

NOUVELLE

Un bactériophage du microbiote intestinal induit une réponse anti-tumorale par un mécanisme de réactivité croisée

Marine Sroussi¹, Aurélie Fluckiger^{2,3}, Laurence Zitvogel²⁻⁴

¹Programme « Cartes d'identité des tumeurs », Ligue nationale contre le cancer, 14 rue Corvisart, 75013 Paris, France.

²Gustave Roussy Cancer Campus (GRCC), 114 rue Edouard Vaillant, 94805 Villejuif, France.

³Inserm U1015, Institut Gustave Roussy, 114 rue Edouard Vaillant, 94805 Villejuif, France.

⁴Université Paris-Saclay, 94805 Villejuif, France. marinesroussi@yahoo.com

> Le microbiote intestinal, défini par l'ensemble des micro-organismes présents au sein de notre tube digestif, contribue à l'éducation du système immunitaire [1]. Un déséquilibre quantitatif ou qualitatif du microbiote, aussi appelé dysbiose, est impliqué dans la pathogenèse de diverses maladies, notamment certaines maladies inflammatoires ou métaboliques, ou certains cancers. De nombreuses études ont montré l'existence d'un lien entre le développement des cancers, l'immunité anti-tumorale, l'efficacité des immunothérapies, et la composition du microbiote intestinal [2]. Ce lien repose en partie sur le phénomène de mimétisme moléculaire [3]. Le cyclophosphamide, une molécule de chimiothérapie anti-tumorale dont l'effet repose en partie sur sa capacité à moduler le système immunitaire, induit une modification du microbiote intesti-

nal, avec une translocation de bactéries à Gram positif vers les organes lymphoïdes secondaires, où elles sont capables de stimuler une réponse immunitaire Th17 et Th1 anti-bactérienne, mais aussi anti-tumorale. Un traitement préalable par antibiotiques a un impact négatif sur cet effet [4]. La bactérie *Enterococcus hirae* a la capacité de restaurer l'effet anti-tumoral du cyclophosphamide chez des souris préalablement traitées par antibiotiques, en induisant une réponse immunitaire adaptative : réponse Th17, augmentation du rapport lymphocytes T cytotoxiques / lymphocytes T régulateurs [5]. Le mécanisme par lequel un antigène d'un virus bactériophage¹ infectant certaines souches de *E. hirae* restaure l'effet

immunomodulateur et anti-tumoral du cyclophosphamide et d'un anticorps anti-PD1 (un inhibiteur de point de contrôle immunitaire) vient d'être découvert [6]. Les travaux précliniques présentés dans l'article publié utilisent des souris de la souche C57BL/6. Des cellules tumorales MCA205 (sarcome), TC1 (cancer du poumon) ou MC38 (cancer du côlon) ont été inoculées à ces souris, qui ont ensuite été traitées par des antibiotiques à large spectre, et auxquelles ont été administrées différentes souches (13144, IGR11, ATCC9790, 13344, ou 708) de *E. hirae* par voie orale et le cyclophosphamide par voie intra-péritonéale. Les résultats indiquent que seules les souches 13144 et IGR11 de *E. hirae* induisent une diminution de la taille des tumeurs MCA205 [6]. Afin d'identifier un épitope d'intérêt, les séquences des peptides d'une souche

¹ Les bactériophages sont des virus n'infectant que des bactéries.

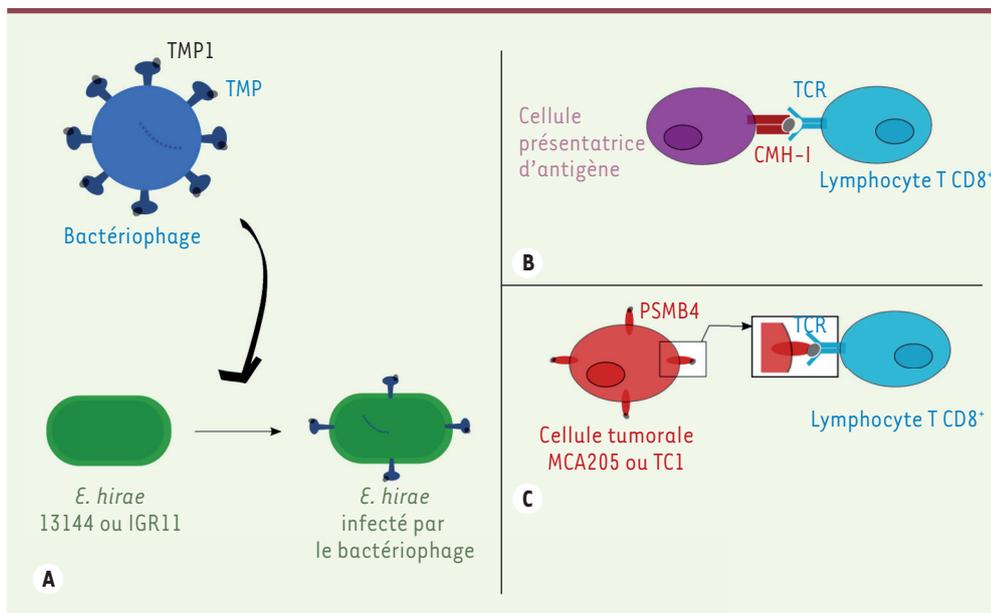


Figure 1. Réactivité croisée entre antigènes tumoraux et antigènes du microbiote intestinal. **A.** Bactériophage et *E. hirae*. **B.** Présentation du peptide TMP1 aux lymphocytes T CD8⁺ par le CMH-I. **C.** L'antigène tumoral issu de PSMB4 est reconnu par les lymphocytes CD8⁺ spécifiques de l'antigène TMP1 du bactériophage.

immunogène (13144) ou non immunogène (708) de *E. hirae* ont été comparées. Parmi les peptides spécifiques de *E. hirae* 13144, ont été sélectionnés ceux composés de 9 acides aminés (nonapeptides) et présentant une forte affinité pour le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH-I). Lorsque ces peptides ont été présentés *in vitro*, par une cellule dendritique, aux lymphocytes T CD8⁺ des souris porteuses de tumeurs MCA205, traitées par des antibiotiques à large spectre et ayant reçu des bactéries *E. hirae* 13144 puis du cyclophosphamide, le peptide TSLARFANI ou TMP1 était le seul à restimuler ces lymphocytes et à induire la production d'interféron- γ . TMP1 est un antigène d'un bactériophage, et il est présent à la surface des bactéries *E. hirae* de la souche 13144 puisqu'il s'agit d'une partie de la protéine TMP (*tape measure protein*), composée de 1506 acides aminés et codée par un gène du génome de ce bactériophage. Or l'épitope TMP1 des bactéries *E. hirae* de la souche IGR11 est identique à celui de la souche 13144, alors que les bactéries des souches 708 et 13344 n'expriment pas TMP1 et celles de la souche ATC9790 expriment un TMP1 muté, ce qui est concordant avec le fait que seules les souches 13144 et IGR11

de *E. hirae* ont un effet anti-tumoral. L'utilisation de tétramères H-2K^b/TMP1 (équivalent chez la souris d'un tétramère CMH-I/TMP1 chez l'homme) a permis de confirmer l'augmentation du nombre de lymphocytes T CD8⁺ spécifiques de TMP1 après administration des bactéries *E. hirae* de la souche 13144 ou IGR11 aux souris par voie orale. Ces lymphocytes expriment CXCR3 (*C-X-C motif chemokine receptor 3*) et CCR9 (*C-C motif chemokine receptor 9*), ce qui témoigne de la mise en place d'une mémoire immunitaire [6]. Pour confirmer le rôle de TMP1, les souris ont ensuite été immunisées avec la bactérie *E. hirae* 13144 (témoin positif) ou avec des cellules dendritiques présentant le peptide TMP1 des souches 13144 et IGR11 de cette bactérie, ou le peptide TMP1 muté de la souche ATC9790, ou d'autres peptides non immunogènes. L'efficacité anti-tumorale de l'immunisation par TMP1 seul s'est avérée similaire à celle du « gavage » des souris par *E. hirae* 13144. Enfin, l'administration aux souris, par voie orale, de la bactérie *E. coli*, qui n'a aucun effet anti-tumoral naturellement, montre, lorsque cette bactérie a préalablement été modifiée pour exprimer TMP1, la même efficacité anti-tumorale qu'avec la souche 13144 de *E. hirae* [6].

Pour comprendre les mécanismes impliqués dans l'effet anti-tumoral observé, un criblage moléculaire a été réalisé afin de rechercher des antigènes tumoraux présentant une homologie de séquence avec TMP1. Cela a permis d'identifier le peptide GSLARFRNI appartenant à la sous-unité β de type 4 du protéasome (PSMB4). La protéine PSMB4 est surexprimée dans les cellules tumorales MCA205 et TC1 relativement aux tissus sains correspondants, alors qu'elle ne l'est pas dans les cellules tumorales MC38. Or les souris porteuses d'une tumeur MCA205 ou TC1 répondent au traitement par le cyclophosphamide et *E. hirae* 13144, contrairement à celles porteuses de la tumeur MC38. Dans les tumeurs MCA205, une invalidation du gène codant PSMB4 perturbe la croissance tumorale, et affecte aussi l'efficacité de l'association cyclophosphamide et *E. hirae* 13144, mais pas celle du cyclophosphamide en monothérapie, chez les souris ayant subi une inoculation de ces cellules tumorales ainsi qu'une antibiothérapie à large spectre. Ces résultats renforcent l'hypothèse de l'existence d'une réaction immunitaire croisée entre un antigène de bactériophage et un antigène tumoral. Ainsi, les lymphocytes T CD8⁺ sélectionnés par un tétramère H-2K^b/

