

Tropisme cellulaire des mycobactéries

Mycobacterium leprae est une bactérie dont le tropisme particulier pour le système nerveux périphérique est responsable des lésions caractéristiques de la lèpre. Comme M. tuberculosis, l'agent de la tuberculose, M. leprae a aussi une prédilection pour les macrophages. Des données récentes permettent de préciser les mécanismes par lesquels le bacille de la lèpre interagit spécifiquement avec les cellules de Schwann dans lesquelles il pénètre et se multiplie. Le phénol glycolipide-1 de la capsule de

M. leprae interagit avec la laminine-2 de la lame basale qui, à son tour, interagit avec la dystroglycane de la membrane des cellules de Schwann. Certains partenaires de ce complexe moléculaire pourraient représenter à terme de nouvelles cibles thérapeutiques.

De même, les mécanismes moléculaires impliqués dans le tropisme de M. tuberculosis pour les macrophages sont en cours d'élucidation et pourraient ouvrir de nouvelles perspectives dans la lutte contre la tuberculose.

La lèpre est une maladie infectieuse, chronique et contagieuse naturellement confinée à l'homme. La transmission de la maladie s'effectue principalement par contact direct entre le malade et le sujet sain ayant une lésion cutanée; de ce fait, le risque de contamination est 30 fois plus élevé pour une personne cohabitant avec un malade que pour le reste de la population. La lèpre est causée par *Mycobacterium leprae* ou bacille de Hansen, du nom de Gerhard Henrick Armauer Hansen qui, en 1873, affirmait un lien entre cette pathologie et un germe. Cependant, la communauté scientifique n'a reconnu la responsabilité de ce bacille dans le développement de la lèpre que lorsque le bacille de Koch, responsable de la tuberculose, a été identifié en 1882. Les études commencées quasi simultanément sur les deux bacilles ne se développèrent pas parallèlement en raison d'une différence essentielle: tandis que les microbiologistes ont très rapidement maîtrisé la culture de *Mycobacterium tuberculosis*, on est encore aujourd'hui, après d'innombrables

tentatives, à rechercher un milieu nutritionnel permettant de cultiver le bacille de Hansen, *M. leprae*.

La lèpre est une maladie à durée d'incubation longue (2-5 ans), très invalidante, non mortelle et curable, qui sévit encore dans le monde entier, à des degrés divers selon les continents. Les trois grands foyers de lèpre sont l'Afrique noire, la Chine et l'Asie Orientale, l'Inde et Madagascar [1]. Bien qu'il soit très difficile d'évaluer le nombre exact de malades lépreux dans le monde, l'Organisation Mondiale de la Santé l'estime à 2-3 millions. Il est vraisemblable que ces évaluations n'approchent la réalité que d'assez loin. Toujours selon l'OMS, environ 800 000 nouveaux cas ont été diagnostiqués en 1998 [2].

C'est la découverte d'animaux de laboratoire susceptibles à la lèpre, la souris puis le tatou à neuf bandes (*Dasyus novemcintus*), qui a mis à la disposition des chercheurs des quantités de bacilles plus compatibles avec le développement de leurs études que celles fournies par les lésions lépromateuses de la peau. Le modèle

de la souris a permis de résoudre plusieurs points comme le temps de génération du bacille (12-13 jours), le criblage de nouveaux médicaments, la vérification de leur efficacité et l'apparition de mutants résistants. Les limites expérimentales (durée de vie des souris inférieure au temps d'incubation de la maladie, peu de bactéries récoltées dans les coussinets plantaires) ont, toutefois, suscité la recherche d'un meilleur modèle d'étude. Le choix s'est alors porté sur le tatou, animal naturellement immunodéprimé qui développe douze à quinze mois après l'infection une forme sévère de la maladie qui rappelle la lèpre humaine.

Le tropisme de *Mycobacterium leprae* pour le système nerveux périphérique

Dans la plupart des cas, l'immunité cellulaire parvient à éliminer *M. leprae* sans qu'aucun symptôme clinique n'apparaisse [3]. Chez les individus susceptibles, la lèpre résulte d'une infection des nerfs périphériques. Même lorsque des lésions de

la peau sont visibles, les bactéries s'accumulent en réalité au niveau des nerfs périphériques, entraînant une perte sensorielle caractéristique des lésions de la peau. La perte sensorielle affecte également les pieds et les mains et c'est en raison de l'anesthésie totale des extrémités que des blessures et des brûlures surviennent. Elles sont la cause des traumatismes observés chez les lépreux. Enfin, la perte de la motricité est due à la perte de la fonction musculaire.

Il a été clairement établi que *M. leprae* a un tropisme pour le système nerveux périphérique, en particulier pour les cellules de Schwann dans lesquelles le bacille pénètre et se multiplie (figure 1) [2]. Les nerfs périphériques comprennent des unités cellule de Schwann/axone myélinisé ou axones non myélinisés. Ces cellules gliales sont incapables de tuer la bactérie et leur accès aux antibiotiques est restreint du fait de la barrière sang-nerf. On retrouve également *M. leprae* dans les macrophages qui ont migré depuis le sang jusqu'à l'espace périneural. La destruction des cellules de Schwann a pour conséquence celle des fibres nerveuses qu'elles entourent. Les cellules de Schwann ne sont pas seulement tuées par l'invasion des bactéries mais aussi par le biais de la

réponse immunitaire impliquant des lymphocytes T cytotoxiques [3]. La compréhension des mécanismes par lesquels *M. leprae* envahit spécifiquement le système nerveux représente ainsi un des enjeux majeurs pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

L'enveloppe externe de *M. leprae*

M. leprae, comme toutes les autres mycobactéries, possède une enveloppe (membrane plasmique, paroi et capsule) très originale et de composition complexe [4]. Si la membrane plasmique composée de phospholipides et de protéines ressemble à celle des autres cellules, la paroi mycobactérienne est une entité unique. Elle est formée d'un peptidoglycane lié de façon covalente à un polysaccharide exotique l'arabinogalactane [5] qui est lui-même lié de façon covalente aux acides mycoliques, acides gras à très longues chaînes (de 60 à 90 atomes de carbone), α -ramifiés et β -hydroxylés [4]. Cette paroi est entourée d'une capsule de polysaccharides et de protéines, très riche en lipides dans le cas de *M. leprae* [4]. En raison de leur localisation à l'interface entre les bacilles et les cellules de l'hôte, les constituants capsulaires jouent certai-

nement un rôle important dans le processus infectieux.

M. leprae interagit avec la laminine-2 de la lame basale...

Les mécanismes moléculaires à la base du tropisme de *M. leprae* pour les cellules de Schwann ont été compris récemment [6-8]. Les unités cellule de Schwann/axones sont couvertes par une lame basale (figure 1) constituée de protéines de la matrice extracellulaire telles que les laminines, le collagène de type IV, des protéoglycanes à héparane sulfate. Les laminines sont des glycoprotéines composées de trois chaînes α , β , γ qui s'assemblent pour former 11 isoformes distinctes. Dans la lame basale qui couvre les cellules de Schwann, la forme prédominante est la laminine-2 qui est composée des chaînes $\alpha 2$, $\beta 1$ et $\gamma 1$ [9]. Cette configuration n'est pas retrouvée dans le système nerveux central. Les cellules de Schwann des axones myélinisés et non myélinisés sécrètent les protéines constituant la lame basale et par conséquent la laminine-2. La liaison de *M. leprae* à la laminine-2 est inhibée par la laminine-2 purifiée [7] et *M. leprae* n'adhère pas aux nerfs périphériques de souris n'exprimant pas la chaîne $\alpha 2$ de la laminine 2 [7]. Contrairement aux chaînes $\beta 1$ et $\gamma 1$ qui sont exprimées dans différents types cellulaires, l'expression de la chaîne $\alpha 2$ est restreinte aux cellules de Schwann et aux cellules musculaires [3]. Ainsi, si le tropisme neuronal de *M. leprae* est déterminé par la chaîne $\alpha 2$, on peut s'attendre à ce que le domaine reconnu ait peu d'homologie avec les autres chaînes α . En exprimant des fragments de la chaîne $\alpha 2$ humaine, l'équipe de Rambukkana [7] a en effet montré que *M. leprae* s'associe au domaine G situé dans la partie carboxy-terminale de la protéine $\alpha 2$, mais pas à celui de la chaîne $\alpha 1$ dont la séquence est très divergente.

... qui interagit avec la dystroglycane membranaire de la cellule de Schwann

Une fois *M. leprae* « opsonisée » par la laminine $\alpha 2$, elle s'associe aux complexes α/β dystroglycane qui jouent

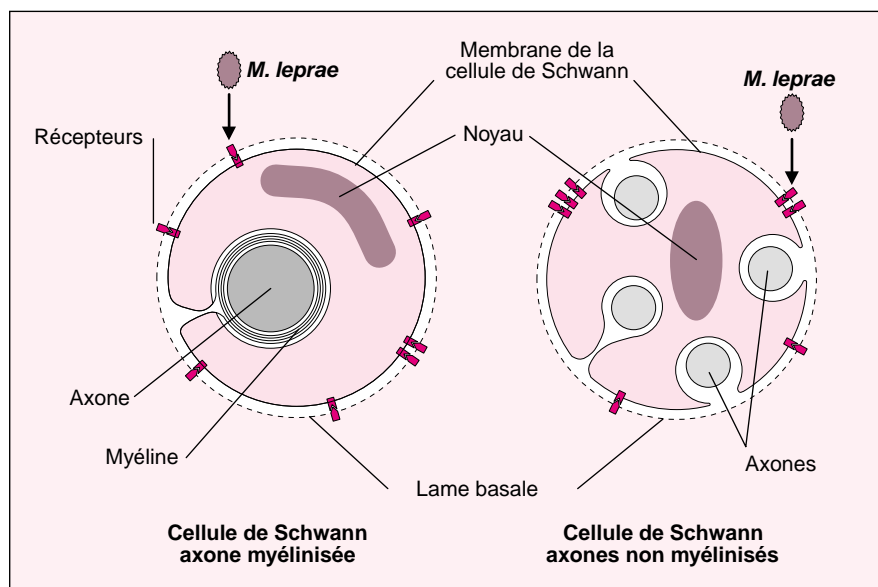


Figure 1. Interaction entre *M. leprae* et la lame basale qui entoure les cellules de Schwann d'axones myélinisés et non myélinisés.

le rôle de récepteurs à la surface des cellules de Schwann [8]. La dystroglycane est une protéine fortement glycosylée qui appartient au complexe dystrophine-glycoprotéine impliqué dans la pathogenèse de la dystrophie musculaire. Les dystroglycane des cellules de Schwann sont codées par un ARNm unique. Les sous-unités α - et β -dystroglycane résultent du clivage de la protéine initiale, la sous-unité α correspond à la partie extracellulaire, la sous-unité β à la portion transmembranaire et les 2 sous-unités sont associées. L'opsonisation de *M. leprae* avec le domaine G de la chaîne $\alpha 2$ de la laminine-2 est suffisant pour que l'association avec l' α -dystroglycane s'effectue, le domaine G faisant un pont entre la mycobactérie et le récepteur (figure 2) [8]. Il semble que la présence d'acide sialique sur l' α -dystroglycane soit nécessaire à la liaison de la laminine 2 [10]. Il faut

cependant préciser que la présence de la sous-unité α -dystroglycane purifiée ne suffit pas à déplacer totalement la liaison de *M. leprae* recouverte du domaine G recombinant de la chaîne $\alpha 2$ de la laminine-2, ce qui suggère la participation d'autre(s) récepteur(s) à la surface des cellules de Schwann [8]. Ainsi, des intégrines capables de lier la laminine-2 et/ou une protéine de 25 kDa, partiellement purifiée à partir de nerfs périphériques et qui se lie directement à *M. leprae*, pourraient être des candidats récepteurs [11].

Le rôle essentiel des phénol glycolipides de la capsule de *M. leprae*

Naturellement, les molécules à la surface de *M. leprae* qui lient la laminine-2 ont une importance cruciale dans le mécanisme moléculaire à la base du tropisme de cette bactérie pour les

cellules de Schwann. Pour expliquer la prédilection du bacille de Hansen pour le système nerveux périphérique, une protéine de 21-kDa capable de lier la laminine-2, la ML-LBP21, a été récemment isolée [12]. Cependant, des protéines présentant de fortes homologues avec la ML-LBP21 existent aussi chez *M. tuberculosis* [13] et *M. smegmatis* [14], deux espèces ne présentant pas de tropisme pour les cellules de Schwann. Ceci suggère l'existence de ligands spécifiquement exprimés à la surface de *M. leprae*.

Parmi les constituants majeurs de la capsule de *M. leprae*, figure une famille de glycolipides, les phénol glycolipides (PGL), qui représentent jusqu'à 2 % de la masse bactérienne. A ce jour, les molécules de cette famille ont été identifiées chez huit espèces mycobactériennes, toutes pathogènes à l'exception de *M. gastri* [4]. La partie lipidique des PGL comporte un alcool à longue chaîne (de 34 à 36 atomes de carbone), le phénol phtiocérol dont la fonction β -diol est estérifiée par des acides gras portant des substituants méthyles (figure 3). La spécificité d'espèce des PGL est conférée par leur partie oligosaccharidique qui peut comporter de un à quatre sucres [15] ; ces derniers sont généralement des (désoxy) sucres O-méthylés ou des didésoxy-sucres rares dont la présence et l'enchaînement dans l'oligosaccharide confèrent aux PGL leur caractère antigénique [15]. Dans le cas de *M. leprae*, le trisaccharide du PGL majoritaire (PGL-1) [16] est formé d'un résidu 3,6-di-O-méthyl glucosyle, lié par son carbone anomérique à l'hydroxyle 4 d'une unité de 2,3-di-O-méthyl rhamnosyle, elle-même liée à l'hydroxyle en position 2 d'un résidu de 3-O-méthyl rhamnosyle. Un trisaccharide, composé lui-même de deux résidus rhamnosyles O-méthylés mais aussi d'une unité fucopyranosyle tri-O-méthylée, est retrouvé dans le PGL majoritaire de certaines souches de *M. tuberculosis* [17] (figure 3). Le PGL-1 a été le plus étudié des PGL ; en plus de son intérêt pour le sérodiagnostic de la forme la plus grave de la lèpre, la lèpre multibacillaire, de nombreuses propriétés biologiques lui ont été

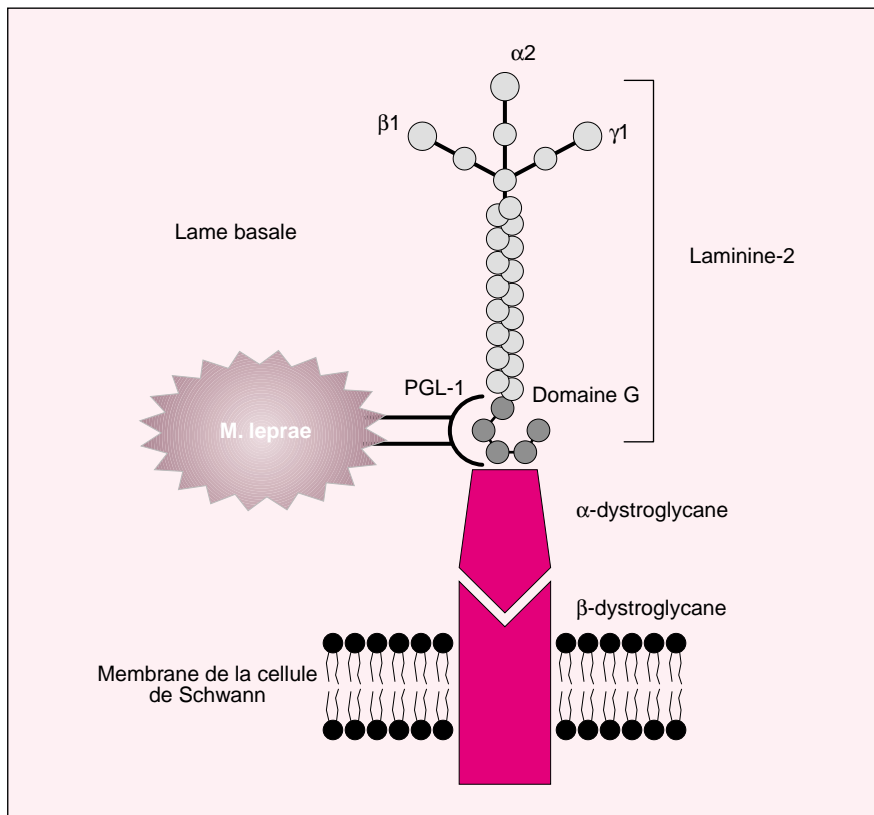


Figure 2. **Modèle moléculaire de l'association de *M. leprae* avec les cellules de Schwann.** Le phénol glycolipide (PGL-1) de *M. leprae* se fixe au domaine G de la chaîne α de la laminine-2 de la lame basale, qui interagit avec la sous-unité α du récepteur dystroglycane de la cellule de Schwann.

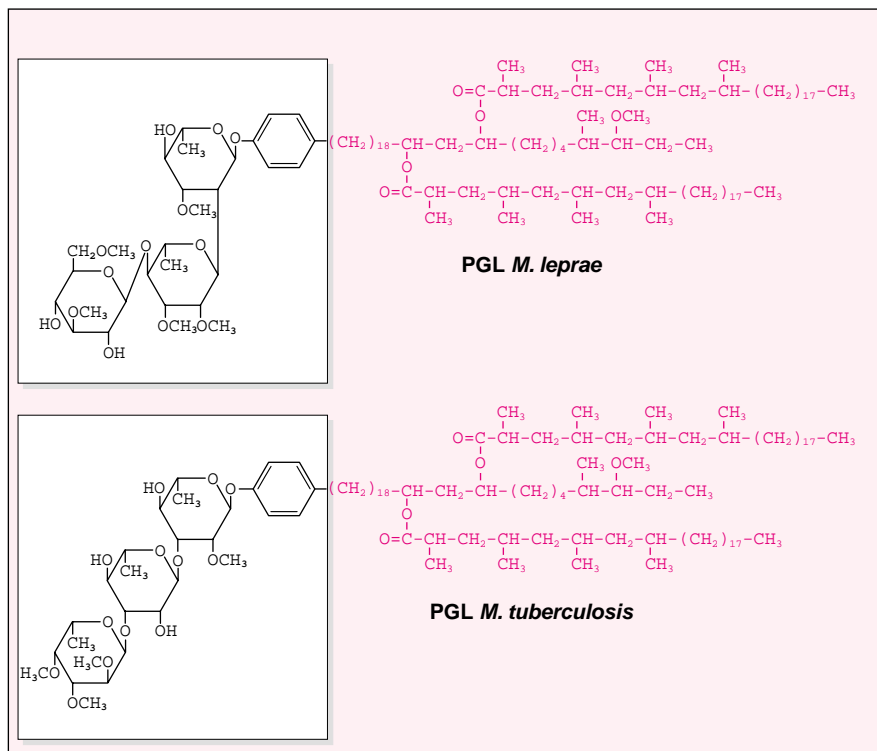


Figure 3. Les **phénol glycolipides (PGL)** des **mycobactéries**. Les PGL des mycobactéries contiennent une partie lipidique commune aux différentes espèces, et une partie oligosaccharidique qui confère la spécificité d'espèce. Le trisaccharide du PGL-1 de *M. leprae* contient un résidu 3,6-di-O-méthyl glucosyle, un résidu 2,3-di-O-méthyl rhamnosyle, et un résidu de 3-O-méthyl rhamnosyle. Le PGL majoritaire *M. tuberculosis* est composé d'une unité fucopyranosyle tri-O-méthylée et de deux résidus rhamnosyles O-méthylés.

attribuées [18]. L'abondance relative du PGL-1 et sa localisation à la surface de *M. leprae* ont amené Rambukkana *et al.* [6] à tester son rôle dans l'interaction du bacille avec les cellules de Schwann. Parmi toutes les protéines de matrices extracellulaires humaines testées, ces auteurs ont d'abord montré que PGL-1 a une affinité toute particulière pour la laminine-2. La partie trisaccharidique du PGL-1 est responsable de cette liaison. En effet, le PGL de *M. bovis*, qui partage avec le PGL-1 de *M. leprae* et celui de *M. tuberculosis* la même partie lipidique, mais diffère dans sa partie glucidique, ne s'associe pas à la laminine-2. En outre, une glycoprotéine d'hémisynthèse dans laquelle la partie lipidique du PGL-1 a été remplacée par l'albumine bovine, présente une affinité pour la laminine-2 comparable à celle du gly-

colipide natif. Au contraire, l'absence du résidu terminal de sucre du PGL-1 (le 3,6-di-O-méthyl glucosyle) suffit pour abolir son interaction spécifique avec la laminine-2. La mesure de l'affinité du PGL-1 avec chacun des cinq domaines constitutifs du domaine G de la sous-unité α de la laminine-2 a permis de montrer que le PGL-1 se lie préférentiellement aux domaines G1, G4 et G5. Des billes recouvertes de PGL-1 s'associent à la membrane des cellules de Schwann et sont internalisées, mimant ainsi l'internalisation de *M. leprae* vivant ou inactivé par sa cellule hôte. Enfin, la préincubation des billes recouvertes de PGL-1 avec la laminine-2 augmente de façon significative leur ingestion par une lignée de cellules de Schwann qui n'exprime pas la laminine-2. Ainsi l'interaction spécifique du PGL-1

de *M. leprae* avec la laminine-2 de la membrane basale, elle-même reconnue par la dystroglycane de la cellule hôte, explique le tropisme cellulaire de *M. leprae* pour les cellules de Schwann.

À l'image de *M. tuberculosis*, le tropisme cellulaire de *M. leprae* porte aussi sur les macrophages

Pour rejoindre les cellules de Schwann, *M. leprae* doit tout d'abord traverser l'endothélium et les tissus conjonctifs. Or, cette bactérie n'ayant pas de capacité locomotrice, il est possible que le transport soit pris en charge par les macrophages [2]. Dans le cas de *M. tuberculosis*, le tropisme cellulaire porte sur les macrophages. Quels sont les mécanismes moléculaires impliqués dans le tropisme pour les macrophages? On sait que la phagocytose de *M. tuberculosis* par les macrophages alvéolaires n'implique vraisemblablement pas les opsonines du sérum (immunoglobulines et complément) qui sont en très faible quantité dans le poumon. Plusieurs récepteurs semblent participer à la phagocytose non opsonique des mycobactéries sans que, pour le moment, une hiérarchie d'utilisation de tel récepteur par rapport à tel autre ait été établie. Le récepteur au mannose semble toutefois le meilleur candidat dans la mesure où son expression est restreinte aux macrophages et son implication dans l'internalisation des mycobactéries clairement démontrée [19, 20]. Alors que les macrophages sont des cellules généralement capables de tuer les microorganismes qu'ils phagocytent, il faut noter que, paradoxalement, les mycobactéries les ont choisis comme cellules hôtes. Au cours de la phagocytose des mycobactéries, les réponses bactéricides précoces ne sont pas activées (production de dérivés toxiques de l'oxygène par activation de la NADPH oxydase et fusion des lysosomes avec les phagosomes) [20-22]. Le fait que l'entrée de particules de latex mannosylées *via* le récepteur du mannose n'entraîne pas l'activation des réponses bactéricides renforce l'idée que ce récepteur constitue une voie d'entrée privilégiée

pour les mycobactéries [20]. Le récepteur 3 du complément (CD11b/CD18) a également été impliqué dans la phagocytose non-opsone des mycobactéries pathogènes [23, 24] et, comme le récepteur au mannose, celui-ci n'entraîne pas l'activation de la NADPH oxydase [24]. Le récepteur CD14 a également été proposé [25]. Il s'agit d'une protéine associée à la membrane des macrophages par une ancre glycosylphosphatidylinositol qui doit vraisemblablement s'associer à des protéines transmembranaires pour transmettre une signalisation intracellulaire, notamment vers le cytosquelette, étape nécessaire au déclenchement du processus de phagocytose. CD14, au même titre que d'autres récepteurs à ancre glycosylphosphatidylinositol, a été récemment impliqué dans la phagocytose des mycobactéries lorsqu'il est associé au récepteur 3 du complément [26]. Cette association s'effectue probablement dans les microdomaines de la membrane plasmique puisque la phagocytose des mycobactéries est inhibée par la déplétion des membranes en cholestérol [26]. Les récepteurs TLR (*Toll-like receptor*) (*m/s 2000, n°12, p. 1439*) et le récepteur au mannose sont d'autres partenaires potentiels de la signalisation de CD14 [27, 28]. Contrairement au récepteur au mannose, les protéines CD14, TLR et CR3 sont exprimées sur d'autres types de phagocytes que le macrophage. Toutefois le temps de multiplication des mycobactéries étant supérieur à la durée de vie de ces phagocytes, en particulier des neutrophiles, ils ne constituent pas des cellules hôtes. Ainsi, même si certains de ces récepteurs sont communs aux phagocytes, c'est seulement dans les macrophages que les mycobactéries peuvent trouver leur niche de réplication. Bien que certaines molécules obtenues à partir d'extraits de l'enveloppe des mycobactéries aient été décrites comme des ligands de récepteurs mentionnés ci-dessus, aucun de ces ligands n'a été formellement identifié à la surface des mycobactéries et donc comme intermédiaire potentiel entre la bactérie et le récepteur des macrophages.

Conclusions

L'invasion des cellules de Schwann par *M. leprae* représente une étape cruciale dans les dommages nerveux qui entraînent les infirmités caractéristiques des lépreux et l'horreur liée à cette maladie. Actuellement, plus d'un quart des patients lépreux dans le monde présente des invalidités physiques. Bien que des multithérapies d'environ 6 à 12 mois permettent généralement de traiter la lèpre, elles permettent seulement à un tiers des patients de sortir indemnes de lésions nerveuses. Une des stratégies retenues est de détecter et de traiter la lèpre à des stades très précoces afin de prévenir les atteintes neurologiques; une autre stratégie consiste à identifier les mécanismes impliqués dans le tropisme de *M. leprae* pour les macrophages et les cellules de Schwann afin de développer de nouvelles approches thérapeutiques visant à empêcher l'infection de ces cellules ■

RÉFÉRENCES

1. Languillon J. La lèpre. *Acta Leprologica* 1978; 71-72: 1-168.
2. Haimanot R, Melaku Z. Leprosy. *Curr Opin Neurol* 2000; 13: 317-22.
3. Spierings E, Boer T, Zuliano L, Ottenhoff T. Novel mechanisms in the immunopathogenesis of leprosy nerve damage: the role of Schwann cells, T cells and *Mycobacterium leprae*. *Immunol Cell Biol* 2000; 78: 349-55.
4. Daffé M, Draper P. The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. *Adv Microbial Phys* 1998; 39: 131-203.
5. Daffé M, Brennan PJ, McNeil M. Major structural features of the cell wall arabinogalactans of *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, and *Nocardia* spp. *Carbohydr Res* 1993; 249: 383-98.
6. Ng V, Zanazzi G, Timpl R, Talts JF, Salzer JL, Brennan PJ, Rambukkana A. Role of the cell wall phenolic glycolipid-1 in the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Cell* 2000; 103: 511-24.
7. Rambukkana A, Salzer JL, Yurchenco PD, Tuomanen EI. Neural targeting of *Mycobacterium leprae* mediated by the G domain of the laminin-alpha2 chain. *Cell* 1997; 88: 811-21.

8. Rambukkana A, Yamada H, Zanazzi G, et al. Role of alpha-dystroglycan as a Schwann cell receptor for *Mycobacterium leprae*. *Science* 1998; 282: 2076-9.
9. Timpl R., Brown J. The laminins. *Matrix Biol* 1994; 14: 275-81.
10. Chiba A, Matsumura K, Yamada H, et al. Structures of sialylated O-linked oligosaccharides of bovine peripheral nerve alpha-dystroglycan. The role of a novel O-mannosyl-type oligosaccharide in the binding of alpha-dystroglycan with laminin. *J Biol Chem* 1997; 272: 2156-62.
11. Suneetha LM, Satish PR, Suneetha S, Job CK, Balasubramanian AS. *M. leprae* binds to a 25-kDa phosphorylated glycoprotein of human peripheral nerve. *Neurochem Res* 1997; 23: 907-11.
12. Shimoji Y, Ng V, Matsumura K, Fischetti VA, Rambukkana A. A 21-kDa surface protein of *Mycobacterium leprae* binds peripheral nerve laminin-2 and mediates Schwann cell invasion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 96: 9857-62.
13. Prabhakar S, Annapurna PS, Jain NK, Dey AB, Tyagi JS, Prasad HK. Identification of an immunogenic histone-like protein (HLPMT) of *Mycobacterium tuberculosis*. *Tub Lung Dis* 1998; 79: 43-53.
14. Pethe K, Puech V, Daffé M, et al. *Mycobacterium smegmatis* laminin-binding glycoprotein shares epitopes with *Mycobacterium tuberculosis* heparin-binding haemagglutinin. *Mol Microbiol* 2001; 39: 89-99.
15. Daffé M, Lemassu A. Glycomicrobiology of the mycobacterial cell surface: structure and biological activities of the cell envelope glycoconjugates. In : Doyle RJ, ed. *Glycomicrobiology*. New York : Plenum Press 2000; 225-73.
16. Hunter SW, Fujiwara T, Brennan PJ. Structure and antigenicity of the major specific glycolipid antigen of *Mycobacterium leprae*. *J Biol Chem* 1982; 257: 15072-8.
17. Daffé M, Lacave C, Lanéelle M-A, Lanéelle G. Structure of the major triglycosyl phenol-phthiocerol of *Mycobacterium tuberculosis* (strain Canetti). *Eur J Biochem* 1987; 167: 155-60.
18. Gaylord H, Brennan PJ. Leprosy and the leprosy bacillus: recent developments in characterization of antigens and immunology of the disease. *Am Rev Microbiol* 1987; 41: 645-75.
19. Schlesinger L S. 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.
20. Astarie-Dequeker C, N'Diaye EN, Le Cabec V, et al. The mannose receptor mediates uptake of pathogenic and nonpathogenic mycobacteria and bypasses bactericidal responses in human macrophages. *Infect Immun* 1999; 67: 469-77.

RÉFÉRENCES

21. Armstrong, d'Arcy Hart. Response of cultured macrophages to *Mycobacterium tuberculosis* with observations on fusion of lysosomes with phagosomes. *J Exp Med* 1971 ; 134: 713-20.
22. N'Diaye EN, Darzacq X, Astarie-Dequer C, Daffé M, Calafat J, Maridonneau-Parini I. Fusion of azurophil granules with phagosomes and activation of the tyrosine kinase Hck are specifically inhibited during phagocytosis of mycobacteria by human neutrophils. *J Immunol* 1998 ; 161 : 4983-91.
23. Cywes C, Hoppe HC, Daffé M, Ehlers MR. Nonopsonic binding of *Mycobacterium tuberculosis* to complement receptor type 3 is mediated by capsular polysaccharides and is strain dependent. *Infect Immun* 1997 ; 65 : 4258-66.
24. Le Cabec V, Cols C, Maridonneau-Parini I. Nonopsonic phagocytosis of zymosan and *Mycobacterium kansasii* by CR3 (CD11b/CD18) involves distinct molecular determinants and is or is not coupled with NADPH oxidase activation. *Infect Immun* 2000 ; 68 : 4736-45.
25. Dziarski R, Ulmer AJ, and Gupta D. Interactions of CD14 with components of gram-positive bacteria. *Chem Immunol* 2000 ; 74 : 83-107.
26. Peyron P, Bordier C, N'Diaye EN, Maridonneau-Parini I. Nonopsonic phagocytosis of *Mycobacterium kansasii* by human neutrophils depends on cholesterol and is mediated by CR3 associated with glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins *J Immunol* 2000 ; 165 : 5186-91.
27. 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.
28. Muzio M, Mantovani A. Toll-like receptors. *Microbes Infect* 2000 ; 2 : 251-5.

Isabelle Maridonneau-Parini
Mamadou Daffé

Institut de pharmacologie et de biologie structurale, Cnrs UMR 5089. 205, route de Narbonne. 31077 Toulouse Cedex, France.
maridono@ipbs.fr