



HAL
open science

Etude de l'activité anti-inflammatoire des phosphatidyl-inositol mannosides : composants naturels de la paroi des mycobactéries et dérivés synthétiques

Stéphanie Rose

► **To cite this version:**

Stéphanie Rose. Etude de l'activité anti-inflammatoire des phosphatidyl-inositol mannosides : composants naturels de la paroi des mycobactéries et dérivés synthétiques. *Biologie cellulaire*. 2012. hal-01472810

HAL Id: hal-01472810

<https://ephe.hal.science/hal-01472810>

Submitted on 21 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES

Sciences de la Vie et de la Terre

MEMOIRE

Présenté

par

Rose Stéphanie

Pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes

TITRE :

**Etude de l'activité anti-inflammatoire
des phosphatidyl-inositol mannosides :
composants naturels de la paroi des mycobactéries
et dérivés synthétiques.**

soutenu le : 27 novembre 2012

devant le jury suivant :

Pr. **Bettaieb Ali** – Président

Dr. **Quesniaux Valérie** – Tuteur scientifique

Pr. **Canque Bruno** – Tuteur pédagogique

MC. **Paul Catherine** – Rapporteur

Pr. **Weber Gunther** – Examineur

Mémoire préparé sous la direction de :

Dr. Quesniaux Valérie

quesniaux@cnrs-orleans.fr

UMR 7355 Immunologie et Neurogénétique Expérimentales et Moléculaires
Institut de Transgénose, Orléans

Directeur : Dr. Quesniaux Valérie
et du Pr. Canque Bruno

bruno.canque@gmail.com

Développement du système immunitaire de l'EPHE

INSERM U944 et UMR Paris7/CNRS 7212

Institut Universitaire d'Hématologie – Centre Hayem, Paris

Directeur : Pr. Canque Bruno
EPHE (Sciences de la Vie et de la Terre)

ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES
SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

**Etude de l'activité anti-inflammatoire
des phosphatidyl-inositol mannosides :
composants naturels de la paroi des mycobactéries
et dérivés synthétiques.**

Rose Stéphanie

Les phosphatidyl-myo-inositol mannosides sont des précurseurs biosynthétiques de lipoarabinomannanes et lipomanannes qui sont des composants de la paroi des bactéries du genre *Mycobacterium*. Les phosphatidyl-myo-inositol dimannosides (PIM2) et hexamannosides (PIM6) sont les deux formes les plus abondantes de PIM chez les *M. tuberculosis* et *M. bovis* (BCG). La synthèse complète des différents PIMs a été rapportée. Nous avons déjà démontré que les fractions de PIM6 ont une activité inhibitrice sur la production de cytokines pro-inflammatoires induites par le LPS dans des macrophages primaires. L'activité inhibitrice des PIMs est également retrouvée avec des PIMs synthétiques.

Nous nous sommes intéressés au mode d'action de ces molécules : tout d'abord en étudiant la possibilité d'une activation alternative des macrophages et en étudiant également les voies de signalisation intracellulaire impliquées dans cette inhibition.

Dans un deuxième temps nous avons suivi l'interaction PIM2 – macrophage grâce à deux PIM2 traceur, l'un couplé à une biotine et l'autre à une molécule de TRITC.

Enfin nous avons déterminé les propriétés anti-inflammatoires de différents analogues de PIM2 *in vitro* sur des cultures de macrophages stimulées au lipopolysaccharide, puis *in vivo* dans un modèle de challenge modéré au lipopolysaccharide chez la souris.

L'activité anti-inflammatoire des PIM en réponse au LPS pourrait être une thérapie intéressante pour bloquer les réponses aux endotoxines, diminuer l'expression des cytokines dans le cadre des chocs toxi-infectieux, et peut être plus largement dans d'autres pathologies inflammatoires.

Mots-Clés : Phosphatidyl-inositol mannosides ; Analogues synthétiques de PIM2 ; Agent anti-inflammatoire ; Lipopolysaccharide ; TLR4 ; Mycobactéries.

Table des matières

Liste des abréviations	5
Liste des figures	7
Introduction	9
<u>I Le système immunitaire</u>	9
<u>I – 1 L'immunité innée</u>	9
<u>Les récepteurs de reconnaissance de motifs associés aux pathogènes (PRRs)</u>	
<u>I – 1- 1 Les TLRs</u>	10

<u>I – 1 - 2 PAMPs et TLRs</u>	11
<u>Les TLRs extracellulaires</u>	11
<u>Les TLRs intracellulaires</u>	13
<u>I – 1 - 3 TLR4 et le lipopolysaccharide</u>	14
<u>I – 1 - 4 Les PIM (phosphatidyl-myo-inositol mannosides) et TLR</u>	17
<u>I - 2 L'immunité adaptative</u>	19
<u>II L'inflammation</u>	19
<u>III Les macrophages</u>	21
<u>IV Les médiateurs de l'inflammation</u>	23
<u>IV – 1 L'oxyde nitrique</u>	23
<u>IV – 2 Le facteur de nécrose des tumeurs</u>	24
<u>IV – 3 L'interleukine 12</u>	25
<u>IV – 4 L'interleukine 6</u>	27
<u>V Sepsis et choc septique</u>	27
Projet et objectifs	30
Matériels et méthodes utilisés	31
Résultats	41
Discussion	73
Bibliographie	77
Annexes	82

Liste des abréviations

ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AP-1	Activator Protein 1
ARN	Acide Ribonucléique
BCG	Bacille de Calmette et Guérin
BSA	Serum Albumine Bovine
CD1	Cluster of differentiation 1
CD14	Cluster of differentiation 14
CD4	Cluster of differentiation 4
CD8	Cluster of differentiation 8
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CpG	Cytidine-phosphate-guanosine
DC-SIGN	Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin
Ebi3	Epstein Barr virus-induced protein 3
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EMCV	Encéphalomyocarditis Virus
eNOS	Oxyde nitrique synthase endothéliale
ERK	Extracellular signal-regulated kinases
FIZZ1	Found in inflammatory zone 1
H37LM	Lipomannane de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv
ICOA	Institut de Chimie Organique et Analytique de l'université d'Orléans
IFN_	Interferon _
IL-1	Interleukine 1
IL-10	Interleukine 10
IL-12	Interleukine 12
IL-13	Interleukine 13
IL-1Ra	Interleukine 1 receptor antagonist
IL-23	Interleukine 23
IL-27	Interleukine 27
IL-35	Interleukine 35
IL-4	Interleukine 4
IL-6	Interleukine 6
IL-6R	Interleukine 6 Receptor
IL-8	Interleukine 8
INF_	Interféron _
INF_	Interféron _
IFN_	Interféron _
iNOS	Oxyde nitrique synthase inductible
IRF3	Interferon regulatory factor 3
IRF7	Interferon regulatory factor 7
JNK	c-Jun N-terminal kinases
LAM	Lipoarabinomannanes
LBP	LPS-binding protéine
LM	Lipomanannes
LPS	Lipopolysaccharide
LRR	Domaine extracellulaire riche en leucines
MAP	Kinases Mitogen-activated protein kinase
MCMV	Cytomégalovirus murin
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor
MD2	Myéloid differentiation 2
MRC1	Mannose récepteur 1
MSR1	Macrophage Scavenger Receptor 1
MyD88	Myéloid differentiation primary response protein 88
NF-κB	Nuclear Factor-kappa B

NK Natural Killer
NLRs NOD-like Receptors
nNOS Oxyde nitrique synthase neuronale
NO Oxyde nitrique
PAMPs Pathogen-Associated Molecular Patterns
PIM Phosphatidyl-myo-inositol mannosides
Poly I:C Acide polyinosinic-polycytidylic
PRRs Pattern Recognition Receptors
RLRs RIG-1 receptors
RSV Respiratory Sinctical Virus
SIGN-R1 C-type lectin receptors specific intracellular adhesion molecule-3 grabbing nonintegrin homolog-related 1
TACE TNF_ Converting Enzyme
TGF_ Transforming growth factor _
Th2 T helper 2
TIR Toll/Interleukine-1 receptor
TLRs Toll-like Receptors
TNFR1 TNF Receptor 1
TNFR2 TNF Receptor 2
TNF_ Tumor necrosis factor_
TRIF TIR domain-containing adaptator protein inducing interferon_
TRITC Tetra méthyle Rhodamine Iso Thio Cyanate
WNS West Nile Virus

Introduction

I Le système immunitaire

Le système immunitaire permet à l'organisme de se protéger contre les infections dues aux microorganismes tels que les virus, bactéries, champignons ou parasites. Chez les vertébrés, il est constitué de deux parties : l'immunité innée et adaptative, qui joue un rôle important dans l'élimination des pathogènes chez les mammifères. (1-3)

I - 1 L'immunité innée

L'immunité innée est la première ligne de défense de l'organisme, les cellules qui la composent sont des granulocytes, macrophages, cellules dendritiques, neutrophiles, basophiles, mastocytes, éosinophiles et les cellules NK. La réponse immunitaire innée est précoce, rapide et immédiate, elle a lieu dans les 4 heures suivant la reconnaissance de l'agent pathogène. Les cellules impliquées dans l'immunité innée portent à leur surface des récepteurs, en configuration germinale, permettant de détecter et de reconnaître des motifs constitutifs et conservés des agents pathogènes. Charles Anderson Janeway en 1989 posait les bases du concept de récepteurs de reconnaissance de motifs (Pattern Recognition Receptors : PRRs) motifs associés aux pathogènes (Pathogen-Associated Molecular Patterns : PAMPs), les PRRs reconnaissant des PAMPs spécifiques de chaque pathogène, exprimés sur les cellules de l'immunité innée et discriminant les structures du soi et du non soi (4).

Les récepteurs de reconnaissance de motifs associés aux pathogènes (PRRs)

Chez les mammifères il existe plusieurs groupes de PRRs, les récepteurs Toll-like (TLRs), les récepteurs RIG-I (retinoic acid-induced gene I) (RLRs), les récepteurs NOD-like (NLRs), les lectines de type C (CLRs) ainsi qu'une autre voie dont le récepteur n'est pas identifié qui lie les ADN doubles brins de virus, bactéries ou de cellules endommagées .

Ces récepteurs sont des « senseurs » cellulaires qui ont deux fonctions :

- 1) discriminer les structures du soi et du non soi
- 2) promouvoir une réponse contre l'agent pathogène.

I - 1- 1 Les TLRs

Les TLRs sont conservés au cours de l'évolution, des homologues sont retrouvés chez les mammifères, les plantes et les insectes. La protéine « Toll » a d'abord été identifiée chez la drosophile, grâce à un mutant dont la susceptibilité aux infections fongiques était augmentée (5). L'équipe d'Hoffman a ensuite démontré que le récepteur Toll était responsable de la détection du champignon et de la réponse de l'hôte (6) puis un homologue a été découvert chez l'homme. Aujourd'hui il existe 13 membres de la famille des TLRs, chacun reconnaissant des motifs différents des agents pathogènes. Les TLR1 à 9 sont

communs entre l'homme et la souris, alors que le TLR10 n'est fonctionnel que chez l'homme. Les TLR11 à 13 ne sont exprimés que chez la souris (7, 8, 9). Les TLRs sont largement exprimés sur les cellules du système immunitaire : les cellules présentatrices d'antigènes, macrophages, cellules dendritiques mais aussi sur les neutrophiles, les lymphocytes B, les cellules épithéliales et endothéliales (10-14).

Les TLRs sont des protéines transmembranaires de type I constituées de trois domaines :

- 1) un domaine extracellulaire riche en leucines
- 2) un domaine transmembranaire
- 3) un domaine Toll/Interleukine-1 receptor (TIR) cytoplasmique.

La reconnaissance du ligand par le TLR est médiée par le domaine extracellulaire possédant un domaine riche en leucine (LRR) composé de 16-28 copies du motif riche en leucine « xLxxLXLxx ». (15) Des analyses structurales et biochimiques indiquent que les TLR forment des hétéro ou homodimères (ex TLR1/TLR2, TLR2/TLR6, TLR3/TLR3 et TLR4/TLR4), ce qui facilite probablement la dimérisation du domaine cytoplasmique et la signalisation intracellulaire (15).

Les TLRs sont divisés en 2 sous-groupes différenciés selon la localisation extracellulaire ou intracellulaire du TLR, ainsi que par la nature du PAMPs qu'ils reconnaissent. Les TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 et TLR11 sont localisés à la surface des cellules et reconnaissent des composants de membranes microbiennes comme les lipides, les lipopeptides et protéines. Alors que TLR3, TLR7, TLR8 et TLR9 sont intracellulaires et exprimés dans des endosomes, lysosomes ou le réticulum endoplasmique où ils reconnaissent les acides nucléiques microbiens.

I – 1 – 2 PAMPs et TLRs

a. Les TLRs extracellulaires

TLR1 et TLR2 jouent un rôle important dans la reconnaissance du lipopeptide synthétique, (N-palmitoyl-S-dipalmitoylglycerol)₃ Cys-Ser(Lys)₄ (Pam3CSK4) et de la lipoprotéine de surface du pathogène *Borrelia burgdorferi*, la protéine de surface A (OspA) (16, 17). TLR6 en hétérodimère avec TLR2 participe à la reconnaissance de la lipoprotéine de 2kD produite par les macrophages activés par les mycoplasmes (18). TLR2 est également essentiel pour la reconnaissance du peptidoglycane, le lipomannane (LM) et le lipoarabinomannose (Ara-LAM) de mycobactéries à croissance rapide, le zymosan des champignons, le tGPI-mucin de *Trypanosoma cruzi* ou la protéine hémagglutinine (1). TLR4 reconnaît le

lipopolysaccharide (LPS) des bactéries gram négatif. TLR5 et TLR11 reconnaissent des protéines provenant de bactéries ou de parasites. TLR5 est essentiel pour la reconnaissance du composant des bactéries flagellées, la flagelline, qui est nécessaire à la mobilité bactérienne (19). TLR11 reconnaît une molécule dérivée de *Toxoplasme*, la profiline qui induit la production d'interleukine 12 (IL-12). La profiline joue un rôle important dans la mobilité du parasite et l'invasion de la cellule hôte (20, 21).

b. Les TLRs intracellulaires

TLR9 est responsable de la reconnaissance de l'ADN CpG non méthylé, il reconnaît également les ADN des virus herpès simplex de type 1 et 2, et le cytomégalo virus murin (MCMV) (1). Les ARN sont aussi des ligands des TLRs. TLR3 reconnaît un analogue synthétique d'ARN double brin, l'acide polyinosinic-polycytidylic (poly I:C) ainsi que les ARN double brin dérivés de Réovirus, Encéphalomyocarditis virus (EMCV), Respiratory Sinctical virus (RSV) ou West Nile virus (WNS) (1). TLR7 reconnaît les ARN simple brin riches en guanosine ou en uridine dérivés du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et du virus influenza (22, 23). TLR7 reconnaît également des nucléosides de faible poids moléculaire analogues de l'imidazoquinoline, comme l'imiquimod et le resiquimod (R-848) qui sont des ligands synthétiques (24, 25).

I – 1 – 3 TLR4 et le lipopolysaccharide

Le lipopolysaccharide est un composant fortement exprimé sur les parois cellulaires de bactéries Gram négatives, il joue un rôle crucial dans le maintien de la structure et l'intégrité fonctionnel de la membrane externe de ces bactéries (26). La structure du LPS est conservée. Il est composé de 3 parties : le lipide A, le corps hydrophile et la chaîne O. Le lipide A est fortement hydrophobe et est responsable de l'activité endotoxique de la molécule entière de LPS. Le lipide A est inséré dans la partie externe de la membrane externe de la paroi bactérienne. La chaîne O hydrophile apporte à la bactérie une protection contre les antibiotiques hydrophiliques et les protéines du complément. C'est une région variable, elle est aussi nommée antigène O, elle permet de différencier environ 170 types d'*Escherichia Coli*. Il existe plusieurs formes de LPS. Le « rough » (R-) LPS qui provient de bactéries portant une mutation au niveau du gène impliqué dans la synthèse et l'attachement de la chaîne O, et donnant des colonies de type « rough », d'aspect rugueux. Le (S-) LPS provient de bactéries formant des colonies de type « smooth », d'aspect lisse.

TLR4 est le récepteur impliqué dans la réponse au LPS, il a d'abord été identifié grâce à des études génétiques sur des souris mutantes C3H/HeJ qui ont une insensibilité au LPS, et possèdent une mutation autosomale récessive sur le locus *lps* (27, 28). TLR4 interagit avec la protéine MD2 (Myeloid differentiation 2) de manière constitutive, ce complexe est formé

dans le réticulum endoplasmique puis exprimé à la surface cellulaire. Dans le complexe TLR4/MD2, cinq des six chaînes lipidiques du LPS lient la poche hydrophobique de MD2, et la dernière chaîne exposée à la surface de MD2 associe le TLR4 (29, 30). Le résultat de ces liaisons forme un récepteur multimérique composé de deux complexes TLR4-MD2-LPS qui initie la transduction du signal. D'autres protéines comme la LBP (LPS-binding protéine) ou CD14 sont impliquées dans la liaison du LPS (31). LBP est une protéine soluble plasmatique qui lie le LPS. Le CD14 est une ancre GPI, récepteur lié à la membrane par un glycosylphosphatidylinositol (GPI), qui peut également exister sous forme soluble relarguée par les cellules. La LBP lie le LPS et le dirige vers CD14, qui lie la LBP-LPS grâce à son domaine extracellulaire LRR. Ce complexe va emmener le LPS aux récepteurs complexés TLR4/MD2. Les protéines adaptatrices : MyD88 (Myéloid differentiaion primary response protein 88), MyD88/TIR domain-containing adaptator molecule (Mal/TIRAP) ou TRAM (TRIF-related adaptator molecule) et TRIF (TIR domain-containing adaptator protein inducing interferon- γ) sont ensuite recrutées au niveau du domaine TIR de TLR4. Une cascade de signalisation se met en place permettant de distinguer deux voies : l'une rapide (via MyD88) et l'autre tardive (via TRIF). L'activation de la cascade de signalisation via MyD88, entraîne l'activation des facteurs de transcription NF- κ B (nuclear factor-kappa B) et AP-1 qui induisent l'expression de différents gènes codant, pour des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6, IL-12) et des interférons de type I (IFN- α et β). L'activation de la voie TRIF, voie tardive, passe par la formation d'endosomes précoces induisant également l'activation des facteurs de transcription NF- κ B/AP-1 et IRF3 (Interferon Regulatory Factor 3).

L'activation des cellules du système immunitaire inné via le système TLRs/PAMPs aboutit à la mise en place d'une réponse spécifique contre l'agent pathogène pour permettre son élimination, passant par la production de cytokines pro-inflammatoires et d'interférons, entraînant la mise en place de l'inflammation. Mais celle-ci peut également être détournée par des petites molécules comme les PIMs provenant de la paroi de *Mycobacterium*.

I – 1 – 4 Les PIM (phosphatidyl-myo-inositol mannosides) et TLR.

Les macrophages sont, avec les cellules dendritiques, les premières cellules entrant en contact avec les mycobactéries au niveau pulmonaire. Ils ont un rôle essentiel. En effet, la reconnaissance et la phagocytose des mycobactéries entraînent la sécrétion de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires, l'expression de molécules de costimulation, et la production d'oxyde nitrique qui a une activité anti-microbienne. Les macrophages et cellules dendritiques ayant phagocytés les bactéries transportent ensuite les antigènes microbiens du site de l'infection jusqu'aux ganglions lymphatiques, et permettent l'induction de la réponse immunitaire adaptative médiée par les lymphocytes T.

Les phosphatidyl-myo-inositol mannosides (PIM) sont des précurseurs

biosynthétiques de lipoarabinomannanes (LAM) et lipomanannes (LM) qui sont des composants de la paroi des bactéries du genre *Mycobacterium*.

Les composants de la paroi des mycobactéries, LAM, LM et PIM (Figure 6), sont reconnus par différents types de récepteurs dont les TLRs (32-35), et les lectines de type C comme le récepteur au mannose et le DC-SIGN/CD209 (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) importants pour la liaison et l'internalisation de *M.tuberculosis* par les cellules dendritiques humaines (36-38). Notre équipe a mis en évidence les effets pro-inflammatoires du LM de mycobactérie dépendants de TLR2, MyD88 et indépendants de TLR4 et TLR6 (39). Cependant le LM peut également exercer une activité inhibitrice sur la réponse des macrophages vis à vis du LPS. Les fractions de LM tri et tétra-acylées induisent la stimulation des macrophages passant par TLR2, TLR4 et MyD88 (40) alors que les LM di-acylés inhibent la production de cytokines induites par le LPS de manière indépendante de TLR2, de SIGN-R1 et du récepteur au mannose (41).

Les phosphatidyl-myo-inositol dimannosides (PIM2) et hexamannosides (PIM6) sont les deux formes les plus abondantes de PIM chez les *M. tuberculosis* et *bovis* (BCG). La purification et la caractérisation chimique et moléculaire des PIMs révèlent 4 formes majeures acylées (Figure 6): monoacylées, lyso-PIM, diacylées PIM, triacylées Ac1PIM et tétraacylées Ac2PIM pour les deux PIM2 et PIM6 (42, 43). La synthèse complète des différents PIMs a été rapportée (44-47). Les fractions purifiées de PIM6 inhibent la sécrétion de NO et de TNF_ induite par le LPS dans des macrophages primaires. Nous avons montré que cette inhibition est dépendante de leur degré d'acylation, le lyso-PIM6 étant le moins efficace. Cette inhibition est indépendante de TLR2 (48). L'activité inhibitrice des PIMs est également retrouvée avec des PIMs synthétiques tels que le PIM1 et le PIM2 mimétique, le PIM2 mimétique apparaissant plus efficace que le PIM1 (48). L'étude des deux voies de signalisation de TLR4, voie rapide via MyD88, et tardive via TRIF, chez des macrophages déficients pour l'une ou l'autre des molécules adaptatrices montrent que le PIM1 synthétique inhibe les deux voies de signalisation (48). L'inhibition de la translocation de NF- κ B au niveau du noyau cellulaire est également observée en présence des PIMs synthétiques. L'activité inhibitrice des PIMs synthétiques sur la réponse au LPS n'est pas dépendante du récepteur au mannose, de SIGN-R1 et CD1d, cette activité inhibitrice a également été observée avec d'autres agonistes de TLR4 : lipide A synthétique, H37LM, Taxol (48, 49). Enfin l'activité inhibitrice du PIM 1 synthétique et d'analogues de PIM2 sur la réponse au S-LPS est dépendante de CD14 pour la production du TNF_, mais indépendante de CD14 pour l'inhibition de la synthèse de l'IL-12 (49).

I - 2 L'immunité adaptative

L'immunité adaptative, qui n'existe que chez les vertébrés, est basée sur des récepteurs générés par des mécanismes somatiques durant l'ontogénèse de chaque

organisme. Elle s'organise dans un second temps après quelques jours d'infections, et conduit à l'expansion clonale des cellules lymphocytaires T (LT) et B portant des récepteurs spécifiques des antigènes du pathogène rencontré. Schématiquement l'immunité adaptative a deux composantes : une humorale impliquant les lymphocytes B, qui aboutit à la production d'anticorps spécifiques dirigés contre le pathogène infectieux aidant à son élimination et une cellulaire qui, grâce aux lymphocytes T CD8 ou CD4, entraîne l'élimination du pathogène.

L'immunité adaptative requiert des signaux d'informations concernant l'origine du pathogène et le type de réponse qu'il est nécessaire de mettre en place. Ces signaux lui sont apportés par le système immunitaire inné. Ce sont les macrophages et les cellules dendritiques qui vont présenter les antigènes au niveau des organes lymphoïdes secondaires et induire la réponse immunitaire adaptative.

II L'inflammation

La réaction inflammatoire est une réaction de défense de l'organisme mise en place lorsque celui-ci subit une agression physique ou traumatique, ou une infection. Elle a pour but de faciliter l'élimination de l'agent pathogène dans le cadre d'une infection ou d'induire la réparation des tissus lésés lors d'un traumatisme.

Elle se déroule en trois étapes

- i) initiation
- ii) amplification
- iii) cicatrisation.

Lors de la phase d'initiation, il y a reconnaissance du danger par les premières cellules en place : les polynucléaires ou les monocytes/macrophages. Les PRRs participent à cette phase de reconnaissance et d'initiation de la réaction inflammatoire lors de l'entrée de microorganismes tels que les virus, bactéries, champignons ou parasites, à la surface desquels ils vont reconnaître un certain nombre de PAMPs. Dans le cas d'un traumatisme, comme une plaie vasculaire, ce sera le système de coagulation qui sera impliqué. Quatre systèmes de protéines plasmatiques sont impliqués dans la phase d'initiation : le système de coagulation, de fibrinolyse, du complément et de contact. La réaction inflammatoire aboutit à une augmentation de la perméabilité vasculaire, ainsi qu'à l'attraction et à l'activation des cellules de l'inflammation. La perméabilité vasculaire, la vasodilatation, l'exsudation plasmatique sont responsables des 4 caractéristiques de l'inflammation : la rougeur, la chaleur, le gonflement et la douleur.

Lors de la phase d'amplification, l'augmentation de la perméabilité vasculaire, la synthèse de facteurs chimiotactiques, l'expression de molécules d'adhésion par les cellules

endothéliales, entraînent la migration des leucocytes, pour permettre l'élimination de l'agent pathogène. Les premières cellules qui arrivent sur le site inflammatoire sont les polynucléaires, puis les monocytes/macrophages. Les macrophages peuvent phagocyter, libérer des enzymes et radicaux libres cytotoxiques, synthétiser des cytokines pro-inflammatoires dont l'IL-1, le TNF_ et l'IL-6.

Pendant la phase de cicatrisation, les débris cellulaires sont phagocytés. La réponse inflammatoire se termine grâce à la régulation négative induite par des cytokines anti-inflammatoires, comme l'IL-10 et le TGF_, produites par les cellules épithéliales et les monocytes / macrophages. Ces cytokines anti-inflammatoires vont permettre de diminuer la synthèse des cytokines pro-inflammatoires. Les cytokines pro-inflammatoires peuvent également être bloquées par la présence de récepteur soluble pour le TNF_ ou par la présence d'IL-1Ra, antagoniste qui se fixe sur le récepteur de l'IL-1 sans induire de réponse. Les fibroblastes vont ensuite œuvrer pour la cicatrisation.

III Les macrophages

Les macrophages ont été décrits par Elie Metchnikoff, comme étant des cellules phagocytaires responsables de l'élimination des pathogènes et dont les fonctions sont conservées dans beaucoup d'organismes, vertébrés et invertébrés. Ils proviennent des cellules de la moelle osseuse, à partir de laquelle ils sont relargués dans la circulation sanguine sous forme de monocytes qui vont infiltrer les divers organes de l'organisme. Après avoir passé la barrière endothéliale, ils se différencient en macrophages ou cellules dendritiques. Ils sont alors en place pour surveiller l'organisme. Les macrophages sont divisés en sous-populations selon leur localisation anatomique et leur phénotype fonctionnel.

Les macrophages peuvent être activés par deux voies différentes. La voie dite classique ou de type 1, et la voie dite alternative ou de type 2. Lorsque le macrophage reconnaît un PAMP via un PRR, il y a un premier signal d'activation puis, selon l'environnement cytokinique dans lequel il se trouve, en présence d'IFN_ ou d'IL-4 le phénotype du macrophage sera différent.

L'IFN_ produit par les cellules T auxiliaires CD4+ (Th1), les LTs CD8+ cytotoxique de type 1 (Tc1) ou les NK (natural killer), permet aux macrophages d'augmenter leur capacité à présenter des antigènes à leur surface, à synthétiser des cytokines pro-inflammatoires et des médiateurs toxiques. Ces macrophages acquièrent leur capacité à tuer des bactéries ou des pathogènes intracellulaires. Ce sont des macrophages de type M1 activé de manière classique.

Plusieurs types cellulaires produisent de l'IL-4 et IL-13. Les cellules Th2 (T helper 2), T CD8+, cellules NK, les basophiles, les éosinophiles et les mastocytes. Ce sont ces cytokines qui orientent les macrophages vers une voie d'activation alternative ou de type 2. Chez les M2 induits par IL-4, une augmentation du mannose récepteur 1 (MRC1) (50) et des antigènes du CMH de classe II, est observée. L'arginase 1 elle aussi est augmentée chez les M2. Elle catalyse la lyse de l'arginine en ornithine et en polyamines, importantes pour la cicatrisation. Chez les macrophages de type 1, l'arginine est utilisée pour la synthèse d'oxyde nitrique par l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) induite par l'IFN γ . L'augmentation du taux intracellulaire de l'arginase induit un déplacement du métabolisme de l'arginine. Ce sont des marqueurs de macrophages murins mais qui ont leurs homologues chez l'homme. D'autres marqueurs peuvent être observés, comme certains membres de la famille des Chitinase YM1(CHI313) et YM2(CHI314) ou FIZZ1 (found in inflammatory zone 1 = RETLNA). Les chitinases sont des enzymes qui dégradent la chitine. Il s'agit d'un polysaccharide présent dans la paroi de certains insectes, crustacés et nématodes constituant un mécanisme de défense lors de l'invasion de l'hôte. En plus de ces marqueurs, les macrophages de type 2 acquièrent un répertoire de récepteurs phagocytaires différents des M1 caractérisés par une augmentation de MSR1 (Macrophage Scavenger Receptor). Au niveau des M2, les cytokines IL-4 et IL-13 entraînent une répression des cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-12, l'IL-1 β , le TNF α , l'IL-8, et l'induction d'un milieu anti-inflammatoire. On peut aussi observer des macrophages avec différents phénotypes en présence de glucocorticoïdes, d'IL-10 ou de complexes immuns.

Les macrophages sont des sentinelles de l'organisme grâce, entre autre, à la panoplie de récepteurs, TLRs, NLRs, et RLRs qu'ils possèdent. Ils peuvent migrer vers les sites de l'organisme infectés ou endommagés et contribuer à l'initiation, l'amplification et la résolution de l'inflammation.

IV Les médiateurs de l'inflammation.

IV - 1 L'oxyde nitrique

Le NO est un gaz inorganique, instable chimiquement. La demi-vie du NO est de quelques secondes. Il est rapidement converti en nitrite et nitrate, qui sont des produits stables de son métabolisme. Le NO est produit par les cellules endothéliales, les cardiomyocytes, les cellules musculaires, les macrophages, les plaquettes, le foie, le cerveau et le système nerveux périphérique. Le NO est synthétisé à partir de la L-arginine, acide aminé précurseur, dans une réaction d'oxydation catalysée par une enzyme, la NO synthase (NOS). Il va ensuite diffuser à travers la membrane plasmique. Il existe trois isoformes de NOS : la forme neuronale (nNOS), inductible (iNOS) et endothéliale (eNOS). Les rôles et profils d'expression de ces isoformes sont distincts. L'iNOS est impliquée dans les

processus inflammatoires et de défense de l'organisme. Elle est exprimée en grande quantité dans les macrophages, leucocytes et fibroblastes, suite à une induction par des cytokines ou par d'autres agents inflammatoires. Le NO produit par ces cellules a un effet bactéricide, mais peut également avoir des effets néfastes sur l'organisme lorsqu'il est produit en grande quantité et ceci en raison de son effet vasodilatateur (51).

IV - 2 Le facteur de nécrose des tumeurs

Le TNF_α appartient à la super famille du TNF (TNF) constituée d'une vingtaine de ligands interagissant avec une trentaine de récepteurs (TNFR) appartenant à la super famille des récepteurs au TNF (Figure 8). La majorité de ces ligands sont des protéines transmembranaires de type II constituées d'un long domaine extracellulaire et une petite région cytoplasmique. Le domaine extracellulaire peut être clivé par des métalloprotéinases pour former les molécules solubles, en général la forme membranaire et la forme soluble sont toutes les deux actives.

Le TNF_α est exprimé à la surface membranaire (Transmembrane TNF ou TM-TNF), il va être clivé par la TACE (TNF_α Converting Enzyme). Les deux formes solubles et membranaires se lient aux mêmes récepteurs TNFR1 (CD120_a) et TNFR2 (CD120_b). Le TNFR1 est présent sur toutes les cellules de l'organisme, alors que le TNFR2 n'est présent que sur les cellules du système immunitaire et les cellules endothéliales (52).

Les membres de ces familles TNF/TNFR ont un rôle biologique central, dans la défense de l'hôte, l'inflammation, l'apoptose, l'auto-immunité et l'organogénèse. La majorité des ligands de cette famille sont exprimés sur les cellules du système immunitaire : les lymphocytes B, les lymphocytes T, les cellules NK, les monocytes et les cellules dendritiques.

La neutralisation du TNF_α démontre que les défenses de l'hôte contre le pathogène sont diminuées en son absence. L'absence de TNFR1 dans des modèles d'infections montre que celui-ci est nécessaire à la survie des animaux dans le cas d'infection par des bactéries intracellulaires, telles que *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium*, and *Salmonella typhimurium* (53). Dans le cadre de l'infection par *M. tuberculosis*, il a été montré que le TNF_α est nécessaire à la mise en place de la réponse Th1 et au développement du granulome dans lesquels les macrophages confinent la bactérie (54). Dans les pathologies comme la maladie de Crohn, l'arthrite rhumatoïde ou le psoriasis, les patients traités avec des agents bloquant l'action du TNF_α ont un risque plus élevé de réactiver une tuberculose (55-59). Enfin dans le cadre de l'inflammation, le TNF_α a une activité endotoxique systémique entraînant la fièvre, l'hypotension et le choc (60).

IV - 3 L'interleukine 12

L'IL-12 est une cytokine de type I. Les protéines de cette famille sont sécrétées sous forme d'un hétérodimère composé d'une sous-unité α (p19, p28, p35) et d'une sous-unité β (p40, Ebi3 pour Epstein Barr virus-induced protein 3). Quatre cytokines sont connues sous

forme d'hétérodimère : l'IL-12 (p35/p40), l'IL-23 (p19/p40), l'IL-27 (p28, Ebi3) et l'IL-35 (p35/Ebi3) (61) (Figure 9).

L'IL-12 (p35/p40) signale via les récepteurs IL-12 récepteur $_1$ (IL-12R $_1$) et $_2$ (IL-12R $_2$). L'IL-23 (p19/p40) se lie à l'IL-12R $_1$ et au récepteur de l'IL-23. L'interleukine 27 (p28, Ebi3) se fixe sur WSX-1 et gp130. Les récepteurs de l'interleukine 35 n'ont pas encore été identifiés (61). Les membres de la famille de l'IL-12 ont des fonctions différentes. L'IL-12, IL-23 et IL-27 sont sécrétées par les cellules présentatrices d'antigène activées, les cellules dendritiques, les monocytes, les macrophages et les neutrophiles. Elles fonctionnent seules ou en synergie pour induire une réponse de type Th1 et la production d'IFN $_ \gamma$ par les cellules T. L'IL-12 induit la différenciation et la prolifération des cellules Th1, et peut être induite par l'IFN $_ \gamma$, mais est inhibée par les cytokines de type Th2 comme l'IL-4. L'IL-12 et l'IL-23 peuvent aussi induire la prolifération des cellules T mémoires ; elles jouent également un rôle central dans le développement des Th17.

L'IL-35, spécifiquement exprimée par les cellules T régulatrices, contribue à leur activité suppressive.

Il existe également une forme homodimérique de l'IL-12 composée de deux sous unités $_ p40$ qui est un antagoniste de l'IL-12. Mais qui peut aussi exercer une activité pro-inflammatoire.

IV- 4 L'interleukine 6

L'Interleukine 6 (IL-6) est produite par différents types cellulaires : les lymphocytes B, les lymphocytes T, les monocytes, les fibroblastes, les ostéoblastes, les kératinocytes, les cellules endothéliales, les cellules mésangiales et certaines cellules tumorales. Cette cytokine se lie au récepteur IL-6R. Le complexe IL-6/IL-6R se lie ensuite au niveau membranaire à la gp130 induisant un signal intracellulaire. L'IL-6 a une action sur plusieurs types cellulaires car la gp130 est exprimée sur beaucoup de cellules. Dans la phase aiguë de l'inflammation les neutrophiles sont recrutés, puis vont être remplacés par les monocytes et les cellules T après 24 à 48h. Lors de la phase initiale, les cellules endothéliales et d'autres éléments vasculaires sont activés par les produits microbiens. Beaucoup de cytokines vont être produites dont l'IL-6, aboutissant au recrutement des neutrophiles. Puis une protéolyse de l'IL-6R nommée « IL-6 trans signaling » va avoir lieu entraînant une activation des cellules résidentes. Ceci aboutit à un changement de l'environnement cytokinique, à l'arrêt du recrutement des neutrophiles et de l'attraction des monocytes. L'IL-6 induit également l'apoptose des neutrophiles favorisant l'arrêt de leur infiltration pendant la phase aiguë de l'inflammation (62). L'IL-6 sauve les lymphocytes T entrant en apoptose et joue un rôle dans la différenciation de lymphocytes B et T (62). L'IL-6 exerce également un rôle dans le contrôle du métabolisme. Après un exercice les cellules musculaires produisent de l'IL-6. Les adipocytes d'individus obèse produisent de l'IL-6. Les souris déficientes pour le récepteur à

IL-6 au niveau des hépatocytes développent une inflammation au niveau du foie, suggérant l'existence d'un équilibre entre l'IL-6 et le TNF_α au niveau du foie (63). L'IL-6 intervient également dans l'homéostasie osseuse régulée par la balance entre les ostéoclastes et les ostéoblastes.

VI Sepsis et choc septique.

Le sepsis est une réponse inflammatoire systémique à une infection. Il y a 750000 cas de sepsis par an aux Etats-Unis (64). La classification du sepsis au choc septique est la suivante : le sepsis est défini par une infection suspecte ou prouvée associée à une réponse inflammatoire systémique dont les symptômes sont la fièvre, la tachycardie, la tachypnée et l'hyperleucocytose. Le sepsis sévère est associé à des dysfonctions d'organes, par exemple en cas d'hypotension, d'hypoxémie, d'oligurie, d'acidose métabolique ou de thrombocytopénie. Le sepsis sévère peut aboutir au choc septique avec une dysfonction vasculaire et une hypotension artérielle nécessitant une thérapie à base de vasopresseurs. Le taux de mortalité dans le cadre d'une septicémie sévère est de 25 à 30% (65) et de 40 à 70% (66) pour un choc septique. D'après l'institut Pasteur, les *Escherichia Coli* sont à l'origine de 50% des septicémies dues à des bactéries Gram négatif (67).

La pathogénèse du sepsis implique un processus complexe d'activation cellulaire aboutissant à la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires, comme les cytokines, l'activation de neutrophiles, monocytes et des cellules endothéliales microvasculaires, à l'implication des réflexes neuroendocrines, l'activation du complément, du système de coagulation et du système fibrinolytique (68).

Lors de la phase précoce du sepsis le système immunitaire inné et l'inflammation sont fortement impliqués. Les PAMPs du microorganisme vont être reconnus par les PRRs portés à la surface de cellules du système immunitaire (Figure 8).

Il a été mis en évidence certains facteurs de prédisposition au choc septique, notamment des défauts de la réponse immunitaire au niveau du système du complément (69), des défauts des neutrophiles, une altération dans le système de reconnaissances des PAMPs via CD14 ou TLRs (70, 71) ou des variations dans l'expression de cytokines (72, 73).

Différents traitements ont déjà été testés ciblant les endotoxines (74, 75). Les premières thérapies testées ont ciblé les cytokines pro-inflammatoires (anticorps anti-TNF_α, TNF récepteur ou IL1-ra), ainsi que le NO et les facteurs de coagulation (76).

Bibliographie

- 1 S. AKIRA, S. UEMATSU, and O. TAKEUCHI (2006) Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, vol. 124, no. 4, pp. 783–801.
- 2 B. BEUTLER, C. EIDENSCHENK, K. CROZAT and AL (2007) Genetic analysis of resistance

- to viral infection. *Nature Reviews Immunology*, vol. 7, no. 10, pp. 753–766.
- 3 **R. MEDZHITOV** (2007) Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*, vol. 449, no. 7164, pp. 819–826.
- 4 **C. A. JANEWAY JR.** (1989) Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, vol. 54, no. 1, pp. 1–13.
- 5 **GAY NJ, KEITH FJ.** (1991) Drosophila Toll and IL-1 receptor. *Nature*, 351(6325): 355–6.
- 6 **B. LEMAITRE and al.** (1996) The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults. *Cell*, 86(6): 973–83.
- 7 **THOMPSON AJ, LOCARNINI SA.** (2007) Toll-like receptors, RIG-I-like RNA helicases and the antiviral innate immune response. *Immunol Cell Biol*, 85 : 435-45.
- 8 **AKIRA S, UEMATSU S, TAKEUCHI O.** (2006) Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124 : 783-801.
- 9 **TAKEDA K, AKIRA S.** (2005) Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol*, 17 : 1-14.
- 10 **MUZIO M and al.** (2000) Differential expression and regulation of Toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J Immunol*, 164(11): 5998–6004.
- 11 **BECKER MN and al.** (2000) CD14-dependent lipopolysaccharide-induced beta-defensin-2 expression in human tracheobronchial epithelium. *J Biol Chem*, 275(38): 29731–6.
- 12 **CARIO E and al.** (2000) Lipopolysaccharide activates distinct signaling pathways in intestinal epithelial cell lines expressing Toll-like receptors. *J Immunol*, 164(2): 966–72.
- 13 **FAURE E and al.** (2001) Bacterial lipopolysaccharide and IFN-gamma induce Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 expression in human endothelial cells: role of NF-kappa B activation. *J Immunol*, 166(3): 2018–24.
- 14 **VISINTIN A and al.** (2001) Regulation of Toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells. *J Immunol*, 166(1): 249–55.
- 15 **M. S. JIN and J.-O. LEE.** (2008) Structures of the Toll-like receptor family and its ligand complexes. *Immunity*, vol. 29, no. 2, pp. 182–191.
- 16 **O. TAKEUCHI, S. SATO, T. HORIUCHI and al.** (2002) Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *Journal of Immunology*, vol. 169, no.1, pp. 10–14.
- 17 **L. ALEXOPOULOU, V. THOMAS, M. SCHNARE and al.** (2002) Hyporesponsiveness to vaccination with *Borrelia burgdorferi* OspA in humans and in TLR1- and TLR2-deficient mice. *Nature Medicine*, vol. 8, no. 8, pp. 878–884.
- 18 **O. TAKEUCHI, T. KAWAI, P. F. M'UHLRADT and al.** (2001) Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *International Immunology*, vol. 13, no. 7, pp. 933–940.
- 19 **F. HAYASHI, K. D. SMITH, A. OZINSKY and al.** (2001) The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5 *Nature*, vol. 410, no. 6832, pp. 1099–1103.
- 20 **F. PLATTNER, F. YAROVINSKY, S. ROMERO and al.** (2008) Toxoplasma profilin is essential for host cell invasion and TLR11-dependent induction of an interleukin-12 response. *Cell Host and Microbe*, vol. 3, no. 2, pp. 77–87.
- 21 **F. YAROVINSKY, D. ZHANG, J. F. ANDERSEN and al.** (2005) Immunology: TLR11 activation of dendritic cells by a protozoan profilin-like protein. *Science*, vol. 308, no. 5728, pp. 1626–1629.
- 22 **S. S. DIEBOLD, T. KAISHO, H. HEMMI, S. AKIRA, and C. REIS, E SOUSA.** (2004) Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*, vol.303, no. 5663, pp. 1529–1531.
- 23 **F. HEIL, H. HEMMI, H. HOCHREIN and al.**(2004) Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*, vol. 303, no. 5663, pp. 1526–1529.
- 24 **R. L. MILLER, J. F. GERSTER, M. L. OWENS, H. B. SLADE, and M. A. TOMAI** (1999) Review article Imiquimod applied topically: a novel immune response modifier and new class of drug. *International Journal of Immunopharmacology*, vol. 21, no. 1, pp. 1–14.
- 25 **S. TYRING** (1998) Immune response modification: imiquimod. *Australasian Journal of Dermatology*, vol. 39, supplement 1, pp. S11–S13.
- 26 **ERRIDGE C, BENNETT-GUERRERO E, POXTON IR** (2002) Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes Infect* 8:837–851

- 27 **A. POLTORAK, X. HE, I. SMIRNOVA and al.** (1998) Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*, vol. 282, no. 5396, pp. 2085–2088.
- 28 **S. T. QURESHI, L. LARIVIERE, G. LEVEQUE and al.** (1999) Endotoxintolerant mice have mutations in toll-like receptor 4 (Tlr4). *Journal of Experimental Medicine*, vol. 189, no. 4, pp. 615–625.
- 29 **KIM, H.M and al.** (2007) Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell* 130, 906–917.
- 30 **PARK, B.S and al.** (2009) The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature* 458, 1191–1195.
- 31 **AKASHI-TAKAMURA, S. and MIYAKE, K.** (2008) TLR accessory molecules. *Curr. Opin. Immunol.* 20, 420–425.
- 32 **BRIGHTBILL H. D., LIBRATY D. H., MODLIN R. L. and al** (1999) Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science* 285, 732–736.
- 33 **HELDWEIN K. A., FENTON M. J.** (2002) The role of Toll-like receptors in immunity against mycobacterial infection. *Microbes Infect.* 4, 937–944.
- 34 **STENGER S., MODLIN R. L.** (2002) Control of Mycobacterium tuberculosis through mammalian Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 14, 452–457.
- 35 **TAKEDA K., KAISHO T., AKIRA S.** (2003) Toll-like receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 21, 335–376.
- 36 **TAILLEUX L., SCHWARTZ O., GICQUEL B., NEYROLLES O. and al.** (2003) DC-SIGN is the major Mycobacterium tuberculosis receptor on human dendritic cells. *J. Exp. Med.* 197, 121–127.
- 37 **MAEDA N., NIGOU J., GICQUEL B., NEYROLLES O. and al** (2003) The cell surface receptor DC-SIGN discriminates between Mycobacterium species through selective recognition of the mannose caps on lipoarabinomannan. *J. Biol. Chem.* 278, 5513–5516.
- 38 **PITARQUE S., HERRMANN J. L., NIGOU J., NEYROLLES O. and al** (2005) Deciphering the molecular bases of Mycobacterium tuberculosis binding to the lectin DC-SIGN reveals an underestimated complexity. *Biochem. J.* 392, 615–624.
- 39 **QUESNIAUX V. J., NICOLLE D. M., ERARD F., RYFFEL B. and al** (2004) Toll-like receptor 2 (TLR2)-dependent-positive and TLR2-independent-negative regulation of proinflammatory cytokines by mycobacterial lipomannans. *J. Immunol.* 172, 4425–4434.
- 40 **GILLERON M., NIGOU J., NICOLLE D., QUESNIAUX V., PUZO G.** (2006) The acylation state of mycobacterial lipomannans modulates innate immunity response through toll-like receptor 2. *Chem. Biol.* 13, 39–47.
- 41 **DOZ E., ROSE S., NIGOU J., GILLERON M., PUZO G., ERARD F., RYFFEL B., QUESNIAUX V. F.** (2007) Acylation determines the toll-like receptor (TLR)-dependent positive versus TLR2- mannose receptor-, and SIGNR1-independent negative regulation of pro-inflammatory cytokines by mycobacterial lipomannan. *J. Biol. Chem.* 282, 26014–26025.
- 42 **GILLERON M, RONET C, MEMPEL M, MONSARRAT B, GACHELIN G, PUZO G.** (2001) Acylation state of the phosphatidylinositol mannosides from Mycobacterium bovis bacillus Calmette Guérin and ability to induce granuloma and recruit natural killer T cells. *J Biol Chem.* 276(37):34896-904.
- 43 **GILLERON M, QUESNIAUX VF, PUZO G.** (2003) Acylation state of the phosphatidylinositol hexamannosides from Mycobacterium bovis bacillus Calmette Guerin and mycobacterium tuberculosis H37Rv and its implication in Toll-like receptor response. *J Biol Chem.* 278(32):29880-9.
- 44 **STADELMAIER A., SCHMIDT R. R.** (2003) Synthesis of phosphatidylinositol mannosides (PIMs). *Carbohydr. Res.* 338, 2557–2569.
- 45 **LIU X., STOCKER B. L., SEEBERGER P. H.** (2006) Total synthesis of phosphatidylinositol mannosides of Mycobacterium tuberculosis. *J. Am. Chem. Soc.* 128, 3638–3648.
- 46 **DYER B. S., JONES J. D., AINGE G. D., DENIS M., LARSEN D. S., PAINTER G. F.** (2007) Synthesis and structure of phosphatidylinositol dimannoside. *J. Org. Chem.* 72, 3282–3288.
- 47 **BOONYARATTANAKALIN S., LIU X., MICHIELETTI M., LEPENIES B., SEEBERGER P. H.** (2008) Chemical synthesis of all phosphatidylinositol mannoside (PIM) glycans from Mycobacterium tuberculosis. *J. Am. Chem. Soc.* 130, 16791–16799.
- 48 **DOZ E, ROSE S, COURT N, FRONT S, VASSEUR V, CHARRON S, GILLERON M, PUZO G, FREMAUX I, DELNESTE Y, ERARD F, RYFFEL B, MARTIN OR, QUESNIAUX VF.**

- (2009) Mycobacterial Phosphatidylinositol Mannosides Negatively Regulate Host Toll-like Receptor 4, MyD88-dependent Proinflammatory Cytokines, and TRIF-dependent Costimulatory Molecule *J Biol Chem.* 284(35):23187-96.
- 49 **COURT N, ROSE S, BOURIGAULT ML, FRONT S, MARTIN OR, DOWLING JK, KENNY EF, O'NEILL L, ERARD F, QUESNIAUX VF.** (2011) Mycobacterial PIMs inhibit host inflammatory responses through CD14-dependent and CD14-independent mechanisms. *PLoS One* 6(9): 24631
- 50 **STEIN, M., KESHAV, S., HARRIS, N., and GORDON, S.** (1992). Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: A marker of alternative immunologic macrophage activation. *J. Exp. Med.* 176, 287–292.
- 51 **BADEAU M** (2006) Effets d'un antioxydant, le tempol, sur les actions métaboliques et vasculaires de l'insuline chez le rat insulino-résistant avec un surplus de poids. Effets de l'insuline sur le transport du glucose dans le muscle squelettique, la réactivité vasculaire, l'expression des protéines eNOS, le stress oxydatif et les effets hémodynamiques régionaux. *Thèse de doctorat* Université de Laval
- 52 **GAUR U, AGGARWAL BB.** (2003) Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem Pharmacol.* 15;66(8):1403-8
- 53 **HEHLGANS T, PFEFFER K.** (2005) The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology.* 115(1):1-20.
- 54 **EHLERS S.** (2003) Role of tumour necrosis factor (TNF) in host defence against tuberculosis: implications for immunotherapies targeting TNF. *Ann Rheum Dis* 62 Suppl 2:ii37-42
- 55 **SANDBORN WJ, HANAUER SB.** (2002) Infliximab in the treatment of Crohn's disease: a user's guide for clinicians. *Am J Gastroenterol.* 97:2962–72.
- 56 **KEATING GM, PERRY CM.** (2002) Infliximab: an updated review of its use in Crohn's disease and rheumatoid arthritis. *Biodrugs* 16:111–48.
- 57 **CHAUDHARI U, ROMANO P, MULCAHY LD, DOOLEY LT, BAKER DG, GOTTLIEB AB.** (2001) Efficacy and safety of infliximab monotherapy for plaque-type psoriasis: a randomised trial. *Lancet* 357: 1842–7.
- 58 **REIMOLD AM.** (2003) New indications for treatment of chronic inflammation by TNF-alpha blockade. *Am J Med Sci.* 325: 75–92.
- 59 **WEISMAN MH.** (2002) What are the risks of biologic therapy in rheumatoid arthritis? An update on safety. *J Rheumatol Supplement.* 65:33–8.
- 60 **MALIK ST, BALKWILL FR.** (1992) Antiproliferative and antitumor activity of TNF in vitro and in vivo. *Immunol Series* 56: 239–68.
- 61 **JONES LL, VIGNALI DA.** (2011) Molecular interactions within the IL-6/IL-12 cytokine/receptor superfamily. *Immunol Res.* 51(1):5-14.
- 62 **SHELLER J, CHALARIS A, SCHMIDT-ARRAS D, ROSE-JOHN S.** (2011) The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta.* 1813(5):878-88.
- 63 **F.T. WUNDERLICH, P. STRÖHLE, A.C. KÖNNER, S. GRUBER, S. TOVAR, H.S. BRÖNNEKE, L. JUNTTI-BERGGREN, L.S. LI, N. VAN ROOIJEN, C. LIBERT, P.O. BERGGREN, J.C. BRÜNING.** (2010) Interleukin-6 signaling in liver-parenchymal cells suppresses hepatic inflammation and improves systemic insulin action, *Cell Metab.* 12: 237–249.
- 64 **MARTINGS, MANNINO DM, EATON S, MOSS M.** (2003) The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 348:1546-54.
- 65 **BERNARD GR, VINCENT JL, LATERRE PF, and al.** (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 344:699-709.
- 66 **ANNANE D, AEGERTER P, JARS-GUINCESTRE MC, GUIDET B.** (2003) Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *Am J Respir Crit Care Med* 168:165-72.
- 67 <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-des-escherichia-coli-et-shigelles/actualites-rapports/index1>
- 68 **VINCENT JL, ABRAHAM E.** (2005) The last 100 years of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 173:256–263
- 69 **NEWMAN SL, VOGLER LB, FEIGIN RD, JOHNSTONRB JR.** (1978) Recurrent septicaemia

- associated with congenital deficiency of C2 and partial deficiency of factor B and the alternative complement pathway. *N Engl J Med*. 299:290–292
- 70 **GIBOT S, CARIOU A, DROUET L, ROSSIGNOL M, RIPOLL L.**(2002) Association between a genomic polymorphism within the CD14 locus and septic shock susceptibility and mortality rate. *Crit Care Med* 30:969–973.
- 71 **LORENZ E, MIRA JP, CORNISH KL, ARBOUR NC, SCHWARTZ DA.** (2000) A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect Immun* 68:6398–6401.
- 72 **APPOLONI O, DUPONT E, ANDRIEN M, DUCHATEAU J, VINCENT JL.** Association of TNF2, a TNF α promoter polymorphism, with plasma TNF α levels and mortality in septic shock. *Am J Med* 110:486–488.
- 73 **FANG XM, SCHRODER S, HOEFT A, STUBER F.** (1999) Comparison of two polymorphisms of the interleukin-1 gene family: interleukin-1 receptor antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis. *Crit Care Med* 27:1330–1334
- 74 **ZIEGLER EJ, FISCHER CJ JR, SPRUNG CL, and al.** (1991) Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-A1 human monoclonal antibody against endotoxin: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *N. Engl. J. Med* 324:429-36.
- 75 **MCCLOSKEY RV, STRAUBE RC, SANDERS C, SMITH SM, SMITH CR.** (1994) Treatment of septic shock with human monoclonal antibody HA-1A. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *CHESS Trial Study Group. Ann Intern Med.* 1;121(1):1-5.
- 76 **RUSSEL J.A.** (2006) Management of sepsis. *N. Engl. J. Med.* 355, 1546-1554.
- 77 **FRONT S, COURT N, BOURIGAULT ML, ROSE S, RYFFEL B, ERARD F, QUESNIAUX VF, MARTIN OR.** (2011) Phosphatidyl myo-inositol mannosides mimics built on an acyclic or heterocyclic core: synthesis and anti-inflammatory properties. *ChemMedChem* 4; 6(11):2081-93.
- 78 **INGALLS RR, ARNAOUT MA, GOLENBOCK DT** (1997) Outside-in signaling by lipopolysaccharide through a tailless integrin. *J Immunol* 1:433–438.
- 79 **TRIANTAFILOU M, MIYAKE K, GOLENBOCK DT, TRIANTAFILOU K** (2002) Mediators of innate immune recognition of bacteria concentrate in lipid rafts and facilitate lipopolysaccharide-induced cell activation. *J Cell Sci.* 15; 115: 2603-11.
- 80 **SHIN DM, YANG CS, LEE JY, LEE SJ, CHOI HH, LEE HM, YUK JM, HARDING CV, JO EK.** (2008) Mycobacterium tuberculosis lipoprotein-induced association of TLR2 with protein kinase C zeta in lipid rafts contributes to reactive oxygen species-dependent inflammatory signalling in macrophages. *Cell Microbiol.* 10(9):1893-905.
- 81 **HAZIOT A, FERRERO E, KÖNTGEN F, HIJIYA N, YAMAMOTO S, SILVER J, STEWART CL, GOYERT SM.** (1996) Resistance to endotoxin shock and reduced dissemination of gram-negative bacteria in CD14-deficient mice. *Immunity.* 4(4):407-14.