

INFORMATION

Le microbiote intestinal

MOTS-CLÉS : MICROBIOTE. INTESTINS. MÉTAGÉNOME. SYMBIOSE. DYSBIOSE. DIGESTION. OBÉSITÉ.

Intestinal microbiota

KEY-WORDS (Index Medicus): MICROBIOTA. INTESTINES. METAGENOME. SYMBIOSIS. DYSBIOSIS. DIGESTION. OBESITY

Patrice DEBRÉ *, Jean-Yves LE GALL * (Rapporteurs)

Au nom de la commission I (Biologie)

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cette information.

RÉSUMÉ

L'organisme humain vit normalement en symbiose avec un environnement microscopique considérable, présent sur toutes les interfaces avec le milieu extérieur ; il héberge dix fois plus de microbes (microbiote) qu'il ne compte de cellules somatiques ou germinales, représentant une diversité génique (microbiome) 100 à 150 fois plus élevée que celle du génome humain. Ces germes sont localisés pour l'essentiel dans l'intestin où ils représentent une masse d'environ un kilo. La primo-colonisation du tube digestif dépend de la voie d'accouchement, la flore bactérienne s'enrichissant ensuite en fonction de l'environnement, de l'alimentation, des conditions d'hygiène, des traitements médicamenteux. Le microbiote intestinal joue un rôle majeur dans la maturation du système immunitaire et dans différentes fonctions physiologiques : digestion des polysaccharides, des glycosaminoglycanes et des glycoprotéines, biosynthèse de vitamines, métabolisme des sels biliaires, de certains acides aminés et des xénobiotiques. Des modifications quantitatives et qualitatives du microbiote sont observées dans un large éventail de pathologies : obésité, cancer colorectal, hépatocarcinome, maladies inflammatoires de l'intestin, maladies auto-immunes, allergiques... La pharmacobiote a pour objectif de modifier le microbiote intestinal dans un but thérapeutique et ceci par différents moyens : prébiotiques, probiotiques, antibiotiques ou transplantations fécales. La flore intestinale joue également un rôle direct dans le métabolisme de certains médicaments et le microbiote doit être considéré comme un paramètre prédictif de réponse à certaines chimiothérapies.

* Membre de l'Académie nationale de médecine

SUMMARY

The human body normally lives in symbiosis with a considerable microscopic environment, present on all interfaces with the external environment ; it hosts ten times more microbes (microbiota) than it has somatic or germ cells, representing a gene diversity (microbiome) 100-150 times higher than the human genome. These germs are located mainly in the gut, where they represent a mass of about one kilogram. The primary colonization of the gastrointestinal tract depends on the delivery route, the bacterial flora rewarding then depending on the environment, food, hygiene, medical treatments. The intestinal microbiota plays an important role in the maturation of the immune system and in different physiological functions : digestion of polysaccharides, glycosaminoglycans and glycoproteins, vitamins biosynthesis, bile salt metabolism of some amino acids and xenobiotics. Quantitative and qualitative changes in the microbiota are observed in a wide range of diseases: obesity, colorectal cancer, liver cancer, inflammatory bowel disease, autoimmune diseases, allergies... pharmacobiotics aim to modify the intestinal microbiota in a therapeutic goal and this by various means : prebiotics, probiotics, antibiotics or fecal transplants. Intestinal flora also plays a direct role in the metabolism of certain drugs and the microbiota should be considered as a predictive parameter of response to some chemotherapies.

L'apparition d'Homo Sapiens sapiens (il y a environ 40 000 ans) est le résultat d'une très longue évolution initiée 3,5 milliards d'années auparavant par celles des procaryotes, ensuite des eucaryotes uni puis pluricellulaires. Notre environnement est donc essentiellement microscopique et présent sur toutes nos interfaces avec le milieu extérieur : peau, vagin, tube digestif... Les microbes qui résident dans ou sur le corps humain constituent le microbiote et leurs gènes le microbiome. L'homme héberge ainsi 10 fois plus de microbes qu'il ne compte de cellules somatiques ou germinales, ce microbiome représentant une diversité génique 100 à 150 fois plus élevée que celle du génome humain. Cette communauté de germes commensaux est constituée de bactéries, mais aussi de virus et de champignons. Seule une petite fraction est cultivable mais les progrès des techniques de séquençage à haut débit et des moyens d'analyse bioinformatique permettent aujourd'hui la caractérisation de ce microbiote et ont ainsi étendu l'éventail des microbes connus dans notre organisme et dans notre environnement [1, 2]. Pour l'essentiel ces germes sont contenus dans l'intestin, et jouent un rôle majeur en physiologie, tel que la production et le stockage d'énergie ou la digestion et l'absorption des carbohydrates, au point d'être qualifiés d'« organe oublié » [3] ; cette situation peut être vue comme la conséquence de l'évolution et de la pression de sélection aboutissant à faire de l'homme une créature symbiotique [4]. De manière aussi importante ces microbes ont façonné le système immunitaire à leur image en produisant des signaux favorisant sa maturation et le développement de réactions immunitaires et conduisant à une nouvelle définition du « soi » et du « non soi ». Les modifications qualitatives et quantitatives du microbiote semblent responsables d'un large éventail de pathologies : obésité, cancers, maladies auto-immunes, allergiques, métaboliques... La

proposition d'Élie Metchnikoff au début du xx^e siècle de considérer que certaines bactéries commensales pourraient prolonger la vie en inhibant les germes de putréfaction, a ouvert la voie au concept plus récent de probiotiques susceptibles d'agir sur la balance microbienne intestinale. La modulation ou la restauration du microbiote a ainsi montré qu'il joue vraisemblablement un rôle déterminant sur notre équilibre biologique et dans le déterminisme de certains états pathologiques.

MICROBIOTE INTESTINAL

Le microbiote intestinal humain est composé approximativement de 10^{14} bactéries, auxquelles il faudrait ajouter les virus et les champignons, le tout représentant une masse d'environ un kilogramme. L'identification et l'étude de ces bactéries intestinales sont très difficiles car la grande majorité de ces espèces est anaérobie et seulement 20 % sont cultivables par les méthodes bactériologiques classiques. Les performances analytiques et l'abaissement des coûts des nouvelles techniques de séquençage (NGS) ont permis de contourner ces difficultés et d'entreprendre des études à grande échelle : en 2010 [5] a ainsi été publiée la première métaséquence du microbiome intestinal humain, correspondant à l'analyse des échantillons de selles de 124 sujets européens et à la caractérisation de plus de 3,3 millions de gènes appartenant à environ 1 000 espèces différentes. Les méthodes utilisées sont la séquence des produits d'amplification par PCR des portions variables d'ADN codant les ARN ribosomiaux 16S et le séquençage massif à haut débit des ADN totaux extraits d'échantillons de selles (projet METAHIT) [6, 7]. Les gènes identifiés ont été regroupés en 741 unités métagénomiques (MGU) dont 85 % précédemment inconnues et 257 génomes ont été reconstitués ; par ailleurs 6 640 petites MGU correspondant à des phages ou à des plasmides ont également été caractérisées [8].

Le fœtus humain vit dans un liquide amniotique stérile ; la primo-colonisation de son tube digestif dépend de la voie d'accouchement : par voie basse l'enfant est d'abord colonisé par des bactéries qui reflètent la flore vaginale, par césarienne qui reflètent la flore cutanée ; la naissance par césarienne est caractérisée par un microbiote moins important (d'un tiers à l'âge d'un mois) avec en particulier une diminution du taux de bifidobactéries, de *Bacteroides fragilis*, de *Clostridia* [9] ; à 6 mois il n'y a plus de différences significatives. Ces différences pendant les six premiers mois de la vie ont des conséquences potentielles sur le système immunitaire et le risque de développer diverses pathologies (infections, allergies, diabète type I...). La flore bactérienne du nouveau-né s'enrichit en fonction de l'environnement (*Escherichia*, streptocoques), de son alimentation lactée (en cas de lait maternel il y a augmentation des bifidobactéries et diminution des bactéroïdes et des coliformes, alors que ces trois espèces sont en concentration à peu près équivalente avec des laits industriels), du niveau d'hygiène maternel, d'une hospitalisation éventuelle et de traitements médicamenteux. Le sevrage est une étape importante dans l'évolution du microbiote de l'enfant en raison de l'introduction dans son alimentation de produits diversifiés (légumes, viandes, féculents) ; le microbiote est considéré

comme stabilisé et en équilibre entre la deuxième et troisième année ; il évolue ensuite chez chaque individu en fonction de différents facteurs : capital génétique de la personne, régime alimentaire, environnement... [10, 11]. En définitive les conditions de vie ont donc une influence majeure sur le microbiote ; ainsi sa densité est beaucoup plus faible chez les enfants nord-américains que chez les enfants des pays africains [12].

Les études épidémiologiques montrent depuis 50 ans une diminution progressive et importante des maladies infectieuses, mais simultanément une augmentation de la fréquence des maladies inflammatoires et allergiques ; d'autres études (PARSIFAL, GABRIELA) montrent également une plus faible prévalence de l'asthme et de l'atopie chez les enfants élevés à la ferme. De telles constatations supportent « la théorie hygiéniste » suivant laquelle plus la diversité de la flore intestinale (et le nombre de gènes bactériens) est réduite, plus le risque de certaines maladies est élevé. Ainsi l'exposition à une diversité bactérienne réduite pendant la période néonatale pourrait réduire la maturation du système immunitaire, favoriser les réponses aberrantes aux allergènes et aux auto-antigènes, de même que le développement de maladies dysimmunitaires. De la même façon, un traitement antibiotique ou par inhibiteurs de la pompe à protons (anti-acides) administré pendant la toute première enfance favoriserait le développement ultérieur d'asthme allergique et d'obésité. Au total, la meilleure programmation d'un « bon » microbiote serait le résultat d'une naissance à terme par voie basse, d'un allaitement maternel pendant quelques mois et d'une absence d'administration d'antibiotiques.

Le microbiote est variable qualitativement et quantitativement le long du tube digestif avec des densités bactériennes de 10^3 dans le duodénum, 10^5 dans le jejunum, 10^8 dans l'iléon et 10^{12} dans le colon. Le microbiote intestinal humain est habituellement décrit à partir de l'analyse d'échantillons de selles ; il est donc le reflet de la partie terminale du tube digestif et comprend 4 phyla principaux : Firmicutes (incluant des Lactobacilles et des Enterobactéries productrices), Bactéroïdes (dont certains dégradent les glycanes complexes), Actinobacteria, Proteobacteria (incluant les Escherichia et des souches dégradant les mucines), représentant plus de 50 % de la diversité microbienne ; en outre d'autres phyla sont moins prévalents : Cyanobacteria, Fusobacteria, Lentisphaera, Spirochaetes, Euryarchaeota... En fait la flore bactérienne présente une grande variabilité entre individus : ainsi la proportion des Firmicutes peut varier de 10 à 90 % alors que la proportion des Bactéroïdes varie en sens inverse ; en moyenne 50 % des gènes microbiens d'un sujet sont partagés par au moins 50 % des individus de la cohorte étudiée (« core metagenome ») et chaque individu héberge environ 540 000 gènes du catalogue initial de 3,3 millions de gènes.

FONCTIONS DU MICROBIOTE INTESTINAL

Dans les relations symbiotiques établies entre les micro-organismes résidents et l'hôte, les bactéries profitent d'un environnement stable (température, pH, nutriments) et les fonctions biologiques du microbiote apparaissent de plus en plus comme essentielles à la santé : mise en place et maturation du système immunitaire, rôles métaboliques et nutritionnels, protection contre les pathogènes

Système immunitaire

L'homéostasie de la chimère homme/microbes est le résultat d'une cohabitation durable de l'hôte et du microbiote, c'est-à-dire d'un équilibre dynamique où la prolifération et les mouvements des microbes sont contenus par les propriétés mécaniques, biochimiques et immunologiques de l'hôte. La nature dynamique de cet équilibre varie selon la composition du microbiote, elle-même modifiée par des facteurs environnementaux comme le type d'alimentation, par la présence d'autres microbes commensaux (qui « partagent » l'apport alimentaire) ou les variations de l'état de l'hôte (facteurs génétiques, état de stress, etc.). Le système immunitaire humain est un système flexible s'adaptant normalement à ces variations et maintenant l'homéostasie du super-organisme hôte/microbiote. Ainsi l'expression d'IL13 induit une production de mucus par les cellules de Goblet, celle d'IL22 stimule la production de peptides anti-bactériens par les cellules épithéliales et la synthèse d'IgA par les cellules B spécifiques [13]. En l'absence de microbiote le système immunitaire ne mature pas normalement, le tissu lymphoïde est incomplet et immature, les populations lymphocytaires de l'intestin sont réduites en nombre et ne peuvent pas se développer [14]. Certaines bactéries intestinales comme les bactéries filamenteuses, sont de puissants activateurs des cellules T helper de l'intestin, dont les cellules TH17. Chez les souris axéniques les TH17 et les cellules NKP46, qui produisent de l'IL17 ou de l'IL22 sont réduites de façon importante [15] ; ces cytokines ont un rôle majeur dans le maintien du microbiote car elles induisent la production de peptides anti-bactériens par les cellules épithéliales et les cellules de Paneth et IL17 provoque également le recrutement de neutrophiles. L'interaction entre microbes et cellules de l'hôte se fait entre les récepteurs cellulaires innés ou PRR (« Pattern Recognition Receptor ») [16] et des structures moléculaires microbiennes PAMP (« Pathogen Associated Molecular Pattern ») [17]. Si la découverte de ces structures a représenté un tournant dans la compréhension des mécanismes de détection et de destruction des microbes par les cellules immunitaires, il faut aujourd'hui intégrer ce concept dans celui plus vaste de l'homéostasie homme/microbes et dans la théorie du « soi » et « non soi ».

La reconnaissance d'un chimérisme homme/microbiote et la compréhension de son homéostasie ont bouleversé les concepts initiaux sur les réactions immunitaires de défense ou de tolérance, basés sur une discrimination entre « soi » et « non soi » [18].

Il était admis que le « soi » induisait une tolérance pendant la phase de maturation et de sélection du système immunitaire, ainsi qu'une anergie des lymphocytes autoréactifs cependant que le « non soi », c'est-à-dire les micro-organismes et les tissus allo ou xénogéniques provoquent des réactions immunitaires pour le détruire. Intégrant l'existence et les propriétés du microbiote, la conception actuelle est que le système immunitaire réagit avant tout à des signaux de danger [19] : le « soi » qui n'en induit aucun comprend les cellules normales de l'hôte et les microbes mutualistes ; le « non soi » inclut les cellules altérées et les microbes pathogènes provoquant des signaux de danger. Dans ce contexte, le « soi » normal induit un niveau physiologique d'inflammation indispensable pour contenir le microbiote, tandis que les microbes pathogènes induisent des réactions inflammatoires anormalement élevées. Ainsi, microbes mutualistes ou pathogènes, « soi » normal ou altéré, immunorégulation ou inflammation, sont les extrêmes d'un continuum et les microbes expriment différents niveaux de commensalisme ou de pathogénicité variant en fonction de leurs interactions avec l'hôte.

Fonctions métaboliques

Les fibres alimentaires végétales sont des polysaccharides (cellulose, hémicellulose, pectines, lignines, etc.) et des glycoprotéines d'une remarquable complexité tant par la diversité des oses constituants (glucose, galactose, raffinose, stachyose, xylose, rhamnose, etc.) que par la nature et la configuration stérique des liaisons qui les unissent. Les sucs digestifs humains ne contiennent qu'une très faible diversité de glycosidases et ne sont capables d'hydrolyser que le lactose, le saccharose et une partie de l'amidon. Grâce à son remarquable équipement enzymatique (plus de 10 000 glycosidases différentes) le microbiote est pour son hôte un outil indispensable à la digestion des aliments végétaux. L'amidon est un polysaccharide homogène, polymère de molécules de glucose réunies par des liaisons α 1-4 pour former des courtes chaînes, réunies entre elles par des liaisons α 1-6 ; il est présent dans les graines, les tubercules, les rhizomes et les fruits. L'amidon est le substrat des α amylases salivaire et pancréatique, le glucose libéré étant absorbé dans l'intestin grêle. Cette action est cependant incomplète et l'hydrolyse de la partie résiduelle de l'amidon est assurée par le microbiote du colon. La cellulose est constituée de longues chaînes de molécules de glucose unies par des liaisons β 1-4 (et donc non hydrolysables par les amylases salivaire ou pancréatique), les hémicelluloses aux structures beaucoup plus complexes servant de pontage entre les fibres celluloseuses. Les pectines sont des longues chaînes d'acides uroniques avec des chaînes latérales osidique également très complexes. L'alimentation apporte également des glycosaminoglycanes (anciennement appelés mucopolysaccharides) d'origine animale, longues molécules constituées par l'enchaînement d'unités disaccharidiques composées elles-mêmes d'un sucre aminé parfois sulfaté et d'un acide uronique. Toutes ces molécules (cellulose, hémicelluloses, pectines, glycosaminoglycanes, etc.) relèvent d'une digestion exclusive par le microbiote. Ajoutons enfin que certaines bactéries

intestinales peuvent également hydrolyser les mucines endogènes, protéines très glycosylées, formant normalement une barrière physicochimique entre l'épithélium intestinal et la lumière colique [20, 21].

Sous l'action du microbiote les polysaccharides sont hydrolysés en oses simples, dont la fermentation conduit à des gaz (CO₂, H₂, méthane) et à des métabolites comme les acides formique, lactique, acétique, butyrique et propionique qui sont absorbés et utilisés comme substrats énergétiques ou comme précurseurs dans les mécanismes de lipogénèse et de néoglucogénèse. Les autres fonctions métaboliques de « l'organe microbiote » sont également nombreuses : biosynthèse de vitamines (vitamines K, folates, cobalamines, biotine, thiamine, riboflavine), régulation du métabolisme des acides et sels biliaries (cycle entérohépatique), régulation du métabolisme de la choline, métabolisme de certains acides aminés : arginine, lysine, glutamate, aspartate, etc.) [22]. En outre son implication dans le métabolisme de certains xénobiotiques apparait de plus en plus importante.

MICROBIOTE ET PATHOLOGIE

Le déséquilibre du microbiote ou dysbiose est, de façon récente, impliqué dans le déterminisme de nombreux états pathologiques: obésité, syndrome métabolique, maladies inflammatoires de l'intestin, maladies auto-immunes, cancer colo-rectal, cancer hépatique, mais aussi dépression, troubles du spectre autistique, etc. Cette liste s'allonge régulièrement sans qu'il soit toujours réellement démontré que la dysbiose constatée est effectivement la cause et non simplement la conséquence des troubles observés. Ce rapport n'ayant pas un but d'exhaustivité, se limitera aux pathologies les mieux documentées à ce jour [23].

Obésité

L'obésité, devenue un problème majeur de santé publique en particulier dans certaines populations, relève d'un grand nombre de facteurs : allèles génétiques sélectionnés au cours de l'évolution pour résister au mieux aux périodes de famine, facteurs alimentaires et comportementaux. Un nouvel acteur est apparu dans la pathogénèse de cette anomalie : la composition de la flore du microbiote, globalement moins diversifiée chez l'obèse, avec une augmentation des Firmicutes et une diminution des Bactéroïdes [24] En fait l'analyse de la flore de patients obèses [25-29] montre qu'elle se répartit suivant une courbe bimodale, ce qui conduit à différencier des individus avec un faible compte de gènes (LGC) ou un fort portage (HGC) [30]. Les sujets du premier groupe (LGC) ont un microbiote caractérisé par une prévalence élevée de 5 bactéries proinflammatoires et cette moindre diversité génique est associée à une insulino-résistance, éventuellement un diabète, à une dyslipidémie et à un phénotype de type inflammatoire avec infiltration discrète du tissu adipeux par des cellules immunitaires sécrétant des cytokines (et augmentation faible des

concentrations sériques des interleukines 1β et 6, du $TNF\alpha$). Le groupe HGC est caractérisé par un pourcentage important de 4 bactéries anti inflammatoires (dont *F. Prausnitzii*).

Les meilleures preuves de l'implication du microbiote dans le déterminisme de l'obésité sont expérimentales [31] : les souris axéniques et maintenues dans cet état résistent spontanément au régime hypercalorique (et ne développent ni intolérance au glucose ni résistance à l'insuline) ; par contre le transfert de flore intestinale provenant de souris obèses provoque une prise de poids importante ; le même phénomène est observé en cas de cohabitation entre souris axéniques et souris obèses en raison des habitudes de coprophagie. Par ailleurs ces animaux obèses présentent une composante inflammatoire secondaire due à la présence de cellules immunitaires dans le tissu adipeux, notamment macrophages et lymphocytes susceptibles de sécréter des cytokines. Chez les souris rendues obèses et diabétiques par un régime riche en graisses, il se produit une modification importante de la flore intestinale, s'accompagnant d'une augmentation de l'absorption d'antigènes bactériens comme les lipopolysaccharides (LPS), composants des parois des bactéries Gram négatif et aux propriétés très inflammatoires ; le LPS se fixe sur ses récepteurs TLR4 et CD14 à la surface des macrophages déclenchant une réaction inflammatoire via les voies Myd88. Il a été montré que les souris, dont les gènes codant ces récepteurs avaient été inactivés, ne développaient ni obésité ni diabète sous l'influence d'un régime gras. Inversement, la perfusion continue de LPS, induisant une endotoxémie augmentée, génère une infiltration importante du tissu adipeux par des macrophages, une prise de poids, une intolérance au glucose, une insulino-résistance et le stockage de lipides dans le foie. Enfin, cette augmentation de la perméabilité intestinale aux fragments bactériens pose la question du passage des bactéries elles mêmes dans l'organisme : cette translocation bactérienne via des récepteurs tels que CD14, NOD1 et 2, est démontrée par la caractérisation dans le tissu adipeux d'ADN bactérien dont le séquençage a montré qu'il appartenait à des protéobactéries avec une prédominance de *Ralstonia* (bactéries Gram —, LPS+) ; elle est également démontrée expérimentalement par l'utilisation de souches d'*E. Coli* marquées au GFP ajoutées à l'alimentation de souris diabétiques : les bactéries fluorescentes sont retrouvées successivement dans la muqueuse intestinale puis les tissus périphériques (ganglions, tissu abdominal et foie), le passage de la barrière intestinale s'effectuant via une phagocytose par les macrophages. Ces bactéries non détruites au cours de la phagocytose deviendraient partie intégrante du « soi » responsable d'une inflammation chronique et d'une prolifération des préadipocytes.

Le traitement de l'obésité peut être envisagé par le régime ou la chirurgie. Le régime basse calories (fibres végétales, protéines et peu de glucides) augmente d'environ 30 % la diversité du microbiote. L'intervention bariatrique entraîne une perte de poids importante, une diminution des taux de leptine et de la glycémie, une diminution de l'inflammation systémique et des risques cardio-métaboliques, une augmentation de la richesse du microbiote (dans une cohorte de 30 obèses, 58 espèces

bactériennes supplémentaires dont 37 % de protéobactéries, certaines de ces espèces étant des bactéries peridontales) [32].

Maladies inflammatoires de l'intestin

Les maladies inflammatoires de l'intestin (maladie de Crohn et colite ulcéreuse) sont des affections dont la fréquence a considérablement augmenté en Europe et en Amérique du Nord depuis la seconde partie du xx^e siècle avec un doublement du nombre de cas chaque décennie. L'étiologie précise de ces maladies reste inconnue mais les nombreuses études qui leur ont été consacrées mettent en cause des facteurs génétiques, des facteurs environnementaux (âge, alimentation, etc.) et des modifications du microbiote intestinal avec une réponse immunitaire muqueuse anormale [33, 34]. Des études GWAS (« Genome Wides Association Studies ») à grande échelle ont permis de caractériser à ce jour plus de 160 variants génomiques de susceptibilité. Les gènes de susceptibilité les plus importants de la maladie de Crohn sont NOD2 qui stimule une réponse immune en fixant un muramyl dipeptide, constituant des peptidoglycanes des membranes bactériennes Gram négatives et Gram positives (NOD2 est exprimé par les cellules de Paneth, localisées principalement dans l'iléon distal à la base des cryptes intestinales et sécrétant des défensines antimicrobiennes), ATG16L1 qui intervient dans les mécanismes d'autophagie et FUT2 codant une fucosyl transférase indispensable à la synthèse des antigènes ABO (les sujets homozygotes pour une mutation inactivatrice et dits « non sécréteurs » ont une susceptibilité accrue). Le microbiote intestinal des malades est globalement déséquilibré avec augmentation de certaines familles comme les Entérobactéries, les Fusobactéries et les Pasteurella, avec réduction des membres du phylum des Firmicutes, en particulier les Clostridia et *F. prausnitzii* [35]. Ce constat général ne doit cependant pas faire ignorer de fortes disparités individuelles, ni les difficultés d'interprétation de ces anomalies : causes ou conséquences de la maladie ?

IMMUNOPATHOLOGIE

La nouvelle conception du « soi » et du « non soi » conduit à aborder différemment la physiopathologie des états auto-immuns et allergiques, ainsi que le rôle du microbiote dans leur déterminisme.

Le microbiote a été plus directement mis en cause dans l'auto-immunité en comparant le risque de survenue ou d'aggravation de sévérité de modèles expérimentaux auto-immuns murins initialement « germ free » puis colonisés par différentes souches du microbiote ; il a été ainsi montré l'apparition chez ces modèles d'une arthrite auto-immune, avec une responsabilité particulière des bactéries filamenteuses qui induisent des réponses TH17 non contrôlées, stimulant la production d'auto-anticorps et le dépôt de complexe immun dans les articulations [36]. Par ailleurs des bactéries de ce type sont également capables de moduler la sévérité d'encéphalo-

myélites auto-immunes expérimentales [37]. Une première hypothèse admet qu'une dysbiose induit une réponse immunitaire anormale avec synthèse d'auto-anticorps ; une deuxième considère qu'elle est à l'origine d'un déséquilibre entre les sous-populations lymphocytaires propice au développement de clones auto-réactifs. Les premiers résultats obtenus chez l'homme semblent confirmer ces données expérimentales : des modifications de la flore intestinale ont été rapportées au cours des phases précoces de l'arthrite rhumatoïde [38] ; chez les sujets atteints de sclérose en plaques il existe une augmentation des γ protéobactéries et la petite fraction (5 à 10 %) du microbiote reconnue par les IgA sécrétaires, très abondantes dans le tube digestif, est quantitativement identique entre patients et contrôles, mais qualitativement différente et reconnue anormalement par les IgG sériques après opsonisation. Au total ces données, bien qu'encore partielles, plaident en faveur d'un lien entre microbiote et pathologie auto-immune.

Suivant l'hypothèse « hygiéniste », développée dans les années 90, des anomalies de développement du microbiote intestinal pendant la première enfance expliqueraient l'augmentation importante de l'incidence des maladies allergiques constatées depuis quelques décades dans les pays développés [39]. Certaines études ont effectivement rapporté des différences de composition du microbiote entre sujets allergiques et non allergiques ; par ailleurs l'administration de probiotiques semble réduire la fréquence de l'eczéma. Des résultats récents montrent que l'activation des TLR par différents dérivés du microbiote est susceptible de prévoir ou de prévenir des maladies allergiques ; néanmoins un lien formel entre dysbiose et allergie reste difficile à prouver expérimentalement et d'autres travaux sont encore nécessaires.

ONCOLOGIE

Environ un quart des cancers est considéré comme induit par des pathogènes bactériens : cancers et lymphomes gastriques par *Helicobacter pylori*, lymphomes cutanés par *Borrelia burgdorferi*, immunoprolifération intestinale par *Campylobacter jejuni*, lymphome oculaire par *Clamidia psydaki*.... L'implication potentielle du microbiote intestinal dans l'étiologie des cancers du tube digestif, essentiellement hépatocarcinomes et cancers du colon, conduit à substituer à la relation un cancer/un germe précis, celle de changements globaux modifiant la composition de la flore et l'équilibre des relations hôte/microbiote [40]. La situation normale ou eubiose implique une balance optimale entre les bactéries commensales pro et anti-inflammatoires, un système immunitaire efficace et l'intégrité de la barrière intestinale, se traduisant en définitive par trois niveaux de protection contre les pathogènes : 1) la limitation quantitative des possibilités d'association pathogène/hôte du fait de la saturation physique des sites de fixation et de la compétition pour les nutriments ; 2) la synthèse de mucines, d'IgA et par les cellules de Paneth de peptides antimicrobiens ; 3) la réponse immune induite contre les pathogènes par le microbiote, notamment via IL22 (cellules T et cellules NK) et IL1 β (cellules dendritiques).

Cancer hépatique

Les études récentes [41-43] ont suggéré que le microbiote intestinal était impliqué dans la progression de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD pour « Non Alcoholic Fatty Liver Disease ») et jouerait un rôle promoteur dans le développement du carcinome hépatocellulaire (CHC). Les facteurs étiologiques du CHC sont nombreux : alcool, hépatites virales B et C, aflatoxines B, maladies métaboliques (obésité, diabète, etc.), maladies génétiques (tyrosinémie, déficit en α 1-antitrypsine, glycogénoses, hémochromatose, maladie de Wilson, etc.). Le CHC représente la troisième cause de mortalité par cancer dans le monde ; la carcinogénèse est un processus multi-étapes : hépatite chronique, cirrhose, nodules dysplasiques et carcinome. La prévalence du NALFD est de 20 à 40 % dans la population générale mais de 50 à 90 % chez les obèses, celle du NASH (« Non Alcoholic SteatoHepatitis ») de 2 à 3 % dans la population générale mais de 48 % chez les obèses et de 100 % chez les diabétiques. Ces états de stéatose ou de stéato-hépatite peuvent être stables ou bien s'aggraver vers la fibrose puis la cirrhose. La composition du microbiote de sujets cirrhotiques est différente de celle de sujets sains avec une surreprésentation des bactéries Gram négatif (cause ou conséquence ?).

Le point initial est sans doute l'hypertension portale entraînant une altération de l'intégrité de la barrière intestinale et favorisant la translocation de produits bactériens comme le LPS qui passant par le système porte contribue aux lésions inflammatoires hépatiques. Il a été montré que l'activation de la voie LPS/TLR4 favorisait également la prolifération hépatocytaire via la sécrétion de $\text{TNF}\alpha$ et d'IL6 par les cellules de Küpfer et en définitive le développement d'un hépatocarcinome dans un modèle chimio-induit par la diéthylnitrosamine. La déplétion du LPS circulant par une antibiothérapie ou l'interruption de la voie LPS/TLR4 par invalidation du gène TLR4 inhibe l'initiation et la progression du CHC. Les cellules cibles du LPS sont les hépatocytes et les cellules étoilées qui entretiennent un dialogue paracrine activant la voie $\text{NF}\kappa\text{B}$ et de ce fait la prolifération tumorale. En outre l'activation de la voie LPS/TLR4 induit une abondante production hépatocytaire d'épiréguline, mitogène de la famille des facteurs de croissance hépatocytaires, qui en retour accentue le développement du CHC. D'autres données expérimentales plaident également en faveur d'une relation étroite entre dysbiose et hépatopathies, en particulier l'apparition d'un état NAFLD/NASH par transfert chez une souris axénique du microbiote intestinal de souris obèses, et la diminution de la stéatose expérimentale par antibiothérapie. En définitive la carcinogénèse est favorisée, sinon provoquée par l'interaction de trois entités : dysbiose, défauts de la barrière intestinale, inflammation. Dès lors différentes approches anticancéreuses par modulation du microbiote intestinal sont évoquées : antibiotiques, pré et probiotiques, drogues ciblant l'inflammation due aux bactéries, transplantation de microbiote.

Cancer colorectal

Les cancers colo-rectaux [44, 45] d'origine somatique sont caractérisés par des mutations dans des gènes suppresseurs de tumeurs comme APC, Catenine β 1, TP53 ou KRAS et souvent par une instabilité des microsatellites du fait de l'inactivation des systèmes de réparation des misappariements de l'ADN. Bien qu'il ne soit pas discutable que ces mutations aient un rôle déterminant dans la transformation de la muqueuse saine en adénome puis en cancer, il est apparu récemment qu'en amont un certain nombre de facteurs environnementaux et comportementaux pouvaient être déterminants. En particulier, une dérégulation de la réponse immune vis-à-vis du microbiote de l'hôte est un événement clef dans la survenue des maladies inflammatoires de l'intestin, elles-mêmes représentant un facteur de risque notable de cancer colorectal. Il a été montré une modification importante du microbiote dans les selles de sujets cancéreux : augmentation des anaérobies du groupe *Bacteroides-Prevotella* productrices de toxines inflammatoires et diminution des bactéries synthétisant du butyrate. L'analyse des tissus tumoraux et des tissus sains environnants montre également au contact de la tumeur une augmentation des phylums *Bacteroides* et une diminution des phylums *Firmicutes*. Cependant, il est probable ou possible que ces modifications du microbiote au contact du tissu tumoral traduisent simplement les changements métaboliques induits par les cellules cancéreuses ; prouver un lien causal entre dysbiose et cancérogénèse requiert un modèle expérimental fonctionnel.

L'un de ces modèles est la souris α 6Diec (présentant une délétion d'un gène d'intégrine α des cellules épithéliales) : toutes ces souris développent une colite puis un adénocarcinome ; elles présentent une modification importante de leur microbiote et un traitement par les antibiotiques diminue la sévérité de la maladie. Une question posée est celle d'un lien systématique entre inflammation et cancérogénèse : expérimentalement, certaines souches de *E. coli* induisent la cassure d'ADN double brin et contribuent ainsi à la progression tumorale ; certaines contiennent un îlot génomique *pks* (« polyketide synthase »), codant la colibactine induisant une instabilité génétique par cassure de l'ADN ; alors que l'ensemble de ces souches provoque expérimentalement une inflammation, seules les souris recevant des *E. coli pks* + développent une tumeur. Il est donc probable que la composition du microbiote et la nature de ses gènes sont des éléments déterminants dans le passage du stade inflammatoire à la phase de cancérogénèse. Une autre question est celle du rôle des variations génétiques des cellules hôtes sur la composition du microbiote ; il est connu que le récepteur NOD2 est indispensable au développement et à la stabilité de la flore intestinale : les animaux contrôlés hébergés en même temps que des animaux NOD-/- présentent une fréquence accrue de tumeurs coliques, sans doute en raison du phénomène de coprophagie ; la transplantation fécale de souris NOD-/- à des souris axéniques augmente leur risque inflammatoire et à l'inverse la transplantation fécale de souris normales à des souris NOD-/- diminue ce risque. Ce risque est lié à la composition du microbiote : il diminue avec les bactéries sécrétant du

butyrate (*Lachnobacterium*, *Butyrivibrio*...) et augmente avec les Bactéroïdes. Un autre récepteur important est NLRP6, exprimé dans les myofibroblastes intestinaux : il détermine la translocation du facteur NF- κ B dans le noyau et l'activation de nombreux gènes dont ceux de la caspase 1 et des interleukines IL1, 6, 8, intervenant dans la régénération de l'épithélium à partir des cellules souches intestinales ; ce gène intervient également dans la cicatrisation, son absence induisant une prolifération cellulaire anormale. Les animaux NLRP6-/- présentent une modification de leur microbiote et une augmentation de la tumorigénèse, ce risque étant transmissible en cas de cohabitation entre souris normales et souris NLRP6-/- [46]. En définitive la composition du microbiote et les caractéristiques génétiques de l'hôte apparaissent, au moins expérimentalement, comme des facteurs déterminants de la cancérogénèse.

PHARMACOBIOTIQUE

La « pharmacobiotique » a pour objectif de modifier le microbiote intestinal dans un but thérapeutique et ceci par différents moyens : prébiotiques, probiotiques, antibiotiques, transplantations fécales [47-49].

Les prébiotiques sont essentiellement des glucides complexes, comme l'inuline ou les galacto et fructosaccharides, non digérés par l'homme et favorisant la croissance de certains groupes bactériens (*Bifidobacteria*, *Faecalidacteria*, etc.), et modifiant quantitativement la composition du microbiote. La durabilité de leurs effets nécessite une prise régulière et continue.

Les probiotiques sont des microorganismes vivants (*Bifidobacterium animalis*, *delbrueckii*, *lactis*, etc.), apportés ou ajoutés à certains aliments et sensés conférer un bénéfice en matière de santé, en particulier sur le contrôle de la masse corporelle. En fait les éléments expérimentaux sont encore largement fragmentaires et la situation sans doute plus complexe que celle perçue au premier abord ; ainsi des résultats différents en termes de prise de poids sont obtenus en fonction des espèces de *Lactobacillus* : prise de poids avec *L.acidophilus* et *L. rhamnosus*, perte de poids avec *L. planturum*, *gasseri*, *fermentum*. Il est cependant démontré *in vitro* que les lactobacilles utilisés comme probiotiques et retrouvés dans le yaourt, en particulier *L.acidophilus* et *L.plantorum*, ont des activités antibactériennes sur *staphylocoques*, *listeria*, *salmonelles*, *shigelles*...

L'utilisation des antibiotiques a bien entendu des effets sur la flore intestinale et éventuellement des conséquences métaboliques. S'il est recommandé d'éviter la prise d'antibiotiques pendant la première année de vie pour ne pas perturber la constitution d'un microbiote normal, à l'inverse le traitement calorique de certains états de dénutrition infantile type kwashiorkor nécessite d'être associé à des antibiotiques pour aider à la reconstitution d'un microbiote fonctionnel. En pratique médicale les exemples sont également nombreux : le traitement des endocardites par la vancomycine pendant plusieurs semaines s'accompagne d'un risque d'obésité

chez les sujets de plus de 65 ans, sans doute en raison d'une colonisation de l'intestin par des variétés de *Lactobacillus* naturellement résistantes à cet antibiotique ; de la même façon un traitement prolongé par la doxycycline et l'hydroxychloroquine, le traitement des ulcères gastro-intestinaux à *Helicobacter pylori* par l'association ranitidine et clarithromycine, le traitement des infections respiratoires chez les mucoviscidosiques par les macrolides, le traitement des complications infectieuses d'une rougeole sont associés à une prise de poids. Rappelons enfin que la manipulation du microbiote par les antibiotiques est susceptible de favoriser l'augmentation de poids et de taille des animaux d'élevage, l'effet étant particulièrement spectaculaire sur une variété d'autruches (Ingluviei).

Aux précédents moyens (pré et probiotiques, antibiotiques) susceptibles de modifier et si possible d'améliorer le microbiote intestinal s'associe la transplantation fécale, le risque de cette approche thérapeutique étant la transmission d'agents infectieux. Deux types de pathologies ont fait l'objet d'études importantes : les maladies inflammatoires de l'intestin (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique) et le syndrome du colon irritable ; les résultats sont encourageants dans les modèles expérimentaux mais peu déterminants en clinique humaine. Par contre dans le traitement des récurrences de colite ulcéro-membraneuse à *Clostridium difficile*, survenant chez les personnes âgées après certains traitements antibiotiques, le taux de succès de la transplantation fécale atteint 90 % [50]. Des recommandations sur les conditions de mise en œuvre de ce type de transplantation ont été récemment émises par l'ANSM (agence nationale de sécurité du médicament) [51].

Il existe donc un équilibre entre le microbiote, la barrière intestinale, le système immunitaire et l'activité métabolique, mais indépendamment des nutriments le tube digestif peut également être exposé à différents xénobiotiques [52, 53]. Les interactions microbiote/xénobiotiques peuvent relever aussi bien d'un phénomène de compétitivité que d'un rôle direct de la flore intestinale dans le métabolisme de certains médicaments. L'exemple est celui de l'irinotécan, utilisé per os en chimiothérapie des cancers colorectaux : le produit est inactivé par glucuronidation dans le foie mais réactivé après excrétion biliaire par les glucuronidases bactériennes et susceptible de provoquer diarrhées et anorexie ; sa tolérance est augmentée par une co-administration d'un inhibiteur de ces glucuronidases. Un autre mécanisme est celui de la stimulation de l'immunité sous l'action de la cyclophosphamide : cet anticancéreux provoque une altération de la barrière intestinale entraînant le passage de bactéries Gram+ dans la circulation sanguine et les ganglions, qui augmentent les défenses immunitaires y compris anti-tumorales ; expérimentalement il a été montré que les souris axéniques ou traitées par des antibiotiques répondaient moins bien au cyclophosphamide [54]. Cette antinomie antibiotiques/chimiothérapie est également démontrée chez des souris développant des cancers spontanés du poumon et traitées par l'oxoplatine : la vancomycine réduit l'infiltrat lymphocytaire et freine la régression de la tumeur. Ces notions récentes conduisent à recommander une utilisation rationnelle et mesurée des antibiotiques chez les patients cancéreux et à prendre en compte le microbiote comme un autre paramètre prédictif de réponse aux chimiothérapies.

CONCLUSIONS

La notion d'une vie symbiotique entre un organisme humain et une flore microbienne considérable, en particulier intestinale, est conceptuellement récente. Cette symbiose nécessite un équilibre dont la rupture apparaît déterminante dans la pathogénie de divers états pathologiques en nombre d'ailleurs croissant. Cette mise au premier plan du microbiote dans l'actualité médicale est le résultat du progrès considérable des méthodes de séquençage des ADN. Ces technologies ont conduit à l'identification de centaines d'espèces microbiennes différentes, mais il s'agit pour le moment d'une approche globale ; un travail considérable reste à effectuer : développer de nouvelles méthodes de culture en particulier en anaérobiose, isoler les différentes souches, faire le catalogue spécifique de leurs gènes et de leurs propriétés fonctionnelles et de leur pouvoir pathogène ; stimuler les recherches ayant pour but la comparaison entre les microbiotes des différentes populations (Europe, Asie, Afrique, Océanie) et leurs relations avec les pathologies inflammatoires, cancéreuses et auto-immunitaires ; favoriser les études vétérinaires de microbiotes animaux, y compris de la faune sauvage potentiellement à l'origine de pathologies infectieuses émergentes ; recommander un emploi aussi parcimonieux que possible des antibiotiques pendant la première enfance, en particulier la première année de vie ; aussi paradoxal que cela puisse paraître, conseiller aux mères de famille de ne pas se complaire à un « hyperhygiénisme » pendant cette période ; réfléchir à l'inclusion dans les protocoles d'évaluations et d'essais médicamenteux, d'une analyse des modifications éventuelles du produit par la flore du microbiote ; développer, dans une perspective de prévention, les études sur les relations entre la composition de l'alimentation et la composition du microbiote en vue d'identifier des facteurs nutritionnels susceptibles de favoriser ou défavoriser telle ou telle population microbienne ; demander aux industriels de l'alimentation humaine, de l'alimentation animale, et des compléments alimentaires, une identification précise des souches utilisées comme probiotiques et des molécules ajoutées comme prébiotiques.

RÉFÉRENCES

- [1] Shendure J, Ji H. Next generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol.* 2008;26:1135-1145.
- [2] Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998;95:6578-6583.
- [3] O'Hara AM, Shenahan F. The gut flora as a forgotten organ. *Embo Rep.* 2006;7:688-693.
- [4] Chow J, Lee SM, Shen Y, Khoshavi A, Mazmanian SK. Host bacterial symbiosis in health and disease. *Adv. Immunol.* 2010;107:243-274.
- [5] Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, *et al.* A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010;464:59-65.
- [6] The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486:207-214.

- [7] The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. *Nature*. 2012;486:215-221.
- [8] Blottiere HM, de Vos WM, Dusko Ehrlich S, Dore J. Human intestinal metagenomics: state of the art and future. *Curr Op in Microbiology*. 2013;16:232-239.
- [9] El Kaoutari A, Armougom F, Raoult D, Henrissat B. Le microbiote intestinal et la digestion des polysaccharides. *Med Sci*. 2014;30:259-265.
- [10] Lagier JC, Million M, Hugon P, Armougom F, Raoult D. Human gut microbiota: repertoire and variations. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2012;2:1-19.
- [11] Cotillard A, Kennedy SP, Chun Kong L, Prifti E, Pons N, Le Chatellier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013;500:585-588.
- [12] Yatsunenکو T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012;486:222-227.
- [13] Duerkop BA, Vaishnava S, Hooper LV. Immune response to the microbia at the intestinal mucosal surface. *Immunity*. 2009;31:368-376.
- [14] Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune response during health and disease. *Nat. Rev. Immunol*. 2009;9:313-323.
- [15] Niess JL, Leithauser F, Adler G, Reimann J. Commensal gut flora drives the expansion of pro inflammatoty CD14 T cells in the colonic lamina propria under normal or inflammatory conditions. *J Immunol*. 2008;180:559-568.
- [16] Medzhitiv R, Janeway C. Innate immune recognition: mecanisms and pathways. *Immunol Rev*. 2000;173:89-96.
- [17] Vance RE, Isberg RR, Portnoy DA. Pattern of pathogenesis: discrimination of patogenic and non pathogenic microbes by the innate immune system. *Cell Host Microbes*. 2009;6:10-21.
- [18] Nossal GJ. Molecular and cellular aspects of immunological tolerance. *Eur. J. Biochem*. 1991; 202:729-737.
- [19] Matzinger P. The danger model: a new sense of self. *Science*. 2002;296,301-305.
- [20] Tremaroli V, Backhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*. 2012;489:242-249.
- [21] Delzenne NM, Cani PD. Implication de la flore intestinale dans le métabolisme énergétique. *Med Sci*. 2008;24:505-510.
- [22] Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcellin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-gut microbiota interactions. *Science*. 2012;336:1262-1266.
- [23] Mondor S, de Wouters T, Dore J, Lepage P. The human gut microbiome and its dysfunctions. *Dig dis*. 2013;31:278-285.
- [24] Angelakis E, Armougom F, Million M, Raoult D. The relationship between gut microbiota and weight gain in humans. *Future Microbiol*. 2012;7:91-109.
- [25] Devaraj S, Hemarajata P, Versalovic. The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes. *Clin. Chem*. 2013;59:617-628.
- [26] Chun Kong L, Wuillemín PH, Bastard JH, Sokolovska N, Gougis S, Fellahi S, et al. Insulin resistance and inflammation predict kinetic body weight changes in response to dietary weight loss and maintenance in overweight and obese subjects by using a bayesian network approach. *Am. J. Clin. Nutr*. 2013;98:1385-1394.
- [27] Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012;490:55-60.
- [28] Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergstrom G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013;498:99-103.

- [29] Amar J, Serino M, Lange C, Chabo C, Iacovoni J, Mondot S, et al. Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept. *Diabetologia*. 2011;54:3055-3061.
- [30] Le Chatellier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500:541-546.
- [31] Burcelin R. L'intestin métabolique: dualité fonctionnelle des incrélines et de la flore intestinale. *Bull Acad Natle Med*. 2013;197:79-92.
- [32] Aron-Wisniewsky J, Dore J, Clement K. The importance of the gut microbiota after bariatric surgery. *Nat Rev Gastr Enterol*. 2012;9:590-598.
- [33] Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vasquez-Baela Y, van Treuren W, Ren B, et al. The treatment — naïve microbiome in new onset Chron's disease. *Cell Host Microbe*. 2014;15:382-392.
- [34] Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. The association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol*. 2010;105:2687-2692.
- [35] Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux JJ, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *PNAS* 2008;105:16731-16736.
- [36] Jacobs P, Wu HS, Benoist C, Mathis D. Gut residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. *Immunity*. 2010;32:815-827.
- [37] Cerf Bensussan N, Gaboriau Routhiau V. The immune system and the gut: friends or foes. *Nat. Rev. Immunol*. 2010;10:735-744.
- [38] Vaahtovuori J, Munukka E, Korkeamäki M, Luukkainen R, Toivanen P. Fecal microbiota in early arthritis. *J. Rheumatol*. 2008;35:1500-1505.
- [39] Nover MC, Huffnagle GB. The microflora hypothesis of allergic diseases. *Clin. Exp. Allergy*. 2005;35:1511-1520.
- [40] Schwabe RF, Jobin C. The microbiome and cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 2013;13:800-812.
- [41] Schnabl B, Brenner DA. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology* 2014;146:1513-1524.
- [42] Dapito DH, Mencin A, Gwak GY, Pradere JPh, Jang MK, Mederacke I, et al. Promotion of hepatocellular carcinoma by the intestinal microbiota and TLR4. *Cancer Cell*. 2012;21:504-516.
- [43] Faivre J, Brechot C, Moniaux N. Communication foie/tube digestif. Rôle du microbiote dans la carcinogenèse hépatique. *Med. Sci*. 2013;19:954-956.
- [44] Grivnennikov SI. Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia. *Sem. Immunopathol*. 2013;35:229-244.
- [45] Arthur JC, Perez-Chanona E, Muhlbauer M, Tomkovich S, Uronis JC, Fan TJ, et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* 2012; 338:120-123.
- [46] Elinav E, Strowig T, Kau AL, Henao-Mejia J, Thaiss CA, Booth CL, et al. NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis. *Cell*. 2011;145:745-757.
- [47] Korneychuk N. L'avenir radieux des probiotiques. *Med. Sci*. 2013;29:969.
- [48] Angelakis E, Merhej V, Raoult. Related actions of probiotics and antibiotics on gut microbiota and weight modification. *Lancet Infect Dis* 2013;13:889-899.
- [49] Petschow B, Dore J, Hibberd P, Dinan T, Reid G, Blaser M, et al. Probiotics, prebiotics, and the host microbiome: the science of translation. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2013;1306:1-17.
- [50] Youngster I, Sauk J, Pindar C, Wilson RG, Kaplan JL, Smith MB, et al. Fecal microbiota transplant for relapsing *Clostridium difficile* infection using a frozen continuum from unrelated donors : a randomized, open-label, controlled pilot study. *Clin. Infect. Dis*. 2014;58:1515-1522.

- [51] ANSM. La transplantation du microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques. 2014.
- [52] Maurice CF. Xenobiotiques et microbiome intestinal actif. Des effets insoupçonnés. *Med. Sci.* 2013;10:846-848.
- [53] Maurice CF, Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell.* 2013;152:39-50.
- [54] Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillere R, Hannani D, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science.* 2013; 342:971-976.

EXPERTS AUDITIONNÉS

Professeur Ph. SANSONETTI, Académie des sciences, Académie nationale de médecine.

Professeur L. ZITVOGEL, Académie nationale de médecine.

Professeur O. GOULET, CHU Necker-Enfants malades.

Professeur D. RAOULT, URMITE-CHU Timone- Marseille.

Professeur D. EHRLICH, INRA, Metagenopolis, Jouy en Josas.

Professeur J. DORE, INRA, Metagenopolis, Jouy en Josas.

Professeur M. CHAMAILLARD, Institut Pasteur, Lille.

Professeur R. BURCELIN, INSERM U1048, CHU Rangueil, Toulouse.

Professeur G. GOROCHOW, INSERM U1135, CHU Pitié-Salpêtrière.

Professeur K. CLEMENT, CHU Pitié-Salpêtrière.

Professeur G. EBERL, Institut Pasteur, Paris.

Docteur J. FAIVRE, INSERM U785, Hôpital Paul Brousse, Le Kremlin Bicêtre.

MEMBRES DE LA COMMISSION I (BIOLOGIE)

M^{mes} LECOMTE, MONERET-VAUTRIN, MM. ARDAILLOU, BAULIEU, BAZEX, CABANIS, CAEN, CAZENAVE, CHOUARD, CORVOL, DENIS, GALIBERT, HAUW, LAUNOIS, LE GALL J.Y, MILGROM, NETTER, NEZELOF, NICOLAS J.P, PARODI, PESSAC, SRAER, TIOLLAIS, VINCENT.

M^{me} CARTIER-LACAVE, MM. BASTIDE, BIOLAC, BRICE, CARLES, DEBRÉ, DELMAS, DELPECH, DOUAY, DUSSAULE, HAUET, JEANTEUR, MAQUART, STOLTZ, THÈZE, VIGNERON, VIVIER.

M^{mes} ADOLPHE, CHOISY, RÉTHORÉ, MM. GIRARD, LAPLACE.