

Introduction :

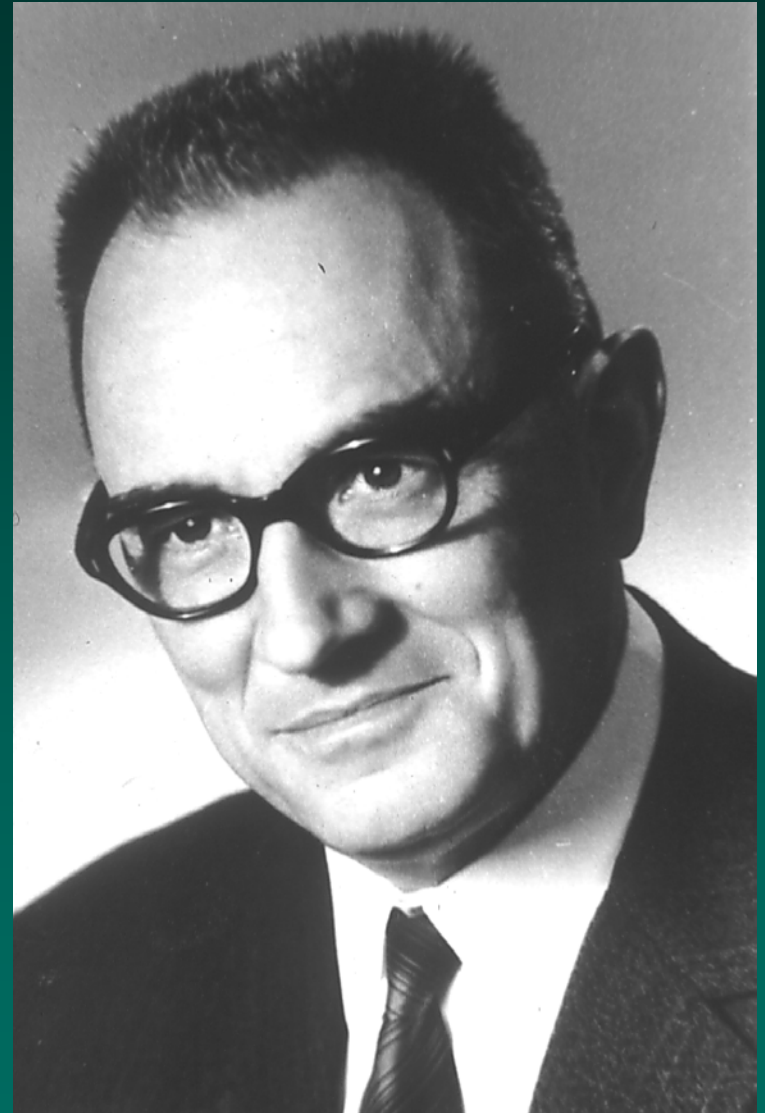
*choix du modèle d'étude,
choix de la question posée*

Histoire personnelle...

...le choix du modèle Insecte



Jos Hoffmann (1911-2000)



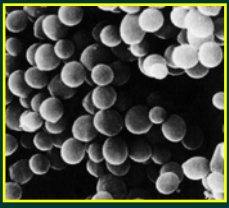
Pierre Joly (1913-1996)

Les insectes :

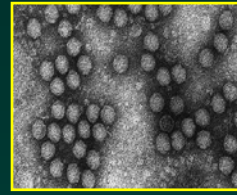
*Ils représentent 80 % de toutes les espèces animales
présentes actuellement sur terre*

Ils détruisent chaque année un tiers des récoltes

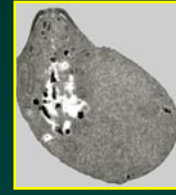
*Ils mettent un tiers de l'humanité en situation de risque
permanent de transmission de maladies microbiennes
débilitantes et très souvent mortelles*



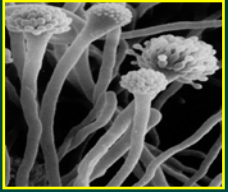
Bactéries



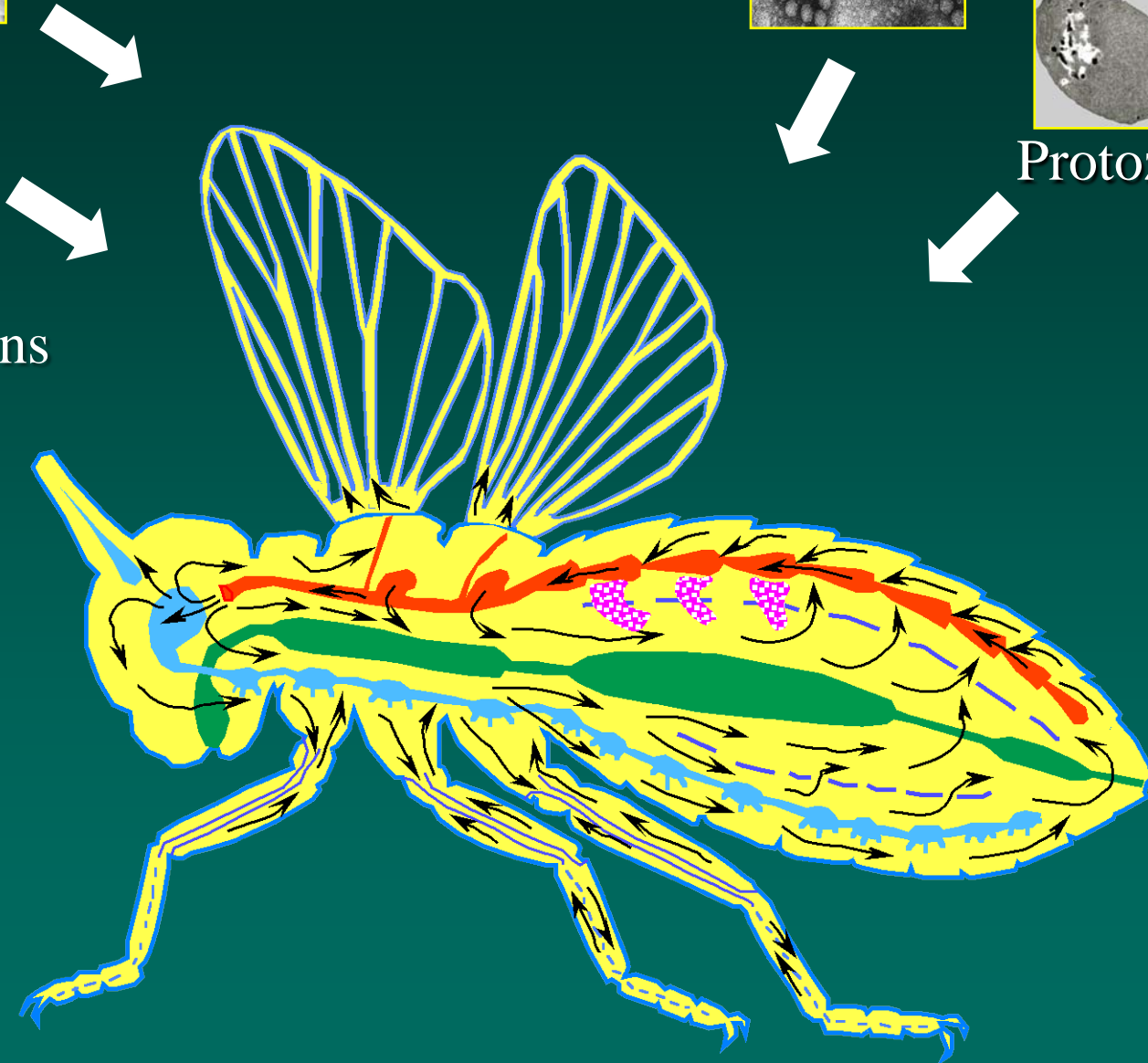
Virus



Protozoaires



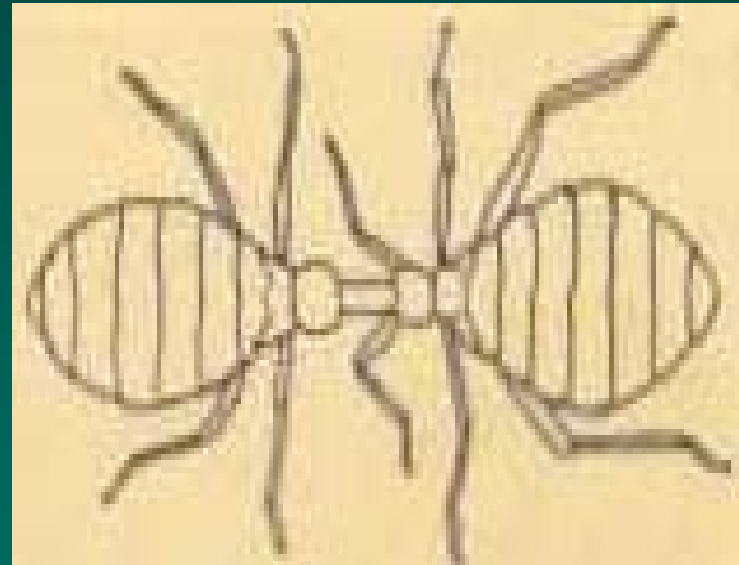
Champignons



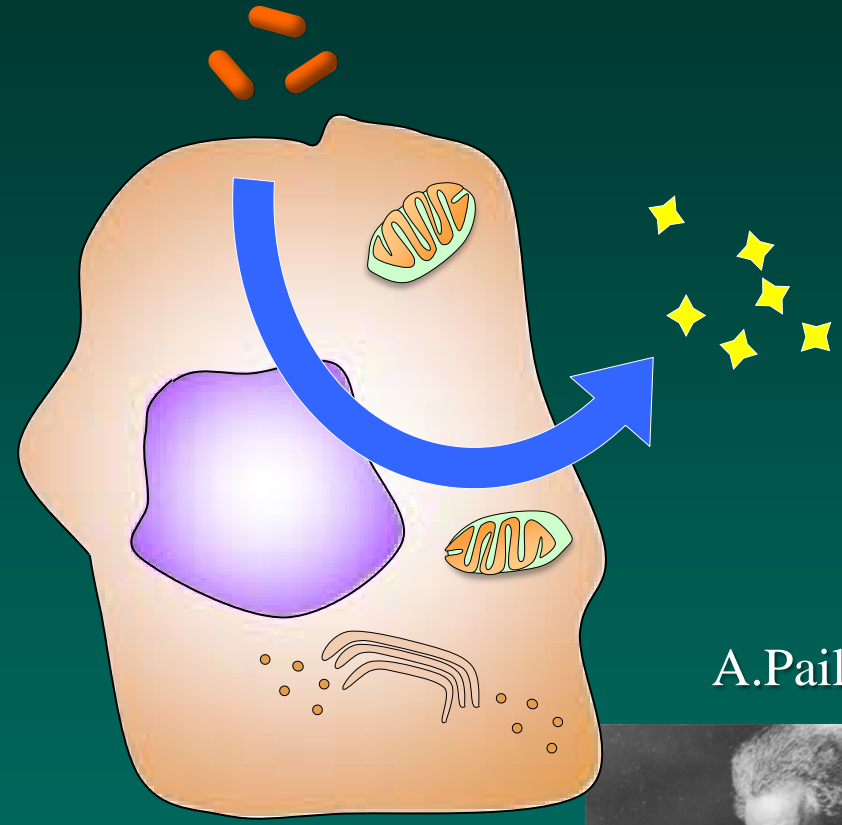
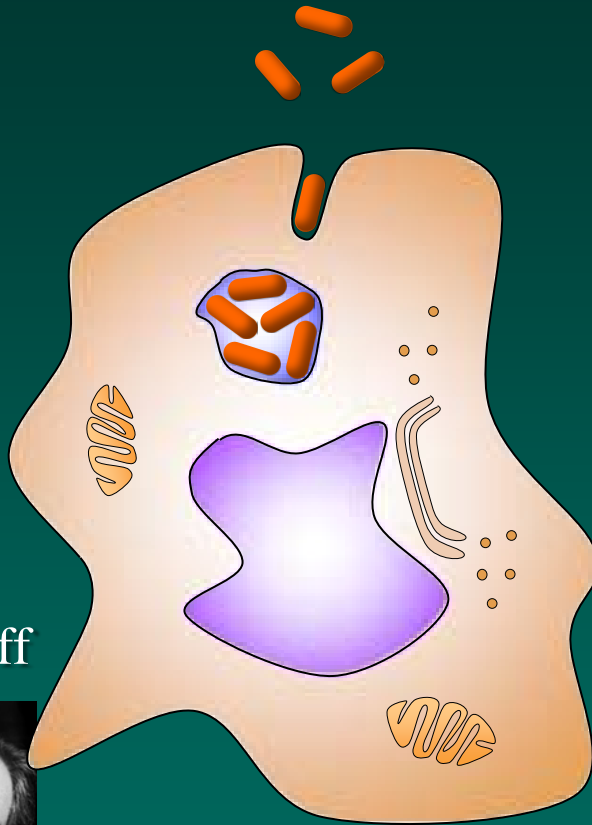
...et les insectes sont particulièrement résistants aux infections

*Exemple classique de parabiose de deux individus
de punaise (Rhodnius) faite en l'absence
de précautions d'asepsie*

*(travaux d'endocrinologie expérimentale
des années 1930-1960)*



Premières Etudes sur le Défenses Antimicrobiennes des Insectes



E. Metchnikoff

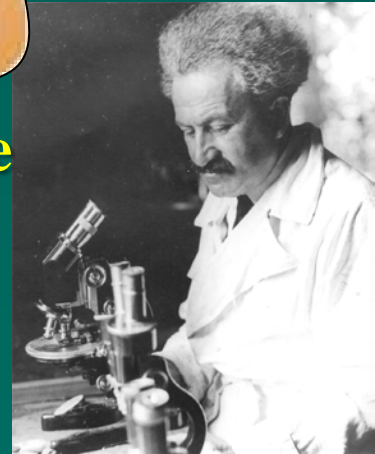
A. Paillot

Phagocytose

**Activité antimicrobienne
dans le sang**

« Immunité Cellulaire »
1880

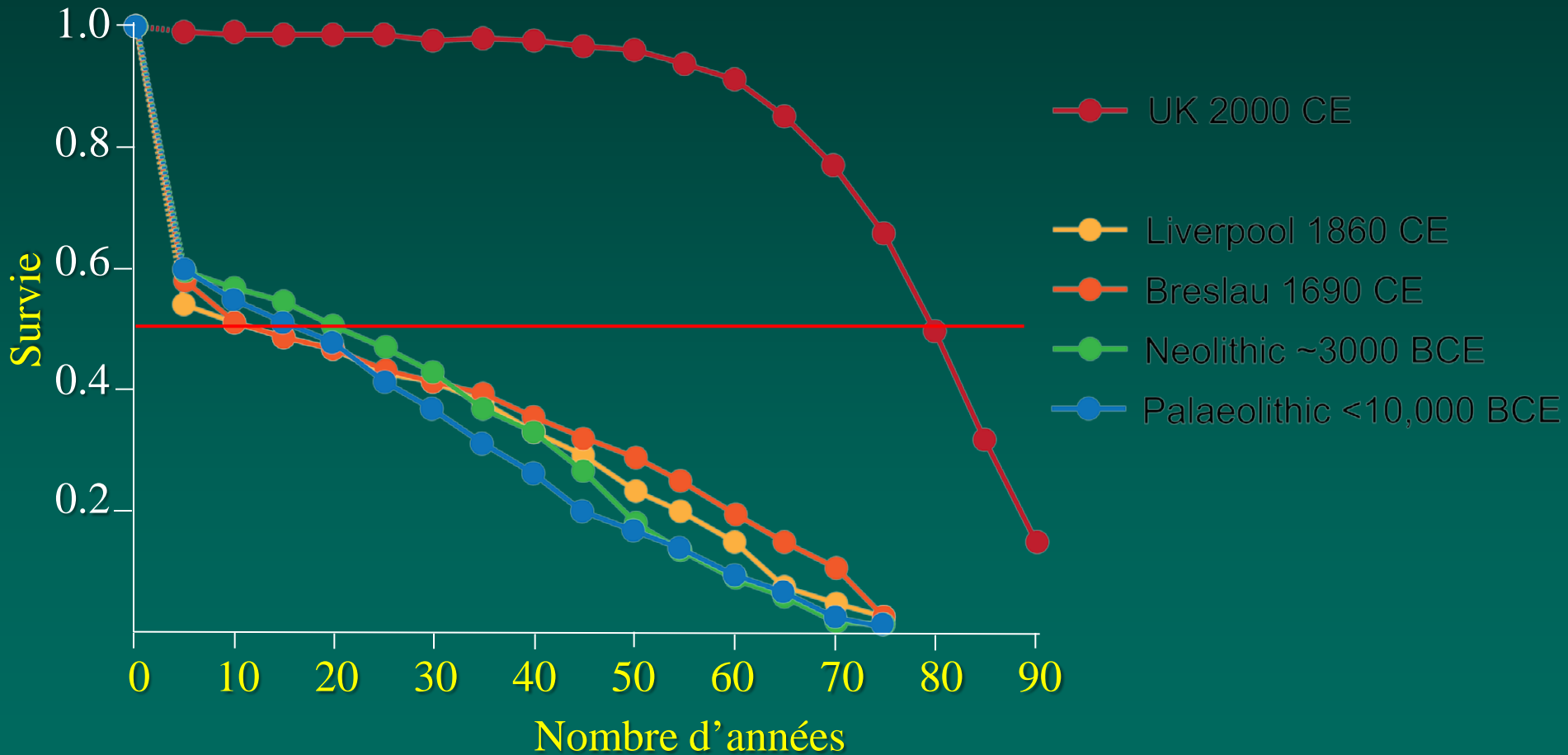
« Immunité Humorale »
A. Paillot, R. Glaser
1920-1935



Le contexte:

la lutte générale contre les infections

Evolution de l'espérance de vie des hommes, du Paléolithique à nos jours



Casanova JL, Abel L. *J Exp Med.* 2005.

Les premières grandes sources de mortalité au cours de l'Histoire ont été – et de très loin – les maladies infectieuses, avec des pics fréquents d'épidémies, p.ex. de peste, de variole, de typhus..

La mortalité infantile due aux infections était énorme

L'origine de ces maladies restait inconnue pendant des millénaires, et était généralement attribuée aux puissances divines.

Thucydide, La Guerre du Péloponnèse

La peste ravage Athènes (430 av JC)



J. De Romilly

- *« Toute science humaine était inefficace ; en vain on multipliait les supplications dans les temples, en vain on avait recours aux oracles ou à de semblables pratiques, tout était inutile, finalement on y renonça, vaincu par le fléau..... »*
- *« Mais ceux qui avaient échappé à la maladie se montraient les plus compatissants pour le mourants et les malades, car, connaissant déjà le mal, ils étaient en sécurité, les rechutes n'étaient pas mortelles ».*

Le siècle qui s'est étendu des découvertes de Pasteur
au développement des antibiotiques (1870-1960)
a représenté un véritable âge d'or pour la médecine

*Trois éléments essentiels ont contribué à combattre
efficacement les infections:*

*L'avènement de l'Hygiène (asepsie, antiseptie) (et
l'amélioration des conditions de vie)*

*Le développement de la vaccination et de la
sérothérapie*

La découverte et l'usage massif des antibiotiques

AUJOURD'HUI

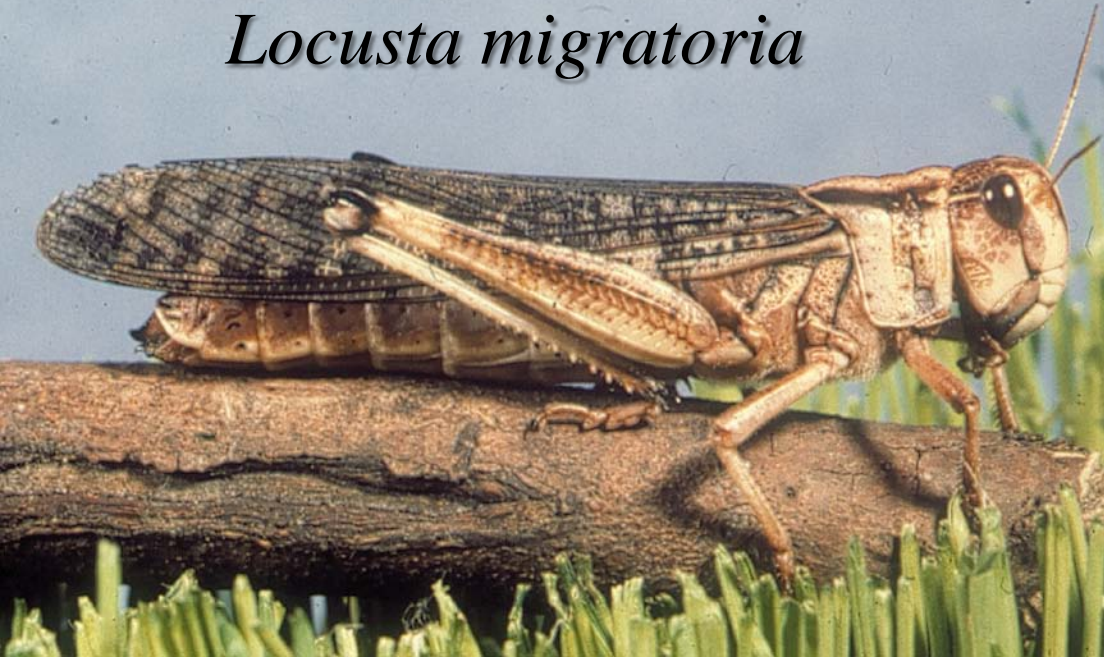
Malgré les progrès spectaculaires des 150 dernières années, le quart des morts enregistrées annuellement sur terre (60 millions) sont dues à des maladies infectieuses

La résistance aux antibiotiques de nombreuses souches microbiennes devient préoccupante, particulièrement en milieu hospitalier

*Les vaccins ne couvrent toujours pas ou insuffisamment bien, de nombreuses maladies
(HIV, paludisme, nombreux germes bactériens ou fongiques)*

Ceci entraîne une nécessité accrue pour l'étude des réactions de défense contre les différents microorganismes pathogènes et pour l'application des connaissances dans la lutte anti-infectieuse.

Locusta migratoria



Les insectes modèles
utilisés
au cours de nos travaux

Phormia terranova

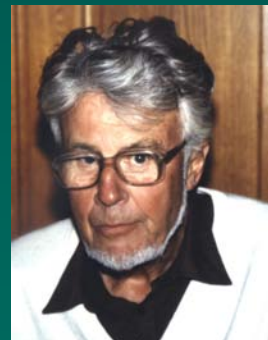
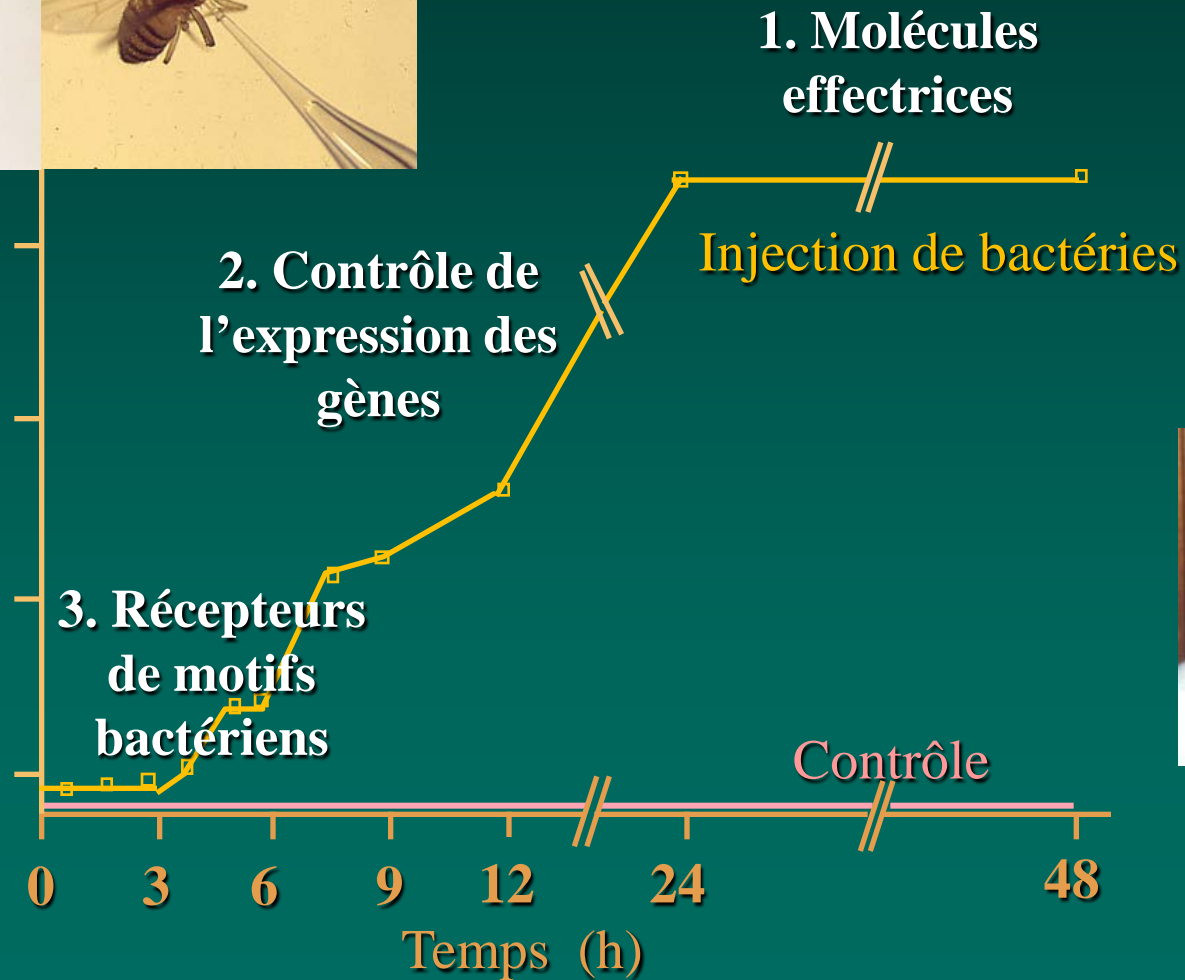


Drosophila melanogaster

Une forte activité antimicrobienne est induite par des infections chez les insectes



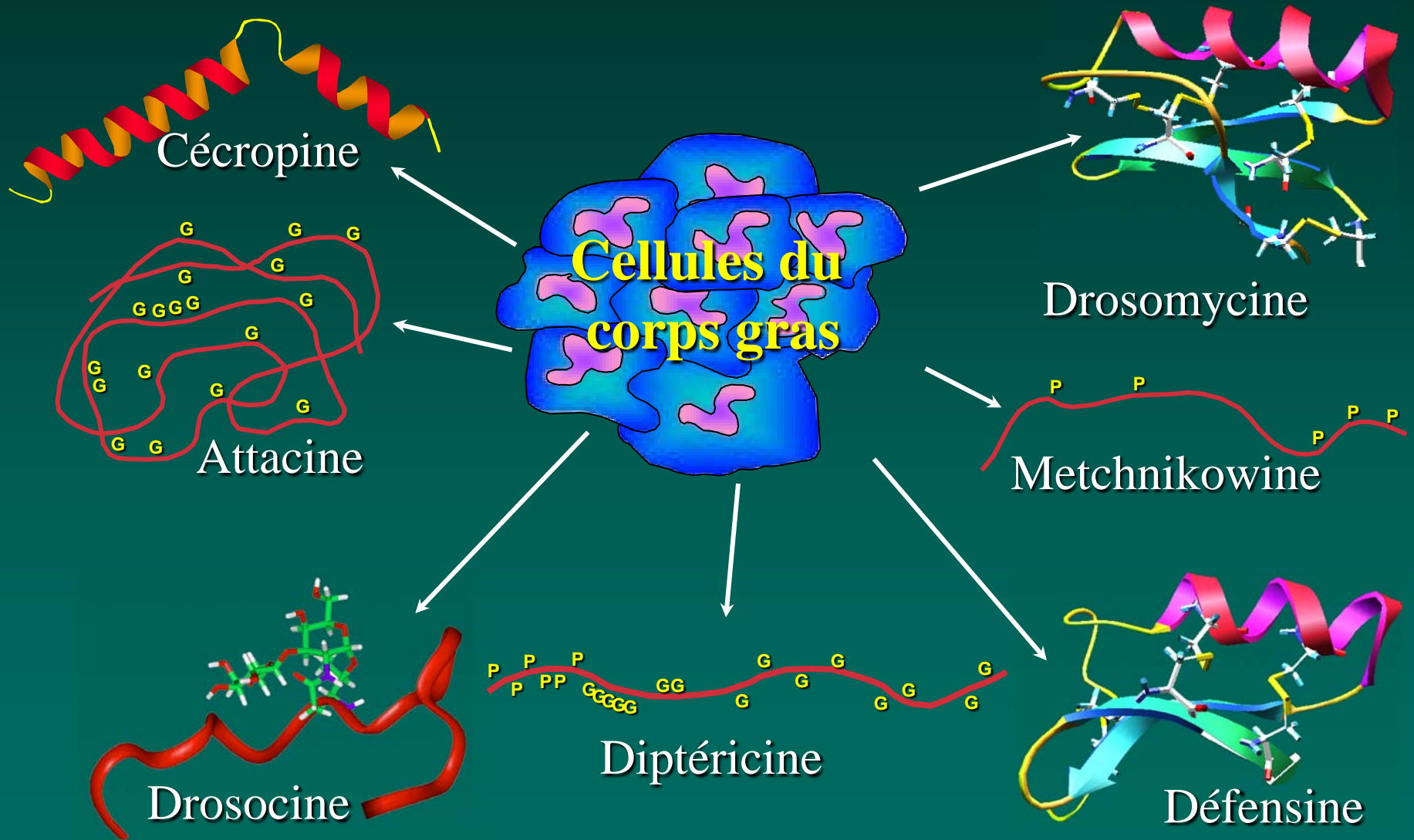
Activité antimicrobienne dans l'hémolymphe
(test d'inhibition de croissance)



Hans Boman
1924-2008

La réponse antimicrobienne chez la drosophile.

Identification des peptides antimicrobiens





Peau

β -Défensines
Drosomycine

Poumons

β -Défensines
Cathélicidines

Reins

β -Défensines

Appareil

Urogénital

α -Défensines
 β -Défensines
Cathélicidines

Yeux

β -Défensines

Bouche

Histatines
 β -Défensines

Lymphocytes
 α -Défensines

Intestin

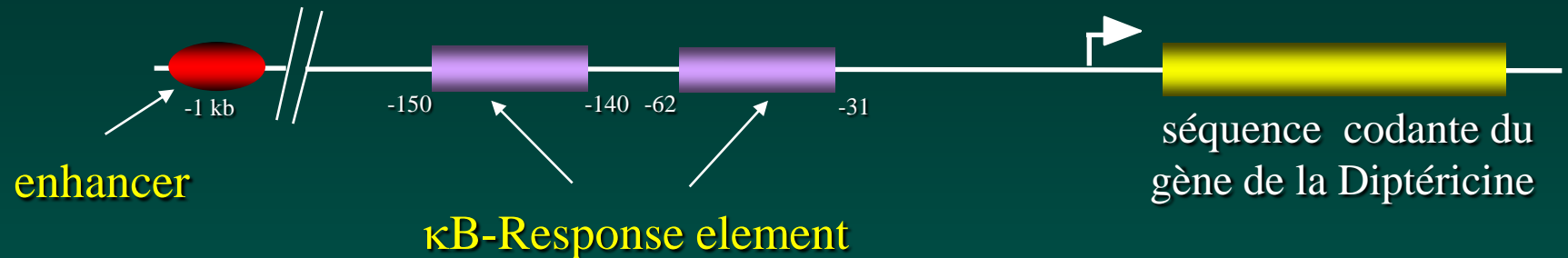
α -Défensines

Neutrophiles

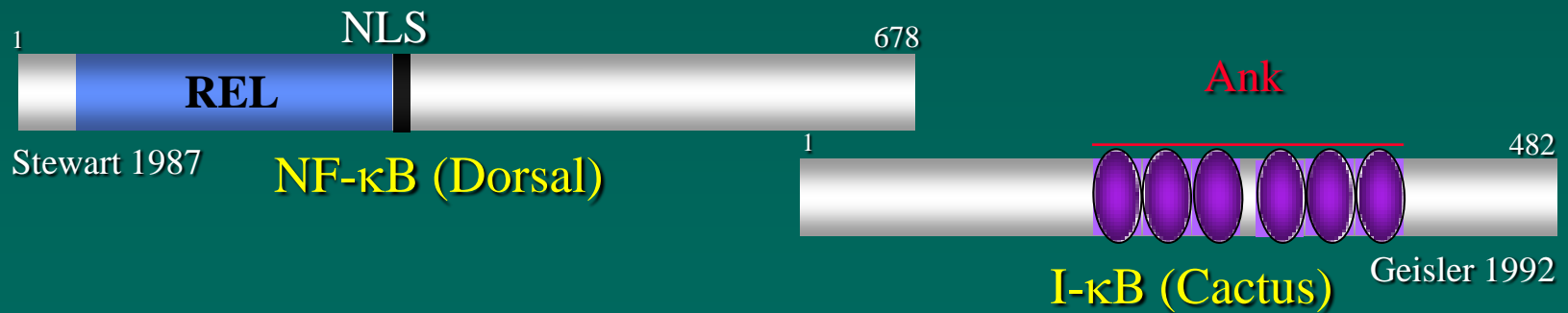
α -Défensines

*Peptides
antimicrobiens
chez l'Homme*

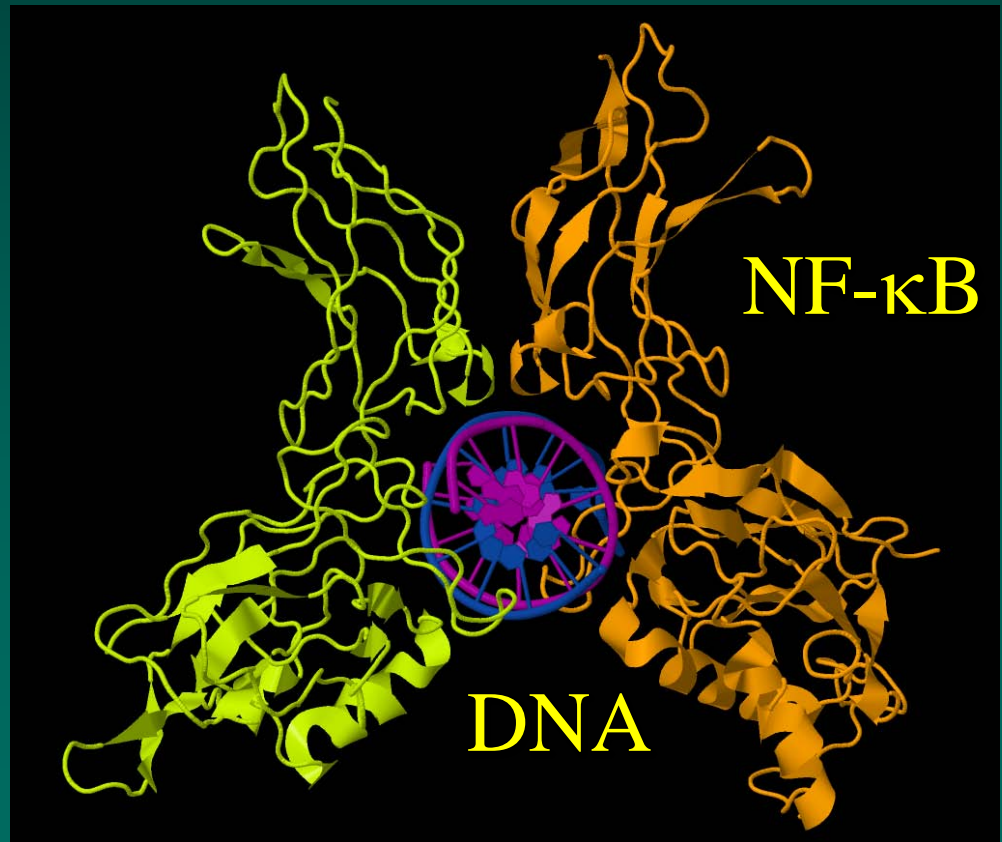
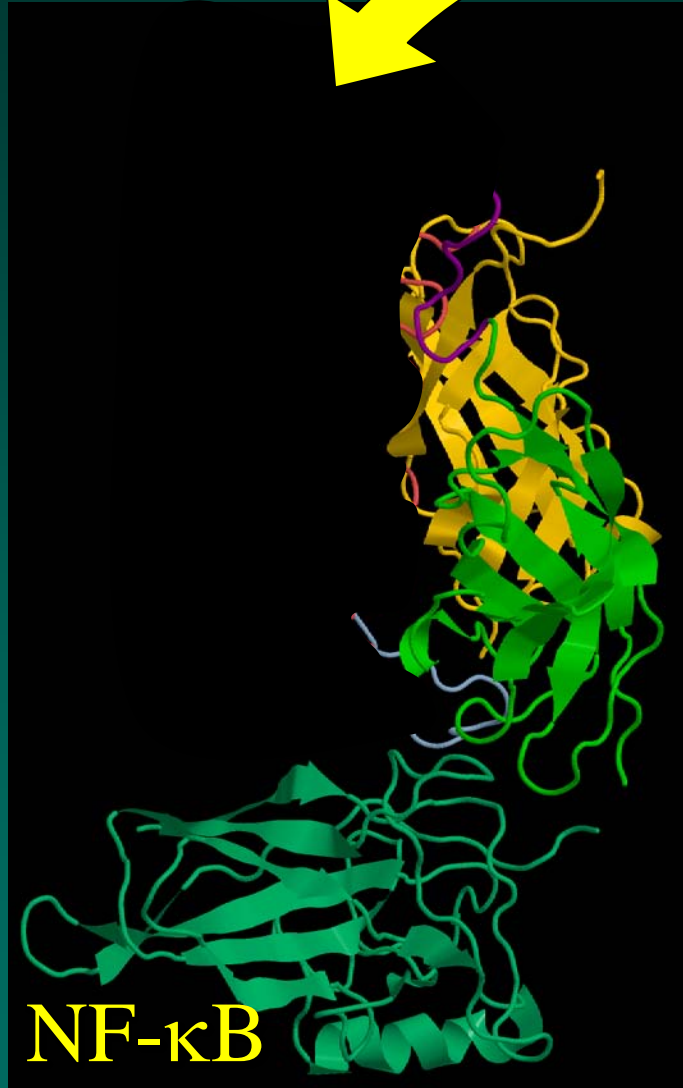
Eléments de réponse à $NF-\kappa B$ dans les séquences promotrices du gène de la diptéricine



Homologues de $NF-\kappa B/I\kappa B$ chez la drosophile



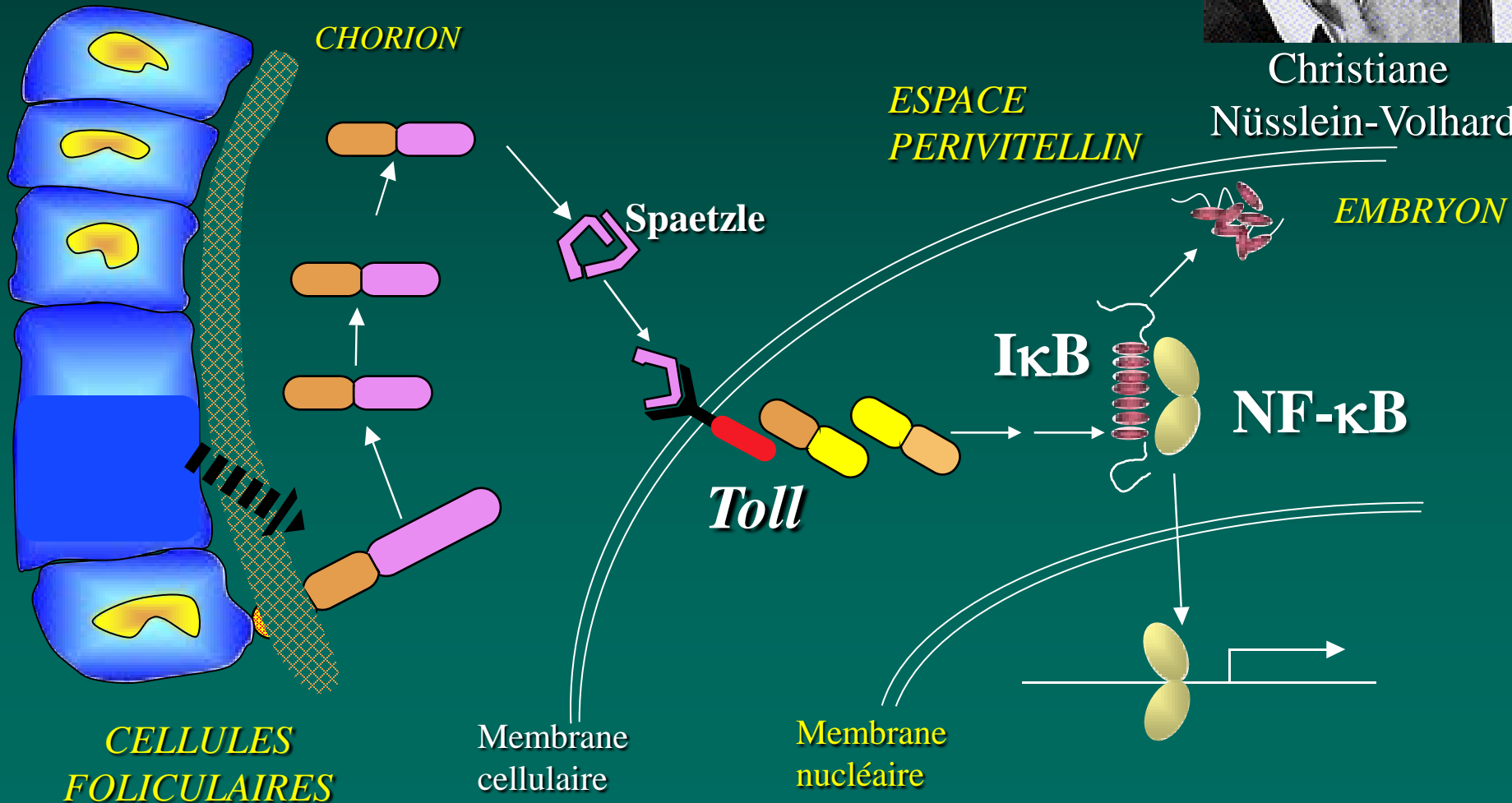
IKK / I- κ B / NF- κ B



Cascade des gènes contrôlant l'axe dorsoventral chez l'embryon de la drosophile



Christiane Nüsslein-Volhard



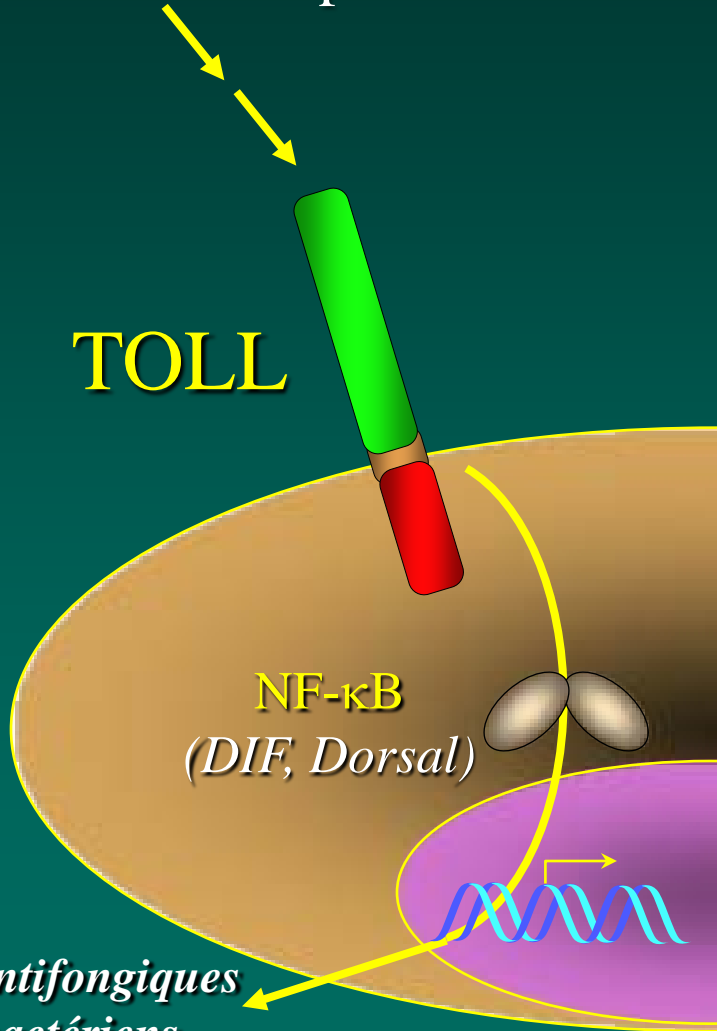
Activation des membres NF- κ B par deux voies de signalisation distinctes

Champignons
Bactéries à Gram-positif

TOLL

NF- κ B
(DIF, Dorsal)

Peptides antifongiques
et antibactériens



Activation des membres NF- κ B par deux voies de signalisation distinctes

Champignons
Bactéries à Gram-positif

Bactéries à Gram-négatif

TOLL

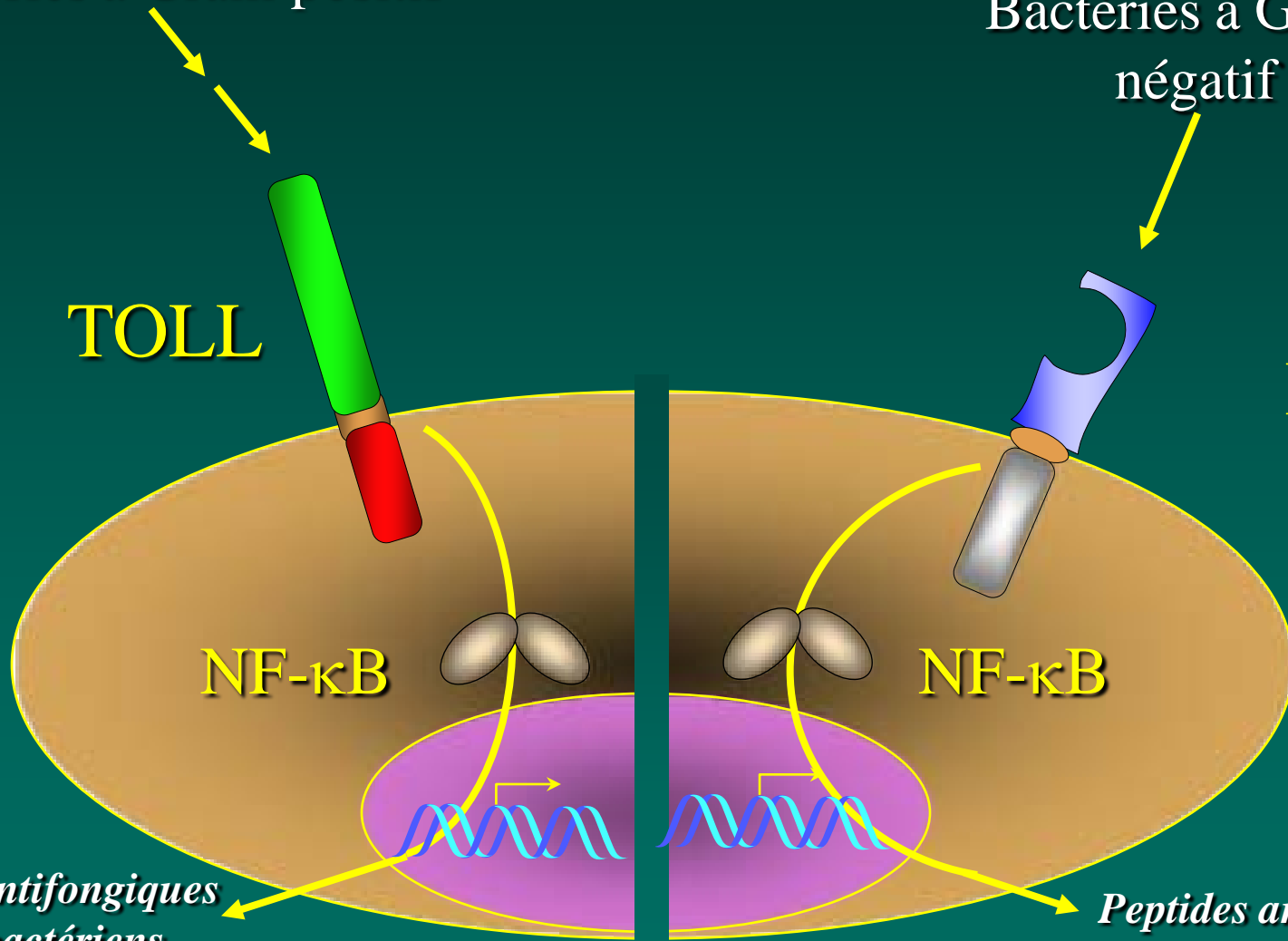
IMD

NF- κ B

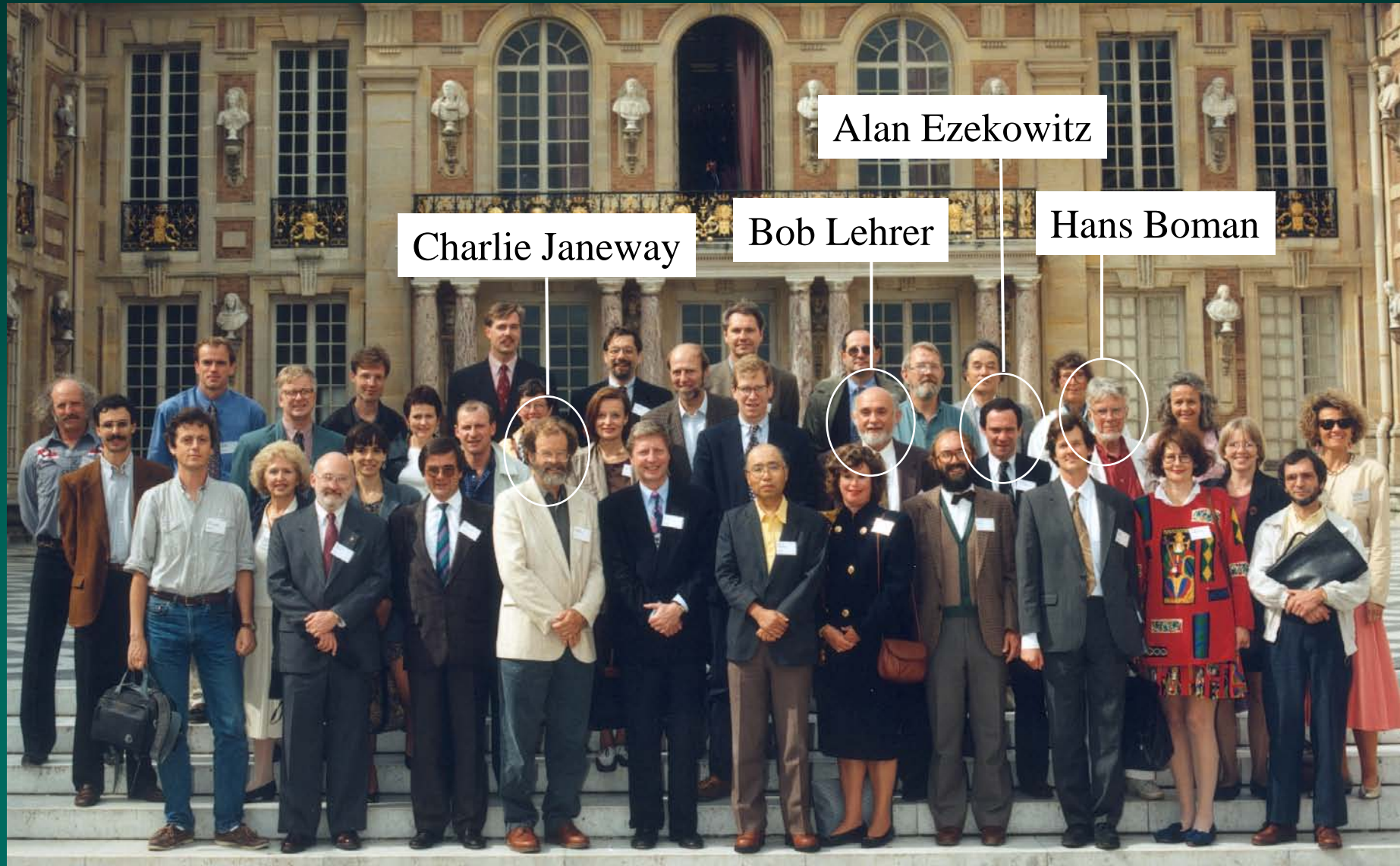
NF- κ B

*Peptides antifongiques
et antibactériens*

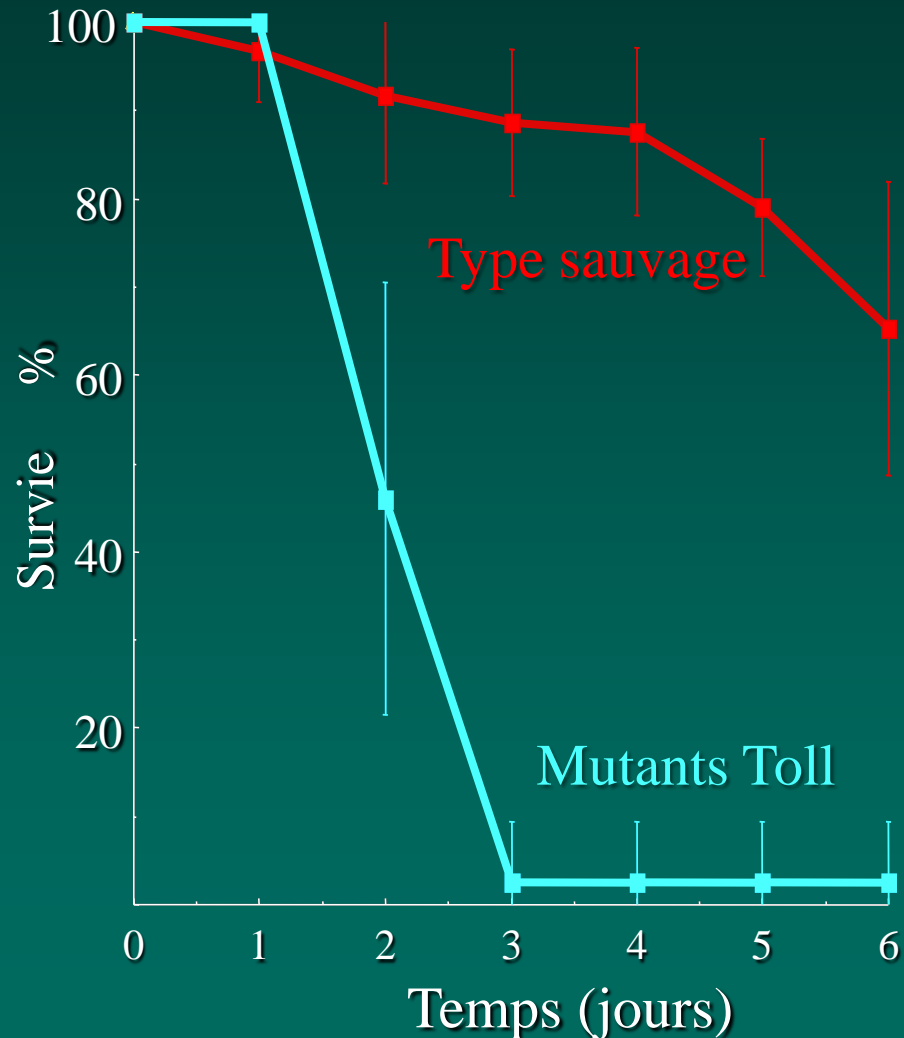
Peptides antibactériens



*Versailles, il y a 20 ans, la première conférence
entièrement dédiée à l'Immunité Innée*

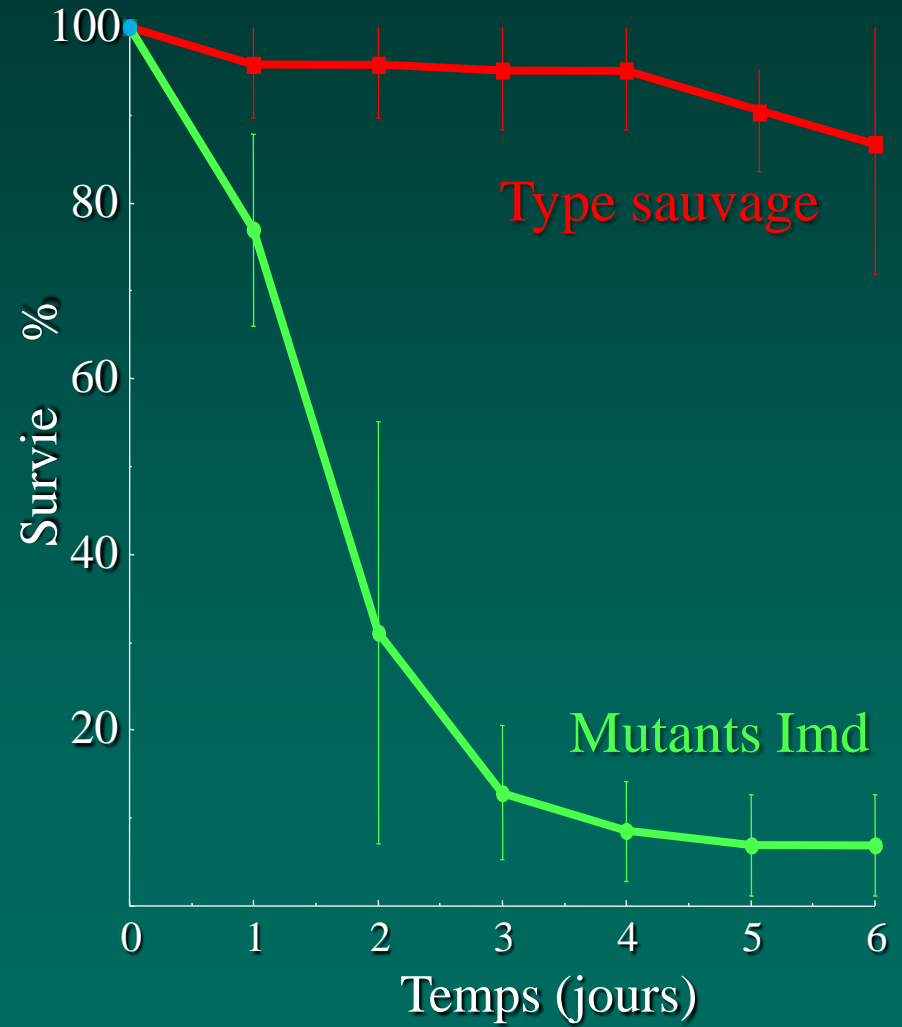


Les mouches mutantes pour la voie Toll sont susceptibles aux infections fongiques



*Infection à *Aspergillus**

Les mouches mutantes pour la voie Imd sont susceptibles aux infections bactériennes



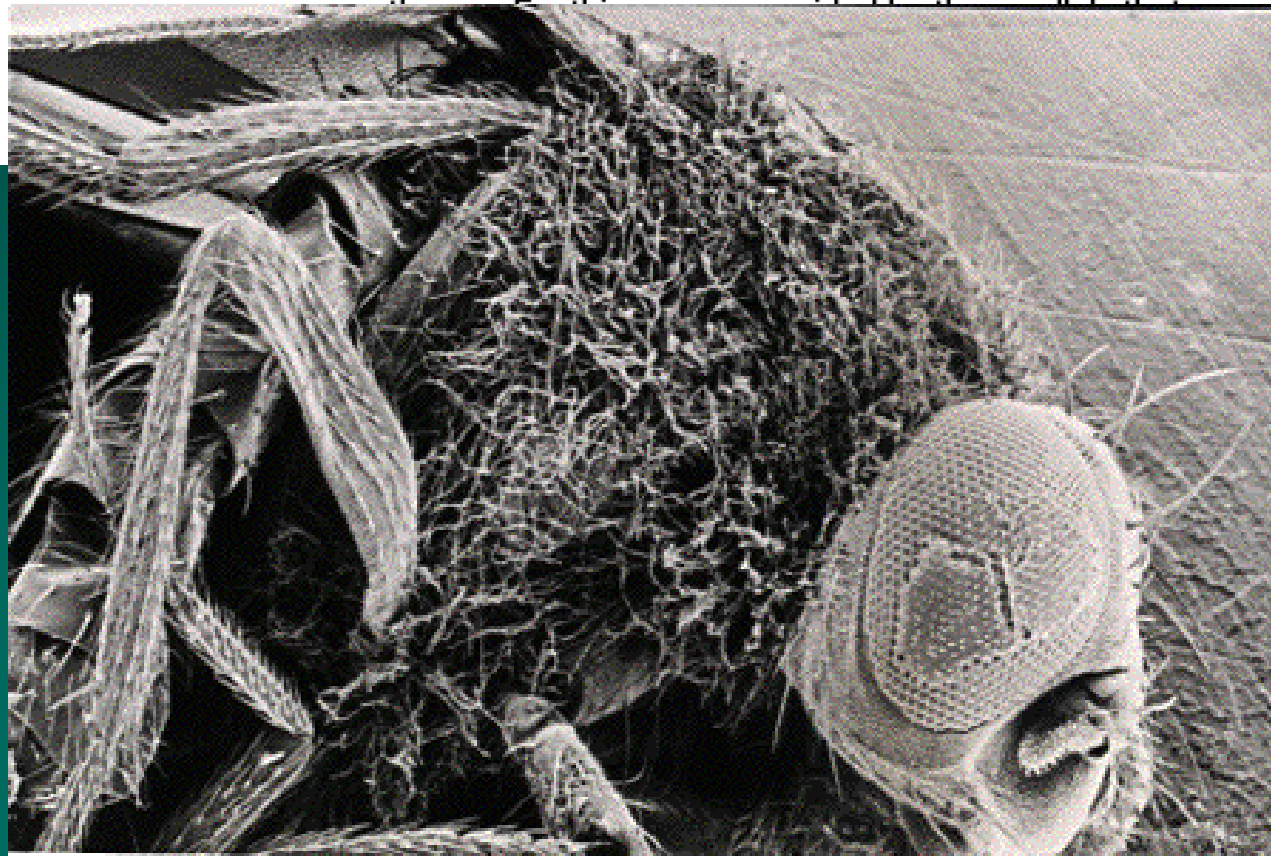
*Infection à *E. coli**

The Dorsoventral Regulatory Gene Cassette *spätzle/Toll/cactus* Controls the Potent Antifungal Response in *Drosophila* Adults

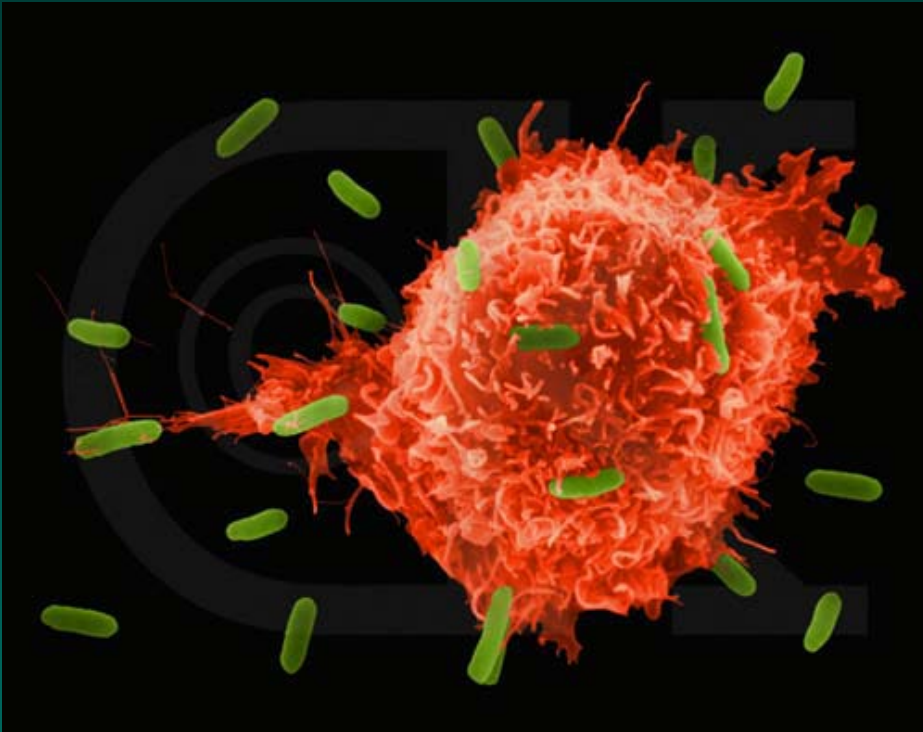
Bruno Lemaître, Emmanuelle Nicolas, Lydia Michaut,
Jean-Marc Reichhart, and Jules A. Hoffmann
Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire
UPR 9022 du Centre National de la Recherche
Scientifique
15 rue René Descartes
67084 Strasbourg Cedex
France

mutants, a result which points to the existence of different pathways leading to expression of the antifungal and antibacterial peptide genes (Lemaître et al., 1995a).

We have undertaken the characterization of these



Première ligne de défense : L'immunité innée

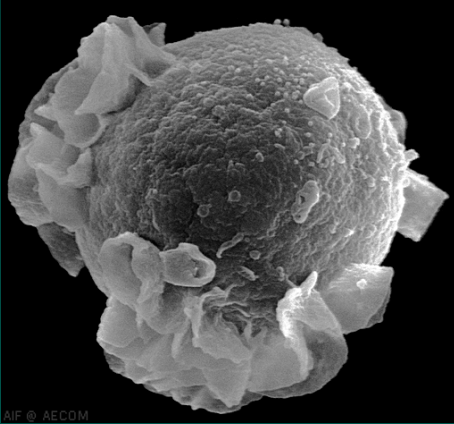


Phagocyte

- *Réaction immédiate*
- *Pas de mémoire*

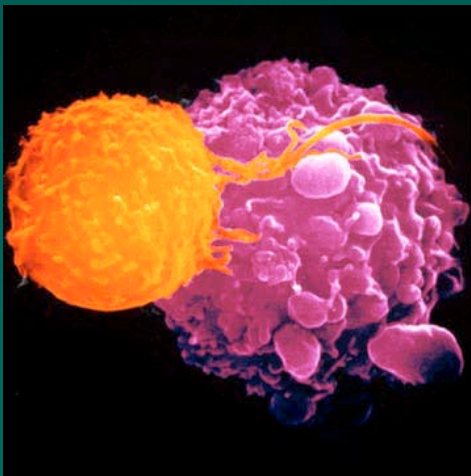
Deuxième ligne de défense : L'immunité adaptative

Lymphocyte B

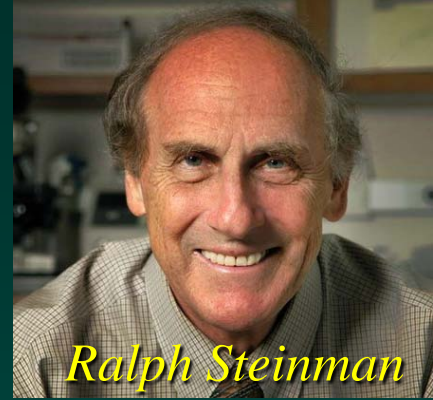


- *Réaction lente: quelques jours*
- *Apparue chez les vertébrés avec les lymphocytes*
- *Vaste répertoire de récepteurs résultant du réarrangement de fragments de gènes d'immunoglob.*

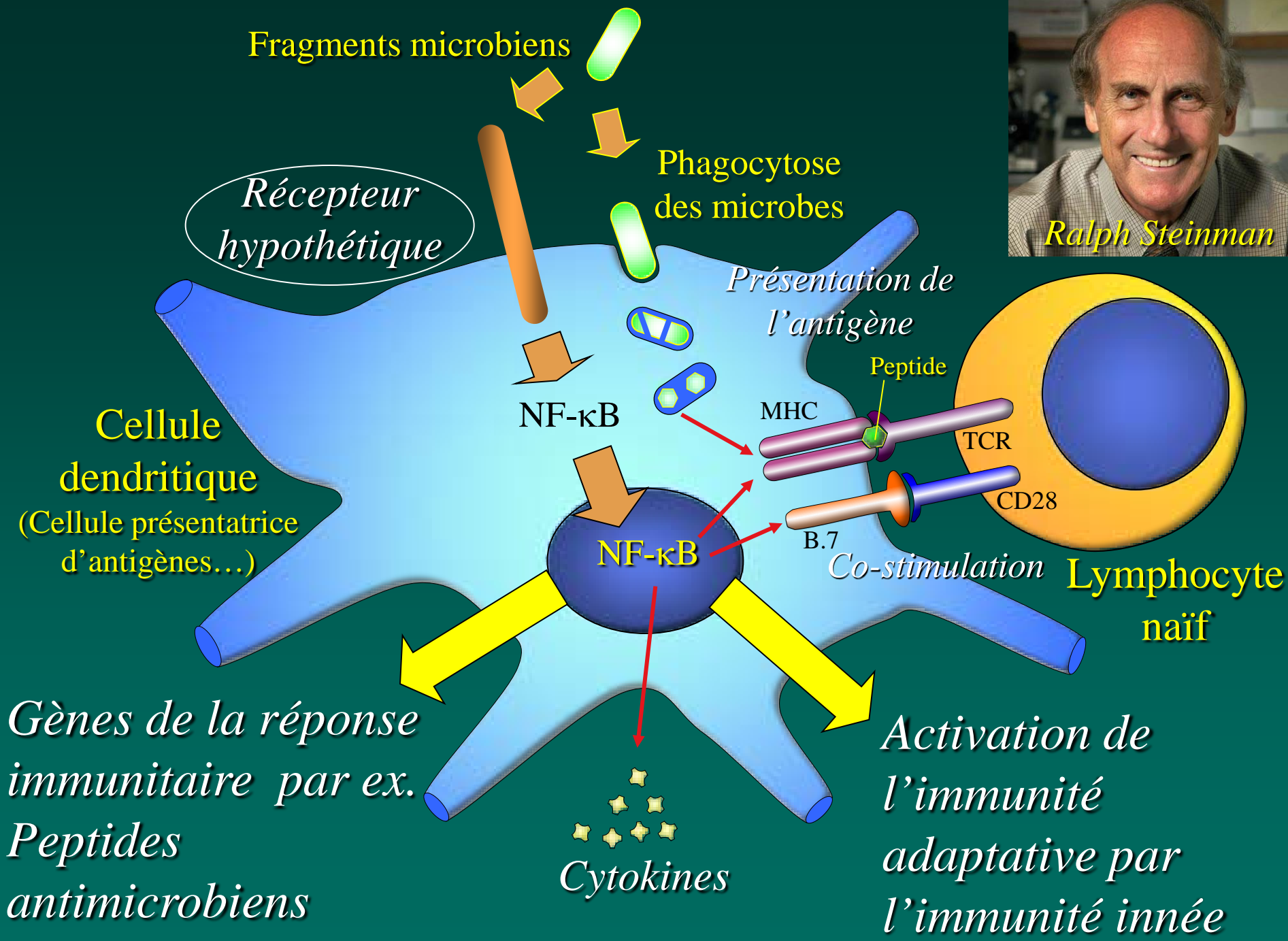
Lymphocyte T



- *Expansion clonale des lymphocytes comportant des récepteurs de haute affinité pour les antigènes*
- *Cellules mémoire d'où vaccination possible*



Ralph Steinman



letters to nature

A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity

Ruslan Medzhitov*, Paula Preston-Hurlburt & Charles A. Janeway Jr*

*Section of Immunobiology, Yale University School of Medicine, and * Howard Hughes Medical Institute, New Haven, Connecticut 06520-8011, USA*

Induction of the adaptive immune response depends on the expression of co-stimulatory molecules and cytokines by antigen-presenting cells. The mechanisms that control the initial induction of these signals upon infection are poorly understood. It has been proposed that their expression is controlled by the non-clonal, or innate, component of immunity that preceded in evolution the development of an adaptive immune system in

*Charlie Janeway
(1943-2003)*



Nature, 1997



Bruce Beutler

Defective LPS Signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr Mice: Mutations in *Tlr4* Gene

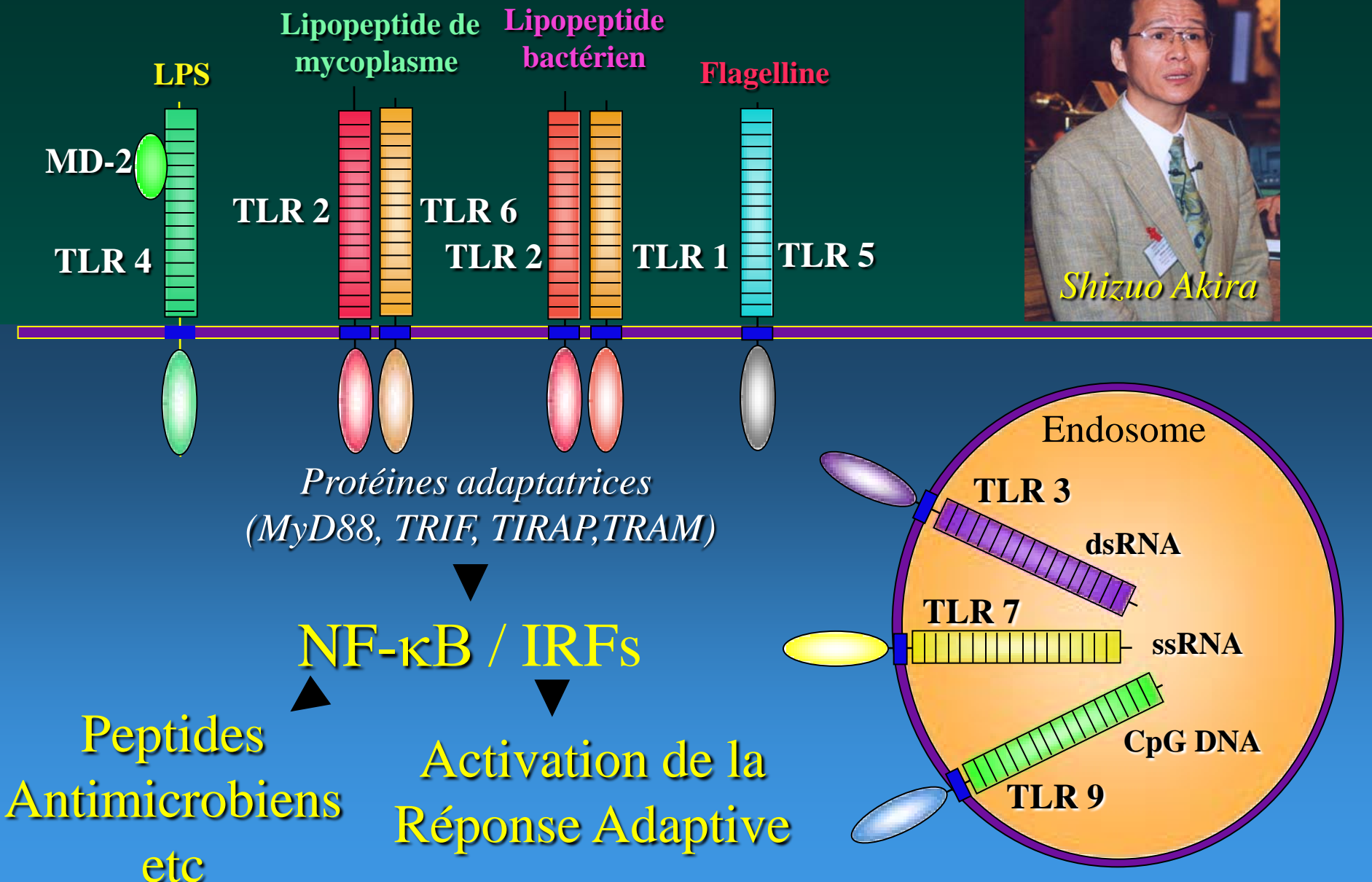
Alexander Poltorak, Xiaolong He,* Irina Smirnova, Mu-Ya Liu,†
Christophe Van Huffel,‡ Xin Du, Dale Birdwell, Erica Alejos,
Maria Silva, Chris Galanos, Marina Freudenberg,
Paola Ricciardi-Castagnoli, Betsy Layton, Bruce Beutler§

Mutations of the gene *Lps* selectively impede lipopolysaccharide (LPS) signal transduction in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice, rendering them resistant to endotoxin yet highly susceptible to Gram-negative infection. The codominant *lps^d* allele of C3H/HeJ mice was shown to correspond to a missense mutation in the third exon of the Toll-like receptor-4 gene (*Tlr4*), predicted to replace proline with histidine at position 712 of the polypeptide chain. C57BL/10ScCr mice are homozygous for a null mutation of *Tlr4*. Thus, the mammalian Tlr4 protein has been adapted primarily to subservise the recognition of LPS and presumably transduces the LPS signal across the plasma membrane. Destructive mutations of *Tlr4* predispose to the development of Gram-negative sepsis, leaving most aspects of immune function intact.

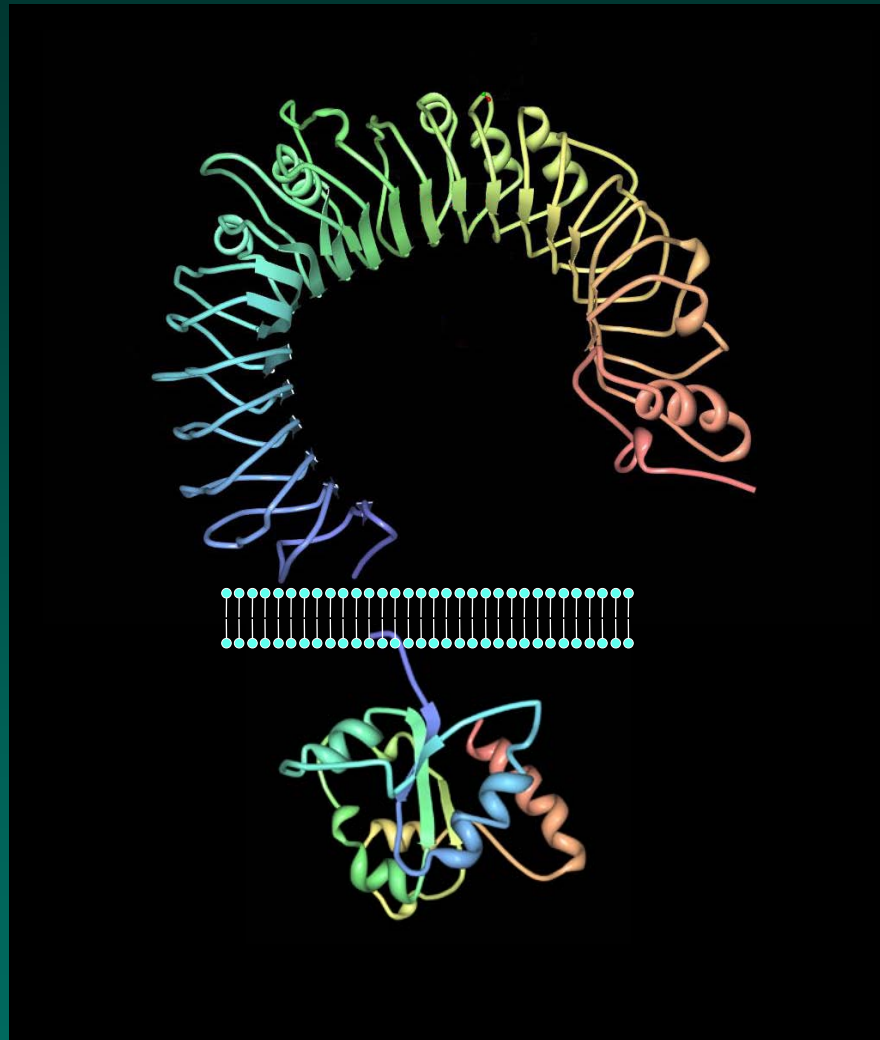
ervative estimates hold that in the United States alone, 20,000 people die each year as a result of septic shock brought on by Gram-negative infection (*1*). The lethal effect of a Gram-negative infection is linked, in part, to the biological effects of bacterial

lipopolysaccharide (endotoxin), which is produced by all Gram-negative organisms. A powerful activator of host mononuclear cells, LPS prompts the synthesis and release of tumor necrosis factor (TNF) and other toxic cytokines that ultimately lead to shock in

Activation de NF- κ B par les TLRs



La structure tridimensionnelle de TLR3



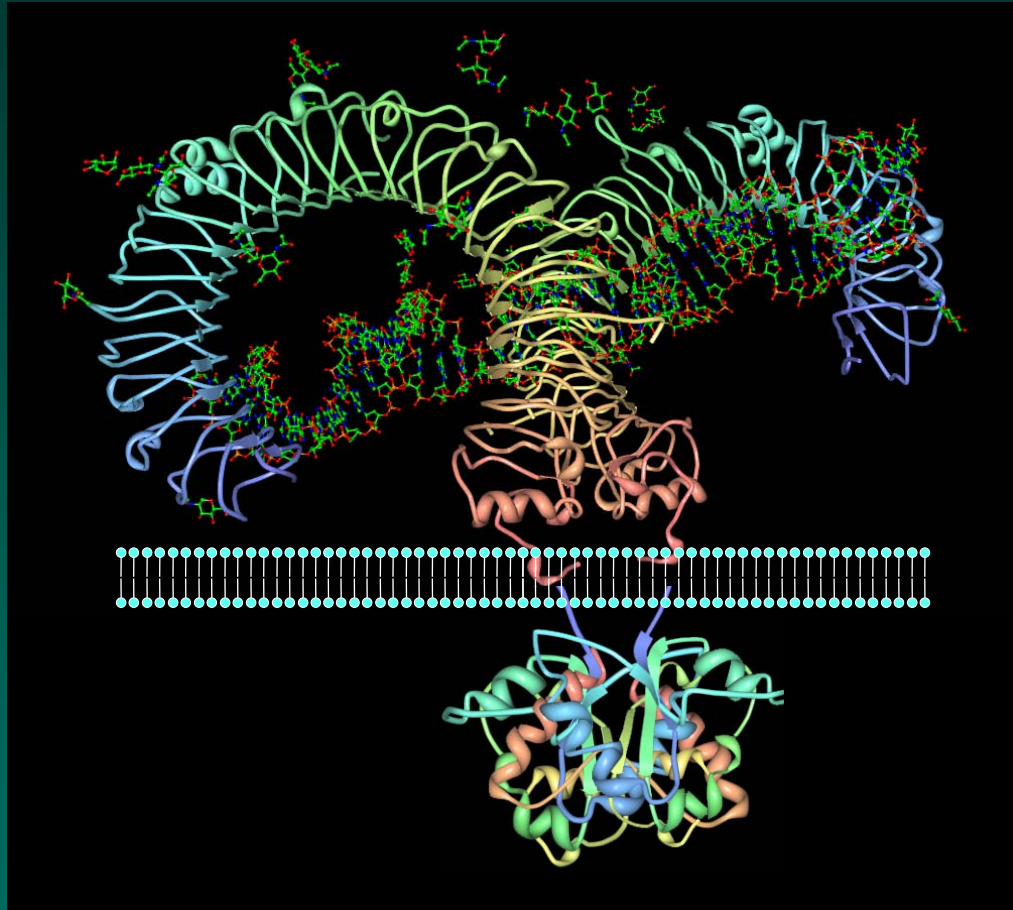
Ectodomain

Membrane
cellulaire

TIR-domaine
(Toll-Interleukin-1
Receptor)

Representation based on data from Kim, H.M., Park, B.S., Kim, J.-I., Kim, S.E., Lee, J., Oh, S.C., Enkhbayar, P., Matsushima, N., Lee, H., Yoo, O.J., Lee, J.-O. Cell, 2007 and Xu Y, Tao X, Shen B, Horng T, Medzhitov R, Manley JL, Tong L. Nature. 2000

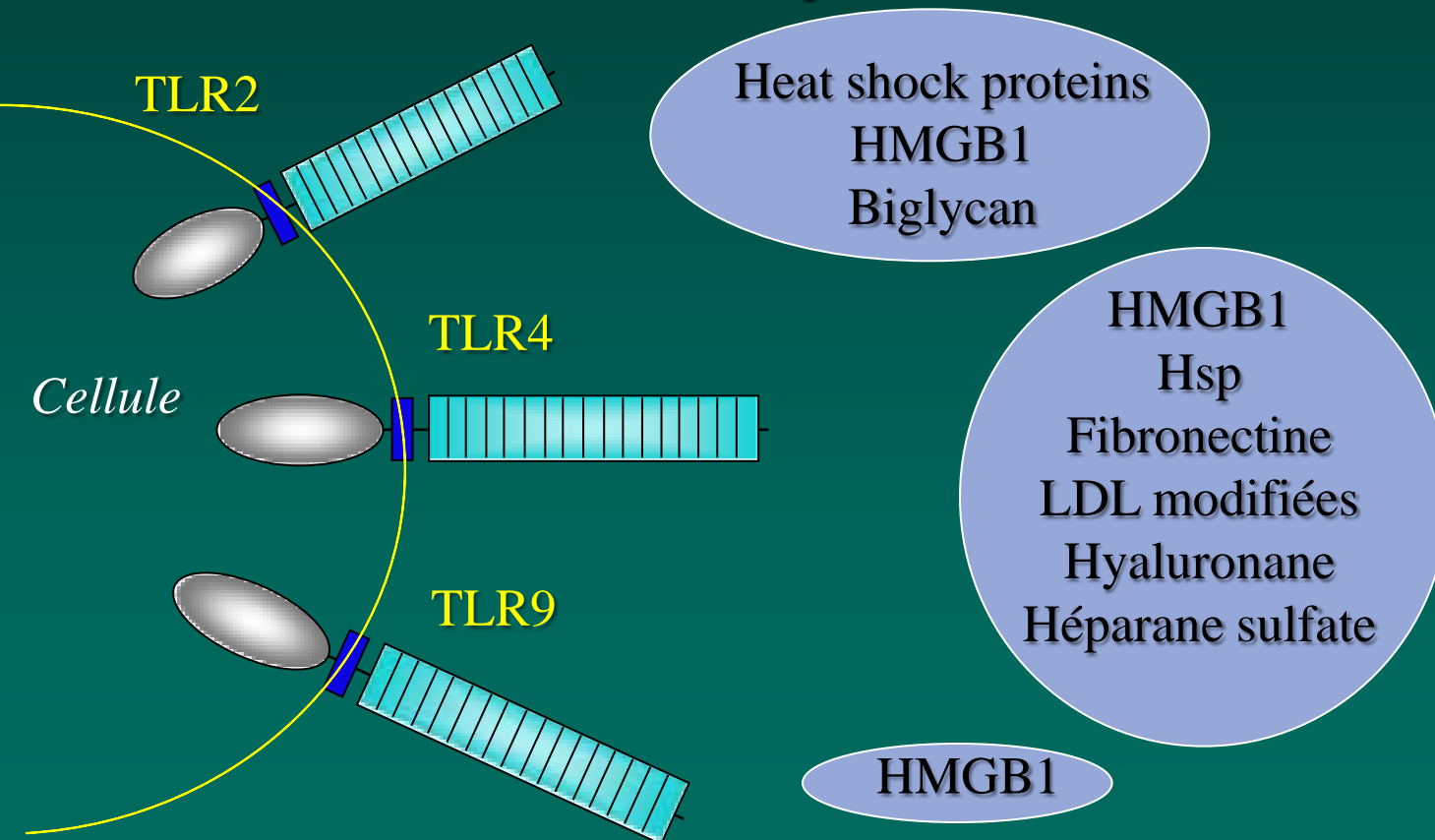
Liaison d'ARN double brin à un dimère de TLR3



D'après : *Liu L., Botos I., Wang Y., Leonard J.N., Shiloach J., Segal D.M., Davies D.R. Science 2008 and Xu Y, Tao X, Shen B, Horng T, Medzhitov R, Manley JL, Tong L. Nature. 2000*

Les agonistes des TLRs dans les phénomènes inflammatoires stériles

Débris cellulaires (cellules nécrotiques, lésées, tumorales, hypoxiques) produits de la matrice extracellulaire, complexes immuns, complexes ADN-chromatine



*Des déficiences génétiques dans les récepteurs TLRs
ou dans des membres de leurs voies intracellulaires
de signalisation affectent la résistance à certains
agents infectieux*

Exemples :

TLR 4

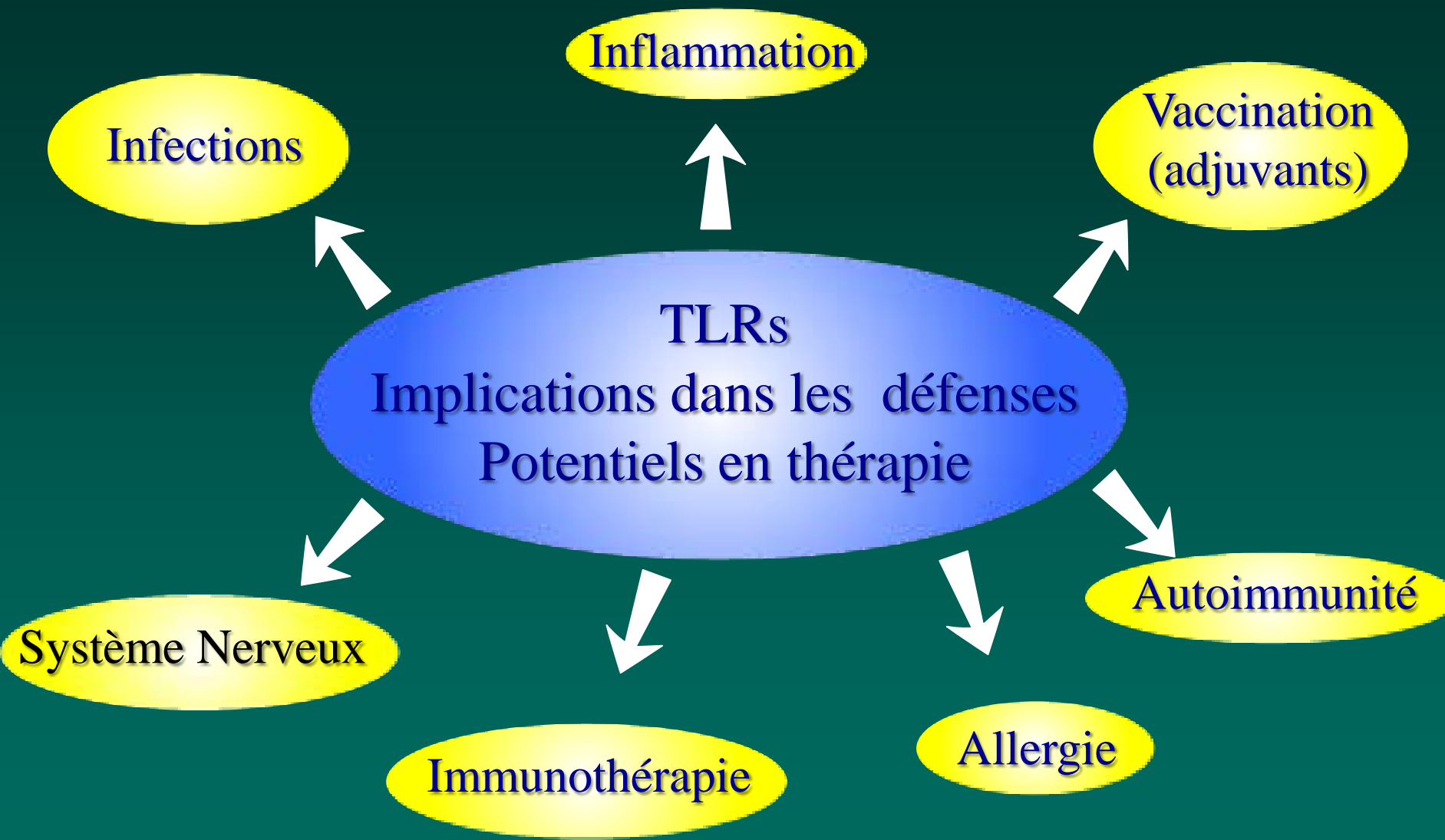
TLR 3

MyD 88 et TRIF (adaptateurs intracellulaires)

IRAK 4 (kinase intracellulaire)

Unc 93 B (protéine membranaire du réticulum
endoplasmique)

*Travaux de J.L.Casanova, L.Abel, B.Beutler, S.Akira et
d'autres*



Perpectives Phylogénétiques

Champignons

GNBP-3



Cascade à
sérine protéases

Spaetzle

Toll

Bactéries à
Gram-positif

PGRP-SA



Bactéries à
Gram-négatif

PGRP-LC

NF-κB

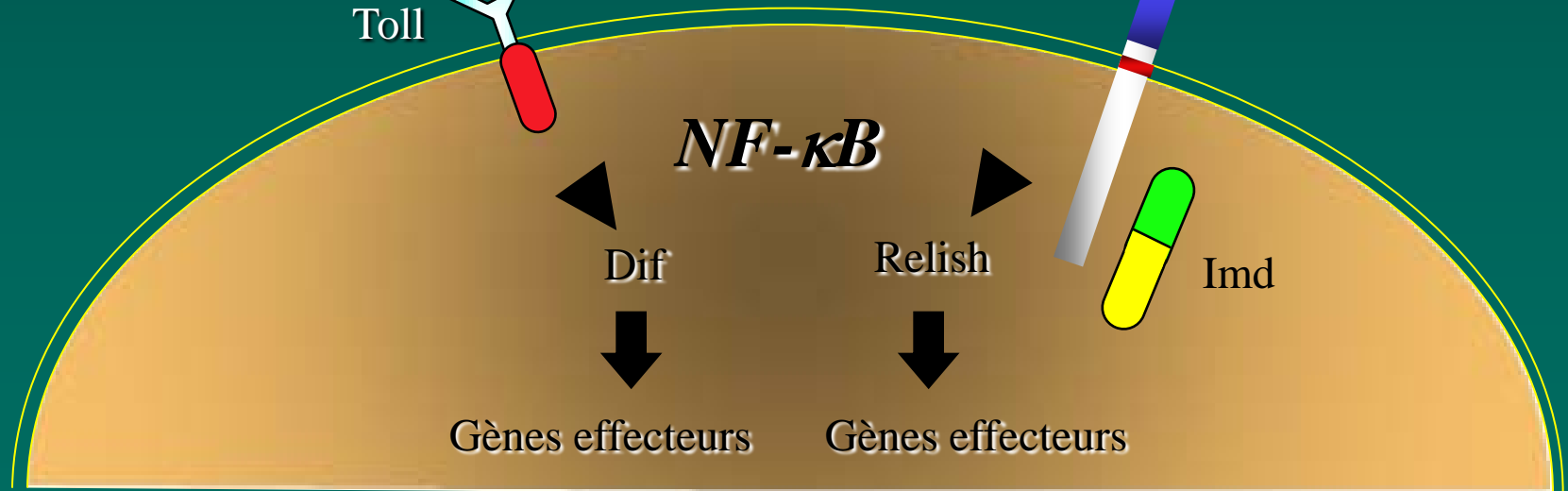
Dif

Relish

Imd

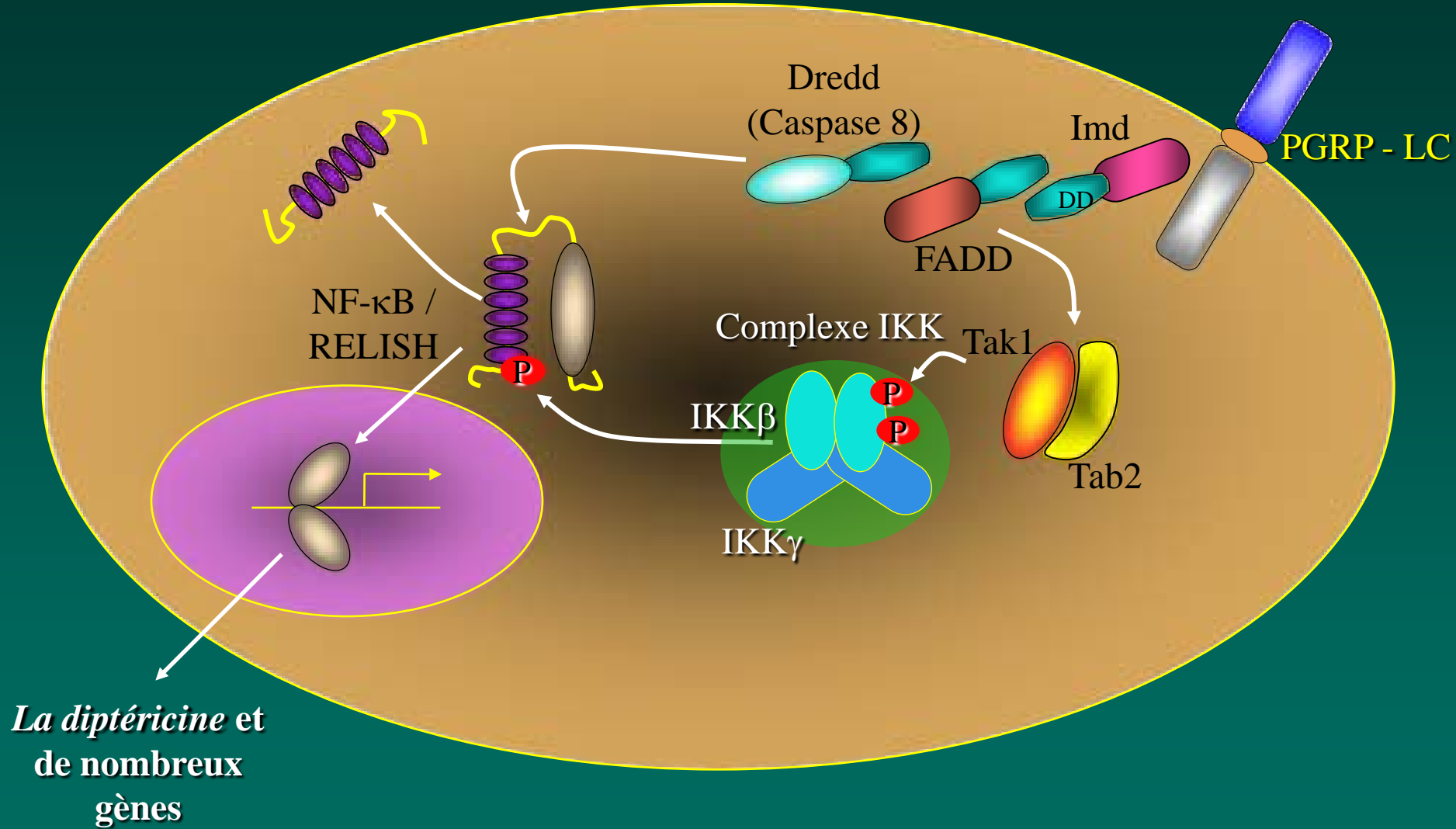
Gènes effecteurs

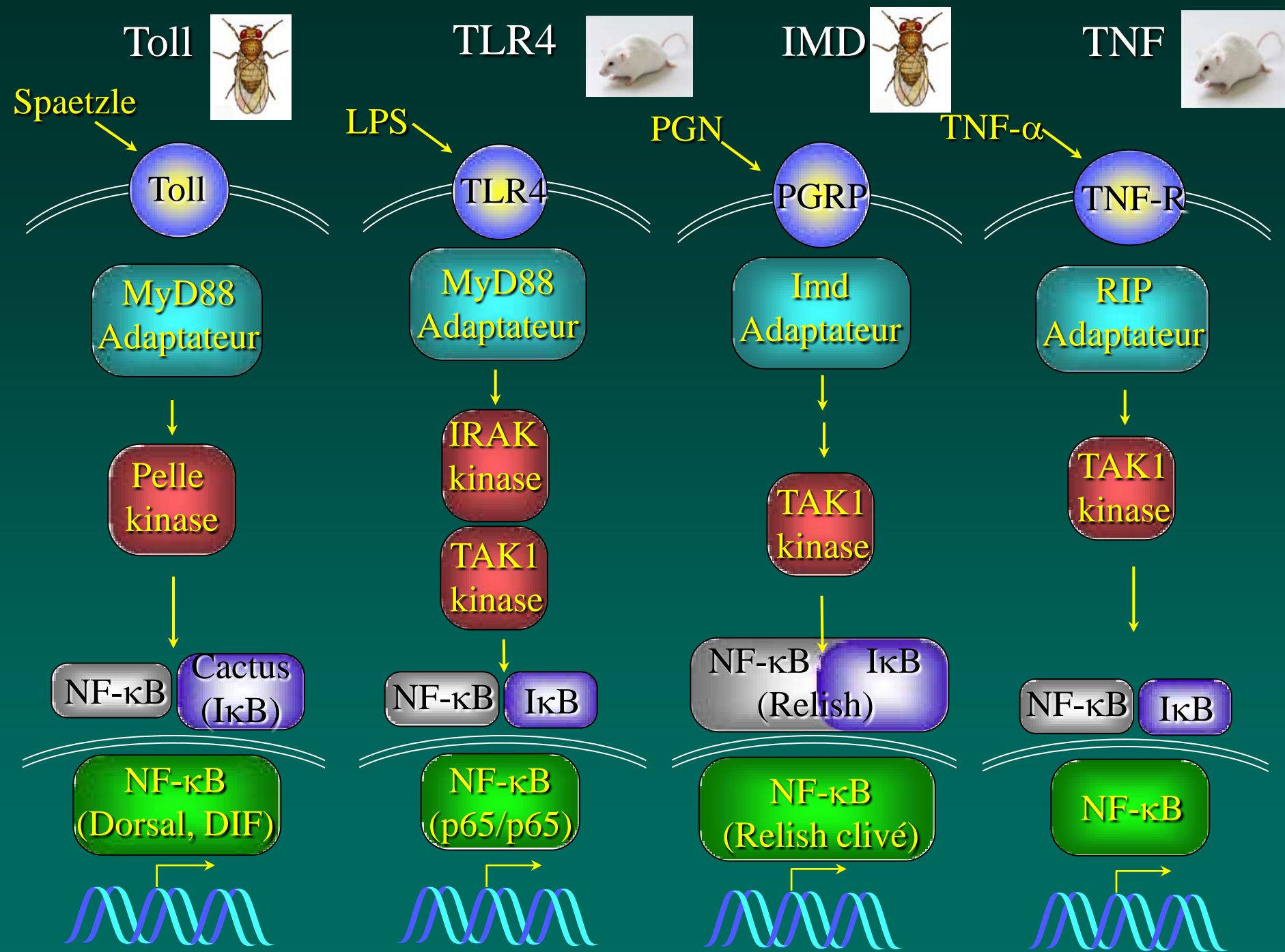
Gènes effecteurs



Activation de NF- κ B par la voie IMD chez la drosophile

Bactéries à Gram négatif



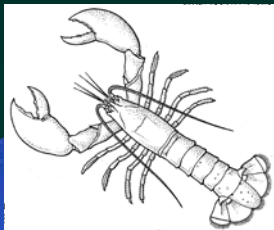




Anémones de mer



Vers



Crustacés



Drosophila



Amphioxus

**Invertébrés
(95%)**

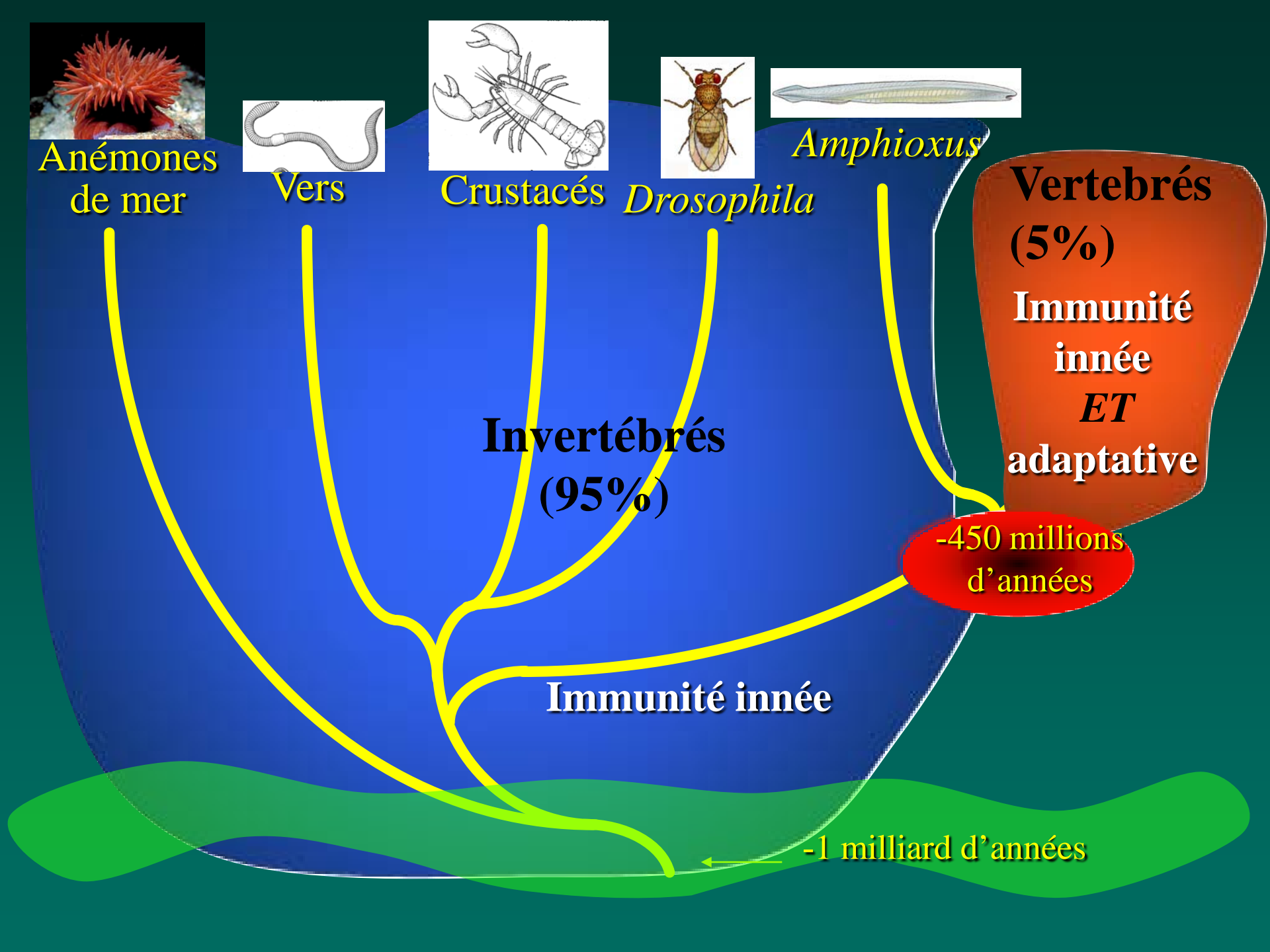
**Vertébrés
(5%)**

**Immunité innée
ET
adaptative**

**-450 millions
d'années**

Immunité innée

-1 milliard d'années





IMMUNITE
INNEE

- Apparue avec la multicellularité
 \approx 1 milliard d'années
- Seule défense antimicrobienne chez 95 % des formes animales
- Responsable à 95 % de notre propre résistance aux infections microbiennes



IMMUNITE ADAPTATIVE

- Apparue avec les poissons il y a 450 millions d'années
- S'oppose surtout aux microbes qui ont échappé à l'immunité innée
- Grâce à ses propriétés de mémoire, elle protège contre les infections subséquentes du même pathogène –base de la vaccination
- Requiert une activation par l'immunité innée
- Problème inhérent : autoimmunité

Acknowledgements



D. Hoffmann



C. Hetru



J.L. Dimarcq



J.M. Reichardt



B. Lemaitre



D. Ferrandon



J. Royet



J.L. Imler



E. Levashina



P. Bulet

Credits : Drosophila immunity

USA,

**Kathryn Anderson
Carl Hashimoto
Steve Wasserman**

Tony Ip

**Ruth Stewart
Shuba Govind**

**Neal Silverman
Tom Maniatis**

**Alan Ezekowitz
Nathalie Franc
Linda Stuart
Christine Kocks**

**Norbert Perrimon
Herve Agaisse
Michael Boutros**

David Schneider

Europe,

***Hans Boman†
Hakan Steiner
Dan Hultmark
Ingrid Faye
Ylva Engström
Ulli Theopold***

**Bruno Lemaitre
François Leulier
Julien Royet**

**Mika Ramet
Nick Gay**

Asia,

**Shoichiro Kurata
Won-Jae Lee**

Young-Joon Kim

