

IMMUNITE ANTI-BACTERIENNE « les infections par mycobactéries »

P.H. LAGRANGE

Service de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis,
Paris



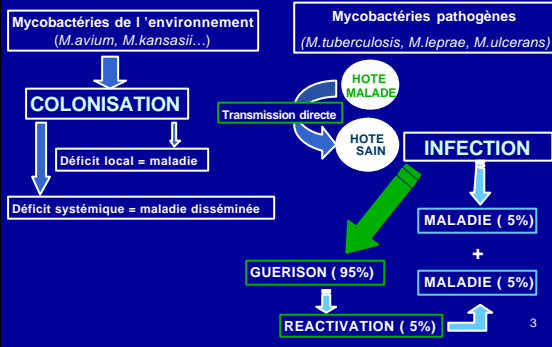
1. MYCOBACTERIES : CLASSIFICATION PHYSIOPATHOLOGIQUE

~ 70 ESPECES DE MYCOBACTERIES

- 3 SEULEMENT SONT PATHOGENES / HOMME
 - *Mycobacterium tuberculosis* : la tuberculose
 - *Mycobacterium leprae* : la lèpre
 - *Mycobacterium ulcerans* : l'ulcère de Buruli
- AUTRES => SAPROPHYTES
- OCCASIONNELLEMENT OPPORTUNISTES
 - => si immunodépression locale ou systémique
- L'histoire naturelle des infections par mycobactéries est différente s'il s'agit de mycobactéries pathogènes ou opportunistes

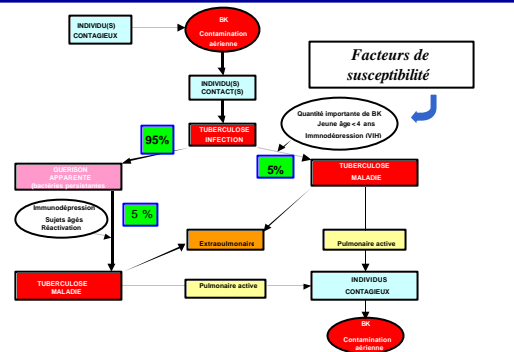
2

L'histoire naturelle des infections par mycobactéries



3

Histoire naturelle de la Tuberculose



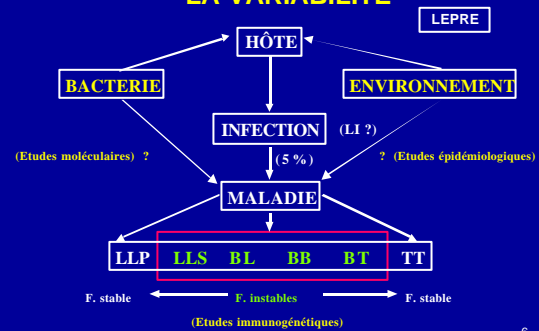
Les mycobactérioses humaines

• PHYSIOPATHOLOGIE :

- Maladies chroniques
- Composante tissulaire granulomateuse
- Avec un spectre clinico-immunologique
 - VARIABILITE INDIVIDUELLE D'EXPRESSION CLINIQUE
 - Facteurs de causalité discutés

5

FACTEURS RESPONSABLES DE LA VARIABILITE



6

Spectre clinico-immunologique dans la lèpre

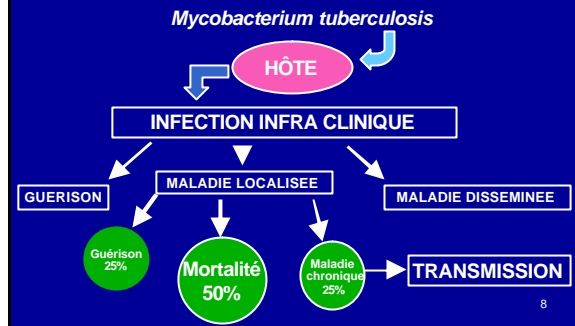
Variables	TT	BT	BB	BL	LLs	LLp
AFB	-	-/+	+	++	++	++
Mitsuda	++	+	+/-	-	-	-
Anticorps	-/+	-/+	+	++	+++	+
Th1/TH2	INF γ IL-12	INF γ IL-12	?	IL-4 IL-10	IL-4 IL-10	IL-4 IL-10

Zone de variabilité

7

La tuberculose

SPECTRE CLINIQUE ET IMMUNOLOGIQUE ?

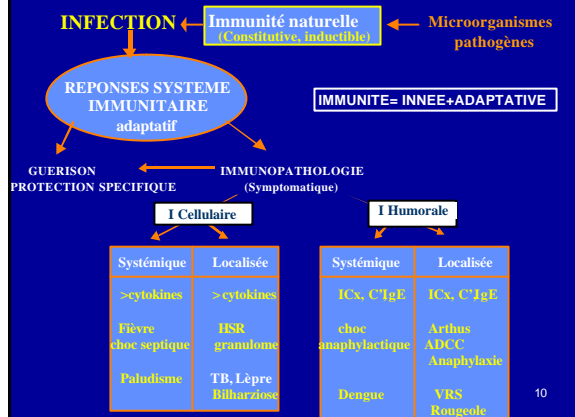


8

Les mécanismes de la résistance immune

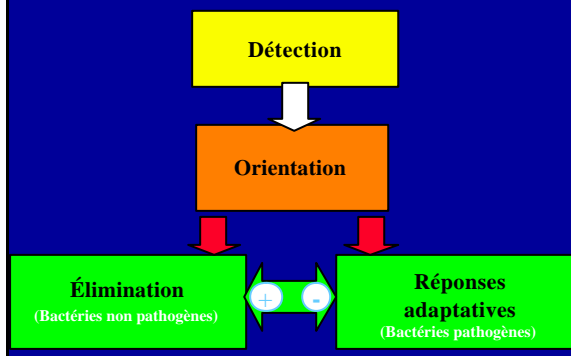
- IMMUNOPHYSIOPATHOLOGIE DES INFECTIONS
- REPONSES IMMUNITAIRES (bactéries à multiplication intracellulaire)
 - innée (non spécifique)
 - acquise (spécifique)

9



10

IMMUNITE INNEE

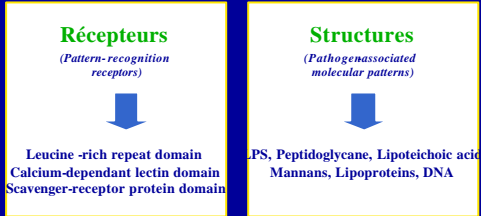


Immunité innée /adaptative

- La distinction essentielle entre l'immunité innée (II) et l'immunité adaptative (IA ou spécifique) est objectivée par les mécanismes et les récepteurs utilisés pour la reconnaissance du danger potentiel.
- Le nombre de gènes codant pour les récepteurs impliqués dans l'II sont très < à ceux de l'IA et sont très peu polymorphes.
- Les structures reconnues sont en nombre limité.

12

Immunité innée



13

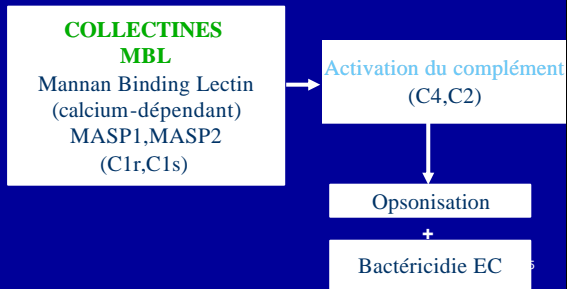
Immunité innée

• Trois classes de récepteurs

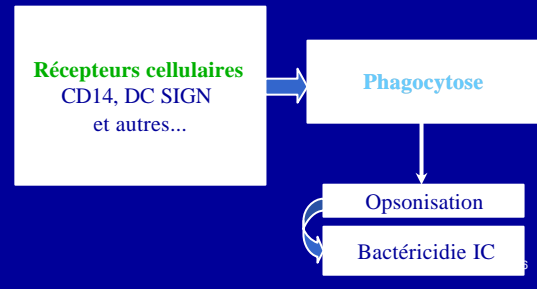
- **Sécrétés** (MBL, LBP, BPI,...)
- **Cellulaires**: membranaires (CD14, DC SIGN,...)
- **Signaux** (Toll-like receptors, MR, ...)

14

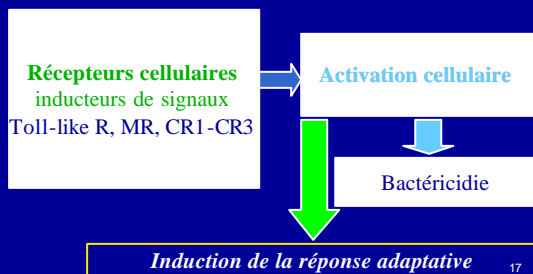
Immunité innée humorale



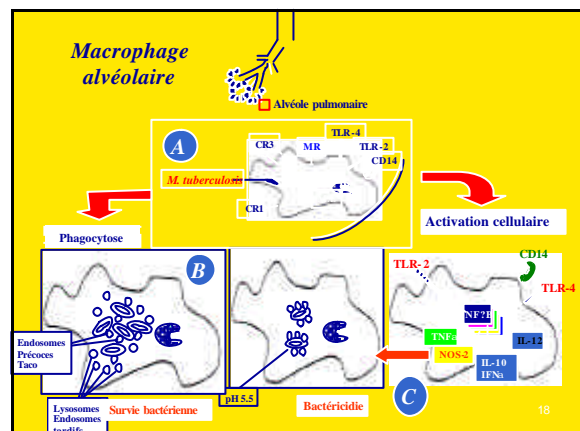
Immunité innée cellulaire 1



Immunité innée cellulaire 2



17

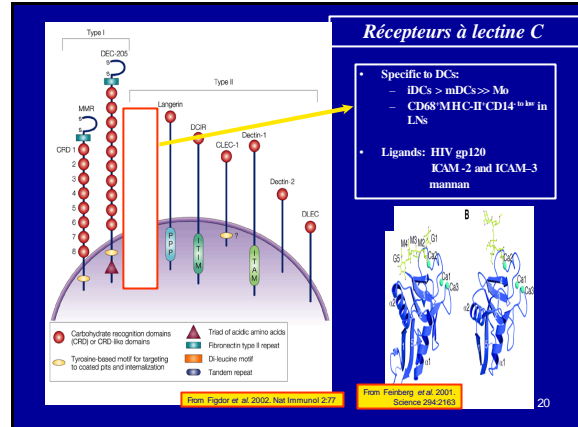


18

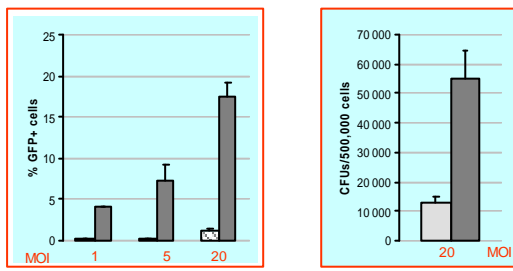
Les récepteurs cellulaires

- Quid de ceux des cellules dendritiques ?
- Etudes comparatives
 - cellules monocytaires d'un même individu
 - différenciées suivant 2 protocoles
 - **M-CSF** => monocytes / macrophages
 - **GM-CSF+IL-4 (ou IL-13)** => cellules dendritiques immatures
 - Récepteurs et Comportementales
 - Localisations intracellulaires et vacuoles
 - Croissance des mycobactéries

19



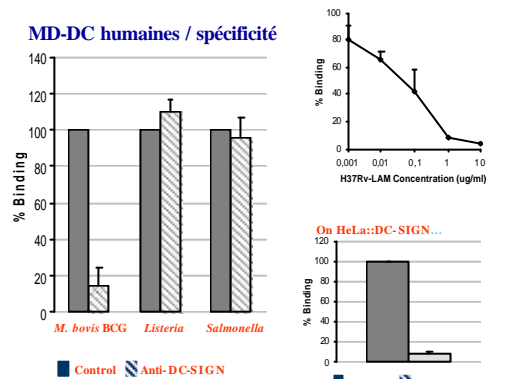
Cellules recombinantes HeLa *M.tuberculosis* H37Rv



■ HeLa ■ HeLa::DC-SIGN

Tailleux L et al, JEM 2003, 197:121-127
 Maeda N et al, J Biol Chem 2003;278: 5513-5516

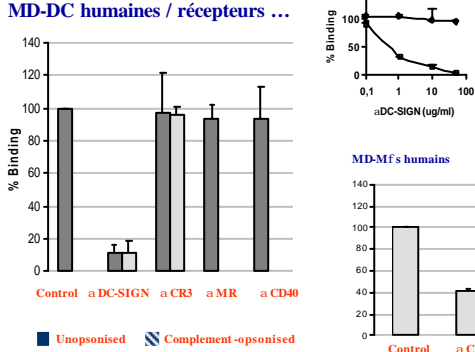
MD-DC humaines / spécificité



■ Control ■ Anti-DC-SIGN

■ Control ■ ManLAM (10 ug/ml)

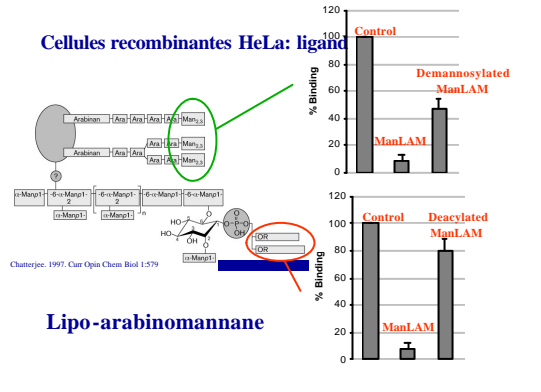
MD-DC humaines / récepteurs ...



■ Unopsonised ■ Complement-opsonised

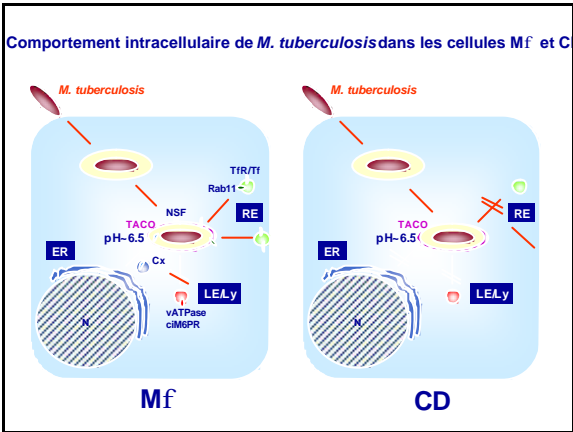
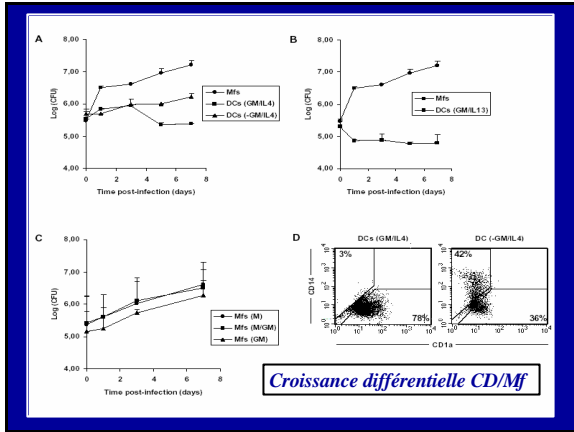
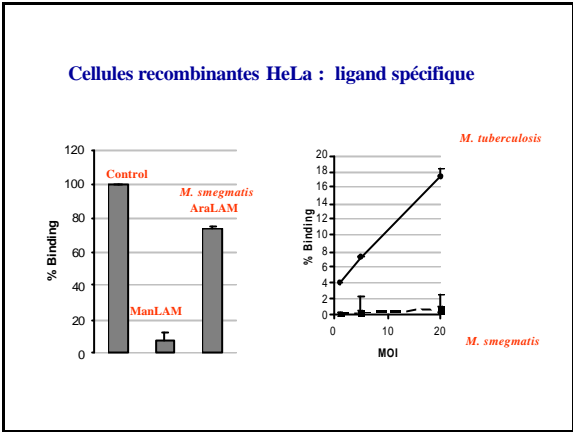
■ Control ■ aCR3

Cellules recombinantes HeLa: ligand



■ Control ■ ManLAM ■ Demannosylated ManLAM

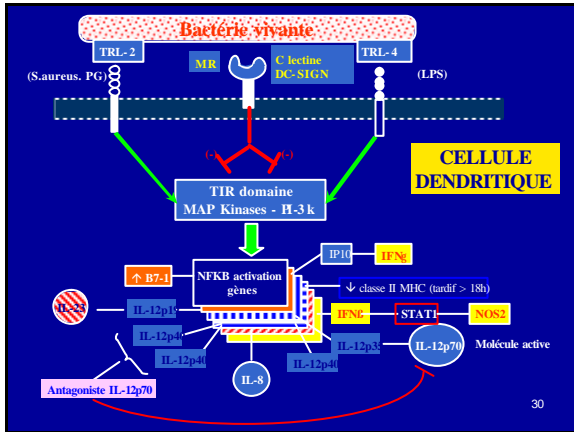
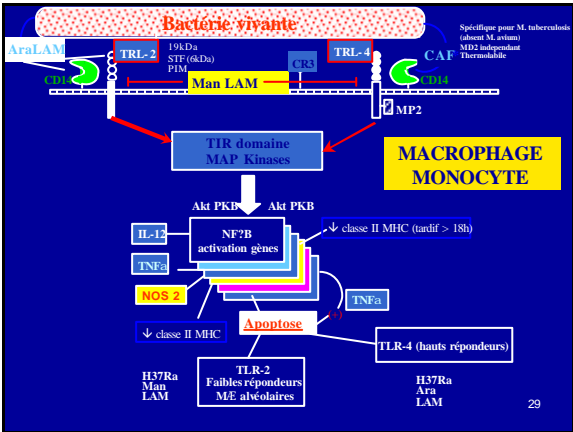
■ Control ■ ManLAM ■ Deacylated ManLAM

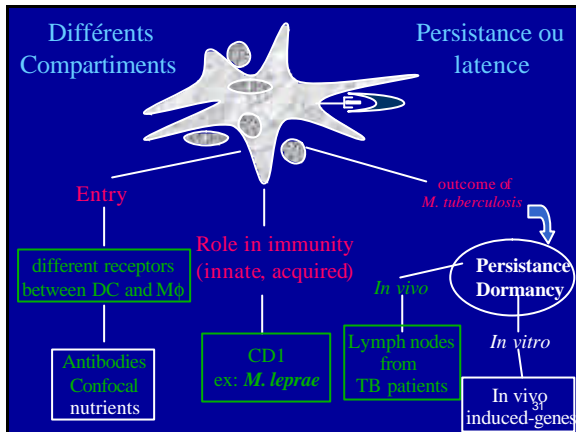


Les différentes voies d'activation

- Monocytes-macrophages
- Cellules dendritiques

28





L'IMMUNITE ADAPTATIVE / MYCOBACTERIES

IMMUNODEFICIENCE: SOURCE DE CONNAISSANCE

- Deux modalités d'approche pour analyse
 - Chimiothérapie expérimentale et anticorps monoclonaux
 - Souris transgéniques avec un gène inactivé

32

L'IMMUNITE ADAPTATIVE A MEDIATION CELLULAIRE

Approches méthodologiques classiques (années 1970-1990)

- 1. Immunodéficience provoquée** : Conséquences sur l'infection
 - chimiques : cyclophosphamide... corticostéroïdes...
 - biologiques :
 - Anticorps polyclonaux, monoclonaux (anti lyt2, anti lyt 1, anti CD4, anti CD8)
 - anti cytokines : INF-g, TNF-α
 - Adénovirus recombinant (TNF-α récepteur)
- 2. Transfert adoptif de cellules sélectionnées provenant d'animaux immuns**
 - Origine polyclonale
 - Origine clonale (+/- cytokines)

mortalité
CFU/organes

33

L'IMMUNITE ADAPTATIVE A MEDIATION CELLULAIRE

Conclusions

- 1. Rôle majeur des lymphocytes T CD4**
 - reconnaissance (MHC classe II)
 - production cytokine (INF-g)
- 2. Recrutement et activation des monocytes sanguins**
 - rôle majeur de l'INF-g
 - dérivés toxiques microbicides (O₂, NO)
- 3. Formation d'un granulome avec prévention de la dissémination**
 - rôle majeur par le TNF-α
 - cicatrices immunopathologiques (granulomes)

34

L'IMMUNITE CELLULAIRE ET L'IMMUNOPATHOLOGIE POST-INFECTIEUSE

Données plus récentes concernant les mycobactéries (A partir des années 1990)

- 1. Les modèles animaux transgéniques**
- 2. La polarisation des lymphocytes CD4 et CD8**
- 3. La présentation antigénique non restreinte au CMH**

35

1. Les modèles de souris transgéniques

Recombinaison homologue → **Inactivation d'un gène codant**

- Cytokine, ou leur récepteur
- Récepteurs des Sous populations lymphocytaires
- Molécules effectrices cytotoxiques et antibactériennes

36

A. Gènes codant les cytokines ou leurs récepteurs

Influence Majeure

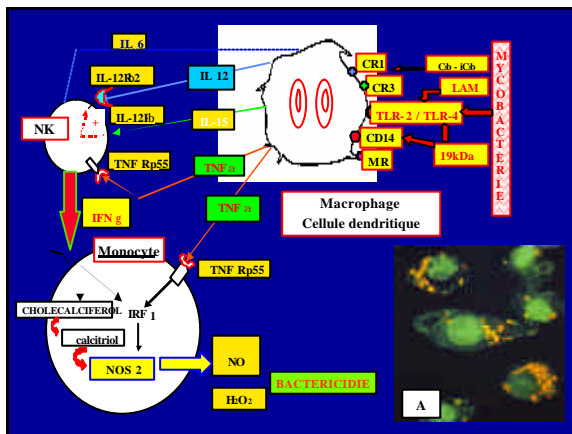
INF- γ , TNF- α , IL-12

Faible ou sans influence

IL-4, IL-6

Table 1 : Consequences on aerosol infection with *M. tuberculosis* in "knock-out" mice for cytokines

Gene inactivation	Bacteria growth	Survival (weeks)	DTH (PPD)	IFN γ production	Granuloma formation	References
IFN- γ	++(2.5 log) (lungs) (D+28)	4	normal	absence	accumulation of cells no granuloma	Cooper et al (1993)
TNF α	R+ (1 log) (spleen) (D+14)	3	-	+	Necrosis No Epithelial cells	Flynn et al (1993)
IL-4	normal	normal (>50)	+	+	ND	Flynn et al (1995)
IL-6	+(1 log) (lungs) (D+30)	Normal (>50)	+	delayed	no difference	Cooper et al (1997) Ladel et al (1997)
IL-12	+++ (3.5 log) (lungs) (D+30)	6	-	very low levels	accumulation of MN no lymphocytes	Cooper et al (1997)



2. Gènes concernant les sous populations lymphocytaires

Les populations de cellules T impliquées
Influence Majeure
CD4 et CD8
TCR ab

Absence ou rôle mineur
Lymphocytes B
CD8 gd TCR

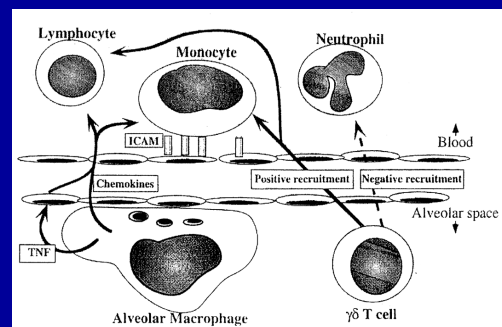
40

Table 2 : Consequences on aerosol or LV. infection with *M. tuberculosis* in "knock-out" mice for lymphocytes

Gene inactivation	Bacteria growth	Survival (weeks)	DTH (PPD)	IFN γ production	Granuloma formation	References
TCR a b	++(2 log) (spleen) (D+30)	6	-	very low levels	Necrosis (IH) Cellular lysis	Ladel et al (1995)
TCR gd	normal	normal (early death) (heavy inoculum)	-	normal	Necrosis no MN Abscess	Ladel et al (1997)
b2m (CD8) ⁺	(0.8 log) (spleen) (D+30)	4	normal	low levels	granuloma necrosis	Flynn et al (1992)
ICAM-1	normal	normal	-	normal	granuloma, lymphocytes abs. MN, Macrophages	Cooper et al (1997)
B cells	normal	normal	normal	normal	no difference	Cooper et al (1997)

41

TUBERCULOSIS IN GENE-DISRUPTED MICE



3. Gènes concernant les molécules effectrices

Rôle majeur joué par

NO synthase

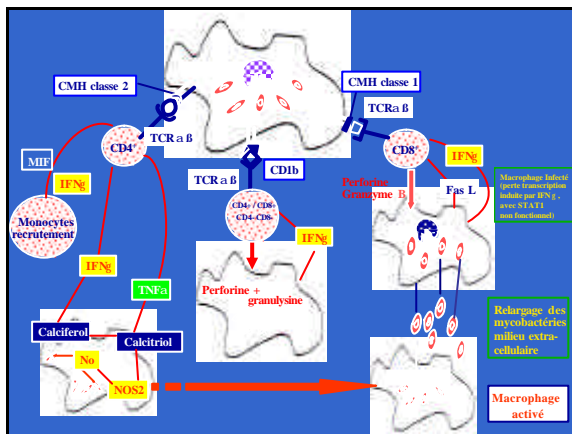
Aucun rôle
Perforine et Granzyme B
(à la phase initiale de l'infection)

43

Table 3 : Consequences of aerosol infection with *M. tuberculosis* in "knockout" for effector molecules

Gene inactivation	Bacteria growth	Survival (weeks)	DTH (PPD)	IFN γ production	Granuloma formation	References
Perforine Granzyme B	normal	normal	normal	normal	normal	Cooper et al (1997)
I. NO synthase	+++ (2.5 à 3.5 log (lungs, spleen))	3-4	ND	normal	normal	Mac Micking et al (1997)

44



Les facteurs des susceptibilité: régulation génétique

Les associations non validées: liaisons à certains gènes

• **Les résultats obtenus**

– possibles :

- NRAMP1 (> populations canadiennes, africaines)
- Récepteur Vit D3 (indiens végétariens Londres)
- MBL et Surfactant A
- Toll-Like Récepteur 2

Pb. des populations cibles

– douteuses :

- HLA DR2 (TB graves, traitement peu efficace)
- TNFalpha (promoteur)

46

Les associations validées : anomalies génétiques démontrées

- **Axe INF- γ /IL-12** => activation des macrophages et immunité TH1
- **PHENOTYPES OBSERVES**
Maladie disséminée mortelle malgré les AB
 - Mycobactéries non virulentes (BCG, M.avium)
 - Granulomes tissulaires variables
- **GENOTYPES RETROUVES**
 - Anomalies des gènes codant pour les récepteurs
 - IL-12 (R β 1)
 - INF γ (R1, R2)
 - Anomalies des gènes codant IL-12, STAT1

LES INFECTIONS A MYCOBACTERIES CHEZ L'HÔTE NON IMMUNODEFICIENT

Défauts génétiques chez l'homme

• **Eudes cliniques :**

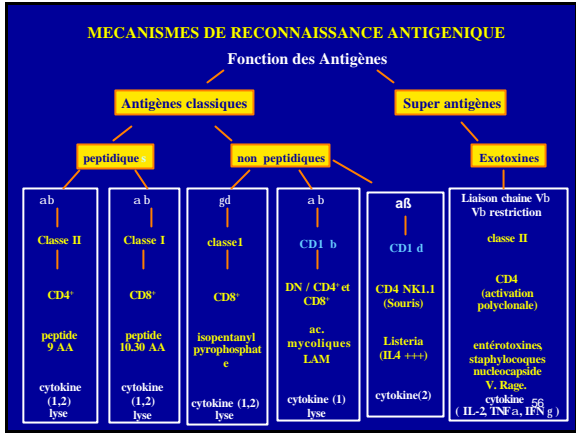
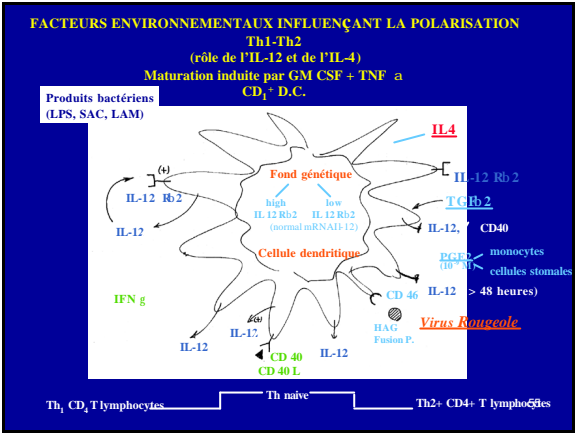
- BCGosis (Casanova *et al.* Lancet 1995)
- Disseminated familial atypical mycobacteriosis (Levin *et al.* Lancet 1995)
- Aucun déficit immunitaire associé

• **Etiologies génétiques :**

- INF-g R1 déficience
- INF-g R2 déficience
- IL-12 R β 1 /IL-12 déficience

No organized granuloma, no antibiotic efficacy disseminated disease before 3 years of age

Well organized granuloma, better prognosis



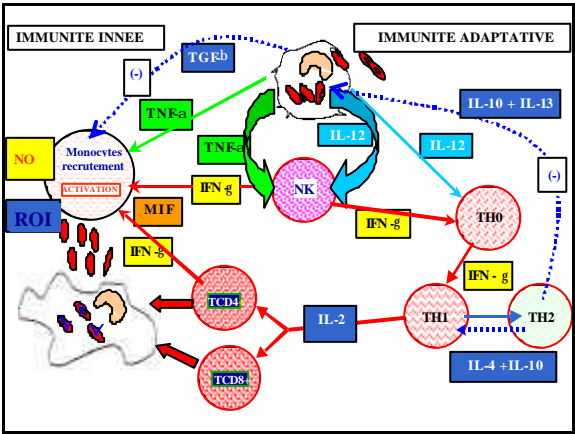
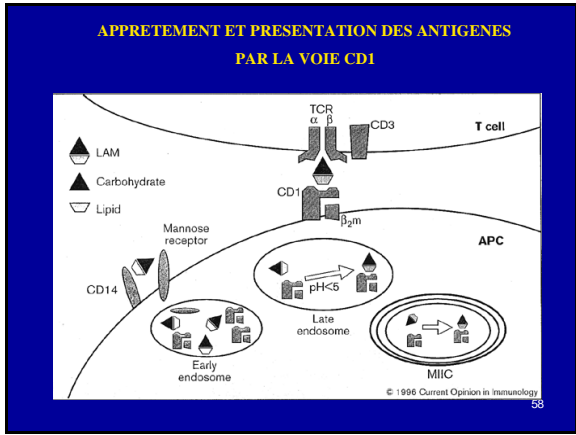
Présentation des antigènes CD1 dépendante

CD₁ = Famille de glycoprotéines de surface (a - b₂ micro-globuline)

4 chaînes a (a, b, c, d) => 5 gènes non polymorphes, très étroitement liés chromosome 1.

1. Aprêtement Ag => voie des endosomes (pH acide) (+ macro pinocytose => exosomes)
2. Présentation Ag / chaînes a 1-a2 => domaines hydrophobiques lipophiles
3. Expression majoritaire sur cellules dendritiques (c. Langerhans) monocytes activés, Thymocytes, cellules B.

=> Régulation positive (GMCSF - IL4) CD1b
=> Régulation négative (mycobactéries pathogènes vivantes)



CONCLUSIONS

Les travaux récents montrent :

1. **le rôle majeur joué par l'immunité innée :**
 - pour l'induction des phénomènes adaptatifs (développement et orientation des réponses spécifiques via les récepteurs reconnaissant des structures bactériennes activatrices (MBL, TLRs)
 - dans la connaissance des facteurs de pathogénicité des micro-organismes (modulation de l'expression de ces récepteurs ou des signaux).
2. **La complexité des mécanismes cellulaires et moléculaires de l'immunité anti-mycobactérienne**
 - qui est **variable** en fonction du pathogène, de l'hôte et de son environnement
 - qui est **dépendante** de nombreux systèmes intégrés de régulation génétique

La nécessité d'approfondissement de la connaissance des mécanismes de la régulation des gènes de la résistance anti-bactérienne chez l'homme.

60