



**HAL**  
open science

## Un nouveau talon d'Achille du bacille de la tuberculose

Claude Gutierrez, Olivier Neyrolles

► **To cite this version:**

Claude Gutierrez, Olivier Neyrolles. Un nouveau talon d'Achille du bacille de la tuberculose. Médecine/Sciences, 2019, 35 (10), pp.746-748. 10.1051/medsci/2019145 . hal-02971971

**HAL Id: hal-02971971**

**<https://hal.science/hal-02971971>**

Submitted on 20 Oct 2020

**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.

## LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Nahrendorf M, Swirski FK. Lifestyle effects on hematopoiesis and atherosclerosis. *Circ Res* 2015 ; 116 : 884-94.
2. Tobaldini E, Fiorelli EM, Solbiati M, et al. Short sleep duration and cardiometabolic risk: from pathophysiology to clinical evidence. *Nat Rev Cardiol* 2019 ; 16 : 213-24.
3. Cappuccio FP, Miller MA. Sleep and cardio-metabolic disease. *Curr Cardiol Rep* 2017 ; 19 : 110.
4. McAlpine CS, Kiss MG, Rattik S, et al. Sleep modulates haematopoiesis and protects against atherosclerosis. *Nature* 2019 ; 566 : 383-7.
5. Tawakol A, Ishai A, Takx RA, et al. Relation between resting amygdalar activity and cardiovascular events: a longitudinal and cohort study. *Lancet* 2017 ; 389 : 834-45.
6. Sakurai T. The role of orexin in motivated behaviours. *Nat Rev Neurosci* 2014 ; 15 : 719-31.
7. Mossadegh-Keller N, Sarrazin S, et al. M-CSF instructs myeloid lineage fate in single haematopoietic stem cells. *Nature* 2013 ; 497 : 239-43.
8. Yvan-Charvet L, Swirski FK. Is defective cholesterol efflux an integral inflammatory component in myelopoiesis-driven cardiovascular diseases? *Eur Heart J* 2018 ; 39 : 2168-71.
9. Christ A, Latz E. The Western lifestyle has lasting effects on meta-inflammation. *Nat Rev Immunol* 2019 ; 19 : 267-8.
10. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Anti-inflammatory therapy with Canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med* 2017 ; 377 : 1119-31.
11. Lallement M. *Les trois clés de la santé*. Donnemarie-Dontilly : Éditions Mosaïque-Santé, 2017.

## NOUVELLE

### Un nouveau talon d'Achille du bacille de la tuberculose

Claude Gutierrez, Olivier Neyrolles

Institut de pharmacologie et biologie structurale (IPBS), université de Toulouse, CNRS, UPS, 205 route de Narbonne, 31000 Toulouse, France.

[claude.gutierrez@ipbs.fr](mailto:claude.gutierrez@ipbs.fr)

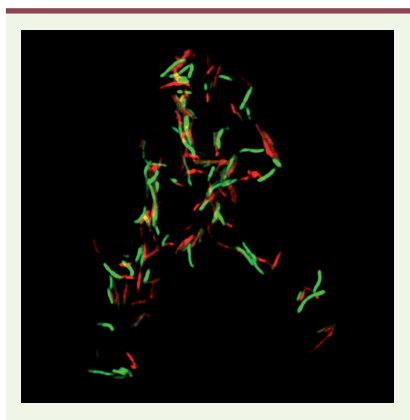
> La tuberculose, infection principalement pulmonaire due à la bactérie *Mycobacterium tuberculosis*, est la maladie infectieuse due à un agent unique la plus meurtrière à l'échelle mondiale<sup>1</sup>. L'expansion de souches de *M. tuberculosis* multi-résistantes, voire totalement résistantes, aux antibiotiques fait craindre l'apparition d'une pandémie incontrôlable. Ainsi, bien que la tuberculose soit, dans l'imaginaire collectif, une maladie associée au passé, elle reste un problème de santé majeur, et la recherche de nouvelles pistes thérapeutiques est plus que jamais nécessaire. Dans une étude récente, menée par un consortium associant notre équipe et deux équipes du Laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL) à Hambourg et de l'Institut Francis Crick à Londres, nous avons identifié une nouvelle piste thérapeutique, fondée sur l'activation d'un système toxine/antitoxine (TA) pouvant entraîner le « suicide » des cellules de *M. tuberculosis* [1].

#### Les systèmes toxine/antitoxine

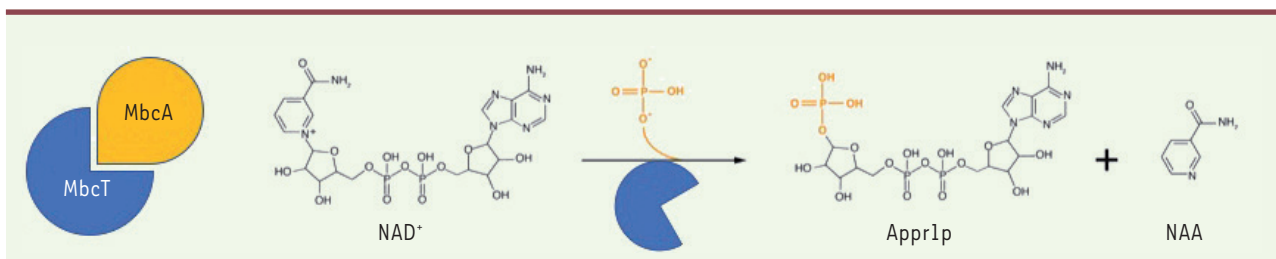
Chez les bactéries, les systèmes TA sont des modules formés d'un gène codant une toxine protéique, capable d'intoxiquer la cellule productrice en bloquant un processus essentiel de son métabolisme (synthèse des protéines par exemple), et d'un élément d'immunité contre cette toxine, l'antitoxine, qui peut, en inhibant la production et/ou l'activité de la toxine, protéger la bactérie productrice [2, 3]. Ces systèmes sont regroupés en diverses familles (de I à VI) selon la nature de l'antitoxine (protéine ou ARN), et le mécanisme d'inactivation de la toxine. Par exemple, dans les systèmes TA de type II, les plus étudiés, l'antitoxine est une protéine qui se lie directement à la toxine pour l'inactiver. Pour les systèmes TA de type IV, la toxine est aussi une protéine, mais elle empêche l'action de la toxine sans interaction directe avec celle-ci. La clé du fonctionnement des systèmes TA est que la toxine et l'antitoxine sont stables en conditions physiologiques stan-

dard, mais que l'antitoxine est dés-stabilisée dans certaines conditions de stress, libérant l'activité de la toxine qui bloque alors la croissance ou peut même entraîner la mort des bactéries soumises au stress. Initialement identifiés comme des systèmes « d'addiction » à des plasmides, les systèmes TA sont présents dans la plupart des génomes bactériens, et ils participent à diverses fonctions biologiques, dont la stabilisation de réplicons ou d'îlots génomiques, la lutte contre les infections par les bactériophages, ou l'entrée en persistance des bactéries. Cependant, le rôle effectif de la plupart des systèmes TA reste une question ouverte [4, 5]. Ceci est particulièrement vrai pour *M. tuberculosis*, dont le génome est très riche en systèmes TA. En effet, on retrouve dans le génome de *M. tuberculosis* plus de 80 systèmes TA, principalement de type II, dont un grand nombre sont portés par des îlots génomiques acquis par transfert horizontal chez l'ancêtre de *M. tuberculosis* [6].

<sup>1</sup> Rapport de l'Organisation mondiale de la santé 2018.



**Figure 1. MbcT est un système TA bactéricide chez *M. tuberculosis*.** Les cellules d'une souche de *M. tuberculosis* délétée de l'opéron MbcTA (*Mtb*<sup>ΔTA</sup>), transformée par un plasmide exprimant la toxine Rv1989c sous contrôle d'un promoteur inducible par la tétracycline, ont été traitées au temps 0 par addition d'anhydro-tétracycline (ATc). Après quatre jours d'induction de la production de toxine, les cellules sont marquées avec le kit LIVE/DEAD BacLight (Syto 9 ; iodure de propidium, PI) colorant en vert les cellules viables et en rouge les cellules dont la membrane est perméabilisée (non-viables). Les cellules sont observées en microscopie à fluorescence.



**Figure 2. MbcT est une NAD<sup>+</sup> phosphorylase.** Mécanisme de phosphorylation du NAD<sup>+</sup>, catalysée par la toxine MbcT. Appr1p : ADP-ribose-1''-phosphate ; NAA : nicotinamide.

### Le système MbcTA de *M. tuberculosis*

Utiliser les toxines des systèmes TA comme outils antibactériens a été souvent proposé (voir par exemple [7, 8]). Cependant, la découverte du lien entre certains systèmes TA et la persistance a remis cette idée en question, puisque l'activation d'une toxine risquerait de rendre les cellules bactériennes tolérantes aux antibiotiques. Afin d'éviter cet écueil, nous avons utilisé les résultats d'études de mutagenèse à saturation de *M. tuberculosis*, qui ont montré que parmi les nombreux systèmes TA présents chez cette espèce, seulement trois possèdent un gène d'antitoxine qui est essentiel [9], c'est-à-dire qui ne peut pas être inactivé génétiquement. Nous avons fait l'hypothèse que cela était dû à une toxicité létale de la toxine associée, et nous avons analysé plus avant l'un de ces systèmes, codé par l'opéron formé des gènes appelés Rv1990c et Rv1989c. Nous avons alors confirmé que l'opéron Rv1990c-Rv1989c code bien un système TA, mais surtout que l'action de la toxine a un effet bac-

téricide chez *M. tuberculosis* (Figure 1). Nous avons alors nommé ce système MbcTA (*mycobacterial cidal toxin/anti-toxin*).

### MbcT est une NAD<sup>+</sup> phosphorylase

Afin d'analyser le mécanisme d'action de cette toxine, nous avons déterminé sa structure tridimensionnelle. Il a été possible de surproduire et cristalliser un complexe de protéines MbcTA, démontrant qu'il s'agit d'un système de type II. Ce complexe a une organisation en dodécamère (trimère de tétramères [MbcTA]<sub>2</sub>). La signification biologique de cette association reste à comprendre. En revanche, bien que la séquence primaire de la toxine MbcT ne présente aucune similarité avec des protéines de fonction connue, sa structure tridimensionnelle ressemble à celle des exotoxines bactériennes de la famille des ADP-ribosyl-transférases, comme les toxines diphtérique ou cholérique. L'analyse biochimique et métabolique de MbcT a montré que cette toxine a une activité originale. En effet,

elle catalyse la dégradation du coenzyme essentiel NAD<sup>+</sup> par phosphorylation, produisant du nicotinamide et de l'ADP-ribose-1''-phosphate (Figure 2). Une telle activité de phosphorylation du NAD<sup>+</sup> n'avait encore jamais été identifiée. En accord avec cette activité, nous avons montré que l'induction de MbcT conduit à un effondrement du contenu en NAD<sup>+</sup> dans les cellules de *M. tuberculosis*.

### L'activation de MbcTA peut protéger contre l'infection par *M. tuberculosis*

L'étape suivante de notre travail a été d'apporter « la preuve de concept » que l'activation de MbcT pourrait être utilisée dans une stratégie thérapeutique, en complément de l'antibiothérapie antituberculeuse. Nous avons utilisé une souche de *M. tuberculosis* dépourvue (par génie génétique) du système MbcTA chromosomique et exprimant une copie de MbcT sous le contrôle d'un promoteur inducible par des analogues de la tétracycline, l'anhydro-tétracycline (ATc) et la doxycycline. Nous avons alors montré que

