

LE SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE ET L'UNITÉ NEURO-GLIO-ÉPITHÉLIALE DIGESTIVE

THE ENTERIC NERVOUS SYSTEM AND THE DIGESTIVE NEURONAL-GLIAL-EPITHELIAL UNIT

Par Michel NEUNLIST⁽¹⁾ et Malwyne ROLLI-DERKINDEREN⁽¹⁾
(Communication présentée le 18 octobre 2012)

RÉSUMÉ

En dépit d'une apparente simplicité, le tube digestif est probablement l'un des organes les plus complexes du corps humain. En effet, la complexité des fonctions digestives nécessite une régulation extrêmement fine, permettant à la fois de diriger les nutriments vers les sites spécialisés d'absorption du tube digestif, de contrôler leur absorption, et de protéger notre corps de l'agression par des facteurs environnementaux délétères (bactéries, toxiques...). L'ensemble de ces fonctions est assuré par un véritable deuxième cerveau : le système nerveux entérique (SNE). Les neurones et les cellules gliales entériques qui forment le SNE régulent la motilité digestive, mais aussi les fonctions de barrière de l'épithélium intestinal. La proximité physique des neurones ainsi que des cellules gliales et épithéliales intestinales, mais aussi et surtout leurs inter-régulations nous a permis de définir le nouveau concept d'unité-neuro-glio-épithéliale. Le SNE est un régulateur clef des fonctions digestives et participe également au développement de pathologies digestives.

Mots-clés : système nerveux entérique, cellules gliales intestinales, barrière épithéliale intestinale.

SUMMARY

In spite of its apparent simplicity, the digestive tract is probably one of the most complex organs of the human body. The complexity of the digestive functions requires an extremely fine regulation, to direct nutrients towards sites dedicated to absorption, to control their absorption, and protect our body against adverse environmental factors (bacteria, toxins...). All these functions are controlled by a second brain: the enteric nervous system (ENS). Neurons and enteric glial cells, which form the ENS, regulate gastrointestinal motility as well as intestinal barrier functions. The physical proximity of neurons and of glial and epithelial intestinal cells, and especially their inter-regulation have led to the definition of the new concept of neuronal-glial-epithelial unit. The ENS is a key regulator of digestive functions, and is also involved in the development of digestive disorders.

Key words: enteric nervous system, enteric glial cells, intestinal epithelial barrier.

LE SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE

Organisation

Le système nerveux entérique (SNE) est un système nerveux intégratif situé tout le long du tube digestif, faisant de ce dernier le deuxième organe le plus riche en neurones après le cerveau. Il est organisé en plexi distincts formés de structures ganglionnaires connectées les unes aux autres par des fibres inter-ganglionnaires. Le nombre de ces plexi, de deux chez le

rat, la souris ou le cobaye, peut atteindre plus de neuf chez l'homme (Schemann & Neunlist, 2004). Parmi les principaux plexi figure le plexus myentérique, situé entre les couches musculaires circulaires et longitudinales, et le plexus sous-muqueux, situé entre la couche musculaire circulaire et la muqueuse (Wedel *et al.* 1999) (**figure 1**). Bien qu'appartenant au système nerveux autonome, le SNE est sous l'influence du système nerveux central (SNC) (Wilhelmsen, 2000 ; Furness *et al.* 2001 ; Blackshaw *et al.* 2007). En effet, il est innervé par le nerf vague avec un gradient de densité d'innervation antéro-

(1) Inserm, U913, Université de Nantes et CHU, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Nantes, F-44093, France.

postérieur de l'estomac jusqu'au colon transverse (Schemann & Grundy, 1992 ; Altschuler *et al.* 1993 ; Lebouvier *et al.* 2009). Sa partie colique distale est innervée par le nerf pelvien. L'activation du système nerveux parasympathique conduit à une augmentation de l'excitabilité des neurones entériques. Le SNE est aussi innervé par les neurones post-ganglionnaires sympathiques issus des ganglions cœliaques (estomac-duodénum-jéjunum), mésentérique supérieur (iléon, colon proximal) et inférieur (colon distal). L'activation des neurones sympathiques conduit à une inhibition de l'excitabilité des neurones entériques (Ratcliffe, 2011; Furness, 2012).

Neurones et cellules gliales entériques

Le SNE est constitué de deux types cellulaires particuliers : les neurones et les cellules gliales entériques (CGE) (Gulbrandsen & Sharkey, 2012). Ces dernières ont des propriétés morphologiques semblables à celles des astrocytes du SNC et se distinguent aussi des cellules de Schwann périphériques (Gabella, 1971; Cook & Burnstock, 1976). Des études récentes suggèrent l'existence de cellules souches neurales chez l'adulte au sein du SNE (Laranjeira *et al.* 2011). La capacité du SNE à générer des réflexes (indépendamment de tout contrôle par le SNC) est due à la présence de trois types, fonctionnellement et neurochimiquement distincts, de neurones: des neurones sensitifs intrinsèques, des inter-neurones et des neurones moteurs. Ces derniers innervent l'ensemble des types cellulaires du type digestif (cellules musculaires, épithéliales, immunitaires, endothéliales). D'une manière générale, les neurones régulant les fonctions motrices du tube digestif sont situés dans le plexus myentérique, alors que ceux impliqués dans le contrôle des fonctions de la muqueuse sont situés dans le plexus sous-muqueux (Grundy *et al.* 2006).

Origine et évolution du SNE au cours de la vie

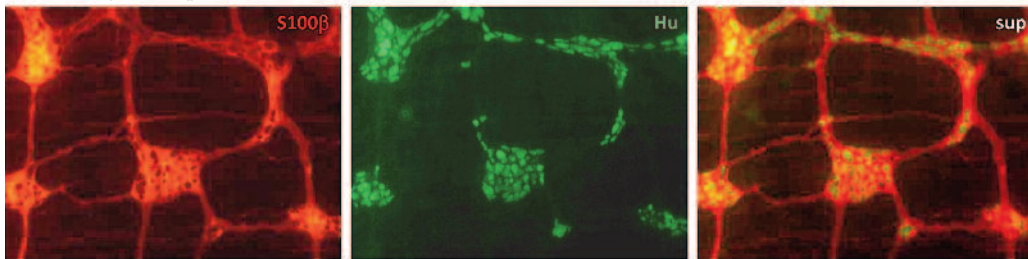
Les constituants du SNE sont issus des cellules de la crête neurale (CCN) qui colonisent l'ensemble du tube digestif durant l'embryogénèse (Heanue & Pachnis, 2007). Les CCN vagales

migrent initialement dans l'œsophage et l'estomac avant de coloniser l'intestin dans le sens antéro-postérieur. Chez la souris, les CCN entrent dans l'estomac à E9 (nombre de jours de développement embryonnaire) et atteignent l'extrémité anale du colon à E14.5. Cette colonisation représente la plus longue migration cellulaire durant le développement embryonnaire. Chez l'homme, elle dure environ trois semaines et le colon est colonisé à la fin de neuf semaines de gestation (Wallace & Burns, 2005). Les CCNs forment d'abord le plexus myentérique et, dans un second temps, donnent naissance au plexus sous-muqueux (provenant de CCN situées dans le plexus myentérique). Durant le reste de la période anténatale, les processus de maturation du SNE se poursuivent par l'apparition de différentes populations ayant un phénotype neurochimique propre (Laranjeira & Pachnis, 2009). Cette période est aussi le temps d'une maturation du comportement électrophysiologique des neurones. Néanmoins, les processus de maturation du SNE se poursuivent de manière importante durant la période post-natale. Ces modifications ne sont pas surprenantes au vu :

- 1) des profondes modifications de l'environnement du tube digestif et en particulier, de sa colonisation par le microbiote durant cette période et
- 2) de la nécessité de tube digestif à assurer pleinement, dès les premiers instants suivant la naissance, son rôle de source de nutriments pour le nouveau-né.

Ainsi, il a été montré que la période post-natale est associée à une plasticité du phénotype neurochimique, caractérisée par une augmentation de la proportion de neurones cholinergiques responsables du développement de la motricité colique chez ces animaux (Roberts *et al.* 2007 ; de Vries *et al.* 2010). L'évolution du SNE au cours du jeune âge et de l'adolescence reste en revanche encore mal connue. Des données récentes suggèrent qu'il existe dans l'estomac, mais non dans l'intestin (jéjunum), une perte neuronale associée à un ralentissement « physiologique » de la vidange gastrique (Baudry *et al.* 2012). Au cours du vieillissement, une perte neuronale a été mise en évi-

Plexus myentérique



Plexus sous-muqueux

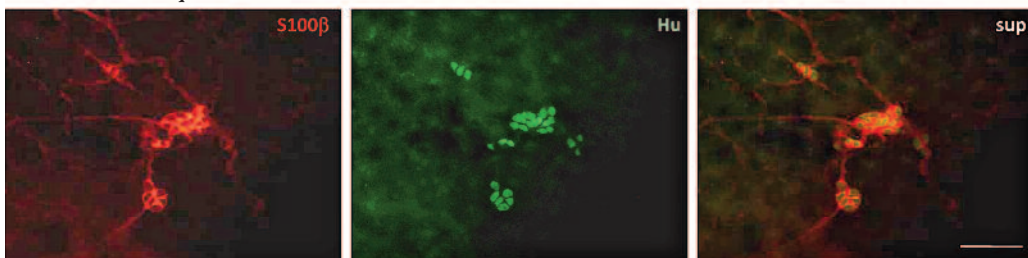


Figure 1 : Le système nerveux entérique est organisé en plexus myentérique et sous-muqueux chez le rat. Un immunomarquage des corps cellulaires neuronaux (anticorps anti-Hu) et du cytoplasme des cellules gliales (anticorps anti-S100) permet de visualiser quand nous superposons les deux marquages (sup) les structures ganglionnaires connectées les unes aux autres par des fibres inter-ganglionnaires. Le plexus myentérique forme un réseau plus structuré et plus dense que le plexus sous-muqueux (échelle 100µm).

dence dans le SNE. Restreinte principalement au plexus myentérique, elle ne semble pas affecter les neurones sous-muqueux (Bernard *et al.* 2009). Néanmoins, certaines études suggèrent que cette perte neuronale pourrait être un artefact due à la dilatation du tube digestif conduisant à une diminution de la densité neuronale.

LES FONCTIONS DU SNE

Le circuit neuronal responsable du péristaltisme intestinal

La grande majorité des études réalisées au cours de ces trente dernières années a visé à mieux comprendre le rôle du SNE dans le contrôle des principales fonctions motrices du tube digestif. De ces expériences réalisées dans différentes espèces animales (cobaye, rat, souris, porc, homme), il semble que les principales caractéristiques des circuits neuronaux responsables des fonctions motrices, en particulier du péristaltisme, soient largement conservées entre les espèces (Schemann & Neunlist, 2004).

L'activité péristaltique du tube digestif résulte d'une contraction en amont du bol alimentaire et, de manière simultanée, d'une relaxation en aval (Huizinga & Lammers, 2009). La répétition coordonnée de cette activité sur un segment conduit à la propagation du bol alimentaire dans le sens antéro-postérieur. L'activité péristaltique peut être déclenchée par différents stimulus chimiques (glucose, pH, acide gras à chaînes courtes) ou mécaniques (distension du muscle, frottement de la muqueuse) (Gershon, 2005). Un des éléments central et déclenchant du réflexe est la cellule entérochromaffine. En effet, ces cellules de l'épithélium digestif libèrent, en réponse à un stimulus mécanique ou chimique, différents médiateurs (sérotonine ou ATP) à proximité des terminaisons des neurones sensitifs entériques. La sérotonine active alors, par des récepteurs 5HT_{1p}, les neurones sensitifs intrinsèques. Ces neurones conduisent ensuite, après l'activation d'interneurones, à l'activation de deux catégories phénotypiquement distinctes de neurones innervant le muscle circulaire. D'une part, les neurones dont l'axone projette dans la direction ascendante synthétisent de l'acétylcholine (ACh) et de la substance P (SP) et sont des neurones moteurs excitateurs. D'autre part, des neurones dont l'axone projette dans la direction descendante (anale) synthétisent des neuromédiateurs tels que le monoxyde d'azote (NO), le peptide vasoactif intestinal (VIP) ou l'ATP et sont des neurones moteurs inhibiteurs. La libération d'ACh ou de SP par les motoneurones excitateurs induit une contraction musculaire en amont du stimulus. Celle de NO, d'ATP ou de VIP par les motoneurones inhibiteurs induit une relaxation musculaire en aval du stimulus (Furness, 2012). Après l'activation de ces neurones, il se produit une activation retardée de neurones excitateurs dans la partie anale. Cette contraction permet le rétablissement d'un tonus de base dans la partie distale relâchée et facilite ainsi la détection du bol alimentaire et la régénération de ce réflexe et la propagation du bol.

Régulation des fonctions de la barrière épithéliale intestinale par le SNE :

Un nombre croissant d'études se sont intéressées, au cours de ces dernières années, au rôle du SNE dans le contrôle des fonctions de la muqueuse intestinale. Ce regain d'intérêt résulte du fait qu'un grand nombre de maladies digestives motrices (achalasie, dyspepsie, syndrome de l'intestin irritable) ou non sont reconnues de plus en plus comme des maladies inflammatoires associées à des dysfonctions non seulement des cellules immunitaires, mais aussi de la barrière épithéliale intestinale (BEI) (Neunlist *et al.* 2012).

La barrière épithéliale intestinale

La BEI est formée par une monocouche de cellules épithéliales intestinales, tapissant le tube digestif de l'estomac au rectum. Ces cellules sont issues des cellules souches épithéliales et se différencient en différents sous-types (cellules à mucus ; cellules sécrétrices ; cellules absorbantes) lors de leur migration le long de l'axe crypto-villositaire (Sancho *et al.* 2003). La BEI a une fonction double : d'une part, elle permet le passage de nutriments et d'électrolytes par des mécanismes de transport passifs et/ou actifs) et d'autre part, limite le passage d'agents pathogènes. L'absorption de nutriments et d'électrolytes est régulée en partie par des processus de perméabilité paracellulaire et ou transcellulaire.

La fonction de barrière est assurée d'une part, par une barrière physique constituée du tapis de cellules épithéliales jointes les unes aux autres et d'autre part, par une barrière physico-chimique résultant de la production d'électrolytes, de mucus et de peptides anti microbiens, limitant ainsi largement tout contact direct entre bactéries et cellules de la BEI (Rescigno, 2011).

La perméabilité paracellulaire est contrôlée principalement par les jonctions serrées (JS) (Turner, 2000). Brièvement, les jonctions serrées sont constituées de protéines membranaires (occludine, claudines, junctional adhesion molecules ou JAM) connectées au cytosquelette (actine et myosine) des cellules épithéliales par un complexe multi-protéique composé de protéines de la famille des zonula occludens (ZO-1,2,3) et de la cinguline (Severson *et al.* 2009 ; Vetrano & Danese, 2009). Cette organisation structurale et moléculaire permet, soit une régulation rapide de la perméabilité par des modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation de ZO-1 (Ciccocioppo *et al.* 2006) et celle de la chaîne légère de la myosine (MLC pour *Myosin Light Chain*) par la kinase MLCK, aboutissant à la contraction du cytosquelette (Su *et al.* 2009), soit une régulation plus lente en modifiant la composition et/ou le taux d'expression des molécules des JS (Amasheh *et al.* 2008). Une autre fonction importante de la BEI assurant l'intégrité de l'organisme est sa capacité de réparation et de régénération après des abrasions physiologiques ou pathologiques (Bliklager *et al.* 1999). La réparation met en jeu des processus, concomitants ou non, d'étalement, de migration cellulaire, suivis de processus de prolifération/différenciation de cellules épi-

théliales (Sturm & Dignass, 2008). Au cours de ces processus, les interactions entre les protéines jonctionnelles et les composants de la lame basale (intégrines, laminine, fibronectine) jouent un rôle central (Severson *et al.* 2009).

Des dysfonctions de la BEI conduisant à un 'intestin hyperperméable' ou *leaky gut* sont de plus en plus reconnues comme jouant un rôle central non seulement dans les processus physiopathologiques mais aussi étiologiques de maladies digestives comme les maladies chroniques inflammatoires intestinales ou le syndrome de l'intestin irritable, ou extra-digestives comme l'obésité, les maladies neuro-dégénératives (maladie de Parkinson), psychiatriques (autisme) ou auto-immunes (Weber *et al.* 2003 ; Vaarala *et al.* 2008 ; de Magistris *et al.* 2010 ; Tlaskalova-Hogenova *et al.* 2011). Dans ce contexte, des approches visant à renforcer la BEI pour prévenir ou ralentir l'évolution de la maladie et/ou prendre en charge les symptômes représentent une nouvelle voie de recherche thérapeutique prometteuse.

Il est maintenant bien établi que les fonctions de la BEI sont sous l'influence de son microenvironnement, qu'il soit luminal (microbiote, nutriments) ou 'intérieur' (cellules immunitaires, fibroblastes). Plus récemment, différentes études ont mis en évidence un nouvel acteur impliqué dans la régulation de ces fonctions clés de la BEI, c'est à dire le SNE.

L'unité neuro-glio-épithéliale digestive : UNGE

Le concept d'UNGE s'est développé récemment sur la base de données anatomiques montrant :

- 1) l'existence d'une importante innervation de la BEI composée d'axones et de cellules gliales, chaque villus étant innervé par 70–92 neurones sous-muqueux chez le cobaye (Song *et al.* 1995) et
- 2) la proximité étroite entre les fibres nerveuses et les CEI, séparées uniquement par la lame basale dont l'épaisseur est de l'ordre du micromètre (Neunlist *et al.* 2007 ; Van Landeghem *et al.* 2011).

Cette organisation anatomique fonde les bases d'interactions paracrines potentielles, bi/tri-directionnelles, entre ses composants. D'autre part, elle rappelle celle existant dans la barrière hémato-encéphalique entre neurones, astrocytes et cellules endothéliales (Savidge *et al.* 2007b). Des données fonctionnelles récentes ont permis de révéler la nature de ces interactions et leurs implications dans le contrôle de fonctions clés de la BEI par le SNE (Neunlist *et al.* 2012) et, inversement, l'existence d'une modulation des fonctions du SNE par les constituants de la BEI.

Contrôle des fonctions de la BEI par les neurones entériques

Différentes études montrent que l'activation des neurones entériques, soit directement, soit indirectement par l'activation du système nerveux parasympathique (neurostimulation du nerf vague ou des racines sacrées), conduit à un renforcement de la BEI caractérisé par une diminution de la perméabilité paracellulaire.

En effet, *ex vivo*, la stimulation électrique de neurones entériques sous-muqueux humains induit une diminution de la perméabilité paracellulaire associée à une augmentation de l'expression des transcrits et du taux d'une protéine clef des jonctions serrées, ZO-1 (Neunlist *et al.* 2003). Les effets de l'activation du SNE sur la BEI sont dus à la libération de VIP. Plus récemment, une étude a montré, dans un modèle murin, que le VIP prévenait l'augmentation de la perméabilité de la BEI et les modifications de l'expression de ZO-1 induite par *Citrobacter rodentium* (Conlin *et al.* 2009), probablement en inhibant l'induction de la phosphatase de la chaîne légère de la myosine (pMLC). D'autre part, la neurostimulation du nerf vague prévient l'augmentation de la perméabilité paracellulaire de la BEI consécutives à des brûlures corporelles et ce, indépendamment des effets anti-inflammatoires systémiques connus de la stimulation vagale (Costantini *et al.* 2010). Dans un modèle porcin, la stimulation bilatérale des racines sacrées conduit à une diminution de la perméabilité paracellulaire (Meurette *et al.* 2012). De manière intéressante, l'acétylcholine, un des principaux neuromédiateurs du SNE, augmente quant à lui la perméabilité paracellulaire (Boudry *et al.* 2011). Ainsi, les neurones entériques ont la capacité de moduler différenciellement la perméabilité paracellulaire en fonction du type de neuromédiateurs libérés.

Contrôle des fonctions de la BEI par les cellules gliales entériques

Une des principales avancées récentes en neurogastroentérologie a été la mise en évidence du rôle majeur joué par les cellules gliales entériques (CGE) en physiologie digestive et en particulier, leur rôle dans le maintien de l'intégrité de la BEI.

Ces travaux ont débuté avec le développement de modèles transgéniques d'ablation des CGE (Bush *et al.* 1998 ; Cornet *et al.* 2001; Aube *et al.* 2006) car, contrairement aux neurones, il n'existe actuellement aucune méthode capable d'activer ou d'inhiber ces cellules inexcitables. L'ablation des CGE conduit à une rupture de la BEI intestinale associée à une inflammation intestinale majeure et létale. De manière intéressante, cette inflammation intestinale est précédée par une augmentation de la perméabilité paracellulaire de la BEI, suggérant un rôle direct des CGE dans le contrôle de ces fonctions (Aube *et al.* 2006). L'utilisation de modèle de coculture CGE /CEI a permis d'étudier le rôle direct des CGE sur les fonctions de la BEI et d'identifier des médiateurs gliaux et les mécanismes impliqués. En particulier, grâce à ces modèles, nous avons montré que les CGE réduisent la perméabilité paracellulaire de la BEI par l'intermédiaire de la production de S-nitroso-L-glutathione, donneur de NO (GSNO). Cette diminution de perméabilité est associée à une augmentation de l'expression de protéines des jonctions serrées (ZO-1 ; occludine) induite par les CGE ou le GSNO (Savidge *et al.* 2007a). Cette capacité des CGE à renforcer la BEI a aussi été mise en évidence plus récemment dans un modèle d'agression de la BEI par un pathogène entéro-invasif, *Shigella flexneri* (*S. flexneri*). Les lésions de la BEI induites par *S. flexneri*, dans des explants de muqueuse humaine ou directement dans des lignées de CEI, étaient réduites en présence de CGE mais pas

de myofibroblastes. Ces effets étaient dus en partie à l'action du GSNO qui diminuait l'expression d'une petite protéine G nécessaire à l'invasion de *S flexneri* dans les CEI (Flamant, 2011). Outre leur rôle protecteur de la BEI, les CGE favorisent les processus de sa réparation après lésions, à la fois *in vivo* et *in vitro*, en favorisant l'étalement des CEI. Ces effets sont dus en partie à la production et à la libération du *pro-epidermic growth factor* (proEGF) par les CGE, conduisant à l'activation des récepteurs EGFR sur les CEI et la stimulation de ces récepteurs entraîne l'activation de la *focal adhesion kinase* ou FAK (Van Landeghem *et al.* 2011). Enfin, les CGE jouent un rôle majeur dans le contrôle de la prolifération des CEI. Ainsi, les CGE inhibent la

prolifération des CEI par la libération du *transforming growth factor* $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) ou de la 15-deoxy-12,14-prostaglandine J2 (15dPGJ2) (Neunlist *et al.* 2007 ; Bach-Ngohou *et al.* 2010). D'autre part, l'ablation des CGE *in vivo* conduit à une hyperplasie des cryptes et une hyper-prolifération des CEI.

En conclusion, les CGE peuvent être considérées comme un constituant clef du microenvironnement de la BEI impliqué directement dans le contrôle de l'homéostasie et le maintien de la BEI. De plus, de par leurs capacités neuroprotectrices et régulatrices de l'expression de neuromédiateurs, les CGE peuvent aussi moduler le contrôle nerveux des fonctions de la BEI.

BIBLIOGRAPHIE

- Altschuler, S.M., Escardo, J., Lynn, R.B., Miselis, R.R. 1993. The central organization of the vagus nerve innervating the colon of the rat. *Gastroenterology* 104(2): 502–509.
- Amasheh, M., Schlichter, S., Amasheh, S., Mankertz, J., Zeitz, M., Fromm, M., Schulzke, J.D. 2008. Quercetin enhances epithelial barrier function and increases claudin-4 expression in Caco-2 cells. *The Journal of nutrition* 138 (6):1067–1073.
- Aube, AC, Cabarrocas, J, Bauer, J, Philippe, D, Aubert, P, Doulay, F, Liblau, R, Galmiche, JP, Neunlist, M. 2006. Changes in enteric neurone phenotype and intestinal functions in a transgenic mouse model of enteric glia disruption. *Gut* 55(5):630–637.
- Bach-Ngohou, K, Mahe, MM, Aubert, P, Abdo, H, Boni, S, Bourreille, A, Denis, MG, Lardeux, B, Neunlist, M, Masson, D. 2010. Enteric glia modulate epithelial cell proliferation and differentiation through 15-deoxy-12, 14-prostaglandin J2. *The Journal of physiology* 588(Pt 14):2533–2544.
- Baudry, C., Reichardt, F, Marchix, J, Bado, A., Schemann, M., des Varannes, S.B., Neunlist, M., Moriez, R. 2012. Diet-induced obesity has neuroprotective effects in murine gastric enteric nervous system: involvement of leptin and glial cell line-derived neurotrophic factor. *The Journal of physiology* 590(Pt 3):533–544.
- Bernard, C.E., Gibbons, S.J., Gomez-Pinilla, P.J., Lurken, M.S., Schmalz, P.F., Roeder, J.L., Linden, D., Cima, R.R., Dozois, E.J., Larson, D.W. *et al.* 2009. Effect of age on the enteric nervous system of the human colon. *Neurogastroenterol Motil.* 21 (7):746–e746.
- Blackshaw, L.A., Brookes, S.J., Grundy, D., Schemann, M. 2007. Sensory transmission in the gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol Motil.* 19 (Suppl.1):1–19.
- Blikslager, A.T., Rhoads, J.M., Bristol, D.G., Roberts, M.C., Argenzio, R.A. 1999. Glutamine and transforming growth factor- α stimulate extracellular regulated kinases and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. *Surgery* 125 (2):186–194.
- Boudry, G., Morise, A., Seve, B., Le Huérou-Luron, I. 2011. Effect of milk formula protein content on intestinal barrier function in a porcine model of LBW neonates. *Pediatric research* 69(1):4–9.
- Bush, T.G., Savidge, T.C., Freeman, T.C., Cox, H.J., Campbell, E.A., Mucke, L., Johnson, M.H., Sofroniew, M.V. 1998. Fulminant jejuno-ileitis following ablation of enteric glia in adult transgenic mice. *Cell* 93(2):189–201.
- Ciccocioppo, R., Finamore, A., Ara, C., Di Sabatino, A., Mengheri, E., Corazza, G.R. 2006. Altered expression, localization, and phosphorylation of epithelial junctional proteins in celiac disease. *American journal of clinical pathology* 125(4):502–511.
- Cook, R.D. & Burnstock, G.. 1976. The ultrastructure of Auerbach's plexus in the guinea-pig. II. Non-neuronal elements. *Journal of neurocytology* 5(2):195–206.
- Cornet, A., Savidge, T.C., Cabarrocas, J., Deng, W.L., Colombel, J.F., Lassmann, H., Desreumaux, P, Liblau, R.S. 2001. Enterocolitis induced by autoimmune targeting of enteric glial cells: a possible mechanism in Crohn's disease? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(23):13306–13311.
- Costantini, T.W., Bansal, V., Krzyzaniak, M., Putnam, J.G., Peterson, C.Y., Loomis, W.H., Wolf, P., Baird, A., Eliceiri, B.P., Coimbra, R. 2010. Vagal nerve stimulation protects against burn-induced intestinal injury through activation of enteric glia cells. *American journal of physiology* 299(6):G1308–1318.
- Conlin, V.S., Wu, X., Nguyen, C., Dai, C., Vallance, B.A., Buchan, A.M., Boyer, L., Jacobson, K. 2009. Vasoactive intestinal peptide ameliorates intestinal barrier disruption associated with *Citrobacter rodentium*-induced colitis. *American journal of physiology* 297(4):G735–750.
- de Magistris, L., Familiari, V., Pascotto, A., Sapone, A., Frolli, A., Iardino, P., Carteni, M., De Rosa, M., Francavilla, R., Riegler, G. *et al.* 2010. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 51(4): 418–424.
- de Vries, P., Soret, R., Suply, E., Helouary, Y., Neunlist, M. 2010. Postnatal development of myenteric neurochemical phenotype and impact on neuromuscular transmission in the rat colon. *American journal of physiology* 299(2):G539–547.
- Flamant, M, Aubert, P, Rolli-Derkinden, M., Bourreille, A., Neunlist, M.R., Mahé, M.M., Meurette, G., Marteyn, B., Savidge, T., Galmiche, J.P, Sansonetti, P.J., Neunlist, M. 2011. Enteric Glia protects intestinal barrier during aggression by *Shigella flexneri* : role of S-Nitrosoglutathione. *Gut* 60(4):473–484.
- Furness, J.B. 2012. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nature reviews* 9(5):286–294.
- Furness, J.B., Koopmans, H.S., Robbins, H.L., Clerc, N., Tobin, J.M., Morris, M.J. 2001. Effects of vagal and splanchnic section on food intake, weight, serum leptin and hypothalamic neuropeptide Y in rat. *Auton Neurosci.* 92(1-2):28–36.
- Gabella, G. 1971. Glial cells in the myenteric plexus. *Zeitschrift fur Naturforschung* 26(3): 244–245.
- Gershon, M.D. 2005. Nerves, reflexes, and the enteric nervous system: pathogenesis of the irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol.* 39 (4, Suppl 3):S184–193.
- Grundy, D., Al-Chaer, E.D., Aziz, Q., Collins, S.M., Ke, M., Tache, Y., Wood, J.D. 2006. Fundamentals of neurogastroenterology: basic science. *Gastroenterology* 130(5): 1391–1411.
- Gulbransen, B.D. & Sharkey, K.A. 2012. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nature reviews* 9(11):625–632.

- Heanue, T.A. & Pachnis, V. 2007. Enteric nervous system development and Hirschsprung's disease: advances in genetic and stem cell studies. *Nat Rev Neurosci.* 8(6):466–479.
- Huizinga, J.D. & Lammers, W.J. 2009. Gut peristalsis is governed by a multitude of cooperating mechanisms. *American journal of physiology* 296(1):G1–8.
- Laranjeira, C. & Pachnis, V. 2009. Enteric nervous system development: Recent progress and future challenges. *Auton Neurosci.* 151(1): 61–69.
- Laranjeira, C., Sandgren, K., Kessaris, N., Richardson, W., Potocnik, A., Vanden Berghe, P., Pachnis, V. 2011. Glial cells in the mouse enteric nervous system can undergo neurogenesis in response to injury. *The Journal of clinical investigation* 121(9):3412–3424.
- Lebouvier, T., Chaumette, T., Paillusson, S., Duyckaerts, C., Bruley des Varannes, S., Neunlist, M., Derkinderen, P. 2009. The second brain and Parkinson's disease. *The European journal of neuroscience* 30(5):735–741.
- Meurette, G., Blanchard, C., Duchalais-Dassonneville, E., Coquenorge, S., Aubert, P., Wong, M., Lehur, PA, Neunlist, M. 2012. Sacral nerve stimulation enhances epithelial barrier of the rectum: results from a porcine model. *Neurogastroenterol Motil.* 24(3): 267–273, e110.
- Neunlist, M., Aubert, P., Bonnaud, S., Van Landeghem, L., Coron, E., Wedel, T., Naveilhan, P., Ruhl, A., Lardeux, B., Savidge, T. et al. 2007. Enteric glia inhibit intestinal epithelial cell proliferation partly through a TGF-beta1-dependent pathway. *American journal of physiology* 292(1): G231–241.
- Neunlist, M., Toumi, F., Oreschkova, T., Denis, M., Leborgne, J., Laboisse, C.L., Galmiche, J.P., Jarry, A. 2003. Human ENS regulates the intestinal epithelial barrier permeability and a tight junction-associated protein ZO-1 via VIPergic pathways. *American journal of physiology* 285(5): G1028–1036.
- Neunlist, M., Van Landeghem, L., Mahe, M.M., Derkinderen, P., Bruley des Varannes, S.B., Rolli-Derkinderen, M. 2012. The digestive neuronal-glial-epithelial unit: a new actor in gut health and disease. 2013 *Nature reviews* 10(2): 90–100.
- Ratcliffe, E.M. 2011. Molecular development of the extrinsic sensory innervation of the gastrointestinal tract. *Auton Neurosci.* 161 (1-2): 1–5.
- Rescigno, M. 2011. The intestinal epithelial barrier in the control of homeostasis and immunity. *Trends in immunology* 32(6):256–264.
- Roberts, R.R., Murphy, J.F., Young, H.M., 2007. Bornstein, J.C. Development of colonic motility in the neonatal mouse - studies using spatiotemporal maps. *American journal of physiology* 292(3):G930–938.
- Sancho, E., Batlle, E., Clevers, H. 2003. Live and let die in the intestinal epithelium. *Current opinion in cell biology* 15(6):763–770.
- Savidge, T.C., Newman, P., Pothoulakis, C., Ruhl, A., Neunlist, M., Bourreille, A., Hurst, R., Sofroniew, M.V. 2007a. Enteric glia regulate intestinal barrier function and inflammation via release of S-nitrosoglutathione. *Gastroenterology* 132 (4):1344–1358.
- Savidge, T.C., Sofroniew, M.V., Neunlist, M. 2007b. Starring roles for astroglia in barrier pathologies of gut and brain. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 87(8):731–736.
- Schemann, M. & Grundy, D. 1992. Electrophysiological identification of vagally innervated enteric neurons in guinea pig stomach. *The American journal of physiology* 263(5 Pt 1): G709–718.
- Schemann, M. & Neunlist, M. 2004. The human enteric nervous system. *Neurogastroenterol Motil.* 16 (Suppl. 1):55–59.
- Severson, E.A., Lee, W.Y., Capaldo, C.T., Nusrat, A., Parkos, C.A. 2009. Junctional adhesion molecule A interacts with Afadin and PDZ-GEF2 to activate Rap1A, regulate beta1 integrin levels, and enhance cell migration. *Molecular biology of the cell* 20(7):1916–1925.
- Song, Z.M., Brookes, S.J., Llewellyn-Smith, I.J., Costa, M. 1995. Ultrastructural studies of the myenteric plexus and smooth muscle in organotypic cultures of the guinea-pig small intestine. *Cell and tissue research.* 280(3):627–637.
- Sturm, A. & Dignass, A.U. 2008. Epithelial restitution and wound healing in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 14(3): 348–353.
- Su, L., Shen, L., Clayburgh, D.R., Nalle, S.C., Sullivan, E.A., Meddings, J.B., Abraham, C., Turner, J.R. 2009. Targeted epithelial tight junction dysfunction causes immune activation and contributes to development of experimental colitis. *Gastroenterology* 136(2): 551–563.
- Tlaskalova-Hogenova, H, Stepankova, R, Kozakova, H, Hudcovic, T, Vannucci, L, Tuckova, L, Rossmann, P, Hrnecir, T, Kverka, M, Zakostelska et al. 2011. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cellular & molecular immunology* 8(2):110–120.
- Turner, J.R. 2000. 'Putting the squeeze' on the tight junction: understanding cytoskeletal regulation. *Seminars in cell & developmental biology* 11 (4):301–308.
- Vaarala, O., Atkinson, M.A., Neu, J. 2008. The «perfect storm» for type 1 diabetes: the complex interplay between intestinal microbiota, gut permeability, and mucosal immunity. *Diabetes* 57(10):2555–2562.
- Van Landeghem, L., Chevalier, J., Mahe, M.M., Wedel, T., Urvil, P., Derkinderen, P., Savidge, T., Neunlist, M. 2011. Enteric glia promote intestinal mucosal healing via activation of focal adhesion kinase and release of proEGF. *American journal of Physiology* 300(6): G976–987.
- Vetrano, S. & Danese, S. 2009. The role of JAM-A in inflammatory bowel disease: unrevealing the ties that bind. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1165:308–313.
- Wallace, A.S. & Burns, A.J. 2005. Development of the enteric nervous system, smooth muscle and interstitial cells of Cajal in the human gastrointestinal tract. *Cell and tissue research* 319(3):367–382.
- Weber, P., Brune, T., Ganser, G., Zimmer, K.P. 2003. Gastrointestinal symptoms and permeability in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Clinical and experimental rheumatology* 21(5):657–662.
- Wedel, T., Roblick, U., Gleiss, J., Schiedeck, T., Bruch, H.P., Kuhnel, W., Krammer, H.J. 1999. Organization of the enteric nervous system in the human colon demonstrated by wholemount immunohistochemistry with special reference to the submucous plexus. *Ann Anat.* 181(4):327–337.
- Wilhelmssen, I. 2000. Brain-gut axis as an example of the bio-psycho-social model. *Gut* 47(Suppl 4) :iv5–7; discussion iv10.