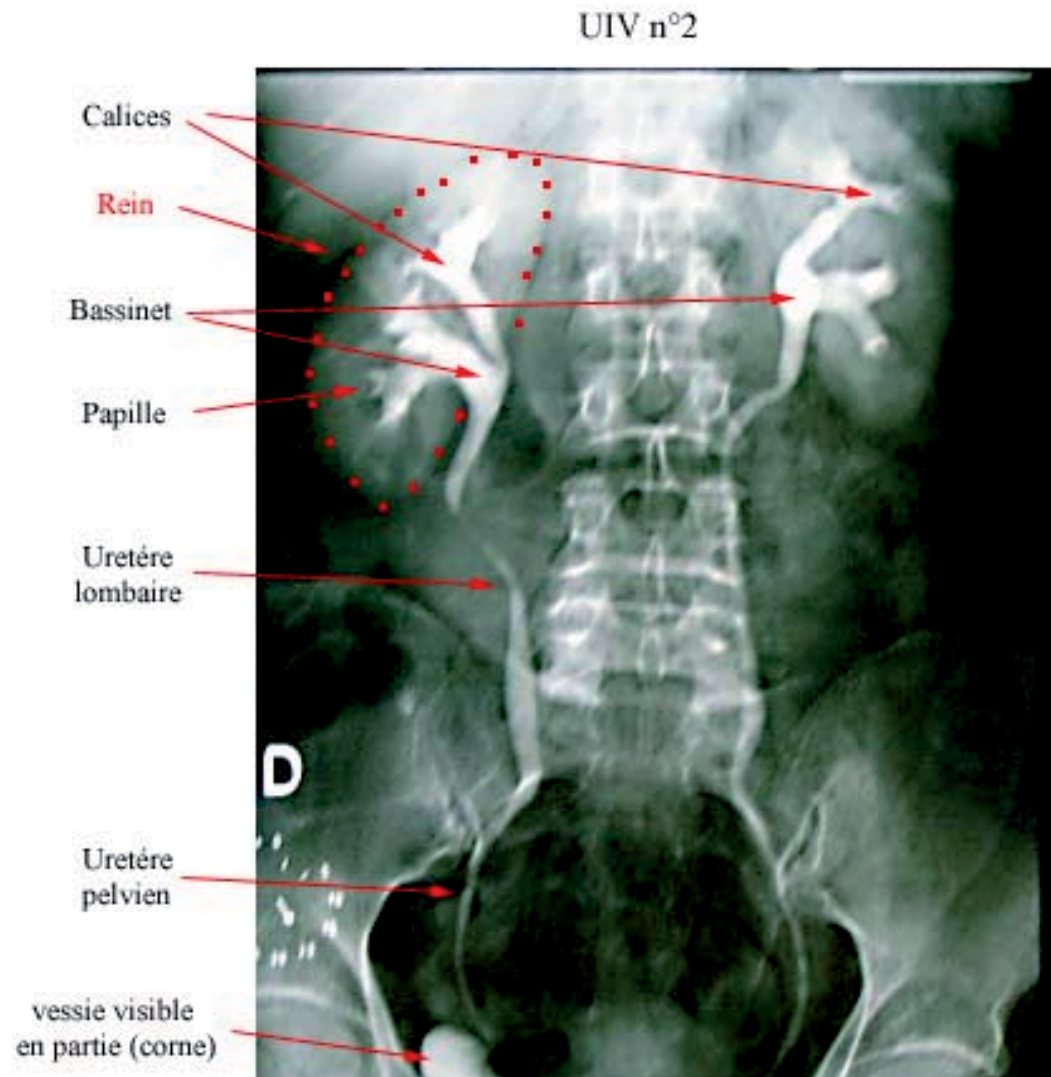


# Franchissement de la barrière uro-épithéliale par les bactéries uropathogènes



Philippe Sansonetti  
Leçon no 3  
06 janvier 2011

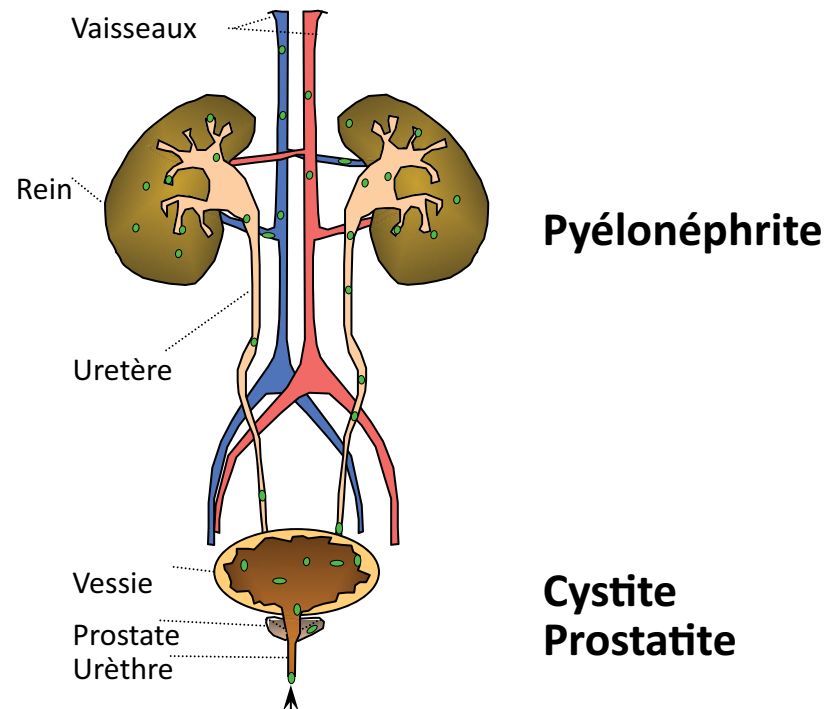
# Infections urinaires (IU)

Le tractus urinaire est l'un des sites d'infection les plus fréquents

Causées le plus souvent par des bactéries du microbiote fécal ou périnéal.

L'infection la plus fréquente dans les pays industrialisés

*E. coli* cause 80 % des **IU** symptomatiques non compliquées, en l'absence d'obstacle.



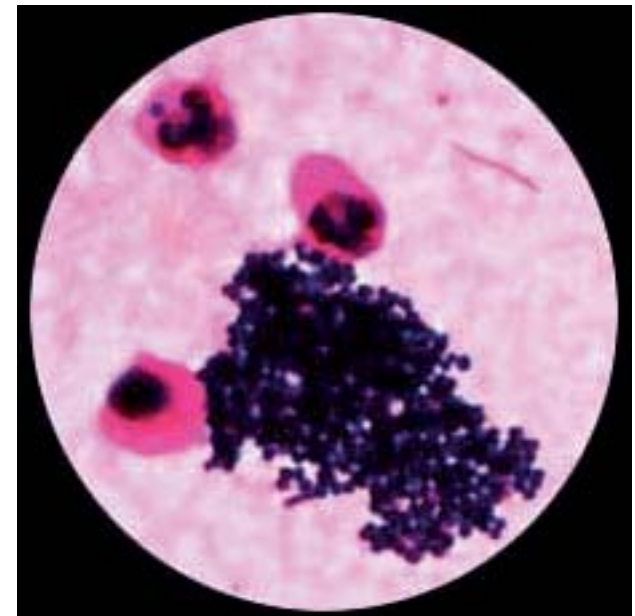
## **ABU** – Bactériuries asymptomatiques

Portage stable d'une monoculture bactérienne ( $> 10^5/\text{ml}$ ) dans la vessie avec peu ou pas de symptômes. "Commensaux de l'arbre urinaire ?"



Urines troubles

Bactéries et  
polynucléaires neutrophiles  
à la coloration de Gram ou Giemsa



# Définitions

**La cystite.** De loin la forme d'infection urinaire la plus courante, touche presque uniquement les femmes. Inflammation de la vessie. La plupart du temps, l'inflammation est provoquée par la prolifération des bactéries intestinales de type *Escherichia coli* qui sont nombreuses à la marge de l'anus/périnée.

**La pyélonéphrite.** La pyélonéphrite est plus grave. Elle désigne l'inflammation du bassinet (la cavité du rein collectant les urines) et du rein lui-même. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui conduit à la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite aiguë survient surtout chez la femme, particulièrement chez la femme enceinte. Elle est aussi fréquente chez les enfants qui ont une malformation urétérale provoquant un reflux de l'urine de la vessie vers les reins.

## Quelques chiffres...

Entre 20 et 50 ans, les IU sont 50 fois plus fréquentes chez la femme.

Après 50 ans l'incidence chez l'homme augmente nettement du fait de l'augmentation des maladies prostatiques, et le sexe-ratio est seulement de 3/1 chez les sujets âgés.

La fréquence des infections est inférieure à 5 % dans la population générale mais augmente progressivement avec l'âge.

Dans 50 % des cas, les IU sont primitives, survenant essentiellement chez la femme par ailleurs en bonne santé.

50 % des femmes présentent un épisode d'IU dans leur existence, 25 % en présentent 2 et 3 % en présentent 3 dans les 6 mois suivant le traitement du premier épisode.

**La problématique de la récurrence est le fait dominant et encore largement inexpliqué de l'IU.**

## **Conditions du maintien de la stérilité du tractus urinaire: une « barrière » complexe autour d'un épithélium exposé**

L'urine est normalement stérile. Elle contient de l'eau à 96 %, des sels et des composants organiques.

Le tractus urinaire possède de nombreux moyens de défense contre les infections :

- le flux urinaire expulse les bactéries et rend plus difficile leur ascension vers la vessie et les reins
- l'acidité de l'urine (pH inférieur à 5,5) inhibe la croissance des bactéries
- la forme des uretères et de la vessie prévient la remontée de l'urine vers les reins
- le système immunitaire en général lutte contre les infections
- la paroi de la vessie contient des cellules immunitaires ainsi que des substances antibactériennes (peptides antimicrobiens)
- chez les hommes, les sécrétions de la prostate contiennent des substances qui ralentissent la multiplication des bactéries dans l'urètre.

## Bactéries responsables d'IU

Une IU survient quand un micro-organisme, habituellement une bactérie provenant du tube digestif, pénètre dans l'urètre puis dans la vessie et s'y multiplie.

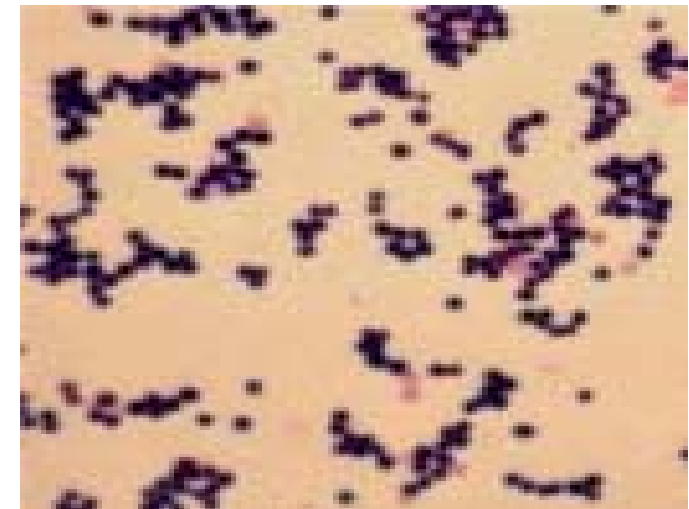
L'infection est habituellement ascendante, d'abord dans l'urètre (urétrite), puis remontant dans la vessie (cystite), et éventuellement jusqu'aux cavités pyéliqués rénales (pyélonéphrite).

La plupart des infections sont liées à un type de microbe, *Escherichia coli* (*E. coli*), commensal habituel du colon (80 %) = **UPEC**  
Mais d'autres microbes peuvent être en cause: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus* (souvent associée à la présence de lithiases rénales), *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus*.

*Escherichia coli*



*Staphylococcus saprophyticus*



# Récidive des IU par réinfections successives par des bactéries commensales intestinales colonisant le périnée: une idée reçue ?

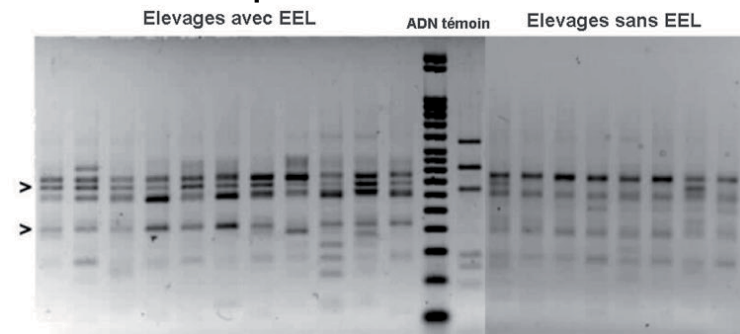
L'analyse par RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) des isolats bactériens Identifiés chez 58 femmes présentant un infection urinaire récurrente a montré que dans 68 % des cas, la récurrence était due à une souche identique à celle ayant causé la première infection (Russo TA et coll. 1995. J. Infect. Dis., 172:440-445)

La réapparition d'une souche identique lors de récurrences a été observée jusqu'à trois ans après l'épisode initial (Brauner A et coll. 1992. Clin. Nephrol., 38:318-323; Foxman B. 2003. Dis. Mon., 49:53-70)

La souche index a pu être retrouvée dans la flore vaginale et/ou intestinale, suggérant que les IU récurrentes sont dues à un réensemencement de l'urètre par des souches virulentes hébergées dans des sites anatomiques au sein desquels elles ne causent pas d'infection, mais seulement une colonisation.

Cependant, l'administration locale d'antibiotiques visant à désinfecter la région périnéale n'élimine pas efficacement les récurrences indiquant que la migration de bactéries de la marge anale ou de la région vulvaire ne peut assurer la récurrence

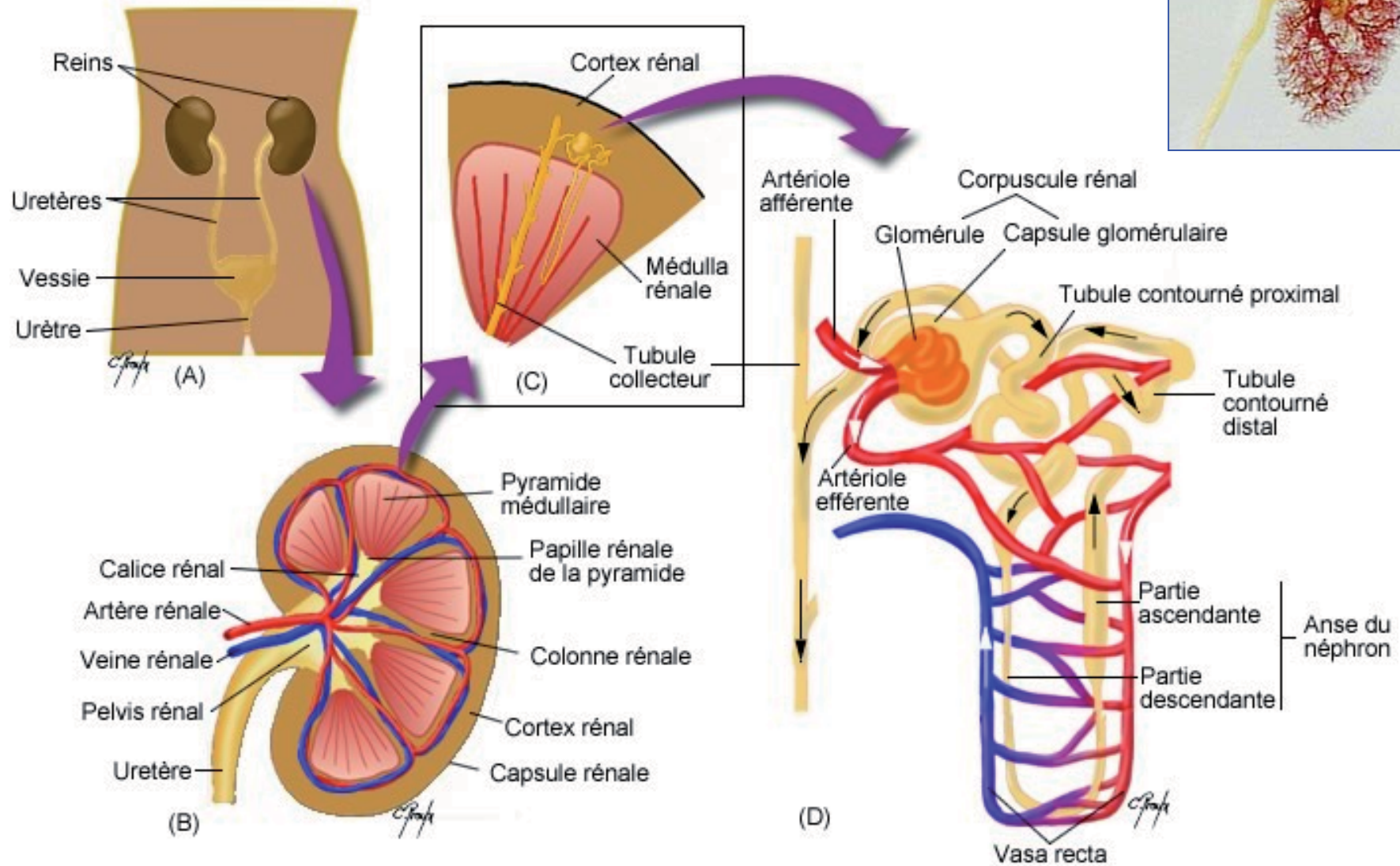
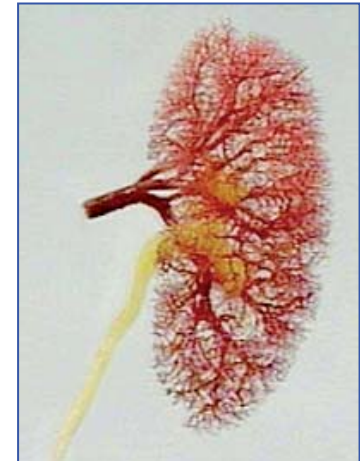
(Cass AR & Ireland GW. 1985. Urology, 25:492-494).



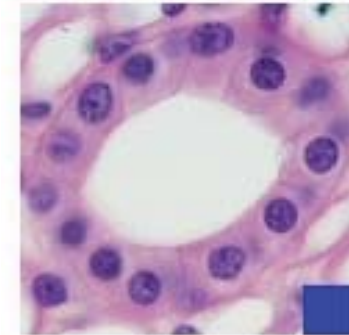
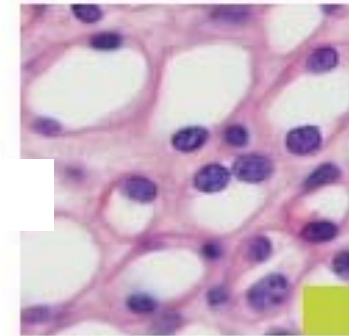
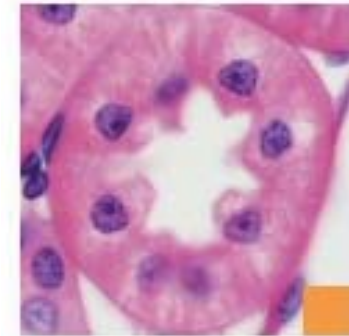
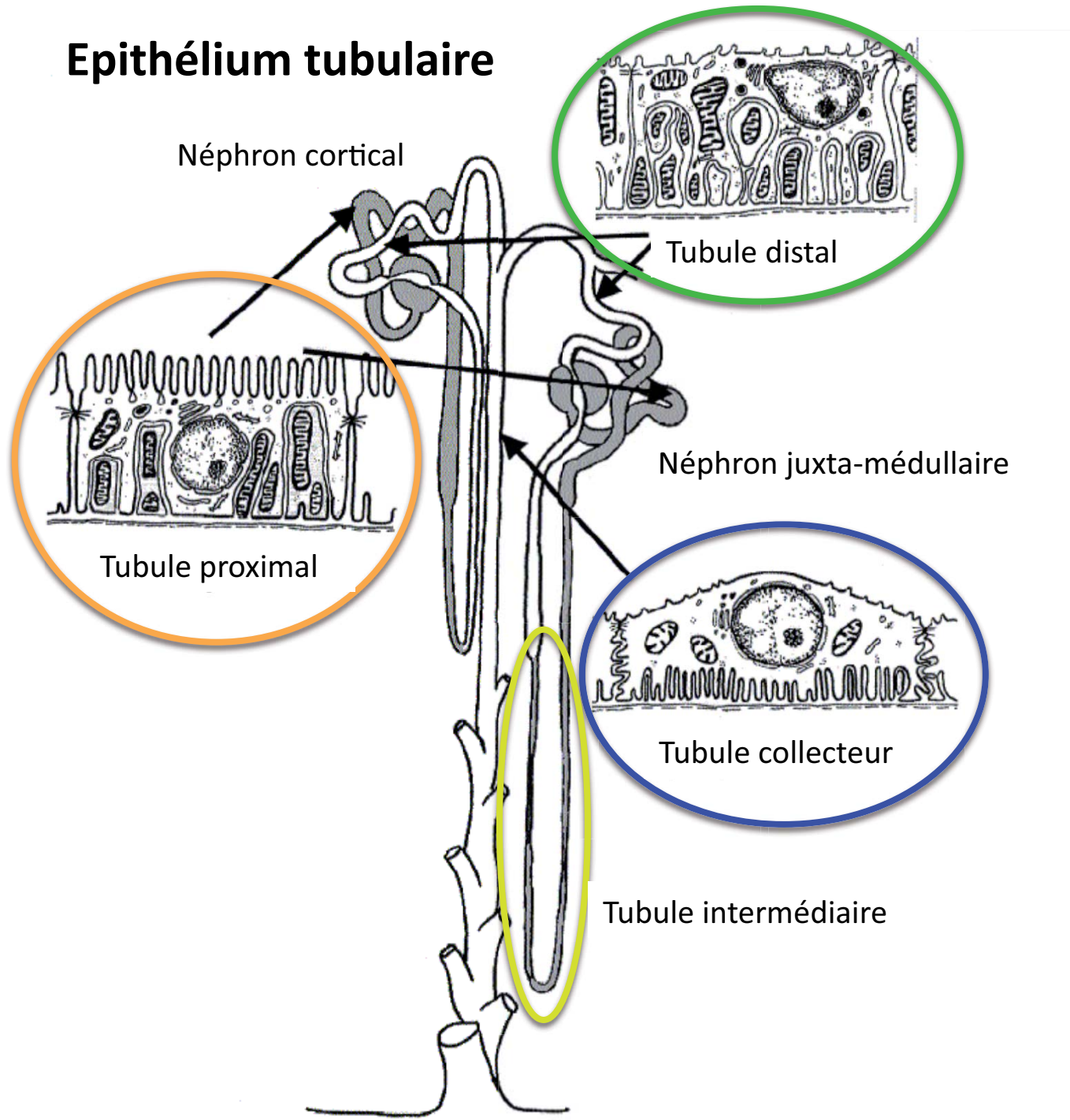
Profil 16S DNA RFLP de la flore cœcale de lapins issus d'élevage atteints d'Entéropathie Epizootique du Lapin (EEL) et d'élevages indemnes (> deux bandes spécifiques aux lapins atteints d'EEL) Source : Badiola et al. (2004) www.cuniculture.

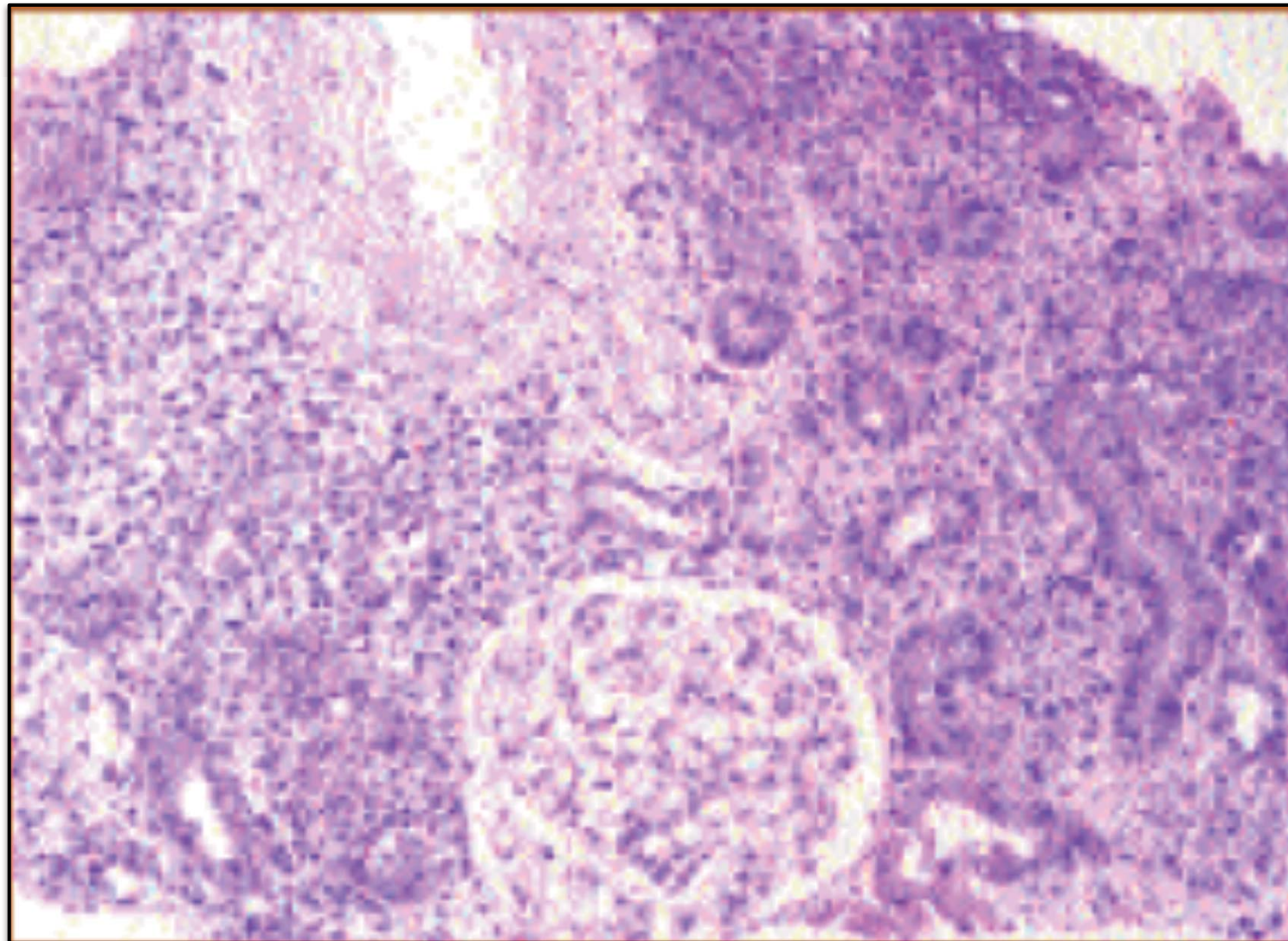


# Anatomie fonctionnelle des voies urinaires



# Epithélium tubulaire

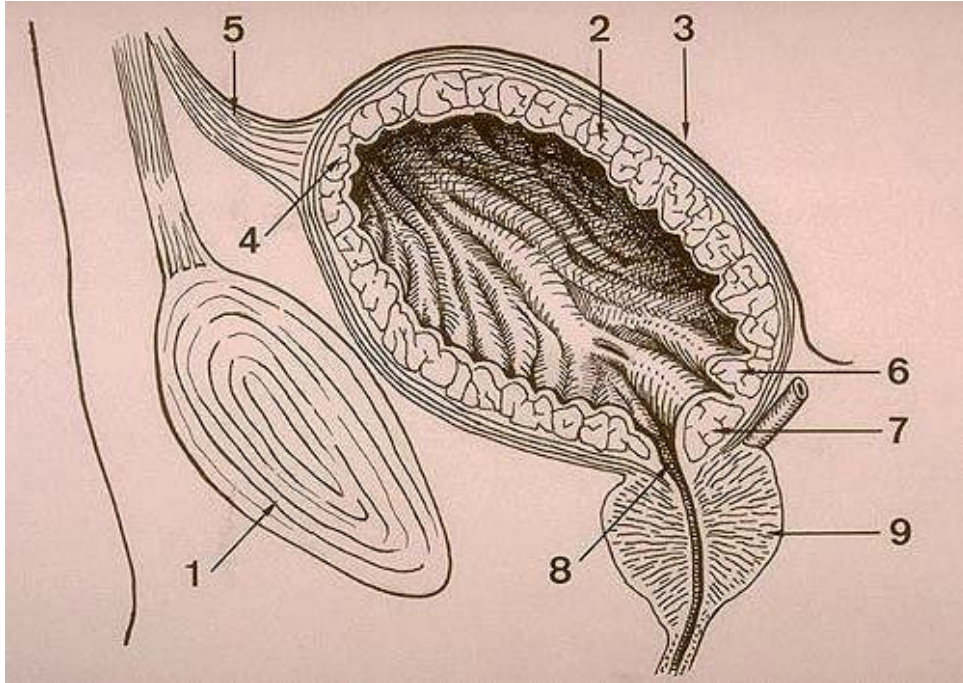




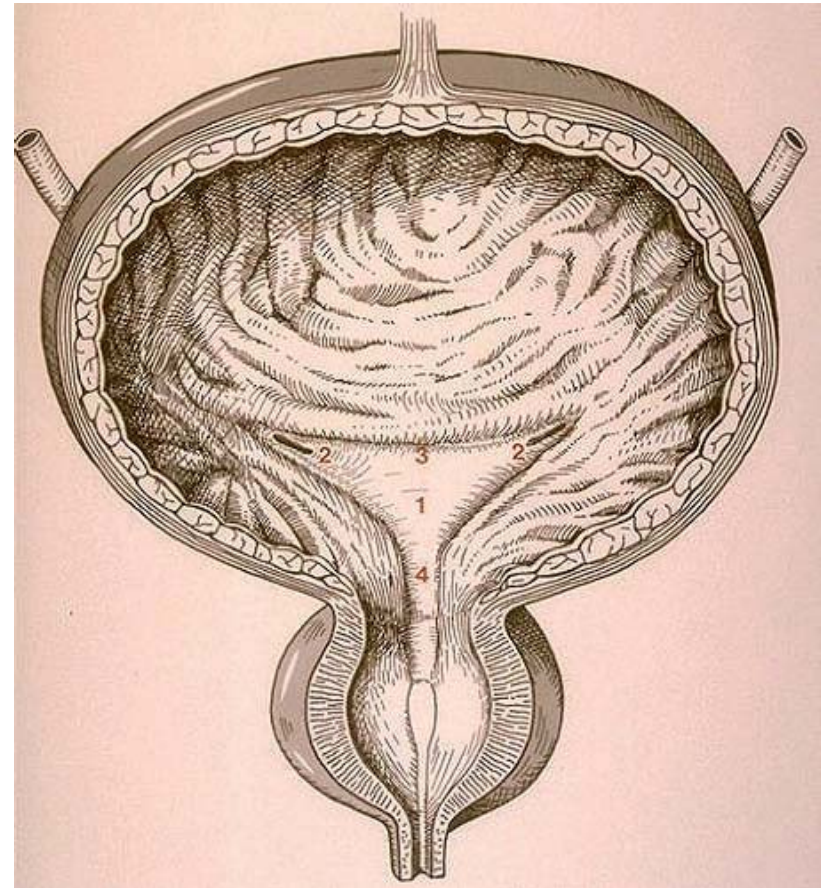
**Néphrite tubulo-interstitielle diffuse, sévère,  
composée principalement de polymorphonucléaires.**

Glomérule sans lésion notable. Fibroélastose artérielle modérée.  
Coloration hématoxyline-éosine. Grossissement 10 X.

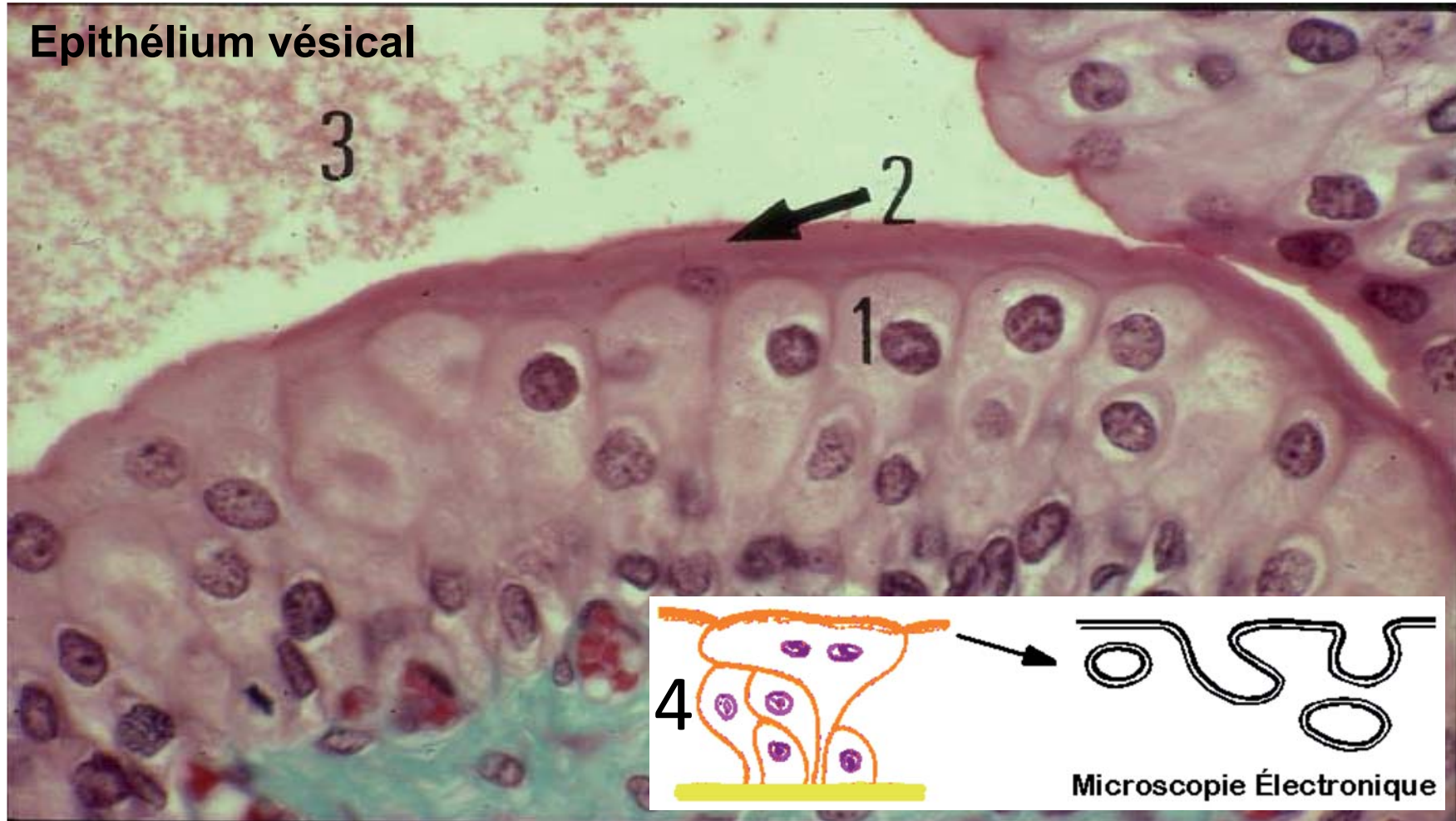
---



Cavité vésicale



## Epithélium vésical



(1) cellules en raquette présentant une condensation/différenciation au pôle apical (2) ou fausse-cuticule, colorée par l'érythrosine, réalisant une protection de l'épithélium contre la toxicité de l'urine (3). La membrane plasmique est riche en cérébrosides avec invaginations et vésicules fusiformes sous-jacentes exocytosées en période de réplétion vésicale (4). Elle présente des plaques hexagonales épaissies, riches en uroplakine III séparés par des espaces de membrane normale, structurées par le cytosquelette.

# Attributs de virulence des UPEC

Les attributs de virulence nécessaires aux souches responsables de cystites sont différents de ceux nécessaires aux souches responsables de pyélonéphrites.

Toute la panoplie des attributs de virulence est nécessaire pour franchir l'ensemble des étapes urétrite – cystite – ascendance urétérale – pyélonéphrite.

- **Un trait commun:** l'adhésion indispensable aux cellules uro-épithéliales (pas de pathogénicité sans phénotype adhésif).
- **Un trait discuté:** l'invasion cellulaire. Rôle en phase aiguë ? En phase chronique ?

Les souches d'*E. coli* responsables d'IU expriment deux catégories de structures supramoléculaires complexes de surface appelées pili ou fimbriae. Ces structures expriment à leur extrémité une ou plusieurs protéines constituant l'adhésine se liant à un récepteur à la surface cellulaire.

**Les pili de type 1** permettent l'adhésion à des résidus mannosylés décorant l'Uroplakine III, une glycoprotéine recouvrant la surface de l'épithélium vésical (Zhou G et coll. 2001. J. Cell Sci., 114:4095-4104)

**Les pili de type P (Pap)** permettent l'adhésion aux glycolipides des globoséries contenant le Gal- $\alpha$ -1-4-Gal exprimés à la surface de l'épithélium tubulo-pyélo-urétéral (Dodson KW et coll. 1993. PNAS, 90:3670-3674)

# Les UPEC ont longtemps été vus comme des pathogènes extracellulaires

La combinaison de modèles *in vitro* et *in vivo* a montré que ces isolats peuvent aussi exprimer un phénotype invasif dans les cellules **de l'épithélium vésical**

(Anderson GG, Palermo JJ, Schilling JD, Roth R, Heuser J, Hultgren SJ. 2003. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science* 301:105–1077;

Duncan MJ, Li G, Shin JS, Carson JL, Abraham SN. 2004. Bacterial penetration of bladder epithelium through lipid rafts. *J. Biol. Chem.* 279:18944–18951;

Eto DS, Gordon HB, Dhakal BK, Jones TA, Mulvey MA. 2008. Clathrin, AP-2, and the NPXY-binding subset of alternate endocytic adaptors facilitate FimH-mediated bacterial invasion of host cells. *Cell Microbiol.* 10:2553–67)

## ... et de L'épithélium tubulaire rénal

(Chassin C, Vimont S, Cluzeaud F, Bens M, Goujon JM, et al. 2008. TLR4 facilitates translocation of bacteria across renal collecting duct cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* 19:2364–74;

Pichon C, Hechard C, du Merle L, Chaudray C, Bonne I, et al. 2009. Uropathogenic *Escherichia coli* AL511 requires flagellum to enter renal collecting duct cells. *Cell Microbiol.* 11:616–28)

L'invasion des cellules de l'épithélium vésical a aussi été observée avec:

*Staphylococcus saprophyticus*

(Szabados F et coll. 2008. *FEMS Microbiol. Lett.*, 285:163-169)

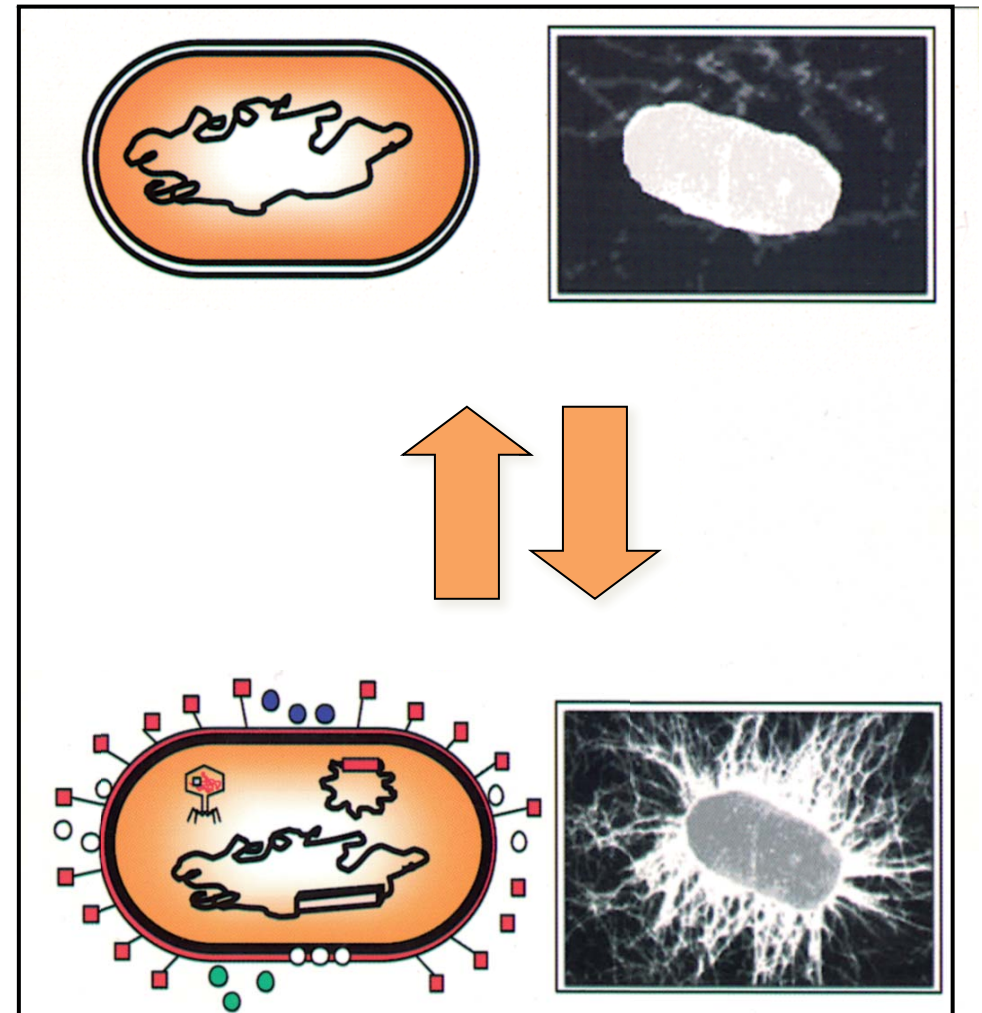
*Klebsiella pneumoniae* (Rosen DA et coll. 2008. *Infect. Immun.*, 76:3337-3345)

*Salmonella enterica* (Bishop BI et coll. 2007. *Nat. Med.*, 11:625-630)

# Etre ou ne pas être pathogène

## Identité génomique des UPEC

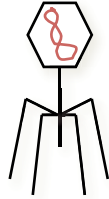
Traits génétiques et moléculaires définissant le degré de diversité assurant la transition entre une bactérie commensale et une bactérie pathogène





# Mécanismes impliqués dans l'évolution des génomes bactériens

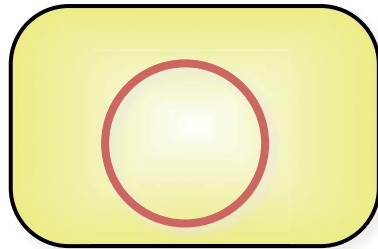
Bactériophages



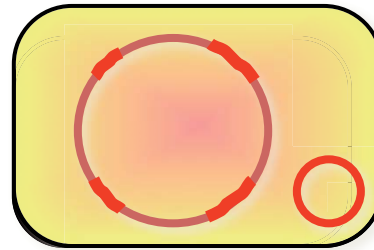
Ilôts génomiques  
Ilôts de pathogénicité (PAI)



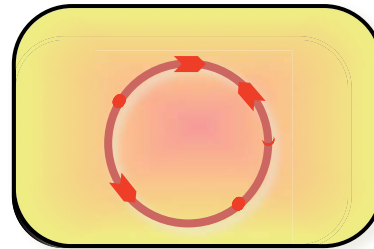
Plasmides



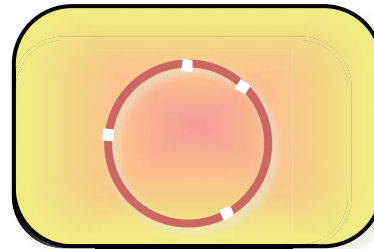
Chromosome bactérien  
(commensal)



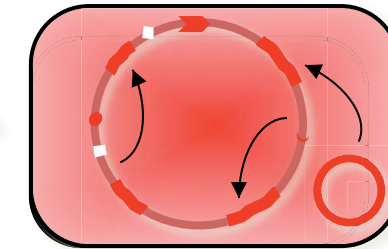
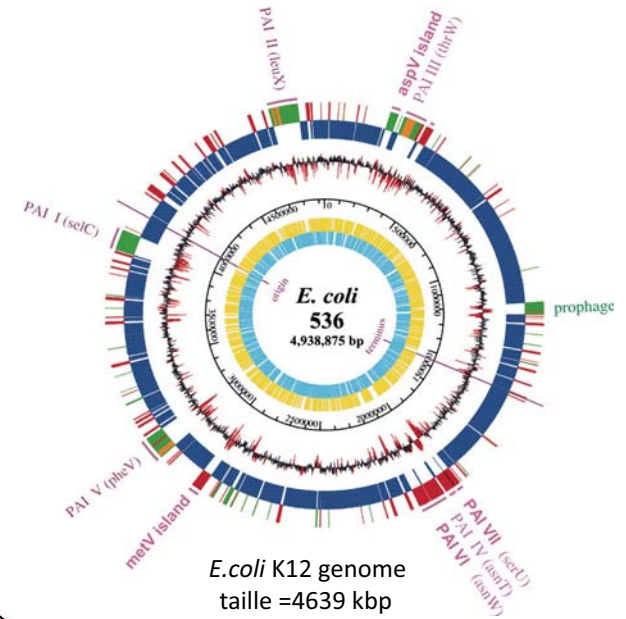
Acquisitions géniques



Réarrangements / Mutations



Réduction génomique



Génome mosaïque du pathogène  
+ hiérarchie de régulation

# Escherichia coli

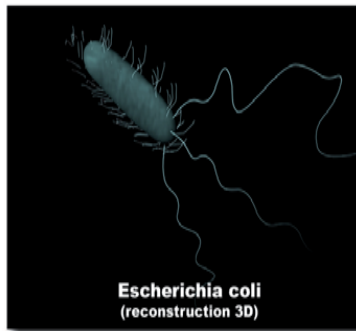
Variants commensaux  
non pathogènes

## E. coli entéropathogènes

E. coli Enterotoxinogènes (ETEC)  
E. coli Enteropathogènes (EPEC)  
E. coli Entérohémorragiques (EHEC)  
E. coli Entéroinvasifs (EIEC)  
*E. coli* Entéroaggrégatifs (EAEC)  
*E. coli* Adhérents-invasifs (AIEC)

## E. coli extraintestinaux (ExPEC)

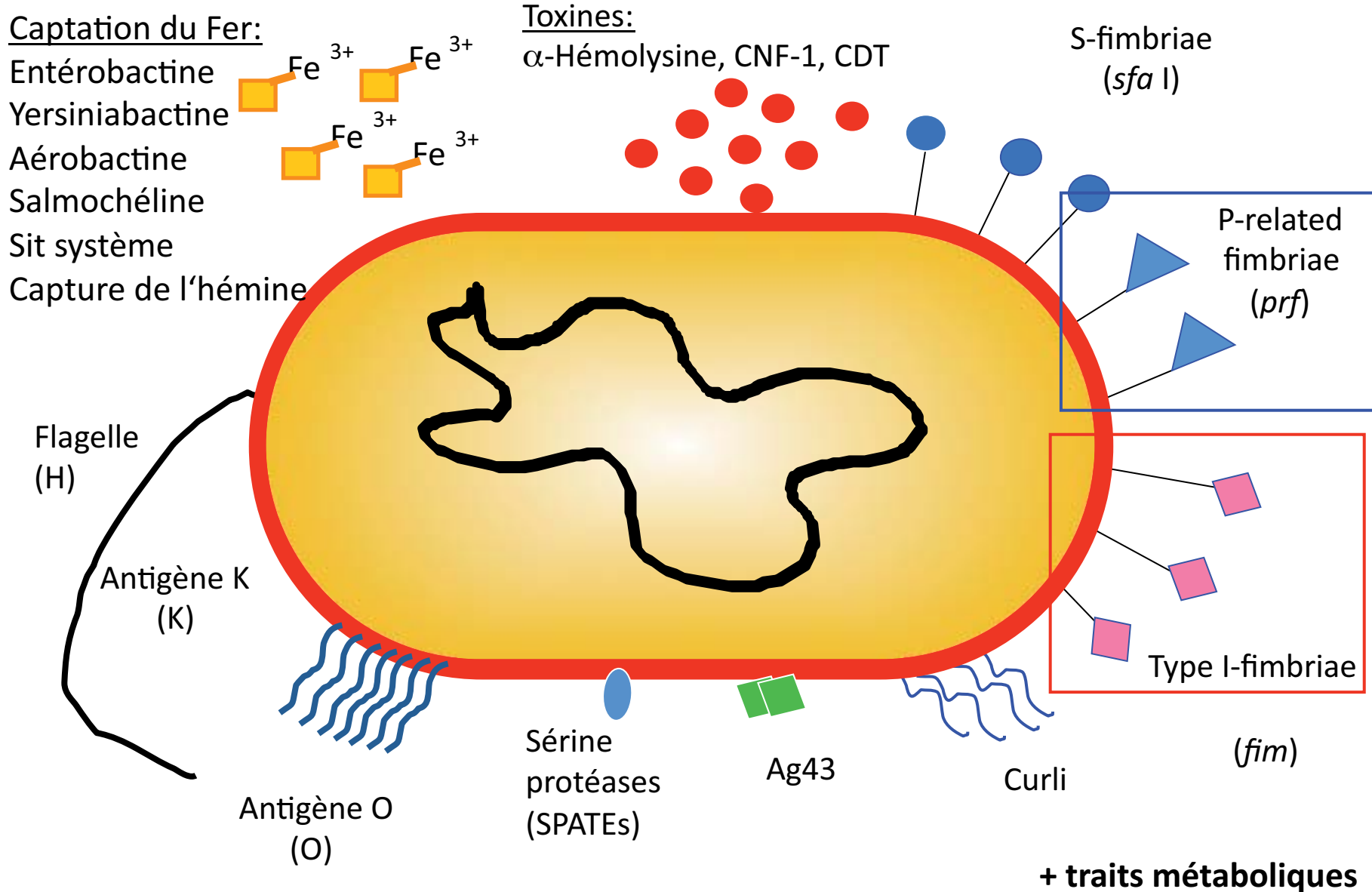
*E. coli* uropathogènes (UPEC)  
*E. coli* responsables de méningites  
néonatales (MNEC)  
*E. coli* responsables de  
(SEPEC)



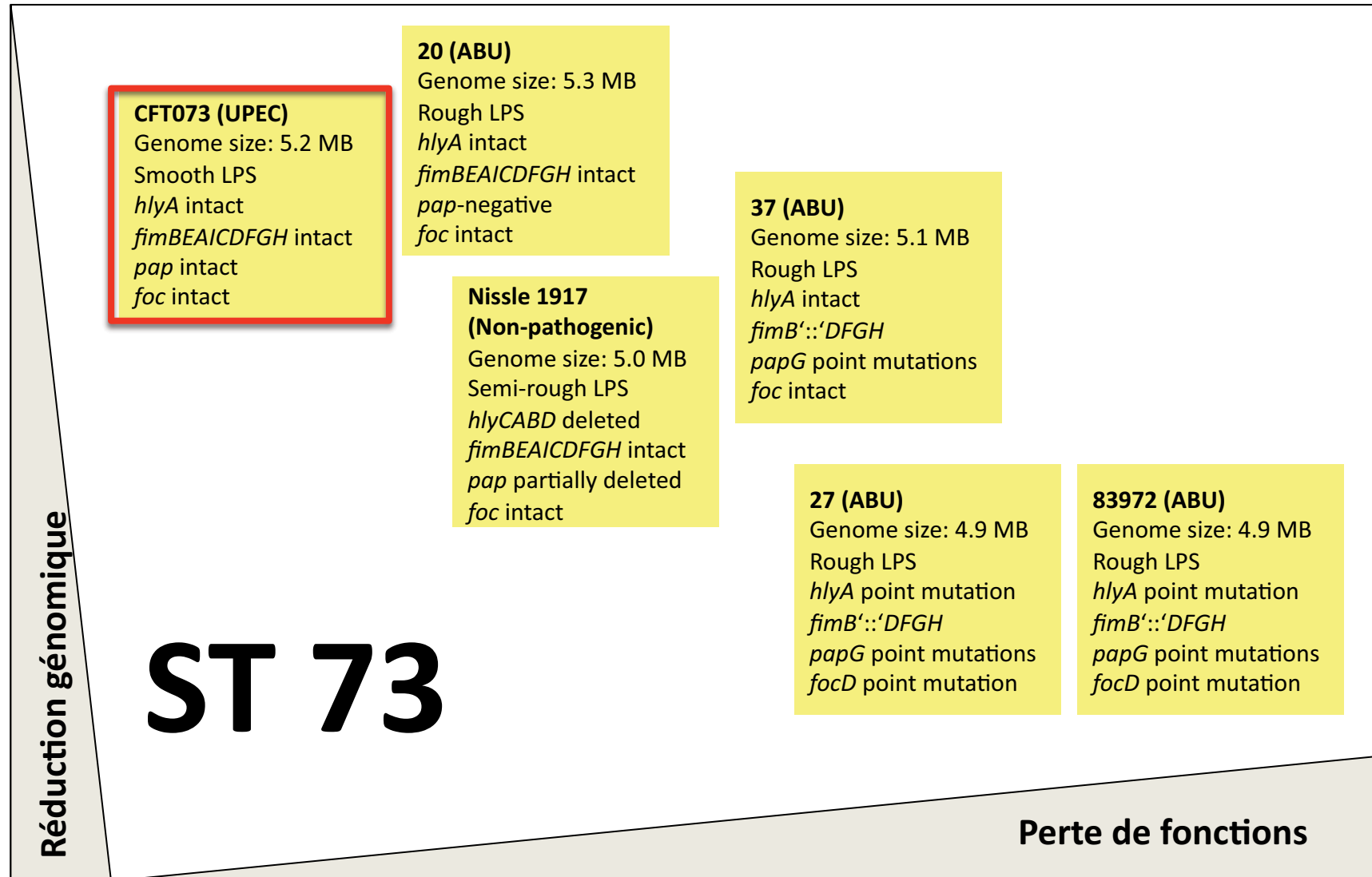
„Host range“: Homme, mammifères, oiseaux



# Facteurs de pathogénicité des UPEC

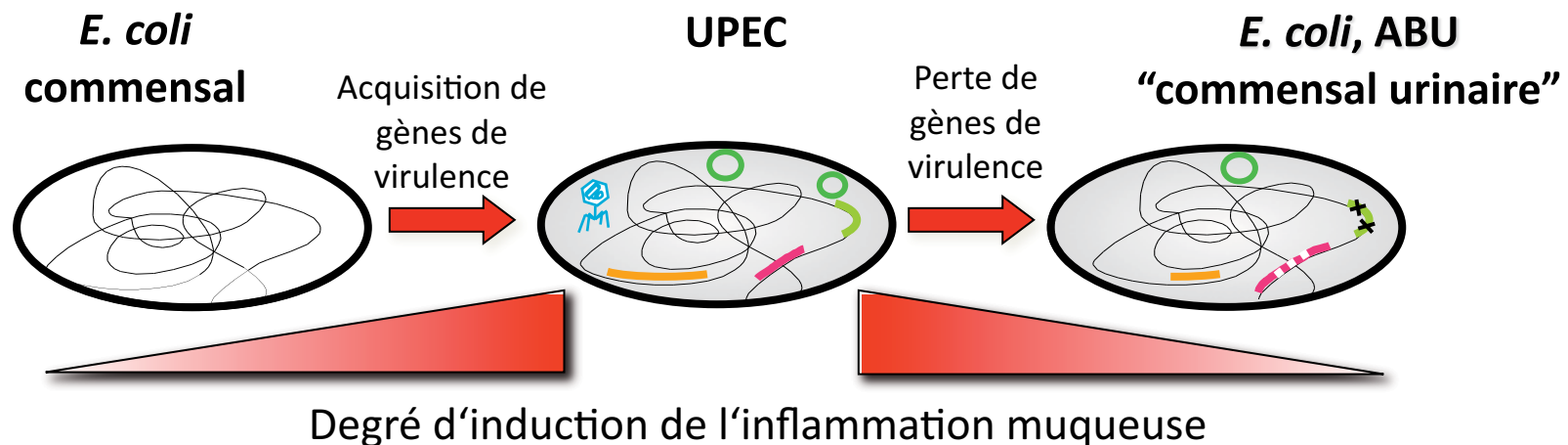


# Réduction génomique impliquée dans l'évolution des souches ABU appartenant au groupe (ML)ST73



# Conclusions – Caractérisation des isolats ABU

- Les isolats ABU diffèrent des isolats UPEC par l'absence ou l'altération de gènes caractéristiques des souches causant des infections hautes (pyélonéphrite).
- De nombreuses souches ABU ont à l'évidence évolué à partir de souches d'UPEC par dégradation et/ou perte génomique.
- Ce processus évolutif réductif a donné lieu à l'émergence de souches "furtives" déclenchant peu d'inflammation, donc mieux tolérées, voire persistantes.



# **Infections du bas appareil urinaire**

Cystite

Une problématique dominante: la récurrence

Étiologie exogène ?

Etiologie endogène ?

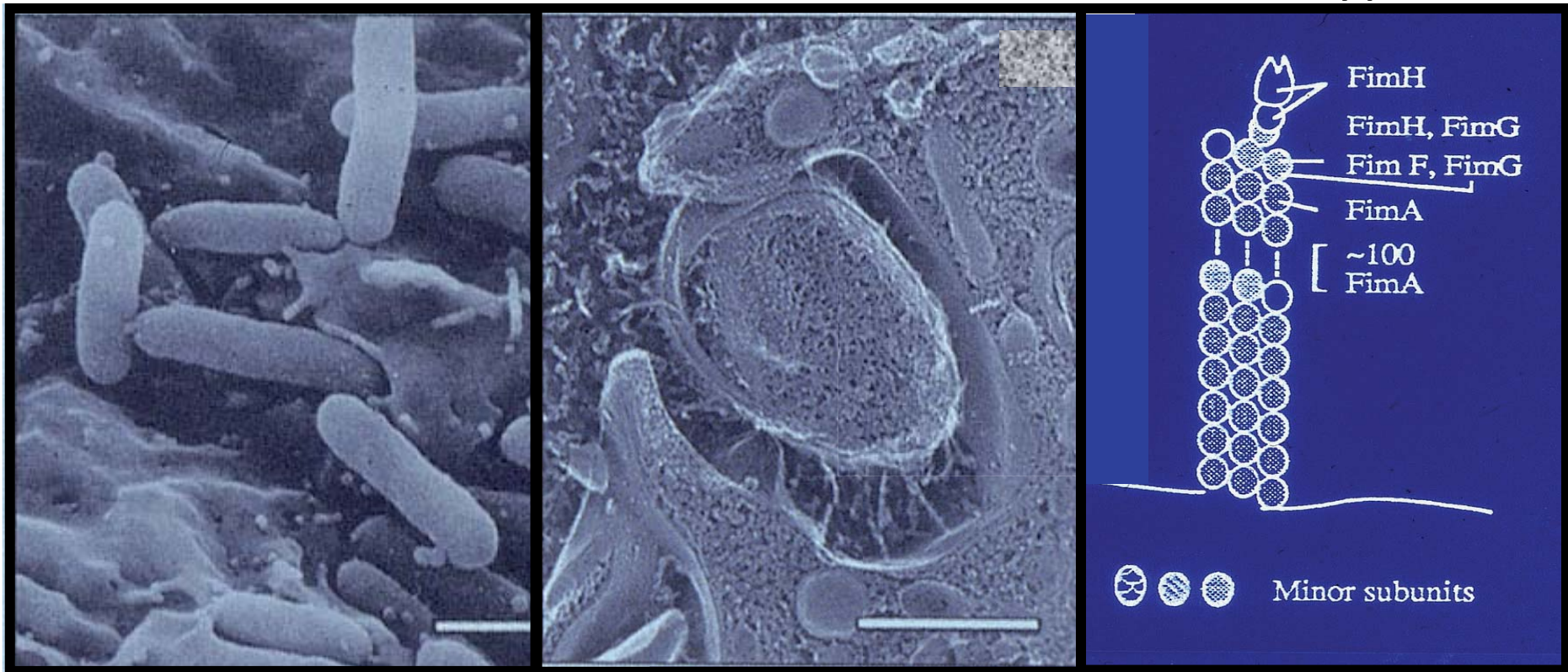
**L'ADHERENCE PEUT MENER A L'INTERNALISATION BACTERIENNE:  
L'ADHESINE FimH DES PILI DE TYPE 1 d' *E. coli* PERMET  
L'ENTREE DES BACTERIES DANS L'EPITHELIUM VESICAL**

S. Hultgren

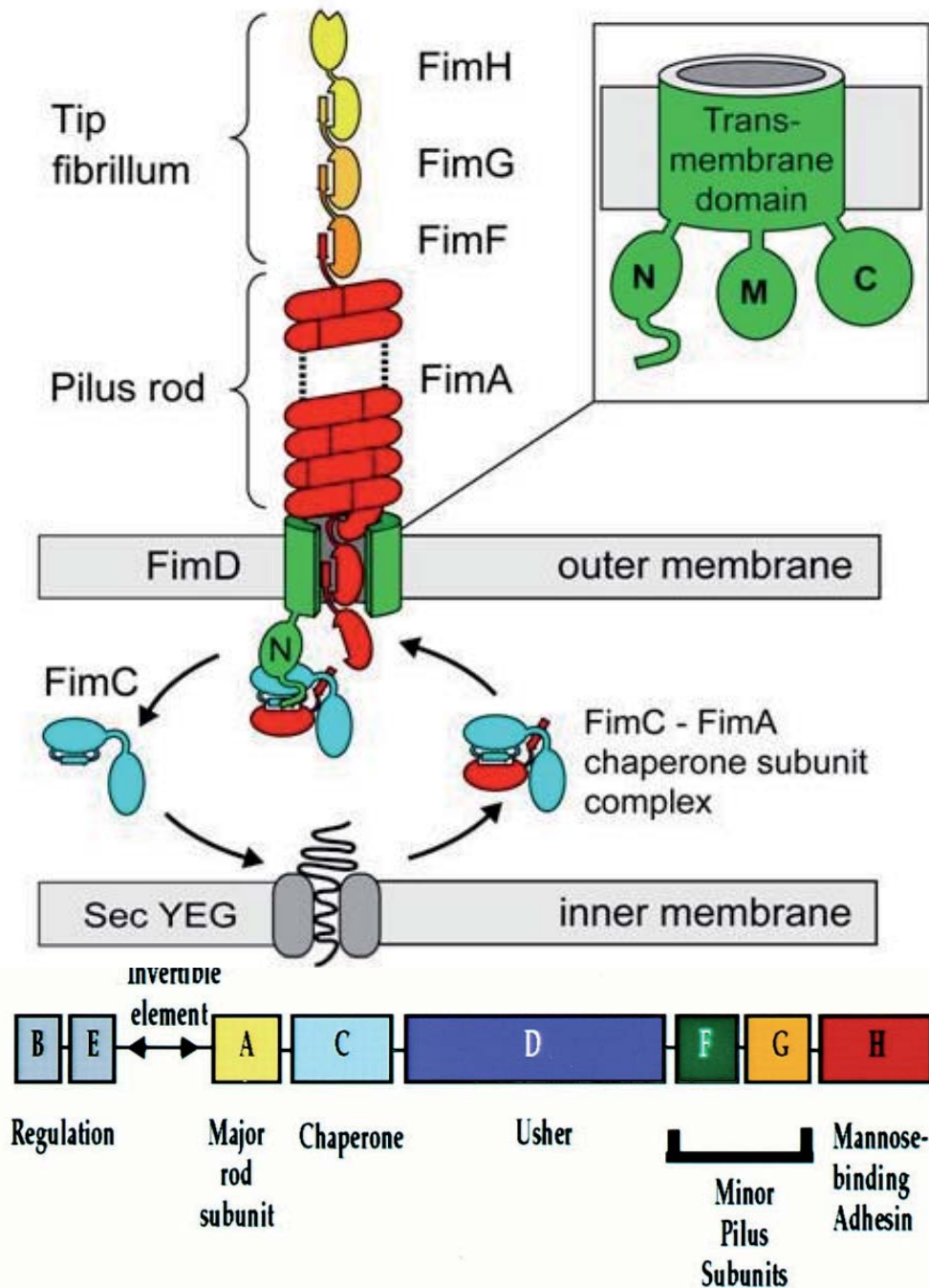


Cellules vésicales

Pili de Type1



# Biogénèse des pili de type 1 chez *E. coli*



Assemblage du pilus à travers la membrane externe grâce à un système de transport « chaperon-usher » (CU) constituant une plateforme permettant d'assembler le pilus.

Les CU-pili sont constitués par la polymérisation non-covalente de plusieurs centaines (milliers) de sous-unités de piline correspondant une structure « immunoglobulin-like » incomplète dépourvue du feuillet B C-terminal.

Dans le périplasm, un chaperon dédié assiste le repliement de la sous-unité de piline en apportant le feuillet B manquant (« donor strand complementation »). Les complexes chaperon-piline sont recrutés sur la plateforme d'assemblage du pilus (« usher ») qui catalyse la polymérisation des sous-unités et assure la translocation du pilus à la surface de la bactérie. La polymérisation des sous-unités de piline survient grâce à un mécanisme de complémentation impliquant les 10-20 résidus N-terminaux (N-terminal extension = Nte) de la prochaine sous-unité dans le processus d'assemblage. Le Nte de la sous-unité suivante recrutée s'insère dans le sillon laissé par le feuillet manquant dans la sous-unité précédemment assemblée, en compétition-remplacement du chaperon. Echange chaperon pour sous-unité de piline sans besoin de source d'énergie.



# **Un nouveau paradigme pour la cystite récidivante**

Invasion des cellules vésicales et formation de réservoirs intracellulaires quiescents

La durée de vie moyenne des cellules de l'épithélium vésical est de 6 mois !

Compatible avec la constitution de niches intracellulaires stables (biofilms intracellulaires)

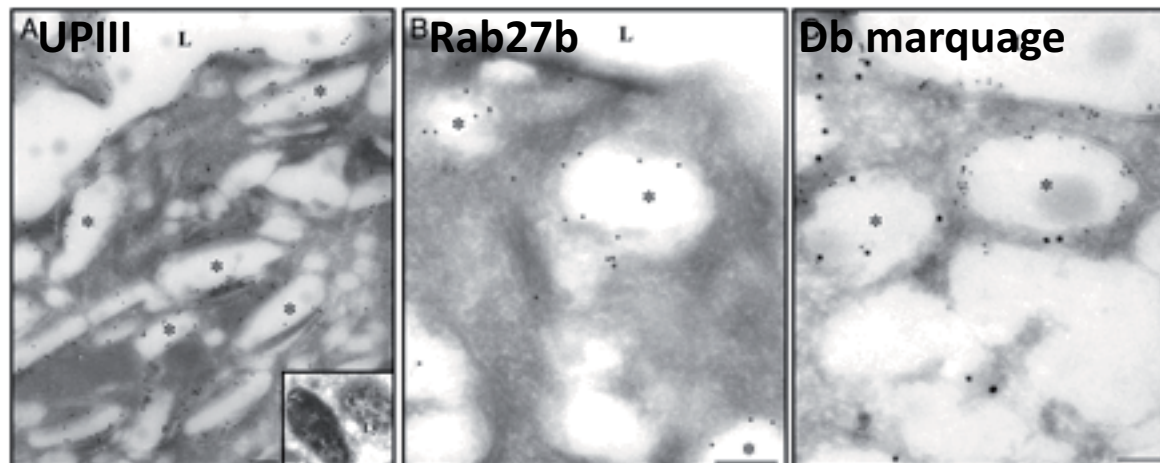
Réinfection endogène contre réinfection exogène

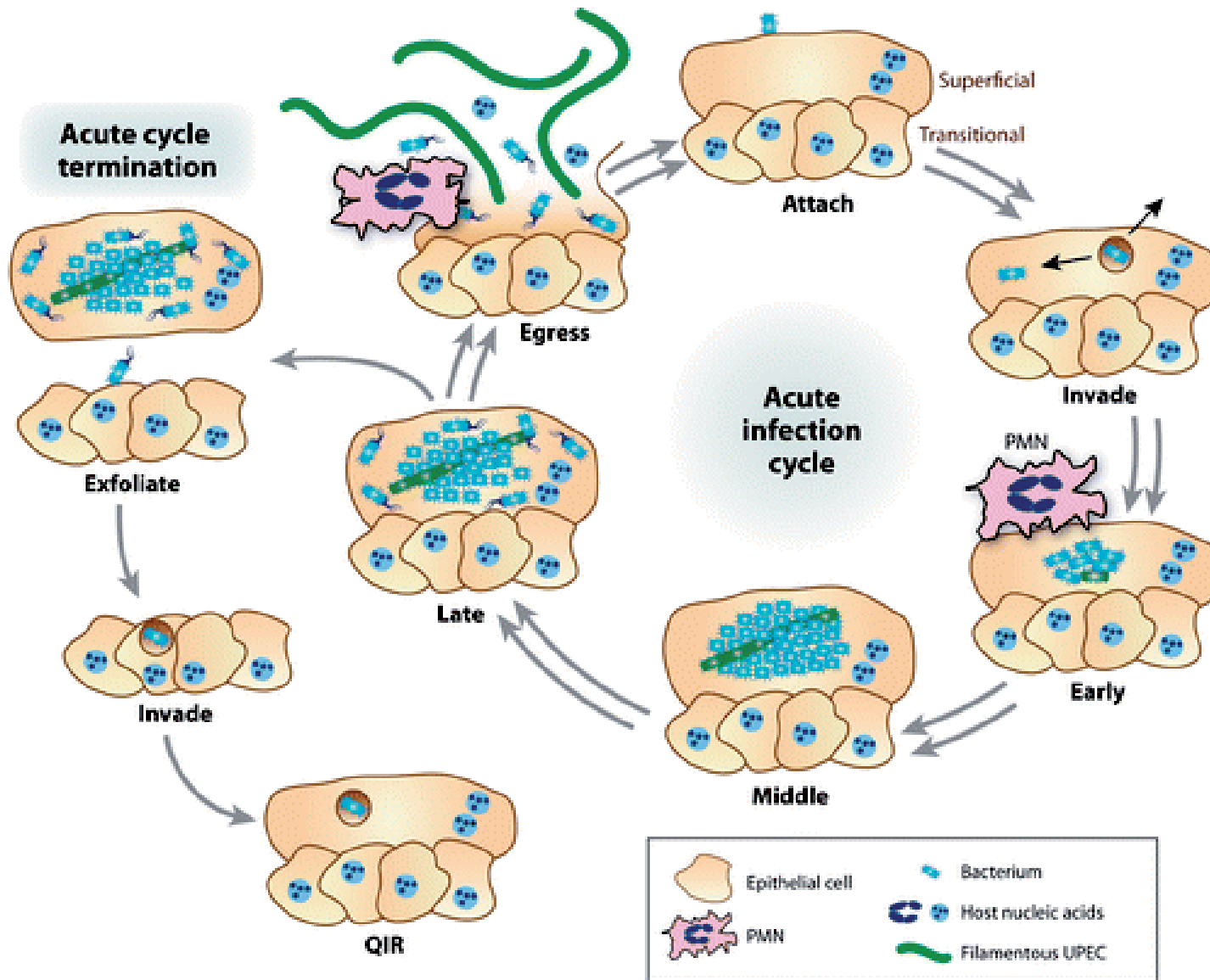
# Un processus inédit d'invasion (endocytose + exocytose)

Les UPEC ne semblent pas capables d'induire leur propre invasion dans les cellules épithéliales contrairement à des bactéries invasives « professionnelles » (*Shigella*, *Salmonella*, *Listeria*)

L'adhérence induite par les pili est nécessaire mais pas suffisante à la survenue du processus d'internalisation (Justice SS et coll. 2006. Infect. Immun., 74:4793-4800)

Des données récentes indiquent que les UPEC sont endocytés par une voie dépendante de Rab27b qui correspond à des repliements-vésicules fusiformes faisant normalement la navette intérieur-extérieur vers la membrane de l'apex cellulaire. Ces repliements-vésicules trafiquent en réponse à la réplétion vésicale pour maintenir l'intégrité de la surface de l'épithélium vésical. En réponse à ce processus, une partie des bactéries endocytées sont naturellement exocytosées et rejetées dans la lumière vésicale (Bishop BL et coll. 2007. Nat.Med., 13:625-630)



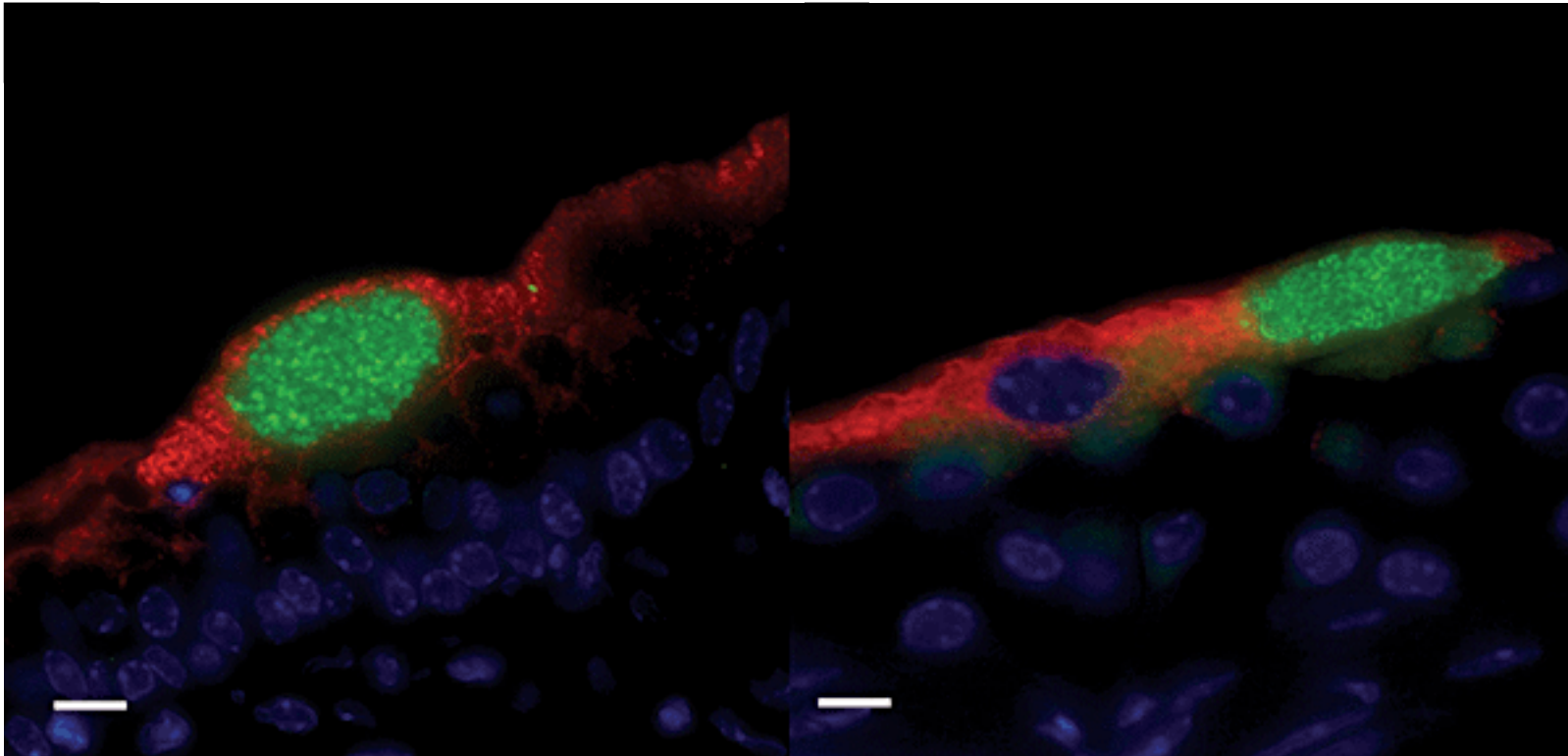


 Hunstad DA, Justic SS. 2010. *Annu. Rev. Microbiol.* 64:203–21

(D'après Justice SS et coll. 2004. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 101:1333-1338)

# Biofilms intracellulaires ?

(Wright KJ et coll. 2007. Cell.Microbiol.,9:2230-2241)



UPEC expriment des pili de type 1 servant à adhérer à et envahir les cellules superficielles de l'épithélium vésical.

Dans le compartiment intracellulaires, les bactéries se divisent rapidement et forment une volumineuse poche d'endocytose (intracellular bacterial community, IBC) dans laquelle les bactéries expriment des fonctions retrouvées au sein des biofilms, en particulier le Quorum Sensing. Ces bactéries expriment encore des pili de type 1 qui sont nécessaires à la formation d'IBCs. Après 4-6 heures les IBCs se disloquent et les bactéries se dispersent.

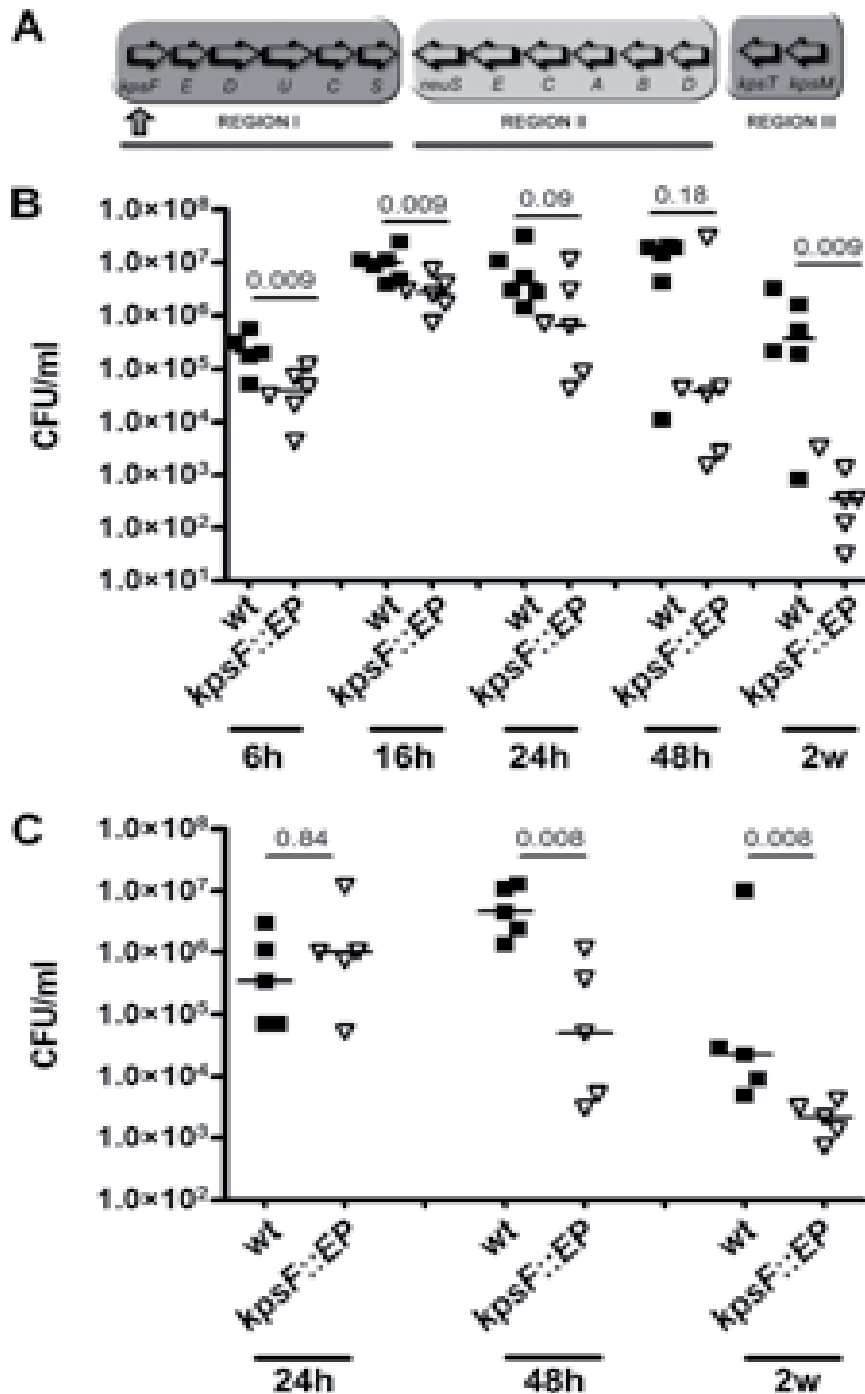
# Quels sont les facteurs assurant le maintien des Communautés Bactériennes Intracellulaires (IBC) ?

INFECTION AND IMMUNITY, Mar. 2010, p. 963–975 Vol. 78, No. 3  
0019-9567/10/\$12.00 doi:10.1128/IAI.00925-09 Copyright © 2010, American  
Society for Microbiology.

## **Polysaccharide Capsule and Sialic Acid-Mediated Regulation Promote Biofilm-Like Intracellular Bacterial Communities during Cystitis**

Gregory G. Anderson,<sup>1</sup>† Carlos C. Goller,<sup>2</sup> Sheryl Justice,<sup>3</sup> Scott J. Hultgren,<sup>1</sup>  
and Patrick C. Seed<sup>2</sup>

\*Department of Molecular Microbiology, Washington University, St. Louis,  
Missouri<sup>1</sup>; Department of Pediatrics, Center for Microbial Pathogenesis, Duke  
University, Durham, North Carolina<sup>2</sup>;  
Center for Microbial Pathogenesis, The Research Institute at Nationwide  
Children's Hospital, Columbus, Ohio<sup>3</sup>



Unencapsulated UPEC has neutrophil-dependent and -independent fitness defects. (A) Organization of the capsule gene locus. Region I genes encode capsule assembly and export factors. Region II encodes synthesis factors. Region III products are involved in capsule export.

Region I interruption (strain UTI89 *kpsF*::EP185) is designated by the upward-pointing arrow. Deletions of region I ( $\Delta$ kps) and region II ( $\Delta$ neu) used in later experiments are indicated by lines below the diagram. (B and C) CFU counts of isolates UTI89 (WT; closed squares) and UTI89 *kpsF*::EP185 (open triangles) in infected bladders at time points between 6 h and 2 weeks in female C3H/HeN (TLR4+) and C3H/HeJ (TLR4-) mice, respectively. Horizontal lines indicate the median values for the groups. P values were calculated using the Mann-Whitney nonparametric test.

# Infections du haut appareil urinaire



S. Normark

Ascendance, adhésion et colonisation du haut tractus urinaire

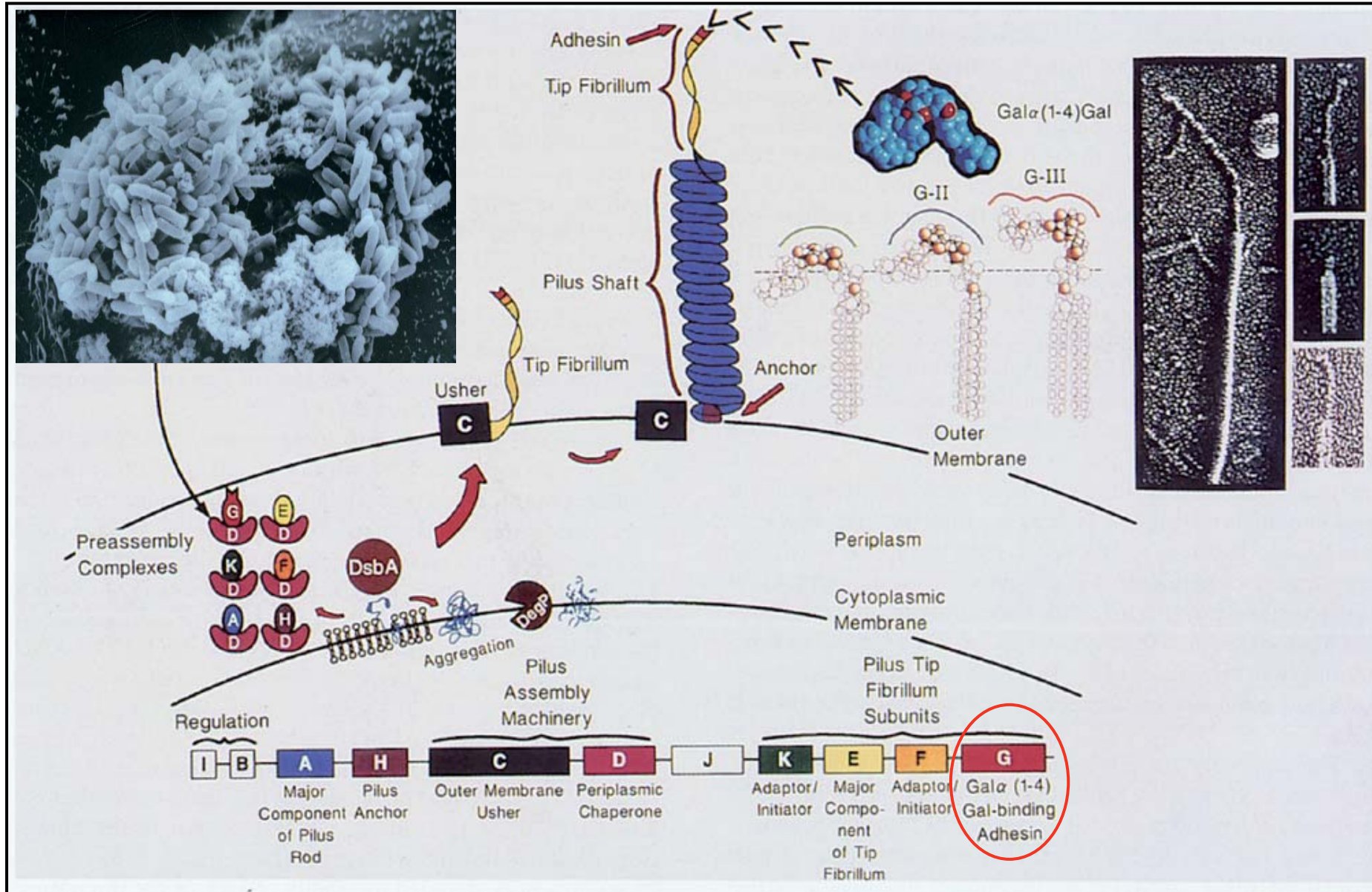
Rupture de la barrière épithéliale

Inflammation et destruction

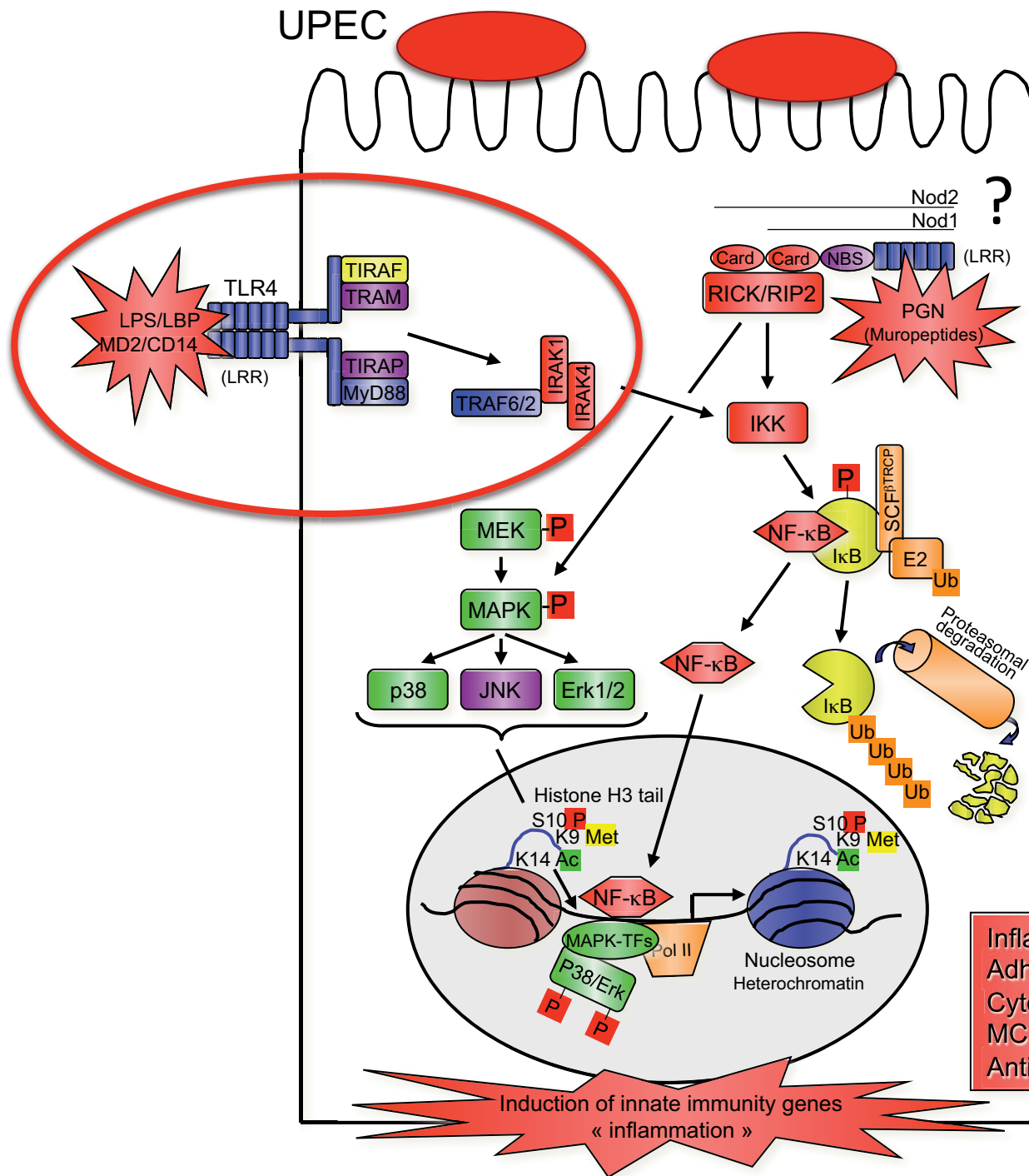
Pyélonéphrite

Une problématique dominante: la récurrence et la chronicité

# Opéron *pap* et biogénèse des pili Pap







Les cellules épithéliales du tractus urinaire, en première ligne dans l'interaction UPEC – hôte, participent à la réponse immunitaire innée pro-inflammatoire

Rôle de TLR4 majeur: Souris C3H/HeJ (TLR4<sup>-/-</sup>) plus sensibles à l'infection par UPEC (Hagberg L et coll. 1984. Infect. Immun., 46:839-844)

Faible réponse au LPS des cellules épithéliales urinaires (séquestration TLR-4 basolatérale, absence de CD14 & MD2)

**Signalisation alternative TLR-4 dépendante ?**

Cellule épithéliale tubulaire

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

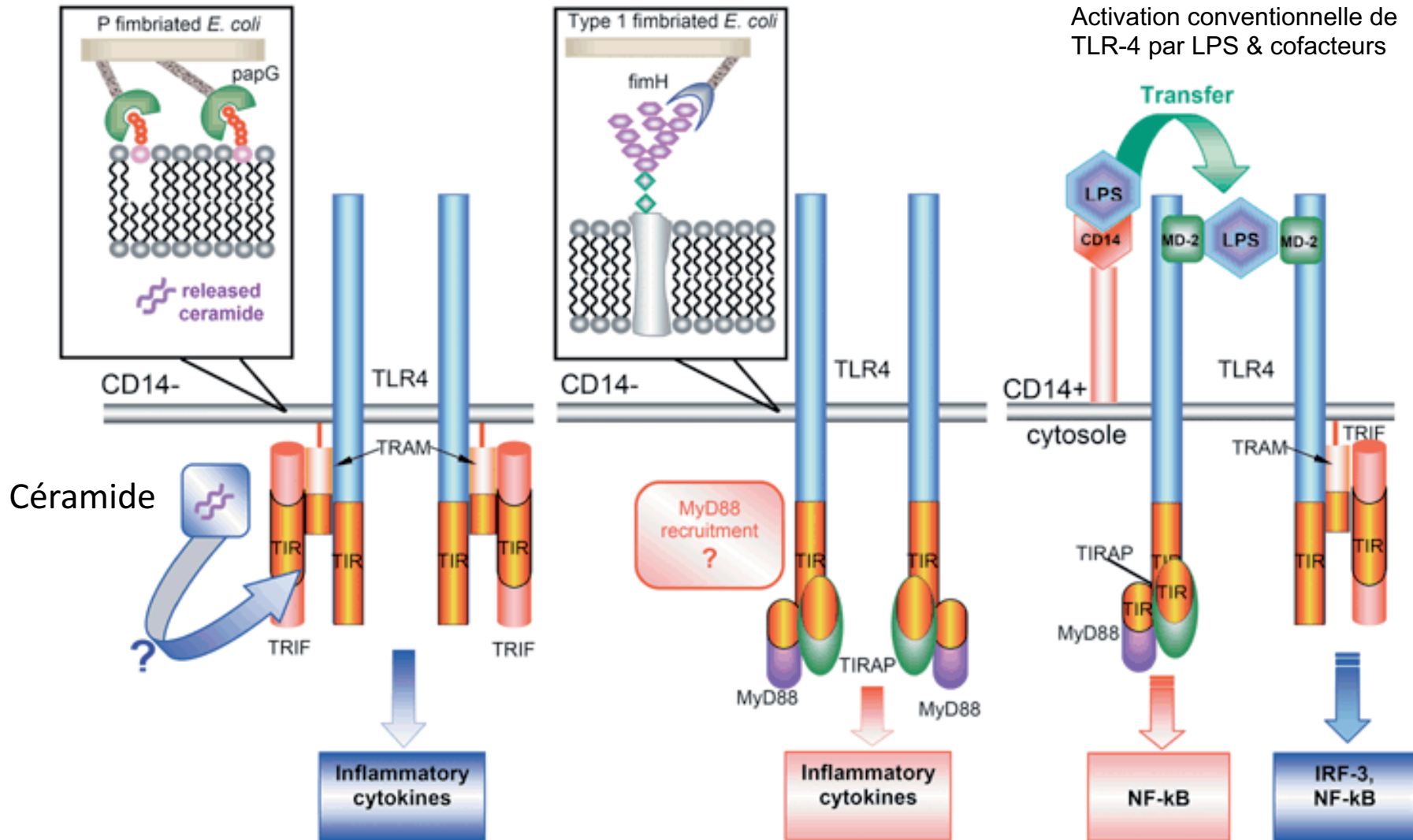
Induction of innate immunity genes « inflammation »

# Activation non conventionnelle de TLR-4 par UPEC (activation possible en absence de CD14 et MD2)

Activation des sphingomyélinases membranaires

FimH ligand de TLR-4 ?

Activation conventionnelle de TLR-4 par LPS & cofacteurs



Hedlund M et coll. 1998. *J. Exp. Med.*, 183:1037-1044  
Fischer H et coll. 2007. *Cell. Microbiol.*, 9:1239-1251

Mossman KL et coll. 2008. *J. Immunol.*, 181:6702-6706

## **Une voie parallèle de signalisation pro-inflammatoire dans les cellules uro-épithéliales exposées au LPS d'*E. coli* ?**

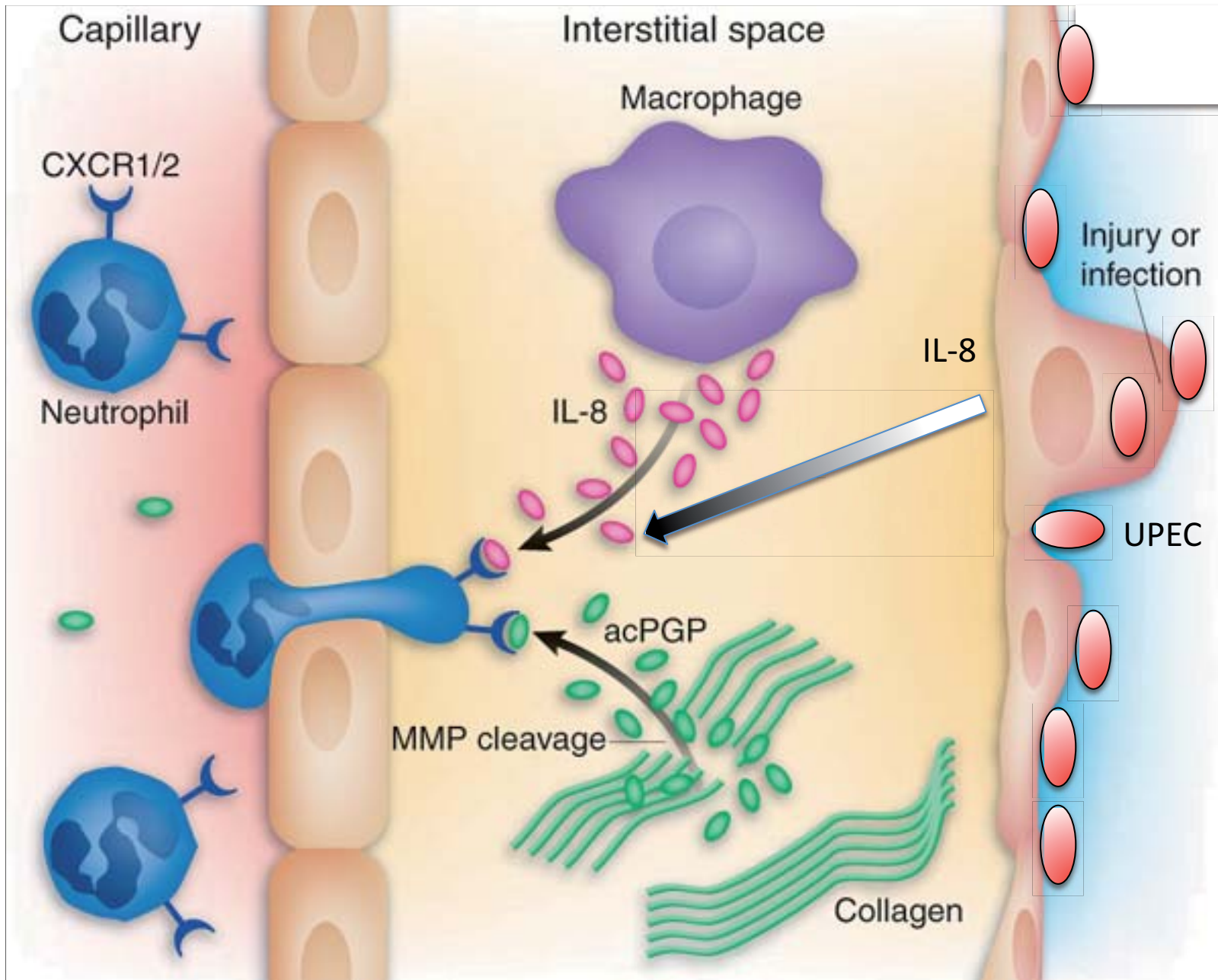
Des cellules vésicales exposées au LPS d'*E. coli* expriment très rapidement des taux élevés de deux cytokines pro-inflammatoires: IL-6 et IL-8.

L'exposition induit des flux calciques cytosoliques suivis de l'augmentation de l'AMP cyclique (cAMP) cellulaire.

La «cAMP response element binding protein » ou CREB est phosphorylée et induit la transcription à haut niveau des gènes de l'IL-6 et de l'IL-8.

La sécrétion de l'IL-6 apparaît plus rapide via l'activation de cette voie que de la voie canonique d'activation de TLR-4 (Song J et coll. 2007. PLoS Pathog., 3:e60).

**Un TLR « orphelin » exprimé chez la souris (pseudogène chez l'homme), TLR11** est impliqué dans la résistance à l'infection urinaire ascendante expérimentale murine (Zhang D et coll. 2004. Science, 303:1522-1526).



Endothelium

Tubular epithelium

## Vers de nouveaux paradigmes (1)

L'hypersensibilité des souris C3H/HeJ (TLR-4 -/-) à l'infection du tractus urinaire par UPEC a été largement rapportée à l'incapacité de cette lignée de souris à recruter et activer les polynucléaires neutrophiles nécessaires à l'éradication des bactéries uropathogènes (Shahin RD et coll. 1987. J. Immunol., 138:3475-3480).

## Des mécanismes complémentaires de protection TLR-4-dépendants ?

Les souris C3H/HeJ (TLR-4 -/-) présentent un titre 10 fois plus élevé de bactéries intravésicales 60 mn après infection expérimentale par *E. coli* ou *K. pneumoniae* en comparaison de souris C3H/HeN (TLR-4 sauvages).

L'accumulation de cAMP dans les cellules épithéliales vésicales TLR-4 +/+ inactive Rac-1, une petite GTPase essentielle dans la réorganisation du cytosquelette nécessaire à l'invasion cellulaire (Song J et coll. 2007. Cell Host Microbe, 1:287-298).

**TLR-4 contrôle aussi le processus d'exocytose** (Song J. 2008. Curr. Opin. Microbiol., 11:66-73) des vésicules fusiformes assurant le relargage cAMP-dépendant des bactéries vers la lumière vésicale (Bishop BL et coll. 2007. Nat. Med., 13:625-630)

## **Vers de nouveaux paradigmes (2)**

**Les UPEC régulent négativement la réponse innée pro-inflammatoire qu'ils induisent en colonisant l'uro-épithélium.**

Nombreuses évidences résumées dans Hunstad DA & Justice SS. 2010. Ann. Rev. Microbiol., 64:203-221):  
altérations des chaînes latérales du LPS, chaperon OMP SurA, ...

Récemment, la souche référence d'UPEC CFT073 a été montrée capable de coder une protéine « TIR-like » appelée TcpC contenant un domaine récepteur Toll/IL-1 Capable d'interagir avec MyD88 et de bloquer la voie NF- $\kappa$ B sous-jacente.

Un mutant TcpC – montre une capacité de colonisation urinaire et de destruction inflammatoire tissulaire diminuée.

40 % des isolats responsables de pyélonéphrite ont été montrés porteurs du gène TcpC, moindre fréquence observée chez les isolats responsables de cystite ou de Bactériuries asymptomatiques (Cirl C et coll. 2008. Nat. Med., 14:399-406).

**Logique d'une balance pro/anti-inflammatoire ?**

## Trois inconnues majeures:

Les mécanismes moléculaires de l'infection ascendante (de la vessie aux cavités pyélo-calicielles) des UPEC

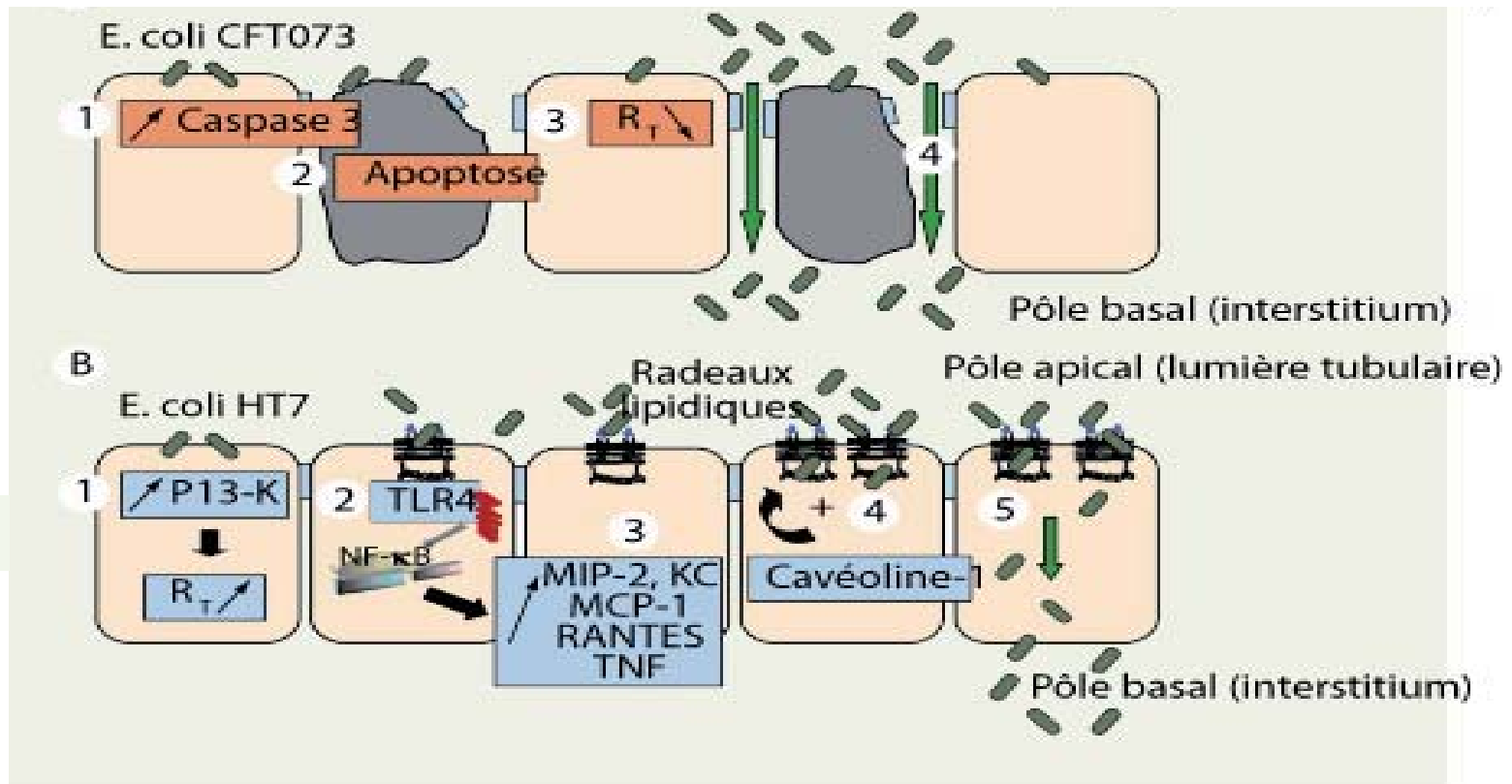
Les mécanismes de colonisation/invasion des cavités urinaires au delà de l'adhésion:

- Formation de biofilms ?
- Rupture épithéliale/invasion ?
- Déclenchement et conséquences de l'inflammation ?
- Persistance intracellulaire ?

Les bases génétiques et moléculaires de la récurrence et de la chronicité amenant aux néphropathies interstitielles chroniques et à l'atrophie rénale

# Mécanismes de translocation des UPEC au travers de l'épithélium tubulaire rénal (Chassin C & Vandewalle A. 2009. Médecine/Science, 25:224-226)

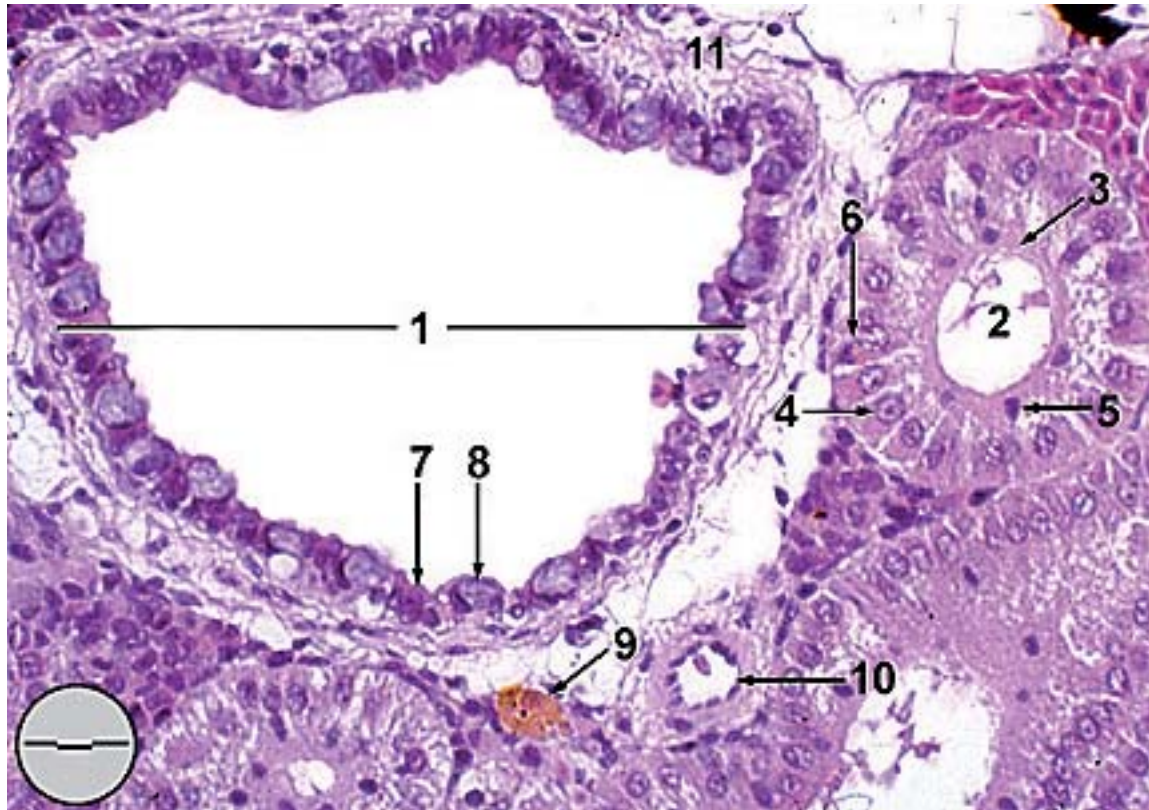
Cytotoxicité



Transcytose

Les UPEC franchissent la barrière du tubule rénal soit en altérant l'intégrité de l'épithélium tubulaire rénal soit par un mécanisme de translocation des bactéries au travers de l'épithélium intact. A. La souche cytolitique d'UPEC CFT073 induit une activation de la caspase 3 active (1), conduisant à une apoptose des cellules du tubule rénal (2) qui est associée à une perte de l'intégrité des jonctions serrées, caractérisée par une chute de la résistance transépithéliale ( $R_T$ , 3) responsable du passage paracellulaire (4) des bactéries du pôle apical (lumière tubulaire) vers le pôle basal (interstitium). B. La souche d'UPEC HT7 non cytolitique induit une activation de la PI3-kinase (PI3-K) et une augmentation de  $R_T$  (1). L'adhésion des UPEC à la surface des cellules entraîne une activation de la voie de signalisation dépendante du récepteur TLR4, conduisant à l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (2) et à la stimulation de la production de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines (3). L'activation cellulaire dépendante de TLR4 est associée à un recrutement membranaire de la cavéoline 1 des radeaux lipidiques (4) et à une augmentation de la fluidité membranaire (5) favorisant la translocation apicale-basale des bactéries vers l'interstitium. MIP-2 : macrophage inflammatory protein-2 ; MCP-1 : macrophage chemotactic protein-1 ; RANTES : regulated on activation normal T-cell expressed and secreted ; TNF : tumor necrosis factor





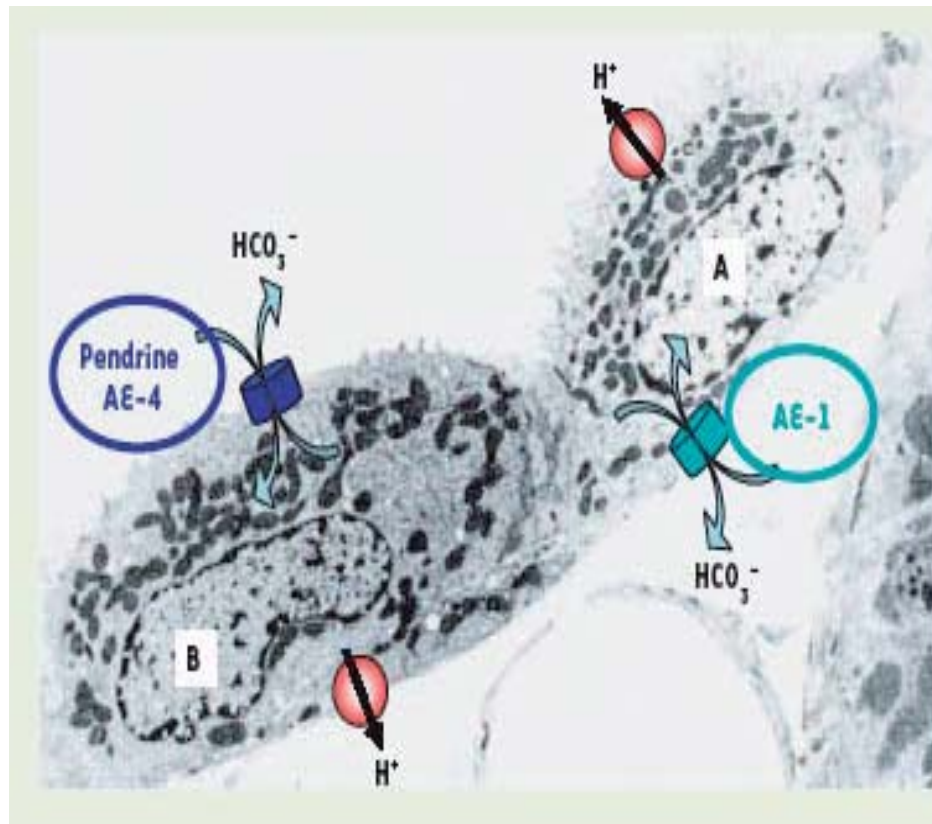
## Diversité cellulaire des zones tubulaires

1. Tubule collecteur principal
2. Tubule distal
3. Bordure en brosse
4. Cellule épithéliale en colonne
5. Cellules intercalaires
6. Cellule à bâtonnets
7. Cellule épithéliale en colonne pseudostratifiée
8. Cellules à mucus
9. Mélanomacrophage
10. Artère
11. Tissu conjonctif fibreux et muscle lisse

(Formaline, H&E, Bar = 18.1  $\mu\text{m}$ )

# Les cellules intercalaires du tubule collecteur (« cellules sombres »)

Présentes dans la partie terminale du tubule rénal, le canal collecteur, les cellules intercalaires. Représentent jusqu'à 30 % du nombre total de cellules épithéliales tubulaires. Rôle clé dans le maintien de l'homéostasie hydrique et du contrôle de la balance hydrosodée.



## Principaux transporteurs dans les cellules intercalaires.

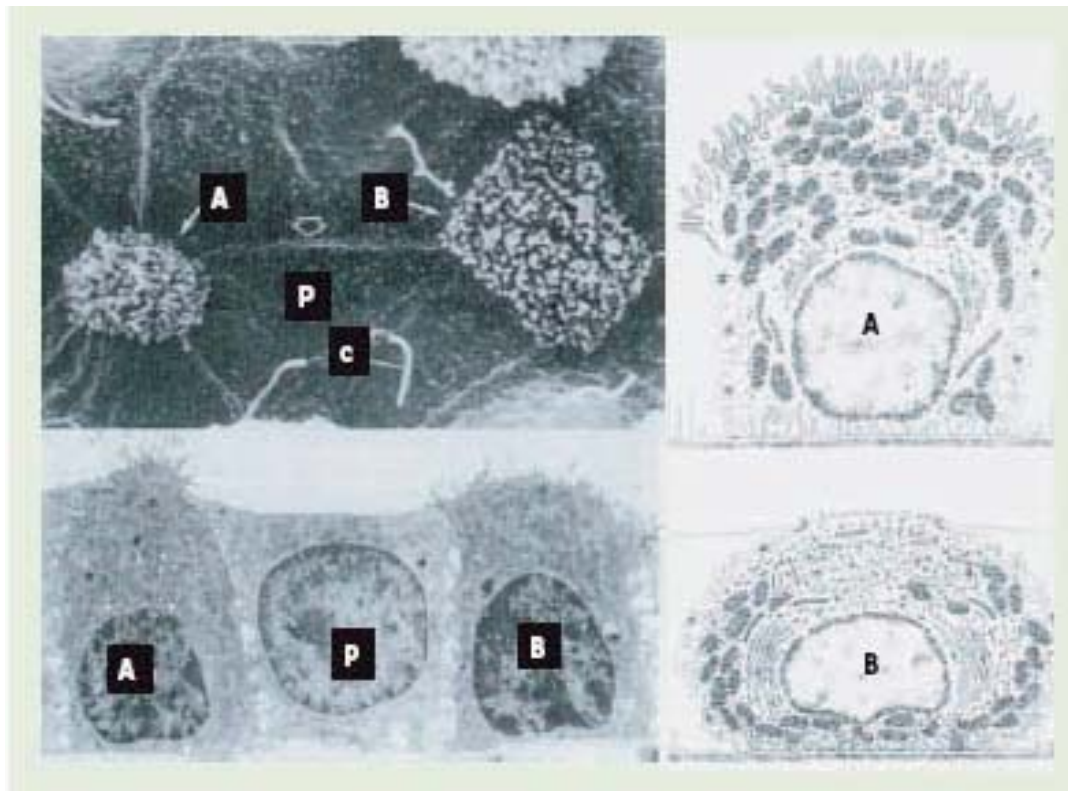
Les cellules intercalaires de type A et B sont équipées d'un système de transport de protons ( $H^+$ -ATPase) situé au pôle apical dans les premières et au pôle basolatéral dans les secondes. Le système de transport de bicarbonate (échangeur anionique) est différent dans les deux types cellulaires : AE-1 basolatéral dans les cellules de type A ; pendrine et AE-4 apicaux dans les cellules de type B. La densité en mitochondries est supérieure dans les cellules de type B, qui apparaissent plus sombres.

Friedlander G. 2005. Médecine/Science, 21:655-657

Takito J & Al-Awqati Q. 2004. J Cell Biol., 166 : 1093-1102.

## Les cellules intercalaires du tubule collecteur : un site préférentiel d'adhésion des UPEC

Dans un modèle d'infection urinaire rétrograde chez la souris, il a été montré que des souches d'UPEC colonisent les cavités rénales et se fixent électivement **aux cellules intercalaires du tubule collecteur rénal**, le premier segment à être en contact avec les bactéries lors de leur ascension rétrograde (Chassin C et coll. 2006. J. Immunol., 177:4773-4784).



Aspect morphologique des cellules intercalaires. La partie gauche de la figure montre l'aspect, en microscopie électronique à balayage (en haut) et en transmission (en bas), des cellules intercalaires de type A et B, ainsi que des cellules principales (P). Ces dernières sont équipées d'un cil primaire apical (c). Sur la partie droite de la figure sont schématisées une cellule intercalaire de type A (en haut) et une cellule intercalaire de type B (en bas), montrant les différences majeures des domaines apicaux de la membrane plasmique.

# **Le tubule collecteur rénal comme modulateur de la réponse immunitaire innée durant l'évolution d'une pyélonéphrite ascendante**

Expériences réalisées sur des cultures primaires de cellules de tubules collecteurs disséqués à partir de reins de souris sauvages ou invalidées pour TLR4 ; elles ont montré que l'adhésion de souches d'UPEC aux cellules tubulaires rénales induit une activation des voies de signalisation dépendantes de TLR4 et de la molécule de signalisation MyD88, ainsi qu'une voie indépendante de TLR4 impliquant la molécule TRAF2 (TNF receptor-associated factor 2), la protéine pro-apoptotique ASK1 (apoptosis signal-regulatory kinase 1) et la MAPK (mitogen-associated protein kinase) JNK

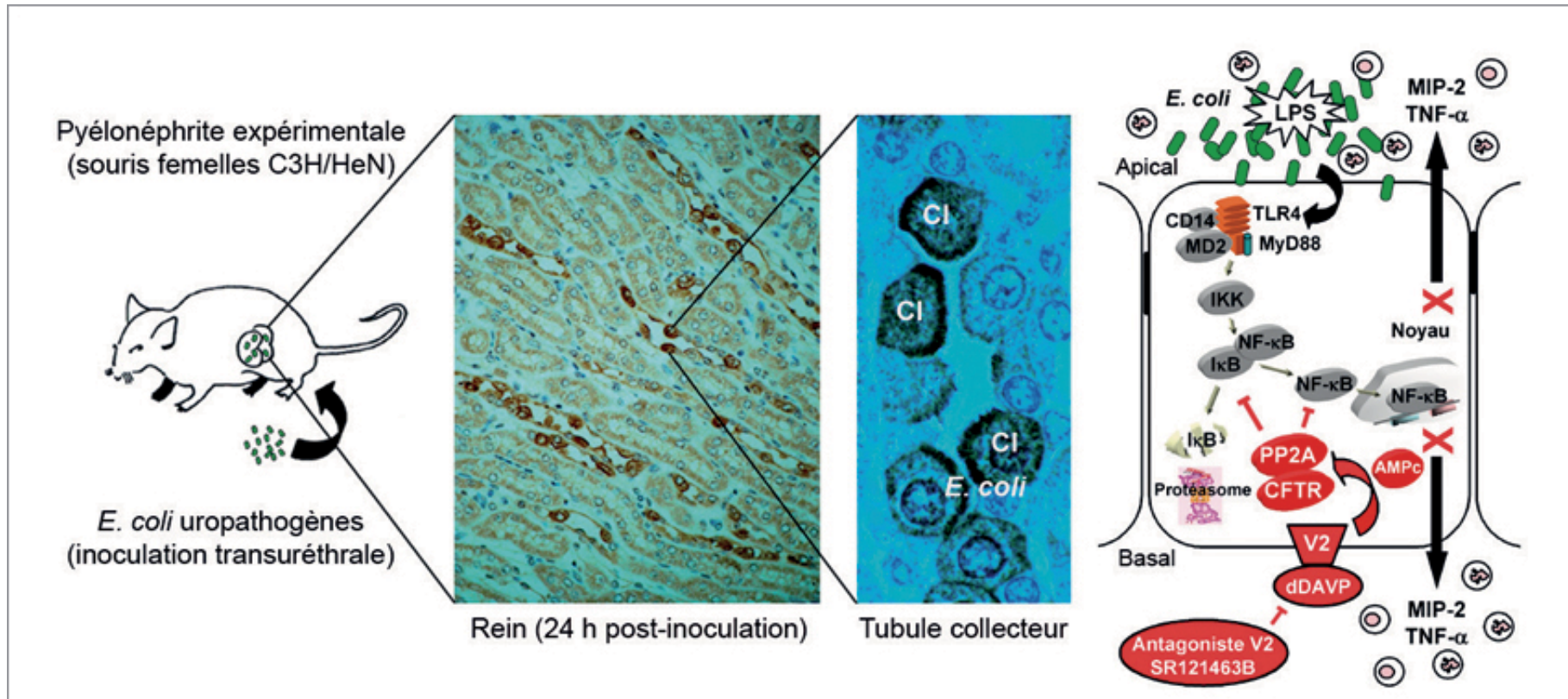
(Chassin C et coll. 2006. J. Immunol. 177 : 4773-4784)

Un autre article a aussi montré que la liaison des types 1- et P-fimbriae à leurs récepteurs respectifs active la voie de TLR4 via le recrutement de différents adaptateurs moléculaires, suggérant que la reconnaissance des adhésines fimbriales pourrait activer, indépendamment du LPS, les voies de signalisation dépendantes de TLR4

(Svensson M et coll. 2008. Kidney Int., 74 : 81-90)

# Hormonal control of the renal immune response and antibacterial host defense by arginine vasopressin.

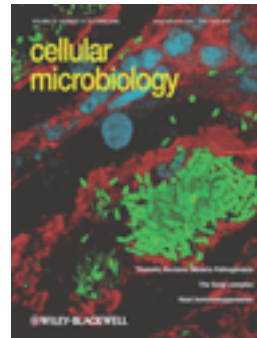
Chassin C et coll. 2007. J. Exp. Med., 204:2837-2852



La déamino-8-D-arginine vasopressine (dVAP), un agoniste du récepteur V2 de l'arginine vasopressine (AVP) inhibe les mécanismes impliqués dans la réponse inflammatoire aux UPEC ; Adhésion préférentielle des *E. coli* uropathogènes à la face apicale des cellules intercalaires (CI) du tubule collecteur rénal, 24 h après l'inoculation bactérienne, par voie transurétrale à des souris C3H/HeN exprimant TLR4 (Toll-like receptor). Le schéma résume le mécanisme d'inhibition par la dDAVP de l'activation cellulaire induite par le LPS et UPEC dans les cellules du tubule collecteur rénal.

## Bacterial infection-mediated mucosal signalling induces local renal ischaemia as a defence against sepsis

Keira Melican  
Jorrit Boekel  
Lisa E. Månsson  
Ruben M. Sandoval  
George A. Tanner  
Örjan Källskog  
Fredrik Palm  
Bruce A. Molitoris  
Agneta Richter-Dahlfors



A. Richter-Dahlfors

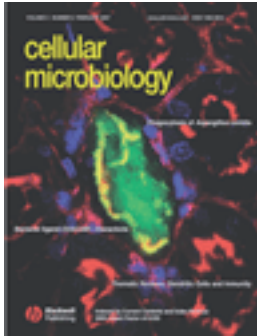
Cellular Microbiology, 10: 1987–1998 (2008)

## **Une vision dynamique de la rupture de la barrière uro-épithéliale lors du développement d'une infection ascendante des tubules par une souche d'UPEC. Une suite d'évènements révélant les faiblesses et les forces (inattendues) de cette barrière:**

Au delà de la mobilisation des mécanismes immunitaires innés (en particulier cellulaires), une réponse innée « vasculaire » se met très rapidement en place, permettant l'isolement des bactéries et leur éradication.

Cette réponse survient en 3-4 h dans un modèle d'infection ascendante chez la souris:

- Augmentation de la consommation d'O<sub>2</sub>
- Altération de la microcirculation locale par la formation de microcaillots entraînant une ischémie localisée
- Effets secondaires cytotoxiques de l'ischémie avec rupture de la barrière épithéliale, voire élimination de cellules de la monocouche permettant le passage paracellulaire des bactéries
- La mise à nue de l'épithélium tubulaire facilite la circonscription des bactéries grâce à une coagulation sanguine importante piégeant les corps bactériens.
- L'anticoagulation par l'héparine cause un sepsis fatal...



## Real-time studies of the progression of bacterial infections and immediate tissue responses in live animals

Lisa E. Månsson

Keira Melican

Jorrit Boekel

Ruben M. Sandoval

Isabelle Hautefort

George A. Tanner

Bruce A. Molitoris

Agneta Richter-Dahlfors

Cellular Microbiology, 9: 413–424, (2007)

La combinaison de la microscopie bi-photonique et de la génétique bactérienne permet d'effectuer une analyse en temps réel des paramètres essentiels du développement du processus infectieux tubulaire en présence d'UPEC (GFP).

En quelques heures, la colonisation bactérienne (due à l'adhésion) s'accompagne d'une ischémie tissulaire locale très marquée, avec fuite périvasculaire, perte de l'intégrité tubulaire, recrutement local de cellules immunitaires, en particulier PNN. La physiopathologie est nettement altérée/atténuée en présence d'une souche mutante ne produisant pas HlyA.



## Rôle majeur de TLR-4 et IL-8/CXCR1 (récepteur de l'IL-8) dans la sensibilité aux infections du tractus urinaire:

- Faible niveau d'expression de TLR-4 sur les PNN d'enfants présentant une bactériurie asymptomatique chronique ou récidivante

(Ragnarsdottir B et coll. 2007. J. Infect. Dis., 196:475-484)

- Etude d'une grande cohorte d'enfants atteints d'infections récidivantes du tractus urinaire (sans obstacle sous-jacent):

faible expression de CXCR1 corrèle avec l'incidence de pyélonéphrites aiguës

(Lundstedt AC et coll. 2007. J. Infect. Dis., 195:1227-1234)

- Certaines mutations et polymorphismes de CXCR1 associés chez l'homme avec une pyélonéphrite récidivante




(Lundstedt AC et coll. 2007. PLoS One, 2:e825)

- Dans une cohorte similaire d'enfants italiens, des polymorphismes caractéristiques de forte incidence de pyélonéphrite récidivante ont été indentifiés dans le gène de l'IL-8 mais pas de CXCR1

(Artifoni L et coll. 2007. J. Urol., 177:1102-1106)



C. Svandborg

	TLR4 <sup>+/+</sup> mCXCR2 <sup>+/+</sup>	TLR4 <sup>-/-</sup> mCXCR2 <sup>+/+</sup>	TLR4 <sup>+/+</sup> mCXCR2 <sup>-/-</sup>
			
Chemokines	+++	-	++
Chemokine receptors	+++	+++	-
Neutrophil recruitment	+++	-	Slow
Bacterial clearance	YES	Delayed	Delayed
Symptoms	Transient mild disease	Asymptomatic carriage	Acute pyelonephritis with bacteremia
Tissue damage	NO	NO	YES, renal scarring

Genetic susceptibility to UTI, lessons learned from the mouse model. Mice with intact TLR4 and mCXCR2 expression have a strong innate response to experimental UTI, with mild disease and rapid bacterial clearance. TLR4 receptor KO mice respond poorly to infection, and have low inflammation and thus no symptoms or tissue damage. As a result they remain infected, however. If TLR4 function is intact but the mCXCR2 receptor is deleted, neutrophil activation is poor and thus bacterial infection is not limited, causing acute pyelonephritis with bacteraemia. The 'lame' neutrophils are trapped in the kidneys where they cause tissue damage, and thus surviving mice will develop renal scarring.

