



**HAL**  
open science

# Le rôle de la Mannose-binding lectin dans l'homéostasie intestinale et dans l'élimination de *Candida albicans*

Laura Choteau

► **To cite this version:**

Laura Choteau. Le rôle de la Mannose-binding lectin dans l'homéostasie intestinale et dans l'élimination de *Candida albicans*. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2016. Français. NNT : 2016LIL2S006 . tel-01428553

**HAL Id: tel-01428553**

**<https://theses.hal.science/tel-01428553>**

Submitted on 6 Jan 2017

**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.

Université de Lille 2-Droit et Santé  
Ecole Doctorale de Biologie-Santé de Lille

**THESE DE DOCTORAT**  
**Pour l'obtention du grade de**  
**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE 2**

Discipline : Immunologie, Microbiologie, Virologie, Parasitologie  
Spécialité : Parasitologie-Mycologie

Présentée et soutenue publiquement le 22 avril 2016 par

**Laura CHOTEAU**

**Le rôle de la Mannose-binding lectine dans  
l'homéostasie intestinale et dans l'élimination de  
*Candida albicans***

**MEMBRES DU JURY**

**Rapporteurs:**

**Dr. Agnès COSTE**, Université Toulouse III

**Dr. Pierre-Yves BOCHUD**, Université de Lausanne

**Examineurs:**

**Pr. Michel SIMONET**, Université Lille 2

**Pr. Christophe D'ENFERT**, Institut Pasteur Paris

**Pr. Boualem SENDID**, Université Lille 2

**Directeur de thèse:** **Dr. Samir JAWHARA**, Université Lille 2

# Remerciements

## A Monsieur le Professeur Boualem Sendid et à Monsieur le Docteur Samir Jawhara

Je vous remercie de m'avoir accueillie dans votre équipe. Je vous remercie pour votre investissement, durant ces trois dernières années, dans le projet et la rédaction des articles.

## A Madame et Monsieur les Docteurs Agnès Coste et Pierre-Yves Bochud,

Je vous remercie d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce jury. Merci infiniment pour vos remarques et vos conseils avisés.

## A Monsieur le Professeur Michel Simonet et à Monsieur le Docteur Christophe D'Enfert,

Je vous remercie de participer à ce jury et d'ainsi, me faire partager votre expertise et votre savoir.

## Aux collègues de l'équipe 2,

Merci à tous pour ces trois années de collaboration. Je remercie particulièrement Anne-Marie, plus qu'une collègue, une amie, qui a égayé mes journées de travail. Je remercie aussi le Docteur Julien Poissy que j'ai connu en tant que doctorant et qui m'a soutenu même après la fin de sa thèse. Enfin, en tant que « lura de la recherche », je tenais également à remercier Caroline pour ses précieux conseils et sa disponibilité, malgré son emploi du temps bien chargé.

## A mes chers collègues du LIRIC et de soirée,

Votre petite « Lerat » vous remercie pour vos collaborations, votre soutien et votre amitié. Grâce à vous, ces trois dernières années resteront l'un des meilleurs moments de ma vie. Un grand merci au Docteur Laurent Dubuquoy et à Caroline Dubuquoy pour leurs bons conseils professionnels et personnels. Une mention spéciale pour Caty, Béné, Didier, Solène, Arnaud, Manel, et Marie : ma seconde équipe d'adoption.

## A Paul et Léa

Vous avez partagé avec moi cette aventure au quotidien. Commencer ma nouvelle vie professionnelle, avec vous à mes côtés, me comble de joie.

# Valorisation scientifique

Ce travail a été réalisé au sein de l'équipe « Fungal-associated invasive and inflammatory disease » de l'unité Inserm 995-LIRIC, dirigée par le Professeur Boualem Sendid. Il a donné lieu à une publication :

- **Choteau L.**, Parny M., Francois N., Bertin B., Fumery M., Dubuquoy L., Takahashi K., Colombel J-F, Jouault T., Sendid B. and Jawhara S., Role of mannose-binding lectin in intestinal homeostasis and fungal elimination. *Mucosal Immunology*. 2015

Deux articles sont en cours de finalisation:

- **Choteau L.**, Vasseur F., Lepretre F., Figeac M., Dubuquoy L., Poulain D., Colombel J-F., Sendid B., Jawhara S. Polymorphisms in the Mannose Binding Lectin gene are associated with the defect of the Mannose Binding Lectin functional activity in Crohn's disease patients. In submission (*Clinical Gastroenterology and Hepatology*)
- **Choteau L.**, Vancraeyneste H., Dubuquoy L., Romani L., Jouault T., Poulain D., Sendid B., Calandra T., Roger T., Jawhara S. TLR6<sup>-/-</sup> mice are more protected than TLR1<sup>-/-</sup> and TLR2<sup>-/-</sup> mice against *Candida albicans* colonization and intestinal inflammation in DSS induced colitis. In submission

Autres contributions :

- Damiens S., Danze PM., Drucbert AS., **Choteau L.**, Jouault T., Poulain D., Sendid B. Characterization of the recognition of *Candida* species by mannose-binding lectin using surface plasmon resonance. *Analyst* 2013; 138(8):2477-82.
- Vancraeyneste H., Guerardel Y., **Choteau L.**, Bauters A., Tardivel M., Francois N., Dubuquoy L., Soloviev D., Poulain D., Sendid B., Jawhara S. Short Fungal Fractions of  $\beta$ -1,3 Glucans Affect Platelet Activation. In revision (*American Journal of Physiology*)

# Communications scientifiques

## ➤ Communications orales

- **Choteau L.**, Vasseur F., Lepretre F., Figeac M., Dubuquoy L., Poulain D., Colombel J-F., Sendid B., Jawhara S. La Mannose-binding lectin et l'homéostasie intestinale. SFMM, Grenoble, 24-25 march 2016
- **Choteau L.**, Dubuquoy L., Takahashi K., Colombel JF., Poulain D., Jouault T., Sendid B., Jawhara S. Role of Mannose Binding Lectin in intestinal homeostasis and pathogen elimination. SFI, Lille, 4-6 november 2014.
- Jawhara S, **Choteau L.**, Fontaine L, Guerardel L, Sendid B, Vandekerckove P, Poulain D. Yeasts and their glycan components can have a beneficial or adverse effect on intestinal inflammation. International Union of microbiology societies (IUMS), Montréal, Canada. 27 July- 1 August 2014
- **Choteau L.**, Dubuquoy L., Takahashi K., Colombel JF., Poulain D., Jouault T., Sendid B., Jawhara S. Mannose Binding Lectin modulates intestinal inflammation and *Candida albicans* colonization in mice. SFMM, Reims, 21-23 may 2014.

## ➤ Posters

- **Choteau L.**, Vancraeyneste H, Dubuquoy L, Romani L, Le Roy D, Jouault D, Poulain D, Sendid B, Calandra T, Roger T, Jawhara S. TLR6 deficiency confers protection against *Candida albicans* colonization and intestinal inflammation during experimental colitis. ISHAM (International Society for Human and Animal Mycology), Melbourne, Australia 4-8 May 2015.
- **Choteau L.**, Melissa P, Dubuquoy L, Takahashi K, Colombel J-F, Jouault T, Poulain D, Sendid B, Jawhara S. Role of Mannose Binding Lectin in intestinal homeostasis and pathogen elimination. ISHAM (International Society for Human and Animal Mycology), Melbourne, Australia 4-8 May 2015.
- **Choteau L.**, Dubuquoy L., Takahashi K., Colombel JF., Poulain D., Jouault T., Sendid B., Jawhara S. Mannose Binding Lectin modulates the inflammation and the *Candida albicans* colonization in gastrointestinal tract of mice. Journée André Verbert, Lille, 11sept 2014.
- **Choteau L.**, Dubuquoy L., Takahashi K., Colombel JF., Poulain D., Jouault T., Sendid B., Jawhara S. Mannose Binding Lectin modulates intestinal inflammation and *Candida albicans* colonization in mice. SM5 Allfun, Perugia (Italy), 29-30 august 2013.
- Jawhara S., **Choteau L.**, Vancraeyneste H., Dubuquoy L., Sendid B., Romani L., Poulain D., Calandra T., Jouault T., Roger T. Role of TLR1, TLR2 and TLR6 in the modulation of mouse immune defense against *Candida albicans* colonization and intestinal inflammation, 15 International congress of Immunology, SM5 satellite meeting, Perugia, Italy, 29-30 August 2013.

# Liste des abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADNc** : Acide désoxyribonucléique complémentaire

**ASCA**: Anti- *Saccharomyces cerevisiae* Antibodies

**ARN** : Acide ribonucléique

**BSA** : Bovin serum albumin

**CFU** : Colonies formant unité

**CRD** : Carbohydrate Recognition Domain

**DSS** : Dextran Sulfate Sodium

**ECL** : Enhanced chemiluminescence

**ELISA** : Enzyme-linked immunosorbent assay

**Ig** : Immunoglobuline

**IL** : Interleukine

**KO** : Knock out

**MASP**: MBL Associated Serine Protease

**MBL**: Mannose Binding Lectin

**MC**: Maladie de Crohn

**MGG** : May Grunwald Giemsa

**MICI** : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

**NET**: Neutrophil extracellular traps

**NGS**: Next generation sequencing

**NLR**: NOD like receptor

**NOD:** nucleotide oligomerization domain

**OCT:** Optimum cutting temperature compound

**PAMP:** Pathogen Associated Molecular Pattern

**PBS:** Phosphate buffer saline

**PCR:** Polymerase chain reaction

**PLM:** Phospholipomannane

**PPAR:** Peroxisome Proliferator Associated Receptor

**PPM:** Phosphopeptidomannane

**PRR:** Pattern Recognition Receptor

**RCH:** Rectocolite hémorragique

**SDS:** Sodium dodecyl sulfate

**TA:** Température ambiante

**TBS:** Tris buffer saline

**TLR:** Toll Like Receptor

**Tw:** Tween

**UA:** Unité arbitraire

# Résumé

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin qui peut être expliquée par une dysbiose et une dérégulation de la réponse immunitaire. La mannose-binding lectin (MBL), récepteur lectinique et les Toll-like récepteurs jouent un rôle crucial dans la défense contre les pathogènes et dans le développement de la réponse inflammatoire. Ils peuvent reconnaître de nombreux micro-organismes dont *Candida albicans*. Cette levure commensale est un immunogène des anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), anticorps utilisés dans le diagnostic de la MC. Une association entre un déficit en MBL et des taux élevés d'ASCA a été montrée chez les patients atteints de MC. Ce déficit en MBL est fréquemment associé à un phénotype sévère de la maladie. Le récepteur TLR2, associé à TLR1 ou à TLR6, est également impliqué dans la reconnaissance de *C. albicans* et le maintien de la barrière intestinale. L'objectif de ce projet a été d'étudier le rôle de la MBL et des récepteurs TLR2/TLR1/TLR6 dans l'homéostasie intestinale et l'élimination de *C. albicans* du tube digestif. Pour cela, nous avons exploré, les effets de la MBL et des TLR sur la colonisation intestinale à *C. albicans* et l'inflammation intestinale. Par ailleurs, nous avons déterminé, chez l'homme, l'influence des polymorphismes du gène *MBL2* sur la modulation de l'activité et des taux de MBL au cours de la MC.

A l'aide d'un modèle murin, nous avons mis en évidence l'expression de MBL-A et de MBL-C par les cellules épithéliales intestinales et leur implication dans l'homéostasie intestinale. Un déficit en MBL favorise la colonisation par *C. albicans* et une dissémination de la levure, en présence d'une colite chimio-induite. Les récepteurs TLR1 et TLR2 participent également dans la défense contre la colonisation par *C. albicans*, sans pour autant que leurs déficits n'entraînent de dissémination de la levure. A l'inverse, le récepteur TLR6 favorise la colonisation par *C. albicans*. La MBL et les récepteurs TLR1/TLR2/TLR6 régulent aussi l'expression des cytokines pro-inflammatoires impliquées dans les réponses Th1 et Th17. Ces résultats expérimentaux ont incité à envisager la poursuite de notre travail en approfondissant l'étude clinique sur des variations quantitatives et qualitatives de la MBL chez les patients atteints de MC et leur lien éventuel avec la persistance de l'inflammation intestinale. L'étude sur la cohorte de patients MC a montré que le gène *MBL2* était associé à un déficit quantitatif en MBL et un déficit qualitatif du complexe MBL-MASP chez les sujets sains et les patients. Ce polymorphisme est également associé à des taux élevés d'ASCA chez les patients MC ( $p < 0.05$ ) de la maladie et il est fréquemment associé aux formes sévères de la maladie. De plus, le variant rs2066844 du gène *NOD2*, variant associé à la MC, est significativement corrélé à une diminution de l'activité fonctionnelle du complexe MBL-MASP, sans diminution quantitative des taux de MBL.

Ces données montrent, pour la première fois, la production intestinale de MBL, qui est modulée par la colonisation par *C. albicans*. Elles confirment le rôle de la MBL et des récepteurs TLR dans l'homéostasie intestinale et dans la défense contre *C. albicans*. De plus, l'étude clinique sur la cohorte de patients MC révèle un défaut d'activité fonctionnelle du complexe MBL-MASP chez les patients MC ayant des polymorphismes des gènes *MBL2* et *NOD2*, pouvant mener à un phénotype sévère de la maladie. Ces études expérimentales et cliniques apportent des nouvelles données sur le lien entre les récepteurs de l'immunité innée et la maladie de Crohn ainsi que la colonisation/infection fongique et ouvrent des nouvelles perspectives sur le lien entre la persistance de la colonisation fongique et le déficit quantitatif/qualitatif de la MBL chez les patients MC.

**Mots clés :** *Candida albicans*, Inflammation, Mannose-binding lectine



# Abstract

## **Role of Mannose-binding lectin in intestinal homeostasis and *Candida albicans* elimination.**

Crohn's disease (CD) is an inflammatory bowel disease characterized by a dysregulation of the inflammatory response caused by dysbiosis and immune system disorders. Mannose Binding Lectin (MBL) and Toll like receptors (TLR) are involved in recognition of microorganisms and inflammatory response. They can recognize different patterns on the surface of the pathogens including *Candida albicans*. This pathogenic yeast is an immunogen for anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody (ASCA), diagnostic marker of CD. An association between MBL-deficiency and ASCA is observed in CD, and this MBL deficiency is frequently associated with a severe clinical phenotype of CD. In addition to MBL, TLR2, which forms heterodimers with either TLR1 or TLR6, have a major role in the innate immune defense against *C. albicans* and promotes intestinal homeostasis. In this project, we studied the role of MBL, TLR1, TLR2, and TLR6 in intestinal homeostasis and elimination of *C. albicans* in the intestinal tract. In the first part of this study; we assessed the effect of either MBL or TLR deficiencies on *C. albicans* colonization and intestinal inflammation in a murine model. In the second part of this study, we assessed the role of MBL polymorphisms in the modulation of MBL level and activity in CD patients.

In murine model, we showed that MBL is locally produced by the epithelial cells in response to *C. albicans* sensing and to intestinal inflammation and this lectin is required for the intestinal homeostasis. MBL-deficient mice had a higher level of colonization than wild-type mice. DSS-induced colitis promoted a high *C. albicans* colonization and dissemination to the kidneys and lungs of MBL-deficient mice. MBL-deficient mice exhibited reduced expression of IL-1 $\beta$  and IL-6 and elevated expression of IL-17, IL-23, dectin-1 and TLR-4. In terms of mice deficient in TLRs, DSS treatment and *C. albicans* oral challenge induced greater weight loss, worse clinical signs of inflammation, higher histopathologic scores, and increased mortality rates in TLR1<sup>-/-</sup> and TLR2<sup>-/-</sup> mice when compared to TLR6<sup>-/-</sup> and wild-type mice. Cytokine expression (TNF, IL-1 $\beta$ , IL-10, and IL-17A) was significantly increased in TLR1<sup>-/-</sup> and TLR2<sup>-/-</sup> mice, while they were decreased in TLR6<sup>-/-</sup> mice. In addition to the experimental studies, we observed in the clinical cohort of CD patients that *MBL2* variant rs5030737 (codon 52) was associated with a low level of MBL that leads to impaired MBL-MASP functional activities in both CD patients and healthy subjects. Furthermore, this variant was also associated with a higher level of ASCA in CD patients (p<0.05). Increased ASCA levels were found in CD patients with stricture formation and penetrating disease complications, 42% and 21% respectively. Besides, we observed that *NOD2* variant rs2066844, associated with susceptibility to CD, is significantly correlated with the impairment of the functional activity of MBL-MASP complex.

Overall, this study emphasizes the role of MBL and TLR in intestinal homeostasis and host defense against *C. albicans* and shows for the first time that MBL could be produced locally in the intestinal epithelial cells in response to *C. albicans* sensing. In terms of the clinical study, we observed that CD patients with a severe clinical phenotype have an impairment in MBL-MASP functional activity, and that this defect is associated with *MBL2* and *NOD2* polymorphisms. These experimental studies contribute to understand the link between innate immunity receptors, Crohn's disease and fungal colonization/infection. Finally, this study leads to new objectives which are to study the link between intestinal microbiota and MBL variation in Crohn's disease patients.

**Key words:** *Candida albicans*, Inflammation, Mannose-binding lectin

# Sommaire

<b>SOMMAIRE</b> .....	<b>9</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	<b>10</b>
<b>I. LA MALADIE DE CROHN : MALADIE INFLAMMATOIRE CHRONIQUE DE L'INTESTIN</b> .....	<b>12</b>
1. La maladie de Crohn, une maladie multifactorielle .....	14
2. Les dérèglements de l'homéostasie intestinale lors de la maladie de Crohn .....	19
3. Le diagnostic sérologique de la maladie de Crohn .....	24
<b>II. CANDIDA ALBICANS, COMMENSAL OPPORTUNISTE DU TUBE DIGESTIF</b> .....	<b>27</b>
1. Structure de la paroi de <i>C. albicans</i> .....	27
2. La transition blastoconide/hyphe .....	31
3. Physiopathologie des Candidoses .....	32
4. Méthodes d'identification de <i>C. albicans</i> .....	35
5. La défense de l'hôte contre <i>C. albicans</i> .....	37
<b>III. LE ROLE DES PRR DANS LA RECONNAISSANCE DE C. ALBICANS ET DANS LA MODULATION DE LA REPONSE INFLAMMATOIRE</b> .....	<b>42</b>
1. Les récepteurs Toll-like .....	42
2. Le complexe MBL-MASP (MBL- associated serine protease) .....	49
<b>OBJECTIFS</b> .....	<b>64</b>
<b>TRAVAUX PERSONNELS</b> .....	<b>66</b>
ARTICLE 1 .....	67
ARTICLE 2 .....	70
ARTICLE 3 .....	73
<b>DISCUSSION</b> .....	<b>75</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>81</b>

# Introduction générale

La maladie de Crohn est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin, localisée le long du tube digestif. Lorsque l'on observe l'incidence de la maladie au niveau national, celle-ci est plus élevée dans les populations du Nord de la France (Nerich et al. 2006). Dans cette population, l'incidence ne cesse d'augmenter depuis de nombreuses années avec un pic de 29% d'augmentation entre 1988 et 2007, touchant plus particulièrement les patients âgés de 10 à 19 ans (Chouraki et al. 2011). Bien que l'origine de la maladie soit encore inconnue, on sait que son étiologie est multifactorielle, impliquant des facteurs environnementaux, génétiques et immunologiques (Baumgart and Sandborn 2012).

Au niveau physiologique, un dérèglement de la réponse immunitaire associé à une dysbiose de la flore intestinale est l'un des mécanismes pouvant expliquer l'inflammation intestinale chronique observée au cours de cette maladie. Plus particulièrement, des mutations sur les récepteurs de l'immunité innée appartenant aux NLR (NOD-like récepteurs), aux TLR (Toll-like récepteurs) et aux lectines sont associées à un développement de la maladie. Ces récepteurs font partie du système de reconnaissance des pathogènes (les PRR) et ils interviennent dans les mécanismes de défense de l'immunité innée contre l'infection microbienne.

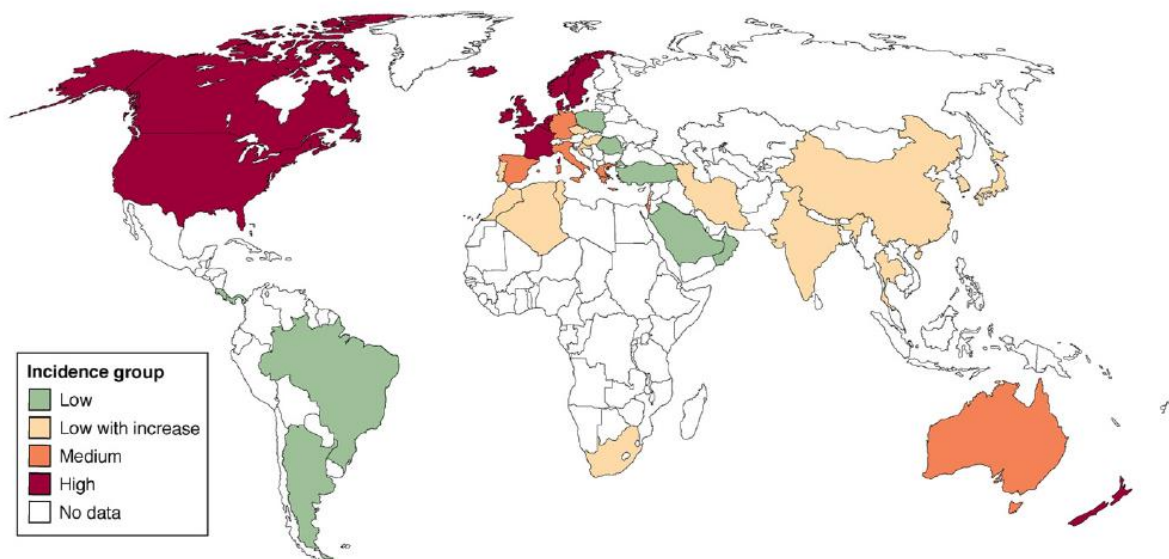
Dans la première partie de l'introduction générale, nous allons aborder la maladie de Crohn en mettant l'accent sur les facteurs génétiques et environnementaux dont l'influence du microbiote intestinal qui a été récemment mis en évidence. Par la suite, nous allons nous intéresser aux dérèglements de l'homéostasie intestinale dont le trouble fonctionnel de la barrière intestinale et la réponse inflammatoire liée aux lymphocytes T qui ont été mis en cause dans cette maladie chronique. Enfin, nous allons aborder les marqueurs sérologiques qui sont très utiles dans le diagnostic et la prédiction de l'évolution de la maladie.

Dans le second temps, nous allons introduire la levure commensale pathogène, *Candida albicans*, impliquée dans la réponse humorale élevée envers les glycanes pariétaux de levures chez les patients atteints de la maladie de Crohn. Après une présentation de sa structure pariétale, de son passage d'une forme levure (non invasive) à une forme mycélienne et de sa capacité à disséminer et/ou envahir les tissus, nous développerons également la réponse immunitaire de l'hôte contre cette levure opportuniste.

Dans la troisième partie de l'introduction, nous allons décrire le rôle des récepteurs de l'immunité innée, impliqués dans la reconnaissance de *C. albicans* et dans la modulation de la réponse inflammatoire chez l'hôte. Nous mettrons l'accent sur les récepteurs Toll-like et la Mannose Binding Lectin et leurs implications dans la maladie de Crohn et les candidoses.

## I. La maladie de Crohn : maladie inflammatoire chronique de l'intestin

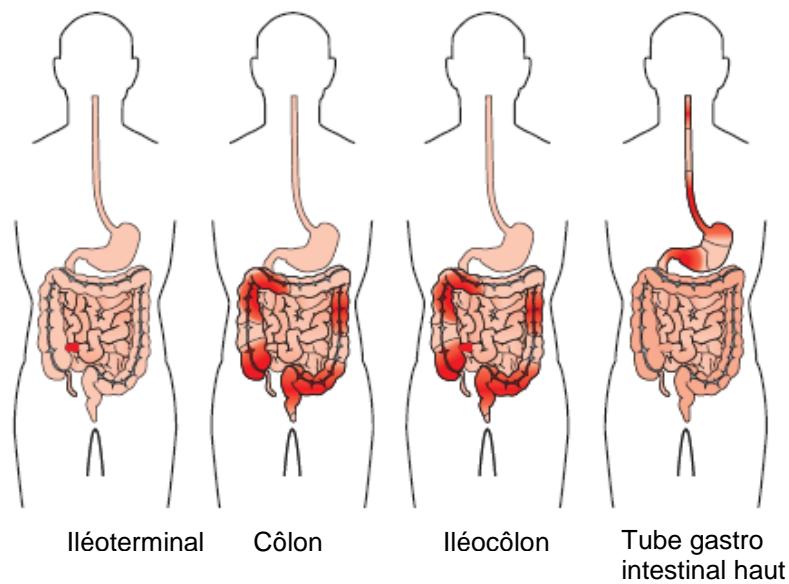
La maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH) sont deux formes de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Les données épidémiologiques mettent en évidence un gradient nord-sud avec une prévalence et une incidence nettement supérieures dans les pays industrialisés du Nord de l'Europe et des Etats-Unis (Cosnes et al. 2011) (Fig.1).



**Figure 1 :** Incidence des MICI, d'après Cosnes et al, 2011. Incidence supérieure à  $10/10^5$  en rouge, incidence comprise entre 5 et  $10/10^5$  en orange, incidence inférieure à  $4/10^5$  en vert, faible incidence en augmentation en jaune.

Ces deux maladies touchent principalement les populations jeunes puisque l'âge au diagnostic moyen est de 15-30 ans pour la RCH et 15-25 ans pour la MC. Leurs évolutions diffèrent avec un risque de mortalité élevé pour les patients atteints de MC dont le diagnostic date de plus de 10 ans, majoritairement lorsque la maladie est survenue tardivement avec une première localisation au niveau du côlon (Wolters et al. 2006). Le risque de mortalité ne varie pas en fonction de la durée de la maladie lors de RCH (Höie et al. 2007).

Les MICI sont principalement différenciées par la localisation de l'inflammation. La RCH est caractérisée par une inflammation continue de la muqueuse intestinale qui démarre au niveau du rectum puis se généralise dans le côlon (Vatn and Sandvik 2015). Les lésions inflammatoires liées à la MC sont discontinues et localisées tout au long du tube digestif avec une généralisation de l'atteinte inflammatoire à l'ensemble de la paroi intestinale (Fig.2).



**Figure 2** : Localisation des lésions inflammatoires rencontrées au cours de la MC, d'après Baumgart et al, 2012.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes particulièrement intéressés à la MC, en raison de plusieurs travaux cliniques confirmant une fréquence élevée de patients MC colonisés par *Candida albicans* (Standaert-Vitse et al. 2009). Nous souhaitons continuer à explorer l'interaction entre cette levure et la MC et notamment l'implication des PRR dans cette interaction.

## 1. La maladie de Crohn, une maladie multifactorielle

Une étude sur la MC parue en 2010 a montré que les formes localisées spécifiquement dans l'iléum ou dans le côlon étaient plus fréquentes que les formes iléo-coliques (Thia et al. 2010). Cette maladie est fréquemment associée à des douleurs abdominales, de la fièvre ainsi qu'à des signes d'occlusions intestinales ou des diarrhées. Le consensus actuel pour la classification des formes de MC et leur sévérité intègre l'âge au diagnostic, la localisation de l'inflammation et le phénotype clinique de la maladie (tableau 1).

Classification de Montréal					
Age au diagnostic		Localisation de l'inflammation		Forme de la maladie	
Avant 16 ans	A1	Iléale	L1	Non sténosante Non-pénétrante	B1
16-40 ans	A2	Côlon	L2	Sténosante	B2
Après 40 ans	A3	Iléo-colique	L3	Pénétrante	B3
		Limitée au tube digestif haut	L4		

**Tableau 1 :** Classement de la MC en fonction de la classification de Montréal

L'étiologie de la MC demeure inconnue, néanmoins, l'hypothèse la plus communément admise est qu'elle serait liée à une dérégulation de la réaction immunitaire muqueuse vis-à-vis d'un microbiote intestinal déséquilibré (dysbiose) sous l'influence de facteurs environnementaux et génétiques.

### 1) Les facteurs génétiques de la MC

La MC est une maladie multifactorielle avec des facteurs génétiques et environnementaux. La génétique est un facteur de risque prépondérant dans l'apparition de la MC. En effet, environ 35% des jumeaux monozygotes sont concordants pour la MC et seulement 3% des jumeaux dizygotes. L'agrégation de cas familiaux a été également rapportée (Baumgart and Sandborn 2012).

Une méta-analyse du génome a mis en évidence 71 loci situés sur 17 chromosomes différents, susceptibles d'être impliqués dans la MC (Franke et al. 2010). Parmi les gènes impliqués, on retrouve des gènes de l'inflammation (IL-10, CARD9, NOD2) et de l'immunité innée (TLR4).

Les récepteurs de type NOD (Nucleotide Oligomerization Domain) sont des récepteurs cytoplasmiques nécessaires à la reconnaissance des micro-organismes et à l'activation de l'inflammasome (Shaw et al. 2010). Le récepteur NOD2 est un récepteur reconnaissant les pathogène (PRR), de la famille des NLR, qui reconnaît une structure spécifique à la surface de certaines bactéries, le muramyl dipeptide. Les méta-analyses génétiques ont mis en évidence le lien entre le gène *NOD2* et la MC (Franke et al. 2010, Hugot et al. 2001). Plus de 15% des patients MC seraient mutés sur les deux allèles du gène *NOD2* (van Heel et al. 2005). Plusieurs polymorphismes du gène *NOD2* sont associés à la MC dont R702W (rs2066844), G908R (rs2066845) et I1007fs (rs2066847). Ces trois polymorphismes sont indépendants les uns des autres (Vermeire et al. 2002). Ils entraînent une modification du domaine de liaison du récepteur NOD2, qui perd sa capacité à reconnaître le lipopolysaccharide (Hoefkens et al. 2013). La mutation I1007fs entraîne une diminution de l'expression des défensines par les cellules de Paneth (Wehkamp et al. 2005). Les phénotypes sévères sont plus fréquents chez les patients possédant plusieurs de ces polymorphismes (Adler et al. 2011). Cette mutation entraîne une diminution de la sécrétion d'IL-8 et un défaut de recrutement des neutrophiles. Il y a également un défaut d'induction du phénomène d'autophagie par les cellules dendritiques lorsque le gène *NOD2* est muté, empêchant ainsi l'élimination des pathogènes intracellulaires par la cellule infectée (Cooney et al. 2010). Enfin, cette mutation inhibe la transcription de l'IL-10 qui contribue à diminuer la réaction inflammatoire (Noguchi et al. 2009). Les souris déficientes en NOD2 présentent une perméabilité intestinale élevée et une translocation des bactéries au niveau des plaques de Peyer (Barreau et al. 2010). D'autres récepteurs de la famille des NLR peuvent également être impliqués dans le développement de la maladie comme le NLRP3, un composant de l'inflammasome qui active la caspase 1 et permet la maturation de l'IL-1 $\beta$  et de l'IL-18 (Antoni et al. 2014).

Les récepteurs NOD2 et NOD1 peuvent recruter la protéine ATG16L1 (autophagy-related 16-like 1 protein complex) pour activer le processus d'autophagie. Le processus d'autophagie correspond à une destruction des composants d'une partie du cytoplasme par les propres lysosomes de la cellule. L'autophagie est nécessaire au maintien de l'homéostasie cellulaire et elle est régulée par la protéine mTOR. La protéine ATG16L1 est exprimée au niveau du côlon, de l'intestin grêle, des cellules épithéliales intestinales, des leucocytes et de la



rate (Fujita et al. 2008). Les mutants de *NOD2* ne peuvent pas activer *ATG16L1*, ce qui favorise le développement des infections (Travassos et al. 2010). Plusieurs polymorphismes d'*ATG16L1* ont également été associés à la maladie. Par exemple, le polymorphisme rs2241880 est associé aux formes iléales de la maladie alors qu'il est indépendant du phénotype et de l'âge au diagnostic (Prescott et al. 2007). Ce polymorphisme entraîne une perturbation de la sécrétion des granules des cellules de Paneth (Cadwell et al. 2008). Les souris mutées sur le gène *ATG16L1* répondent aux endotoxines bactériennes par une réponse excessive d'IL-1 $\beta$ , favorisant l'inflammation (Saitoh et al. 2008). Des variants du gène *IRGM* (Immunity related GTPase M), gène de régulation de l'autophagie, sont également associés à la MC (Duerr et al. 2006).

Le gène *IL23R* a aussi été révélé lors des méta-analyses du génome. Ce gène est impliqué dans la défense antibactérienne et l'inflammation intestinale. Le polymorphisme rs1004819 est associé aux formes iléales de la maladie (Glas et al. 2007). Par contre, la mutation rs11209026 a un rôle protecteur dans la maladie, en diminuant l'expression de l'IL-22 (Schmechel et al. 2008).

Ces associations entre les polymorphismes génétiques et la MC sont très souvent dépendant de la population étudiée. En effet, la race et l'ethnie influencent le type de MICI et les marqueurs sérologiques (Basu et al. 2005). Par exemple, les variants *NOD2* ne sont retrouvés que chez 50% des patients et ils ne sont pas associés à la maladie dans les populations asiatiques (Cavanaugh 2006). Le polymorphisme du gène *TNFS15* est associé à la MC dans une cohorte japonaise mais il ne l'est pas dans une cohorte belge (Yamazaki et al. 2005).

## 2) Les facteurs environnementaux

Plusieurs études ont mis en évidence l'importance des facteurs environnementaux sur le développement de la MC et sa sévérité. Ces études ont été menées sur différents facteurs comme l'industrialisation, le régime alimentaire, l'hygiène, la qualité de l'eau du robinet, le mode de vie, la qualité de l'air, etc. Par exemple, une forte concentration en dioxyde d'azote dans l'air favoriserait l'apparition précoce de la maladie (Kaplan et al. 2010). L'influence du tabac sur la maladie est l'un des facteurs environnementaux les plus étudiés. Il s'avère que les patients qui arrêtent de fumer pendant plus d'un an, voient leur maladie évoluer comme les non-fumeurs avec moins de récurrence et moins de traitements immunosuppresseurs que les patients fumeurs (Cosnes et al. 2001).

## 3) L'influence du microbiote intestinal

Des analyses moléculaires ont mis en évidence une grande biodiversité du microbiote intestinal qui diffère selon les parties de l'intestin. La majorité des espèces présentes dans le microbiote sont des bactéries des phylums : Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria et Actinobacteria. Frank et al. ont démontré que les patients atteints des MICI présentent une baisse de niveau de bactéries du phylum des Bacteroidetes et des Firmicutes et un excès des Actinomycètes et des Proteobactéries (Frank et al. 2007).

Plusieurs arguments sont en faveur d'une implication du microbiote intestinal dans la physiopathologie de la MC. Un des arguments est que 50% des patients sont séropositifs pour des anticorps anti-bactériens (OmpC, I2, Cbir1 flagelline) ou anti-fongiques (le mannane de *Candida albicans*) (Ferrante et al. 2007). Un autre argument montre que le maintien d'une inflammation intestinale chronique est lié à la présence de certaines bactéries commensales dans un modèle murin.

L'étude du microbiote intestinal chez les patients atteints de MC a montré que les segments de l'intestin concernés avaient d'importantes densités de bactéries et une composition du microbiote différente de celle des sujets sains. Parmi les espèces bactériennes retrouvées, plusieurs bactéries du genre *Mycobacterium* et notamment, *M. avium* sous-espèce paratuberculosis pourraient être impliquées dans le développement de la maladie (Sartor 2005). Les hélicobactéries sont également concernées. Alors qu'*Helicobacter cinaedi* est fréquemment

retrouvée dans la flore intestinale des enfants atteints de MC, les deux bactéries *Helicobacter hepaticus* et *Helicobacter bilis* sont capables d'induire une colite chez les rongeurs immunodéprimés et elles entraînent une diminution des organismes commensaux (Cahill et al. 1997, Kullberg et al. 1998, Zhang et al. 2006). Cette espèce de bactérie participerait au développement de la maladie en favorisant le développement d'une dysbiose de la flore intestinale (Fox 2007).

Le métabolisme des bactéries semble être aussi impacté puisque les souches d'*Escherichia coli*, présentes dans les intestins des patients, montrent une plus grande adhérence que les souches présentes chez les sujets sains (Darfeuille-Michaud et al. 1998). Ces bactéries, renommées AIEC (adhérente-invasive *Escherichia coli*), infectent les macrophages et elle ne provoquent pas l'apoptose cellulaire afin de se répliquer dans ces cellules (Glasser et al. 2001). Leur présence entraîne une augmentation de l'expression des récepteurs TLR5, qui est associée à une aggravation de la colite (Carvalho et al. 2008). Une augmentation des bactéries AIEC est observée dans les formes iléales de la maladie, par rapport aux autres formes (Baumgart et al. 2007).

De plus, certains virus ont été décrits comme des pathogènes impliqués dans l'exacerbation de la maladie, comme le parvovirus B19, les Norovirus ou l'Epstein-Barr virus (EBV) (Pironi et al. 2009, Khan et al. 2009, Weinberg et al. 2009).

Plusieurs hypothèses ont été émises sur le rôle du microbiote dans la pathogénèse de la maladie :

- Certains pathogènes peuvent induire une inflammation intestinale comme *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, *Escherichia coli* entero-invasive, *Bacteroides fragilis* ou *Staphylococcus aureus* (Sartor 2005).
- Un déséquilibre de la flore pourrait entraîner une inflammation avec une augmentation des espèces agressives bactériennes ou fongiques, comme *C. albicans* (Standaert-Vitse et al. 2009).
- Une mutation génétique comme les variants *NOD2* ou *ATG16L1* qui perturbe le système des PRR ou la fonction de barrière intestinale pourrait aussi favoriser l'inflammation intestinale. Un défaut d'*ATG16L1* favorise l'infection des macrophages par *Mycobacterium tuberculosis* et le développement sur le long terme de la bactérie dans ces cellules (Gutierrez et al. 2004).
- Certaines perturbations de la réponse immunitaire comme une réponse anormale des lymphocytes T ou un défaut de présentation des antigènes

entraînerait une dérégulation de l'homéostasie intestinale. Il a été montré que l'environnement cytokinique produit par certaines bactéries peut affecter la différenciation des lymphocytes T et inhiber le développement des Treg au profit d'une réponse Th1/Th17 (Round et al. 2010). Par contre, le butyrate, produit de la fermentation microbienne au niveau du côlon, induit la différenciation des Treg et la production d'IL-10 afin de réguler l'inflammation intestinale (Furusawa et al. 2013).

La modification de la flore intestinale affecte aussi la flore fongique. Ainsi, on observe une augmentation de la diversité des espèces fongiques lors de la MC (Ott et al. 2008). L'espèce la plus étudiée dans cette maladie est *C. albicans*. Cette espèce est plus fréquemment retrouvée chez les sujets atteints de MC que chez les sujets sains et c'est un immunogène des anticorps ASCA (Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies), anticorps utilisés pour le diagnostic de la maladie (Standaert-Vitse et al. 2006).

## 2. Les dérèglements de l'homéostasie intestinale lors de la maladie de Crohn

La physiopathologie de la maladie correspond principalement à une inflammation chronique associée à une atteinte de la barrière intestinale. Le processus inflammatoire peut toucher n'importe quel segment du tube digestif

### 1) Une atteinte de la barrière intestinale

Cette maladie est caractérisée par un trouble fonctionnel de la barrière intestinale. Celle-ci permet, normalement, de séparer la lumière intestinale du reste de l'organisme. Elle est constituée d'un épithélium intestinal, recouvert d'une couche de mucus. L'épithélium intestinal est constitué d'une mono-couche de différents types de cellules. La différence entre l'intestin grêle et le gros intestin se situe dans la surface d'absorption, plus grande dans l'intestin grêle grâce aux nombreuses microvillosités. Les principales cellules sont des entérocytes composés d'un plateau strié permettant l'absorption des nutriments. Trois types de cellules sécrétrices se situent également dans l'épithélium : les cellules caliciformes (cellules de Goblet) qui sécrètent les composants du mucus comme MUC2, les cellules entéroendocrines et les cellules de

Paneth qui sécrètent des granules aux propriétés antimicrobiennes (Hooper 2015). Les cellules épithéliales sont connectées entre elles par interaction des parties extracellulaires de protéines transmembranaires, formant ainsi les jonctions serrées. Parmi les protéines impliquées, on retrouve les occludines et les claudines (Antoni et al. 2014).

Chez les patients atteints de MC, cette barrière intestinale peut être perturbée de plusieurs manières : un défaut de production des peptides antimicrobiens par les cellules de l'épithélium, un mucus modifié ou altéré, une altération du phénomène d'autophagie ou encore une perméabilité accrue de l'épithélium intestinal (Antoni et al. 2014).

Les cellules épithéliales intestinales (CEI) produisent naturellement des cytokines après détection d'antigènes bactériens, fongiques ou parasitaires. Les principales cytokines produites sont des cytokines de la famille de l'IL-1 (IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33, IL-37), l'IL-8, l'IL-6 et des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 et l'IL-25. L'IL-1 $\beta$  et l'IL-8 entretiennent l'inflammation en favorisant la migration et l'infiltration des neutrophiles (Coccia et al. 2012). L'IL-18 induit la production d'interféron  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) et d'autres cytokines pro-inflammatoires (Maxwell et al. 2006). L'IL-33 et l'IL-25 induisent une réponse de type Th2 avec production d'IL-5 et d'IL-13 qui atténuent l'inflammation (Groß et al. 2012, Su et al. 2013). Un déficit en IL-25 exacerbe l'inflammation intestinale, en lien avec un défaut de régulation des lymphocytes T CD4+ (Su et al. 2013). L'IL-6 agit en synergie avec le TGF- $\beta$  pour augmenter l'expression de ROR $\gamma$ t et favoriser la réponse des Th17. Un modèle de souris dépourvues en IL-6 a montré que ces souris développaient une colite chimio-induite de moyenne sévérité (Suzuki et al. 2001). L'IL-37 protège les souris du développement d'une colite en diminuant la production d'IL-1 $\beta$  et de TNF (McNamee et al. 2011).

Le mucus qui recouvre l'épithélium assure son hydratation et sa défense contre l'adhésion et l'invasion des pathogènes et des micro-organismes présents dans la flore commensale du tube digestif. Ce mucus est constitué de glycoprotéines, de lipides et d'eau. MUC2 est la glycoprotéine majoritairement retrouvée et elle est sécrétée par les cellules de Goblet. Au niveau du gros intestin, le mucus est séparé en deux couches : la couche interne épaisse, stérile et accrochée à l'épithélium ; la couche externe plus libre contenant les micro-organismes commensaux. Chez les patients atteints de MC, le mucus est modifié en raison d'une diminution de l'expression de MUC1, MUC3, MUC4 et MUC5B dans les muqueuses saines et enflammées de l'intestin grêle (Buisine et al. 1999). Le rôle de MUC2 est également suggéré par la susceptibilité accrue des souris MUC2KO à développer une inflammation intestinale spontanée (Van der Sluis et al. 2006).

L'augmentation de la perméabilité intestinale s'explique par des jonctions serrées altérées en raison d'un changement protéique touchant les claudines (Zeissig et al. 2007). Cette modification entraîne un passage des antigènes présents dans la lumière intestinale au niveau de la lamina propria riche en cellules immunitaires. Cette augmentation de la perméabilité intestinale peut également s'expliquer par une augmentation de l'apoptose, entraînant la formation de micro-érosions à la surface de l'épithélium (Di Sabatino et al. 2003). Les concentrations en antigènes élevées dans la lamina propria favorise le développement d'une réponse exacerbée du système immunitaire innée.

## 2) Une réponse inflammatoire médiée par les cellules immunitaires

### i. L'influence des cellules de l'immunité innée

Chez les patients atteints de MC, il existe plusieurs dysfonctionnements de la réponse immunitaire innée. Ces dysfonctionnements peuvent être dus à une répartition anormale des cellules leucocytaires, à un défaut métabolique de ces cellules ou à une influence négative de l'environnement.

Une étude menée sur les selles de patients a mis en évidence l'effet de la flore intestinale sur les propriétés antibactériennes des cellules de l'immunité innée. En effet, une pré-incubation de neutrophiles et de monocytes avec des surnageants de selles entraînent une diminution de leurs fonctions antimicrobiennes par rapport aux mêmes cellules incubées avec des surnageants de sujets sains (Meelu et al. 2014). Cependant, aucune molécule présente dans le surnageant fécal des patients n'a été identifiée comme responsable de cette inhibition.

Lors d'une colite chimio-induite, un recrutement important de neutrophiles est observé en premier, suivi dans les jours suivants par les macrophages et les cellules dendritiques (Hall et al. 2011). Le nombre de neutrophiles et leur activité, telle que la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS), augmentent lors des poussées inflammatoires de la maladie (Lampinen et al. 2008, Somasundaram et al. 2013). Chez les patients aux formes iléales de la maladie, une diminution de l'expression des ligands Wnt par les monocytes entraîne une diminution de l'expression de protéines human  $\alpha$  défensine par les cellules de Paneth, protéines nécessaires à la défense contre les micro-organismes. Cette expression est restaurée en présence de monocytes de sujets sains (Courth et al. 2015). La muqueuse inflammée présente aussi une majorité de macrophage CD14 (hi) HLA-DR (dim) (Thiesen et al. 2014). Il apparaît que les

macrophages dérivés de monocytes des patients MC internalisent plus de bactéries mais ils n'empêchent pas la réplication des bactéries, contrairement aux macrophages de sujets sains (Vazeille et al. 2015).

Dans un contexte inflammatoire, les monocytes présents au niveau du côlon, se différencient préférentiellement en cellules dendritiques dont l'expression des cytokines pro-inflammatoires IL-12, IL-23 et TNF $\alpha$  est augmentée (Rivollier et al. 2012). Les cellules dendritiques, essentielles au maintien de l'immunotolérance, participent à la mise en place d'une inflammation chronique lorsqu'elles sont dérégulées. Elles jouent un rôle essentiel dans la régulation anormale de la réponse des lymphocytes T (te Velde et al. 2003). Les populations de cellules dendritiques DC-SIGN+ ou CD83+ sont plus importantes dans les côlons des sujets MC par rapport aux sujets sains. Les cellules dendritiques des patients MC expriment plus les récepteurs TLR2 et TLR4 et elles produisent plus d'IL-6 et d'IL-12p40, deux cytokines pro-inflammatoires (Hart et al. 2005). L'expression d'IL-6 est corrélée à l'index d'activité de la maladie et au taux de protéine C réactive (Nq SC, IBD, 2011). De plus, les cellules dendritiques dérivées de monocytes favorisent le développement des lymphocytes Th17 et l'expression de l'IL-17A, cytokine majeure de la réponse inflammatoire liée à la MC (Nieminen et al. 2014). L'expression de déshydrogénase, responsables de la synthèse d'acide rétinoïque, est augmentée dans les cellules présentatrices d'antigène et les macrophages des MC (Sanders et al. 2014). Cette synthèse d'acide rétinoïque participe à la différenciation des lymphocytes T régulateurs.

Toutes ces cellules leucocytaires utilisent les récepteurs PRRs pour induire la réponse inflammatoire. Cet aspect sera présenté dans la troisième partie de l'introduction.

## ii. La réponse inflammatoire liée aux lymphocytes T

Lors de la perte de fonction des jonctions serrées, les antigènes de la lumière intestinale pénètrent dans la lamina propria. Ces antigènes sont reconnus par les cellules du système immunitaire avec une orientation de la réponse vers un profil inflammatoire. La réponse lymphocytaire Th1 est caractéristique de la MC. Elle est expliquée par une augmentation de la sécrétion d'IL-12 et d'IL-18 par les cellules immunitaires mononuclées présentes dans la lamina propria des patients (Monteleone et al. 1999). De plus, les cellules CD4+ présentes dans la lamina propria produisent plus d'IL-17 et d'IFN $\gamma$  que celles du sang périphérique. Cette

expression est associée à une augmentation d'IL-23R. Ce qui laisse supposer le rôle de l'IL-23 dans la régulation de la balance Th1/Th17 chez les patients atteints de MC.

Les lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) jouent un rôle important dans la régulation de l'homéostasie intestinale puisqu'ils sont directement en contact avec les entérocytes et ils sont capables de migrer au niveau de la lamina propria par des interactions occludine-occludine avec les CEI. Ces lymphocytes possèdent les TCR $\gamma\delta$  (T-cell receptor  $\gamma\delta$ ) ou les TCR $\alpha\beta$ . Les cellules TCR $\gamma\delta^+$  peuvent produire des cytokines pro-inflammatoires (IFN $\gamma$ , TNF) ou anti-inflammatoires (TGF $\beta$ , IL-10), mais également le keratinocyte growth factor I qui répare les atteintes de la barrière intestinale (Simpson et al. 1997, Inagaki-Ohara et al. 2004, Meehan et al. 2014). Un déficit en cellules TCR $\gamma\delta^+$  favorise la translocation des pathogènes et l'atteinte de la barrière intestinale, favorisant ainsi le développement d'une inflammation intestinale (Edelblum et al. 2015, Chen et al. 2002). Les cellules CD8 $\alpha\alpha^+$  TCR $\alpha\beta^+$  possèdent un rôle protecteur de la barrière intestinale, en raison de la production de TGF $\beta$  qu'elles induisent (Denning et al. 2007).

La MC est également caractérisée par un déséquilibre entre les lymphocytes T effecteurs et les lymphocytes T régulateurs (Treg). Les Treg sont les premiers médiateurs du maintien de l'homéostasie intestinale. Ces cellules sont CD4 $^+$ CD25 $^+$ Foxp3 $^+$ . Des cellules T transfectées avec foxp3 se comportent comme des Treg et elles protègent contre le développement d'une colite chez des souris immunodéprimées (Hori et al. 2003). Cela démontre le rôle régulateur de foxp3 sur la réponse des lymphocytes T effecteurs. Au niveau de la muqueuse intestinale, les Treg inhibent les lymphocytes T effecteurs afin de réguler la réponse inflammatoire. Une étude menée chez des patients MC a montré que les taux de cellules IL17+Foxp3+CD4+T étaient plus élevés dans les muqueuses intestinales enflammées des patients que dans les muqueuses de sujets sains. Ces Treg qui expriment ROR $\gamma_t$ , perdent leur capacité à inhiber la prolifération des lymphocytes T effecteurs (Ueno et al. 2013). Le taux de Treg augmente lors des phases inactives de la maladie et il diminue lors des poussées. Le traitement anti-TNF utilisé lors de la maladie entraîne une augmentation des taux de Treg (Veltkamp et al. 2011). Ces cellules sont donc importantes pour limiter la réponse inflammatoire et le développement de la MC.



### 3. Le diagnostic sérologique de la maladie de Crohn

Bien que le diagnostic de MC nécessite une association d'examens cliniques, endoscopiques, histologiques et radiologiques, environ 10% des MICI sont classées en colites indéterminées (Tremaine 2012). L'utilisation des marqueurs sérologiques permet alors le diagnostic différentiel. Ils peuvent également être utilisés pour prédire l'évolution des MICI. Ces marqueurs sont des anticorps dirigés contre des antigènes du soi et des antigènes microbiens.

#### 1) Les autoanticorps

Trois anticorps auto-immuns sont associés aux MICI : les pANCA (antineutrophil cytoplasmic antibodies), les PAB (anticorps dirigés contre la partie exocrine du pancréas) et les GAB (Globlet Cells Antibodies).

Les anticorps pANCA et GAB sont préférentiellement exprimés lors des rectocolites hémorragiques (RCH), permettant le diagnostic différentiel avec la MC. Cependant, les GAB présentent une faible sensibilité, rendant leurs résultats difficilement interprétables lors du diagnostic des MICI. Par contre, une association de ces deux marqueurs avec une séronégativité de l'anticorps PAB permet d'identifier la majorité des patients atteints de RCH (Homsak et al. 2010).

Les anticorps PAB sont des marqueurs spécifiques de la MC mais la sensibilité est faible (Homsak et al. 2010). Il existe deux sous-types, le sous type I caractérisé par une fluorescence au niveau des acini pancréatiques et le sous type II, pour lequel on observe une coloration tacheté des cellules acineuses (Seibold et al. 1997). Les deux sous-types sont retrouvés dans les mêmes proportions.

#### 2) Les anticorps anti-glycannes de levure et les anticorps anti-bactériens

Les anticorps anti-glycannes reconnaissent différents motifs glycosidiques à la surface des micro-organismes :

-les **ASCA** : Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antibodies qui reconnaissent les mannanes de *Saccharomyces cerevisiae* (Sendid et al. 1996). *C. albicans* exprime également un épitope à la surface des mannoprotéines qui est reconnu par les ASCA (Standaert-Vitse et al. 2006).

-les **ALCA** : Anti-Laminaribioside Carbohydrate Antibodies (IgG) qui reconnaissent les motifs (Glc(β1,3) Glb(β))

-les **ACCA** : Anti-Chitobioside Carbohydrate Antibodies (IgA), reconnaissant le (GlcNAc(β1,4)GlcNAc(β))

-les **AMCA** : Anti-Mannobioside Carbohydrate Antibodies (IgG) qui se lient au (Man(α1,3)Man(α)).

Trois anticorps dirigés contre des antigènes bactériens sont également associés à la maladie :

-les **anti-OmpC** dirigés contre une porine C de la membrane externe d'*Escherichia coli*

-les **anti-CBir1** qui reconnaissent une flagelline bactérienne

-les **anti-I2** qui ont, pour antigène, l'épitope *Pseudomonas fluorescens*-associated sequence I2.

### 3) Intérêt de ces marqueurs

Les méthodes conventionnelles de diagnostic permettent de classer entre 75 et 95 % des patients présentant une inflammation de l'intestin, en MC ou RCH. Cependant, 5 à 15% d'entre eux sont des « colite indéterminée », en raison d'un manque d'arguments diagnostiques. La découverte des marqueurs sérologiques associés aux MICI a permis d'affiner le diagnostic et de prédire l'évolution de la maladie en RCH ou en MC.

Ainsi, les anticorps ASCA présentent une meilleure sensibilité (31-64%) et une meilleure spécificité (95-100%) pour le diagnostic de la MC que les autres marqueurs (Seow et al. 2009). Une étude a montré que la présence des anticorps anti-mannosides de synthèse (AΣMA) lors de colites indéterminées était prédictive dans 100% des cas d'une MC (Vandewalle-El Khoury et al. 2008). Une association de ces marqueurs permet d'affiner le diagnostic de MICI. En effet, une association des marqueurs ASCA et pANCA aide à la différenciation entre une RCH et une MC puisque 80% des patients séropositifs pour ASCA et séronégatifs pour pANCA

développeront une MC alors que 64% des patients MICI séronégatifs pour ASCA et séropositifs pour pANCA vont évoluer en RCH (Joossens et al. 2002). Ce statut sérologique semble stable dans le temps.

Les autres marqueurs sont utiles lorsque les patients atteints de MC sont séronégatifs pour ASCA puisqu'environ 50% des séronégatifs sont séropositifs pour ALCA, ACCA ou AMCA et 46 % sont séropositifs pour les anti-CBir1 (Targan et al. 2005, Simondi et al. 2008). On retrouve également les anticorps anti-OmpC et anti-I2 chez 50% des patients atteints de MC (Joossens et al. 2006).

Tous ces marqueurs sérologiques sont importants pour prédire le phénotype de la maladie et son évolution. En effet, les anticorps ASCA sont associés à une localisation au niveau du gastroduodénum et de l'intestin grêle, à un âge de diagnostic précoce ainsi qu'au phénotype B2 de la maladie (Walker et al. 2004, Quezada et al. 2015). Une association des quatre marqueurs anti-glycannes prédit un phénotype compliqué de la maladie et un besoin en chirurgie abdominale plus fréquent (Ferrante et al. 2007). Les anticorps anti-L (dirigés contre des motifs  $\beta$ 1,3 glucosides) sont associés aux formes iléo-coliques de la MC alors que les anticorps anti-C (dirigés contre des motifs N-acetylglucosamine) sont associés aux formes pénétrantes, au même titre que les anti-OmpC (Seow et al. 2009). Bien que les deux anticorps anti-I2 et anti-OmpC soient associés à une forme iléale de la maladie, les anticorps anti-I2 sont associés aux formes sténosantes alors que les anticorps anti-OmpC sont plutôt en lien avec les formes perforantes (Arnott et al. 2004, Joossens et al. 2006). Lorsque les ASCA sont associés aux marqueurs anti-OmpC et anti-I2, ils sont également prédictifs des formes pénétrantes et d'une nécessité de chirurgie au niveau du grêle (Mow et al. 2004). Plus les taux d'ASCA, d'anti-OmpC, d'anti-I2 et d'anti-CBir1 sont élevés au début de la maladie, plus le risque de complications est important.

#### 4) Le lien entre les marqueurs diagnostiques de la MC et la levure opportuniste *C. albicans*

Un lien indirect a été établi entre la MC et *C. albicans* par la mise en évidence d'une réponse humorale élevée envers les glycannes pariétaux de levures (ASCA, ALCA, ACCA), marqueurs diagnostiques de la MC (Sendid et al. 1996, Sendid et al. 2009). Notre laboratoire a montré que *C. albicans* est un immunogène des anticorps ASCA (Standaert-Vitse et al. 2006). Cependant cette réponse est stable et importante dans le temps, indépendamment de la

colonisation par *C. albicans* (Poulain et al. 2009). Par contre, une étude rétrospective sur une cohorte de patients atteints de MC a montré qu'ils étaient plus fréquemment et plus intensément colonisés par *C. albicans* que les sujets sains (Standaert-Vitse et al. 2009). De plus, un modèle murin de MC met en évidence la modulation de la réponse inflammatoire par *C. albicans* lors de la colonisation (Jawhara et al. 2008).

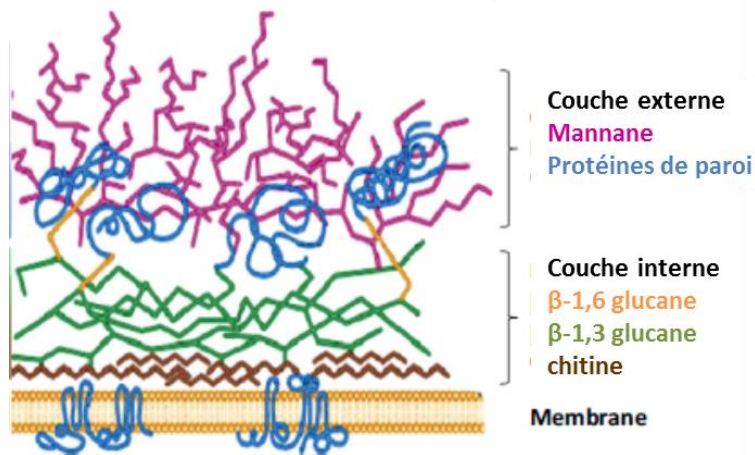
## II. *Candida albicans*, commensal opportuniste du tube digestif

Le genre *Candida* appartient au phylum des Ascomycota, de l'ordre des Saccharomycetales et de la classe des Hemiascomycetes. Ce sont des champignons microscopiques levuriformes unicellulaires dont le diamètre est compris entre 3 et 10µm et qui se reproduisent par bourgeonnement.

*C. albicans* est une levure commensale et opportuniste des muqueuses humaines (principalement le tractus gastro-intestinal et la sphère génitale). Sa composition cellulaire ressemble à celle des cellules eucaryotes classiques avec un noyau de forme irrégulière, un cytoplasme, une membrane plasmique et une paroi. Son cytoplasme contient de nombreux ribosomes, un réticulum endoplasmique, un appareil de golgi et des mitochondries (Rambourg et al. 1995). La membrane plasmique peut se lier à la paroi par l'intermédiaire de fibrilles. Ainsi, plusieurs enzymes (chitine synthase, glucane synthase, phospholipase) agissent au niveau de cette membrane pour synthétiser les constituants de la paroi (Ram et al. 1983).

### 1. Structure de la paroi de *C. albicans*

La paroi de *C. albicans* est essentielle pour les mécanismes d'adhérences et de pathogénicité de la levure. Elle possède des propriétés alliant une résistance physique à une modulation de sa composition afin de permettre à *C. albicans* de s'adapter à son environnement. Cette paroi est constituée de deux couches distinctes comprenant majoritairement des carbohydrates (80-90%) et minoritairement des protéines et des lipide (Latgé 2007). Sa composition est différente selon le sérotype de *C. albicans* (Fig.3) (Trinel et al. 2002a).



**Figure 3 :** Structure de la paroi de *C. albicans*, d'après Brown *et al*, 2014. La paroi est constituée d'une couche interne comprenant les  $\beta$ -D-glucanes et la chitine. La couche externe est composée de mannanes et de de protéines de paroi aux propriétés physiques ou enzymatiques.

### 1) Les protéines et les lipides de la paroi de *C. albicans*

Les protéines de paroi participent, soit à la structure de la paroi, soit à ses modifications par leurs activités enzymatiques. Elles sont réparties en deux classes (Ruiz-Herrera *et al.* 2006) :

-la classe I qui concerne les protéines extraites par simple chauffage. Elles sont communément appelées les Heat shock protein (HSP). Elles sont présentes au niveau du cytoplasme et de la paroi. Chez *C. albicans*, il existe deux familles : les Hsp90 et les Hsp70 (Burnie *et al.* 2006). Ces deux familles de protéines possèdent des propriétés antigéniques importantes, permettant la synthèse d'anticorps lors des candidoses.

-la classe II comprenant les protéines solubilisées après digestion de la structure polysaccharidique ou des liaisons avec la paroi. La classe II est constituée de deux sous-types : le sous-type 2a pour les glycoprotéines liées de manière covalente à la paroi et le sous-type 2b pour les protéines dépourvues de résidus carbohydate. Parmi les protéines du sous-type 2a, on retrouve :

- des protéines à ancre GPI (Glycosyl phosphate inositol) qui lient le  $\beta$ -1,3-D glucane ou la chitine par l'intermédiaire des  $\beta$ -1,6-D glucanes (Kapteyn *et al.* 2000). Douze protéines à ancre GPI ont été identifiées dans la paroi de *C. albicans* dont des protéines aux propriétés enzymatiques (Cht2, Crh11,

Pga4, Phr1 et SCw1) et des adhésines (Hwp1, Als1 et Als4) (de Groot et al. 2004).

- des protéines PIR (protein with internal repeat), O-glycosylées, liées au  $\beta$ -1,3-D glucane par des liaisons non identifiées (Kapteyn et al. 1999). Elles peuvent également se lier à la chitine, par l'intermédiaire des  $\beta$ -1,6-D glucanes.

Il existe plusieurs types de lipides au sein de la paroi : triglycérides, phospholipides ou stérols. Ils participent à la construction de la paroi et aux voies de signalisation cellulaire.

## 2) Les carbohydrates composant la paroi

La couche interne de la paroi est composée d'un squelette polysaccharidique comprenant de la chitine, des  $\beta$ -1,3 glucanes et des  $\beta$ -1,6 glucanes. Les  $\beta$ -glucanes sont les composants majeurs de la paroi qui confèrent une résistance chimique et mécanique à la paroi. Les  $\beta$ -glucanes sont des chaînes de résidus de glucoses liés en  $\beta$ -1,3-D, avec, parfois, des ramifications latérales liées en  $\beta$ -1,6-D (Gopal et al. 1984). Ces chaînes de glucoses représentent 40 à 60% de la paroi. Ils sont synthétisés par des enzymes situées au niveau de la membrane plasmique. Ces enzymes possèdent une partie catalytique Gsc1p et une partie régulatrice à activité GTPase, Rho1p (Kondoh et al. 1997). Les enzymes Phr1p et Phr2p sont importantes pour l'élongation et le réarrangement des chaînes  $\beta$ -1,3 (Mouyna et al. 2000).

La chitine est un polymère linéaire de résidus N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) lié en  $\beta$ -1,4. Sa synthèse est régulée par quatre chitine synthétases codées par les gènes CHS1, CHS2, CHS3 et CHS8 (Munro and Gow 2001). Les molécules de chitines s'associent entre elles par des liaisons hydrogènes puis elles forment des complexes avec le  $\beta$ -glucane pour obtenir le squelette polysaccharidique qui confère la rigidité de la paroi (Cabib et al. 2008). Elle est retrouvée en faible quantité dans les blastoconidies (environ 2 à 4%) mais cette expression peut varier en fonction de différents facteurs. Par exemple, les taux de chitine augmentent durant la germination de *C. albicans* et la formation des hyphes (Nather and Munro 2008). De même, lors d'un défaut de synthèse des  $\beta$ -glucanes, on observe une augmentation de l'expression de chitine (Kapteyn et al. 2000).

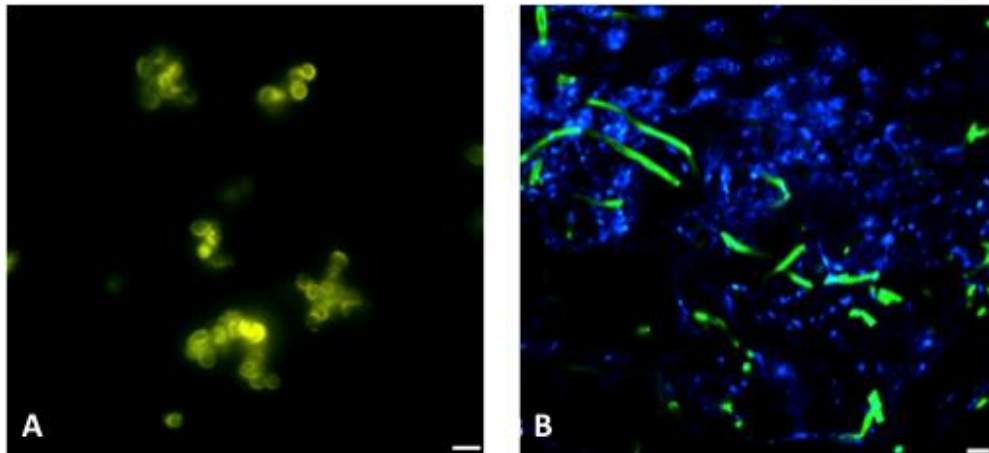
La couche externe contient du mannane (40%) ou phosphopeptidomannane (PPM) et des protéines de paroi (3-4%). Le mannane est composé de polymères de mannose O- et N-

glycosylés comprenant des résidus  $\alpha$ 1,6;  $\alpha$ 1,2;  $\alpha$ 1,3 et  $\beta$ 1,2 (Poulain et al. 2002). La présence des motifs  $\beta$ -1,2 mannosides différencie *C. albicans* d'une autre levure, *Saccharomyces cerevisiae*. Les deux sérotypes de *C. albicans* sont différenciés par la présence de résidus de  $\beta$ -1,2 oligomannosides sur la partie acide stable du mannane, qui caractérise la présence du sérotype A. Il existe également un glycoconjugué de structure lipidique exprimant les résidus  $\beta$ 1,2 oligomannosides appelé le phospholipomannane (PLM) (Trinel et al. 2002b). Appartenant à la famille des mannose-inositol-phosphorylcéramides (MIPC), il est composé d'une chaîne lipidique reliée par un pont phosphodiester à une chaîne glucosidique, composée d'un  $\alpha$ -mannane et d'une chaîne de  $\beta$ 1,2-mannoses allant de 8 à 18 sucres (Trinel et al. 2005). Sa structure varie en fonction du sérotype de *C. albicans* et des conditions environnementales. Le PLM peut se retrouver à la surface de la paroi et il interagit avec les cellules de l'immunité. Il peut ainsi moduler l'apoptose des macrophages ou être reconnu par les récepteurs TLR2 et induire la voie NF $\kappa$ B (Ibata-Ombetta et al. 2003, Jouault et al. 2003).

Les gènes BMT1-4 ont été identifiés comme codant pour les  $\beta$ -mannosyltransférases (Bmt) responsables de l'ajout des  $\beta$ 1,2 mannosés sur le PPM et le PLM. Les enzymes Bmt5 et Bmt6 sont impliquées dans la glycosylation du PLM et elles n'ont pas d'effet sur le PPM (Mille et al. 2012). L'enzyme Bmt2 compense le manque d'activité lié à une délétion de Bmt5. Un défaut de  $\beta$ 1,2 mannosylation dû à une délétion de Bmt5 ou des enzymes Bmt5 et Bmt2 augmente la résistance de *C. albicans* aux inhibiteurs de  $\beta$ -glucane synthase et de chitine synthase (rouge congo et caspofungine), suggérant le rôle des enzymes Bmt dans la régulation des protéines de paroi (Courjol et al. 2016). Une autre étude a montré que les enzymes Bmt1 et Bmt3 étaient nécessaires à l'ajout des résidus  $\beta$ 1,2 oligomannosides sur les PPM et PLM. L'enzyme Bmt1 influence également le fitness de la levure puisqu'une dissémination des souches déficientes en Bmt1 est observée chez les souris Balb/c alors que les souches non mutées ne disséminent pas (Courjol et al. 2015).

## 2. La transition blastoconide/hyphe

*C. albicans* peut ainsi être retrouvée chez l'Homme sous forme de levure (Fig. 4A) sur les muqueuses et sous forme de levure et d'hyphe *in situ* (Fig.4B).



**Figure 4 :** *C. albicans* observée après marquage fluorescent au microscope confocal sous sa forme levure (A) et sa forme hyphe (B), d'après Choteau et al, 2015.

La formation d'hyphe est indépendante du cycle cellulaire et elle est assurée par des chitinases codées par les gènes *CHT1*, *CHT2*, *CHT3* et *CHT4* (Hazan et al. 2002, Dünkler et al. 2005). De nombreux facteurs environnementaux comme le pH, la température, le taux de CO<sub>2</sub> ou encore les UV stimulent la transition blastoconidie/hyphe de *C. albicans* (Gow et al. 2012). Lors de la formation du tube germinatif, certains gènes codant pour des protéines spécifiques de l'hyphe comme hwp1 (hyphal wall protein 1), hyr1 (hyphally regulated protein 1) ou Als3 (agglutinin like sequence 3) sont surexprimés (Gow et al. 2012).

La protéine hwp1 est une protéine spécifique de la forme hyphale dont l'expression est régulée par le facteur de transcription Egf1 (Lengeler et al. 2000). Cette protéine favorise l'adhésion aux cellules épithéliales, grâce aux transglutaminases tissulaires (Staab et al. 1999). Elle est aussi indispensable à la synthèse d'un biofilm (Nobile et al. 2006). Les propriétés de Hwp1 confèrent à l'hyphe une virulence plus importante que celle des blastoconidies (Romani et al. 2003)



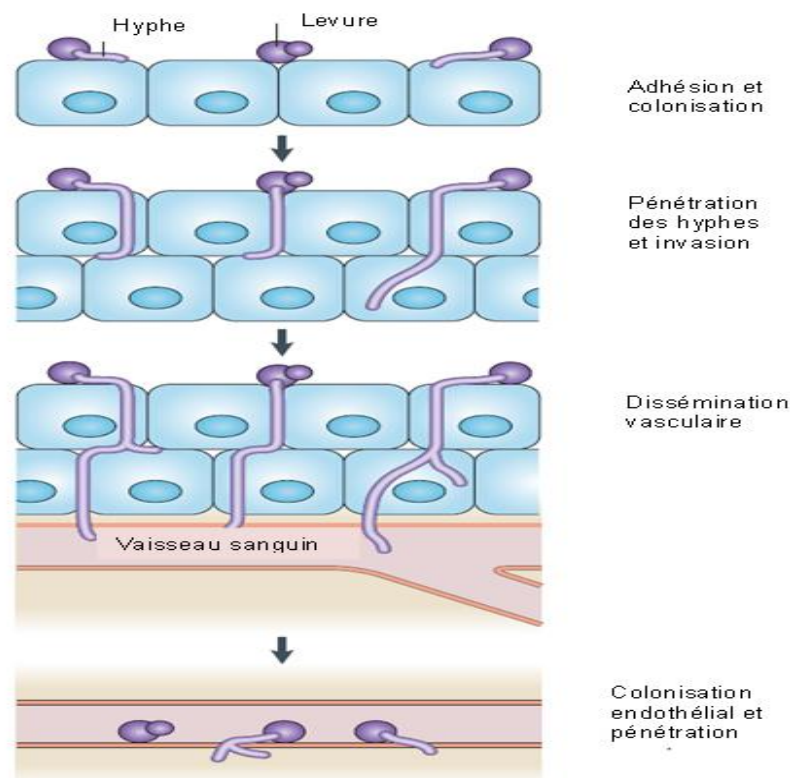
### 3. Physiopathologie des Candidoses

#### 1) De la colonisation du tube digestif aux candidoses invasives

*C. albicans* est l'espèce la plus fréquente au cours des infections à *Candida*. C'est une levure opportuniste, capable de coloniser les muqueuses intestinales et génitales chez 30 à 70% des sujets sains (Perlroth et al. 2007).

Au niveau du tube digestif, lors de la phase de colonisation, *C. albicans* est présente uniquement à la surface de l'épithélium intestinal, majoritairement sous forme de blastoconidie. Cette levure n'est alors pas associée à une symptomatologie clinique. La colonisation est favorisée par la sécrétion d'adhésine, comme les protéines de la famille des Als (Agglutinin like sequence). Ces protéines permettent l'adhésion aux cellules épithéliales par des liaisons non covalentes alors que d'autres adhésines, comme Hwp1, permettent une adhésion par liaison covalente (Sheppard et al. 2004). Ces protéines interagissent avec différentes protéines de l'hôte comme le fibrinogène, le C3d ou la laminine (Hoyer et al. 2008).

La transformation de la forme levure à la forme hyphe est importante pour le passage de l'épithélium intestinal et l'invasion tissulaire alors que la forme levure est essentielle pour la dissémination (Fig.5) (Gow et al. 2012).



**Figure 5 :** Pénétration de l'épithélium par *C. albicans* sans endocytose, d'après Gow *et al*, 2012.

Le processus de passage de l'épithélium par la levure est largement débattu dans la littérature et fait intervenir différents mécanismes : i) l'endocytose par les cellules épithéliales, ii) l'endocytose par les cellules M (microfold cells) situées dans l'épithélium intestinal, les cellules dendritiques ou les macrophages, iii) l'effraction de la barrière intestinale et iv) le passage à travers les jonctions serrées de l'épithélium intestinal.

- a) L'endocytose de la forme levure ou hyphe par les cellules épithéliales requiert l'interaction d'adhésines exprimées par *C. albicans* avec des ligands de l'hôte. Ainsi une invasine fongique Asl3, exprimée par la forme hyphe, interagit avec les E-cadherin ou N-cadherin de l'hôte, stimulant le recrutement des clathrines (Moreno-Ruiz *et al.* 2009). Par contre, la pénétration directe des tissus par les hyphes est dépendante du type cellulaire (Dalle *et al.* 2010).
- b) L'endocytose par les cellules M, les cellules dendritiques ou les macrophages peut s'expliquer par deux mécanismes. Après reconnaissance au niveau de la muqueuse intestinale, *C. albicans* peut entraîner la lyse de ces cellules soit de manière

mécanique grâce à la forme hyphale, soit par activation du phénomène de pyroptose médié par le NLRP3 (Krysan et al. 2014, Albac et al. 2016). La lyse des cellules entraîne la libération de *C. albicans*, permettant ainsi le passage de la barrière épithéliale.

- c) L'effraction de la barrière intestinale est due à la libération d'enzymes hydrolytiques extracellulaires, les Sap (Secreted aspartyl protease), les phospholipases et les lipases (Naglik et al. 2003, Niewerth and Korting 2001). Ces enzymes favorisent l'adhésion et l'invasion de l'épithélium par les formes levure et hyphe grâce à la digestion des membranes cellulaires et la dégradation des molécules de surfaces de l'hôte, conférant ainsi une résistance au système immunitaire.
- d) *C. albicans* peut également passer au niveau des jonctions serrées de l'épithélium intestinal. Le mécanisme est peu connu mais une étude a montré que la sécrétion des enzymes de type Sap entraînait la dégradation des E-cadherin au niveau des jonctions serrées, favorisant le passage des hyphes (Villar et al. 2007).

## 2) Les formes cliniques de candidoses

Les candidoses peuvent affecter différents tissus. Généralement, les formes cutanées et unguéales sont les formes les plus bénignes. Au niveau muqueux, les formes buccales, digestives et vaginales sont les plus fréquentes. Environ 20% des femmes et 30% des femmes enceintes sont atteintes de candidoses vulvo-vaginales, entraînant des risques de naissance prématurée (Aguin and Sobel 2015). Les candidoses oropharyngées sont très fréquentes chez les patients atteints du VIH ou immunodéprimés (Berberi et al. 2015).

Lors d'une perturbation du système immunitaire ou d'une atteinte de la muqueuse digestive, la levure va disséminer dans le sang et les autres organes, menant à un état pathologique : la candidose invasive. Les candidoses invasives sont moins fréquentes mais plus graves. En effet, les infections fongiques invasives (IFI) sont l'une des premières causes de mortalité dans les unités de soins intensifs. Les candidoses invasives affectent le plus souvent des patients immunodéprimés ayant un cathéter central ou une nutrition parentérale, les patients transplantés ou sous chimiothérapie (Ortega et al. 2011).

L'infection par le cathéter s'explique par la formation d'un biofilm à sa surface, permettant l'association de la forme levure et la forme hyphe dans une matrice extracellulaire de nature polysaccharidique (Finkel and Mitchell 2011). Le gène *Efg1* est nécessaire à la

filamentation et à la formation du biofilm (Ramage et al. 2002). Quatre facteurs de transcription jouent également un rôle dans le développement d'un biofilm conventionnel ou d'un biofilm stimulé par les phéromones (Lin et al. 2013). Le facteur Cph1 est le facteur majeur de régulation du biofilm initié par les phéromones.

Plus de 90% des IFI sont causées par *Candida* spp. et plus de la moitié sont dues à *C. albicans* (Tortorano et al. 2006). La dissémination de la levure par voie hématogène aboutit dans certains cas à un phénomène d'extravasation et de pérennisation dans les organes (Kojic and Darouiche 2004). Les principaux organes pouvant être affectés sont le rein, la rate, le foie et l'œil. La forme hématogène est souvent associée à une mortalité très élevée, notamment dans les unités de soins intensifs où elle atteint une proportion de 40 à 60%. La gravité de ces infections exige donc un suivi régulier des patients et un diagnostic spécifique le plus précocement possible (Bassetti et al. 2013). Lorsque le diagnostic est établi, un traitement curatif peut être mis en œuvre en utilisant plusieurs familles de molécules. Le choix de ces molécules est conditionné par la sensibilité de l'agent pathogène, l'état de la fonction rénale du patient et le coût de la molécule. La difficulté du diagnostic biologique a amené certains cliniciens à envisager des stratégies prophylactiques ciblant les populations à risque.

#### 4. Méthodes d'identification de *C. albicans*

Le diagnostic d'une infection à *Candida* est réputé difficile. Les symptômes cliniques ne sont pas spécifiques et les stratégies mises en œuvre manquent de sensibilité.

##### 1) Identification de *C. albicans* sur milieu de culture

A l'heure actuelle, l'hémoculture est la seule méthode de référence ayant une valeur diagnostique indiscutable. L'isolement de *C. albicans* d'un site ouvert (pouvant être contaminé par la flore commensale) ne permet pas de poser le diagnostic.

La culture de *C. albicans* peut s'effectuer sur différents milieux sélectifs dont le milieu Sabouraud et les milieux chromogènes (chromoagar candida®, candiselect4®...). Après 24 heures d'incubation à 37°C, *C. albicans* forme des colonies blanches crémeuses correspondant à une accumulation de blastoconidies. En culture dans un sérum, *C. albicans* forme en moins de

3 heures des tubes germinatifs qui donneront du mycélium vrai. Enfin, *C. albicans* peut également se présenter dans un milieu pauvre à 25°C en micro-aérobie, sous forme de pseudofilament ou de cellule de grande taille (10-12µm) appelée chlamyospore. L'identification des espèces en pratique clinique fait intervenir des tests d'assimilation des sucres (galerie API 32C) ou plus récemment l'emploi de la spectrométrie de masse de type Maldi-TOF qui permet de réduire considérablement les délais de réponse (Marklein et al. 2009). Le principe de la spectrométrie de masse repose sur la séparation de molécules ionisées en fonction de leur rapport masse/charge. Cette technique a permis d'identifier des espèces plus difficiles à caractériser (Dhiman et al. 2011).

Les hémocultures s'avérant négatives dans 50% des cas, des techniques de détection des anticorps, des antigènes circulants et d'amplification d'ADN ont été mises au point pour compléter le diagnostic biologique (Sendid et al. 2003, Sendid et al. 2004).

## 2) Tests sérologiques aidant au diagnostic de *C. albicans*

Les candidoses invasives survenant très souvent chez des patients immunodéprimés, il est difficile de baser le diagnostic uniquement sur la réponse humorale. Notre laboratoire a donc participé au développement d'une technique de diagnostic reposant sur la détection du mannane circulant et des anticorps anti-mannane de *C. albicans*. Le test Platelia® Ag utilise un anticorps EBCA1 qui reconnaît les mannopentaoses liés en  $\alpha$ -1,2 (Herent et al. 1992). Le test Platelia® Candida Ab détecte les anticorps produits lors d'une infection à Candida (Yeo and Wong 2002). Notre laboratoire a montré que l'association de ces deux tests améliore la spécificité, la sensibilité et la précocité du diagnostic des candidoses (Sendid et al. 2002).

Un kit de quantification des  $\beta$ -glucanes fongiques a également été développé. Il est basé sur la capacité des  $\beta$ -1,3-D-glucanes à activer le facteur G de la cascade de coagulation de la limule (Hossain et al. 1997). Cette activation peut être suivie par spectrophotométrie afin de quantifier les  $\beta$ -1,3-D-glucanes. Le dosage de ces sucres est utile à l'identification des patients nécessitant un traitement antifongique prophylactique (Eggimann and Marchetti 2011).

## 5. La défense de l'hôte contre *C. albicans*

### 1) L'épithélium intestinal

Au niveau intestinal, la reconnaissance de la forme blastoconidie de *C. albicans* par le TLR-4 active la voie NF $\kappa$ B et la première partie de la voie MAPK (mitogen activated protein kinase), alors que les hyphes activent également la seconde partie de la voie MAPK, en activant les protéines MKP1 (MAPK phosphatase 1) et c-Fos (Weindl et al. 2007, Moyes et al. 2010). Dans les deux cas, cela mène à une libération d'IL-1 $\beta$ , de TNF $\alpha$  et d'IL-6 qui régulent la production de ROS par les neutrophiles. De plus, la libération d'IL-22 et de TNF $\alpha$  par les cellules dendritiques ou les cellules Th17 entraîne une production de  $\beta$ -défensine par les cellules épithéliales intestinales afin de lutter contre *C. albicans* (Eyerich et al. 2011). Il a également été montré que l'expression du récepteur NLRC4 pouvait être induite par *C. albicans*. Ce récepteur joue un rôle dans le contrôle de l'infection au niveau muqueux et il empêche la dissémination de *C. albicans* (Tomalka et al. 2011).

### 2) La réponse immunitaire innée

Les neutrophiles sont les cellules de l'immunité innée les plus efficaces dans la lutte contre *C. albicans*, suivis par les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques (Vonk et al. 2006a). Ce sont les seules cellules de l'immunité qui peuvent bloquer le développement des hyphes dans les phagosomes (Bonnett et al. 2006). Les neutrophiles peuvent détruire *C. albicans* par deux voies différentes. La première voie dépend de la reconnaissance de *C. albicans* opsonisée par les récepteurs Fc $\gamma$  et la libération d'espèces réactives de l'oxygène. La seconde voie, non oxydative, implique une liaison du récepteur aux collectines CR3 à la levure et le recrutement de CARD9 (Gazendam et al. 2014). Enfin, les neutrophiles peuvent libérer à leur mort des NET, morceaux de chromatine décondensée liée à des protéines antimicrobiennes, qui piègent les micro-organismes (Menegazzi et al. 2012).

Les monocytes/macrophages ont un rôle majeur dans la défense contre les infections à *C. albicans* et plus spécifiquement, les monocytes CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> (Smeekens et al. 2011). Les monocytes, par l'intermédiaire des récepteurs CX<sub>3</sub>CR1 et CCR2, évitent une dissémination de la levure et le développement de candidoses invasives (Break et al. 2015, Ngo et al. 2014).

L'expression du mannose récepteur est induite par les ligands de PPAR $\gamma$ , à la surface des macrophages, permettant ainsi de limiter les candidoses gastro-intestinales (Coste et al. 2008). Cependant, le mannose récepteur reconnaît plutôt la levure non opsonisée. Dectine-1, également activé par les ligands PPAR $\gamma$ , collabore avec le mannose récepteur afin de lutter contre la colonisation/infection gastro-intestinale par *C. albicans* (Galès et al. 2010). Enfin, les ligands de PPAR $\gamma$  induisent une polarisation des macrophages. Les macrophages M2b, associés aux candidoses gastro-intestinales, se polarisent en macrophages M2a qui favorisent l'élimination de la levure au niveau intestinal (Lefèvre et al. 2010).

Les hyphes sont aussi capables d'activer l'inflammasome par le récepteur NLRP3, exprimé par les monocytes et les macrophages, entraînant l'activation de la caspase 1 qui induit une réponse IL-1 $\beta$  et IL-18. Les souches de *C. albicans* mutées pour leur capacité à filamenter n'induisent pas de réponse IL-1 $\beta$  par les macrophages (Joly et al. 2009). De plus, les souris déficientes en NLRP3 montrent une sensibilité accrue à l'infection par *C. albicans*. Ces résultats suggèrent le rôle essentiel de NLRP3 dans la réponse immunitaire innée envers *C. albicans* (Joly et al. 2009). Les protéines Sap2 et Sap6 (secreted aspartic protease) de *C. albicans* sont aussi capable d'activer la production d'IL-1 $\beta$  et d'IL-18. En effet, les Sap induisent la production de pro-IL-1 $\beta$  et pro-IL-18 dans les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques après internalisation par un mécanisme clathrine dépendant. Ces pro-interleukines sont clivées par la caspase 1, activée par le NLRP3 (Pietrella et al. 2013).

Les cellules dendritiques amplifient le phénomène cytokinique qui permet le recrutement des leucocytes et active la réponse Th1, Th2 ou Th17 (Gow et al. 2012). Les cytokines IL-1 $\alpha$  et IL-1 $\beta$  sont indispensables à l'induction de la réponse inflammatoire Th1 et à la défense de l'hôte contre les candidoses disséminées (Vonk et al. 2006b). La protéine Syk est indispensable aux cellules dendritiques pour produire de l'IL-23p19, nécessaire au recrutement des cellules Natural killer (NK) (Whitney et al. 2014). Les NK sont capable de phagocyter *C. albicans* et elles possèdent une activité antifongique dépendante des perforines. L'activation de ces cellules accroît l'activité antifongique des neutrophiles (Voigt et al. 2014). Cependant, l'importance des NK dans la défense contre les candidoses invasives est encore discutée puisqu'une déplétion en NK n'augmente pas forcément la susceptibilité aux candidoses chez des souris immunocompétentes. Par contre, un déficit en NK associé à une immunodéficiência sévère en lymphocyte, accroît la susceptibilité aux candidoses systémiques dans un modèle murin (Quintin et al. 2014).

### 3) La réponse immunitaire adaptative

Actuellement, les données de la littérature montrent une implication des lymphocytes T auxiliaires de type Th1, Th17 et Th2 dans une infection à *C. albicans*.

Les réponses Th1 et Th17 participent à l'élimination du pathogène. La production d'IFN $\gamma$  par les lymphocytes Th1 est importante pour l'activation des neutrophiles et des macrophages. Les souris déficientes en IFN $\gamma$  ou en IL-18, sont plus sensibles aux candidoses disséminées que les souris contrôles (Stuyt et al. 2004, Delsing et al. 2014). De même, les cytokines IL-17 et IL-22 produites par les Th17 empêchent le développement des candidoses muqueuses (van de Veerdonk et al. 2011). Par contre, le recrutement des neutrophiles est indépendant de l'IL-17 (Yano et al. 2012).

L'impact de la réponse Th2 est plus controversé. Des études ont mis en évidence une résistance aux candidoses disséminées chez les souris déficientes en IL-4 ou en IL-10 (Mencacci et al. 2001). Une protéine immunomodulatrice produite par *C. albicans*, la p43, inhibe la production d'anticorps spécifique de la levure. Cette protéine augmente la production d'IL-4 et d'IL-10 et elle perd sa capacité à inhiber la production d'anticorps en absence d'IL-10 (Tavares et al. 2000). Mais, d'un autre côté, l'IL-4 apparaît nécessaire à l'installation d'une réponse Th1 CD4+ contre *C. albicans* (Mencacci et al. 1998b). Et l'IL-10 contribue au développement d'une réponse Th1 protectrice en cas de déficit en IL-12 (Mencacci et al. 1998a).

### 4) Rôle antifongique des plaquettes sanguines

Une étude clinique a révélé que les plaquettes des patients septiques infectés par *C. albicans* étaient plus activées que celles des patients non infectés (Woth et al. 2012). L'interaction entre la levure et les plaquettes a donc été étudiée. Ainsi, ils ont pu mettre en évidence la capacité des plaquettes murines à se fixer à *C. albicans* par émission de pseudopodes (Robert et al. 2000). De même, il a été montré que le plasma riche en plaquette est capable d'inhiber la croissance de *C. albicans* (Drago et al. 2013). Après reconnaissance de la levure, les plaquettes sont activées et elles libèrent des molécules aux propriétés antimicrobiennes comme le CCL5 (CC-chemokine ligand 5) ou le PF4 (platelet factor 4).



Pour se défendre, *C. albicans* produit une gliotoxine qui inhibe l'adhérence des plaquettes au fibrinogène, l'agrégation plaquettaire et leur activité procoagulante (Bertling et al. 2010).

#### 5) Echappement de *C. albicans* au système immunitaire

*C. albicans* possède plusieurs moyens d'évasion au système immunitaire, notamment la transition blastoconidie-hyphe. Les deux formes de *C. albicans* (levure et hyphe) ne sont pas reconnues par les mêmes récepteurs. En effet, une étude sur des macrophages a montré qu'une stimulation avec des levures de *C. albicans* favorisait l'expression des récepteurs TLR4 et Dectine-1 alors que la forme hyphale favoriserait l'expression des récepteurs TLR2 et Dectine-2 (Han et al. 2013). La non reconnaissance des hyphes par Dectine-1 s'explique par l'absence de bourgeonnement des hyphes et donc l'absence d'exposition des  $\beta$ -glucanes au niveau des bourgeons (Gantner et al. 2005). Cela a une influence sur la réponse inflammatoire puisque la forme hyphale n'induit pas la production d'IL-12 par les cellules dendritiques mais elle favorise la sécrétion d'IL-4, favorisant la réponse Th2 (d'Ostiani et al. 2000). De plus, l'hyphe n'induit pas la réponse IFN $\gamma$ , sûrement dû au fait qu'elle n'est pas reconnue par le TLR4 (van der Graaf et al. 2005). L'augmentation de chitine, dans la paroi des hyphes peut moduler la réponse immunitaire envers *C. albicans*. En effet, la chitine purifiée bloque la reconnaissance de *C. albicans* par les monocytes, une réponse anti-inflammatoire est alors observée (Mora-Montes et al. 2011). Chez la souris, la forme hyphale de *C. albicans* est capable d'induire la lyse des neutrophiles murins après phagocytose alors que la levure est complètement bloquée par les neutrophiles humains (Ermert et al. 2013). Enfin, la différence de structure du phospholipomannane (PLM) de la paroi influence aussi la réponse cytokinique. Les PLM des deux sérotypes de *C. albicans* sont capables d'activer la caspase-1 dans un modèle de macrophages murins. Par contre, seul le PLM du sérotype A induit une réponse TNF- $\alpha$ , potentialisée par la galectine-3 soluble (Devillers et al. 2013).

Un second moyen d'échapper au système immunitaire consiste à moduler la réponse inflammatoire pour favoriser la réponse anti-inflammatoire. Ainsi, *C. albicans* augmente la réponse anti-inflammatoire des macrophages de type M2, au détriment de la réponse pro-inflammatoire des macrophages de type M1 (Reales-Calderón et al. 2014). Les motifs 1,3 $\beta$ -D glucanes stimulent la production d'IL-10 par les cellules dendritiques et la sécrétion de TGF- $\beta$  par les macrophages afin d'installer une tolérance immunitaire (Dillon et al. 2006).

Enfin, *C. albicans* peut entraîner la synthèse d'un précurseur du tryptophane (5-hydroxytryptophane) capable d'inhiber la production d'IL-17 par les PBMC (Peripheral blood mononuclear cell) et la synthèse d'une protéine p43, produite par les blastoconidies et qui a des propriétés immunosuppressives (Cheng et al. 2010, Tavares et al. 2003).

### III. Le rôle des PRR dans la reconnaissance de *C. albicans* et dans la modulation de la réponse inflammatoire

Les récepteurs PRRs (pathogen recognition récepteurs) sont des récepteurs de différentes familles comme les récepteurs Toll-like et les récepteurs lectiniques (les Dectines, le Mannose récepteur, la Galectine-3 et la Mannose-binding lectine). Ils agissent dans les premières phases de défense contre les micro-organismes en reconnaissant les pathogènes et en modulant la réponse inflammatoire. L'un des mécanismes pouvant expliquer la physiopathologie de la MC, est qu'un trouble du fonctionnement de ces récepteurs de l'immunité innée favoriserait la dysbiose intestinale qui mène à un état inflammatoire chronique (Hansen et al. 2010). Les récepteurs Toll-like et la Mannose binding-lectine sont deux types de PRR pouvant être impliqués dans ce mécanisme puisqu'ils participent à la défense contre *C. albicans* et qu'ils sont associés à la MC.

#### 1. Les récepteurs Toll-like

Il existe 13 membres dans la famille des récepteurs Toll-like (TLR). Les TLR1 à 9 sont communs à l'Homme et à la souris. Le TLR10 est fonctionnel chez l'Homme et le TLR11 chez la souris. Les TLR12 et 13 ne sont présents que chez la souris (Lai and Gallo 2008)

##### 1) Structure des TLR

Les TLR sont des glycoprotéines membranaires de poids moléculaire compris entre 90 et 115 kDa. Elles sont composées d'un domaine N-terminal extracellulaire, d'un domaine transmembranaire et d'un domaine C-terminal intracellulaire.

Le domaine N-terminal est composé de motif LRR (leucine rich repeat), motifs répétés riches en leucine. La distribution, l'organisation et le nombre de ces motifs est propre à chaque TLR, définissant ainsi la spécificité des ligands (Bell et al. 2003). Le domaine intra-cellulaire, appelé TIR (Toll/IL-1 receptor domain), est commun aux TLR et au récepteur de l'IL-1. Il est

composé de trois médiateurs impliqués dans la transduction du signal d'activation (Yamamoto et al. 2004).

Le récepteur TLR2 forme des hétérodimères avec les récepteurs TLR1 et TLR6. L'hétérodimère TLR1/TLR2 reconnaît des lipopeptides bactériens alors que l'hétérodimère TLR6/TLR2 reconnaît les lipopeptides mycobactériens (Takeuchi et al. 2002).

## 2) Expression cellulaire des TLR

Ces récepteurs sont exprimés par de nombreuses cellules. Ils peuvent être localisés au niveau des membranes (TLR1, 2, 4 et 6) ou au niveau du réticulum endoplasmique et des endosomes (TLR3, 7 et 9).

Plusieurs facteurs régulent cette expression, dont l'âge de l'individu et les ligands reconnus. En effet, les macrophages de souris âgées expriment significativement moins les récepteurs TLR par rapport à ceux des souris jeunes (Renshaw et al. 2002). L'expression du récepteur TLR2 au niveau des macrophages peut être régulée par différents ligands comme le LPS ou l'ARN double brin (Nilsen et al. 2004). L'expression du récepteur TLR4 est induite sur la membrane des monocytes après reconnaissance du LPS par le CMH-II (Hopkins et al. 2005).

## 3) Ligands et voies de signalisation des TLR

Les TLR reconnaissent différents ligands en fonction de leur domaine N-ter. Par exemple, TLR4 joue un rôle essentiel dans la reconnaissance du LPS, en s'associant à la molécule MD-2 (Bode et al. 2012). TLR2 peut également reconnaître le LPS mais aussi d'autres ligands comme le peptidoglycane, les lipoprotéines ou un composant de la paroi des levures, le zymosan. Le TLR3, situé au niveau intracellulaire, peut reconnaître les ARN double brin produits lors d'infections virales alors que le TLR9 reconnaît l'ADN viral ou bactérien (Alexopoulou et al. 2001, Hemmi et al. 2000). Enfin, la flagelline des bactéries Gram-négatif est plutôt détectée par le TLR5 lorsque le micro-organisme pénètre l'épithélium intestinal.

La reconnaissance des ligands entraîne l'activation des voies de signalisation par l'intermédiaire de molécules adaptatrices. Ces molécules interagissent avec le domaine TIR des TLR et il en existe cinq actuellement (O'Neill et al. 2003):

- MyD88 (myeloid differential factor 88)
- Mal (MyD88 adaptor like)
- TRIF (TIR domain containing adaptor inducing interferon  $\beta$ ) ou TICAM-1(TIR domain containing adaptor molecule)
- TRAM (TRIF related adaptor molecule) ou TICAM-2 ou TIRP (TIR domain containing adapter protein)
- SARM (Sterile  $\alpha$  and armadillo motif containing protein)

Chaque molécule active une voie de signalisation spécifique et une réponse biologique différente.

Tous les récepteurs TLR, excepté le TLR3, activent le facteur MyD88. Ce facteur forme un complexe avec les kinases IRAK-1 et IRAK-4, entraînant le recrutement de TRAF6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6). Ce facteur peut entraîner plusieurs réponses (Fig.3):

- L'activation de la kinase TAK1, qui par l'intermédiaire des kinases IKK, active la voie NF $\kappa$ B et l'induction des cytokines inflammatoires comme TNF $\alpha$  et IL-6.
- La kinase TAK1 peut également activer les MAP kinases qui induisent la production de cytokines pro-inflammatoires par l'intermédiaire d'AP-1.
- L'activation de l'IRF-7 (interferon regulator factor 7) et l'induction d'interféron de type 1. Cette réponse est induite que par les récepteurs TLR7/8 et TLR9.

Il a été montré, grâce à un modèle de souris déficiente en protéines Mal, que celle-ci était indispensable aux récepteurs TLR1,2,4 et 6 pour activer la voie NF $\kappa$ B, en interagissant avec MyD88 (Horng et al. 2002).

Les récepteurs TLR3 et TLR4 peuvent activer une voie indépendante de MyD88, qui est dépendante de TRIF et des kinases RIP (receptor interacting protein), entraînant l'activation de la voie NF $\kappa$ B (Meylan et al. 2004). Alors que le récepteur TLR3 interagit directement avec TRIF, le récepteur TLR4 nécessite une interaction avec la protéine TRAM pour activer TRIF

(Yamamoto et al. 2003). L'interaction des TLR avec TRIF entraîne soit le recrutement de TRAF6, soit l'activation d'IRF3 et la production d'interféron de type 1 (Fig.6).

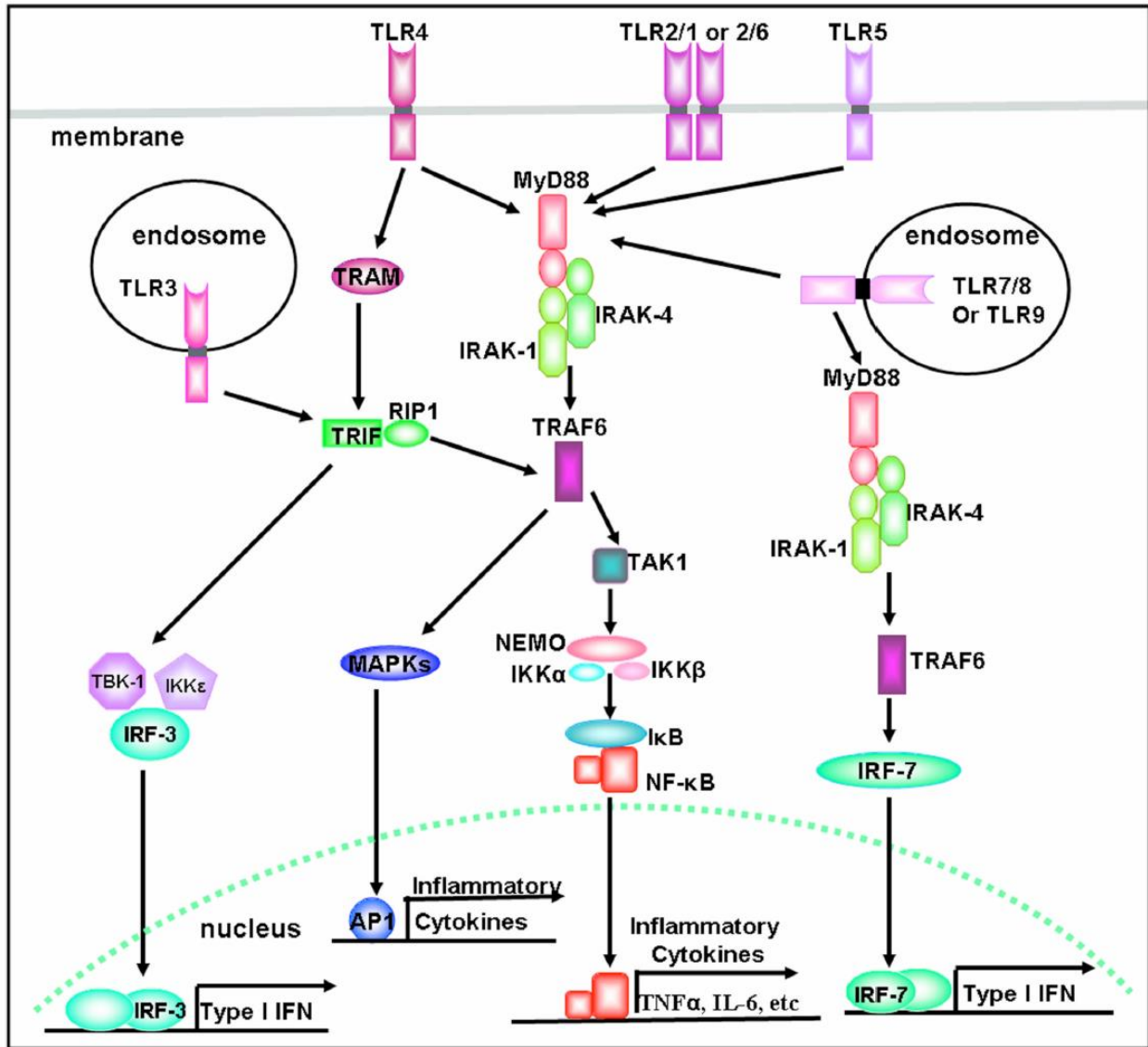


Figure 6 : Voie de signalisation des TLR, d'après Lai and Gallo, 2008

#### 4) Les déficits en TLR et les pathologies associées

##### i. Les variations des TLR associées à la maladie de Crohn

Les polymorphismes des récepteurs TLR sont aussi associés à des maladies auto-immunes dont le diabète de type 1, l'arthrite rhumatoïde, le lupus érythémateux systémique, la sclérose en plaque ou les MICI (Giancchetti and Fierabracci 2015).

Les MICI regroupent principalement la MC et la RCH. Pour ces deux maladies, plusieurs mutants des TLR sont retrouvés chez des patients aux phénotypes sévères (Cario 2010). En ce qui concerne les colites ulcéraives, les polymorphismes R80T de TLR1 et R753Q de TLR2 favorisent le développement de pancolite chez ces patients (Pierik et al. 2006).

Plusieurs variants génétiques des récepteurs TLR sont associés à la MC. Le récepteur TLR2 participe activement au maintien de la barrière intestinale. En effet, lors d'une stimulation de TLR2, celui-ci renforce les jonctions serrées en activant la redistribution de la protéine ZO-1 (Cario et al. 2004). L'injection d'un ligand de TLR2 chez des souris traitées par DSS, induit un maintien de la perméabilité intestinale et une amélioration clinique des animaux (Cario et al. 2007). Une étude menée sur des souris CARD15-KO a aussi mis en évidence une augmentation de l'activation de la voie NFκB médiée par le récepteur TLR2, entraînant ainsi une activation de la réponse Th1 (Watanabe et al. 2004). Une surexpression des récepteurs TLR est également présente sur les cellules dendritiques de la muqueuse prélevée de lésions inflammatoires de patients MC (Hart et al. 2005). Le récepteur TLR4 participe au maintien de l'intégrité tissulaire. Ainsi, un déficit en TLR4 est associé à un défaut de réparation de l'intégrité tissulaire lors d'une colite chimio-induite (Ungaro et al. 2009). De plus, le polymorphisme D299G exacerbe la réponse pro-inflammatoire après stimulation avec du LPS, entretenant une réponse inflammatoire dans l'intestin (Franchimont et al. 2004).

L'effet de TLR5 est plus controversé. Un des mutants de TLR5 qui entraîne une perte de fonction du récepteur, apparaît comme protecteur de la maladie, alors qu'un déficit total en TLR5 chez des souris entraîne des colites spontanées (Vijay-Kumar et al. 2007, Gewirtz et al. 2006).

Chez les récepteurs TLR endosomaux, des polymorphismes de TLR9 peuvent aussi influencer le développement de la maladie. Le SNP -1237T/C de TLR9 est retrouvé plus

fréquemment chez les patients porteurs d'au moins une mutation du gène *NOD2* ou du variant protecteur de l'IL23R (Török et al. 2009).

## ii. L'implication des TLR dans les pathologies infectieuses

Les TLR reconnaissent de nombreux pathogènes. De ce fait, un déficit en un de ces récepteurs peut favoriser le développement et l'évolution de nombreuses pathologies infectieuses, ou a contrario protéger contre celle-ci (Mifsud et al. 2014). Par exemple, certains polymorphismes du récepteur TLR1 augmentent la susceptibilité aux infections à Gram- et le développement de choc septique, alors que d'autres protègent contre la lèpre ou la pyélonéphrite (Wurfel et al. 2008, Johnson et al. 2007). A l'inverse, un polymorphisme du gène *TLR2* favorise le développement de la lèpre (Kang and Chae 2001).

Parmi les autres récepteurs membranaires de la famille des TLR, la mutation D299G sur le récepteur TLR4 augmente le risque de développement du paludisme mais elle diminue la mortalité liée aux formes cérébrales de la maladie (Mockenhaupt et al. 2006).

Les récepteurs TLR situés dans l'endosome influencent le développement de l'infection à HIV. Le mutant TLR7 rs179008 est associé à une augmentation de la charge virale et une importante immunosuppression (Oh et al. 2009). Par contre, les polymorphismes des récepteurs TLR8 (rs3764880) et TLR3 (C1660T) protègent contre le développement de l'infection (Oh et al. 2008, Gorbea et al. 2010).

## iii. Les TLR et *C. albicans*

Les TLR sont impliqués dans la reconnaissance du mannane pariétal et la voie de signalisation, dépendante de MyD88, est essentielle à la défense contre *C. albicans* et le développement d'une réponse Th1 par les cellules dendritiques (Bellocchio et al. 2004).

Les principaux récepteurs membranaires impliqués dans la reconnaissance de la levure sont TLR2 et TLR4. Le récepteur TLR4 permet le recrutement des neutrophiles, en induisant la production des chemokines KC et MIP-2 (Netea et al. 2002). Deux polymorphismes de TLR4 sont associés à une augmentation du risque de candidémie et une augmentation des taux d'IL-



10 (Van der Graaf et al. 2006). Le rôle du récepteur TLR2 est plus controversé. En effet, la colonisation intra-gastrique par *C. albicans* entraîne le développement d'une réponse lymphocytaire de type Th1 chez les souris DBA/2. Cette réponse Th1, induite par *C. albicans*, est médiée par le récepteur TLR2 qui stimule la production de TNF- $\alpha$ , d'IL-1 $\alpha$  et d'IL-1 $\beta$  (Murciano et al. 2007). Un déficit en TLR2 est caractérisé par un défaut de recrutement des neutrophiles et une dissémination de la levure au niveau des ganglions lymphatiques et de la rate (Tessaroli et al. 2010). Par contre, le récepteur TLR2 augmente la réponse des Treg lors d'une infection. Ces Treg préviennent une inflammation excessive mais ils favorisent également la persistance de *C. albicans* (Sutmuller et al. 2006). De plus, les macrophages des souris TLR2<sup>-/-</sup> présentent une meilleure activité antifongique avec une diminution de l'IL-10 et une diminution des CD4+CD25+Treg (Netea et al. 2004b). Le récepteur TLR2 participe donc à la mise en place de la réponse pro-inflammatoire Th1, mais il permet également le développement d'une réponse anti-inflammatoire médiée par l'IL-10. Cette réponse anti-inflammatoire favorise la persistance de *C. albicans*.

Le TLR-2 forme des hétérodimères avec les récepteurs TLR1 et TLR6. Trois polymorphismes de TLR1 (R80T, S248N et I602S) sont associés à un risque de candidémie chez l'Homme, à cause d'un défaut de production de cytokines par les monocytes (Plantinga et al. 2012). Le TLR6 module les réponses Th1 et Th2. Cependant un déficit en TLR6 n'influence pas la susceptibilité à *C. albicans* (Netea et al. 2008).

Au niveau des récepteurs situés dans l'endosome, le récepteur TLR7 reconnaît l'ARN de *C. albicans* et induit la production d'IL12p70 (Biondo et al. 2012). Un déficit en TLR7 est associé à une hyper susceptibilité aux candidoses. Ce récepteur est aussi nécessaire à la production d'IFN $\beta$  par les cellules dendritiques (Bourgeois et al. 2011). Un variant de TLR3 diminue l'activation de la voie NF $\kappa$ B et la sécrétion d'IFN $\gamma$ , favorisant les candidoses cutanés (Nahum et al. 2011). Par contre, le récepteur TLR9 diminue la production de TNF $\alpha$  par les macrophages et il favorise le développement de l'infection (Kasperkovitz et al. 2011).

## 2. Le complexe MBL-MASP (MBL- associated serine protease)

La MBL est une lectine soluble, produite par le foie et présente dans le sérum, qui circule en complexe avec des protéines MASP (MBL-associated serine protease). Faisant partie des PRR solubles, ce complexe participe activement à la défense de l'hôte contre de nombreux micro-organismes.

### 1) Structure du complexe

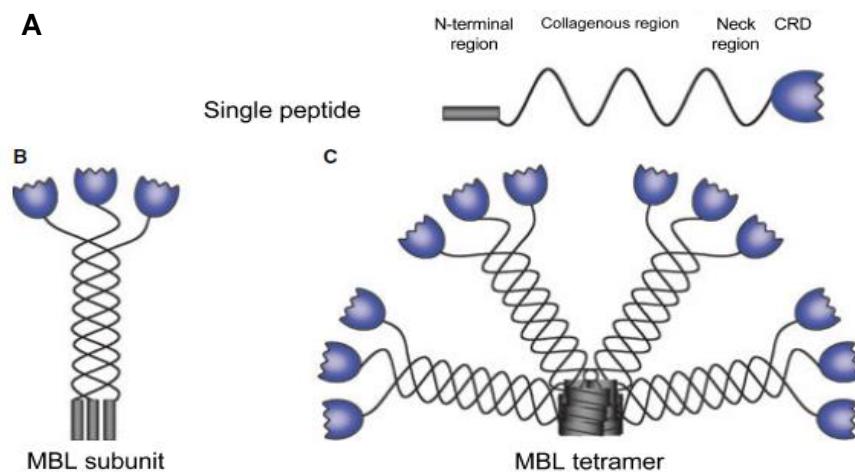
#### i. Structure de la MBL

Il existe une forme de MBL humaine codée par le gène *MBL2* et deux formes murines : MBL-A et MBL-C, codées par les gènes *MBL1* et *MBL2*. Les deux formes murines possèdent les mêmes propriétés fonctionnelles et une structure similaire à la MBL humaine (Hansen et al. 2000).

Un monomère de MBL correspond à un assemblage de trois chaînes polypeptidiques identiques de 32kDa (Miller et al. 2012). Chaque chaîne est constituée de quatre parties (Fig.7) :

- une partie N-ter constituée de cystéine,
- une partie collagénique,
- une neck région sous forme d'une hélice  $\alpha$  bi-spiralée,
- un carbohydrate recognition domaine (CRD) en C-ter.

Pour former un monomère, les trois chaînes s'associent en triple hélice au niveau de la partie collagénique. L'association est stabilisée par des liaisons hydrophobes et des ponts disulfures au niveau de la partie N-ter riche en cystéine (Sheriff et al. 1994). Les trois CRD d'un monomère sont équidistants les uns des autres (Weis and Drickamer 1994). Les monomères circulent sous formes d'oligomères allant du dimère à l'hexamère, avec une prédominance des formes trimères et tétramères (Teillet et al. 2005). L'association des monomères se fait au niveau de la partie N-ter. Chaque forme peut être différenciée par son poids moléculaire. Alors qu'un monomère de MBL migre à 32kDa, les formes trimériques migrent vers 250kDa (Jenseni et al. 2009). Les CRD des oligomères sont positionnés les uns près des autres dans un plan en éventail, expliquant la forme en bouquet d'un oligomère (Miller et al. 2012).



**Figure 7 :** Structure de la MBL, d'après Ip *et al*, 2009. (A) Une sous unité de la MBL est composée d'une partie N-ter, d'une région collagénique, d'une neck-région et d'un CRD. (B) Un monomère de MBL est constitué de trois sous-unités liées entre elles au niveau de la partie collagénique. (C) Un tétramère de MBL est composé de quatre monomères de MBL reliés au niveau de la partie N-ter.

Le CRD reconnaît les résidus  $\alpha$ -D-mannopyranoses, les L-fucoses et les N-acétyl-D-glucosamines à la surface des microorganismes par une liaison calcium dépendante. Le CRD possède deux sites de liaison au calcium et l'interaction avec les sucres se fait par des ponts d'hydrogène avec 4 acides aminés et des interactions de Van der Waals, stabilisées par l'ion calcium (Kjaer *et al*. 2013b).

## ii. Structure de MASP

La MBL circule sous forme de complexe avec différentes protéines MASP. Actuellement, il existe les protéines MASP 1, 2 et 3 qui possèdent une activité enzymatique ainsi que les protéines MAP44 et MAP19. Il existe un haut degré de conservation des protéines MASP entre l'Homme, le rat et la souris.

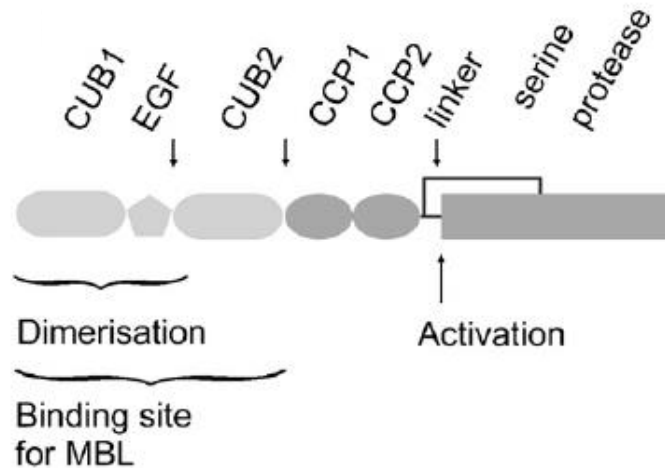
Les protéines MASP1 et MASP3 sont codées par le gène *MASP1* et elles partagent la même chaîne A, composée de cinq domaines en N-ter:

- un domaine CUB1 (Complement C1r/C1s, Uegf, Bmp1) de 110 acides aminés,

- un domaine EGF-like (Epidermal Growth Factor) de 50 acides aminés qui possède un site de liaison au calcium,
- un second domaine CUB2,
- deux domaines CCP1 et CCP2 (Complement Control Protein).

La partie C-ter (chaîne B) est spécifique de chaque protéine et elle est composée d'une sérine protéase, conférant l'activité enzymatique (Degn et al. 2010) (Fig.5). La protéine MASP1 migre sous forme de monomère à 75kDa et la concentration sérique médiane est de 6.27 µg/mL. MASP1 circule sous forme d'homodimère (Thielens et al. 2001). La protéine MASP3 a une concentration médiane de 5µg/mL. Une troisième protéine provient de l'épissage du gène *MASP1*, la protéine MAp44 ou MAp1. Celle-ci possède 4 domaines communs à MASP1 et MASP3 dans la chaîne A (CUB1-EGF-CUB2-CCP1) puis un résidu spécifique de 17 acides aminés en C-ter. Cette protéine a une concentration sérique médiane de 1.7µg/mL (Matsushita et al. 2013). MAp44 forme des homodimères stabilisés par des ions calciques (Skjoedt et al. 2012).

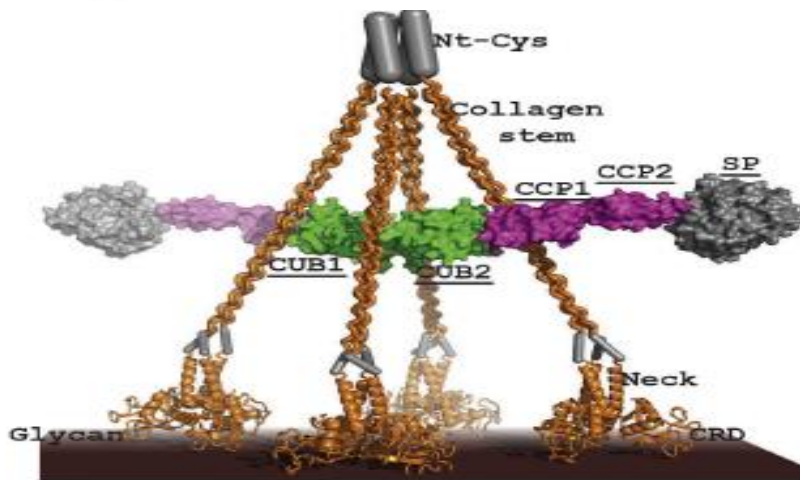
Les protéines MASP2 et MAp19 (sMAp) sont codées par le gène *MASP2*. Leurs concentrations médianes sont respectivement de 0.305 µg/mL et 0.217 µg/mL (Matsushita et al. 2013). MASP2 est composé de la même manière que MASP1 et MASP3 avec en N-ter : CUB1, EGF, CUB2, CCP1 et CCP2. La partie C-ter est composée d'une sérine protéase (Fig.8). MAp19 partage les domaines CUB1 et EGF avec la protéine MASP2 puis elle possède quatre résidus spécifiques en C-terminal (Gregory et al. 2004). Comme MASP1, MASP2 forme un homodimère, assemblé en tête-bêche au niveau de CUB1-EGF-CUB2. (Feinberg et al. 2003). MAp19 peut aussi former des homodimères par interaction du CUB1 de l'un des monomères avec la partie EGF de l'autre monomère. Ce dimère est stabilisé par un ion calcium au niveau du domaine EGF (Gregory et al. 2004).



**Figure 8 :** Structure des protéines MASP1, 2 ou 3, d'après Wallis *et al*, 2007. La partie CUB1-EGF permet l'homodimérisation. L'interaction avec la partie collagénique de la MBL se fait au niveau de CUB1-EGF-CUB2.

## 2) Formation du complexe MBL-MASP

Les domaines CUB1-EGF-CUB2 des protéines MASP se lient au domaine collagénique en C-ter de la MBL, au niveau de l'interruption du motif GluXY formant une articulation (Wallis et al. 2004, Kjaer et al. 2013a) (Fig.9). Le résidu Lys55, situé dans la région collagénique de la MBL est indispensable à l'interaction avec les protéines MASP (Teillet et al. 2007). Chaque homodimère de MASP peut interagir avec deux monomères de MBL (Chen and Wallis 2001). Ainsi, un dimère de MBL peut donc fixer un homodimère MASP alors que les formes trimériques et tétramériques fixent deux homodimères. Les homodimères MASP1 et MASP2 peuvent se fixer sur un même oligomère de MBL (Degn et al. 2012). MAP19 est aussi capable de se lier à la partie collagénique de la MBL par une liaison dépendante du calcium (Thielens et al. 2001).



**Figure 9 :** Structure du complexe MBL-MASP, d'après Kjaer *et al*, 2013. Un homodimère de MASP peut se lier à deux monomères de MBL.

### 3) Expression du complexe MBL-MASP

Le gène *MBL2* est principalement exprimé dans les cellules hépatiques. Cependant des études ont mis en évidence une faible expression des ARNm de *MBL2*, *MASP1* et *MASP2* dans l'intestin grêle de l'Homme. Le gène *MASP3* est, quant à lui, retrouvé dans le côlon et le cerveau (Seyfarth *et al.* 2006). L'expression de la protéine *MAP44* se fait au niveau du muscle squelettique, du myocarde et du foie (Skjoedt *et al.* 2010).

Chez la souris, l'ARNm de *MBL-A* a été mis en évidence dans les poumons, les reins et les testicules, tandis que l'ARNm de *MBL-C* a été observé dans les reins, le thymus et l'intestin grêle. La protéine *MBL-C* a été détectée dans les cellules épithéliales intestinales (Uemura *et al.* 2002).

Les peroxisome proliferator activated receptors (PPAR) sont impliqués dans l'expression hépatique de la MBL. Les PPAR sont des facteurs de transcriptions appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires. On dénombre actuellement  $PPAR\alpha$ ,  $PPAR\beta/\delta$  et  $PPAR\gamma$ .  $PPAR\alpha$  est un régulateur majeur du métabolisme hépatique et il est impliqué dans l'expression de MBL par les hépatocytes humains (Rakhshandehroo *et al.* 2012).  $PPAR\gamma$ , dont l'expression est restreinte aux tissus adipeux, aux macrophages et au côlon, serait également impliqué dans l'expression hépatique de MBL chez l'Homme (Tachibana *et al.* 2013). Par contre, l'implication des récepteurs PPAR dans l'expression de MBL chez la souris est plus controversée. En effet, un agoniste de  $PPAR\alpha$  est capable d'induire l'expression de *MBL-A* dans des hépatocytes

murins mais pas *in vivo* alors qu'il n'induit aucune expression de MBL-C *in vitro* (Rakhshandehroo et al. 2012). Cette différence du rôle des PPAR sur l'expression de MBL entre l'Homme et les rongeurs serait due à une différence de PPRE (peroxisome proliferator response element) au niveau de la région promotrice du gène (Tachibana et al. 2013).

#### 4) Fonctions du complexe

##### i. La voie lectinique du complément

Le complexe MBL-MASP est capable d'activer la voie lectinique du complément. La reconnaissance des sucres par le CRD de la MBL entraîne le clivage des protéines C2 et C4 du complément par les protéines MASP1 et MASP2 (Ip et al. 2009). Plus spécifiquement, lorsque la MBL circule, elle empêche l'interaction de MASP2 avec C4. La reconnaissance des sucres par le CRD entraîne un changement conformationnel de MASP2 qui reconnaît le C4 et le clive. Le C4b libéré vient se fixer à la surface cellulaire, juste à côté du complexe MBL-MASP2. C2 vient ensuite se fixer à C4 pour être clivé par MASP2, formant ainsi la C3 convertase (Chen and Wallis 2004). MASP1 est responsable de 60% de la production de C2a nécessaire à la formation de la C3 convertase, mais elle ne clive pas C4 (Héja et al. 2012). Or, MASP1 est essentielle au bon fonctionnement de la voie lectinique du complément (Degn et al. 2012). L'activation du complément ne peut donc s'effectuer que si c'est un complexe MBL-MASP1/MASP2 ou si un complexe MBL-MASP1 est également fixé à proximité du complexe MBL-MASP2 (Chen and Wallis 2004).

La protéine MASP3 est également liée à la MBL mais elle est capable d'inhiber le clivage des protéines C2 et C4 par MASP2 (Dahl et al. 2001). Cette protéine ne peut pas cliver les protéines C2 et C4 (Zundel et al. 2004). Chez la souris, en plus de l'activation de la voie lectinique du complément, les protéines MASP1 et MASP3 sont impliquées dans l'activation de la voie alternative du complément mais pas chez l'Homme (Degn et al. 2012). La protéine recombinante MASP3 est effectivement capable d'activer les facteurs B et D nécessaires à la C3 convertase alterne et de restaurer le dépôt de C3 chez des souris KO (Iwaki et al. 2011).

Les protéines MAp19 et MAp44 sont par contre capables d'inhiber l'activation du complément, notamment par un phénomène de compétition avec MASP2 pour la protéine MAp44 (Degn et al. 2009, Skjoedt et al. 2010).

## ii. L'opsonisation des micro-organismes par la MBL

Le complexe MBL-MASP active la phagocytose des microorganismes par opsonisation, notamment des levures comme *C. albicans* (Li et al. 2012). L'opsonisation peut se faire, soit par l'activation du complément entraînant la libération de C3b, soit par opsonisation directe par la MBL, reconnue par le récepteur de collectine CR1 à la surface des leucocytes (Ghiran et al. 2000). MBL peut activer l'opsonophagocytose de *C. albicans* par les neutrophiles en favorisant l'expression de Dectine-1 (Li et al. 2012). La MBL coopère également avec d'autres PRR comme TLR2 dans la défense envers *Staphylococcus aureus* (Ip et al. 2008). Enfin la MBL peut interagir avec la calréticuline ou le CD91 pour favoriser l'élimination des cellules apoptotiques (Ogden et al. 2001). Cette interaction se fait au niveau du site de liaison de MASP (Pagh et al. 2008, Duus et al. 2010).

## iii. Implication du complexe MBL-MASP dans la coagulation

L'activation du complément par le complexe MBL-MASP est essentielle au bon fonctionnement du système immunitaire mais le complexe participe également au phénomène de coagulation. Takahashi *et al* ont montré qu'un déficit en MBL favorise le syndrome de coagulation intravasculaire disséminée (Takahashi et al. 2011). Ceci s'explique par le fait que le complexe MBL-MASP est capable de générer un caillot de fibrine similaire à celui formé par la thrombine lorsqu'il est incubé avec du plasma calcifié, du fibrinogène ou du facteur XIII (Gulla et al. 2010). Plusieurs études ont été menées pour expliquer le rôle du complexe dans la coagulation.

Tout d'abord, ces études ont mis en évidence la capacité de la MBL à reconnaître la fibrine. Les protéines MBL-A et MBL-C peuvent se lier aux chaînes A $\alpha$  et B $\beta$  du fibrinogène ainsi que sur les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  de la fibrine (Endo et al. 2010). Ensuite, il a été montré que la protéine MASP1 possède une activité thrombine-like. Cette protéase est capable de cliver les mêmes substrats que la thrombine, tel que le fibrinogène et le facteur XIII (Krarup et al. 2008). Elle active le facteur XIII, le TAFI (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor) et la prothrombine (Hess et al. 2012). L'association de MASP1 avec de la thrombine a un effet synergique sur la formation d'un caillot de fibrine (Jenny et al. 2015). MASP2 est également capable de cliver la prothrombine pour générer une thrombine active qui pourra cliver le fibrinogène (Krarup et al.



2007). Enfin, MASP1 et MASP2 peuvent aussi interagir avec les plaquettes activées lorsqu'ils sont en complexes avec d'autres collectines, les ficolines (Kozarcanin et al. 2015).

Son activité thrombine-like permet également à MASP1 d'activer le récepteur PAR1 (protéase activated recepteur 1), principal récepteur de la thrombine sur les plaquettes, ainsi que les récepteurs PAR2, PAR3 et PAR4, grâce à son extrémité protéasique. Le clivage des récepteurs PAR à la surface des cellules endothéliales, active les voies p38/MAPK et la voie NFκB (Megyeri et al. 2009). Cela entraîne la libération de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et IL-8) et le recrutement des granulocytes neutrophiles (Dobó et al. 2014).

MASP1 agit également sur le système kinine-kallikréine qui participe à la coagulation. En effet, elle peut cliver le kininogène de haut poids moléculaire, libérant de la bradykinine, vasodilatateur puissant (Dobó et al. 2011). MASP2 peut aussi cliver le kininogène mais cela ne libère pas de bradykinine.

## 5) Génétique

### i. Le gène *MBL2*

Un gène ancestral commun *MBL* a donné par duplication deux gènes *MBL1* et *MBL2*. Le gène *MBL1* ayant régressé au cours de l'évolution, seul le gène *MBL2* code pour la protéine MBL chez l'Homme et il est localisé sur le chromosome 10q11.2-21 (Seyfarth et al. 2006).

Ce gène est constitué de 4 exons et 3 introns. L'exon1 code pour le peptide signal, il est composé d'un domaine riche en cystéine et de 7 motifs répétés Gly-Xaa-Yaa. L'exon2 est constitué de 12 motifs répétés Gly-Xaa-Yaa, codant pour la région collagénique. L'exon3 code pour la neck région et l'exon4 pour le CRD. Il existe également un exon0 alternatif à l'exon1. Cet exon permet d'initier la transcription du gène *MBL2* et il code pour un transcrit similaire à la protéine MBL (Naito et al. 1999).

Chez la souris, il existe deux gènes *MBL1* et *MBL2*, codant pour deux protéines différentes MBL-A et MBL-C (Hansen et al. 2000). Ils sont positionnés respectivement sur les chromosomes 14 et 19.

## ii. Les gènes *MASP*

Les protéines MASP liées à la MBL sont codées par deux gènes : *MASP1* et *MASP2*. Le gène *MASP2*, situé sur le chromosome 1p36.2-3, code pour la protéine MASP2 et la protéine tronquée MAp19 de 19kDa (Stover et al. 2003). L'organisation du gène *MASP2* présente de nombreuses similitudes entre l'Homme, le rat et la souris (Stover et al. 2004).

Le gène *MASP1*, situé sur le chromosome 3q27-28, code pour les protéines MASP1, MASP3, et MAp44 (Dahl et al. 2001). Les dix premiers codons du gène *MASP1* codent pour les cinq domaines partagés par MASP1 et MASP3. Le onzième exon code pour la partie C-ter de MASP3 alors que les six derniers exons codent la partie C-ter de MASP1 (Endo et al. 1998). L'ARNm de MAp44 est encodé par les huit premiers exons de *MASP1* (Degn et al. 2009). Les protéines murines MASP1 et MASP3 sont également codées par un gène commun situé sur le chromosome 16B2-B3 (Stover et al. 2003).

## iii. Les polymorphismes *MBL-MASP*

Chez l'Homme, il existe une grande hétérozygotie avec plus de 87 polymorphismes dans tout le gène *MBL2* (Bernig et al. 2004). Environ 30% de la population présente un de ces polymorphismes (Heitzeneder et al. 2012).

Dans l'exon1, trois polymorphismes altèrent la fonction et les taux de MBL circulante. La mutation sur le codon 54(rs1800450) entraîne le changement d'une glycine par de l'acide aspartique. La mutation sur le codon 57 (rs1800451) correspond à une substitution d'une glycine par un acide glutamique et la troisième mutation sur le codon 52 (rs5030737) entraîne le remplacement d'un résidu arginine par une cystéine. Communément, les allèles comportant les polymorphismes 54, 57 et 52 sont respectivement appelés B, C et D alors que l'allèle normal est appelé A (Garred 2008). Enfin, il existe également un polymorphisme au niveau de l'exon4 codant pour le CRD.

Les trois polymorphismes sont exprimés différemment selon les populations : l'allèle B est fréquent dans les populations caucasiennes et asiatiques, contrairement à l'allèle C qui est retrouvé dans les populations africaines sub-sahariennes. Enfin l'allèle D, beaucoup moins

fréquent que les B et C, est exprimé préférentiellement dans les populations caucasiennes et au nord-est de l'Afrique (Garred 2008).

Les trois polymorphismes B, C et D, situés dans la partie collagénique de la protéine MBL, entraînent une diminution du degré d'oligomérisation de la protéine. Cela provoque une diminution de sa capacité à se lier au mannane et à activer le complément. De plus, il a été montré que les taux de MBL varient selon le degré d'hétérozygotie. En effet les sujets homozygotes A/A présentent des taux de MBL supérieurs aux sujets A/O ou O/O (Minchinton et al. 2002). Il existe également des polymorphismes au niveau du promoteur. Ils sont en position -50 (H/L variant), -221 (X/Y variant) et +4 (P/Q variant). Les haplotypes communs provenant de l'allèle A sont : HYPA, LYPA, LYQA et LXPA. En présence de mutation, les haplotypes retrouvés sont : HYPD, LYPB et LYQC (Garred 2008). Chez la souris, une étude a mis en évidence plusieurs polymorphismes sur les deux gènes *MBL-A* et *MBL-C*. La plupart de ces polymorphismes affectent le CRD des protéines, ayant un impact sur la reconnaissance des microorganismes (Phaneuf et al. 2007).

En ce qui concerne les protéines MASP, les taux de MASP2 et les polymorphismes varient d'une population à l'autre. Ainsi, la population chinoise présente un polymorphisme non retrouvé dans les autres populations, qui entraîne des taux faibles en MASP2 (Thiel et al. 2007). Les principaux polymorphismes connus sur le gène *MASP2* entraînent différentes modifications (Thiel et al. 2009). Les polymorphismes R99Q et P126L, situés au niveau du domaine CUB1, ainsi que la mutation H155R sur le domaine EGF, ne modifient pas la liaison de la protéine à la MBL et son activité enzymatique. Par contre, la mutation D120G sur le domaine CUB1 et la mutation CHNHdup sur le domaine EGF, entraînent une perte de liaison de la protéine à la MBL et les protéines MASP2 mutées ne peuvent pas activer le complément. Au niveau de la région d'activation du peptide, la mutation R439H mène à une protéine capable de se fixer à la MBL mais elle ne possède pas d'activation enzymatique. Une mutation spécifique du résidu K432 situé dans la partie CCP1 de MASP2 empêche la reconnaissance de la protéine C4 et l'activation du complément (Duncan et al. 2012).

Il existe également des polymorphismes sur le gène *MASP2* qui perturbent la protéine MAP19 (Gregory et al. 2004). Alors qu'une mutation en E98 et E124 diminue la capacité de liaison de la protéine à la MBL, une modification des résidus Y74 ou Y121 abolit totalement cette liaison à la MBL.

Le gène *MASP1* codant pour les protéines MASP1, MASP3 et Map44, un polymorphisme peut entraîner une variation de concentration des trois protéines. Ainsi, le

polymorphisme rs190590338, situé sur le promoteur, entraîne une augmentation des concentrations de MASP1 et Map44 alors qu'il est associé à une diminution des taux de MASP3 (Ammitzbøll et al. 2013). Certains polymorphismes, comme le rs113938200, situé en C-ter de la protéine Map44, entraînent uniquement une diminution de la protéine Map44.

Tous ces polymorphismes de MBL et des protéines MASP affectent le fonctionnement du complexe et peuvent être associés à plusieurs pathologies (Beltrame et al. 2015).

## 6) Pathologies associées au complexe MBL-MASP

### i. L'implication de la MBL dans la maladie de Crohn

Les données de la littérature établissent un lien chez l'Homme et l'animal entre la MBL et la MC. En effet, un déficit quantitatif en MBL, dû à une mutation sur le codon 52 est fréquemment retrouvé chez les patients atteints de MC, en comparaison à des sujets contrôles (Bak-Romaniszyn et al. 2011). De plus, les patients ayant un phénotype clinique sévère (selon les critères de classification de Montréal) ont plus souvent un déficit sévère en MBL que les patients ayant un phénotype clinique modéré (Schoepfer et al. 2009). Dans un modèle murin, les déficits en C1q et en MBL rendent les animaux plus sensibles à la colite chimio-induite (Schepp-Berglind et al. 2012). Dans une des rares études effectuées sur la MC, la MBL et *C. albicans*, il a été montré que chez les patients MC, les taux d'ASCA sont inversement corrélés aux taux sériques de MBL (Seibold et al., 2007).

### ii. Les pathologies infectieuses

De nombreuses études ont exploré l'impact d'un déficit en MBL ou en MASP sur les pathologies infectieuses. Alors qu'un déficit en MBL favorise, généralement, le développement des pathologies bactériennes, virales ou fongiques, les variations de MASP qui influencent les pathologies sont plus complexes et elles ne sont pas forcément corrélées aux variations de MBL.

Lorsque l'on s'intéresse aux infections bactériennes, les polymorphismes du gène *MBL2* menant à des taux faibles de MBL sont associés à une colonisation précoce à *Pseudomonas aeruginosa*, chez les patients atteints de fibrose. La même association est retrouvée avec un polymorphisme du gène *MASP1* (rs850312), codant pour la protéine MASP3 mais aucun polymorphisme de *MASP2* n'est associé (Haerynck et al. 2012). Lors des infections à *Mycobacterium leprae*, les haplotypes du gène *MASP2* associant les deux polymorphismes P126L et P439H augmentent la susceptibilité aux infections (Boldt et al. 2013). Les souris déficientes en *MASP2* sont plus sensibles aux infections à *Streptococcus pneumoniae*. Cette sensibilité dépend des ficolines et non de la MBL (Ali et al. 2012). Les infections récurrentes à pneumocoque sont également associées au polymorphisme p.D120G du gène *MASP2* (Stengaard-Pedersen et al. 2003).

Les variations de MBL et de MASP influencent aussi le développement de plusieurs pathologies virales. Le polymorphisme PY371D (rs12711521) du gène *MASP2* augmente les taux de la protéine et entraîne une diminution des taux de MAP19. Ce SNP facilite l'infection au HTLV1 (human T lymphotropic virus 1) (Coelho et al. 2013). Plusieurs études ont également montré l'implication du complexe MBL-MASP dans l'infection au virus de l'hépatite C (VHC). La MBL reconnaît les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 du VHC, limitant l'infection des hépatocytes (Brown et al. 2010). Un déficit en MBL est prédictif d'une mauvaise réponse à la thérapie par interféron (Alves Pedroso et al. 2008). Par contre, alors que la MBL limite l'infection, les résultats observés sur la protéine MASP1 suggèrent un effet contraire de cette protéine. En effet, l'augmentation d'activité du complexe MBL-MASP1 dans les fibroses sévères et le fait que la protéine MASP1 recombinante favorise le développement des cellules périsinusoïdales, cellules impliquées dans la fibrose, suggèrent un rôle délétère de la protéine MASP1 au cours de l'infection (Brown et al. 2007, Saeed et al. 2013). Une mutation du gène *MASP2* (PY371D) serait également impliquée dans les infections à HCV mais sans effet sur la progression de la fibrose et sur la réponse à l'interféron (Tulio et al. 2011).

La mutation PY371D qui augmente les taux de MASP2 est retrouvée plus fréquemment dans les formes symptomatiques de la maladie de Chagas, et notamment le risque de cardiomyopathie (Boldt et al. 2011). La MBL peut lyser ce micro-organisme mais un modèle murin a montré que l'absence d'activation de la voie lectinique du complément par MASP2 n'augmentait pas la susceptibilité à l'infection (Ribeiro et al. 2015). La voie lectinique du complément jouerait donc un rôle mineur dans la défense contre *Trypanosoma cruzi*, mais une surproduction de MASP2 serait prédictive de l'évolution de la maladie.

Les souris déficiente en MBL-A infectée par *Aspergillus fumigatus* ont une capacité pulmonaire diminuée par rapport aux souris contrôles, avec une diminution des lymphocytes Th2 et une augmentation de la production d'IFN $\gamma$  (Hogaboam et al. 2004). De plus, l'injection IV de MBL à des souris immunodéprimées avec améliore la survie de ces souris lors d'aspergillose pulmonaire invasive (Kaur et al. 2007).

### La MBL et *C. albicans*

La MBL agit dans les phases précoces de défense contre les infections à *C. albicans* en empêchant sa croissance (Ip and Lau 2004). Elle reconnaît les deux formes de *C. albicans* (blastocladie et hyphes) mais uniquement à 37°C (Lillegard et al. 2006). Grâce à des études de SPR (Surface Plasmon Resonance), notre laboratoire a montré que cette reconnaissance se fait par le mannane de la paroi (Damiens et al. 2013). La MBL est également capable de reconnaître les résidus mannosidiques exprimés à la surface de la levure et d'activer sa phagocytose directement par les neutrophiles sans activer le complément (Li et al. 2012).

Précédemment, nous avons décrit les polymorphismes génétiques qui peuvent entraîner une perte d'activité fonctionnelle ou un déficit en MBL. Les taux en MBL sont considérés faibles lorsqu'ils sont inférieurs à 1000 ng/mL et on admet un déficit lorsqu'ils sont inférieurs à 500 ng/mL (Heitzeneder et al. 2012).

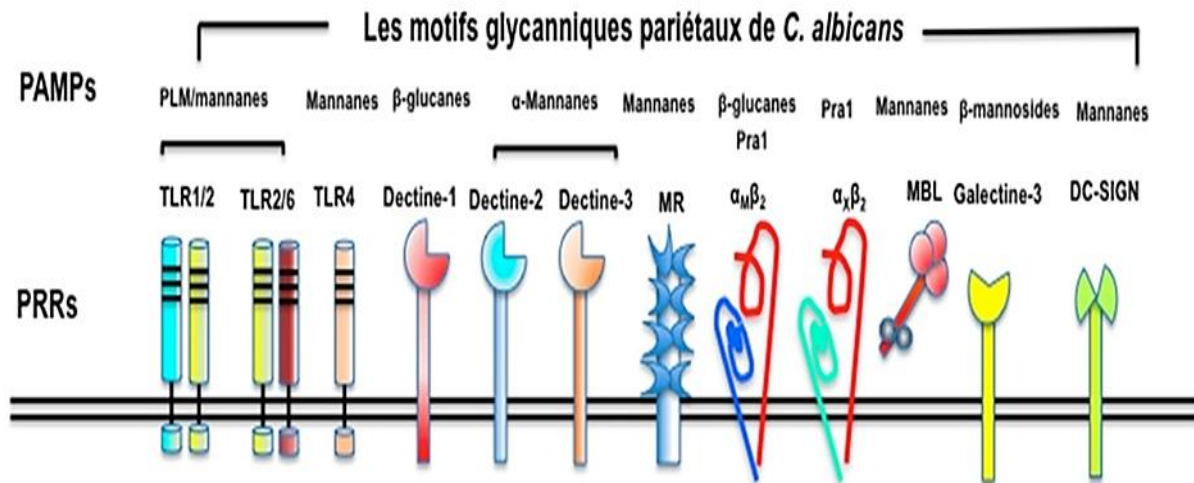
Les patients atteints de candidoses invasives présentent des taux significativement plus élevés de MBL circulante que les sujets sains. Ces taux sont inversement corrélés aux taux de mannane circulant (Damiens et al. 2012). A l'inverse, au niveau des candidoses vaginales, les formes récurrentes sont associées au polymorphisme du gène *MBL2* sur le codon 54 et à une diminution des taux de MBL au niveau vaginal (Donders et al. 2008). De plus, un déficit en MBL favorise les infections abdominales à levure chez les patients atteints d'une péritonite (van Till et al. 2008).

Chez la souris, il a été montré qu'un déficit en MBL-A et MBL-C favorise également la dissémination de *C. albicans* dans un modèle d'infection systémique (Ader et al. 2011, Müller et al. 2010). Par contre, un déficit en MBL-A altère nullement la résistance des souris envers les candidoses disséminées (Takahashi et al. 2002).

Ces données de la littérature suggèrent l'impact important de la MBL sur la survenue des candidoses invasives. Cependant aucune étude n'a été menée pour déterminer le rôle de la MBL dans la colonisation des muqueuses digestives par *C. albicans*. Cela nous semble important de répondre à cette question puisque le tube digestif constitue le principal réservoir de *C. albicans* avant sa dissémination hématogène (Gow et al. 2012).

### Les autres récepteurs de type lectinique et *C. albicans*

En plus des TLR et de la MBL, d'autres récepteurs lectiniques membranaires sont impliqués dans la reconnaissance de *C. albicans* (Fig. 10).



**Figure 10:** Les récepteurs impliqués dans l'interaction entre *C. albicans*, ses glycannes et les cellules de l'hôte, adapté de Poulain *et al.* (Poulain and Jouault 2004).

Le principal récepteur membranaire lectinique impliqué dans la reconnaissance des β1,3 et β1,6 glucanes de la paroi de *C. albicans* est le récepteur Dectine-1 (Brown 2006). La reconnaissance de *C. albicans* par Dectine-1 active plusieurs voies de signalisation, menant à une réaction inflammatoire. Au niveau des cellules dendritiques, Dectine-1 active les protéines Syk et Raf-1 qui activent la voie NFκB (Gringhuis et al. 2009). Il peut également passer par CARD9 (Caspase activation and recruitment domain-containing 9) et ainsi induire une réponse adaptative Th17 avec production d'IL-6, d'IL-1β et d'IL-23 (Gross et al. 2006, Bishu et al. 2014). Ce récepteur est essentiel aux ligands PPARγ pour contrôler l'infection fongique gastro-intestinale. Une activation des récepteurs PPARγ (peroxysome proliferator-activated receptor) par l'IL-13 ou des PPARγ ligands réduit la colonisation du tube gastro-intestinal des souris par

*C. albicans* (Coste et al. 2008). Enfin, des études chez la souris ont montré une amplification de la production de TNF $\alpha$  par les récepteurs TLR2 et TLR4 lorsque Dectine-1 est activé (Ferwerda et al. 2008). Dectine-1 régule aussi la libération des NET (Neutrophil Extracellular Traps) par les neutrophiles lorsque ceux-ci reconnaissent les hyphes de *C. albicans* (Branzk et al. 2014).

De nombreux autres récepteurs lectiniques reconnaissent les mannanes et les mannoprotéines de la paroi de *C. albicans*. Le récepteur Dectine-2, exprimé par les cellules dendritiques, les macrophages et les neutrophiles, interagit avec le récepteur Fc $\gamma$ R pour reconnaître les résidus  $\alpha$  du mannane (Sato et al. 2006). Le blocage de Dectine-2 empêche la production d'IL-17 par les cellules T lors d'une infection à *C. albicans* chez la souris (Robinson et al. 2009). Il peut également former un hétérodimère avec la Dectine-3 pour induire une réponse pro-inflammatoire avec l'IL-6, le TNF $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  (Saijo et al. 2010).

Les récepteurs DC-SIGN et Macrophages mannose receptor (MMR) sont également capables de se lier aux mannanes à la surface de *C. albicans*. La reconnaissance des fractions N-glycosylées du mannanes par DC-SIGN entraîne la production d'IL-6 par les cellules dendritiques (Cambi et al. 2008). Le MMR induit une réponse IL-17 (van de Veerdonk et al. 2009).

Le récepteur Galectine-3 reconnaît les  $\beta$ -1,2 mannosides et interagit avec TLR2 pour reconnaître et induire la phagocytose de *C. albicans* (Jouault et al. 2006). Un déficit en Galectine-3 chez la souris inhibe la réponse de TLR2 et la production de TNF- $\alpha$  lors d'une colonisation par *C. albicans* (Jawhara et al. 2008).

Le récepteur lectinique MINCLE, exprimé par les macrophages, est également impliqué dans la reconnaissance des résidus  $\alpha$  mannosylés du mannane de *C. albicans* (Wells et al. 2008).



# Objectifs

Notre équipe étudie le lien entre les récepteurs de l'immunité innée, *Candida albicans* et la MC depuis plusieurs années. Dès le début des années 90, notre laboratoire fut le premier à démontrer l'existence d'anticorps anti-mannosides de levures (ASCA) au cours de la MC ainsi que la capacité de *Candida albicans*, une levure commensale du tube digestif, à générer les ASCA et deux familles d'anticorps anti-glycannes de levures (ALCA, ACCA) (Standaert-Vitse et al. 2006). Ces travaux ont montré que les patients atteints de MC et leurs parents sains du premier degré étaient plus fréquemment et plus intensément colonisés par *C. albicans* que les sujets contrôles (Standaert-Vitse et al. 2009). Plus récemment, une étude expérimentale sur un modèle murin de colite chimio-induite, a montré que la colonisation par des levures était favorisée par l'inflammation intestinale et réciproquement, la colonisation fongique exacerbait l'inflammation intestinale (Jawhara et al. 2008). Ces données ont été confirmées par une étude montrant que la flore fongique est capable d'influencer une colite par interaction avec les récepteurs reconnaissant les pathogènes comme le récepteur Dectine-1 (Iliev et al. 2012). Le récepteur Dectine-1 active la réponse Th17 par l'intermédiaire de CARD9 après reconnaissance de *C. albicans* (Bishu et al. 2014).

Les récepteurs TLR interagissent également avec la flore fongique et sont susceptibles de moduler la réponse inflammatoire. Il a été mis en évidence que le récepteur TLR2, exprimé par les macrophages, coopère avec le récepteur galectine-3 pour reconnaître *C. albicans* (Jouault et al. 2006). Ce récepteur est également impliqué dans le maintien de la barrière intestinale, la régulation de l'inflammation intestinale et un polymorphisme du gène *TLR2* est associé à des pancolites (Cario et al. 2004, Pierik et al. 2006, Cario 2010). Cependant aucune étude n'a été réalisée sur l'influence du récepteur TLR2 et de ses hétérodimères TLR2/TLR1 et TLR2/TLR6 sur la colonisation par *C. albicans* lors d'une inflammation intestinale.

Notre équipe s'est intéressée, en parallèle, à un autre récepteur de l'immunité innée, la Mannose binding-lectine ou MBL. Ce récepteur lectinique est capable de reconnaître différentes espèces de *Candida*, dont *C. albicans* (Damiens et al. 2013). Des variations des taux de MBL ont été décrites au cours de la MC et sont inversement corrélés aux taux d'ASCA (Seibold et al. 2007, Bak-Romaniszyn et al. 2011). Il est donc possible que la colonisation par *C. albicans* chez les patients atteints de MC entraîne une aggravation de la maladie et que le déficit en MBL soit en lien direct avec la colonisation par *C. albicans* et l'exacerbation de l'inflammation.

La première partie de ce projet de thèse consiste donc à étudier le rôle des récepteurs TLR et de la MBL dans le développement d'une colonisation par *C. albicans* et sur l'inflammation intestinale. Pour cela, nous avons travaillé sur des modèles murins déficients en TLR1, TLR2, TLR6 ou MBL.

Dans un deuxième temps, notre équipe avait émis l'hypothèse que les patients atteints de candidose invasive (CI) pourraient être déficitaires en MBL. Or les observations ultérieures ont montré que les patients atteints de CI ont des taux de MBL sérique significativement plus élevés que ceux des patients hospitalisés (colonisés mais sans preuve formelle de CI) ou des sujets sains (Damiens et al. 2012). Cependant, en dépit du taux élevé de MBL sérique, les patients ont présenté des épisodes candidémiques pendant plusieurs semaines. Cela suggère un déficit fonctionnel du complexe MBL-MASP. Les analyses des taux de MBL dans les cohortes de patients ont montré que les patients MC étaient plus fréquemment déficitaires en MBL que les sujets sains (Bak-Romaniszyn et al. 2011). Cependant, aucune analyse de l'activité fonctionnelle du complexe MBL-MASP n'a été réalisée. Or il se pourrait qu'un déficit qualitatif en MBL influence la réponse inflammatoire et le phénomène de dysbiose observés chez les patients MC. Nous avons donc étudié l'influence des polymorphismes génétiques sur les variations quantitatives et qualitatives du complexe MBL-MASP dans une cohorte de patients atteints de MC ainsi que le lien éventuel avec un phénotype clinique de sévérité.

La présentation des trois publications issues de ce travail de thèse sera suivie d'un chapitre de synthèse et discussion des résultats.

# Travaux personnels

# Article 1

## **Le rôle de TLR1, TLR2 et TLR6 dans la modulation de la défense immunitaire murine contre la colonisation par *C. albicans* et l'inflammation intestinale**

Laura Choteau, Hélène Vancraeyneste, Didier Le Roy, Laurent Dubuquoy, Francis Vasseur, Luiginia Romani, Thierry Jouault, Daniel Poulain, Boualem Sendid, Thierry Calandra, Thierry Roger, Samir Jawhara

Les TLR sont les récepteurs PRR majoritairement impliqués dans la reconnaissance des pathogènes. Alors que le rôle protecteur de TLR4 a été établi dans le développement des candidémies, le rôle de TLR2 est moins clair (Netea et al. 2002, Van der Graaf et al. 2006). Le récepteur TLR2 forme des hétérodimères avec les récepteurs TLR1 et TLR6, ce qui lui permet de reconnaître différents ligands (Takeuchi et al. 2002). Le récepteur TLR2 possède un double rôle dans la défense contre *C. albicans*, avec d'un côté l'induction de la réponse Th1 pour contrer l'infection et d'un autre côté le développement d'une réponse anti-inflammatoire qui favorise la dissémination de *C. albicans* (Netea et al. 2004b, Murciano et al. 2007). Les récepteurs TLR1, TLR2 et TLR6 sont également impliqués dans le développement des inflammations chroniques de l'intestin (Pierik et al. 2006).

Sachant qu'une colite inflammatoire favorise le développement d'une colonisation à *C. albicans*, il nous a paru intéressant d'étudier l'influence des déficits en TLR1, TLR6 et TLR2 sur la colonisation à *C. albicans* dans un contexte d'inflammation intestinale afin d'éclaircir le rôle de TLR2 sur *C. albicans* et l'inflammation intestinale.

Pour cela, nous avons utilisé trois modèles de souris déficientes en TLR1, TLR2 ou TLR6 (TLR<sup>-/-</sup>). Chaque groupe de souris a reçu un inoculum de *C. albicans* à J0 et 1.5% de DSS a été ajouté à l'eau de boisson pour induire une colite chimio-induite. Le traitement par DSS associé à une colonisation par *C. albicans* a induit une atteinte clinique et histologique plus importante chez les souris déficientes en TLR1 et TLR2 par rapport aux souris TLR6<sup>-/-</sup> et aux souris sauvages. La colonisation par *C. albicans* est significativement diminuée chez les souris TLR6<sup>-/-</sup> par rapport aux autres groupes. Les souris TLR1<sup>-/-</sup> et TLR2<sup>-/-</sup> présentent une mannanémie et une perméabilité intestinale accrue, associées à une réponse inflammatoire Th1 et Th17. Le déficit en TLR6 diminue l'expression d'IL-1β, sans perturber les autres cytokines pro-inflammatoires.

Contrairement au récepteur TLR6, les déficits TLR1 et TLR2 augmentent l'inflammation intestinale et la colonisation par *C. albicans* dans notre modèle de colite murine chimio-induite. Cela suggère l'implication des récepteurs TLR1 et TLR2 dans la régulation de l'homéostasie intestinale et le rôle du récepteur TLR6 dans l'exacerbation de la réponse inflammatoire liée à la reconnaissance de *C. albicans*.

*Nous avons poursuivi notre étude sur l'implication des récepteurs PRR dans la colonisation par C. albicans et l'inflammation intestinale en utilisant un modèle murin dépourvu des gènes MBL-A et MBL-C, codant pour les deux formes de MBL murines.*

## Article 2

### **Le rôle de la MBL dans l'homéostasie intestinale et l'élimination des pathogènes fongiques**

L. Choteau, M. Parny, N. François, B. Bertin, M. Fumery, L. Dubuquoy, K. Takahashi, J.-F. Colombel, T. Jouault, D. Poulain, B. Sendid, S. Jawhara

Notre laboratoire s'intéresse depuis quelques années à une lectine du système immunitaire, la MBL et à son rôle dans la reconnaissance de *C. albicans*. Il a été montré que la MBL est capable de reconnaître les mannanes à la surface de *C. albicans* et que les taux de MBL sont très élevés chez les patients atteints de candidoses invasives (Damiens et al. 2013, Damiens et al. 2012). Ces résultats suggèrent une variation de l'expression de la MBL sérique, en présence de *C. albicans*. Cependant, aucune étude n'a regardé le rôle de la MBL au niveau intestinal pour contenir la colonisation par *C. albicans*. De plus, il semblerait que la MBL soit liée à la MC puisqu'un déficit quantitatif en MBL est fréquemment retrouvé chez les patients atteints de MC, en comparaison à des sujets sains (Bak-Romaniszyn et al. 2011). Un déficit en MBL est aussi associé aux phénotypes sévères de la MC (Schoepfer et al. 2009). Or, nous ne savons pas comment la MBL pourrait influencer la réponse inflammatoire chez ces patients.

Nous nous sommes donc posé la question de savoir si la colonisation gastro-intestinale par *C. albicans* est modulée par la MBL et si cette modulation avait un impact sur l'inflammation intestinale dans la MC. Pour répondre à ces questions, nous avons exploré dans un modèle murin, l'expression de la MBL au niveau du tractus gastro-intestinal et nous avons étudié son impact sur la modulation de l'inflammation intestinale et l'élimination de *C. albicans*, à l'aide d'un modèle murin dépourvu de MBL-A et de MBL-C.

L'expression des deux formes de MBL (A et C) présentes chez la souris a été mise en évidence dans les cellules épithéliales de l'estomac, du caecum et du côlon des souris C57BL/6. Cette expression est augmentée lorsque les souris sont colonisées par *C. albicans* alors que les taux sériques ne varient pas. En absence d'inflammation, la colonisation par *C. albicans* est plus importante dans le tube digestif des souris MBL-KO par rapport aux souris C57BL/6, bien que les scores cliniques et histologiques ne diffèrent pas. L'inflammation induite par DSS, exacerbe cette colonisation et elle entraîne une dissémination de *C. albicans* dans les reins et les poumons des souris MBL-KO. Le déficit en MBL est également associé à une diminution des cytokines Il-1 $\beta$  et IL-6 et à une augmentation de la réponse Th17.

Nous mettons pour la première fois, en évidence la production de MBL par les cellules épithéliales intestinales. Cette MBL intestinale semble primordiale pour limiter le développement intestinal de *C. albicans* et pour réguler l'homéostasie intestinale.



*Afin de continuer à explorer le lien entre la MBL et l'inflammation intestinale, nous avons décidé d'étudier l'influence des polymorphismes sur les modifications qualitatives et quantitatives de MBL dans une cohorte de patients atteints de MC ainsi que l'impact de ces variations sur le développement de la maladie.*

## Article 3

### **Les polymorphismes génétiques du gène *MBL2* sont associés à un défaut d'activité de la MBL chez les patients atteints de MC**

Laura Choteau, Francis Vasseur, Frédéric Leprêtre, Martin Figeac, Corinne Gower-Rousseau, Laurent Dubuquoy, Daniel Poulain, Jean-Frédéric Colombel, Boualem Sendid, Samir Jawhara

La MBL est un récepteur lectinique majeur dans la défense de l'hôte contre les pathogènes, qui circule en complexe avec des sérines protéases, les protéines MASP. Le complexe est impliqué dans l'activation de la voie lectinique du complément, dans l'opsonisation des micro-organismes et dans la coagulation (Krarup et al. 2007, Takahashi et al. 2011). Récemment, nous avons montré que la MBL peut être produite par les cellules épithéliales intestinales et qu'elle joue un rôle dans l'homéostasie intestinale (Choteau et al. 2015). Actuellement, une étude, menée sur la MBL dans la MC, a mis en évidence une fréquence plus élevée des taux de MBL inférieur à 150ng/mL, à cause du SNP rs5030737, chez les patients pédiatriques par rapport aux sujets sains (Bak-Romaniszyn et al. 2011). De plus, les patients ayant un phénotype clinique sévère (sténosant ou pénétrant) seraient plus souvent déficitaires en MBL que les patients ayant un phénotype clinique modéré (Schoepfer et al. 2009). Enfin, les patients, séropositifs pour ASCA, présenteraient des taux faibles voir déficitaires en MBL (Seibold et al. 2007).

L'objectif de cette étude était donc d'étudier l'influence des polymorphismes génétiques sur les variations quantitatives et qualitatives de la MBL dans une cohorte de patients atteints de la maladie de Crohn et de déterminer leurs influences sur la sévérité de la maladie.

Le séquençage du gène *MBL2* a montré une association du SNP rs5030737 avec des taux élevés d'ASCA ( $p > 0.01$ ) et une diminution de l'activité du complexe MBL-MASP ( $p < 0.05$ ) chez les patients MC qui auraient tendance à développer les formes sténosantes et pénétrantes de la maladie. Cette diminution d'activité est également observée chez les patients porteurs de la mutation rs2066844 sur le gène *NOD2*, polymorphisme fortement associé à la MC.

Il apparait, dans cette étude, que l'activité du complexe MBL-MASP est modulée chez les patients atteints de MC en fonction des polymorphismes présents sur les gènes *MBL2* et *NOD2*. Le polymorphisme rs5030737 du gène *MBL2* prédisposerait aux formes sévères de la maladie.

# Discussion

Les MICI sont caractérisées par une dérégulation du système immunitaire et une dysbiose de la flore intestinale avec une augmentation de certains pathogènes dont *C. albicans* (Baumgart and Sandborn 2012). Une colonisation par *C. albicans* est effectivement retrouvée plus fréquemment chez les patients atteints de MC que chez les sujets sains (Standaert-Vitse et al. 2009). De plus, une colite chimio-induite favorise la colonisation par *C. albicans* et inversement, *C. albicans* entretient la réponse inflammatoire par l'intermédiaire des récepteurs de l'immunité innée (Jawhara et al. 2008).

Le but de notre travail était de comprendre les facteurs favorisant la colonisation par *C. albicans* durant l'inflammation intestinale chez l'hôte, y compris les interactions entre les glycanes pariétaux et les récepteurs de l'immunité innée tels que les TLR et la MBL. Nous souhaitons ainsi explorer le rôle de ces récepteurs dans la défense contre la colonisation par *C. albicans* et dans la modulation de l'inflammation intestinale.

Les études réalisées au laboratoire ont révélé que le phospholipomannane (PLM) présent sur la paroi de *C. albicans* induit, via TLR2, la stimulation des macrophages (Jouault et al. 2003). De plus, les études expérimentales *in vivo* réalisées avec des levures vivantes administrées par gavage aux souris montrent qu'une stimulation induite par *C. albicans* nécessite l'association entre TLR2 et la galectine-3 (Jouault et al. 2006, Jawhara et al. 2008). TLR2 forme un hétérodimère avec TLR1 ou TLR6, ce qui augmente sa capacité de discrimination (Takeda et al. 2002). En effet, les TLR2/TLR1 reconnaissent les lipopeptides triacylés présents dans la paroi des bactéries Gram-positifs alors que les TLR2/TLR6 reconnaissent les lipopeptides diacylés (Takeuchi et al. 2002). Dans un modèle expérimental de colite chimio-induite, les souris déficientes en TLR2 ont développé une inflammation intestinale plus sévère que les souris témoins (Albert et al. 2011). De plus, les mutations des gènes de TLR, y compris le gène *TLR2*, ont été associées à la prédisposition et au maintien des MICI (Henckaerts et al. 2007, Netea et al. 2004a, Ey et al. 2013).

Notre contribution visait à déterminer la susceptibilité génétique liée à la mutation de récepteurs TLR (TLR1, TLR2 et TLR6) chez la souris colonisée par *C. albicans* et ayant développé une colite chimio-induite. Dans cette étude, nous avons utilisé un modèle expérimental de colite induite par DSS, précédemment développé au laboratoire (Jawhara et al. 2008). Ce modèle consiste à établir une colonisation intestinale par *C. albicans*, promue par une

inflammation intestinale induite par du dextran sulfate de sodium (DSS), qui mime parfaitement la rectocolite hémorragique chez l'Homme. Nous avons observé que *C. albicans* ne colonise pas spontanément les souris déficientes en TLR, en absence de traitement par DSS. En revanche, la perte de la masse corporelle et la présence de sang dans les selles ont été observées chez toutes les souris déficientes en TLR et traitées par DSS. Les souris TLR1<sup>-/-</sup> et TLR2<sup>-/-</sup> sont plus sensibles à une colite chimio-induite que les souris TLR6<sup>-/-</sup> et les souris sauvages. Les souris TLR6<sup>-/-</sup> répondent au traitement par DSS de la même manière que les souris sauvages. Il avait déjà été montré que les souris déficientes en TLR2 étaient plus sensibles aux colites induites par DSS que les souris contrôles (Rakoff-Nahoum et al. 2004). Il semblerait donc que ce soit plutôt l'hétérodimère TLR2/TLR1 qui soit impliqué dans le contrôle de la réponse inflammatoire. A l'inverse, des souris déficientes en TLR6<sup>-/-</sup> sont protégées de l'inflammation intestinale et leur taux de cellules Th17 est diminué (Morgan et al. 2014). Cela confirme les données selon lesquelles *C. albicans* aggrave l'inflammation intestinale et module l'expression du TLR2 (Jawhara et al. 2008). De plus, la perméabilité intestinale et la mannanémie sont augmentées chez les souris déficientes en TLR1 ou en TLR2, alors qu'aucune dissémination de *C. albicans* n'a été retrouvée dans les reins, les poumons ou le foie des souris. Au niveau intestinal, l'expression des cytokines pro-inflammatoires TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL-17 sont favorisées par un déficit en TLR1 ou TLR2 en présence de *C. albicans* alors qu'un déficit en TLR6 inhibe l'expression de TNF $\alpha$  et IL-1 $\beta$  sans modifier l'expression d'IL-17. Dans cette étude, nous avons donc montré qu'au niveau intestinal, le rôle protecteur de TLR2 est plutôt médié par son hétérodimère TLR2/TLR1 puisque TLR1 limite la colonisation par *C. albicans* et l'inflammation intestinale alors que le récepteur TLR6 semble jouer un rôle dans la modulation de la réponse inflammatoire en exacerbant l'inflammation intestinale.

Parallèlement aux études expérimentales menées sur les récepteurs TLR, nous nous sommes intéressés à déterminer le rôle de la MBL dans la modulation de la réponse inflammatoire et l'élimination fongique. La MBL est une collectine sérique produite par le foie (Seyfarth et al. 2006). Elle joue un rôle essentiel dans la défense de l'hôte contre les pathogènes, y compris *C. albicans* (van Asbeck et al. 2008). Cependant, son rôle dans l'homéostasie intestinale et la défense contre la colonisation par *C. albicans* reste à définir.

L'un des premiers objectifs de cette étude était de déterminer si, en plus de la production hépatique, la MBL était également produite par les cellules épithéliales du tube digestif en réponse à une colonisation par *C. albicans*. Sur le plan expérimental, nous avons dans un premier temps recherché l'expression de la MBL dans le tube digestif des souris à la suite d'une colonisation par *C. albicans*. En effet, l'expression de l'ARNm et la synthèse des protéines des

deux formes de MBL ont été détectées au niveau du tube digestif des souris saines et des souris colonisées par *C. albicans*. Par ailleurs, nous avons constaté que cette lectine est libérée dans la lumière intestinale. En effet, nous avons pu détecter la libération de la MBL dans le surnageant du milieu de culture *ex-vivo*, dans lequel le côlon des souris était traité par l'agoniste de PPAR $\gamma$ . Il semblerait que PPAR $\gamma$  soit impliqué dans l'expression des gènes codant pour la MBL. Coste *et al.* ont montré que le traitement des macrophages par les agonistes des PPAR $\gamma$  induit l'expression du récepteur mannose et conduit à l'activation des fonctions effectrices anti-*C. albicans* (Coste et al. 2008, Coste et al. 2003).

Ensuite, nous avons mis en évidence le rôle de la MBL intestinale dans la défense contre la colonisation fongique. Dans un modèle expérimental de colite chimio-induite, l'induction de l'inflammation intestinale favorise aussi bien la colonisation digestive que la dissémination de *C. albicans* dans les reins et les poumons des souris MBL-KO. Un dosage des marqueurs cytokiniques nous a permis d'observer une augmentation de l'IL-17 au détriment de l'IL-1 $\beta$  et de l'IL-6, en absence de MBL. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus chez les monocytes dont l'expression d'IL-1 $\beta$  et d'IL-6 est régulée par la MBL (Sprong et al. 2004, Jack et al. 2001). Comme pour le récepteur TLR6, la MBL pourrait donc être impliquée dans la promotion des cytokines IL-1 $\beta$  et IL-6 lors de l'inflammation intestinale et lors de la colonisation par *C. albicans*, pouvant ainsi exacerber l'inflammation associée à la MC.

Parallèlement, l'expression des cytokines IL-17 et IL-23 est significativement augmentée dans le côlon des souris déficientes en MBL, traitées par DSS en comparaison aux souris contrôles. Ces résultats suggèrent que la MBL prévient une réponse inflammatoire excessive en inhibant la réponse des lymphocytes Th17. Cette activité est similaire à celle observée avec les récepteurs TLR1 et TLR2. Dans plusieurs études expérimentales, l'augmentation de l'expression des cytokines IL-17 et IL-23 est essentielle au développement d'une inflammation chronique de la muqueuse (Gálvez 2014). Cette augmentation favorise la réponse inflammatoire lymphocytaire intraépithéliale et la cytotoxicité (Siakavellas and Bamias 2012). Un déficit en MBL, TLR1 ou TLR2 pourrait donc favoriser la réponse Th17 et entretenir l'inflammation chronique intestinale.

Un déficit en MBL est également associé à une augmentation du récepteur Dectine-1 au niveau du côlon par rapport à celui des souris contrôles. Il a été rapporté que l'activation de Dectine-1 induit une production d'IL-17 et d'IL-23 par les cellules dendritiques (Osorio et al. 2008). L'augmentation d'IL-17 et d'IL-23 observée lors d'un déficit en MBL serait probablement en lien avec une surexpression du récepteur Dectine-1. De plus, l'induction d'une colonisation par *C. albicans* chez ces souris traitées au DSS induit une augmentation du récepteur TLR2

chez les souris MBL-KO. Ces résultats suggèrent donc qu'un déficit en MBL peut être compensé par une surexpression de TLR2 lors d'une interaction *C. albicans*-hôte. Cela confirme le rôle protecteur de TLR2, médié par son hétérodimère TLR2/TLR1 pour limiter la colonisation par *C. albicans* et l'inflammation intestinale. Il serait intéressant d'étudier l'interaction entre l'hétérodimère TLR2/TLR1 et la MBL et leur effet commun sur *C. albicans* et l'inflammation intestinale.

Les premières conclusions énoncées dans ce travail sont fondées sur l'interprétation des résultats obtenus chez la souris. Leur pertinence clinique méritait cependant d'être vérifiée sur des échantillons humains afin de préciser le rôle de la MBL dans le maintien/déclenchement de l'inflammation associée à la MC. Contrairement aux travaux de Muller *et al.* (Müller et al. 2010), une étude pilote menée au sein de l'unité et utilisant une lignée issue des cellules colorectales humaines (la lignée Caco-2) avait mis en évidence l'expression de l'ARNm de *MBL2* après stimulation par différents agonistes de PPAR $\gamma$ . L'utilisation de biopsies de côlon provenant du bloc opératoire de chirurgie digestive a permis de montrer que les cellules épithéliales coliques produisent la MBL humaine et que cette production est médiée par PPAR $\gamma$  et influencée par *C. albicans*. Cela confirme les résultats obtenus dans le modèle murin.

Ces études expérimentales nous amènent à étudier davantage le rôle de la MBL chez l'Homme et de mettre en évidence les variations quantitatives et qualitatives de MBL dans une cohorte de patients atteints de MC. Il s'agit d'une cohorte de 225 patients atteints de MC et pour lesquels nous disposons des critères démographiques, de l'âge de diagnostic, et du phénotype clinique de la maladie selon les critères de classification de Montréal. Dans cette étude, nous avons déterminé l'influence des polymorphismes génétiques de la MBL sur les variations des taux sériques ainsi que sur l'activité fonctionnelle du complexe MBL-MASP chez les patients atteints de MC. Il a été montré que les polymorphismes du gène *MBL2* modifient principalement la structure collagénique de la MBL et son oligomérisation (Minchinton et al. 2002). L'analyse des taux de MBL n'a pas mis en évidence de différence significative entre les patients atteints de MC et les sujets sains. De plus, les taux ne varient pas en fonction du phénotype de la maladie. Ces résultats sont cohérents avec des études menées sur une plus grande cohorte de patients et qui confirment l'absence de variation des taux de MBL lors de la MC (Nielsen et al. 2007, Hoffmann et al. 2010).

En ce qui concerne l'activité du complexe MBL-MASP, celle-ci n'a jamais été évaluée chez les patients atteints de MC. Le test de l'activité fonctionnelle du complexe était basé sur la capacité de la MBL à reconnaître les mannanes de levure et sur l'activité thrombine-like de la

protéine MASP1 (Brown et al. 2007). Dans cette étude clinique, nous observons une corrélation entre la concentration en MBL et l'activité du complexe MBL-MASP chez les patients et les sujets sains. Cependant, nous constatons un défaut d'activité du complexe MBL-MASP chez les patients atteints de MC dont les taux de MBL sont inférieurs à 500 ng/mL. Par conséquent, le déficit qualitatif est lié à la concentration en MBL inférieure à 500 ng/mL. Ce test permet donc d'évaluer la fonction du complexe MBL-MASP. Afin de déterminer si l'absence d'activité du complexe MBL-MASP est liée à une MBL défectueuse ou à un défaut de formation du complexe, nous avons séquencé le gène *MBL2*

Nous constatons dans les analyses des polymorphismes génétiques que le polymorphisme du gène *MBL2* rs5030737 (mutation du codon 52) est associé à un déficit quantitatif et qualitatif en MBL ainsi qu'à des taux élevés d'ASCA. Ces résultats confirment une autre étude qui a mis en évidence une corrélation négative entre les taux d'ASCA et les taux sériques de MBL (Seibold et al. 2007). Le déficit qualitatif et quantitatif en MBL favoriserait le développement des phénotypes cliniques sévères de la MC.

En parallèle, des analyses qualitatives et quantitatives en MBL, nous avons effectué le génotypage du gène *NOD2*, un gène impliqué dans la maladie de Crohn (Franke et al. 2010). Les récepteurs MBL et *NOD2* font partie du système de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) et interviennent dans les mécanismes de défense de l'immunité innée contre l'infection microbienne (Jaeger et al. 2015). Le séquençage du gène *NOD2* a révélé une diminution de l'activité du complexe MBL-MASP lorsque les patients sont porteurs du polymorphisme rs2066844. Les études cliniques révèlent que ce polymorphisme rs2066844 est associé à une augmentation des taux d'ASCA ainsi qu'aux phénotypes B2 ou B3 (Schoepfer et al. 2009). Dans notre cohorte, les patients atteints de MC, porteurs de ce polymorphisme, ne présentent pas de taux d'ASCA plus élevés que les autres patients et le phénotype B1 est plus fréquemment retrouvé (73.3% des patients).

Nous analysons actuellement, l'interaction entre la MBL et le récepteur *NOD2* afin d'essayer de comprendre comment un défaut du récepteur *NOD2* pourrait influencer l'activité du complexe MBL-MASP. De plus, l'étude des variations qualitatives et quantitatives de la MBL a été réalisée sur la MBL sérique des patients. Il serait intéressant d'étudier les variations de la MBL dans de biopsies de côlon provenant du bloc opératoire de chirurgie digestive, touchées par la MC. En effet, il est possible que les expressions de MBL sérique et de MBL digestive diffèrent, comme nous pouvons l'observer dans nos modèles murins. Auquel cas, il sera important d'évaluer l'implication de la MBL intestinale dans le développement de la MC.



Ainsi cette étude clinique menée sur des patients atteints de MC met en évidence que l'activité du complexe MBL-MASP est modulée chez les patients atteints de MC porteurs des polymorphismes de gènes *MBL2* et *NOD2*. Ce défaut du complexe affaiblit les mécanismes de défense de l'immunité innée contre l'infection microbienne chez ces patients et les prédisposerait aux formes sévères de la maladie.

Les perspectives envisagées consistent à évaluer la concentration en MBL et l'activité du complexe MBL-MASP et les corrélés avec le microbiote des patients atteints de MC. Cette étude nous permettra de mettre en évidence le lien entre la MBL et les modifications du microbiote lors d'un défaut du complexe MBL-MASP chez ces patients. Parallèlement, nous allons déterminer les taux de MBL sériques et fécaux chez les patients traités par les agonistes de PPAR $\gamma$  et les corrélés avec le microbiote de ces patients.

Afin d'étendre nos analyses à une autre maladie inflammatoire de l'intestin, nous analyserons le taux de la MBL et l'activité du complexe MBL-MASP chez les patients atteints de la maladie cœliaque. Cette maladie est liée à l'intolérance au gluten et pourrait avoir des points communs avec celle de la maladie de Crohn, particulièrement aux plans immunologiques et génétiques (Pascual et al. 2014). Plusieurs études cliniques ont montré que les patients atteints de la maladie cœliaque ont des taux faibles en MBL et inversement des taux élevés d'ASCA (Viitasalo et al. 2014, Boniotto et al. 2002) Il est donc possible que le complexe MBL-MASP ne soit pas fonctionnel chez ces patients.

Concernant le rôle de MBL dans l'élimination de *C. albicans*, nous envisageons d'analyser l'activité fonctionnelle du complexe MBL-MASP dans une cohorte des patients candidémiques. Damiens *et al.* ont montré récemment que les patients atteints de candidoses invasives (CI) ont des taux de MBL sérique significativement plus élevés que ceux des patients hospitalisés (colonisés mais non infectés) ou des sujets sains (Damiens et al. 2012). Ces résultats suggèrent un déficit qualitatif et non quantitatif de la MBL chez ces patients atteints de CI. Il est donc possible que la MBL et son complexe MBL/MASP ne soient pas fonctionnels.

Pour conclure, ce travail avec ses différentes parties expérimentales et cliniques nous amène à mettre en évidence le rôle des TLR et de la MBL dans le processus inflammatoire de l'intestin ainsi que leur implication dans la défense immunitaire contre *C. albicans* et permettra ainsi de développer des stratégies préventives contre l'inflammation intestinale et contre la colonisation/infection fongique.

# Bibliographie

- Ader, F., Jawhara, S., Nseir, S., Kipnis, E., Faure, K., Vuotto, F., Chemani, C., Sendid, B., Poulain, D. & Guery, B. (2011) Short term *Candida albicans* colonization reduces *Pseudomonas aeruginosa*-related lung injury and bacterial burden in a murine model. *Crit Care*, 15: R150.
- Adler, J., Rangwalla, S. C., Dwamena, B. A. & Higgins, P. D. (2011) The prognostic power of the NOD2 genotype for complicated Crohn's disease: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*, 106: 699-712.
- Aguin, T. J. & Sobel, J. D. (2015) Vulvovaginal candidiasis in pregnancy. *Curr Infect Dis Rep*, 17: 462.
- Albac, S., Schmitz, A., Lopez-Alayon, C., d'Enfert, C., Sautour, M., Ducreux, A., Labruère-Chazal, C., Laue, M., Holland, G., Bonnin, A. & Dalle, F. (2016) *Candida albicans* is able to use M cells as a portal of entry across the intestinal barrier in vitro. *Cell Microbiol*, 18: 195-210.
- Albert, E. J., Duplisea, J., Dawicki, W., Haidl, I. D. & Marshall, J. S. (2011) Tissue eosinophilia in a mouse model of colitis is highly dependent on TLR2 and independent of mast cells. *Am J Pathol*, 178: 150-60.
- Alexopoulou, L., Holt, A. C., Medzhitov, R. & Flavell, R. A. (2001) Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature*, 413: 732-8.
- Ali, Y. M., Lynch, N. J., Haleem, K. S., Fujita, T., Endo, Y., Hansen, S., Holmskov, U., Takahashi, K., Stahl, G. L., Dudler, T., Girija, U. V., Wallis, R., Kadioglu, A., Stover, C. M., Andrew, P. W. & Schwaeble, W. J. (2012) The lectin pathway of complement activation is a critical component of the innate immune response to pneumococcal infection. *PLoS Pathog*, 8: e1002793.
- Alves Pedroso, M. L., Boldt, A. B., Pereira-Ferrari, L., Steffensen, R., Strauss, E., Jensenius, J. C., Ioshii, S. O. & Messias-Reason, I. (2008) Mannan-binding lectin MBL2 gene polymorphism in chronic hepatitis C: association with the severity of liver fibrosis and response to interferon therapy. *Clin Exp Immunol*, 152: 258-64.
- Ammitzbøll, C. G., Steffensen, R., Jørgen Nielsen, H., Thiel, S., Stengaard-Pedersen, K., Bøgsted, M. & Jensenius, J. C. (2013) Polymorphisms in the MASP1 gene are associated with serum levels of MASP-1, MASP-3, and MASP-4. *PLoS One*, 8: e73317.
- Antoni, L., Nuding, S., Wehkamp, J. & Stange, E. F. (2014) Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 20: 1165-79.
- Arnott, I. D., Landers, C. J., Nimmo, E. J., Drummond, H. E., Smith, B. K., Targan, S. R. & Satsangi, J. (2004) Sero-reactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with disease severity and progression, but not NOD2/CARD15 genotype. *Am J Gastroenterol*, 99: 2376-84.
- Bak-Romaniszyn, L., Szala, A., Sokolowska, A., Mierzwa, G., Czerwionka-Szaflarska, M., Swierzko, A. S., Zeman, K. & Cedzynski, M. (2011) Mannan-binding lectin deficiency in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*, 46: 1275-8.
- Barreau, F., Madre, C., Meinzer, U., Berrebi, D., Dussallant, M., Merlin, F., Eckmann, L., Karin, M., Sterkers, G., Bonacorsi, S., Lesuffleur, T. & Hugot, J. P. (2010) Nod2 regulates the host response towards microflora by modulating T cell function and epithelial permeability in mouse Peyer's patches. *Gut*, 59: 207-17.
- Bassetti, M., Molinari, M. P., Mussap, M., Viscoli, C. & Righi, E. (2013) Candidaemia in internal medicine departments: the burden of a rising problem. *Clin Microbiol Infect*, 19: E281-4.
- Basu, D., Lopez, I., Kulkarni, A. & Sellin, J. H. (2005) Impact of race and ethnicity on inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*, 100: 2254-61.
- Baumgart, D. C. & Sandborn, W. J. (2012) Crohn's disease. *Lancet*, 380: 1590-605.
- Baumgart, M., Dogan, B., Rishniw, M., Weitzman, G., Bosworth, B., Yantiss, R., Orsi, R. H., Wiedmann, M., McDonough, P., Kim, S. G., Berg, D., Schukken, Y., Scherl, E. & Simpson, K. W. (2007) Culture independent analysis of ileal mucosa reveals a selective increase in invasive *Escherichia coli* of novel phylogeny relative to depletion of Clostridiales in Crohn's disease involving the ileum. *ISME J*, 1: 403-18.
- Bell, J. K., Mullen, G. E., Leifer, C. A., Mazzoni, A., Davies, D. R. & Segal, D. M. (2003) Leucine-rich repeats and pathogen recognition in Toll-like receptors. *Trends Immunol*, 24: 528-33.
- Bellocchio, S., Montagnoli, C., Bozza, S., Gaziano, R., Rossi, G., Mambula, S. S., Vecchi, A., Mantovani, A., Levitz, S. M. & Romani, L. (2004) The contribution of the Toll-like/IL-1 receptor superfamily to innate and adaptive immunity to fungal pathogens in vivo. *J Immunol*, 172: 3059-69.
- Beltrame, M. H., Boldt, A. B., Catarino, S. J., Mendes, H. C., Boschmann, S. E., Goeldner, I. & Messias-Reason, I. (2015) MBL-associated serine proteases (MASPs) and infectious diseases. *Mol Immunol*, 67: 85-100.
- Berberi, A., Noujeim, Z. & Aoun, G. (2015) Epidemiology of Oropharyngeal Candidiasis in Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immune Deficiency Syndrome Patients and CD4+ Counts. *J Int Oral Health*, 7: 20-3.
- Bernig, T., Taylor, J. G., Foster, C. B., Staats, B., Yeager, M. & Chanock, S. J. (2004) Sequence analysis of the mannose-binding lectin (MBL2) gene reveals a high degree of heterozygosity with evidence of selection. *Genes Immun*, 5: 461-76.
- Bertling, A., Niemann, S., Uekötter, A., Fegeler, W., Lass-Flörl, C., von Eiff, C. & Kehrel, B. E. (2010) *Candida albicans* and its metabolite gliotoxin inhibit platelet function via interaction with thiols. *Thromb Haemost*, 104: 270-8.
- Biondo, C., Malara, A., Costa, A., Signorino, G., Cardile, F., Midiri, A., Galbo, R., Papasergi, S., Domina, M., Pugliese, M., Teti, G., Mancuso, G. & Beninati, C. (2012) Recognition of fungal RNA by TLR7 has a nonredundant role in host defense against experimental candidiasis. *Eur J Immunol*, 42: 2632-43.
- Bishu, S., Hernández-Santos, N., Simpson-Abelson, M. R., Huppler, A. R., Conti, H. R., Ghilardi, N., Mamo, A. J. & Gaffen, S. L. (2014) The adaptor CARD9 is required for adaptive but not innate immunity to oral mucosal *Candida albicans* infections. *Infect Immun*, 82: 1173-80.
- Bode, J. G., Ehrling, C. & Häussinger, D. (2012) The macrophage response towards LPS and its control through the p38(MAPK)-STAT3 axis. *Cell Signal*, 24: 1185-94.
- Boldt, A. B., Goeldner, I., Stahlke, E. R., Thiel, S., Jensenius, J. C. & de Messias-Reason, I. J. (2013) Leprosy association with low MASP-2 levels generated by MASP2 haplotypes and polymorphisms flanking MASP19 exon 5. *PLoS One*, 8: e69054.

- Boldt, A. B., Luz, P. R. & Messias-Reason, I. J. (2011) MASP2 haplotypes are associated with high risk of cardiomyopathy in chronic Chagas disease. *Clin Immunol*, 140: 63-70.
- Boniotto, M., Braidà, L., Spanò, A., Pirulli, D., Baldas, V., Trevisiol, C., Not, T., Tommasini, A., Amoroso, A. & Crovella, S. (2002) Variant mannose-binding lectin alleles are associated with celiac disease. *Immunogenetics*, 54: 596-8.
- Bonnett, C. R., Cornish, E. J., Harmsen, A. G. & Burritt, J. B. (2006) Early neutrophil recruitment and aggregation in the murine lung inhibit germination of *Aspergillus fumigatus* Conidia. *Infect Immun*, 74: 6528-39.
- Bourgeois, C., Majer, O., Frohner, I. E., Lesiak-Markowicz, I., Hilderling, K. S., Glaser, W., Stockinger, S., Decker, T., Akira, S., Müller, M. & Kuchler, K. (2011) Conventional dendritic cells mount a type I IFN response against *Candida* spp. requiring novel phagosomal TLR7-mediated IFN- $\beta$  signaling. *J Immunol*, 186: 3104-12.
- Branzk, N., Lubojemska, A., Hardison, S. E., Wang, Q., Gutierrez, M. G., Brown, G. D. & Papayannopoulos, V. (2014) Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nat Immunol*, 15: 1017-25.
- Break, T. J., Jaeger, M., Solis, N. V., Filler, S. G., Rodriguez, C. A., Lim, J. K., Lee, C. C., Sobel, J. D., Netea, M. G. & Lionakis, M. S. (2015) CX3CR1 is dispensable for control of mucosal *Candida albicans* infections in mice and humans. *Infect Immun*, 83: 958-65.
- Brown, G. D. (2006) Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat Rev Immunol*, 6: 33-43.
- Brown, K. S., Keogh, M. J., Owsianka, A. M., Adair, R., Patel, A. H., Arnold, J. N., Ball, J. K., Sim, R. B., Tarr, A. W. & Hickling, T. P. (2010) Specific interaction of hepatitis C virus glycoproteins with mannan binding lectin inhibits virus entry. *Protein Cell*, 1: 664-74.
- Brown, K. S., Keogh, M. J., Tagiuri, N., Grainge, M. J., Presanis, J. S., Ryder, S. D., Irving, W. L., Ball, J. K., Sim, R. B. & Hickling, T. P. (2007) Severe fibrosis in hepatitis C virus-infected patients is associated with increased activity of the mannan-binding lectin (MBL)/MBL-associated serine protease 1 (MASP-1) complex. *Clin Exp Immunol*, 147: 90-8.
- Buisine, M. P., Desreumaux, P., Debailleul, V., Gambiez, L., Geboes, K., Ectors, N., Delescaut, M. P., Degand, P., Aubert, J. P., Colombel, J. F. & Porchet, N. (1999) Abnormalities in mucin gene expression in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 5: 24-32.
- Burnie, J. P., Carter, T. L., Hodgetts, S. J. & Matthews, R. C. (2006) Fungal heat-shock proteins in human disease. *FEMS Microbiol Rev*, 30: 53-88.
- Cabib, E., Farkas, V., Kosík, O., Blanco, N., Arroyo, J. & McPhie, P. (2008) Assembly of the yeast cell wall. Crh1p and Crh2p act as transglycosylases in vivo and in vitro. *J Biol Chem*, 283: 29859-72.
- Cadwell, K., Liu, J. Y., Brown, S. L., Miyoshi, H., Loh, J., Lennerz, J. K., Kishi, C., Kc, W., Carrero, J. A., Hunt, S., Stone, C. D., Brunt, E. M., Xavier, R. J., Sleckman, B. P., Li, E., Mizushima, N., Stappenbeck, T. S. & Virgin, H. W. (2008) A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature*, 456: 259-63.
- Cahill, R. J., Foltz, C. J., Fox, J. G., Dangler, C. A., Powrie, F. & Schauer, D. B. (1997) Inflammatory bowel disease: an immunity-mediated condition triggered by bacterial infection with *Helicobacter hepaticus*. *Infect Immun*, 65: 3126-31.
- Cambi, A., Netea, M. G., Mora-Montes, H. M., Gow, N. A., Hato, S. V., Lowman, D. W., Kullberg, B. J., Torensma, R., Williams, D. L. & Figdor, C. G. (2008) Dendritic cell interaction with *Candida albicans* critically depends on N-linked mannan. *J Biol Chem*, 283: 20590-9.
- Cario, E. (2010) Toll-like receptors in inflammatory bowel diseases: a decade later. *Inflamm Bowel Dis*, 16: 1583-97.
- Cario, E., Gerken, G. & Podolsky, D. K. (2004) Toll-like receptor 2 enhances ZO-1-associated intestinal epithelial barrier integrity via protein kinase C. *Gastroenterology*, 127: 224-38.
- Cario, E., Gerken, G. & Podolsky, D. K. (2007) Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function. *Gastroenterology*, 132: 1359-74.
- Carvalho, F. A., Barnich, N., Sauvanet, P., Darcha, C., Gelot, A. & Darfeuille-Michaud, A. (2008) Crohn's disease-associated *Escherichia coli* LF82 aggravates colitis in injured mouse colon via signaling by flagellin. *Inflamm Bowel Dis*, 14: 1051-60.
- Cavanaugh, J. (2006) NOD2: ethnic and geographic differences. *World J Gastroenterol*, 12: 3673-7.
- Chen, C. B. & Wallis, R. (2001) Stoichiometry of complexes between mannose-binding protein and its associated serine proteases. Defining functional units for complement activation. *J Biol Chem*, 276: 25894-902.
- Chen, C. B. & Wallis, R. (2004) Two mechanisms for mannose-binding protein modulation of the activity of its associated serine proteases. *J Biol Chem*, 279: 26058-65.
- Chen, Y., Chou, K., Fuchs, E., Havran, W. L. & Boismenu, R. (2002) Protection of the intestinal mucosa by intraepithelial gamma delta T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99: 14338-43.
- Cheng, S. C., van de Veerdonk, F., Smeekens, S., Joosten, L. A., van der Meer, J. W., Kullberg, B. J. & Netea, M. G. (2010) *Candida albicans* dampens host defense by downregulating IL-17 production. *J Immunol*, 185: 2450-7.
- Choteau, L., Parny, M., François, N., Bertin, B., Fumery, M., Dubuquoy, L., Takahashi, K., Colombel, J. F., Jouault, T., Poulain, D., Sendid, B. & Jawhara, S. (2015) Role of mannose-binding lectin in intestinal homeostasis and fungal elimination. *Mucosal Immunol*.
- Chouraki, V., Savoye, G., Dauchet, L., Vernier-Massouille, G., Dupas, J. L., Merle, V., Laberenne, J. E., Salomez, J. L., Lerebours, E., Turck, D., Cortot, A., Gower-Rousseau, C. & Colombel, J. F. (2011) The changing pattern of Crohn's disease incidence in northern France: a continuing increase in the 10- to 19-year-old age bracket (1988-2007). *Aliment Pharmacol Ther*, 33: 1133-42.
- Coccia, M., Harrison, O. J., Schiering, C., Asquith, M. J., Becher, B., Powrie, F. & Maloy, K. J. (2012) IL-1 $\beta$  mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4(+) Th17 cells. *J Exp Med*, 209: 1595-609.
- Coelho, A. V., Brandão, L. A., Guimarães, R. L., Loureiro, P., de Lima Filho, J. L., de Alencar, L. C., Crovella, S. & Segat, L. (2013) Mannose binding lectin and mannose binding lectin-associated serine protease-2 genes polymorphisms in human T-lymphotropic virus infection. *J Med Virol*, 85: 1829-35.
- Cooney, R., Baker, J., Brain, O., Danis, B., Pichulik, T., Allan, P., Ferguson, D. J., Campbell, B. J., Jewell, D. & Simmons, A. (2010) NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nat Med*, 16: 90-7.
- Cosnes, J., Beaugerie, L., Carbonnel, F. & Gendre, J. P. (2001) Smoking cessation and the course of Crohn's disease: an intervention study. *Gastroenterology*, 120: 1093-9.

- Cosnes, J., Gower-Rousseau, C., Seksik, P. & Cortot, A. (2011) Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 140: 1785-94.
- Coste, A., Dubourdeau, M., Linas, M. D., Cassaing, S., Lepert, J. C., Balard, P., Chalmeton, S., Bernad, J., Orfila, C., Séguéla, J. P. & Pipy, B. (2003) PPARgamma promotes mannose receptor gene expression in murine macrophages and contributes to the induction of this receptor by IL-13. *Immunity*, 19: 329-39.
- Coste, A., Lagane, C., Filipe, C., Authier, H., Galès, A., Bernad, J., Douin-Echinard, V., Lepert, J. C., Balard, P., Linas, M. D., Arnal, J. F., Auwerx, J. & Pipy, B. (2008) IL-13 attenuates gastrointestinal candidiasis in normal and immunodeficient RAG-2(-/-) mice via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *J Immunol*, 180: 4939-47.
- Courjol, F., Jouault, T., Mille, C., Hall, R., Maes, E., Sendid, B., Mallet, J. M., Guerardel, Y., Gow, N. A., Poulain, D. & Fradin, C. (2015)  $\beta$ -1,2-Mannosyltransferases 1 and 3 Participate in Yeast and Hyphae O- and N-Linked Mannosylation and Alter Candida albicans Fitness During Infection. *Open Forum Infect Dis*, 2: ofv116.
- Courjol, F., Mille, C., Hall, R., Masset, A., Aijjou, R., Gow, N. A., Poulain, D., Jouault, T. & Fradin, C. (2016) Initiation of phospholipomannan  $\beta$ -1,2 mannosylation involves Bmts with redundant activity, influences its cell wall location and regulates  $\beta$ -glucans homeostasis but is dispensable for Candida albicans systemic infection. *Biochimie*, 120: 96-104.
- Courth, L. F., Ostaff, M. J., Mailänder-Sánchez, D., Malek, N. P., Stange, E. F. & Wehkamp, J. (2015) Crohn's disease-derived monocytes fail to induce Paneth cell defensins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112: 14000-5.
- d'Ostiani, C. F., Del Sero, G., Bacci, A., Montagnoli, C., Spreca, A., Mencacci, A., Ricciardi-Castagnoli, P. & Romani, L. (2000) Dendritic cells discriminate between yeasts and hyphae of the fungus Candida albicans. Implications for initiation of T helper cell immunity in vitro and in vivo. *J Exp Med*, 191: 1661-74.
- Dahl, M. R., Thiel, S., Matsushita, M., Fujita, T., Willis, A. C., Christensen, T., Vorup-Jensen, T. & Jensenius, J. C. (2001) MASP-3 and its association with distinct complexes of the mannan-binding lectin complement activation pathway. *Immunity*, 15: 127-35.
- Dalle, F., Wächtler, B., L'Ollivier, C., Holland, G., Bannert, N., Wilson, D., Labruère, C., Bonnin, A. & Hube, B. (2010) Cellular interactions of Candida albicans with human oral epithelial cells and enterocytes. *Cell Microbiol*, 12: 248-71.
- Damiens, S., Danze, P. M., Drucbert, A. S., Choteau, L., Jouault, T., Poulain, D. & Sendid, B. (2013) Characterization of the recognition of Candida species by mannose-binding lectin using surface plasmon resonance. *Analyst*, 138: 2477-82.
- Damiens, S., Poissy, J., François, N., Salleron, J., Jawhara, S., Jouault, T., Poulain, D. & Sendid, B. (2012) Mannose-binding lectin levels and variation during invasive candidiasis. *J Clin Immunol*, 32: 1317-23.
- Darfeuille-Michaud, A., Neut, C., Barnich, N., Lederman, E., Di Martino, P., Desreumaux, P., Gambiez, L., Joly, B., Cortot, A. & Colombel, J. F. (1998) Presence of adherent Escherichia coli strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*, 115: 1405-13.
- de Groot, P. W., de Boer, A. D., Cunningham, J., Dekker, H. L., de Jong, L., Hellingwerf, K. J., de Koster, C. & Klis, F. M. (2004) Proteomic analysis of Candida albicans cell walls reveals covalently bound carbohydrate-active enzymes and adhesins. *Eukaryot Cell*, 3: 955-65.
- Degn, S. E., Hansen, A. G., Steffensen, R., Jacobsen, C., Jensenius, J. C. & Thiel, S. (2009) MAP44, a human protein associated with pattern recognition molecules of the complement system and regulating the lectin pathway of complement activation. *J Immunol*, 183: 7371-8.
- Degn, S. E., Jensen, L., Gál, P., Dobó, J., Holmvd, S. H., Jensenius, J. C. & Thiel, S. (2010) Biological variations of MASP-3 and MAP44, two splice products of the MASP1 gene involved in regulation of the complement system. *J Immunol Methods*, 361: 37-50.
- Degn, S. E., Jensen, L., Hansen, A. G., Duman, D., Tekin, M., Jensenius, J. C. & Thiel, S. (2012) Mannan-binding lectin-associated serine protease (MASP)-1 is crucial for lectin pathway activation in human serum, whereas neither MASP-1 nor MASP-3 is required for alternative pathway function. *J Immunol*, 189: 3957-69.
- Delsing, C. E., Gresnigt, M. S., Leentjens, J., Preijers, F., Frager, F. A., Kox, M., Monneret, G., Venet, F., Bleeker-Rovers, C. P., van de Veerdonk, F. L., Pickkers, P., Pachot, A., Kullberg, B. J. & Netea, M. G. (2014) Interferon-gamma as adjunctive immunotherapy for invasive fungal infections: a case series. *BMC Infect Dis*, 14: 166.
- Denning, T. L., Granger, S. W., Granger, S., Mucida, D., Graddy, R., Leclercq, G., Zhang, W., Honey, K., Rasmussen, J. P., Cheroutre, H., Rudensky, A. Y. & Kronenberg, M. (2007) Mouse TCRalpha $\beta$ +CD8alpha $\alpha$  intraepithelial lymphocytes express genes that down-regulate their antigen reactivity and suppress immune responses. *J Immunol*, 178: 4230-9.
- Devillers, A., Courjol, F., Fradin, C., Coste, A., Poulain, D., Pipy, B., Bernardes, E. S. & Jouault, T. (2013) Deficient beta-mannosylation of Candida albicans phospholipomannan affects the proinflammatory response in macrophages. *PLoS One*, 8: e84771.
- Dhiman, N., Hall, L., Wohlfiel, S. L., Buckwalter, S. P. & Wengenack, N. L. (2011) Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. *J Clin Microbiol*, 49: 1614-6.
- Di Sabatino, A., Ciccocioppo, R., Luinetti, O., Ricevuti, L., Morera, R., Cifone, M. G., Solcia, E. & Corazza, G. R. (2003) Increased enterocyte apoptosis in inflamed areas of Crohn's disease. *Dis Colon Rectum*, 46: 1498-507.
- Dillon, S., Agrawal, S., Banerjee, K., Letterio, J., Denning, T. L., Oswald-Richter, K., Kasprovicz, D. J., Kellar, K., Pare, J., van Dyke, T., Ziegler, S., Unutmaz, D. & Pulendran, B. (2006) Yeast zymosan, a stimulus for TLR2 and dectin-1, induces regulatory antigen-presenting cells and immunological tolerance. *J Clin Invest*, 116: 916-28.
- Dobó, J., Major, B., Kékesi, K. A., Szabó, I., Megyeri, M., Hajela, K., Juhász, G., Závodszy, P. & Gál, P. (2011) Cleavage of kininogen and subsequent bradykinin release by the complement component: mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP)-1. *PLoS One*, 6: e20036.
- Dobó, J., Schroeder, V., Jenny, L., Cervenak, L., Závodszy, P. & Gál, P. (2014) Multiple roles of complement MASP-1 at the interface of innate immune response and coagulation. *Mol Immunol*, 61: 69-78.
- Donders, G. G., Babula, O., Bellen, G., Linhares, I. M. & Witkin, S. S. (2008) Mannose-binding lectin gene polymorphism and resistance to therapy in women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *BJOG*, 115: 1225-31.
- Drago, L., Bortolin, M., Vassena, C., Taschieri, S. & Del Fabbro, M. (2013) Antimicrobial activity of pure platelet-rich plasma against microorganisms isolated from oral cavity. *BMC Microbiol*, 13: 47.
- Duerr, R. H., Taylor, K. D., Brant, S. R., Rioux, J. D., Silverberg, M. S., Daly, M. J., Steinhart, A. H., Abraham, C., Regueiro, M., Griffiths, A., Dassopoulos, T., Bitton, A., Yang, H., Targan, S., Datta, L. W., Kistner, E. O., Schumm, L. P., Lee, A. T.,

- Gregersen, P. K., Barnada, M. M., Rotter, J. I., Nicolae, D. L. & Cho, J. H. (2006) A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science*, 314: 1461-3.
- Duncan, R. C., Bergström, F., Coetzer, T. H., Blom, A. M., Wijeyewickrema, L. C. & Pike, R. N. (2012) Multiple domains of MASP-2, an initiating complement protease, are required for interaction with its substrate C4. *Mol Immunol*, 49: 593-600.
- Duus, K., Thielens, N. M., Lacroix, M., Tacnet, P., Frchet, P., Holmskov, U. & Houen, G. (2010) CD91 interacts with mannan-binding lectin (MBL) through the MBL-associated serine protease-binding site. *FEBS J*, 277: 4956-64.
- Dünkler, A., Walther, A., Specht, C. A. & Wendland, J. (2005) *Candida albicans* CHT3 encodes the functional homolog of the Cts1 chitinase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Fungal Genet Biol*, 42: 935-47.
- Edelblum, K. L., Singh, G., Odenwald, M. A., Lingaraju, A., El Bissati, K., McLeod, R., Sperling, A. I. & Turner, J. R. (2015)  $\gamma\delta$  Intraepithelial Lymphocyte Migration Limits Transepithelial Pathogen Invasion and Systemic Disease in Mice. *Gastroenterology*, 148: 1417-26.
- Eggimann, P. & Marchetti, O. (2011) Is (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan the missing link from bedside assessment to pre-emptive therapy of invasive candidiasis? *Crit Care*, 15: 1017.
- Endo, Y., Nakazawa, N., Iwaki, D., Takahashi, M., Matsushita, M. & Fujita, T. (2010) Interactions of ficolin and mannose-binding lectin with fibrinogen/fibrin augment the lectin complement pathway. *J Innate Immun*, 2: 33-42.
- Endo, Y., Takahashi, M., Nakao, M., Saiga, H., Sekine, H., Matsushita, M., Nonaka, M. & Fujita, T. (1998) Two lineages of mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP) in vertebrates. *J Immunol*, 161: 4924-30.
- Ermert, D., Niemiec, M. J., Röhm, M., Glenthøj, A., Borregaard, N. & Urban, C. F. (2013) *Candida albicans* escapes from mouse neutrophils. *J Leukoc Biol*, 94: 223-36.
- Ey, B., Eyking, A., Klepak, M., Salzman, N. H., Gothert, J. R., Runzi, M., Schmid, K. W., Gerken, G., Podolsky, D. K. & Cario, E. (2013) Loss of TLR2 worsens spontaneous colitis in MDR1A deficiency through commensally induced pyroptosis. *J Immunol*, 190: 5676-88.
- Eyerich, S., Wagener, J., Wenzel, V., Scarponi, C., Pennino, D., Albanesi, C., Schaller, M., Behrendt, H., Ring, J., Schmidt-Weber, C. B., Cavani, A., Mempel, M., Traidl-Hoffmann, C. & Eyerich, K. (2011) IL-22 and TNF- $\alpha$  represent a key cytokine combination for epidermal integrity during infection with *Candida albicans*. *Eur J Immunol*, 41: 1894-901.
- Feinberg, H., Uitdehaag, J. C., Davies, J. M., Wallis, R., Drickamer, K. & Weis, W. I. (2003) Crystal structure of the CUB1-EGF-CUB2 region of mannose-binding protein associated serine protease-2. *EMBO J*, 22: 2348-59.
- Ferrante, M., Henckaerts, L., Joossens, M., Pierik, M., Joossens, S., Dotan, N., Norman, G. L., Altstock, R. T., Van Steen, K., Rutgeerts, P., Van Assche, G. & Vermeire, S. (2007) New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut*, 56: 1394-403.
- Ferwerda, G., Meyer-Wentrup, F., Kullberg, B. J., Netea, M. G. & Adema, G. J. (2008) Dectin-1 synergizes with TLR2 and TLR4 for cytokine production in human primary monocytes and macrophages. *Cell Microbiol*, 10: 2058-66.
- Finkel, J. S. & Mitchell, A. P. (2011) Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nat Rev Microbiol*, 9: 109-18.
- Fox, J. G. (2007) *Helicobacter bilis*: bacterial provocateur orchestrates host immune responses to commensal flora in a model of inflammatory bowel disease. *Gut*, 56: 898-900.
- Franchimont, D., Vermeire, S., El Housni, H., Pierik, M., Van Steen, K., Gustot, T., Quertinmont, E., Abramowicz, M., Van Gossum, A., Devière, J. & Rutgeerts, P. (2004) Deficient host-bacteria interactions in inflammatory bowel disease? The toll-like receptor (TLR)-4 Asp299gly polymorphism is associated with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut*, 53: 987-92.
- Frank, D. N., St Amand, A. L., Feldman, R. A., Boedeker, E. C., Harpaz, N. & Pace, N. R. (2007) Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104: 13780-5.
- Franke, A., McGovern, D. P., Barrett, J. C., Wang, K., Radford-Smith, G. L., Ahmad, T., Lees, C. W., Balschun, T., Lee, J., Roberts, R., Anderson, C. A., Bis, J. C., Bumpstead, S., Ellinghaus, D., Festen, E. M., Georges, M., Green, T., Haritunians, T., Jostins, L., Latiano, A., Mathew, C. G., Montgomery, G. W., Prescott, N. J., Raychaudhuri, S., Rotter, J. I., Schumm, P., Sharma, Y., Simms, L. A., Taylor, K. D., Whiteman, D., Wijmenga, C., Baldassano, R. N., Barclay, M., Bayless, T. M., Brand, S., Büning, C., Cohen, A., Colombel, J. F., Cottone, M., Stronati, L., Denson, T., De Vos, M., D'Inca, R., Dubinsky, M., Edwards, C., Florin, T., Franchimont, D., Gearry, R., Glas, J., Van Gossum, A., Guthery, S. L., Halfvarson, J., Verspaget, H. W., Hugot, J. P., Karban, A., Laukens, D., Lawrance, I., Lemann, M., Levine, A., Libioulle, C., Louis, E., Mowat, C., Newman, W., Panés, J., Phillips, A., Proctor, D. D., Regueiro, M., Russell, R., Rutgeerts, P., Sanderson, J., Sans, M., Seibold, F., Steinhardt, A. H., Stokkers, P. C., Torkvist, L., Kullak-Ublick, G., Wilson, D., Walters, T., Targan, S. R., Brant, S. R., Rioux, J. D., D'Amato, M., Weersma, R. K., Kugathasan, S., Griffiths, A. M., Mansfield, J. C., Vermeire, S., Duerr, R. H., Silverberg, M. S., Satsangi, J., Schreiber, S., Cho, J. H., Annese, V., Hakonarson, H., Daly, M. J. & Parkes, M. (2010) Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet*, 42: 1118-25.
- Fujita, N., Itoh, T., Omori, H., Fukuda, M., Noda, T. & Yoshimori, T. (2008) The Atg16L complex specifies the site of LC3 lipidation for membrane biogenesis in autophagy. *Mol Biol Cell*, 19: 2092-100.
- Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T. A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T., Takahashi, M., Fukuda, N. N., Murakami, S., Miyauchi, E., Hino, S., Atarashi, K., Onawa, S., Fujimura, Y., Lockett, T., Clarke, J. M., Topping, D. L., Tomita, M., Hori, S., Ohara, O., Morita, T., Koseki, H., Kikuchi, J., Honda, K., Hase, K. & Ohno, H. (2013) Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, 504: 446-50.
- Galès, A., Conduché, A., Bernad, J., Lefevre, L., Olagnier, D., Béraud, M., Martin-Blondel, G., Linas, M. D., Auwerx, J., Coste, A. & Pipy, B. (2010) PPAR $\gamma$  controls Dectin-1 expression required for host antifungal defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog*, 6: e1000714.
- Gantner, B. N., Simmons, R. M. & Underhill, D. M. (2005) Dectin-1 mediates macrophage recognition of *Candida albicans* yeast but not filaments. *EMBO J*, 24: 1277-86.
- Garred, P. (2008) Mannose-binding lectin genetics: from A to Z. *Biochem Soc Trans*, 36: 1461-6.
- Gazendam, R. P., van Hamme, J. L., Tool, A. T., van Houdt, M., Verkuijlen, P. J., Herbst, M., Liese, J. G., van de Veerdonk, F. L., Roos, D., van den Berg, T. K. & Kuijpers, T. W. (2014) Two independent killing mechanisms of *Candida albicans* by human neutrophils: evidence from innate immunity defects. *Blood*, 124: 590-7.

- Gewirtz, A. T., Vijay-Kumar, M., Brant, S. R., Duerr, R. H., Nicolae, D. L. & Cho, J. H. (2006) Dominant-negative TLR5 polymorphism reduces adaptive immune response to flagellin and negatively associates with Crohn's disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 290: G1157-63.
- Ghiran, I., Barbashov, S. F., Klickstein, L. B., Tas, S. W., Jensenius, J. C. & Nicholson-Weller, A. (2000) Complement receptor 1/CD35 is a receptor for mannan-binding lectin. *J Exp Med*, 192: 1797-808.
- Giancchetti, E. & Fierabracci, A. (2015) Gene/environment interactions in the pathogenesis of autoimmunity: new insights on the role of Toll-like receptors. *Autoimmun Rev*, 14: 971-83.
- Glas, J., Seiderer, J., Wetzke, M., Konrad, A., Török, H. P., Schmechel, S., Tonenchi, L., Grassl, C., Dambacher, J., Pfenning, S., Maier, K., Griga, T., Klein, W., Epplen, J. T., Schiemann, U., Folwaczny, C., Lohse, P., Göke, B., Ochsenkühn, T., Müller-Myhsok, B., Folwaczny, M., Mussack, T. & Brand, S. (2007) rs1004819 is the main disease-associated IL23R variant in German Crohn's disease patients: combined analysis of IL23R, CARD15, and OCTN1/2 variants. *PLoS One*, 2: e819.
- Glasser, A. L., Boudeau, J., Barnich, N., Perruchot, M. H., Colombel, J. F. & Darfeuille-Michaud, A. (2001) Adherent invasive *Escherichia coli* strains from patients with Crohn's disease survive and replicate within macrophages without inducing host cell death. *Infect Immun*, 69: 5529-37.
- Gopal, P. K., Shepherd, M. G. & Sullivan, P. A. (1984) Analysis of wall glucans from yeast, hyphal and germ-tube forming cells of *Candida albicans*. *J Gen Microbiol*, 130: 3295-301.
- Gorbea, C., Makar, K. A., Pauschinger, M., Pratt, G., Bersola, J. L., Varela, J., David, R. M., Banks, L., Huang, C. H., Li, H., Schultheiss, H. P., Towbin, J. A., Vallejo, J. G. & Bowles, N. E. (2010) A role for Toll-like receptor 3 variants in host susceptibility to enteroviral myocarditis and dilated cardiomyopathy. *J Biol Chem*, 285: 23208-23.
- Gow, N. A., van de Veerdonk, F. L., Brown, A. J. & Netea, M. G. (2012) *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nat Rev Microbiol*, 10: 112-22.
- Gregory, L. A., Thielens, N. M., Matsushita, M., Sorensen, R., Arlaud, G. J., Fontecilla-Camps, J. C. & Gaboriaud, C. (2004) The X-ray structure of human mannan-binding lectin-associated protein 19 (MAp19) and its interaction site with mannan-binding lectin and L-ficolin. *J Biol Chem*, 279: 29391-7.
- Gringhuis, S. I., den Dunnen, J., Litjens, M., van der Vliet, M., Wevers, B., Bruijns, S. C. & Geijtenbeek, T. B. (2009) Dectin-1 directs T helper cell differentiation by controlling noncanonical NF-kappaB activation through Raf-1 and Syk. *Nat Immunol*, 10: 203-13.
- Gross, O., Gewies, A., Finger, K., Schäfer, M., Sparwasser, T., Peschel, C., Förster, I. & Ruland, J. (2006) Card9 controls a non-TLR signalling pathway for innate anti-fungal immunity. *Nature*, 442: 651-6.
- Groß, P., Doser, K., Falk, W., Obermeier, F. & Hofmann, C. (2012) IL-33 attenuates development and perpetuation of chronic intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis*, 18: 1900-9.
- Gulla, K. C., Gupta, K., Krarup, A., Gal, P., Schwaeble, W. J., Sim, R. B., O'Connor, C. D. & Hajela, K. (2010) Activation of mannan-binding lectin-associated serine proteases leads to generation of a fibrin clot. *Immunology*, 129: 482-95.
- Gutierrez, M. G., Master, S. S., Singh, S. B., Taylor, G. A., Colombo, M. I. & Deretic, V. (2004) Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell*, 119: 753-66.
- Gálvez, J. (2014) Role of Th17 Cells in the Pathogenesis of Human IBD. *ISRN Inflamm*, 2014: 928461.
- Haerynck, F., Van Steen, K., Cattaert, T., Loeys, B., Van Daele, S., Schelstraete, P., Claes, K., Van Thienen, M., De Canck, I., Mahachie John, J. M. & De Baets, F. (2012) Polymorphisms in the lectin pathway genes as a possible cause of early chronic *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis patients. *Hum Immunol*, 73: 1175-83.
- Hall, L. J., Faivre, E., Quinlan, A., Shanahan, F., Nally, K. & Melgar, S. (2011) Induction and activation of adaptive immune populations during acute and chronic phases of a murine model of experimental colitis. *Dig Dis Sci*, 56: 79-89.
- Han, K. H., Park, S. J., Choi, S. J., Park, J. Y. & Lee, K. H. (2013) Immunological features of macrophages induced by various morphological structures of *Candida albicans*. *J Microbiol Biotechnol*, 23: 1031-40.
- Hansen, R., Thomson, J. M., El-Omar, E. M. & Hold, G. L. (2010) The role of infection in the aetiology of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*, 45: 266-76.
- Hansen, S., Thiel, S., Willis, A., Holmskov, U. & Jensenius, J. C. (2000) Purification and characterization of two mannan-binding lectins from mouse serum. *J Immunol*, 164: 2610-8.
- Hart, A. L., Al-Hassi, H. O., Rigby, R. J., Bell, S. J., Emmanuel, A. V., Knight, S. C., Kamm, M. A. & Stagg, A. J. (2005) Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 129: 50-65.
- Hazan, I., Sepulveda-Becerra, M. & Liu, H. (2002) Hyphal elongation is regulated independently of cell cycle in *Candida albicans*. *Mol Biol Cell*, 13: 134-45.
- Heitzeneder, S., Seidel, M., Förster-Waldl, E. & Heitger, A. (2012) Mannan-binding lectin deficiency - Good news, bad news, doesn't matter? *Clin Immunol*, 143: 22-38.
- Hemmi, H., Takeuchi, O., Kawai, T., Kaisho, T., Sato, S., Sanjo, H., Matsumoto, M., Hoshino, K., Wagner, H., Takeda, K. & Akira, S. (2000) A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, 408: 740-5.
- Henckaerts, L., Pierik, M., Joossens, M., Ferrante, M., Rutgeerts, P. & Vermeire, S. (2007) Mutations in pattern recognition receptor genes modulate seroreactivity to microbial antigens in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*, 56: 1536-42.
- Herent, P., Stynen, D., Hernando, F., Fruit, J. & Poulain, D. (1992) Retrospective evaluation of two latex agglutination tests for detection of circulating antigens during invasive candidosis. *J Clin Microbiol*, 30: 2158-64.
- Hess, K., Ajjan, R., Phoenix, F., Dobó, J., Gál, P. & Schroeder, V. (2012) Effects of MASP-1 of the complement system on activation of coagulation factors and plasma clot formation. *PLoS One*, 7: e35690.
- Hoefkens, E., Nys, K., John, J. M., Van Steen, K., Arijis, I., Van der Goten, J., Van Assche, G., Agostinis, P., Rutgeerts, P., Vermeire, S. & Cleynen, I. (2013) Genetic association and functional role of Crohn disease risk alleles involved in microbial sensing, autophagy, and endoplasmic reticulum (ER) stress. *Autophagy*, 9: 2046-55.
- Hoffmann, C., Hoffmann, P., Lun, A., Büning, C., Hiepe, F., Scherer, H. U., Steinhagen-Thiessen, E. & Weimann, A. (2010) Is there a role for mannan-binding lectin in the diagnosis of inflammatory bowel disease? *Immunogenetics*, 62: 231-5.
- Hogaboam, C. M., Takahashi, K., Ezekowitz, R. A., Kunkel, S. L. & Schuh, J. M. (2004) Mannose-binding lectin deficiency alters the development of fungal asthma: effects on airway response, inflammation, and cytokine profile. *J Leukoc Biol*, 75: 805-14.
- Homsak, E., Micetić-Turk, D. & Bozic, B. (2010) Autoantibodies pANCA, GAB and PAB in inflammatory bowel disease: prevalence, characteristics and diagnostic value. *Wien Klin Wochenschr*, 122 Suppl 2: 19-25.
- Hooper, L. V. (2015) Epithelial cell contributions to intestinal immunity. *Adv Immunol*, 126: 129-72.

- Hopkins, P. A., Fraser, J. D., Pridmore, A. C., Russell, H. H., Read, R. C. & Sriskandan, S. (2005) Superantigen recognition by HLA class II on monocytes up-regulates toll-like receptor 4 and enhances proinflammatory responses to endotoxin. *Blood*, 105: 3655-62.
- Hori, S., Nomura, T. & Sakaguchi, S. (2003) Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 299: 1057-61.
- Hornig, T., Barton, G. M., Flavell, R. A. & Medzhitov, R. (2002) The adaptor molecule TIRAP provides signalling specificity for Toll-like receptors. *Nature*, 420: 329-33.
- Hossain, M. A., Miyazaki, T., Mitsutake, K., Kakeya, H., Yamamoto, Y., Yanagihara, K., Kawamura, S., Otsubo, T., Hirakata, Y., Tashiro, T. & Kohno, S. (1997) Comparison between Wako-WB003 and Fungitec G tests for detection of (1->3)-beta-D-glucan in systemic mycosis. *J Clin Lab Anal*, 11: 73-7.
- Hoyer, L. L., Green, C. B., Oh, S. H. & Zhao, X. (2008) Discovering the secrets of the *Candida albicans* agglutinin-like sequence (ALS) gene family--a sticky pursuit. *Med Mycol*, 46: 1-15.
- Hugot, J. P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cézard, J. P., Belaiche, J., Almer, S., Tysk, C., O'Morain, C. A., Gassull, M., Binder, V., Finkel, Y., Cortot, A., Modigliani, R., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C., Macry, J., Colombel, J. F., Sahbatou, M. & Thomas, G. (2001) Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411: 599-603.
- Héja, D., Kocsis, A., Dobó, J., Szilágyi, K., Szász, R., Závodszky, P., Pál, G. & Gál, P. (2012) Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109: 10498-503.
- Höie, O., Schouten, L. J., Wolters, F. L., Solberg, I. C., Riis, L., Mouzas, I. A., Politi, P., Odes, S., Langholz, E., Vatn, M., Stockbrügger, R. W., Moun, B. & (EC-IBD), E. C. S. G. o. I. B. D. (2007) Ulcerative colitis: no rise in mortality in a European-wide population based cohort 10 years after diagnosis. *Gut*, 56: 497-503.
- Ibata-Ombetta, S., Idziorek, T., Trinel, P. A., Poulain, D. & Jouault, T. (2003) Role of phospholipomannan in *Candida albicans* escape from macrophages and induction of cell apoptosis through regulation of bad phosphorylation. *Ann N Y Acad Sci*, 1010: 573-6.
- Iliev, I. D., Funari, V. A., Taylor, K. D., Nguyen, Q., Reyes, C. N., Strom, S. P., Brown, J., Becker, C. A., Fleshner, P. R., Dubinsky, M., Rotter, J. I., Wang, H. L., McGovern, D. P., Brown, G. D. & Underhill, D. M. (2012) Interactions between commensal fungi and the C-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis. *Science*, 336: 1314-7.
- Inagaki-Ohara, K., Chinen, T., Matsuzaki, G., Sasaki, A., Sakamoto, Y., Hiromatsu, K., Nakamura-Uchiyama, F., Nawa, Y. & Yoshimura, A. (2004) Mucosal T cells bearing TCRgamma delta play a protective role in intestinal inflammation. *J Immunol*, 173: 1390-8.
- Ip, W. K. & Lau, Y. L. (2004) Role of mannose-binding lectin in the innate defense against *Candida albicans*: enhancement of complement activation, but lack of opsonic function, in phagocytosis by human dendritic cells. *J Infect Dis*, 190: 632-40.
- Ip, W. K., Takahashi, K., Ezekowitz, R. A. & Stuart, L. M. (2009) Mannose-binding lectin and innate immunity. *Immunol Rev*, 230: 9-21.
- Ip, W. K., Takahashi, K., Moore, K. J., Stuart, L. M. & Ezekowitz, R. A. (2008) Mannose-binding lectin enhances Toll-like receptors 2 and 6 signaling from the phagosome. *J Exp Med*, 205: 169-81.
- Iwaki, D., Kanno, K., Takahashi, M., Endo, Y., Matsushita, M. & Fujita, T. (2011) The role of mannose-binding lectin-associated serine protease-3 in activation of the alternative complement pathway. *J Immunol*, 187: 3751-8.
- Jack, D. L., Read, R. C., Tenner, A. J., Frosch, M., Turner, M. W. & Klein, N. J. (2001) Mannose-binding lectin regulates the inflammatory response of human professional phagocytes to *Neisseria meningitidis* serogroup B. *J Infect Dis*, 184: 1152-62.
- Jaeger, M., Stappers, M. H., Joosten, L. A., Gyssens, I. C. & Netea, M. G. (2015) Genetic variation in pattern recognition receptors: functional consequences and susceptibility to infectious disease. *Future Microbiol*, 10: 989-1008.
- Jawhara, S., Thuru, X., Standaert-Vitse, A., Jouault, T., Mordon, S., Sendid, B., Desreumaux, P. & Poulain, D. (2008) Colonization of mice by *Candida albicans* is promoted by chemically induced colitis and augments inflammatory responses through galectin-3. *J Infect Dis*, 197: 972-80.
- Jenny, L., Dobó, J., Gál, P. & Schroeder, V. (2015) MASP-1 of the complement system promotes clotting via prothrombin activation. *Mol Immunol*, 65: 398-405.
- Jensenius, H., Klein, D. C., van Hecke, M., Oosterkamp, T. H., Schmidt, T. & Jensenius, J. C. (2009) Mannan-binding lectin: structure, oligomerization, and flexibility studied by atomic force microscopy. *J Mol Biol*, 391: 246-59.
- Johnson, C. M., Lyle, E. A., Omueti, K. O., Stepensky, V. A., Yegin, O., Alpsy, E., Hamann, L., Schumann, R. R. & Tapping, R. I. (2007) Cutting edge: A common polymorphism impairs cell surface trafficking and functional responses of TLR1 but protects against leprosy. *J Immunol*, 178: 7520-4.
- Joly, S., Ma, N., Sadler, J. J., Soll, D. R., Cassel, S. L. & Sutterwala, F. S. (2009) Cutting edge: *Candida albicans* hyphae formation triggers activation of the Nlrp3 inflammasome. *J Immunol*, 183: 3578-81.
- Joossens, S., Colombel, J. F., Landers, C., Poulain, D., Geboes, K., Bossuyt, X., Targan, S., Rutgeerts, P. & Reinisch, W. (2006) Anti-outer membrane of porin C and anti-I2 antibodies in indeterminate colitis. *Gut*, 55: 1667-9.
- Joossens, S., Reinisch, W., Vermeire, S., Sendid, B., Poulain, D., Peeters, M., Geboes, K., Bossuyt, X., Vandewalle, P., Oberhuber, G., Vogelsang, H., Rutgeerts, P. & Colombel, J. F. (2002) The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology*, 122: 1242-7.
- Jouault, T., El Abed-El Behi, M., Martínez-Esparza, M., Breuilh, L., Trinel, P. A., Chamaillard, M., Trottein, F. & Poulain, D. (2006) Specific recognition of *Candida albicans* by macrophages requires galectin-3 to discriminate *Saccharomyces cerevisiae* and needs association with TLR2 for signaling. *J Immunol*, 177: 4679-87.
- Jouault, T., Ibata-Ombetta, S., Takeuchi, O., Trinel, P. A., Sacchetti, P., Lefebvre, P., Akira, S. & Poulain, D. (2003) *Candida albicans* phospholipomannan is sensed through toll-like receptors. *J Infect Dis*, 188: 165-72.
- Kang, T. J. & Chae, G. T. (2001) Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepomatous leprosy patients. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 31: 53-8.
- Kaplan, G. G., Hubbard, J., Korzenik, J., Sands, B. E., Panaccione, R., Ghosh, S., Wheeler, A. J. & Villeneuve, P. J. (2010) The inflammatory bowel diseases and ambient air pollution: a novel association. *Am J Gastroenterol*, 105: 2412-9.

- Kapteyn, J. C., Hoyer, L. L., Hecht, J. E., Müller, W. H., Andel, A., Verkleij, A. J., Makarow, M., Van Den Ende, H. & Klis, F. M. (2000) The cell wall architecture of *Candida albicans* wild-type cells and cell wall-defective mutants. *Mol Microbiol*, 35: 601-11.
- Kapteyn, J. C., Van Den Ende, H. & Klis, F. M. (1999) The contribution of cell wall proteins to the organization of the yeast cell wall. *Biochim Biophys Acta*, 1426: 373-83.
- Kasperkovitz, P. V., Khan, N. S., Tam, J. M., Mansour, M. K., Davids, P. J. & Vyas, J. M. (2011) Toll-like receptor 9 modulates macrophage antifungal effector function during innate recognition of *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Infect Immun*, 79: 4858-67.
- Kaur, S., Gupta, V. K., Thiel, S., Sarma, P. U. & Madan, T. (2007) Protective role of mannan-binding lectin in a murine model of invasive pulmonary aspergillosis. *Clin Exp Immunol*, 148: 382-9.
- Khan, R. R., Lawson, A. D., Minnich, L. L., Martin, K., Nasir, A., Emmett, M. K., Welch, C. A. & Udall, J. N. (2009) Gastrointestinal norovirus infection associated with exacerbation of inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 48: 328-33.
- Kjaer, T. R., Hansen, A. G., Sørensen, U. B., Holm, A. T., Sørensen, G. L., Jensenius, J. C. & Thiel, S. (2013a) M-ficolin binds selectively to the capsular polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae* serotypes 19B and 19C and of a *Streptococcus mitis* strain. *Infect Immun*, 81: 452-9.
- Kjaer, T. R., Thiel, S. & Andersen, G. R. (2013b) Toward a structure-based comprehension of the lectin pathway of complement. *Mol Immunol*, 56: 222-31.
- Kojic, E. M. & Darouiche, R. O. (2004) *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev*, 17: 255-67.
- Kondoh, O., Tachibana, Y., Ohya, Y., Arisawa, M. & Watanabe, T. (1997) Cloning of the RHO1 gene from *Candida albicans* and its regulation of beta-1,3-glucan synthesis. *J Bacteriol*, 179: 7734-41.
- Kozarcanin, H., Lood, C., Munthe-Fog, L., Sandholm, K., Hamad, O. A., Bengtsson, A. A., Skjoed, M. O., Huber-Lang, M., Garred, P., Ekdahl, K. N. & Nilsson, B. (2015) The lectin complement pathway serine proteases (MASPs) represent a possible crossroad between the coagulation and complement systems in thromboinflammation. *J Thromb Haemost*.
- Krurup, A., Gulla, K. C., Gál, P., Hajela, K. & Sim, R. B. (2008) The action of MBL-associated serine protease 1 (MASP1) on factor XIII and fibrinogen. *Biochim Biophys Acta*, 1784: 1294-300.
- Krurup, A., Wallis, R., Presanis, J. S., Gál, P. & Sim, R. B. (2007) Simultaneous activation of complement and coagulation by MBL-associated serine protease 2. *PLoS One*, 2: e623.
- Krysan, D. J., Sutterwala, F. S. & Wellington, M. (2014) Catching fire: *Candida albicans*, macrophages, and pyroptosis. *PLoS Pathog*, 10: e1004139.
- Kullberg, M. C., Ward, J. M., Gorelick, P. L., Caspar, P., Hieny, S., Cheever, A., Jankovic, D. & Sher, A. (1998) *Helicobacter hepaticus* triggers colitis in specific-pathogen-free interleukin-10 (IL-10)-deficient mice through an IL-12- and gamma interferon-dependent mechanism. *Infect Immun*, 66: 5157-66.
- Lai, Y. & Gallo, R. L. (2008) Toll-like receptors in skin infections and inflammatory diseases. *Infect Disord Drug Targets*, 8: 144-55.
- Lampinen, M., Backman, M., Winqvist, O., Rorsman, F., Rönnblom, A., Sangfelt, P. & Carlson, M. (2008) Different regulation of eosinophil activity in Crohn's disease compared with ulcerative colitis. *J Leukoc Biol*, 84: 1392-9.
- Latgé, J. P. (2007) The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell. *Mol Microbiol*, 66: 279-90.
- Lefèvre, L., Galès, A., Olagnier, D., Bernad, J., Perez, L., Burcelin, R., Valentin, A., Auwerx, J., Pipy, B. & Coste, A. (2010) PPAR $\gamma$  ligands switched high fat diet-induced macrophage M2b polarization toward M2a thereby improving intestinal *Candida* elimination. *PLoS One*, 5: e12828.
- Lengeler, K. B., Davidson, R. C., D'souza, C., Harashima, T., Shen, W. C., Wang, P., Pan, X., Waugh, M. & Heitman, J. (2000) Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence. *Microbiol Mol Biol Rev*, 64: 746-85.
- Li, D., Dong, B., Tong, Z., Wang, Q., Liu, W., Wang, Y., Chen, J., Xu, L., Chen, L. & Duan, Y. (2012) MBL-mediated opsonophagocytosis of *Candida albicans* by human neutrophils is coupled with intracellular Dectin-1-triggered ROS production. *PLoS One*, 7: e50589.
- Lillegard, J. B., Sim, R. B., Thorkildson, P., Gates, M. A. & Kozel, T. R. (2006) Recognition of *Candida albicans* by mannan-binding lectin in vitro and in vivo. *J Infect Dis*, 193: 1589-97.
- Lin, C. H., Kabrawala, S., Fox, E. P., Nobile, C. J., Johnson, A. D. & Bennett, R. J. (2013) Genetic control of conventional and pheromone-stimulated biofilm formation in *Candida albicans*. *PLoS Pathog*, 9: e1003305.
- Marklein, G., Josten, M., Klanke, U., Müller, E., Horré, R., Maier, T., Wenzel, T., Kostrzewa, M., Bierbaum, G., Hoerauf, A. & Sahl, H. G. (2009) Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol*, 47: 2912-7.
- Matsushita, M., Endo, Y. & Fujita, T. (2013) Structural and functional overview of the lectin complement pathway: its molecular basis and physiological implication. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 61: 273-83.
- Maxwell, J. R., Yadav, R., Rossi, R. J., Ruby, C. E., Weinberg, A. D., Aguila, H. L. & Vella, A. T. (2006) IL-18 bridges innate and adaptive immunity through IFN-gamma and the CD134 pathway. *J Immunol*, 177: 234-45.
- McNamee, E. N., Masterson, J. C., Jedlicka, P., McManus, M., Grenz, A., Collins, C. B., Nold, M. F., Nold-Petry, C., Bufler, P., Dinarello, C. A. & Rivera-Nieves, J. (2011) Interleukin 37 expression protects mice from colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108: 16711-6.
- Meehan, T. F., Witherden, D. A., Kim, C. H., Sendaydiego, K., Ye, I., Garijo, O., Komori, H. K., Kumanogoh, A., Kikutani, H., Eckmann, L. & Havran, W. L. (2014) Protection against colitis by CD100-dependent modulation of intraepithelial  $\gamma\delta$  T lymphocyte function. *Mucosal Immunol*, 7: 134-42.
- Meelu, P., Marin, R., Clish, C., Zella, G., Cox, S., Yajnik, V., Nguyen, D. D. & Korzenik, J. R. (2014) Impaired innate immune function associated with fecal supernatant from Crohn's disease patients: insights into potential pathogenic role of the microbiome. *Inflamm Bowel Dis*, 20: 1139-46.
- Megyeri, M., Makó, V., Beinrohr, L., Doleschall, Z., Prohászka, Z., Cervenak, L., Závodszy, P. & Gál, P. (2009) Complement protease MASP-1 activates human endothelial cells: PAR4 activation is a link between complement and endothelial function. *J Immunol*, 183: 3409-16.
- Mencacci, A., Cenci, E., Del Sero, G., Fé d'Ostiani, C., Mosci, P., Trinchieri, G., Adorini, L. & Romani, L. (1998a) IL-10 is required for development of protective Th1 responses in IL-12-deficient mice upon *Candida albicans* infection. *J Immunol*, 161: 6228-37.



- Mencacci, A., Del Sero, G., Cenci, E., d'Ostiani, C. F., Bacci, A., Montagnoli, C., Kopf, M. & Romani, L. (1998b) Endogenous interleukin 4 is required for development of protective CD4+ T helper type 1 cell responses to *Candida albicans*. *J Exp Med*, 187: 307-17.
- Mencacci, A., Perruccio, K., Bacci, A., Cenci, E., Benedetti, R., Martelli, M. F., Bistoni, F., Coffman, R., Velardi, A. & Romani, L. (2001) Defective antifungal T-helper 1 (TH1) immunity in a murine model of allogeneic T-cell-depleted bone marrow transplantation and its restoration by treatment with TH2 cytokine antagonists. *Blood*, 97: 1483-90.
- Menegazzi, R., Declève, E. & Dri, P. (2012) Killing by neutrophil extracellular traps: fact or folklore? *Blood*, 119: 1214-6.
- Meylan, E., Burns, K., Hofmann, K., Blancheteau, V., Martinon, F., Kelliher, M. & Tschopp, J. (2004) RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol*, 5: 503-7.
- Mifsud, E. J., Tan, A. C. & Jackson, D. C. (2014) TLR Agonists as Modulators of the Innate Immune Response and Their Potential as Agents Against Infectious Disease. *Front Immunol*, 5: 79.
- Mille, C., Fradin, C., Delplace, F., Trinel, P. A., Masset, A., François, N., Coddeville, B., Bobrowicz, P., Jouault, T., Guerardel, Y., Wildt, S., Janbon, G. & Poulain, D. (2012) Members 5 and 6 of the *Candida albicans* BMT family encode enzymes acting specifically on  $\beta$ -mannosylation of the phospholipomannan cell-wall glycosphingolipid. *Glycobiology*, 22: 1332-42.
- Miller, A., Phillips, A., Gor, J., Wallis, R. & Perkins, S. J. (2012) Near-planar solution structures of mannose-binding lectin oligomers provide insight on activation of lectin pathway of complement. *J Biol Chem*, 287: 3930-45.
- Minchinton, R. M., Dean, M. M., Clark, T. R., Heatley, S. & Mullighan, C. G. (2002) Analysis of the relationship between mannose-binding lectin (MBL) genotype, MBL levels and function in an Australian blood donor population. *Scand J Immunol*, 56: 630-41.
- Mockenhaupt, F. P., Cramer, J. P., Hamann, L., Stegemann, M. S., Eckert, J., Oh, N. R., Otchwemah, R. N., Dietz, E., Ehrhardt, S., Schröder, N. W., Bienzle, U. & Schumann, R. R. (2006) Toll-like receptor (TLR) polymorphisms in African children: common TLR-4 variants predispose to severe malaria. *J Commun Dis*, 38: 230-45.
- Monteleone, G., Trapasso, F., Parrello, T., Biancone, L., Stella, A., Iuliano, R., Luzzza, F., Fusco, A. & Pallone, F. (1999) Bioactive IL-18 expression is up-regulated in Crohn's disease. *J Immunol*, 163: 143-7.
- Mora-Montes, H. M., Netea, M. G., Ferwerda, G., Lenardon, M. D., Brown, G. D., Mistry, A. R., Kullberg, B. J., O'Callaghan, C. A., Sheth, C. C., Odds, F. C., Brown, A. J., Munro, C. A. & Gow, N. A. (2011) Recognition and blocking of innate immunity cells by *Candida albicans* chitin. *Infect Immun*, 79: 1961-70.
- Moreno-Ruiz, E., Galán-Díez, M., Zhu, W., Fernández-Ruiz, E., d'Enfert, C., Filler, S. G., Cossart, P. & Veiga, E. (2009) *Candida albicans* internalization by host cells is mediated by a clathrin-dependent mechanism. *Cell Microbiol*, 11: 1179-89.
- Morgan, M. E., Koelink, P. J., Zheng, B., den Brok, M. H., van de Kant, H. J., Verspaget, H. W., Folkerts, G., Adema, G. J. & Kraneveld, A. D. (2014) Toll-like receptor 6 stimulation promotes T-helper 1 and 17 responses in gastrointestinal-associated lymphoid tissue and modulates murine experimental colitis. *Mucosal Immunol*, 7: 1266-77.
- Mouyna, I., Fontaine, T., Vai, M., Monod, M., Fonzi, W. A., Diaquin, M., Popolo, L., Hartland, R. P. & Latgé, J. P. (2000) Glycosylphosphatidylinositol-anchored glucanoyltransferases play an active role in the biosynthesis of the fungal cell wall. *J Biol Chem*, 275: 14882-9.
- Mow, W. S., Vasiliauskas, E. A., Lin, Y. C., Fleshner, P. R., Papadakis, K. A., Taylor, K. D., Landers, C. J., Abreu-Martin, M. T., Rotter, J. I., Yang, H. & Targan, S. R. (2004) Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease. *Gastroenterology*, 126: 414-24.
- Moyes, D. L., Runglall, M., Murciano, C., Shen, C., Nayar, D., Thavaraj, S., Kohli, A., Islam, A., Mora-Montes, H., Challacombe, S. J. & Naglik, J. R. (2010) A biphasic innate immune MAPK response discriminates between the yeast and hyphal forms of *Candida albicans* in epithelial cells. *Cell Host Microbe*, 8: 225-35.
- Munro, C. A. & Gow, N. A. (2001) Chitin synthesis in human pathogenic fungi. *Med Mycol*, 39 Suppl 1: 41-53.
- Murciano, C., Yáñez, A., Gil, M. L. & Gozalbo, D. (2007) Both viable and killed *Candida albicans* cells induce in vitro production of TNF-alpha and IFN-gamma in murine cells through a TLR2-dependent signalling. *Eur Cytokine Netw*, 18: 38-43.
- Müller, S., Schaffer, T., Flogerzi, B., Seibold-Schmid, B., Schneider, J., Takahashi, K., Darfeuille-Michaud, A., Vazeille, E., Schoepfer, A. M. & Seibold, F. (2010) Mannan-binding lectin deficiency results in unusual antibody production and excessive experimental colitis in response to mannose-expressing mild gut pathogens. *Gut*, 59: 1493-500.
- Naglik, J. R., Challacombe, S. J. & Hube, B. (2003) *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*, 67: 400-28, table of contents.
- Nahum, A., Dadi, H., Bates, A. & Roifman, C. M. (2011) The L412F variant of Toll-like receptor 3 (TLR3) is associated with cutaneous candidiasis, increased susceptibility to cytomegalovirus, and autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*, 127: 528-31.
- Naito, H., Ikeda, A., Hasegawa, K., Oka, S., Uemura, K., Kawasaki, N. & Kawasaki, T. (1999) Characterization of human serum mannan-binding protein promoter. *J Biochem*, 126: 1004-12.
- Nather, K. & Munro, C. A. (2008) Generating cell surface diversity in *Candida albicans* and other fungal pathogens. *FEMS Microbiol Lett*, 285: 137-45.
- Nerich, V., Monnet, E., Etienne, A., Louafi, S., Ramée, C., Rican, S., Weill, A., Vallier, N., Vanbockstael, V., Auleley, G. R., Allemand, H. & Carbonnel, F. (2006) Geographical variations of inflammatory bowel disease in France: a study based on national health insurance data. *Inflamm Bowel Dis*, 12: 218-26.
- Netea, M. G., Kullberg, B. J., de Jong, D. J., Franke, B., Sprong, T., Naber, T. H., Drenth, J. P. & Van der Meer, J. W. (2004a) NOD2 mediates anti-inflammatory signals induced by TLR2 ligands: implications for Crohn's disease. *Eur J Immunol*, 34: 2052-9.
- Netea, M. G., Suttmüller, R., Hermann, C., Van der Graaf, C. A., Van der Meer, J. W., van Krieken, J. H., Hartung, T., Adema, G. & Kullberg, B. J. (2004b) Toll-like receptor 2 suppresses immunity against *Candida albicans* through induction of IL-10 and regulatory T cells. *J Immunol*, 172: 3712-8.
- Netea, M. G., van de Veerdonk, F., Verschuere, I., van der Meer, J. W. & Kullberg, B. J. (2008) Role of TLR1 and TLR6 in the host defense against disseminated candidiasis. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 52: 118-23.
- Netea, M. G., Van Der Graaf, C. A., Vonk, A. G., Verschuere, I., Van Der Meer, J. W. & Kullberg, B. J. (2002) The role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 in the host defense against disseminated candidiasis. *J Infect Dis*, 185: 1483-9.
- Ngo, L. Y., Kasahara, S., Kumasaka, D. K., Knoblauch, S. E., Jhingran, A. & Hohl, T. M. (2014) Inflammatory monocytes mediate early and organ-specific innate defense during systemic candidiasis. *J Infect Dis*, 209: 109-19.

- Nielsen, R. G., Vind, I., Munkholm, P., Jensenius, J. C., Thiel, S., Steffensen, R. & Husby, S. (2007) Genetic polymorphisms of mannan binding lectin (MBL), serum levels of MBL, the MBL associated serine protease and H-ficolin in patients with Crohn's disease. *Gut*, 56: 311-2.
- Nieminen, J. K., Sipponen, T., Färkkilä, M. & Vaarala, O. (2014) Monocyte-derived dendritic cells from Crohn's disease patients exhibit decreased ability to activate T helper type 17 responses in memory cells. *Clin Exp Immunol*, 177: 190-202.
- Niewerth, M. & Korting, H. C. (2001) Phospholipases of *Candida albicans*. *Mycoses*, 44: 361-7.
- Nilsen, N., Nonstad, U., Khan, N., Knetter, C. F., Akira, S., Sundan, A., Espevik, T. & Lien, E. (2004) Lipopolysaccharide and double-stranded RNA up-regulate toll-like receptor 2 independently of myeloid differentiation factor 88. *J Biol Chem*, 279: 39727-35.
- Nobile, C. J., Nett, J. E., Andes, D. R. & Mitchell, A. P. (2006) Function of *Candida albicans* adhesin Hwp1 in biofilm formation. *Eukaryot Cell*, 5: 1604-10.
- Noguchi, E., Homma, Y., Kang, X., Netea, M. G. & Ma, X. (2009) A Crohn's disease-associated NOD2 mutation suppresses transcription of human IL10 by inhibiting activity of the nuclear ribonucleoprotein hnRNP-A1. *Nat Immunol*, 10: 471-9.
- O'Neill, L. A., Fitzgerald, K. A. & Bowie, A. G. (2003) The Toll-IL-1 receptor adaptor family grows to five members. *Trends Immunol*, 24: 286-90.
- Ogden, C. A., deCathelineau, A., Hoffmann, P. R., Bratton, D., Ghebrehiwet, B., Fadok, V. A. & Henson, P. M. (2001) C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. *J Exp Med*, 194: 781-95.
- Oh, D. Y., Baumann, K., Hamouda, O., Eckert, J. K., Neumann, K., Kücherer, C., Bartmeyer, B., Poggensee, G., Oh, N., Pruss, A., Jessen, H. & Schumann, R. R. (2009) A frequent functional toll-like receptor 7 polymorphism is associated with accelerated HIV-1 disease progression. *AIDS*, 23: 297-307.
- Oh, D. Y., Taube, S., Hamouda, O., Kücherer, C., Poggensee, G., Jessen, H., Eckert, J. K., Neumann, K., Storek, A., Pouliot, M., Borgeat, P., Oh, N., Schreier, E., Pruss, A., Hattermann, K. & Schumann, R. R. (2008) A functional toll-like receptor 8 variant is associated with HIV disease restriction. *J Infect Dis*, 198: 701-9.
- Ortega, M., Marco, F., Soriano, A., Almela, M., Martínez, J. A., López, J., Pitart, C. & Mensa, J. (2011) *Candida* species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008. *J Hosp Infect*, 77: 157-61.
- Osorio, F., LeibundGut-Landmann, S., Lochner, M., Lahl, K., Sparwasser, T., Eberl, G. & Reis e Sousa, C. (2008) DC activated via dectin-1 convert Treg into IL-17 producers. *Eur J Immunol*, 38: 3274-81.
- Ott, S. J., Kühbacher, T., Musfeldt, M., Rosenstiel, P., Hellmig, S., Rehman, A., Drews, O., Weichert, W., Timmis, K. N. & Schreiber, S. (2008) Fungi and inflammatory bowel diseases: Alterations of composition and diversity. *Scand J Gastroenterol*, 43: 831-41.
- Pagh, R., Duus, K., Laursen, I., Hansen, P. R., Mangor, J., Thielens, N., Arlaud, G. J., Kongerslev, L., Højrup, P. & Houen, G. (2008) The chaperone and potential mannan-binding lectin (MBL) co-receptor calreticulin interacts with MBL through the binding site for MBL-associated serine proteases. *FEBS J*, 275: 515-26.
- Pascual, V., Dieli-Crimi, R., López-Palacios, N., Bodas, A., Medrano, L. M. & Núñez, C. (2014) Inflammatory bowel disease and celiac disease: overlaps and differences. *World J Gastroenterol*, 20: 4846-56.
- Perthro, J., Choi, B. & Spellberg, B. (2007) Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med Mycol*, 45: 321-46.
- Phaneuf, L. R., Lillie, B. N., Hayes, M. A. & Turner, P. V. (2007) Single nucleotide polymorphisms in mannan-binding lectins and ficolins in various strains of mice. *Int J Immunogenet*, 34: 259-67.
- Pierik, M., Joossens, S., Van Steen, K., Van Schuerbeek, N., Vlietinck, R., Rutgeerts, P. & Vermeire, S. (2006) Toll-like receptor-1, -2, and -6 polymorphisms influence disease extension in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*, 12: 1-8.
- Pietrella, D., Pandey, N., Gabrielli, E., Pericolini, E., Perito, S., Kasper, L., Bistoni, F., Cassone, A., Hube, B. & Vecchiarelli, A. (2013) Secreted aspartic proteases of *Candida albicans* activate the NLRP3 inflammasome. *Eur J Immunol*, 43: 679-92.
- Pironi, L., Bonvicini, F., Gionchetti, P., D'Errico, A., Rizzello, F., Corsini, C., Foroni, L. & Gallinella, G. (2009) Parvovirus b19 infection localized in the intestinal mucosa and associated with severe inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol*, 47: 1591-5.
- Plantinga, T. S., Johnson, M. D., Scott, W. K., van de Vosse, E., Velez Edwards, D. R., Smith, P. B., Alexander, B. D., Yang, J. C., Kremer, D., Laird, G. M., Oosting, M., Joosten, L. A., van der Meer, J. W., van Dissel, J. T., Walsh, T. J., Perfect, J. R., Kullberg, B. J. & Netea, M. G. (2012) Toll-like receptor 1 polymorphisms increase susceptibility to candidemia. *J Infect Dis*, 205: 934-43.
- Poulain, D. & Jouault, T. (2004) *Candida albicans* cell wall glycans, host receptors and responses: elements for a decisive crosstalk. *Curr Opin Microbiol*, 7: 342-9.
- Poulain, D., Sendid, B., Standaert-Vitse, A., Fradin, C., Jouault, T., Jawhara, S. & Colombel, J. F. (2009) Yeasts: neglected pathogens. *Dig Dis*, 27 Suppl 1: 104-10.
- Poulain, D., Slomianny, C., Jouault, T., Gomez, J. M. & Trinel, P. A. (2002) Contribution of phospholipomannan to the surface expression of beta-1,2-oligomannosides in *Candida albicans* and its presence in cell wall extracts. *Infect Immun*, 70: 4323-8.
- Prescott, N. J., Fisher, S. A., Franke, A., Hampe, J., Onnie, C. M., Soars, D., Bagnall, R., Mirza, M. M., Sanderson, J., Forbes, A., Mansfield, J. C., Lewis, C. M., Schreiber, S. & Mathew, C. G. (2007) A nonsynonymous SNP in ATG16L1 predisposes to ileal Crohn's disease and is independent of CARD15 and IBD5. *Gastroenterology*, 132: 1665-71.
- Quezada, S. M., Rustgi, A., Jambaulikar, G. D. & Cross, R. K. (2015) Differential response to microbial antigens by age of diagnosis in patients with Crohn's disease. *Clin Exp Gastroenterol*, 8: 169-74.
- Quintin, J., Voigt, J., van der Voort, R., Jacobsen, I. D., Verschuere, I., Hube, B., Giamarellos-Bourboulis, E. J., van der Meer, J. W., Joosten, L. A., Kurzai, O. & Netea, M. G. (2014) Differential role of NK cells against *Candida albicans* infection in immunocompetent or immunocompromised mice. *Eur J Immunol*, 44: 2405-14.
- Rakhshandehroo, M., Stienstra, R., de Wit, N. J., Bragt, M. C., Haluzik, M., Mensink, R. P., Müller, M. & Kersten, S. (2012) Plasma mannose-binding lectin is stimulated by PPARα in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 302: E595-602.
- Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S. & Medzhitov, R. (2004) Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*, 118: 229-41.
- Ram, S. P., Sullivan, P. A. & Shepherd, M. G. (1983) The in situ assay of *Candida albicans* enzymes during yeast growth and germ-tube formation. *J Gen Microbiol*, 129: 2367-78.

- Ramage, G., VandeWalle, K., López-Ribot, J. L. & Wickes, B. L. (2002) The filamentation pathway controlled by the Efg1 regulator protein is required for normal biofilm formation and development in *Candida albicans*. *FEMS Microbiol Lett*, 214: 95-100.
- Rambourg, A., Clermont, Y., Ovtracht, L. & Képès, F. (1995) Three-dimensional structure of tubular networks, presumably Golgi in nature, in various yeast strains: a comparative study. *Anat Rec*, 243: 283-93.
- Reales-Calderón, J. A., Aguilera-Montilla, N., Corbí, Á., Molero, G. & Gil, C. (2014) Proteomic characterization of human proinflammatory M1 and anti-inflammatory M2 macrophages and their response to *Candida albicans*. *Proteomics*, 14: 1503-18.
- Renshaw, M., Rockwell, J., Engleman, C., Gewirtz, A., Katz, J. & Sambhara, S. (2002) Cutting edge: impaired Toll-like receptor expression and function in aging. *J Immunol*, 169: 4697-701.
- Ribeiro, C. H., Lynch, N. J., Stover, C. M., Ali, Y. M., Valck, C., Noya-Leal, F., Schwaeble, W. J. & Ferreira, A. (2015) Deficiency in mannose-binding lectin-associated serine protease-2 does not increase susceptibility to *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg*, 92: 320-4.
- Rivollier, A., He, J., Kole, A., Valatas, V. & Kelsall, B. L. (2012) Inflammation switches the differentiation program of Ly6Chi monocytes from antiinflammatory macrophages to inflammatory dendritic cells in the colon. *J Exp Med*, 209: 139-55.
- Robert, R., Nail, S., Marot-Leblond, A., Cottin, J., Miegerville, M., Quenouillere, S., Mahaza, C. & Senet, J. M. (2000) Adherence of platelets to *Candida* species in vivo. *Infect Immun*, 68: 570-6.
- Robinson, M. J., Osorio, F., Rosas, M., Freitas, R. P., Schweighoffer, E., Gross, O., Verbeek, J. S., Ruland, J., Tybulewicz, V., Brown, G. D., Moita, L. F., Taylor, P. R. & Reis e Sousa, C. (2009) Dectin-2 is a Syk-coupled pattern recognition receptor crucial for Th17 responses to fungal infection. *J Exp Med*, 206: 2037-51.
- Romani, L., Bistoni, F. & Puccetti, P. (2003) Adaptation of *Candida albicans* to the host environment: the role of morphogenesis in virulence and survival in mammalian hosts. *Curr Opin Microbiol*, 6: 338-43.
- Round, J. L., O'Connell, R. M. & Mazmanian, S. K. (2010) Coordination of tolerogenic immune responses by the commensal microbiota. *J Autoimmun*, 34: J220-5.
- Ruiz-Herrera, J., Elorza, M. V., Valentín, E. & Sentandreu, R. (2006) Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS Yeast Res*, 6: 14-29.
- Saeed, A., Baloch, K., Brown, R. J., Wallis, R., Chen, L., Dexter, L., McClure, C. P., Shakesheff, K. & Thomson, B. J. (2013) Mannan binding lectin-associated serine protease 1 is induced by hepatitis C virus infection and activates human hepatic stellate cells. *Clin Exp Immunol*, 174: 265-73.
- Saijo, S., Ikeda, S., Yamabe, K., Kakuta, S., Ishigame, H., Akitsu, A., Fujikado, N., Kusaka, T., Kubo, S., Chung, S. H., Komatsu, R., Miura, N., Adachi, Y., Ohno, N., Shibuya, K., Yamamoto, N., Kawakami, K., Yamasaki, S., Saito, T., Akira, S. & Iwakura, Y. (2010) Dectin-2 recognition of alpha-mannans and induction of Th17 cell differentiation is essential for host defense against *Candida albicans*. *Immunity*, 32: 681-91.
- Saitoh, T., Fujita, N., Jang, M. H., Uematsu, S., Yang, B. G., Satoh, T., Omori, H., Noda, T., Yamamoto, N., Komatsu, M., Tanaka, K., Kawai, T., Tsujimura, T., Takeuchi, O., Yoshimori, T. & Akira, S. (2008) Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1beta production. *Nature*, 456: 264-8.
- Sanders, T. J., McCarthy, N. E., Giles, E. M., Davidson, K. L., Haltall, M. L., Hazell, S., Lindsay, J. O. & Stagg, A. J. (2014) Increased production of retinoic acid by intestinal macrophages contributes to their inflammatory phenotype in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*, 146: 1278-88.e1-2.
- Sartor, R. B. (2005) Does *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis cause Crohn's disease? *Gut*, 54: 896-8.
- Sato, K., Yang, X. L., Yudate, T., Chung, J. S., Wu, J., Luby-Phelps, K., Kimberly, R. P., Underhill, D., Cruz, P. D. & Ariizumi, K. (2006) Dectin-2 is a pattern recognition receptor for fungi that couples with the Fc receptor gamma chain to induce innate immune responses. *J Biol Chem*, 281: 38854-66.
- Schepp-Berglind, J., Atkinson, C., Elvington, M., Qiao, F., Mannon, P. & Tomlinson, S. (2012) Complement-dependent injury and protection in a murine model of acute dextran sulfate sodium-induced colitis. *J Immunol*, 188: 6309-18.
- Schmechel, S., Konrad, A., Diegelmann, J., Glas, J., Wetzke, M., Paschos, E., Lohse, P., Göke, B. & Brand, S. (2008) Linking genetic susceptibility to Crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. *Inflamm Bowel Dis*, 14: 204-12.
- Schoepfer, A. M., Flogerzi, B., Seibold-Schmid, B., Schaffer, T., Kun, J. F., Pittet, V., Mueller, S. & Seibold, F. (2009) Low Mannan-binding lectin serum levels are associated with complicated Crohn's disease and reactivity to oligomannan (ASCA). *Am J Gastroenterol*, 104: 2508-16.
- Seibold, F., Boldt, A. B., Seibold-Schmid, B., Schoepfer, A. M., Flogerzi, B., Müller, S. & Kun, J. F. (2007) Deficiency for mannan-binding lectin is associated with antibodies to *Saccharomyces cerevisiae* in patients with Crohn's disease and their relatives. *Gut*, 56: 152.
- Seibold, F., Mörk, H., Tanza, S., Müller, A., Holzhüter, C., Weber, P. & Scheurlen, M. (1997) Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease: a family study. *Gut*, 40: 481-4.
- Sendid, B., Caillot, D., Baccouch-Humbert, B., Klingspor, L., Grandjean, M., Bonnin, A. & Poulain, D. (2003) Contribution of the Platelia *Candida*-specific antibody and antigen tests to early diagnosis of systemic *Candida tropicalis* infection in neutropenic adults. *J Clin Microbiol*, 41: 4551-8.
- Sendid, B., Colombel, J. F., Jacquinet, P. M., Faille, C., Fruit, J., Cortot, A., Lucidarme, D., Camus, D. & Poulain, D. (1996) Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's disease. *Clin Diagn Lab Immunol*, 3: 219-26.
- Sendid, B., Jouault, T., Coudriau, R., Camus, D., Odds, F., Tabouret, M. & Poulain, D. (2004) Increased sensitivity of mannanemia detection tests by joint detection of alpha- and beta-linked oligomannosides during experimental and human systemic candidiasis. *J Clin Microbiol*, 42: 164-71.
- Sendid, B., Jouault, T., Vitse, A., Fradin, C., Colombel, J. F. & Poulain, D. (2009) [Anti-glycan antibodies establish an unexpected link between *C. albicans* and Crohn disease]. *Med Sci (Paris)*, 25: 473-81.
- Sendid, B., Poirot, J. L., Tabouret, M., Bonnin, A., Caillot, D., Camus, D. & Poulain, D. (2002) Combined detection of mannanemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. *J Med Microbiol*, 51: 433-42.
- Seow, C. H., Stempak, J. M., Xu, W., Lan, H., Griffiths, A. M., Greenberg, G. R., Steinhart, A. H., Dotan, N. & Silverberg, M. S. (2009) Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *Am J Gastroenterol*, 104: 1426-34.

- Seyfarth, J., Garred, P. & Madsen, H. O. (2006) Extra-hepatic transcription of the human mannose-binding lectin gene (mbl2) and the MBL-associated serine protease 1-3 genes. *Mol Immunol*, 43: 962-71.
- Shaw, P. J., Lamkanfi, M. & Kanneganti, T. D. (2010) NOD-like receptor (NLR) signaling beyond the inflammasome. *Eur J Immunol*, 40: 624-7.
- Sheppard, D. C., Yeaman, M. R., Welch, W. H., Phan, Q. T., Fu, Y., Ibrahim, A. S., Filler, S. G., Zhang, M., Waring, A. J. & Edwards, J. E. (2004) Functional and structural diversity in the Als protein family of *Candida albicans*. *J Biol Chem*, 279: 30480-9.
- Sheriff, S., Chang, C. Y. & Ezekowitz, R. A. (1994) Human mannose-binding protein carbohydrate recognition domain trimerizes through a triple alpha-helical coiled-coil. *Nat Struct Biol*, 1: 789-94.
- Siakavellas, S. I. & Bamias, G. (2012) Role of the IL-23/IL-17 axis in Crohn's disease. *Discov Med*, 14: 253-62.
- Simondi, D., Mengozzi, G., Betteto, S., Bonardi, R., Ghignone, R. P., Fagoonee, S., Pellicano, R., Sguazzini, C., Pagni, R., Rizzetto, M. & Astegiano, M. (2008) Antigliadin antibodies as serological markers in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 14: 645-51.
- Simpson, S. J., Holländer, G. A., Mizoguchi, E., Allen, D., Bhan, A. K., Wang, B. & Terhorst, C. (1997) Expression of pro-inflammatory cytokines by TCR alpha beta+ and TCR gamma delta+ T cells in an experimental model of colitis. *Eur J Immunol*, 27: 17-25.
- Skjoedt, M. O., Hummelshøj, T., Palarasah, Y., Honore, C., Koch, C., Skjodt, K. & Garred, P. (2010) A novel mannose-binding lectin/ficolin-associated protein is highly expressed in heart and skeletal muscle tissues and inhibits complement activation. *J Biol Chem*, 285: 8234-43.
- Skjoedt, M. O., Roversi, P., Hummelshøj, T., Palarasah, Y., Rosbjerg, A., Johnson, S., Lea, S. M. & Garred, P. (2012) Crystal structure and functional characterization of the complement regulator mannose-binding lectin (MBL)/ficolin-associated protein-1 (MAP-1). *J Biol Chem*, 287: 32913-21.
- Smeekens, S. P., van de Veerdonk, F. L., Joosten, L. A., Jacobs, L., Jansen, T., Williams, D. L., van der Meer, J. W., Kullberg, B. J. & Netea, M. G. (2011) The classical CD14<sup>++</sup> CD16<sup>-</sup> monocytes, but not the patrolling CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> monocytes, promote Th17 responses to *Candida albicans*. *Eur J Immunol*, 41: 2915-24.
- Somasundaram, R., Nuij, V. J., van der Woude, C. J., Kuipers, E. J., Peppelenbosch, M. P. & Fuhler, G. M. (2013) Peripheral neutrophil functions and cell signalling in Crohn's disease. *PLoS One*, 8: e84521.
- Sprong, T., Jack, D. L., Klein, N. J., Turner, M. W., van der Ley, P., Steeghs, L., Jacobs, L., van der Meer, J. W. & van Deuren, M. (2004) Mannose binding lectin enhances IL-1beta and IL-10 induction by non-lipopolysaccharide (LPS) components of *Neisseria meningitidis*. *Cytokine*, 28: 59-66.
- Staab, J. F., Bradway, S. D., Fidel, P. L. & Sundstrom, P. (1999) Adhesive and mammalian transglutaminase substrate properties of *Candida albicans* Hwp1. *Science*, 283: 1535-8.
- Standaert-Vitse, A., Jouault, T., Vandewalle, P., Mille, C., Seddik, M., Sendid, B., Mallet, J. M., Colombel, J. F. & Poulain, D. (2006) *Candida albicans* is an immunogen for anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody markers of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 130: 1764-75.
- Standaert-Vitse, A., Sendid, B., Joossens, M., François, N., Vandewalle-EI Khoury, P., Branche, J., Van Kruiningen, H., Jouault, T., Rutgeerts, P., Gower-Rousseau, C., Libersa, C., Neut, C., Broly, F., Chamailard, M., Vermeire, S., Poulain, D. & Colombel, J. F. (2009) *Candida albicans* colonization and ASCA in familial Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*, 104: 1745-53.
- Stengaard-Pedersen, K., Thiel, S., Gadjeva, M., Møller-Kristensen, M., Sørensen, R., Jensen, L. T., Sjøholm, A. G., Fugger, L. & Jensenius, J. C. (2003) Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2. *N Engl J Med*, 349: 554-60.
- Stover, C. M., Lynch, N. J., Dahl, M. R., Hanson, S., Takahashi, M., Frankenberger, M., Ziegler-Heitbrock, L., Eperon, I., Thiel, S. & Schwaebble, W. J. (2003) Murine serine proteases MASP-1 and MASP-3, components of the lectin pathway activation complex of complement, are encoded by a single structural gene. *Genes Immun*, 4: 374-84.
- Stover, C. M., Lynch, N. J., Hanson, S. J., Windbichler, M., Gregory, S. G. & Schwaebble, W. J. (2004) Organization of the MASP2 locus and its expression profile in mouse and rat. *Mamm Genome*, 15: 887-900.
- Stuyt, R. J., Netea, M. G., van Krieken, J. H., van der Meer, J. W. & Kullberg, B. J. (2004) Recombinant interleukin-18 protects against disseminated *Candida albicans* infection in mice. *J Infect Dis*, 189: 1524-7.
- Su, J., Chen, T., Ji, X. Y., Liu, C., Yadav, P. K., Wu, R., Yang, P. & Liu, Z. (2013) IL-25 downregulates Th1/Th17 immune response in an IL-10-dependent manner in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 19: 720-8.
- Sutmoller, R. P., den Brok, M. H., Kramer, M., Bennink, E. J., Toonen, L. W., Kullberg, B. J., Joosten, L. A., Akira, S., Netea, M. G. & Adema, G. J. (2006) Toll-like receptor 2 controls expansion and function of regulatory T cells. *J Clin Invest*, 116: 485-94.
- Suzuki, A., Hanada, T., Mitsuyama, K., Yoshida, T., Kamizono, S., Hoshino, T., Kubo, M., Yamashita, A., Okabe, M., Takeda, K., Akira, S., Matsumoto, S., Toyonaga, A., Sata, M. & Yoshimura, A. (2001) CIS3/SOCS3/SSI3 plays a negative regulatory role in STAT3 activation and intestinal inflammation. *J Exp Med*, 193: 471-81.
- Tachibana, K., Takeuchi, K., Inada, H., Sugimoto, K., Ishimoto, K., Yamashita, M., Maegawa, T., Yamasaki, D., Osada, S., Tanaka, T., Rakugi, H., Hamakubo, T., Sakai, J., Kodama, T. & Doi, T. (2013) Human mannose-binding lectin 2 is directly regulated by peroxisome proliferator-activated receptors via a peroxisome proliferator responsive element. *J Biochem*, 154: 265-73.
- Takahashi, K., Chang, W. C., Takahashi, M., Pavlov, V., Ishida, Y., La Bonte, L., Shi, L., Fujita, T., Stahl, G. L. & Van Cott, E. M. (2011) Mannose-binding lectin and its associated proteases (MASPs) mediate coagulation and its deficiency is a risk factor in developing complications from infection, including disseminated intravascular coagulation. *Immunobiology*, 216: 96-102.
- Takahashi, K., Gordon, J., Liu, H., Sastry, K. N., Epstein, J. E., Motwani, M., Laursen, I., Thiel, S., Jensenius, J. C., Carroll, M. & Ezekowitz, R. A. (2002) Lack of mannose-binding lectin-A enhances survival in a mouse model of acute septic peritonitis. *Microbes Infect*, 4: 773-84.
- Takeda, K., Takeuchi, O. & Akira, S. (2002) Recognition of lipopeptides by Toll-like receptors. *J Endotoxin Res*, 8: 459-63.
- Takeuchi, O., Sato, S., Horiuchi, T., Hoshino, K., Takeda, K., Dong, Z., Modlin, R. L. & Akira, S. (2002) Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *J Immunol*, 169: 10-4.
- Targan, S. R., Landers, C. J., Yang, H., Lodes, M. J., Cong, Y., Papadakis, K. A., Vasiliauskas, E., Elson, C. O. & Hershberg, R. M. (2005) Antibodies to CBir1 flagellin define a unique response that is associated independently with complicated Crohn's disease. *Gastroenterology*, 128: 2020-8.

- Tavares, D., Ferreira, P. & Arala-Chaves, M. (2000) Increased resistance to systemic candidiasis in athymic or interleukin-10-depleted mice. *J Infect Dis*, 182: 266-73.
- Tavares, D., Ferreira, P. & Arala-Chaves, M. (2003) Increased resistance in BALB/c mice to reinfection with *Candida albicans* is due to immunoneutralization of a virulence-associated immunomodulatory protein. *Microbiology*, 149: 333-9.
- te Velde, A. A., van Kooyk, Y., Braat, H., Hommes, D. W., DelleMijn, T. A., Slors, J. F., van Deventer, S. J. & Vyth-Dreese, F. A. (2003) Increased expression of DC-SIGN+IL-12+IL-18+ and CD83+IL-12-IL-18- dendritic cell populations in the colonic mucosa of patients with Crohn's disease. *Eur J Immunol*, 33: 143-51.
- Teillet, F., Dublet, B., Andrieu, J. P., Gaboriaud, C., Arlaud, G. J. & Thielens, N. M. (2005) The two major oligomeric forms of human mannan-binding lectin: chemical characterization, carbohydrate-binding properties, and interaction with MBL-associated serine proteases. *J Immunol*, 174: 2870-7.
- Teillet, F., Lacroix, M., Thiel, S., Weilguny, D., Agger, T., Arlaud, G. J. & Thielens, N. M. (2007) Identification of the site of human mannan-binding lectin involved in the interaction with its partner serine proteases: the essential role of Lys55. *J Immunol*, 178: 5710-6.
- Tessarolli, V., Gasparoto, T. H., Lima, H. R., Figueira, E. A., Garlet, T. P., Torres, S. A., Garlet, G. P., Da Silva, J. S. & Campanelli, A. P. (2010) Absence of TLR2 influences survival of neutrophils after infection with *Candida albicans*. *Med Mycol*, 48: 129-40.
- Thia, K. T., Sandborn, W. J., Harmsen, W. S., Zinsmeister, A. R. & Loftus, E. V. (2010) Risk factors associated with progression to intestinal complications of Crohn's disease in a population-based cohort. *Gastroenterology*, 139: 1147-55.
- Thiel, S., Kolev, M., Degn, S., Steffensen, R., Hansen, A. G., Ruseva, M. & Jensenius, J. C. (2009) Polymorphisms in mannan-binding lectin (MBL)-associated serine protease 2 affect stability, binding to MBL, and enzymatic activity. *J Immunol*, 182: 2939-47.
- Thiel, S., Steffensen, R., Christensen, I. J., Ip, W. K., Lau, Y. L., Reason, I. J., Eiberg, H., Gadjeva, M., Ruseva, M. & Jensenius, J. C. (2007) Deficiency of mannan-binding lectin associated serine protease-2 due to missense polymorphisms. *Genes Immun*, 8: 154-63.
- Thielens, N. M., Cseh, S., Thiel, S., Vorup-Jensen, T., Rossi, V., Jensenius, J. C. & Arlaud, G. J. (2001) Interaction properties of human mannan-binding lectin (MBL)-associated serine proteases-1 and -2, MBL-associated protein 19, and MBL. *J Immunol*, 166: 5068-77.
- Thiesen, S., Janciauskiene, S., Uronen-Hansson, H., Agace, W., Högerkorp, C. M., Spee, P., Håkansson, K. & Grip, O. (2014) CD14(hi)HLA-DR(dim) macrophages, with a resemblance to classical blood monocytes, dominate inflamed mucosa in Crohn's disease. *J Leukoc Biol*, 95: 531-41.
- Tomalka, J., Ganesan, S., Azodi, E., Patel, K., Majmudar, P., Hall, B. A., Fitzgerald, K. A. & Hise, A. G. (2011) A novel role for the NLR4 inflammasome in mucosal defenses against the fungal pathogen *Candida albicans*. *PLoS Pathog*, 7: e1002379.
- Tortorano, A. M., Kibbler, C., Peman, J., Bernhardt, H., Klingspor, L. & Grillot, R. (2006) Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 27: 359-66.
- Travassos, L. H., Carneiro, L. A., Ramjeet, M., Hussey, S., Kim, Y. G., Magalhães, J. G., Yuan, L., Soares, F., Chea, E., Le Bourhis, L., Boneca, I. G., Allaoui, A., Jones, N. L., Nuñez, G., Girardin, S. E. & Philpott, D. J. (2010) Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nat Immunol*, 11: 55-62.
- Tremaine, W. J. (2012) Is indeterminate colitis determinable? *Curr Gastroenterol Rep*, 14: 162-5.
- Trinel, P. A., Delplace, F., Maes, E., Zanetta, J. P., Mille, C., Coddeville, B., Jouault, T., Strecker, G. & Poulain, D. (2005) *Candida albicans* serotype B strains synthesize a serotype-specific phospholipomannan overexpressing a beta-1,2-linked mannotriose. *Mol Microbiol*, 58: 984-98.
- Trinel, P. A., Jouault, T., Cutler, J. E. & Poulain, D. (2002a) Beta-1,2-mannosylation of *Candida albicans* mannoproteins and glycolipids differs with growth temperature and serotype. *Infect Immun*, 70: 5274-8.
- Trinel, P. A., Maes, E., Zanetta, J. P., Delplace, F., Coddeville, B., Jouault, T., Strecker, G. & Poulain, D. (2002b) *Candida albicans* phospholipomannan, a new member of the fungal mannose inositol phosphoceramide family. *J Biol Chem*, 277: 37260-71.
- Tulio, S., Faucz, F. R., Werneck, R. I., Olandoski, M., Alexandre, R. B., Boldt, A. B., Pedroso, M. L. & de Messias-Reason, I. J. (2011) MASP2 gene polymorphism is associated with susceptibility to hepatitis C virus infection. *Hum Immunol*, 72: 912-5.
- Török, H. P., Glas, J., Endres, I., Tonenchi, L., Teshome, M. Y., Wetzke, M., Klein, W., Lohse, P., Ochsenkühn, T., Folwaczny, M., Göke, B., Folwaczny, C., Müller-Myhsok, B. & Brand, S. (2009) Epistasis between Toll-like receptor-9 polymorphisms and variants in NOD2 and IL23R modulates susceptibility to Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*, 104: 1723-33.
- Uemura, K., Saka, M., Nakagawa, T., Kawasaki, N., Thiel, S., Jensenius, J. C. & Kawasaki, T. (2002) L-MBP is expressed in epithelial cells of mouse small intestine. *J Immunol*, 169: 6945-50.
- Ueno, A., Jijon, H., Chan, R., Ford, K., Hirota, C., Kaplan, G. G., Beck, P. L., Iacucci, M., Fort Gasia, M., Barkema, H. W., Panaccione, R. & Ghosh, S. (2013) Increased prevalence of circulating novel IL-17 secreting Foxp3 expressing CD4+ T cells and defective suppressive function of circulating Foxp3+ regulatory cells support plasticity between Th17 and regulatory T cells in inflammatory bowel disease patients. *Inflamm Bowel Dis*, 19: 2522-34.
- Ungaro, R., Fukata, M., Hsu, D., Hernandez, Y., Breglio, K., Chen, A., Xu, R., Sotolongo, J., Espana, C., Zaias, J., Elson, G., Mayer, L., Kosco-Vilbois, M. & Abreu, M. T. (2009) A novel Toll-like receptor 4 antagonist antibody ameliorates inflammation but impairs mucosal healing in murine colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 296: G1167-79.
- van Asbeck, E. C., Hoepelman, A. I., Scharringa, J., Herpers, B. L. & Verhoef, J. (2008) Mannose binding lectin plays a crucial role in innate immunity against yeast by enhanced complement activation and enhanced uptake of polymorphonuclear cells. *BMC Microbiol*, 8: 229.
- van de Veerndonk, F. L., Marijnissen, R. J., Kullberg, B. J., Koenen, H. J., Cheng, S. C., Joosten, I., van den Berg, W. B., Williams, D. L., van der Meer, J. W., Joosten, L. A. & Netea, M. G. (2009) The macrophage mannose receptor induces IL-17 in response to *Candida albicans*. *Cell Host Microbe*, 5: 329-40.
- van de Veerndonk, F. L., Plantinga, T. S., Hoischen, A., Smeekens, S. P., Joosten, L. A., Gilissen, C., Arts, P., Rosentul, D. C., Carmichael, A. J., Smits-van der Graaf, C. A., Kullberg, B. J., van der Meer, J. W., Lilić, D., Veltman, J. A. & Netea, M. G. (2011) STAT1 mutations in autosomal dominant chronic mucocutaneous candidiasis. *N Engl J Med*, 365: 54-61.
- Van der Graaf, C. A., Netea, M. G., Morré, S. A., Den Heijer, M., Verweij, P. E., Van der Meer, J. W. & Kullberg, B. J. (2006) Toll-like receptor 4 Asp299Gly/Thr399Ile polymorphisms are a risk factor for *Candida* bloodstream infection. *Eur Cytokine Netw*, 17: 29-34.

- van der Graaf, C. A., Netea, M. G., Verschueren, I., van der Meer, J. W. & Kullberg, B. J. (2005) Differential cytokine production and Toll-like receptor signaling pathways by *Candida albicans* blastoconidia and hyphae. *Infect Immun*, 73: 7458-64.
- Van der Sluis, M., De Koning, B. A., De Bruijn, A. C., Velcich, A., Meijerink, J. P., Van Goudoever, J. B., Büller, H. A., Dekker, J., Van Seuningen, I., Renes, I. B. & Einerhand, A. W. (2006) Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*, 131: 117-29.
- van Heel, D. A., Ghosh, S., Butler, M., Hunt, K. A., Lundberg, A. M., Ahmad, T., McGovern, D. P., Onnie, C., Negoro, K., Goldthorpe, S., Foxwell, B. M., Mathew, C. G., Forbes, A., Jewell, D. P. & Playford, R. J. (2005) Muramyl dipeptide and toll-like receptor sensitivity in NOD2-associated Crohn's disease. *Lancet*, 365: 1794-6.
- van Till, J. W., Modderman, P. W., de Boer, M., Hart, M. H., Beld, M. G. & Boermeester, M. A. (2008) Mannose-binding lectin deficiency facilitates abdominal *Candida* infections in patients with secondary peritonitis. *Clin Vaccine Immunol*, 15: 65-70.
- Vandewalle-El Khoury, P., Colombel, J. F., Joossens, S., Standaert-Vitse, A., Collot, M., Halfvarson, J., Ayadi, A., Landers, C. J., Vermeire, S., Rutgeerts, P., Targan, S. R., Chamaillard, M., Mallet, J. M., Sendid, B. & Poulain, D. (2008) Detection of antisynthetic mannoside antibodies (ASigmaMA) reveals heterogeneity in the ASCA response of Crohn's disease patients and contributes to differential diagnosis, stratification, and prediction. *Am J Gastroenterol*, 103: 949-57.
- Vatn, M. H. & Sandvik, A. K. (2015) Inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*, 50: 748-62.
- Vazeille, E., Buisson, A., Bringer, M. A., Goutte, M., Ouchchane, L., Hugot, J. P., de Vallée, A., Barnich, N., Bommelaer, G. & Darfeuille-Michaud, A. (2015) Monocyte-derived macrophages from Crohn's disease patients are impaired in the ability to control intracellular adherent-invasive *Escherichia coli* and exhibit disordered cytokine secretion profile. *J Crohns Colitis*, 9: 410-20.
- Veltkamp, C., Anstaett, M., Wahl, K., Möller, S., Gangl, S., Bachmann, O., Hardtke-Wolenski, M., Länger, F., Stremmel, W., Manns, M. P., Schulze-Osthoff, K. & Bantel, H. (2011) Apoptosis of regulatory T lymphocytes is increased in chronic inflammatory bowel disease and reversed by anti-TNF $\alpha$  treatment. *Gut*, 60: 1345-53.
- Vermeire, S., Wild, G., Kocher, K., Cousineau, J., Dufresne, L., Bitton, A., Langelier, D., Pare, P., Lapointe, G., Cohen, A., Daly, M. J. & Rioux, J. D. (2002) CARD15 genetic variation in a Quebec population: prevalence, genotype-phenotype relationship, and haplotype structure. *Am J Hum Genet*, 71: 74-83.
- Viitasalo, L., Niemi, L., Ashorn, M., Ashorn, S., Braun, J., Huhtala, H., Collin, P., Mäki, M., Kaukinen, K., Kurppa, K. & Iltaanen, S. (2014) Early microbial markers of celiac disease. *J Clin Gastroenterol*, 48: 620-4.
- Vijay-Kumar, M., Sanders, C. J., Taylor, R. T., Kumar, A., Aitken, J. D., Sitaraman, S. V., Neish, A. S., Uematsu, S., Akira, S., Williams, I. R. & Gewirtz, A. T. (2007) Deletion of TLR5 results in spontaneous colitis in mice. *J Clin Invest*, 117: 3909-21.
- Villar, C. C., Kashleva, H., Nobile, C. J., Mitchell, A. P. & Dongari-Bagtzoglou, A. (2007) Mucosal tissue invasion by *Candida albicans* is associated with E-cadherin degradation, mediated by transcription factor Rim101p and protease Sap5p. *Infect Immun*, 75: 2126-35.
- Voigt, J., Hünigler, K., Bouzani, M., Jacobsen, I. D., Barz, D., Hube, B., Löffler, J. & Kurzai, O. (2014) Human natural killer cells acting as phagocytes against *Candida albicans* and mounting an inflammatory response that modulates neutrophil antifungal activity. *J Infect Dis*, 209: 616-26.
- Vonk, A. G., Netea, M. G., van der Meer, J. W. & Kullberg, B. J. (2006a) Host defence against disseminated *Candida albicans* infection and implications for antifungal immunotherapy. *Expert Opin Biol Ther*, 6: 891-903.
- Vonk, A. G., Netea, M. G., van Krieken, J. H., Iwakura, Y., van der Meer, J. W. & Kullberg, B. J. (2006b) Endogenous interleukin (IL)-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  are crucial for host defense against disseminated candidiasis. *J Infect Dis*, 193: 1419-26.
- Walker, L. J., Aldhous, M. C., Drummond, H. E., Smith, B. R., Nimmo, E. R., Arnott, I. D. & Satsangi, J. (2004) Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) in Crohn's disease are associated with disease severity but not NOD2/CARD15 mutations. *Clin Exp Immunol*, 135: 490-6.
- Wallis, R., Shaw, J. M., Uitehaag, J., Chen, C. B., Torgersen, D. & Drickamer, K. (2004) Localization of the serine protease-binding sites in the collagen-like domain of mannose-binding protein: indirect effects of naturally occurring mutations on protease binding and activation. *J Biol Chem*, 279: 14065-73.
- Watanabe, T., Kitani, A., Murray, P. J. & Strober, W. (2004) NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nat Immunol*, 5: 800-8.
- Wehkamp, J., Salzman, N. H., Porter, E., Nuding, S., Weichenthal, M., Petras, R. E., Shen, B., Schaeffeler, E., Schwab, M., Linzmeier, R., Feathers, R. W., Chu, H., Lima, H., Fellermann, K., Ganz, T., Stange, E. F. & Bevins, C. L. (2005) Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102: 18129-34.
- Weinberg, I., Neuman, T., Margalit, M., Ayman, F., Wolf, D. G. & Ben-Yehuda, A. (2009) Epstein-barr virus-related diarrhea or exacerbation of inflammatory bowel disease: diagnostic dilemma. *J Clin Microbiol*, 47: 1588-90.
- Weindl, G., Naglik, J. R., Kaesler, S., Biedermann, T., Hube, B., Korting, H. C. & Schaller, M. (2007) Human epithelial cells establish direct antifungal defense through TLR4-mediated signaling. *J Clin Invest*, 117: 3664-72.
- Weis, W. I. & Drickamer, K. (1994) Trimeric structure of a C-type mannose-binding protein. *Structure*, 2: 1227-40.
- Wells, C. A., Salvage-Jones, J. A., Li, X., Hitchens, K., Butcher, S., Murray, R. Z., Beckhouse, A. G., Lo, Y. L., Manzanero, S., Cobbold, C., Schroder, K., Ma, B., Orr, S., Stewart, L., Lebus, D., Sobieszczuk, P., Hume, D. A., Stow, J., Blanchard, H. & Ashman, R. B. (2008) The macrophage-inducible C-type lectin, mincle, is an essential component of the innate immune response to *Candida albicans*. *J Immunol*, 180: 7404-13.
- Whitney, P. G., Bär, E., Osorio, F., Rogers, N. C., Schraml, B. U., Deddouche, S., LeibundGut-Landmann, S. & Reis e Sousa, C. (2014) Syk signaling in dendritic cells orchestrates innate resistance to systemic fungal infection. *PLoS Pathog*, 10: e1004276.
- Wolters, F. L., Russel, M. G., Sijbrandij, J., Schouten, L. J., Odes, S., Riis, L., Munkholm, P., Bodini, P., O'Morain, C., Mouzas, I. A., Tsianos, E., Vermeire, S., Monteiro, E., Limonard, C., Vatn, M., Fornaciari, G., Pereira, S., Moum, B., Stockbrügger, R. W. & (EC-IBD), E. C. s. g. o. I. B. D. (2006) Crohn's disease: increased mortality 10 years after diagnosis in a Europe-wide population based cohort. *Gut*, 55: 510-8.
- Woth, G., Tóké-Füzesi, M., Magyarlaci, T., Kovács, G. L., Vermes, I. & Mühl, D. (2012) Activated platelet-derived microparticle numbers are elevated in patients with severe fungal (*Candida albicans*) sepsis. *Ann Clin Biochem*, 49: 554-60.
- Wurfel, M. M., Gordon, A. C., Holden, T. D., Radella, F., Strout, J., Kajikawa, O., Ruzinski, J. T., Rona, G., Black, R. A., Stratton, S., Jarvik, G. P., Hajjar, A. M., Nickerson, D. A., Rieder, M., Sevransky, J., Maloney, J. P., Moss, M., Martin, G., Shanholtz, C., Garcia, J. G., Gao, L., Brower, R., Barnes, K. C., Walley, K. R., Russell, J. A. & Martin, T. R. (2008) Toll-like receptor 1 polymorphisms affect innate immune responses and outcomes in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*, 178: 710-20.

- Yamamoto, M., Sato, S., Hemmi, H., Uematsu, S., Hoshino, K., Kaisho, T., Takeuchi, O., Takeda, K. & Akira, S. (2003) TRAM is specifically involved in the Toll-like receptor 4-mediated MyD88-independent signaling pathway. *Nat Immunol*, 4: 1144-50.
- Yamamoto, M., Takeda, K. & Akira, S. (2004) TIR domain-containing adaptors define the specificity of TLR signaling. *Mol Immunol*, 40: 861-8.
- Yamazaki, K., McGovern, D., Ragoussis, J., Paolucci, M., Butler, H., Jewell, D., Cardon, L., Takazoe, M., Tanaka, T., Ichimori, T., Saito, S., Sekine, A., Iida, A., Takahashi, A., Tsunoda, T., Lathrop, M. & Nakamura, Y. (2005) Single nucleotide polymorphisms in TNFSF15 confer susceptibility to Crohn's disease. *Hum Mol Genet*, 14: 3499-506.
- Yano, J., Kolls, J. K., Happel, K. I., Wormley, F., Wozniak, K. L. & Fidel, P. L. (2012) The acute neutrophil response mediated by S100 alarmins during vaginal *Candida* infections is independent of the Th17-pathway. *PLoS One*, 7: e46311.
- Yeo, S. F. & Wong, B. (2002) Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev*, 15: 465-84.
- Zeissig, S., Bürgel, N., Günzel, D., Richter, J., Mankertz, J., Wahnschaffe, U., Kroesen, A. J., Zeitz, M., Fromm, M. & Schulzke, J. D. (2007) Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut*, 56: 61-72.
- Zhang, L., Day, A., McKenzie, G. & Mitchell, H. (2006) Nongastric *Helicobacter* species detected in the intestinal tract of children. *J Clin Microbiol*, 44: 2276-9.
- Zundel, S., Cseh, S., Lacroix, M., Dahl, M. R., Matsushita, M., Andrieu, J. P., Schwaebler, W. J., Jensenius, J. C., Fujita, T., Arlaud, G. J. & Thielens, N. M. (2004) Characterization of recombinant mannan-binding lectin-associated serine protease (MASP)-3 suggests an activation mechanism different from that of MASP-1 and MASP-2. *J Immunol*, 172: 4342-50.