

M2 Infectiologie Cellulaire et Moléculaire, Vaccinologie, Anticorps Thérapeutiques

LALMANACH A-C, UMR ISP, INRA Centre de Recherche Val de Loire, Nouzilly

Module 5 La barrière muqueuse intestinale: Organisation et rôle

- Morphologie
- Histologie
- Les cellules épithéliales
- La fonction de barrière
- La surveillance: sonder et contrôler, informer et réagir
- La tolérance orale
- L'équilibre: notions d'homéostasie

La barrière mucosale intestinale

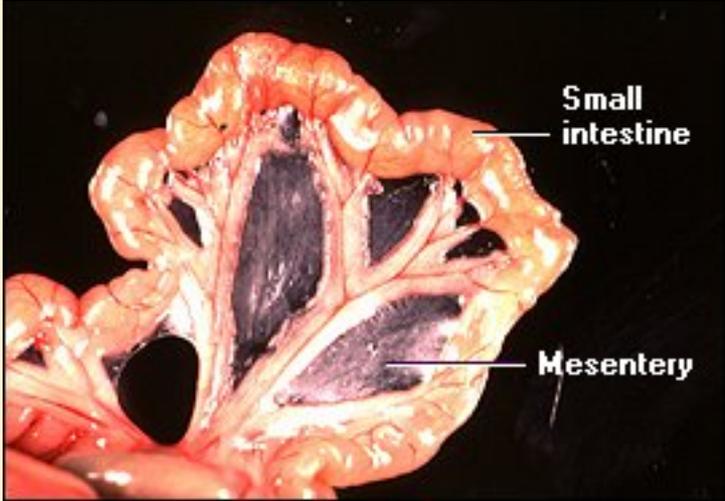
L 'intestin

- énorme surface d 'échange: la face luminale (interne) du petit intestin présente des repliements (circonvolutions), eux-même recouverts de villosités.
- Plus de 300m² de surface chez l 'adulte.
- Au contact d 'une microflore intestinale abondante et complexe: environ 10¹⁴ bactéries (dont 10¹² bact/g de feces dans le colon), près de 1000 espèces bactériennes par individu (métagénomique du microbiote humain)*
- Deux parties: petit intestin (proximal ou antérieur) et gros intestin (distal ou postérieur).

* Lepage P. et al, Gut 2013, 62:146–158.²

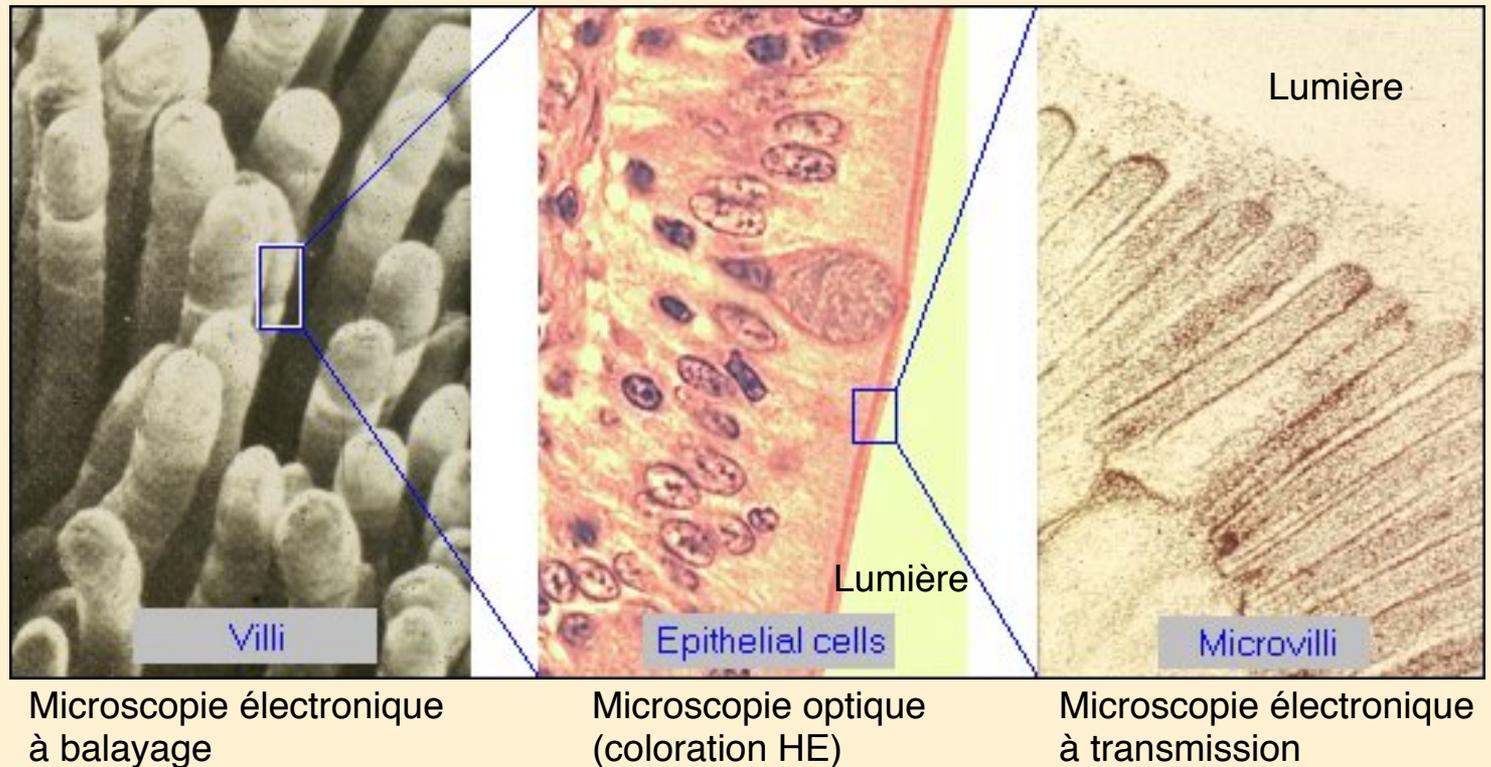
La barrière mucosale intestinale

Organisation de l'intestin

- Le petit intestin représente la plus grande partie du tube digestif et est composé de trois parties de l'estomac jusqu'au gros intestin
 - **Le duodenum** (reçoit les sécrétions pancréatiques, hépatiques et biliaires)
 - **Le jejunum** (la plus grande des 3 parties, 40 à 90% selon les espèces)
 - **L'ileum** (se déverse dans le gros intestin)
 - C'est le siège des étapes finales de la digestion permettant l'absorption de nutriments dans la circulation.
 - Le gros intestin: colon et rectum, stockage des éléments non digérés en matières fécales (feces).
- 
- The image shows a cross-section of the small intestine, which is a long, coiled tube. It is supported by a network of blood vessels and connective tissue called the mesentery. The small intestine is shown in a reddish-orange color, and the mesentery is shown in a lighter, more translucent color. Labels 'Small intestine' and 'Mesentery' are visible on the right side of the image.
- Sa longueur est d'approximativement 3,5 fois celle du corps (soit environ 6m chez l'homme).

La barrière mucosale intestinale

Morphologie de la surface de l'intestin



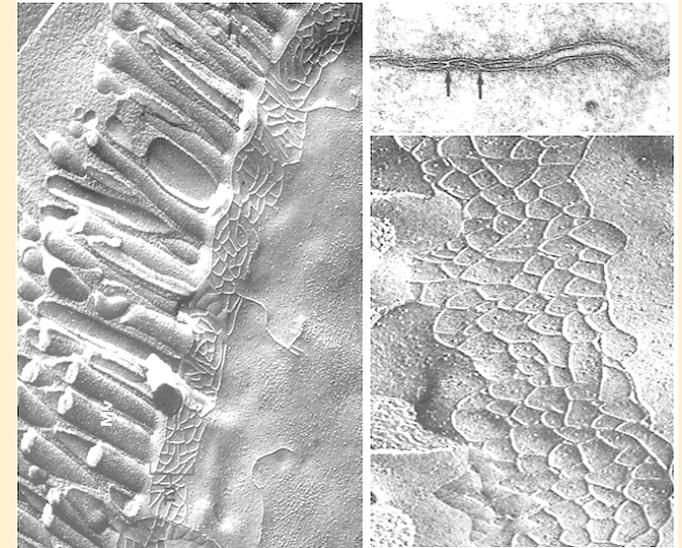
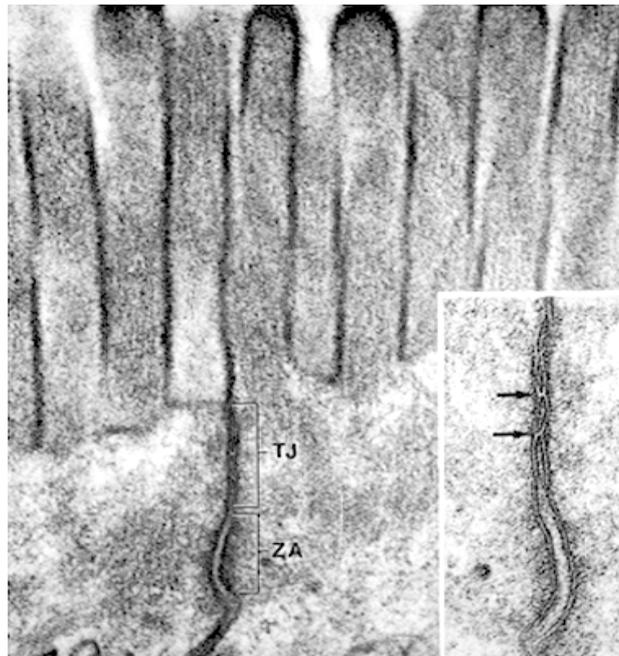
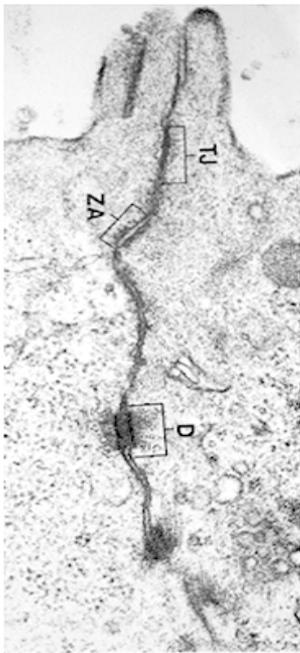
–Villi (angl): villosités. La muqueuse envoie une multitude de projections vers la lumière qui sont recouvertes de cellules épithéliales

La barrière mucosale intestinale

Structure des cellules épithéliales intestinales

Cohésion et étanchéité assurées par des jonctions intercellulaires spécialisées

- Jonctions serrées ou tight junctions (TJ) →
- Jonctions adhérentes (zonula adherens ZA)
- Desmosomes (D)

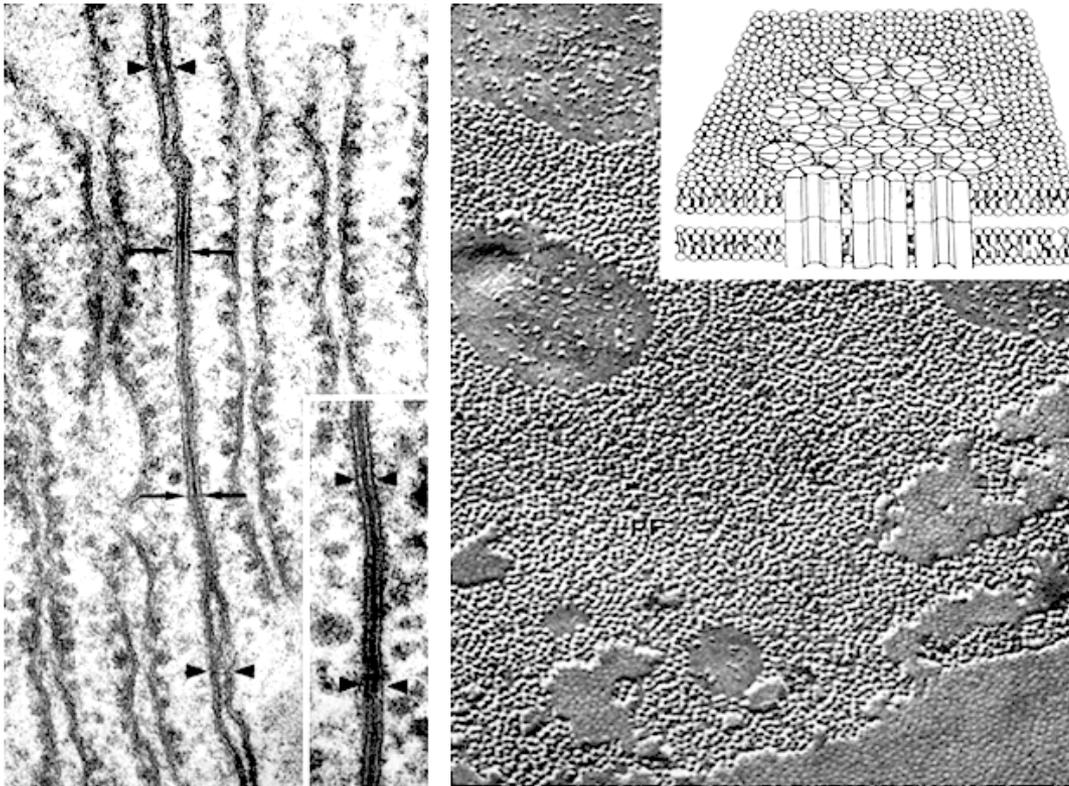


Microscopie électronique, cryofracture

La barrière mucosale intestinale

Structure des cellules épithéliales intestinales

Connections entre cellules assurées par des jonctions intercellulaires spécialisées: jonctions gap



Synchronisation des cellules, passage intercellulaire de molécules...

La barrière mucoale intestinale

Différents types de cellules épithéliales

3 principaux types de formes, selon les muqueuses

- Squameuses (squamous): aplaties, empilées en quinconce. Composent le revêtement de la peau (épiderme) et bordent certaines cavités internes (buccale, pulmonaire).
- cuboïdes (cuboidal): relativement arrondies, déformables et formant une couche élastique. Bordent la vessie, et les organes sujets à déformation (capacité de rétention de liquide).
- en colonne (columnar): hautes et étroites en simple couche de cellules sécrétrices et absorbantes. Bordent le tractus gastro-intestinal et forment la bordure ciliée du tractus respiratoire

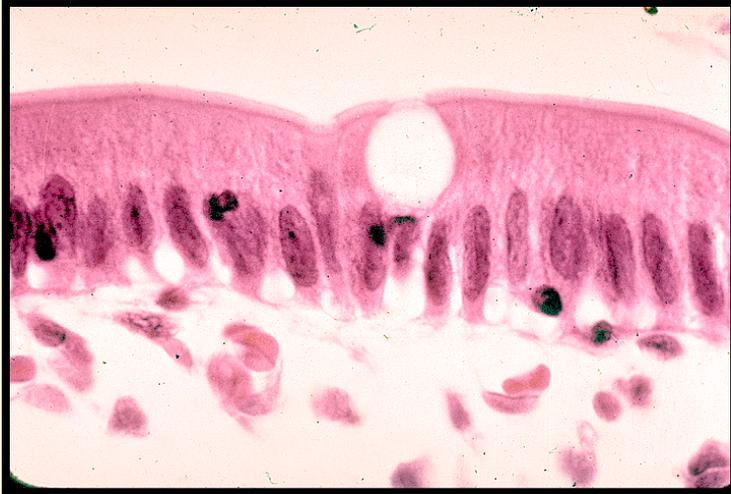
3 principaux types d 'assemblages des cellules

Simple, stratifiés, pseudostratifiés.

La barrière mucosale intestinale

Comparaison de différents types d'épithéliums

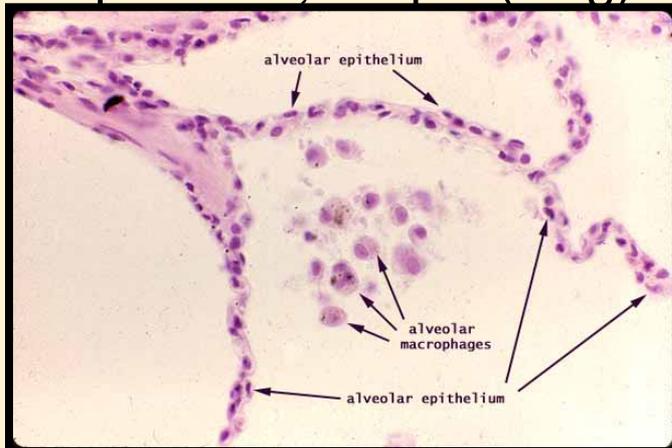
- Columnar, simple (gut)



- Cuboidal, simple (kidney)



- Squamous, simple (lung)



- Squamous, stratified (skin)



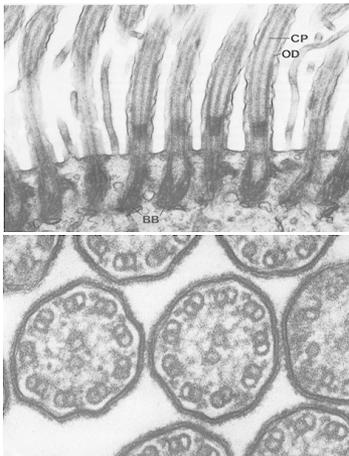
La barrière mucosale intestinale

Cellules épithéliales

- Intestinales: enterocytes, Goblet cells, Paneth cells



- pulmonaires: ciliées, Goblet cells



Coupe longitudinale: les « basal bodies » au départ de chaque cil sont formés par les centrioles.

Structure des cils en microscopie électronique à transmission.

Coupe transversale: noter les 9 doublets de microtubules et les deux singlets au centre qui forment l'architecture de chaque cil.

La barrière mucosale intestinale

Cellules épithéliales intestinales

- Polarisation

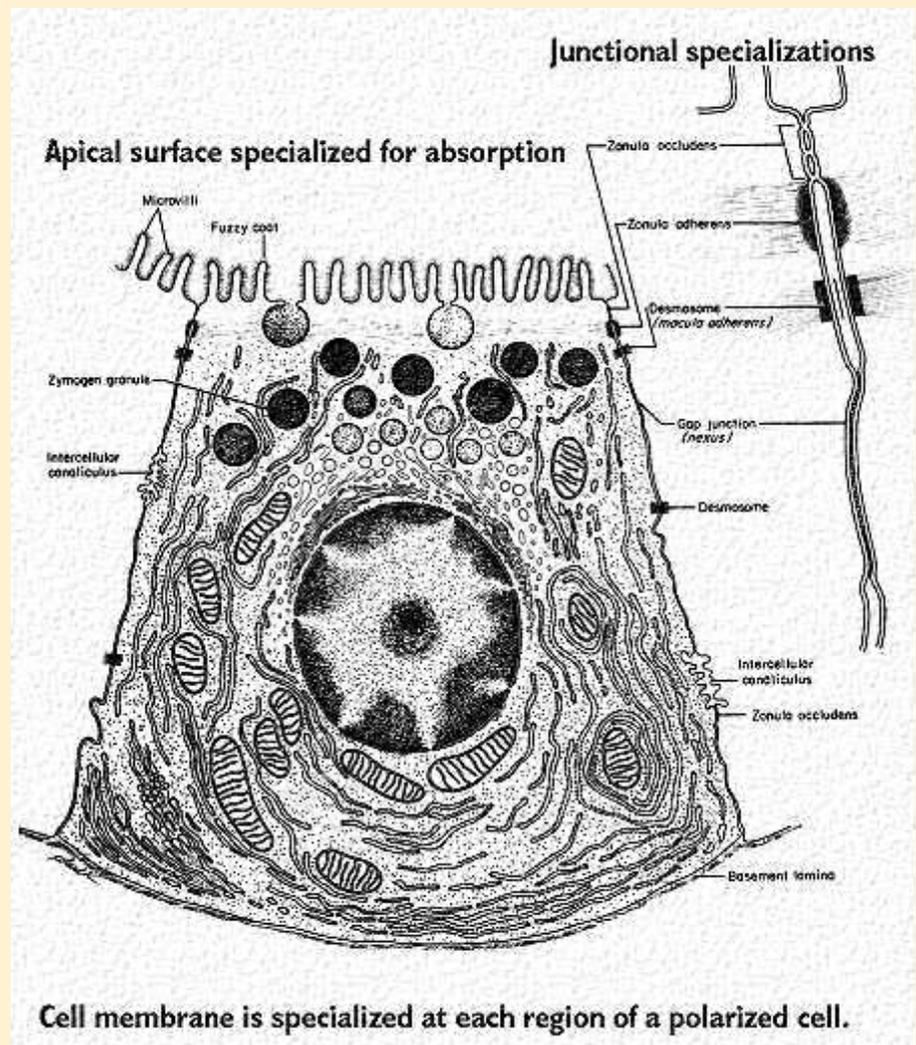
Pôle apical: côté lumière intestinale.

Pôle basolatéral: côté lame basale et lamina propria

Réseau complexe de microfilaments du cytosquelette:

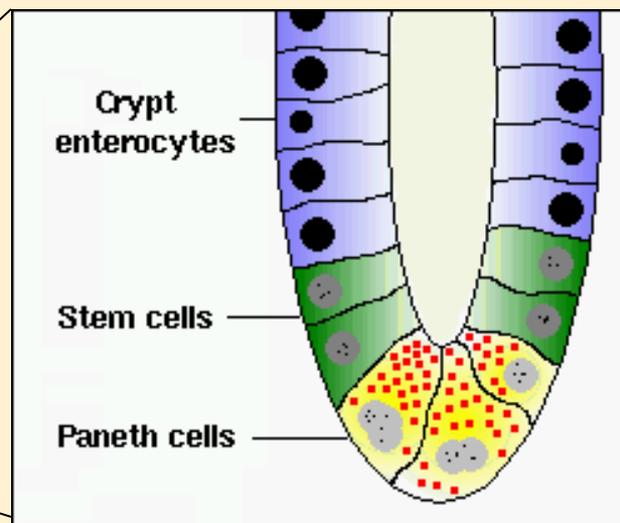
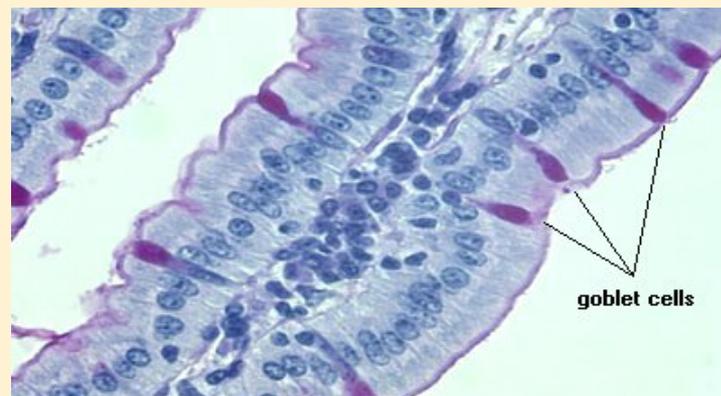
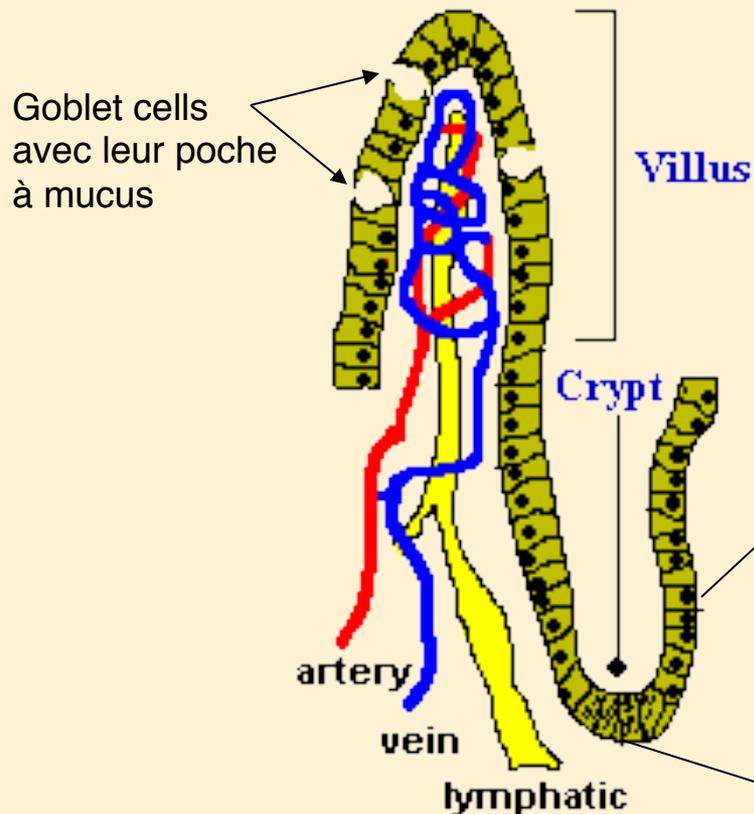
Anneaux d'actine à chaque pôle.
Filaments intermédiaires dans tout le cytoplasme et points d'ancrage à la membrane plasmique

- Durée de vie limitée: quelques jours



La barrière mucosale intestinale

Cellules épithéliales intestinales



Le renouvellement des cellules de l'épithélium se fait par prolifération de cellules souches au niveau de la crypte, qui migrent et se différencient vers le sommet de la villosité ou elles meurent (apoptose) et exfolient. (implication de EGF, FGF, HGF et ITF).

La barrière mucosale intestinale

Ontogénie de l'épithélium intestinal

- Morphogenèse du tube digestif à partir de l'endoderme : semaine 4 de gestation.
- Monocouche de cellules épithéliales à jonctions serrées : semaine 10.
- différenciation de cellules caliciformes à production de mucus : semaine 12.
- Première synthèse des α -défensines par les cellules de Paneth : semaine 13; production de lysozyme : vers la semaine 20.
- Expression du FcRn à partir de 18 semaines (transfert d'immunité passive, IgG dans le liquide amniotique vers 12 semaines et dans le lait maternel).
- Apparition des follicules B, zones T et plaques de Peyer : semaine 19 (après la naissance chez la souris).

Les plaques de Peyer sont des zones lymphoïde différenciées à la surface de l'intestin, recouvertes d'un épithélium modifié (cellules « M » sans villosités mais à « microfolds »).

La barrière mucoale intestinale

La fonction de barrière

L 'objectif est de prévenir le passage de pathogènes de la lumière vers la lamina propria et dans la circulation sanguine.

Les barrières physico-chimiques aux infections:

- | | |
|----------|--------------------------|
| poumons | - ascenseur mucociliaire |
| | - surfactant |
| intestin | - péristaltisme |
| | - pH acide |
| | - sels biliaires |
| | - thiocyanate |
| | - flux gastro intestinal |

La barrière mucoale intestinale

La fonction de barrière

Barrière extrinsèque: pour restreindre la quantité de pathogènes atteignant la surface épithéliale de l'intestin.

- Protéolyse et acidité gastrique
- Péristaltisme
- Couche de mucus
- Anticorps
- Flore commensale

Barrière intrinsèque: caractéristiques physiques de l'épithélium lui-même, facteurs antimicrobiens, production de défensines.

Equipement immunitaire:

Lymphocytes intra-épithéliaux,

Plaques de Peyer: dômes à cellules épithéliales spéciales (cell. M)
recouvrant un ou plusieurs follicules lymphoïdes,

Follicules lymphoïdes disséminés

Cellules immunitaires de la lamina propria sous-épithéliale 14

La barrière mucoale intestinale

La fonction de barrière

La flore intestinale commensale

- Aide à la digestion (*Ruminococcus*, *Fibrobacter* chez les ruminants)
- Dégradation des glycoprotéines du mucus (bénéfice mutuel: source alimentaire pour la flore et désengorgement du mucus)
- Compétition vis-à-vis des microbes pathogènes: compétition de nutriments, production de bacteriocines, interférence avec les signaux du quorum sensing.
- Angiogenèse et développement de l'immunité innée*

* L. Hooper et al., Science 2001, 291: 881-884.

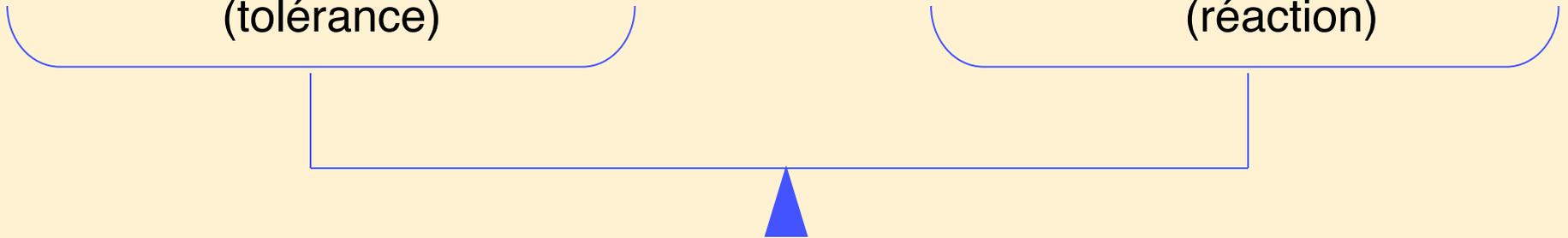
La barrière muqueuse intestinale

La fonction de barrière

Maintien de l'homeostasie intestinale: état d'équilibre

Prévenir une réponse excessive
aux antigènes alimentaires et à la
flore commensale sans danger
(tolérance)

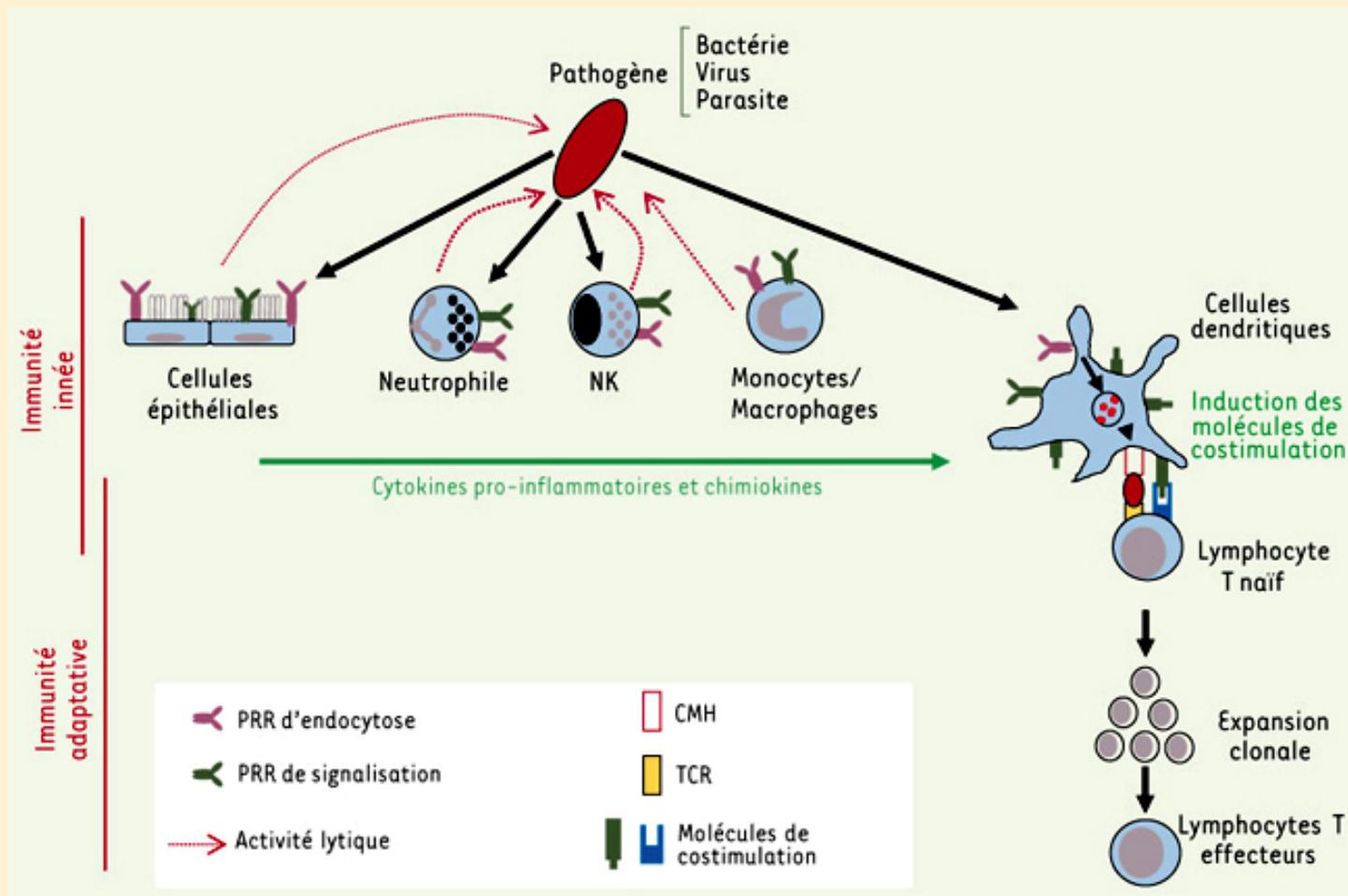
Etablir une réponse immune
protectrice contre des
pathogènes intestinaux
(réaction)



La barrière mucosale intestinale

La surveillance: sonder le monde extérieur pour mieux réagir

Sonder et réagir immédiatement si reconnaissance pathogène: immunité innée
Appel à l'aide plus spécifiquement si débordement: immunité adaptative



La barrière mucoale intestinale

La surveillance: sonder le monde extérieur

Discrimination entre flore commensale bénéfique et pathogènes nuisibles:
reconnaissance de motifs moléculaires de surface (MAMPs)
par des récepteurs (PRR)

MAMPs = Microbe-associated molecular patterns

LPS

acide lipoteichoïque

peptidoglycanes

lipoprotéines...

PRR = pattern-recognition receptors

Toll-like receptors

Sur les enterocytes, les phagocytes
et les cellules dendritiques DC

TLR1-TLR2 -> Lipoprotéines

TLR4 -> LPS

TLR5 -> flagelline

TLR9 -> motifs CpG non méthylés
de l'ADN bactérien

Nod-like receptors (NLRs)

Intracytoplasmique

NOD1, NOD2 (voie NF-κB)
NLRP3, NLRC4 (voie Caspase 1)

La barrière mucoale intestinale

La surveillance: sonder le monde extérieur

Innate Immunity

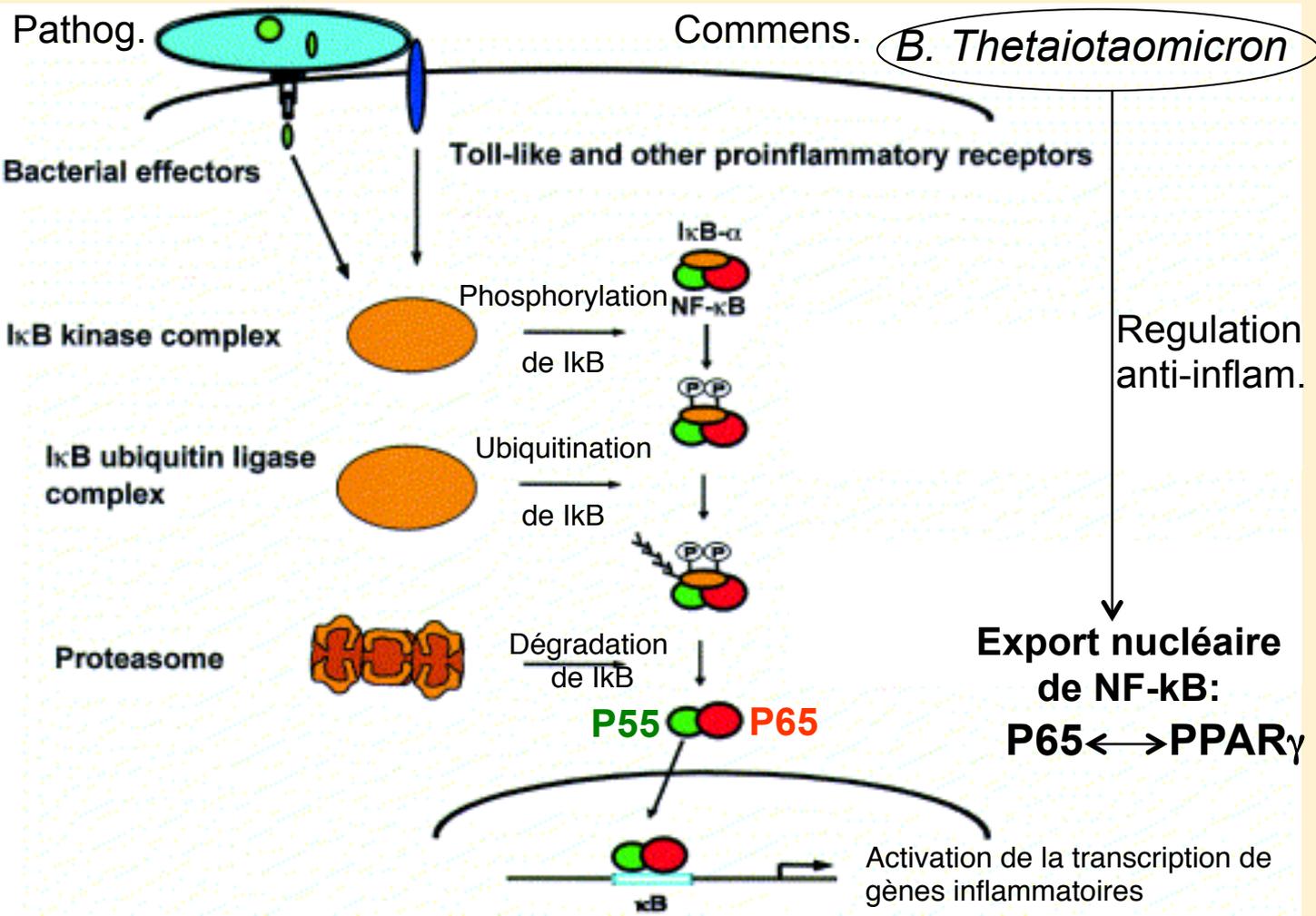
Molecular pattern of microbe	Source	Pattern recognition receptor of innate immunity	Principal innate immune response
dsRNA ssRNA	Replicating viruses	Toll-like receptor? TLR3, TLR7, TLR8	Type I interferon production by infected cells
LPS	Gram-negative bacterial cell wall	Toll-like receptor/CD14 TLR4/CD14	Macrophage activation
Unmethylated CpG nucleotides	Bacterial DNA	Toll-like receptor TLR9	Macrophage activation
<i>N</i> -formylmethionyl peptides	Bacterial proteins	<i>N</i> -formylmethionyl peptide receptors	Neutrophil and macrophage activation
Mannose-rich glycans	Microbial glycoproteins or glycolipids	1. Macrophage mannose receptor 2. Plasma mannose-binding lectin	1. Phagocytosis 2. Opsonization, complement activation
Phosphorylcholine and related molecules	Microbial membranes	Plasma C-reactive protein	Opsonization, complement activation

Abbreviations: dsRNA, double-stranded RNA; LPS, lipopolysaccharide.

La barrière muqueuse intestinale

La surveillance: sonder et contrôler (immunité innée)

Les signaux transduits par les PRR déclenchent une réponse inflammatoire (cytokines inflam) et la production de chimiokines recrutant les phagocytes



Effet TLR-ligand: activation de la voie NF-κB



Expression des gènes de la réponse inflammatoire

La barrière mucosale intestinale

La surveillance: sonder et contrôler (immunité innée)

Stimulation de l'épithélium par les PAMPs: activation de la voie NF- κ B

Expression de l'IL-8 (CXCL8), de l'IL-1, du GM-CSF, de GRO (KC, CXCL1) et MCP-1 (CCL2).



Recrutement des polynucléaires neutrophiles, des macrophages et activation de la réponse inflammatoire: IL1, IL6, TNF α , ...

Sollicitation de cellules de l'immunité innée: phagocytes en premier lieu

La barrière mucosale intestinale

La surveillance: sonder le monde extérieur

Pathologies inflammatoires intestinales: situations de déséquilibre

- IBD (inflammatory bowel disease): Crohn 's disease et ulcerative colitis

Réactivité aux bactéries de la flore commensale

Accessibilité accrue de PRR à la surface apicale des enterocytes

« Hyper-réponse » aux MAMPs (Nod2= gène de sensibilité à la maladie de Crohn)*.

Développement de l'IBD chez la souris déficiente en IL-2

Induction des beta-défensines 2 et 3 humaines abrogée durant la maladie de Crohn.

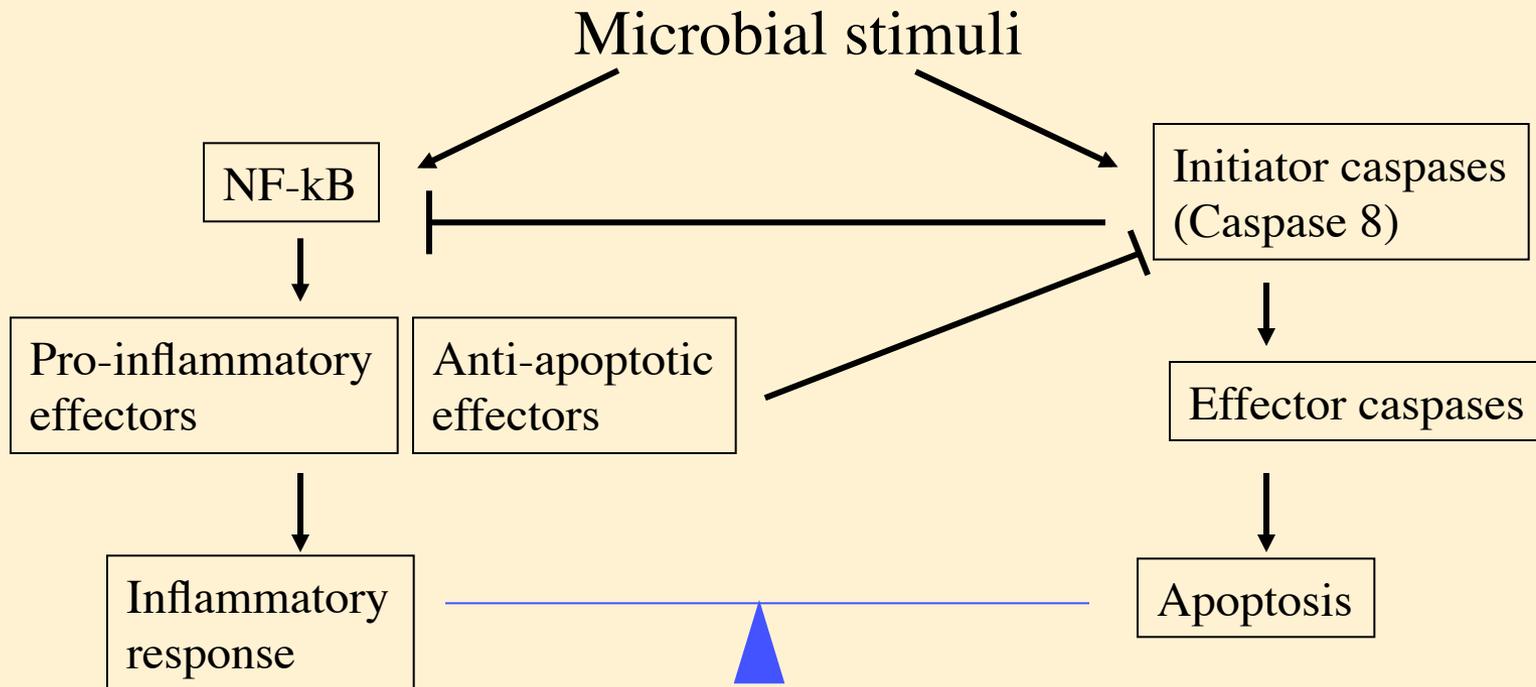
*Y. Ogura et al., Nature 2001, 411: 603.

J. P. Hugot et al., Nature 2001, 411: 599.

La barrière muqueuse intestinale

La surveillance: sonder et contrôler (immunité innée)

Les signaux transduits par les PRR peuvent aussi déclencher une réponse pro-apoptotique menant à la mort cellulaire programmée.



Recruitment of innate and adaptive immune cells

Elimination of infected cells

—| inhibition
—> activation

La barrière mucosale intestinale

La surveillance: sonder et contrôler

Inocuité de la flore commensale ?

- Peu de reconnaissance de motifs moléculaires de surface (MAMPs):
masquage des MAMPS des commensaux par les IgAs*
- Peu de PRR accessibles à la surface apicale des enterocytes
- Régulation négative de la voie NF- κ B par des bactéries non pathogènes**.
 Signaux délivrés à l'épithélium pour limiter les réponses inflammatoires.
« Répression » inflammatoire.

* AJ Macpherson & T Uhr, Science 2004, 303:1662-1665.

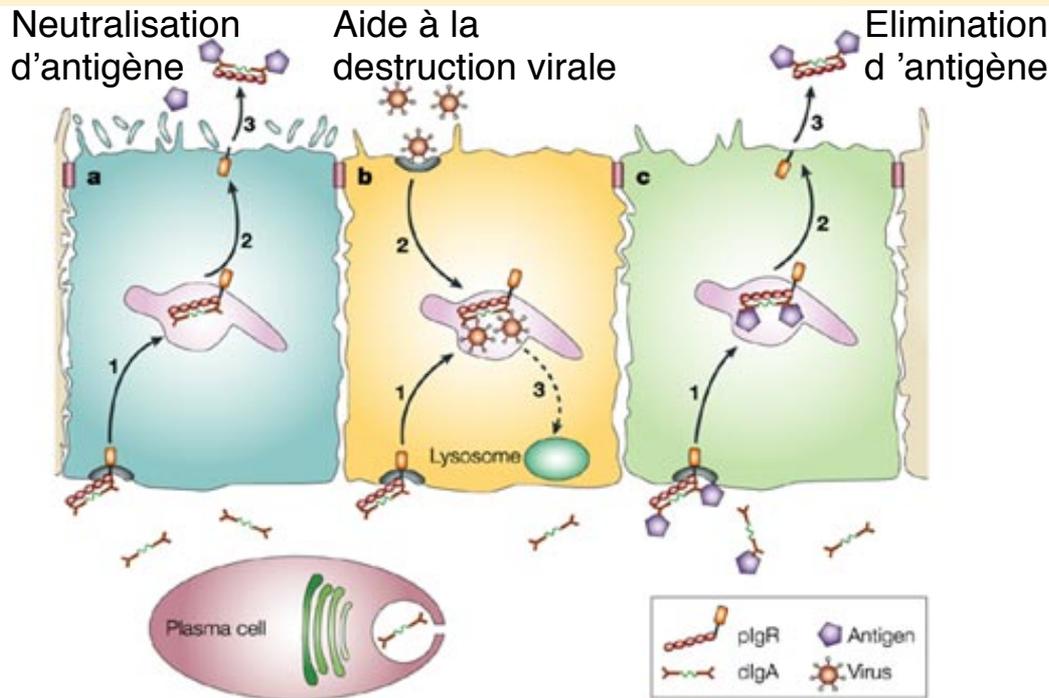
** A Neish et al., Science 2000, 289: 1560-1563.

La barrière mucosale intestinale

La surveillance: sonder et contrôler

« Camouflage » de la flore commensale: rôle des IgA sécrétoires (IgA)

Produites en majorité par les lymphocytes B220+ IgM+ (T - indép), plasmocytes.



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

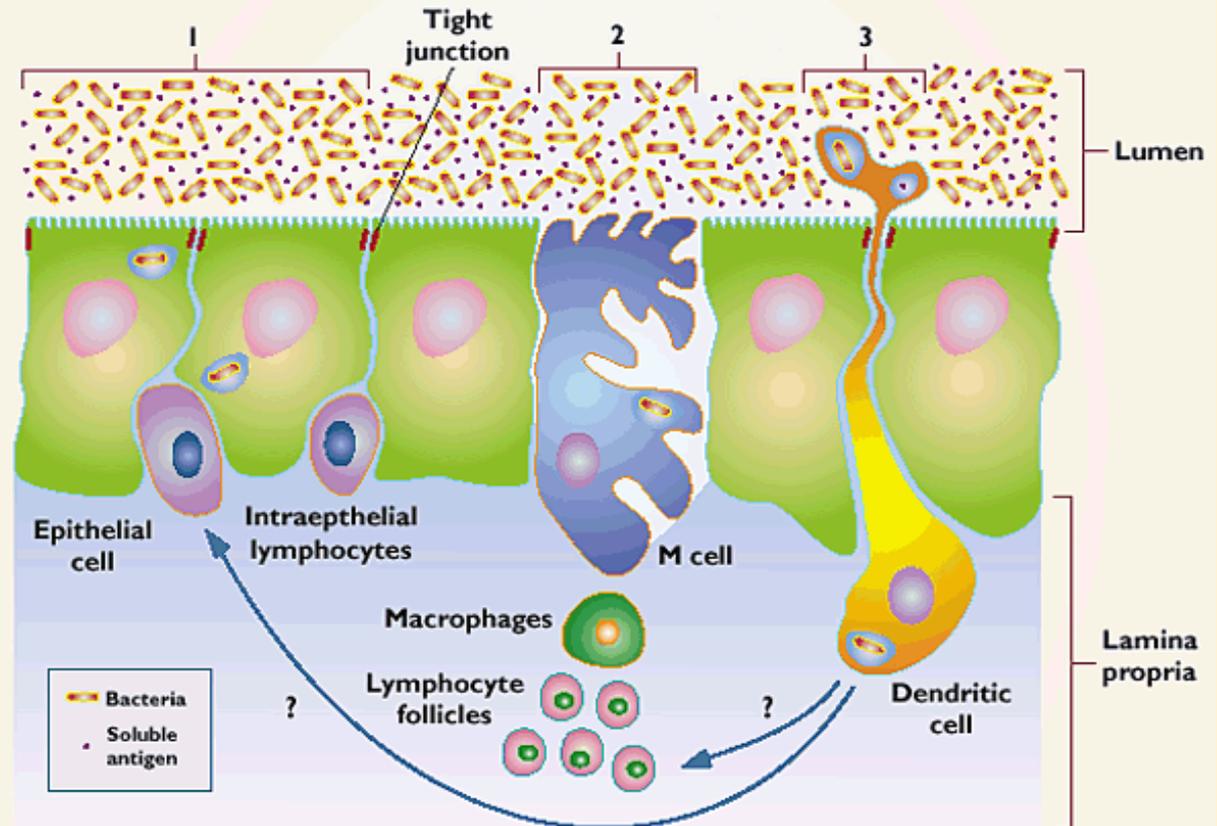
Prévenir l'invasion de l'hôte par la flore intestinale

La barrière mucosale intestinale

La surveillance: informer et réagir (immunité spécifique)

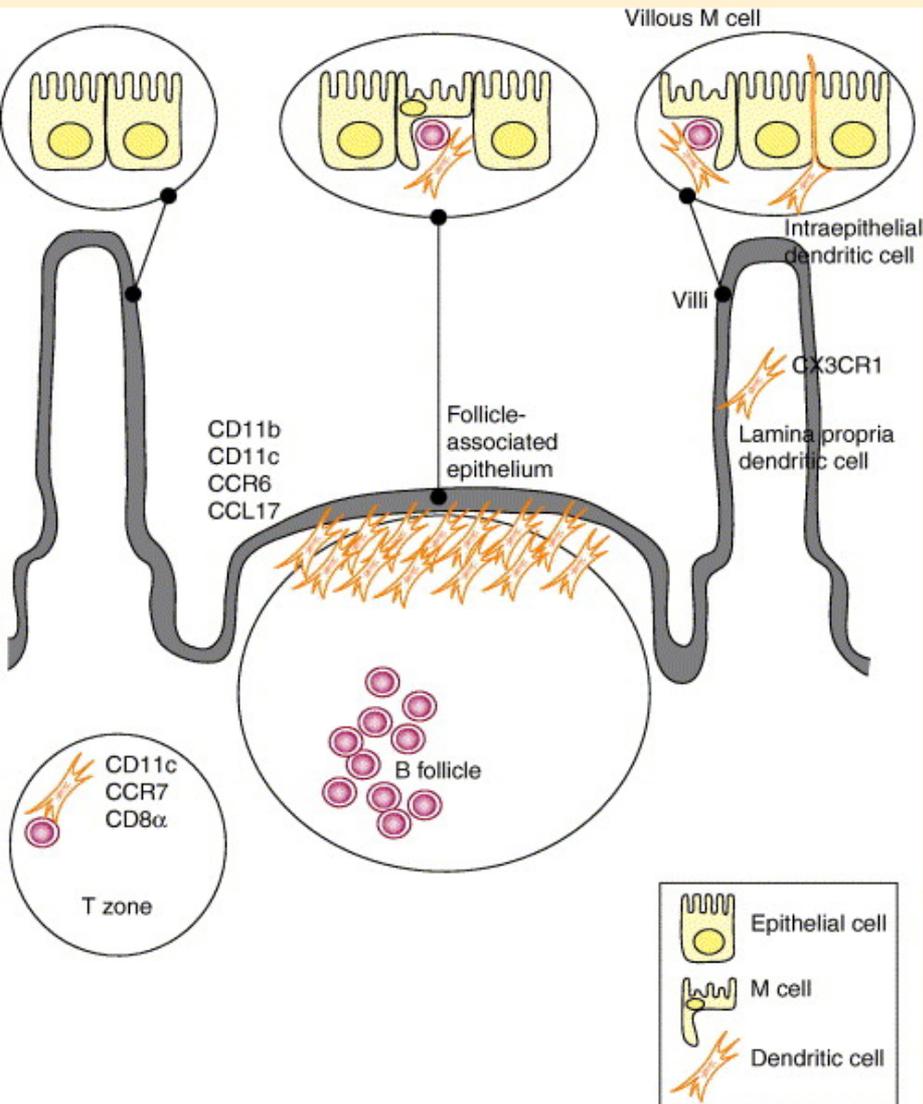
Le passage de microorganismes est possible mais contrôlé: « sampling ».

1. Passage direct, au travers des cellules épithéliales
2. Passage via les cellules M qui surmontent les zones lymphoïdes folliculaires
3. Captation par les cellules dendritiques qui envoient des extensions dans la lumière intestinale



La barrière muqueuse intestinale

La surveillance: informer et réagir (immunité spécifique)



La cellule M « super captatrice »

- bordure en brosse désorganisée
- glycocalyx réduit
- pas de sécrétion de mucus
- expression de CCL20



Recrutement de cellules dendritiques immatures dans le dôme subépithélial

La cellule dendritique « super sentinelle » muqueuse.

La barrière mucosale intestinale

La surveillance: informer et réagir (immunité spécifique)

La réponse T: développement d'une immunité spécifique des antigènes dérivés des pathogènes

Les lymphocytes intra épithéliaux (IEL): majoritairement CD8+ TCR $\alpha\beta$ ou TCR $\gamma\delta$ à répertoire restreint \longleftrightarrow CMHI non conventionnel des cellules épithéliales intestinales (IEC).

Les IEL expriment l'intégrine $\alpha E\beta 7$ qui interagit avec la E-cadhérine des cellules épithéliales.

Les lymphocytes T de la lamina propria sont effecteurs / mémoire et issus de la migration de cellules T:
sites inducteurs (« priming » par les DC dans les follicules lymphoïdes et ganglions drainant) \longrightarrow recirculation T et « homing » des T ($\alpha 4\beta 7 \longleftrightarrow$ MAdCAM).

Recirculation des lymphocytes stimulés, via la lymphe \longrightarrow canal thoracique puis circulation générale et domiciliation muqueuse intestinale.

La barrière mucosale intestinale

La surveillance: informer et réagir (immunité spécifique)

La circulation des lymphocytes

Les lymphocytes T et B stimulés au niveau des MALT (mucosa associated lymphoid tissue) acquièrent des récepteurs de domiciliation muqueuse: l'intégrine $\alpha 4\beta 7$.

$\alpha 4\beta 7$ intégrine
des lymphocytes primés



MadCAM-1 adressine
des cellules endothéliales
de veinules post-capillaires
de l'intestin

CCR9/CCR10
des lymphocytes primés



CCL25 et MEC (mucosa-associated
epithelial chemokine)

Mise en place de l'immunité spécifique

La barrière mucoale intestinale

La tolérance orale

La rencontre d'un antigène (Ag) au niveau de l'intestin déclenche un processus inhibiteur prévenant l'établissement de réponses cellulaires spécifiques de cet Ag (TCD4+ et TCD8+) suivant une immunisation systémique avec le même Ag.



Immunosuppression

Prévention d'une hypersensibilité retardée aux antigènes alimentaires et de la flore commensale

La barrière muqueuse intestinale

La tolérance orale

- La muqueuse du petit intestin représente le siège d 'induction de la tolérance orale.
- Les cellules épithéliales expriment des molécules du CMH I et II atypiques et ne possèdent pas de molécules de co-stimulation indispensables à la présentation d 'Ag  induction d 'anergie?
- Les lymphocytes T intestinaux de la lamina propria sont majoritairement effecteur/mémoire et peu sont naïfs.
- Les cellules épithéliales ayant rencontré un Ag intestinal peuvent être suppressives vis à vis de cellules TCD8+ spécifiques via la sécrétion d 'IL10 et de TGFβ .

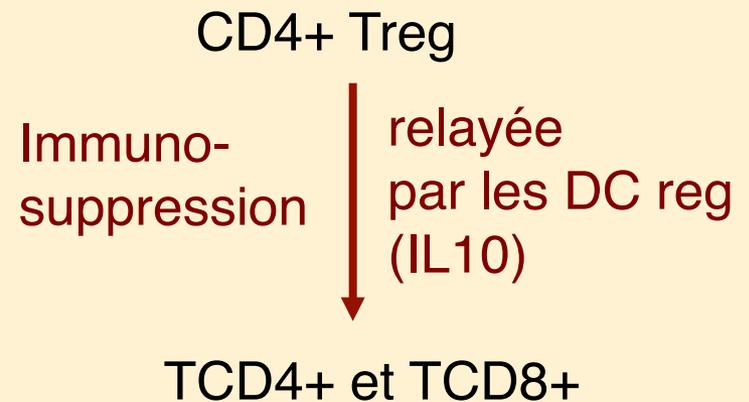
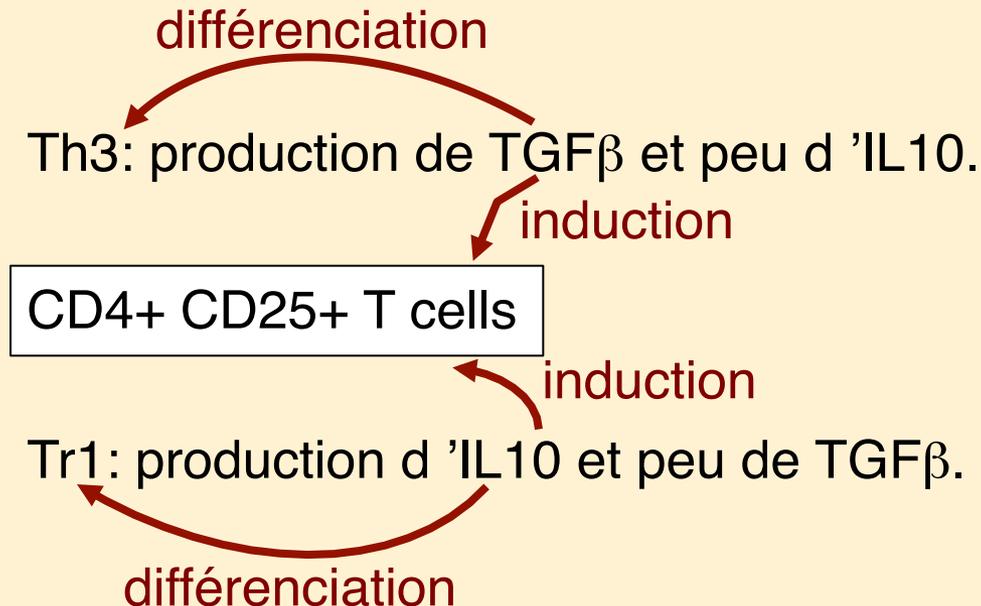
La barrière mucosale intestinale

La tolérance orale

Mécanisme, selon la dose d 'antigène

- Faible dose: immuno-suppression médiée par les cellules Treg.
- Forte dose: immuno-suppression médiée par anergie/délétion des cellules T spécifiques de l 'antigène.

Les cellules T régulatrices: CD4+ Treg



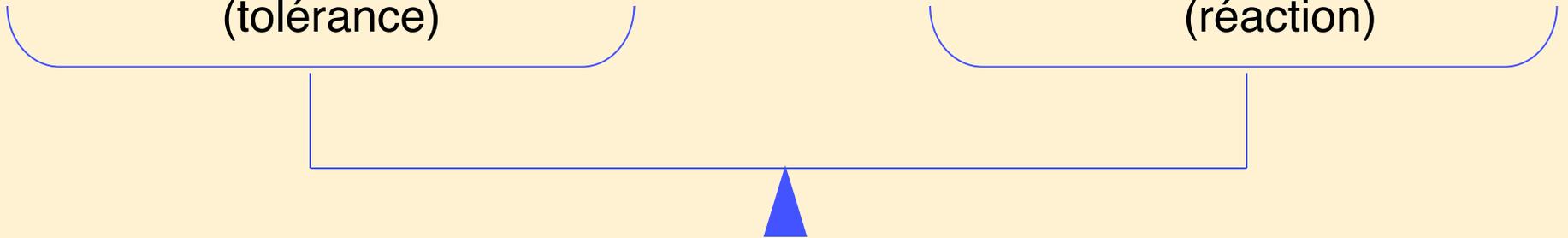
La barrière muqueuse intestinale

La fonction de barrière

Maintien de l'homeostasie intestinale: état d'équilibre

Prévenir une réponse excessive
aux antigènes alimentaires et à la
flore commensale sans danger
(tolérance)

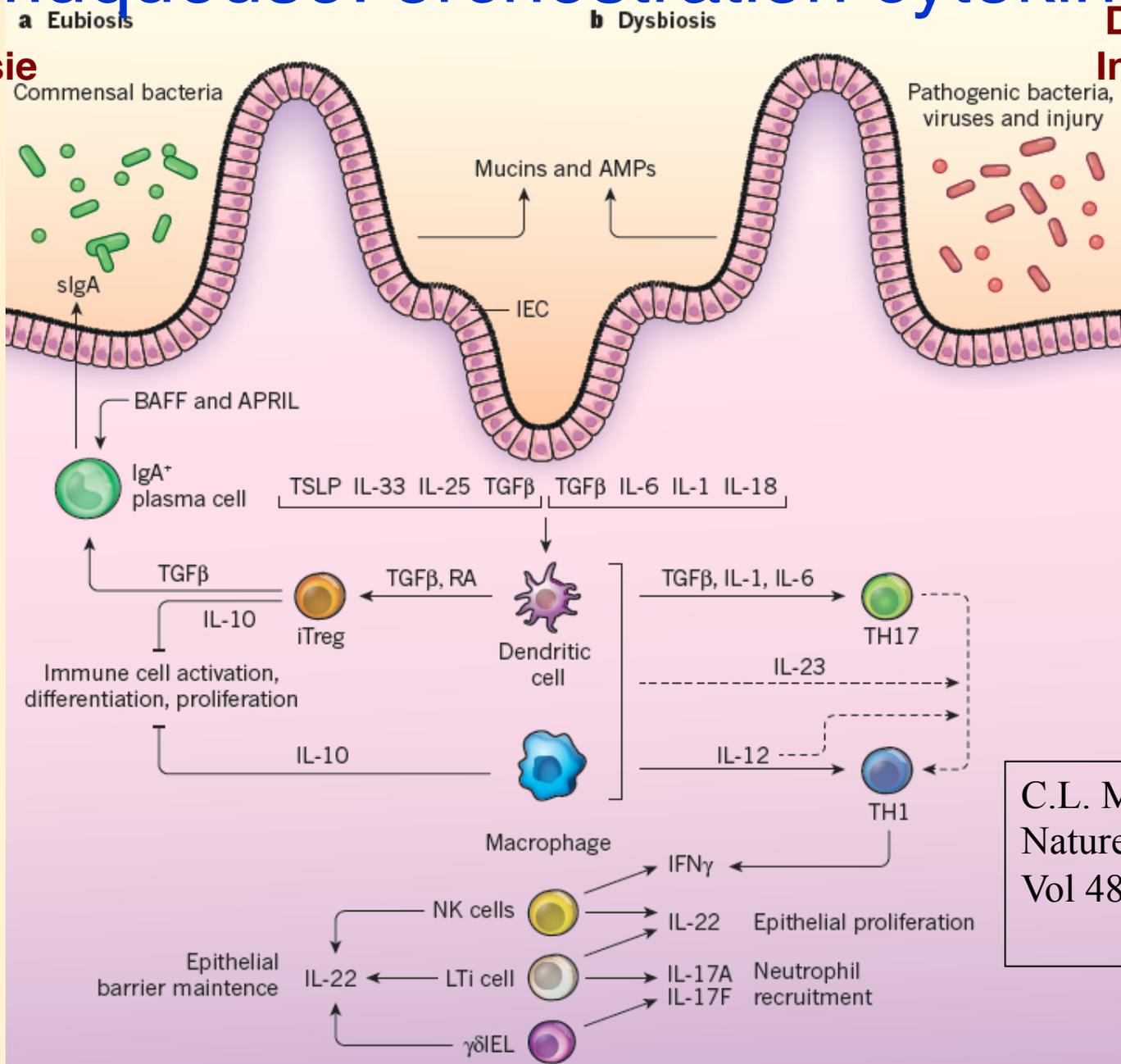
Etablir une réponse immune
protectrice contre des
pathogènes intestinaux
(réaction)



La muqueuse: orchestration cytokinique

Équilibre
Homéostasie

Deséquilibre
Inflammation



C.L. Maynard et al
Nature, 13Sept2012
Vol 489 ; p231



Référence à lire :

Araceli Perez-Lopez et al. « Mucosal immunity to pathogenic intestinal bacteria ».

Nature Reviews/Immunology, Mars 2016, Vol 16, p 135-148.