

## Contrôle de l'infection des granulocytes neutrophiles par *Helicobacter pylori* via l'interaction HopQ-CEACAM

Margot Draveny<sup>1</sup>, Assmaa Ghali<sup>1</sup>, Oliver Nüsse<sup>2</sup>

<sup>1</sup>M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France

<sup>2</sup>Institut de chimie physique, UMR8000, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.  
[margot.draveny@universite-paris-saclay.fr](mailto:margot.draveny@universite-paris-saclay.fr)  
[assmaa.ghali@universite-paris-saclay.fr](mailto:assmaa.ghali@universite-paris-saclay.fr)  
[oliver.nusse@universite-paris-saclay.fr](mailto:oliver.nusse@universite-paris-saclay.fr)

> L'infection de la muqueuse gastrique par la bactérie pathogène *Helicobacter pylori* est une cause majeure de gastrite, pouvant évoluer en ulcère gastro-duodéal [1], voire en cancer de l'estomac. L'infection par *H. pylori* attire des cellules immunitaires, notamment les granulocytes neutrophiles, qui ne parviennent cependant pas à éliminer la bactérie. Un facteur de virulence de *H. pylori* associé au développement de ces maladies est l'îlot de pathogénicité *cag*-PAI [2]. Celui-ci code un système de sécrétion de type IV (T4SS) ainsi que la toxine CagA (*cytotoxin-associated gene A*), qui est injectée dans la cellule cible *via* T4SS. La présence de CagA dans la cellule hôte entraîne une perturbation des voies de signalisation cellulaires qui a de nombreuses conséquences : modification de la morphologie des cellules épithéliales par remodelage de l'actine et perturbation des jonctions serrées intercellulaires, induction d'interleukine 8, ou encore, inhibition de l'apoptose [3].

Quels facteurs des cellules hôtes permettent la translocation de CagA ? *H. pylori* interagit avec l'intégrine  $\beta$ 1, mais cette interaction n'est pas nécessaire pour la translocation de CagA [4]. Par ailleurs, la bactérie cible différentes molécules de la famille des *carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules* (CEACAM) [5, 6]. Ces molécules appartiennent à la super-famille des IgCAM<sup>1</sup> et sont situées à la surface des cellules hôtes. *H. pylori* se sert de ces

molécules (CEACAM1, 3, 5 et 6) comme récepteurs pour se fixer à la cellule cible *via* sa protéine de membrane externe HopQ. Cette interaction permet la translocation de CagA dans les cellules épithéliales de l'estomac [5-7]. Jusqu'à présent, aucune étude n'avait exploré le rôle et les conséquences de l'interaction HopQ-CEACAM dans le cadre de l'interaction de *H. pylori* et des cellules du système immunitaire. Or, les CEACAM1 et 6 sont exprimées par toutes les cellules myéloïdes tandis que l'expression de CEACAM3 est restreinte aux granulocytes neutrophiles.

Récemment, Behrens et coll. ont démontré l'importance de l'interaction HopQ-CEACAM lors d'une infection par *H. pylori* et les effets de cette interaction sur le fonctionnement cellulaire des granulocytes neutrophiles [8].

### L'interaction HopQ-CEACAM permet la translocation et la phosphorylation de CagA dans les granulocytes neutrophiles

Les chercheurs ont utilisé comme modèle d'étude des granulocytes neutrophiles murins exprimant des récepteurs CEACAM humains (hCEACAM1 ou hCEACAM3/6 ou hCEACAM *all*) issus de souris transgéniques. *H. pylori* n'interagissant qu'avec les récepteurs humains, des granulocytes neutrophiles humains et des granulocytes neutrophiles murins ont été utilisés respectivement comme témoins positifs et négatifs de l'interaction.

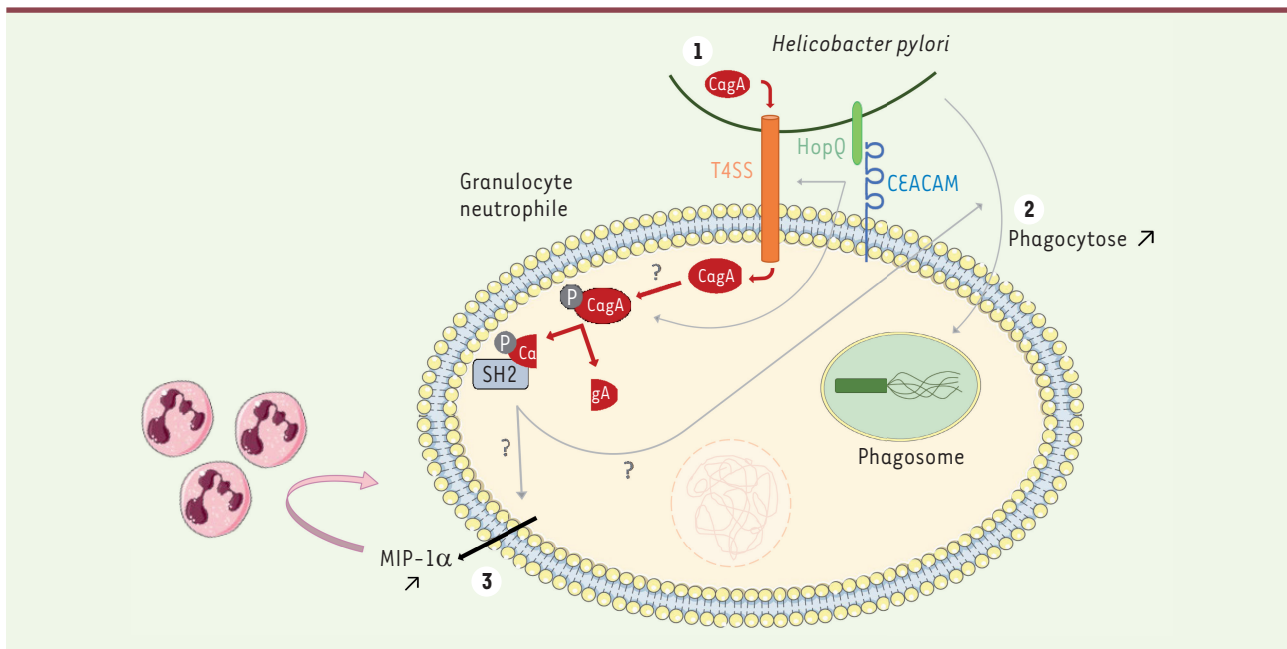
Après s'être assurés de l'expression des molécules humaines CEACAM à la surface des granulocytes neutrophiles murins, les chercheurs ont mis en évidence le rôle

de la protéine bactérienne HopQ dans l'interaction de *H. pylori* avec les granulocytes neutrophiles, par des expériences de cytométrie en flux. L'utilisation de souches d'*H. pylori* exprimant ou n'exprimant pas HopQ, a permis de montrer que l'expression de cette protéine était une condition nécessaire à de fortes interactions entre la bactérie et les granulocytes neutrophiles.

L'interaction HopQ-CEACAM permettant la translocation et la phosphorylation de la protéine CagA dans les cellules épithéliales de l'estomac, les chercheurs ont étudié ce mécanisme dans les granulocytes neutrophiles. Deux formes de la protéine CagA phosphorylée ont été détectées par une analyse en *western blot*, dont une correspond à sa forme clivée. Contrairement aux granulocytes humains, dans lesquels seule la forme clivée apparaît, les deux formes sont observées dans les granulocytes murins humanisés. Les chercheurs ont alors fait l'hypothèse que le clivage de CagA se produit moins rapidement dans ces derniers. Pour prouver que CagA est bien translocuée dans les granulocytes, les auteurs ont alors exprimé dans les bactéries une  $\beta$ -lactamase fusionnée à CagA. Un composé fluorescent intracellulaire est alors détecté par cytométrie en flux après son clivage par l'enzyme. Les résultats obtenus montrent un fort taux de translocation de CagA, en accord avec les résultats de l'analyse par *western blot*. Après avoir montré l'importance de l'interaction HopQ-CEACAM pour la translocation et la présence de la forme active phosphorylée de CagA dans leurs expé-

<sup>1</sup> Glycoprotéines membranaires impliquées dans l'adhérence entre cellules.





**Figure 1.** L'interaction HopQ-CEACAM entre *H. pylori* et le granulocyte neutrophile favorise la translocation de la protéine bactérienne CagA dans le granulocyte via le système de sécrétion bactérien T4SS (1). Une fois transloquée, CagA est phosphorylée puis clivée, et interagit avec des protéines à domaine SH2. Celles-ci modifient la signalisation cellulaire, une modification pouvant être responsable de l'augmentation de la phagocytose de la bactérie (2) et de l'augmentation de la sécrétion de la chimiokine MIP-1α (3), dont le rôle est de recruter d'autres granulocytes neutrophiles.

riences *in vitro*, les chercheurs ont testé la pertinence de cette interaction *in vivo*. Ils ont comparé des granulocytes neutrophiles humanisés provenant de souris infectées par *H. pylori*, soit de façon chronique pendant 4 semaines, soit pour la première fois (souris « naïves »). Une diminution significative de la translocation de CagA et de l'expression des récepteurs hCEACAM est observée dans les granulocytes des souris infectées de façon chronique comparativement à ceux des souris naïves. Ces résultats confirment l'importance de l'interaction HopQ-CEACAM pour la translocation de CagA *in vivo*. De plus, ils révèlent une diminution des récepteurs CEACAM à la surface des cellules lors d'une infection persistante par *H. pylori*.

### Conséquences d'une infection par *H. pylori* pour les granulocytes neutrophiles

Afin de déterminer si la présence de molécules CEACAM humaines à la surface des granulocytes murins a un impact

sur le fonctionnement cellulaire lors de l'infection, la concentration de chimiokines sécrétées par les cellules murines exprimant les récepteurs humains a été mesurée et comparée à celle de cellules murines ne les exprimant pas. Les chercheurs ont réalisé un test immunologique permettant de détecter trois chimiokines : MIP-1α (CCL3) et KC (CXCL1), impliquées dans le recrutement et l'activation des granulocytes neutrophiles, et MCP-1 (CCL2) qui recrute les monocytes et contrôle la migration des macrophages. Les résultats ont montré que seule MIP-1α est davantage sécrétée par les granulocytes murins humanisés que par les granulocytes non humanisés. Enfin, les chercheurs ont évalué les conséquences physiologiques liées à l'infection par *H. pylori* sur des granulocytes murins humanisés. Ils ont observé, par microscopie confocale, la phagocytose de la bactérie, qu'ils ont ensuite quantifiée par cytométrie en flux. Cette analyse a révélé la présence de nombreuses bactéries intracellulaires dans les granulocytes humanisés, mais pas dans les

granulocytes non humanisés, soulignant l'importance de l'interaction HopQ-CEACAM. Par ailleurs, la présence de récepteurs hCEACAM3/6 s'est révélé augmenter la capacité de *H. pylori* à survivre dans le phagosome<sup>2</sup>. Pour finir, des expériences de cytométrie en flux ont montré une production de formes réactives de l'oxygène plus importante lorsque *H. pylori* interagit avec des granulocytes exprimant hCEACAM3/6 que lorsque la bactérie interagit avec des granulocytes neutrophiles exprimant hCEACAM1. La raison de cette différence reste à comprendre. Les résultats d'une étude plus ancienne suggèrent que l'augmentation des formes réactives de l'oxygène est extracellulaire, expliquant la survie de *H. pylori* dans le phagosome [9].

### Les conséquences multiples de l'interaction HopQ-CEACAM

L'interaction HopQ-CEACAM de *H. pylori* avec les granulocytes neutrophiles permet la translocation de la toxine

<sup>2</sup> Le phagosome est un organite formé dans une cellule phagocytaire à la suite de la phagocytose.

