

**Titre :** Rôle de l'inflammation locale dans le développement des lésions causées par *Mycobacterium ulcerans* et sa toxine

**Mots clés :** *Mycobacterium ulcerans*, vésicules extracellulaires, mycolactone, inflammation

**Résumé :** L'ulcère de Buruli, maladie infectieuse cutanée causée par *Mycobacterium ulcerans*, est la troisième mycobactériose après la tuberculose et la lèpre. *M. ulcerans* sécrète une toxine, la mycolactone, aux propriétés analgésiques, cytotoxiques et immunomodulatrices responsables de la colonisation du bacille dans ses hôtes et des dommages tissulaires menant au développement de vastes ulcérations cutanées. Son encapsulation naturelle au sein de vésicules extracellulaires produites par le bacille ayant précédemment été démontrée, notre premier objectif a été de développer une méthodologie permettant de caractériser rapidement ces nanoparticules. Leur utilisation au sein de modèles expérimentaux a permis par la suite de mettre en lumière une nouvelle facette de la mycolactone. Nos résultats ont montré sa capacité à activer les inflammasomes NLRP3 et NLRP1, menant à la production de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 $\beta$ . Ces observations soulignent le potentiel immunostimulateur inédit de la mycolactone, jusqu'alors décrite comme une puissante cytokine immunosuppressive.

L'axe suivant de notre étude a porté sur la caractérisation du phénomène de cicatrisation spontanée, au cours duquel opère une résolution des processus inflammatoires locaux observés lors de l'ulcération. Nous avons montré que ce phénomène était lié à l'absence du récepteur membranaire GPR84. Sa surproduction médiée par *M. ulcerans* chez les macrophages semble mener au maintien de l'inflammation tissulaire, menant à terme à la nécrose. Finalement, le dernier axe a consisté à évaluer les bénéfices d'un régime alimentaire aux propriétés anti-inflammatoires : le régime cétogène. Ces travaux ont mené à l'identification d'un métabolite, le  $\beta$ -hydroxybutyrate, impliqué dans le contrôle de la production de mycolactone, ouvrant la voie au développement d'un nouvel adjuvant thérapeutique. L'ensemble de ces observations expérimentales met en avant l'implication de la réponse inflammatoire locale lors des stades avancés d'ulcère de Buruli.

**Title :** Role of local inflammation in lesions caused by *Mycobacterium ulcerans* and its toxin

**Keywords :** *Mycobacterium ulcerans*, extracellular vesicles, mycolactone, inflammation

**Abstract:** Buruli ulcer, caused by *Mycobacterium ulcerans*, is the third most common mycobacterial disease in the world after tuberculosis and leprosy. *M. ulcerans* produces a toxin named mycolactone, with pleiotropic effects (analgesia, cytotoxicity and immunosuppression) which induces extensive tissue destruction leading to development of severe skin ulcerations. It has been previously showed that mycolactone was secreted through extracellular vesicles. Thus, our first objective was to develop a simple methodology to rapidly characterize these particles. Their use in experimental models further showed a new facet of the mycolactone. We found that the mycolactone-containing mycobacterial extracellular vesicles produced by *M. ulcerans* induced the production of IL-1 $\beta$ , a potent pro-inflammatory cytokine targeting NLRP3/1 inflammasomes.

While mycolactone was exclusively described as immunosuppressive, these observations underline a novel immunostimulatory facet. Next, we studied the spontaneous healing stage of *M. ulcerans* infection, during which inflammatory response appears to be controlled after ulceration. We showed that this process occurred only in absence of the membrane receptor GPR84, while its overproduction mediated by the bacillus was linked to ulcer holding and necrosis. Finally, we aimed to evaluate benefits of ketogenic diet, known for its anti-inflammatory properties. Our work led to the identification of a metabolite,  $\beta$ -hydroxybutyrate, involved in the control of mycolactone production. These results open the way to the development of a new therapeutic adjuvant. Altogether, our observations highlight the key role playing by local inflammatory response during advanced stages of Buruli ulcer.