

Le lipoarabinomannane : structure et fonctions d'un glycolipide impliqué dans la pathogénie tuberculeuse

**Laurent Kremer
Gurdyal S. Besra
Patrick J. Brennan
Alain R. Baulard**

La tuberculose est responsable de 3 millions de décès par an. Sa réémergence est favorisée par la pandémie du SIDA et l'apparition de souches résistantes à divers antituberculeux. La maladie est causée par *Mycobacterium tuberculosis*, une bactérie capable d'infecter le macrophage et d'y survivre. Les interactions hôte-pathogène nécessaires à l'infection requièrent des molécules associées à la paroi mycobactérienne. Parmi elles, le lipoarabinomannane (LAM) constitue un important facteur de virulence impliqué dans l'atténuation de la réponse immune de l'hôte ainsi que dans l'adhérence et l'internalisation du bacille dans les macrophages. Par ailleurs, au cours de son trafic intracellulaire, le LAM interagit avec des molécules du CD1 qui le présentent alors aux lymphocytes T. La mise à jour de la structure de ce glycolipide et l'identification des enzymes impliquées dans sa biosynthèse devraient permettre de comprendre sa participation dans la pathogénie et d'ouvrir des pistes thérapeutiques nouvelles.

ADRESSES

L. Kremer : *post-doctorant de la fondation Heiser*. Department of Microbiology, University of Newcastle, The Medical School, Newcastle upon Tyne, NE2 4HH, Royaume-Uni. G.S. Besra : *reader*. Department of Microbiology, University of Newcastle, The Medical School, Newcastle upon Tyne, NE2 4HH, Royaume-Uni. P.J. Brennan : *professeur*. Department of Microbiology, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523, États-Unis. A.R. Baulard : *chargé de recherche à l'Inserm*. Inserm U. 447. Mécanismes moléculaires de la pathogénie microbienne, Institut Pasteur de Lille, 1, rue du Professeur Calmette, 59019 Lille Cedex, France.

Peste blanche, phtisie, scrofulé, écrouelles, consomption, milliaire, mal de Pott, autant de noms résonnant tel un glas aux oreilles de l'humanité. Tous dissimulent le même fléau millénaire et destructeur, la tuberculose. C'est en 1868 que le chercheur français Villemin démontra la nature contagieuse de la maladie en infectant des lapins à partir de crachats de patients tuberculeux. Il faudra cependant attendre quatorze ans pour que Koch, en cultivant le bacille qui porte encore son

nom, révèle sans ambiguïté l'identité de l'agent causal de la tuberculose pulmonaire.

Un siècle plus tard, et malgré l'existence d'un vaccin et de puissants antibiotiques spécifiques, la tuberculose reste, avec environ 3 millions de décès par an, la première cause de mortalité liée à un agent infectieux unique [1]. En outre, certaines régions du monde connaissent une alarmante recrudescence de la maladie. La pandémie de SIDA, la précarité croissante au sein même des pays industrialisés, l'usage impropre des antibiotiques, le

manque de moyens financiers de certains états en voie de développement, la mondialisation des transports, sont autant de facteurs favorisant une épidémie compliquée par l'apparition de souches parfois résistantes à la majorité des antituberculeux disponibles. Un des aspects-clés de la virulence de *Mycobacterium tuberculosis* réside dans sa capacité de survivre et de se répliquer dans la cellule hôte phagocytaire qui constitue, pour la plupart des autres micro-organismes, un environnement extrêmement hostile (*m/s n° 5, vol. 10, p. 587*). La structure particulière de la paroi de cette bactérie assimilée à un Gram positif est certainement en partie responsable de cette propriété, mais aussi de sa résistance intrinsèque à bon nombre d'antibiotiques.

Le modèle actuel d'architecture de l'enveloppe mycobactérienne découle, entre autres, d'observations obtenues par microscopie électronique révélant plusieurs zones électroniques denses alternant avec des zones transparentes [2] et soulignant la présence d'une importante barrière lipidique à l'extérieur de la cellule. Cette ultrastructure externe, également mise en évidence par des études biochimiques [3], de calorimétrie et de diffraction aux rayons X, est composée, d'une part, des longues chaînes lipidiques des acides mycoliques et, d'autre part, d'un assortiment de lipides libres plus courts, tels que le mycocérosate, les glycolipides phénoliques et différents phospholipides. En outre, une série de polysaccharides et de glycolipides

inhabituels, pour la plupart spécifiques de l'espèce, sont associés à la partie externe de la paroi [4]. Les acides mycoliques de la paroi sont reliés de manière covalente au peptidoglycane par l'intermédiaire de l'arabinogalactane (*figure 1*). La paroi présente donc une structure unique de type mycolyl-arabinogalactane-peptidoglycane (mAGP). Le lipoarabinomannane (LAM), qui peut être considéré comme le « lipopolysaccharide (LPS) mycobactérien », s'intercale de manière noncovalente dans cet enchevêtrement dans cet enchevêtrement dans cet enchevêtrement [5, 6]. Maintes études ont démontré l'implication du LAM dans de nombreux processus physiologiques relatifs à la pathogénie tuberculeuse. Le LAM constitue un facteur de virulence majeur et représente dès lors une

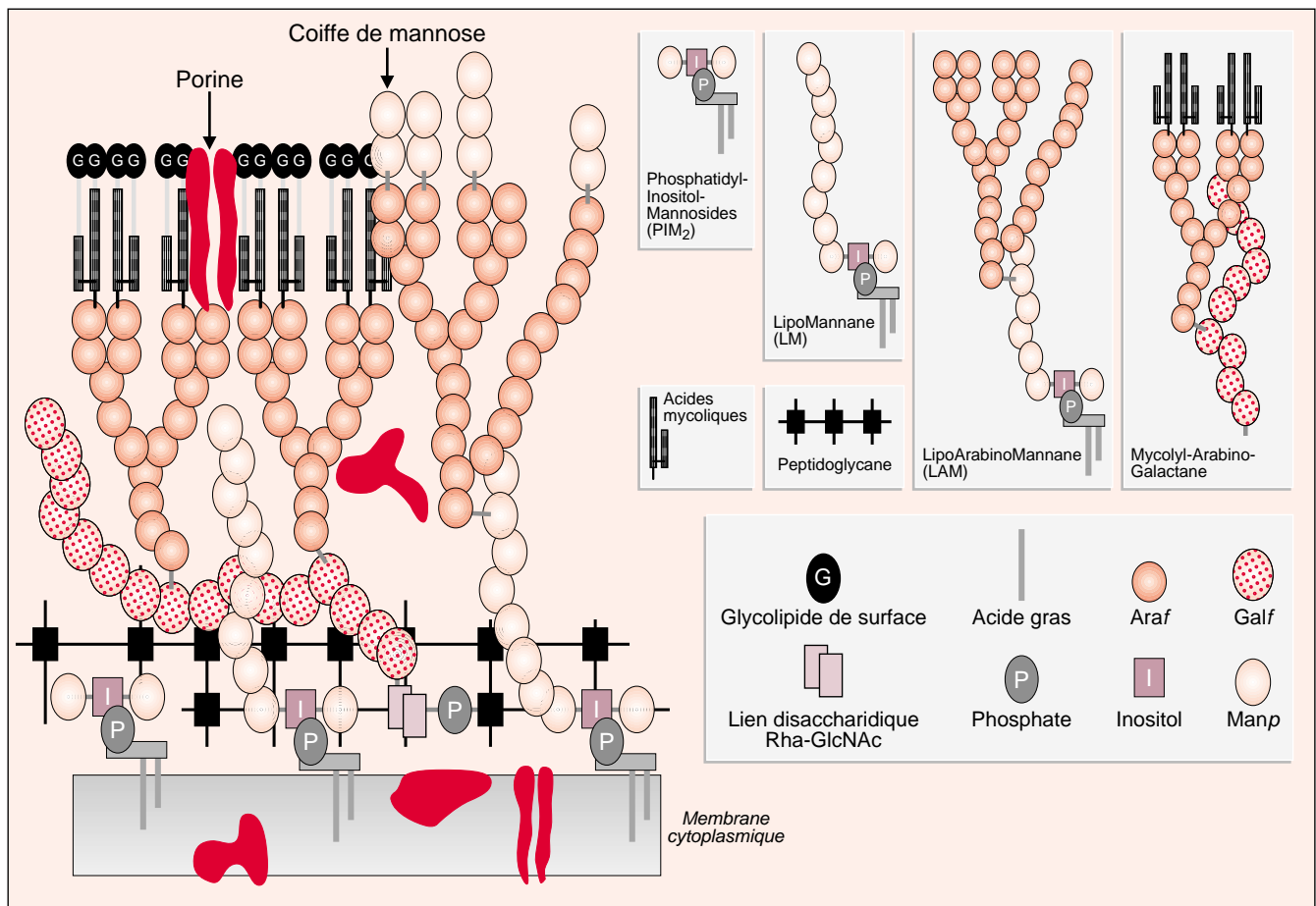


Figure 1. **Représentation schématique de l'enveloppe mycobactérienne et de ses principaux constituants.** Bien que la plupart des mycobactéries s'alignent sur ce modèle, la structure tridimensionnelle et l'arrangement relatif des constituants majeurs de leur paroi restent encore à élucider. L'échafaudage de base de cette importante barrière hydrophobe est constitué de deux macromolécules lipopolysaccharidiques : d'une part, le complexe mycolyl-arabinogalactane-peptidoglycane (mAGP), qui expose ces gigantesques molécules lipidiques vers le milieu environnant et, d'autre part, le lipoarabinomannane (LAM), orienté à l'opposé avec sa structure lipidique servant d'ancrage dans la membrane plasmique.

cible thérapeutique intéressante pour le développement de nouveaux composés antituberculeux.

Structure du LAM

Le LAM est un glycolipide hétérogène en taille, mais aussi quant à la structure de ses branchements et à son degré d'acylation. Cette variabilité empêche grandement la détermination de la structure exacte de cette macromolécule [7-11]. Cependant, une structure de base commune à l'ensemble des mycobactéries étudiées à ce jour semble pouvoir être esquissée (figure 2) [12]. Le LAM *stricto sensu* se compose de deux domaines glucidiques, respectivement polymères de résidus mannose et arabinose, et d'un domaine lipidique d'ancrage de la macromolécule dans la membrane plasmique mycobactérienne. La structure d'ancrage est constituée d'un groupement phosphatidyl-*myo*-inositol

(PI). Les deux molécules d'acides gras branchées sur le glycérol sont de nature variable selon l'espèce considérée, cependant les acides palmitique et tuberculostéarique sont les lipides les plus couramment rencontrés. Une unité mannose, elle-même acylée par un acide gras, est branchée en position C₂ de l'inositol. Attaché en C₆ de l'inositol, le premier domaine glucidique est composé d'unités mannoses, séquentiellement ajoutées par polymérisation α (1→6), donnant ainsi naissance à une série de glycolipides de taille variable baptisés phosphatidyl-inositol-mannosides (PIMs, où « s » représente le nombre de résidus mannose). Au cours de cette élongation et selon un degré variable d'espèce à espèce, un groupement mannose est branché en position C₂ de certains résidus du tronc mannane, engendrant ainsi une molécule de 10 à 20 résidus appelée lipomannane (LM).

Le LAM dérive du LM par l'adjonction du second domaine saccharidique, un polymère très ramifié de résidus arabinoses. Le corps du polymère est une succession de résidus arabinose liés en α (1→5). Deux types de branchements émanent du tronc arabinane central en diverses positions, soit sous forme d'un tétra-arabinose linéaire, soit d'un hexa-arabinose biantennaire (voir figure 2). Chez les mycobactéries à croissance lente tels *M. tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* ou *Mycobacterium bovis* BCG, un mono ou un oligosaccharide de mannoses coiffe l'extrémité non réductrice de la plupart des branches d'arabinose du LAM, dès lors appelé ManLAM [13]. A l'opposé, chez l'espèce à croissance rapide *Mycobacterium smegmatis*, quelques groupements phospho-*myo*-inositols coiffent les résidus arabinose terminaux du glycolipide. Par distinction avec le ManLAM ces molécules ont été baptisées AraLAM [9].

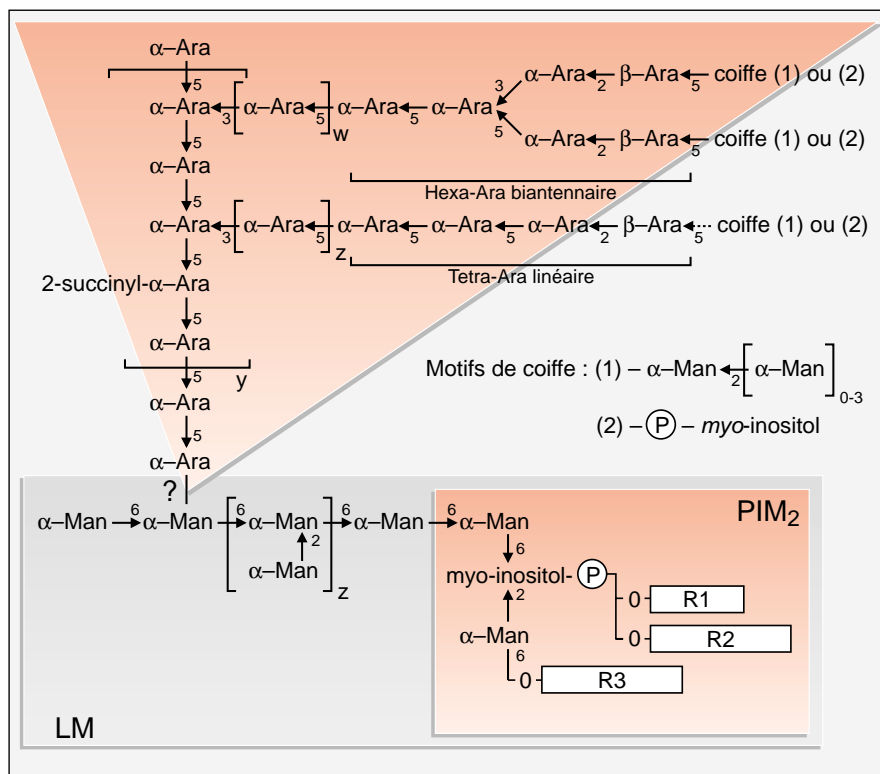


Figure 2. **Structure générale d'une molécule de LAM.** Les groupements acylés R1 et R2 les plus couramment rencontrés sont les acides palmitique et tuberculostéarique. Les valeurs de w, x, y, z varient d'espèce à espèce. La coiffe de type (1) a été identifiée, entre autres, chez *M. smegmatis*. La coiffe de type (2) a été identifiée, entre autres, chez *M. tuberculosis*, *M. leprae* et *M. bovis* BCG. PIM₂: phosphatidyl-inositol-dimannoside ; P: phosphate ; LM: lipomannane.

Positionnement dans l'enveloppe bactérienne

A l'opposé du LM, considéré comme biologiquement inactif, le LAM est capable de moduler la réponse immunitaire de l'hôte. Ainsi, la plupart des effets attribués au LAM dépendraient de l'intégrité de ses motifs arabinanes terminaux, mais également de son exposition à la surface du bacille. Si les groupements phosphatidylinositol (PI) suggèrent un ancrage dans la membrane plasmique, le positionnement exact du LAM par rapport aux autres composants de l'enveloppe reste sujet à débat. Les méthodes d'extraction utilisées indiquent que la molécule est fortement attachée à la paroi, mais de manière non covalente. Les anticorps monoclonaux anti-LAM reconnaissent directement les mycobactéries dans des tests ELISA, suggérant que la molécule est, au moins partiellement, exposée à la surface de la cellule et accessible à l'environnement. Des travaux récents indiquent qu'après infection des macrophages par les mycobactéries, le LAM est rapidement observé dans des vésicules formées vraisemblablement par bourgeonnement de la membrane phagosome [14]. Ces vésicules

pourraient assurer le transport du produit mycobactérien vers les compartiments de la voie d'endocytose et vers la surface cellulaire. L'hypothèse d'un relargage de LAM hors de la cellule infectée est confortée par la présence d'anticorps anti-LAM dans les sérums de patients tuberculeux [15].

Récemment, des polymères d'arabinomannane coiffés de mannoses (ManAM), non couplés au PI, ont été identifiés chez *M. tuberculosis* [16]. Daffé *et al.* ont ainsi proposé que le LAM ne serait pas nécessairement ancré de façon stable dans la membrane, mais transiterait au travers de la paroi depuis son site de synthèse dans la membrane plasmique pour être sécrété à l'extérieur de la bactérie. Ces composés, avec d'autres, constitueraient alors une « capsule polysaccharidique » et pourraient être responsables de certaines des activités biologiques attribuées au LAM [17].

Modulation de l'expression de cytokines

Le LAM présente une vaste panoplie de fonctions immunomodulatrices et semble être impliqué dans l'immunopathologie de la lèpre et de la tuberculose [18]. En effet, il est capable d'induire l'expression d'une gamme variée de cytokines associées au macrophage, telles que le TNF- α [19], le GM-CSF, l'IL-1 α , l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-10 [20], l'IL-12 [21], et le TGF- β [22]. Certaines de ces cytokines interviennent dans la modulation de l'activation du macrophage, et par conséquent dans la survie intracellulaire de la mycobactérie. Ainsi, le TNF- α et le GM-CSF, par exemple, sont souvent associés à l'inhibition de croissance ou voire même à la destruction de la mycobactérie, tandis que l'IL-1 et l'IL-6 sembleraient promouvoir la croissance du bacille.

Le TNF- α , tout comme l'IFN- γ , intervient dans l'activation du macrophage et stimule ses propriétés antimicrobiennes. Cette cytokine joue, en outre, un rôle actif dans la pathogénie tuberculeuse en participant à la formation de granulomes qui sont capables de contenir les mycobactéries, empêchant ainsi leur dissémination dans l'organisme infecté [23].

Plusieurs études ont montré que le LAM est susceptible de moduler la sécrétion de TNF- α par le macrophage. Cependant, la production de TNF- α est induite dans une moindre mesure par le LAMs provenant de *M. tuberculosis* ou du BCG (ManLAM) que par le LAM d'une mycobactérie à croissance rapide (AraLAM) [19, 24]. En revanche, en présence de cellules microgliales humaines, l'AraLAM et le ManLAM induisent des niveaux comparables de TNF- α , suggérant que l'origine des macrophages constitue également un déterminant important dans la réponse vis-à-vis des différents types de LAMs [25].

Parallèlement, l'AraLAM semble être un meilleur inducteur d'IL-12 que le ManLAM [21]. L'IL-12 est une cytokine impliquée dans la différenciation des cellules T naïves en Th1 et, dès lors, dans le contrôle des infections mycobactériennes. Cette propriété accrue de l'AraLAM par rapport au ManLAM de stimuler la production de certaines cytokines pourrait aussi être liée à la coiffe d'inositolphosphate, absente du ManLAM des pathogènes à croissance lente [9, 26].

L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire capable de stimuler la croissance intracellulaire et extracellulaire de *Mycobacterium avium* [27]. Par ailleurs, le LAM stimule la sécrétion d'IL-6 par les monocytes *via* l'activation des facteurs nucléaires NF-IL-6 et NF- κ B [28]. La production d'IL-6 observée dans le granulome d'animaux infectés pourrait ainsi jouer un rôle dans les manifestations cliniques et les événements pathologiques liés à l'infection mycobactérienne.

Le LAM stimule également l'expression et la sécrétion de certaines chimiokines au niveau des granulocytes polymorphonucléaires humains, en particulier l'IL-8 et Gro- α [29]. Une étude menée sur des macrophages pulmonaires purifiés de patients tuberculeux a permis de mettre en évidence une surexpression d'ARN messagers d'IL-8 en présence de ManLAM [30]. Ainsi, la synthèse et la sécrétion précoces d'IL-8 après phagocytose du bacille tuberculeux pourraient participer au recrutement de cellules inflammatoires au niveau des granulomes du tissu pulmonaire. Par ailleurs, l'AraLAM est capable

d'induire, dans les macrophages murins, l'expression des gènes précoces *JE* et *KC* codant pour des facteurs chimio-attractifs respectivement des monocytes et des neutrophiles [31].

Jusqu'à 60 % des patients atteints de tuberculose pulmonaire montrent une suppression de la réponse immune de type cellulaire pour certains antigènes mycobactériens. Cette immunosuppression est associée à la disparition de la réponse cutanée au test d'hypersensibilité retardé et est corrélée à l'évolution clinique de la maladie. Cette immunosuppression semble liée, d'une part, à une diminution de la lymphoprolifération cellulaire et de la production d'IL-2 et, d'autre part, à un accroissement de la concentration de TGF- β [32]. *In vitro*, la présence d'anticorps anti-TGF- β ou d'inhibiteurs naturels du TGF- β restaurent la réponse proliférative des cellules T de patients tuberculeux. Par ailleurs, la production excessive de TGF- β est associée à une importante fibrose et à une destruction tissulaire. Au même titre que la bactérie entière, certains composants de la paroi mycobactérienne, tels que le LAM, sont de puissants inducteurs de TGF- β [22]. Ainsi, de par sa capacité à induire la sécrétion d'une cytokine immunosuppressive, il apparaît une fois de plus que le LAM est directement impliqué dans la modulation de la réponse immune de l'hôte et dans l'immunopathologie tuberculeuse.

Non seulement capable d'induire la synthèse de cytokines et de chimiokines, l'AraLAM, et dans une moindre mesure le ManLAM, stimulent la production de pentraxine-3 (PTX3) par des monocytes humains [33]. La synthèse des pentraxines a généralement lieu dans le foie en réponse à une inflammation. Bien que la fonction biologique des pentraxines ne soit pas connue avec précision, cette famille de molécules possède des propriétés antimicrobiennes. Cependant, la participation de PTX3 dans l'immunité et la physiopathologie tuberculeuse reste à démontrer.

Autres fonctions biologiques

D'une manière générale, il apparaît que l'expression de cytokines

induites par le ManLAM de souches virulentes reste inférieure à celle induite par l'AraLAM de souches avirulentes. L'AraLAM favorise la sécrétion d'un certain nombre de cytokines produites par le macrophage, dont certaines s'avèrent être importantes dans la protection antimycobactérienne. Mais, si les fonctions immunorégulatrices du LAM font l'objet de nombreuses études, les données concernant les mécanismes moléculaires par lesquels le ManLAM « désactive » le macrophage restent très rares. Selon une étude récente, le ManLAM du bacille tuberculeux affecterait certaines voies de transmission intracellulaire du signal du macrophage. Ainsi, ce glycolipide augmente l'activité de la phosphotyrosine phosphatase SHP-1, un médiateur connu pour intervenir dans l'atténuation des signaux d'activation cellulaire [34]. L'activation de SHP-1 par le ManLAM conduisant à la déphosphorylation de multiples protéines macrophagiques, dont MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), il en résulterait une inhibition de différents signaux cellulaires nécessaires à l'activation du macrophage et donc à la destruction du bacille (*m/s 1996, n° 8-9, p. 990*).

Le LAM est également un inhibiteur potentiel de fonctions liées à l'immunité à médiation cellulaire. Des études *in vitro* utilisant de l'AraLAM ou du ManLAM ont révélé la capacité de ces molécules d'inhiber l'activation des lymphocytes T [35]. Il est également capable de bloquer l'activation macrophagique induite par l'IFN- γ [36], provoquant ainsi une inhibition des fonctions antimicrobiennes du macrophage. Chan *et al.* [37] ont montré que cette incapacité du macrophage de répondre à l'IFN- γ n'est pas causée par un déficit de fixation ou d'internalisation de la cytokine. Il s'agirait plutôt d'un blocage des voies de transmission du signal par inhibition, d'une part, de l'activité protéine kinase C et, d'autre part, de la transcription des gènes induits par l'IFN- γ (*m/s 1994, n° 2, p. 231*). Ces mêmes auteurs ont également montré que le LAM est capable de neutraliser les radicaux oxydants cytotoxiques produits par le macrophage et destinés à détruire les bactéries [37].

Une étude récente a mis en évidence une activité chimiotactique du LAM

dirigée spécifiquement vers des lymphocytes T [38]. Ainsi, des surnageants de culture de macrophages alvéolaires humains infectés *in vitro* avec du bacille tuberculeux induisent la migration des lymphocytes T humains. Cette activité migratrice peut être bloquée à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-LAM, suggérant que cette molécule pourrait constituer un facteur chimiotactique et donc être relarguée dans le milieu environnant. Si le ManLAM de *M. tuberculosis* induit le chimiotactisme des cellules T *in vitro*, il n'en serait pas de même pour le ManLAM de *M. bovis* BCG [38]. Ainsi, de fines différences structurales entre LAM de diverses espèces mycobactériennes pourraient être à l'origine de variations dans leur capacité d'induire des effets biologiques et de moduler la réponse immune de l'hôte. En revanche, des études similaires indiquent que le ManLAM, contrairement à l'AraLAM, n'induit pas le chimiotactisme de monocytes humains et de macrophages qui en dérivent

[39]. Cette propriété du ManLAM pourrait donc constituer un mécanisme d'adaptation des mycobactéries pathogènes visant à minimiser le recrutement des cellules phagocytaires au site d'infection.

Récepteurs du LAM

Une meilleure compréhension des différentes activités immunomodulatrices du LAM nécessite la caractérisation des récepteurs cellulaires de cette molécule. Parmi les divers récepteurs identifiés, trois d'entre eux, le CD14, la *mannose binding protein* (MBP) et le récepteur du manose apparaissent interagir directement avec le LAM.

La sécrétion d'IL-1- β et de TNF- α par des monocytes humains stimulés par du LAM est bloquée par des anticorps anti-CD14 [40]. Le CD14 est une glycoprotéine de 55 kDa exprimée à la surface des monocytes, des macrophages, des cellules microgliales, et des leucocytes polymorphonucléaires, qui sert de récepteur

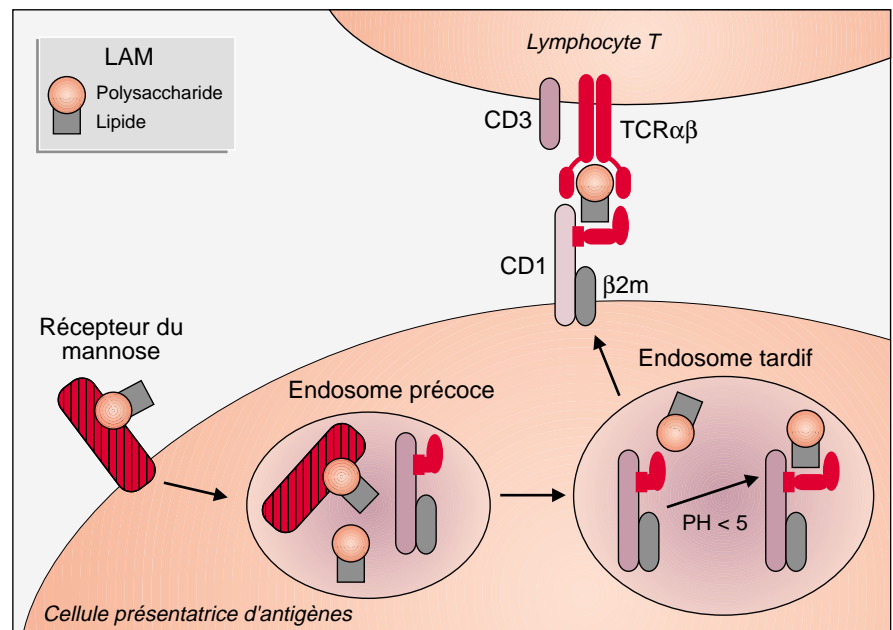


Figure 3. **Le trafic intracellulaire du LAM et du CD1b.** La reconnaissance et la présentation du LAM par le CD1b débute par la liaison du LAM au récepteur du manose présent à la surface des cellules présentatrices d'antigènes. Le complexe LAM-récepteur est alors internalisé dans les endosomes précoces. Le LAM se dissocie ensuite du récepteur pour être délivré aux structures plus tardives de la voie d'endocytose. Le pH acide de ces compartiments tardifs qui renferment le CD1b modifie la structure de celui-ci, favorisant sa liaison au LAM. Finalement, le complexe LAM-CD1b est transféré à la surface de la cellule où a lieu l'interaction avec les récepteurs des lymphocytes T (TCR). (Schéma adapté de Prigozy et al. [49].)

pour le LPS des bactéries Gram négatives. Il a été montré que l'AraLAM était capable d'entrer en compétition directe avec le LPS dans sa liaison au CD14. Par ailleurs, le rôle du CD14 dans l'adhérence et l'ingestion de *M. tuberculosis* est suggéré par des études démontrant que des anticorps anti-CD14 d'une part, et du CD14 soluble d'autre part, sont capables de bloquer significativement la phagocytose de la mycobactérie par des cellules microgliales.

La MBP sérique est une lectine jouant un rôle crucial dans la défense contre des micro-organismes présentant un certain type de structures saccharidiques en agissant en tant qu'opsonine [41]. Des études d'interaction entre ce récepteur et certains glycolipides de la paroi de *M. avium* indiquent que l'affinité du ManLAM pour la MBP est particulièrement élevée. Polotsky *et al.* [42] ont aussi récemment montré que le récepteur soluble MBP est capable d'opsoniser directement *M. avium* et de favoriser son internalisation par des neutrophiles humains.

En 1993, Schlesinger [43] montrait pour la première fois que *M. tuberculosis* est capable d'adhérer au macrophage *via* le récepteur du mannose. Le récepteur du mannose est une glycoprotéine de 162 kDa exprimé à la surface des macrophages dérivés de monocytes et de macrophages tissulaires, mais qui est absent de la surface des monocytes circulants. De façon surprenante, les souches virulentes (H37Rv, Erdman) et atténuée (H37Ra) de *M. tuberculosis* se lient au phagocyte par l'intermédiaire des récepteurs du complément, alors que seules les souches virulentes interagissent avec le récepteur du mannose. Utilisant des microsphères enrobées de divers glycolipides mycobactériens, Schlesinger *et al.* [44] démontrèrent alors que seul le ManLAM constitue un ligand pour le récepteur du mannose et que, plus précisément, ce sont les coiffes de mannoses qui constituent les sites de liaison au récepteur. Ainsi, le LAM traité à l'exomannosidase, qui hydrolyse sélectivement les résidus mannoses terminaux, perd sa capacité d'adhérence aux macrophages. Plus récemment, il a été observé que les LAM issus de deux souches virulentes et d'une souche atténuée de *M. tuberculosis* présentaient des capacités variables d'adhé-

rence au récepteur du mannose, et ce malgré la présence de la coiffe de mannoses [45]. Ainsi, le LAM de la souche Erdman apparaît être un bien meilleur ligand que le ManLAM de la souche avirulente H37Ra, le ManLAM de H37Rv étant un ligand d'affinité intermédiaire. L'origine de la reconnaissance différentielle du récepteur du mannose pour les divers ManLAM n'est donc pas uniquement déterminée par la présence ou l'absence de la coiffe. Elle pourrait dépendre de la proportion de molécules d'arabinane effectivement coiffées, de la structure tridimensionnelle du polymère, ou de la participation d'un autre récepteur éventuel.

Si le récepteur du mannose semble intervenir dans le déclenchement de la phagocytose et l'internalisation du bacille, il pourrait également permettre de délivrer du LAM dans les endosomes pour une présentation ultérieure de la molécule aux cellules T par l'intermédiaire des molécules de la famille CD1.

Reconnaissance et présentation par le CD1

Les membres de la famille CD1 sont des molécules non polymorphiques capables de présenter des structures de type lipidique ou glycolipidique à

des lymphocytes T spécifiques. La détermination de la structure tridimensionnelle de la molécule CD1d murine a révélé une structure similaire à celle des molécules de classe I du CMH. Ces molécules du CD1 sont des glycoprotéines de surface d'environ 45 kDa, associées de manière non covalente à la β 2-microglobuline. Elles possèdent une queue cytoplasmique, une région transmembranaire et trois domaines extracellulaires α 1, α 2 et α 3. Elles sont exprimées essentiellement par des cellules présentatrices d'antigènes telles que les cellules dendritiques, les macrophages et les lymphocytes B [46].

La reconnaissance du LAM (ainsi que d'autres antigènes mycobactériens hydrophobes de type non peptidique) par les lymphocytes T a permis de décrire une nouvelle voie de présentation antigénique *via* les molécules du CD1. Le LAM et ses dérivés ont été mis en présence de lignées de cellules T $\alpha\beta^+$ CD4⁻ CD8⁻ (doubles négatives, DN) dérivées de lésions cutanées de patients atteints de lèpre. Les résultats ont montré que ces lignées DN reconnaissent le LAM, le LM et les PIM en présence de cellules présentatrices exprimant le CD1b [47]. La présentation de ces glycolipides nécessite leur internalisation et leur cheminement par un compartiment acide. La présence du PI acylé et du squelette mannane du LAM est

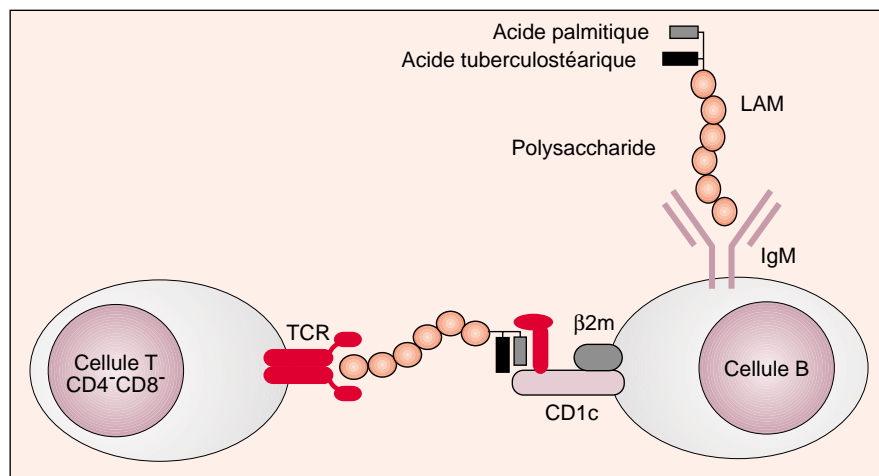


Figure 4. **Le modèle «palmitate».** Selon ce modèle, les lymphocytes B internaliseraient, via des IgM de surface, les lipopolysaccharides capsulaires arborant un résidu palmitate (par exemple celui du LAM). Dans une seconde phase, cet acide gras servirait d'ancrage du lipopolysaccharide au niveau du sillon hydrophobe des molécules CD1 des cellules B. Ainsi, les molécules CD1 présenteraient la structure glucidique aux récepteurs des lymphocytes T, cette coopération cellulaire aboutissant à la production d'anticorps anti-polysaccharide. (Schéma adapté de Fairhurst *et al.* [51].)

requis pour réagir avec ces cellules T DN. En outre, les lymphocytes T dérivant de lésions cutanées de lépreux ne répondent qu'en présence de LAM provenant de *M. leprae* alors que les cellules T de donneurs sains reconnaissent le LAM de *M. tuberculosis* (souche Erdman) aussi bien que celui de *M. leprae*. Cela suggère que, bien que les unités lipidiques soient probablement requises pour la liaison au niveau des domaines hydrophobes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ du CD1 (qui sont similaires au domaine de fixation des peptides des molécules du CMH), la spécificité de reconnaissance réside sans doute dans l'épitope glycanique [48].

La restriction par les molécules CD1 requiert une voie de présentation intracellulaire ayant certaines caractéristiques communes avec la voie de présentation classique des molécules de classe II du CMH. Prigozy *et al.* [49] ont montré que le LAM fixé au récepteur du mannose est internalisé dans les endosomes précoces, dissocié de son récepteur, puis délivré aux endosomes tardifs. Dans ce compartiment, le pH acide modifierait la structure tridimensionnelle de la molécule CD1, favorisant son interaction avec la partie lipidique du LAM. Le complexe LAM-CD1 serait alors transporté à la surface cellulaire où la partie glucidique du LAM est présentée à une cellule T spécifique (figure 3).

Les cellules T activées par le LAM sont cytolitiques et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires [47]. La présence de cellules T DN spécifiques du LAM dans les lésions cutanées de lépreux souligne le rôle de ce mode de présentation dans la défense de l'hôte. Il a en effet été suggéré que la reconnaissance à large spectre des molécules de présentation d'antigènes non polymorphes pourrait jouer un rôle important dans l'acquisition de l'immunité à médiation cellulaire, notamment pour lutter contre des pathogènes synthétisant des glycolipides non usuels tels que le LAM. Cette hypothèse est fortement appuyée par l'observation récente d'une présentation *via* le CD1 d'un antigène glycolipidique de *Haemophilus influenzae* structuralement apparenté au LAM [50]. Cet antigène, tout comme le LAM, possède un acide phosphatidique substitué par l'acide palmitique. Dans le modèle proposé par Fairhurst *et al.* [51], des

cellules B exprimant l'isoforme CD1c seraient capables de reconnaître et d'internaliser le glycolipide *via* leurs immunoglobulines IgM de surface. Une fois internalisé, le glycolipide serait présenté à la surface des cellules B en association avec la molécule CD1c, dans un contexte où le groupement palmitate serait lié au sillon hydrophobe du CD1. La partie saccharidique du glycolipide serait ainsi exposée aux récepteurs des lymphocytes T, permettant aux cellules T de coopérer avec les cellules B pour la production d'anticorps anti-poly-saccharide (figure 4).

Conclusions

L'existence de bacilles à l'état dormant, la résistance naturelle des mycobactéries à de nombreux antibiotiques, ainsi que le nombre relativement limité de composés antimycobactériens disponibles rendent le traitement des infections mycobactériennes généralement long et pénible pour le patient. Depuis quelques années, cette bataille est devenue plus difficile en raison de l'émergence d'organismes multirésistants à de nombreux agents antituberculeux. Il apparaît dès lors prioritaire d'élucider les mécanismes moléculaires de ces résistances. Les données récentes concernant la structure et la biosynthèse des différents composants de la paroi et, en particulier, celles du LAM, constituent un premier pas vers l'identification de cibles thérapeutiques pour le développement de nouvelles molécules antimycobactériennes. D'ores et déjà, le séquençage complet des génomes de *M. tuberculosis*, et prochainement de *M. leprae*, constitue une avancée significative pour l'identification des gènes impliqués dans la biosynthèse du LAM. L'inactivation de ces gènes par recombinaison homologue ou par transposition, parallèlement à la caractérisation biochimique de leurs produits devraient aider à déterminer avec précision le rôle du LAM dans la pathogénie et l'infection tuberculeuse ■

Remerciements

Nous remercions Chantal de Chastellier, Vincent Escuyer et René Rezsóhazy pour leurs précieux et pertinents commentaires.

RÉFÉRENCES

1. Ravignone MC, Snider DE, Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis: morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA* 1995; 273: 220-6.
2. Paul TR, Beveridge TJ. Reevaluation of envelope profiles and cytoplasmic ultrastructure of mycobacteria processed by conventional embedding and freeze-substitution protocols. *J Bacteriol* 1992; 174: 6508-17.
3. Petit JF, Lederer E. The structure of the mycobacterial cell wall. In: Kubica GP and Wayne LG, eds. *The mycobacteria, A sourcebook*. New York: Marcel Dekker, 1984: 301-22.
4. Daffé M, Draper P. The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. *Adv Microb Physiol* 1998; 39: 131-203.
5. Baulard AR, Besra GS, Brennan PJ. The cell wall core of *Mycobacterium*: structure, biogenesis, and genetics. In: Ratledge C, Dale JW, eds. *Mycobacteria: molecular biology and virulence*. New York: Chapman and Hall, 1998.
6. Brennan PJ, Nikaido H. The envelope of mycobacteria. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 29-63.
7. Hunter SW, Gaylord H, Brennan PJ. Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli. *J Biol Chem* 1986; 261: 12345-51.
8. Hunter SW, Brennan PJ. Evidence for the presence of a phosphatidylinositol anchor on the lipoarabinomannan of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biol Chem* 1990; 265: 9272-9.
9. Khoo KH, Dell A, Morris HR, Brennan PJ, Chatterjee D. Inositol phosphate capping of the non-reducing termini of lipoarabinomannan from rapidly growing strains of *Mycobacterium*. Mapping of the non-reducing termini of LAMs. *J Biol Chem* 1995; 270: 12380-9.
10. Nigou J, Gilleron M, Cahuzac B, *et al.* The phosphatidyl-*myo*-inositol anchor of the lipoarabinomannans from *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin. Heterogeneity, structure, and role in the regulation of cytokine secretion. *J Biol Chem* 1997; 272: 23094-103.
11. Vénisse A, Berjeaud JM, Chaurand P, Gilleron M, Puzo G. Structural features of lipoarabinomannan from *Mycobacterium bovis* BCG. Determination of molecular mass by laser desorption mass spectrometry. *J Biol Chem* 1993; 268: 12401-11.
12. Vercellone A, Nigou J, Puzo G. Relationships between the structure and the roles of lipoarabinomannans and related glycoconjugates in tuberculosis pathogenesis. *Frontiers Biosci* 1998; 3: 149-63.
13. Chatterjee D, Lowell K, Rivoire B, McNeil MR, Brennan PJ. Lipoarabinomannan of *Mycobacterium tuberculosis*. Capping with mannose residues in some strains. *J Biol Chem* 1992; 267: 6234-9.
14. Xu S, Cooper A, Sturgill-Koszycki S, *et al.* Intracellular trafficking in *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*-infected macrophages. *J Immunol* 1994; 153: 2568-78.

RÉFÉRENCES

15. Sada E, Brennan PJ, Herrera T, Torres M. Evaluation of lipoarabinomannan for the serological diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1990; 2: 2587-90.
16. Lemassu A, Daffé M. Structural features of the exocellular polysaccharides of *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochem J* 1994; 297: 351-7.
17. Ortalo-Magné A, Andersen AB, Daffé M. The outermost capsular arabinomannans and other mannoconjugates of virulent and avirulent *tubercle bacilli*. *Microbiology* 1996; 142: 927-35.
18. Brennan PJ, Hunter SW, McNeil M, Chatterjee D, Daffé M. Reappraisal of the chemistry of mycobacterial cell walls, with a view to understanding the roles of individual entities in disease processes. In: Ayoub EM, Cassel GH, Branche WCJr, Henry TJ, eds. *Microbial determinants of virulence and host response*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1990: 55-75.
19. Moreno C, Taverne J, Mehler A, et al. Lipoarabinomannan from *Mycobacterium tuberculosis* induces the production of tumour necrosis factor from human and murine macrophages. *Clin Exp Immunol* 1989; 76: 240-5.
20. Barnes PF, Chatterjee D, Abrams JS, et al. Cytokine production induced by *Mycobacterium tuberculosis* lipoarabinomannan: relationship to chemical structure. *J Immunol* 1992; 149: 541-7.
21. Yoshida A, Koide Y. Arabinofuranosyl-terminated and mannosylated lipoarabinomannans from *Mycobacterium tuberculosis* induce different levels of interleukin-12 expression in murine macrophages. *Infect Immun* 1997; 65: 1953-5.
22. Dahl KE, Shiratsuchi H, Hamilton BD, Ellner JJ, Toossi Z. Selective induction of transforming growth factor β in human monocytes by lipoarabinomannan of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1996; 64: 399-405.
23. Kindler V, Sappino AP, Grau GE, Piguet PF, Vassalli P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell* 1989; 56: 731-40.
24. Chatterjee D, Khoo KH, McNeil MR, Dell A, Morris HR, Brennan PJ. Structural basis of capacity of lipoarabinomannan to induce secretion of tumor necrosis factor. *Infect Immun* 1992; 60: 1249-53.
25. Peterson PK, Hu S, Weng WS, et al. Thalidomide inhibits tumor necrosis factor- α production by lipopolysaccharide and lipoarabinomannan-stimulated human microglial cells. *J Infect Dis* 1995; 172: 1137-40.
26. Gilleron M, Nourrédine H, Adam O, et al. *Mycobacterium smegmatis* phosphoinositols-glyceroarabinomannans. *J Biol Chem* 1997; 272: 117-24.
27. Denis M, Gregg EO. Recombinant IL-6 increases the intracellular and extracellular growth of *Mycobacterium avium*. *Can J Microbiol* 1991; 37: 479-83.
28. Zhang Y, Broser M, Rom WN. Activation of the interleukin 6 gene by *Mycobacterium tuberculosis* or lipopolysaccharide is mediated by nuclear factors NF-IL6 and NF- κ B. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 2225-9.
29. Riedel DD, Kaufman SHE. Chemokine secretion by human polymorphonuclear granulocytes after stimulation with *Mycobacterium tuberculosis* and lipoarabinomannan. *Infect Immun* 1997; 65: 4620-3.
30. Zhang Y, Broser M, Cohen H, et al. Enhanced interleukin-8 release and gene expression in macrophages after exposure to *Mycobacterium tuberculosis* and its components. *J Clin Invest* 1995; 95: 586-92.
31. Roach TI, Barton CH, Chatterjee D, Blackwell JM. Macrophage activation: lipoarabinomannan from avirulent and virulent strains of *Mycobacterium tuberculosis* differentially induces the early genes *c-fos*, *KC*, *JE*, and tumor necrosis-alpha. *J Immunol* 1993; 150: 1886-96.
32. Hirsch CS, Hussain R, Toossi Z, Ellner JJ. Cross-modulatory role for transforming growth factor beta in tuberculosis; suppression of antigen driven interferon gamma production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 3193-8.
33. Vouret-Craviari V, Matteucci C, Peri G, Poli G, Introna M, Mantovani A. Expression of a long pentraxin, PTX3, by monocytes exposed to the mycobacterial cell wall component lipoarabinomannan. *Infect Immun* 1997; 65: 1345-50.
34. Knutson KL, Hmama Z, Herrera-Velitz P, Rochford R, Reiner NE. Lipoarabinomannan of *Mycobacterium tuberculosis* promotes protein tyrosine dephosphorylation and inhibition of mitogen-activated protein kinase in human mononuclear phagocytes. *J Biol Chem* 1998; 273: 645-52.
35. Kaplan G, Gandhi RR, Weinstein DE, et al. *Mycobacterium leprae* antigen-induced suppression of T cell proliferation *in vitro*. *J Immunol* 1987; 138: 3028-34.
36. Sibley LD, Hunter SW, Brennan PJ, Krahenbuhl PJ. Mycobacterial lipoarabinomannan inhibits gamma interferon-mediated activation of macrophages. *Infect Immun* 1988; 56: 1232-6.
37. Chan J, Fan X, Hunter SW, Brennan PJ, Bloom BR. Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of *Mycobacterium tuberculosis* within macrophages. *Infect Immun* 1991; 59: 1755-61.
38. Berman JS, Blumenthal RL, Kornfield H, et al. Chemotactic activity of mycobacterial lipoarabinomannans for human blood T lymphocytes *in vitro*. *J Immunol* 1996; 156: 3828-35.
39. Bernardo J, Billingslea AM, Blumenthal RL, Seetoo KF, Simons ER, Fenton MJ. Differential responses of human mononuclear phagocytes to mycobacterial lipoarabinomannans: role of CD14 and the mannose receptor. *Infect Immun* 1998; 66: 28-35.
40. Zhang Y, Doerfler M, Lee TC, Guillemin B, Rom WN. Mechanisms of stimulation of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α by *Mycobacterium tuberculosis* components. *J Clin Invest* 1993; 91: 2076-83.
41. Kuhlman M, Joiner K, Ezekowitz RAB. The human mannose-binding protein functions as an opsonin. *J Exp Med* 1989; 169: 1733-45.
42. Polotsky VY, Belisle JT, Mikusova K, Ezekowitz RA, Joiner KA. Interaction of human mannose-binding protein with *Mycobacterium avium*. *J Infect Dis* 1997; 175: 1159-68.
43. Schlesinger LS. Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by mannose receptors in addition to complement receptors. *J Immunol* 1993; 150: 2920-30.
44. Schlesinger LS, Hull SR, Kaufman TM. Binding of the terminal mannosyl units of lipoarabinomannan from a virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis* to human macrophages. *J Immunol* 1994; 152: 4070-9.
45. Schlesinger LS, Kaufman TM, Iyer S, Hull SR, Marchiando LK. Differences in mannose receptor-mediated uptake of lipoarabinomannan from virulent and attenuated strains of *Mycobacterium tuberculosis* by human macrophages. *J Immunol* 1996; 157: 4568-75.
46. Jullien D, Afanassieff M, Kaiserlian D, Claudy A, Nicolas J. CD1: une nouvelle famille de molécules présentatrices d'antigènes aux caractéristiques singulières. *Med Sci* 1999; 15: 7-14.
47. Sieling PA, Chatterjee D, Porcelli SA, et al. CD1-restricted T cell recognition of microbial lipoglycans. *Science* 1995; 269: 227-30.
48. Porcelli S. The CD1 family: a third lineage of antigen presenting molecules. *Adv Immunol* 1995; 59: 1-98.
49. Prigozy TI, Sieling PA, Clemens D, et al. The mannose receptor delivers lipoglycan antigens to endosomes for presentation to T cells by CD1b molecules. *Immunity* 1997; 6: 187-97.
50. Fairhurst RM, Wang CX, Sieling PA, Modlin RL, Braun J. CD1 presents antigens from a Gram-negative bacterium, *Haemophilus influenzae* type b. *Infect Immun* 1998; 66: 3523-6.
51. Fairhurst RM, Wang CX, Sieling PA, Modlin RL, Braun J. CD1-restricted T cells and resistance to polysaccharide-encapsulated bacteria. *Immunol Today* 1998; 19: 257-9.

Summary

Lipoarabinomannan : structure and functions of a glycolipid involved in tuberculosis pathogenicity

Tuberculosis is the predominant cause of morbidity and mortality worldwide, infecting 8 million and killing 3 million people annually. The current situation is exacerbated by the HIV pandemic and the increased prevalence of multiple resistant strains of *M. tuberculosis*, while vaccine prophylaxis using BCG is unsatisfactory in many parts of the world. Mycobacteria have evolved many specific adaptations that enable them to infect and survive within host cells. Such host-pathogen interactions are mediated by specialized molecules, in particular those associated with the unique cellular envelope. Lipoarabinomannan (LAM) is regarded as the «lipopolysaccharide of mycobacteria» and is an important virulence factor. Its terminal mannose caps may be involved not only in attenuating the host immune response, but also in mediating the binding of mycobacteria to, and subsequent entry into macrophages. This may be further linked to an intracellular trafficking pathway through which LAM is presented by CD1 to T-cell subsets. More systematic genome type investigations of LAM biogenesis may reveal the true significance of this macromolecule in the immunopathogenesis of tuberculosis. As a consequence, the identification of new drug targets will permit the development of novel therapies against tuberculosis and other mycobacterial-related infections which may now be visualized through the advent of the recently sequenced *M. tuberculosis* genome.

TIRÉS À PART

A.R. Baulard.