

Une nouvelle fonction pour les cellules intercalaires du tubule collecteur rénal

La lutte contre les *Escherichia coli* uropathogènes

Cécilia Chassin, Jean-Michel Goujon, Chantal Le Bouguéneq, Dominique Buzoni-Gatel, Alain Vandewalle

C. Chassin, A. Vandewalle : Inserm U773, Centre de Recherche biomédicale Bichat-Beaujon (CRB3), Université Paris 7-Denis Diderot, Faculté de Médecine Xavier Bichat, BP 416, 16, rue Henri Huchard, 75870 Paris Cedex 18, France.

J.M. Goujon : Service d'Anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Poitiers, 86021 Poitiers, France.

C. Le Bouguéneq : Unité de pathogénie bactérienne des muqueuses (UPBM), Institut Pasteur-INRA, 75724 Paris Cedex 15, France.

D. Buzoni-Gatel : Unité de réponses précoces aux parasites et immunopathologie (RPPI), Institut Pasteur-INRA, 75724 Paris Cedex 15, France.

vandewal@bichat.inserm.fr

> *Escherichia coli* (*E. coli*) est le pathogène le plus fréquemment responsable des infections du tractus urinaire (ITU) et des pyélonéphrites qui représentent un véritable problème de santé publique [1]. Les pyélonéphrites, dont la fréquence est non négligeable chez les patients ayant subi une transplantation rénale (~15%), peuvent retentir sur la fonction des greffons rénaux [2]. Généralement, l'infection se fait par voie ascendante: après avoir colonisé la vessie, les *E. coli* uropathogènes (UPEC) migrent jusqu'aux reins grâce à leurs adhésines [3]. L'adhérence et/ou l'invasion de l'uroépithélium par les UPEC provoque une réponse inflammatoire se caractérisant par la synthèse, par les cellules épithéliales et par les leucocytes, de médiateurs de l'inflammation. Les mécanismes d'interaction UPEC/cellule vésicale ont été largement étudiés [4, 5] mais les interactions UPEC/cellules rénales restent encore mal connues. La question s'est posée de savoir si les cellules du tubule collecteur (TC) rénal, les premières en contact avec les UPEC lors de leur ascension rétrograde, représentent une cible pour les bactéries et dans quelle mesure elles contribuent à l'initiation d'une réponse inflammatoire. Les mécanismes cellulaires éventuellement impliqués dans l'initiation de la réponse immunitaire, impliquant notamment le récepteur Toll-like 4 (TLR4) – qui reconnaît le lipopolysaccharide (LPS) des parois des bactéries à Gram négatif comme *E. coli* –, ont été étudiés dans un modèle d'infection urinaire ascendante chez la souris et sur des cultures primaires de TC microdisséqués à partir de reins de souris. Clas-

siquement, le LPS se lie à TLR4 avec ses co-récepteurs pour induire une cascade intracellulaire faisant intervenir MyD88 et TRAF6 et conduisant à l'activation du facteur de transcription NF- κ B ainsi qu'à celle des MAP-kinases JNK, ERK1/2 et p38, puis à la synthèse de médiateurs de l'inflammation [6].

Les UPEC adhèrent spécifiquement à la face apicale des cellules intercalaires du TC rénal

Les expériences d'immunohistochimie sur les reins de souris préalablement inoculées par voie intravésicale

avec deux souches d'UPEC isolées à partir de l'urine de patients atteints de pyélonéphrite ont révélé que les UPEC se lient quasi exclusivement à la membrane apicale de certaines des cellules du TC [7]. Les expériences de double marquage (Figure 1) ont démontré que cette population cellulaire correspond aux cellules intercalaires de type A exprimant notamment le canal chlorure ClC-5 [8], et dont la principale fonction est de sécréter les ions H⁺ par le biais d'une H⁺-ATPase apicale [9]. De plus, les cellules intercalaires expriment plus fortement TLR4 que les cellules principales avoisinantes constituant le TC.

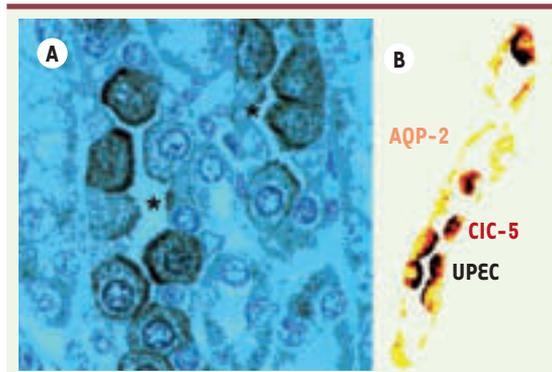


Figure 1. Attachement préférentiel des UPEC aux cellules intercalaires du tubule collecteur rénal. A. Illustration de l'adhérence des UPEC à la face luminale de certaines cellules du tubule collecteur (*) d'un rein de souris C3H/HeOuJ, 48 h après leur inoculation par voie intravésicale [7]. B. Analyse immunohistochimique d'un tubule collecteur montrant l'adhérence des UPEC (en noir) à la face apicale des cellules intercalaires (visualisées en rouge à l'aide d'un anticorps anti-ClC-5 [8]). Le pseudo-marquage en jaune correspond aux cellules principales qui expriment l'aquaporine-2 (AQP-2).

L'interaction entre UPEC et cellules intercalaires entraîne une stimulation des médiateurs de l'inflammation

Les études réalisées sur les reins de souris C3H/HeJ (exprimant un TLR4 non fonctionnel) et C3H/HeOuJ (exprimant un TLR4 fonctionnel) infectées par les UPEC par voie intravésicale ont montré que la colonisation des reins par les UPEC est plus importante chez les souris C3H/HeOuJ que chez les souris C3H/HeJ. Les UPEC stimulent la production de chimiokines et de cytokines (principalement MIP-2, RANTES et TNF- α) dans les reins des souris C3H/HeOuJ. Cette production, bien que diminuée,

persiste dans ceux des souris C3H/HeJ. Cela suggère la mise en jeu d'une voie d'activation de ces molécules inflammatoires indépendante du TLR4 [7]. Afin de mieux comprendre la participation des cellules du TC dans l'initiation d'une réponse inflammatoire induite par les UPEC et d'analyser plus en détail les voies de signalisation impliquées, des cultures primaires de TC isolés à partir de reins de plusieurs types de souris transgéniques ont été incubées avec des UPEC [7]. Des expériences de *Western blot* et de mesure de sécrétion de cytokines ont permis d'élucider les différentes voies activées lors de la détection des UPEC par les cellules épithéliales (Figure 2) : une voie TLR4-MyD88-TRAF6-dépendante qui active NF- κ B, p38, JNK et ERK1/2, et une voie TNF- α -TRAF2-ASK1-dépendante qui active JNK. Ces deux voies contribuent à l'efficacité de la clairance bactérienne et à la protection des tissus rénaux de l'hôte puisque la quantité de bactéries colonisant

les reins et les foyers inflammatoires est bien moindre dans les reins de souris C3H/HeUj que C3H/HeJ, ou de souris C3H/HeJ préalablement injectées avec un anticorps anti-TNF- α neutralisant [7]. De plus, les UPEC induisent une sécrétion bipolarisée (prédominante du côté apical [c'est-à-dire lumière tubulaire] des cellules) de MIP-2, l'équivalent fonctionnel de l'IL-8 chez l'homme et responsable de l'attraction des polynucléaires. Ces résultats sont concordants avec la présence de polynucléaires dans les urines des patients atteints d'ITU.

Conclusions et perspectives

Le tubule collecteur rénal représente non seulement une barrière physique contre les bactéries, mais joue aussi un rôle très actif dans l'initiation d'une solide réponse inflammatoire. Les cellules intercalaires se comportent comme des cellules du système immunitaire

capables d'activer, conjointement avec les cellules leucocytaires [10], des voies de signalisation TLR4-dépendante et TNF- α -dépendante pour permettre à l'hôte de protéger l'intégrité de la fonction rénale. Des altérations de ces voies de signalisation par les traitements immunosuppresseurs modifiant la réponse inflammatoire induite par les UPEC pourraient expliquer l'exacerbation de la sensibilité des patients transplantés rénaux aux pyélonéphrites, et par voie de conséquence l'altération de la fonction rénale des greffons. Des études cliniques sont en cours afin d'évaluer les capacités de réponse immunitaire des patients greffés rénaux présentant des ITU compliquées ou non de pyélonéphrites. \diamond

A novel function for renal collecting duct intercalated cells: defense against uropathogenic *Escherichia coli*

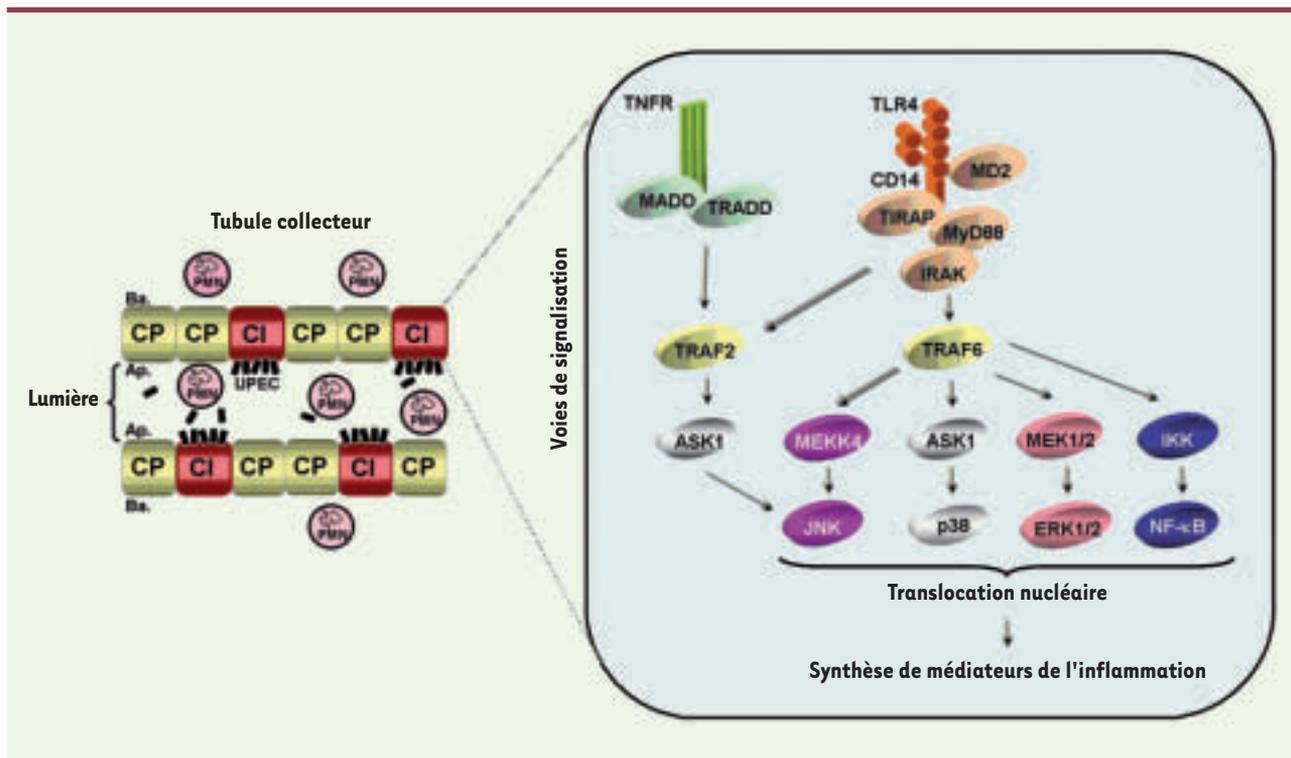


Figure 2. Représentation schématique de l'activation des différentes voies de signalisation secondaires à la liaison des UPEC aux cellules intercalaires. La reconnaissance des UPEC par les cellules intercalaires (CI) conduit à l'activation de voies de signalisation dépendantes de TLR4, mais aussi indépendantes de TLR4 faisant intervenir la voie du récepteur du TNF- α . Les facteurs de transcription activés vont permettre la synthèse de médiateurs de l'inflammation et le recrutement de polynucléaires neutrophiles (PMN) pour la défense de l'hôte contre les UPEC. Ap : apical ; Ba : basal.

RÉFÉRENCES

1. Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence and costs. *Infect Dis Clin North Am* 2003 ; 17 : 227-41.
2. Schmalldienst S, Hörl WL. Bacterial infections after renal transplantation. *Contrib Nephrol* 1998 ; 124 : 18-42.
3. Johnson JR, Russo TA. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol* 2005 ; 295 : 383-404.
4. Schilling JD, Mulvey MA, Vincent CD, et al. Bacterial invasion augments epithelial cytokine responses to *Escherichia coli* through a lipopolysaccharide-dependent mechanism. *J Immunol* 2001 ; 166 : 1148-55.
5. Schilling JD, Martin SM, Hung CS, et al. Toll-like receptor 4 on stromal and hematopoietic cells mediates innate resistance to uropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 4203-8.
6. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ* 2006 ; 13 : 816-25.
7. Chassin C, Goujon JM, Darche S, et al. Renal collecting duct epithelial cells react to pyelonephritis-associated *Escherichia coli* by activating distinct TLR4-dependent and -independent inflammatory pathways. *J Immunol* 2006 ; 177 : 4773-84.
8. Günther W, Luchow A, Cluzeaud F, et al. CIC-5, the chloride channel mutated in Dent's disease, colocalizes with the proton pump in endocytotically active kidney cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 8075-80.
9. Wall SM. Recent advances in our understanding of intercalated cells. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005 ; 14 : 480-4.
10. Patole PS, Schubert S, Hildinger K, et al. 2005. Toll-like receptor-4: renal cells and bone marrow cells signal for neutrophil recruitment during pyelonephritis. *Kidney Int* 2005 ; 68 : 2582-87.

NOUVELLE

Importance de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine dans l'identité, l'activation et la différenciation des cellules souches épidermiques

Cédric Blanpain

Institut de Recherche Interdisciplinaire (IRIBHM), Université Libre de Bruxelles, 808, route de Lennik, Bâtiment C, 1070 Bruxelles, Belgique.
Cedric.Blanpain@ulb.ac.be

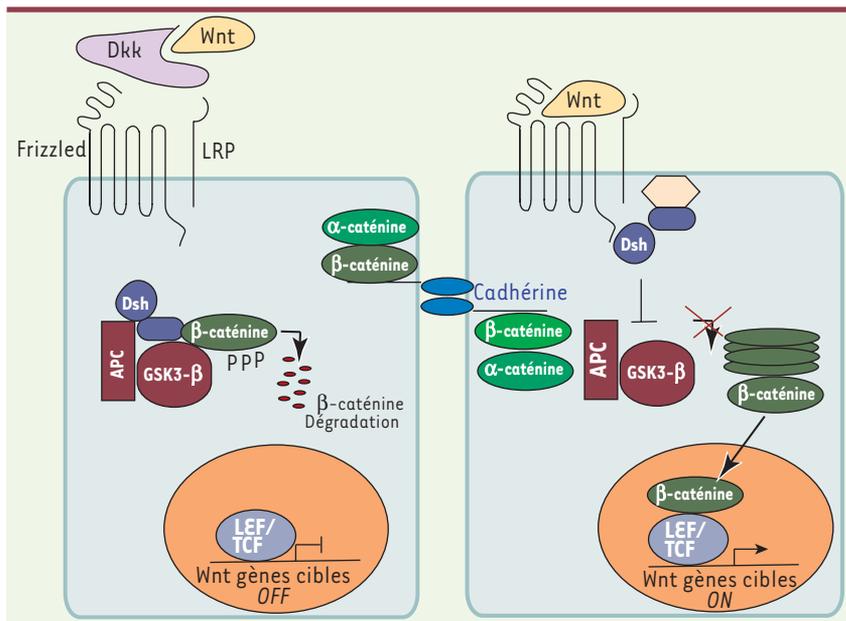


Figure 1. Voie de signalisation Wnt/ β -caténine. En l'absence de signal Wnt, l'excès de β -caténine cytoplasmique est dégradé par le protéasome. En présence de ligand de la famille Wnt, le complexe récepteur-corécepteur (Frizzled-LRP), recrute à la membrane plasmique certains composants du complexe macromoléculaire qui normalement stimule la dégradation de β -caténine. L'excès de β -caténine cytoplasmique peut maintenant être transporté vers le noyau et s'associer aux facteurs de transcription de la famille LEF/TCF et permettre l'activation transcriptionnelle de leurs gènes cibles. LEF: *lymphoid enhancer factor-1 (LEF-1)*; TCF: *T cell factor*. Dsh: *dishevelled*; Dkk: *Dickkopf (wnt inhibiteur)*; APC: *adenomatous polyposis coli*.

> La majorité des tissus adultes continuent à se renouveler tout au long de la vie. Ce processus de renouvellement constant, appelé homéostasie tissulaire, requiert au sein de ces tissus la présence de cellules souches (CS). Les CS adultes sont également nécessaires à la réparation des tissus endommagés suite à divers traumatismes. Les CS épithéliales du follicule pileux (CSF) sont un excellent modèle pour l'étude des CS adultes. Tout au long de la vie, le follicule pileux alterne des cycles de régénération (anagène), de dégénérescence (catagène) et de repos (télogène). Les CSF résident dans un microenvironnement spécialisé appelé *bulge* et présentent, comme d'autres cellules souches épithéliales, la caractéristique de proliférer plus rarement que les cellules plus différenciées qu'elles engendrent. À chaque cycle de régénération du follicule pileux, les CS du bulge sont activées et engendrent par division cellulaire des progéniteurs qui vont s'amplifier transitoirement et se différencier dans les différents types cellulaires du follicule pileux [1].