

Microbiome et immunité: de l'homéostasie à la pathologie

Philippe J Sansonetti

Chaire de Microbiologie et Maladies Infectieuses

Collège de France
8 janvier 2014



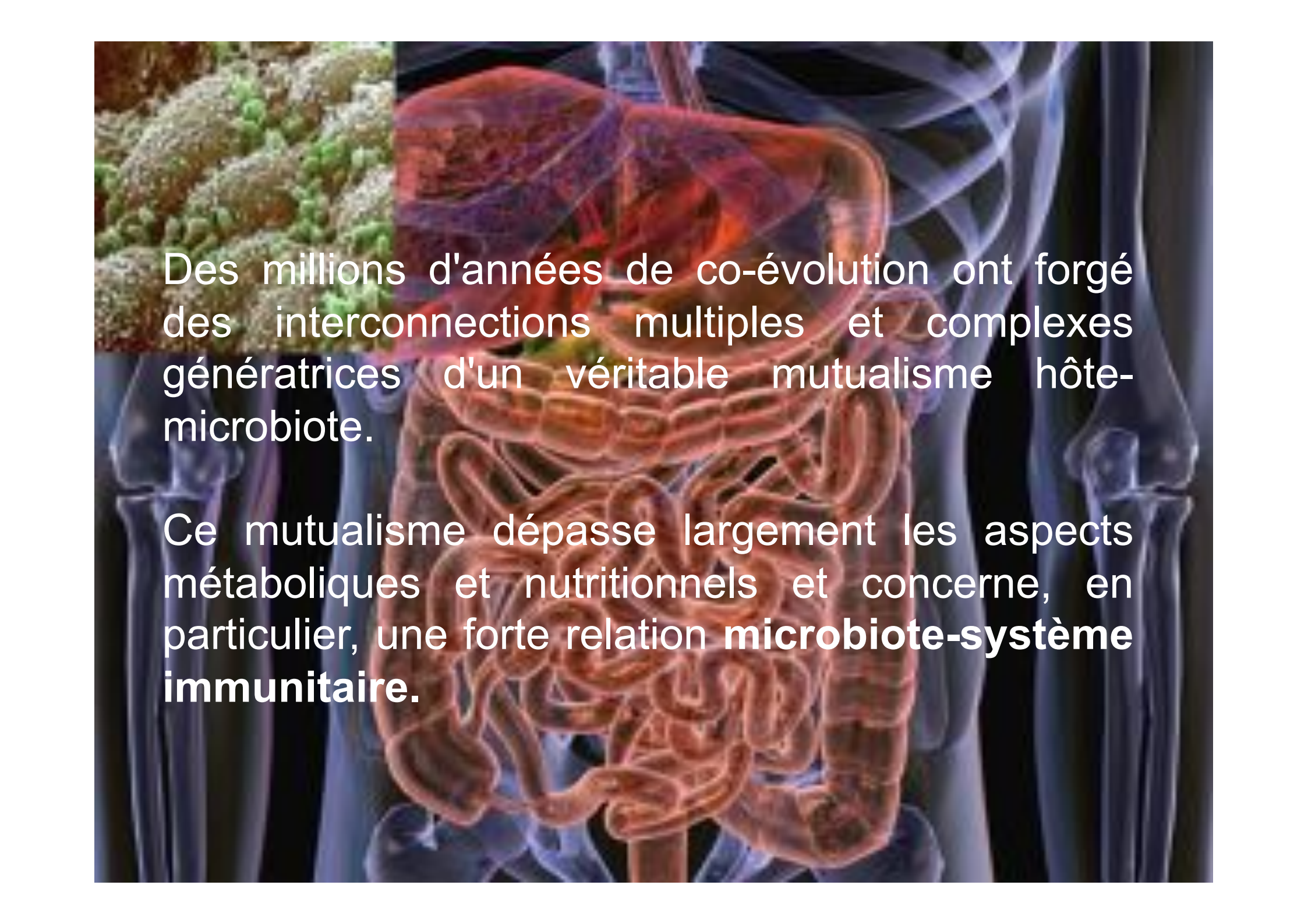
INSTITUT PASTEUR



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

An anatomical illustration of the human digestive system, showing the stomach, small intestine, and large intestine. The organs are rendered in a semi-transparent, reddish-brown color. In the upper left corner, there is a small inset image showing a dense, green and brown microbial community, representing the microbiome. The background is a dark blue, semi-transparent human skeleton, showing the ribcage and spine. The overall image conveys the concept of the human microbiome and its relationship with the digestive system.

Des millions d'années de co-évolution ont forgé des interconnexions multiples et complexes génératrices d'un véritable mutualisme hôte-microbiote.

Ce mutualisme dépasse largement les aspects métaboliques et nutritionnels et concerne, en particulier, une forte relation **microbiote-système immunitaire**.

Co-évolution microbes-système immunitaire

Le tractus gastro-intestinal est le site majeur de l'interface système immunitaire-microorganismes (commensaux et pathogènes)

Le système immunitaire est en général considéré comme le responsable de la défense contre les microorganismes pathogènes et d'autres éléments de danger (non soi, tumeurs, etc...).

Les microorganismes symbiotiques (microbiote) représentent sans doute l'autre paramètre qui a conduit le développement et l'équilibre fonctionnel du système immunitaire.

Co-évolution microbes-système immunitaire

La capacité de discriminer entre un commensal et un pathogène afin de respecter le microbiote (utile à la survie de l'espèce) et de détruire les pathogènes (nuisibles à la survie de l'espèce) peut être vue comme un moteur essentiel de l'évolution du système immunitaire

Dans une perspective co-évolutionniste, le microbiote et les pathogènes ont "forgé" le système immunitaire et en retour le système immunitaire "sculpte" le microbiote et élimine les pathogènes

L'exposition précoce au microbiote intestinal prend une dimension particulière et pourrait rendre compte, suite à d'éventuels dysfonctionnements, de maladies inflammatoires, autoimmunes et allergiques

Impact du microbiote sur la sensibilité aux pathogènes

La capacité d'un pathogène transmis par voie orale de s'implanter dans l'intestin et d'y causer une maladie dépend de son succès à assurer plusieurs étapes, entre autre de la capacité de naviguer à travers la flore constituant le microbiote afin de coloniser/infecter sa cible cellulaire/tissulaire et de répondre au challenge qu'elle lui impose:

Challenge métabolique, compétition pour des nutriments:

Bacteroides thetaiotamicron élargit son spectre de capacité de dégradation de glycanes en présence de *Bifidobacterium longum* ou *Lactobacillus casei* (Sonnenburg JL et al. 2006. PLoS Biol)

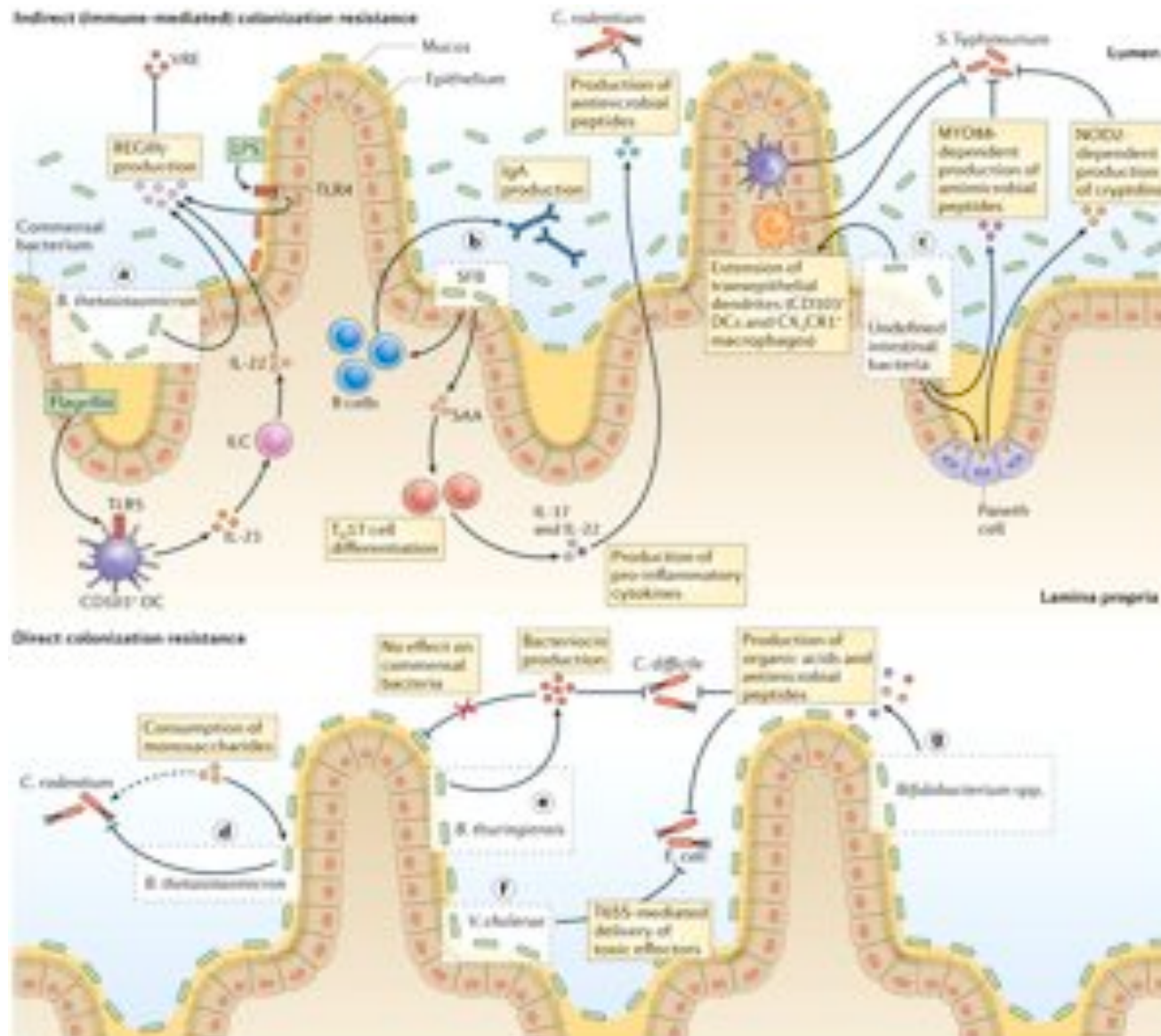
Challenge des substances microbicides et des bactériophages:

Une souche de *Lactobacillus salivarius* produit une bactériocine (Abp118) qui protège la souris contre l'infection par *Listeria monocytogenes* (Corr SC et al. 2007. PNAS)

Challenge des microorganismes exprimant un appareil de sécrétion de type 6, ou expression de cet appareil (Basler M & Mekalanos JJ. 2012. Science)

Challenge de l'inflammation physiologique maintenue par le microbiote, particulièrement les pathobioites (Cebra JJ. 1999. Am J Clin Nutr; Hooper LV & Gordon JI. 2001, Science; Ivanov I. 2009. Cell; Gaboriau et al. 2009. Immunity) et induite par le pathogène lui-même (Lupp C. 2007. Cell Hist Microbe)

Les bactéries intestinales confèrent une résistance indirecte (immuno-médiée) et directe à la colonisation par les pathogènes entériques



Les pathogènes stimulent l'inflammation pour éliminer le microbiote et envahir leur niche écologique

Les pathogènes altèrent la composition / éliminent la microflore résidente pour occuper la niche intestinale, essentiellement par stimulation d'effecteurs de la réponse immunitaire innée: ROS, NOS, etc...).

(i) Infection intest. murine par *Citrobacter rodentium*, *Campylobacter jejuni*.

(ii) Entérocolite expérimentale murine en réponse à *Salmonella* ou DDS/TNBZ. Ces deux conditions causent une « rétraction » de la diversité de la flore résidente, particulièrement une diminution massive des Firmicutes et une augmentation importante des protéobactéries, surtout Entérobactéries (Lupp et coll., Cell Host Microb., 2007)

Les pathogènes bénéficient de l'inflammation si proprement maîtrisée. Démonstration dans un modèle murin d'infection intestinale par *Salmonella typhimurium* d'une rétraction de la flore résidente et du bénéfice pour la croissance des pathogènes (Stecher B et al., PLoS Biol., 2007)

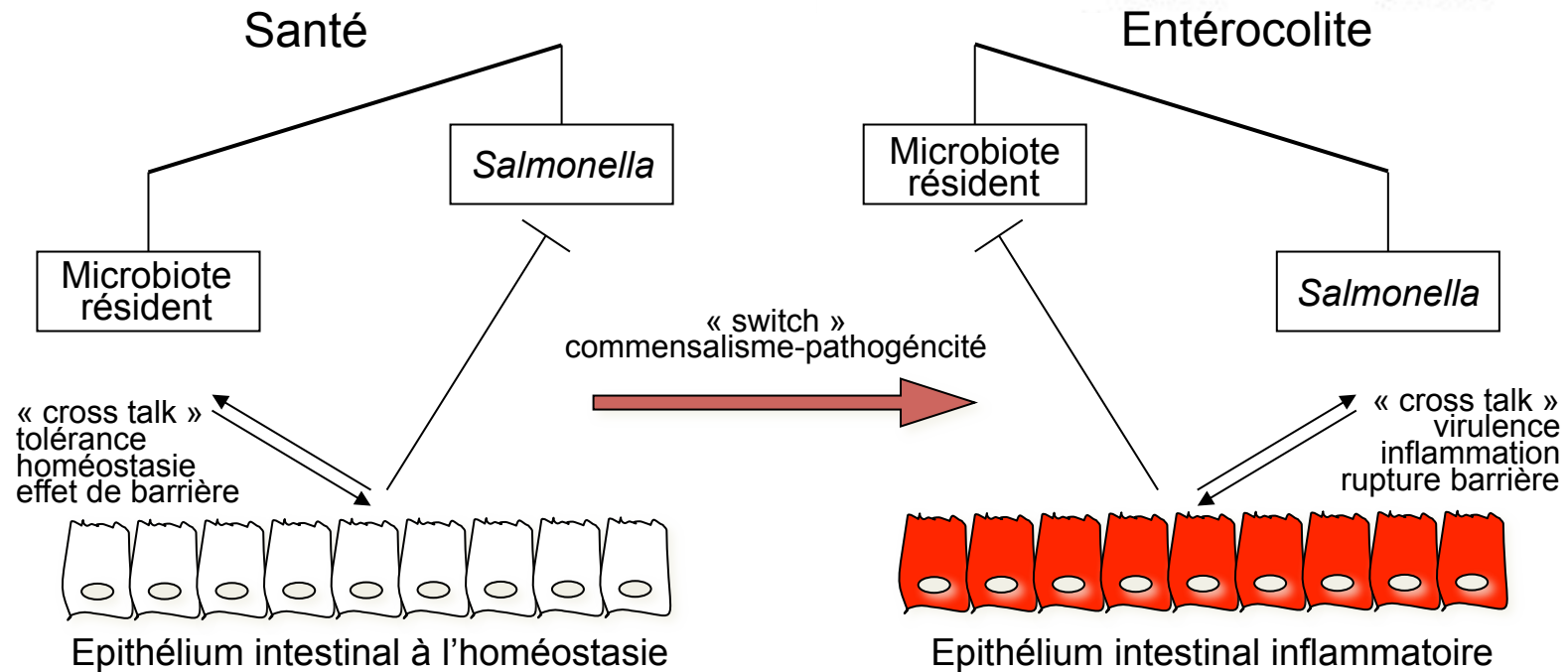
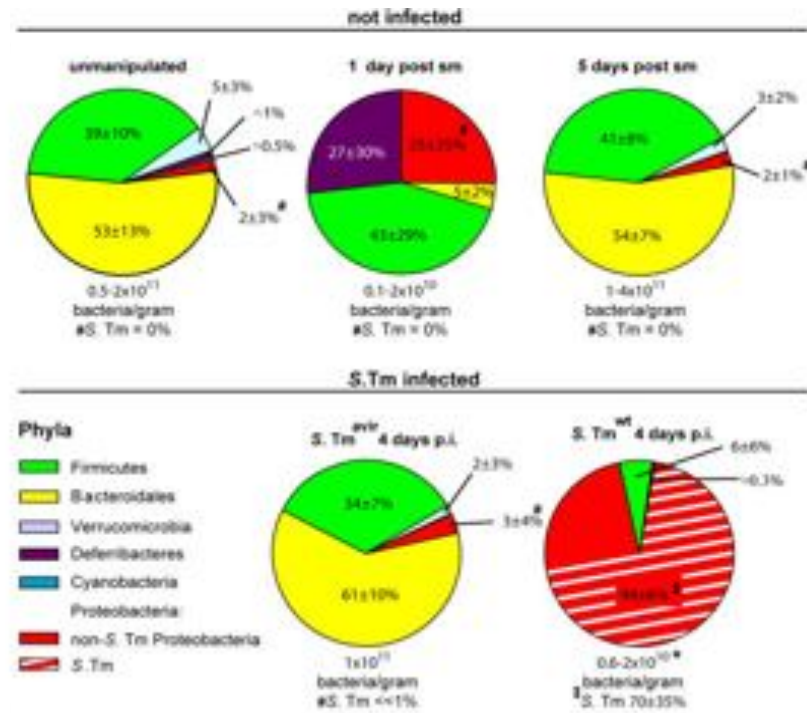
Effet de barrière du microbiote résident

"Ménage à trois"

Microbiote - hôte – pathogène

Stecher B et al., 2007, PLoS Biol

Pédrón & Sansonetti, 2008, Cell Host & Microbe



Perspective générale

La muqueuse intestinale représente l'interface majeure homme-microbes (200 m² contre 1,75 m² de surface cutanée chez l'adulte)

Le système lymphoïde de la muqueuse intestinale (GALT) comporte:

Une interface inductive = follicules lymphoïdes associés à la muqueuse (Plaques de Peyer). Une interface effectrice = *lamina propria* et épithélium

Follicules lymphoïdes: cellules M assurant la capture et la transcytose épithéliale des antigènes luminaux vers les follicules lymphoïdes (Neutra et al. 2001. Nat Immunol). Ces structures représentent de fait un point faible car elles offrent une porte d'entrée aux pathogènes (Neutra M et al. 1996. Cell; Sansonetti PJ & Phalipon A. 1999. Seminars Immunol)

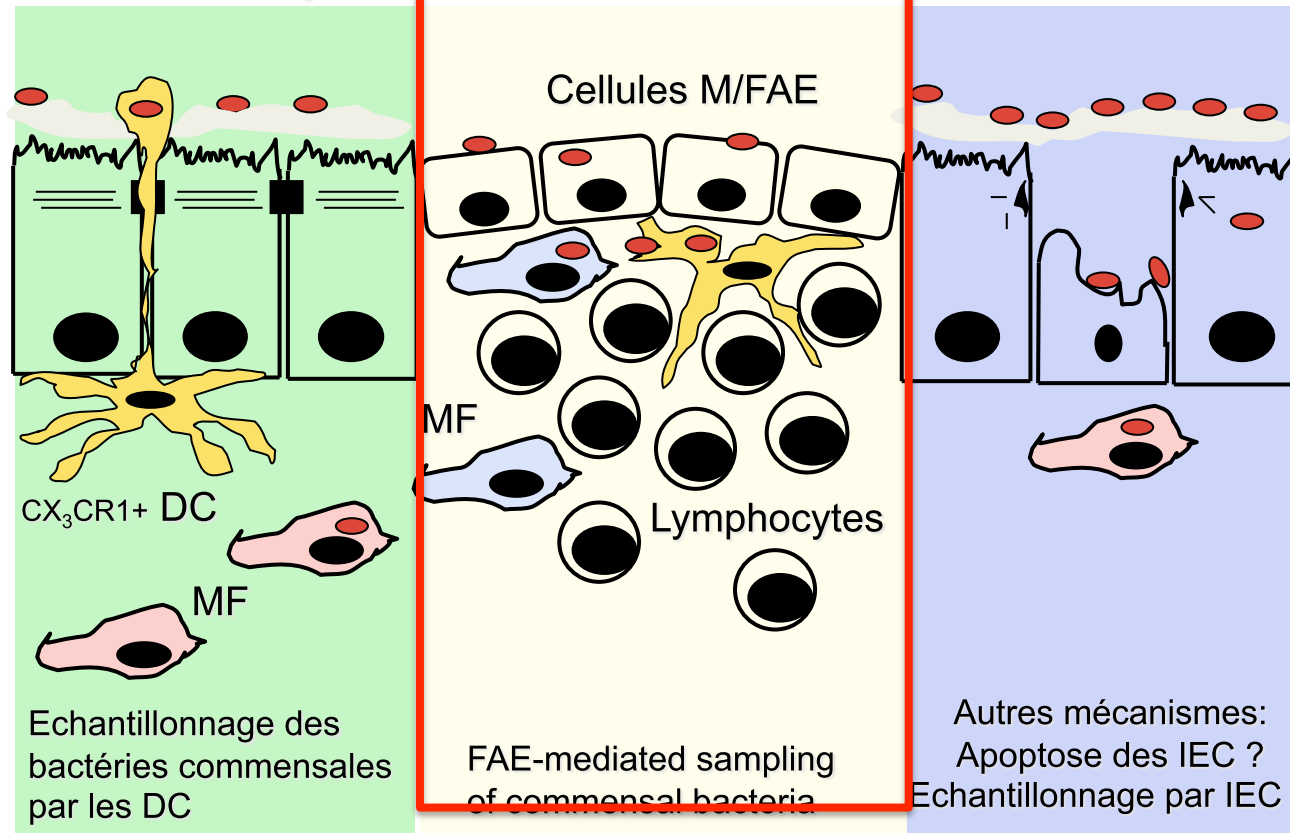
La majorité des antigènes étrangers de l'intestin dérivent de l'alimentation et du microbiote. La réponse à ces antigènes est généralement faible/nulle.

Concept de "tolérance orale" (Strober W et al. 1998. J Clin Immunol). Les mécanismes de cette tolérance immunologique sont partiellement connus et impliquent l'ensemble des composantes du système immunitaire muqueux (Mowat AM. 2003. Nat Rev Immunol)

Le GALT offre une protection efficace contre l'invasion par les pathogènes traversant l'épithélium intestinal, tout en ménageant une répression de toute réponse immunitaire indésirable contre les antigènes "inoffensifs" du microbiote et des aliments

"Echantillonnage" de la flore commensale par l'épithélium intestinal

Dendrites inter-épithéliales
médiées par CX₃CR1

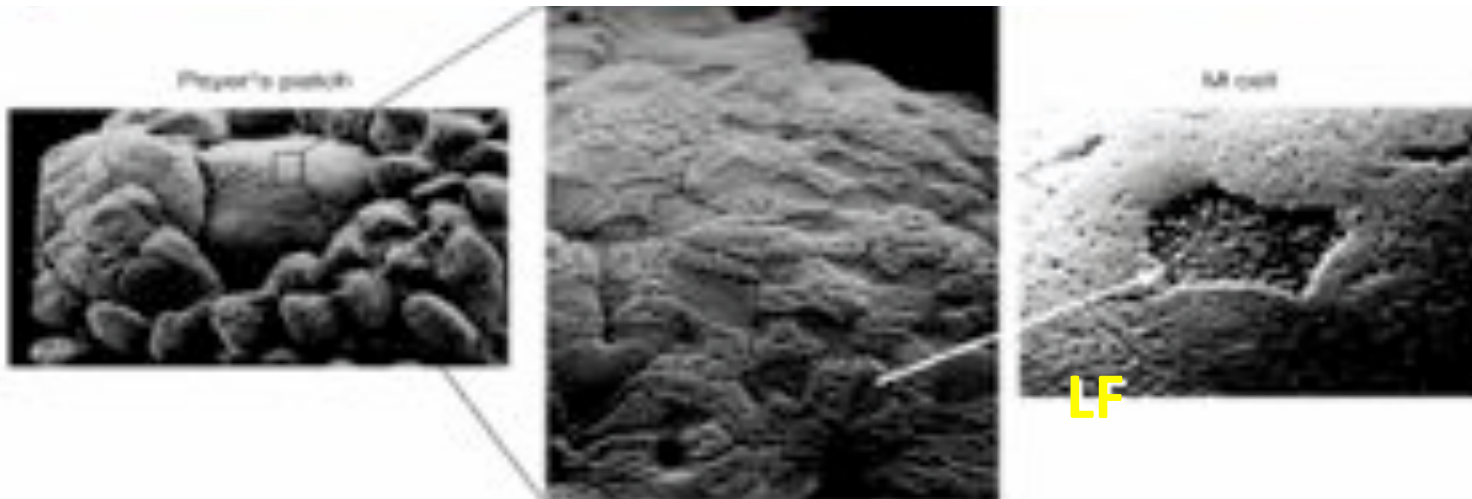
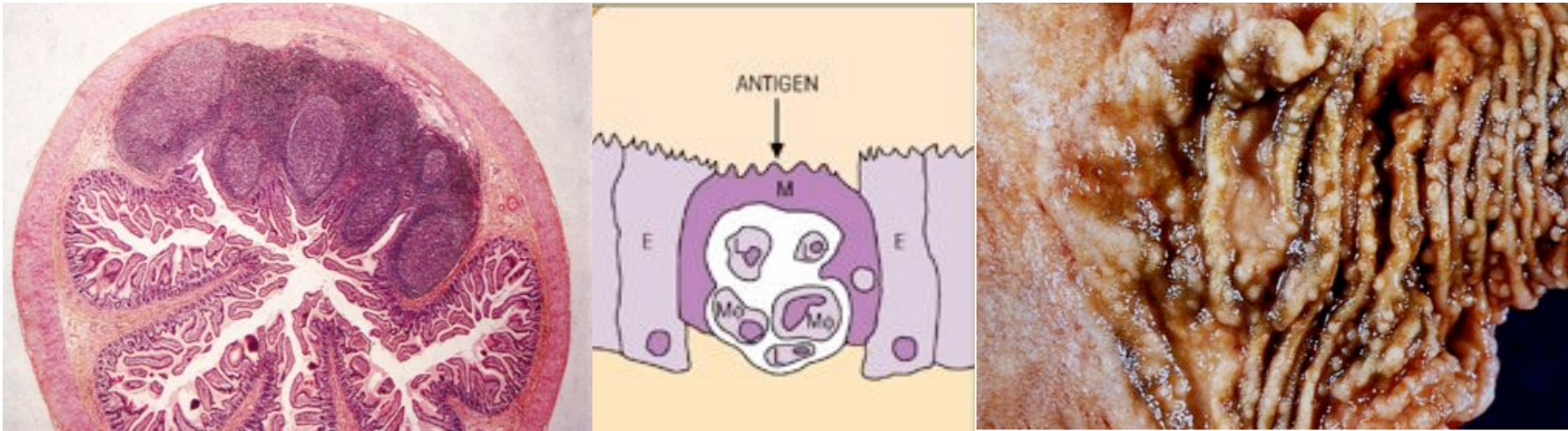


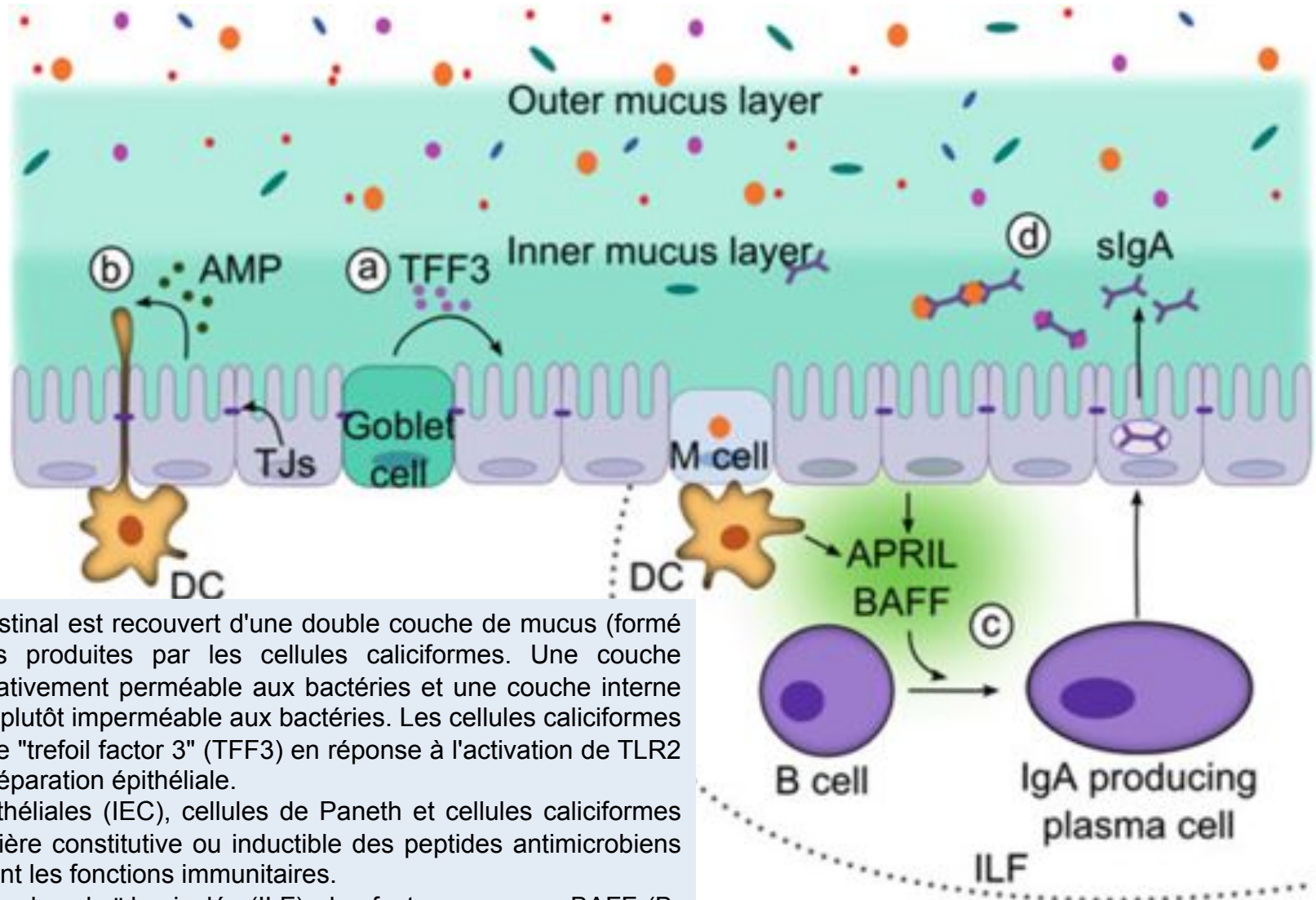
Rescigo et al., 2001, Nat.Immunol.
Serano-Gomez et al., 2004, J.Immunol.
Niess et al., 2005, Science

Sansonetti & Phalipon,
1999, Semin.Immunol.

Vallon-Eberhard, 2006, J.Immunol.

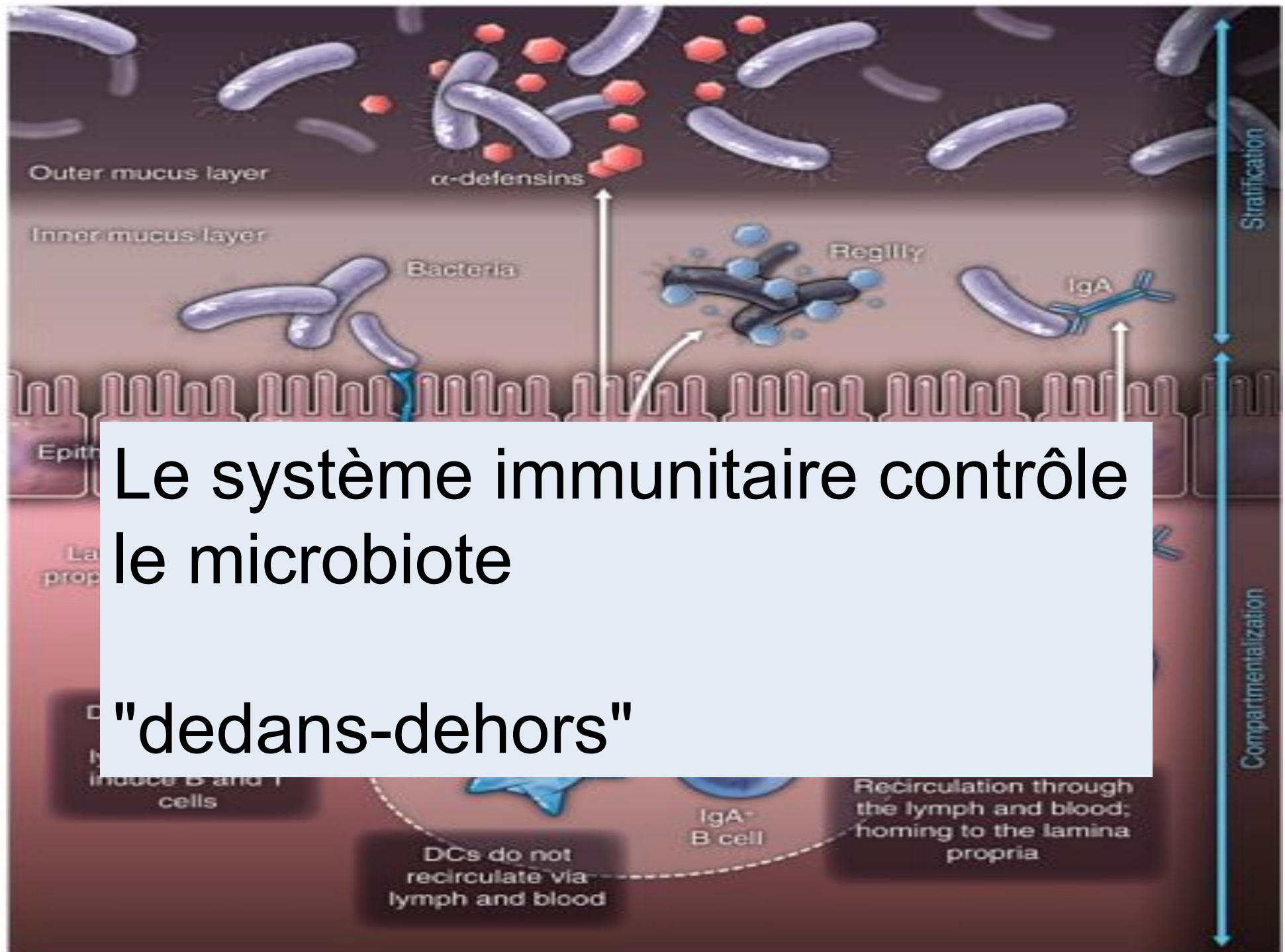
Follicules lymphoïdes, plaques de Peyer et cellules M





- L'épithélium intestinal est recouvert d'une double couche de mucus (formé de glycoprotéines produites par les cellules caliciformes. Une couche externe "soft", relativement perméable aux bactéries et une couche interne en réseau dense, plutôt imperméable aux bactéries. Les cellules caliciformes produisent aussi le "trefoil factor 3" (TFF3) en réponse à l'activation de TLR2 impliqué dans la réparation épithéliale.
- Les cellules épithéliales (IEC), cellules de Paneth et cellules caliciformes sécrètent de manière constitutive ou inducible des peptides antimicrobiens (AMP) qui modulent les fonctions immunitaires.
- Dans les follicules lymphoïdes isolés (ILF), des facteurs comme BAFF (B-cell activating factor) et APRIL (proliferation inducing ligand) produit par les IEC et DC stimulent la différenciation des cellules B en plasmocytes produisant des IgA sécrétoires (sIgA). Les sIgA sont transcytosées par le facteur sécrétoire (SF) dans la lumière intestinale où elles assurent l'exclusion immune des bactéries, la neutralisation des toxines, mais aussi la capture des bactéries et leur transport via les cellules M pour leur présentation aux cellules immunitaires.

Systeme intégré de défense muqueuse



Le système immunitaire contrôle
le microbiote

"dedans-dehors"

Stratification / Compartimentalisation du microbiote intestinal ("dedans-dehors")

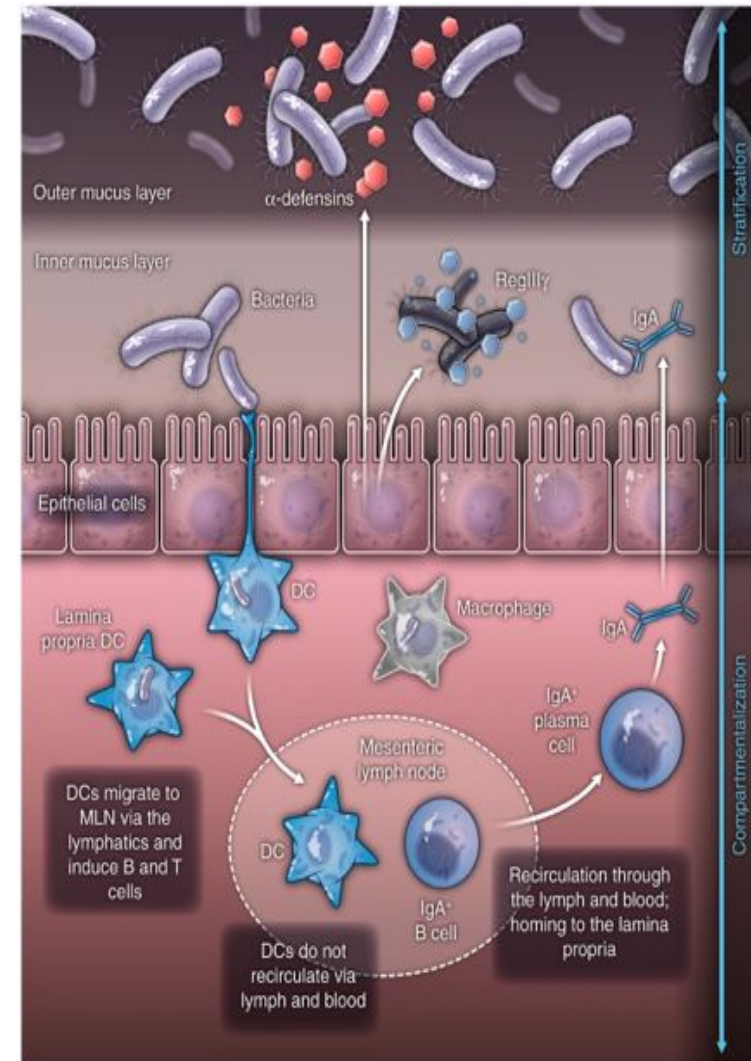
Stratification = couple mucus / molécules antimicrobiennes

Colon: couche profonde du mucus imperméable aux bactéries (Johansson MEV. 2008. PNAS) + β -défensines/IEC

Intestin grêle: mucus hétérogène, molécules antimicrobiennes, α -défensines/cellules de Paneth (Salzman NH et al. 2007. Semin Immunol), lectine RegIII γ C/IEC/TLRs (Cash, HL et al. 2006. Science; Vaishnava S et al. 2008. PNAS)

IgA sécrétoires (Macpherson AJ. 2004. Science)

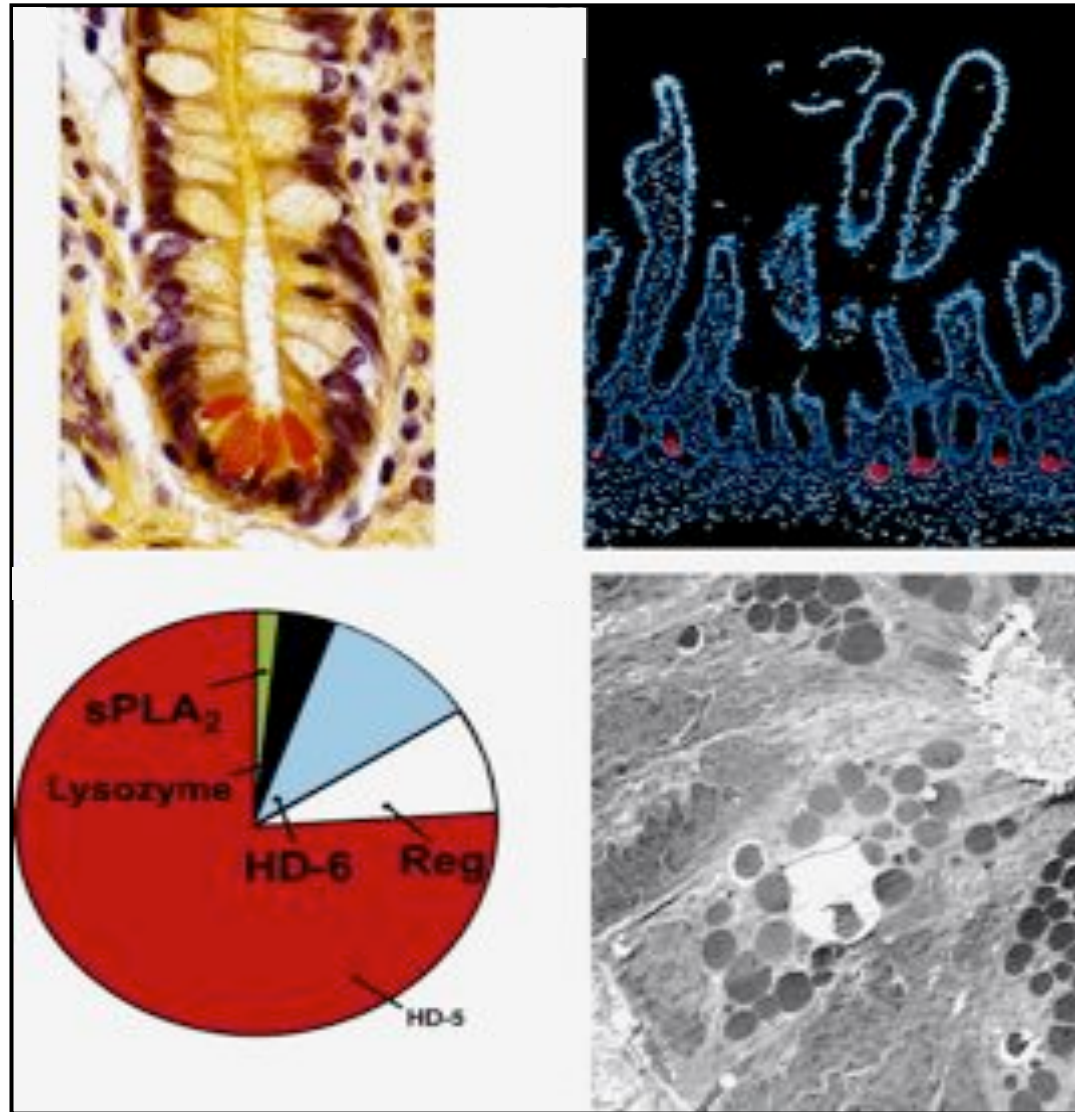
Compartimentalisation = structure du dispositif permettant de réduire au minimum l'exposition des bactéries du microbiote au système immunitaire périphérique/systémique



Hooper LV et al. 2012. Science

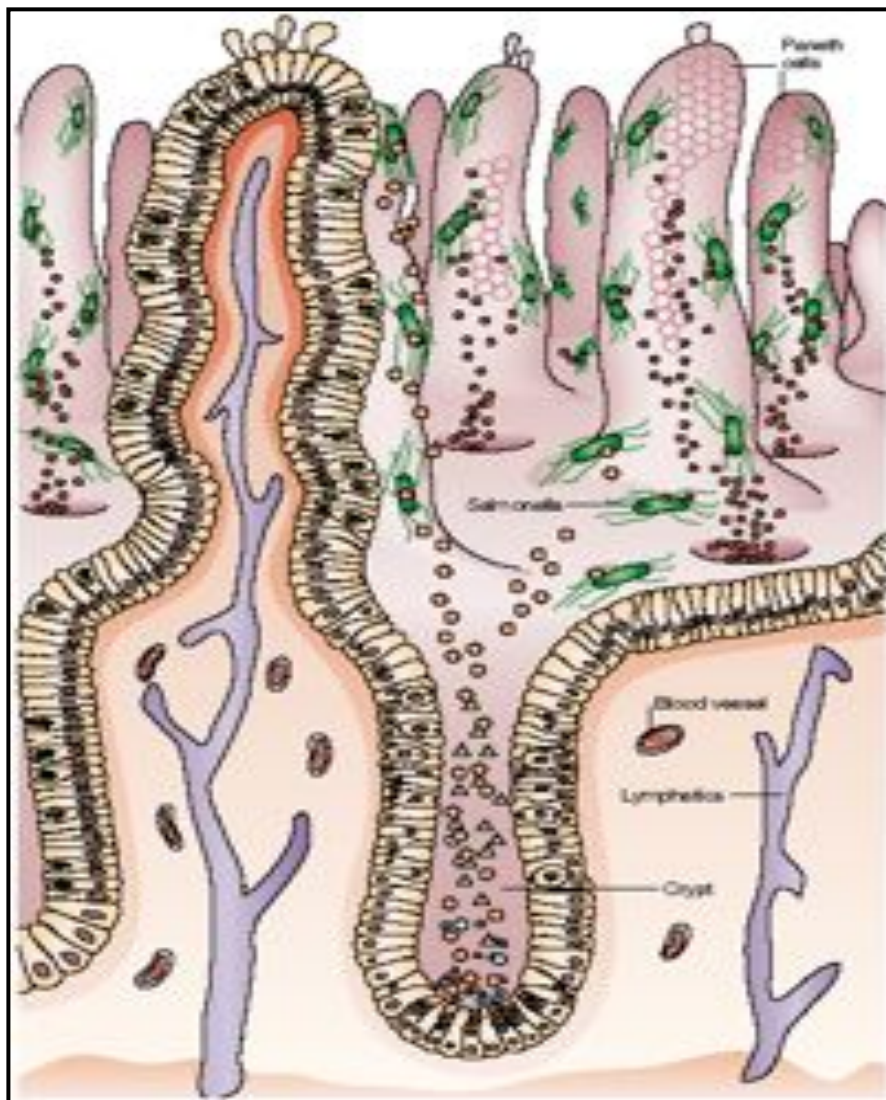
Stratification

Cellules de Paneth



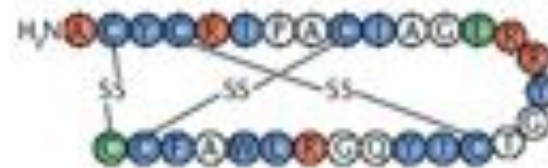
Salzman & Bevins, 2007

Peptides antimicrobiens



Cryptes

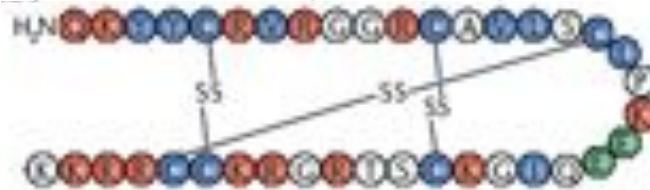
- ◆ α -défensine 5 (cellules de Paneth)
- ◆ α -défensine 6 (cellules de Paneth)



α -defensin 1

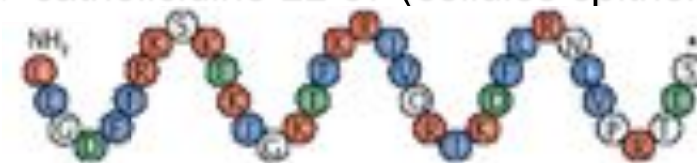
Villosités

- ◆ β -défensine 1 (cellules épithéliales)
- ◆ β -défensine 2 (cellules épithéliales)
- ◆ β -défensine 3 (cellules épithéliales)



β -défensine 3

- ◆ cathélicidine LL-37 (cellules épithéliales)



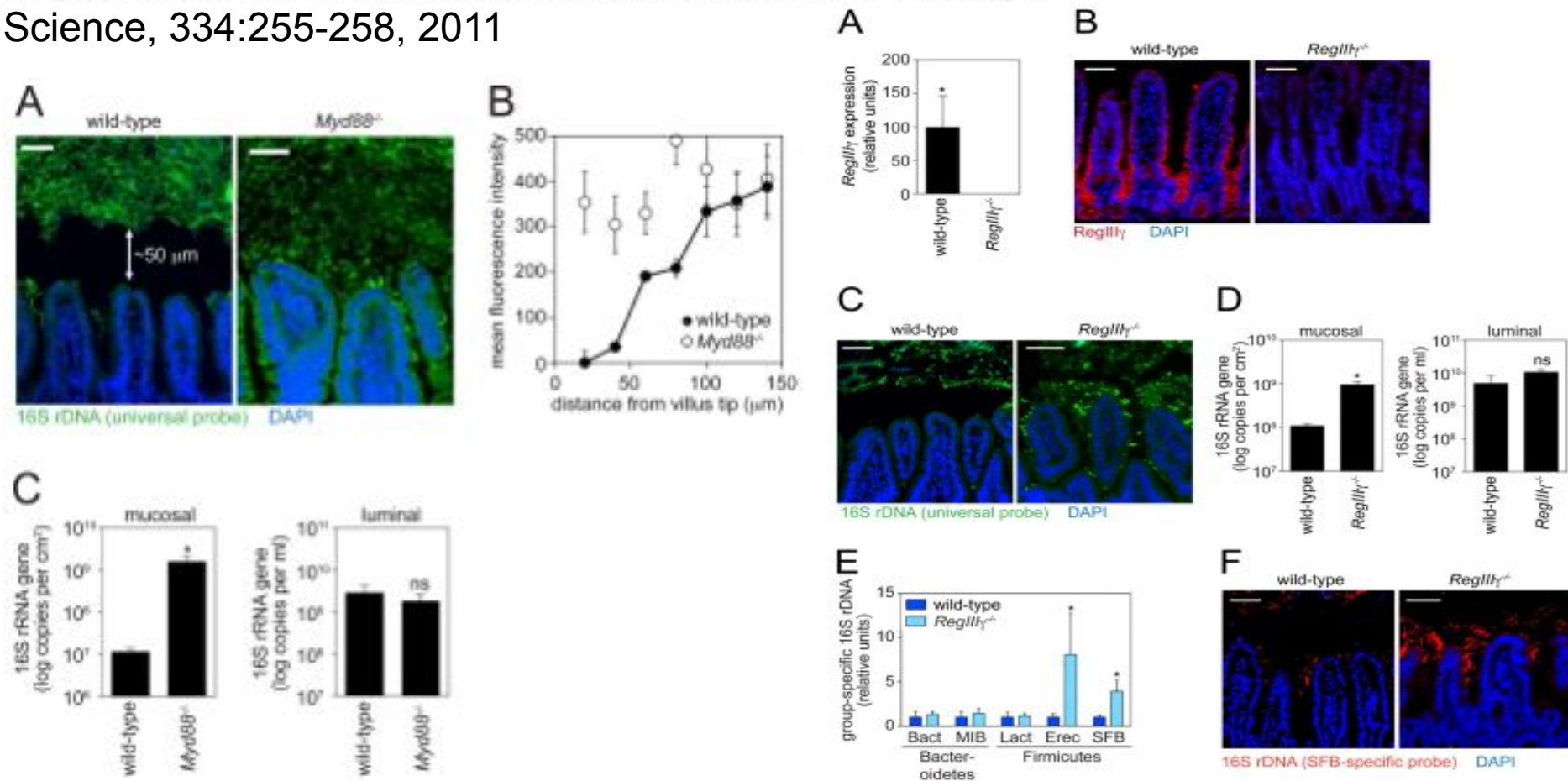
LL-37

Stratification

NIH Public Access

The antibacterial lectin RegIII γ promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine

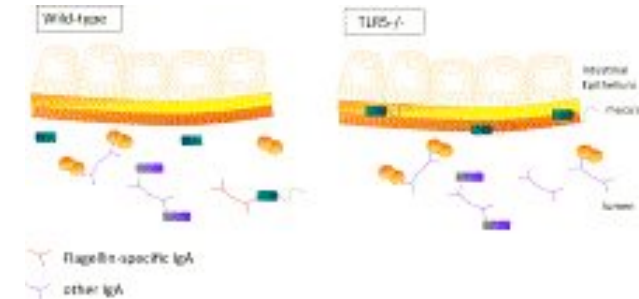
Shipra Vaishnava, Miwako Yamamoto, [...], and Lora V. Hooper
Science, 334:255-258, 2011



Stratification

Innate and adaptive immunity interact to quench microbiome flagellar motility in the gut.

Cullender TC et al. 2013. Cell Host Microbe



Bien que de nombreuses espèces du microbiote soient flagellées et produisent d'importantes quantités de flagelline, ces quantités restent faibles dans l'intestin de souris wt

Les souris TLR5 $-/-$ montrent un très faible taux d'anticorps IgA anti-flagelline en dépit d'un taux global d'anticorps plus élevé

Une large gamme d'espèces flagellées (Protéobactéries et Firmicutes) pénètrent le mucus chez les souris TLR5 $-/-$

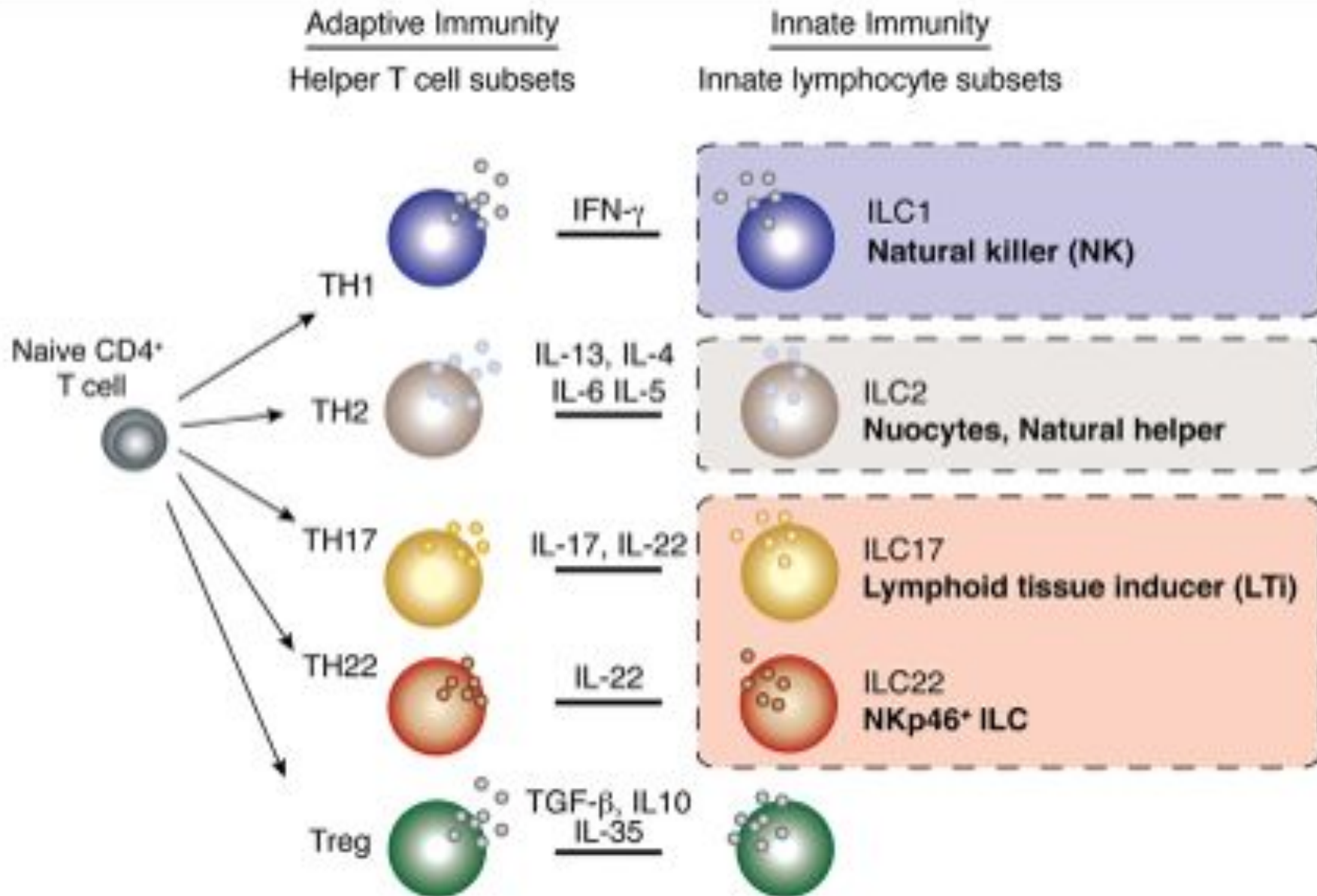
In vitro, l'exposition d'entérobactéries flagellées à des IgA anti-flagelline diminue l'expression de la flagelline

Nouveaux acteurs du contrôle du microbiote: les lymphocytes innés

Les lymphocytes innés résident dans *la lamina propria* et expriment un profil de cytokines ressemblant aux lymphocytes T auxiliaires (Spits JP & DiSanto JH. 2011. Nat Immunol)

Les lymphocytes innés produisant de l'IL-22 sont essentiels au maintien du microbiote dans le compartiment intestinal et préviennent la dissémination systémique des bactéries dans les sites/organes périphériques (Sonnenberg GF et al. 2012. Science).

Lymphocytes innés



Compartimentalisation de la réponse immunitaire aux bactéries commensales

Les bactéries commensales traversant **accidentellement** la barrière épithéliale sont rapidement tuées et dégradées par les macrophages résidents de la *lamina propria*

Les bactéries commensales peuvent suivre une **route physiologique** via les cellules M et traverser le FAE avant d'être capturées et dégradées par les macrophages résidents de la zone sus-folliculaire, ou d'être capturées et de survivre pendant plusieurs jours dans les DC de cette même zone.

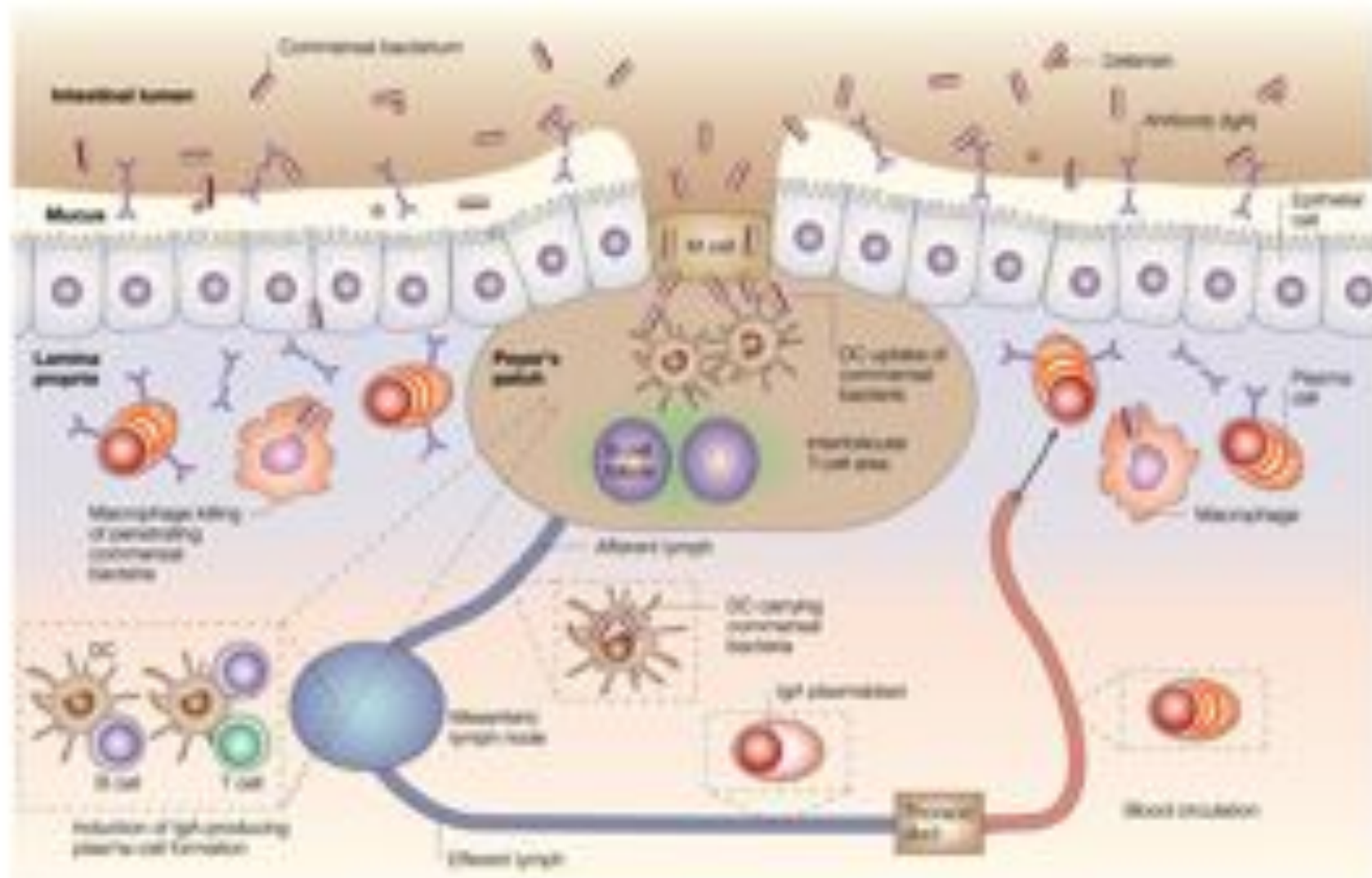
Ceci permet l'interaction des DC (plus efficaces si bactéries vivantes que mortes) avec les lymphocytes T et B des plaques de Peyer, ou leur migration vers les ganglions mésentériques.

Les DC chargées de bactéries vivantes ne peuvent dépasser les ganglions mésentériques et atteindre les organes lymphoïdes secondaires systémiques des tissus périphériques.

L'induction des réponses aux bactéries commensales reste circonscrite à la muqueuse.

La recirculation des cellules B et T qui quittent les ganglions mésentériques via le canal thoracique et la circulation systémique avant relocalisation dans les tissus muqueux ("homing") assure la généralisation de la réponse induite par une muqueuse à l'ensemble des muqueuses.

Compartmentalisation de la réponse immunitaire aux bactéries commensales



Nature Reviews | Immunology

Macpherson & Uhr, 2004

Compartimentalisation de la réponse immunitaire aux bactéries commensales

Les ganglions mésentériques agissent comme "pare feu" prévenant l'accès des commensaux au milieu intérieur.

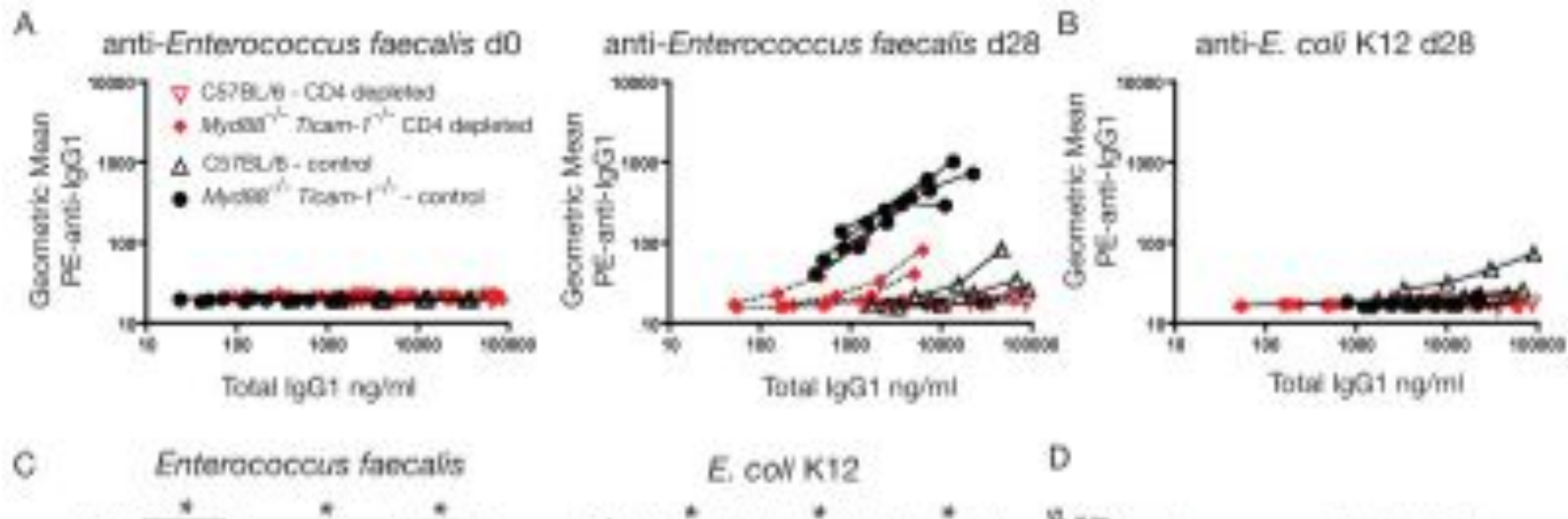
Compartmentalisation

Innate and adaptive immunity cooperate flexibly to maintain host-microbiota mutualism.

Hapfelmeier SE, Stecher B, Velykoredko Y, Stoel M, Lawson MA, Geuking MB, Beutler B, Tedder TF, Hardt WD, Bercik P, Verdu EF, McCoy KD, Macpherson AJ
Science, 2009, 325:617-620

Un continuum existe entre les fonctions immunes innées et adaptatives dans le contrôle de la dissémination des bactéries du microbiote intestinal.

Les souris déficientes dans des fonctions critiques de la réponse innée (TLR ou "burst" oxydatif) produisent spontanément des titres élevés d'anticorps sériques contre les bactéries commensales de leur microbiote. Ces réponses anticorps sont bactéricides et fonctionnellement essentielles pour maintenir le statut de commensalisme hôte-microbiote en cas d'un déficit de l'immunité innée.



Le système immunitaire contrôle la composition du microbiote intestinal

Les α -défensines produites par les cellules de Paneth de la crypte de l'intestin grêle (2-3kD) ont une puissante fonction antibactérienne.

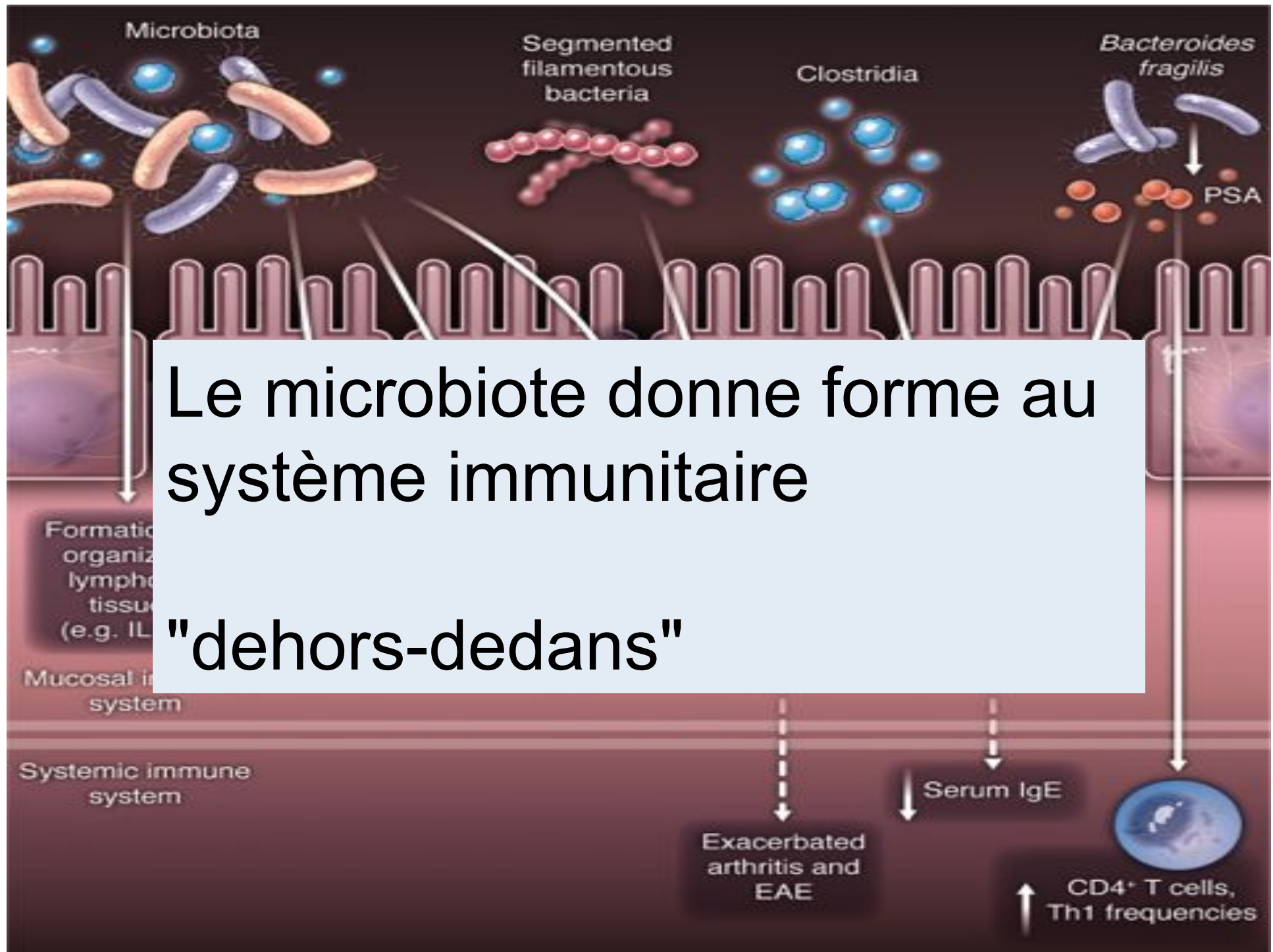
Les souris n'assurant pas la maturation protéolytique des α -défensines (matrilysine -/-) ou les souris transgéniques surexprimant l' α -défensine-5, ne montrent pas de différence évidente dans la densité de leur microbiote, mais des différences substantielles dans sa composition (Salzman NH et al. 2003. Nature).

Question: quel est le rôle respectif des molécules antimicrobiennes dans la stratification et la composition du microbiote ? L'effet est-il dépendant du segment intestinal (duodéno-jéjunum, iléon, cecum, colon) ?

- α -défensine-5 module la composition du microbiote
- Reg-3 γ C contrôle l'accès des bactéries du microbiote à la muqueuse intestinale sans modifier sa composition (Vaishnava J et al. 2011. Science).

Ces données et d'autres suggèrent que les défenses immunitaires innées affectent la composition du microbiote. Jusqu'à quel point le microbiome, dans sa signification fonctionnelle est-il affecté ?

La combinatoire molécules antimicrobiennes-microbiote peut avoir été un des enjeux important de la co-évolution homme-microbiote.

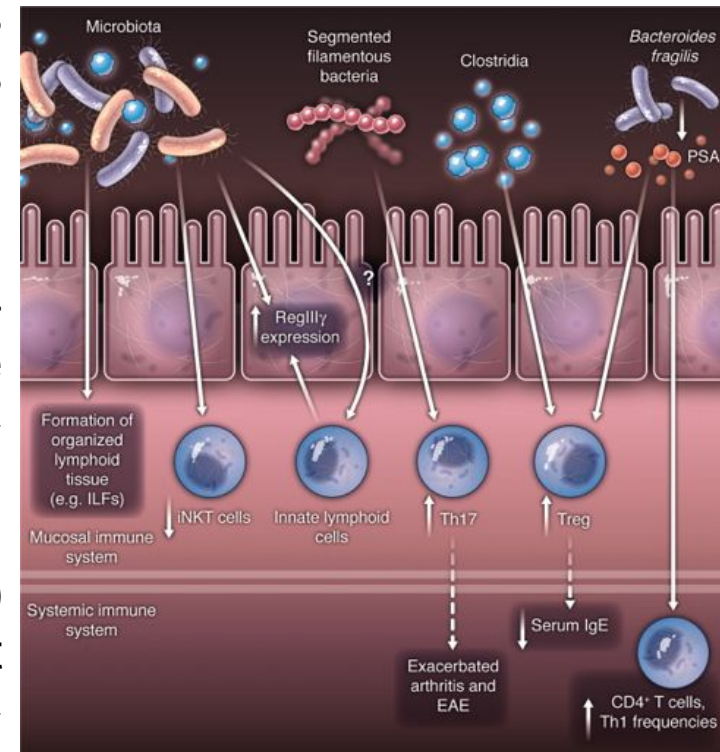


Le microbiote donne forme au système immunitaire

Les souris axéniques ne présentent pas de follicules lymphoïdes isolés dans l'intestin grêle, elles sont dénuées de lymphocytes intraépithéliaux (IEL) $CD8\alpha\beta$ et ne produisent pas d'IgA sécrétoires. Les effecteurs moléculaires du microbiote sont inconnus.

Des signaux du microbiotes (MyD88/TLR-dépendants) sont nécessaires à l'expression de molécules antimicrobiennes comme RegIII γ C (Brandl K et al. 2007. J Exp Med)

L'induction peut répondre au LPS (Brandl et al.) ou à la flagelline (Kinnebrew MA. 2010. J Infect Dis) dont le signal est relayé par des DC $CD103+CD11b+$ dans la *lamina propria*, stimulant la production d'IL-23 qui stimule la production d'IL-22 par les lymphocytes innés, eux mêmes stimulant la production de RegIII γ C qui est aussi induit par réponse directe de l'épithélium au LPS.



Le microbiote donne forme au système immunitaire

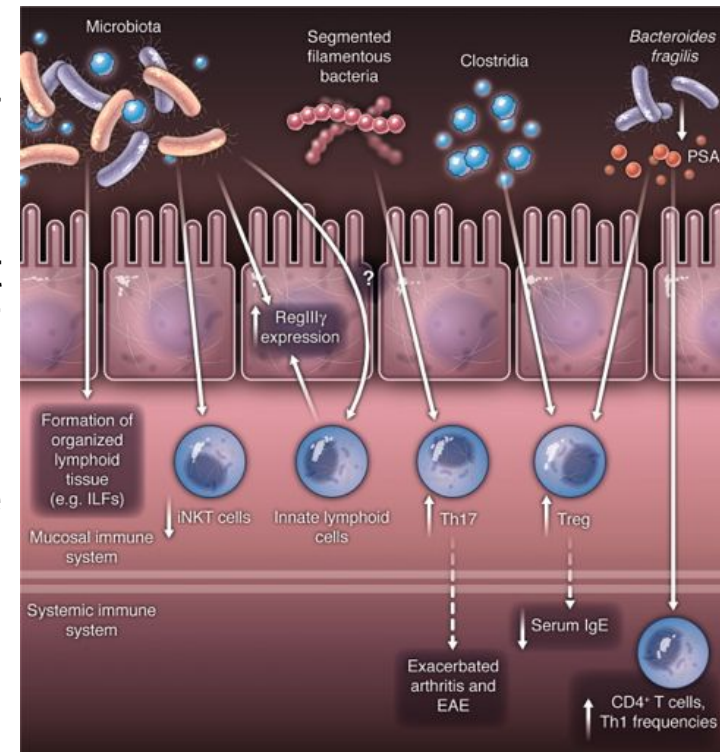
Microbiote et différenciation des sous-groupes de lymphocytes T

Le microbiote façonne les équilibres des sous-groupes de lymphocytes T dans la *lamina propria*.

Lymphocytes "proinflammatoires" incluant Lymphocytes Th1 producteurs d'IFN γ , Th17 produisant IL-17 a, IL-17f et IL-22,

Lymphocytes innés produisant un profil de cytokines ressemblant à celui des lymphocytes Th2 et Th17.

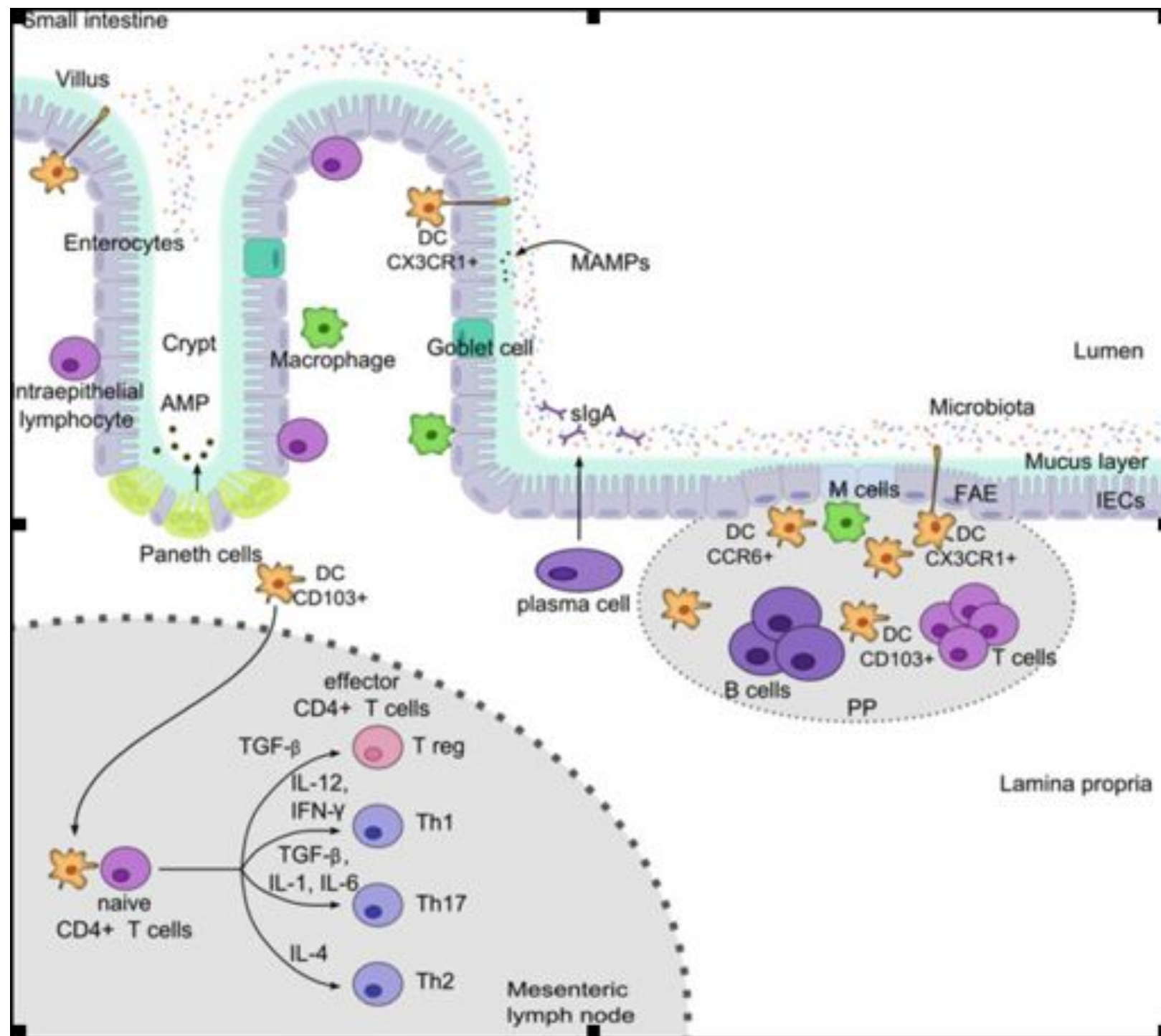
Lymphocytes Treg exprimant FoxP3



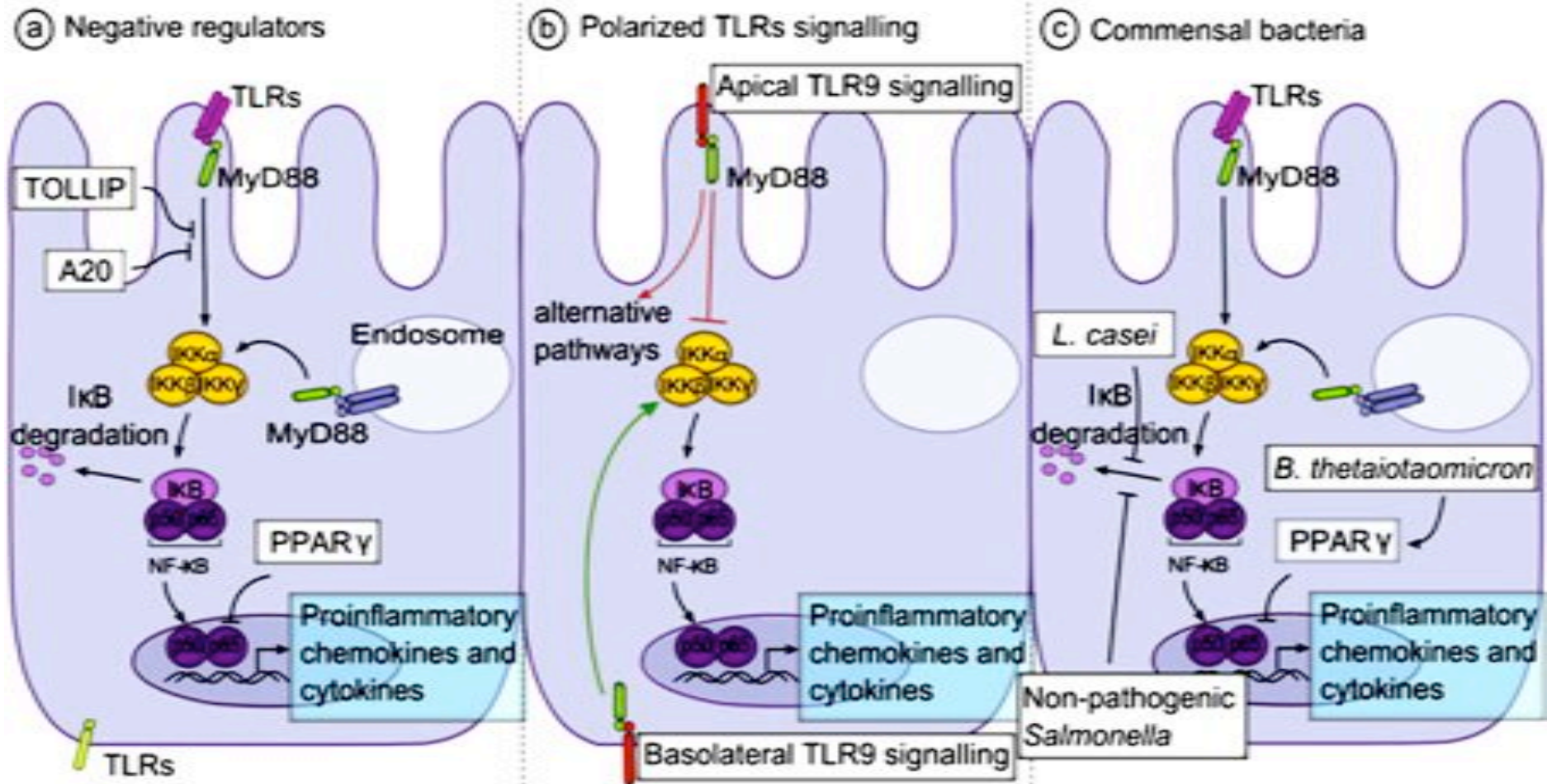
L'identification des mécanismes moléculaires d'induction/maintien de ces équilibres par le microbiote est le défi majeur du domaine Mécanismes de "l'immunoprivilège intestinal"

"Immunoprivilège" de l'intestin

- Rôle du microbiote lui-même dans l'induction de la tolérance
- APCs tolérogènes.
- Cellules phagocytaires: « anergie inflammatoire » (CD14-).
- Cellules T régulatrices (Treg):
CD4⁺, CD25⁺, expression du facteur de transcription Foxp3.
Les Tregs suppriment activement les réponses contre les bactéries et antigènes intestinaux.



Homéostasie de la perception immunitaire innée par les cellules épithéliales intestinales



Mucus Enhances Gut Homeostasis and Oral Tolerance by Delivering Immunoregulatory Signals

Meimei Shan, Maurizio Gentile, John R. Yeiser, A. Cooper Walland, Victor U. Bornstein, Kang Chen, Bing He, Linda Cassis, Anna Bigas, Montserrat Cols, Laura Comerma, Bihui Huang, J. Magarian Blander, Huabao Xiong, Lloyd Mayer, Cecilia Berin, Leonard H. Augenlicht, Anna Velcich, Andrea Cerutti

2013. *Scienceexpress*

Muc2 peut être capturé par les DC. L'association en complexe récepteur de Muc-2 (glycanes) – Galectine-3, Dectine-1 et RcgammaRIIB active la beta-caténine.

Cette signalisation neutralise les réponses de type pro-inflammatoires des DC, mais en respecte les réponses tolérogènes.

Muc-2 n'est pas qu'une barrière physico-chimique, mais aussi une molécule activement impliquée dans la signalisation tolérogène.

Souris axéniques, gnotoxénie

Souris sans microbiote nées (césarienne) et élevées en milieu stérile

Ces animaux ont permis de montrer que le microbiote était indispensable au développement des mammifères: croissance staturo-pondérale et maturation du système immunitaire (autres...)

Les souriceaux axéniques présentent un système immunitaire immature:

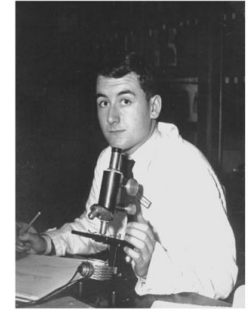
Système immunitaire muqueux: plaques de Peyer atrophiées

Système immunitaire systémique: ganglions et rate immatures, déficit global en lymphocytes matures

Ces anomalies persistent à l'âge adulte en l'absence d'une colonisation microbienne de l'intestin

Le modèle de la gnotoxénie, repopulation par un microbiote complexe ou par des espèces bactériennes permet une approche expérimentale/analytique du rôle des espèces composant le microbiote dans la maturation et la stimulation du système immunitaire.

Travaux pionniers en gnotoxénie



Pierre Raibaud

Ducluzeau, R., et Raibaud, P. 1973. Effet d'une souche de *Lactobacillus* sur la cinétique d'établissement de *Shigella flexneri* et d'*Escherichia coli* dans le tube digestif de souriceaux "gnotoxéniques." Rôle de l'immunisation des mères. *Can. J. Microbiol.* 19: 1021-1030.

Ducluzeau, R., Raibaud, P., et Ladire, M. 1974. Cinétique de l'établissement d'une microflore anaérobie stricte dans le tube digestif de souriceaux nés de mères gnotoxéniques entre la naissance et le sevrage. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*. 125A:57-68.

Ducluzeau, R., Ladire, M., Callut, C., Raibaud, P., and Abrams, G.D. 1977. Antagonistic effect of extremely oxygen-sensitive clostridia from the microflora of conventional mice and of *Escherichia coli* against *Shigella flexneri* in the digestive tract of gnotobiotic mice. *Infect. Immun.* 17: 415-424.

Patte, C., Tancrede, C., Raibaud, P., and Ducluzeau R. 1979. Premières étapes de la colonisation bactérienne du tube digestif du nouveau-né. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* 130A: 69-81.

Ducluzeau, R., Ladire, M., Duval, Y., and Huet, S. 1981. Influence du vieillissement de l'hôte sur l'effet de barrière permissive à l'égard d'une souche d'entérobactérie exercé par une flore bactérienne complexe dans le tube digestif de souris maintenues en isolateur. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* 132B: 91-100.

Les "plus" de la gnotoxénie

Toute lignée murine peut être dérivée vers un statut axénique: isogéniques, KO, transgéniques (Macpherson AJ. 2009. Encyclopedia of Microbiology), permettant une approche analytique de la symbiose par l'identification des facteurs immunitaires impliqués.

Les progrès spectaculaires de la métagénomique, en particulier l'analyse 16S, permettent la reconstitution de microbiotes simplifiés, contrôlés, donc l'identification du rôle respectif d'espèces bactériennes dans le contrôle de certaines fonctions immunitaires (Vaishvana S et al. 2011. Science)

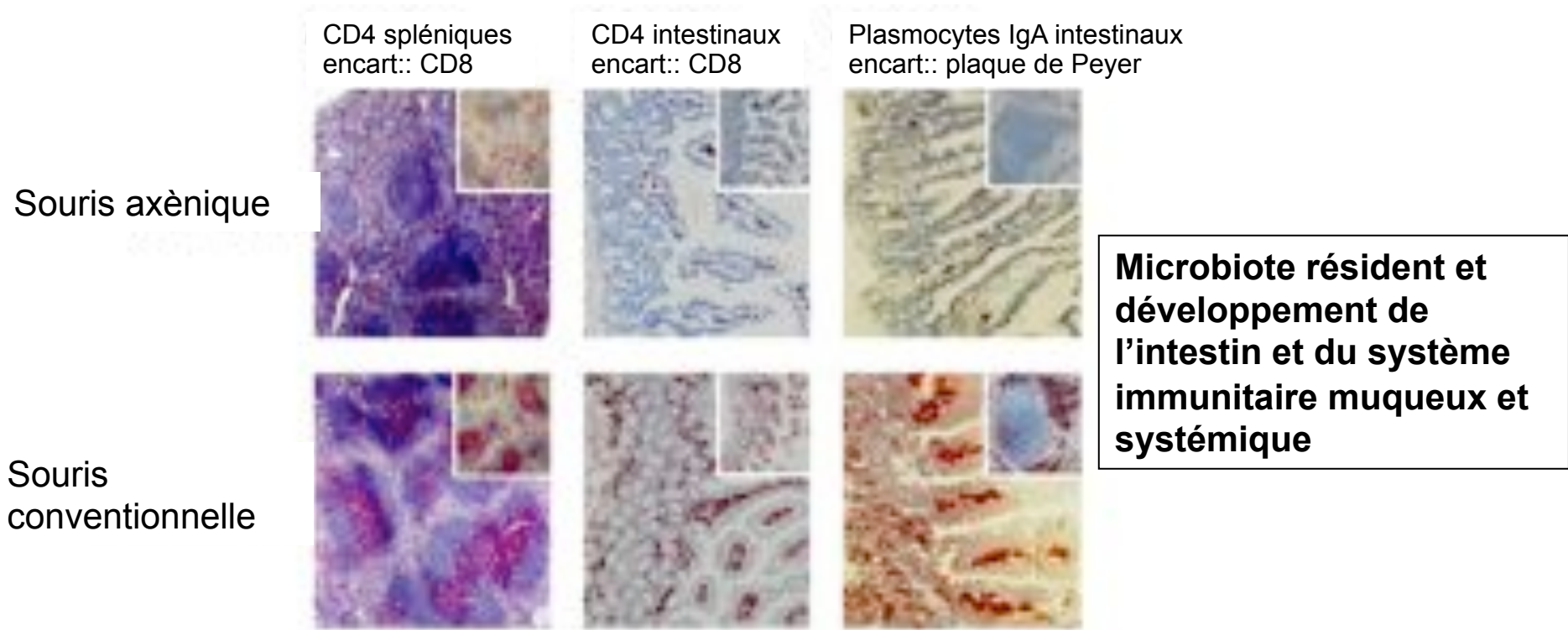
L'introduction de la génétique bactérienne réverse permet d'identifier les effecteurs bactériens pertinents. Ceci peut se combiner avec une approche utilisant des mutants bactériens dans des voies métaboliques essentielles à leur survie *in vivo*. L'addition ou la soustraction *in vivo* du métabolite en question permet de contrôler la survie ou la disparition de la population bactérienne (Hapfelmeier S et al. 2010. Science)

Souris axéniques



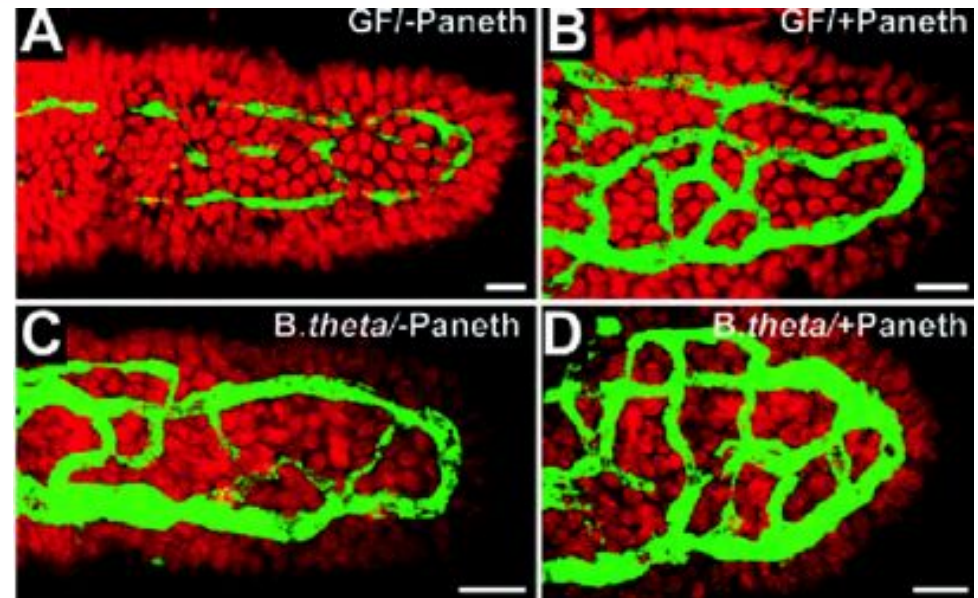
Nature Reviews | Immunology

Macpherson, AJ. 2004. Nat.Rev.Immunol



Macpherson & Harris, 2004, Nature Reviews Immunology

Villosités intestinales murines
 Immunomarquage FITC = Facteur de Willebrand
 (vaisseaux de la lamina propria)



Stappenback et coll., 2002, PNAS

Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis.

Boukra D, Brézillon C, Bérard M, Werts C, Varona R, Boneca JG, Eberl G.

Institut Pasteur, Laboratory of Lymphoid Tissue Development, CNRS, URA1961.

Abstract

Intestinal homeostasis is critical for efficient energy extraction from food and protection from pathogens. Its disruption can lead to an array of severe illnesses with major impacts on public health, such as inflammatory bowel disease characterized by self-destructive intestinal immunity. However, the mechanisms regulating the equilibrium between the large bacterial flora and the immune system remain unclear. Intestinal lymphoid tissues generate flora-reactive IgA-producing B cells, and include Peyer's patches and mesenteric lymph nodes, as well as numerous isolated lymphoid follicles (ILFs). Here we show that peptidoglycan from Gram-negative bacteria is necessary and sufficient to induce the genesis of ILFs in mice through recognition by the NOD1 (nucleotide-binding oligomerization domain containing 1) innate receptor in epithelial cells, and beta-defensin 3- and CCL20-mediated signalling through the chemokine receptor CCR6. Maturation of ILFs into large B-cell clusters requires subsequent detection of bacteria by toll-like receptors. In the absence of ILFs, the composition of the intestinal bacterial community is profoundly altered. Our results demonstrate that intestinal bacterial commensals and the immune system communicate through an innate detection system to generate adaptive lymphoid tissues and maintain intestinal homeostasis.

Quelques "milestones"

Un certain nombre de découvertes ont marqué l'importance du rôle du microbiote dans l'immunité grâce à l'utilisation de la gnotoxénie,

Génèse du Diabète de type 1 (Li Wen et al. 2008. Nature)

Rôle immunomodulateur du polyoside acide (PSA) de *Bacteroides fragilis* (Mazmanian S et al. 2005. Cell)

Rôle de SFB (Segmented Filamentous Bacterium) dans la maturation des lymphocytes naïfs en lymphocytes inflammatoires Th17 (Gaboriau-Routhiau V et al. 2009. Immunity; Ivanov I et al. 2009. Cell)

Rôle de PSA (Round JL & Mazmanian S. 2010. PNAS) et d'espèces de *Clostridium* (Atarashi K et al. 2010. Science) dans la maturation des lymphocytes Treg.

Article

An Immunomodulatory Molecule of Symbiotic Bacteria Directs Maturation of the Host Immune System

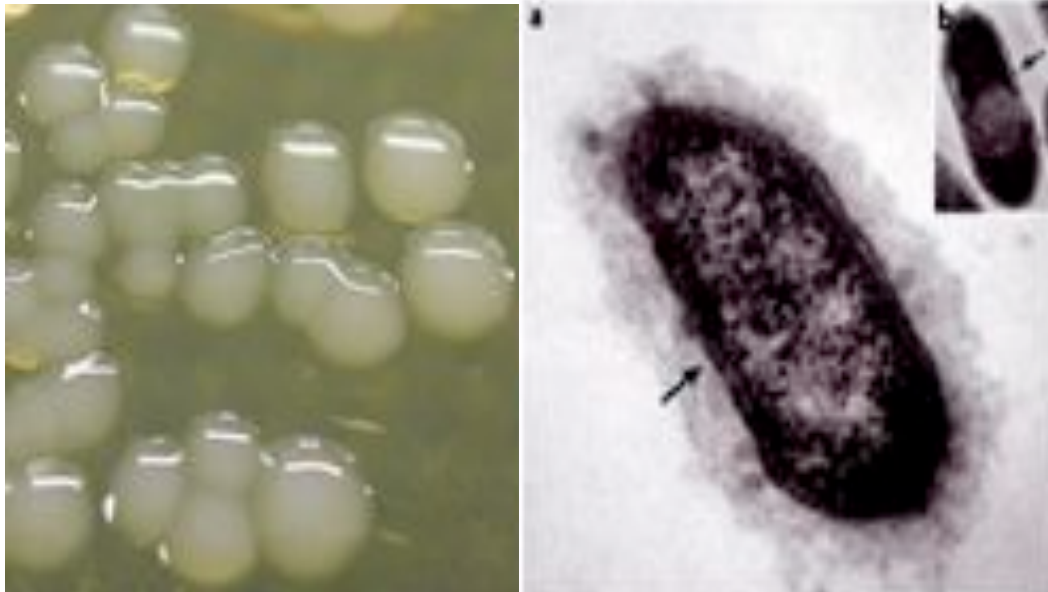
Sarkis K. Mazmanian^{1, 3, *}, Cui Hua Liu^{1, 2}, Arthur O. Tzianabos^{1, 3} and Dennis L. Kasper^{1, 3}

¹Channing Laboratory, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115

²Institute of Molecular Biology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

³Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115

Polysaccharide acide (PSA) = premier effecteur moléculaire de symbiose



Bacteroides fragilis - capsule
Mazmanian et al. 2005. Cell

Le PSA seul est susceptible de corriger certains déficits et anomalies de maturation du système immunitaire d'une souris axénique:

Rétablissement de l'équilibre Th1/Th2 avec augmentation des Th1

Maturation des follicules lymphoïdes dans la rate

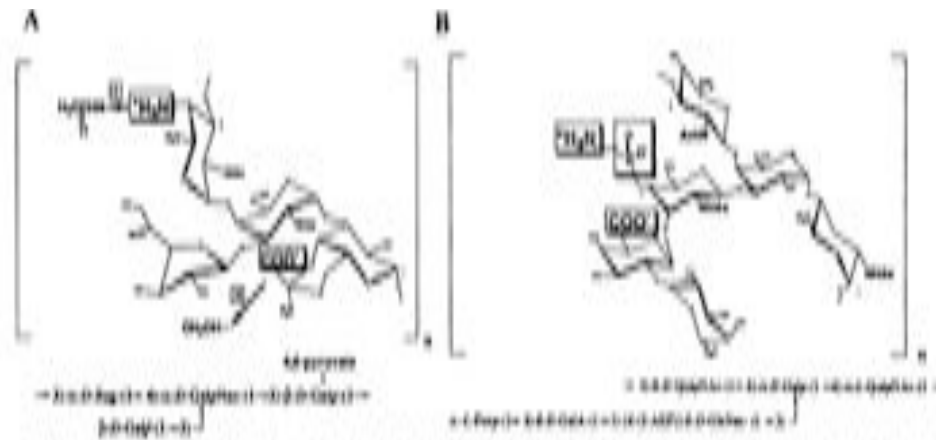
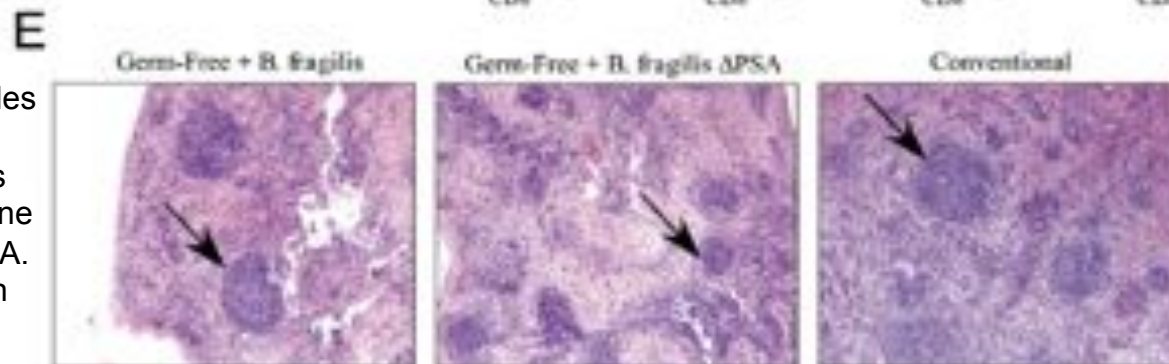
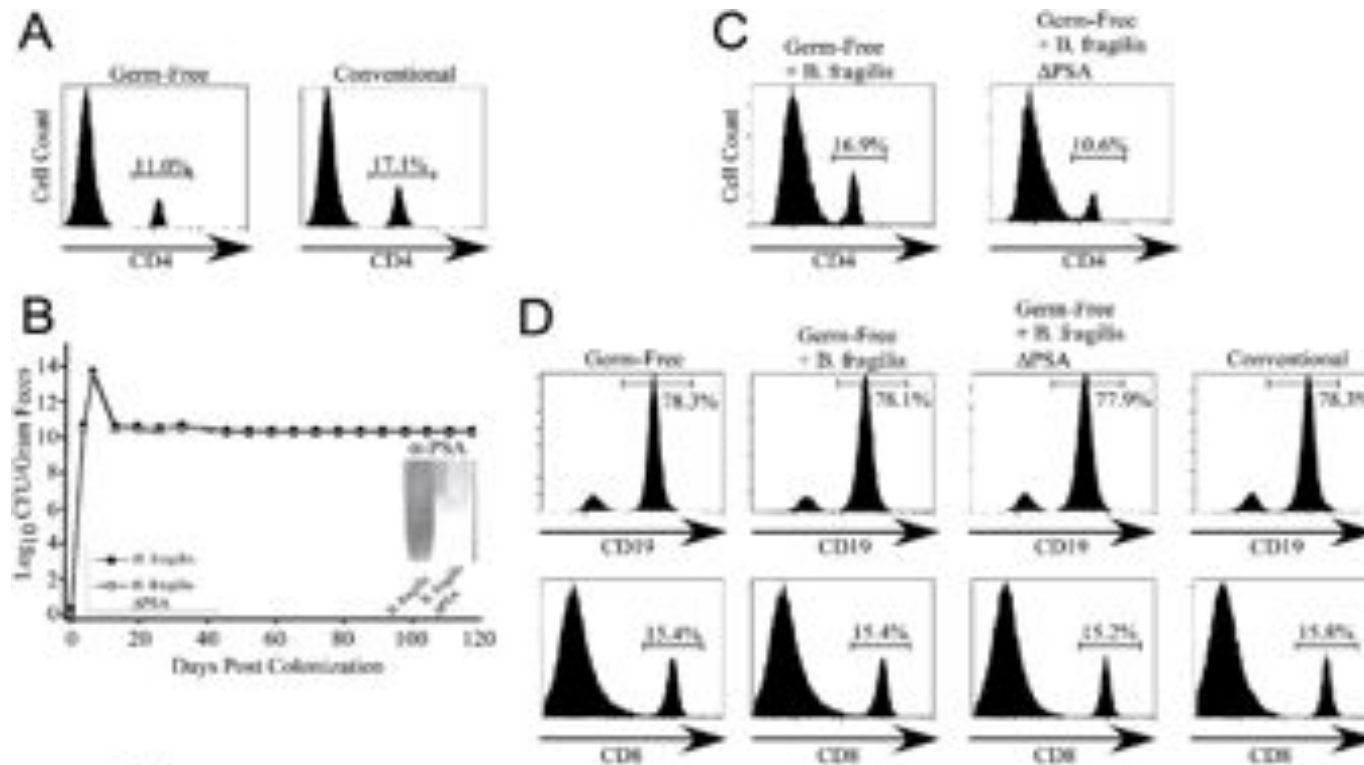


FIG. 1. The fine structures of the *B. fragilis* polysaccharide repeating units were chemically modified (boxed residues) to eliminate or create charged groups. (A) PSA has a tetraacetylchondate repeating unit with a balanced positively charged amino group and negatively charged carboxyl group. This polymer was modified as follows: modification I, N-acetylation of the free amino group on the 2,6-dihydro-8-oxo-2,6-dioxo-1,4-dioxane ring; modification II, carboxylate reduction of the negatively charged carboxyl group to a hydroxyl group. Large boxes indicate

La maturation cellulaire, fonctionnelle et physique du système immunitaire périphérique de souris axéniques requiert la colonisation intestinale par *Bacteroides fragilis* produisant l'antigène capsulaire polysaccharidique (PSA) nécessaire à la maturation des lymphocytes CD4+, mais pas CD8+ et B



Absence de larges follicules lymphoïdes spléniques chez les souris axéniques ou monocolonisées par une souche de *B. fragilis* ΔPSA. Mesure de la déplétion en cellules T.

Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes

Li Wen^{1,*}, Ruth E. Ley^{2,*}, Pavel V. Volchkov^{3,*}, Peter B. Stranges^{3,4}, Lia Avanesyan^{3,4}, Austin C. Stonebraker⁴, Changyun Hu¹, F. Susan Wong⁵, Gregory L. Szot⁶, Jeffrey A. Bluestone⁶, Jeffrey I. Gordon², and Alexander V. Chervonsky^{3,4}

¹ Section of Endocrinology, Yale University School of Medicine, New Haven, CT 06520

² Center for Genome Sciences, Washington University School of Medicine, St. Louis MO 63108

³ Department of Pathology, University of Chicago, Chicago, IL 60637

⁴ The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME 04609

⁵ Department of Cellular and Molecular Medicine, School of Medical Science, Bristol University, UK

⁶ Diabetes Center at the University of California San Francisco, San Francisco, CA 94143

Le diabète de type 1 (DT1) a une physiopathologie complexe qui associe des facteurs génétiques, environnementaux (nutritionnels) et immunologiques (maladie auto-immune). Rôle des lymphocytes T CD4+ dans la destruction des îlots de cellules beta causant la diminution de la production d'insuline.

Incidence croissante dans les pays industrialisés et maintenant dans les pays émergents.

Survenue d'un diabète de type 1 chez les souris NOD (non-obese diabetic) modulée par la qualité de l'environnement microbien.

Souris NOD (SPF) MyD88 -/- ne développent pas de diabète contrairement aux NOD MyD88 +/-

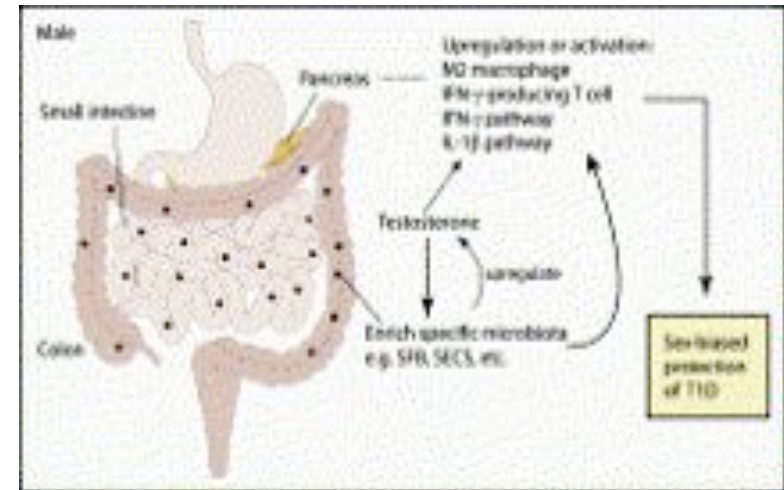
Souris NOD, MyD88 -/- axéniques développent un diabète

Repopulation par un consortium microbien d'homme non diabétique atténue la survenue du diabète de type 1 (enrichie en *Lactobacillus*)

Le déficit en MyD88 change le profil du microbiote. L'administration de ce microbiote "MyD88 -/-" atténue la survenue du diabète de type 1 chez les souris NOD SPF.

Gender bias in autoimmunity is influenced by microbiota

Yurkovetskyi et al, 2013. Immunity



An D & Kasper DL. 2013. Immunity

Les souris NOD SPF femelles ont 1,3 à 4,4 plus de chances de développer un diabète de type 1 que les mâles.

Les souris NOD axéniques perdent ce sex-ratio (1,1-1,2)

Après la puberté, le microbiote des mâles apparait différent de celui des femelles. Cette différence est inversée par la castration. Influence des androgènes sur le microbiote !

La colonisation de souris NOD GF par certains des lignages surreprésentés chez les mâles protège contre la survenue du diabète.

L'augmentation de la production d'IFN- γ corrèle avec la protection des mâles.

Dimorphisme sexuel des maladies autoimmunes en rapport avec le microbiote ?

The Key Role of Segmented Filamentous Bacteria in the Coordinated Maturation of Gut Helper T Cell Responses

Valérie Gaboriau-Routhiau,^{1,2*} Sabine Rako-tobe,^{1,2} Emelyne Lécuyer,^{1,2} Imke Mulder,³ Annaïg Lan,³ Chantal Bridonneau,¹ Violaine Rochet,¹ Annamaria Pisi,⁴ Marianne De Paepe,² Giovanni Brandi,⁵ Gérard Eberl,⁶ Johannes Snel,⁷ Denise Kelly,³ and Nadine Cerf-Bensussan²

¹INRA, UR10, Unité Ecologie et Physiologie du Système Digestif, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas, France

²INSERM, U793, Université Paris Descartes, 156 rue de Vaugirard, 75730 Paris Cedex 15, France

³Roslin Institute of Nutrition & Health, College of Life Sciences & Medicine, University of Aberdeen, Greenburn Road, Bucksburn, Aberdeen AB21 9SB, UK

⁴O.I.S.T.A., University of Bologna, Viale Fanin 44, 40127 Bologna, Italy

⁵Department of Hematology & Oncological Sciences "Seragnoli," Policlinico Sant'Orsola, University of Bologna, Via Massarenti 9, 40127 Bologna, Italy

⁶Institut Pasteur, Laboratory of Lymphoid Tissue Development, CNRS URA 1961, 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15, France

⁷NIZO Food Research, PO Box 20, 6710 BA Ede, The Netherlands

*Correspondence: valerie.gaboriau-routhiau@inra.fr

DOI 10.1016/j.immuni.2009.08.020

Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria

Ivaylo I. Ivanov^{1,10}, Koji Atarashi^{3,10}, Nicolas Manel^{1,11}, Eoin L. Brodie^{4,11}, Tatsuichiro Shima^{7,11}, Ulas Karaoz⁴, Dongguang Wei⁵, Katherine C. Goldfarb⁴, Clark A. Santee⁴, Susan V. Lynch⁶, Takeshi Tanoue³, Akemi Imaoka⁷, Kikuji Itoh⁸, Kiyoshi Takeda³, Yoshinori Umesaki⁷, Kenya Honda^{3,9,4}, and Dan R. Littman^{1,2,*}

¹Molecular Pathogenesis Program, The Kimmel Center for Biology and Medicine of the Skirball Institute, New York University School of Medicine, New York, NY 10016, USA

²Howard Hughes Medical Institute, The Kimmel Center for Biology and Medicine of the Skirball Institute, New York University School of Medicine, New York, NY 10016, USA

³Laboratory of Immune Regulation, Graduate School of Medicine, WPI Immunology Frontier Research Center, Osaka University, 2-2 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

⁴Center for Environmental Biotechnology, Earth Sciences Division, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720, USA

⁵Carl Zeiss SMT, Inc., Nanotechnology Systems Div. One Corporation Way, Peabody, MA 01960, USA

⁶Division of Gastroenterology, Department of Medicine, University of California San Francisco, 513 Parnassus Ave., San Francisco, CA 94143, USA

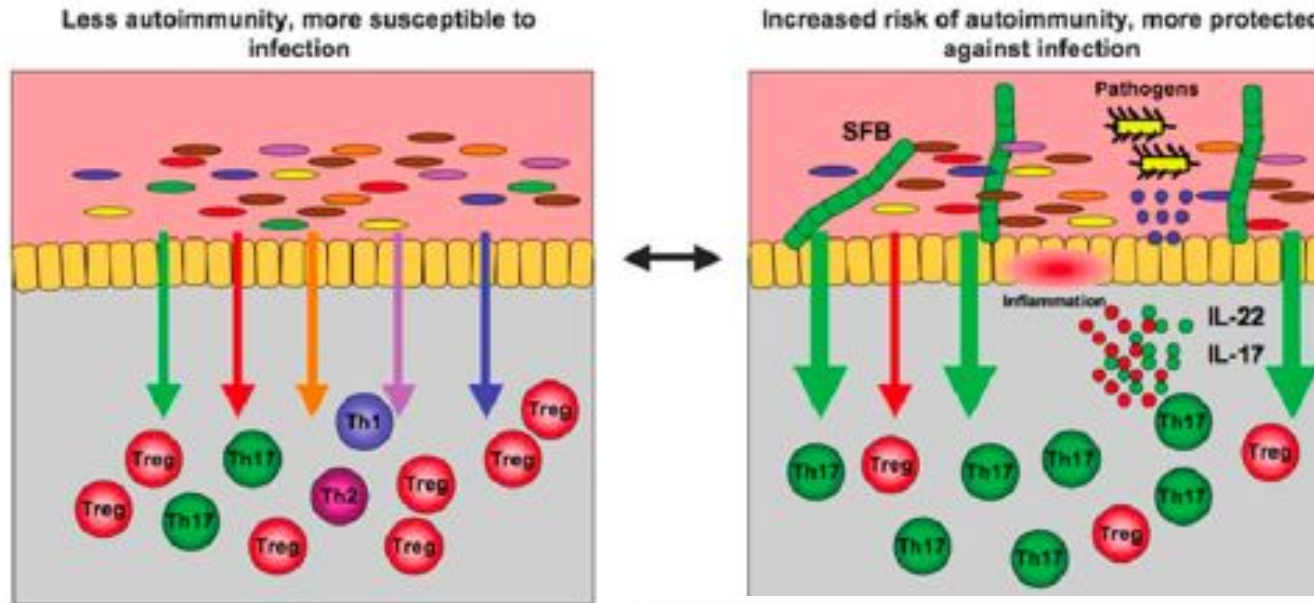
⁷Yakult Central Institute for Microbiological Research, Yaho 1796, Kunitachi, Tokyo 186-8650, Japan

⁸Department of Veterinary Public Health, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

⁹Precursory Research for Embryonic Science and Technology (PREST), Japan Science and Technology Agency, 4-1-8 Honcho Kawaguchi, Saitama, 332-0012 Japan

SFB : régulateur de l'équilibre Th17 / Treg

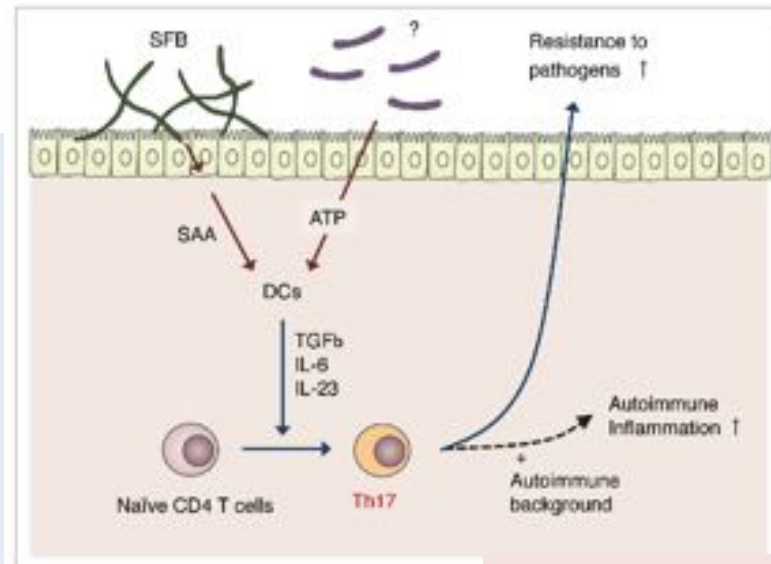
SFB coordonne la maturation des réponses cellulaires T intestinales



Ivanov I & Littman DA. 2010. Mucosal Immunity

SFB coordonne l'équilibre homéostatique des lymphocytes T régulateurs et T effecteurs dans l'intestin (particulièrement la maturation des lymphocytes Th17)

Lymphocytes Th17 : inflammation, défense contre les pathogènes extra-cellulaires, autoimmunité



Tanoue *et al.* 2010 Gut microbes

2010

Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota

June L. Round and Sarkis K. Mazmanian¹

Division of Biology, California Institute of Technology, Pasadena, CA 91125

Edited* by Richard A. Flavell, Yale University School of Medicine, Howard Hughes Medical Institute, New Haven, CT, and approved June 2, 2010 (received for review August 13, 2009)

To maintain intestinal health, the immune system must faithfully respond to antigens from pathogenic microbes while limiting disturbances in our partnership with symbiotic bacteria may be a risk factor for IBD.

Bacteroides fragilis stimule le développement de cellules T régulatrices FoxP3⁺ (Tregs) avec une signature génétique particulière.

La monocolonisation de souris axéniques avec *B. fragilis* augmente les capacités immunosuppressives des Tregs et induit la production de cytokines antiinflammatoires exclusivement par des cellules Foxp3⁺ au sein de la muqueuse intestinale.

PSA entraîne la différenciation de cellules T naïves en cellules Tregs productrices d'IL-10 durant la colonisation par le commensal.

La différenciation en cellules Tregs et la production d'IL-10 sont toutes deux dépendantes de l'activation de TLR2.

PSA non seulement prévient, mais guérit une colite expérimentale chez la souris.

PSA induit activement la tolérance muqueuse en cooptant les cellules Treg.

Induction of Colonic Regulatory T Cells by Indigenous *Clostridium* Species

Koji Atarashi,^{1*} Takeshi Tanoue,^{1*} Tatsuichiro Shima,² Akemi Imaoka,² Tomomi Kuwahara,³ Yoshika Momose,⁴ Genhong Cheng,⁵ Sho Yamasaki,⁶ Takashi Saito,⁶ Yusuke Ohba,⁷ Tadatsugu Taniguchi,¹ Kiyoshi Takeda,⁸ Shohei Hori,⁹ Ivaylo I. Ivanov,¹⁰ Yoshinori Umesaki,² Kikuji Itoh,⁴ Kenya Honda^{1,11†}

Chez la souris, les lymphocytes Treg sont les plus abondants dans la muqueuse colique.

Des membres des clusters IV et XIVa du genre *Clostridium* (46) induisent l'accumulation de lymphocytes Treg.

La colonisation de souris axéniques par une combinaison de ces *Clostridium* crée un environnement muqueux riche en TGF-beta stimulant la présence et la fonction des lymphocytes Treg. Contrôle: 3 souches de *Lactobacillus* ou SFB = aucun effet inducteur des Treg.

L'inoculation orale de ces *Clostridium* à des souriceaux élevés sur un mode conventionnel entraîne la résistance à une colite et une réponse IgE excessive à un stimulus antigénique chez l'animal adulte.

Défis

Meilleure compréhension des mécanismes de régulation de la composition du microbiote par le système immunitaire.

Conséquences pathologiques: mécanismes de génération d'une dysbiose par des anomalies même minimales, éventuellement génétiquement médiées, de l'immunité innée voire adaptative.

Inversement, meilleure connaissance de l'impact du microbiote sur l'homéostasie et la pathologie du système immunitaire. Identification/catalogage des espèces responsables (symbiotes / pathobiotiques).

Identification des molécules bioactives, par exemple dans la différenciation des lymphocytes T naïfs vers les différents lignages (Th1, Th17, Treg, etc...).

Standardisation des modèles animaux

Influence du microbiote sur la programmation du système immunitaire chez le nouveau né. Part de l'"imprinting épigénétique".

Hypothèse hygiéniste...

Microbiote et sensibilité aux infections virales

Revue

Pfeiffer JK & Sonnenburg JL. 2011. The intestinal microbiota and viral susceptibility.

Frontiers Microbiol.

Wilks J & Golovkina T. 2012. Influence of microbiota on viral infection.

PLoS Pathogens

Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection

Takeshi Ichinohe^{a,b,1}, Iris K. Pang^{a,1}, Yosuke Kumamoto^a, David R. Peaper^c, John H. Ho^a, Thomas S. Murray^{c,d}, and Akiko Iwasaki^{a,2}

^aDepartment of Immunobiology, ^bDepartment of Pediatrics, and ^cLaboratory Medicine, Yale University School of Medicine, New Haven, CT 06520; and ^dDepartment of Virology, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

Edited by Dan R. Littman, New York University Medical Center, New York, NY, and approved February 7, 2011 (received for review December 23, 2010)

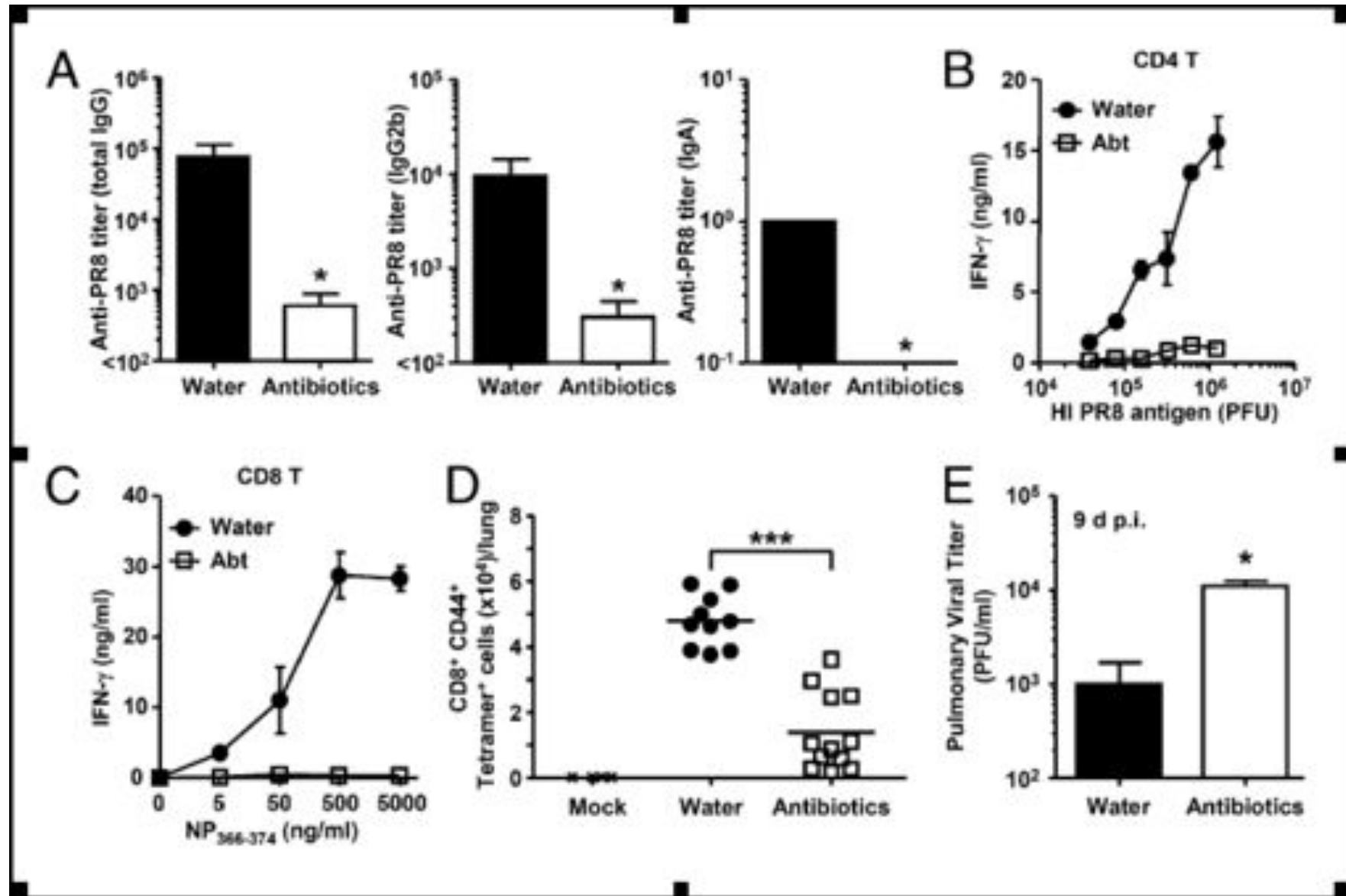
Le rôle du microbiote intestinal dans la réponse immunitaire au niveau d'autres muqueuses comme la muqueuse respiratoire est quasiment inconnu.

La composition du microbiote intestinal de la souris apparaît essentielle à la génération de lymphocytes T CD4+ et CD8+ et de la réponse anticorps contre le virus de la grippe. Plusieurs traitements antibiotiques ont été testés. Les bactéries sensibles à la néomycine sont associées avec l'induction d'une réponse immunitaire significative.

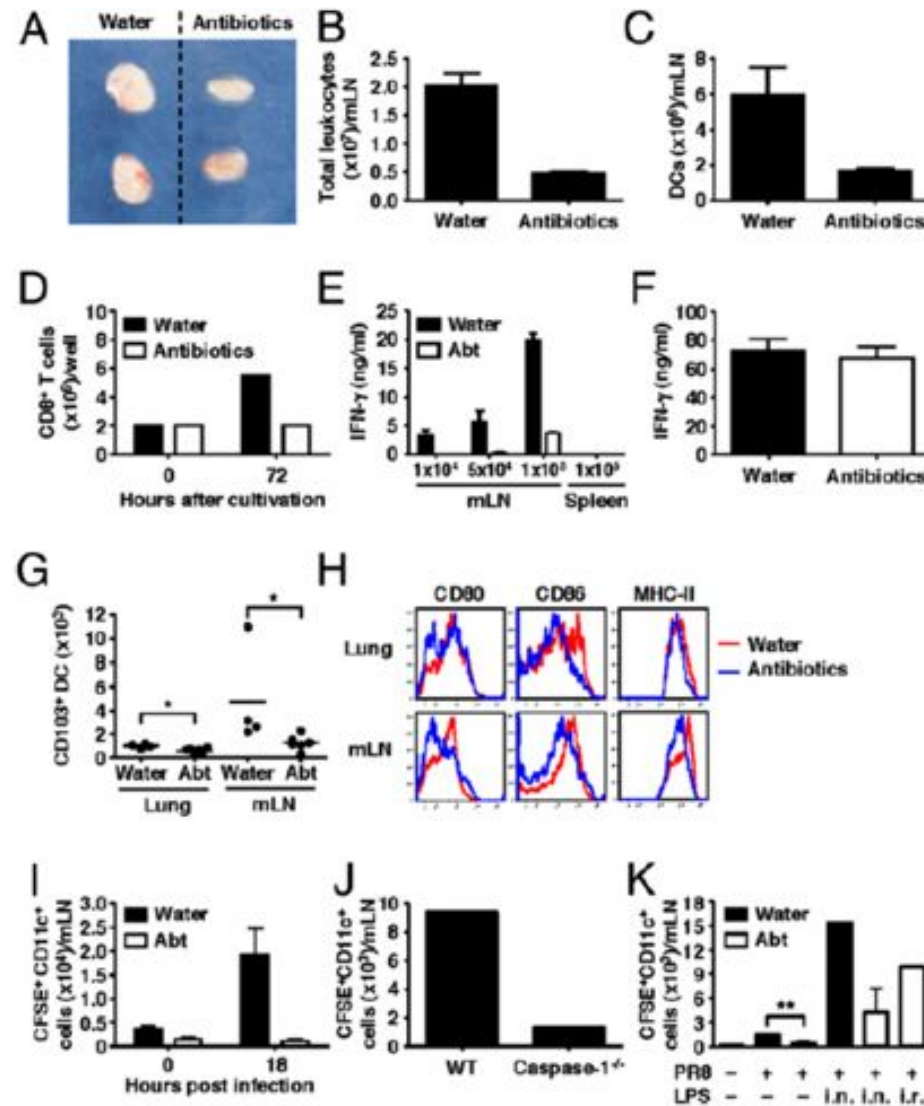
Chez les animaux traités par la Néomycine, l'administration de ligands de TLRs restaure une réponse immunitaire normale.

Un microbiote intact fournit les signaux nécessaires à l'expression de pro-IL-1 β et pro-IL-18. à l'état de base (signal primaire). Lors de l'infection par le virus de la grippe, l'induction de l'inflammasome via NLRP3 induit la migration des cellules dendritiques du poumon aux ganglions médiastinaux où elles assurent le "priming" des lymphocytes T.

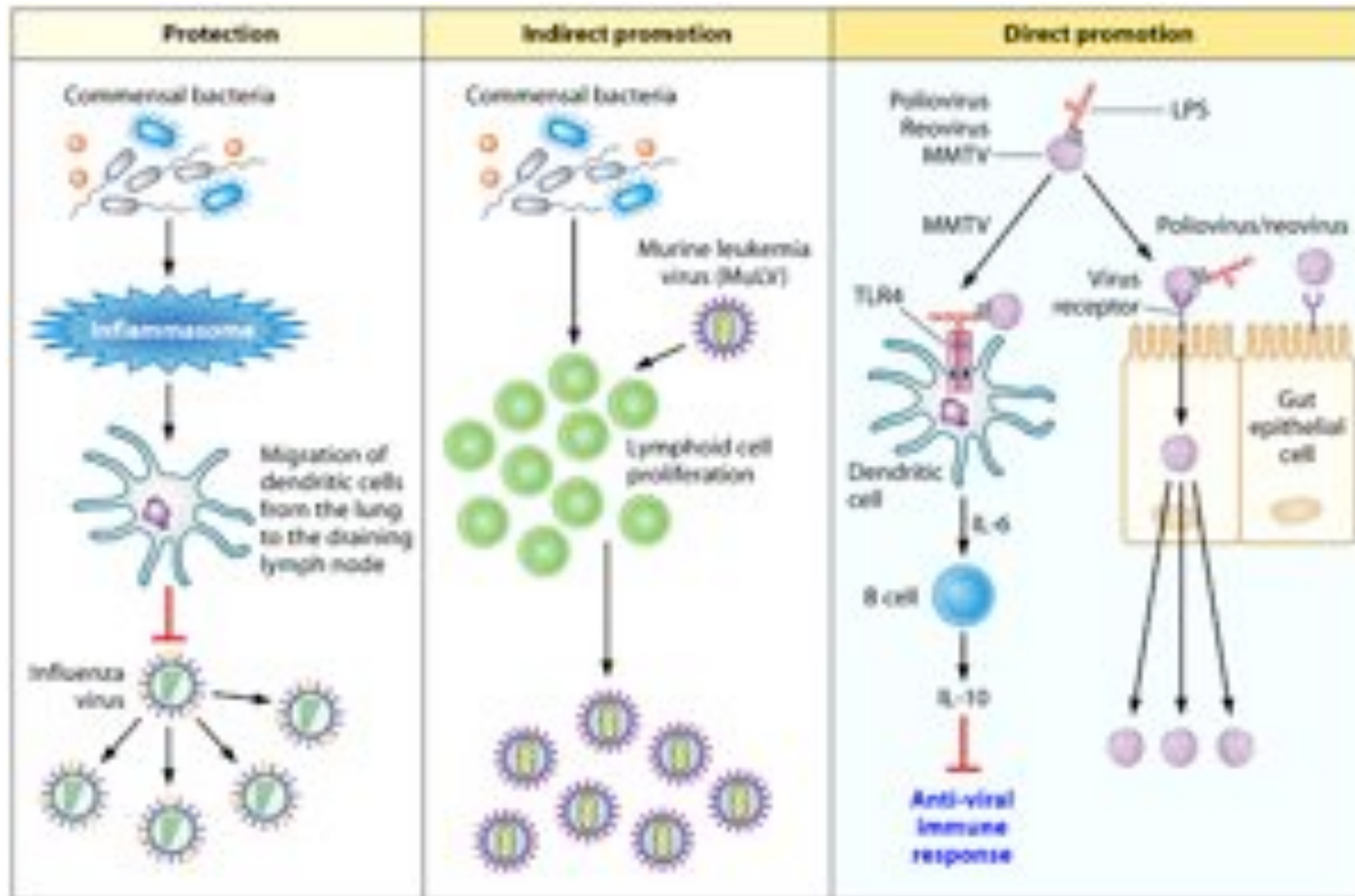
Les souris traitées par un antibiotique (Néomycine) sont incapables de développer une réponse immunitaire adaptative au virus grippal



Les DC de l'appareil respiratoire ne migrent pas vers les ganglions médiastinaux drainants et ne priment les cellules T chez les animaux traités par l'antibiotique



Microbiote et infections virales, le Yin et le Yang



Ichinohe T et al. 2011. PNAS

Kouttab NM & Jutila JW. 1972. J Immunol

Kuss SK et al. 2011. Science
Kane M et al. 2011. Science

Wilks J & Golovkina T. 2012. PLoS Pathogens