

Biologic modulation of ionizing radiation by Toll-like receptors agonists: Towards an increase in the therapeutic index of radiotherapy?

Olivier Riou, David Azria, Christel Larbouret, Bruno Robert

► **To cite this version:**

Olivier Riou, David Azria, Christel Larbouret, Bruno Robert. Biologic modulation of ionizing radiation by Toll-like receptors agonists: Towards an increase in the therapeutic index of radiotherapy?. Bulletin du Cancer, John Libbey Eurotext, 2012, 99 (5), pp.545-550. 10.1684/bdc.2012.1578 . inserm-00705691

HAL Id: inserm-00705691

<https://www.hal.inserm.fr/inserm-00705691>

Submitted on 1 May 2013

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.

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

Titre:

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie?

Title:

Biologic modulation of ionizing radiation by Toll Like Receptors agonists: towards an increase in the therapeutic index of radiotherapy?

Résumé :

Les récepteurs TLR sont des molécules ubiquitaires très conservées au cours de l'évolution qui jouent un rôle central dans les mécanismes immunologiques innés et adaptatifs. L'importance de ces récepteurs et de leurs ligands agonistes a été récemment montrée en immunologie et en cancérologie, même si leurs rôles exacts et les mécanismes en jeu sont encore hypothétiques. L'association d'agonistes de ces récepteurs avec les radiations ionisantes a fait l'objet de travaux pré-cliniques qui ont montré un rôle modulateur spécifique. Parmi ces composés, les dérivés de la flagelline semblent les plus prometteurs pour modifier la radiosensibilité des tissus sains et des tumeurs.

Abstract:

Toll like receptors are ubiquitous and very well conserved throughout evolution, with important functions mediating innate and adaptative immunological mechanisms. The importance of these receptors and their agonists has been recently pointed out in immunology and cancerology, although the accurate underlying mechanisms are still under investigation. The association of agonists of these receptors with ionizing radiation has been studied in preclinical experiments with promising results. Part of these compounds is flagellin which seems to be able to modulate the radiosensitivity of both tumors and healthy tissues.

Mots clés: Toll like receptors, agonists, radiotherapy, therapeutic index, flagellin, radiosensitivity modulation.

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

1) Les Toll like receptors

Les Toll Like Receptors (TLR) sont des récepteurs « ancestraux » qui sont impliqués dans la reconnaissance des pathogènes et donc participe à divers processus immunitaires impliquant principalement l'immunité innée mais aussi adaptative. Ils ont été individualisés pour la première fois chez la drosophile et leur structure a très peu changé au cours de l'évolution témoignant de leur importance en physiologie cellulaire [1]. Ils reconnaissent des Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMP), molécules (protéines, acides aminés, lipides, fragments d'ADN ou d'ARN...) dont les caractéristiques sont habituellement celles d'agents infectieux (bactéries, virus, champignons, levures) reconnus comme appartenant au « non soi ». Ils sont à la base de la réponse immune innée « primitive » pour la défense contre les pathogènes, dans laquelle la cellule dendritique joue un rôle prépondérant. La cellule dendritique est une cellule présentatrice d'antigènes dont il existe différents sous-types suivant leur localisation (circulation sanguine, tissu lymphoïde et surtout tissus périphériques) et leur spécificité (rôle de sentinelle, modulation et maturation des lymphocytes, orientation de la réponse immunitaire). 11 TLR différents sont décrits à ce jour, qu'ils soient présents à la surface membranaire ou dans les endosomes de nombreuses cellules du système immunitaire, notamment les cellules dendritiques. La reconnaissance de leur ligand par les TLR est peu spécifique et il n'est pas rare qu'un même TLR reconnaisse des molécules différentes. Il faut noter que le décryptage des voies de signalisation impliquées est encore partiel et que de nombreux travaux sont en cours pour tenter de les expliciter. De plus, chaque TLR semble adopter des particularités propres dans ses voies de signalisation d'aval (adaptateurs et kinases différents). Pour les récepteurs Toll présents à la surface des membranes, ils sont activés, soit directement après fixation du ligand, soit à l'aide de molécules de costimulation (CD14, CD36, MD2), puis par homo ou hétérodimérisation. Certains TLR sont également activés au niveau des compartiments intracellulaires par leurs ligands qui sont alors le plus

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

souvent des nucléotides [2]. Après fixation du ligand, le récepteur recrute alors des adaptateurs intracellulaires, notamment le Myeloid Differentiation factor de 88 kDa (MyD88), qui entraînent une cascade de signalisation passant par la kinase de I κ B et aboutissant à l'activation de Nf κ B, un facteur de transcription responsable de l'activation de nombreux gènes, notamment de cytokines (figure 1). A côté de cette voie classique d'activation, on décrit également des voies alternes passant par l'activation des stress-activated protein kinase (SAPK) p38 et JUN via les JUN N-terminal kinases (JNKs)), mais aussi des mitogen-activated protein kinase (MAPK), et des interferon regulatory factors (IRFs). Enfin une voie accessoire semble activer la voie PI3K-Akt [3].

Il est probable que la régulation fine de toutes ces voies de signalisation passe par des mécanismes de contrôle et de rétrocontrôle pour éviter un emballement secondaire à cette activation. En ce sens, les microARN semblent jouer un rôle prépondérant dans la modulation du signal des TLR [4]. Plusieurs microARN dont miR-155, miR-21 et miR-146, sont induits par l'activation des TLR et ont pour cible des ARNm codants pour des composants de la cascade de signalisation des TLR, assurant ainsi un contrôle de cette voie [5].

Des travaux récents suggèrent un rôle important des TLR dans la réparation tissulaire, la signalisation, l'homéostasie cellulaire et le cancer [6, 1].

2) **Effets cellulaires de la radiothérapie**

Le mode d'action principal de la radiothérapie passe par des lésions de macromolécules au niveau des cellules présentes dans les champs d'irradiation. Les lésions les plus létales pour les cellules sont les cassures double brin de l'ADN.

Des effets indirects des rayonnements en dehors des champs de traitement sont également connus et regroupés sous le terme d'effet abscopal [7]. Ces effets impliquent principalement des mécanismes immunologiques. La radiothérapie a été considérée jusqu'à très récemment

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

comme un traitement immunosuppresseur [8], par son action myélosuppressive principalement sur les lymphocytes. En réalité, elle est maintenant connue comme un traitement immunomodulateur, notamment avec des changements de sécrétion cytokinique dans le microenvironnement tumoral, et des modifications phénotypiques des cellules immunitaires. La radiothérapie est alors l'équivalent d'un traitement vaccinal local (comme peuvent l'être d'autres cytotoxiques comme certaines chimiothérapies), qui va restaurer l'immunogénicité tumorale perdue lors de la pression sélective du système immunitaire sur la tumeur. En effet, les cellules lésées par l'action des rayons peuvent entrer dans les voies de mort mitotique, nécrose ou apoptose, avec libération d'antigènes tumoraux qui vont pouvoir être présentés au système immunitaire par les cellules dendritiques et engendrer une réponse anti-tumorale spécifique. De plus, au niveau cellulaire, la radiothérapie augmente globalement le pool de protéines membranaires, comme par exemple les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, des molécules pro-apoptotiques comme Fas, des molécules de danger comme les heat shock protein (HSP) et certaines molécules de signal positif de la phagocytose « eat me signal » comme la calréticuline [9, 3]. La tolérance du système immunitaire vis-à-vis des cellules cancéreuses est ainsi diminuée en présentant des antigènes tumoraux reconnus comme appartenant au « non-soi ».

Enfin, la radiothérapie peut engendrer une activation directe mais non spécifique de la voie TLR. En lésant les cellules tumorales, la radiothérapie entraîne la libération de ligands endogènes de ces récepteurs. L'augmentation de la concentration de ces ligands suffit à entraîner une activation des voies d'aval régulées par les TLR. Ainsi, l'irradiation du tissu digestif peut ainsi entraîner des translocations bactériennes et une augmentation de la concentration en lipopolysaccharide (LPS) dans le sérum, molécule connue comme un puissant agoniste de TLR4. Un autre agoniste de TLR4, le HMGB1 (High Mobility Group

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

Box 1), est libéré par les cellules tumorales en réponse à l'agression par les radiations ionisantes. Cette libération active via leur TLR4 les cellules dendritiques, qui vont augmenter la réponse anti-tumorale du système immunitaire en favorisant la présentation d'antigènes tumoraux [3].

3) Associations de traitements systémiques avec la radiothérapie

L'augmentation de la dose de radiothérapie délivrée permet d'améliorer le contrôle tumoral. Cependant, cette escalade de dose est limitée par la toxicité sur les tissus sains, avec une probabilité de complication qui croît avec la dose. La relation dose-effet a une forme sinusoïde, avec un écart entre les courbes de contrôle tumoral et de toxicité qui dépend de la radiosensibilité des tissus sains et tumoraux. Dans le but d'augmenter l'index thérapeutique de la radiothérapie il est souvent associé un traitement concomitant.

La première stratégie consiste à utiliser des radioprotecteurs avec comme objectif de protéger les tissus sains des effets toxiques aigus et/ou chroniques des rayons ionisants. Il faudra alors au préalable vérifier l'absence de radioprotection du tissu tumoral irradié. A ce jour, un seul radioprotecteur est utilisé en clinique: il s'agit de l'amifostine qui est en pratique courante peu utilisé. Au contraire, on peut privilégier l'utilisation de radiosensibilisants, qui vont permettre une meilleure efficacité anti-tumorale pour une dose identique. Le prix à payer est une augmentation obligatoire des toxicités aiguës et tardives, qui devront être prévenues et traitées afin d'éviter la survenue d'une morbidité trop sévère. De nombreux radiosensibilisants sont utilisés en routine: chimiothérapies (cisplatine), anticorps monoclonaux (cetuximab)... mais aucun n'a une réelle sélectivité entre les tissus sains et tumoraux.

4) Radiothérapie, Flagelline, TLR 5 et agonistes de TLR5

Les flagellines bactériennes sont les composants protéiques principaux des flagelles, prolongements membranaires qui servent à la mobilité de certaines bactéries dites flagellées

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

comme *Salmonella Enterica*. Ces protéines sont de puissants agonistes du TLR5, qui est exprimé dans de nombreuses lignées tumorales humaines [10]. La flagelline est une protéine d'environ 500 acides aminés (AA) avec 2 régions distinctes. La première est une région conservée composée des parties N et C terminales de la protéine. Elle est essentielle dans la signalisation cellulaire *via* le TLR5. On peut lui rattacher les effets proinflammatoires cytokiniques de la protéine. La seconde est une région hypervariable centrale dans la séquence de la protéine mais positionné à l'extérieur lorsqu'on étudie la structure tridimensionnelle de l'agoniste. Il confère à la flagelline son immunogénicité, sa toxicité systémique et est impliqué dans la réponse immunitaire innée [11]. Néanmoins le rôle respectif de chacun de ces domaines reste très débattu [12].

La flagelline est impliquée dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques [13] comme la reconnaissance des bactéries [14], la réponse immunitaire, l'inflammation [15], la cicatrisation [16], le recrutement et l'activation de cellules immunitaires au niveau des plaies [4], la réponse à l'ischémie myocardique [17]. De plus, en tant qu'agoniste d'un TLR, la flagelline joue un rôle dans la tumorigénèse, la réponse antitumorale, la reconnaissance immunitaire d'antigènes tumoraux et la réparation des dommages cellulaires dus aux cytotoxiques [2, 6, 18].

Son mode d'action n'est pas complètement élucidé, mais il a été montré qu'elle entraîne une activation de la voie NfκB, par l'intermédiaire de la kinase de IκB (IKK), une phosphorylation forte des SAPK (p38 et Jun), alors que les MAPK sont activées de manière brève et réversible. Au niveau cytokinique, la flagelline induit une sécrétion locale d'IL-1 alpha, d'IL-8, et surtout de TNF alpha, pouvant expliquer ses effets proinflammatoires [10].

L'action anti-tumorale directe de la flagelline a été testée *in vitro* sur des lignées tumorales. Deux types cellulaires ont été utilisés : des lignées humaines (coliques) [18] et des lignées

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

murines qui étaient humanisées avec des antigènes tumoraux [19]. Dans ce dernier modèle, l'action anti-tumorale est très dépendante du moment d'administration de la flagelline par rapport à la greffe tumorale: un traitement précoce favorise la croissance tumorale; alors qu'un effet inhibiteur important est obtenu lors d'un traitement tardif. La réponse est corrélée à la sécrétion cytokinique et à la modulation des cellules immunitaires. Chez des souris nude xéno greffées avec des cellules de cancer du colon humain, la croissance tumorale est augmentée par le blocage de la signalisation TLR par shRNA contre le TLR 5 ou le MyD88. De plus, l'injection péritumorale de flagelline fait régresser les tumeurs [18].

L'action anti-tumorale pourrait donc être liée à des mécanismes immunitaires impliquant la partie hypervariable par modulation du chimiotactisme et de l'activation des cellules immunitaires au niveau du site tumoral; mais elle pourrait également être liée à l'action directe de la partie constante sur les TLR et la cascade cytokinique résultant de l'activation de NfκB.

Burdelya et al [20] ont démontré en 2008 qu'un agoniste de TLR 5 dérivé de la flagelline, le CBLB502, était un puissant radioprotecteur et était capable de prévenir les syndromes gastro-intestinaux et hématopoïétiques survenant après irradiation corporelle totale. L'agoniste était obtenu en enlevant de la flagelline sa partie hypervariable centrale. Ils ont exposé des souris puis des singes à des doses importantes de radiothérapie avec ou sans injection de CBLB502, et ont obtenu l'effet radioprotecteur lorsque l'agoniste était injecté entre 60 et 15 min avant la séance. De plus, dans un modèle de souris p53 +/-, ils n'ont pas observé plus d'induction tumorale (lymphomes ou sarcomes) après CBLB502+radiothérapie comparé à la radiothérapie seule. L'agoniste seul ou en association avec la radiothérapie semble même ralentir la croissance tumorale de xéno greffes de lignées sarcomateuses. De nombreuses hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce rôle radioprotecteur sélectif des tissus

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

sains. La voie NfκB est déjà constitutivement activée dans les tumeurs, et le fait de donner un agoniste de TLR ne favoriserait pas plus la radioprotection que pour un état basal de la cellule tumorale. De plus, la voie Pi3K-AKT, qui inhibe la voie TLR, est activée dans un grand nombre de tumeurs et bloquerait ainsi le signal en aval de l'agoniste, rendant son effet caduque dans les cellules cancéreuses. Une autre hypothèse est de considérer que la flagelline entraîne une inhibition de l'apoptose, or le mode d'action majoritaire de la radiothérapie dans les tumeurs solides est la mort mitotique, qui ne serait donc pas affectée par son action. Enfin, la réaction immunitaire systémique proinflammatoire liée à la flagelline entraîne une réponse anti-tumorale qui pourrait compenser la radioprotection. Tous ces mécanismes explicatifs sont probablement intriqués et devront être testés et confirmés par de nouveaux travaux de recherche.

5) Interactions entre radiothérapie et autres TLR

Si l'association entre la radiothérapie et les TLR5 ou ses agonistes semble la plus prometteuse et a été ainsi la plus étudiée, l'interaction avec d'autres récepteurs et agonistes sont en cours d'investigation.

a) Radiothérapie et oligonucléotides CpG

Les oligonucléotides CpG sont formés de répétitions de motif cytosine-guanine non méthylés reconnus par les Toll-like receptor 9 (TLR9). Ils stimulent les immunités innée et adaptative via les cellules dendritiques et les lymphocytes B et possèdent par ce biais une activité antitumorale propre lorsqu'ils sont injectés en péri-tumoral [21-23]. *In vivo*, ils augmentent l'efficacité de la chirurgie et de la chimiothérapie [24-26]. En association avec les radiations ionisantes, une sensibilisation a été montrée, que la radiothérapie soit délivrée en dose unique [27] ou fractionnée [28]. Dans ce dernier cas, l'effet radiosensibilisant est encore plus marqué, avec un facteur de l'ordre de 3,6 dans un modèle de fibrosarcome. Des études cliniques sont

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

déjà en cours pour évaluer le profil de tolérance et d'efficacité des oligonucléotides CpG [29-32].

b) TLR2, TLR4 et pneumopathie radique

Si l'effet des agonistes des TLR 5 et 9 en association avec les radiations ionisantes a été le plus étudié, des données préliminaires concernant le rôle des TLR 2 et 4 dans la réponse des tissus sains [33] ont récemment été publiées. Paun et al ont montré que des souris déficientes en TLR2 et TLR4 avaient un risque plus important de pneumopathie radique que des souris contrôles ou déficientes en un seul de ces 2 récepteurs. Ce mécanisme passerait par une augmentation de l'expression pulmonaire de hyaluronidase 2, molécule connue pour ses propriétés pro-inflammatoires et pro-fibrosantes [34-36]. Il existerait une redondance dans les voies des récepteurs TLR2 et TLR4 qui permettrait d'éviter les pneumopathies radiques en cas d'absence d'un seul de ces deux récepteurs.

6) Limites potentielles de l'association d'agonistes des TLR avec la radiothérapie

Avant de pouvoir utiliser ces composés en pratique clinique quotidienne, de plus amples recherches précliniques et cliniques sont nécessaires afin de vérifier que la radioprotection des tissus sains ne se traduise pas par une diminution de la radiocurabilité tumorale.

Les résultats concernant l'activité antitumorale propre des agonistes de TLR sont variables suivant les études, le type d'agoniste considéré et le modèle cellulaire ou animal utilisé. La plupart des réponses antitumorales obtenues in vivo l'ont été après injection de l'agoniste en péri-tumoral, ce qui est difficilement transposable en clinique. De plus, il est probable que ces réponses passent par des mécanismes immunologiques, ce qui est difficilement évaluable avec des modèles animaux: utilisation de souris « nude » avec système immunitaire déficient lorsque l'on veut utiliser des xéngreffes de lignées tumorales humaines, ou de souris immunocompétentes mais avec nécessité d'utiliser des greffes tumorales murines pour éviter la prise en compte de la réaction de l'organisme sur les xéngreffes dans la réponse tumorale. Le

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

modèle animal utilisé pour les études précliniques est donc capital, notamment la présence d'un système immunitaire fonctionnel. De même, la séquence d'administration, ainsi que la forme et le type de l'agoniste utilisé (forme tronquée avec délétion de la partie hypervariable versus forme classique par exemple pour la flagelline), semblent jouer un rôle crucial dans la modulation de la croissance tumorale.

Les doses de radiothérapie utilisées dans ces études précliniques (fortes doses par fraction, radiothérapie non ou peu fractionnée, débit de dose peu standardisé, volumes irradiés variables) ont peu de pertinence pour leur application dans des études cliniques et d'autres protocoles d'administration devraient être testés.

Enfin, il faut noter la difficulté d'identification d'un marqueur préclinique fiable de toxicité radioinduite, la prévention des syndromes gastro-intestinal et hématopoïétique étant adaptée à l'amélioration du pronostic après irradiation accidentelles mais pas à l'utilisation thérapeutique des radiations ionisantes.

Les résultats sont donc encore préliminaires et d'autres données corroborant celles déjà obtenues sont nécessaires, en utilisant d'autres modèles cellulaires et animaux et d'autres modes d'administration des agonistes et de la radiothérapie.

7) **Conclusions et perspectives**

Les agonistes des TLR sont des composés extrêmement prometteurs dans le traitement du cancer, notamment en association avec la radiothérapie du fait de leur effet différentiel entre tissu sain et tumeurs. Leurs mécanismes d'action ne sont pas encore complètement élucidés et des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre leurs effets et anticiper leurs risques.

Des données supplémentaires de sécurité sont nécessaires avant d'envisager des études de phase I chez l'homme en association avec la radiothérapie.

Références:

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

1. Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Role of toll-like receptors in tissue repair and tumorigenesis. *Biochemistry Moscow* 2008 ; 73 : 555-561.
2. Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nat Rev Cancer* 2009 ; 9 : 57-63.
3. Roses RE, Xu M, Koski GK, Czerniecki BJ. Radiation therapy and Toll-like receptor signaling: implications for the treatment of cancer. *Oncogene* 2008 ; 27 : 200-207.
4. O'Neill LA, Sheedy FJ, McCoy CE. MicroRNAs: the fine tuners of Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2011 ; 11: 163-175.
5. Quinn SR, O'Neill LA. A trio of microRNAs that control Toll-like receptor signalling. *Int Immunol* 2011 ; 23 : 421-425.
6. Kluwe J, Mencin A, Schwabe RF. Toll-like receptors, wound healing, and carcinogenesis. *J Mol Med* 2009 ; 87 : 125-138.
7. Demaria S, Bhardwaj N, McBride W, Formenti S. Combining radiotherapy and immunotherapy: A revived partnership. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005 ; 63 : 655-666.
8. Formenti SC, Demaria S. Systemic effects of local radiotherapy. *Lancet Oncol* 2009 ; 10 : 718-726.
9. Tesniere A, Apetoh L, Ghiringhelli F, Joza N, Panaretakis T, Kepp O, et al. Immunogenic cancer cell death: a key-lock paradigm. *Current Opinion in Immunology* 2008 ; 20 : 504-511.
10. Tallant T, Deb A, Kar N, Lupica J, de Veer MJ, DiDonato JA. Flagellin acting via TLR5 is the major activator of key signaling pathways leading to NF-kappa B and proinflammatory gene program activation in intestinal epithelial cells. *BMC Microbiol* 2004 ; 4 : 33.
11. Nempont C, Cayet D, Rumbo M, Bompard C, Villeret V, Sirard J-C. Deletion of flagellin's hypervariable region abrogates antibody-mediated neutralization and systemic activation of TLR5-dependent immunity. *J Immunol* 2008 ; 181 : 2036-2043.
12. Liu F, Yang J, Zhang Y, Zhou D, Chen Y, Gai W, et al. Recombinant flagellins with partial deletions of the hypervariable domain lose antigenicity but not mucosal adjuvancy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010 ; 392 : 582-587.
13. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Sanders CJ, Frias A, Sloane VM, Xu J, et al. Flagellin treatment protects against chemicals, bacteria, viruses, and radiation. *J Immunol* 2008 ; 180 : 8280-8285.
14. Rumbo M, Nempont C, Kraehenbuhl J-P, Sirard J-C. Mucosal interplay among commensal and pathogenic bacteria: lessons from flagellin and Toll-like receptor 5. *FEBS Lett* 2006 ; 580 : 2976-2984.

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

15. Rydberg C, Månsson A, Uddman R, Riesbeck K, Cardell L-O. Toll-like receptor agonists induce inflammation and cell death in a model of head and neck squamous cell carcinomas. *Immunology* 2009 ; 128 : e600-611.
16. Gao N, Kumar A, Jyot J, Yu F-S. Flagellin-induced corneal antimicrobial peptide production and wound repair involve a novel NF-kappaB-independent and EGFR-dependent pathway. *PLoS ONE* 2010 ; 5 : e9351.
17. Chao W. Toll-like receptor signaling: a critical modulator of cell survival and ischemic injury in the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009 ; 296 : H1-12.
18. Rhee SH, Im E, Pothoulakis C. Toll-like receptor 5 engagement modulates tumor development and growth in a mouse xenograft model of human colon cancer. *Gastroenterology* 2008 ; 135 : 518-528.
19. Sfondrini L, Rossini A, Besusso D, Merlo A, Tagliabue E, Mènard S, et al. Antitumor activity of the TLR-5 ligand flagellin in mouse models of cancer. *J Immunol* 2006 ; 176 : 6624-6630.
20. Burdelya LG, Krivokrysenko VI, Tallant TC, Strom E, Gleiberman AS, Gupta D, et al. An agonist of toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models. *Science* 2008 ; 320 : 226-230.
21. Baines J, Celis E. Immune-mediated tumor regression induced by CpG-containing oligodeoxynucleotides. *Clin Cancer Res* 2003 ; 9 : 2693-2700.
22. Heckelsmiller K, Rall K, Beck S, Schlamp A, Seiderer J, Jahrsdörfer B, et al. Peritumoral CpG DNA elicits a coordinated response of CD8 T cells and innate effectors to cure established tumors in a murine colon carcinoma model. *J Immunol* 2002 ; 169 : 3892-3899.
23. Kawarada Y, Ganss R, Garbi N, Sacher T, Arnold B, Hämmerling GJ. NK- and CD8(+) T cell-mediated eradication of established tumors by peritumoral injection of CpG-containing oligodeoxynucleotides. *J Immunol* 2001 ; 167 : 5247-5253.
24. Krieg AM. Antitumor applications of stimulating toll-like receptor 9 with CpG oligodeoxynucleotides. *Curr Oncol Rep* 2004 ; 6 : 88-95.
25. Weigel BJ, Rodeberg DA, Krieg AM, Blazar BR. CpG oligodeoxynucleotides potentiate the antitumor effects of chemotherapy or tumor resection in an orthotopic murine model of rhabdomyosarcoma. *Clin Cancer Res* 2003 ; 9 : 3105-3114.
26. Mason KA, Neal R, Hunter N, Ariga H, Ang K, Milas L. CpG oligodeoxynucleotides are potent enhancers of radio- and chemoresponses of murine tumors. *Radiother Oncol* 2006 ; 80 : 192-198.
27. Milas L, Mason KA, Ariga H, Hunter N, Neal R, Valdecanas D, et al. CpG oligodeoxynucleotide enhances tumor response to radiation. *Cancer Res* 2004 ; 64 : 5074-5077.

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

28. Mason KA, Ariga H, Neal R, Valdecanas D, Hunter N, Krieg AM, et al. Targeting toll-like receptor 9 with CpG oligodeoxynucleotides enhances tumor response to fractionated radiotherapy. *Clin Cancer Res* 2005 ; 11 : 361-369.
29. Leonard JP, Link BK, Emmanouilides C, Gregory SA, Weisdorf D, Andrey J, et al. Phase I trial of toll-like receptor 9 agonist PF-3512676 with and following rituximab in patients with recurrent indolent and aggressive non Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 2007 ; 13 : 6168-6174.
30. Krieg AM. Development of TLR9 agonists for cancer therapy. *J Clin Invest* 2007 ; 117 : 1184-1194.
31. Taylor PA, Ehrhardt MJ, Lees CJ, Panoskaltsis-Mortari A, Krieg AM, Sharpe AH, et al. TLR agonists regulate alloresponses and uncover a critical role for donor APCs in allogeneic bone marrow rejection. *Blood* 2008 ; 112 : 3508-3516.
32. Fourcade J, Kudela P, Andrade Filho PA, Janjic B, Land SR, Sander C, et al. Immunization with analog peptide in combination with CpG and montanide expands tumor antigen-specific CD8⁺ T cells in melanoma patients. *J Immunother* 2008 ; 31 : 781-791.
33. Paun A, Fox J, Balloy V, Chignard M, Qureshi ST, Haston CK. Combined Tlr2 and Tlr4 deficiency increases radiation-induced pulmonary fibrosis in mice. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010 ; 77 : 1198-1205.
34. Nilsson K, Henriksson R, Hellström S, Tengblad A, Bjermer L. Hyaluronan reflects the pre-fibrotic inflammation in irradiated rat lung: concomitant analysis of parenchymal tissues and bronchoalveolar lavage. *Int J Radiat Biol* 1990 ; 58 : 519-530.
35. Teder P, Vandivier RW, Jiang D, Liang J, Cohn L, Puré E, et al. Resolution of lung inflammation by CD44. *Science* 2002 ; 296 : 155-158.
36. Rosenbaum D, Peric S, Holecek M, Ward HE. Hyaluronan in radiation-induced lung disease in the rat. *Radiat Res* 1997 ; 147 : 585-591.

Figure 1 : représentation schématique simplifiée de la voie classique d'activation des Toll like récepteurs (sous type membranaire). PAMP : Pathogen Associated Molecular Patterns ; IKK : kinase de I κ B ; IL1 : Interleukine 1 ; IL8 : Interleukine 8 ; TNF α : Tumor Necrosis Factor α .

Modulation biologique des radiations ionisantes par les agonistes des Toll Like Receptors: vers une amélioration de l'index thérapeutique de la radiothérapie? R1

