► Le dossier thématique qui suit a été rédigé par les étudiants de Master 1 de Biologie de l'École normale supérieure (ENS) de Lyon à l'issue de l'UE Microbiologie Moléculaire et Structurale (2018-19). Le Master de Biologie de l'ENS de Lyon, cohabilité par l'université Claude Bernard Lyon 1, accueille chaque année environ 50 étudiants en M1 et en M2 et propose une formation de haut niveau à la recherche en biosciences. Chaque étudiant y construit son parcours à la carte, en choisissant ses options parmi un large panel de modules, favorisant ainsi une approche pluridisciplinaire des sciences du vivant, et ce en relation étroite avec les laboratoires de recherche du tissu local, national et international. En participant à diverses activités scientifiques connexes aux UE de leur formation, les étudiants préparent également l'obtention du diplôme de l'ENS de Lyon, qui valide leur scolarité à l'ENS. La rédaction du présent dossier, qui vise à transmettre de façon claire les principaux messages issus d'articles scientifiques publiés récemment dans le domaine de la microbiologie, constitue l'une de ces activités connexes proposées aux étudiants. Ces dernières années, des progrès immenses ont été réalisés dans la compréhension des interactions entre le microbiote bactérien, notamment intestinal, et l'immunité (→).

Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (22)

**Microbiote et immunité : nouveaux
mécanismes, nouveaux acteurs**

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Équipe pédagogique

Chloé Journo (maître de conférences, ENS de Lyon). Co-responsable de l'UE microbiologie moléculaire et structurale. Équipe oncogénèse rétrovirale, Centre international de recherche en infectiologie, Inserm U1111 - CNRS UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Lyon, France

Théodore Grenier (doctorant moniteur, ENS de Lyon). Équipe génomique fonctionnelle des interactions hôte/bactéries, Institut de Génétique Fonctionnelle de Lyon, Université de Lyon, École Normale Supérieure de Lyon, CNRS UMR 5242, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

Renaud Mahieux (professeur, ENS de Lyon). Co-responsable de l'UE microbiologie moléculaire et structurale. Équipe oncogénèse rétrovirale, Centre international de recherche en infectiologie, Inserm U1111 - CNRS UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Lyon, France
chloe.journo@ens-lyon.fr

En parallèle, de nouvelles avancées techniques ont permis d'identifier et de caractériser les virus présents au sein du microbiote, rendant possible une meilleure appréhension de la diversité du virobiote et de ses impacts fonctionnels. Le présent dossier illustre quelques aspects de ces relations entre microbiote au sens large et immunité. ◀

(→) Voir le numéro thématique *Le microbiote, cet inconnu qui réside en nous*, m/s n° 11, novembre 2016, pages 921-1016

Microbiota and immunity: new mechanisms, new actors

Avec m/s, vivez en direct
les progrès et débats
de la biologie et de la médecine

CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE M/S

CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG

Abonnez-vous sur

www.medecinesciences.org

Le microbiote intestinal, un modulateur clé de la physiologie immunitaire

Valentine Bouterin, Florence Piastra-Facon, Emma Risson

École normale supérieure de Lyon,
département de biologie, Master biologie,
Lyon, France.

► L'existence des microbes, responsables des maladies et épidémies, a été démontrée au cours du XIX^e siècle par Louis Pasteur. Les microorganismes ont alors été considérés comme pathogènes. Pourtant, on sait aujourd'hui que chaque être humain cohabite avec près de 10^{14} bactéries [1]. Le microbiote, cet ensemble de bactéries, champignons, virus et autres microorganismes, peuple les surfaces du corps en contact avec le milieu extérieur telles que l'intestin, la peau ou le vagin.

La majorité des bactéries constituant le microbiote est acquise à la naissance, lorsque le nouveau-né entre en contact avec le microbiote vaginal de sa mère. Des études ont toutefois suggéré que des bactéries pourraient être acquises plus tôt, au cours du développement embryonnaire [2, 3]. Ces études ont en effet montré que le placenta n'est pas stérile : il existerait un microbiote placentaire, proche du microbiote oral maternel. La communauté scientifique est cependant encore divisée quant à la signification biologique de ce microbiote placentaire, qui serait important pour le maintien de la grossesse jusqu'à son terme.

La composition du microbiote évolue ensuite tout au long de la vie, de manière tant quantitative que qualitative, sous l'influence de nombreux facteurs tels que l'alimentation, le mode de vie, l'hygiène et l'environnement.

Le microbiote bactérien est très important au cours des premiers mois de la vie. L'effet de la prise d'antibiotiques par la mère au cours de la grossesse ou de l'allaitement sur la santé du nourrisson en est une indication. Une étude réalisée sur des souris a par exemple démontré que lorsque l'on administre des antibiotiques

à des souris au cours de la gestation et de la lactation, les nouveau-nés présentent une réponse immunitaire antivirale moins efficace [4]. La diversité du microbiote bactérien maternel, et donc du microbiote bactérien acquis à la naissance, impacte ainsi la physiologie immunitaire.

Nous nous concentrerons dans cette introduction sur l'exemple de la muqueuse intestinale, à laquelle est associé le microbiote le plus diversifié et le mieux étudié à ce jour. Si le rôle essentiel du microbiote bactérien intestinal au cours de la digestion n'est plus à démontrer, on découvre en effet depuis une dizaine d'années son importance dans la régulation de l'immunité mucoale. Nous décrirons ici les principaux mécanismes de l'immunité de la muqueuse intestinale avant de présenter les interactions qu'elle entretient avec différentes composantes du microbiote [7] (→).

(→) Voir la Synthèse de V. Gaboriau-Routhiau et N. Cerf-Bensussan, m/s n° 11, novembre 2016, page 961

L'immunité mucoale de l'intestin met en jeu différents acteurs cellulaires permettant le maintien de l'homéostasie

Comme l'illustre la Nouvelle de ce dossier intitulée « *Les bactériophages, alliés de l'épithélium intestinal contre les bactéries pathogènes* » (→), le mucus produit par l'épithélium intestinal

représente une barrière physique contre les pathogènes. Il recouvre l'épithélium intestinal, composé principalement de cellules épithéliales permettant l'absorption des nutriments. Ces dernières reconnaissent des motifs particuliers propres aux microorganismes via leurs différents récepteurs PRR

de l'immunité innée (*pattern recognition receptors*). L'épithélium comprend également des cellules particulières, les cellules M, capables de collecter les antigènes présents dans le lumen et de les transporter vers les cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes B) présentes dans la *lamina propria* (c'est-à-dire le tissu conjonctif sous-jacent à l'épithélium intestinal). Ces cellules présentatrices d'antigènes sont responsables de l'activation des lymphocytes T au cours de la réponse adaptative (Figure 1). Des lymphocytes de type inné, regroupant les cellules lymphoïdes de type inné (*innate lymphoid cells*, ILC), les lymphocytes T *natural killer* (NKT) et les lymphocytes T $\gamma\delta$ s'activent également.

En réponse aux signaux des cellules de l'immunité innée, la réponse adaptative s'active ensuite. La différenciation des cellules du système adaptatif en cellules effectrices est conditionnée par un cocktail de cytokines et de molécules de surface. Le mode d'infection ainsi que la nature du pathogène déterminent les sous-populations de lymphocytes T et B qui sont mises en jeu. Les lymphocytes B se différencient en plasmocytes, sécrétant des anticorps. Dans les muqueuses, c'est principalement une réponse anticorps de type IgA qui se met en place. Les anticorps IgA passent en effet la barrière épithéliale et peuvent se lier à des microorganismes présents dans le lumen, ce qui limite la colonisation de l'épithélium intestinal et facilite leur élimination.

Parmi les lymphocytes T effecteurs, on distingue les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires, qui recrutent et activent d'autres leucocytes, des lymphocytes T CD8⁺ cyto-

(→) Voir page 581 de ce numéro

Figure 1. L'immunité mucosale intestinale, un fin équilibre entre tolérance et inflammation.

toxiques, qui éliminent les cellules infectées. Les lymphocytes T auxiliaires sont eux-mêmes classés en plusieurs sous-populations dont les lymphocytes Th17, qui protègent contre les pathogènes extracellulaires et qui jouent un rôle central dans l'immunité mucosale en stimulant la réponse inflammatoire.

Le système immunitaire joue un rôle ambivalent dans l'intestin : il protège l'organisme des pathogènes ingérés par voie orale, tout en tolérant les nutriments issus de l'alimentation ainsi que l'ensemble de microorganismes constituant le microbiote intestinal. Selon le type de bactérie détectée et sa localisation, le système immunitaire n'est pas activé de la même manière. Ainsi, les bactéries commensales sont généralement cantonnées à la lumière intestinale, alors que la plupart des bactéries pathogènes traversent le mucus et adhèrent à l'épithélium intestinal, voire envahissent le tissu, générant

des signaux distincts perçus par le système immunitaire. Les bactéries commensales ne sont toutefois pas invisibles pour le système immunitaire : elles participent de façon active à la stimulation de l'immunité mucosale.

Les bactéries du microbiote intestinal induisent une inflammation constitutive à bas bruit qui stimule l'immunité des muqueuses

Par rapport aux souris conventionnelles, les souris traitées aux antibiotiques et les souris axéniques (c'est-à-dire dépourvues de microbiote bactérien) présentent des anomalies de l'architecture intestinale et de la composition en cellules immunitaires de la *lamina propria* et des ganglions mésentériques : villosités plus fines et cryptes plus étroites, population de lymphocytes T réduite (à la fois CD4⁺ et CD8⁺) et population de cellules lymphoïdes innées de type 2 (ILC2) accrue, entre

autres. Les bactéries commensales de l'intestin participent en effet à l'éducation du système immunitaire : elles permettent la différenciation de certaines populations immunitaires et l'activation d'un programme inflammatoire et antimicrobien permettant de résister aux pathogènes intestinaux [5]. Bien que séparées par le mucus et l'épithélium intestinal, les bactéries commensales et les cellules du système immunitaire communiquent. La plupart des bactéries commensales sécrètent des métabolites tels que des acides gras à chaîne courte, qui diffusent dans le mucus. Ces métabolites sont transmis, via les cellules M, aux cellules immunitaires sous-jacentes, et orchestrent leur différenciation. En outre, certaines bactéries commensales adhèrent aux cellules épithéliales de manière physiologique. C'est le cas des bactéries filamenteuses segmentées (BFS) qui déclenchent une réponse Th17 physiologique permettant

Les animaux axéniques et gnotobiotiques

L'élevage d'animaux axéniques et gnotobiotiques représente une innovation majeure dans l'étude des microbiotes bactériens. À la différence d'un animal conventionnel qui acquiert son microbiote bactérien naturellement, sans que les chercheurs puissent contrôler cette acquisition, un animal gnotobiotique est un animal dont le microbiote est connu et contrôlé. Un animal axénique est, lui, dépourvu de microbiote. Maintenir un animal axénique en laboratoire exige deux conditions. L'animal doit tout d'abord commencer sa vie en condition axénique, c'est-à-dire être dépourvu de tout microorganisme à la naissance. Les souris axéniques, par exemple, sont obtenues en prélevant les jeunes dans l'utérus (afin d'éviter une contamination par le microbiote de leur mère à la naissance) et en les transférant stérilement dans des incubateurs. Ensuite, l'animal ne doit jamais être exposé à des sources de contamination microbienne. Les souris axéniques sont élevées dans des incubateurs stériles et nourries avec des aliments pasteurisés.

Les animaux axéniques sont utiles pour observer les conséquences d'une absence de microbiote. On peut, par ailleurs, obtenir des animaux gnotobiotiques en associant des animaux axéniques avec la communauté microbienne que l'on souhaite étudier. Il peut s'agir d'une unique souche microbienne (on parle alors de mono-association) ou d'une communauté plus complexe (on parle alors de poly-association).

La souris est le modèle animal gnotobiotique le plus utilisé, mais de nombreux laboratoires travaillent sur d'autres modèles gnotobiotiques comme le rat, la drosophile, le moustique ou encore le cochon.

l'éducation du système immunitaire. La Nouvelle de ce dossier intitulée « *L'adhérence de microorganismes aux cellules intestinales induit une réponse immunitaire de type Th17* » (→) illustre ce lien entre adhérence bac- (→) Voir page 575 de ce numéro

À la découverte de la flore intestinale virale

Si les recherches sur le microbiote se sont jusqu'à présent essentiellement concentrées sur sa composante bactérienne, de nouvelles études explorent la diversité et les fonctions du virobiote, c'est-à-dire l'ensemble des virus présents dans l'organisme. L'identification des séquences virales associées au virobiote, regroupées sous le terme de virome, a longtemps constitué un défi technique du fait de la petite taille des génomes viraux et de leur incroyable diversité (génomes à ADN ou à ARN, simple ou double brin). De plus, les génomes viraux ne partagent pas de séquences nucléiques consensus permettant de séquencer les virus encore non recensés, comme c'est, par exemple, le cas des gènes codant les ARN ribosomiaux bactériens. Le perfectionnement des nouvelles techniques de séquençage à haut

débit (NGS, *next generation sequencing*) a répondu à ce défi : on peut en effet aujourd'hui séquencer les métagénomes sans avoir de connaissances *a priori* sur la nature des génomes amplifiés. Ces avancées ont été déterminantes dans l'identification de la composante virale du microbiote, en particulier dans l'intestin. Celle-ci comprend les virus pouvant infecter les cellules de l'hôte, ainsi que les bactériophages (aussi appelés phages) infectant les bactéries commensales. La Nouvelle intitulée « *Les bactériophages, alliés de l'épithélium intestinal contre les bactéries pathogènes* » (→) traite de l'importance de ces bactériophages dans la physiologie de l'épithélium intestinal.

Plusieurs études ont mis en évidence le fait que le virobiote serait contrôlé par le système immunitaire, comme c'est le cas pour le microbiote bactérien. Par exemple, une expansion anormale du virobiote intestinal est observée chez des singes atteints d'une immunodéficience acquise [6]. Existe-t-il en retour, de façon analogue au microbiote bactérien, un effet bénéfique du virobiote sur l'immunité de l'hôte ? Cette question est

explorée dans les Nouvelles « *Le virobiote intestinal, nouvelle composante des interactions entre le microbiote et le système immunitaire* » (→) Voir page 578 de ce numéro et « *Les bactériophages, alliés de l'épithélium intestinal contre les bactéries pathogènes* » de ce dossier au travers d'exemples de virus intestinaux (→). (→) Voir page 581 de ce numéro

Enfin, comme l'illustrent les deux Nouvelles « *La bactérie Wolbachia bloque l'infection des moustiques par différents pathogènes humains* » (→) et « *Une plante, une chenille, une guêpe et des microorganismes symbiotiques : des interactions multitrophiques emboîtées* » (→) Voir page 586 de ce numéro (→) dans ce dossier,

l'impact du microbiote sur la physiologie de l'hôte n'est pas restreinte aux seuls mammifères mais s'applique également aux insectes. ♦

The intestinal microbiota, a key modulator of immune physiology

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol* 2016 ; 14 : e1002533.
2. Fardini Y, Chung P, Dumm R, et al. Transmission of diverse oral bacteria to murine placenta: evidence for the oral microbiome as a potential source of intrauterine infection. *Infect Immun* 2010 ; 78 : 1789-96.
3. Stout MJ, Conlon B, Landeau M, et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2013 ; 208 : 226.e1-7.
4. Gonzalez-Perez G, Hicks AL, Tekieli TM, et al. Maternal antibiotic treatment impacts development of the neonatal intestinal microbiome and antiviral immunity. *J Immunol* 2016 ; 196 : 3768-79.
5. Pedicord VA, Mucida D. A sledgehammer breaks glass but forges steel: bacteria adhesion shapes gut immunity. *Cell* 2015 ; 163 : 273-4.
6. Handley SA, Thackray LB, Zhao G, et al. Pathogenic simian immunodeficiency virus infection is associated with expansion of the enteric virome. *Cell* 2012 ; 151 : 253-66.
7. Gaboriau-Routhiau V, Cerf-Bensussan N. Microbiote intestinal et développement du système immunitaire. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 961-7.