

# Microbiote intestinal (flore intestinale)

Une piste sérieuse pour comprendre l'origine de nombreuses maladies

**Notre tube digestif abrite pas moins de  $10^{12}$  à  $10^{14}$  micro-organismes, soit 2 à 10 fois plus que le nombre de cellules qui constituent notre corps. Cet ensemble de bactéries, virus, parasites et champignons non pathogènes constitue notre microbiote intestinal (ou flore intestinale).**

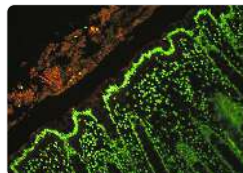
**Son rôle est de mieux en mieux connu et les chercheurs tentent aujourd'hui de comprendre les liens entre les déséquilibres du microbiote et certaines pathologies, en particulier les maladies auto-immunes et inflammatoires.**



## Comprendre le rôle du microbiote intestinal

Le microbiote est l'ensemble des micro-organismes - bactéries, virus, parasites, champignons non pathogènes, dits commensaux - qui vivent dans un environnement spécifique. Dans l'organisme, il existe différents microbiotes, au niveau de la peau, de la bouche, du vagin... Le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux, avec  $10^{12}$  à  $10^{14}$  micro-organismes : 2 à 10 fois plus que le nombre de cellules qui constituent notre corps, pour un poids de 2 kilos !

Le microbiote intestinal est principalement localisé dans l'intestin grêle et le côlon - l'acidité gastrique rendant la paroi de l'estomac quasi stérile. Il est réparti entre la lumière du tube digestif et le biofilm protecteur que forme le mucus intestinal sur sa paroi intérieure (l'épithélium intestinal).



La présence de micro-organismes dans l'intestin est connue depuis plus d'un siècle et on a vite présumé qu'il existait une véritable symbiose entre notre organisme et cette flore. Mais, jusque récemment, les moyens techniques permettant d'étudier les détails de cette interaction étaient limités : seule une minorité d'espèces bactériennes du microbiote pouvait être cultivée *in vitro*. La mise au point des techniques de séquençage haut débit du matériel génétique ont donné un nouvel élan à cette recherche et il existe aujourd'hui un réel engouement de la recherche pour décrire la nature des interactions hôte-microbiote, celles des micro-organismes entre eux, et leur incidence en matière de santé.

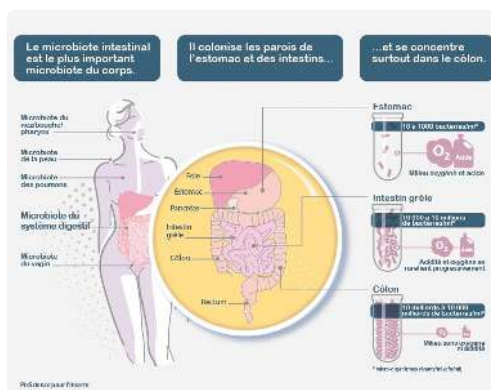
Microbiote (marquage rouge par la méthode FISH) et intestin (marquage vert/conversion DAPI). Mise en évidence du positionnement de la flore intestinale commensale pour l'essentiel à distance de la surface épithéliale du fait de la présence de mucus et des molécules antimicrobiennes à qui il sert de matrice. Illustration de l'environnement auquel *Lactobacillus* est confronté lors de son processus de colonisation et d'établissement © Inserm, T. Pédrón

Ainsi, le rôle du microbiote intestinal est de mieux en mieux connu. On sait désormais qu'il joue un rôle dans les fonctions digestive, métabolique, immunitaire et neurologique. En conséquence, la dysbiose, c'est-à-dire l'altération qualitative et fonctionnelle de la flore intestinale, est une piste sérieuse pour comprendre l'origine de certaines maladies, notamment celles sous-tendues par des mécanismes auto-immuns ou inflammatoires. Cette thématique est devenue centrale pour la recherche biologique et médicale.

### MétaHIT : Une flore d'une richesse inédite

L'étude MétaHIT, lancée en 2008 et coordonnée par l'Inra, a eu pour objectif d'identifier l'ensemble des génomes microbiens intestinaux (métagénome) par séquençage haut débit. Elle a aussi permis de dessiner une ébauche des interactions reliant métagénome et santé. Cette

étude, première du genre, s'est fondée sur l'analyse d'échantillons de selles recueillis auprès de 124 personnes. Elle a identifié ainsi un total de 3,3 millions de gènes différents, appartenant à plus de 1 000 espèces différentes, dont une large majorité est d'origine bactérienne. Au plan individuel, elle a aussi montré que chaque individu portait en moyenne 540 000 gènes microbiens, soient environ 160 espèces, réparties en sept phyla (groupes de familles) différents. Enfin, MetaHIT a été la première étude à démontrer l'extrême richesse de la flore intestinale, en identifiant des centaines d'espèces bactériennes inconnues jusque-là.



Microbiote intestinal © PixScience pour l'Inserm

A l'instar de l'empreinte digitale, **le microbiote intestinal est propre à chaque individu** : il est unique sur le plan qualitatif et quantitatif. Parmi les **160 espèces** de bactéries que comporte en moyenne le microbiote d'un individu sain, une moitié est communément retrouvée d'un individu à l'autre. Il existerait d'ailleurs un **socle commun de 15 à 20 espèces** en charge des fonctions essentielles du microbiote. Bien que cela soit discuté, il semble que l'on puisse distinguer des groupes homogènes de population, selon la nature des espèces qui prédominent dans leur microbiote : on distingue trois groupes – ou **entérotypes** – principaux : bacteroides, prevotella et clostridiales.

Les virus bactériens (qui infectent les bactéries) sont aussi très nombreux au sein du microbiote. Ils peuvent modifier le patrimoine génétique des bactéries intestinales ou son expression. Ainsi, le **virome** constitue sans doute une autre pièce dans le puzzle de la physiopathologie propre à la flore intestinale, tout comme le **microbiote fongique** qui regroupe levures et champignons. Autant de sujets d'étude à explorer.

## Un écosystème unique formé dès la naissance

Le microbiote d'un individu se constitue dès sa naissance, au **contact de la flore vaginale** après un accouchement par voie basse, ou au **contact des micro-organismes de l'environnement** pour ceux nés par césarienne. La colonisation bactérienne a lieu de façon progressive, dans un ordre bien précis : les premières bactéries intestinales ont besoin d'oxygène pour se multiplier (bactéries aérobies : entérocoques, staphylocoques...). En consommant l'oxygène présent dans l'intestin, elles favorisent ensuite l'implantation de bactéries qui ne prolifèrent justement qu'en absence de ce gaz (bactéries anaérobies : bactéroïdes, clostridium, bifidobacterium...).



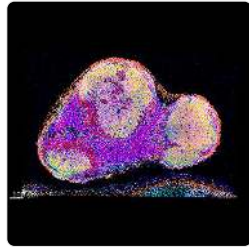
Micrographie électronique à basse température d'un groupe de bactéries E. coli (X10 000) © Photo d'Eric Erbe, colorisation numérique par Christopher Pooley, tous deux de l'USDA, ARS, EMU. Cette image a été publiée par l'Agricultural Research Service, l'agence de recherche du Département de l'Agriculture des Etats-Unis (ID K11077-1).

Sous l'influence de la **diversification alimentaire**, de la **génétique**, du niveau d'**hygiène**, des **traitements médicaux** reçus et de l'**environnement**, la composition du microbiote intestinal va évoluer qualitativement et quantitativement pendant les premières années de vie. Ensuite, la composition qualitative et quantitative du microbiote reste assez stable. La fluctuation des hormones sexuelles – testostérone et estrogènes – pourra malgré tout avoir un impact sur sa composition. Des traitements médicaux, des modifications de l'hygiène de vie ou divers événements peuvent aussi modifier le microbiote, de façon plus ou moins durable. Par exemple, **un traitement antibiotique réduit la qualité et la quantité du microbiote sur plusieurs jours à plusieurs semaines**. Les espèces initiales sont capables de se rétablir en grande partie, mais des différences peuvent subsister. Des antibiothérapies répétées au cours de la vie pourraient ainsi induire une évolution progressive et définitive du microbiote, potentiellement délétère. Il semble cependant que nous ne soyons pas tous égaux face à ce risque : certains auraient un microbiote plus stable que d'autres, face à un même événement perturbateur.

## Quand le microbiote rend service à l'organisme

Le microbiote intestinal assure son propre métabolisme en puisant dans nos aliments (notamment parmi les fibres alimentaires). Dans le même temps, ses micro-organismes jouent **un rôle direct dans la digestion** :

- ils assurent la fermentation des substrats et des résidus alimentaires non digestibles
- ils facilitent l'assimilation des **nutriments** grâce à un ensemble d'enzymes dont l'organisme n'est pas pourvu
- ils assurent l'hydrolyse de l'amidon, de la cellulose, des **polysaccharides**...
- ils participent à la synthèse de certaines vitamines (vitamine K, B12, B8)
- ils régulent plusieurs voies métaboliques : absorption des **acides gras**, du calcium, du magnésium...



Les plaques de Peyer sont l'un des constituants du tissu lymphoïde associé à l'intestin et représentent un site constitutif de la réponse immunitaire de l'intestin © Inserm, C. Lebreton

Des animaux élevés sans microbiote (dits **axéniques**) ont ainsi des besoins énergétiques 20 à 30% fois supérieurs à ceux d'un animal normal.

Le microbiote agit en outre sur le **fonctionnement de l'épithélium intestinal** : des animaux axéniques ont une motricité du tube digestif ralentie. La différenciation des cellules qui composent cet épithélium est inachevée et le réseau sanguin qui l'irrigue est moins dense que chez l'animal normal. Or, ce système vasculaire a un rôle déterminant pour le métabolisme nutritionnel et hormonal, ainsi que pour l'arrimage de cellules immunitaires au sein de la paroi intestinale.

Le microbiote intestinal participe en effet pleinement au **fonctionnement du système immunitaire intestinal** : ce dernier est indispensable au rôle barrière de la paroi intestinale, soumise dès la naissance à un flot d'antigènes d'origine alimentaire ou microbienne. Ainsi, des bactéries comme *Escherichia coli* luttent directement contre la colonisation du tube digestif par des espèces pathogènes, par phénomène de compétition et par production de substance bactéricides (bactériocines). Parallèlement, dès les premières années de vie, le microbiote est nécessaire pour que l'immunité intestinale apprenne à distinguer espèces *amies* (commensales) et pathogènes. Des études montrent que le système immunitaire de souris axéniques est immature et incomplet par rapport à celui de souris élevées normalement : dans l'épithélium intestinal de ces souris, les plaques de Peyer, inducteurs de l'immunité au niveau intestinal, sont immatures et les lymphocytes, effecteurs des réactions immunitaires, sont en nombre réduit. La rate et les ganglions lymphatiques, qui sont des organes immunitaires importants pour l'immunité générale de l'organisme, présentent aussi des anomalies structurelles et fonctionnelles.

### Microbiote et inflammation

L'inflammation est un élément important, étroitement corrélé à l'immunité : il existe à la fois un niveau physiologique d'inflammation indispensable, contrôlant notamment le microbiote, et des réactions inflammatoires importantes déclenchées en présence d'espèces pathogènes. Ce dernier mécanisme repose notamment sur la présence de composants bactériens inflammatoires, comme les **lipopolysaccharides (LPS)** présents à la surface de certaines bactéries (Gram négatif). Ces antigènes provoquent une réaction immunitaire de la part des **macrophages** intestinaux qui produisent alors des médiateurs pro-inflammatoires (**cytokines**). Ceux-ci déclenchent une inflammation locale et augmentent la perméabilité de la paroi intestinale. Les LPS peuvent alors traverser cette dernière, passer dans la circulation sanguine, et provoquer un phénomène inflammatoire dans d'autres tissus cibles.

## Les enjeux de la recherche

L'étude du microbiote intestinal est récemment devenue centrale pour la recherche en santé.

### Maladies intestinales inflammatoires : un lien évident

Les **maladies intestinales chroniques inflammatoires (MICI)**, comme la **maladie de Crohn** et la **rectocolite hémorragique**, sont liées à une activation inappropriée du système immunitaire dans l'intestin. Derrière leur survenue se cachent des facteurs génétiques et environnementaux (alimentation, âge...). En parallèle, l'amélioration des symptômes de patients sous traitement

antibiotique, ou encore la disparition de lésions inflammatoires intestinales chez des personnes dont la paroi intestinale n'est plus au contact des fèces (dérivation fécale), ont aussi permis de suspecter le rôle du microbiote.

Un **déséquilibre du microbiote en espèces bactériennes pro-inflammatoires et anti-inflammatoires**, tout comme la **prédominance de certaines familles de bactéries** (*Entérobactéries*, *Fusobactéries*), ou la **raréfaction d'autres espèces** (*Clostridia*, *Faecalibacterium*) ont été décrits chez des personnes atteintes de MICI. Pour l'heure, il n'est pas possible de savoir s'il s'agit d'une cause ou d'une conséquence de ces maladies, ni de déterminer si la dysbiose à l'origine de la maladie est innée ou consécutive à un autre facteur environnemental (alimentation, médicament...). Une hypothèse séduisante est avancée : la dysbiose apparaîtrait sous l'influence de facteurs génétiques et environnementaux, mais jouerait elle-même un rôle dans l'initiation, le maintien ou la sévérité de l'inflammation, engendrant un cercle vicieux.

Par ailleurs, parmi les dizaines de gènes de prédisposition aux MICI aujourd'hui identifiés, certains jouent un rôle déterminant vis-à-vis du microbiote. La mutation du **gène NOD2** est la plus fréquemment retrouvée chez les malades atteints par la maladie de Crohn : ce gène code pour un récepteur de l'immunité innée chargé de détecter un composant de la paroi bactérienne. Muté, il ne peut plus jouer ce rôle et favoriser le maintien de la barrière intestinale. D'autres mutations ont été rapportées, comme celle du **gène ATG16L1**, impliqué dans l'autophagie des cellules immunitaires en présence des bactéries, ou comme celle de **MUC2**, qui joue un rôle dans la synthèse du mucus intestinal.

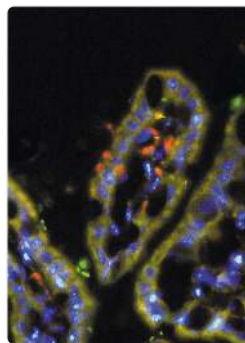
Le microbiote constitue une cible thérapeutique de choix dans ces maladies inflammatoires. Jusqu'à présent, les premiers essais cliniques conduits avec des probiotiques ou des prébiotiques n'ont pas été concluants. Toutefois, de nouvelles études sont attendues, fondées sur une sélection plus rationnelle des micro-organismes ou composés à mettre en œuvre. Parallèlement, certaines équipes essayent de créer des **probiotiques génétiquement modifiés** qui permettraient d'implanter le micro-organisme d'intérêt tout en la dotant de propriétés supplémentaires, comme la sécrétion de médiateurs immunomodulateurs.

## Dysbiose et métabolisme

Le **diabète** et l'**obésité** ont une origine multifactorielle, à la fois génétique, nutritionnelle et environnementale. La part respective de chacun de ces facteurs est variable d'un individu à l'autre et les mécanismes moléculaires incriminant chacun d'entre eux restent à décrire précisément.

Cependant, on sait que ces maladies métaboliques sont caractérisées par **une inflammation chronique dans laquelle le microbiote est impliqué**.

Ainsi, une augmentation des **graisses dans l'alimentation** habituelle augmente la proportion des bactéries à Gram négatif. Par conséquent, elle augmente la présence de **LPS inflammatoires** au niveau local puis, après passage des LPS dans la circulation sanguine, dans le foie, les tissus adipeux, musculaires... L'inflammation à bas bruit qui s'installe dans ces tissus de façon chronique favorise l'insulinorésistance préalable au diabète et à l'obésité. Chez la souris axénique, l'implantation de microbiote provenant de souris obèses provoque d'ailleurs rapidement une prise de poids importante.



Mise en évidence des bactéries (en vert) dans l'épithélium intestinal (en bleu). En rouge, les cellules immunitaires. © Inserm/Chabo, Chantal

D'autres mécanismes impliquant le microbiote sont aussi probablement impliqués : outre le LPS, l'augmentation de **la perméabilité épithéliale pourrait laisser passer des bactéries entières**. Leur implantation durable au niveau des tissus adipeux, musculaires et hépatiques favoriserait le maintien *in situ* de l'inflammation. Parallèlement, certains métabolites bactériens circulants auraient un rôle déterminant dans le mécanisme de régulation de la pression artérielle par le rein, ou dans le développement de la plaque d'athérome.

L'idée est aujourd'hui de développer des stratégies personnalisées, dans lesquels l'apport de prébiotiques, probiotiques ou symbiotiques est adapté aux spécificités individuelles du patient. A plus long terme, des traitements préventifs pourraient être développés afin de prévenir la survenue de ces maladies.

Flore intestinale, obésité, risques cardio-métaboliques – vidéo pédagogique – 1 min 29 – UPMC (2015)

## De la cancérogenèse à la thérapie anticancéreuse

Dans le domaine du cancer, le microbiote intervient à deux niveaux : tout d'abord celui de la cancérogenèse elle-même. Un certain nombre de données permet en effet d'affirmer que **certaines tumeurs sont liées à la présence de micro-organismes précis, ou encore d'une dysbiose au niveau intestinal**. Pour exemple, un déséquilibre du microbiote en faveur de certaines espèces (*Fusobacterium*) augmenterait le risque de cancer colorectal ; la présence d'*Helicobacter pylori* favorise la survenue de

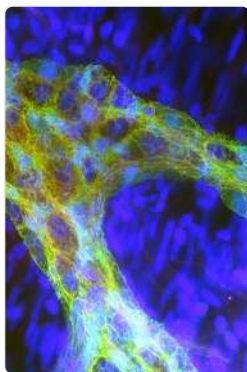
cancer gastrique. Des données recueillies chez l'animal montrent encore une augmentation de l'incidence et de la sévérité de tumeurs mammaires chez des souris soumises à des régimes antibiotiques fréquents. Ces données sont corrélées à une étude épidémiologique dans laquelle les femmes jeunes ayant reçues en moyenne plus de deux antibiothérapies par an ont un risque de cancer du sein supérieur aux autres. Dans ce domaine toutefois, la difficulté est de discriminer le rôle du microbiote et celui d'autres facteurs de risque cancérigènes – tabac, alcool... – qui favorisent eux-mêmes une dysbiose.

Outre la cancérogenèse, l'efficacité des thérapies anticancéreuses serait aussi sous l'influence du microbiote. Il existerait une **synergie d'action entre certains médicaments anticancéreux et la flore intestinale** : on sait ainsi que l'efficacité du cyclophosphamide - couramment utilisé en oncologie - est influencée par le microbiote qui favorise la perméabilité intestinale et la migration de bactéries **immunogènes** vers le système immunitaire tumoral. Elles provoqueraient une **réponse immunitaire** en synergie avec le médicament antitumoral.

L'**immunothérapie**, utilisée depuis peu dans le traitement du **mélanome** et des cancers bronchiques et rénaux, bénéficierait aussi d'un coup de pouce de la part des bactéries de type *Bacteroides*. Elles influenceraient la capacité du système immunitaire à résister naturellement au mélanome. Par ailleurs, l'efficacité d'un traitement anti-mélanome par ipilimumab est elle-même corrélée à la présence de l'une ou l'autre de deux espèces de bactéries de la famille *Bacteroides*.

D'autres thérapeutiques (sels de platine, nivolumab) et d'autres cibles cancéreuses pourraient répondre aux mêmes mécanismes. Les perspectives thérapeutiques sont nombreuses : **l'analyse du microbiote pourrait devenir un test systématique avant la mise en œuvre d'un traitement, prédictif de la réponse thérapeutique**. Si nécessaire, des traitements spécifiques du microbiote y seraient adjoints : des probiotiques connus pour être capables de booster les lymphocytes intratumoraux pourraient être associées au traitement conventionnel anticancéreux.

## La neuropsychiatrie sous l'influence de l'axe intestin-cerveau



Les ganglions d'Auerbach sont localisés dans les muscles de l'intestin dont ils contrôlent les mouvements et les contractions. Cette image met en évidence les cellules gliales entériques (en vert) au milieu d'un ganglion d'Auerbach. En rouge : marquage du récepteur des neurotrophines (facteurs essentiels à la différenciation et à la survie des neurones) ; en bleu : marquage des noyaux des cellules. © Inserm/Naveilhan, Philippe/U913/IMAD

Le système nerveux qui régit l'intestin contient à lui seul 200 millions de neurones. Sa fonction première est d'assurer la motricité intestinale ; cependant, 80% de ces cellules nerveuses sont afférentes, c'est-à-dire qu'elles véhiculent l'information dans le sens intestin-cerveau. C'est la raison pour laquelle on qualifie le système nerveux entérique de *deuxième cerveau*. Les chercheurs ont très tôt posé l'hypothèse qu'une **modification du microbiote pouvait modifier l'information transmise au système nerveux central**. Plusieurs expériences cliniques ont été rapportées, comme celle d'une amélioration significative de symptômes autistiques par un traitement antibiotique. Si la corrélation semblait improbable il y a quelques années, elle est depuis considérée avec sérieux.

Le rôle du microbiote est évoqué dans de nombreuses **maladies neuropsychiatriques** : l'autisme, la schizophrénie, l'anxiété et la dépression ou les troubles bipolaires. Les arguments scientifiques sont encore insuffisants dans la plupart des cas, mais des éléments de preuve préliminaires ont été récemment publiés. Il viendrait s'ajouter aux nombreux facteurs – génétique, épigénétique,

environnementaux, psychologiques... – qui jouent eux aussi un rôle déterminant dans le déclenchement de telles maladies.

Chez les personnes atteintes de **schizophrénie** ou de **troubles bipolaires**, l'équilibre entre les différentes cytokines pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires dans le sang est perturbé, médié entre autre par le LPS et par d'autres marqueurs de translocation bactérienne.

Dans l'**autisme**, il a aussi été montré que des souris pouvaient développer un comportement d'anxiété et une automutilation si la composition de leur microbiote était significativement modifiée durant une période précise de leur croissance. Les chercheurs posent l'hypothèse qu'un phénomène similaire surviendrait chez les enfants et favoriserait le développement de l'autisme.

Dernièrement, des études ont suggéré que le microbiote pouvait avoir un rôle déterminant dans les maladies neurodégénératives : il serait impliqué dans l'inflammation cérébrale de la maladie d'**Alzheimer**. La gravité des **symptômes parkinsoniens** est aussi corrélée à la concentration d'une espèce particulière (*Enterobacteriaceae*). Tous ces différents phénomènes pourraient être médiés par des substances d'origine bactérienne neuroactive. Aussi, le développement des données de **transcriptomique** (sur l'expression des gènes) et de métabolomique (relatives aux métabolites) devrait en faciliter l'identification.

Les perspectives thérapeutiques sont nombreuses : des études préliminaires ont montré que l'administration de certains probiotiques permettait d'**améliorer les symptômes d'anxiété ou de dépression** chez des personnes malades comme chez des

personnes saines ; d'autres ont montré que l'adaptation du régime alimentaire pouvait **améliorer le déclin cognitif**. Ces pistes restent pour l'heure extrêmement précoces et demandent à être confirmées.

### Thérapeutique : Les six pistes thérapeutiques pour modifier la composition du microbiote ?

Les maladies déclenchées ou entretenues par une dysbiose pourraient être soignées par six moyens thérapeutiques différents :

- une **alimentation** favorisant le développement des bactéries bénéfiques pour le système digestif.
- un **traitement antibiotique** ciblant les espèces néfastes impliquées dans la physiopathologie de la maladie. Cette option ne peut cependant être envisagée comme un traitement chronique du fait de la pression de sélection qu'elle peut engendrer ; elle pourrait aussi induire de nouvelles pathologies.
- l'apport par voie orale de **probiotiques**, des micro-organismes vivants, non pathogènes et démontrés comme bénéfiques pour la flore intestinale.
- l'apport de **prébiotiques**, des composants alimentaires non digestibles, utiles à la croissance ou l'activité de certaines populations bactériennes intestinales.
- les **symbiotiques**, qui combinent pré et probiotiques.
- la **transplantation fécale**, qui consiste à administrer une suspension bactérienne préparée à partir des selles d'un individu sain par sonde nasogastrique ou par lavement. Elle permet d'implanter un microbiote normal chez un patient malade. Cette option thérapeutique est d'ores et déjà efficace et utilisée dans les infections intestinales sévères à *Clostridium difficile*.

### POUR ALLER PLUS LOIN

- **Microbiote intestinal, nouvel organe au potentiel extraordinaire** - dossier de l'Inra
- **Microbiote: des bactéries qui nous veulent du bien** - CNRS Le journal (juillet 2014)
- **La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques** - point d'information de l'ANSM (juillet 2015)
- **Le ventre, notre deuxième cerveau** - dossier ARTE Future