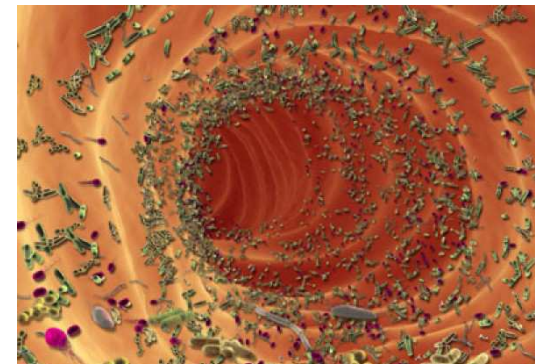




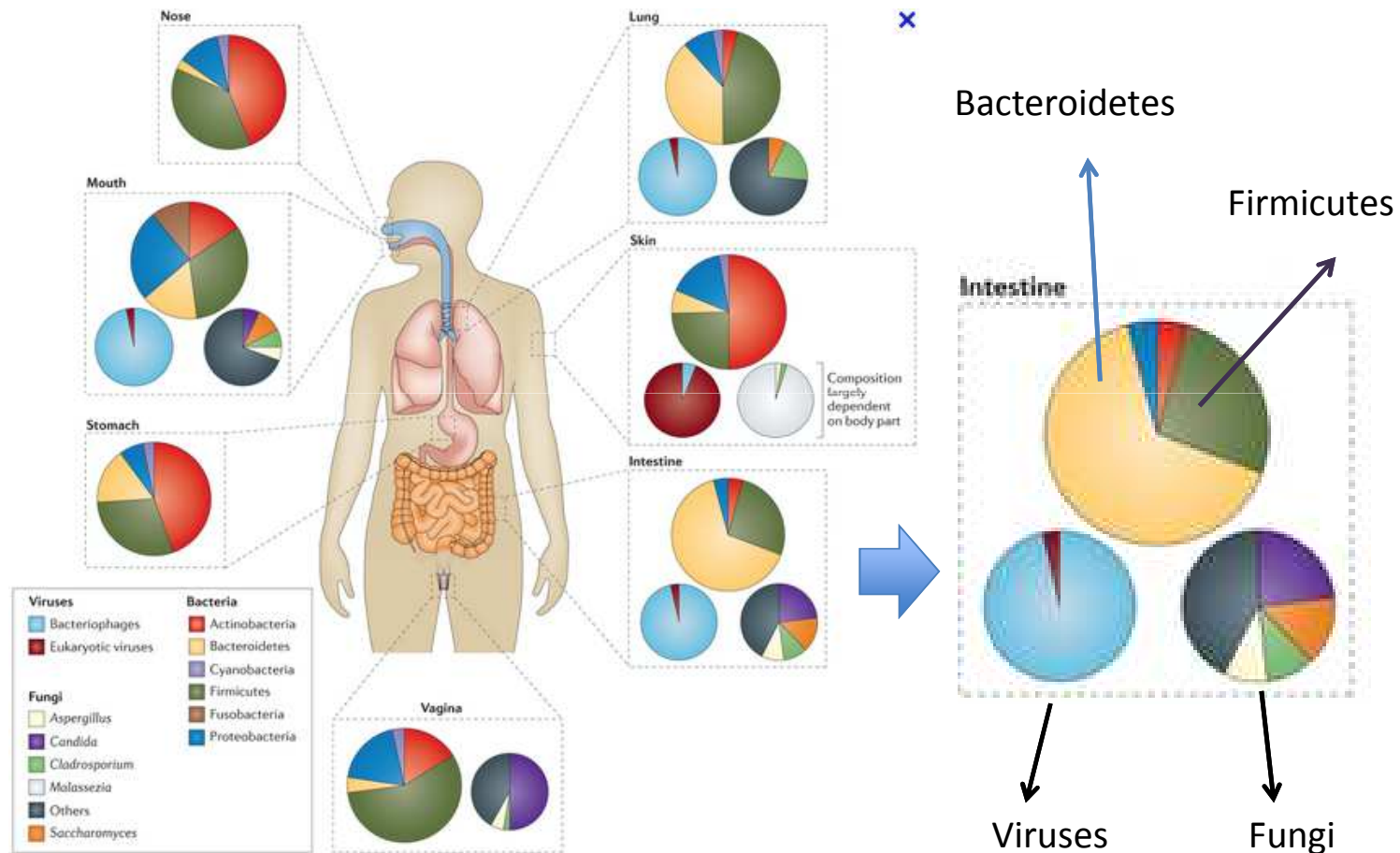
Homme et 2 kg de bactéries: le microbiote

Corinne Miceli Richard

Service de Rhumatologie
Université Paris-Descartes
Institut Pasteur Paris
AP-HP Hôpital Cochin, Paris



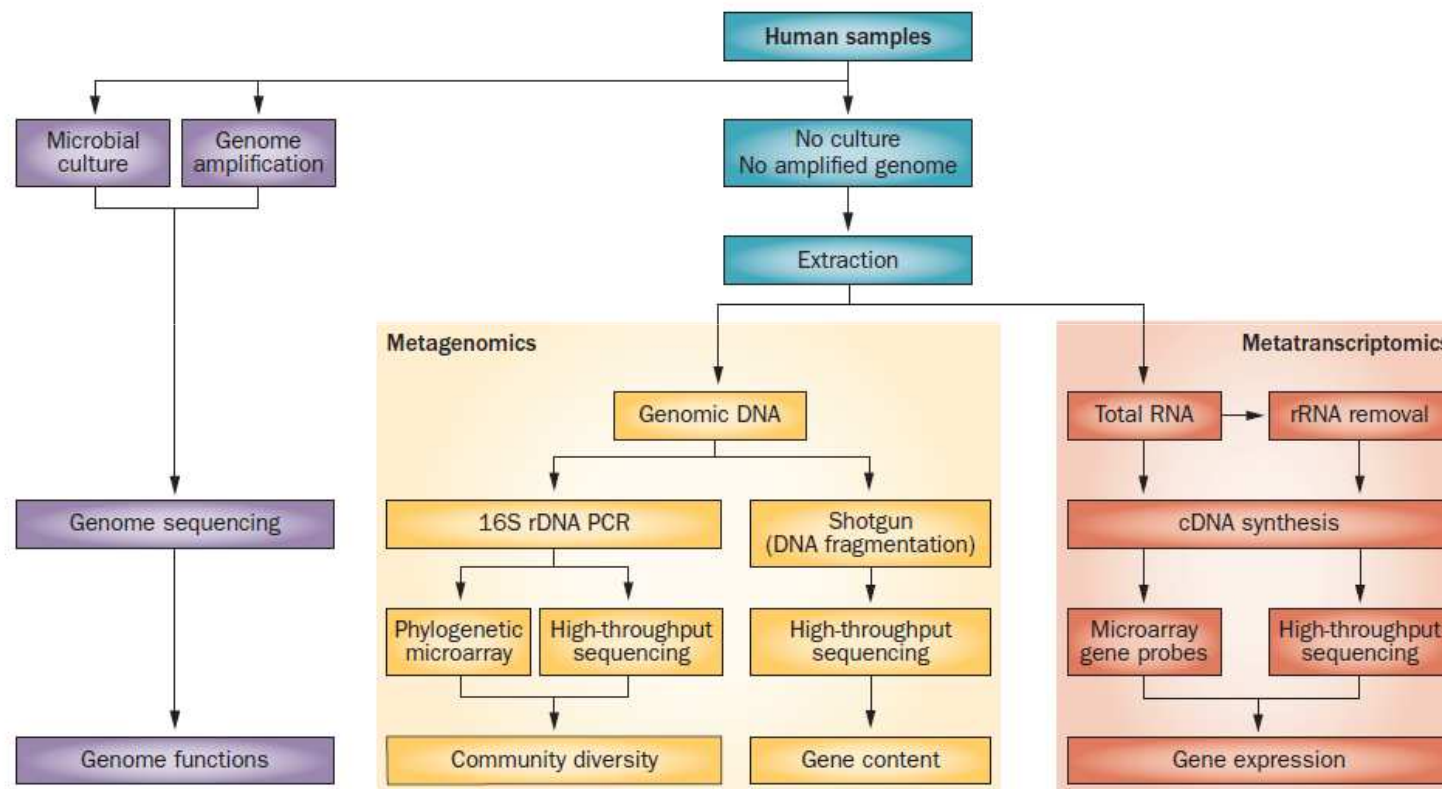
Microbiote



Composition du microbiote

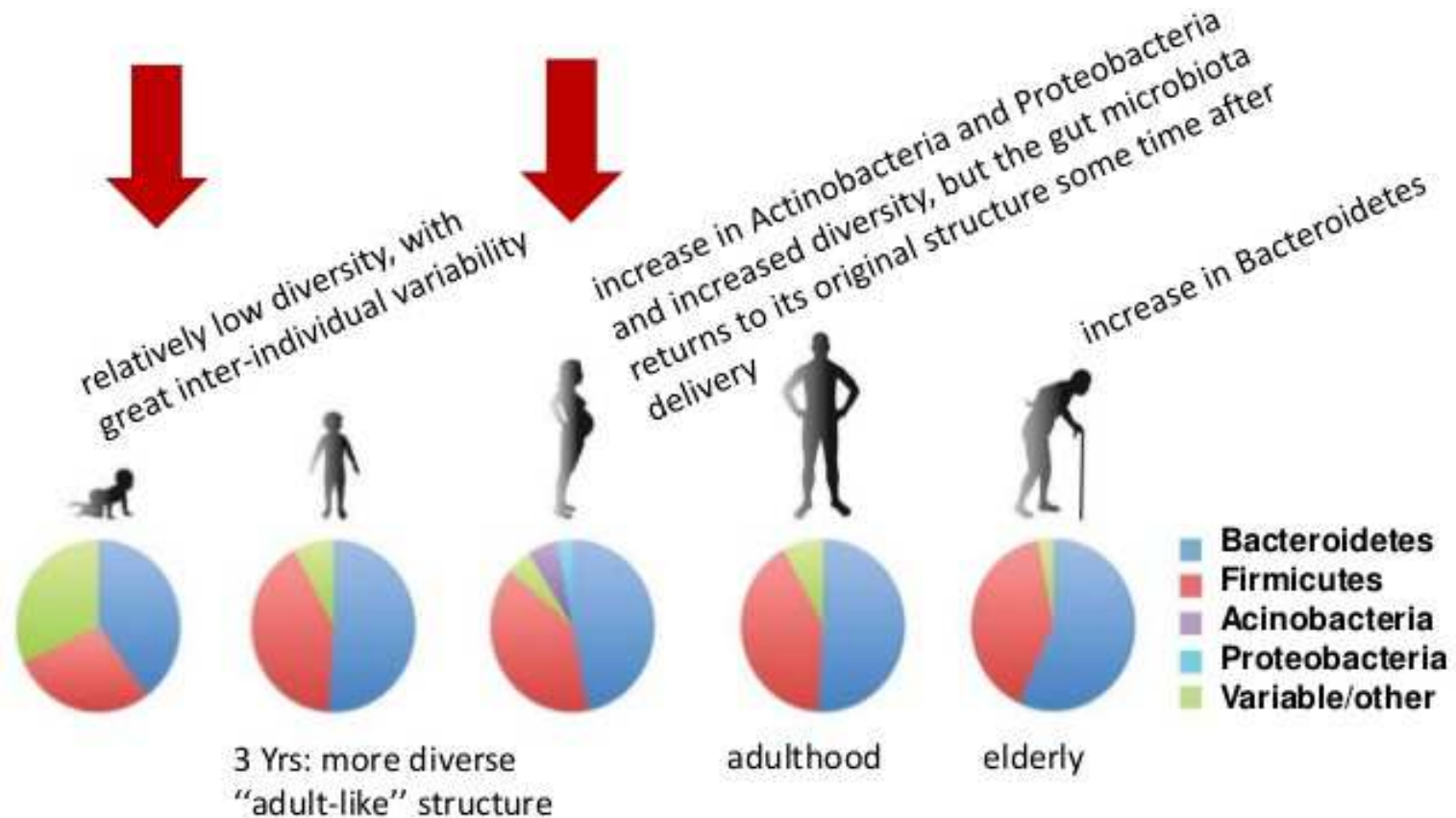
- 100 milliards de cellules → 3.3 millions de gènes codants (100 x le génome humain)
- Analysable par séquençage haut débit global (métagénome) ou sélectif sur bactéries (Séquençage ciblé amplicon cDNA issu de l'ARN16S) ou fongique (ITS2)
- Principaux composants:
 - Firmicutes (65%): enterococci, clostridium
 - Bacteroidetes (16%) : bacteroides
 - Proteobacteria (9%): Escherichia, klebsiella, enterobacter, citrobacter, aerobacter
 - Actinobacteria (5%): Bifidobacterium

Comment étudier le microbiote?



Manichanh, C. *et al. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 9, 599–608 (2012);

Le microbiote se modifie au cours de la vie



Aleksandar D. Kostic, Michael R. Howitt and Wendy S. Garrett; *Genes Dev.* 2013 27: 701-718

Quelques définitions

- **Dysbiose:**

- **Expansion de pathobionts:**

- bactéries commensales qui peuvent jouer un rôle pathogène
 - Faible abondance normalement
 - Ex: Enterobacteriaceae dans les MICI

- **Perte de commensaux:**

- Réduction de la prolifération
 - Destruction (ATB?)
 - Ex: correction par transplantation fécale si Clostridium difficile

- **Perte de la diversité:**

- Réduction de la diversité alpha... (MICI, Diabète, Obésité)

Quelques définitions

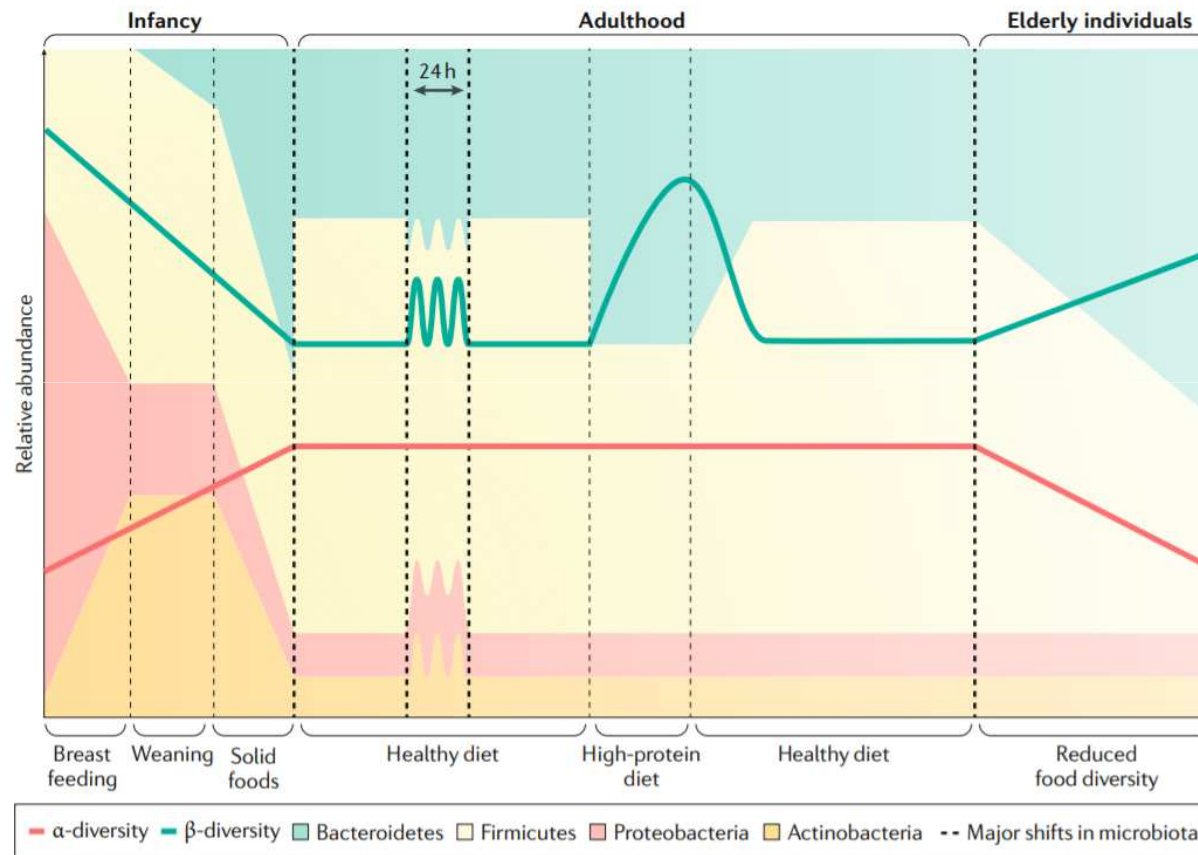
- **Diversité alpha:**

- Richesse en espèces (**Nombre d'OTU**) ; répond à la question « combien » (Combien d'espèces différentes peuvent être détectées dans un écosystème microbien?)
- Diversité des espèces (**Index de Shannon**); répond à la question « quelles différences observe t'on entre les espèces bactériennes? » -> est-ce que certaines espèces dominent les autres ou bien sont-elles d'abondance similaire?

- **Diversité Béta:**

- Regarde dans quelle mesure la composition microbienne est différente en fonction de l'environnement
 - **Dissimilarité de Bray Curtis**: basée sur l'abondance ou le comptage de read; différence d'abondance entre 2 échantillons, valeur variant de 0 (exactement la même abondance donc pas de différence) à 1 complètement différent)
 - **Test de Jaccard (distance)**: basé sur la présence ou l'absence d'espèces (on ne parle pas d'abondance), variant de 0 exactement les mêmes espèces à 1 aucune espèce en commun

Le microbiote se modifie au cours de la vie

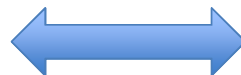


Zmora et al, Nat Rev Gastroenter Hepat

Facteurs modulant le microbiote

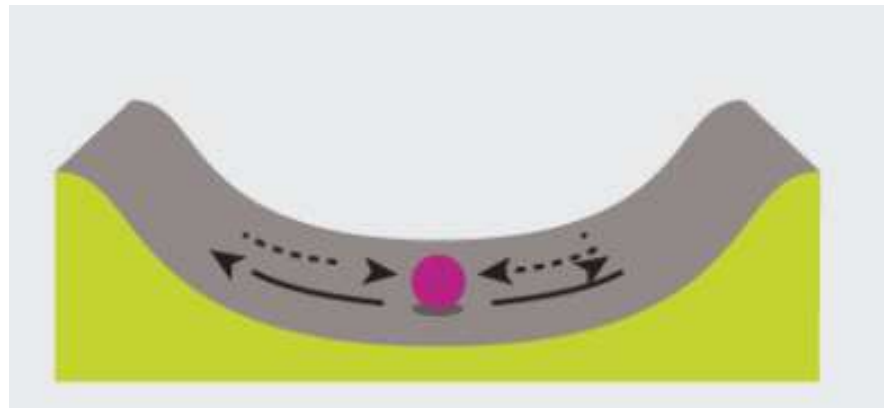
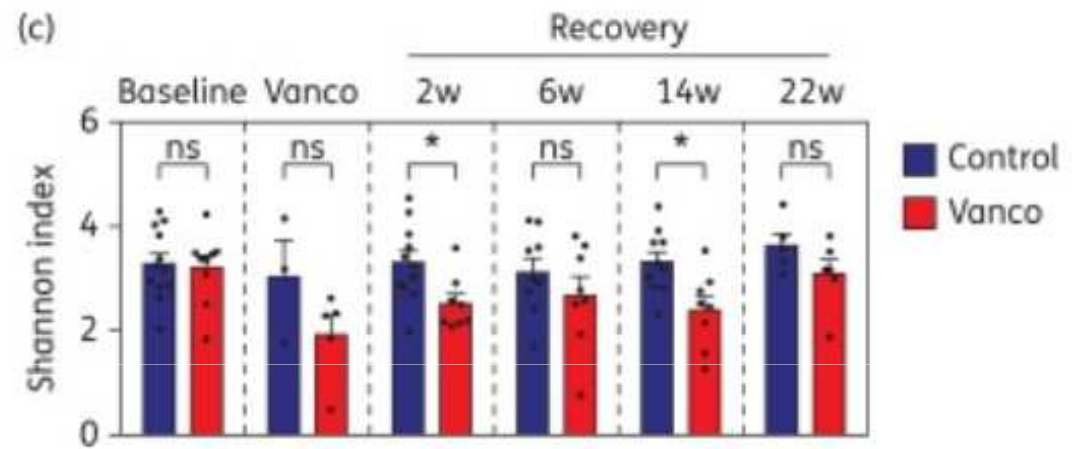
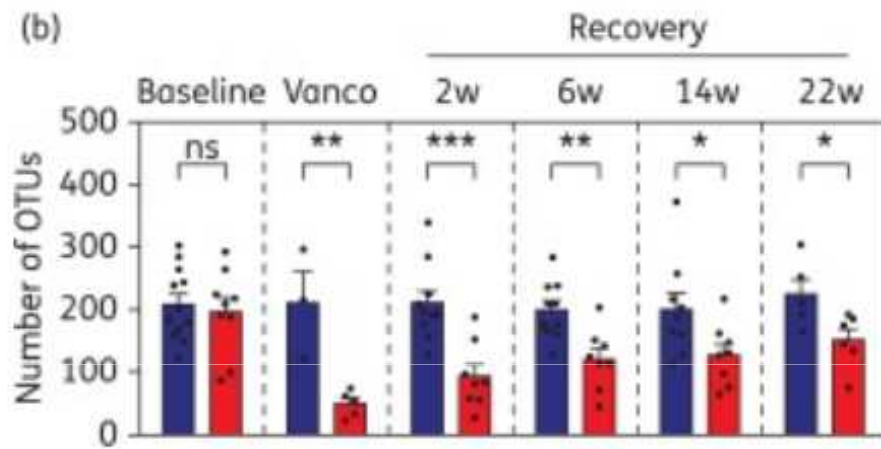
- Le régime alimentaire est un facteur majeur modulant le microbiote (et *vice-versa*...)
 - Obésité
- Facteurs génétiques
 - Etudes de jumeaux
- Maladies inflammatoires/autoimmunes chroniques
 - Maladie de Crohn
- Age – antibiotiques – autres traitements...

Microbiota



Chronic diseases

Résilience



Isaac et al, J Antimicrob Chemother. 2017

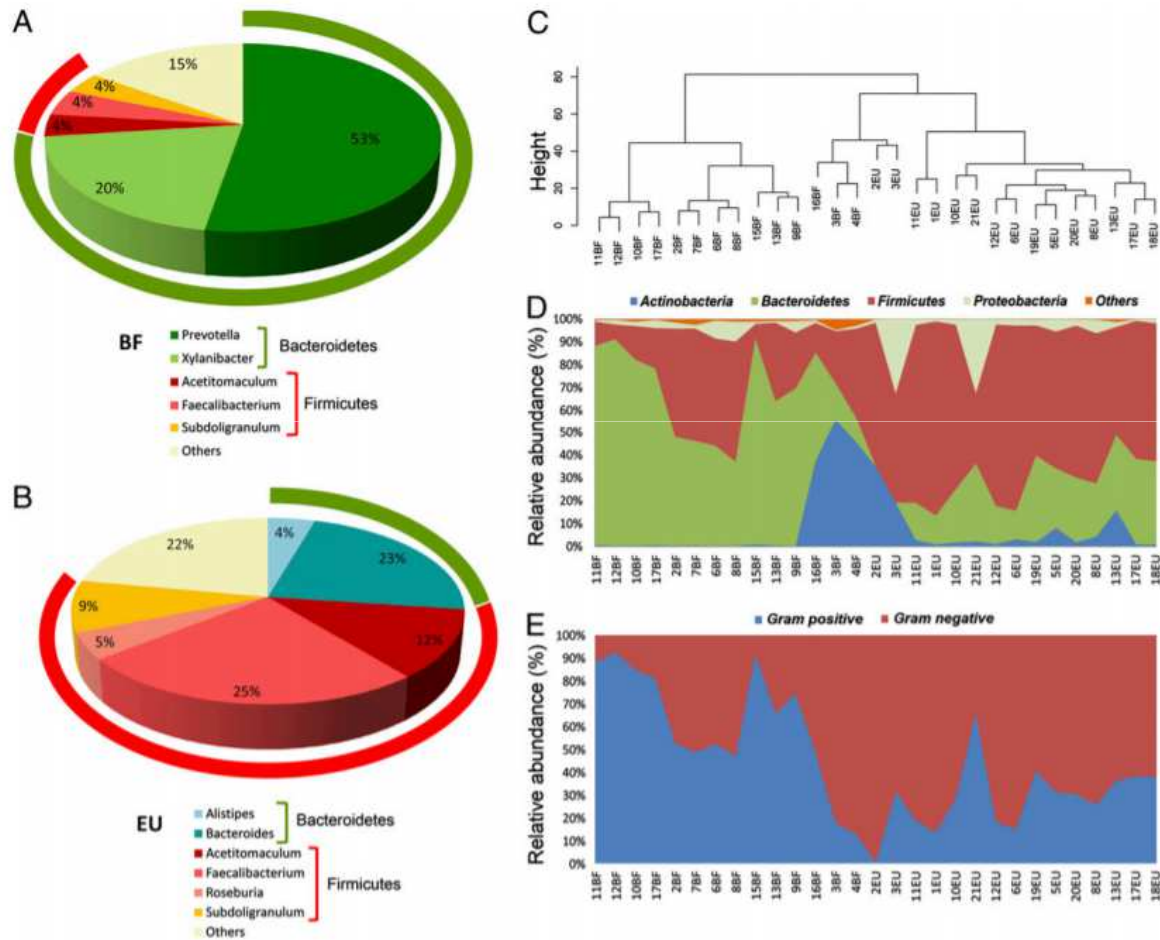
Impact du régime alimentaire



- Comparaison du microbiote d'enfants d'Afrique rurale (Burkina Faso) versus Européens

De Filippo et al, PNAS 2010

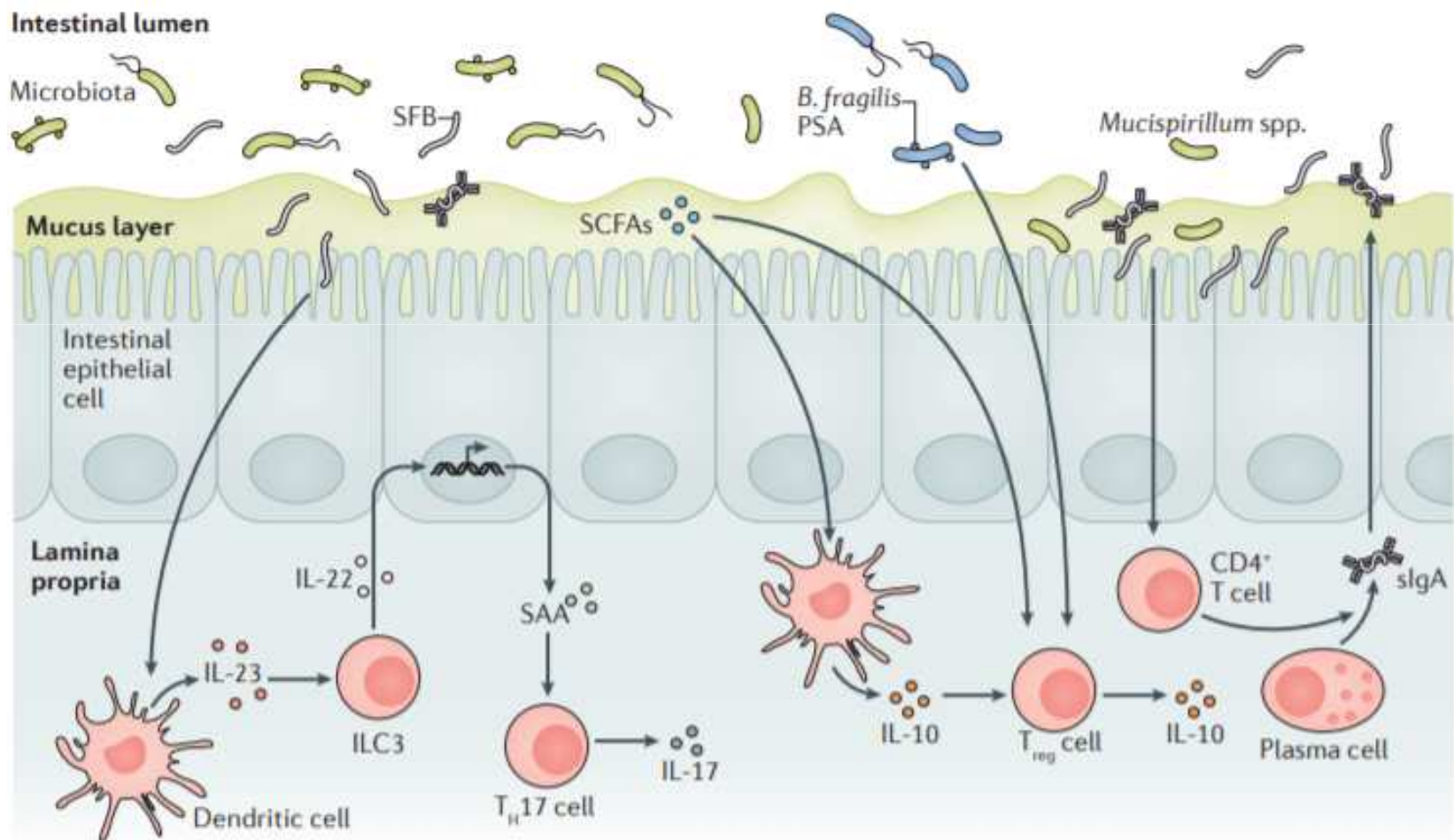
Impact du régime alimentaire



De Filippo et al, PNAS 2010

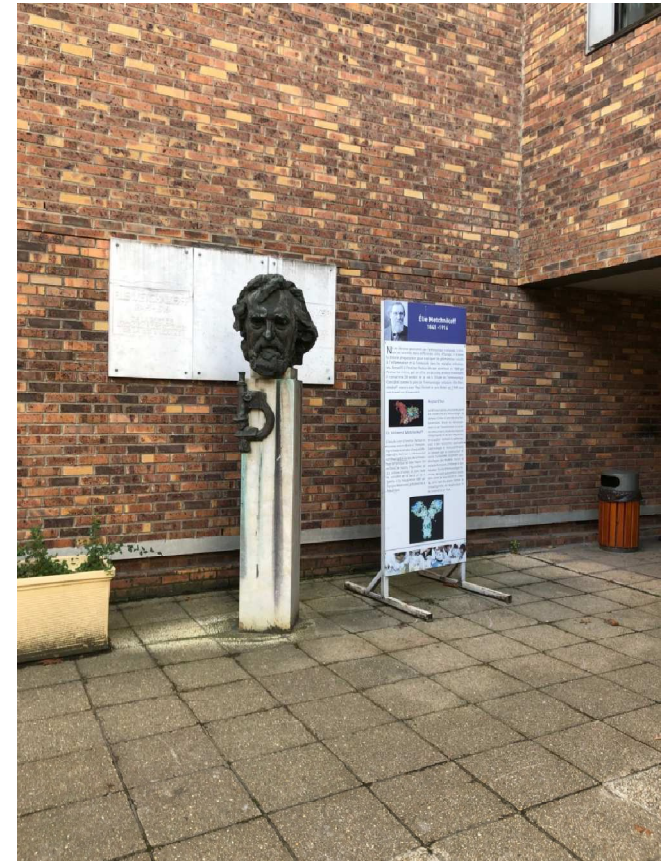
Le microbiote façonne le système immunitaire

Un équilibre subtil et fragile



L'ÂGE MODIFIE LE MICROBIOTE... OU BIEN EST-CE L'INVERSE...?

Metchnikoff à l'Institut Pasteur...



Elie Metchnikoff (1845-1916)



- Prix Nobel de physiologie ou médecine en 1908
- Découverte de la phagocytose – origine de la biologie cellulaire...
- *The Prolongation of Life: Optimistic Studies*: la longévité de certaines populations en Bulgarie est liée à l'absorption de produits laitiers fermentés qui aurait pour effet de maintenir un équilibre adéquat entre la flore digestive pathogène et bénéfique

Elie Metchnikoff (1845-1916)



- Père des probiotiques: l'ingestion de bactéries vivantes pourrait avoir des "effets bénéfiques sur la flore intestinale normale de l'Homme »
- Il défend la thèse que la sénescence est induite par une augmentation de la perméabilité intestinale:
 - > translocation bactérienne / métabolites
 - > activation de la phagocytose
 - > inflammation systémique
 - > sénescence

Caractéristiques des super-centenaires

- Âge > 110 ans (1 centenaire sur 1000)
- Fonctions cognitives et santé conservées jusqu'au décès
- Activité physique préservée
- Survie vis-à-vis des épidémies de grippe
- Niveau de cytokines pro-inflammatoires abaissé par rapport au niveau d'un sujet âgé « classique »
- **Microbiote digestif particulier?**



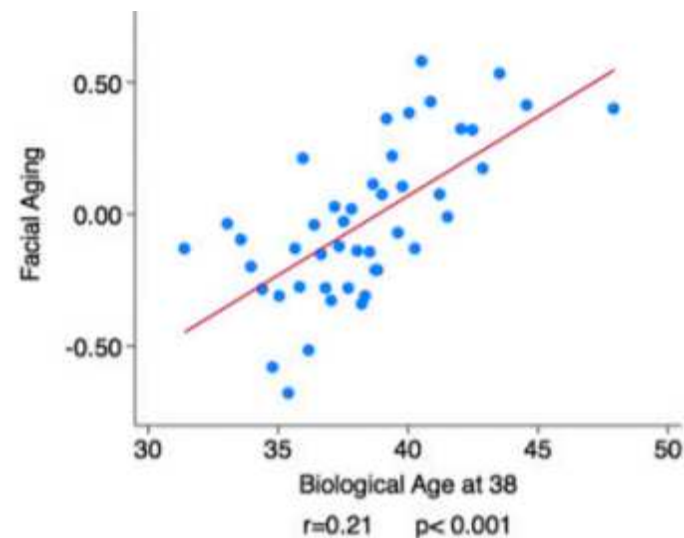
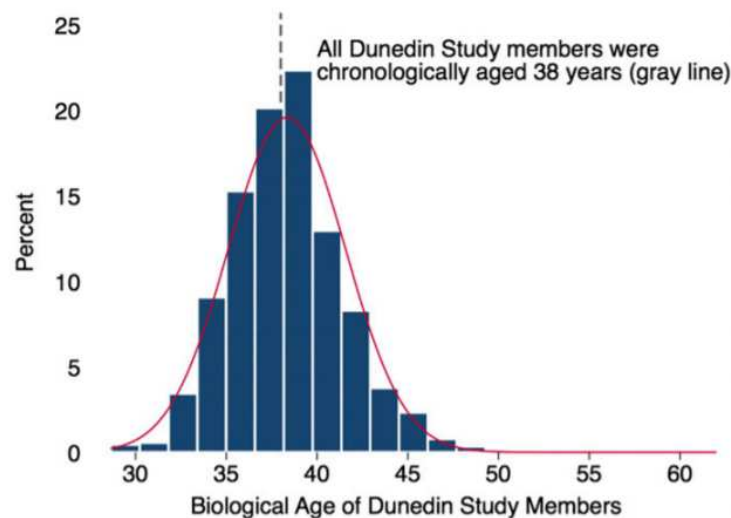
The DUNEDIN Study



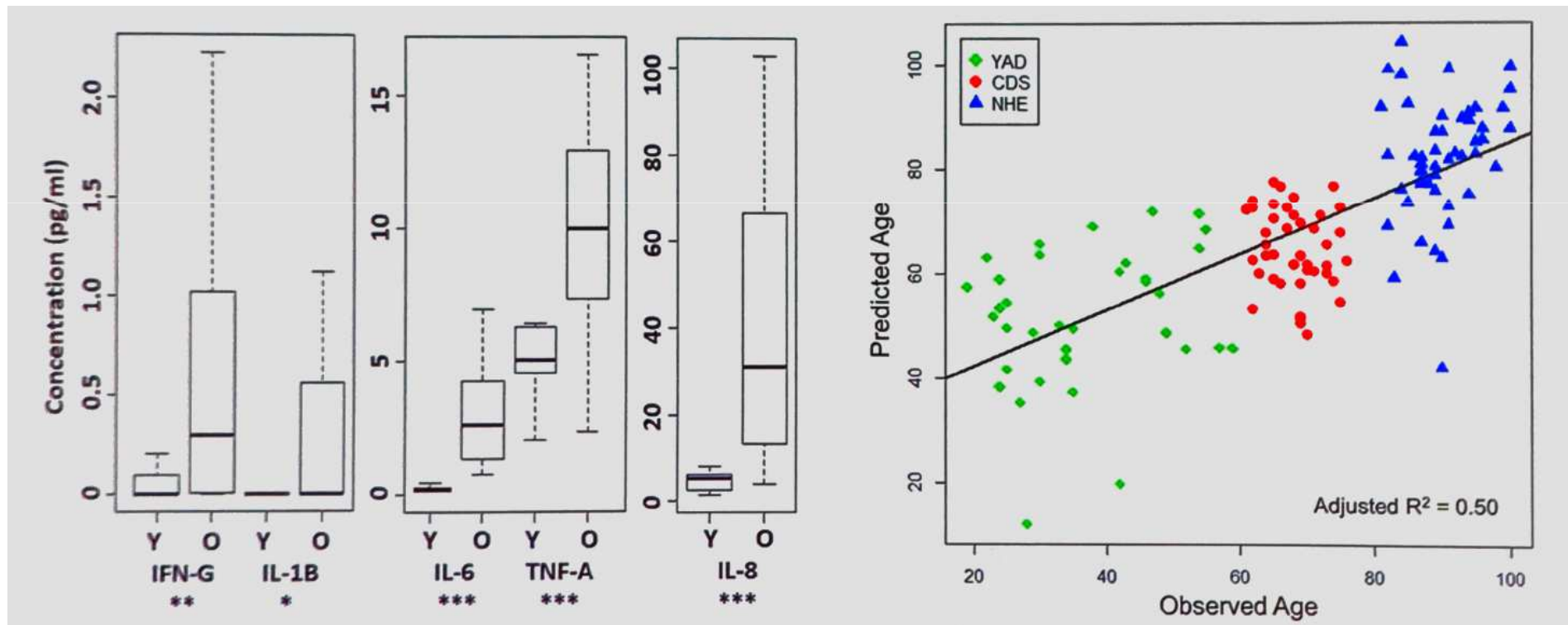
Quantification of biological aging in young adults

Daniel W. Belsky^{a,b,1}, Avshalom Caspi^{c,d,e,f}, Renate Houts^c, Harvey J. Cohen^a, David L. Corcoran^e, Andrea Danese^{f,g}, HonaLee Harrington^c, Salomon Israel^h, Morgan E. Levineⁱ, Jonathan D. Schaefer^c, Karen Sugden^c, Ben Williams^c, Anatoli I. Yashin^b, Richie Poulton^j, and Terrie E. Moffitt^{c,d,e,f}

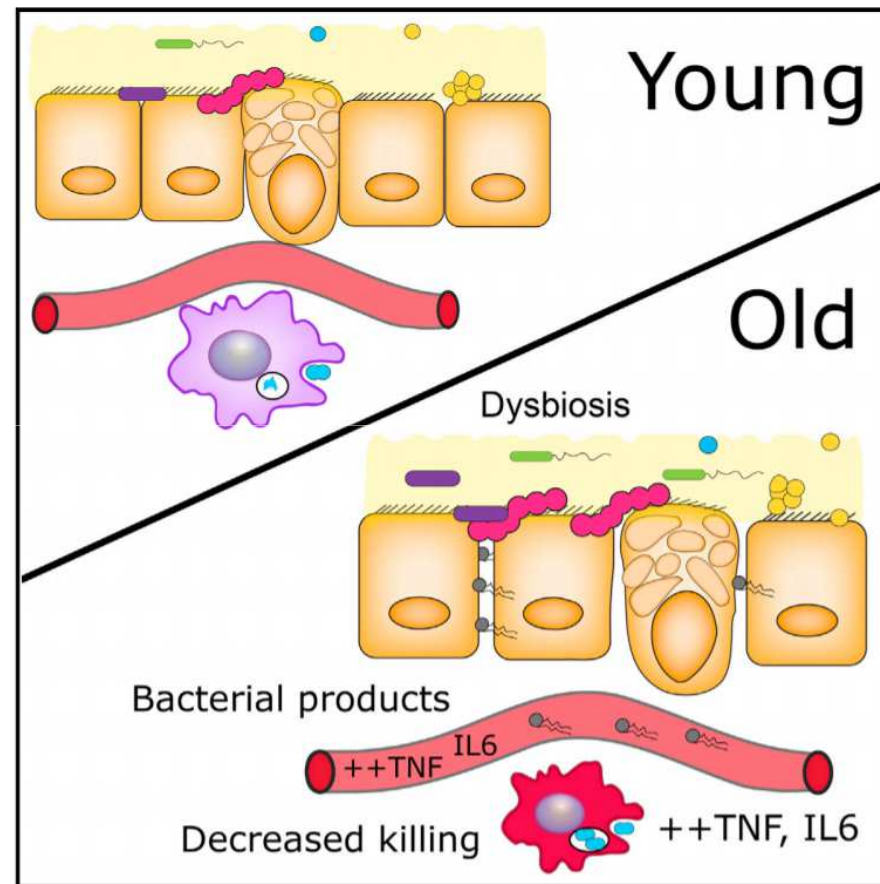
^aDepartment of Medicine, Duke University School of Medicine, Durham, NC 27710; ^bSocial Science Research Institute, Duke University, Durham, NC 27708; ^cDepartment of Psychology & Neuroscience, Duke University, Durham, NC 27708; ^dDepartment of Psychiatry & Behavioral Sciences, Duke University School of Medicine, Durham, NC 27708; ^eCenter for Genomic and Computational Biology, Duke University, Durham, NC 27708; ^fSocial, Genetic, & Developmental Psychiatry Research Centre, Institute of Psychiatry, Kings College London, London SE5 8AF, United Kingdom; ^gDepartment of Child & Adolescent Psychiatry, Institute of Psychiatry, King's College London, London SE5 8AF, United Kingdom; ^hDepartment of Psychology, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem 91905, Israel; ⁱDepartment of Human Genetics, Gonda Research Center, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, CA 90095; and ^jDepartment of Psychology, University of Otago, Dunedin 9016, New Zealand



Quel âge biologique?

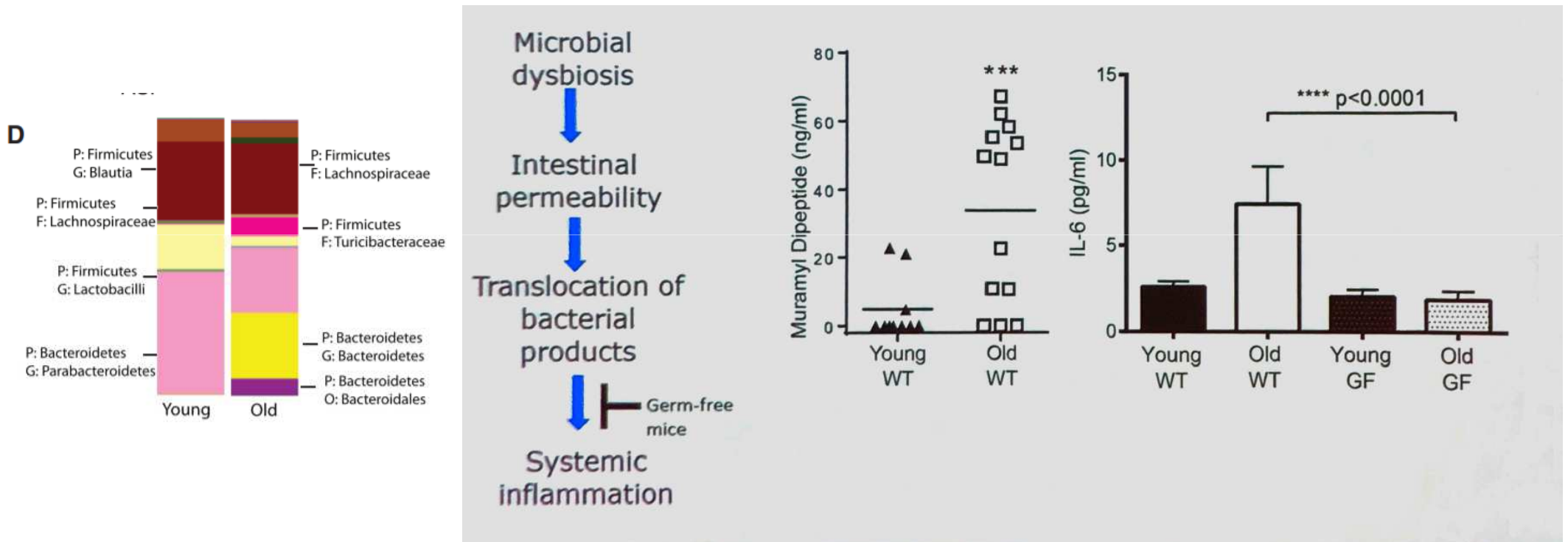


Et si Metchnikoff avait raison...



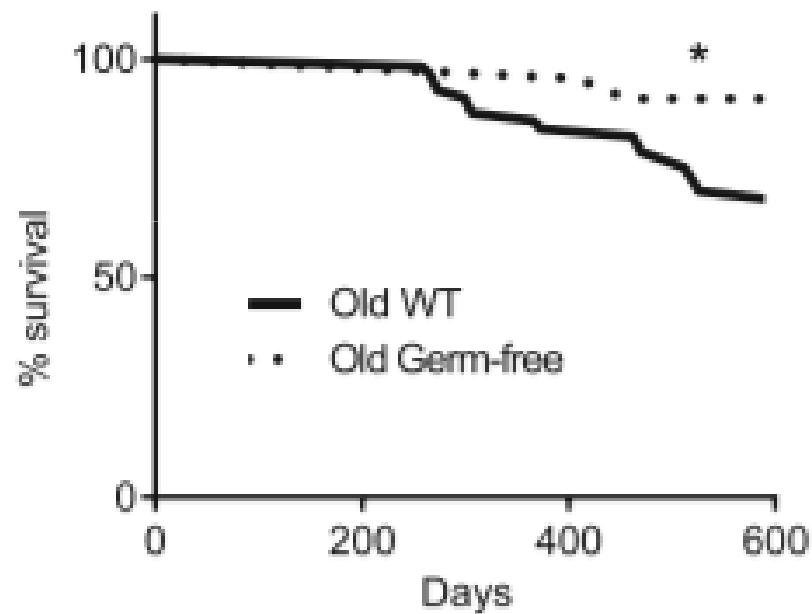
Thevaranjan et al., 2017, Cell Host & Microbe 21, 455–466

Et si Metchnikoff avait raison...



Thevaranjan et al., 2017, Cell Host & Microbe 21, 455–466

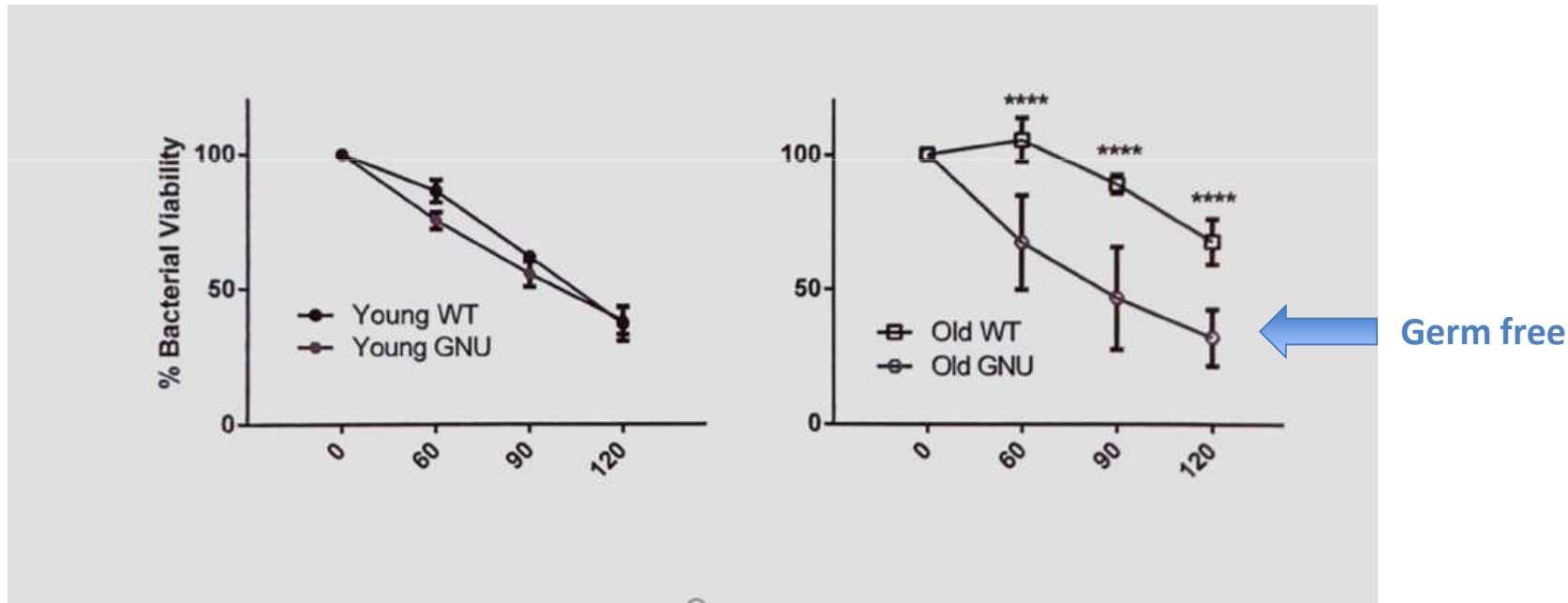
Une vie sans inflammation...



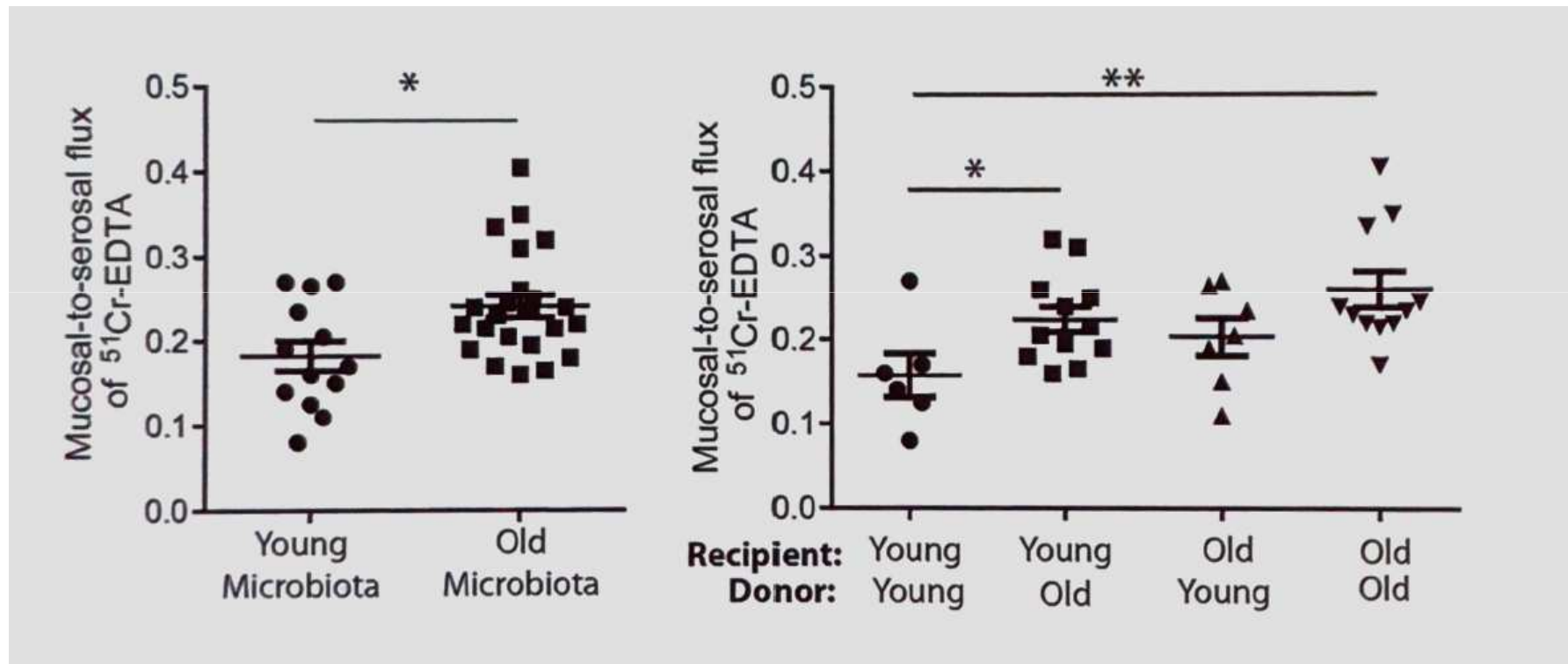
- Croissance en condition germ-free
- Réduction de l'inflammation systémique
- Augmentation significative de la survie

L'exposition chronique à des agents bactériens altère les fonctions macrophagiques

- -> augmentation de la survie bactérienne

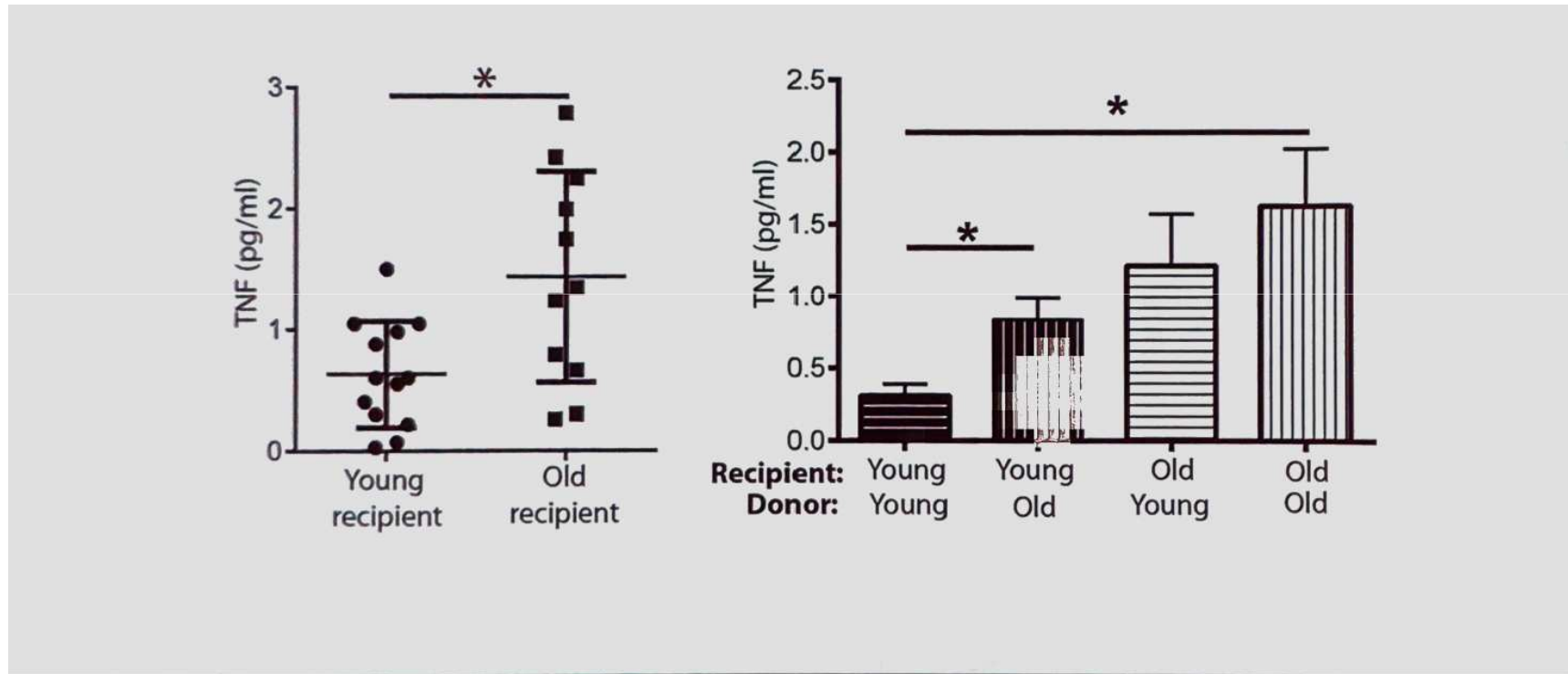


La composition du microbiote modifie la perméabilité intestinale



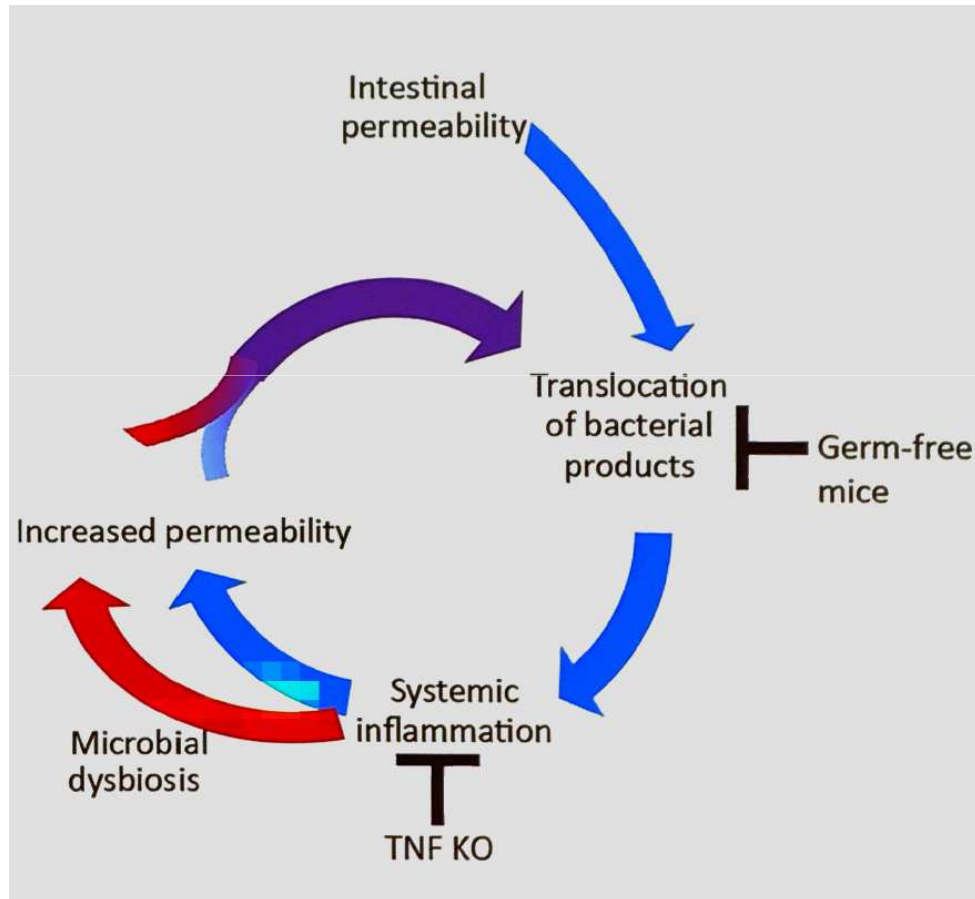
Thevaranjan et al., 2017, Cell Host & Microbe 21, 455–466

Transplantation fécale et inflammation systémique



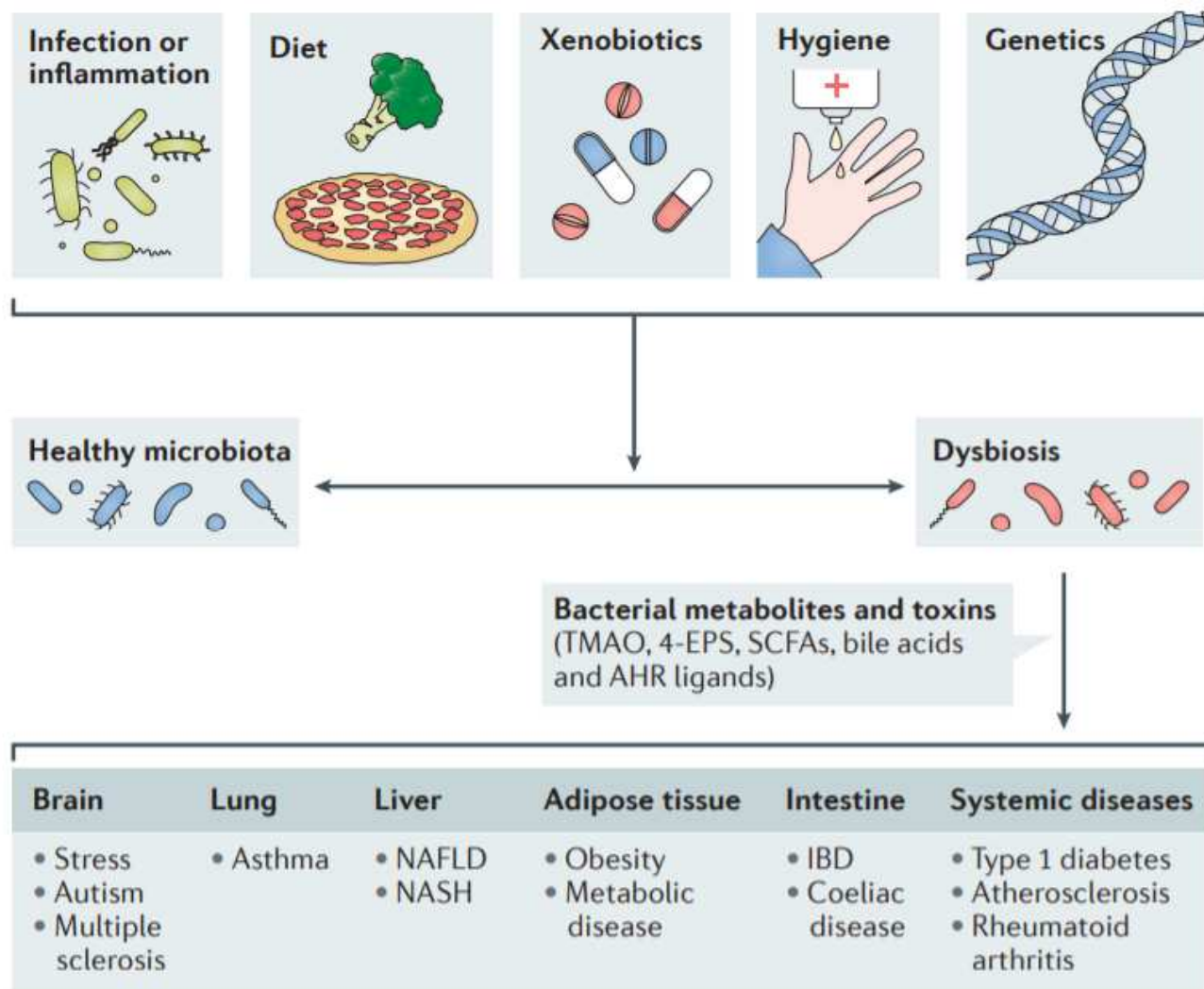
Thevaranjan et al., 2017, Cell Host & Microbe 21, 455–466

Et si Metchnikoff avait raison...



Le microbiote: la clé d'une longue vie en pleine santé?

Thevaranjan et al., 2017, Cell Host & Microbe 21, 455–466



Levy M, Nature Rev Immunol, 2017

Microbiote inducteur d'inflammation

- Inflammation de bas grade chronique:
 - Obésité
 - Diabète de type 2
 - NASH
- Augmentation du risque cardiovasculaire associée avec athérosclérose
- « Inflammation métabolique »
- ↗ de protéines de l'inflammation « CRP_{us}, fibrinogène, haptoglobine, SAA...
- Dysbiose majeure associée à ces affections métaboliques

Obésité et dysbiose

- Souris élevées en Germ-free condition sont moins grasses
 - Transfection fécale CV (conventionnelles) → GF (microbiote caecum) = augmentation du contenu graisseux (total body fat content)
 - Obésité associée à moindre diversité du microbiote
 - Espèces dominantes: *Ruminococcus gnavus* ou *Bacteroides* (pro-inflammatoires)
 - Espèces sous représentées: *Faecalibacterium praeuittzi* (anti-inflammatoire)
- Signature microbiote dans l'obésité

Table 1 Intestinal dysbiosis in type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease			
Change	Type 2 diabetes ^a	Nonalcoholic fatty liver disease ^a	Refs
<i>Dysbiosis</i>			
Bacteroidales	↑ <i>Bacteroides</i> spp.	↑ <i>Bacteroides vulgatus</i> ^b	54,56
	↑ <i>Alistipes</i>	↓ <i>Alistipes putredinis</i> ^b	54,56
	↑ <i>Parabacteroides</i>	–	54
Firmicutes	↓↑ Clostridiales	–	54,55
	↑ <i>Clostridium</i> spp.	↓ <i>Ruminococcus obeum</i> ^b	54,56
	↓ <i>Eubacterium rectale</i>	↑↓ <i>Eubacterium rectale</i> ^b	54,56
	↓ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	–	54
	↓ <i>Roseburia</i> spp.	–	54
	↑ <i>Lactobacillus gasseri</i>	–	55
	↑ <i>Streptococcus mutans</i>	–	55
Proteobacteria	↑ <i>Escherichia coli</i>	↑ <i>Escherichia coli</i> ^b	54,56
Verrucomicrobia	↓↑ <i>Akkermansia muciniphila</i>	–	54,264
<i>Associated altered microbial functions</i>			
	Sugar membrane transport, branched-chain amino acid transport, butyrate production	Amino acid metabolism, butyrate metabolism	54,56
<i>Impact on experimental metabolic disease</i>			
Detrimental	<i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Prevotella copri</i> , <i>Bilophila wadsworthia</i> , <i>Ralstonia pickettii</i>	–	59–61
Beneficial	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Eubacterium hallii</i> , <i>Akkermansia muciniphila</i>	VSL#3 (<i>Lactobacilli</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i>)	61,62,76,145,264

^aFor gut microbiome changes in obesity, we refer to recent reviews^{265,266}. ^bExamples of a consortium comprising 37 species.

Tilg H et al, Nature Rev Immunol, 2019

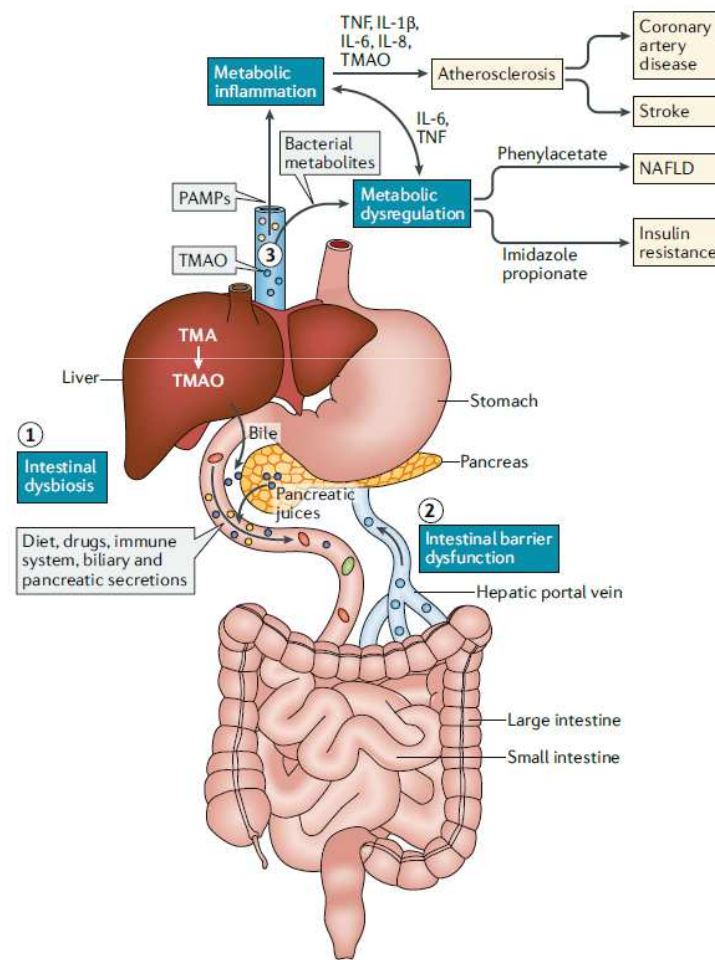
Augmentation de la perméabilité digestive

- Observée au cours du diabète, de la NASH et de l'obésité
- Chez l'homme et la souris
- Régime riche en graisse induit une dysbiose et favorise la translocation de LPS dans la circulation
 - > « endotoxémie métabolique » = induction d'inflammation systémique, obésité et diabète

Modifications de la barrière intestinale et diabète

- Rupture de la réponse immune tolérogène du TD:
 - Hyperplasie de villosités jéjunales (= $\nearrow$ de la surface d'échange avec la lumière digestive)
 - $\nearrow$ sécrétion d'IL-17 par les $\lambda T\gamma\delta$
 - $\searrow$ des Treg
 - $\nearrow$ Th1 avec sécrétion d'IFNg
 - Réduction de la cohésion cellulaire
 - Environnement cytokinique proinflammatoire

Un drame en trois actes...



Tilg H et al, Nature Rev Immunol, 2019

Conclusions

- Le microbiote est régulé par bcp d'éléments individuels et environnementaux
- Dysbiose cause ou conséquences des affections chroniques?
 - Selon Metchnikoff: plutôt la cause et semble confirmé pour l'induction d'une inflammation systémique et participation à sénescence
 - Dans les affections chroniques: applications thérapeutiques encore limitées
- Importance du microbiote et de ses métabolites pour façonner le système immunitaire



MERCI

From Yann Arthus Bertrand « Human »