

De cadhérine en cadhérine, la E-cadhérine porte d'entrée de *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est la bactérie responsable de la listériose humaine, une infection d'origine alimentaire touchant préférentiellement les sujets aux âges extrêmes de la vie, les femmes enceintes et les patients immunodéprimés. La gravité de la listériose humaine tient à la capacité qu'a *L. monocytogenes* d'atteindre le système nerveux central et l'unité fœto-placentaire [1]. Au cours du processus infectieux, *L. monocytogenes* peut donc franchir trois barrières: la barrière intestinale, porte d'entrée dans l'organisme, la barrière hémato-encéphalique au cours des atteintes neuroméningées, et la barrière materno-fœtale, au cours des infections fœto-placentaires. Les déterminants moléculaires du franchissement de ces barrières ne sont pas connus à ce jour.

L'entrée de *L. monocytogenes* dans les cellules en culture

Le processus infectieux est aujourd'hui relativement bien connu à l'échelon cellulaire, faisant de *L. monocytogenes* un pathogène modèle pour microbiologistes et biologistes cellulaires [2]. Schématiquement, plusieurs étapes successives, dont les déterminants bactériens ont été identifiés, peuvent être individualisées: l'entrée dans les cellules (phagocytaires mais aussi non phagocytaires) [3], la lyse de la vacuole de phagocytose, la multiplication intracytoplasmique, le mouvement intracytoplasmique, le passage de cellule en cellule, la lyse de la double vacuole de phagocytose [2]. Deux protéines de surface de *L. monocytogenes* – appelées internalines (InlA) et InlB – sont chacune suffisante pour permettre l'internalisation de *L. monocytogenes*, mais aussi de microparticules inertes telles que des billes de latex recouvertes de

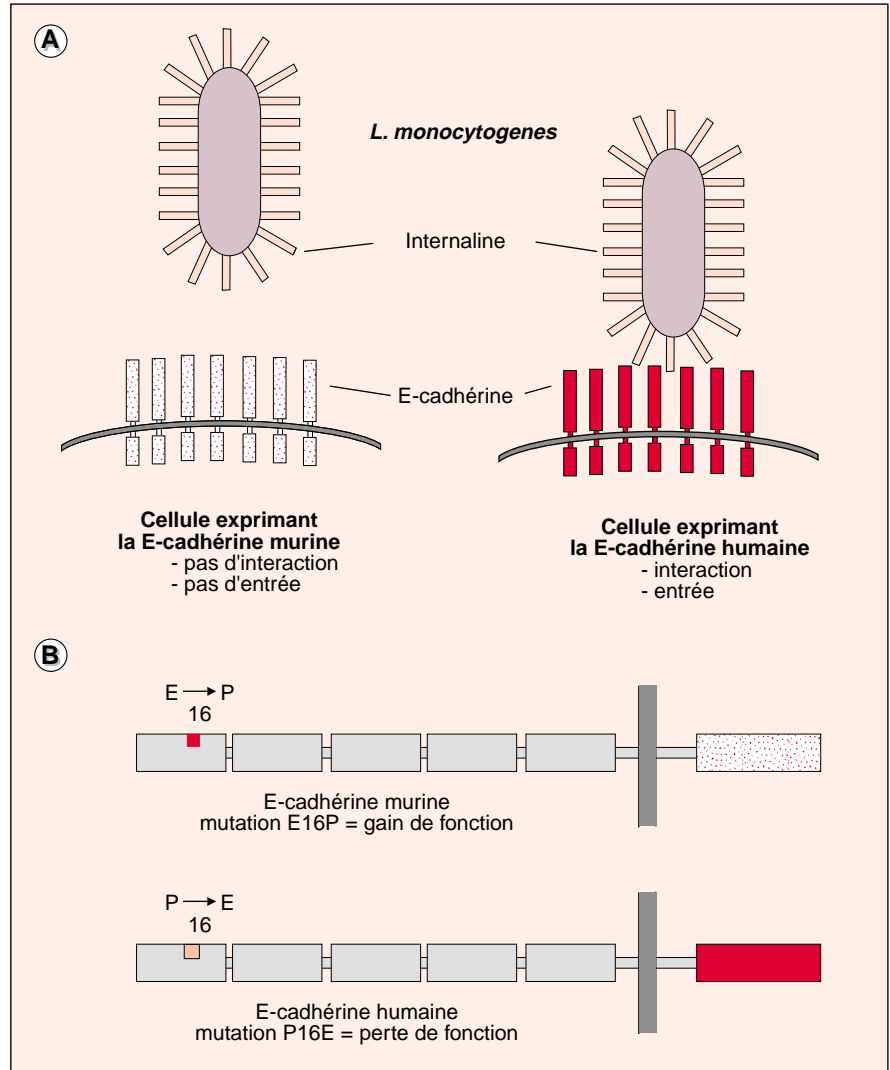


Figure 1. Structure primaire de la E-cadhérine murine et humaine et conséquences pour l'interaction avec *Listeria monocytogenes*. A. La E-cadhérine murine, contrairement à la E-cadhérine humaine, n'est pas reconnue par l'internaline. B. La mutation E16P au sein de la E-cadhérine murine permet l'interaction internaline-E-cadhérine. La mutation P16E au sein de la E-cadhérine humaine la rend non permissive pour l'interaction internaline-E-cadhérine.

l'une ou l'autre de ces protéines [4-7]. L'internaline, ou InlA, est nécessaire et suffisante pour permettre l'interna-

lisation des billes dans les cellules épithéliales humaines en culture telles que les cellules Caco-2. Dans de nom-

breux types cellulaires, l'internaline ne joue cependant aucun rôle. InlB permet aussi l'entrée de *Listeria monocytogenes*. Notre laboratoire a pu montrer que le tropisme de chacune de ces deux molécules d'invasion reflète la présence et la reconnaissance de récepteurs cellulaires différents. Le récepteur d'InlB est actuellement en cours d'identification et semble avoir une distribution quasi ubiquitaire. Le récepteur de l'internaline (ou InlA) est la E-cadhérine [8].

Spécificité de l'interaction de l'internaline avec son récepteur la E-cadhérine

Notre laboratoire a identifié la E-cadhérine comme récepteur de l'internaline par chromatographie d'affinité [7]. Des fibroblastes n'exprimant pas de E-cadhérine, et qui ne sont donc pas reconnus par l'internaline, permettent l'internalisation des billes lorsqu'ils sont transfectés avec l'ADNc codant pour la E-cadhérine [7]. Nos travaux récents démontrent l'existence d'une spécificité d'espèce d'une stringence inattendue pour l'interaction internaline-E-cadhérine [9]. En effet, si toutes les cellules d'origine humaine testées à ce jour et exprimant la E-cadhérine permettent l'entrée dans la cellule *via* l'internaline, aucune lignée d'origine murine et exprimant la E-cadhérine murine ne la permet. En transfectant une même lignée fibroblastique soit avec l'ADNc codant pour la E-cadhérine humaine, soit avec celui codant pour la E-cadhérine murine, nous avons pu définitivement établir que la E-cadhérine murine, contrairement à la E-cadhérine humaine, n'était pas reconnue par l'internaline (*figure 1A*) [9]. Ces résultats étaient assez imprévisibles car le degré d'identité entre ces protéines d'origine humaine et murine est de 85 %. Afin d'élucider les bases moléculaires de cette spécificité, nous avons produit une série de protéines hybrides et avons ainsi pu démontrer que la région responsable de la spécificité était le premier des cinq domaines extracellulaires de la E-cadhérine. Par mutagenèse dirigée, nous avons ensuite pu démontrer que la spécificité tenait à la nature d'un seul acide

aminé, le seizième, qui est un acide glutamique dans la E-cadhérine murine non reconnue par l'internaline, et une proline dans la E-cadhérine humaine reconnue par l'internaline (*figure 1B*) [9]. La structure tridimensionnelle de la E-cadhérine murine nous a révélé que la région responsable de la spécificité de l'interaction n'appartenait pas à la région impliquée dans l'interaction homophile E-cadhérine-E-cadhérine (*figure 2*). Cela suggère que des molécules de E-cadhérine pourraient simultanément interagir avec l'internaline et avec une autre molécule de E-cadhérine. Ces résultats, s'ils sont importants pour la compréhension du mode d'interaction entre l'internaline et la E-cadhérine au niveau moléculaire, ont aussi des conséquences pour l'étude du rôle de cette interaction *in vivo*. En effet, à ce jour, presque toutes les études visant à comprendre la physiopathologie de la listériose ont été menées dans le modèle murin, ce qui explique qu'aucun rôle de l'interaction internaline-E-cadhérine n'ait pu être mis en évidence dans ce modèle. Une espèce animale comme le cobaye, dont la E-cadhérine porte une proline en position 16 et est reconnue par l'internaline *in vitro*, semble en revanche constituer un modèle adéquat pour étudier le rôle de cette interaction [9], et fait actuellement l'objet d'études au laboratoire. Par ailleurs, l'obtention, en collaboration avec C. Babinet (Institut Pasteur, Paris, France) d'une lignée de souris transgéniques exprimant la E-cadhérine humaine offre un nouveau modèle d'étude du rôle de l'interaction de l'internaline avec son récepteur cellulaire au cours du processus infectieux, particulièrement au cours du franchissement des barrières intestinale, hémato-encéphalique et fœto-placentaire.

La spécificité des interactions hôtes-pathogènes, un facteur important dans l'étude de la physiopathologie des maladies infectieuses

Nombreux sont les exemples de spécificité d'interaction de ligands microbiens avec leur récepteur cellu-

laire, même si dans aucun des cas décrits, la spécificité ne semble tenir à la nature d'un unique acide aminé, comme c'est le cas pour l'interaction internaline-E-cadhérine. De nombreux virus à tropisme humain interagissent spécifiquement avec les cellules d'origine humaine, c'est le cas notamment des virus de l'immunodéficience humaine, de l'hépatite C, de

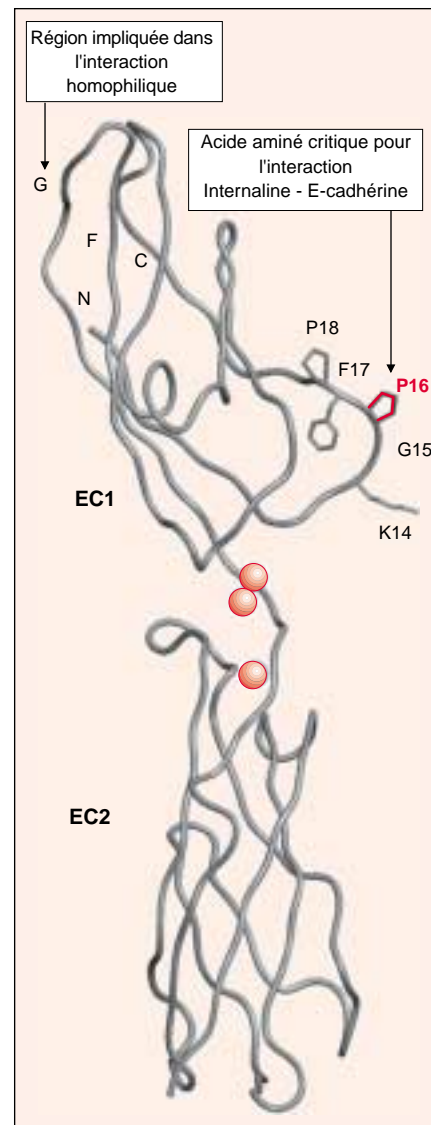


Figure 2. **Structure tridimensionnelle des premier et deuxième domaines de la E-cadhérine murine portant la mutation E16P.** La région responsable de la spécificité de l'interaction internaline-E-cadhérine est opposée à la région impliquée dans l'interaction homophile.

la poliomyélite ou de la rougeole. De tels exemples de spécificité ont aussi été rapportés pour des bactéries à tropisme strictement humain, qu'il s'agisse de l'entrée des *Neisseriae* dans les cellules, ou de l'action de la toxine diphtérique. Il semble donc que le tropisme d'hôte (ainsi que le tropisme d'organe) de nombreux micro-organismes soit la conséquence de la spécificité d'interactions moléculaires entre ligands microbiens et récepteurs cellulaires. Les cas les mieux étudiés sont ceux des virus de la poliomyélite et de la rougeole, deux virus non pathogènes pour l'espèce murine, mais qui le deviennent dans des lignées transgéniques exprimant leur récepteur humain (respectivement PVR et CD46) (*m/s 1999*, n° 12, p. 1458) [10, 11]. La mise en évidence de telles spécificités d'interaction et leur compréhension au niveau moléculaire, permettent ainsi non seulement de mieux comprendre sur un plan fondamental le mode d'interaction entre deux protéines, mais aussi de rendre compte de certaines données épidémiologiques (tropisme d'hôte), ou physiopathologiques (tropisme d'organe), et de développer des modèles animaux plus appropriés.

RÉFÉRENCES

1. Lorber B. Listeriosis. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 1-11.
2. Cossart P, Lecuit M. Interactions of *Listeria monocytogenes* with mammalian cells during entry and actin-based movement: bacterial factors, cellular ligands and signaling. *EMBO J* 1998; 17: 3797-806.
3. Menard R, Sansonetti PJ. Signaux moléculaires induisant l'entrée des bactéries entéropathogènes dans les cellules épithéliales: convergences et paradoxe. *Med Sci* 1996; 12: 465-73.
4. Gaillard JL, Berche P, Frehel C, Gouin E, Cossart P. Entry of *Listeria monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigens from Gram-positive cocci. *Cell* 1991; 65: 1127-41.
5. Dramsi S, Biswas I, Maguin E, Braun L, Mastroeni P, Cossart P. Entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes requires expression of InlB, a surface protein of the internalin multigene family. *Mol Microbiol* 1995; 16: 251-61.
6. Lecuit, M, Ohayon H, Braun L, Mengaud J, Cossart P. Internalin of *Listeria monocytogenes* with an intact leucine-rich repeat region is sufficient to promote internalization. *Infect Immun* 1997; 65: 5309-19.
7. Braun L, Ohayon H, Cossart P. The InlB protein of *Listeria monocytogenes* is sufficient to promote entry into mammalian cells. *Mol Microbiol* 1998; 27: 1077-87.
8. 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.
9. Lecuit MS, Dramsi C, Gottardi, Fredor-Chaiken M, Gumbiner B, Cossart P. A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity toward the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *EMBO J* 1999; 18: 3956-63.
10. Ren RB, Costantini F, Gorgacz EJ, Lee JJ, Racaniello VR. Transgenic mice expressing a human poliovirus receptor: a new model for poliomyelitis. *Cell* 1990; 63: 353-62.
11. Oldstone M, Lewicki H, Thomas D, et al. Measles virus infection in a transgenic model: virus-induced immunosuppression and central nervous system disease. *Cell* 1999; 98: 629-40.

Marc Lecuit

Pascale Cossart

Unité des interactions bactéries-cellules, Institut Pasteur, Paris, 28, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

Dynamique de la cellule vivante Xavier Ronot, Damien Schoevaert-Brossault Paris : Éditions INSERM, 1999

Le développement de la biologie a été longtemps dominé par une volonté de décrire la forme des cellules, des tissus, des organes... en éliminant toutes fluctuations d'ordre dynamique. Il s'agissait de donner, à partir d'observations de matériels fixés, une description essentiellement statique. Les outils issus de la dynamique qualitative et quantitative fournissent des points de vue complémentaires pour décrire le comportement de la cellule. Le couplage de l'analyse d'images et de la stimulation numérique devrait permettre d'élaborer des modèles plus «réalistes» de l'évolution de la forme.

Cet ouvrage, le premier en français, fait une synthèse des points forts et des questions d'actualité de la biologie cellulaire et moléculaire, liés à la dynamique de la cellule. Il met en lumière les enjeux et perspectives des différentes techniques d'acquisition et d'analyse destinées à caractériser la dynamique structurale et fonctionnelle de la cellule vivante.

Après une présentation des contraintes d'analyse de la cellule vivante, il s'organise en quatre sections : les techniques et modalités d'acquisition des séquences d'images ; l'interprétation qualitative et quantitative des séquences d'images ; l'apport de la modélisation ; les principales applications à l'échelle moléculaire, subcellulaire et cellulaire.

Public : étudiants, techniciens, ingénieurs, enseignants et chercheurs désireux de connaître les méthodes et les domaines d'application de l'analyse dynamique de la cellule vivante.

Prix : 390F