

COLLOQUE 2018

**Le microbiote intestinal et son hôte :
entente ou mésentente ?**

Le microbiote et la maladie inflammatoire de l'intestin

Professeur Harry SOKOL (Paris)

Sorbonne Université, Inserm, Centre de Recherche Saint-Antoine, CRSA, AP-HP,
Hôpital Saint Antoine, Service de Gastroentérologie, F-75012 Paris, France
Service de Gastroentérologie, Hôpital Saint-Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris
(AP-HP), Paris, France
INRA, UMR1319 Micalis, AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France

[Les notes renvoient à la page des références.](#)

INTRODUCTION

La communauté microbienne du tractus gastro-intestinal humain, ou microbiote intestinal, est fondamentale pour la santé. Le microbiote intestinal joue en effet un rôle majeur dans la physiologie digestive et le maintien de l'homéostasie intestinale. Une dysfonction dans la régulation de la réponse immunitaire intestinale envers le microbiote peut rompre l'équilibre fragile de cet écosystème complexe en modifiant sa composition, créant ainsi une dysbiose.^[1-3] En permettant l'implantation de bactéries qui favorisent des réactions inflammatoires locales, la dysbiose prédispose l'individu à une inflammation pathologique ou incontrôlée. Ce processus est impliqué dans de nombreuses pathologies dont les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) telles que la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique, deux maladies complexes qui évoluent par poussées inflammatoires alternant avec des phases de rémission.

LE MICROBIOTE INTESTINAL DANS LA PATHOGENESE DES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN

Implication de facteurs génétiques et environnementaux

La maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique sont des pathologies liées à une activation du système immunitaire intestinal vis-à-vis du microbiote chez des hôtes génétiquement susceptibles et sous l'influence de facteurs d'environnement. Ce schéma est communément admis bien que la physiopathologie de la MICI soit plus complexe,^[4] le microbiote intestinal n'en étant pas le seul acteur. D'autres facteurs génétiques et environnementaux impactent également ces maladies, indépendamment du microbiote. Ainsi, les grandes analyses génétiques réalisées ces dernières années ont permis d'identifier plus de 150 gènes de prédisposition à ces maladies.^[5]

De même, la prévalence de ces maladies étant en considérable augmentation dans les pays en voie d'industrialisation, une implication de l'environnement dans leur survenue est suspectée, notamment la pollution (microparticules, métaux lourds).^[6-7] L'alimentation pourrait également être en cause.^[8,9] Néanmoins, certains facteurs génétiques et certains facteurs environnementaux, impliqués dans la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique, ont aussi un rôle au travers d'effets sur le microbiote intestinal. Ils ont fait l'objet de plusieurs travaux récents.

Implication du microbiote dans le développement de la MICI : les arguments

L'implication du microbiote dans le développement de la MICI est suspectée depuis longtemps. Différents arguments ont été avancés.

Les analyses génétiques ont apporté un éclairage certain. La grande majorité des gènes associés à ces maladies sont soit des gènes impliqués dans la reconnaissance des microorganismes, soit des gènes impliqués dans la réponse aux microorganismes. Dans la maladie de Crohn, la dérivation du flux fécal entraîne la cicatrisation des lésions d'aval. Dès que le flux fécal est rétabli, des lésions inflammatoires réapparaissent en quelques jours. De même, dans la recherche sur des modèles murins de colite, il est généralement impossible d'induire une inflammation chez la souris dépourvue de microbiote.

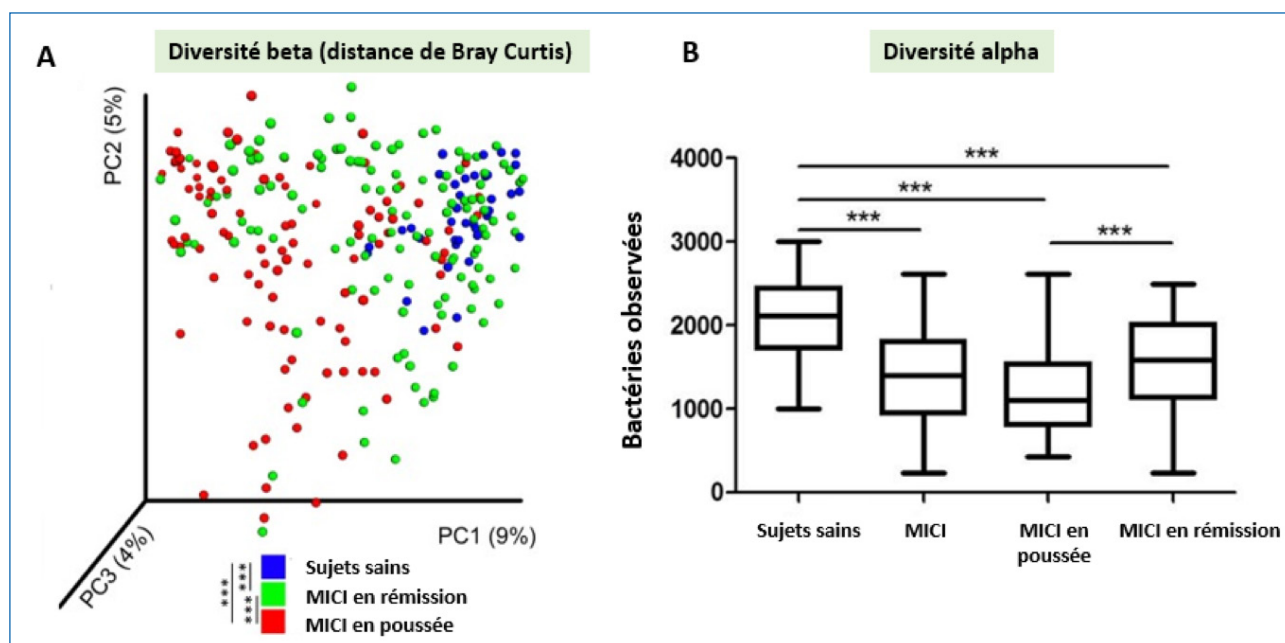
Un autre argument réside dans la différence que l'on peut observer entre le microbiote d'un patient atteint de MICI et celui d'un sujet sain. Une dysbiose, ou des anomalies du microbiote intestinal sont observées dans les MICI. Il a en effet été noté dans notre récente étude comme dans de nombreuses études antérieures :

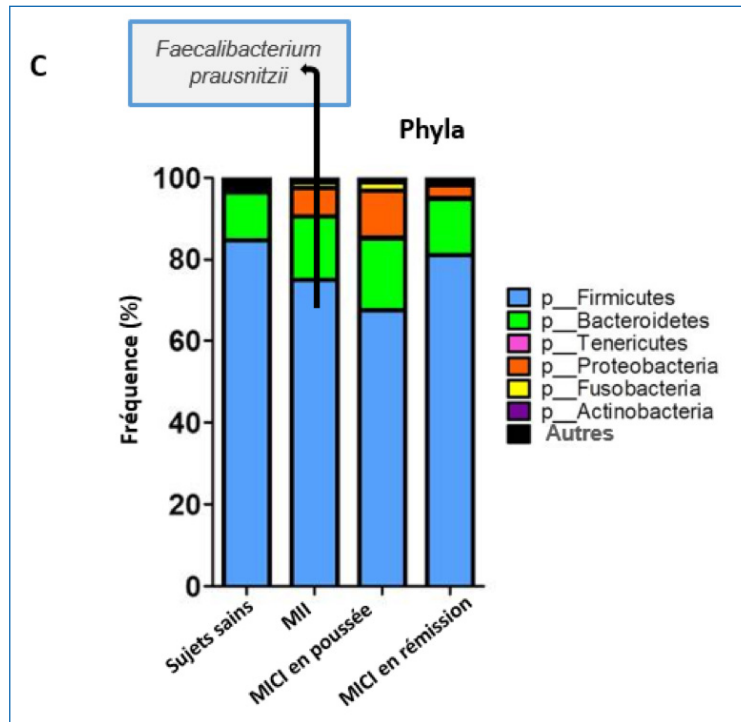
- 1/ une différence de composition entre le microbiote de volontaires sains, celui de patients avec MICI en état de poussée inflammatoire, et celui de patients en rémission, (Figure 1a)
- 2/ une diminution de la diversité bactérienne chez les patients atteints de MICI, d'autant plus importante qu'ils sont en poussée (Figure 1b).^[1]

En termes de composition, il est notamment rapporté une diminution de l'abondance des bactéries appartenant au phylum des Firmicutes avec en regard une augmentation de celles appartenant au phylum des Proteobacteria (Figure 1c).^[1] Une des bactéries dominantes du phylum des Firmicutes et du microbiote intestinal humain en général, *Faecalibacterium prausnitzii* apparaît particulièrement diminuée chez les patients atteints de MICI, notamment de maladie de Crohn, et l'on observe que son taux est prédictif du risque de rechute.^[2,3]

Figure 1. Anomalies du microbiote dans la maladie inflammatoire de l'intestin. La dispersion des points (distance de Bray Curtis) révèle la différence significative ($p < 0,001$) entre les microbiotes des sujets sains et ceux des patients porteurs d'une MICI en poussée ou d'une MICI en rémission (A). Par rapport aux sujets sains, la diversité est significativement ($p < 0,001$) diminuée chez les patients avec MICI, en poussée inflammatoire ou en état de rémission (B). Dans tous les phénotypes, le microbiote bactérien est dominé par des phyla de Firmicutes, Bacteroidetes et Proteobacteria. Au cours des MICI, il existe une diminution des Firmicutes (et notamment de la bactérie *Faecalibacterium prausnitzii*) au profit des Proteobacteria (C).^[1]

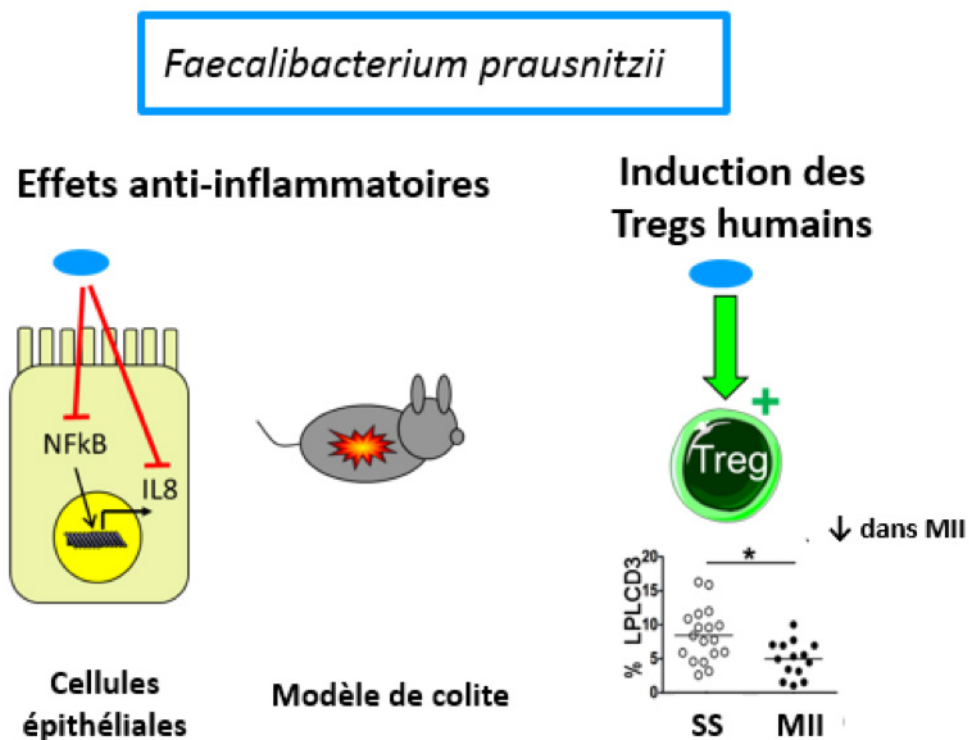
Adapté et traduit de Sokol 2017^[1]





Il a également été montré que *Faecalibacterium prausnitzii* avait des effets anti-inflammatoires avec des mécanismes variés incluant le blocage des voies de l'inflammation dans les cellules épithéliales intestinales et la stimulation d'une sous-population particulière de lymphocyte T, régulateur exprimant à la fois le CD4 et le CD8 (Figure 2).^[2,3, 10-13]

Figure 2. Mécanismes impliqués dans l'action anti-inflammatoire de *Faecalibacterium prausnitzii*.



La pathogénèse des MICI est donc marquée par des interactions complexes entre microbiote, génétique de l'hôte et environnement.

INTERACTIONS COMPLEXES HÔTE-MICROBIOTE DANS LES MICI

Rôle de la génétique de l'hôte dans la modulation du microbiote intestinal et dans les MICI

Afin de déterminer chez l'homme si la génétique de l'hôte avait un effet sur le microbiote en situation d'inflammation intestinale, nous avons récemment étudié le microbiote intestinal de patients ayant trois types de déficits immunitaires primitifs rares induisant un phénotype qui ressemble à une MICI : la granulomatose chronique septique, le déficit en XIAP et le déficit en TTC7A.^[14] Ces trois défauts génétiques ont des conséquences extrêmement différentes en termes d'immunité et de cellules épithéliales, relevant de mécanismes distincts, et sont toutes caractérisées par des manifestations intestinales similaires à celles d'une MICI. L'analyse a montré un clustering des patients en fonction du gène causal de leur maladie. L'étude des caractéristiques du microbiote des sujets malades montre que, par rapport au microbiote des sujets sains, des signaux différents apparaissent : les patients avec déficit en TTC7A ont une augmentation d'un certain nombre de protéobactéries et une diminution des Firmicutes, les patients atteints de granulomatose chronique septique ont un signal différent, de même que les patients avec un défaut en XIAP.^[14] Dans le microbiote de ces derniers on observe, parmi les bactéries augmentées, une majorité de bactéries habituellement rencontrées dans le microbiote oral.^[14] Une autre caractéristique est également à souligner chez ces patients : la forte augmentation en *Lactococcus garviae*, une bactérie qu'on ne retrouve que chez les patients ayant un déficit en XIAP et qui est un pathogène des poissons d'eau de mer.

Ces données humaines suggèrent que les altérations du microbiote dans un contexte inflammatoire ne sont pas liées à la seule inflammation intestinale et que la dysbiose n'est pas seulement un processus non spécifique lié à l'inflammation. Les gènes de l'hôte pourraient également moduler activement la dysbiose avec notamment un effet sur le type d'altération du microbiote observé. Ces corrélations doivent être testées dans des modèles expérimentaux murins pour rechercher des liens de causalité.

Lien causal des interactions génétiques de l'hôte-microbiote dans l'inflammation intestinale

Parmi les nombreux gènes de susceptibilité aux MICI, le gène CARD9 (Caspase Recruitment Domain 9) a été identifié. Il s'agit d'un gène important de l'immunité innée contre de nombreux types de micro-organismes. Exprimé essentiellement dans les cellules présentatrices de l'antigène, CARD9 intègre les signaux en aval des récepteurs de l'immunité innée.

Pour comprendre le rôle de ce gène dans l'inflammation intestinale, une étude a soumis des souris invalidées pour *Card9* (*Card9* KO) et des souris témoins (WT), non modifiées génétiquement, à un modèle de colite au DSS (dextran sodium sulfate).^[15] Les souris *Card9* KO sont plus sensibles à la colite induite par le DSS que les souris non modifiées avec notamment un défaut dans la phase de récupération qui fait suite à la phase inflammatoire active. La susceptibilité à l'inflammation observée chez les souris *Card9* KO est transférable à des souris WT via un transfert de microbiote intestinal. Le mécanisme implique un défaut du métabolisme du tryptophane par le microbiote des souris *Card9* KO.^[2] En effet, certaines bactéries du microbiote sont connues pour leur capacité à utiliser le tryptophane dans la production des dérivés indoles, agonistes du récepteur AhR (aryl hydrocarbon receptor) qui stimulent ce récepteur sur un certain nombre de cellules épithéliales ou immunitaires. Elles ont des effets très importants dans l'homéostasie intestinale, notamment dans la production d'interleukine-22 et de peptides antimicrobiens. L'activation de cette voie favorise aussi l'intégrité des cellules épithéliales. Le microbiote des souris *Card9* KO présente un défaut de métabolisme du tryptophane entraînant une diminution de la production des agonistes AhR, une activation de la voie AhR, une production d'interleukine-22 et de peptides antimicrobiens, une perturbation de l'intégrité épithéliale, induisant finalement une plus grande susceptibilité à l'inflammation.^[15]

Pour évaluer si les observations faites chez la souris étaient pertinentes chez l'homme, les selles de patients porteurs d'une MICI et de sujets sains ont été analysées et ont révélé que la capacité de production d'agoniste AhR était globalement diminuée chez les patients atteints de MICI, avec, en particulier, une diminution de l'acide indole-acétique.^[15] Ces résultats montrent que les gènes de l'hôte ont un effet sur la composition et la fonction du microbiote intestinal, altérant la production de métabolites microbiens et l'inflammation intestinale.

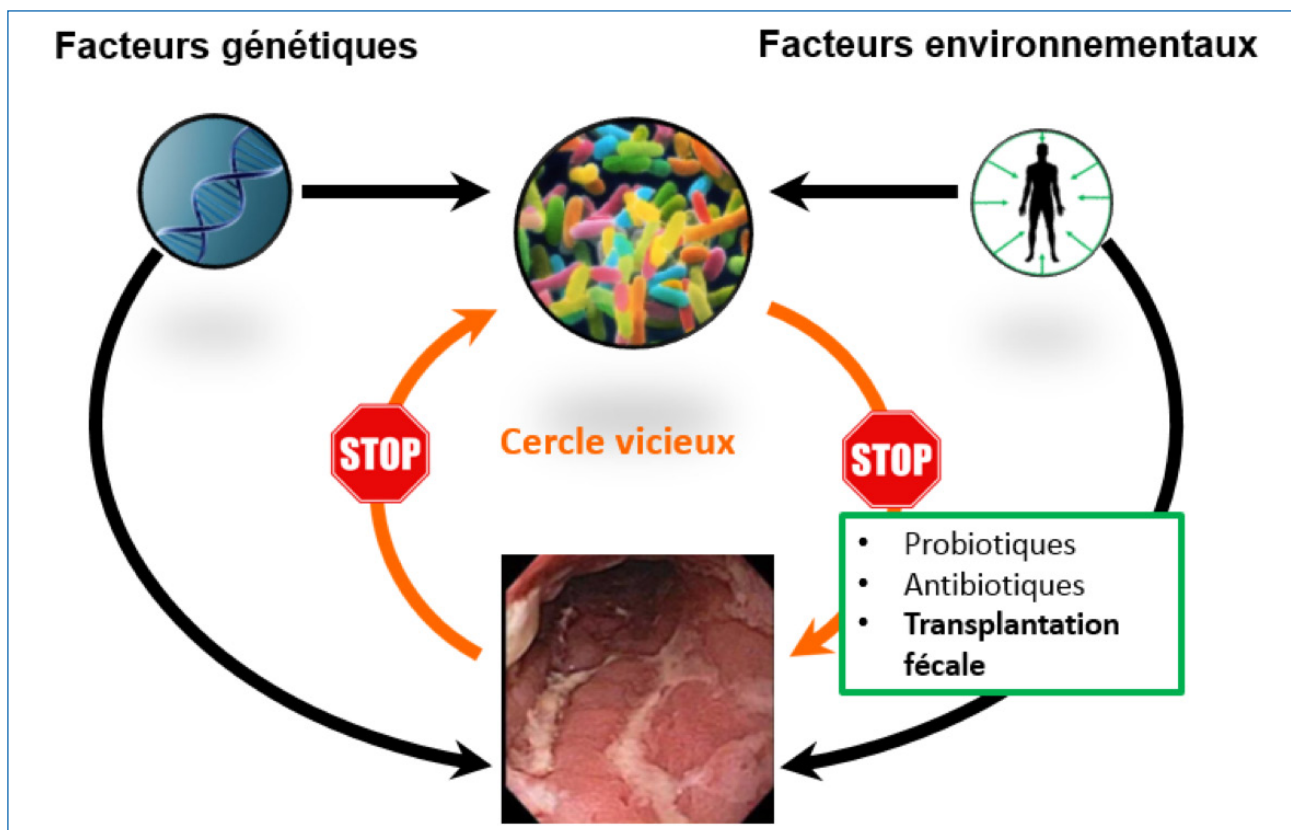
Un microbiote altéré : cause ou conséquence ?

Une question se pose depuis longtemps quant au rôle du microbiote dans les MICI, mais également dans d'autres maladies : les anomalies du microbiote sont-elles cause ou conséquence de la maladie ? La réponse semble être « les deux ! ». Le microbiote ne se modifie pas spontanément mais sous l'effet de certains facteurs. D'autre part, si certaines fonctions protectrices importantes se perdent ou si des fonctions délétères apparaissent dans un microbiote modifié, la maladie et l'inflammation se trouvent alimentées. De fait, il est maintenant établi que :

1/ la génétique et les facteurs d'environnement ont un impact sur l'inflammation intestinale et sur le microbiote,
2/ l'inflammation impacte le microbiote qui lui-même a un effet sur la maladie. S'induit alors un cercle vicieux (Figure 3) que le traitement devra parvenir à cibler et à éliminer.

En termes de traitement, il semblerait nécessaire de bloquer dans le même temps la maladie et l'inflammation (Figure 3). Les médicaments actuels agissent essentiellement sur l'immunité mais le microbiote n'est pas ciblé.

Figure 3. Génétique, environnement et microbiote dans la maladie inflammatoire de l'intestin : le cercle vicieux entre inflammation et dysbiose du microbiote. Pour une véritable efficacité thérapeutique dans la MICI, les deux bras de la pathogénèse, inflammation et microbiote, doivent être ciblés.



TRAITEMENT CIBLANT LE MICROBIOTE INTESTINAL DANS LA MALADIE INFLAMMATOIRE DE L'INTESTIN

Les traitements proposés pour cibler le microbiote intestinal sont les probiotiques classiques ou de nouvelle génération, les antibiotiques ou des médicaments qui ciblent les bactéries pour les bloquer, et la transplantation de microbiote fécal (TMF). Le concept de la TMF est le remplacement du microbiote dysbiotique par un microbiote sain. Aujourd'hui la seule indication de cette procédure est l'infection récidivante à *Clostridium difficile* et la TMF, en dehors de cette indication, ne s'effectue que dans le cadre de la recherche.

Quatre études randomisées contrôlées menées dans la MICI ont été publiées.^[16-19] Dans ces études, l'objectif était d'induire la rémission par une TMF chez des patients atteints de rectocolite hémorragique en phase inflammatoire active. Les résultats publiés rapportent des résultats positifs avec des différences significatives pour trois essais. Il existe toutefois des limites : une grande hétérogénéité dans les méthodologies appliquées, des effectifs réduits, et l'absence de données d'entretien.

Aucun essai randomisé contrôlé n'a été publié dans la maladie de Crohn. Une étude pilote randomisée contrôlée a néanmoins été conduite à l'Hôpital Saint-Antoine mais n'a pas encore été publiée. Cet essai, qui incluait un petit effectif de patients en poussée inflammatoire de maladie de Crohn, avait pour objectif de cibler à la fois le système immunitaire et le microbiote. Après induction par corticostéroïdes d'une rémission clinique, les patients ont été randomisés soit pour une TMF soit pour une fausse TMF. Un suivi a été effectué sur 6 mois avec réduction progressive de la corticothérapie, de manière à obtenir des données d'entretien. Les résultats de cette étude devraient être publiés prochainement.

COMMENTAIRES, CONCLUSIONS

Compte tenu de son rôle démontré dans la pathogenèse des MICI, le microbiote intestinal est maintenant considéré comme une cible thérapeutique potentielle. Ainsi les probiotiques de nouvelle génération et la TMF sont activement étudiés.

La TMF semble constituer un outil thérapeutique intéressant, mais elle n'est pas encore totalement maîtrisée. L'intérêt principal des études de TMF menées dans la MICI pourrait être l'identification des microorganismes, des métabolites et des fonctions microbiennes porteuses d'effets thérapeutiques qui pourraient constituer des outils thérapeutiques plus contrôlés et plus simples que la TMF. C'est le cas des probiotiques de nouvelle génération tels que *Faecalibacterium prausnitzii*.

RÉFÉRENCES (Les références soulignées renvoient aux abstracts correspondants sur PubMed)

1. Sokol H, Leducq V, Aschard H, Pham HP, Jegou S, Landman C, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut* 2017; 66(6):1039-1048.
2. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *PNAS* 2008; 105 (43):16731-16736.
3. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Cosnes J, Corthier G, Marteau P, Doré J. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15(8):1183-9.
4. Ni J, Wu GD, Albenberg L, Tomov VT. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14(10):573-584.
5. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* 2012; 491(7422):119-124.
6. Dutta AK, Chacko A. Influence of environmental factors on the onset and course of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2016; 22:1088-1100.
7. Molodecky NA, Kaplan GG. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol* 2010; 6:339-346.

8. Forbes A, Escher J, Hébuterne X, Kłęk S, Krznaric Z, Schneider S, et al. ESPEN guideline: clinical nutrition in inflammatory bowel disease. Clin Nutr 2017; 36(2):321-347.
 9. Rapozo DC, Bernardazzi C, de Souza HS. Diet and microbiota in inflammatory bowel disease: the gut in disharmony. World J Gastroenterol 2017; 23(12):2124-2140.
 10. Miquel S, Leclerc M, Martin R, Chain F, Lenoir M, Raguideau S, et al. Identification of metabolic signatures linked to anti-inflammatory effects of Faecalibacterium prausnitzii. MBio 2015; 6(2).
 11. Quévrain E, Maubert MA, Michon C, Chain F, Marquant R, Tailhades J, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from Faecalibacterium prausnitzii, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. Gut 2016; 65(3):415-425.
 12. Sarrabayrouse G, Bossard C, Chauvin JM, Jarry A, Meurette G, Quévrain E, et al. CD4CD8 $\alpha\alpha$ lymphocytes, a novel human regulatory T cell subset induced by colonic bacteria and deficient in patients with inflammatory bowel disease. PLoS Biol 2014; 12(4):e1001833.
 13. Godefroy E, Alameddine J, Montassier E, Mathé J, Desfrancois-Noël J, Marec N, et al. Expression of CCR6 and CXCR6 by gut-derived CD4+/CD8 α + T-Regulatory Cells, which are decreased in blood samples from patients with inflammatory bowel diseases. Gastroenterology 2018; 155(4):1205-1217.
 14. Sokol H, Mahlaoui N, Aguilar C, Bach P, Join-Lambert O, Garraffo A, Seksik P, et al. Intestinal dysbiosis in inflammatory bowel disease associated with primary immunodeficiency. J Allergy Clin Immunol 2019; 143(2):775-778.e6
 15. Lamas B, Richard ML, Leducq V, Pham HP, Michel ML, Da Costa G, et al. CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands. Nat Med 2016; 22(6):598-605.
 16. Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, Tijssen JG, Hartman JH, Duflou A, et al. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis. Gastroenterology 2015; 149(1):110-118.
 17. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, Armstrong D, Marshall JK, Kassam Z, Reinisch W, Lee CH. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial. Gastroenterology 2015; 149(1):102-109.e6.
 18. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, Walsh AJ, van den Bogaerde J, Samuel D, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. Lancet 2017; 389(10075):1218-1228.
 19. Costello SP, Hughes PA, Waters O, Bryant RV, Vincent AD, Blatchford P, et al. Effect of fecal microbiota transplantation on 8-week remission in patients with ulcerative colitis: a randomized clinical trial. JAMA. 2019; 321(2):156-164
-