

Les cellules du tubule collecteur rénal, régulateurs de la réponse immunitaire au cours des pyélonéphrites

Alain Vandewalle, Cécilia Chassin

Inserm, U773, Centre de Recherche Biomédicale Bichat-Beaujon (CRB3), BP 416, F-75018, Paris ;
Université Paris 7 – Denis Diderot, site Bichat, Faculté de Médecine Xavier Bichat, BP 416, 16, rue Henri Huchard, 75870, Paris, F-75870, Paris, France.
alain.vandewalle@bichat.inserm.fr

> Les infections du tractus urinaire (ITU) et les pyélonéphrites aiguës (PNA) sont parmi les infections bactériennes les plus fréquemment rencontrées responsables de morbidité et de mortalité. Si, dans la grande majorité des cas, ces infections sont jugulées par une antibiothérapie adaptée, elles peuvent néanmoins récidiver, ou être responsables de néphropathies interstitielles et de septicémies parfois mortelles [1]. Les ITU et les APN sont aussi la première cause de complications infectieuses chez les patients ayant reçu une transplantation rénale [2]. Les *Escherichia coli* uropathogènes (UPEC) sont majoritairement responsables des ITU et des PNA. Des travaux *princeps* ont démontré que l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales du tractus urinaire représente la première étape de la pathogénicité des *E. coli* uropathogènes. Les *E. coli* uropathogènes responsables de PNA expriment généralement les P-fimbriae de type 1 qui se lient à des glycoprotéines mannosylées dans les cellules mucosales du bas appareil urinaire (les cellules épithéliales vésicales), ainsi que les P-fimbriae¹ qui se lient à des glycosphingolipides abondamment exprimés à la surface des cellules tubulaires rénales [3-6]. L'identification des récepteurs *Toll-like* (TLR) abondamment exprimés dans les cellules leucocytaires et capables de reconnaître

des « molécules-signature »² des agents bactériens ou viraux, de protozoaires et de champignons [7], a permis de mieux comprendre le rôle des cellules du système immunitaire dans la pathogénie des pathologies inflammatoires tissulaires, notamment celui des différentes sous-populations lymphocytaires, des macrophages et des polynucléaires neutrophiles dans l'initiation des réponses inflammatoires et dans leur interaction avec les cellules mucosales. Des études récentes ont aussi démontré que certains récepteurs TLR sont exprimés par les cellules épithéliales, qui, outre leur rôle de barrière protectrice, jouent un rôle régulateur de la réponse immunitaire dans le développement des affections inflammatoires [8]. Le récepteur *Toll-like 4* (TLR4), qui reconnaît le lipopolysaccharide (LPS) des bactéries Gram négatif, est impliqué dans l'adhésion des UPEC aux cellules vésicales, et dans l'invasion qui suit [9, 10]. De plus, des études d'invasion bactérienne dans des modèles expérimentaux d'ITU, réalisées chez des souris chimériques exprimant ou non TLR4 dans les compartiments des cellules hématopoïétiques ou mucosales, ont permis de démontrer que les cellules mucosales vésicales et rénales, conjointement aux cellules immunitaires, participent à l'initiation de la réponse immunitaire innée [11, 12]. Cependant,

les sites intrarénaux d'adhésion et d'invasion des bactéries et les mécanismes d'activation des voies de signalisation responsables de la production de cytokines pro-inflammatoires conduisant à l'attraction des polynucléaires neutrophiles au site d'infection étaient, jusqu'à une date récente, très mal connus.

Les cellules intercalaires du tubule collecteur : un site préférentiel d'adhésion des *E. coli* uropathogènes

Utilisant un modèle d'infection urinaire rétrograde chez la souris, nous avons montré que des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes colonisent les reins 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 [13]. Les expériences ont été réalisées sur des cultures primaires de cellules de tubules collecteurs disséqués à partir de reins de souris sauvages ou invalidés 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. Un autre article a aussi montré que la liaison des types 1- et P-fimbriae à leurs récepteurs respectifs active la voie

¹ Les fimbriae sont de courts appendices fins comme des cheveux, différents des flagelles, non impliquées dans la mobilité. Ces appendices jouent un rôle dans les phénomènes d'adhésion. On ne les voit qu'en microscopie électronique à cause de leur petite taille.

² Ces molécules-signatures sont appelées PAMP pour *pathogen associated molecular patterns* ; citons le LPS des bactéries à Gram négatif, le peptidoglycane de la paroi bactérienne, l'ADN bactérien, l'ARN double brin de certains virus signatures moléculaires.



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 [14].

Mécanismes d'adhésion et de translocation des *E. coli* uropathogènes au travers de l'épithélium rénal

La possibilité d'une translocation des bactéries depuis la lumière du tubule rénal (où s'écoule l'urine) vers l'interstitium rénal, conduisant à la dissémination des bactéries responsables de septicémie qui caractérise les tableaux de PNA reste aussi largement méconnue. L'identification des cellules intercalaires comme sites d'adhésion des UPEC et d'initiation de la réponse inflammatoire qui en résulte a conduit à rechercher si les *E. coli* sont capables de traverser l'épithélium étanche du tubule collecteur rénal. Utilisant plusieurs souches d'UPEC exprimant différents facteurs de virulence, nous avons proposé deux mécanismes d'invasion bactérienne, *paracellulaire* et *transcellulaire* [15]. La souche d'UPEC CFT073 exprimant les cytotoxines cytolitiques et vacuolisantes *sat* (*secreted vacuolating cytotoxin*) et *hlyA* (*alpha-hemolysin*) altère l'intégrité de l'épithélium (ce qui se traduit par un effondrement de la résistance transépithéliale) et permet le passage *paracellulaire* des bactéries. Deux autres souches d'UPEC (HT7, HT91), n'exprimant pas les facteurs de virulence *sat* et *hlyA*, peuvent franchir l'épithélium tubulaire rénal sans altérer l'intégrité des jonctions serrées. Dans ce cas, la translocation *transcellulaire* des bactéries s'effectue par un mécanisme d'activation cellulaire dépendant de TLR4, induisant le recrutement de radeaux lipidiques à la membrane plasmique, favorisant ainsi le passage *transcellulaire* des bactéries [15]. La *Figure 1* résume les deux mécanismes de passage *paracellulaire* et *transcellulaire* des UPEC au travers de l'épithélium du tubule collecteur rénal.

Mécanismes de régulation de la réponse immunitaire rénale au cours des infections ascendantes

Un certain nombre de facteurs peuvent interférer avec les capacités de réponse inflammatoire et moduler ainsi les capacités d'invasion du tractus urinaire par les bactéries. Les travaux du groupe de C. Svanborg ont démontré le rôle clé joué par les récepteurs des chimiokines CXCR dans l'attraction et la *transmigration* des polynucléaires neutrophiles et la résistance aux infections bactériennes rénales [16, 17]. Rouschop *et al.* [18] ont aussi mis en évidence l'implication des molécules d'adhésion CD44 dans la colonisation vésicale et rénale des UPEC : dans des expériences d'inoculation rétrograde d'UPEC, la charge bactérienne est significativement moindre chez les souris déficientes en CD44 (*knock-out*) que chez les souris sauvages. Une stratégie identique appliquée par le groupe de S. Florquin à des souris invalidées pour l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1) a montré que le PAI-1, par son effet sur le recrutement des polynucléaires neutrophiles, participe à l'initiation de la réponse inflammatoire et de la clairance rénale des bactéries [19]. Les cellules du tubule collecteur rénal jouent un rôle clé dans le contrôle de la réabsorption hydrique et sodée par les hormones corticostéroïdiennes et l'arginine vasopressine (AVP). Or, on observe souvent des polyuries associées à une augmentation paradoxale des taux plasmatiques circulants de vasopressine chez les enfants présentant des épisodes de pyélonéphrite. Cela nous a conduit à analyser le rôle de l'AVP dans les mécanismes de la réponse inflammatoire dans les cellules du tubule collecteur, cibles des UPEC. Nous avons montré que la dDAVP, un agoniste du récepteur V2 de la vasopressine, inhibe la réponse inflammatoire induite par le LPS via un mécanisme de déphosphorylation faisant intervenir la sérine/thréonine protéine

phosphatase 2A (PP2A) et CFTR³ (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) [20]. Nous avons aussi montré que la dDAVP favorise la colonisation bactérienne rénale en inhibant la réponse inflammatoire déclenchée par les cellules du tubule collecteur rénal. Ces résultats ont permis d'identifier une nouvelle voie de régulation impliquant la dDAVP, CFTR et la PP2A dans le contrôle de la réponse immunitaire innée induite par les UPEC [20]. À l'inverse, il a été montré que le LPS induit une diminution de l'expression des récepteurs V2 de la vasopressine [21]. De plus, l'inflammation induite dans des modèles d'obstruction urétérale réprime l'expression de l'aquaporine 2 normalement stimulée par l'AVP [22]. L'ensemble de ces études permet d'identifier deux processus de signalisation apparemment mutuellement antagonistes dans les mécanismes de réponse inflammatoire intrarénale [23].

Conclusions

Ces données récentes ont apporté un faisceau de fortes présomptions en faveur du rôle initiateur des cellules tubulaires rénales dans l'activation de la réponse immunitaire innée au cours des infections urinaires ascendantes. La mise en évidence de ces nouveaux mécanismes contrôlant les défenses immunitaires rénales pourrait influencer l'attitude thérapeutique. Le travail de Chassin *et al.* [20] sur l'effet délétère de l'AVP renforce l'idée simple de l'effet bénéfique sur la clairance bactérienne rénale de l'hydratation, voire de l'hyperhydratation, chez des patients atteints de pyélonéphrites graves (après avoir éliminé un obstacle urétéral). Le fait que le blocage des récepteurs V2 par des antagonistes appartenant à la famille des Vaptans (*non-peptide arginine-vasopressin-receptor antagonists*), préconisés dans le traitement des hyponatrémies réfractaires, stimule la réponse immunitaire intrarénale locale

³ CFTR : dont les mutations caractérisent la mucoviscidose.

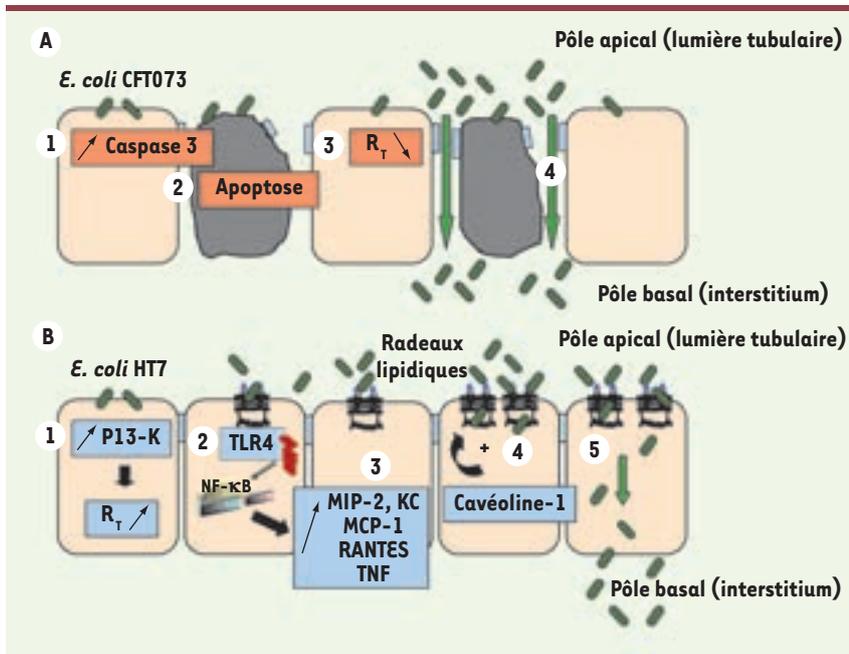


Figure 1. Mécanismes de translocation des UPEC au travers de l'épithélium tubulaire rénal.

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 dépendant du récepteur TLR4, conduisant à l'activation du facteur de transcription NF- κ 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* (d'après [15]).

et provoque une diminution drastique de la charge bactérienne, pourrait représenter une approche pharmacologique intéressante, complémentaire d'une antibiothérapie, dans les cas d'infections récurrentes ou persistantes ainsi que dans les pyélonéphrites graves. \diamond

Renal collecting duct cells act as modulators of the innate immune response during ascending pyelonephritis

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. De Souza RM, Olsburgh J. Urinary tract infection in the renal transplant patient. *Nat Clin Pract Nephrol* 2008 ; 4 : 252-64.
3. Connell I, Agace W, Klemm P, et al. Type 1 fimbrial expression enhances *Escherichia coli* virulence for the urinary tract. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 9827-32.
4. Mulvey MA, Lopez-Boado YS, Wilson CL et al. Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science* 1998 ; 282 : 1494-7.
5. Leffler H, Svanborg-Edén C. Chemical identification of a glycosphingolipid receptor for *Escherichia coli* attaching to human urinary tract epithelial cells and agglutinating human erythrocytes. *FEMS Microbiol Lett* 1980 ; 8 : 117-82.
6. Roberts JA, Marklund BI, Ilver D, et al. The Gal(alpha 1-4)Gal-specific tip adhesion of *Escherichia coli* P-fimbriae is needed for pyelonephritis to occur in the normal urinary tract. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 11889-93.
7. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004 ; 4 : 499-511.
8. Gribar SC, Richardson WM, Sodhi CP, Hackam DJ. No longer an innocent bystander: epithelial toll-like receptor signaling in the development of mucosal inflammation. *Mol Med* 2008 ; 14 : 645-59.
9. 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.
10. Martinez JJ, Mulvey MA, Schilling JD, et al. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. *EMBO J* 2000 ; 19 : 2803-12.
11. 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.
12. 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 : 2582-7.
13. Chassin C, Goujon JM, Darce 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.
14. Fischer H, Yamamoto M, Akira S, et al. Mechanism of pathogen-specific TLR4 activation in the mucosa: fimbriae, recognition receptors and adaptor protein selection. *Eur J Immunol* 2006 ; 36 : 267-77.
15. Chassin C, Vimont S, Cluzeaud F, et al. TLR4 Facilitates translocation of bacteria across renal collecting duct cells. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 2364-74.
16. Svensson M, Irljala H, Svanborg C, Godaly G. Effects of epithelial and neutrophil CXCR2 on innate immunity and resistance to kidney infection. *Kidney Int* 2008 ; 74 : 81-90.
17. Ragnarsdóttir B, Fischer H, Godaly G, et al. TLR- and CXCR1-dependent innate immunity: insights into the genetics of urinary tract infections. *Eur J Clin Invest* 2008 ; 38 (suppl 2) : 12-20.
18. Rouschop KM, Sylva M, Teske GJ, et al. Urothelial CD44 facilitates *Escherichia coli* infection of the murine urinary tract. *J Immunol* 2006 ; 177 : 725-72.
19. Roelofs JJ, Teske GJ, Bonta PI, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 regulates neutrophil influx during acute pyelonephritis. *Kidney Int* 2008 ; 75 : 52-9.
20. Chassin C, Horneff MW, Bens M, et al. Hormonal control of the renal immune response and antibacterial host defense by arginine vasopressin. *J Exp Med* 2007 ; 204 : 2837-52.
21. Grinevich V, Knepper MA, Verbalis J, et al. Acute endotoxemia in rats induces down-regulation of V2 vasopressin receptors and aquaporin-2 content in the kidney medulla. *Kidney Int* 2004 ; 65 : 54-62.
22. Li C, Wang W, Knepper MA, et al. Downregulation of renal aquaporins in response to unilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003 ; 284 : F1066-79.
23. Knepper MA, Star RA. Link vasopressin: friend or foe? *Nat Med* 2008 ; 14 : 14-6.