

Détournement de fonctions cellulaires clés par les bactéries pathogènes

Guy Tran Van Nhieu
Pascale Cossart

Au cours d'une infection, les bactéries pathogènes interagissent avec différents composés cellulaires pour mettre en place et maintenir le processus infectieux. Un certain nombre d'entre elles sont capables d'envahir des cellules normalement non phagocytaires pour s'y répliquer et se disséminer dans les cellules adjacentes, en mettant en jeu une motilité intracytoplasmique dépendante de l'actine. Certaines bactéries résistent à l'action des cellules phagocytaires en empêchant leur internalisation. D'autres bactéries persistent après internalisation dans les macrophages car elles ont élaboré des mécanismes de survie et de réplication à l'intérieur de vacuoles, en reprogrammant la voie endocytaire des cellules. Cette revue se propose d'illustrer ces différentes stratégies en choisissant d'étudier quelques bactéries paradigmes pour lesquelles les connaissances sont les plus avancées.

Certaines bactéries, dites invasives, sont capables d'induire leur internalisation dans des cellules normalement non phagocytaires en réorganisant le cytosquelette d'actine sous la membrane plasmique en contact avec le micro-organisme [1].

L'entrée dans les cellules de l'épithélium : le cytosquelette d'actine, une cible privilégiée

Dans le cas de *Listeria monocytogenes* ou de *Yersinia pseudotuberculosis*, cette phagocytose induite ressemble à la phagocytose des érythrocytes par les macrophages, et utilise un méca-

nisme de type « fermeture Éclair », qui correspond à l'apposition étroite de la membrane plasmique autour du corps bactérien. Dans d'autres cas, comme pour *Salmonella typhimurium* ou *Shigella flexneri*, les bactéries provoquent des repliements membranaires et des réarrangements du cytosquelette importants autour de leur site d'entrée, semblables à ceux induits par les facteurs de croissance, qui résultent en une macropinocytose des bactéries.

Salmonella et *Shigella* : un mécanisme d'invasion utilisant un appareil à « injection »

Dans le cas des bactéries du genre *Salmonella*, couramment responsables

ADRESSES

G. Tran Van Nhieu : Unité de pathogénie microbienne moléculaire, Inserm U. 389, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. P. Cossart : Unité des interactions bactérie-cellule, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

de gastro-entérites, la propriété d'invasion permet le franchissement de la barrière intestinale et la dissémination à d'autres organes, dans certains cas d'affections systémiques sévères. Dans le cas de *Shigella*, l'agent responsable de la dysenterie bacillaire, l'invasion combinée à la dissémination au sein de l'épithélium permettent la colonisation et la destruction de la muqueuse colique. Après internalisation par la cellule, *Salmonella* se réplique à l'intérieur d'une vacuole, alors que *Shigella* lyse la vacuole de phagocytose, se réplique au sein du cytosol cellulaire, et dissémine de cellule à cellule. L'invasion des cellules épithéliales par *Salmonella* ou *Shigella* s'accompagne de remaniements comparables de la surface cellulaire. Au contact de la cellule, ces bactéries induisent la formation d'extensions cellulaires au voisinage du site d'interaction bactérie-cellule. Ces extensions fines, appelées filopodes, s'allongent de plusieurs micromètres en l'espace de quelques minutes, puis se transforment rapidement en feuillets membranaires, qui s'élèvent au-dessus du corps bactérien et fusionnent pour conduire à l'internalisation de la bactérie dans une large vacuole de phagocytose. Ces remaniements de la surface cellulaire sont induits par la capacité qu'ont ces bactéries de réorganiser de manière transitoire le cytosquelette cortical, en contrôlant localement la polymérisation et la dépolymérisation des filaments d'actine, ainsi que leur organisation. Bien que les remaniements de la surface cellulaire induits par *Salmonella* et *Shigella* soient similaires, les mécanismes moléculaires mis en jeu dans la réorganisation du cytosquelette sont différents.

• L'appareil de sécrétion de type III

Pour détourner à leur profit le contrôle du cytosquelette cellulaire, *Salmonella* et *Shigella* utilisent un appareil de sécrétion spécialisé, dit de type III, qui permet l'acheminement de protéines de la bactérie encore extracellulaire vers le cytosol cellulaire [2]. Plusieurs bactéries pathogènes utilisent des appareils de sécrétion de type III, soit pour induire leur internalisation par les cellules épithéliales, soit pour neutraliser l'action des phagocytes profes-

sionnels (*voir plus loin*). Certaines bactéries synthétisent plusieurs appareils de sécrétion de type III assurant différentes fonctions lors de l'infection des cellules. Par exemple, chez *Salmonella*, un deuxième appareil de sécrétion est impliqué dans la réplication intracellulaire au sein de la vacuole [3]. Des homologies dans la séquence primaire et des expériences de trans-complémentation indiquent un niveau de conservation des appareils chez différentes espèces [2]. Les appareils de sécrétion de type III Inv-Spa de *Salmonella* et Mxi-Spa de *Shigella* ont été visualisés par microscopie électronique et leur structure caractérisée [4, 5]. Ils se présentent sous la forme d'un appareil composé de deux paires de plateaux reliés par une région tubulaire vraisemblablement périplasmique, ainsi que d'une aiguille exposée sur la surface de la bactérie, pouvant atteindre plusieurs dizaines de nanomètres de longueur (*figure 1*). Certaines protéines composant les différentes parties de cette structure macromoléculaire ont été identifiées et correspondent à des gènes homologues chez *Shigella* et *Salmonella* (*figure 1*). Le mécanisme contrôlant l'activité de ces appareils de sécrétion est mal compris. Ils doivent être dotés de « senseurs » leur permettant de reconnaître des composés à la surface de la cellule, responsables du déclenchement de la sécrétion. L'acheminement de protéines bactériennes vers le cytosol cellulaire pourrait se faire par l'intermédiaire d'un pore membranaire, constitué vraisemblablement des premières protéines bactériennes exportées et assemblées dans la membrane de la cellule hôte. Dans le cas de *Shigella*, ce pore a une taille estimée à environ 3 nm de diamètre et contient notamment les protéines IpaB et IpaC [6]. Les protéines qui pourraient jouer un rôle homologue chez *Salmonella*, chez les EPEC et chez *Yersinia* sont représentées dans la *figure 1*.

• Les protéines effectrices de l'invasion de *Salmonella*

Dans le cas de *Salmonella*, la majorité des effets sur le cytosquelette sont déterminés par des protéines acheminées dans le cytosol cellulaire par l'appareil Inv/Spa : les protéines homologues SopE1 et SopE2 accom-

plissent ce rôle en agissant comme facteur d'échange (GEF) pour les GTPases Cdc42 et Rac [7]. En effet, à l'instar des GEF cellulaires de la famille des protéines Dbl, les protéines SopE catalysent l'échange de GDP pour le GTP sur ces GTPases, ce qui conduit à une cascade d'activations aboutissant à la polymérisation de l'actine : les GTPases activées interagissent avec des protéines de la famille WASp, qui sont à leur tour activées et stimulent l'activité du complexe Arp2/3, nucléateur de l'actine [8]. En combinaison avec les protéines SopE, la protéine SipC, qui est insérée dans la membrane de la cellule, permettrait directement la nucléation des filaments d'actine [9]. Parallèlement à la polymérisation de l'actine induite par les protéines SopE et SipC, une autre protéine sécrétée, la protéine SipA, interagit directement avec l'actine filamentueuse et la stabilise [7]. Une quatrième protéine sécrétée, la protéine SopB, présente une activité de phosphatase sur les inositol polyphosphates [10], bien que son mode d'action précis dans la formation des feuillets membranaires soit mal compris. La modulation négative de la polymérisation d'actine, nécessaire à l'inactivation du système durant l'internalisation de *Salmonella*, est déterminée par une cinquième protéine sécrétée, la protéine SptP [11]. Cette protéine porte une double activité de tyrosine phosphatase dont le rôle est mal défini, et de facteur GAP (*GTPase activating protein*), qui règle négativement Cdc42 et Rac en stimulant leur activité GTPase intrinsèque et en favorisant le retour de la petite protéine G vers la forme inactive liant le GDP.

• Les protéines effectrices de l'invasion de *Shigella*

Le mécanisme d'invasion de *Shigella* est différent de celui de *Salmonella*, puisque si les protéines IpaA-D de *Shigella* présentent un certain degré d'homologie avec les protéines SipA-D de *Salmonella*, le séquençage du plasmide qui porte les gènes de virulence de *Shigella* révèle l'absence d'homologues aux gènes *sopE* ou *sptP*. Pour l'instant, seulement trois protéines sécrétées de *Shigella* ont été impliquées dans l'invasion des cellules. La protéine IpaC, qui participe

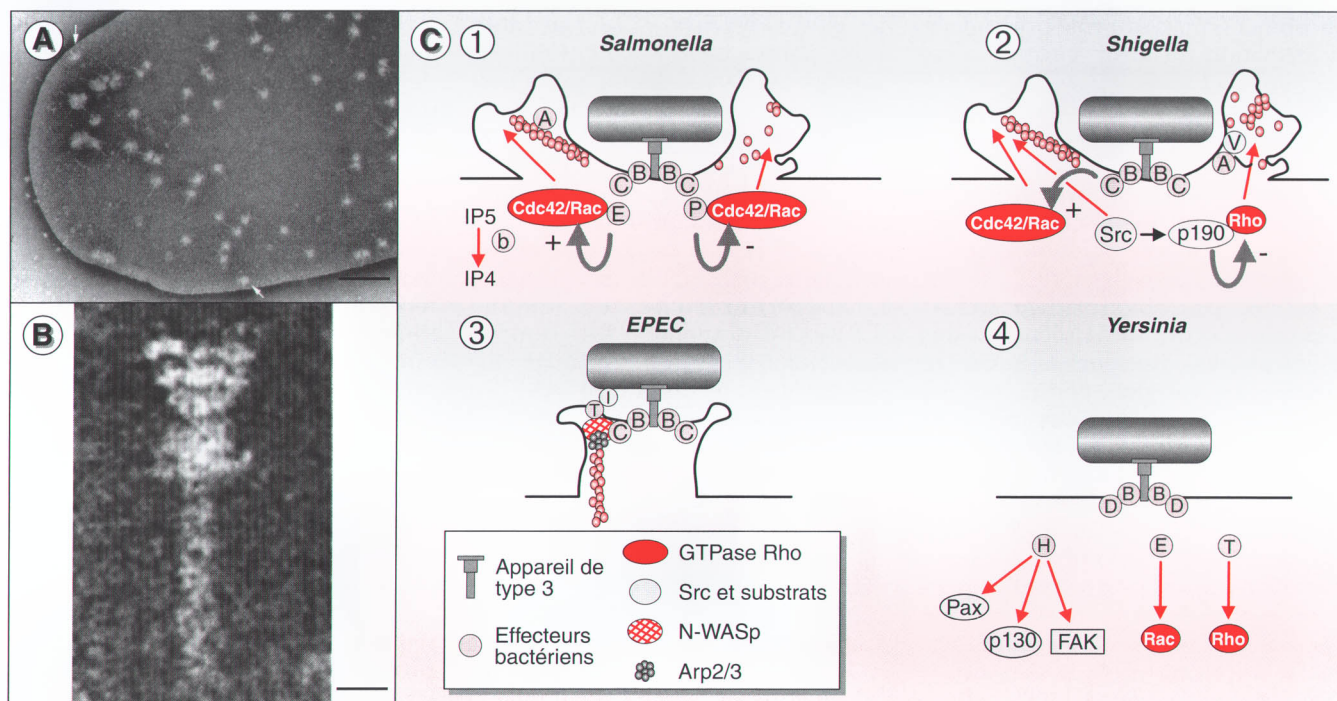


Figure 1. **Appareils de sécrétion de type III : structure, effecteurs et cibles.** **A.** Appareils de sécrétion de type III visualisés par coloration négative en microscopie électronique à transmission, à la surface de *Shigella*. **B.** Cliché de microscopie électronique correspondant à un appareil de sécrétion de type III purifié, et coloré négativement. **C.** Action des effecteurs bactériens transloqués par l'appareil de sécrétion de type III induisant : (1) l'invasion de *Salmonella*. SipB (B) et SipC (C) s'associent et participent à la translocation d'autres protéines effectrices. SipC nucléée directement la polymérisation de l'actine. SopE (E) agit comme facteur d'échange (GEF) sur les GTPases Cdc42 et Rac, ce qui induit la polymérisation de l'actine. SopB (b) est une inositol-polyphosphatase, qui hydrolyse l'inositol(1, 3, 4, 5, 6) phosphate (IP5) en inositol(1, 4, 5, 6) phosphate (IP4), et agit avec SopE pour induire la polymérisation de l'actine. SipA (A) se fixe sur l'actine filamenteuse et la stabilise. SptP (P) agit comme facteur GAP sur Cdc42 et Rac et favorise le retour de la GTPase vers la forme inactive liant le GDP; (2) l'invasion de *Shigella*. IpaB (B) et IpaC (C) s'associent et participent à la formation d'un pore impliqué dans la translocation d'autres protéines effectrices. IpaC induit la polymérisation de l'actine en activant Cdc42 et Rac. IpaA (A) se fixe à la vinculine (V) et dépolymérise les filaments d'actine. La tyrosine kinase Src est activée, d'une part, et agit en combinaison avec Cdc42 et Rac pour polymériser l'actine, et d'autre part, règle négativement Rho; (3) la formation du piédestal des EPEC. EspB et EspD participent à la formation du pore. La protéine Tir (T) est insérée dans la membrane de la cellule hôte et se lie à la protéine de surface bactérienne, intimine (I). L'interaction entre l'intimine et Tir, et éventuellement d'autres récepteurs cellulaires, tels que les intégrines $\beta 1$, est requise pour la polymérisation de l'actine dépendante de la GTPase CHIP et du complexe N-WASp-Arp2/3, qui conduit à la formation du piédestal; (4) l'antiphagocytose chez *Yersinia* : YopB (B) et YopD (D) participeraient à la formation du pore. YopH est une tyrosine phosphatase qui déphosphoryle p130^{CAS}, p125^{FAK} (FAK), et la paxilline (Pax). YopE est un facteur GAP qui inhibe Rac. YopT modifie et inhibe Rho. Barres : (A) 200 nm ; (B) 10 nm.

à la formation du pore inséré au contact de la cellule par l'appareil de sécrétion Mxi-Spa, induit la polymérisation de l'actine [12]. Le mécanisme par lequel cette protéine agit implique l'activation des GTPases Cdc42 et Rac, sans qu'une activité GEF liée à IpaC ait pu être mise en évidence. Par ailleurs, la protéine IpaA permet l'organisation des filaments d'actine polymérisée en structure propice à l'internalisation de *Shigella*, en agissant à différents niveaux. Il a été montré qu'IpaA se lie directement à la vinculine, une

protéine des plaques focales d'adhérence qui permet l'ancrage du cytosquelette d'actine à la membrane plasmique. La liaison d'IpaA a été localisée sur le domaine amino-terminal de la vinculine, au niveau de la région impliquée dans une interaction intramoléculaire qui maintient cette dernière molécule dans une configuration repliée ou inactive [13]. La liaison d'IpaA conduit au dépliement de la vinculine, et active l'association du complexe IpaA-vinculine aux filaments d'actine. L'activation de la vinculine par IpaA inter-

viendrait dans la formation d'une structure d'adhérence transitoire de la bactérie à la membrane de la cellule. De manière surprenante, le complexe IpaA-vinculine présente également une activité de dépolymérisation des filaments d'actine [13]. Cette activité dépolymérisante interviendrait dans la transition rapide des filopodes en feuillet membranaire, ainsi que dans la résorption des foyers d'actine polymérisée. IpgD, une troisième protéine transloquée, présenterait une activité de phosphatase sur les phospho-inositols

phosphates, mais son rôle précis dans la formation du foyer d'entrée n'est pas connu [14].

• *La coordination des événements conduisant à l'internalisation*

La modulation de l'activité des différents effecteurs, nécessaire à la coordination des réponses conduisant à la phagocytose de la bactérie, est mal comprise. La bactérie pourrait contrôler l'ordre de la sécrétion des effecteurs, les effecteurs induisant la polymérisation de l'actine devant être transloqués avant ceux induisant la dépolymérisation. Le fait qu'IpaC fasse partie intégrante du pore et permette la translocation des autres effecteurs de *Shigella*, dont IpaA, appuierait cette hypothèse. La coordination des réponses cellulaires peut également être le résultat de l'activation simultanée de différentes voies de signalisation. En effet, l'entrée de *Shigella* dans la cellule requiert les GTPases Cdc42, Rac et Rho, alors que Rho ne semble pas intervenir durant l'entrée de *Salmonella* [7]. Dans le cas de *Shigella*, Cdc42 et Rac sont impliqués dans la polymérisation de l'actine au site d'entrée, alors que Rho intervient plus spécifiquement dans le recrutement de composés nécessaires à la transformation des extensions filopodiales en structure permettant l'internalisation de la bactérie [12]. La tyrosine kinase Src, qui est activée durant l'entrée de *Shigella*, pourrait jouer le rôle de coordinateur de l'activité de ces différentes GTPases. En effet, l'activité kinase de Src, combinée à l'action de Cdc42 et Rac, est requise pour le développement des foyers de polymérisation d'actine au site d'entrée de *Shigella*. Par ailleurs, l'activité kinase de Src règle négativement Rho en modulant son interaction avec le facteur GAP p190Rho-GAP et participe à la résorption des foyers d'entrée de *Shigella* [12].

Listeria et Yersinia : le modèle de la « fermeture éclair »

• *Listeria monocytogenes*
L. monocytogenes, bactérie à Gram positif, est l'agent de la listériose, maladie infectieuse dont les principales manifestations cliniques sont des méningites, des méningo-encéphalites, ainsi que des avortements et

des gastro-entérites. *Listeria* se caractérise par sa capacité d'envahir de nombreux tissus. Deux protéines majeures d'invasion ont été identifiées, l'internaline (ou InlA) et InlB. InlA permet l'entrée dans certaines cellules épithéliales, alors que InlB permet l'entrée dans différents types cellulaires [15]. Ces deux protéines font partie de la famille des protéines à répétitions riches en leucine (LRR). Le domaine LRR, dont la structure tridimensionnelle est connue dans le cas d'InlB [15], est critique pour l'interaction avec les cellules. Il est possible de recouvrir des billes de latex avec InlA ou InlB purifiées et d'observer une entrée des billes par un phénomène similaire à l'entrée des bactéries, démontrant que ces protéines suffisent pour l'internalisation.

A la surface des cellules, InlA se lie à la E-cadhérine (figure 2), une molécule d'adhérence transmembranaire normalement impliquée dans des

interactions homophiliques et permettant l'adhérence des cellules épithéliales entre elles [16]. Le domaine intracytoplasmique de la E-cadhérine recrute des molécules appelées caténines qui interagissent avec le cytosquelette. Des résultats récents indiquent que ces molécules sont indispensables à l'internalisation, mais les mécanismes permettant la réorganisation du cytosquelette et l'internalisation par une molécule normalement impliquée dans l'adhérence sont encore inconnus [16]. Il s'agit du seul exemple identifié d'utilisation de la E-cadhérine comme récepteur pour un pathogène.

La protéine InlB, contrairement à InlA, n'est pas attachée de façon covalente au peptidoglycane. Elle est fixée de manière relativement labile aux acides lipotéchoïques et peut donc diffuser dans le milieu extérieur, une propriété qui pourrait être importante pour sa fonction. Deux ligands cellulaires pour InlB ont été identi-

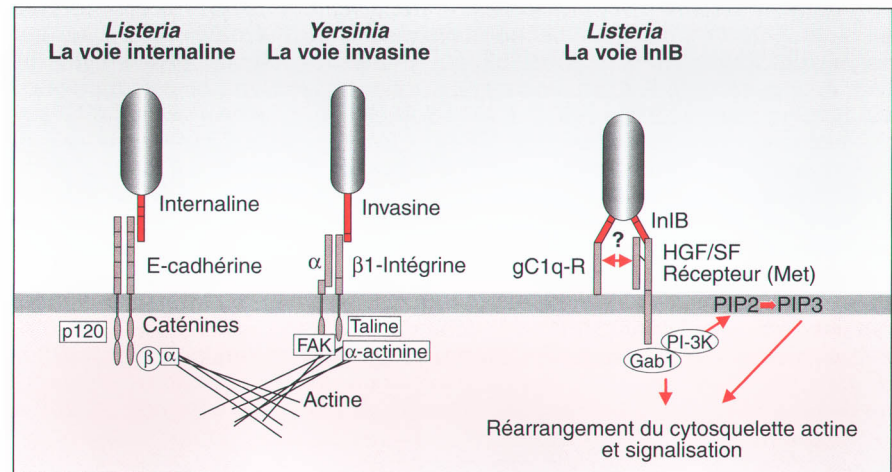


Figure 2. *L'entrée de Listeria et de Yersinia : le mécanisme de fermeture Éclair*. Représentation schématique des facteurs bactériens et cellulaires impliqués dans les premières étapes de l'entrée de *Listeria*, une bactérie à Gram positif, et de *Yersinia*, une bactérie à Gram négatif, dans les cellules de mammifères. À gauche est représentée l'interaction entre l'internaline et son récepteur la E-cadhérine. L'entrée nécessite le domaine intracytoplasmique de la E-cadhérine qui s'associe indirectement à l'actine par l'intermédiaire de la β -caténine et de l' α -caténine. Dans le cas de *Yersinia*, l'invasine interagit avec la chaîne $\beta 1$ des intégrines. Cette interaction stimule la formation d'un complexe similaire aux plaques d'adhérence. À droite, est représentée l'interaction entre InlB et ses deux ligands le gC1qR et Met, qui pourraient agir de manière coopérative pour induire l'internalisation de *Listeria*, sans que cela ait été démontré. L'interaction d'InlB avec la cellule stimule la phosphorylation de Met, le recrutement et la phosphorylation de Gab1 et l'activation de la PI-3 kinase (PI-3 k). Les signaux qui permettent les réarrangements du cytosquelette en aval du PIP3 ne sont pas connus.

fiés : le premier, de poids moléculaire 33 kDa, appelé p32/gC1qR dont la fonction et la localisation cellulaire restent controversées [17]. En effet, P32/gC1qR n'est pas retrouvé de manière majoritaire à la surface de la cellule, et ne possède ni domaine transmembranaire, ni domaine cytoplasmique. P32/gC1qR pourrait agir en synergie avec l'autre ligand d'InlB récemment identifié comme le récepteur de l'HGF/SF (*hepatocyte growth factor/scatter factor*), encore appelé Met [18], un récepteur de type tyrosine kinase. Lors de son activation par le facteur de croissance, une cascade de phosphorylation se met en place, conduisant notamment à l'activation de la PI-3 kinase et à des réarrangements du cytosquelette. Il avait été précédemment établi que l'activation de la PI-3 kinase lors de l'entrée dépendante d'InlB est requise pour l'internalisation des bactéries [19]. La bactérie, en utilisant l'interaction InlB/c-met, dérive donc à son profit une molécule capable de stimuler l'activation de la PI-3K et des réarrangements du cytosquelette (*figure 2*). En accord avec les propriétés des différents partenaires cités, la protéine InlB purifiée induit des replis membranaires similaires aux facteurs de croissance, alors que la bactérie en est incapable. Ces observations paradoxales restent encore inexplicables.

• *Yersinia pseudotuberculosis*

Y. pseudotuberculosis est une bactérie à Gram négatif enteropathogène dont le pouvoir invasif lui permet le franchissement de la barrière épithéliale de l'intestin et l'accès aux ganglions lymphatiques. En effet, la maladie est déclenchée par la translocation des bactéries de la lumière intestinale au travers des cellules M dans les plaques de Peyer de l'intestin grêle. Chez l'homme, l'infection se transforme en adénite mésentérique localisée dans les ganglions. Une fois l'épithélium intestinal franchi, *Yersinia* se multiplie essentiellement de manière extracellulaire, et exprime des protéines Yop qui inhibent sa phagocytose par le macrophage (*voir plus loin*). Les bactéries se maintiennent adhérentes, vraisemblablement grâce à la protéine YadA, qui se fixe au collagène, et à l'antigène pH6 qui se fixe aux sphingolipides [20]. La protéine majeure de *Yersinia* qui

permet l'entrée dans les cellules est l'invasine, une protéine de membrane externe de 986 acides aminés [20]. L'invasine interagit avec des récepteurs intégrines $\beta 1$ ($\alpha 3\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$, $\alpha V\beta 1$) impliqués dans l'adhérence des cellules à la matrice extracellulaire [20] (*figure 2*). Ces récepteurs sont présents de manière ubiquitaire sur différents types cellulaires et, pour certains, à la face apicale des cellules M. Des études structurales ont révélé que l'invasine possède des domaines de type immunoglobuline : son domaine carboxy-terminal s'associe avec le domaine qui le précède pour former un module d'adhérence, ou « super domaine », peu flexible qui interagit avec l'intégrine. Bien que ne possédant pas de motif RGD, retrouvé dans de nombreuses protéines de la matrice extracellulaire qui se lient aux intégrines, l'invasine est un inhibiteur compétitif de la fibronectine. Dans les deux cas, un résidu aspartate est critique pour l'interaction avec les intégrines et, bien que les structures primaires de la fibronectine et de l'invasine soient différentes, la présentation des résidus importants pour l'interaction est similaire pour les deux protéines. La différence la plus importante entre l'invasine et la fibronectine est l'affinité beaucoup plus grande de l'invasine pour les intégrines ; cette différence d'affinité serait le facteur déterminant entre adhérence et internalisation, et expliquerait pourquoi certaines bactéries, qui s'associent à la fibronectine, telle que *S. aureus*, restent essentiellement extracellulaires, alors que *Yersinia* induit sa phagocytose grâce à l'invasine. Un autre facteur important est la capacité de l'invasine à s'oligomériser, ce qui lui permet de provoquer le regroupement des intégrines nécessaire à l'induction des signaux conduisant à l'internalisation. L'internalisation dépendante de l'invasine peut se dérouler en l'absence du domaine cytoplasmique de la chaîne α [20]. C'est le domaine intracytoplasmique de la chaîne $\beta 1$ qui transmet les signaux nécessaires à l'internalisation, ce même domaine étant par ailleurs responsable de l'association des intégrines $\beta 1$ au cytosquelette au niveau des complexes focaux ou de plaques d'adhé-

rence. Certains résidus de la chaîne β sont critiques pour l'internalisation. De façon surprenante, certaines altérations du domaine cytoplasmique qui diminuent l'association des intégrines au cytosquelette, augmentent l'internalisation. L'interprétation de ce phénomène est qu'une affinité moins forte pour le cytosquelette pourrait permettre une mobilité plus élevée des récepteurs dans la membrane et, de cette façon, les interactions nécessaires pour l'internalisation. Enfin, l'activation des intégrines par l'invasine aboutit à des phosphorylations sur tyrosine, indispensables à l'internalisation, comme le montrent l'action d'inhibiteurs de phosphorylation et l'implication de p125FAK, la tyrosine kinase des plaques focales d'adhérence [21] (*figure 2*).

Mécanismes d'antiphagocytose

Y. pseudotuberculosis, bien que capable d'entrer dans les cellules, est une bactérie essentiellement extracellulaire qui maintient cette localisation durant l'infection des ganglions mésentériques et échappe à la bactéricidie grâce à un mécanisme d'antiphagocytose impliquant trois protéines sécrétées par un système de type III, YopH, YopT et YopE [22] (*figure 1*). Ces trois protéines sont codées par le plasmide de virulence et leur expression, ainsi que leur sécrétion, sont induites lors du contact bactérie cellule. YopH, YopT et YopE agissent par des mécanismes différents sur le cytosquelette d'actine. YopT provoque la dépolymérisation des filaments d'actine en induisant une modification et une redistribution cellulaire de la GTPase RhoA, une molécule clé dans la formation de fibres de tension [23]. YopH est une tyrosine phosphatase similaire aux phosphatases eucaryotes. Après son injection dans les cellules, YopH déphosphoryle rapidement les protéines cellulaires p130cas, p125^{FAK} et paxilline [24]. Ces protéines sont normalement impliquées dans le contrôle et l'assemblage des complexes participant à la phagocytose. Enfin, la protéine YopE, qui est la plus puissante cytotoxine de *Yersinia*, a une activité de GAP (*GTPase activating protein*), et

règle négativement les GTPases Rho impliquées dans la phagocytose [25]. D'autres bactéries entéropathogènes sont capables d'inhiber leur phagocytose par le macrophage, mais les mécanismes impliqués sont moins bien caractérisés. C'est le cas d'*Helicobacter pylori* (voir l'article de A. Labigne, p. 712 de ce numéro) [26]. Les *Escherichia coli* entéropathogènes ou EPEC, responsables de diarrhées (voir ci-dessous), sont également capables d'inhiber leur phagocytose par des macrophages *in vitro* [27]. Cette inhibition passe par des événements de déphosphorylation de protéines cellulaires mais aucune phosphatase bactérienne n'a encore pu être impliquée dans le phénomène.

Le piédestal d'adhérence des EPEC aux cellules

Les EPEC colonisent l'intestin, forment de petites colonies et induisent la dégénérescence des microvillosités, un phénomène appelé attachement/effacement. Les bactéries adhèrent fortement à la surface des cellules hôtes et induisent la formation de filaments d'actine sous le site d'adhérence des bactéries. Sous certaines bactéries, le cytosquelette d'actine s'organise pour donner naissance à des piédestals sur lesquels les bactéries reposent et qui peuvent atteindre 10 μ m de hauteur. L'attachement des bactéries à la surface des cellules hôte fait intervenir un mécanisme original, dans le sens où la bactérie synthétise son propre récepteur. En effet, au contact cellulaire la protéine bactérienne Tir est insérée dans la membrane de la cellule eucaryote par un appareil de sécrétion de type III [27] (figure 1). L'interaction entre Tir et l'intimine, une protéine de la surface bactérienne, permet le contact étroit entre la bactérie et la cellule. L'intimine purifiée peut aussi fixer les intégrines β 1, ce qui suggère l'implication de plusieurs voies de signalisation lors de la formation du piédestal. La formation de cette structure fait intervenir une série de molécules du cytosquelette, en particulier le complexe Arp2/3 qui est recruté à la base du piédestal et est sans doute activé par une protéine de la famille WASp. Intervient aussi une petite protéine G, CHIP, insensible aux toxines habi-

tuellement utilisées pour inhiber les GTPases Rho. Le lien entre Tir et le complexe de polymérisation de l'actine n'est pas encore clair, mais pourrait faire intervenir l' α -actinine, une protéine pontant les filaments d'actine [27].

Le comportement des EPEC ainsi que ceux des *Yersinia* ou d'*Helicobacter* révèlent que les bactéries sont capables de moduler leur interaction avec les composants du cytosquelette dans un but autre que l'internalisation et qu'il en résulte une adhérence bien contrôlée.

Déplacements intra- et inter-cellulaires

Parmi les bactéries capables d'induire leur propre phagocytose dans les cellules épithéliales, certaines s'échappent de la vacuole de phagocytose, et sont capables de se répliquer et de se déplacer dans le cytosol en recrutant et en polymérisant l'actine de manière spectaculaire (figure 3). Il s'agit de *L. monocytogenes* et d'une bactérie apparentée *L. ivanovii*, de *S. flexneri* et de *Rickettsia conorii*, une bactérie responsable de fièvres boutonneuses [8].

Cette polymérisation de l'actine a lieu à un pôle de la bactérie et lui fournit l'énergie nécessaire au mouvement, pouvant atteindre des vitesses de 10 μ m par minute. Cette motilité intracellulaire permet à la bactérie d'atteindre la membrane plasmique, où elle induit la formation de protrusions qui peuvent s'invaginer dans des cellules adjacentes. Ces protrusions engendrent des vacuoles à deux membranes qui sont ensuite lysées, permettant l'accès de la bactérie au cytosol de la deuxième cellule infectée et donc le passage de cellule à cellule. Ce passage de cellule à cellule est critique lors de l'infection, car des mutants incapables de passer de cellule en cellule ont une virulence très atténuée. Le phénomène de motilité dépendante de l'actine des bactéries s'est révélé un outil de choix pour comprendre les mécanismes qui régissent la polymérisation de l'actine et la motilité dépendante de l'actine [28]. Une avancée particulièrement importante a été la découverte du rôle clé du complexe protéique Arp2/3 dans la motilité de

Listeria [8]. Ce complexe de sept protéines semble impliqué dans toutes les formes de motilité dépendante de l'actine décrites à ce jour. Il est à noter que la motilité bactérienne dépendante de l'actine peut être analysée dans la plupart des cas dans des systèmes acellulaires, ce qui a beaucoup simplifié les études biochimiques.

Les bactéries pour lesquelles ce phénomène a été le plus étudié sont *L. monocytogenes* et *S. flexneri*. Dans les deux cas, la protéine bactérienne nécessaire et suffisante au phénomène a été identifiée. Il s'agit de la protéine IcsA/VirG dans le cas de *Shigella*. IcsA est une protéine de membrane externe de 1102 acides aminés. La caractéristique majeure de cette protéine est la présence de répétitions riches en glycine dans la première partie de la protéine. Cette protéine est distribuée de manière polaire à la surface de la bactérie. Lorsqu'on exprime IcsA chez *E. coli* K12, les bactéries forment des comètes similaires à celles de *Shigella* dans des extraits acellulaires. La protéine de *Listeria* impliquée dans la motilité est ActA, une protéine de surface ancrée dans la membrane par une région hydrophobe. Cette protéine de 610 acides aminés se caractérise par la présence d'une région centrale constituée de répétitions riches en résidus proline. Comme IcsA, ActA est distribuée de façon polaire à la surface de la bactérie. Lorsqu'on exprime ActA dans la bactérie non pathogène *Listeria innocua*, les bactéries sont capables de se déplacer dans des extraits.

Des travaux récents ont démontré qu'ActA et IcsA agissent de façon différente mais que le mécanisme général est similaire. En effet, la protéine IcsA recrute une protéine cellulaire N-WASp, qui a la capacité de recruter le complexe Arp2/3 (figure 3). Ce complexe devient alors actif, c'est-à-dire qu'il est capable de catalyser l'étape limitante de nucléation dans le phénomène de polymérisation de l'actine [29]. La protéine ActA mimerait l'action de la protéine N-WASp en recrutant directement le complexe Arp2/3 par son domaine amino-terminal (figure 3). Les analogies entre le mode d'action d'ActA et les protéines de la famille de WASp se retrouvent au

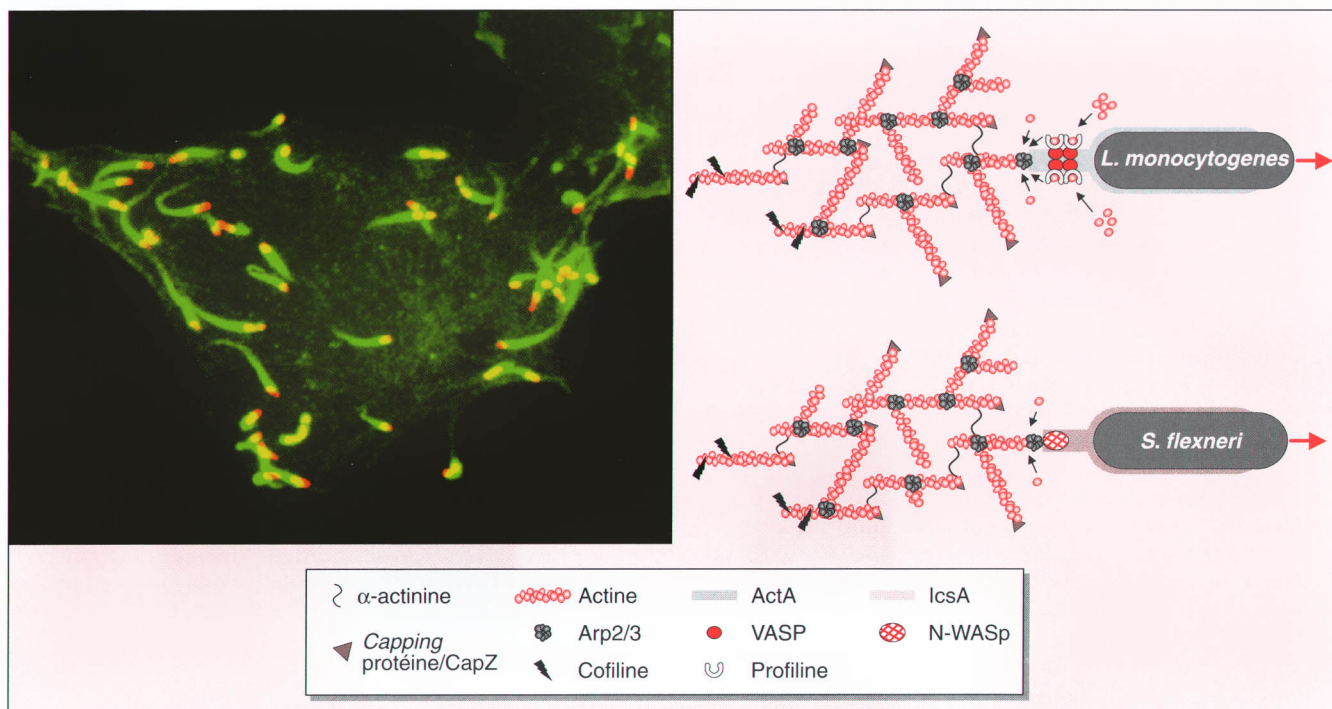


Figure 3. La motilité dépendante de l'actine de *Listeria* et *Shigella*. À gauche, une cellule épithéliale infectée par *Listeria* cinq heures avant la fixation et le marquage. Les bactéries sont marquées à l'aide d'anticorps anti-*Listeria* (en rouge). Les comètes d'actine polymérisée sont visualisées par la FITC phalloïdine (en vert). À droite, une représentation schématisée des comètes d'actine de *Listeria* et de *Shigella* avec les différents partenaires impliqués. On notera que, pour *Listeria*, la protéine bactérienne ActA recrute d'une part, dans sa partie centrale, VASP dont le rôle dans le processus n'est pas encore très clair et surtout, par sa partie amino-terminale, le complexe Arp2/3 qui stimule la nucléation, la polymérisation, et le branchement des filaments d'actine. En ce qui concerne *Shigella*, la protéine bactérienne IcsA/VirG recrute la protéine N-WASP qui active le complexe Arp2/3.

niveau de la séquence primaire de ces molécules et des analyses génétiques ont montré que ces régions sont essentielles au phénomène. Une des propriétés importantes du complexe Arp2/3 sous sa forme activée, est qu'il permet non seulement la mise en route de la polymérisation de l'actine, mais encore le branchement de filaments d'actine. L'observation des comètes d'actine de *Shigella* et de *Listeria* met bien en évidence un réseau de filaments branchés [30]. D'autres facteurs interviennent aussi dans la dynamique du phénomène et, parmi ceux-ci, la protéine cofiline, qui dépolymérise l'actine, et la capping protein, qui coiffe les extrémités des filaments d'actine [28]. Enfin, certains facteurs accélèrent la motilité intracellulaire de *Listeria*: il s'agit de la profiline, qui favorise l'ajout de monomères d'actine au niveau des extrémités barbées des filaments; de

l' α -actinine, qui pontre les filaments; et de VASP, présente dans les régions impliquées dans les réarrangements du cytosquelette, comme le front des cellules en mouvement, ou la zone des plaques d'adhérence. VASP se fixe sur la région des répétitions riches en proline. Le rôle de cette protéine pourrait être de recruter la profiline, qui elle-même recrute l'actine monomérique. VASP pourrait aussi jouer un rôle dans l'attachement des filaments néoformés à la bactérie [8].

En ce qui concerne *R. conorii*, le gène impliqué dans le phénomène n'a pas encore été identifié. Une observation importante concernant la motilité de *R. conorii* est la structure des filaments d'actine dans la comète [30]. En effet, ceux-ci sont longs et non branchés, suggérant que les rickettsies utilisent un mécanisme de polymérisation différent de ceux utilisés par *Listeria* et *Shigella*.

Détournement de la voie endocytaire et survie dans les macrophages

Certaines bactéries invasives, telles *Mycobacterium*, *Chlamydia*, *Salmonella* et *Legionella* se répliquent au sein de vacuoles à l'intérieur de phagocytes professionnels [31, 32]. Les moyens mis en œuvre pour élaborer les niches intracellulaires, que représentent les vacuoles de réplication, illustrent la diversité des processus développés par ces bactéries pour contrôler le trafic membranaire. Les phagocytes professionnels présentent un double défi pour le germe pathogène, qui doit pouvoir survivre, d'une part, à la réponse oxydative liée à la phagocytose et, d'autre part, à la dégradation au niveau des lysosomes, vers lesquels évoluent classiquement les vacuoles contenant des particules étrangères ingérées par la cellule (figure 4).

En ce qui concerne la réponse oxydative, certaines bactéries telles que *Salmonella* ou *Mycobacterium* expriment des enzymes homologues aux protéines NRAMP (*natural resistance-associated macrophage protein*) du macrophage, qui pourraient leur conférer une certaine résistance aux radicaux superoxydes [33]. Le mode de phagocytose pourrait également être un facteur important pour la survie de la bactérie. En effet, certaines bactéries sont beaucoup moins viables lorsque l'on force leur phagocytose par le récepteur Fc en les recouvrant d'immunoglobulines [31].

La caractérisation des phagosomes bactériens, fondée sur des analyses de marqueurs spécifiques de compartiments endocytaires, montre que les bactéries à parasitisme intracellulaire établissent des compartiments spécifiques pour éviter la dégradation lysosomiale. Par exemple, *Mycobacterium tuberculosis*, l'agent responsable de la tuberculose, se réplique dans un phagosome situé dans une étape précoce de la voie endocyttaire, dans une vacuole comparable à un compartiment de recyclage (figure 4). Cette bactérie est capable d'empêcher la maturation de ce compartiment en retenant de manière active la protéine cellulaire TACO au niveau du phagosome [34]. Les déterminants de *M. tuberculosis* responsables du détournement de la voie endocyttaire ne sont pas connus. En revanche, les bactéries *Chlamydia pneumoniae*, responsable de maladies respiratoires, ou *C. trachomatis*, responsable du trachome et de maladies sexuellement transmises, se multiplient dans des inclusions ne contenant aucun marqueur connu de la voie endocyttaire. Les inclusions de *Chlamydia* sont riches en sphingomyéline qui proviendrait de la voie d'exocytose à partir de l'appareil de Golgi [35]. Les effecteurs bactériens intervenant dans la formation et le maintien de ces inclusions ne sont pas connus, mais un certain nombre de protéines bactériennes, appelées protéines Inc, sont associées à la membrane de l'inclusion [36]. Un appareil de sécrétion de type III pourrait intervenir dans la formation de projections bactériennes, détectables en microscopie électronique et transperçant la membrane de l'inclusion [36].

Pour *Mycobacterium*, comme pour *Chlamydia*, les difficultés de manipulation génétique constituent un obstacle important pour l'identification des déterminants impliqués dans la survie intracellulaire.

Le phagosome de *Salmonella*: un compartiment acide différent du lysosome

Le phagosome de *Salmonella* représente un compartiment atypique de la voie endocyttaire. En effet, le compartiment dans lequel *Salmonella* se réplique diffère des lysosomes terminaux, puisque certains marqueurs lysosomiaux, tels que Lamp, sont présents au niveau du phagosome de *Salmonella*, alors que d'autres, tels que la cathepsine D, sont absents [37]. Par ailleurs, le récepteur du mannose-6P,

classiquement localisé au niveau de compartiments en amont des lysosomes dans la voie endocyttaire, semble absent du phagosome de *Salmonella* [37]. Les mécanismes utilisés par *Salmonella* pour établir et maintenir le phagosome dans lequel elle se réplique sont mal définis. D'après certaines études, les phagosomes de *Salmonella* montrent un recrutement accru de Rab5, potentiellement déterminé par la protéine SopE qui, en favorisant la fusion des endosomes précoces par la voie dépendante de NSF, retarderait la maturation vers un compartiment lysosomial [38] (figure 4). Par ailleurs, Rab7, présent au niveau de vésicules juxtaposant le phagosome de *Salmonella*, contrôlerait le recrutement de composés lysosomiaux sans interaction directe avec les lysosomes, mais par le biais d'une

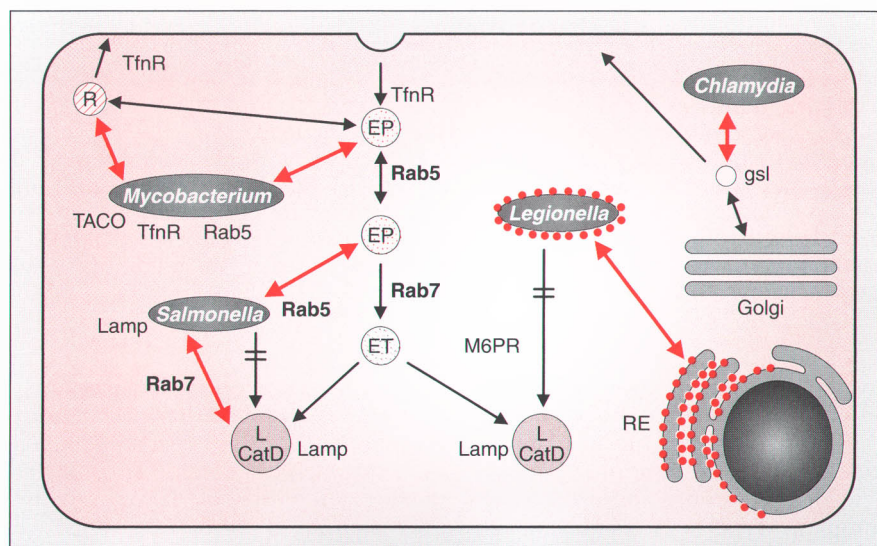


Figure 4. **Échanges entre phagosomes bactériens et compartiments de la voie endocyttaire ou exocyttaire.** La voie endocyttaire et les compartiments caractérisés par des marqueurs spécifiques sont représentés. EP: endosome précoce; R: compartiment de recyclage; ET: endosome tardif; L: lysosome; RE: réticulum endoplasmique; TfnR: récepteur de la transferrine; M6PR: récepteur du mannose-6-phosphate; Lamp: glycoprotéines de membrane 1 et 2 associées au lysosome; CatD: cathepsine D. Les flèches fines à une ou deux têtes représentent des événements de fusion entre compartiments de la voie endocyttaire. Les flèches grasses à deux têtes indiquent des échanges entre le phagosome bactérien et un compartiment de la voie endocyttaire ou exocyttaire. Les corps élémentaires de *Chlamydia* sont contenus à l'intérieur d'inclusions, qui ne présentent pas de marqueurs connus de la voie endocyttaire, mais qui incorporent des glycosphingolipides (gsl) en provenance du Golgi. Le phagosome de *Mycobacterium* présente les caractéristiques d'un compartiment de recyclage. *Salmonella* inhibe la fusion avec le lysosome, mais acquiert néanmoins certains marqueurs lysosomiaux, tels que Lamp, d'une manière dépendante de la GTPase Rab7. *Legionella* inhibe la fusion phagolysosomiale, et s'entoure de membranes provenant du réticulum endoplasmique rugueux.

fusion avec des vésicules riches en Lamp et pauvres en cathepsine D [37]. Ces résultats suggèrent que *Salmonella* pourrait inhiber une étape de fusion tardive de la voie endocytaire, bien que le pH de sa vacuole soit relativement acide. Une protéine de *Salmonella*, SpiC – requise pour la survie intracellulaire – est acheminée dans le cytosol cellulaire par un deuxième appareil de sécrétion de type III, Spi/Ssa, et pourrait être directement engagée dans un tel processus d'inhibition de fusion entre endosomes tardifs, ou entre endosome tardif et lysosome [3].

Un certain nombre de gènes impliqués dans la survie intracellulaire sont réglés par les systèmes à deux composants OmpR/EnvZ et PhoP/PhoQ. En aval de ces systèmes, SsrAB, un troisième système à deux composants, réglerait l'expression de l'appareil Spi-2, ainsi que d'une dizaine de gènes situés ailleurs sur le chromosome de *Salmonella* et dont la fonction est inconnue [39]. Parmi ces gènes, *SifA* serait impliqué dans le recrutement de membranes riches en ATPase vacuolaire et en Lgp au niveau du phagosome, dans la mesure où un mutant *sifA* de *Salmonella* lyse la membrane de la vacuole et se retrouve libre dans le cytosol cellulaire [40].

Le phagosome réplicatif de *Legionella pneumophila*, un compartiment neutre

Legionella pneumophila, l'agent causal de la maladie du légionnaire, est responsable de pneumopathies sévères après inhalation d'aérosols contaminés. Le pouvoir pathogène de cette bactérie est lié à sa capacité de se multiplier au sein de macrophages alvéolaires bronchiques. *Legionella* est internalisée par le macrophage au cours d'un processus particulier, appelé phagocytose en « enroulade » (*coiling phagocytose*), durant laquelle la bactérie s'entoure de plusieurs feuillettes membranaires [41]. Le mécanisme impliqué dans ce type de phagocytose est mal compris. Cette bactérie se réplique à l'intérieur d'une vacuole, appelée « phagosome réplicatif », entourée de membranes riches en ribosomes dérivant du réticulum endoplasmique rugueux. La présence de ces membranes suggère

un mécanisme d'autophagie induite par *Legionella*, correspondant à la phagocytose de compartiments et de composés cytosoliques par le réticulum endoplasmique [42]. *Legionella*, au même titre que d'autres bactéries se répliquant à l'intérieur de vacuoles non fusiogènes, pourraient recruter les organites nécessaires aux besoins énergétiques et protéiques pour leur croissance.

Le phagosome réplicatif de *Legionella* est caractérisé par un pH neutre et une absence des marquages lysosomiaux des protéines Lamp-1, Lamp-2 et de la cathepsine D, indiquant une absence de fusion avec les lysosomes [42]. De manière intéressante, Rab5, impliquée dans les fusions entre endosomes précoces, n'est pas recrutée au niveau du phagosome bactérien, alors que Rab7, impliquée dans la fusion entre endosomes précoces et tardifs en aval de Rab5, est recrutée de manière transitoire (figure 4). Contrairement à ce qui est observé pour les phagosomes contenant des particules inertes, le recrutement de Rab7 ne permet pas la maturation du phagosome de *Legionella* [43]. Ces résultats indiquent que *Legionella* inhiberait des événements spécifiques de fusion vésiculaire dans la voie endocytaire.

De nombreux gènes bactériens, définissant au moins 15 loci différents, ont été impliqués dans la multiplication intracellulaire de *Legionella*, mais il existe peu de données sur leur fonction [41]. Lors du contact cellulaire, la bactérie forme un pore dans la membrane du macrophage par l'intermédiaire d'un appareil de sécrétion, dit de type IV, dont une fonction décrite est de transférer de l'ADN bactérien lors d'une conjugaison horizontale. Les gènes *dotA* et *icm*, et notamment le gène *dotA*, sont impliqués dans la mise en place de cet appareil de sécrétion, et l'inactivation de ces gènes résulte en une incapacité de se répliquer de manière intracellulaire, liée à des défauts précoces d'inhibition de recrutement de marqueurs endocytaires au niveau du phagosome bactérien. Lors de l'infection cellulaire, cet appareil servirait à insérer des protéines dans la membrane du phagosome de réplication, qui interviendrait à différentes étapes du processus de réplication intracellulaire de

Legionella. L'hypothèse d'un contrôle à différents niveaux est sous-tendue par l'isolement de mutants de répllication intracellulaire capables de former des pores par l'intermédiaire de l'appareil Dot/Icm ou présentant des défauts partiels de recrutement de marqueurs endocytaires, mais il n'existe pas de preuve directe de l'existence de tels effecteurs [41].

Une notion qui émerge de l'étude des bactéries à parasitisme intracellulaire, incluant *Legionella*, est que la bactérie règle son métabolisme au cours de la réplication dans le macrophage. Ainsi, dans le cas de *Legionella*, les gènes de virulence sont réprimés lors de la réplication de la bactérie au sein du phagosome réplicatif. L'expression de ces gènes serait induite par la carence en acides aminés se produisant au niveau du phagosome en phase terminale. La conversion bactérie en phase répllicative/bactérie en phase stationnaire virulente correspondrait au signal déclenchant la lyse du macrophage infecté et l'invasion de nouvelles cellules par *Legionella* [44].

Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons essayé d'illustrer différents processus permettant aux bactéries pathogènes de détourner des fonctions clés pour mettre en place et maintenir l'infection. Différents mécanismes permettant aux bactéries pathogènes de réorganiser le cytosquelette de la cellule pour envahir les cellules épithéliales, ou pour se mouvoir de manière intracellulaire ont été présentés. Nous avons également discuté différentes stratégies élaborées par ces pathogènes, qui échappent au pouvoir bactéricide du macrophage en inhibant leur phagocytose, ou en établissant des niches de réplication intracellulaire au sein de ces phagocytes professionnels. Un aspect important de la virulence des germes infectieux, qui n'a pas été développé dans ce chapitre, est leur capacité à contrôler le destin de la cellule infectée et sa communication avec son environnement. Plus qu'un moyen de défense du pathogène contre la cellule phagocytaire, cette propriété permet au pathogène de contrôler indirectement la réponse inflammatoire à l'infection. Ainsi, de nombreux pathogènes ont la propriété d'induire

la mort du macrophage infecté par apoptose [45]. C'est le cas, entre autres, des bactéries *Salmonella* et *Shigella*. Pour ces bactéries, l'apoptose ne correspond pas à une mort « silencieuse » de la cellule, classiquement associée à ce type de processus, et participe à l'induction de la réponse inflammatoire. A l'inverse, d'autres bactéries invasives, telle *Yersinia*, ont développé des systèmes pour limiter la réponse inflammatoire. Une telle propriété pourrait leur permettre de coloniser leurs niches respectives en restant dissimulées de la réponse innée de l'hôte durant les étapes précoces de l'infection ■

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Marc Lecuit pour son aide dans la réalisation des figures ainsi que Philippe Sansonetti pour avoir suggéré et soutenu la rédaction de ce manuscrit.

RÉFÉRENCES

- Finlay BB, Cossart P. Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens. *Science* 1997; 276: 718-25.
- Hueck CJ. Type III secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 1998; 62: 379-433.
- Uchiya K, Barbieri MA, Funato K, Shah AH, Stahl PD, Groisman EA. A *Salmonella* virulence protein that inhibits cellular trafficking. *EMBO J* 1999; 18: 3924-33.
- Kubori T, Matsushima Y, Nakamura D, et al. Supramolecular structure of the *Salmonella typhimurium* type III protein secretion. *Science* 1998; 280: 602-5.
- Tamano K, Aizawa AC, Katayama E, et al. Supramolecular structure of the *Shigella* type III secretion machinery: the needle part is changeable in length and is essential for delivery of effectors. *EMBO J* 2000; 19: 3876-87.
- Blocker A, Gounon P, Cabiaux V, Larquet E, Parsot C, Sansonetti P. The tripartite secretion apparatus of *Shigella flexneri* inserts IpaB and IpaC into host membranes. *J Cell Biol* 1999; 147: 683-93.
- Galan J, Zhou D. Striking a balance: modulation of the actin cytoskeleton by *Salmonella*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8754-61.
- Cossart P. Actin-based motility of pathogens: the Arp2/3 complex is a central player. *Cell Microbiol* 2000; 2: 195-205.
- Hayward R, Koronakis V. Direct nucleation and bundling of actin by the SipC protein of invasive *Salmonella*. *EMBO J* 1999; 18: 4926-34.
- Zhou D, Chen LM, Hernandez L, Shears S, Galan J. A *Salmonella* inositol polyphosphatase acts in conjunction with other bacterial effectors to promote host cell actin cytoskeleton rearrangements and bacterial internalization. *Mol Microbiol* 2001; 39: 248-59.
- Fu Y, Galan J. A *salmonella* protein antagonizes Rac-1 and Cdc42 to mediate host-cell recovery after bacterial invasion. *Nature* 1999; 401: 293-7.
- Tran Van Nhieu G, Bourdet-Sicard R, Duménil G, Blocker A, Sansonetti P. Bacterial signals and cell responses during *Shigella* entry into epithelial cells. *Cell Microbiol* 2000; 2: 187-93.
- Bourdet-Sicard R, Ruediger M, Jockusch B, Gounon P, Sansonetti PJ, Tran Van Nhieu G. Binding of the *Shigella* IpaA protein to vinculin induces actin depolymerization. *EMBO J* 1999; 18: 5853-62.
- Niebuhr K, Jouihri N, Gounon P, Parsot C, Sansonetti PJ. IpgD, a protein secreted by the type III secretion machinery of *Shigella flexneri*, is chaperoned by IpgE and implicated in entry focus formation. *Mol Microbiol* 2000; 38: 8-10.
- Cossart P, Bierne H. The use of host cell machinery in the pathogenesis of *Listeria monocytogenes*. *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 96-103.
- Mengaud J, Ohayon H, Gounon P, Mège RM, Cossart P. E-cadherin is the receptor for internalin, a surface protein required for entry of *Listeria monocytogenes* into epithelial cells. *Cell* 1996; 84: 923-32.
- Braun L, Ghebrehiet B, Cossart P. gC1Q-R/p32, a C1q-binding protein is a receptor for the InlB invasion protein of *Listeria monocytogenes*. *EMBO J* 2000; 19: 1458-66.
- Shen Y, Naujokas M, Park M, Ireton K. InlB-dependent internalization of *Listeria* is mediated by the Met receptor tyrosine kinase. *Cell* 2000; 103: 501-10.
- Ireton K, Payrastra B, Chap H, Ogawa W, Sakae H, Kasuga M, Cossart P. A role for phosphoinositide 3-kinase in bacterial invasion. *Science* 1996; 274: 80-2.
- Isberg R, Barnes P. Subversion of integrins by enteropathogenic *Yersinia*. *J Cell Science* 2001; 114: 21-8.
- Alruz M, Isberg R. Involvement of focal adhesion kinase in Invasin-mediated uptake. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13658-63.
- Cornelis G. The *Yersinia* deadly kiss. *J Bacteriol* 1998; 180: 5495-504.
- Zumbihl R, Aepfelbacher M, Andor A, et al. The cytotoxin YopT of *Yersinia enterocolitica* induces modification and cellular redistribution of the small GTP-binding protein RhoA. *J Biol Chem* 1999; 274: 29289-93.
- Persson C, Carballeira N, Wolf-Watz H, Fällmann. The PTPase YopH inhibits uptake of *Yersinia*, tyrosine phosphorylation of p130^{Cas} and FAK, and the associated accumulation of these proteins in peripheral focal adhesions. *EMBO J* 1997; 16: 2307-18.
- Black D, Bliska J. The RhoGAP activity of the *Yersinia pseudotuberculosis* cytotoxin YopE is required for antiphagocytic function and virulence. *Mol Microbiol* 2000; 37: 515-27.
- Ramarao N, Gray-Owen S, Backert S, Meyer T. *Helicobacter pylori* inhibits phagocytosis by professional phagocytes involving type IV secretion components. *Mol Microbiol* 2000; 37: 1389-404.
- Vallance BA, Finlay BB. Exploitation of host cells by enteropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8799-9806.
- Carlier M, Ressay F, Pantaloni D. Control of actin dynamics in cell motility. *J Biol Chem* 1999; 274: 33827-30.
- Egile C, Loisel T, Laurent V, Li R, Pantaloni D, Sansonetti P, Carlier M. Activation of the Cdc42 effector N-WASP by the *Shigella flexneri* IcsA protein promotes actin nucleation by the Arp2/3 complex and bacterial actin-based motility. *J Cell Biol* 1999; 146: 1319-32.
- Gouin E, Gantelet H, Egile C, et al. A comparative study of the actin-based motilities of the pathogenic bacteria *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* and *Rickettsia conorii*. *J Cell Science* 1999; 112: 1697-708.
- Sinai AP, Joiner KA. Safe Haven: the cell biology of nonfusogenic pathogen vacuoles. *Annu Rev Microbiol* 1997; 51: 415-62.
- Garcia-del Portillo F. Pathogenic interference with host vacuolar trafficking. *Trends Microbiol* 1999; 7: 467-9.
- Shiloh M, Nathan C. Reactive nitrogen intermediates and the pathogenesis of *Salmonella* and mycobacteria. *Curr Opin Microbiol* 2000; 3: 35-42.
- Ferrari G, Langen H, Naito M, Pieters J. A coat protein on phagosomes involved in the intracellular survival of *Mycobacteria*. *Cell* 1999; 97: 435-47.
- Hackstadt T, Rockey D, Heizen R, Scidmore M. *Chlamydia trachomatis* interrupts an exocytic pathway to acquire endogenously synthesized sphingomyelin in transit from the Golgi apparatus to the plasma membrane. *EMBO J* 1996; 15: 964-77.
- Wyrick P. Intracellular survival by *Chlamydia*. *Cell Microbiol* 2000; 2: 275-81.
- Méresse S, Steele-Mortimer O, Finlay BB, Gorvel JP. The rab7 GTPase controls the maturation of *Salmonella typhimurium*-containing vacuoles in HeLa cells. *EMBO J* 1999; 18: 4394-403.
- Mukherjee K, Siddiqi SA, Hashim S, Raje M, Basu SK, Mukhopadhyay A. Live *Salmonella* recruits N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein on phagosomal membrane and promotes fusion with early endosomes. *J Cell Biol* 2000; 148: 741-53.
- Worley M, Ching K, Heffron F. *Salmonella* SsrB activates a global regulon of horizontally acquired genes. *Mol Microbiol* 2000; 36: 749-61.

RÉFÉRENCES

40. Beuzon CR, Méresse S, Unsworth KE, *et al.* *Salmonella* maintains the integrity of its intracellular vacuole through the action of SifA. *EMBO J* 2000; 19: 3235-49.
41. Vogel J, Isberg R. Cell Biology of *Legionella pneumophila*. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2: 30-4.
42. Swanson M, Isberg R. Association of *Legionella pneumophila* with the macrophage endoplasmic reticulum. *Infect Immun* 1995; 63: 3609-20.
43. Clemens D, Lee B, Horwitz M. *Mycobacterium tuberculosis* and *Legionella pneumophila* phagosomes exhibit arrested maturation despite acquisition of Rab7. *Infect Immun* 2000; 68: 5154-66.
44. Hammer BK, Swanson MS. Coordination of *Legionella pneumophila* virulence with entry into stationary phase by ppGpp. *Mol Microbiol* 1999; 33: 721-31.
45. Navarre W, Zychlinsky A. Pathogen-induced apoptosis of macrophages: a common end for different pathogenic strategies. *Cell Microbiol* 2000; 2: 265-73.

Summary

Diversion of key cellular functions by bacterial pathogens

Bacterial pathogens interact with various host cell components to establish and develop an infectious process. Some bacteria are able to invade cells that are normally non-phagocytic, to multiply freely within the cell cytosol, and to disseminate from cell to cell using actin based motility. Other bacterial pathogens multiply extracellularly and are able to prevent their internalization by phagocytic cells. Finally, some bacteria are able to persist and to multiply within intracellular vacuole in the macrophage, by diverting the cell endosomal trafficking. In this review, we will focus on bacterial models that have been particularly studied and that illustrate these various cellular strategies.

TIRÉS À PART

P. Cossart.

m/s n° 6-7, vol. 17, juin-juillet 2001