

ESX-4, un système de sécrétion mycobactérien ancestral, essentiel pour la croissance de Mycobacterium abscessus dans les phagocytes environnementaux et humains

Fabienne Girard-Misguich, Laura Laencina, Violaine Dubois, Vincent Le Moigne, Laurent Kremer, Laleh Maljessi, Roland Brosch, Jean-Louis Herrmann

▶ **To cite this version:**

Fabienne Girard-Misguich, Laura Laencina, Violaine Dubois, Vincent Le Moigne, Laurent Kremer, et al.. ESX-4, un système de sécrétion mycobactérien ancestral, essentiel pour la croissance de Mycobacterium abscessus dans les phagocytes environnementaux et humains. Médecine/Sciences, 2018, 34 (10), pp.795-797. 10.1051/medsci/2018196 . pasteur-02046117

HAL Id: pasteur-02046117
https://pasteur.hal.science/pasteur-02046117

Submitted on 22 Feb 2019

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial| 4.0 International License

RÉFÉRENCES

5. Mahlapuu M, Håkansson J, Ringstad L, *et al.* Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. *Front Cell Infect Microbiol* 2016 ; 6 : 194.
6. Engler AC, Tan JP, Ong ZY, *et al.* Antimicrobial polycarbonates: investigating the impact of balancing charge and hydrophobicity using a same-centered polymer approach. *Biomacromolecules* 2013 ; 14 : 4331-9.
7. Wender PA, Galliher WC, Goun EA, *et al.* Design of guanidinium-rich transporters and their internalization mechanisms. *Adv Drug Deliv Rev* 2008 ; 60 : 452-72
8. Chindera K, Mahato M, Sharma AK *et al.* The antimicrobial polymer PMHB enters cells and selectively condenses bacterial chromosomes. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 23121.
9. Medina E. Murine model of polymicrobial septic peritonitis using cecal ligation and puncture (CLP). *Meth Mol Biol* 2010 ; 602 : 411-15.
10. Carcone A, Page A, Gilbert C. Le phage KTN4, un candidat prometteur dans la lutte contre les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa* ? *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 869.

NOUVELLE

ESX-4, un système de sécrétion mycobactérien ancestral, essentiel pour la croissance de *Mycobacterium abscessus* dans les phagocytes environnementaux et humains

Fabienne Girard-Misguich[1], Laura Laencina[1], Violaine Dubois[1], Vincent Le Moigne[1], Laurent Kremer[2,3], Laleh Maljessi[4], Roland Brosch[4], Jean-Louis Herrmann[1,5]

[1]Université de Versailles Saint Quentin en Yvelines, Inserm UMR1173, 78000 Versailles, France.
[2]Institut de recherche en infectiologie de Montpellier, Université de Montpellier, CNRS UMR 9004, 34293 Montpellier, France.
[3]Inserm, institut de recherche en infectiologie de Montpellier, 34293 Montpellier, France.
[4]Unité de pathogénomique mycobactérienne, institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France.
[5]Hôpitaux universitaires Île de France Ouest, Ambroise Paré, Boulogne et Raymond Poincaré, 92380 Garches, France.
fabienne.misguich@uvqs.fr

Mycobacterium abscessus, un pathogène majeur chez les patients atteints de la mucoviscidose

Mycobacterium abscessus est une mycobactérie pathogène opportuniste, à croissance rapide (RGM), responsable d'infections cutanéomuqueuses et pulmonaires. Ces dernières sont particulièrement sévères chez les patients atteints de mucoviscidose [1]. Les études épidémiologiques ont révélé la persistance de *M. abscessus* chez l'hôte infecté, parfois pendant plusieurs années [2]. Plus que d'autres infections par des bactéries pathogènes retrouvées chez les personnes atteintes de mucoviscidose, les infections pulmonaires à *M. abscessus* altèrent la fonction ventilatoire, entraînant une augmentation de la morbidité et de la mortalité chez ces patients.

L'origine de l'infection par *M. abscessus* reste à déterminer. Une étude britannique récente, fondée sur la recherche de mutations spécifiques dans les souches de *M. abscessus* circulant en Grande-Bretagne, suggère soit une contamination entre patients, soit une contamination par l'environnement proche du patient [3]. Le réservoir environnemental de *M. abscessus* reste encore mal défini [4]. Les études génomiques, par séquençage du génome total, montrent la présence de gènes non-mycobactériens acquis par transfert horizontal au sein du génome de *M. abscessus*, ainsi que la présence de gènes de résistance pour la survie intracellulaire de la bactérie. D'autres études suggèrent que ces échanges génétiques horizontaux se réaliseraient dans un écosystème commun, notamment à l'interface sol/eau où les amibes environnementales sont présentes. Ces amibes représentent un hôte eucaryote unicellulaire naturel et un réservoir pour de nombreuses bactéries pathogènes, telles que *Legionella*, *Chlamydia* et *Pseudomonas*, et probablement aussi pour certaines espèces mycobactériennes, comme *M. abscessus*, qui peuvent ainsi survivre dans l'environnement.

Des résultats publiés par notre équipe montrent que *M. abscessus* est capable de se multiplier au sein d'amibes. Une co-culture d'amibes et de *M. abscessus* avant infection chez l'animal, augmente la virulence de la mycobactérie [5], comme cela avait déjà été démontré pour une autre mycobactérie, *Mycobacterium avium* [6]. Au cours du processus infectieux, les amibes peuvent ainsi contribuer à forger la virulence des mycobactéries pour s'adapter face à la réponse immunitaire.

Chez l'homme, une différence clé entre les mycobactéries non pathogènes et pathogènes, comme le bacille de la tuberculose *Mycobacterium tuberculosis*, est la capacité des mycobactéries pathogènes à survivre et à se répliquer dans les macrophages et les cellules dendritiques en bloquant la maturation des phagosomes [7].

Nous avons démontré récemment que *M. abscessus* possède également ces propriétés de survie intracellulaire [8] (➜). La coexistence de *M. abscessus* avec les

(➜) **Voir la Nouvelle de A. Bernut *et al.* *m/s* n° 5, mai 2014, page 499**

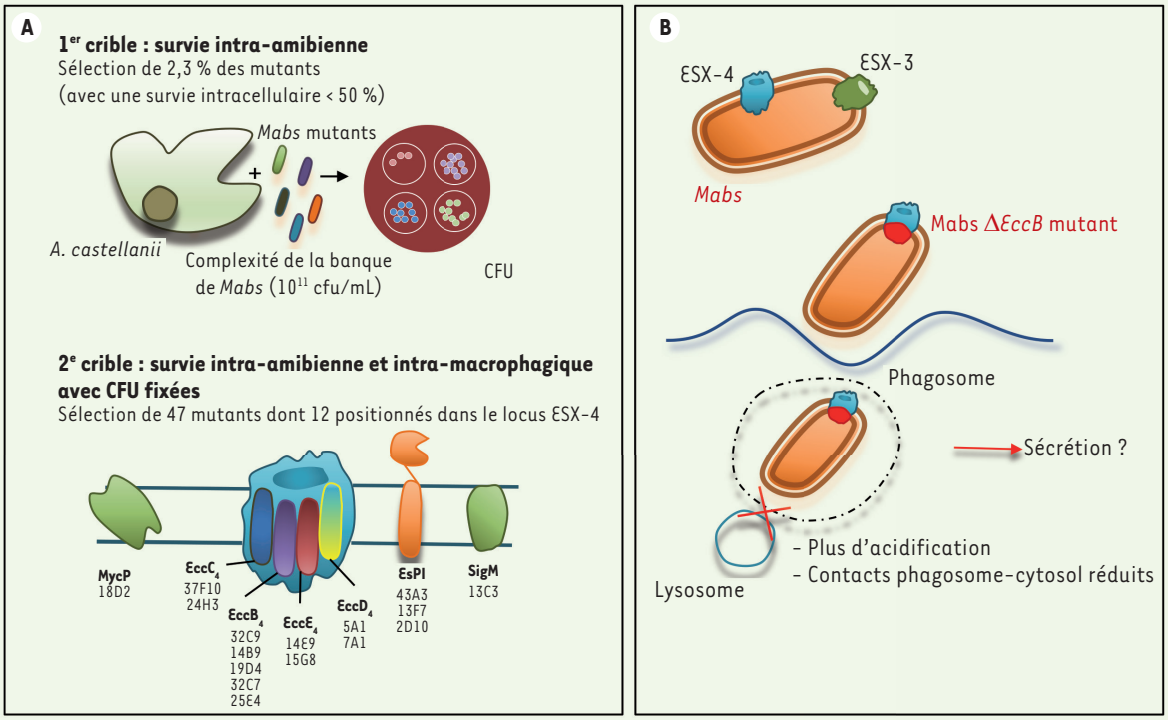


Figure 1. ***Le système de sécrétion de type VII (ESX-4) impliqué dans la virulence de Mycobacterium abscessus. A.*** Crible de survie intracellulaire chez l'amibe de 6 000 mutants de la banque de *M. abscessus* lors d'une co-culture en présence de l'amibe *Acanthamoeba castellanii*. La survie intracellulaire des mutants est évaluée par comptage des CFU (*colony -forming unit*) ; 136 mutants défectueux pour leur croissance intracellulaire (soit 2,3 % de la banque) ont été identifiés. Un second crible de survie intracellulaire, chez l'amibe et en présence de macrophages, a ensuite permis de confirmer l'atténuation de 47 mutants dont 12 portant des mutations localisées (y compris des doublons) dans le locus *esx-4* du système de sécrétion de type VII (SST7). Parmi ces 12 mutants, 9 présentent une insertion dans les gènes $eccC_4$ (*esx-conserved component* : 2 mutants-souches 37F10 et 24H3), $eccD_4$ (2 mutants-5A1 ; 7A1), $MycP_4$ (*mycosin-1 protease* : 18D4), $eccB_4$ (5 mutants-32C9 ; 14B9 ; 19D4 ; 32C7 ; 25E4), $eccE_4$ (2 mutants 14E9 ; 15G8) et du locus *esx-4*. Trois mutants supplémentaires présentent des mutations localisées dans le gène *espI* (esx-1 *secretion-associated protein* : 43A3 ; 13F7 ; 2D10) impliqués dans la régulation d'ESX-1 chez *M. tuberculosis*, et 1 mutant supplémentaire dans le gène *sigM* (*sigma factor gene* : 13C3). ***B.*** L'analyse du génome de *M. abscessus* indique la présence de 2 systèmes de sécrétion, ESX-3 et ESX-4. Un mutant obtenu par double recombinaison homologue du gène $eccB_4$ a permis de confirmer, par des expériences de co-cultures entre ce mutant (Mabs-ΔEccB) et des macrophages humains, que ce gène, et par conséquent le système de sécrétion ESX-4, sont impliqués dans la survie intracellulaire, le blocage de l'acidification phagosomale, et favorisent les contacts entre la bactérie et le cytosol. Le sécrétome de ce mutant *versus* celui de la souche parentale est actuellement en cours d'étude afin d'identifier les substrats de cette machinerie de sécrétion.

amibes semble ainsi avoir contribué à façonner la virulence des mycobactéries non tuberculeuses chez l'homme. L'un des acteurs de cette survie intracellulaire est représenté par le système de sécrétion de protéines, dit de type VII (SST7).

Le système de sécrétion de type VII (ESX-4) impliqué dans la virulence de *M. abscessus*

Cinq locus *SST7* sont retrouvés chez les mycobactéries pathogènes, désignés *esx-1* à *5* [9]. L'ancêtre commun est *esx-4*, à partir duquel dériverait *esx-1*, dont les gènes codent les éléments de l'appareil de sécrétion ESX-1, indispensable à la virulence et la survie intracellulaire de *M. tuberculosis*. *M. abscessus* ne possède que 2 locus *esx* : *esx-3* et *esx-4*. Aucun rôle n'était à ce jour connu pour un éventuel système de sécrétion ESX-4. Nous avons démontré qu'il jouait un rôle similaire à ESX-1, dans la survie intracellulaire et la virulence de *M. abscessus* [10].

Partant de l'hypothèse que *M. abscessus* possédait l'arsenal génétique nécessaire pour survivre au sein d'amibes, nous avons criblé 6 000 mutants obtenus par transposition, en utilisant un test de survie intracellulaire chez l'amibe environnementale axénisée[1] *Acanthamoeba castellanii* (*Figure 1A*). Quarante-sept mutants de *M. abscessus*, présentant un taux de survie inférieur à 50 % par rapport à la souche parentale à l'intérieur

[1] Exempte d'autres germes.

d'amibes ou de macrophages, ont été retenus. Le séquençage du site d'insertion du transposon pour chaque mutant a permis d'identifier plusieurs mutants possédant une insertion au sein de cinq gènes (*eccC$_4$ [esx-conserved component C4]*, *eccD$_4$*, *mycP$_4$ [mycosin-1 protease]*, *eccB$_4$*, et *eccE$_4$*) appartenant au locus *esx-4*. Pour confirmer les résultats du crible et comprendre la contribution d'ESX-4 à la croissance et à la survie intracellulaire de *M. abscessus* chez les amibes et dans les macrophages, nous avons construit un mutant de délétion d'*eccB$_4$*, qui code un élément structural de base du système ESX-4. La croissance intracellulaire de ce mutant s'est avérée atténuée chez les amibes et dans les macrophages *(Figure 1B)*. La diminution de la survie intracellulaire du mutant est liée à son incapacité à bloquer l'acidification du phagosome, mais surtout à la diminution du contact entre le phagosome et le cytosol, tel qu'il est observé pour la souche parentale. Ces caractéristiques montrent donc la capacité unique de *M. abscessus*, en tant que mycobactérie pathogène opportuniste, à se répliquer à l'intérieur des phagocytes professionnels, contournant ainsi certaines réponses antibactériennes de l'hôte.

Le locus *esx-4* de *M. abscessus* comprend un gène supplémentaire, *eccE$_4$*, qui est absent de tous les autres locus *esx-4* retrouvés chez les mycobactéries pathogènes. Sa présence pourrait expliquer la fonctionnalité du système ESX-4 chez *M. abscessus*, à l'instar du système ESX-1 chez *M. tuberculosis*.

Au cours de la dernière décennie, les SST7 sont apparus comme essentiels pour la virulence des mycobactéries et, parmi eux, notamment le système ESX-1 absent chez *M. abscessus*. Nous montrons par cette étude le rôle biologique inattendu et authentique du système ESX-4 dans la virulence de *M. abscessus*. Nos observations montrent donc que *M. abscessus* est bien équipé d'un arsenal génétique acquis au cours de l'évolution pour survivre dans les amibes de l'environnement. Ce même arsenal génétique aiderait *M. abscessus* à provoquer une infection chez l'homme. Les substrats sécrétés par ESX-1 de *M. tuberculosis* comprennent ESAT-6 (*6-kDa early secreted antigenic target*) et CFP-10 (*10-kDa culture filtrate protein*) et plusieurs autres protéines. Ces dernières sont des acteurs clés dans l'interaction de la mycobactérie avec les cellules immunitaires de l'hôte. Les substrats d'ESX-4 présents chez *M. abscessus* sont donc à identifier dans le futur. ◊

The most ancestral mycobacterial ESX-4 secretion system is essential for intracellular growth of *Mycobacterium abscessus* within environmental and human phagocytes

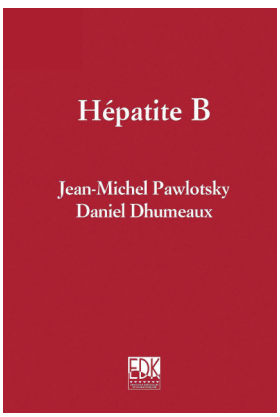
LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Qvist T, Taylor-Robinson D, Waldmann E, *et al.* Comparing the harmful effects of nontuberculous mycobacteria and Gram negative bacteria on lung function in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2016 ; 15 : 380-5.
2. Cullen AR, Cannon CL, Mark EJ, *et al. Mycobacterium abscessus* infection in cystic fibrosis. Colonization or infection? *Am J Respir Crit Care Med* 2000 ; 161 : 641-5.
3. Bryant JM, Grogono DM, Greaves D, *et al.* Whole-genome sequencing to identify transmission of *Mycobacterium abscessus* between patients with cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2013 ; 381 : 1551-60.
4. Ripoll F, Pasek S, Schenowitz C, *et al.* Non mycobacterial virulence genes in the genome of the emerging pathogen *Mycobacterium abscessus*. *PLoS One* 2009 ; 4 : e5660.
5. Bakala N'Goma JC, Moigne V Le, Soismier N, *et al. Mycobacterium abscessus* phospholipase C expression is induced during coculture within amoebae and enhances M. abscessus virulence in mice. *Infect Immun* 2015 ; 83 : 780-91.
6. Cirillo JD, Falkow S, Tompkins LS, *et al.* Interaction of Mycobacterium avium with environmental amoebae enhances virulence. *Infect Immun* 1997 ; 65 : 3759-67.
7. Bernut A, Herrmann JL, Lutfalla G, *et al.* Les cordes mycobactériennes : un nouveau moyen d'échappement au système immunitaire ? *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 499-522.
8. Roux A-L, Viljoen A, Bah A, *et al.* The distinct fate of smooth and rough Mycobacterium abscessus variants inside macrophages. *Open Biol* 2016 ; 6 : 160185.
9. Groschel MI, Sayes F, Simeone R, *et al.* ESX secretion systems: mycobacterial evolution to counter host immunity. *Nat Rev Microbiol* 2016 ; 14 : 677-91.
10. Laencina L, Dubois V, Moigne V Le, *et al.* Identification of genes required for Mycobacterium abscessus growth in vivo with a prominent role of the ESX-4 locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018 ; 115 : E1002-11.

Bon de commande



ISBN : 978-2-8425-4131-6 576 pages

À retourner à EDP Sciences, 17, avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis, France
Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : ..... Prénom : .....
Adresse : .....
Code postal : ..... Ville : .....
Pays : .....
Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Hépatite B :** 54 € + 3 € de port = **57 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

❒ Par chèque, à l'ordre de **EDP Sciences**

❒ Par carte bancaire : ❒ Visa ❒ Eurocard/Mastercard

Carte n° |_|_|_|_| |_|_|_|_| |_|_|_|_| |_|_|_|_| Signature :

Date d'expiration : |_|_| |_|_|

N° de contrôle au dos de la carte : |_|_|_|