

IDENTIFICATION DES EFFECTEURS ET ANALYSE DES SIGNAUX : UN DECHIFFRAGE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE DES MALADIES INFECTIEUSES.

Philippe Sansonetti

**Ancien Interne et Chef de Clinique Assistant des Hôpitaux de Paris
Professeur à l'Institut Pasteur**

La mortalité due aux maladies infectieuses est effrayante : 17 millions d'individus annuellement sur la planète. Ce fléau de santé publique, égale les maladies cardio-vasculaires et le cancer. Une différence cependant, les maladies infectieuses sont socialement inégalitaires, elles touchent surtout les pauvres et les enfants «La connaissance des maladies infectieuses enseigne aux hommes qu'ils sont tous frères et solidaires » disait Charles Nicolle.

Outre assurer à tous l'accès au traitement et à la prévention, il existe un devoir de recherche fondamentale pour améliorer les outils de la maîtrise : nouveaux anti-infectieux et nouveaux vaccins. C'est le testament de Louis Pasteur et Robert Koch et je ne doute pas, comme Lewis Carroll, que ne pas avancer, c'est reculer. Les microbes nous surpassent en effet en nombre, en plasticité génétique, donc en rapidité d'adaptation, parfois même en capacité de nuisance... Si la misère, l'illettrisme, le sous-développement économique et leur corollaire, l'absence d'hygiène, en sont de puissants alliés, le développement, par les voyages, l'industrialisation de la chaîne alimentaire, la création d'environnements complexes hébergeant des sujets fragiles, comme l'hôpital, favorise aussi l'émergence des infections. Il y aura toujours des maladies infectieuses. Pasteur souvent ruminait; «il faut travailler... », sans doute il entendait que baisser la garde en recherche plus qu'une faute, serait un crime.

Je me suis engagé dans ce combat, dès le milieu des années 70, Interne des Hôpitaux de Paris, je fus fasciné par la richesse de la discipline des maladies infectieuses, mais aussi frustré du peu d'intérêt manifesté à en comprendre les mécanismes. L'intuition fût que la jeune science qu'était alors la biologie moléculaire, science qui s'était construite sur des microorganismes modèles comme *Escherichia coli*, devait s'appliquer aux microorganismes pathogènes afin d'accéder au déchiffrement moléculaire des processus infectieux. Pour cela, un seul endroit : l'Institut Pasteur. Je m'y incrustai avec quelques complicités Jacques Monod, Elie Wolmann, Yves Chabbert, Claude Lapresle, Agnès Ulmann, Maxime Schwartz, et Léon LeMinor que je remercie pour leur confiance.

Je portai mon intérêt sur les mécanismes d'invasion et de destruction des grandes barrières épithéliales de l'organisme. Celles qui, comme la barrière intestinale, ont la difficile tâche de nous mettre à la fois en contact et de nous protéger contre les microorganismes exogènes. Je partis du principe que les bactéries invasives de l'intestin devaient récapituler un maximum d'interactions avec les composants cellulaires de cette barrière afin d'en assurer la subversion. Je choisis *Shigella*, l'agent de la dysenterie bacillaire, et durant mon stage post-doctoral aux USA dans le laboratoire de Samuel Formal, j'identifiai l'ensemble des séquences génétiques, en particulier plasmidiques, responsables du pouvoir pathogène de cette espèce. A partir d'une souche d'*Escherichia coli* K12 dénuée de pouvoir pathogène, par transferts génétiques successifs, je reconstruisis une *Shigella* parfaitement pathogène. Cette première de génomique demeure encore la toile de fond de notre travail et nous a permis d'identifier les gènes et protéines nécessaires à l'invasion bactérienne d'un épithélium. Nous avons, pour cela, développé une variété de modèles cellulaires, certes réductionnistes, mais essentiels au criblage de mutants et à l'identification des principaux phénotypes: entrée des bactéries dans les cellules épithéliales, échappement dans le cytoplasme cellulaire, motilité intracellulaire et passage de cellule à cellule, mort cellulaire. Ce faisant, nous avons mesuré à quel point il était indispensable d'ajouter une corde à notre arc : **la biologie cellulaire**.

Nous avons alors réalisé avec quel degré de sophistication un pathogène invasif pouvait «jouer» avec des éléments vitaux de la cellule : ses récepteurs de surface, son cytosquelette, ses circuits de régulation de l'apoptose, voire certains programmes transcriptionnels. Nous avons montré que l'entrée de la bactérie dans des cellules épithéliales, naturellement non phagocytaires, impliquait des effecteurs protéiques délivrés par un appareil de sécrétion spécialisé. La protéine IpaC, par exemple, s'insère dans la membrane eucaryote, active des petites GTPases de la famille Rho et induit ainsi la polymérisation de l'actine et l'internalisation de la bactérie par macropinocytose. Une protéine de la surface bactérienne, IcsA, lie la protéine N-WASP, elle-même activant le complexe Arp2/3 et cause la polymérisation de l'actine, propulsant ainsi la bactérie dans le cytoplasme cellulaire et contribuant à son passage de cellule à cellule, un mécanisme original de colonisation, créant pour la bactérie un sanctuaire, à l'abri des défenses immunitaires. De plus, si par accident la bactérie se trouve face à une cellule immunitaire, comme un macrophage, elle en déclenche l'apoptose grâce à l'activation par IpaB de caspase-1, une cystéine protéase pro-apoptotique. Ceci initie aussi l'inflammation par la libération massive de la cytokine IL-1 β . Enfin, nous avons décrit la reprogrammation des cellules épithéliales infectées à exprimer un répertoire de gènes pro-inflammatoires, particulièrement ceux contrôlés par le complexe NF- κ B, nous permettant de découvrir un nouveau système de perception intracellulaire des motifs microbiens, le système Nod.

Ces travaux ont contribué à l'émergence du concept de **microbiologie cellulaire** et ce mouvement réductionniste vers le cellulaire, voire le sub-cellulaire, nous a fourni l'alphabet pour déchiffrer le dialogue moléculaire microbe-cellule. Il nous a aussi fourni les pièces d'un jeu de construction pour réintégrer une grande partie des évènements survenant *in vivo*, au sein du tissu infecté, dans le contexte de ce qu'est réellement la maladie infectieuse, résultante de l'infection et de la réponse de l'hôte. Là comme ailleurs, la nécessité d'une approche intégrative s'est fait jour, créant ainsi une nouvelle facette, la **microbiologie tissulaire**. L'approche *in vivo*, d'essence physiologique, plus que jamais multidisciplinaire, se prête aux nouvelles méthodologies d'analyse globale comme l'analyse transcriptomique, la microscopie intravitale et l'Imagerie par Résonance Magnétique adaptée au petit animal.

A ce stade, nous avons donc progressé dans trois domaines principaux :

1 - Nous avons pu définir les étapes successives de l'invasion de la barrière intestinale. Cette connaissance a été essentielle à la mise au point rationnelle d'un vaccin vivant oral de virulence atténuée contre la shigellose qui est en cours d'essais cliniques.

2 – Nous avons pu identifier les grands circuits d'induction de l'inflammation induite par *Shigella* et les particularités qui la rendent si intense et destructrice :

3 – Nous avons pu enfin identifier et caractériser les bases de la protection de la muqueuse intestinale, particulièrement par les IgA sécrétoires dirigées contre l'antigène somatique, c'est à dire le lipopolysaccharide de la surface bactérienne. Les implications vaccinales de ce travail sont considérables.

Je pense donc ne pas avoir trahi ici mon titre : « un déchiffrement moléculaire et cellulaire des maladies infectieuses ». Notre objectif est de continuer sur cette lancée dans l'environnement multidisciplinaire unique que nous offre l'Institut Pasteur, mais aussi d'adapter à l'étude des commensaux, la « bonne flore », la même approche. Les microbes ont encore beaucoup à nous apprendre, y compris des mécanismes homéostatiques, après tout, ils nous connaissent si bien et depuis si longtemps...

Je ne puis terminer sans mentionner mes principales collaboratrices et collaborateurs, particulièrement Nancy Guillen, Armelle Phalipon, Hélène d'Hauteville, Joëlle Mounier, Claude Parsot et Guy Tran Van Nhieu, nos nombreux étudiants et chercheurs post-doctoraux et tout aussi nombreux collaborateurs extérieurs. C'est ici l'occasion de leur exprimer publiquement toute ma reconnaissance. Rien n'aurait pu se faire sans ce travail d'équipe soutenu sans faille par l'Institut Pasteur et l'INSERM.