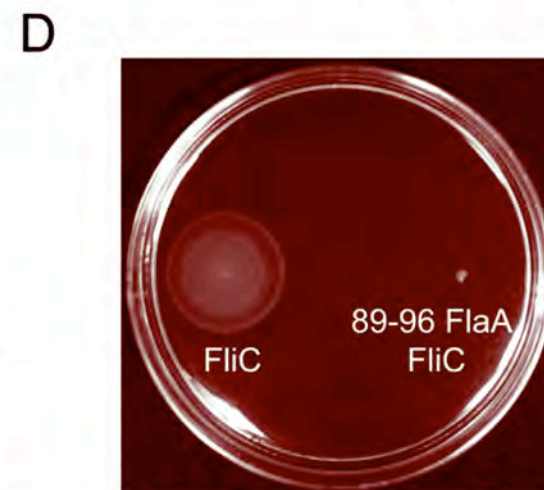
C - Idem: courbe dose-réponse.

D - Perte de motilité d'un mutant FliC- de *Salmonella* complémenté par FliC/89-96 FlaA !

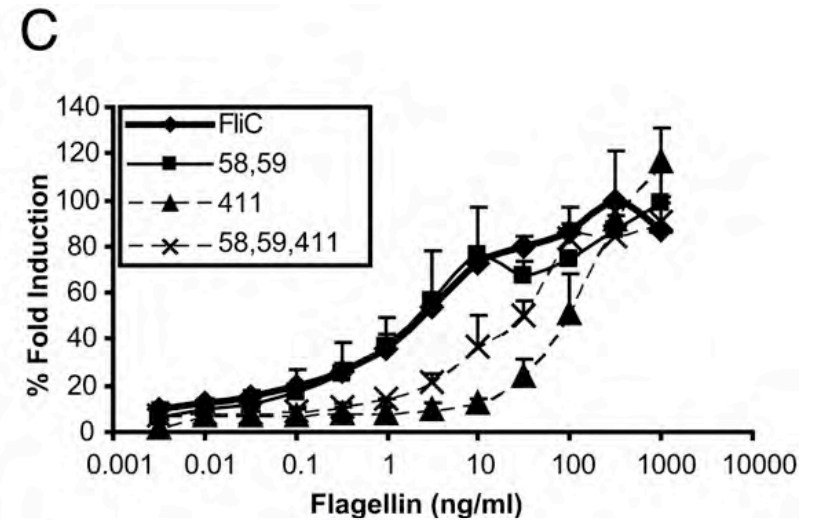
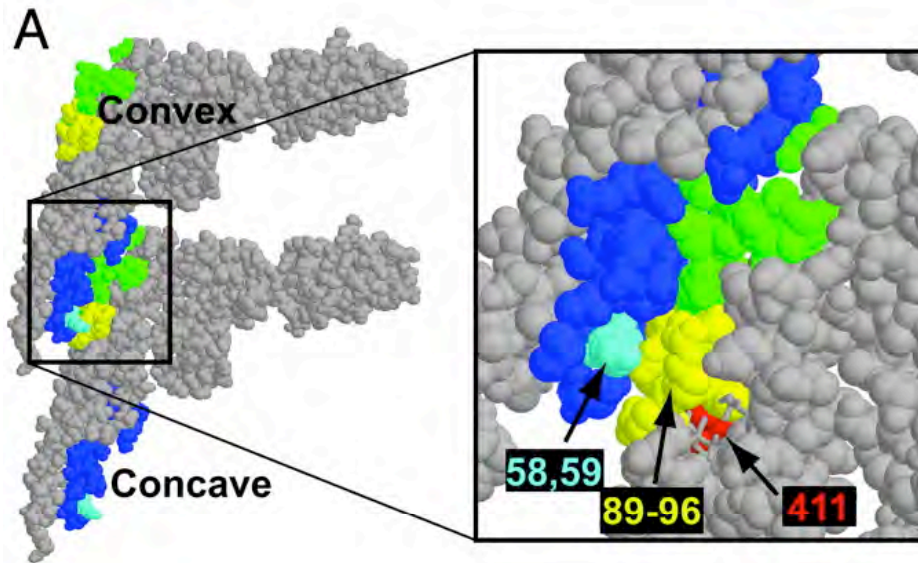


B

| ND0-D1 | D2-D3 | CD0-D1 | Chimera | EC ₅₀ (ng/ml) | Motility |
|--------|-------|---------|-----------------|--------------------------|----------|
| 1 | 176 | 402 495 | FliC | 12 +/- 6 | + |
| 1 | 176 | 402 495 | 89-96 FlaA FliC | ND | - |

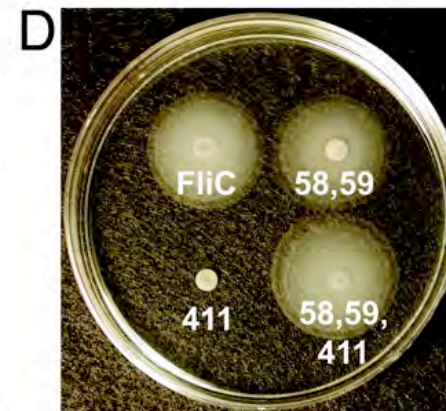


Les ϵ Proteobactéries possèdent des modifications compensatrices permettant au processus de polymérisation de se développer malgré les modifications de séquences en 89-96 qui bloquent la signalisation TLR5-dépendante, mais altèrent parallèlement les capacités de polymérisation. Superbe exemple d'évolution sous pression sélective.



B

| Mutant | EC ₅₀ (ng/ml) | Motility |
|-------------------|--------------------------|----------|
| FliC | 3.2 +/- 0.6 | + |
| I411A | 97 +/- 10 | - |
| K58S, G59S | 4.7 +/- 6 | + |
| K58S, G59S, I411A | 30 +/- 10 | + |



L'ensemble de ces travaux tend à démontrer que les « grands pathogènes » sont reconnus via leurs PAMPs par les PRRs, en particulier les TLRs, mais...

Sous pression sélective, ces PAMPs (lipide A, flagelline) peuvent subir une profonde diminution de leur activité agoniste.

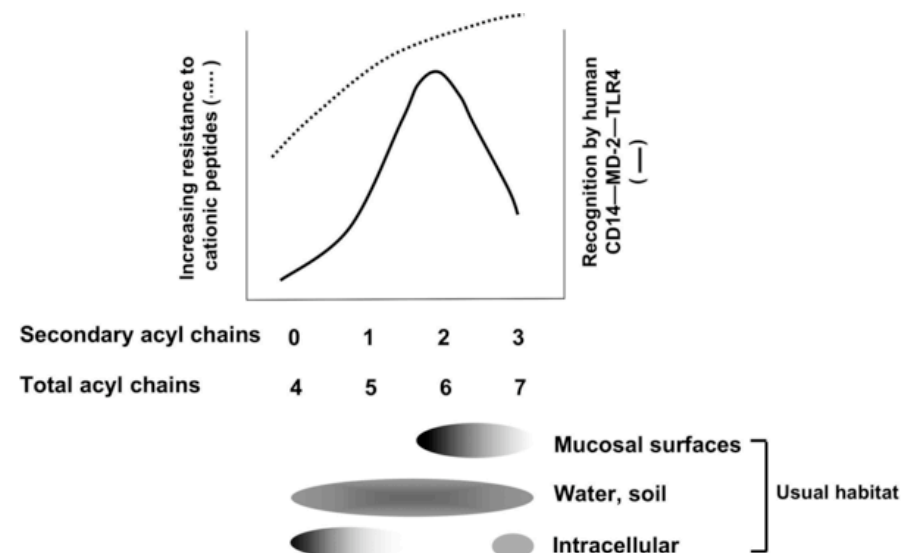
- Soit constitutivement (flagelline *d'H pylori*)
- Soit de manière inductible (Lipide A de *Y.pestis*)

Des commensaux, tels les entérobactéries de la flore intestinale, ont des PAMPs agonistes des PRR (Munford RS & Varley AW. 2006. PLoS Pathogens, 2:e67)

L'hypothèse de départ: PAMPs des commensaux non agonistes (voire antagonistes), PAMPs des pathogènes agonistes des PRRs vaut d'être sérieusement nuancée.

La réalité est plus complexe.
Nécessité de préciser le paradigme...

Structure du lipide A, habitat bactérien et reconnaissance par l'hôte



Peut-on néanmoins continuer à considérer que les PRRs *bona fide* sont capables de discriminer entre commensaux et pathogènes.

La théorie du « code à barre » (Aderem A. 2003.J.Infect.Dis., 187 Suppl.2:S340-S345)

Combinatoire des PAMPs



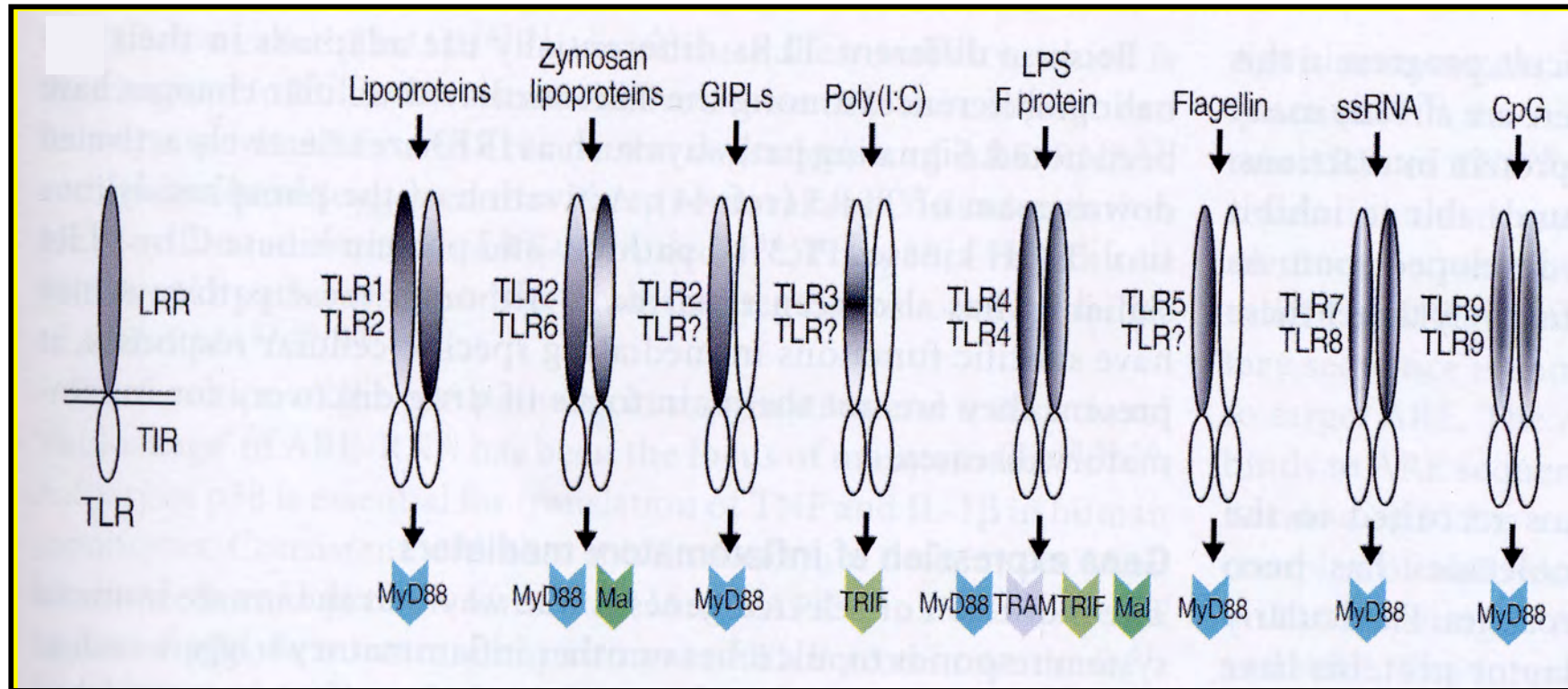
Combinatoire des TLRs



La reconnaissance des pathogènes n'est pas univoque (TLR4-LPS, par exemple), c'est la reconnaissance mutuelle de deux combinatoires: plusieurs TLRs (y compris la formation d'hétérodimères (ex.: TLR1/TLR6) reconnaissant une combinatoire de PAMPs d'activité antagoniste différente. Le bilan va faire « émerger » les pathogènes car la résultante des vecteurs est positive en terme d'antagonisme et « couler » les commensaux car la résultante des vecteurs est négative.

Cette théorie combinatoire (qui ressemble dans une certaine mesure à la diversité observée dans la réponse adaptative, bien qu'apportée par les cellules geminales) peut être amenée à un niveau encore plus complexe si l'on considère que l'intégration différentielle des signaux suscités est elle-même source de différenciation de réponse de la cellule hôte, donc de capacité discriminatoire supplémentaire entre les microorganismes.

Un code combinatoire des TLRs ?



... incluant aussi NLRs et C-lectines ?

2^{ème} hypothèse:

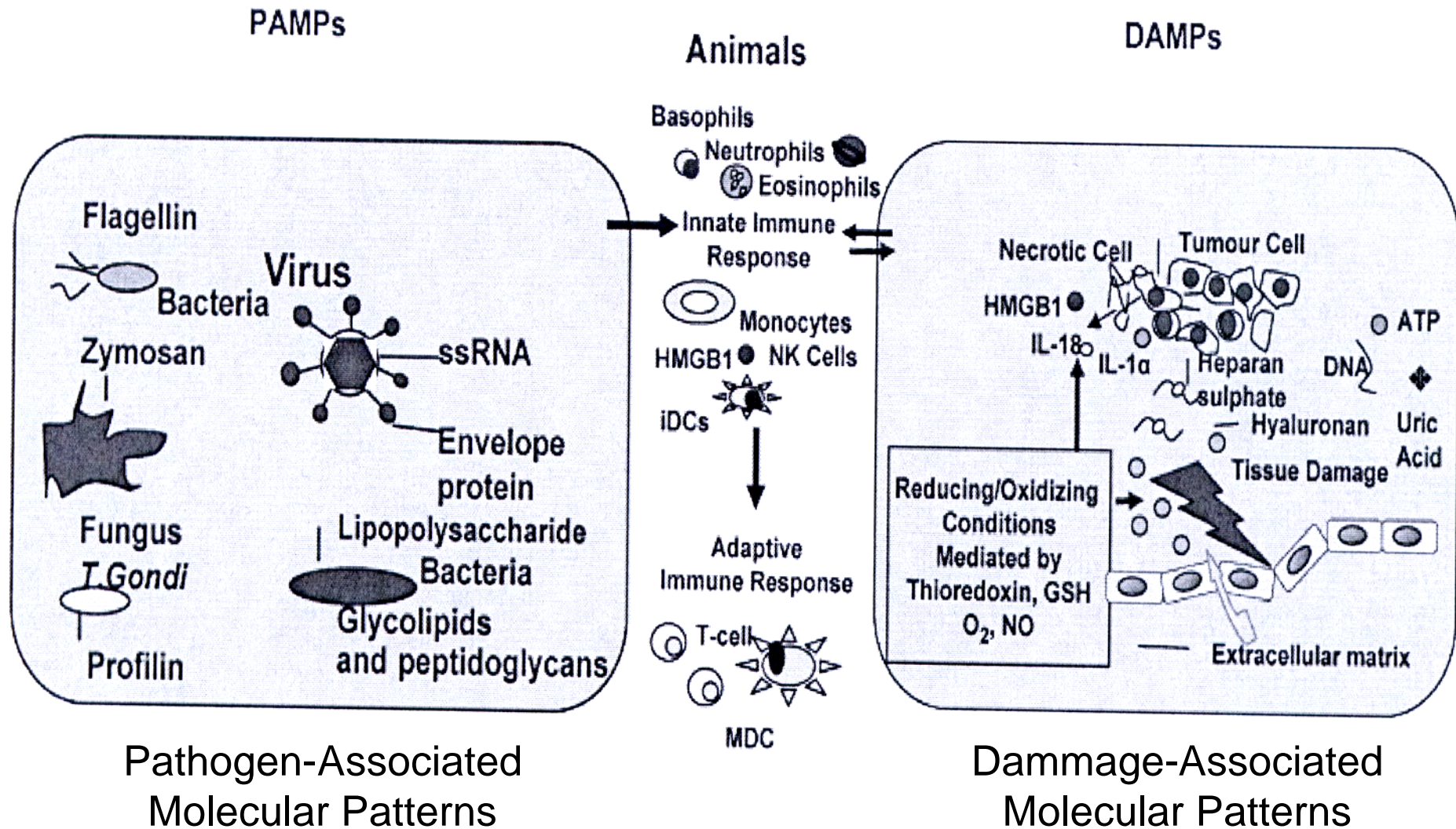
Sur ce fond de reconnaissance de molécules ou de combinatoire de molécules (PAMPs) signalant via les PRR qu'il semble difficile de considérer comme le fond de la discrimination commensaux/pathogènes, il est un aspect jusqu'à présent mal intégré dans le schéma:

les signaux associés à l'expression pathogénicité elle même.

La pathogénicité peut en effet fortement affecter les signaux de reconnaissance en engageant ce qui est plus généralement reconnu comme **les signaux de danger.**

Deux sortes:

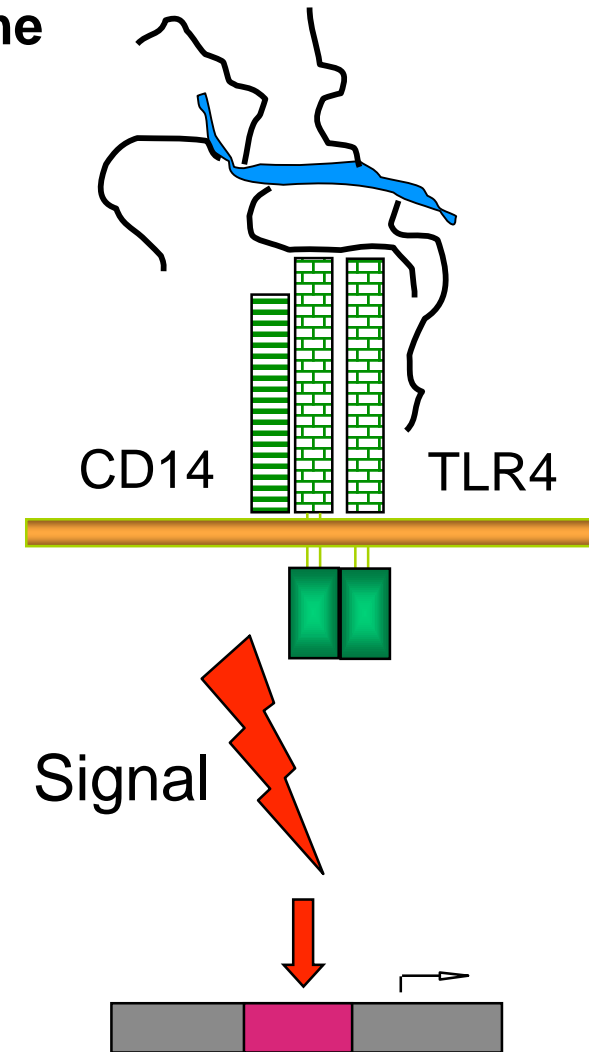
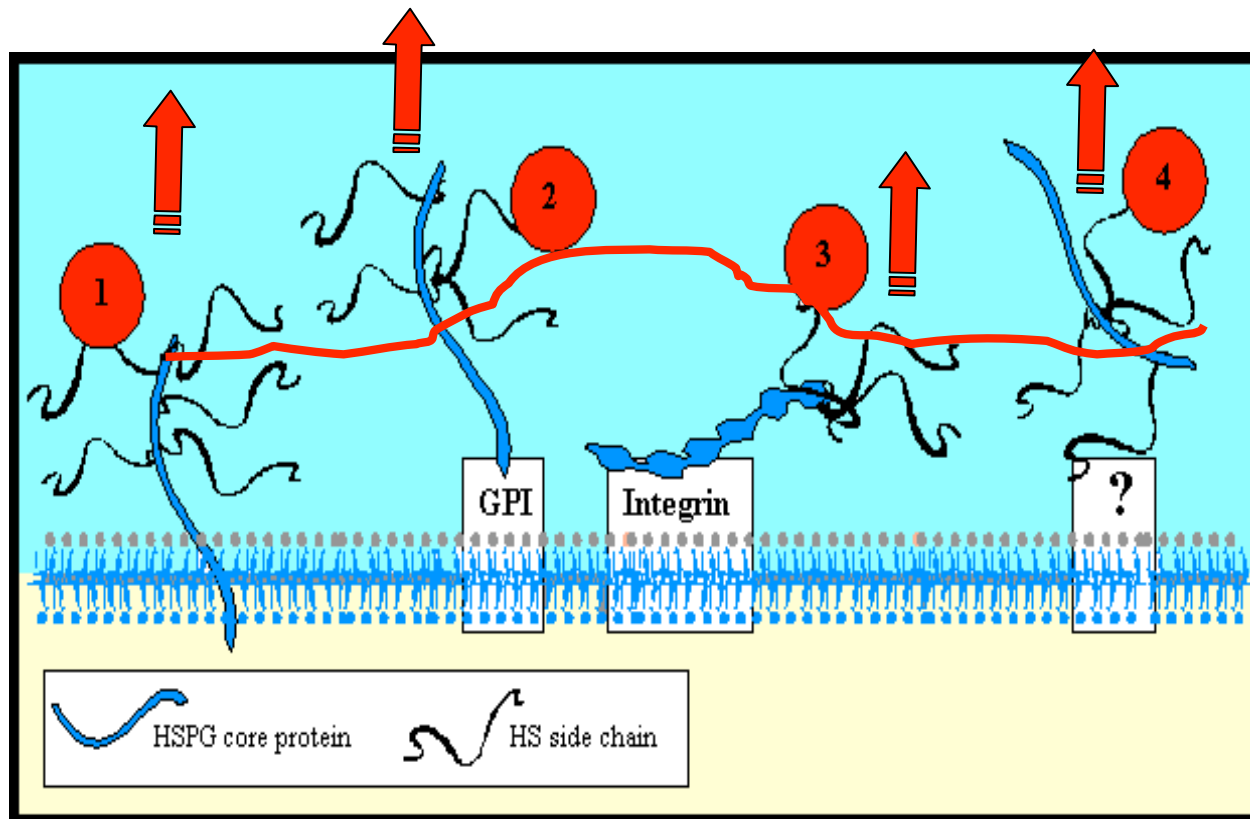
- **Les DAMPs = facteurs « toxiques » de l'hôte libérés pas les lésions secondaires à l'infection et eux même reconnus par des récepteurs (certains pouvant être des TLR comme héparane sulfates et TLR4)**
- **Les signaux émis en réponse aux structures cellulaires/organelles, voire voies de signalisation directement engagés par les pathogènes.**



« Théorie du danger » de Poly Matzinger...

Héparane Sulfates: substituts endogènes au 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.

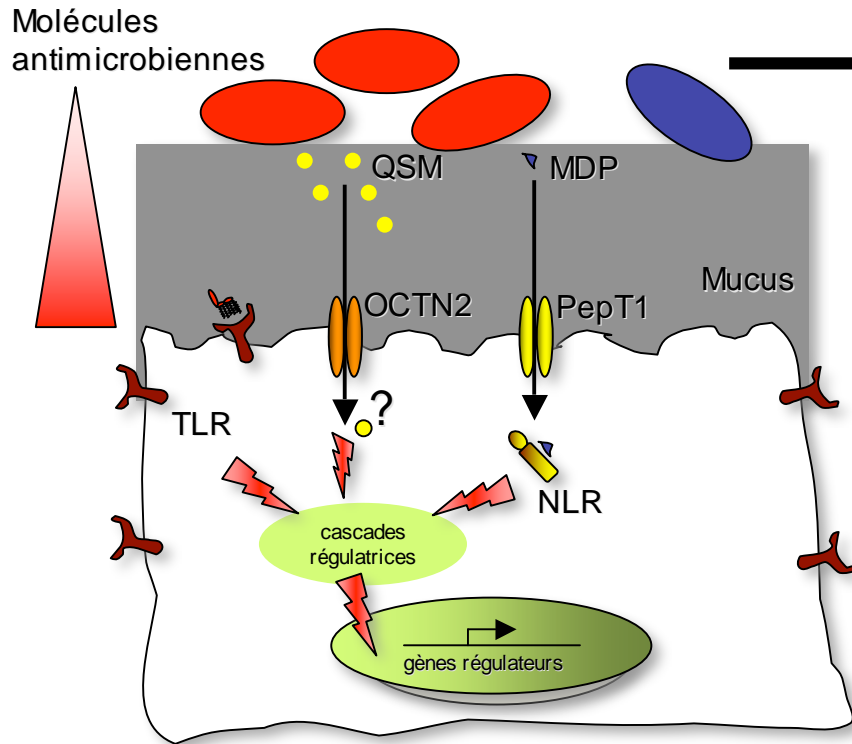


COMMENSAUX

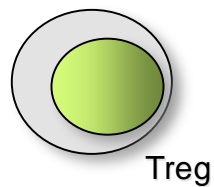
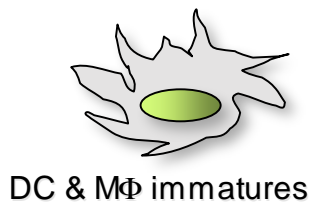
Absence (limitation) de facteurs de virulence
 PAMPs moins agonistes (généralisable ?)
 Séquestration, faible activité des TLRs
 Vie en biofilms sur la surface du mucus
 Diffusion contrôlée et échantillonnage des PAMPs
 et de molécules procaryotes de signalisation

PATHOGENES

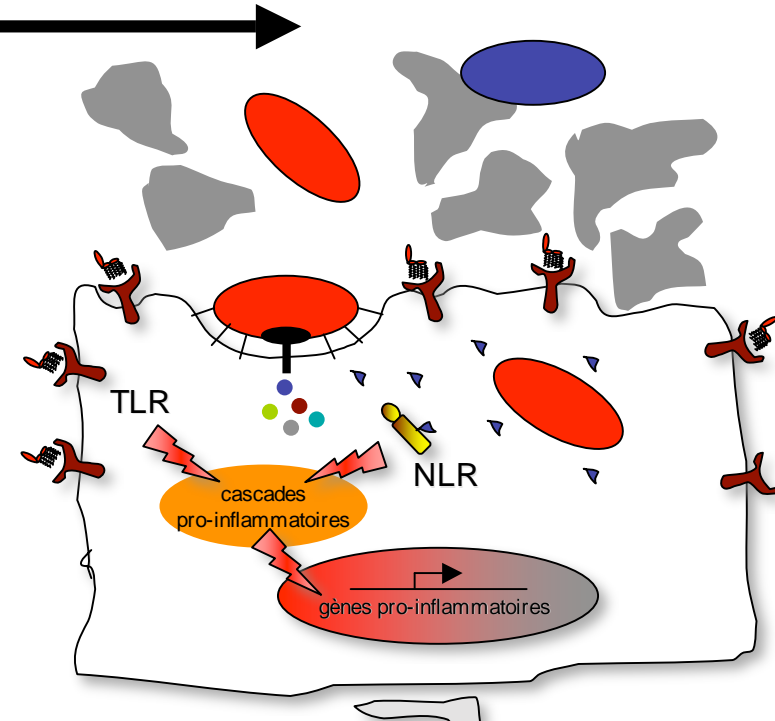
Mucinasés
 Adhésines
 Invasines
 Systèmes de sécrétion Type III/IV
 Hémolysines
 Engagement massif des TLRs
 Engagement massif des NLRs



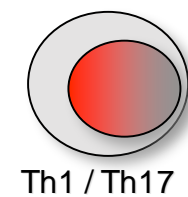
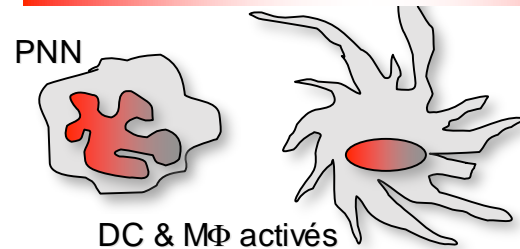
Cytokines, chimiokines régulatrices



?



Cytokines, chimiokines pro-inflammatoires



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

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).

Molécules candidates pour alerter sur la croissance bactérienne:

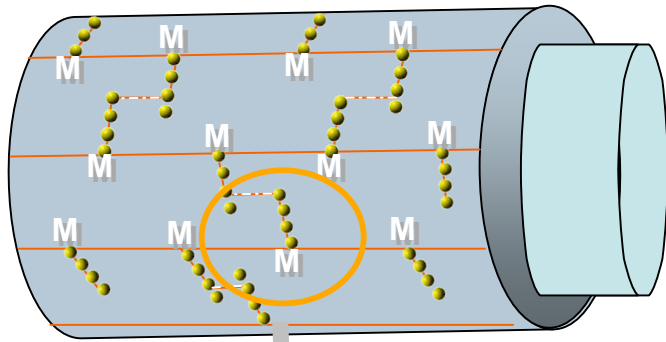
- Fragments de recyclage du PGN (muramyl tripeptide/tétrapeptide)
- Autoinducteurs du Quorum Sensing (homosérine lactones)
- Pyrophosphates bactériens (HMB-PP, Hintz M et coll. 2001. FEBS Lett., 509:317-322)
- c-di-GMP (Karaolis DK et coll. 2007. J.Immunol., 178:2171-2181)

Molécules candidates pour alerter sur la mort bactérienne:

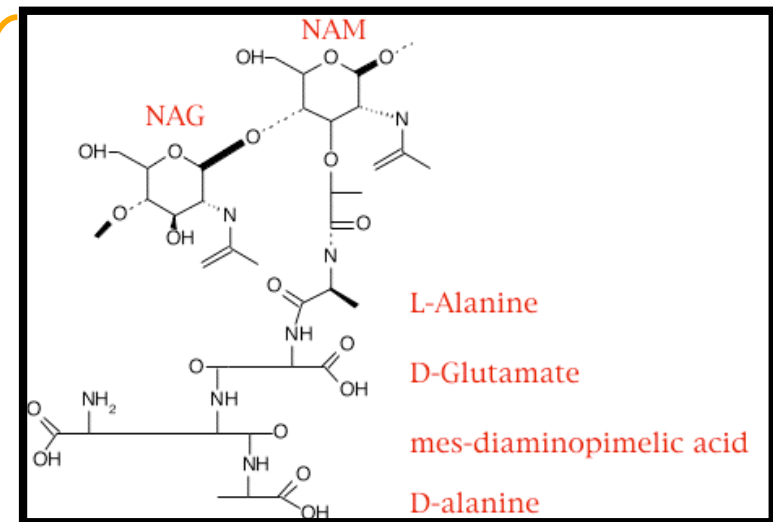
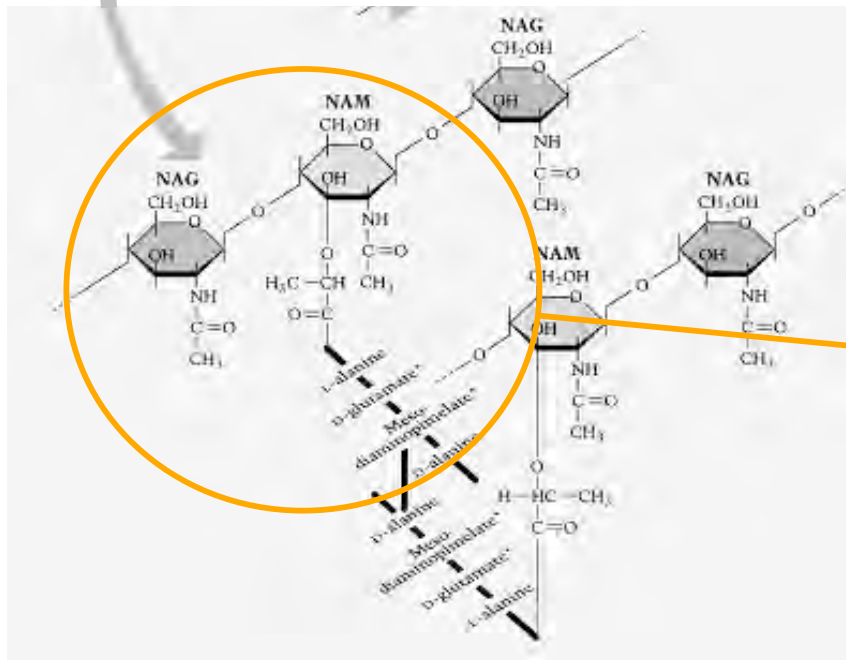
Grosses macromolécules libérées lors de la lyse bactérienne
(ADN et ARN)

Organisation du peptidoglycane chez les bactéries à Gram -

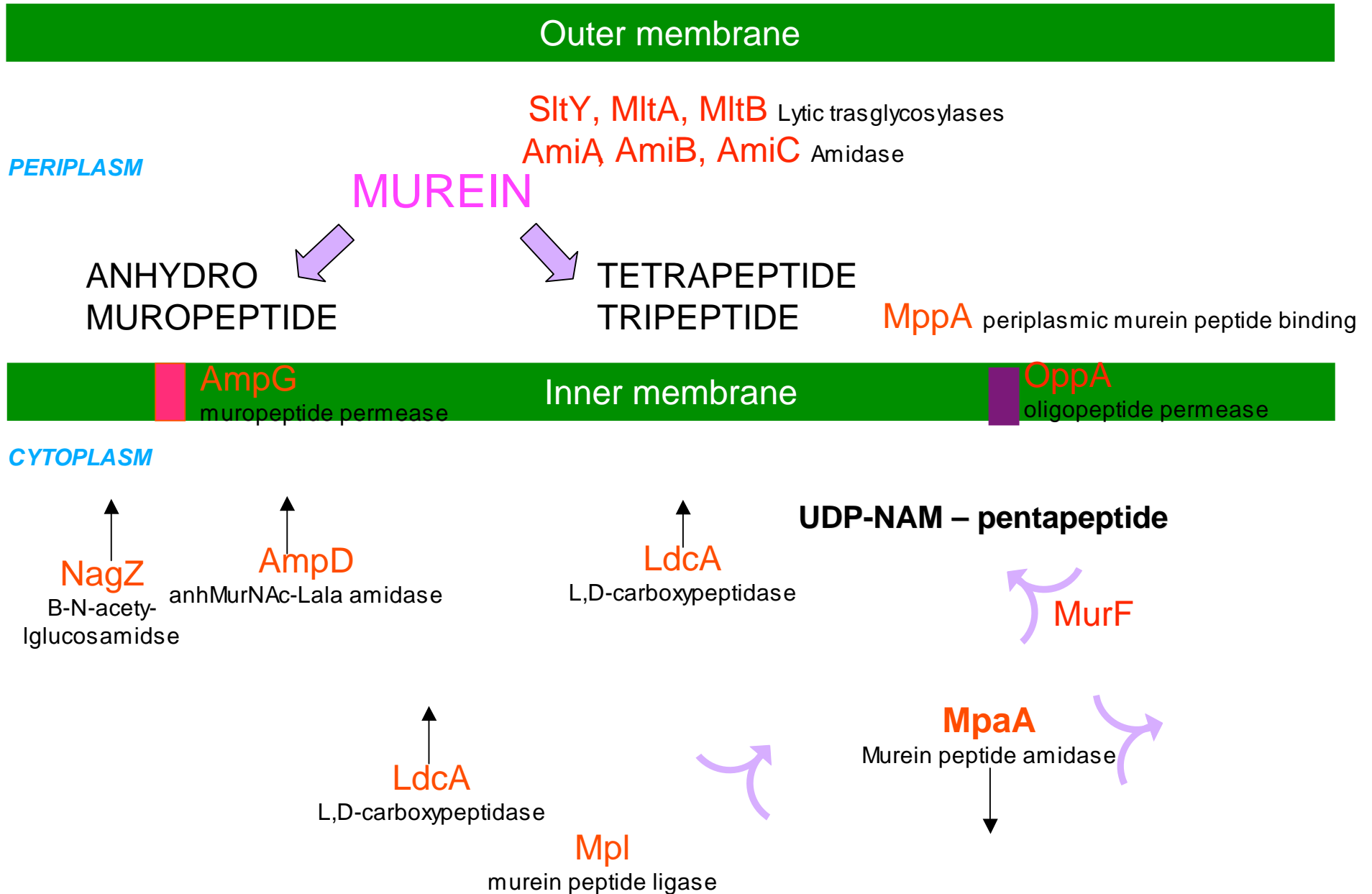
Tous les muuropeptides ne sont pas liés de manière covalente chez les G- (de 30 à 70 % peut être libre à un moment donné contrairement aux G+)



Transglycosydase lytique assurant un recyclage très dynamique



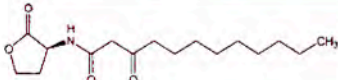

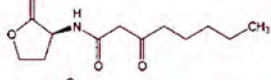
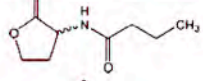
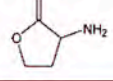
Peptidoglycan Recycling

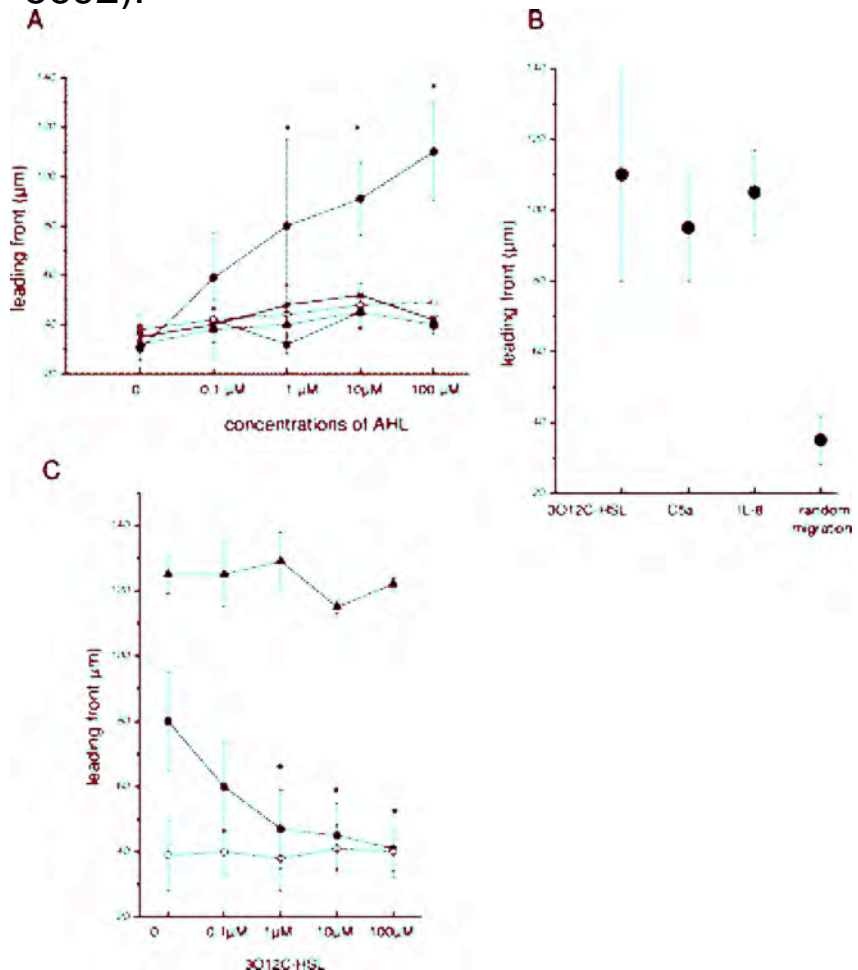


Molécules autoinductrices du Quorum Sensing

La N-(3-oxododecanoyl)-L-homosérine lactone est une molécule chimioattractante pour les polynucléaires neutrophiles

(Zimmermann S et coll. 2006. Infect.Immun., 74:5687-5692).

| Compound | Source | Structure |
|--|----------------------------------|--|
| N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine lactone | Synthesized in lab |  |
| N-Dodecanoyl-DL-homoserine lactone (CAS no. 18627-38-8) | Sigma-Aldrich no. 17248 (Fluka) |  |
| N-(3-Oxo-octanoyl)-L-homoserine lactone (CAS no. 14795-39-9) | |  |
| N-Butyryl-DL-homoserine lactone (CAS no. 98426-48-3) | Sigma-Aldrich no. 09945 (Fluka) |  |
| 2-Amino-4-butyrolactone (homoserine lactone) (CAS no. 2185-02-6) | Sigma-Aldrich no. H17800 (Sigma) |  |



La N-(3-oxododecanoyl)-L-homosérine lactone est une molécule chimioattractante pour les polynucléaires neutrophiles (Zimmermann S et coll. 2006. *Infect.Immun.*, 74:5687-5692).

La N-(3-oxododecanoyl)-L-homosérine lactone est un puissant inducteur de la transcription et de l'expression de l'IL-8 par des fibroblastes et des cellules épithéliales (Smith RS et coll., 2001, *J.Immunol.*, 167:366-374)

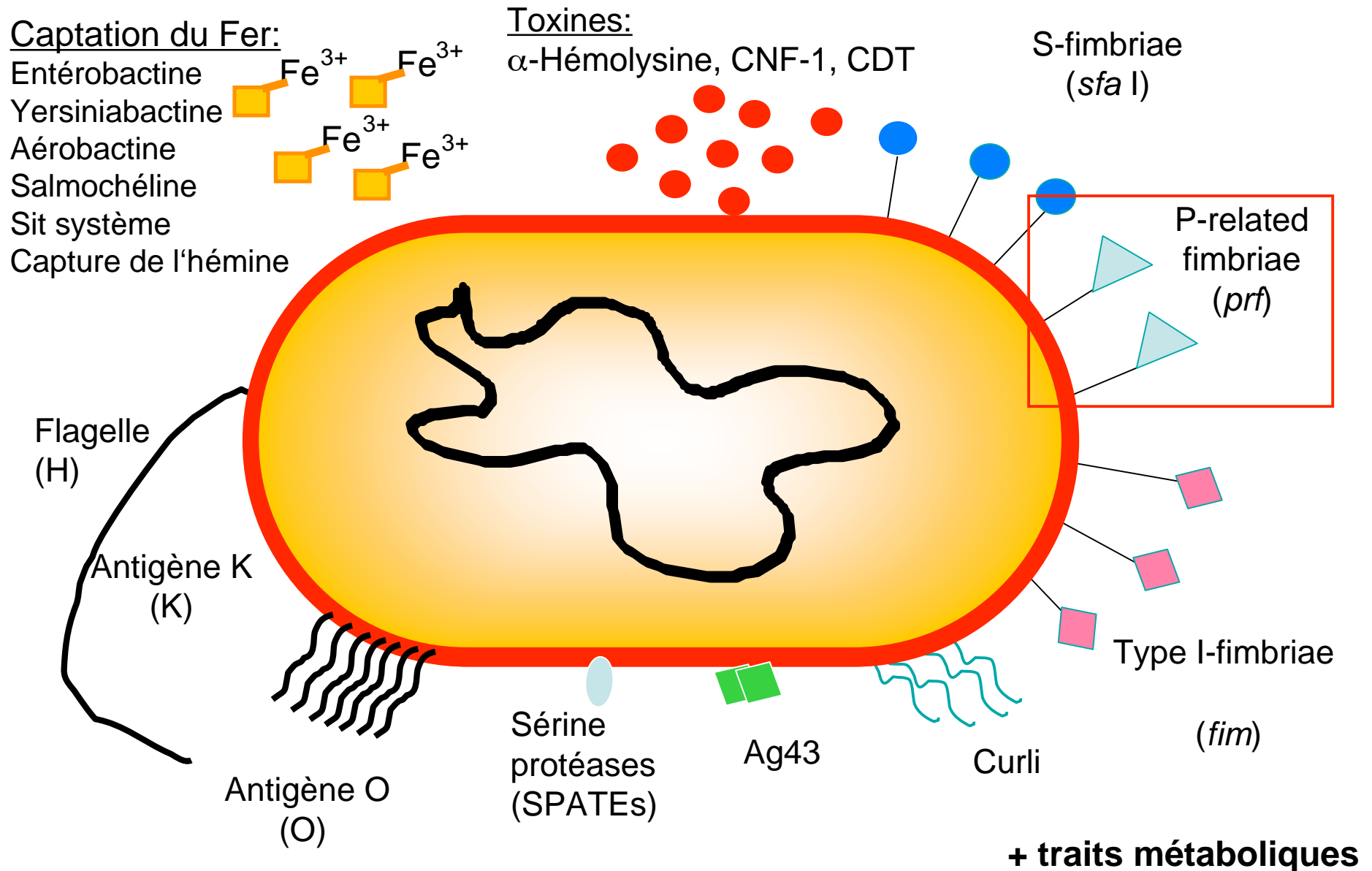
La N-(3-oxododecanoyl)-L-homosérine lactone exerce un effet cytotoxique sur les macrophages et les leucocytes polynucléaires neutrophiles (Tateda et coll. 2003. *Infect.Immun.*, 5785-5793)

La N-(3-oxododecanoyl)-L-homosérine lactone active la phosphorylation de P38 et eIF2 α , induit une distension des mitochondries et du reticulum endoplasmique. Cet effet est indépendant de TLR, Nod1 et Nod2 (Kravchenko VV et coll. 2006. *J.Biol.Chem.*, 281:28822-28830)

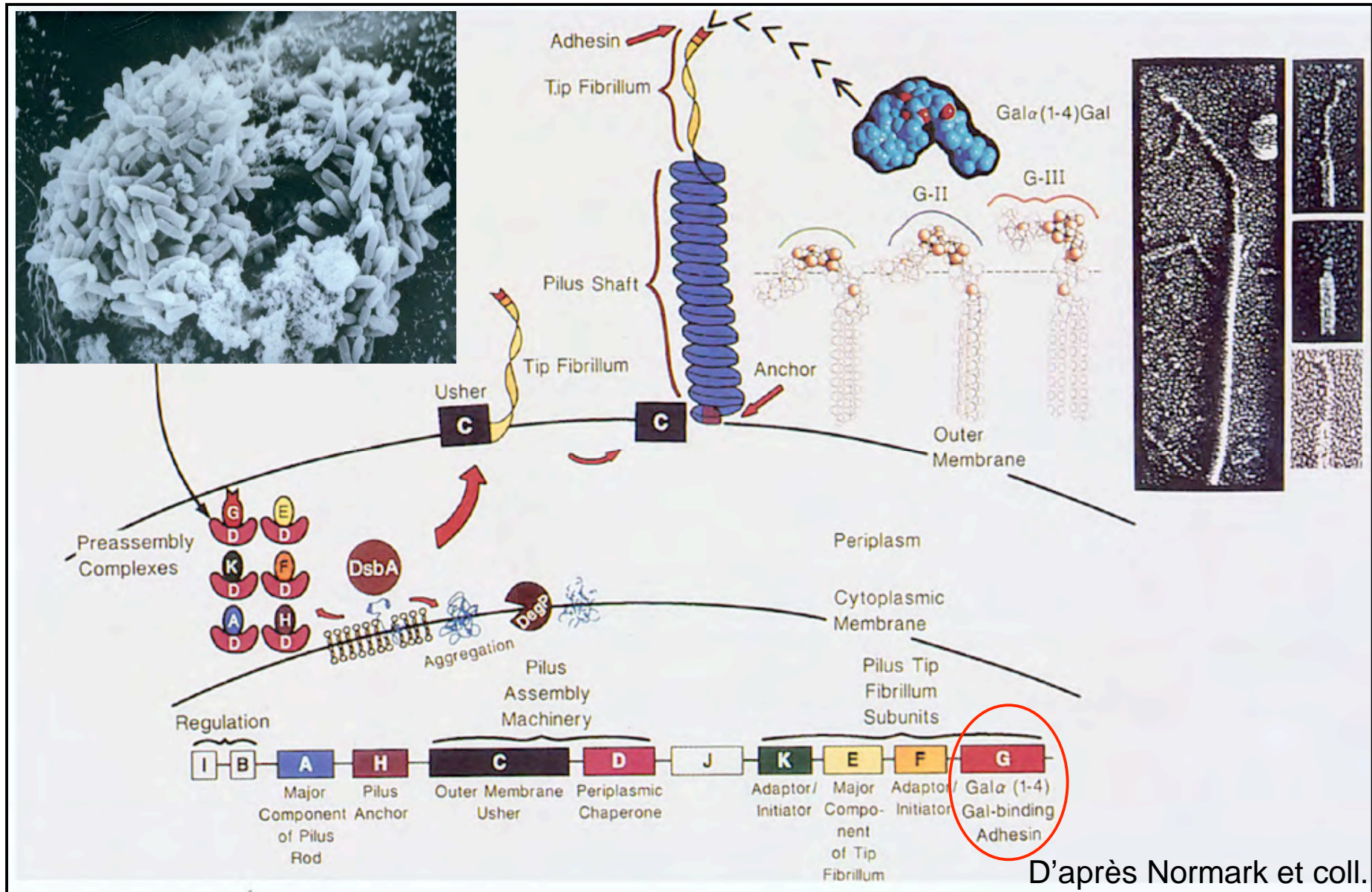
2 - Accès microbien aux surfaces, colonisation/adhérence

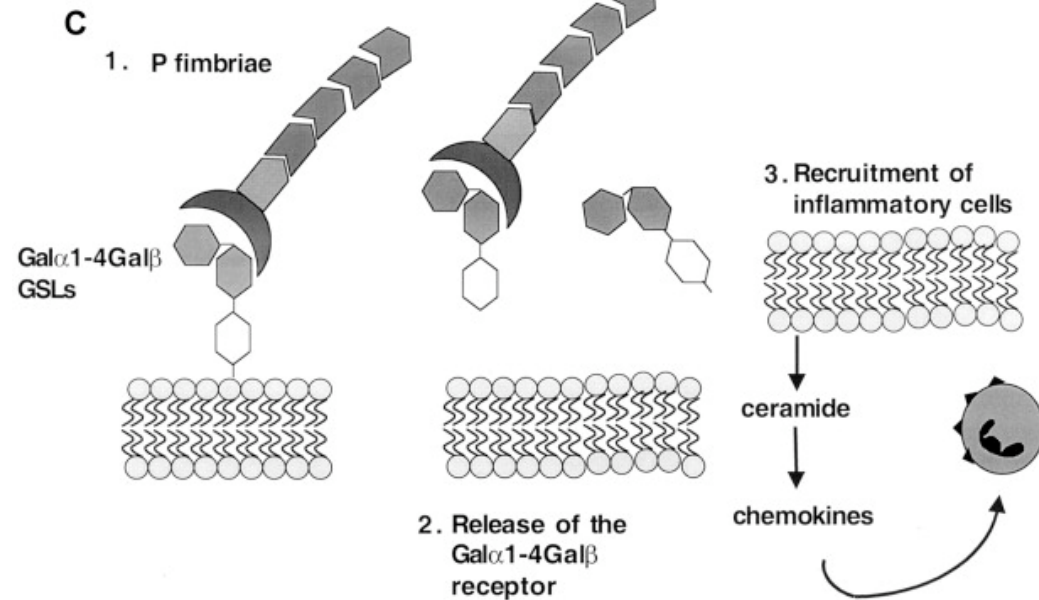
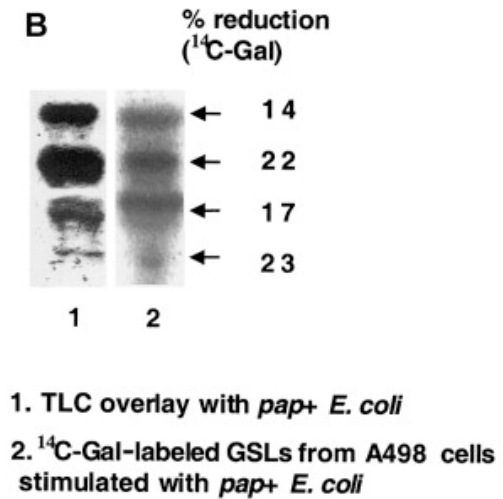
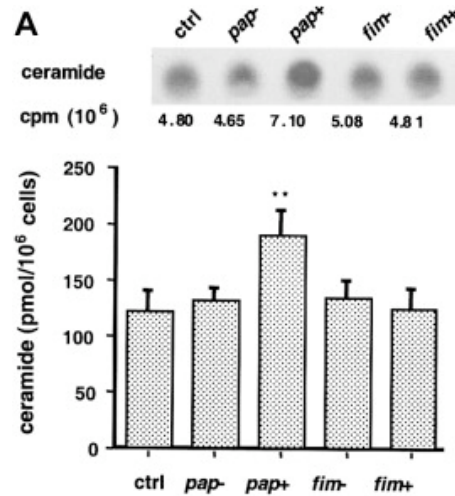
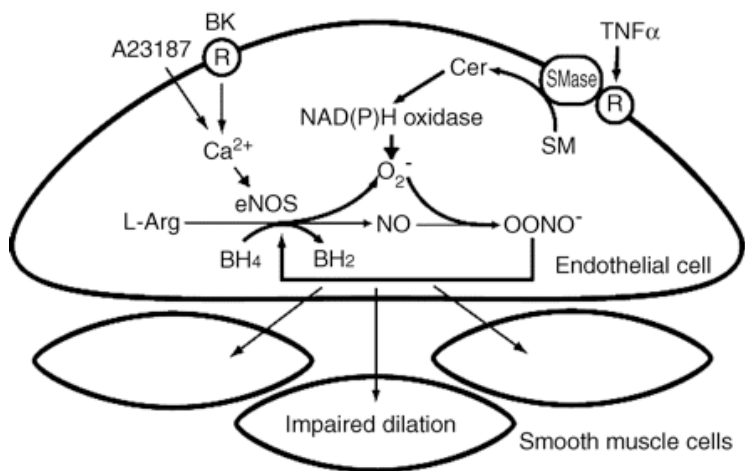
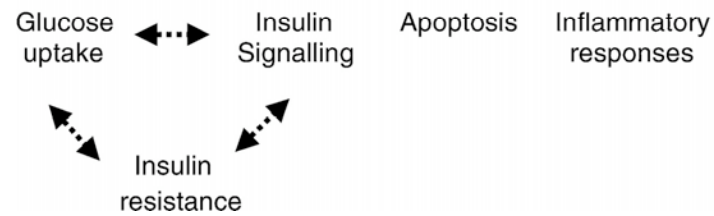
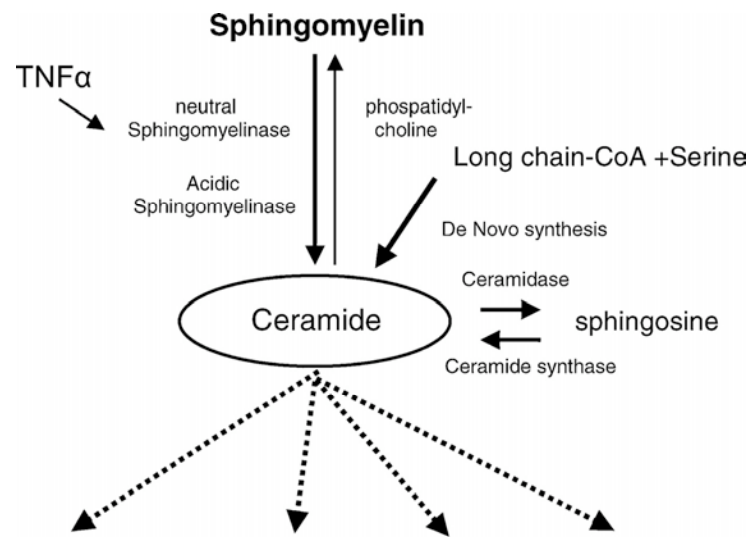
- Augmentation de la concentration de PAMPs perçue
- Signalisation induite par le processus d'adhérence

Facteurs de pathogénicité des UPEC



Opéron *pap* et biogénèse des pili Pap

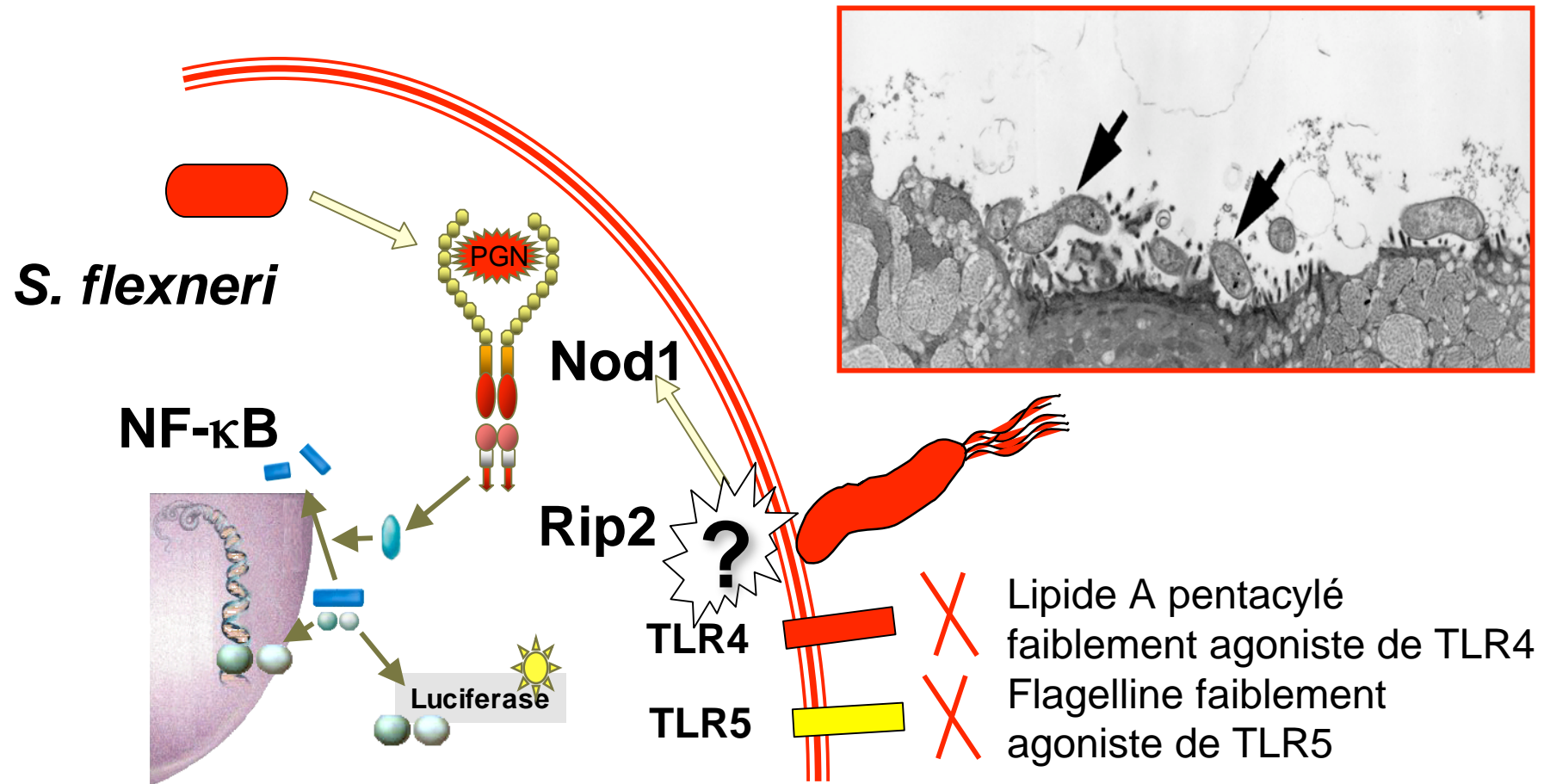




Hedlund M et coll. 1996. J.Exp.Med., 183:1037-1044
 Hedlund M et coll. 2002. Mol.Microbiol., 29:1297-1306

3 - Introduction de PAMPs dans le cytoplasme cellulaire

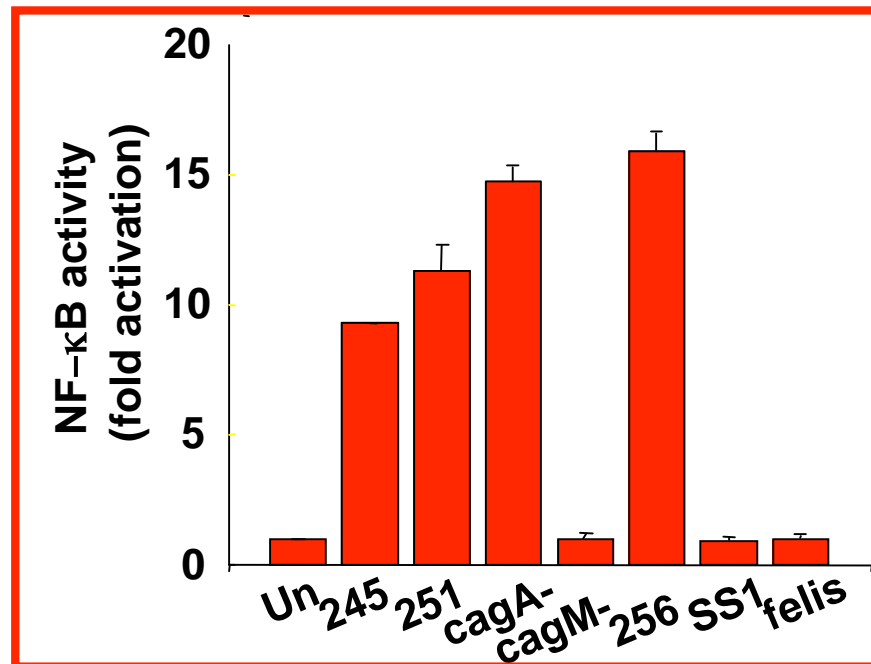
Helicobacter pylori



L'activation de NF- κ B dépend de l'appareil de sécrétion de type IV mais est indépendant de CagA et de la flagelline

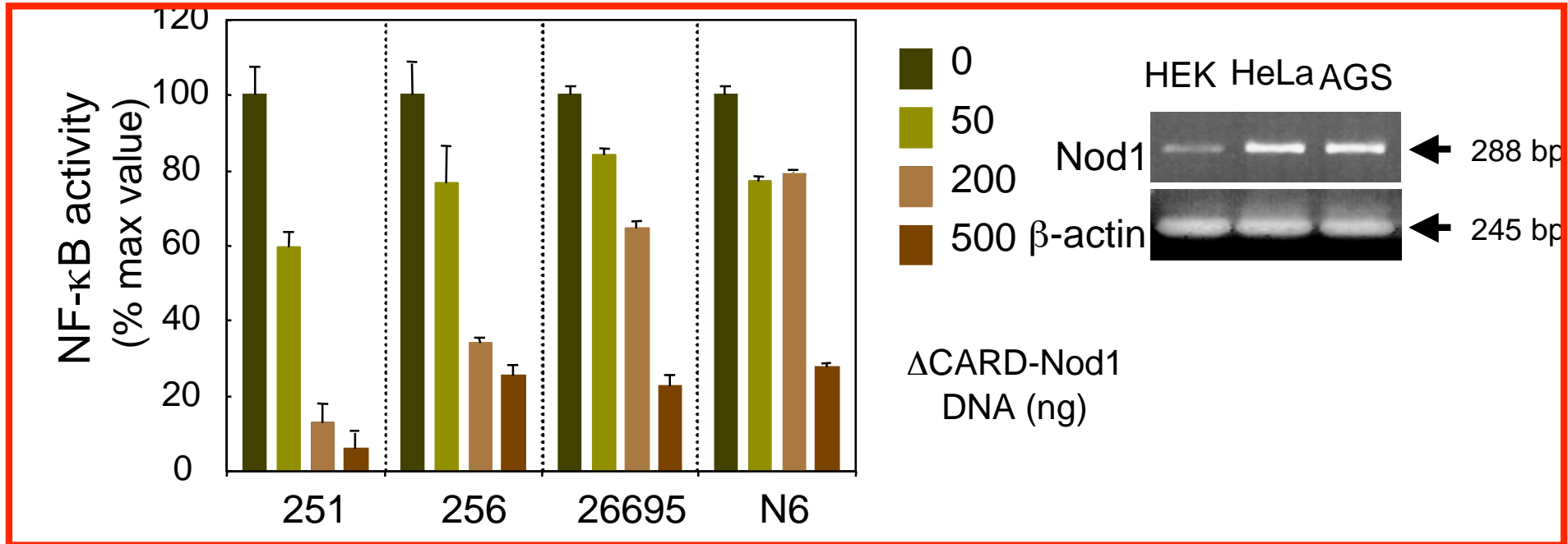
HEK293

TLR2-, TLR4-, TLR5+

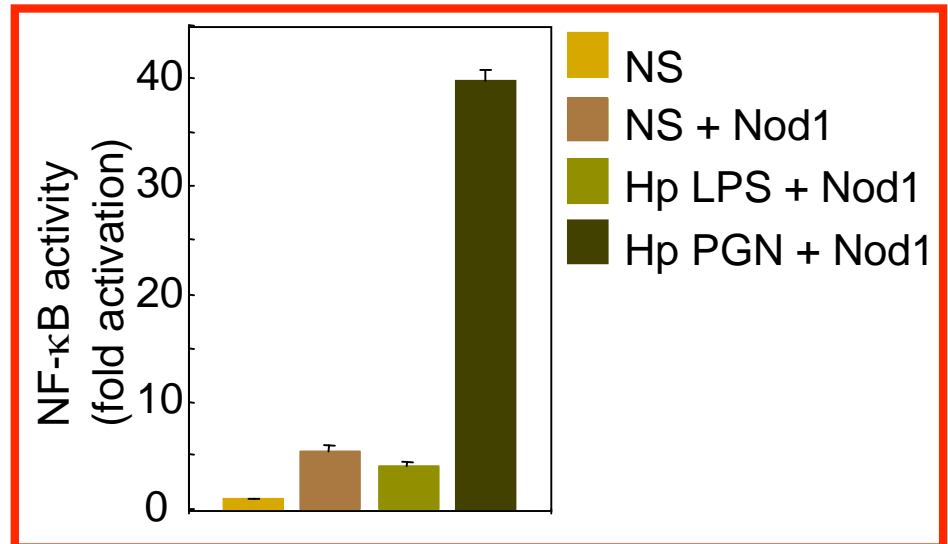


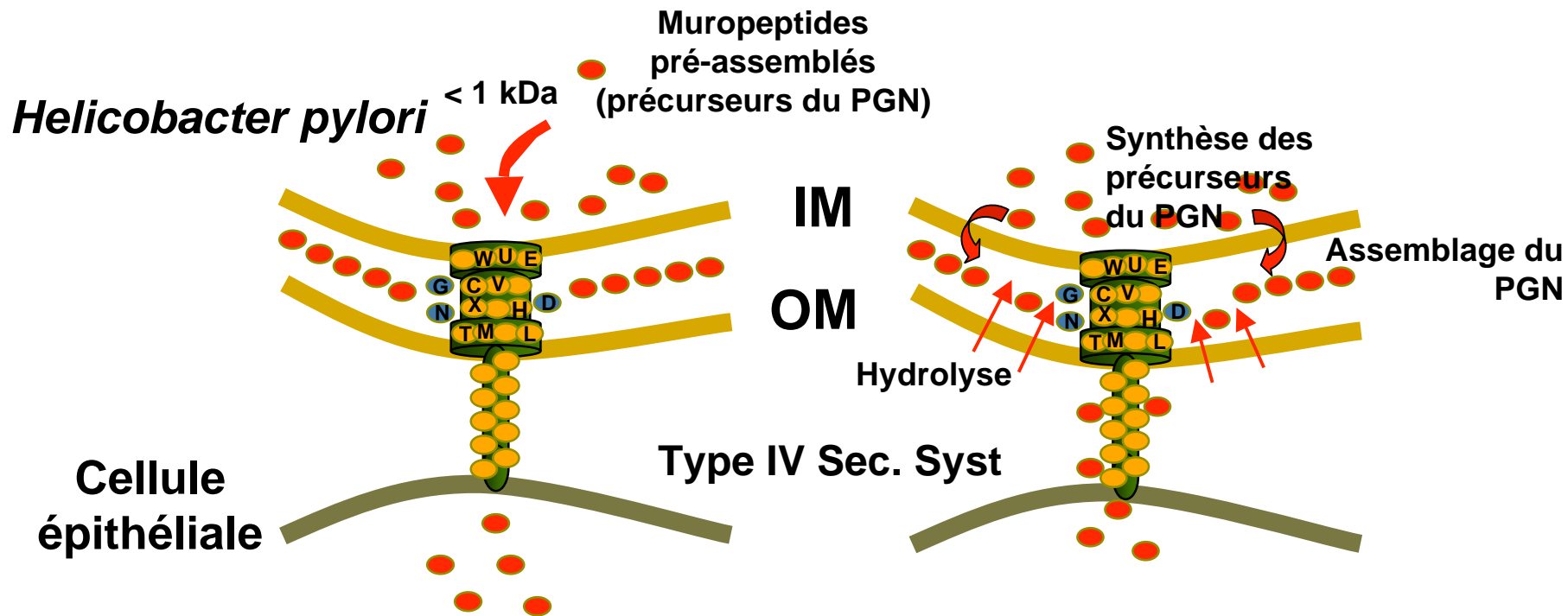
| | AGS NF- κ B | cag PAI | Fla |
|----------------|-----------------------|------------|-----|
| 245 | + | + | + |
| 251 | + | + | + |
| 251 cagA | + | + | + |
| 251 cagM | - | - | + |
| 256 | + | + | + |
| SS1 | - | - | + |
| <i>H.felis</i> | - | - | + |

Nod1 dominant-négatif (Δ CARD) inhibe l'activation de NF- κ B au cours de l'infection par *H.pylori*



Nod1 reconnaît le PGN
d' *H.pylori*
introduit dans les cellules

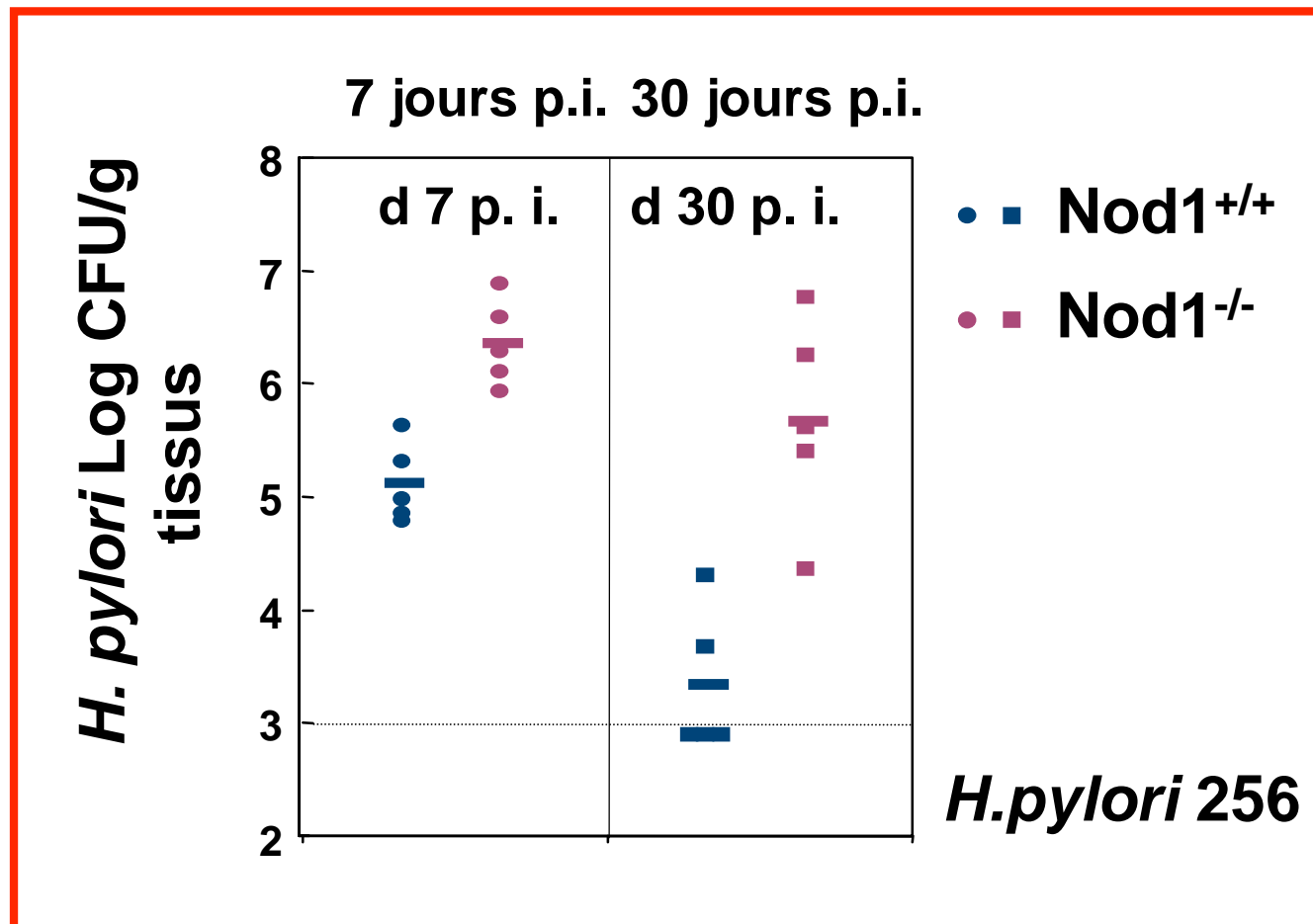


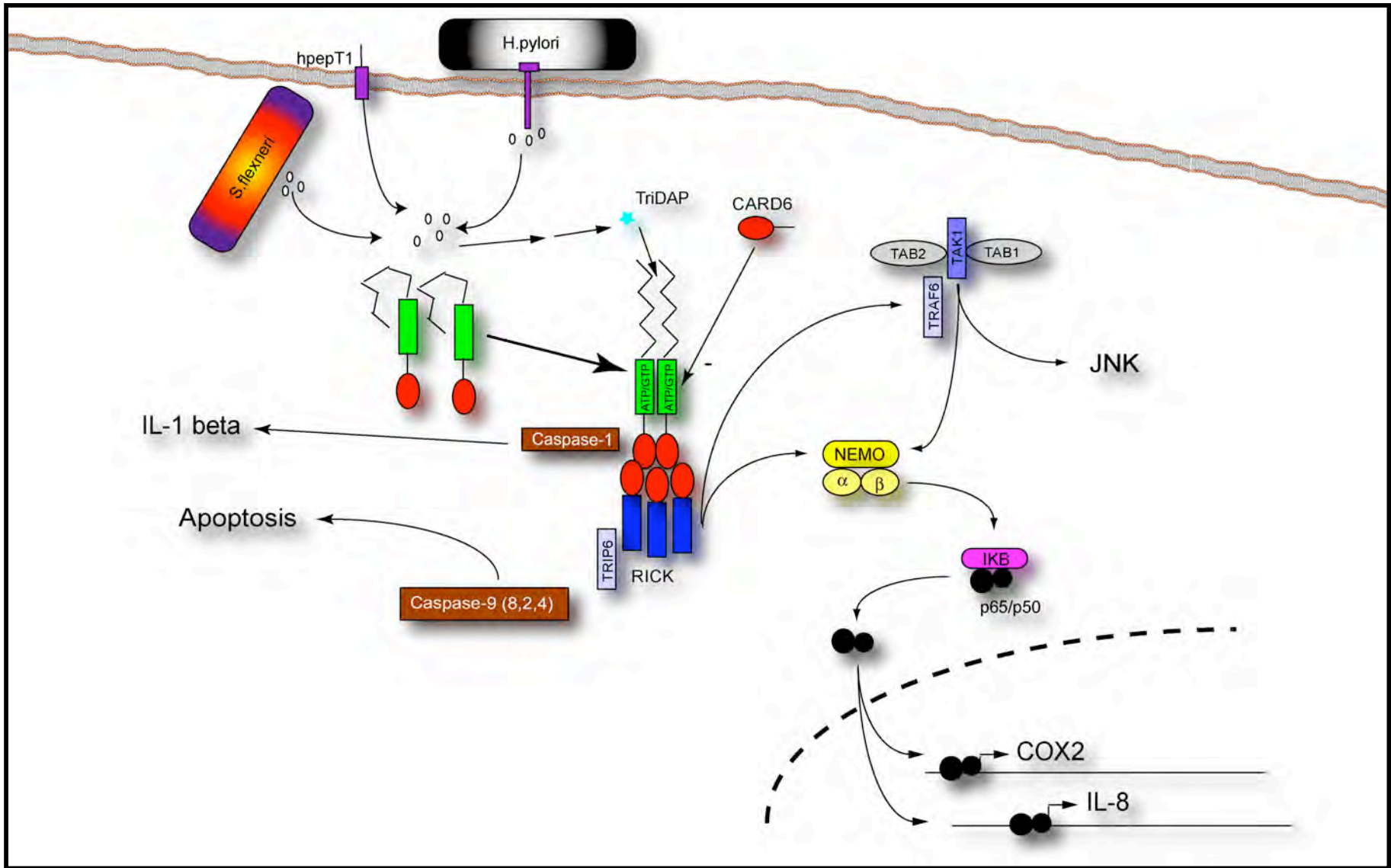


Rôle de la perception Nod1-dépendante de *H. pylori in vivo*

Les souris Nod1-déficientes sont plus sensibles à l'infection

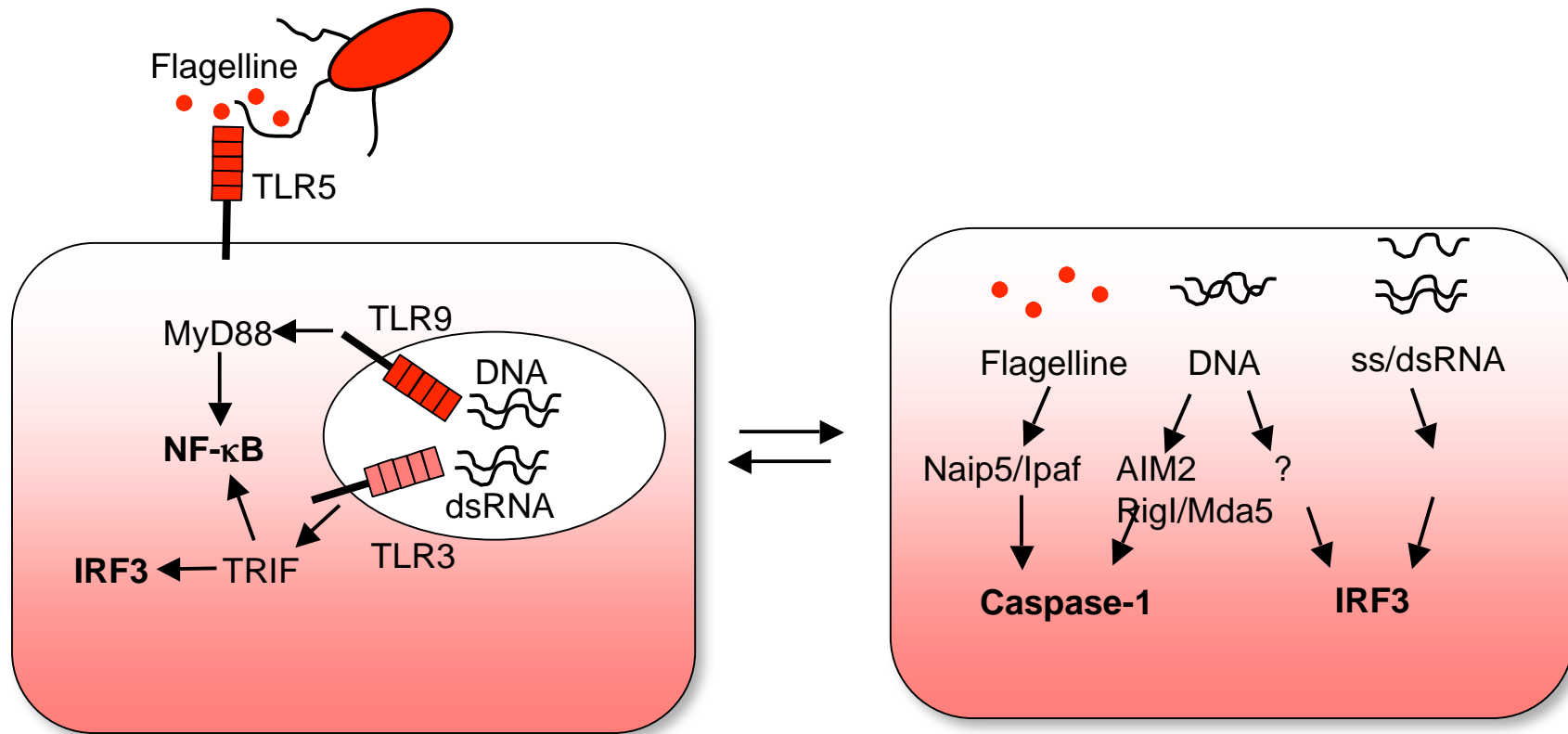
Colonisation gastrique





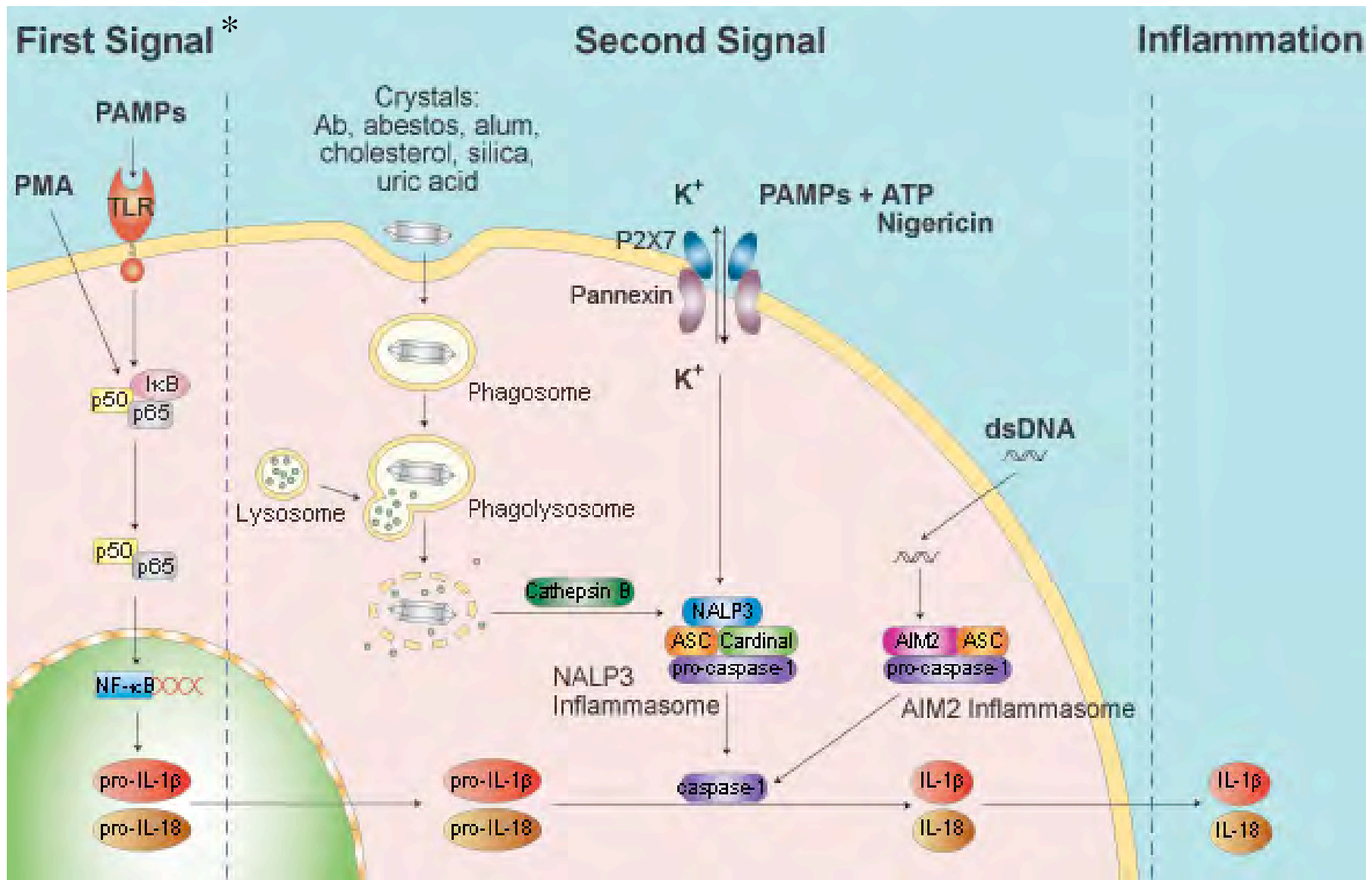
4 - Altération des membranes cellulaires/double signal

Reconnaissance duale des PAMPs



Ligands/PAMPs extracellulaires

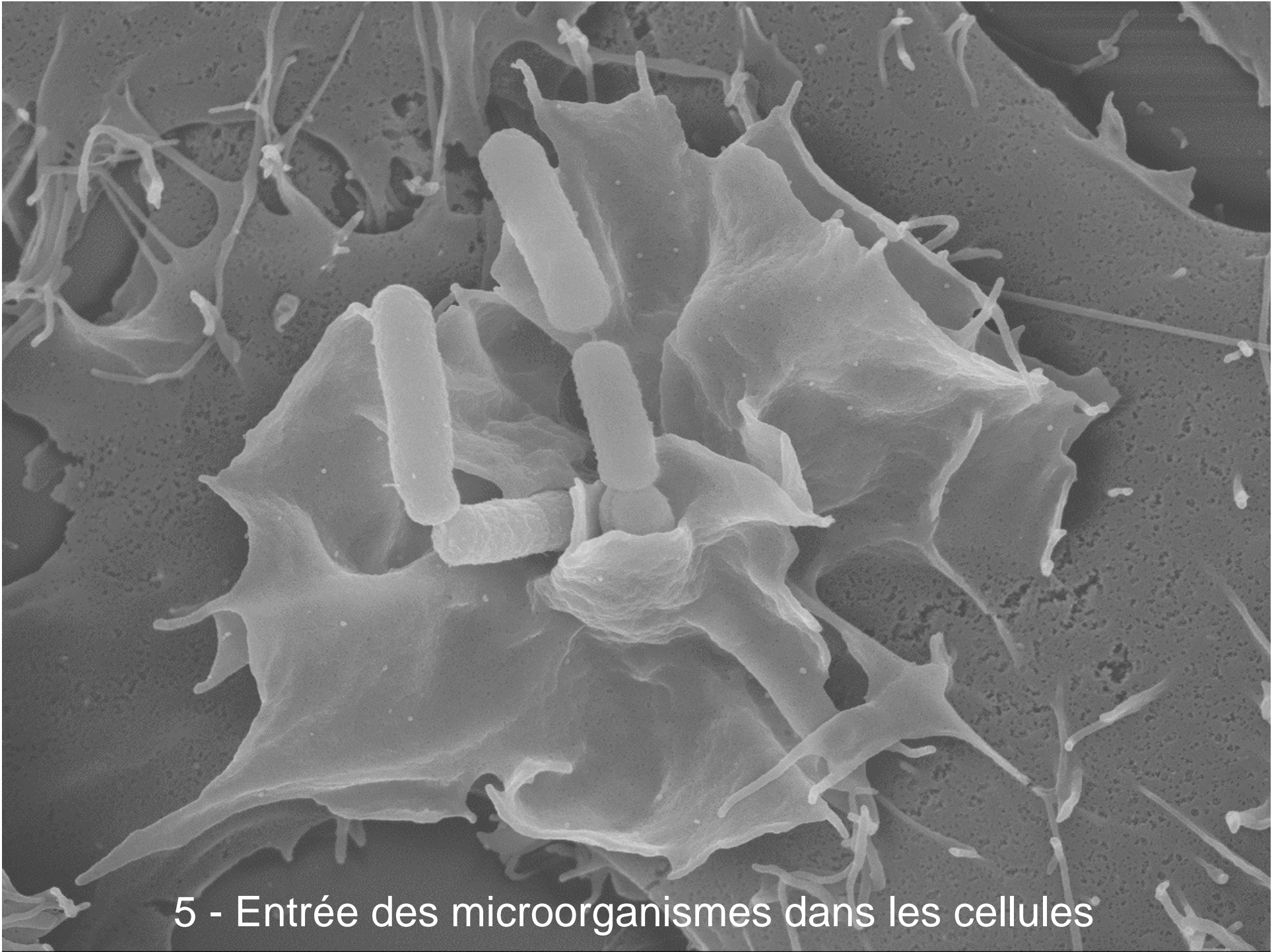
Ligands/PAMPs cytosoliques



*Le premier signal peut aussi être médié par Nod1/2

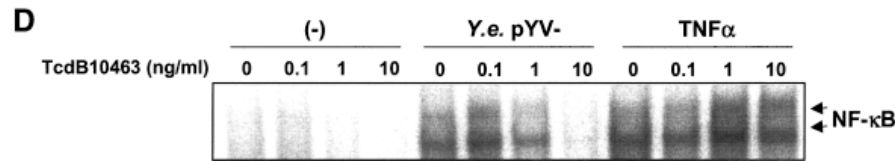
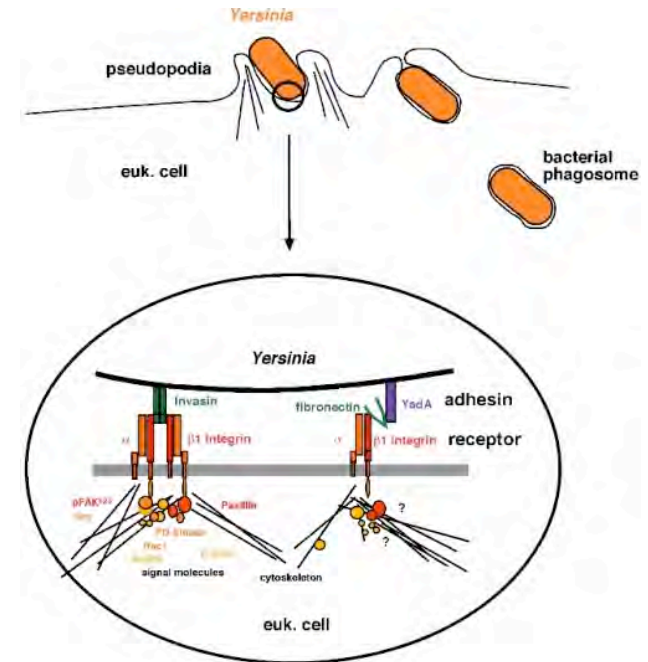
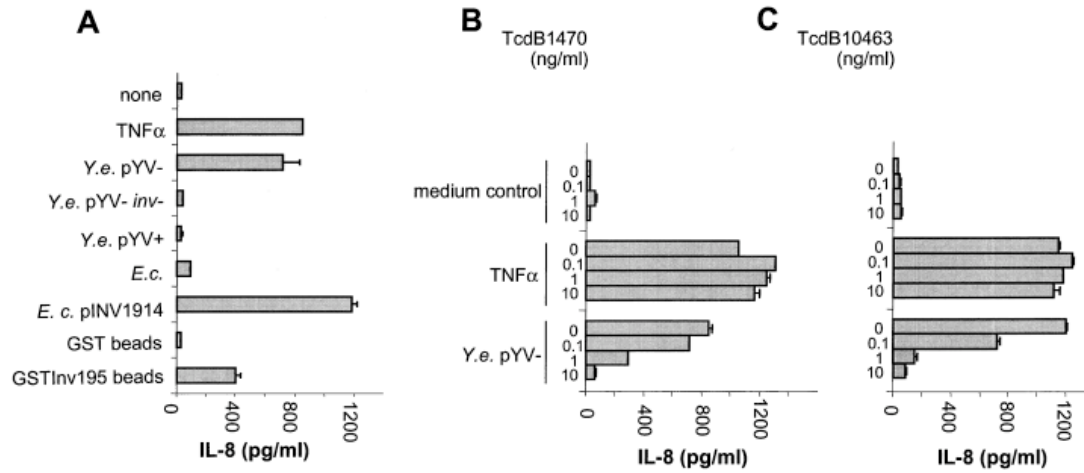
Gurcel L et coll. 2006. Cell, 126:1135-1145

Martinon F, Mayor A, Tschopp J. 2009. Ann.Rev.Immunol., 27:229-265

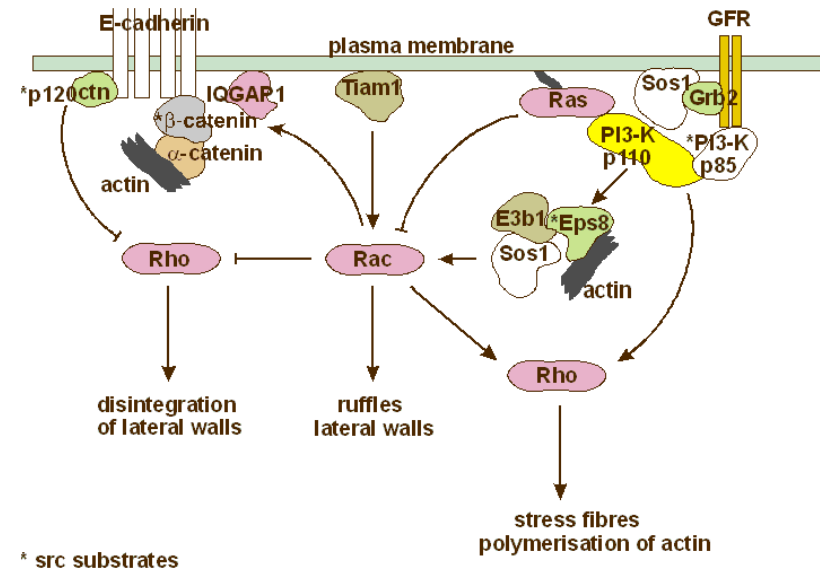


5 - Entrée des microorganismes dans les cellules

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



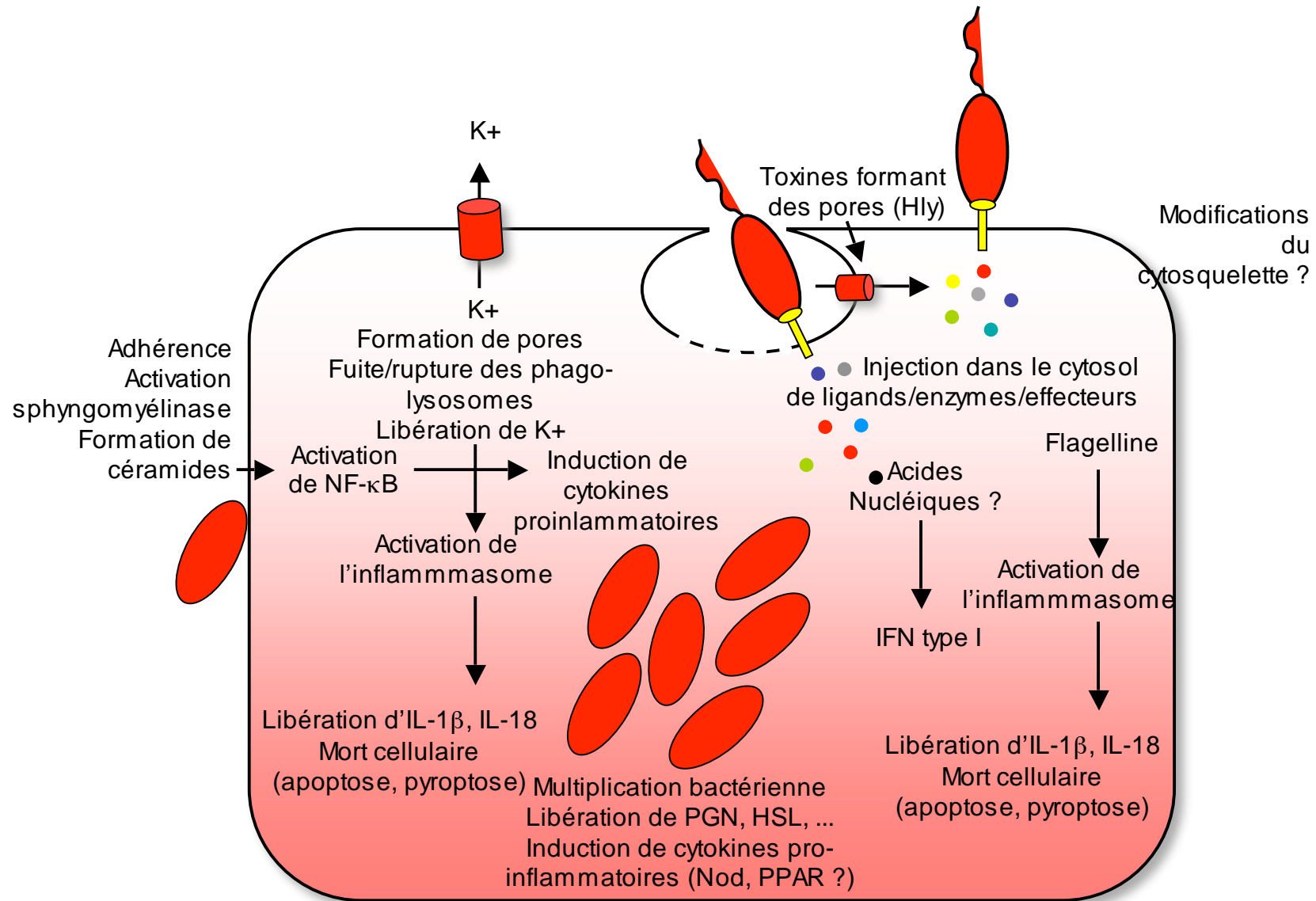
L'activation de NF- κ B et de IL-8 par l'Invasine de *Yersinia enterocolitica* invasin est conférée par l'engagement de Rac1 et de la cascade des MAP kinases



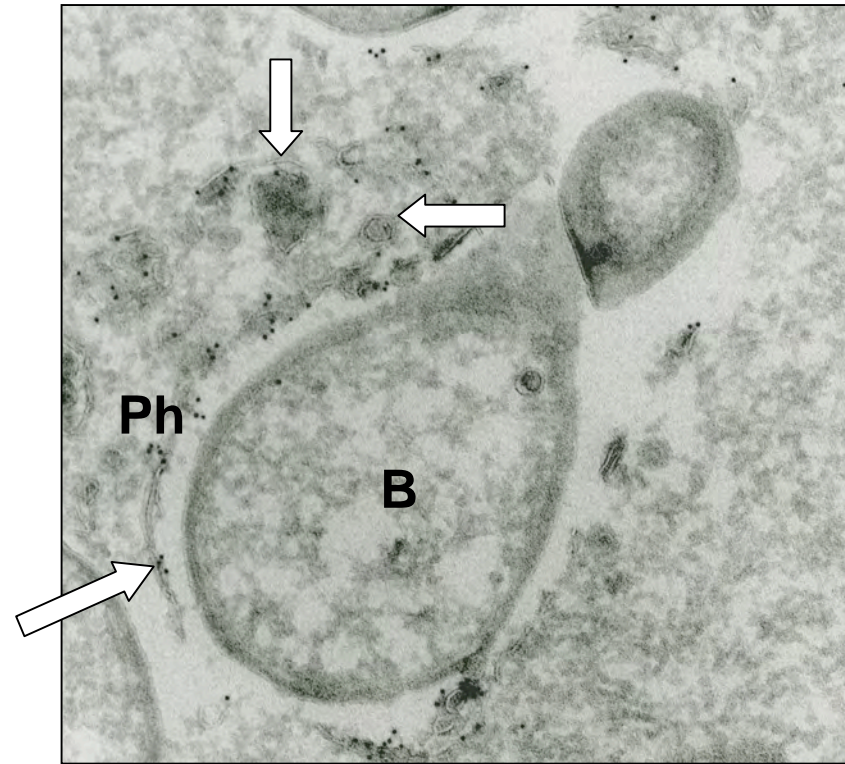
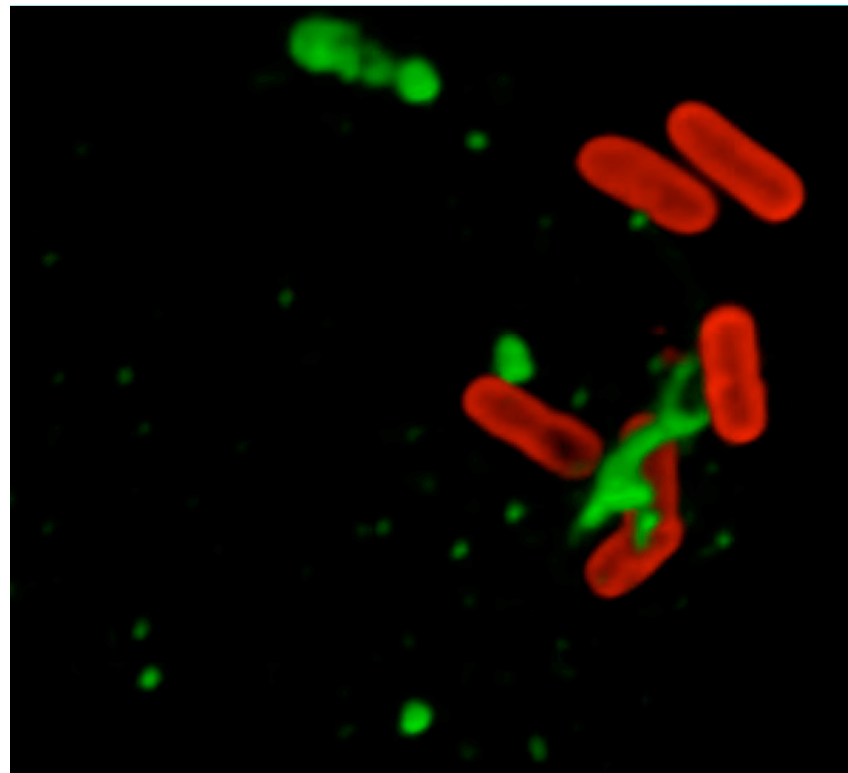
Hobert ME, Sands KA, Mrsny RJ, Madara JL.2002. J Biol Chem. 2002 Dec 27;277(52):51025-51032

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

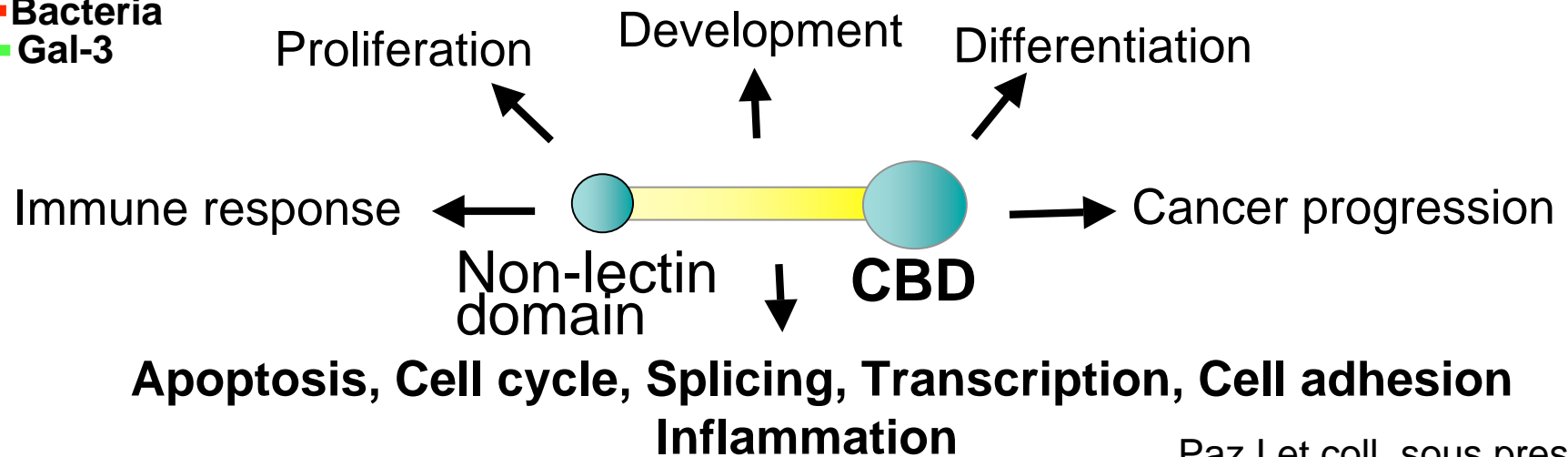
Propriétés des pathogènes amenant à leur discrimination



Gal-3 localizes to the phagosomal membrane and fusing structures

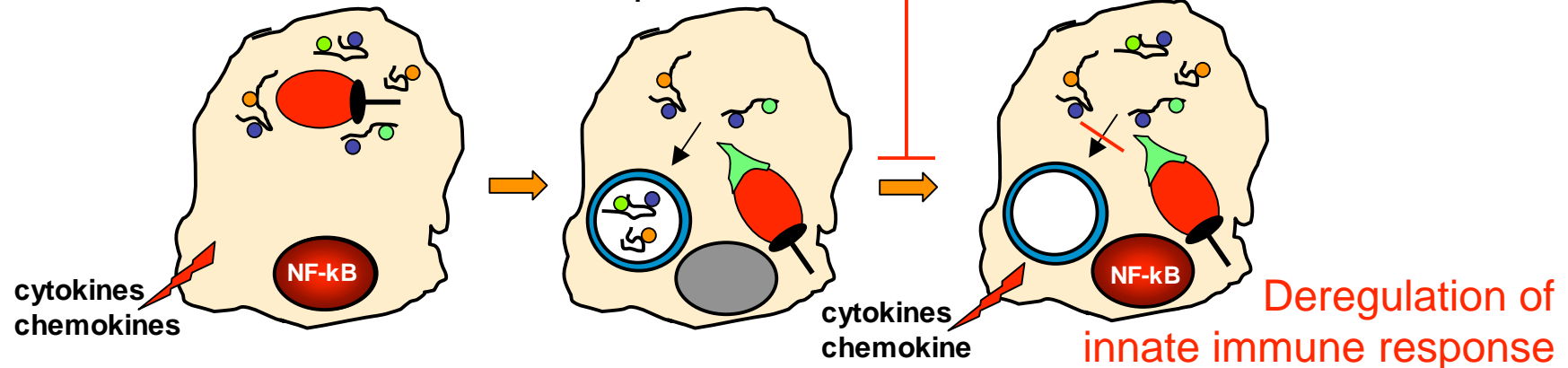


█ Bacteria
█ Gal-3



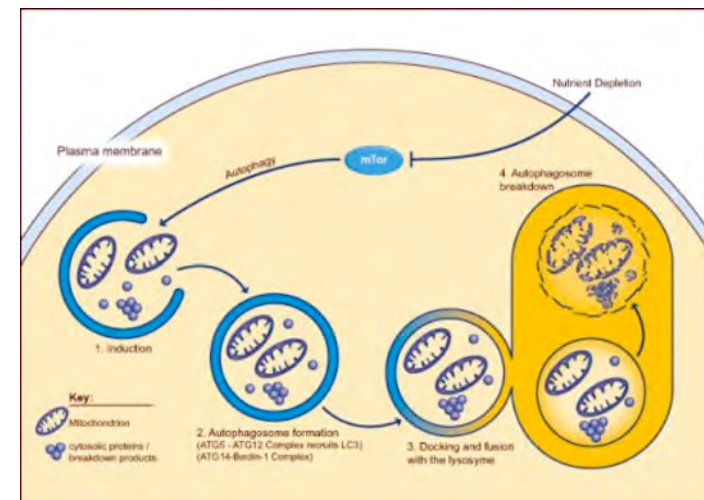
Inhibition of autophagy (Atg4BC74A)

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)

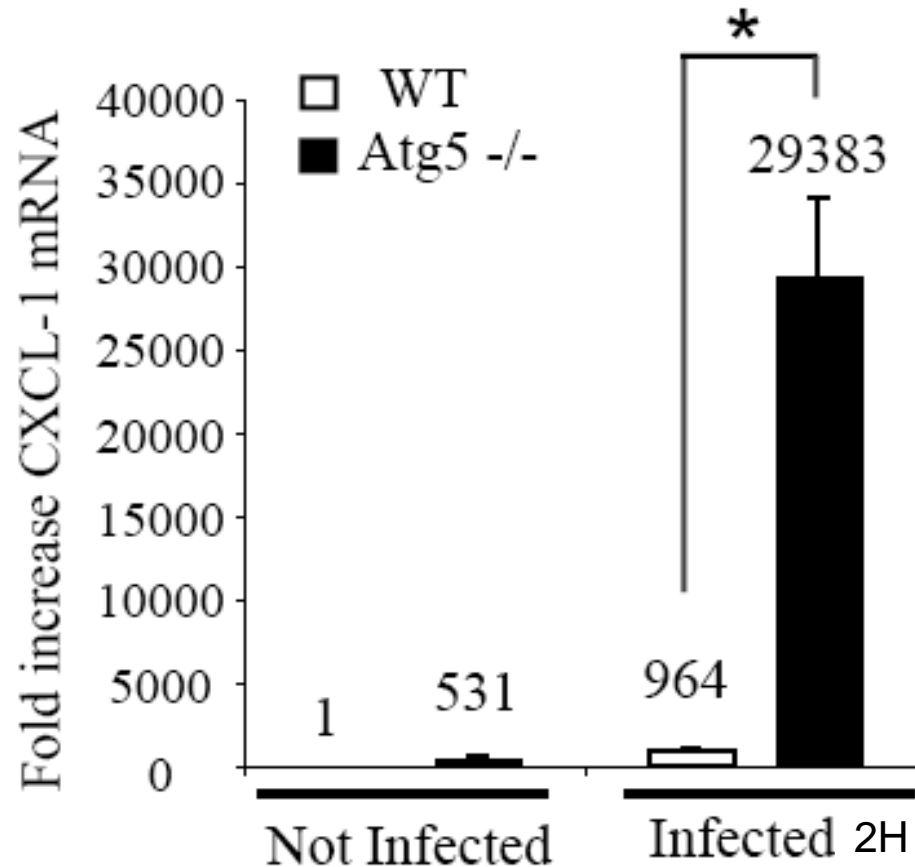
- Preliminary evidence for recruitment of inflammasome at membrane remnants (Nalp3, IpaF, ASC, Caspase 1)
- Nod ?, Muropeptides transfer ?



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.