



**HAL**  
open science

## Le macrophage: chef d'orchestre de l'immunité anti-tuberculeuse.

M Haoues, M Essafi

► **To cite this version:**

M Haoues, M Essafi. Le macrophage: chef d'orchestre de l'immunité anti-tuberculeuse.. Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 2012, 89 (1-4), pp.3-21. pasteur-01117533

**HAL Id: pasteur-01117533**

**<https://riip.hal.science/pasteur-01117533>**

Submitted on 17 Feb 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

---

# LE MACROPHAGE: CHEF D'ORCHESTRE DE L'IMMUNITE ANTI-TUBERCULEUSE.

M. HAOUES<sup>1,2</sup> ET M. ESSAFI<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Transmission, Contrôle et Immunobiologie des Infections, Institut Pasteur de Tunis, 13 Place Pasteur BP74, 1002 Tunis-belvédère, Tunisie. Institut Pasteur de Tunis, LTCII LR11IPT02, Tunis, 1002, Tunisia.

<sup>2</sup> Université Tunis El Manar, Tunis, 1068, Tunisia

\* Auteur correspondant: E-mail: makram.essafi@pasteur.rns.tn.

---

## RESUME

Avec près de huit millions de personnes atteintes et deux millions de décès chaque année, la tuberculose reste un problème majeur de santé à l'échelle mondiale. La faible protection conférée par le seul vaccin disponible, le Bacille de Calmette et Guérin (BCG), et l'émergence de souches multi-résistantes aux antibiotiques ainsi que l'avènement du SIDA, sont les trois causes principales qui ont contribué à l'augmentation de l'incidence de la tuberculose lors de la dernière décennie. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'entre les années 2000 et 2020, près d'un milliard de personnes seront nouvellement infectées par *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), l'agent étiologique de la tuberculose, 200 millions d'entre elles développeront la maladie et parmi ceux-ci 35 millions mourront si aucune amélioration n'est apportée dans le contrôle de cette infection. Une telle amélioration nécessite un accroissement de nos connaissances de la physiopathologie de cette maladie très complexe et en particulier une meilleure compréhension des interactions qui existent entre les mycobactéries et notre système immunitaire. Le macrophage alvéolaire (MØA) constitue la première barrière immunologique qui s'oppose aux mycobactéries et joue un rôle déterminant dans le devenir de l'infection. En plus de sa fonction de reconnaissance et d'élimination immédiate des bacilles par phagocytose et sécrétion de produits microbicides, le MØA activé est extrêmement important dans l'orchestration de la réponse immunitaire et l'établissement d'une réponse spécifique assurée par les lymphocytes T. Cette revue résume l'état de connaissance actuels des mécanismes déployés par le macrophage afin de contenir l'infection par Mtb avec une focalisation sur l'apoptose comme moyen de lutte contre ce pathogène. Nous décrivons de même les outils qu'a pu développer la

---

## ABSTRACT

With nearly eight million new cases each year and two million deaths, tuberculosis (TB) remains a major health problem worldwide. The limited protection afforded by the only available vaccine, Bacille Calmette-Guerin BCG, and the emergence of multi-resistant strains to antibiotics along with the advent of AIDS, are three main causes that contributed to the increase of TB incidence during the last decade. The World Health Organization (WHO) estimates between 2000 and 2020, nearly one billion people will be newly infected with *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), the causative agent of tuberculosis, and 200 millions of them will develop the disease, of which 35 million will die if there is no improvement in controlling infection. Such improvement requires an increase in our knowledge of the fundamental biology of this very complex disease and in particular a better understanding and characterization of the types of interactions between mycobacteria and the immune system. The alveolar macrophage (MØA), the first immunological barrier that opposes the mycobacteria, plays a key role in the evolution of infection. In addition to the recognition and immediate elimination of the bacteria by phagocytosis and secretion of microbicidal products, MØA is extremely important in orchestrating the immune response and the establishment of a specific response provided by T cells. This review summarizes the state of our knowledge about the mechanisms deployed by the macrophage to contain Mtb infection with a focus on apoptosis as an innate immune response against this pathogen. We also describe the mechanisms developed by Mtb, during its coexistence with

*mycobactérie, au cours de sa coexistence avec l'homme, pour échapper aux réponses macrophagiques.*

**Mots-clés :** Tuberculose, mycobactérie, macrophage, apoptose, voies de signalisations, FOXO3a.

*humans, in order to escape the macrophage response.*

**Key words :** Tuberculosis, mycobacteria, macrophage, apoptosis, signaling pathways, FOXO3a.

## INTRODUCTION

La tuberculose est la plus vieille de toutes les maladies identifiables dans l'histoire. Elle a touché l'humanité depuis la préhistoire, comme l'ont montré des études archéologiques dans diverses parties du monde<sup>1</sup>. Si elle avait déjà été très bien décrite du temps d'Hippocrate, il a fallu attendre 1882 pour que Robert KOCH découvre le microbe responsable de cette terrible maladie dont on connaissait, par ailleurs, le caractère contagieux. Ce microbe a été dénommé le bacille de Koch, en l'honneur à celui qui l'a mis en évidence. La tuberculose devient un véritable fléau à la fin du 18<sup>ème</sup> et au début du 19<sup>ème</sup> siècle. En 1924, Albert CALMETTE et Alfonse GUERIN ont mis au point un vaccin contre la tuberculose reposant sur l'injection de bacilles tuberculeux vivants mais de virulence atténuée appelé "Bacille de Calmette et Guérin" ou « BCG ». Ce vaccin a été employé pour la première fois en 1921 et marqua une étape importante dans la lutte contre la tuberculose. En 1944, WAKSMAN, un microbiologiste américain, a découvert le premier antibiotique actif contre le bacille tuberculeux, la streptomycine. D'autres médicaments spécifiques furent découverts dans les 20 années qui suivirent. Avec l'amélioration de l'hygiène dans les pays industrialisés, on a vu décroître le nombre de tuberculeux. Cette décroissance s'est accélérée avec l'utilisation de la streptomycine et d'autres antituberculeux laissant croire à la fin de l'endémie tuberculeuse dans les années 80<sup>2</sup>. Cependant, en 1990, l'OMS a déclaré que la tuberculose était encore responsable de 3 millions de décès dans le monde avec une atteinte de l'ordre de 8 millions de nouveaux cas chaque année<sup>3</sup>. En Tunisie, l'incidence nationale qui était estimée, en 1975, à 58,3 cas pour 100 000 habitants, a diminué jusqu'à 24 cas. Cette diminution est le fruit d'une vaccination obligatoire et généralisée par le vaccin BCG et ce depuis 1959. De plus, depuis 1999, la Tunisie a implémenté la stratégie DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course) et a fait partie des pays qui ont atteint les objectifs de cette stratégie en assurant la détection de plus de 70 % des cas

de tuberculose et la guérison de plus de 85 % des patients<sup>4</sup>. Toutefois, malgré tous les efforts déployés en matière de lutte antituberculeuse dans notre pays, l'incidence de cette maladie n'a pas pu être ramenée à celle des pays développés (< 10 cas par 100000 habitants) et représente toujours un problème de santé publique. L'ampleur de l'épidémie mondiale de la tuberculose exige ainsi une action urgente et efficace afin de contrôler cette maladie. L'approfondissement des connaissances que nous avons des interactions que développe l'agent pathogène avec notre système immunitaire est indispensable pour disséquer les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la "réussite" de cette bactérie et qui permettrait de la contrer.

Notre groupe s'intéresse particulièrement à l'étude des réponses développées contre Mtb par le macrophage humain, chef d'orchestre coordonnant toute réaction immunitaire efficace contre ce pathogène (90% des cas)<sup>5</sup>. Nous résumons dans cette revue les réponses développées par cette cellule afin de contenir l'infection par Mtb avec un intérêt particulier pour l'apoptose. Nous nous attacherons également à décrire les outils développés par ce pathogène, au cours de l'évolution, pour contourner les réponses macrophagiques.

## LA PATHOGENESE DE LA TUBERCULOSE

Mycobactérium tuberculosis (Mtb), agent de la tuberculose, pénètre l'organisme par la voie respiratoire (Figure 1) et constitue un pathogène aérobique obligatoire ayant des préférences pour le tissu pulmonaire riche en oxygène. Il s'agit d'une bactérie intracellulaire facultative à croissance lente (Temps de génération : 20h), dont les formes virulentes sont capables de survivre et de croître dans les macrophages. La structure de sa paroi est très riche en lipides, ce qui expliquerait sa résistance aux stress chimiques, hydriques et à de nombreux antibiotiques généralement hydrophobes qui ne peuvent de ce fait atteindre leurs sites d'action. Mtb est un microorganisme présentant une contagiosité impor-

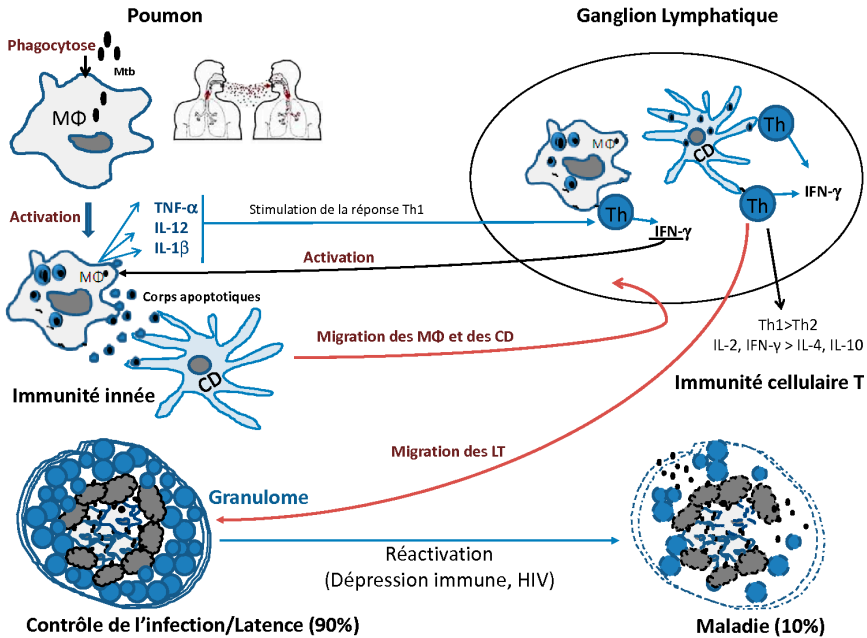
tante. Sa transmission est essentiellement interhumaine et se fait quasi exclusivement par voie aérienne. En effet, lorsqu'une personne, atteinte de tuberculose pulmonaire excavée, tousse ou éternue, de minuscules (1 à 5  $\mu$  de diamètre) gouttelettes (gouttelettes de Flügge) contenant les germes sont aérosolisées. Après évaporation, la partie sèche de ces gouttelettes reste en suspension de manière prolongée dans l'air et peut être inhalées par toute personne se trouvant à proximité<sup>6</sup>. L'agent tuberculeux est hautement virulent, car l'inhalation d'un petit nombre de bacilles (1 à 3) suffit à infecter un individu. Une fois inhalées, les microgouttelettes de Flügge contenant les germes échappent au système muco-épithélial cilié de l'arbre bronchique pour atteindre l'alvéole pulmonaire. A ce niveau, les bacilles sont phagocytés par les macrophages alvéolaires matures et seront le plus souvent détruits. Cependant, des bacilles arrivent à échapper à cette destruction et se multiplient à l'intérieur des macrophages jusqu'à la mort de ces cellules. Cette mort par nécrose et/ou apoptose permet à la fois la prise en charge des débris cellulaires par les cellules dendritiques (CDs) et la libération de facteurs solubles comme les chémokines et les cytokines. Ces facteurs favorisent le recrutement de plus de monocytes circulants et la mise en place d'une réponse inflammatoire. Les monocytes se différencient en macrophages et ingèrent les mycobactéries mais ne les détruisent pas. Les bacilles vont alors se multiplier d'une manière logarithmique. Les macrophages et/ou les CDs, activés par les bacilles ou les corps apoptotiques, quittent le site d'infection. Deux à trois semaines après l'infection, ils atteignent les ganglions lymphatiques satellites où ils stimulent les lymphocytes T(LT) CD4+ et CD8+, induisant le développement d'une immunité cellulaire T (immunité cellulaire retardée). Les LT antigène-spécifiques migrent vers le site d'infection concourant, avec les macrophages activés, à la formation d'un granulome et ainsi à l'arrêt de la croissance logarithmique des bacilles (Figure 1). Ceci permet un contrôle efficace de l'infection<sup>6,7</sup>. La constitution et l'évolution des granulomes sont sous la dépendance de la réponse immunitaire innée et acquise de l'hôte ainsi que de la composition moléculaire pariétale des souches infestantes. Une réponse immunitaire favorable à l'hôte se traduit par la formation de petits granulomes calcifiés contenant des bacilles en état de dormance (chez 90% d'individus infectés). Cet

état de latence pourrait être interrompu par réactivation suite à une baisse de la surveillance immune causée par une immunodépression ou par une infection par le Virus de l'immunodéficience humaine(VIH) ou encore par une réinfection par Mtb. Lorsqu'ils sont réactivés, les granulomes évoluent vers la caséification, la nécrose et la formation de cavernes. Le contenu en bacilles peut alors être évacué par les bronches. Le granulome joue ainsi un rôle crucial dans la limitation de la croissance bactérienne, du dommage tissulaire et de la dissémination bactérienne<sup>8</sup>.

## REPONSE IMMUNE ANTI-TUBERCULEUSE

### *Immunité acquise*

Une réponse protectrice contre Mtb est basée surtout sur une réponse immunitaire à médiation cellulaire (Figure 1). En effet, les cellules T CD4+ et T CD8+, après leur stimulation par les antigènes mycobactériens, exercent leur effet protecteur par une production massive de cytokines, essentiellement l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ), nécessaire à l'activation des macrophages. L'apoptose ou la lyse dépendante de perforine/granulosine des CDs et macrophagiques infectées exercée par les cellules T CD8+ joue aussi un rôle important dans le contrôle de l'infection. Par la sécrétion de l'IFN- $\gamma$  et de l'interleukine 4 (IL-4), les T CD8+ peuvent jouer un rôle dans la régulation de la balance entre les cellules T 'helper' Th1 et Th2. Les cellules Th1 induites par l'IL-12, (produite par les CDs et les macrophages activés), sécrètent l'IL-2 et l'IFN- $\gamma$  assurant une action protectrice contre Mtb. Les cellules du type Th2 sécrètent les interleukines IL-4, IL-5 et IL-10 qui exercent une action inhibitrice sur la réponse immune. Les cellules T  $\gamma/\delta$  jouent aussi un rôle dans la réponse immune précoce contre la tuberculose ainsi qu'un rôle important dans l'immunité protectrice chez les sujets ayant une infection latente. Ces cellules présentent une cytotoxicité importante contre les monocytes chargés d'antigènes mycobactériens et sécrètent des cytokines impliquées dans la formation du granulome<sup>5,6,8</sup>. Les travaux sur la tuberculose se sont surtout focalisés sur les mécanismes de l'immunité cellulaire dans la lutte contre Mtb, s'intéressant peu au rôle que pourraient jouer les lymphocytes B et les anticorps vraisemblablement à cause du caractère intracellulaire de ce pathogène et donc de l'incapacité des composantes du sérum à l'atteindre<sup>9</sup>. Cependant, des études récentes ont montré que les lymphocytes B peuvent contribuer aux réponses anti-



**Figure 1 :** La pathogénèse de la tuberculose. La transmission de Mtb est essentiellement interhumaine et se fait quasi exclusivement par voie aérienne. Les bacilles sont phagocytés par les macrophages alvéolaires matures et seront le plus souvent détruits. Cependant, les bacilles qui échappent à cette destruction vont se multiplier à l'intérieur des macrophages jusqu'à la mort de ces cellules. Cette mort par nécrose et/ou apoptose permet à la fois la prise en charge des débris cellulaires par les CD8 et la libération de facteurs solubles comme les chimiokines et cytokines nécessaires à la mise en place d'une réponse inflammatoire. Les macrophages et/ou les CD8 activés par les bacilles ou les corps apoptotiques migrent vers les ganglions lymphatiques satellites où ils stimulent les lymphocytes T CD4+ et CD8+, induisant le développement d'une immunité cellulaire T. En effet, ces cellules T CD4+ et T CD8 exercent leur effet protecteur par une production massive de cytokines, essentiellement l'interféron gamma (IFN-γ), nécessaire à l'activation des macrophages. Les cellules Th1 induites par l'IL-12, générée par les CD8 et les macrophages activés, sécrètent l'IL-2 et l'IFN-γ assurant une action protectrice contre Mtb. Les cellules du type Th2 sécrètent les interleukines IL-4 et IL-10 qui exercent une action négative sur la réponse immunitaire. Les lymphocytes T antigène-spécifiques migrent vers le site d'infection concourant à la formation du granulome et ainsi à l'arrêt de la croissance logarithmique des bacilles. Une réponse immunitaire favorable à l'hôte se traduit par la formation de petits granulomes calcifiés contenant des bacilles en état de dormance (chez 90% d'individus infectés). Cet état de latence pourrait être interrompu par réactivation suite à une baisse de la surveillance immunitaire causée par une immunodépression ou par une infection au Virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou encore par une réinfection par Mtb.

tuberculeuses<sup>10</sup> et les antigènes mycobactériens induisant une réponse humorale anti-mycobactérienne ont été largement étudiés notamment pour leur potentiel sérodiagnostique<sup>11</sup>.

### Immunité innée

L'immunité cellulaire acquise protège d'une façon efficace contre la tuberculose disséminée mais ne prévient ni l'infection pulmonaire initiale ni la réinfection exogène des poumons. Ce rôle de protection contre l'infection est joué par les cellules de l'immunité innée qui influencent également la réponse

acquise de l'hôte. Les phagocytes recrutés au niveau du site d'infection tels que CD8 et les macrophages alvéolaires ont un rôle primordial dans la destruction du pathogène et la stimulation de la réponse cellulaire acquise suite à une présentation antigénique efficace aux cellules T.

En plus du macrophage, sur lequel nous reviendrons plus loin, plusieurs autres types cellulaires jouent un rôle important dans l'infection par Mtb. Les neutrophiles, premières cellules qui arrivent au niveau du site d'infection pour phagocyter les bactéries, ont une action bactéricide basée sur la production de défen-

sines<sup>6</sup>. Les Cellules dendritiques qui entrent en contact avec Mtb acquièrent leur maturation et deviennent de puissantes cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Elles migrent vers les nodules lymphatiques où elles vont stimuler les cellules T naïves permettant leur maturation en Th1 grâce à la sécrétion des cytokines /IL-12, IL-18 et IL-23<sup>13</sup>. Contrairement aux MØA, Les CD activées par l'IFN- $\gamma$ , sont capables de contrôler la réplication des mycobactéries sans les éradiquer. D'autres types cellulaires peuvent intervenir comme les « Naturel Killers » (NKs) qui sont capables d'activer les cellules phagocytaires au niveau du site d'infection. Ces phagocytes augmentent, d'une manière non spécifique, leur activité mycobactéricide suite à leur infection par Mtb. Les NKs peuvent lyser directement les pathogènes ou encore les monocytes et les MØ infectés. D'autres études ont montré que les Cellules épithéliales sont aussi capables de sécréter des polypeptides anti-mycobactériens comme les défensines et des agents bactéricides puissants tels que le monoxyde d'azote (NO, Nitric Oxyde)<sup>14</sup>. Elles peuvent aussi induire une réponse inflammatoire non spécifique par la synthèse de l'IL-8<sup>15</sup>. Les mastocytes peuvent aussi sécréter des médiateurs tels que l'histamine et le  $\beta$ -hexosamidase et des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  (Tumornecrosis factor-alpha)<sup>16</sup>. Ces médiateurs et cytokines sont impliqués à la fois dans l'induction d'une réponse inflammatoire, l'activation des neutrophiles et le maintien de l'intégrité du granulome<sup>17</sup>.

## LE MACROPHAGE DANS LA REPONSE ANTI-MYCOBACTERIENNE

Les MØAs constituent la première barrière immunologique rencontrée par le bacille tuberculeux. Ils jouent de nombreux rôles tant dans la réponse immunitaire innée qu'adaptative.

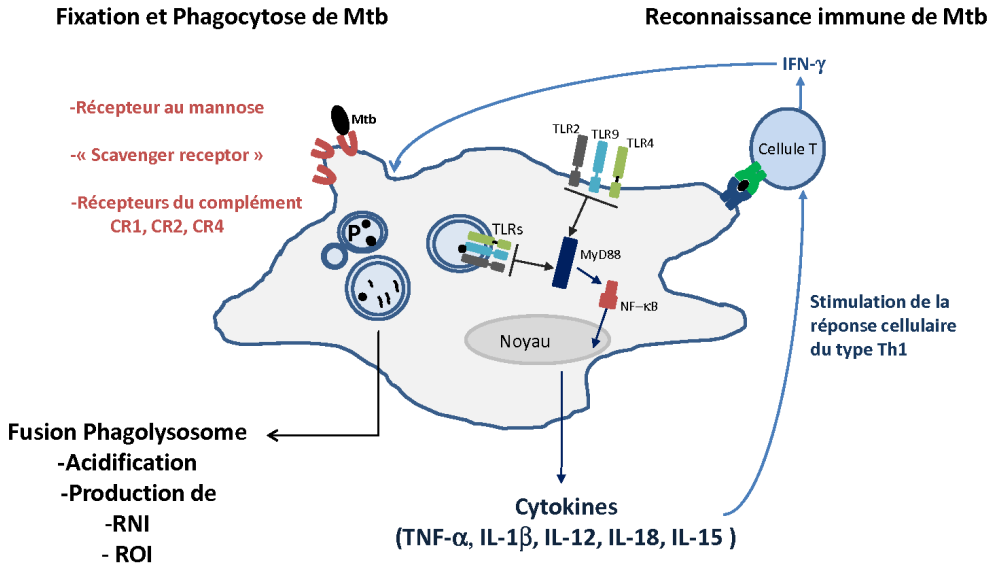
### *Phagocytose et fusion du phagolysosome*

Ils existent plusieurs mécanismes pour l'internalisation de Mtb, impliquant différents récepteurs à la surface du macrophage (Figure 2). En effet, Mtb peut être opsonisé par les molécules du complément qui seront reconnues par leurs récepteurs respectifs, CR (Complement Receptor) en particulier CR1, CR3 et CR4, exprimés à la surface des MØA<sup>18,19</sup>. Néanmoins, Mtb non opsonisé peut aussi se fixer directement au CR3 et au CR4<sup>20</sup>. Cependant le meilleur récepteur caractérisé pour la phagocytose de Mtb non opsonisé reste le récepteur au mannose MR (Mannose

Receptor)<sup>21</sup>. Quand la fixation à travers ces deux types de récepteurs est bloquée, l'internalisation de Mtb se fait par un autre type de récepteur appelé « scavenger receptor » de type A. Lorsque Mtb est recouvert d'anticorps, il est alors reconnu par les récepteurs de la portion Fc des immunoglobulines, Fc $\gamma$ R<sup>22</sup>. D'autres facteurs comme la protéine Sp-A (Surfactant protein A) peuvent faciliter l'internalisation de Mtb par les macrophages<sup>23</sup>. Ces différentes voies d'entrée de Mtb mènent souvent à des différences au niveau de la transduction des signaux dictant la réponse de l'hôte et la survie intracellulaire de Mtb. Ainsi, la phagocytose via le récepteur Fc $\gamma$  est directement associée à une réponse inflammatoire alors que l'activation du CR n'en induit pas<sup>19</sup>. La survie de Mtb après fixation au CR1 est plus importante qu'après la fixation au CR3 ou CR4<sup>24</sup>. La phagocytose de Mtb opsonisé avec Sp-A inhibe la synthèse des radicaux oxygénés ROI (Reactive Oxygen Intermediates)<sup>23</sup>. Les souches pathogènes sont le plus souvent phagocytées à travers le MR tandis que les souches non virulentes ne le sont pas. Cette voie est avantageuse pour Mtb car elle n'aboutit pas à la production de l'ion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup><sup>25</sup> et conduit à un signal anti-inflammatoire<sup>26</sup>. L'interaction de Mtb avec les différents récepteurs du macrophage mène à la formation d'un phagosome. La maturation du phagosome en phagolysosome passe par une succession de fusions avec des endosomes précoces puis tardifs et finalement avec les lysosomes. La fusion entre les différentes vésicules n'est possible que lorsque les deux organelles présentent à leurs membranes les mêmes GTPases de faible poids moléculaire appelées Rab. Différentes Rab régulent ces fusions. Ainsi la petite protéine G Rab5 est nécessaire à la fusion entre les phagosomes précoces et les endosomes précoces alors que la fusion d'endosomes et de phagosomes tardifs nécessite plutôt la présence de la protéine Rab7. Après phagocytose les mycobactéries non virulentes sont dégradées grâce à l'acidification du phagosome suite à l'action des pompes à protons (ATPases) et à sa fusion avec le lysosome contenant les hydrolases actives à pH acide<sup>28</sup>, les cathepsines.

Pour survivre au sein du macrophage, Mtb a développé des mécanismes pour bloquer les processus naturels de la maturation vacuolaire, empêchant l'évolution du phagosome vers un phagolysosome<sup>29</sup>. Deux actions essentielles ont été observées (i) une exclusion de la membrane de la vacuole d'une pompe à protons appelée vATPases, et qui entraîne le





**Figure 2 :** Rôle des macrophages dans l'immunité innée et adaptative. *Mtb* est internalisé au sein des phagosomes (P) des macrophages à travers plusieurs récepteurs tels que les récepteurs au mannose, les "scavenger receptor" et les récepteurs au complément (CR). La fusion du phagosome avec les lysosomes crée une nouvelle vacuole chargée d'hydrolases et protéases dirigées contre la bactérie avec un pH acide et des radicaux oxygénés (ROS) et azotés (RNI). La signalisation dépendante des récepteurs Toll (TLR) est déclenchée suite à l'association des antigènes mycobactériens avec ces récepteurs localisés à la surface la cellule et des phagosomes. Cette signalisation TLR-MyD88 résulte en une rapide et puissante sécrétion de cytokines inflammatoires et cytokines de la réponse cellulaire, essentielles à une immunité innée efficace et jouant un rôle important dans la maturation et l'activation des cellules T. Les fragments antigéniques de la mycobactérie, dégradés et présentés à travers les molécules CMH classe II, aux cellules T, permettent une reconnaissance spécifique des cellules infectées. Les cellules NK et T sécrètent l'IFN-γ, nécessaire à augmenter l'effet bactéricide des macrophages et à produire d'avantage de cytokines du type Th1.

maintien d'un pH proche de la neutralité (~ 6,5) <sup>28</sup> (ii) la rétention de protéines cellulaires telles que TACO (Tryptophane aspartate-containing coat) <sup>30</sup> ou certaines GTPase telle que la Rab5 <sup>31</sup> à la surface du phagosome, empêchant sa fusion avec le lysosome <sup>32, 33</sup>. Il a été aussi rapporté que les sulfatides mycobactériens, dérivés de multiacylatedtrehalosse 2-sulphate, inhibent également cette fusion avec le lysosome <sup>6</sup>.

**Production d'agents microbicides**

La production de radicaux oxygénés ROI (Reactive Oxygen Intermediates) et azotés (RNI, Reactive Nitric Intermediates) représente un autre moyen important développé pour le macrophage de neutraliser *Mtb*. Les MØA activés par les cytokines IFN-γ et TNF-α ou via le TLR-2 (Toll like receptor 2), produisent le NO (Nitric Oxide) et ses dérivés azotés RNI grâce à l'action des synthétases de monoxyde d'azote appelées iNOS2 (inducible Nitric Oxide Synthase 2) <sup>34, 35</sup>

enzymes utilisant la L-arginine comme substrat. Le NO est reconnu pour son effet antimicrobien tant contre les bactéries que contre les parasites, les virus, les champignons et les helminthes. Son effet correspond à une inhibition de la synthèse ou de la réparation de l'ADN et à une altération des protéines ou encore à l'inhibition de leur production <sup>36</sup>. Les ROI sont des radicaux oxygénés libres produits par la machinerie du stress oxydatif. Ils sont synthétisés par un complexe protéique membranaire appelé NADPH oxydase (nicotinamide-adenine-dinucleotide-phosphate oxydase). La première molécule mycobactéricide des phagocytes mononucléaires identifiée était le peroxyde d'hydrogène H2O2. Ce dernier ainsi que l'ion O2- sont des ROI générés surtout par des macrophages activés par les cytokines IFN-γ et TNF-α <sup>37</sup>. *Mtb* peut échapper à l'effet toxique des ROI grâce à ses facteurs de virulence membranaires tels que le lipoarabinomannan

(LAM) et le glycolipide phénolique I (PGL-I) qui sont des neutraliseurs («scavengers») des radicaux oxygénés<sup>38</sup> ou encore les sulphatides mycobactériens décrites comme des molécules inhibitrices des radicaux oxygénés<sup>8</sup>.

### **Activation des récepteurs TLRs**

Conjointement aux récepteurs de la phagocytose, d'autres récepteurs vont permettre la reconnaissance de Mtb ou des produits mycobactériens et induire l'activation des macrophages (Figure 2). Il s'agit des récepteurs TLR (Toll-like receptor) et du récepteur CD14<sup>39,40</sup>. Ce dernier n'a pas de rôle direct dans l'activation mais possède un rôle dans la liaison des mycobactéries à la membrane cellulaire. Deux récepteurs TLR, le TLR2 et le TLR4, sont essentiels à l'activation cellulaire. Cependant, d'autres TLRs peuvent être impliqués comme le TLR6 et TLR1, qui nécessitent une hétérodimérisation avec TLR2<sup>41</sup> et le TLR9 qui fixe les motifs CpG de l'ADN bactérien<sup>42</sup>. L'activation via le TLR2 peut se faire par des mycobactéries mortes inactivées à la chaleur. Cette interaction implique les lipoarabinomannan (LAM) des mycobactéries à croissance rapide, l'arabinofuranosyl-terminated LAM (Ara-LAM), le phosphatidyl-myo-inositolmannoside (PIM) ou encore la lipoprotéine 19KDa<sup>43</sup>. L'activation via TLR4 nécessite la présence de bactéries vivantes et un facteur thermosensible associé à la paroi mycobactérienne appelé AcetylFucoïdane (CAF)<sup>39</sup>. Le signal transduit par chacun des TLRs n'est pas équivalent. Néanmoins, des voies communes d'induction de gènes impliquant la molécule "Nuclear Factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) sont activées. En effet, le domaine cytoplasmique du récepteur Toll se lie au facteur MyD88 (Myeloid differentiation protein 88) et à IRAK (IL-1R-associated kinase). Cette dernière est une sérine kinase qui active le facteur de transcription NF- $\kappa$ B afin de déclencher la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-12 et le TNF- $\alpha$ <sup>44</sup>. L'activation des macrophages à travers les TLRs permet aussi l'induction du gène de la NO synthétase-2 (NOS2) et ainsi la production du NO (Figure 2). Il est à noter que les LAM de Mtb ou du BCG capés par les résidus mannose, Man-LAM (mannosyl-capped lipoarabinomannan), sont incapables d'induire l'activation via à la fois le TLR2 et le TLR4<sup>40</sup>.

### **Production de cytokines et de chemokines**

Les MØAs produisent un réseau de cytokines qui joue un rôle crucial dans la réponse inflammatoire et dans

le devenir de l'infection mycobactérienne (Figure 2). Pour contenir l'infection et prévenir la dissémination, le macrophage infecté sécrète un cocktail de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- $\alpha$  qui joue un rôle clé dans la formation du granulome. Cette cytokine affecte aussi la migration cellulaire et influence l'expression de molécules d'adhésion et de certaines chemokines et leurs récepteurs<sup>45</sup>. Le TNF- $\alpha$  permet aussi l'activation autocrine des MØA en favorisant le stress oxydatif (par induction de l'expression de NOS2), la cytotoxicité et la phagocytose<sup>46, 47</sup>. Néanmoins, TNF- $\alpha$  est aussi impliqué dans la réponse immuno-pathologique du fait qu'il s'agit d'un facteur majeur dans la destruction des tissus pulmonaires<sup>48</sup>. Le macrophage produit également l'IL-1 qui comme le TNF- $\alpha$ , joue un rôle important dans la phase aiguë de la réponse immune (fièvre et cachexie) ainsi que dans la formation du granulome. L'IL-1 a été aussi rapporté comme induisant l'expression de l'IL-2 et de son récepteur au niveau des LT<sup>49</sup>. L'IL-6 également produite par le macrophage, joue plusieurs rôles dans l'inflammation, l'hématopoïèse et la différenciation des cellules T<sup>50</sup>. Cependant, elle peut parfois présenter un rôle non protecteur en inhibant la production de TNF- $\alpha$  et de l'IL-1 $\beta$  (rôle anti-inflammatoire)<sup>51</sup> et en diminuant les réponses cellulaires du type T<sup>52</sup>. Finalement, l'IL-12 a un rôle protecteur très important à travers l'induction d'une réponse Th1 et la production importante d'IFN- $\gamma$  qui en découle. Cette cytokine active d'avantage les macrophages infectés permettant de freiner la réplication des mycobactéries qui ont pu échapper à l'action du phagolysosome. En plus de son rôle d'activateur majeur des macrophages, l'IFN- $\gamma$  favorise aussi la présentation antigénique et le recrutement des LT CD4 et/ou des lymphocytes cytotoxiques, nécessaires à la destruction de Mtb<sup>53</sup>. Cependant, Mtb peut prévenir les macrophages de répondre adéquatement à l'IFN- $\gamma$  en empêchant directement ou indirectement l'association de STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription 1) avec les cofacteurs transcriptionnels CREB (cAMP-response element-binding) et p300, nécessaires pour les réponses transcriptionnelles à l'IFN- $\gamma$ <sup>54</sup>.

L'infection des MØAs par les mycobactéries, en particulier par les souches pathogènes, aboutit aussi à la synthèse de cytokines anti-inflammatoires. En effet, afin de supprimer la réponse immune de l'hôte, Mtb peut induire une production significative de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10,



inhibitrice de la synthèse d'IL-12, d'IFN- $\gamma$  et de TNF- $\alpha$ <sup>55</sup>, ou leTGF- $\beta$  (Transforming growth factor-beta) 89, cytokine inhibitrice de la production d'IL-1, d'IFN- $\gamma$ , des ROI et des RNI par les macrophages, ainsi que la prolifération des LT. La TGF- $\beta$  interfère aussi avec la fonction des cellules NK et des cellules T cytotoxiques<sup>6</sup>. Outre les cytokines, les macrophages produisent un grand nombre de chemokines responsables en grande partie du recrutement des cellules inflammatoires au niveau du site d'infection, et contribuant à leur activation<sup>6</sup>. L'IL-8, dont la synthèse est sous le contrôle des cytokines TNF- $\alpha$  et IL-1 $\beta$ <sup>57</sup>, constitue une chemokine cruciale dans l'interaction hôte-pathogène. Elle permet le recrutement des neutrophiles, des LT et des monocytes. D'autres chemokines peuvent être aussi impliquées dans la réponse de l'hôte contre la TB telles que MCP-1 (Monocyte chemoattractant Protein-1) et RANTES (Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted).

### **Présentation antigénique et co-stimulation**

Les macrophages peuvent présenter des antigènes mycobactériens (Figure 2), tout comme les CD8 et les lymphocytes B. Les macrophages présentent les protéines mycobactériennes, issues du phagolysosome, aux cellules T CD4+ spécifiques d'antigène, en association avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité, CMH class II. Cependant, certains antigènes mycobactériens peuvent s'échapper du phagosome. Ces antigènes mycobactériens cytosoliques sont alors les présenter spécifiquement en association aux molécules CMH class I aux cellules TCD8+. A un stade précoce de l'infection, les macrophages permettent l'activation d'une fraction très large de cellules T avant le développement de la spécificité antigénique, à travers des molécules du CMH classe I non-polymorphiques comme le CD1 de type I. Les mycobactéries virulentes interfèrent avec la présentation antigénique en diminuant l'expression du CMH au niveau des macrophages, probablement, par la production de cytokines anti-inflammatoires<sup>58</sup>. La présentation antigénique par les macrophages ne peut aboutir à une stimulation des cellules T qu'en présence de signaux particuliers de co-stimulation. Les plus connus sont B-B7.1 (CD80) et B-B7.2 (CD86) exprimés à la surface des macrophages et reconnaissant CD28 et CTLA-4 exprimés par les cellules T. Mtb peut détourner cette voie de co-stimulation en diminuant l'expression de B-B 7.1<sup>59</sup>. Plusieurs cytokines, produites par les macrophages activés, sont essentielles à

la stimulation des LT et donc à l'initiation d'une immunité cellulaire de type T spécifique d'antigène. La capacité des macrophages à produire ou/et à réagir aux cytokines du type Th1 telles que l'IL-12 et l'IFN- $\gamma$  est aussi nécessaire pour une bonne stimulation des cellules T. Les cytokines pro-inflammatoires IL-1 et TNF- $\alpha$  jouent aussi un rôle important dans cette stimulation. Les cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 et le TGF- $\beta$  exercent un effet antagoniste<sup>5</sup>.

### **L'APOPTOSE DES MACROPHAGES DANS LA TUBERCULOSE**

L'apoptose est une forme physiologique de mort cellulaire programmée, génétiquement contrôlée. Elle se caractérise par la perte de l'asymétrie au niveau des phosphatidyl-sérines membranaires et d'une diminution du volume cellulaire alors que l'intégrité membranaire est maintenue. La structure des organelles est préservée alors que la chromatine se condense et l'ADN se fragmente. La cellule qui finit par se fragmenter en corps apoptotiques, préserve son contenu lysosomal. Cette mort programmée joue un rôle essentiel dans la morphogenèse de nombreux organes au cours du développement, l'homéostasie des tissus et du système immunitaire et dans l'élimination des cellules cancéreuses. La dérégulation de l'apoptose pourrait être à l'origine de nombreuses maladies dont les cancers, certaines pathologies du système immunitaire et certaines maladies neurodégénératives<sup>60</sup>.

L'induction d'une apoptose des cellules hôtes a été démontrée dans plusieurs infections virales, bactériennes et parasitaires<sup>61</sup>. Cette apoptose est souvent utilisée comme un moyen d'attaque pour l'agent pathogène. Mais elle représente également une stratégie de défense de la cellule hôte infectée par un pathogène intracellulaire<sup>62</sup>. L'apoptose cellulaire induite par une infection à bactérie intracellulaire a été observée pour la première fois avec les bactéries *Shigella Flexneri* et *Bordatella pertussis*<sup>63, 64</sup>. L'apoptose des macrophages infectés par Mtb a été mise en évidence pour la première fois en 1997 par Placido et coll qui ont pu identifier des nombres très élevés de macrophages apoptotiques dans le lavage bronco-alvéolaire (LBA) de patients tuberculeux<sup>65</sup>. D'autres groupes ont examiné des sections de poumons de patients tuberculeux et ont trouvé plus de 50% de cellules apoptotiques à la périphérie des granulomes<sup>66</sup>. Le fait que les cellules apoptotiques soient présentes au niveau du granulome productif, et non

au niveau des lésions régressives, montre que l'apoptose est un processus actif<sup>73</sup>.

### **Les voies d'induction de l'apoptose dans les macrophages infectés par Mtb**

L'apoptose des MØA suite à l'infection par Mtb peut être déclenchée par deux voies possibles (i) La voie extrinsèque engagée suite à la stimulation des récepteurs de mort de la famille récepteur TNF (TNF-Rc), Fas et TNF-R 1(TNF receptor type 1), par leurs ligands respectifs Fas-L et TNF- $\alpha$ . La stimulation du récepteur va induire son oligomérisation et le recrutement par l'intermédiaire de son domaine intracellulaire appelé domaine de mort, d'une protéine adaptatrice. Cette dernière entraîne la liaison et l'activation d'une protéase à cystéine appartenant à la famille des caspases, la caspase-8. Ce complexe de signalisation est appelé DISC (death inducing signaling complex). Une fois activée, la caspase 8 permet l'activation des caspases effectrices comme les caspases-3, -6 et -7, qui par le clivage d'un nombre restreint de substrats clés conduit à l'apoptose<sup>60</sup>. Keane et coll ont montré que l'infection des MØAs humains par Mtb induit une apoptose extrinsèque classique<sup>66</sup>. Cette apoptose est bloquée par une inhibition du TNF- $\alpha$  endogène et accélérée par une addition de TNF- $\alpha$  exogène alors que la viabilité des cellules non infectées n'est pas affectée par le TNF- $\alpha$ . Ces résultats suggèrent que la mort induite par Mtb est assurée par le TNF- $\alpha$ <sup>66</sup>. L'importance du rôle du TNF- $\alpha$  et du Fas ligand dans l'apoptose est conforté par l'important niveau d'expression de ces deux molécules au niveau des macrophages du granulome et au voisinage des lymphocytes. L'apoptose assurée par le facteur Fas-L, exprimé au niveau des LT, se fait après interaction de ce facteur avec son récepteur Fas exprimé à la surface des macrophages infectés par Mtb<sup>73</sup>. Des récepteurs de mort cellulaire autres que ceux de la famille des TNF-Rc ont également été impliqués dans l'induction de l'apoptose par Mtb. C'est le cas des récepteurs P2X, récepteurs ionotropiques (récepteurs-cannaux) dont l'ouverture est conditionnée par la fixation d'ATP sur un site extracellulaire. Ils sont alors responsables de courants cationiques (Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>2+</sup> et K<sup>+</sup>) et de l'activation de diverses voies de signalisation Ca<sup>2+</sup>-dépendantes<sup>68</sup>. Les phagocytes mononucléaires expriment au niveau de leur membrane plasmique le récepteur purinergique P2X et leur activation par de l'ATP extracellulaire induit une apoptose<sup>69</sup>. Certains travaux ont montré que cette apoptose pourrait être dépendante de l'acti-

vation des caspases<sup>70</sup> et/ou de la protéine kinase Stress-Activated Protein Kinase (SAPK)/JNK(c-Jun N-terminal kinase)<sup>71</sup>. Récemment, il a été démontré que l'infection des MDM par Mtb augmente l'expression des récepteurs P2X7 et favorise l'accumulation de l'ATP qui est libéré de ces cellules pendant la phase précoce de l'infection. Mtb peut également induire d'une façon autocrine/paracrine, à travers ce récepteur, l'apoptose des macrophages<sup>72</sup>. (ii) La voie intrinsèque impliquant la mitochondrie est aussi engagée par le macrophage en réponse à un stress tel que l'hypoxie au niveau du granulome. La dimérisation des facteurs pro-apoptotiques de la famille Bcl-2, BAK et/ou BAX dans la membrane interne de la mitochondrie entraîne la perméabilisation de cette dernière libérant, dans le cytoplasme, le cytochrome C. Ce dernier s'associe à caspase-9 et Apaf-1 (Apoptosis proteaseactivating factor 1) formant un complexe multimoléculaire appelé apoptosome. Ce complexe, conduit à l'activation de la caspase-9 qui va cliver et activer les caspases exécutrices (caspases-3, -6 et -7) induisant la mort cellulaire. Les deux voies apoptotiques ne sont pas indépendantes. La voie mitochondriale peut compléter la voie des récepteurs de mort par l'intermédiaire de la protéine pro-apoptotique Bid (membre de la famille BCL-2). Une fois Bid est clivé par la caspase 8 et tBid (truncated Bid) transloque du cytoplasme vers la mitochondrie entraînant aussi sa perméabilisation<sup>60</sup>.

### **Rôle de l'Apoptose du macrophage dans la réponse anti-mycobactérienne**

L'induction de l'apoptose des MØAs suite à l'infection par les mycobactéries constitue un vrai mécanisme de défense pour l'hôte<sup>77, 78</sup>. Ceci est bien illustré par le fait que le nombre de macrophage entrant en apoptose en réponse à l'infection par Mtb. est plus important au niveau des macrophages B10R issus de souris B10A-BcgR, résistantes aux mycobactéries, qu'au niveau des macrophages B10S dérivant de souris susceptibles, B10A-BcgS<sup>83</sup>. Ce rôle important dans la défense immunitaire est encore souligné par le fait qu'au niveau de macrophages l'induction de l'apoptose suite à l'infection par des souches de mycobactéries atténuées non pathogènes/ H37Ra, *Mycobacterium kansasii* ou BCG, est plus importante que celle induite suite à l'infection par les souches virulentes telles que H37Rv, Erdman ou *Mycobacterium bovis*<sup>66, 75</sup>. L'apoptose des macrophages infectés par Mtb assure plusieurs fonctions bénéfiques à l'hôte.

• *L'apoptose limite la réplication et la viabilité des mycobactéries*

L'apoptose macrophagique permet la diminution de la charge bactérienne suite à l'infection et contrairement à la nécrose qui ne tue pas les bactéries, elle permet aussi la réduction de la viabilité des bacilles <sup>74</sup>. En effet, les souches avirulentes qui induisent plus d'apoptose au niveau des macrophages présentent une viabilité plus réduite que les souches virulentes induisant moins d'apoptose <sup>75</sup>. Ce rôle antimycobactérien de l'apoptose peut être direct ou indirect. Au sein du phagosome du MØA, Mtb bloque les processus naturels de la maturation du phagolysosome. Mtb parvient ainsi à survivre et à rester en contact avec tout ce que la cellule peut capter ou recycler ou synthétiser et qu'il peut utiliser comme nutriments. Ceci va lui permettre de se multiplier. L'apoptose des MØAs prive alors Mtb de sa niche favorable de réplication et bloque ainsi sa multiplication et sa dissémination. Il s'agit donc d'une activité anti-mycobactérienne directe de l'apoptose <sup>77</sup>.

• *L'apoptose des macrophages infectés stimule les cellules dendritiques.*

L'apoptose peut aussi contribuer d'une manière indirecte à l'élimination de l'infection. En effet, l'apoptose se caractérise par une fragmentation de la cellule en vésicules qu'on appelle corps apoptotiques. Ces derniers, expriment à leurs surfaces des signaux « mangez-moi » représentés principalement par la phosphatidyl-sérine qui seront reconnus et internalisés spécifiquement par des phagocytes professionnels. Ce processus est appelé efferocytose <sup>78</sup>. Contrairement à ce que l'on observe avec les bacilles libres, il a été rapporté que la phagocytose des bacilles contenus dans les corps apoptotiques permet une maturation efficace du phagolysosome et donc une digestion et élimination réussies du pathogène <sup>79</sup>. L'efferocytose par les CD8 des corps apoptotiques contenant les protéines et les glycolipides des bacilles permet une présentation antigénique optimale, à travers les molécules CMH-class I et CD1b, aux LT CD8+ <sup>80</sup>. De ce fait, l'apoptose constitue un processus essentiel pour la stimulation de l'immunité adaptative.

• *L'apoptose limite la destruction tissulaire et préserve l'architecture des poumons*

L'ingestion des corps apoptotiques par les phagocytes stimule l'expression de cytokines anti-inflammatoires comme le TGF- $\beta$  et l'IL-10 <sup>81, 82</sup>. Ces cytokines, par la

suppression de l'inflammation, limitent la destruction tissulaire qui pourrait se produire si le contenu intracellulaire contenant les enzymes lytiques aurait été libéré dans l'espace extracellulaire. Chez les sujets tuberculeux non traités, la mortalité et la morbidité sont principalement dues au dommage causé au niveau des poumons et aux cicatrices pulmonaires résiduelles. Ainsi, si un processus ordinaire d'apoptose prédominait, l'architecture des poumons serait préservée et la dissémination de l'infection à de nouvelles hôtes serait prévenue <sup>61</sup>.

***Les mécanismes d'induction de l'apoptose par les mycobactéries***

Mtb dispose de plusieurs facteurs capables d'induire l'apoptose extrinsèque de ses cellules hôtes comme la lipoprotéine 19KDa <sup>85</sup>, le sucre de surface LAM et la protéine sécrétée ESAT-6 (Early Secreted Antigenic Target, 6 kDa). Alors que la lipoprotéine 19KDa et le LAM induisent une apoptose dose-dépendante des macrophages à travers l'activation du récepteur TLR2 <sup>85</sup>, le traitement avec la protéine purifiée ESAT-6 induit une apoptose indépendante de l'activation des récepteurs TLR. En effet l'inhibition de la protéine adaptatrice MyD88, ne bloque pas l'induction de l'apoptose par ESAT6 <sup>86</sup>. L'induction de l'apoptose par les mycobactéries peut se faire par interférence avec les voies de signalisation et facteurs cellulaires contrôlant la survie de la cellule infectée. En effet, Klingler et al. ont montré que l'infection des macrophages par le BCG ou par la souche H37Ra diminue l'expression de la protéine anti-apoptotique BCL2 ce qui se traduit par l'induction d'une apoptose importante des cellules infectées <sup>87</sup>. Récemment, des études ont démontré que l'induction de l'apoptose pourrait être assurée par une kinase appelée ASK1 (activation of apoptosis signal-regulating kinase 1), qui est un membre de la famille des MAPKs (Mitogen-activated protein kinases). Cette kinase active la p38MAPK, située en aval, induisant l'expression de protéines pro-apoptotiques comme les caspases. En effet, l'apoptose des macrophages infectés par *Mycobacterium avium* est bloquée suite à la surexpression par ces cellules de mutants ASK1 et de p38MAPK catalytiquement inactifs <sup>84</sup>. L'induction de l'apoptose par les mycobactéries dépendrait aussi de plusieurs autres voies de signalisation, telles que les voies TLR2 et TLR4, ERK1/2 (Extracellular signal-related kinases 1/2), JNK, PI-3K (Phosphoinositide-3 Kinase) et NF- $\kappa$ B <sup>84</sup>.

### **Les mécanismes d'inhibition de l'apoptose par les souches virulentes de *Mtb***

Comme plusieurs autres pathogènes intracellulaires obligatoires qui nécessitent une cellule hôte viable pour pouvoir s'y multiplier, *Mtb* réussit, pendant la phase précoce de l'infection, à préserver sa cellule niche en inhibant l'apoptose. Seules les souches virulentes ont acquis, au cours de l'évolution, ce pouvoir. En effet, l'infection par les souches avirulentes de *Mtb* comme H37Ra, *Mycobacterium kansasii* et le BCG, induit plus d'apoptose que l'infection par les souches virulentes. *Mtb* peut inhiber l'apoptose intrinsèque par plusieurs mécanismes. Premièrement, *Mtb* empêche, par l'intermédiaire de Man-LAM, l'induction du Ca<sup>2+</sup> dans le cytosol<sup>88</sup>. Le Ca<sup>2+</sup> a un rôle facilitateur de l'apoptose en augmentant la perméabilité des membranes mitochondriales induisant ainsi la libération des éléments pro-apoptotiques tels que le cytochrome C. Deuxièmement, *Mtb* induit la sécrétion de protéines anti-apoptotiques telles que MCL-1<sup>89</sup>, bfl1/A1<sup>90</sup> et Bcl-xL<sup>91</sup>, ou inactive des protéines pro-apoptotiques telles que Bad<sup>92</sup>. *Mtb* est aussi capable d'inhiber l'apoptose extrinsèque en augmentant la sécrétion d'IL-10. Cette dernière induit la libération de la forme soluble du récepteur au TNF, TNF-R2 (TNF receptor type 2), ayant le pouvoir de former un complexe inactif avec le TNF- $\alpha$ . Ce complexe empêche alors l'apoptose assurée par le TNF- $\alpha$ <sup>93</sup>. Par ailleurs, l'infection des macrophages par *Mtb* induit l'activation et la translocation nucléaire du facteur de transcription NF- $\kappa$ B dont les taux élevés protègent contre l'apoptose assurée par le TNF- $\alpha$ <sup>94</sup>. D'autres travaux ont montré que l'infection des macrophages par *Mtb* peut affecter le niveau d'expression de Fas-L à la surface des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) inhibant ainsi l'apoptose induite par la fixation de ce ligand à son récepteur Fas exprimé par les macrophages infectés<sup>67</sup>. *Mtb* peut aussi diminuer l'expression de Fas à la surface des macrophages infectés, les rendant insensibles à cette voie de mort cellulaire<sup>97</sup>; D'un autre côté, Man-LAM inhibe la production des cytokines pro-inflammatoires/ l'IL-12 nécessaire à l'activation des lymphocytes T (LT)<sup>95</sup>. Man-LAM peut aussi interagir avec le récepteur DC-SIGN (dendritic cell-specific ICAM-3 grabbing non-integrin) des cellules dendritiques, les empêchant d'activer les LT<sup>96</sup>. *Mtb* a été démontré capable d'inhiber l'apoptose des macrophages à travers l'expression d'une panoplie de gènes qui bloquent activement l'apoptose cellulaire. Le premier gène identifié a été NuoG (NADH déshydrogénase I chain G nuoG), d'autres gènes ont ensuite été

identifié/ PknE (transmembrane serine/threonine-protein kinase E) et SecA2 (preproteintanslocase ATPase secA2). En effet, des travaux ont montré que les mutants *Mtb* n'exprimant pas ces gènes deviennent pro-apoptotiques, alors que la transformation des souches avirulentes par ces gènes diminue leur pouvoir pro-apoptotique<sup>76, 98, 99</sup>.

### **MYCOBACTERIES ET VOIES DE SIGNALISATION DU MACROPHAGE**

Pour assurer une survie associée à une multiplication optimale à l'intérieur des cellules infectées, les mycobactéries pathogènes ont développé plusieurs mécanismes pour détourner la réponse de leurs cellules hôtes. L'un de ces mécanismes consiste à moduler les voies de signalisation du macrophage infecté comme la voie des MAPKs, ERK1/2, p38 et SAPK/JNK, et la voie PI3K/AKT ainsi que les facteurs de transcription qui leurs sont associés. Dans le paragraphe suivant nous allons citer quelques exemples de régulation, par les mycobactéries, de certaines voies MAPKs et de la voie PI3K/AKT. Notre choix pour ces voies réside dans l'importance du rôle qu'elles jouent dans la régulation de plusieurs processus cellulaires tels que la biosynthèse de cytokines, la prolifération, la migration et l'apoptose<sup>100</sup>.

#### **Modulation des voies MAPK**

Les mycobactéries non pathogènes activent les voies de signalisation MAPK, MEK1 (MAPK/ERK kinase 1) et ERK1/2 au niveau des macrophages infectés. Par l'activation de ces voies contribue à la synthèse de plusieurs molécules microbicides telles que le TNF- $\alpha$  101. Ce dernier a un rôle crucial dans le contrôle de la primo-infection à travers l'induction de la synthèse d'autres cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 et les chemokines nécessaires pour l'attraction des cellules immunitaires vers le site d'infection 102. Les mycobactéries pathogènes sont capables d'inhiber les voies des MAPKs pour permettre leur survie au sein des cellules hôtes. En effet, des travaux ont montré que l'inhibition des deux voies MEK1 et ERK1/2, par leurs inhibiteurs spécifiques, favorise la multiplication des mycobactéries pathogènes au sein des macrophages humains<sup>104, 105</sup>.

Les deux types de souches virulentes et avirulentes de *Mycobacterium avium* peuvent induire une activation de la p38MAPK au bout des premières 15 minutes d'infection. Cependant, alors que l'activation par les souches avirulentes est maintenue, celle induite par

la souche virulente est bloquée<sup>106</sup>. Une autre étude a aussi renforcé ce constat en démontrant que l'infection par la souche virulente de *Mycobacterium avium* induit une activation précoce de la p38MAPK qui est rapidement perdue (10 min), tandis que celle induite par *Mycobacterium smegmatis* et *Mycobacterium phlei*, souches non pathogènes, est maintenue<sup>101</sup>. En effet, les mycobactéries pathogènes activent d'une manière transitoire la p38MAPK afin d'induire la sécrétion d'IL-10, cytokine antagoniste de la réponse Th1<sup>102, 103</sup>. L'inhibition ensuite de cette voie, par les mycobactéries pathogène leur permettra de survivre et de se multiplier à l'intérieur des macrophages<sup>104</sup>. En conclusion, les mycobactéries pathogènes ont développé des mécanismes pour empêcher une activation soutenue de p38MAPK et ERK1/2, afin d'inhiber la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- $\alpha$ , permettant leur propre survie intracellulaire.

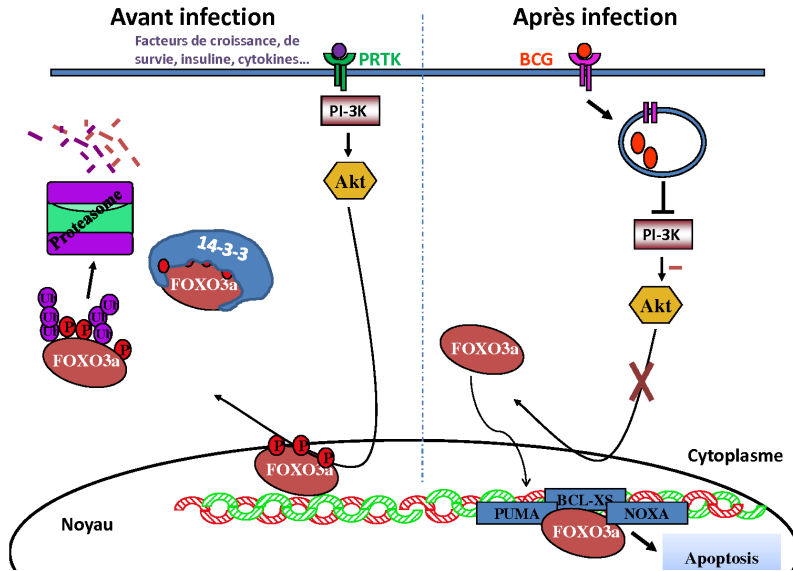
### **Modulation de la voie PI3K/AKT**

L'activation de la voie PI3K/AKT dans les MDMs, suite à l'infection par les mycobactéries, induit la sécrétion de TNF- $\alpha$  qui est cruciale pour la défense de l'hôte<sup>107</sup>. Cependant, l'activation de cette voie est aussi à l'origine de la synthèse de l'IL-10<sup>103</sup>, cytokine inhibitrice d'une réponse immunitaire efficace. Cette voie contrôle aussi directement la survie intra-macrophagique des mycobactéries. Ceci a poussé les mycobactéries pathogènes à développer des outils leur permettant de moduler cette voie, afin d'inhiber la réponse inflammatoire et de leur permettre de survivre au sein des cellules hôtes. Ainsi, plusieurs études ont montré que *Mtb* active la voie AKT pour inhiber l'apoptose de sa cellule hôte, assurant sa survie/multiplication au sein du macrophage alors que l'inhibition de cette kinase empêche la croissance intracellulaire de plusieurs bactéries incluant les souches MDR-*Mtb* (Multi-Drug Resistance *Mtb*)<sup>108</sup>. En effet, il a été démontré que Man-LAM active la kinase AKT en se fixant sur son domaine terminal PH (pleckstrin-homology). Une fois activée, cette kinase permet la phosphorylation de la protéine apoptotique Bad l'empêchant de se fixer aux protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et Bcl-xL. Une fois libre, Bcl-2 empêche la libération du cytochrome C et inhibe ainsi l'activité des caspases et donc l'induction de l'apoptose des macrophages<sup>92</sup>. Cependant, dans d'autres contextes *Mtb* inhibe la PI3K afin de bloquer la fusion phagosome-lysosome et échapper à l'action bactéricide du phagolysosome<sup>109, 110</sup>.

### **Modulation de l'activité du facteur de transcription FOXO3a**

Bien que les études qui ont documenté la modulation des voies de signalisation du macrophage par les mycobactéries soient multiples, celles précisant les facteurs de transcriptions qui leur sont associés restent rares. Récemment, nous avons démontré que les mycobactéries avirulentes activent le facteur de transcription FOXO3a afin d'induire l'apoptose des macrophages humains (Figure 3). Ce facteur de transcription est essentiel dans le contrôle de l'homéostasie des cellules immunitaires et son activité transcriptionnelle est directement régulée par les deux voies de signalisation modulées par les mycobactéries, la voie PI3K/AKT et la voie p38MAPK. Les facteurs de transcription FOXO appartiennent à la famille des « forkhead » (The class O of forkhead box). Ils jouent un rôle important dans plusieurs activités biologiques et physiologiques de la cellule telles que le métabolisme du glucose, l'arrêt du cycle cellulaire, la différenciation, la détoxification des ROS (reactive oxygen species), la réparation de l'ADN endommagé et l'apoptose<sup>111</sup>. Dans les cellules du système hématopoïétique, l'activation du facteur FOXO3a permet l'expression de plusieurs gènes pro-apoptotiques et induit ainsi l'apoptose. FOXO3a joue un rôle important dans la mort des macrophages humains induite par l'infection par le virus VIH-1. En effet, l'infection par ce virus inhibe AKT-1 et diminue par conséquent le niveau de phosphorylation de FOXO3a et permet sa translocation vers le noyau où il est transcriptionnellement actif. Ainsi, la surexpression de la forme active de FOXO3a dans les MDMs augmente la fragmentation de l'ADN et diminue la viabilité cellulaire<sup>112</sup>. Nos résultats montrent qu'à l'instar du HIV, les mycobactéries et plus particulièrement *Mycobacterium bovis* (BCG), induit l'apoptose des macrophages à travers l'activation de FOXO3a (Figure 3). En effet, nous avons pu mettre en évidence une déphosphorylation, AKT-dépendante, de FOXO3a, deux heures après l'infection des macrophages humains par la mycobactérie avirulente. Le fractionnement cellulaire des macrophages infectés ainsi que l'immunofluorescence ont montré que cette déphosphorylation a causé une localisation nucléaire de FOXO3a associée à une augmentation de l'expression de gènes pro-apoptotiques, dont l'expression est contrôlée par ce facteur de transcription<sup>113</sup>.





**Figure 3 :** Les mycobactéries induiraient l'apoptose à travers l'activation de FOXO3a. A l'état basal, la stimulation du récepteur RPTK (Receptor Protein Tyrosin Kinase) par les facteurs de croissance, certaines cytokines, l'insuline induit l'activation de la voie de survie PI3K/AKT. Une fois activée, la kinase Akt induit la phosphorylation du facteur de transcription FOXO3a sur trois sites lui imposant ainsi une localisation cytoplasmique où il est transcriptionnellement inactif. La forme phosphorylée de FOXO3a pourrait être stockée sous forme de complexe FOXO3a/protéine chaperonne 14-3-3 ou destinée à la dégradation par le protéasome. L'ingestion de la mycobactérie par le macrophage se traduit par l'inhibition de la voie de survie PI-3K/Akt. Cette inactivation d'Akt se traduirait par l'accumulation de la forme non phosphorylée de FOXO3a dans le noyau où il induirait la transcription d'une panoplie de gènes pro-apoptotiques comme PUMA, BCL-XS et NOXA<sup>111</sup>.

## CONCLUSION

Mtb, l'agent causal de la tuberculose, est l'un des fléaux qui a tué le plus grand nombre d'individus à travers l'histoire. La « réussite » de ce pathogène est basée principalement sur les moyens qu'il a pu développer au cours de son évolution afin de détourner la réponse immunitaire de son hôte réservoir, l'être humain. Une meilleure connaissance des voies de signalisation dictant la réponse inflammatoire et apoptotique des macrophages infectés par les mycobactéries, ainsi qu'une meilleure compréhension des mécanismes employés par les mycobactéries pathogènes pour moduler ces voies, ouvrirait de nouvelles perspectives pour développer d'autres stratégies de lutte contre la tuberculose. Une de ces stratégies consisterait, par exemple, à générer de nouveaux vaccins dotés d'un pouvoir proapoptotique et/ou pro-inflammatoire important. L'immunothérapie basée sur l'augmentation de l'induction de l'apoptose des macrophages nécessaire à une réponse immunitaire cellulaire efficace contre la tuberculose, pourrait

être aussi envisagée comme un nouveau moyen de contourner l'infection par Mtb.

## REFERENCES

- 1- G. M. Taylor, E. Murphy, R. Hopkins, P. Rutland et Y. Chistov (2007). First report of Mycobacterium bovis DNA in human remains from the Iron Age. *Microbiology*, **153**, 1243-1249.
- 2- G. Dutau (2005). The history of tuberculosis. *Archives de pédiatrie*, **12**, S88-S95.
- 3- M. C. Ravignone, D. E. Snider et A. Kochi (1995). Global epidemiology of tuberculosis, morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA*, **273**, 220-226.
- 4- WHO report 2007. Global tuberculosis control.
- 5- R. Van Crevel, T. H. Ottenhoff et J. W. Van der Meer (2002). Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, **15**, 294-309.
- 6- A. Raja (2004). Immunology of tuberculosis.



- Indian. *J. Med. Res.*, **120**, 213-232.
- 7- **B. M. Saunders et W. J. Britton** (2007). Life and death in the granuloma: immunopathology of tuberculosis. *Immunol. Cell. Biol.*, **85**, 103-111.
  - 8- **J. L. Flynn et J. Chan** (2001). Immunology of tuberculosis. *Annu. Rev. Immunol.*, **19**, 93-129.
  - 9- **C.M. Johnson, A.M. Cooper, A.A. Frank, C.B.C. Bonorino, L.J. Wysoki et I.M. Orme** (1997). Mycobacterium tuberculosis aerogenic rechallenge infections in B cell-deficient mice. *Tuber. Lung Dis.*, **78**, 257-261.
  - 10- **C. M. Bosio, D. Gardner et K. L. Elkins** (2000). Infection of B cell-deficient mice with CDC1551, a clinical isolate of Mycobacterium tuberculosis: delay in dissemination and development of lung pathology. *J. Immunol.*, **164**, 6417-6425.
  - 11- **H. D. Engers, V. Houbba, J. Bennedsen et al.** (1986). Results of a World Health Organization sponsored Workshop to characterize antigens recognized by mycobacterium specific monoclonal antibodies. *Infect. Immun.*, **51**, 718-720.
  - 12- **S.P. Hickman, J. Chan et P. Salgame** (2002). Mycobacterium tuberculosis induces differential cytokine production from dendritic cells and macrophages with divergent effects on naïve T cell polarization. *J. Immunol.*, **168**, 4636-4642.
  - 13- **M. Thurnher, R. Ramoner, G. Gastl et al** (1997). Bacillus Calmette-Guerin mycobacteria stimulate human blood dendritic cells. *Int. J. Cancer.*, **70**, 128-134.
  - 14- **S. Roy, S. Sharma, M. Sharma, R. Aggarwal et M. Bose** (2004). Induction of nitric oxide release from the human alveolar epithelial cell line A549: an in vitro correlate of innate immune response to Mycobacterium tuberculosis. *Immunology*, **112**, 471-480.
  - 15- **M. I. Wickremasinghe, L. H. Thomas et J. S. Friedland** (1999). Pulmonary epithelial cells are a source of IL-8 in the response to Mycobacterium tuberculosis: essential role of IL-1 from infected monocytes in a NF-kappa B-dependent network. *J. Immunology*, **163**, 3936-3947.
  - 16- **S. Muñoz, R. Hernandez-Pando, S.N. Abraham et J.A. Enciso** (2003). Mast cell activation by Mycobacterium tuberculosis: mediator release and role of CD48. *J. Immunology*, **170**, 5590-5596.
  - 17- **K. Law, M. Weiden, T. Harkin, K. Tchou-Wong, C. Chi et W. N. Rom** (1996). Increased release of interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha by bronchoalveolar cells lavaged from involved sites in pulmonary tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, **153**, 799-804.
  - 18- **C. S. Hirsch, J. J. Ellner, D. G. Russell et E. A. Rich** (1994). Complement receptor-mediated uptake and tumor necrosis factor-alpha-mediated growth inhibition of Mycobacterium tuberculosis by human alveolar macrophages. *J. Immunol.*, **152**, 743-753.
  - 19- **A. Aderem et D. M. Underhill** (1999). Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu. Rev. Immunol.*, **17**, 593-623.
  - 20- **Y. Zaffran and J. J. Ellner** (1997). A coat of many complements. *Nat. Med.*, **3**, 1078-1079.
  - 21- **L. S. Schlesinger** (1993). Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains of Mycobacterium tuberculosis is mediated by mannose receptors in addition to complement receptors. *J. Immunol.*, **150**, 2920-2930.
  - 22- **S. Zimmerli, S. Edwards et J. D. Ernst** (1996). Selective receptor blockade during phagocytosis does not alter the survival and growth of Mycobacterium tuberculosis in human macrophages. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, **15**, 760-770.
  - 23- **R. Pasula, J. R. Wright, D. L. Kachel et W. J. Martin** (1999). Surfactant protein A suppresses reactive nitrogen intermediates by alveolar macrophages in response to Mycobacterium tuberculosis. *J. Clin. Investig.*, **103**, 483-490.
  - 24- **R. P. Da Silva, B. F. Hall, K. A. Joiner et D. L. Sacks** (1989). CR1, the C3b receptor, mediates binding of infective Leishmania major metacyclic promastigotes to human macrophages. *J. Immunol.*, **143**, 617-622.
  - 25- **C. Astarie-Dequeker, E. N. N'Diaye, C. Le, V. M. G. Rittig, J. Prandi et I. Maridonneau-Parini** (1999). The mannose receptor mediates uptake of pathogenic and nonpathogenic mycobacteria and bypasses bactericidal responses in human macrophages. *Infect. Immun.*, **67**, 469-477.
  - 26- **J. Nigou, C. Zelle-Rieser, M. Gilleron, M. Thurnher et G. Puzo** (2001). Mannosylated lipooligosaccharides inhibit IL-12 production by human dendritic cells: evidence for a negative signal delivered through the mannose receptor. *J. Immunol.*, **166**, 7477-7485.

- 27- **D. L. Clemens et M. A. Horwitz** (1995). Characterization of the Mycobacterium tuberculosis phagosome and evidence that phagosomal maturation is inhibited. *J. Exp. Med.*, **181**, 257-270.
- 28- **S. Sturgill-Koszycki, P. H. Schlesinger, P. Chakraborty et al.** (1994). Lack of acidification in Mycobacterium phagosomes produced by exclusion of the vesicular proton-ATPase. *Science*, **263**, 678-681.
- 29- **I. Vergne, J. Chua, S. B. Singh et V. Deretic** (2004). Cell biology of mycobacterium tuberculosis phagosome. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **20**, 367-394.
- 30- **G. Ferrari, H. Langen, M. Naito et J. Pieters** (1999). A coat protein on phagosomes involved in the intracellular survival of mycobacteria. *Cell.*, **97**, 435-447.
- 31- **V. Deretic et R. A. Fratti**(1999). Mycobacterium tuberculosis phagosome. *Mol. Microbiol.*, **31**, 1603-1609.
- 32- **D. L. Clemens et M. A. Horwitz** (1996). The Mycobacterium tuberculosis phagosome interacts with early endosomes and is accessible to exogenously administered transferrin. *J. Exp. Med.*, **184**, 1349-1355.
- 33- **S. Sturgill-Koszycki, U. E. Schaible et D. G. Russell** (1996). Mycobacterium containing phagosomes are accessible to early endosomes and reflect a transitional state in normal phagosome biogenesis. *EMBO. J.*, **15**, 6960-6968.
- 34- **J. D. MacMicking, R. J. North, R. LaCourse, J. S. Mudgett, S. K. Shah, C. F. Nathan** (1997). Identification of nitric oxide synthase as a protective locus against tuberculosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **94**, 5243-5248.
- 35- **S. Thoma-Uszynski, S. Stenger, O. Takeuchi et al.** (2001). Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors. *Science*, **291**, 1544-1547.
- 36- **C. Bogdan, M. Rollinghoff et A. Diefenbach** (2000). Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Curr. Opin. Immunol.*, **12**, 64-76.
- 37- **L. B. Adams, M. C. Dinauer, D. E. Morgenstern, J. L. Krahenbuhl** (1997). Comparison of the roles of reactive oxygen and nitrogen intermediates in the host response to Mycobacterium tuberculosis using transgenic mice. *Tuber. Lung. Dis.*, **78**, 237-246.
- 38- **J. Chan, X. D. Fan, S. W. Hunter, P. J. Brennan et B. R. Bloom** (1991). Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of Mycobacterium tuberculosis within macrophages. *Infect. Immun.*, **59**, 1755-1761.
- 39- **T. K. Means, S. Wang, E. Lien, A. Yoshimura, D. T. Golenbock et M. J. Fenton** (1999). Human toll-like receptors mediate cellular activation by Mycobacterium tuberculosis. *J. Immunol.*, **163**, 3920-3927.
- 40- **T. K. Means, E. Lien, A. Yoshimura, S. Wang, D. T. Golenbock et M. J. Fenton** (1999). The CD14 ligands lipoarabinomannan and lipopolysaccharide differ in their requirement for Toll-like receptors. *J. Immunol.*, **163**, 6748-6755.
- 41- **A. M. Hajjar, D. S. O'Mahony, A. Ozinsky, D. M. Underhill, A. Aderem, S. J. Klebanoff et C. B. Wilson** (2001). Cutting edge: functional interactions between toll-like receptor (TLR) 2 and TLR1 or TLR6 in response to phenol-soluble modulins. *J. Immunol.*, **166**, 15-19.
- 42- **H. Hemmi, O. Takeuchi, T. Kawai et al** (2000). A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, **408**, 740-745.
- 43- **E. H. Noss, R. K. Pai, T. J. Sellati, J. D. Radolf, J. Belisle, D. T. Golenbock, W. H. Boom et C. V. Harding** (2001). Toll-like receptor 2-dependent inhibition of macrophage class II MHC expression and antigen processing by 19-kDa lipoprotein of Mycobacterium tuberculosis. *J. Immunol.*, **167**, 910-918.
- 44- **H. D. Brightbill, D. H. Libraty, S. R. Krutzik et al** (1999). Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science*, **285**, 732-736.
- 45- **G. Senaldi, S. Yin, C. L. Shaklee, P. F. Piguet, T. W. Mak et T. R. Ulich** (1996). Corynebacterium parvum - and Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin-induced granuloma formation is inhibited in TNF receptor I (TNF-RI) knockout mice and by treatment with soluble TNF-RI. *J. Immunol.*, **157**, 5022-5026.
- 46- **I. M. Orme et A. M. Cooper** (1999). Cytokine/chemokine cascades in immunity to tuberculosis. *Immunol. Today.*, **20**, 307-312.
- 47- **M. G. Bonecini-Almeida, S. Chitale, I. Boutsikakis, J. Geng, H. Doo, S. He et J. L. Ho** (1998). Induction of in vitro human macrophage anti-Mycobacterium tuberculosis activity: requirement for IFN-gamma and primed lympho-

- cytes. *J. Immunol.*, **160**, 4490-4499.
- 48- **A. L. Moreira, L. Tsenova-Berkova, J. Wang, P. Laochumroonvorapong, S. Freeman, V. H. Freedman et G. Kaplan** (1997). Effect of cytokine modulation by thalidomide on the granulomatous response in murine tuberculosis. *Tuberc. Lung. Dis.*, **78**, 47-55.
- 49- **N. P. Juffermans, S. Florquin, L. Camoglio, A. Verbon, A. H. Kolk, P. Speelman, S. J. van Deventer et T. van der Poll** (2000). Interleukin-1 signaling is essential for host defense during murine pulmonary tuberculosis. *J. Infect. Dis.*, **182**, 902-908.
- 50- **C. H. Ladell, C. Blum, A. Dreher, K. Reifenberg, M. Kopf et S. H. Kaufmann**, (1997). Lethal tuberculosis in interleukin-6-deficient mutant mice. *Infect. Immun.*, **65**, 4843-4849.
- 51- **R. Schindler, J. Mancilla, S. Endres, R. Ghorbani, S. C. Clark et C. A. Dinarello** (1990). Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*, **75**, 40-47.
- 52- **T. K. VanHeyningen, H. L. Collins et D. G. Russell** (1997). IL-6 produced by macrophages infected with Mycobacterium species suppresses T cell responses. *J. Immunol.*, **158**, 330-337.
- 53- **A. M. Cooper, D. K. Dalton, T. A. Stewart, J. P. Griffin, D. G. Russell et I. M. Orme** (1993). Disseminated tuberculosis in interferon gamma gene disrupted mice. *J. Exp. Med.*, **178**, 2243-2247.
- 54- **L. M. Ting, A. C. Kim, A. Cattamanchi et J. D. Ernst** (1999). Mycobacterium tuberculosis inhibits IFN-gamma transcriptional responses without inhibiting activation of STAT1. *J. Immunol.*, **163**, 3898-3906.
- 55- **J. Gong, M. Zhang, R. L. Modlin, P. S. Linsley, D. V. Iyer, Y. Lin et P. E. Barnes** (1996). Interleukin-10 downregulates Mycobacterium tuberculosis induced Th1 responses and CTLA-4 expression. *Infect. Immun.*, **64**, 913-918.
- 56- **K. E. Dahl, H. Shiratsuchi, B. D. Hamilton, J. J. Ellner et Z. Toossi** (1996). Selective induction of transforming growth factor beta in human monocytes by liparabinomannan of Mycobacterium tuberculosis. *Infect. Immun.*, **64**, 399-405.
- 57- **J. Zhang, R. Jiang, H. Takayama et Y. Tanaka** (2005). Survival of virulent mycobacterium tuberculosis involves preventing apoptosis induced by Bcl2 upregulation and release resulting from necrosis in J774 macrophages. *Microbiol. Immunol.*, **49**, 845-852.
- 58- **J. Gercken, J. Pryjma, M. Ernst et H. D. Flad** (1994). Defective antigen presentation by Mycobacterium tuberculosis-infected monocytes. *Infect. Immun.*, **62**, 3472-3478.
- 59- **B. Saha, G. Das, H. Vohra, N. K. Ganguly et G. C. Mishra** (1994). Macrophage-T cell interaction in experimental mycobacterial infection. Selective regulation of co-stimulatory molecules on Mycobacterium-infected macrophages and its implication in the suppression of cell-mediated immune response. *Eur. J. Immunol.*, **24**, 2618-2624.
- 60- **P. C. A. Kam et N. I. Ferch** (2000). Apoptosis: mechanisms and clinical implications. *Anaesthesia*, **55**, 1081-1093.
- 61- **H. Kornfeld, G. Mancino et V. Colizzi** (1999). The role of macrophage cell death in tuberculosis. *Cell. Death. Differ.*, **6**, 71-78.
- 62- **K. Labbe et M. Saleh** (2008). Cell death in host response to infection. *Cell. Death. Differ.*, **15**, 1339-1349.
- 63- **N. Khelef, A. Zychlinsky et N. Guiso** (1993). Bordetella pertussis induces apoptosis in macrophages: role of adenylate cyclase-hemolysin. *Infect. Immun.*, **64**, 4064-4070.
- 64- **A. Zychlinsky, M. C. Prevost et P. J. Sansonetti** (1992). Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages. *Nature*, **358**, 167-169.
- 65- **R. Placido, G. Mancino, A. Amendola et al** (1997). Apoptosis of human monocytes/macrophages in Mycobacterium tuberculosis infection. *J. Pathol.*, **181**, 31-38.
- 66- **J. Keane, K. Balcewicz-Sablinska, H. G. Remold, G. L. Chupp, B. B. Meek, M. J. Fenton et H. Kornfeld** (1997). Infection by Mycobacterium tuberculosis promotes human alveolar macrophage apoptosis. *Infect. Immun.*, **65**, 298-304.
- 67- **M. Oddo, T. Renno, A. Attinger, T. Bakker, H. Robson MacDonald et P. R. A. Meylan** (1998). Fas Ligand-Induced Apoptosis of Infected Human Macrophages Reduces the Viability of Intracellular Mycobacterium tuberculosis 1. *J.*

- Immunol.*, **160**, 5448-5454.
- 68- **K. Kaczmarek-Hájek, E. Lőrinczi, R. Hausmann et A. ke. Nicke** (2012). Molecular and functional properties of P2X receptors-recent progress and persisting challenges. *Purinergic Signal*, **8**, 375-417.
- 69- **F. Di Virgilio, P. Chiozzi, S. Falzoni, D. Ferrari, J. M. Sanz, V. Venketaraman, O. R. Baricordi** (1998). Cytolytic P2X purinoceptors. *Cell. Death. Differ.*, **5**, 191-199.
- 70- **R.A. Le Feuvre, D. Brough, Y. Iwakura, K. Takeda, N.J. Rothwell** (2002). Priming of macrophages with lipopolysaccharide potentiates P2X7-mediated cell death via a caspase-1-dependent mechanism, independently of cytokine production. *J. Biol. Chem.*, **277**(5), 3210-3218.
- 71- **B.D. Humphreys, J. Rice, S. B. Kertesy, G. R. Dubyak** (2000). Stress-activated protein kinase/JNK activation and apoptotic induction by the macrophage P2X7 nucleotide receptor. *J. Biol. Chem.*, **275**, 26792-26798.
- 72- **R. Placido, G. Auricchio, S. Falzoni, L. Battistini, V. Colizzi, E. Brunetti, F. Di Virgilio, G. Mancino** (2006). P2X(7) purinergic receptors and extracellular ATP mediate apoptosis of human monocytes/macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis* reducing the intracellular bacterial viability. *Cell. Immunol.*, **244**, 10-18.
- 73- **M. Bocchino, D. Galati, A. Sanduzzi, V. Colizzi, E. Brunetti et G. Mancino** (2005). Role of mycobacteria-induced monocyte/macrophage apoptosis in the pathogenesis of human tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.*, **9**, 375-83.
- 74- **A. Molloy, P. Laochumroonvorapong et G. Kaplan** (1994). Apoptosis, but not necrosis, of infected monocytes is coupled with killing of intracellular bacillus Calmette-Guérin. *J. Exp. Med.*, **180**, 1499-509.
- 75- **J. Keane, H. G. Remold, H. Kornfeld** (2000). Virulent *Mycobacterium tuberculosis* strains evade apoptosis of infected alveolar macrophages. *J. Immunol.*, **164**, 2016-2020.
- 76- **K. Velmurugan, B. Chen, J.L. Miller et al** (2007). *Mycobacterium tuberculosis* nuoG is a virulence gene that inhibits apoptosis of infected host cells. *PLoS Pathog.*, **3**, e110.
- 77- **I. P. Fairbairn** (2004). Macrophage apoptosis in host immunity to mycobacterial infections. *Biochem. Soc. Trans.*, **32**, 496-498.
- 78- **J. Lee, M. Hartman et H. Kornfeld** (2009). Macrophage Apoptosis in Tuberculosis. *Yonsei Med. J.*, **50**, 1-11.
- 79- **C. Fratazzi, R. D. Arbeit, C. Carini, H. G. Remold** (1997). Programmed cell death of *Mycobacterium avium* serovar 4-infected human macrophages prevents the mycobacteria from spreading and induces mycobacterial growth inhibition by freshly added, uninfected macrophages. *J. Immunol.*, **158**, 4320-4327.
- 80- **U. E. Schaible, F. Winau, P. A. Sieling et al** (2003). Apoptosis facilitates antigen presentation to T lymphocytes through MHC-I and CD1 in tuberculosis. *Nat. Med.*, **9**, 1039-1046.
- 81- **M. L. N. Huynh, V. A. Fadok et P. M. Henson** (2002). Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF- $\beta$ 1 secretion and the resolution of inflammation. *J. Clin. Invest.*, **109**, 41-50.
- 82- **E. Y. Chung, S. J. Kim, X. J. Ma** (2006). Regulation of cytokine production during phagocytosis of apoptotic cells. *Cell. Res.*, **16**, 154-161.
- 83- **M. Rojas, L. F. Barrera, G. Puzo et L. F. Garcia** (1997). Differential induction of apoptosis by virulent *Mycobacterium tuberculosis* in resistant and susceptible murine macrophages. *J. Immunol.*, **159**, 1352-1361.
- 84- **A. Koul, T. Herget, B. Klebl et A. Ullrich** (2004). Interplay between mycobacteria and host signalling pathways. *Nat. Rev. Microbiol.*, **2**, 189-202.
- 85- **M. Lopez, L. M. Sly, Y. Luu, D. Young, H. Cooper et N. E. Reiner** (2003). The 19-kDa *Mycobacterium tuberculosis* protein induces macrophage apoptosis through Toll like receptor 2. *J. Immunol.*, **170**, 2409-2416.
- 86- **S. C. Derrick et S. L. Morris** (2007). The ESAT6 protein of *Mycobacterium tuberculosis* induces apoptosis of macrophages by activating caspase expression. *Cell. Microbiol.*, **9**, 1547-1555.
- 87- **K. Klingler, K. M. Tchou-Wong, O. Brändli, C. Aston, R. Kim, C. Chi et W. N. Rom** (1997). Effects of mycobacteria on regulation of apoptosis in mononuclear phagocytes. *Infect. Immun.*, **65**, 5272-5278.
- 88- **M. Rojas, L. F. Garcia, J. Nigou, G. Puzo et M. Olivier** (2000). Mannosylated Lipoarabinomannan Antagonizes *Mycobacterium*



- tuberculosis-Induced Macrophage Apoptosis by Altering Ca<sup>2+</sup>-Dependent Cell Signaling. *J. Infect. Dis.*, **182**, 240-251.
- 89- **L. M. Sly, S. M. Hingley-Wilson, N. E. Reiner et W.R. McMaster** (2003). Survival of *Mycobacterium tuberculosis* in Host Macrophages Involves Resistance to Apoptosis Dependent upon Induction of Antiapoptotic Bcl-2 Family Member Mcl-1. *J. Immunol.*, **170**, 430-437.
- 90- **R. Dhiman, M. Raje et S. Majumdar** (2007). Differential expression of NF-kappaB in mycobacteria infected THP-1 affects apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1770**, 649-658.
- 91- **J. Zhang, R. Jiang, H. Takayama et Y. Tanaka** (2005). Survival of virulent *Mycobacterium tuberculosis* involves preventing apoptosis induced by Bcl-2 upregulation and release resulting from necrosis in J774 macrophages. *Microbiol. Immunol.*, **49**, 845-852.
- 92- **D. Maiti, A. Bhattacharyya et J. Basu** (2001). Lipoarabinomannan from *Mycobacterium tuberculosis* Promotes Macrophage Survival by Phosphorylating Bad through a Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Pathway. *J. Biol. Chem.*, **276**, 329-333.
- 93- **K. M. Balcewicz-Sablinska, J. Keane, H. Kornfeld et H. G. Remold** (1998). Pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* Evades Apoptosis of Host Macrophages by Release of TNF-R2, Resulting in Inactivation of TNF- $\alpha$ 1. *J. Immunol.*, **161**, 2636-2641.
- 94- **A. A. Begg et D. Baltimore** (1996). An essential role for NF-kB in preventing TNF- $\alpha$ -induced cell death. *Science*, **274**, 782-784.
- 95- **J. Nigou, M. Gilleron, M. Rojas, L. F. García, M. Thurnher et G. Puzo** (2002). Mycobacterial lipoarabinomannans: modulators of dendritic cell function and the apoptotic response. *Microbes. Infect.*, **4**, 945-953.
- 96- **T. B. H. Geijtenbeek et Y. Van Kooyk** (2003). DC-SIGN functions as a pathogen receptor with broad specificity. *APMIS*, **111**, 698-714.
- 97- **M. Oddo, T. Renno, A. Attinger, T. Bakker, H. R. MacDonald et P. R. A. Meylan** (1998). Fas ligand-induced apoptosis of infected human macrophages reduces the viability of intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Immunol.*, **160**, 5448.
- 98- **D. Jayakumar, W. R. Jr. Jacobs et S. Narayanan** (2008). Protein kinase E of *Mycobacterium tuberculosis* has a role in the nitric oxide stress response and apoptosis in a human macrophage model of infection. *Cell. Microbiol.*, **10**, 365-374.
- 99- **J. Hinchey, S. Lee, B. Y. Jeon, et al** (2007). Enhanced priming of adaptive immunity by a proapoptotic mutant of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Invest.*, **117**, 2279-2288.
- 100- **T. G. Cross, D. Scheel-Toellner, N. V. Henriquez, E. Deacon, M. Salmon et J. M. Lord** (2000). Serine/threonine protein kinases and apoptosis. *Exp. Cell. Res.*, **256**, 34-41.
- 101- **S. K. Roach et J. S. Schorey** (2002). Differential Regulation of the Mitogen-Activated Protein Kinases by Pathogenic and Nonpathogenic *Mycobacteria*. *Infect. Immun.*, **70**, 3040-3052.
- 102- **N. Reiling, A. Blumenthal, H. D. Flad, M. Ernst et S. Ehlers** (2001). Mycobacteria-induced TNF- $\alpha$  and IL-10 formation by human macrophages is differentially regulated at the level of mitogen-activated protein kinase activity. *J. Immunol.*, **167**, 3339-3345.
- 103- **P. Méndez-Samperio, A. Trejo et A. Pérez** (2008). *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin (BCG) stimulates IL-10 production via the PI3K/Akt and p38 MAPK pathways in human lung epithelial cells. *Cell. Immunol.*, **251**, 37-42.
- 104- **A. Blumenthal, S. Ehlers, M. Ernst, H. D. Flad et N. Reiling** (2002). Control of Mycobacterial Replication in Human Macrophages: Roles of Extracellular Signal-Regulated Kinases 1 and 2 and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways. *Infect. Immun.*, **70**, 4961-4967.
- 105- **B. Van den Blink, N. P. Juffermans, T. ten Hove et al** (2001). p38 Mitogen - Activated Protein Kinase Inhibition. increases cytokine release by Macrophages *in vitro* and during infection *In Vivo*. *J. Immunol.*, **166**, 582-587.
- 106- **H. M. Tse, S. I. Josephy, E. D. Chan, D. Fouts et A. M. Cooper** (2002). Activation of the Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathway Is Instrumental in Determining the Ability of *Mycobacterium avium* to Grow in Murine Macrophages. *J. Immunol.*, **168**, 825-833.
- 107- **C. S. Yang, J. S. Lee, S. B. Jung et al** (2005). Differential regulation of interleukin- 12 and tumour necrosis factor- $\alpha$  by phosphatidylinositol3-kinase and ERK1/2 pathways during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin. Exp. Immunol.*, **143**, 150-160.

- 108-C. Kuijl, N. D. L. Savage, M. Marsman et al** (2007). Intracellular bacterial growth is controlled by a kinase network around PKB/AKT1. *Nature*, **450**, 725-730.
- 109-R. A. Fratti, J. Chua, I. Vergne et V. Deretic**(2003). Mycobacterium tuberculosis glycosylated phosphatidylinositol causes phagosome maturation arrest. *Microbiology*, **100**, 5437-5442.
- 110-I. Vergne, J. Chua et V. Deretic** (2003). Tuberculosis Toxin Blocking Phagosome Maturation Inhibits a Novel Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-PI3K hVPS34 Cascade. *J. Exp. Med.*, **198**, 653-659.
- 111-B. M. Burgering** (2008). A brief introduction to FOXOlogy. *Oncogene*, **27**, 2258-2262.
- 112-M. Cui, Y. Huang, Y. Zhao et J. Zheng** (2008). Transcription Factor FOXO3a Mediates Apoptosis in HIV-1-Infected Macrophages. *J. Immunol.*, **180**, 898-906.
- 113-M. Essafi, M. Haoues, A. Mallavialle, N. Laabidi, M. Deckert and M.R. Barbouche** (2010). FOXO3a transcription factor mediates Apoptosis of Mycobacterium Bovis BCG-infected macrophages. *Int. J. Infect. Dis.*, **14**, e128.



