

> Dans le cadre du module d'enseignement *Communication Scientifique et Littérature* du Master Biologie Moléculaire et Cellulaire de Lyon, les étudiants des parcours M2 Génopath et Biologie de la Peau se sont formés à l'écriture scientifique sur un sujet libre. Suite à un travail préparatoire avec l'équipe pédagogique, chaque étudiant a rédigé, conseillé par un chercheur, une Nouvelle. Le parcours M2 Génopath s'adresse aux étudiants scientifiques et médecins et les forme à la recherche fondamentale dans les domaines de la génétique, de la biologie cellulaire et de leurs applications biomédicales. Le parcours M2 Biologie de la Peau est une formation unique en France, et forme des spécialistes de la recherche en biologie cutanée qui s'inséreront dans les services de recherche et développement hospitalier ou de l'industrie dermo-cosmétique et dermo-pharmaceutique. <

Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (23)

Nos jeunes pousses ont du talent !
Our young rookies have talent!



Université Claude Bernard Lyon 1



Équipe pédagogique

Beatrice Horard (Maître de Conférence, Université Lyon1)
beatrice.horard@univ-lyon1.fr
Ludivine Walter (Maître de Conférence, Université Lyon1)
ludivine.walter@univ-lyon1.fr
Edmund Derrington (Professeur, Université Lyon1)
Armelle Corpet (Maître de Conférence, Université Lyon1)
Fabien Chevalier (Maître de Conférence, Université Lyon1)
Aurore Rozière (Maître de Conférence, Université Lyon1)
Jérôme Lamartine (Professeur, Université Lyon1)
Benjamin Gibert (CR CNRS)

NOUVELLE

Traiter la dermatite atopique par les probiotiques Induction de cellules dendritiques tolérogènes

Noémie Lopez-Ramirez¹, Ingrid Masse²

> La dermatite atopique (DA) est une maladie allergique fréquente, avec une prévalence d'environ 20 %, caractérisée par une inflammation chronique de la peau [1]. Les symptômes de la DA sont contraignants, pouvant inclure démangeaisons, rougeurs et lésions eczéma-teuses [1]. L'inflammation cutanée à l'origine des lésions est une réponse impliquant principalement les lymphocytes Th2 (*T helper 2*) qui sécrètent des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-4 (interleukine 4), l'IL-5 ou l'IL-13 (Figure 1) [1].

Si les effecteurs de la DA sont de mieux en mieux décrits, les événements à l'origine de cette pathologie cutanée restent à ce jour assez mal compris, même si un dysfonctionnement de la barrière cutanée a été mis en cause. Des mutations dans le gène codant la filagrine, qui participe au maintien de l'intégrité de la couche cornée, ou dans celui codant la lymphopoïétine stromale thymique (TSLP pour *thymic stromal lymphopoietin*) qui joue un rôle dans la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes Th2,

¹Master Biologie Moléculaire et Cellulaire-M2 Parcours Biologie de la Peau, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, France.

noemie.lopez-ramirez@etu.univ-lyon1.fr

²Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, CNRS UMR5286, Inserm U1052, Université Lyon 1, Université de Lyon, France.

Ingrid.masse@univ-lyon1.fr

peuvent notamment induire des perturbations de la barrière cutanée [1]. Une implication du microbiote cutané est également évoquée. Le microbiote cutané correspond à l'ensemble des bactéries commensales qui colonisent la surface de la peau. Lorsque l'équilibre de la composition bactérienne est respecté, il assure une défense efficace contre les microorganismes pathogènes. Cependant, un déséquilibre du microbiote (appelé dysbiose) peut altérer ses capacités de protection et mener à une altération de la barrière cutanée. Ainsi,

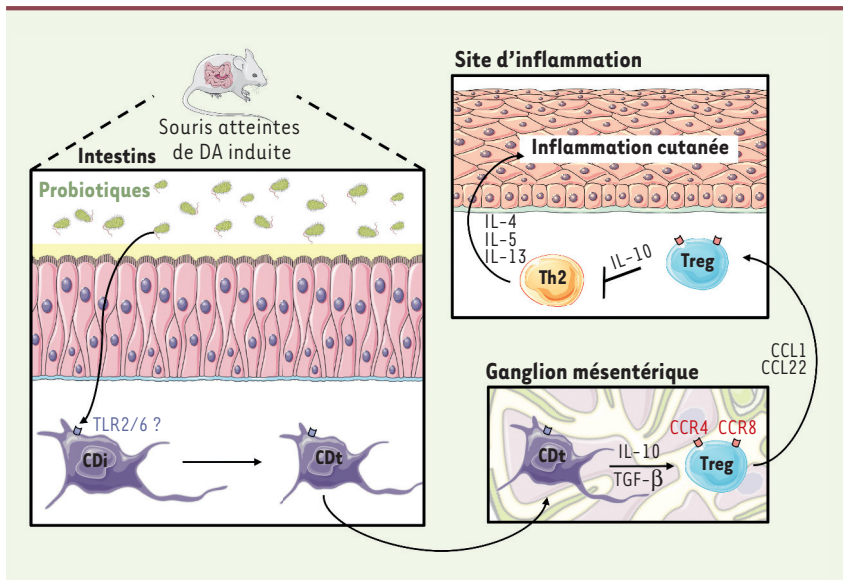


Figure 1. Résolution de l'inflammation cutanée par les cellules dendritiques tolérantes dans la dermatite atopique. Les probiotiques administrés aux souris atteintes de dermatite atopique (DA) sont reconnus grâce aux récepteurs *Toll-like receptors* (TLR) des cellules dendritiques (CD). Ils induisent la différenciation, dans les intestins, de CD immatures (CDi) en CD tolérantes (CDt) qui migrent jusqu'aux ganglions méésentériques. Elles activent la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ en T régulateurs (Treg) par la production d'IL-10 (interleukine 10) et de TGF-β (*transforming growth factor* β). Les Treg migrent jusqu'au site de l'inflammation grâce à l'expression de CCR4 (*C-C motif chemokine receptor 4*) et CCR8, les récepteurs des chimiokines CCL1 (*C-C motif chemokine ligand 1*) et CCL22, respectivement. Ils inhibent alors l'activité des lymphocytes Th2 (*T helper 2*) par la sécrétion d'IL-10, permettant ainsi la résolution de l'inflammation cutanée à l'origine des symptômes de la DA.

de ce microbiote serait une potentielle stratégie thérapeutique pour soigner la DA [4].

Restaurer l'équilibre du microbiote intestinal pour atténuer les symptômes de la dermatite atopique

Dans l'optique de restaurer l'équilibre du microbiote intestinal de patients souffrant de DA, Kwon *et al.* [5] se sont intéressés aux propriétés des probiotiques, des bactéries vivantes non pathogènes ajoutées à certains produits alimentaires pour leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, les probiotiques permettent de conserver la diversité bactérienne intestinale et de limiter la colonisation du tube digestif par des microorganismes pathogènes. Ainsi, cette équipe de recherche a administré, à des souris atteintes de DA, l'une de ces bactéries probiotiques, la souche *Lactobacillus sakei* WIKIM30 [5]. À l'issue de la phase de traitement, une atténuation significative des symptômes de la DA a été observée, avec notamment une réduction de la réponse immunitaire Th2. D'autres

il a été suggéré, par exemple, que la colonisation du microbiote cutané par *Staphylococcus aureus* pourrait participer au développement de la DA entraînant la mise en place d'une dysbiose cutanée [1].

En plus de ces facteurs cutanés connus, l'évolution des technologies de séquençage de ces 15 dernières années a permis de réaliser des études approfondies du microbiote intestinal [2] (→).

Ces études ont notamment permis de confirmer l'implication du microbiote intestinal dans le développement de la DA et son potentiel prometteur comme cible thérapeutique.

Le microbiote intestinal, un système complexe impliqué dans de nombreuses pathologies

Le microbiote intestinal représente l'ensemble des microorganismes qui colonisent l'intestin. Il se met en place dès la naissance et évolue jusqu'à l'âge de 3 ans environ, où il est considéré comme mature. Le microbiote intestinal participe principalement à la digestion mais est aussi connu pour son rôle de barrière de

protection des muqueuses contre la colonisation par des bactéries pathogènes [3] (→).

Le microbiote intestinal est également capable d'éduquer le système immunitaire [3]. La composition complexe de la flore intestinale, mise en évidence par des études de séquençage, rend la balance entre équilibre du microbiote intestinal et dysbiose intestinale d'autant plus instable [2]. Or, une dysbiose du microbiote intestinal chez l'homme pourrait être à l'origine de nombreuses pathologies associées ou non à l'intestin (maladies intestinales chroniques, diabète, obésité, certains cancers ou certaines maladies allergiques dont la DA) [2, 4].

Chez les patients atteints de DA, une dysbiose du microbiote intestinal est associée à une diversité réduite de la population bactérienne commensale intestinale [4]. Récemment, une étude de Zachariassen *et al.* a pu mettre en évidence que le transfert de la flore microbienne intestinale issue de souris présentant une DA sévère dans des souris axéniques, induit, chez les descendants des souris ayant reçu la transplantation, le développement de la pathologie. Ces résultats soulignent l'importance du microbiote intestinal dans l'établissement de la pathologie et suggèrent que restaurer l'équilibre

(→) Voir la Synthèse de H.M. Blottière et J. Doré, *m/s* n° 11, novembre 2016, page 944

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



travaux ont également démontré la capacité des probiotiques à atténuer la sévérité de la DA, par l'administration d'une [6] ou de plusieurs [7,8] souches bactériennes. Ces études ont également mis en évidence une réduction de la production des cytokines pro-inflammatoires IL-4, IL-5 et IL-13 [6, 8].

Pour mieux comprendre le lien entre le microbiote intestinal et le développement de la DA, Kwon *et al.* ont analysé par séquençage la composition exacte du microbiote intestinal des souris atteintes de DA sévère à partir d'échantillons de fèces. Ils ont observé une diminution de la diversité microbienne chez les souris atteintes de DA par rapport à des souris saines, associée à une augmentation du taux des bactéries de genre *Ralstonia* ou *Arthromitus*. De précédentes études ont montré que ces deux genres bactériens étaient associés à la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ en lymphocytes Th17 (pour le genre *Ralstonia*) [9] et à une réponse Th2 dans les allergies alimentaires (pour le genre *Arthromitus*) [10]. L'abondance de ces bactéries dans le microbiote intestinal serait donc corrélée à une réponse inflammatoire. À l'issue du traitement par *L. sakei* WIKIM30, le taux de *Ralstonia* et *Arthromitus* est diminué et la diversité bactérienne restaurée. Ces travaux ont donc permis de souligner la capacité de ce lactobacille à restaurer l'équilibre de la flore intestinale, contribuant ainsi à l'atténuation des symptômes de la DA.

L'induction de cellules dendritiques tolérogènes par les probiotiques

Les mécanismes permettant l'atténuation des symptômes de la DA ont été étudiés par ces mêmes équipes de recherche et l'implication de cellules dendritiques (CD) tolérogènes a été mise en évidence [5-8]. En effet, lorsque des CD de souris atteintes de DA sont traitées par des probiotiques, une augmentation des marqueurs spécifiques des CD tolérogènes est observée [5-8]. Les CD tolérogènes sont en effet caractérisées par l'expression de certains

marqueurs tels que PD-L1 (*programmed death-ligand 1*), ICOS (*inducible T-cell costimulator*), iDO (indoléamine 2-3 dioxygénase 1), et par la production de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 et le TGF- β (*transforming growth factor-beta*) [5-8]. De plus, *in vitro*, la co-culture de ces CD tolérogènes induites par les probiotiques avec des lymphocytes T CD4⁺ entraîne leur différenciation en lymphocytes T régulateurs (Treg) [5-8]. Ainsi, c'est par l'induction de Treg dans les ganglions mésentériques bordant les intestins que les CD tolérogènes participent à la résolution de l'inflammation et au rétablissement de l'homéostasie cutanée (Figure 1). Les Treg induits quittent les ganglions mésentériques grâce à l'expression membranaire de CCR4 (*C-C motif chemokine receptor 4*) et CCR8, les récepteurs des chimiokines CCL1 (*C-C motif chemokine ligand 1*) et CCL22, respectivement. L'expression de ces chimiokines est augmentée au niveau des sites d'inflammation cutanée ce qui entraîne la migration des Treg jusqu'aux lésions de DA [5, 8]. En effet, chez les souris atteintes de DA et traitées par les différentes bactéries probiotiques, une augmentation du nombre de Treg est observée dans les ganglions mésentériques et aux sites d'inflammation cutanée [5-8]. Ils bloquent l'action des lymphocytes Th2 par la sécrétion d'IL-10 et permettent ainsi la résolution de cette inflammation [8].

Les mécanismes d'activation des CD tolérogènes par les probiotiques sont encore à l'étude, mais l'implication des récepteurs *Toll-like receptors* (TLR) est probable [5]. La stimulation de certains de ces récepteurs de l'immunité innée à la surface des CD immatures serait à l'origine de leur différenciation en CD tolérogènes. *L. sakei* WIKIM30 entraîne la production d'IL-10 par les CD tolérogènes et un résultat similaire est obtenu avec des protéines bactériennes connues pour stimuler les TLR2 et TLR6 [5]. De plus, Ren *et al.* ont mis en évidence, par l'utilisation d'anticorps bloquants,

le fait que l'induction des Treg par les probiotiques était dépendante des TLR2 et TLR6 [11]. Cependant, chaque bactérie probiotique semble avoir un profil de signalisation TLR unique et spécifique [11]. Ainsi, choisir les souches bactériennes selon les TLR qu'elles activent, et par conséquent les voies de différenciation qu'elles induisent, est une stratégie prometteuse pour sélectionner les probiotiques en fonction des mécanismes immunitaires de la pathologie traitée.

Traiter la dermatite atopique en modulant le microbiote intestinal

L'utilisation de probiotiques pour soigner la DA est une stratégie de traitement prometteuse. Des études complémentaires avec d'autres modèles animaux de DA seront cependant nécessaires pour confirmer les résultats obtenus puisque que les modèles de souris utilisés constituent surtout des modèles d'eczéma allergique de contact. Le développement de modèles animaux de DA plus proches de la physiopathologie humaine (comme certains modèles canins) devrait donc permettre de mieux évaluer le rôle bénéfique des probiotiques, et de caractériser précisément les mécanismes de l'induction de CD tolérogènes et l'implication des TLR. De plus, la mise en place de protocoles standardisés pour l'analyse des bactéries du microbiote intestinal devrait permettre de caractériser l'évolution de la dysbiose intestinale en fonction des probiotiques administrés. Ainsi, la mise en évidence des rôles directs et indirects des probiotiques dans le traitement de la DA, *via* la régulation de la dysbiose intestinale et l'activation de CD tolérogènes, confirmera leur potentiel comme thérapies innovantes. ♦

Probiotics in the treatment of atopic dermatitis: the induction of tolerogenic dendritic cells

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Kennedy K, Heimal J, Spergel JM. Advances in atopic dermatitis in 2017. *J Allergy Clin Immunol* 2018 ; 142 : 1740-7.
2. Blottière HM, Doré J. Impact des nouveaux outils de métagénomique sur notre connaissance du microbiote intestinal et de son rôle en santé humaine : enjeux diagnostiques et thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 944-51.
3. Gaboriau-Routhiau V, Cerf-Bensussan N. Microbiote intestinal et développement du système immunitaire. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 961-7.
4. Zachariassen LF, Krych L, Engkilde K, et al. Sensitivity to oxazolone induced dermatitis is transferable with gut microbiota in mice. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 1-11.
5. Kwon MS, Lim SK, Jang JY, et al. *Lactobacillus sakei* WIKIM30 ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions by inducing regulatory T cells and altering gut microbiota structure in mice. *Front Immunol* 2018 ; 9 : 1-11.
6. Lim SK, Kwon MS, Lee J, et al. *Weissella cibaria* WIKIM28 ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions by inducing tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells in BALB/c mice. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 1-9.
7. Kim HW, Hong R, Choi EY, et al. A probiotic mixture regulates T cell balance and reduces atopic dermatitis symptoms in mice. *Front Microbiol* 2018 ; 9 : 1-13.
8. Kwon HK, Lee CG, So JS, et al. Generation of regulatory dendritic cells and CD4+Foxp3+T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Prot Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 2159-64.
9. Lee YK, Menezes JS, Umesaki Y, et al. Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 (suppl 1) : 4615-22.
10. Savage JH, Lee-Sarwar KA, Sordillo J, et al. A prospective microbiome-wide association study of food sensitization and food allergy in early childhood. *Allergy* 2018 ; 73 : 145-52.
11. Ren C, Zhang Q, de Haan BJ, et al. Identification of TLR2/6 signalling lactic bacteria for supporting immune regulation. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 1-12.

NOUVELLE

La stimulation des lymphocytes Treg via le TNFR2 et GITR comme nouvelle approche thérapeutique dans les maladies auto-immunes

Morgane Hilaire¹, Nicolas Aubert²

¹Master Biologie Moléculaire et Cellulaire-M2 Parcours Génopath, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, France.

²Sorbonne Université, Inserm, CNRS, Centre d'immunologie et des maladies infectieuses-Paris, Cimi-Paris, 75013 Paris, France.

morgane.hilaire@etu.univ-lyon1.fr

► La tolérance immunitaire permet de prévenir les réponses immunitaires contre les tissus sains de l'organisme. Les Treg (lymphocytes T régulateurs) participent à ce processus biologique en périphérie via leurs activités immunosuppressives sur les cellules immunitaires impliquées, comme les Tconv (lymphocytes T conventionnels). Les Treg se différencient des Tconv par l'expression constitutive de CD25 (la chaîne α du récepteur de l'interleukine 2) et de FOXP3 (*Forkhead box P3*). Le facteur de transcription FOXP3, spécifique de ces cellules, est impliqué dans leur différenciation, leur fonction et leur stabilité. Pour réguler l'activité du système immunitaire, les Treg agissent en sécrétant des cytokines immunosuppressives ou par contact cellulaire direct. Lors de maladies auto-immunes, des Tconv auto-réactifs échappent au processus de tolérance centrale et périphérique. Les Treg jouent alors un rôle essentiel pour

contrôler ces cellules. Cependant, dans de nombreuses maladies auto-immunes, comme dans la sclérose en plaques, des altérations quantitatives et qualitatives des Treg sont retrouvées [1]. Ces altérations conduisent à l'activation et la prolifération de Tconv auto-réactifs, perturbant l'équilibre entre Tconv et Treg. L'implication des Treg dans les maladies auto-immunes suggère qu'ils pourraient être une cible thérapeutique pour le traitement de ces maladies. Ainsi, restaurer leur nombre ou leur fonction immunosuppressive permettrait de contrôler les réponses immunitaires excessives et de rétablir la tolérance.

Certains membres de la famille des récepteurs du TNF (TNFRF pour *tumor necrosis factor receptor family*) sont exprimés préférentiellement par les Treg et interviennent dans leur développement thymique. Bloquer ces récepteurs inhibe le développement et la maturation des Treg et a un impact négatif sur

le contrôle des maladies auto-immunes [2]. Parmi ces récepteurs, TNFR2 (*tumor necrosis factor receptor 2*) et GITR (*glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor*) semblent particulièrement importants. Ces récepteurs étant fortement exprimés par les Treg, leur stimulation par des agonistes pourrait permettre l'expansion des Treg et être utilisée comme voie thérapeutique dans les maladies auto-immunes. Les Treg ainsi stimulés permettraient de rétablir la balance perturbée entre les Treg et les Tconv.

Expansion des lymphocytes Treg par des agonistes de TNFR2

TNFR2 : une cible prometteuse

Le TNF α est une cytokine dont l'action est dépendante de deux récepteurs de structure similaire mais fonctionnellement différents : TNFR1 et TNFR2. Le TNFR1, exprimé à la surface de nombreux types cellulaires, est associé à l'inflam-