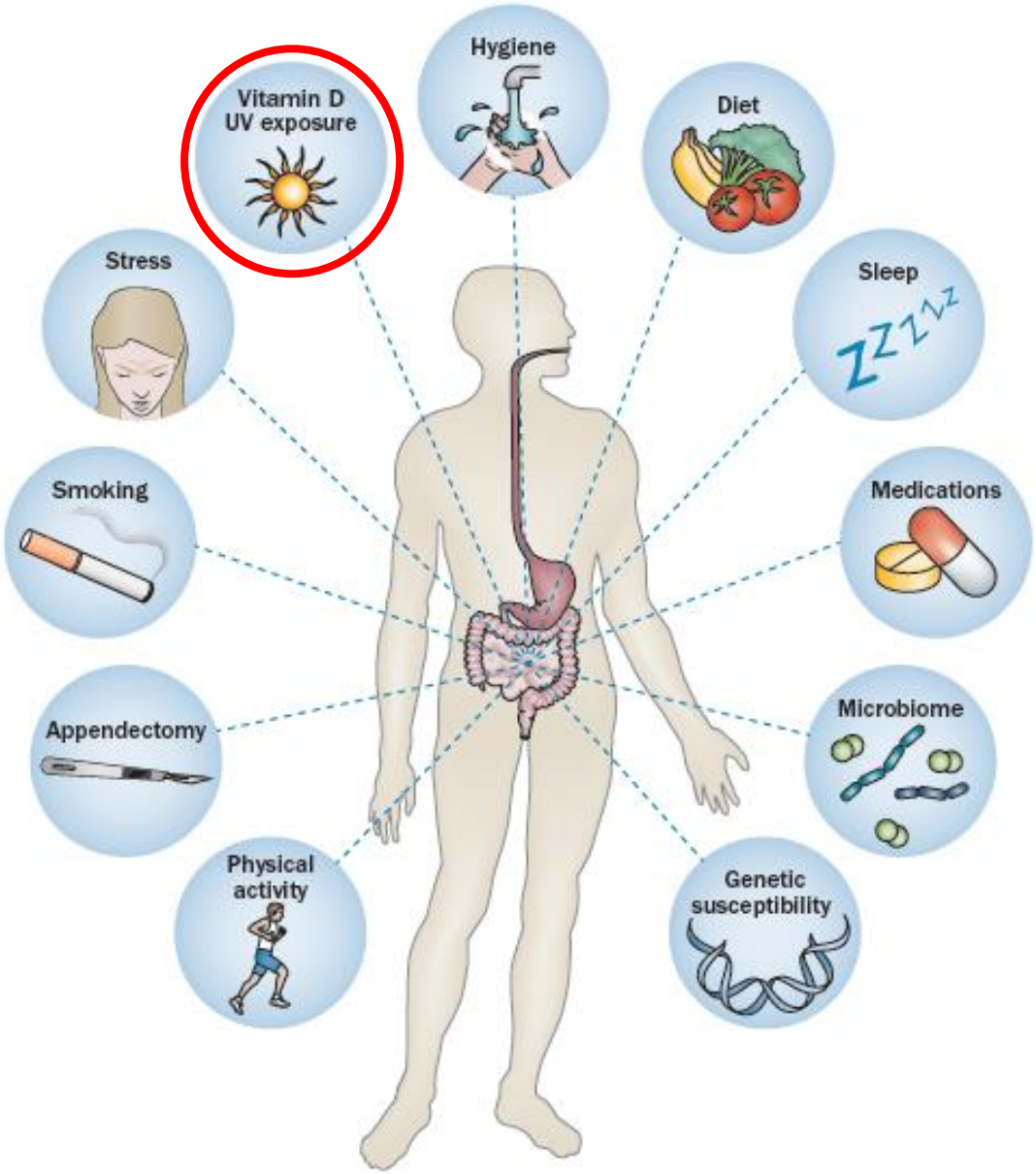
Physiopathologie des maladies inflammatoires de l'intestin (MICI)

Michael Collins, CCA
Michael.collins@aphp.fr
Service des Maladies de l'Appareil Digestif Hôpital Bicêtre

Plan du cours

- Facteurs environnementaux dans les MICI
- Modèles expérimentaux
- Réponse immunitaire
- Génétique :
  - MICI monogéniques
  - Etudes GWAS
- Rôle du microbiote

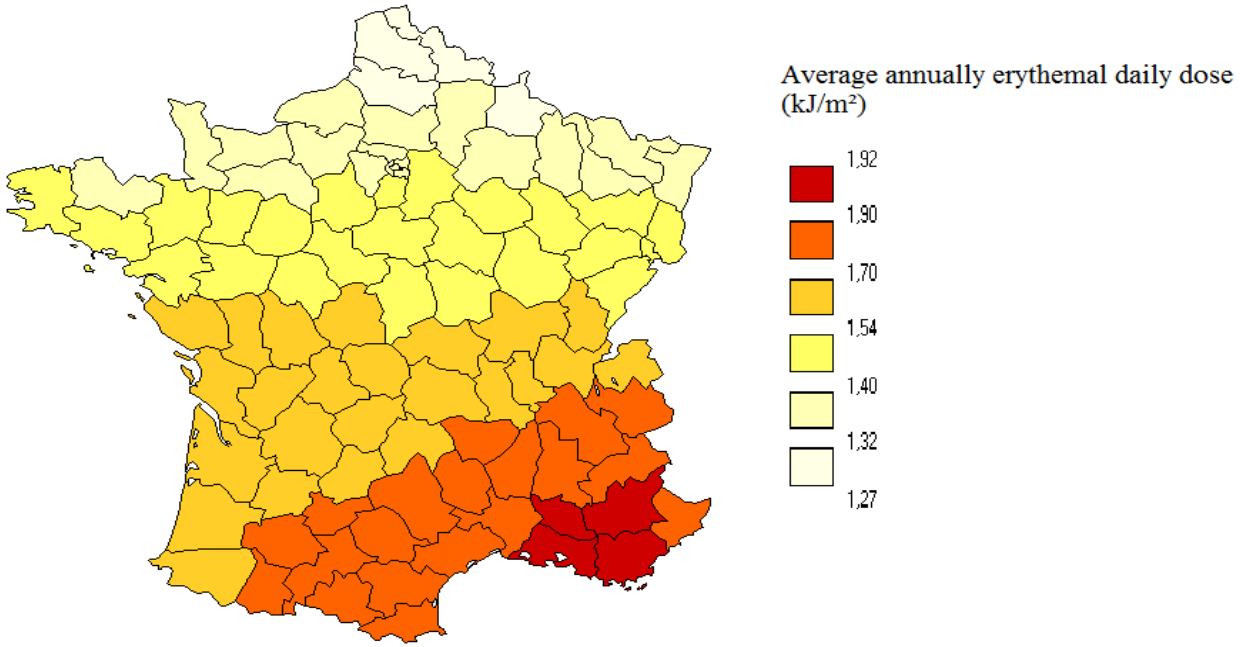
Facteurs de risque environnementaux



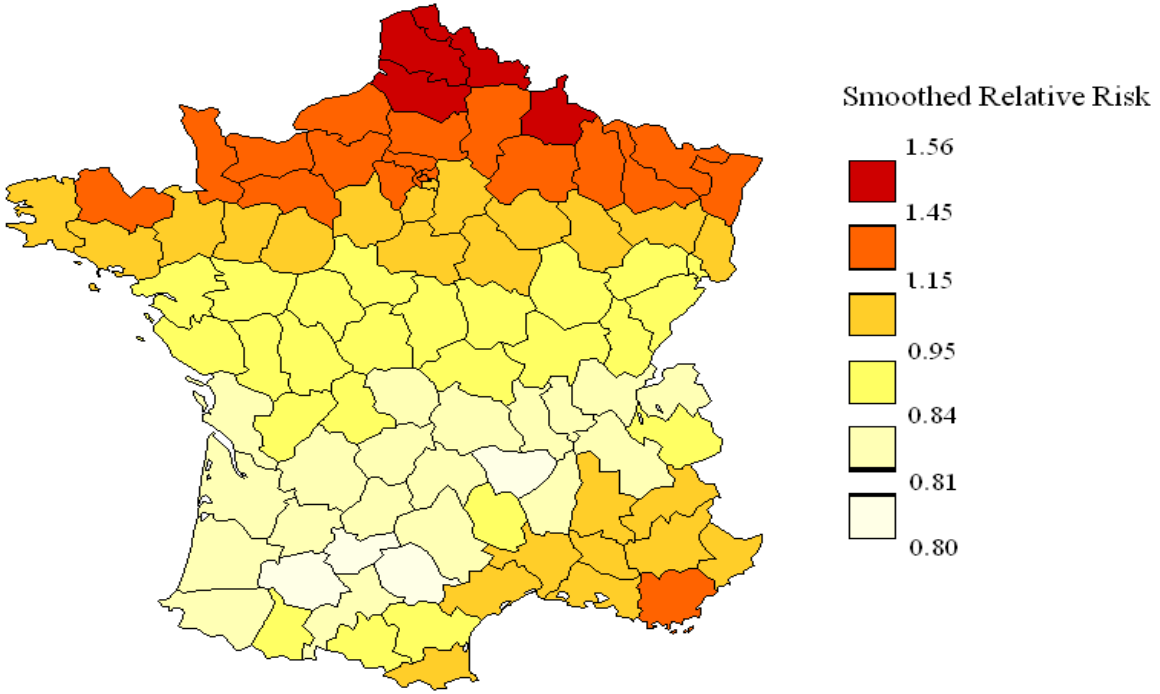
Ananthakrishnan, Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2015

Exposition solaire et Maladie de Crohn en France

Exposition solaire en France



Risque relatif de Maladie de Crohn



Nerich V *et al.* APT 2011

Vitamine D, exposition solaire et incidence de MICI

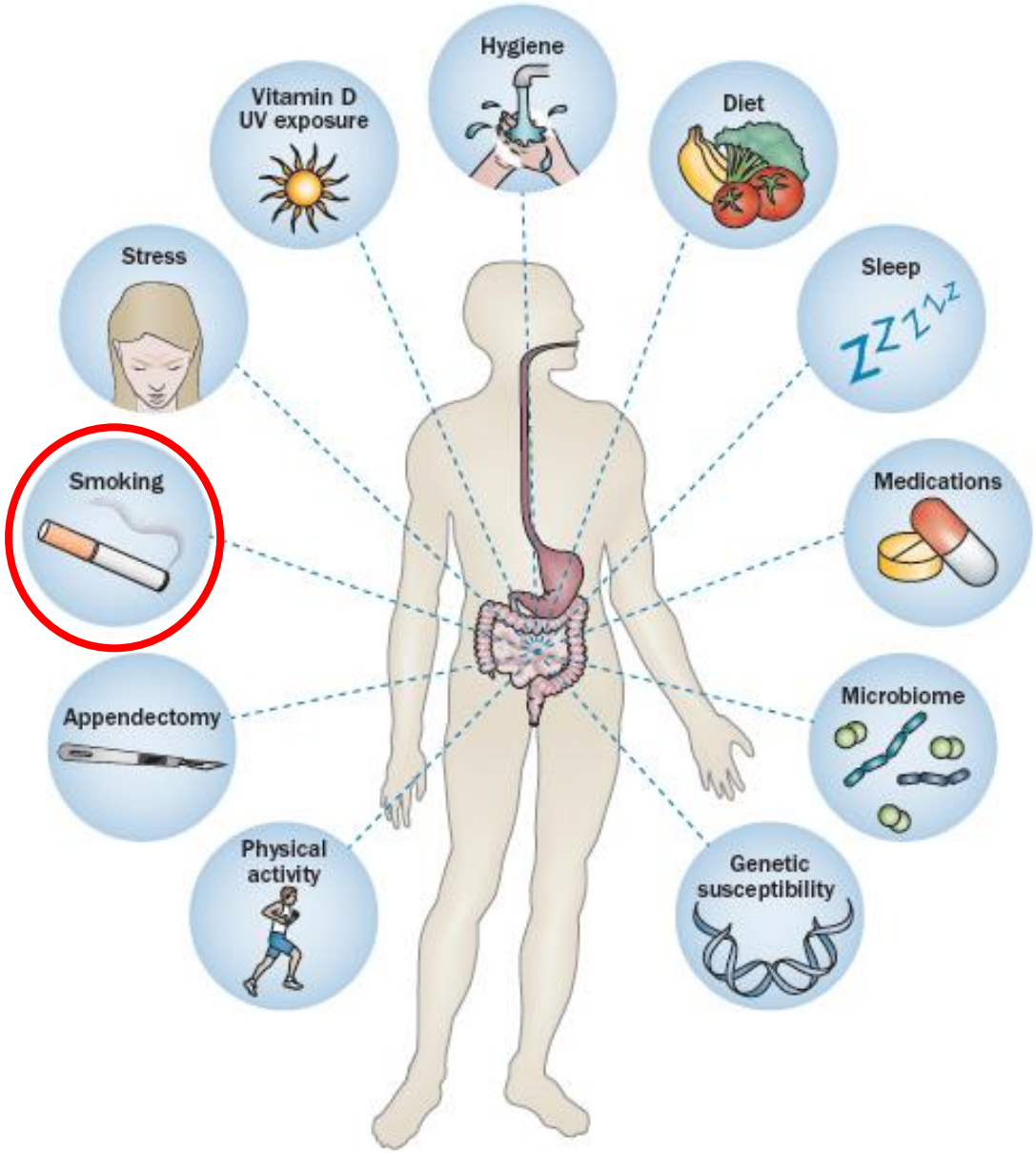
- Cohorte prospective de 91 870 femmes agée de 40 à 65 ans
- Meteosat® : données d'exposition solaire de 1984 à 1989
- CD

	HR (IC_{95})	P for trend
Residential UVR (HR 3rd vs the 1st tertile)	0.29 (95% CI=0.11-0.81)	0.01
Dietary vitamin D intake (HR 3rd vs the 1st tertile)	0.41 (95% CI=0.14-1.24)	0.14

- UC : NS

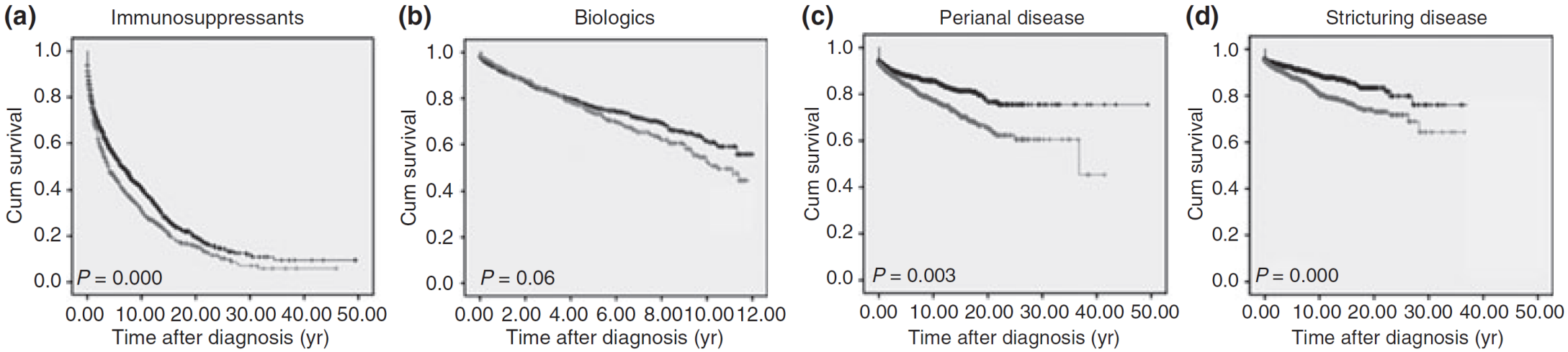
Jantchou et al. IBD 2014

Facteurs de risque environnementaux



Ananthakrishnan, Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2015

Tabac et MICI



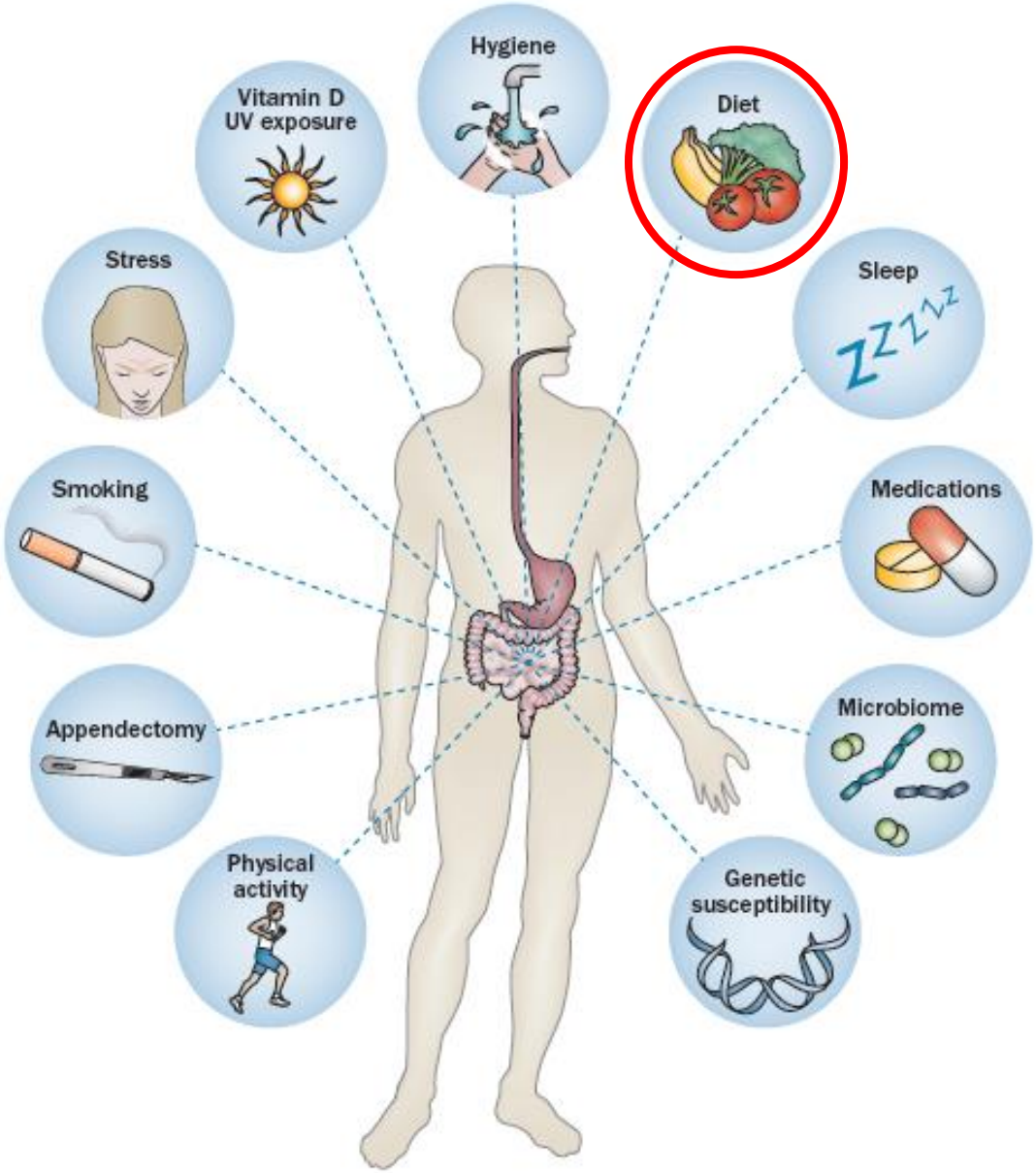
Aggrave la maladie de Crohn
- Traitements
- Maladie compliquée
- Récidive post-opératoire

Protège contre la RCH

Problème :
- modélisation difficile chez l'animal
- Grande quantité de toxiques (>93)

Nunes et al, APT 2013
Reese et al, Int J Colorectal dis 2008
Higushi et al, Am J. Gastro 2012

L'alimentation est elle est déterminant important des MICI ?



Ananthakrishnan, Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2015

Risque de MICI en fonction de l'alimentation

Total Protein	Hazard ratio (HR) third vs first tertile 3.31 (95% CI =1.41-7.77) **P trend 0.007**	**Animal**	**HR = 3.03 (1.45-6.34)** **P trend 0.005**
		Vegetal	HR = 1.31 (0.59-2.88) P trend 0.44
Total Carbohydrates:	HR =0.68 (0.37-1.27) P trend 0.26		
Total Fats:	HR =1.24 (0.57-2.72) P trend 0.77		

Racine et al, Am J Gastroenterol 2010

Associations entre nutriments et MICI dans les études de cohorte prospectives

	IBD in EPIC	Nurse study
High Protein	**CD in women**	NA
Sugar	None	NA
High n-6 (red meat, margarine, cooking oils)/Low n-3 Fatty acids	**UC**	**UC**
Fiber (fruits, vegetables)	NA	**CD**
Vitamine D	CD (sunshine exposure)	CD (predicted level)

Jantchou P, Am j Gastro 2010; Tjonneland A, Gut 2009; Ananthakrishnan Gut 2013; Chan IBD 2014; Ananthakrishnan Gastroenterology 2013, Jantchou IBD 2013; Ananthakrishnan Gastroenterology 2012.

Profil sucres et sodas et risque de RCH

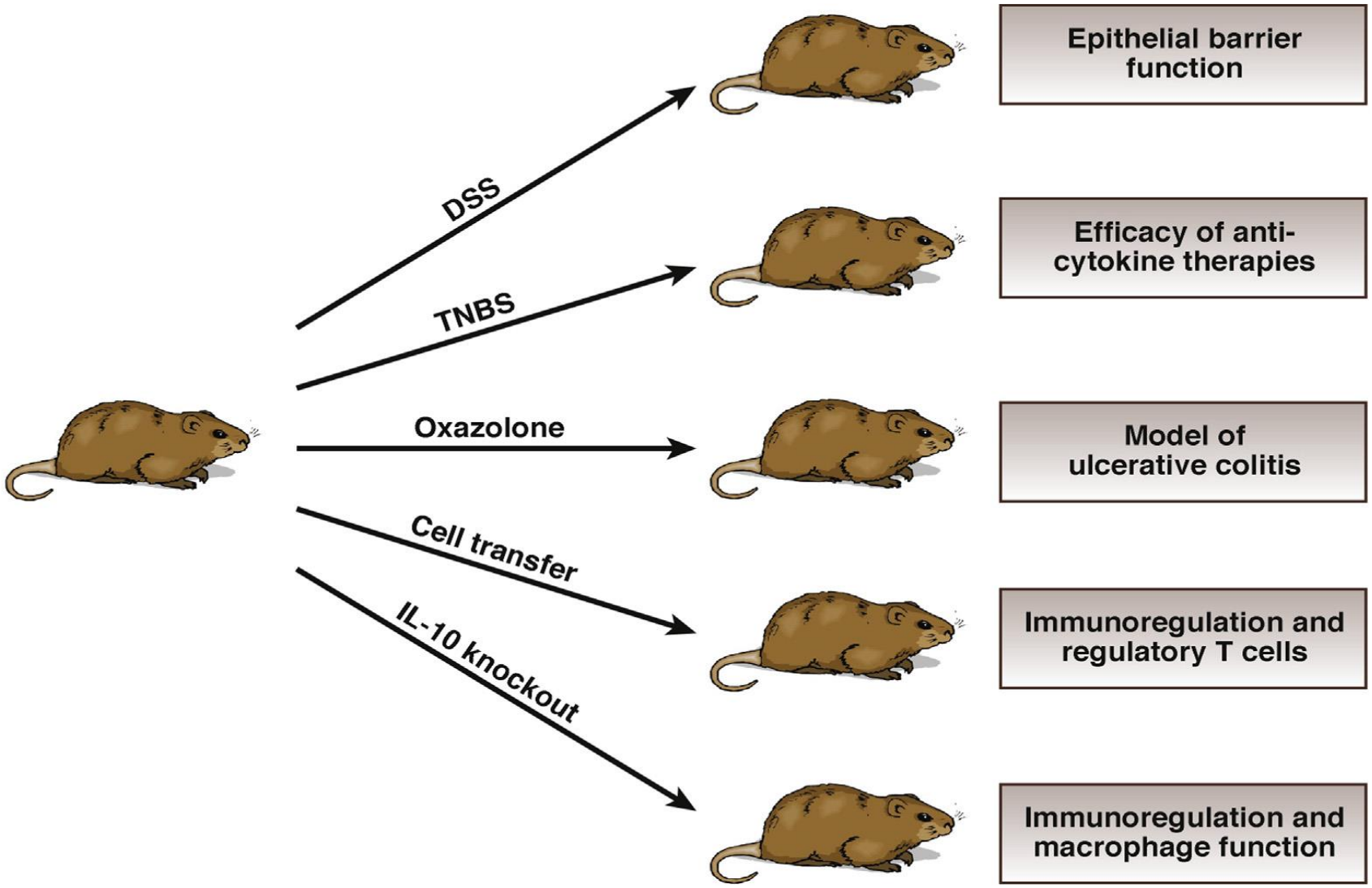
()

Profil «sucres et soda»	RCH (n=256)	RCH≥ 2 ans (n=196)
Quintile 1	Ref.	Ref.
Quintile 2	0,75 (0,47-1,15)	1,00 (0,58-1,73)
Quintile 3	0,87 (,0,55-1,36)	1,10 (0,65-1,85)
Quintile 4	1,06 (0,67-1,66)	1,24 (0,72-2,12)
Quintile 5	1,31 (0,85-2,02)	**1,68 (1,00-2,84)**
P trend	**0,05**	**0,02**

Conditional logistic regression (matched upon age, sex, centre and inclusion date)
IRR adjusted upon energy intake, BMI and smoking

Racine IBD 2015

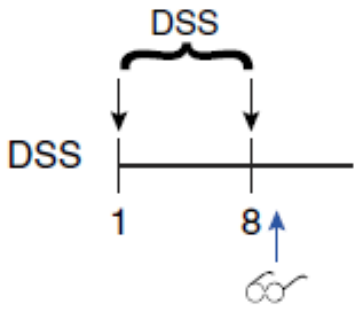
Modèles expérimentaux de MICI

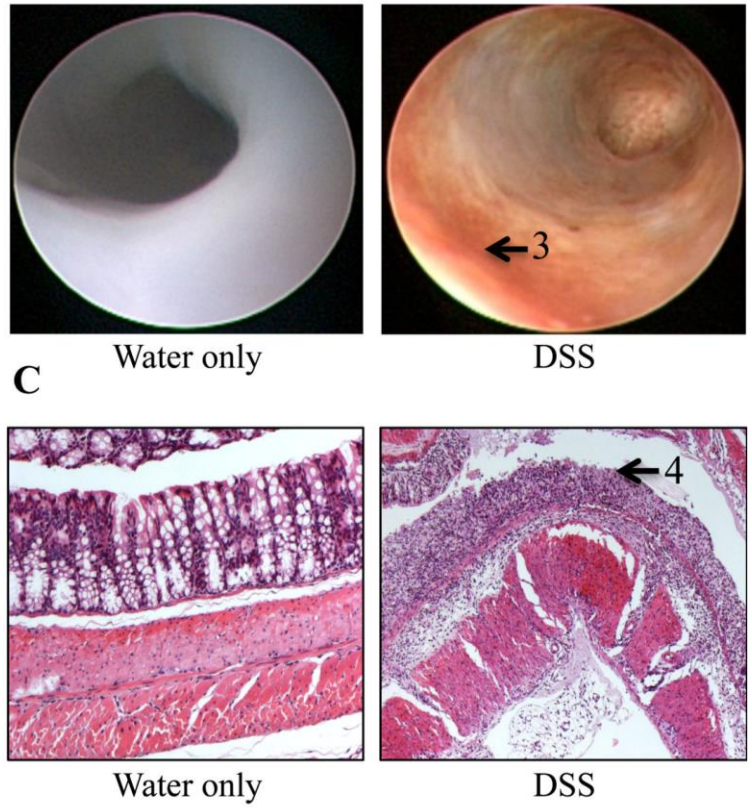


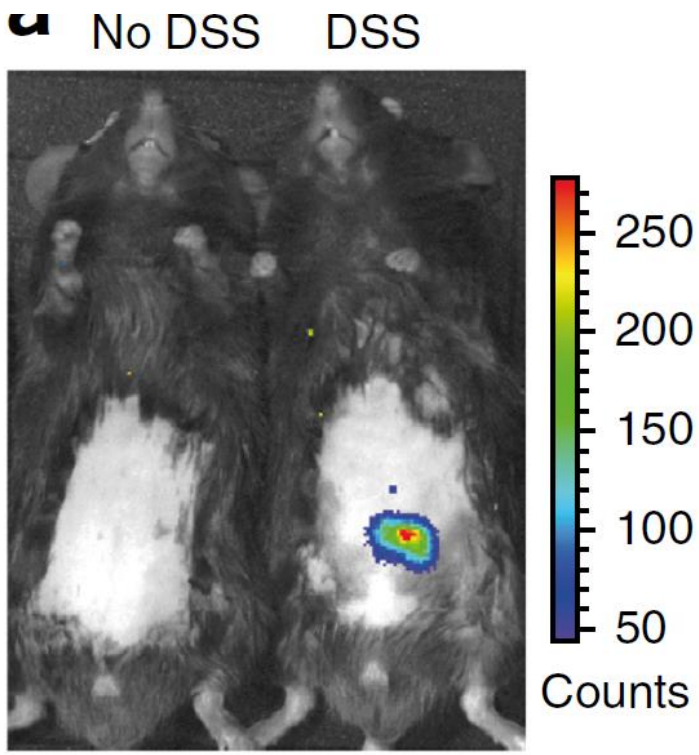
Kiesler et al, Cell and Mol Gastro and Hepatol 2015

« Le » modèle murin : colite DSS

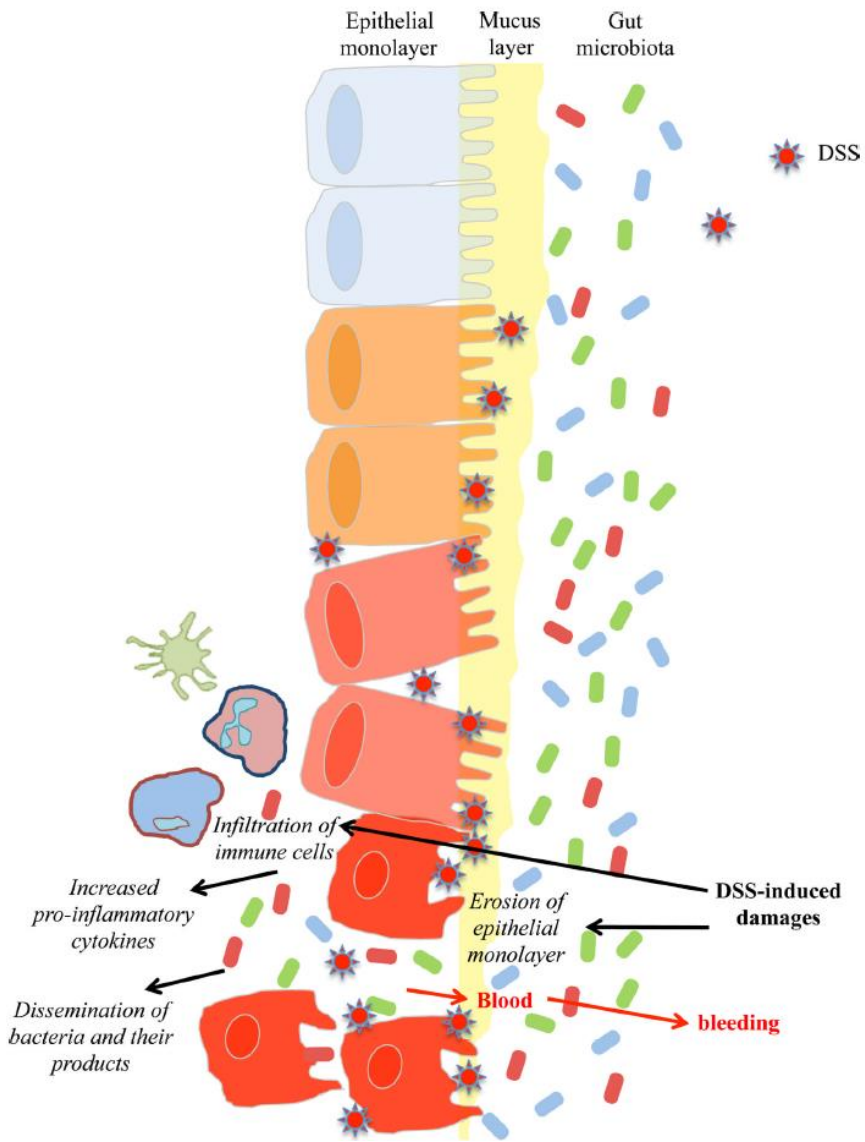
- Décrit pour les souris C57BL6 et BALB/c
- Dextran Sodium Sulfate 1,5%-3%







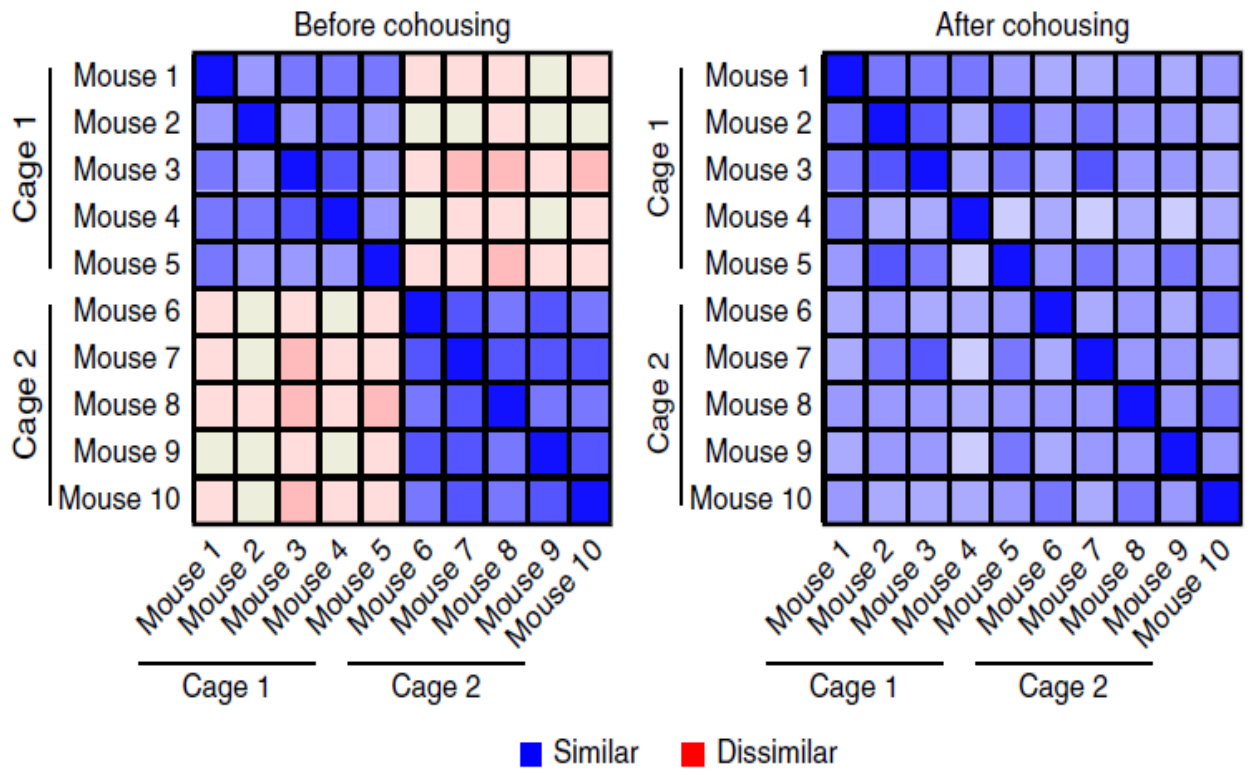
Chassaing et al, Current Protocols in Immunology, 2014
Wirtz et al, Nature Protocols 2017



Avantages :
- Peu couteux
- Souris *wild type*
- Reproductible
- Indépendant des LT

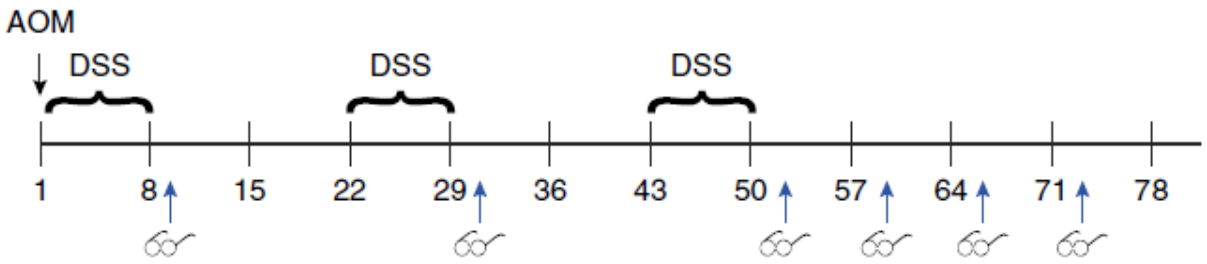
Désavantage :
- Aigu
- Atteinte exclusivement colique distale
- Pas de lésions histologique de type Crohn
- Indépendant des LT

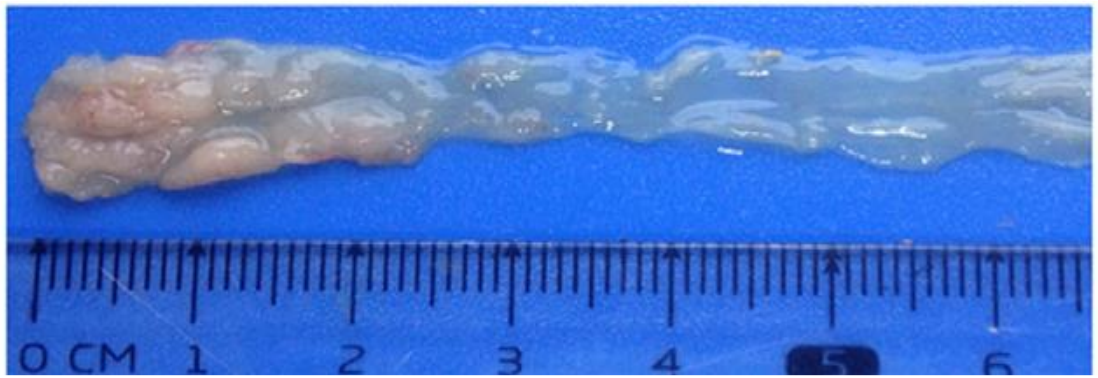
Biais potentiels



- Microbiote
- DSS/boisson : implique des erreurs possibles si les transgéniques boivent moins : *peser le DSS*
- Sexe : les femelles sont moins sensibles au DSS que les males
- Génotype : toutes les lignées de souris n'ont pas la même sensibilité

Modèle de cancer associé à la colite : l'AOM

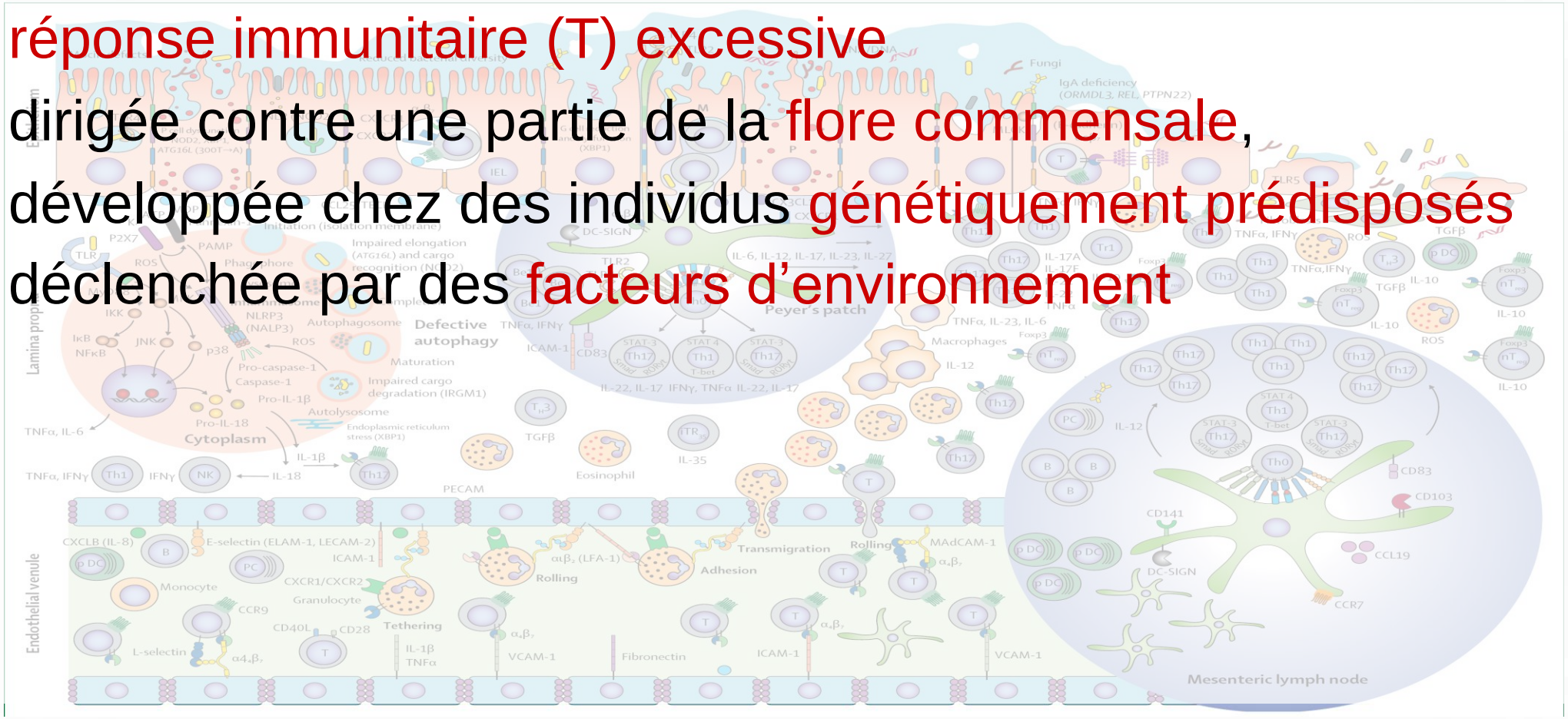


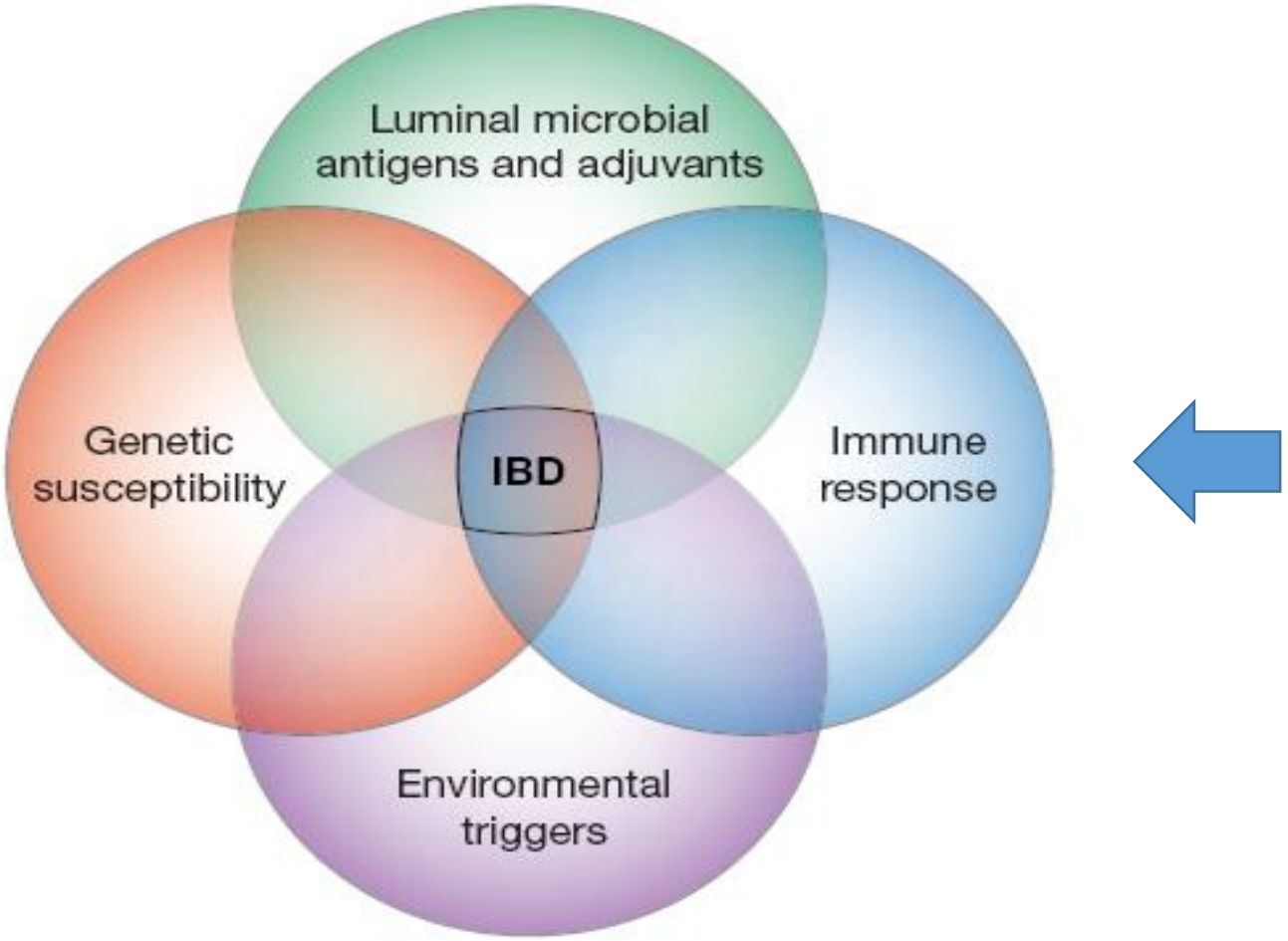


Cancer dépendant du microbiote
Permet de reproduire la carcinogénèse liée à l'inflammation colique

Physiopathologie des MICI : l’hypothèse

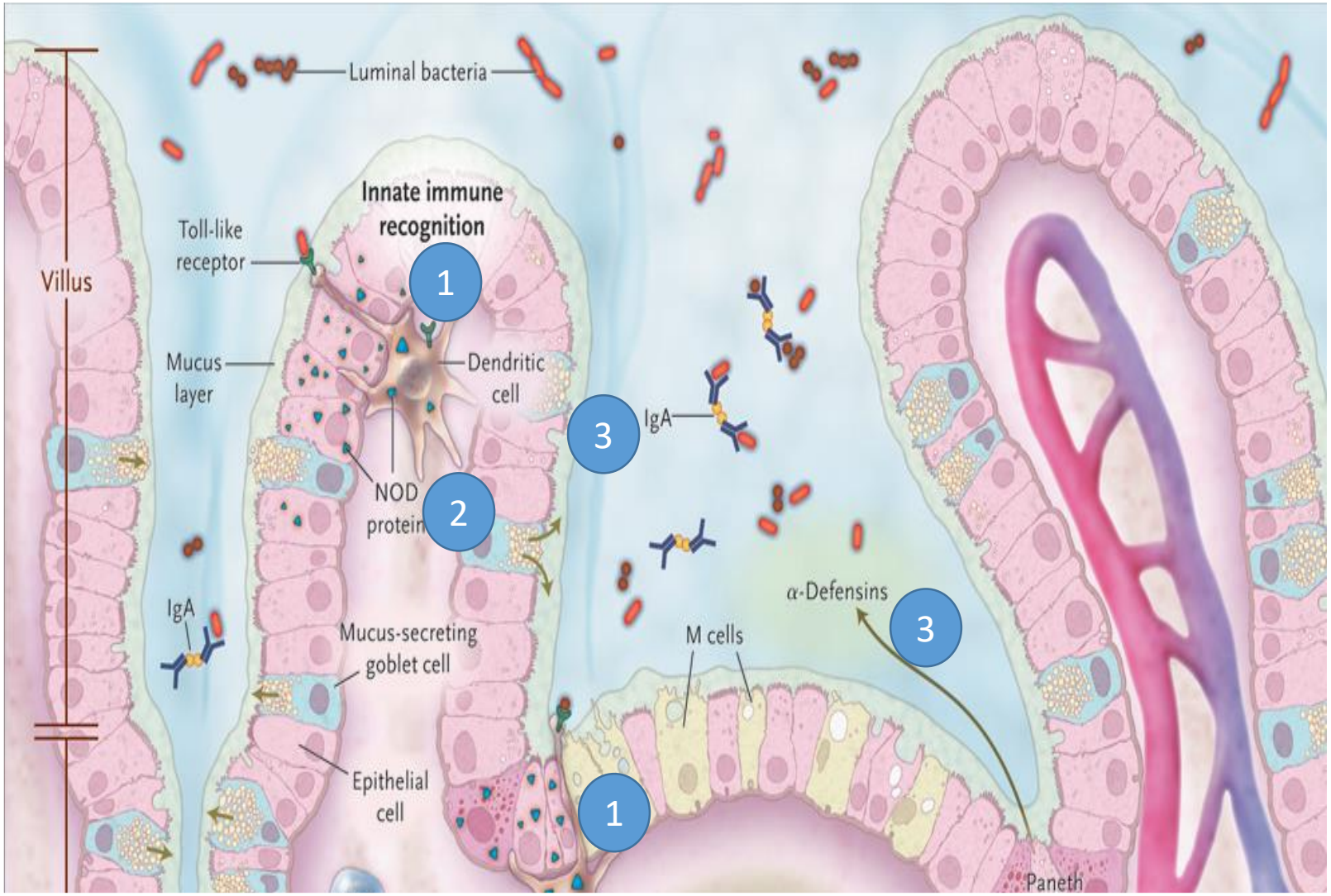
- réponse immunitaire (T) excessive
- dirigée contre une partie de la flore commensale,
- développée chez des individus génétiquement prédisposés
- déclenchée par des facteurs d’environnement





Sartor RB. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3:390

Réponse immunitaire innée

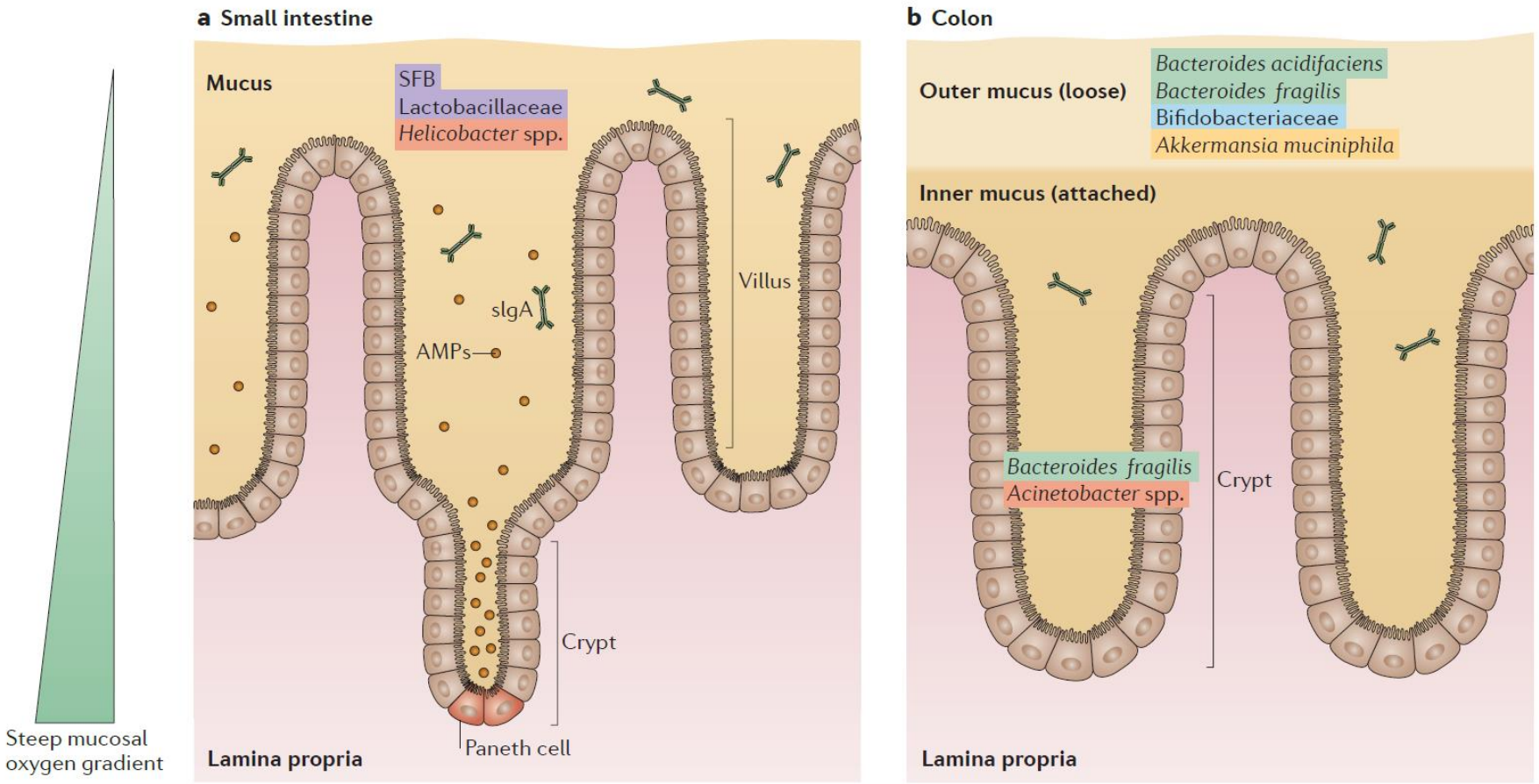


Nécessite :

- La captation des antigènes 1
- La reconnaissance des motifs microbiens 2
- Une réponse adaptée et discriminante 3

Abraham & Cho, NEJM 2009

Barrière mécanique : organisation spatiale



Barrière physique :
Mucus, produit par les **Goblet Cells**
Epithélium **(jonctions serrées)**

Barrière sécrétée :
- Peptides antimicrobiens (AMPS, par les cellules de Paneth)
- IgA sécrétées

Les souris MUC2 KO font une colite expérimentale spontanée

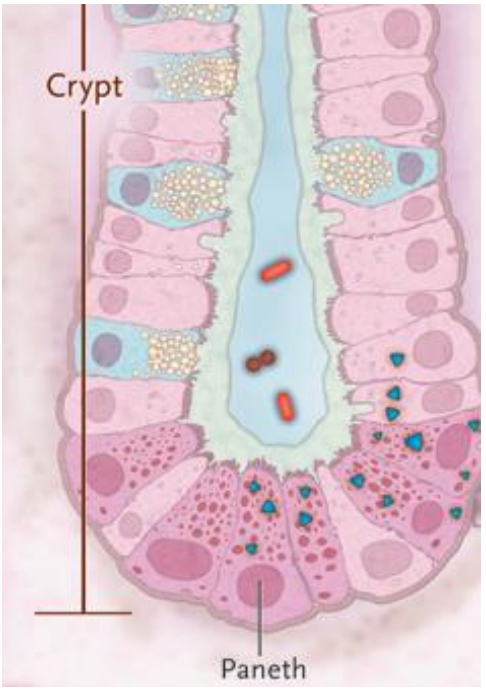
Johansson & Hansson, Dig Dis 2013

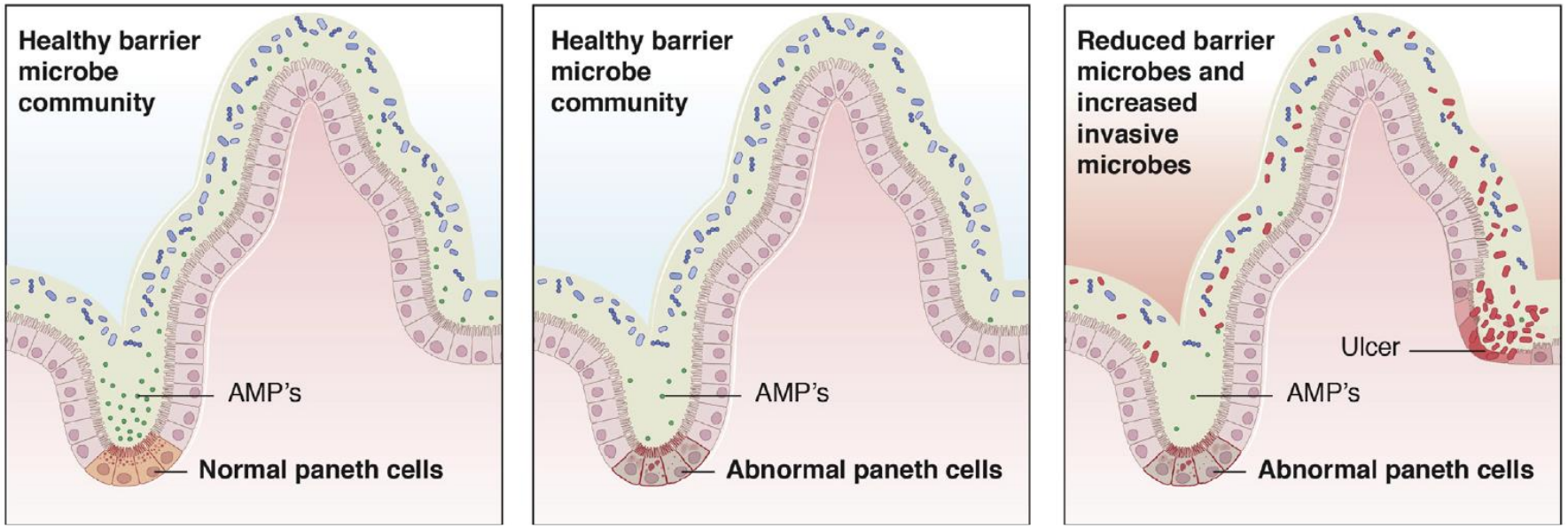
Donaldson *et al, Nature Reviews Microbiology* 2015

La cellule de Paneth

Cellule spécialisée dans la synthèse de peptides anti-microbiens
Localisée dans la crypte
Rôle dans le renouvellement des cellules souches et le maintien de leur niche

Altération observées dans la maladie de Crohn :
synthèse, stockage et sécrétion des AMPS





Stappenbeck *et al*, Gastroenterology 2017

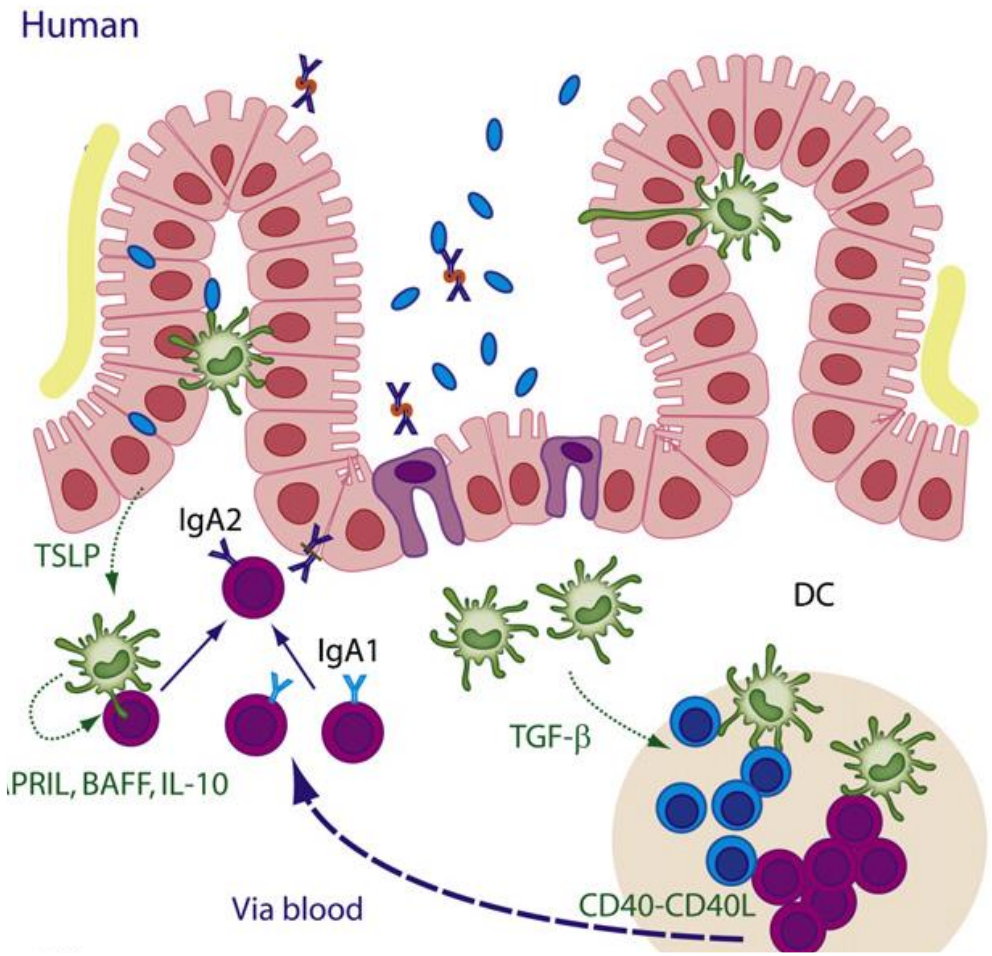
Le système immunitaire intestinal : IgA

- Ag bactériens pris en charge par autophagie/macrophagie

- Cellules présentatrices activent :
  - le changement de classe
  - la production d'IgA

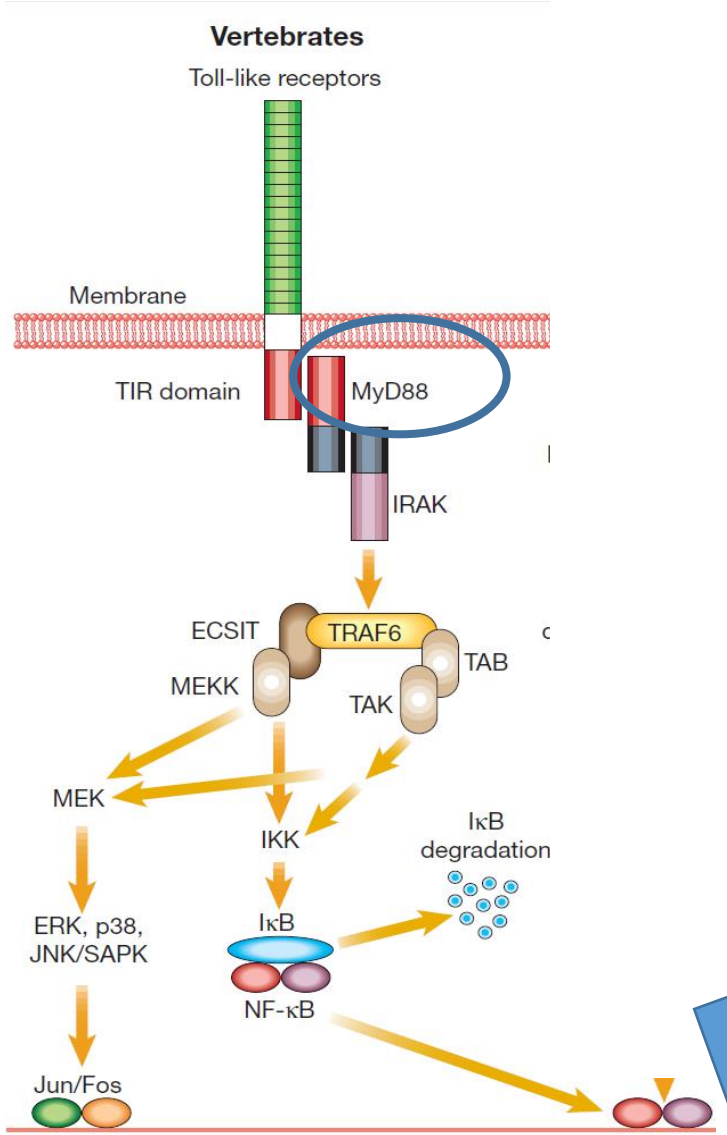
- 2 types d'IgA :
  - LT-indépendante, de faible affinité
  - LT-dépendantes, de forte affinité

- Les IgA de forte affinité ciblent les pathogènes
- Les IgA de faible affinité servent à « neutraliser » les antigènes des commensaux, afin de les protéger contre une réponse immunitaire délétère



Cerutti & Rescigno, *Immunity* 2008

Reconnaissance antigénique :les Pattern Recognition Receptors (PRR)



A la surface des cellules : TLR(1,2,4,5,6) :
> peptides, lipides et lipopeptides

En intra-cellulaires:TLR(3,7,8,9) :
> Acides nucléiques

NOD2 détecte le peptidoglycane *en intracellulaire*

Prolifération

TNFα
IL1β
Peptides antimicrobiens

Réponse inflammatoire

Aderem & Ulevich, Nature 2000
liu & Ding Immunology & Cell biology 2016

LE facteur de risque génétique de maladie de Crohn : NOD2(CARD15)

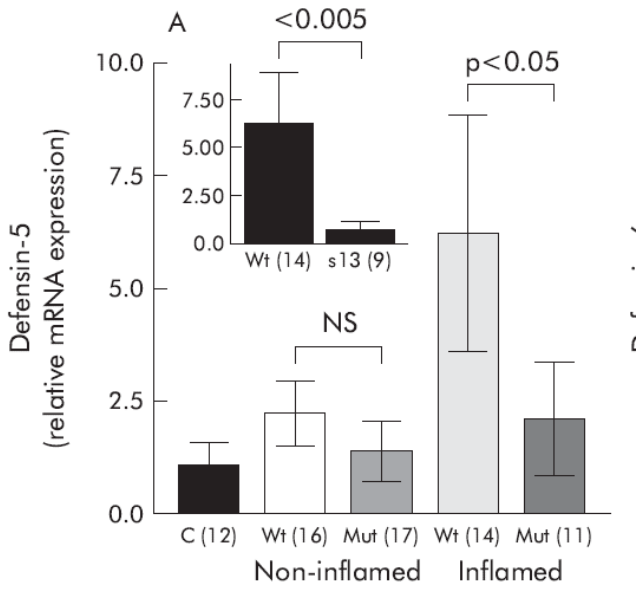
- PRR intracellulaires, reconnait le peptidoglycane bactérien
- Active NFKB et MAPK
- Nécessaire à l'expression des défensines dans les Paneths
- La mutation pathologique le rend **moins** fonctionnel
- Associé à la maladie de Crohn **iléale (RR 11 à 27 pour HMZ)**

Hugot et al, Nature 1996
Economou et al, Am J Gastroenterology 2004

Nod2 influence la composition du microbiote

- Un deficit de NOD2 induit une dysbiose:
  - Chez la souris, dépendant l'épithélium et des cellules immunitaires
  - Chez l'homme avec MC. (Notamment diminution de *F. prausnitzii)*

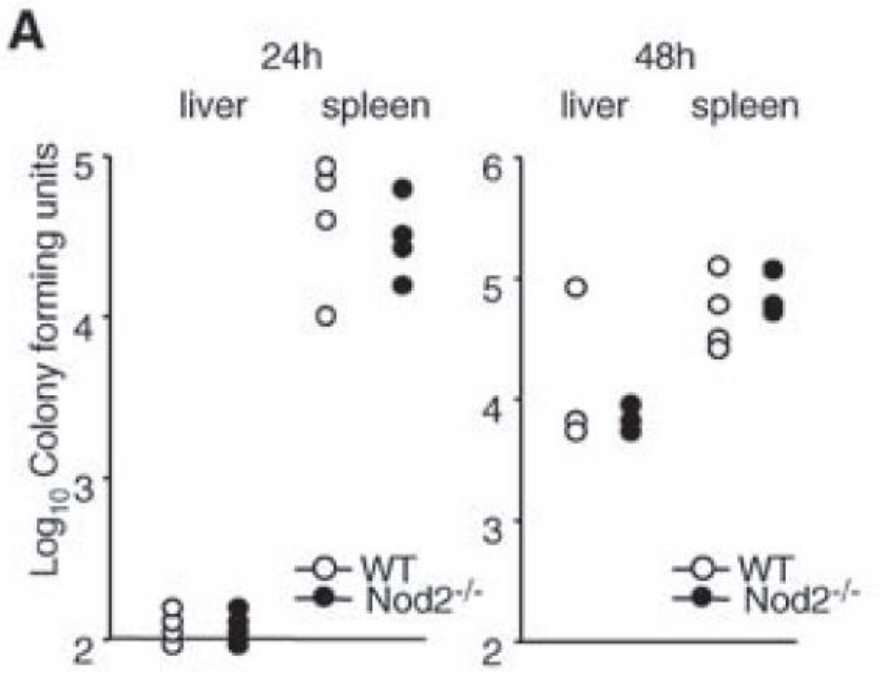
- Un défaut de NOD2 chez l'homme entraine une diminution de la production des défensines en situation inflammatoire

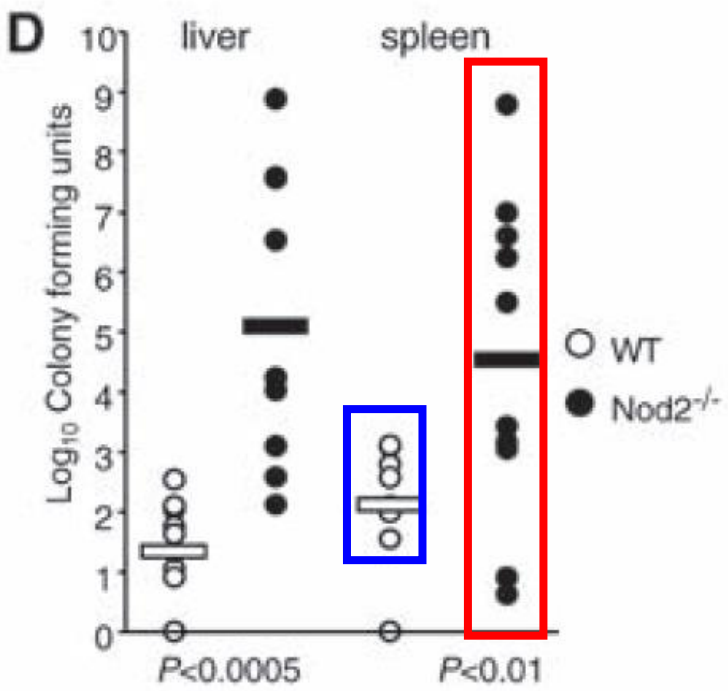


Wehkamp, Gut 2004
Rehman et al. Gut 2011

Nod2 est nécessaire à la réponse anti-microbienne

Les souris *Nod2*$^{-/-}$ se défendent moins bien contre *L monocytogenes* per os mais normalement lorsque ce germe est administré par voie IV.



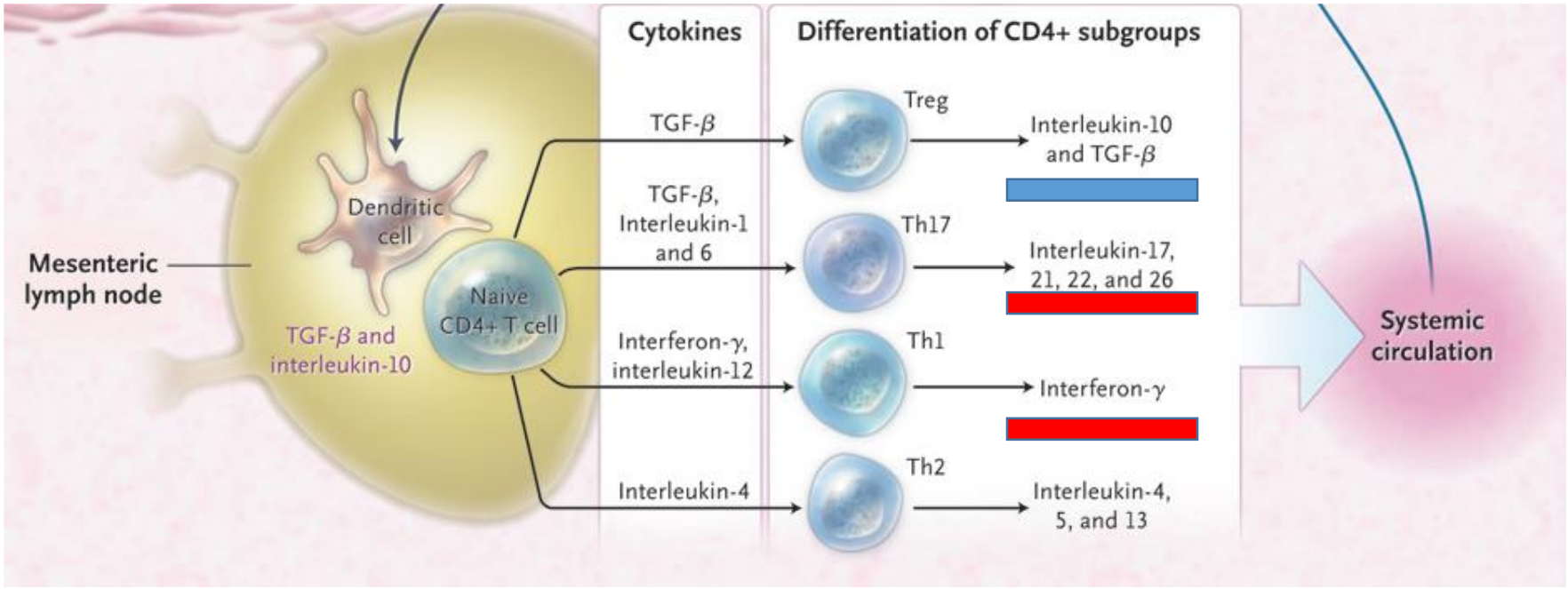


L monocytogenes IV

L monocytogenes per os

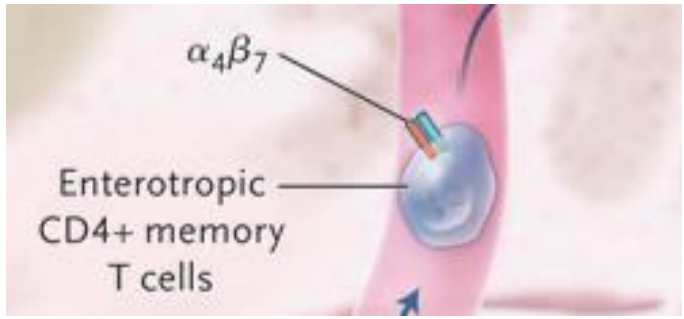
Science 2005

Le système immunitaire « acquis » intestinal



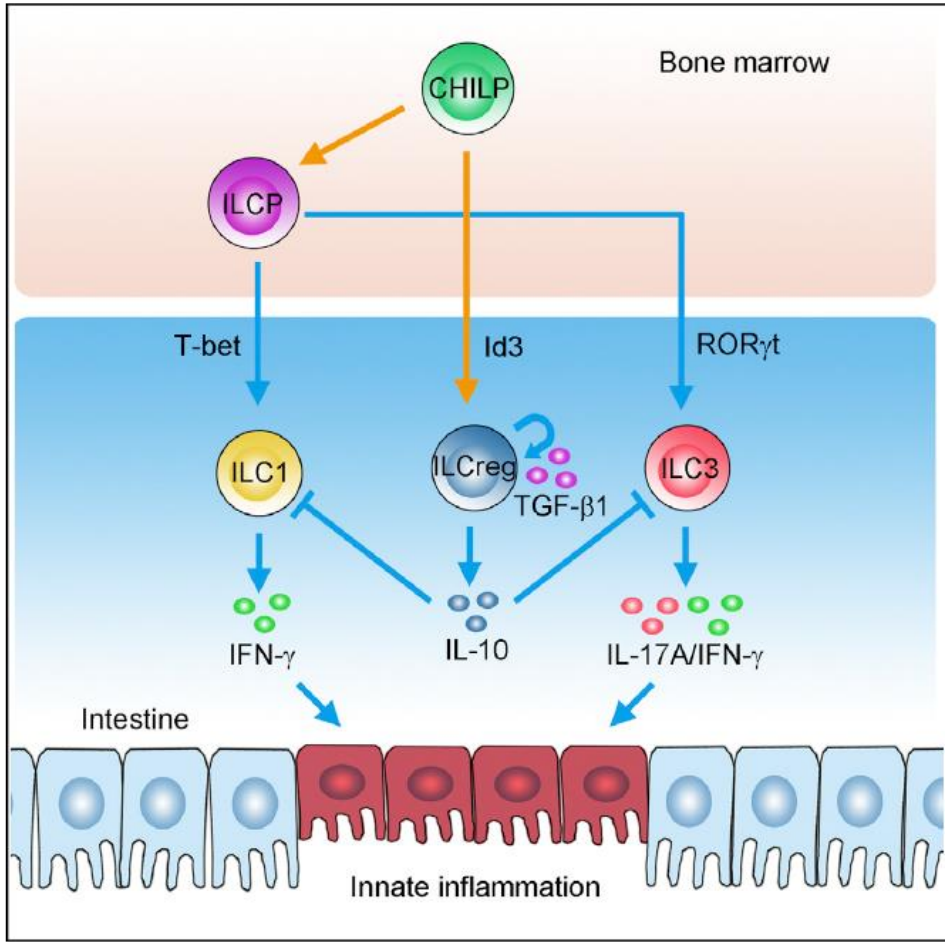
Dans les MICI, on observe :
- Un excès de cytokines Th1
- Un excès de cytokines Th17
- Un défaut de cytokines Treg

Les souris (et humains) IL10 déficients développent une MICI



Migration via intégrine α4β7 /Mad-CAM

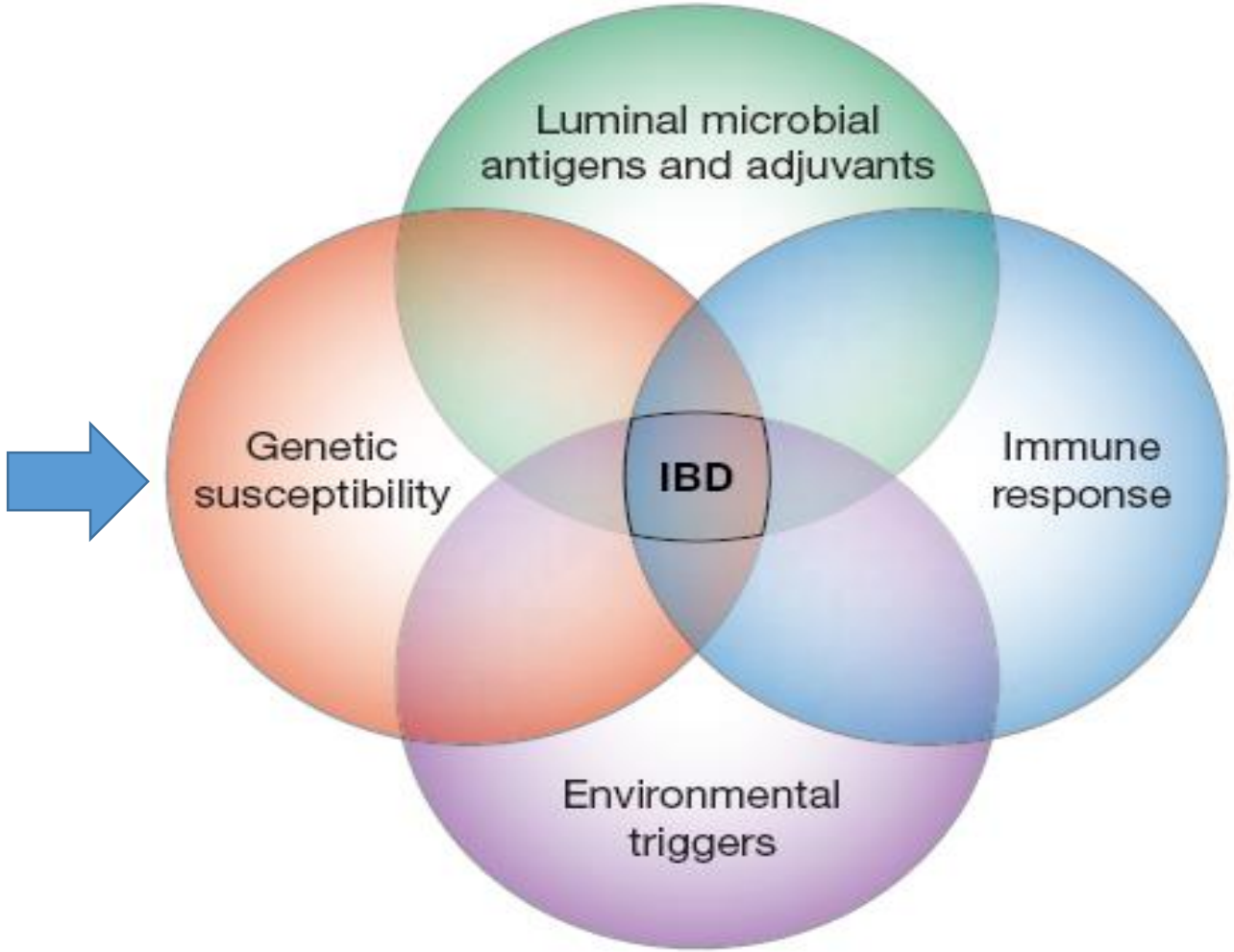
Innate lymphoid cells (ILC)



Expriment toutes IL7-R et Thy1, sont CD11b-, CD3-

- ILC1 : répondent à IL12, IL15,IL18.
- ILC2 (-Th2) :réponse à IL-25 et IL-33
- ILC3 (-Th17) :réponse à l'IL 23 et IL-1β
  - Inclue 2 sous groupe : ILC3
- ILCreg (Lin-CD45+CD127+IL-10+CD4-Foxp3-) :
  - répondent au TGF-β1 et à l'IL-2 ; expansion lors de colite expérimentale. Bloquent la production de IL-17, **pas d'IL-22**

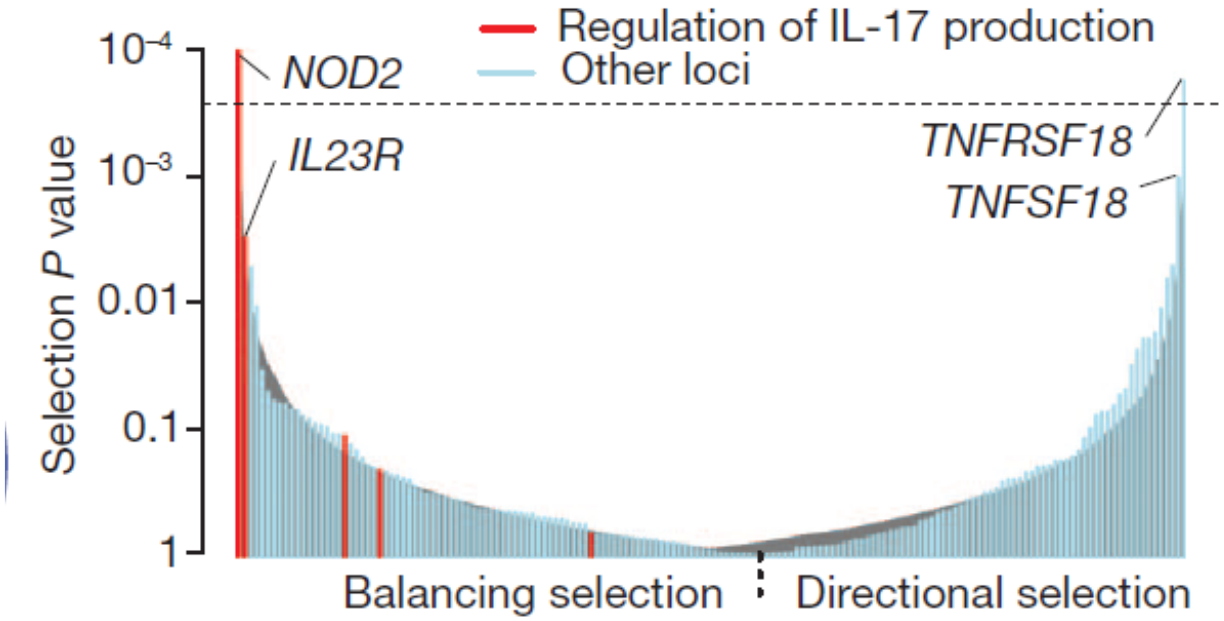
Wang et al, cell 2017

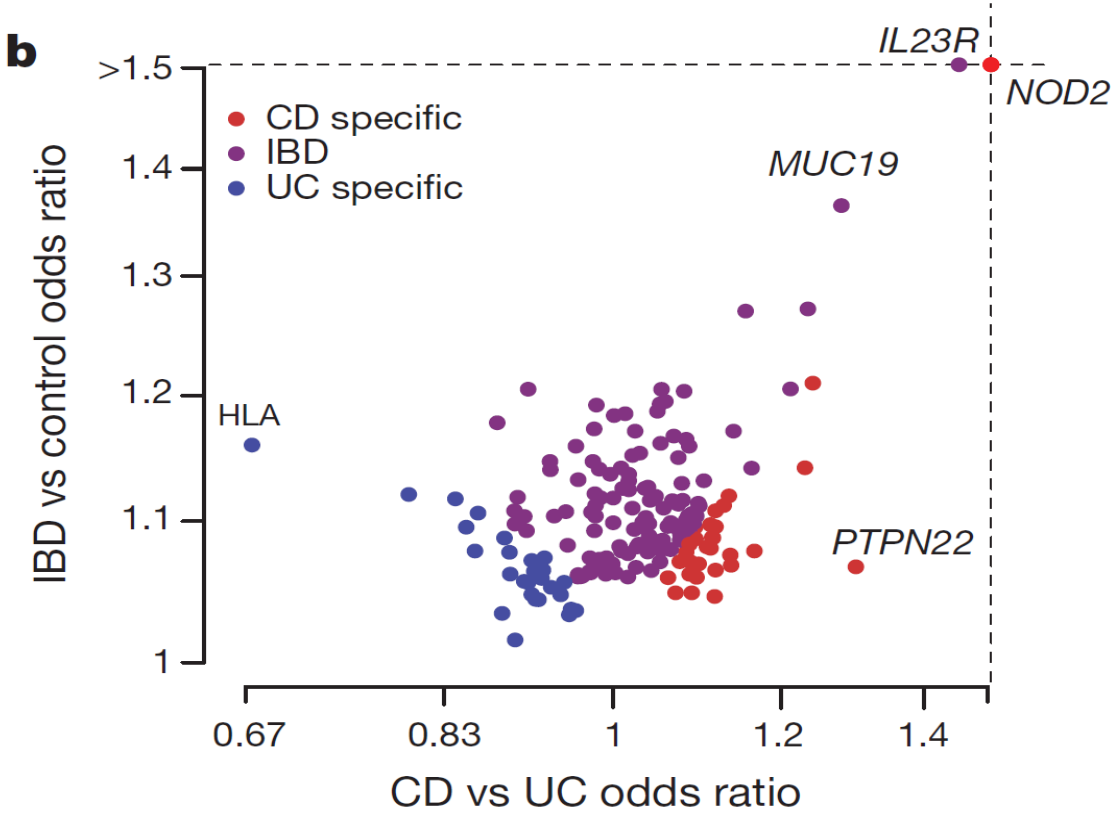


Sartor RB. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3:390

Apports de la génétique à haut débit : études GWAS

- 163 loci de prédisposition identifiés par analyse de séquençage haut-débit.

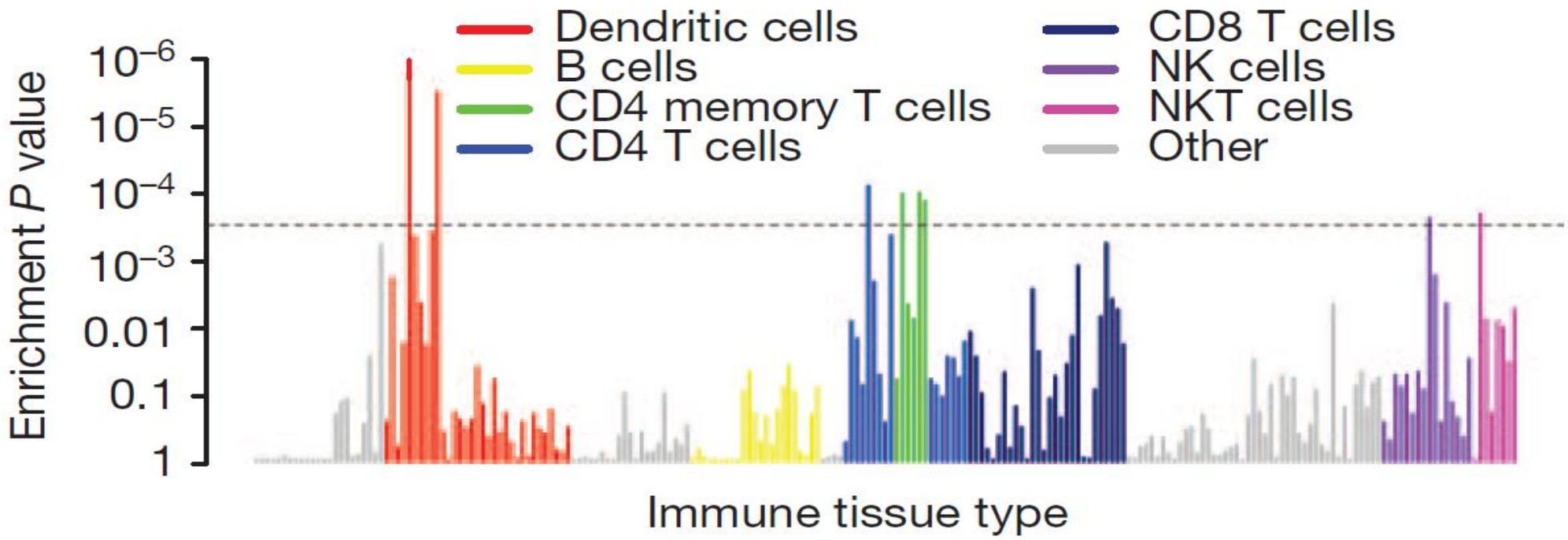




Ces études montrent l'importance de la voie Th17 (IL23/IL17/IL22)

JH Cho et Jostins L, Nature 2012

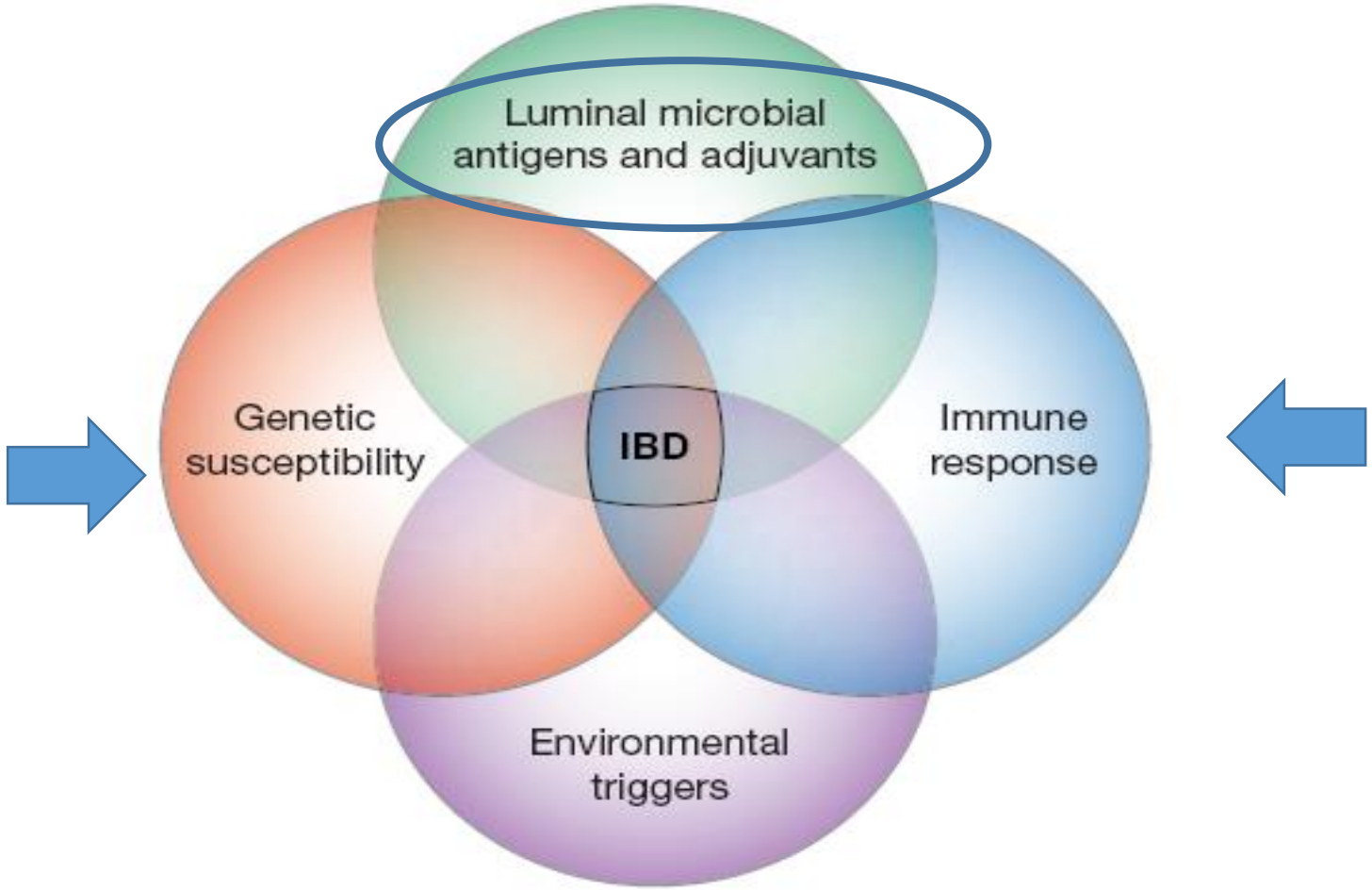
163 locis de prédisposition aux MICI



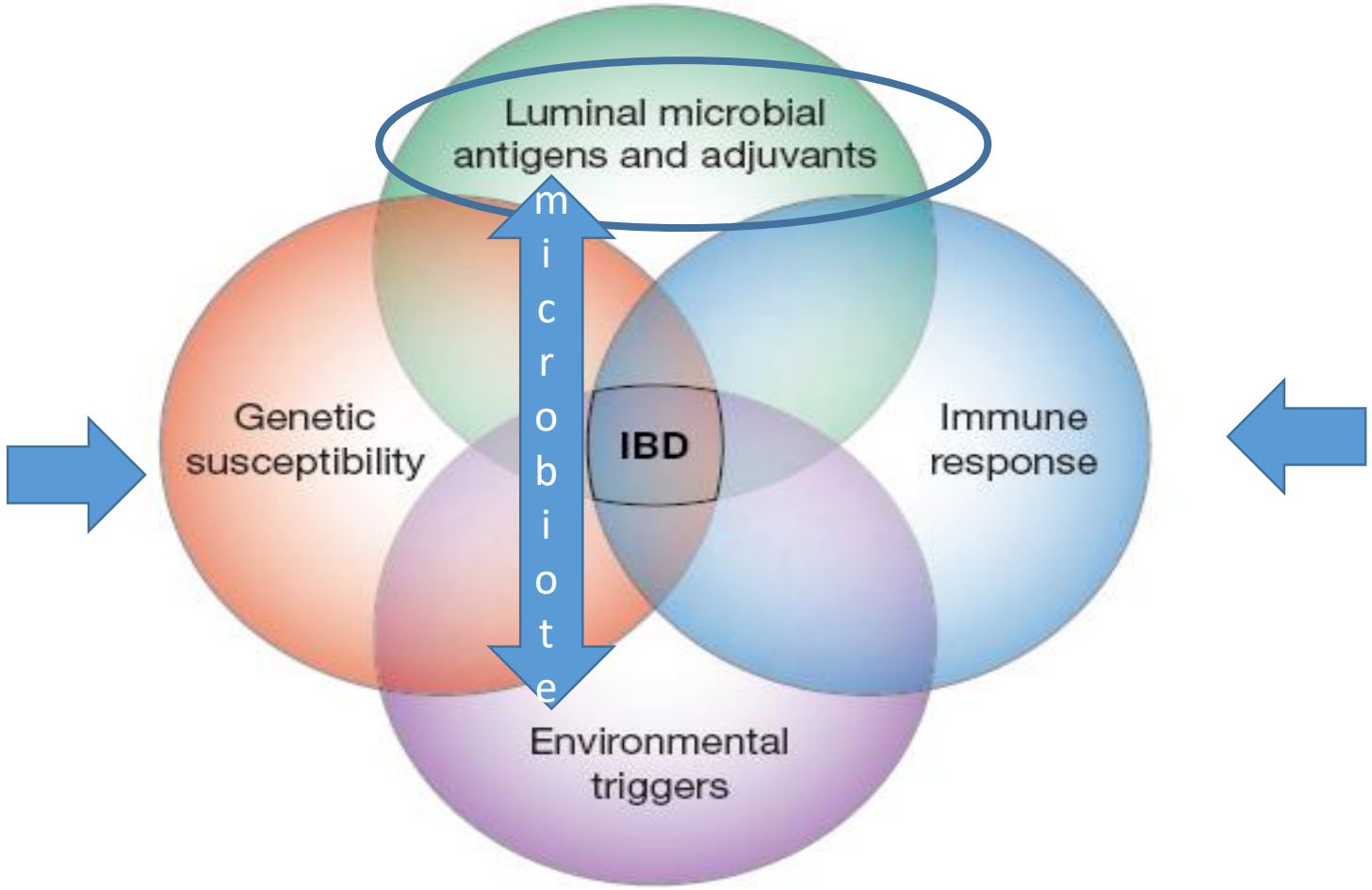
Gènes impliqués dans :

- la régulation de la production de cytokines (interferon γ, IL12, TNFα, IL10),
- l'activation des lymphocytes B, T, NK,
- la réponse aux molécules d'origine bactérienne,
- la voie JAK-STAT.

JH Cho et Jostins L, Nature 2012



Sartor RB. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3:390



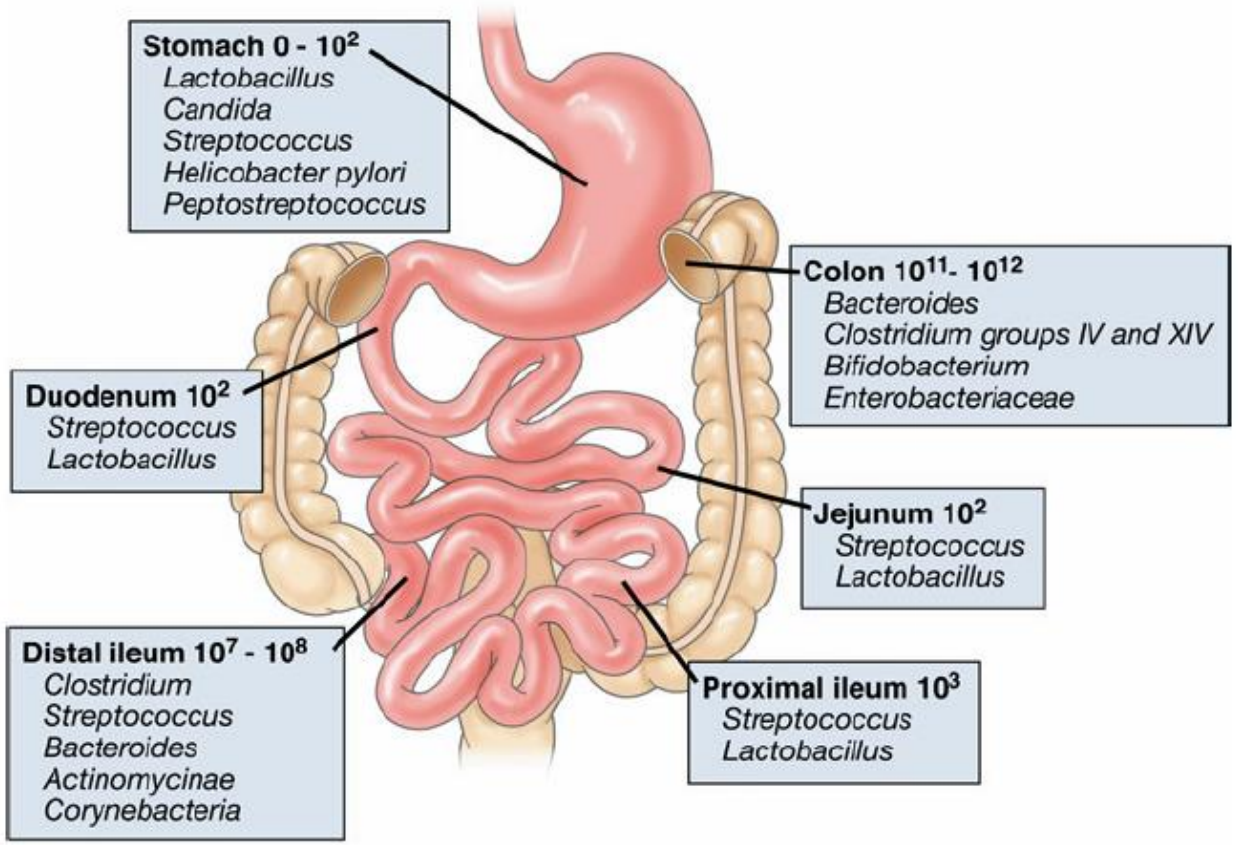
Sartor RB. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3:390

Donnée sur le microbiote de l'adulte

- 10^{11} à 10^{12} bactéries par g de selles,
- 1 à 2kg de selles/adulte soit 10^{14} bactéries
- 150 fois plus **de gènes bactériens** que de gènes humains dans l'organisme > **METAGENOME**
- Environ 40 espèces dominantes (75% des espèces totales), 300 à 500 espèces répertoriées.

Composants du microbiote :

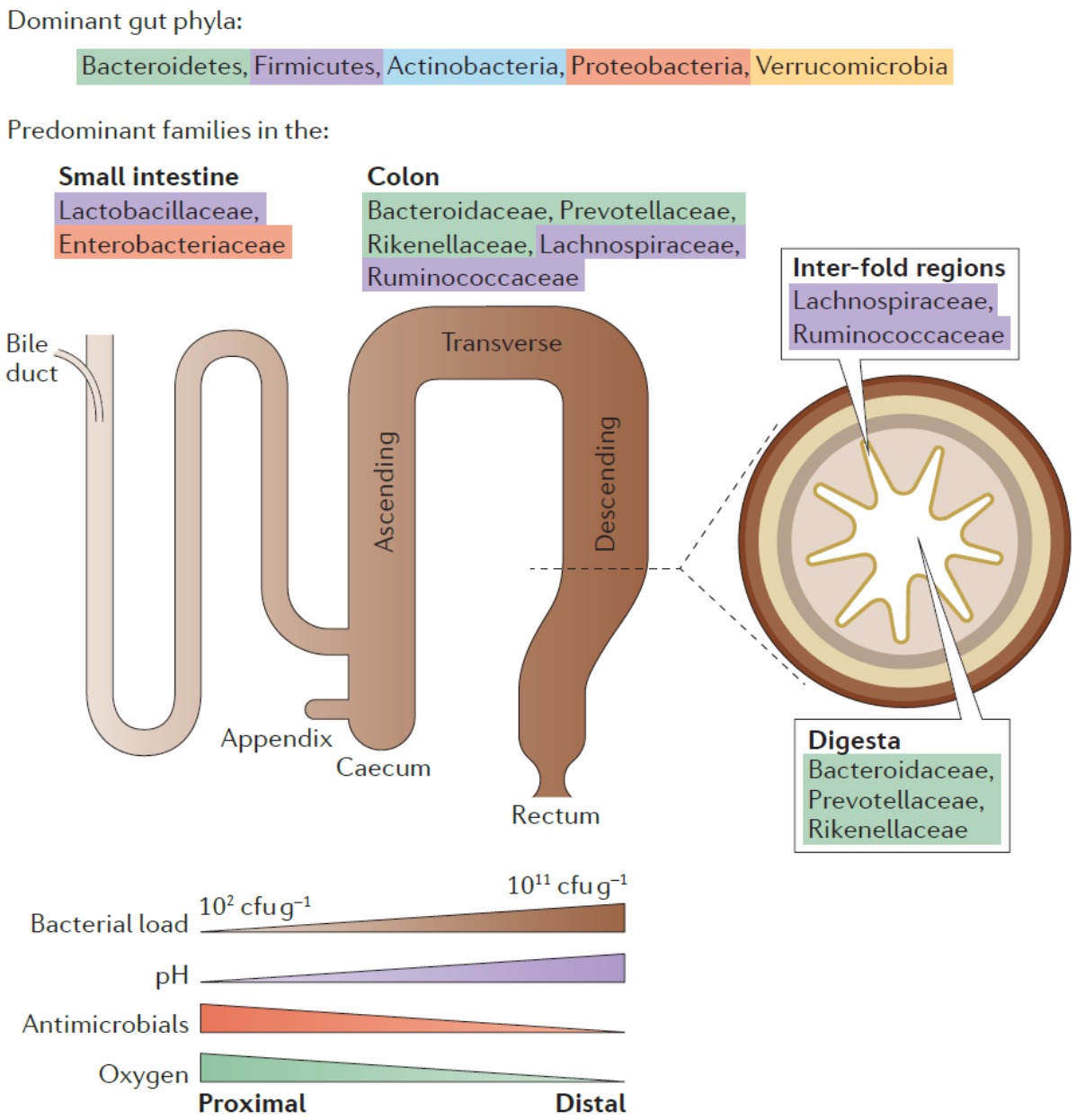
- Bactéries
- Virus
- Eukaryotes : levures, amibes…



Guarner and malagelada, Lancet 2003

Donaldson et al, Nature reviews microbiology 2015

Microbiote bactérien humain : variation topographique

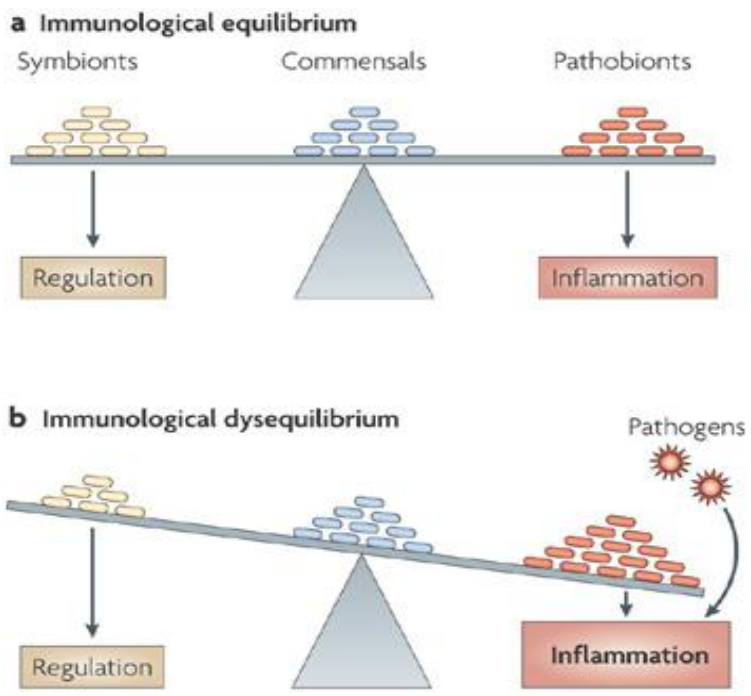


Ségrégation par environnement :

- pH
- Disponibilité oxygène
- Présence d'antimicrobiens
- Disponibilité des nutriments

Donaldson *et al, Nature reviews microbiology* 2015

Eubiose et dysbiose



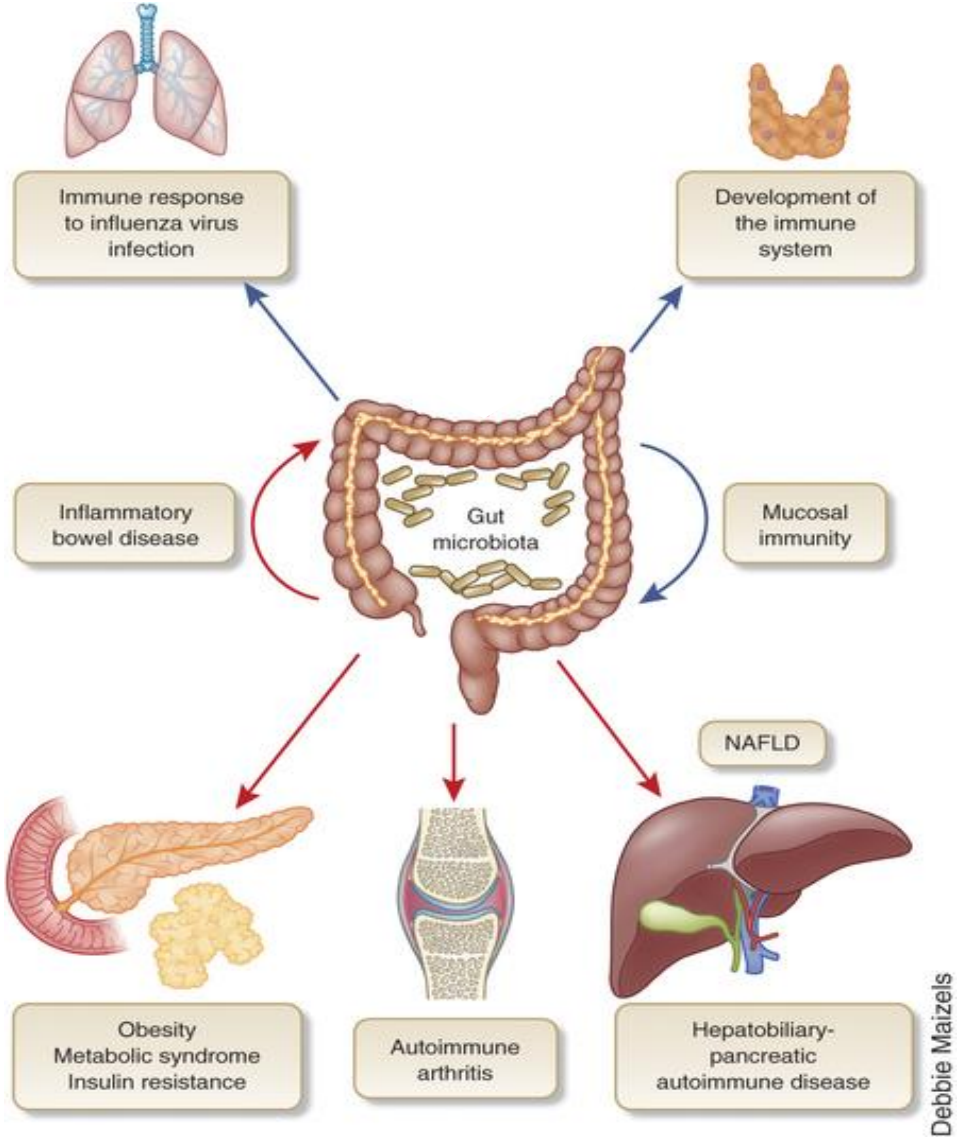
AIEC

SFB

F Prau

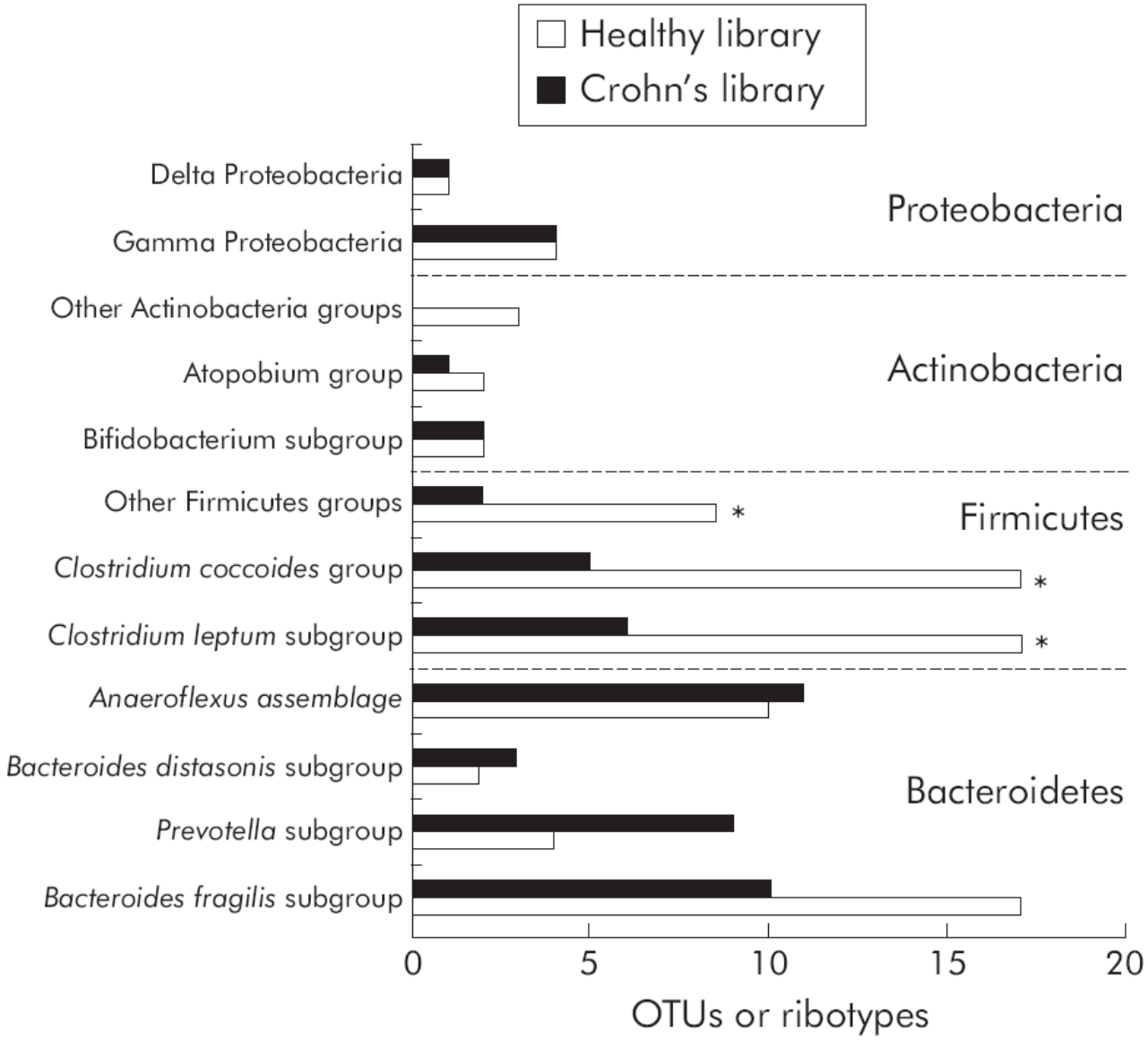
B fragilis

Clostridia



Round & Mazmanian, Nat Rev Immunol 2009
Goldszmid & Trinchieri, Nat Immunol 2012

Composition de la flore fécale & Crohn

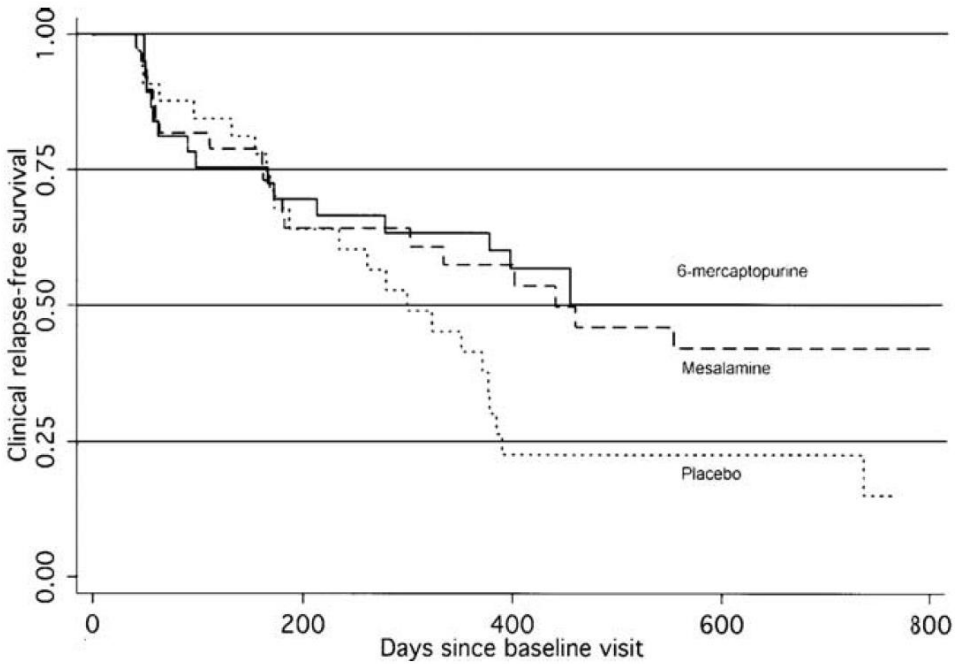


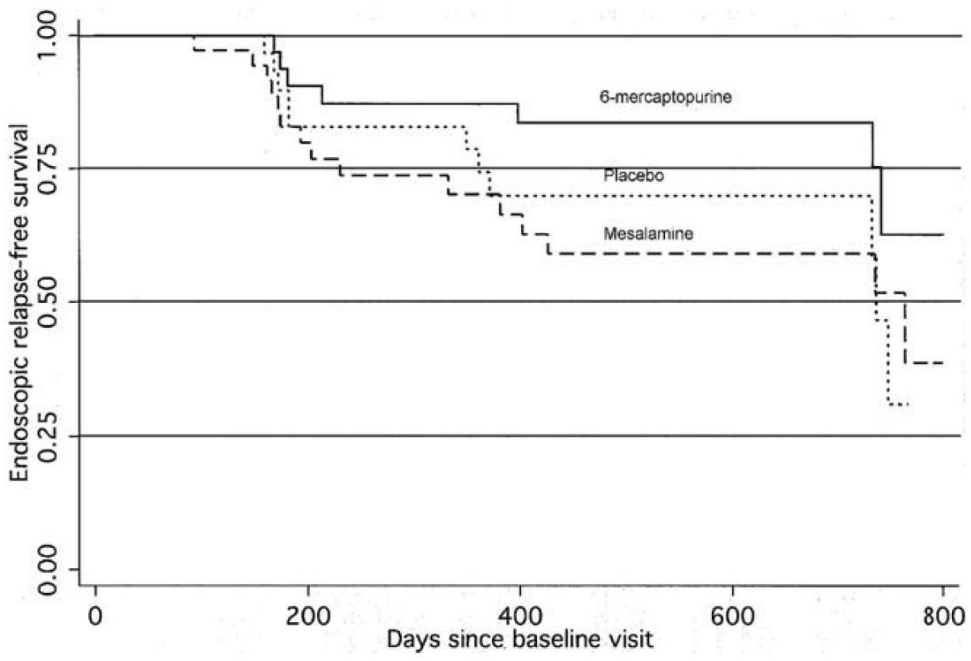
Réduction de la diversité bactérienne

Diminution des *Firmicutes*

Manichanh *et al.* Gut 2006

Causalité du microbiote ?





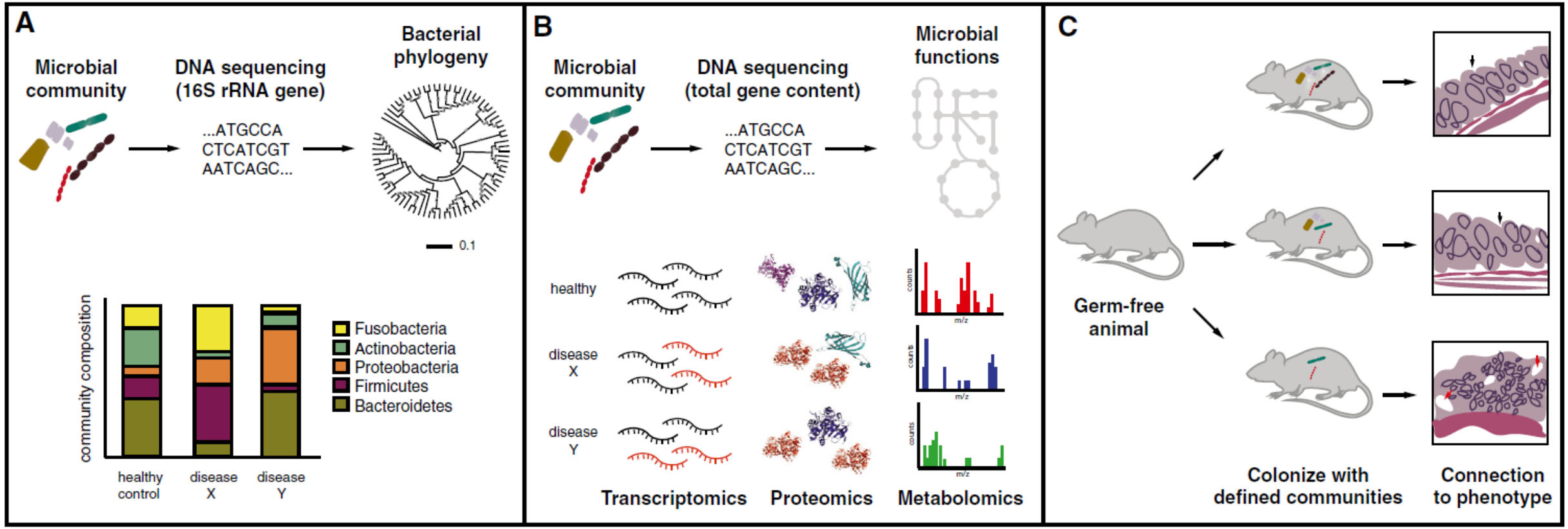
> modèle de récidive post-opératoire

La diversion fécale permet d'améliorer les lésions de maladie de Crohn sous la diversion
Le rétablissement de continuité précède la récidive des lésions
L'administration du flux fécal dans la stomie d'aval déclenche une inflammation

La présence de microbiote est nécessaire dans les modèles murins avec déficit en IL10 ou excès de TNFα

Shaubeck et al, Gut 2016
D'Haens et al, Gastroenterology 1998

Etude du microbiote en pratique



Koppel et al, Cell Chemical biology 2016

Rôles du microbiote

- Ecologique:
  - Occupation des sites d'implantation des pathogènes
  - Compétition pour les substrats

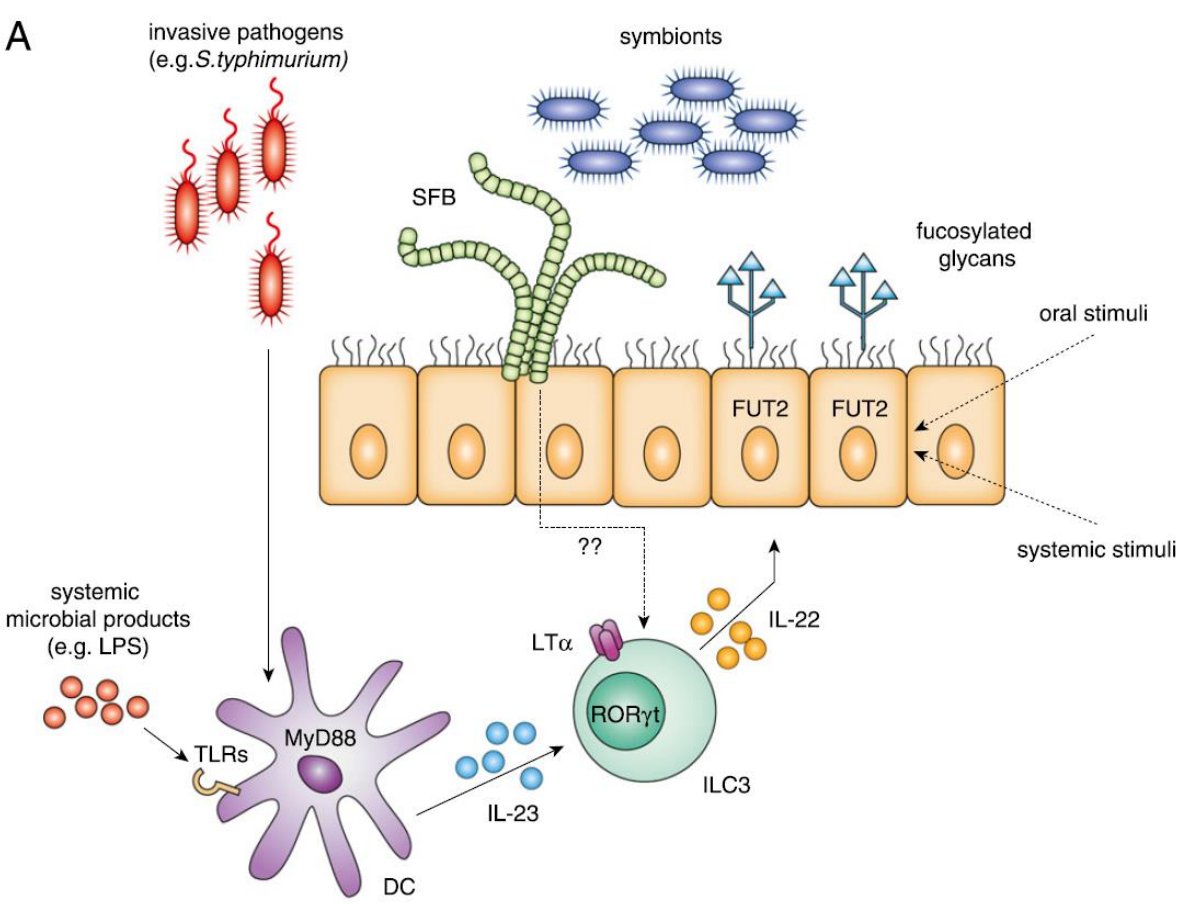
- Métabolique
  - Fermentation des fibres (amidons, cellulose, pectines)
  - Production **d'acides gras à chaine courte**, **aidant au renouvellement des cellules épithéliales intestinales**
  - Putréfaction peptides : enzymes pancréatiques, élastine et collagène…

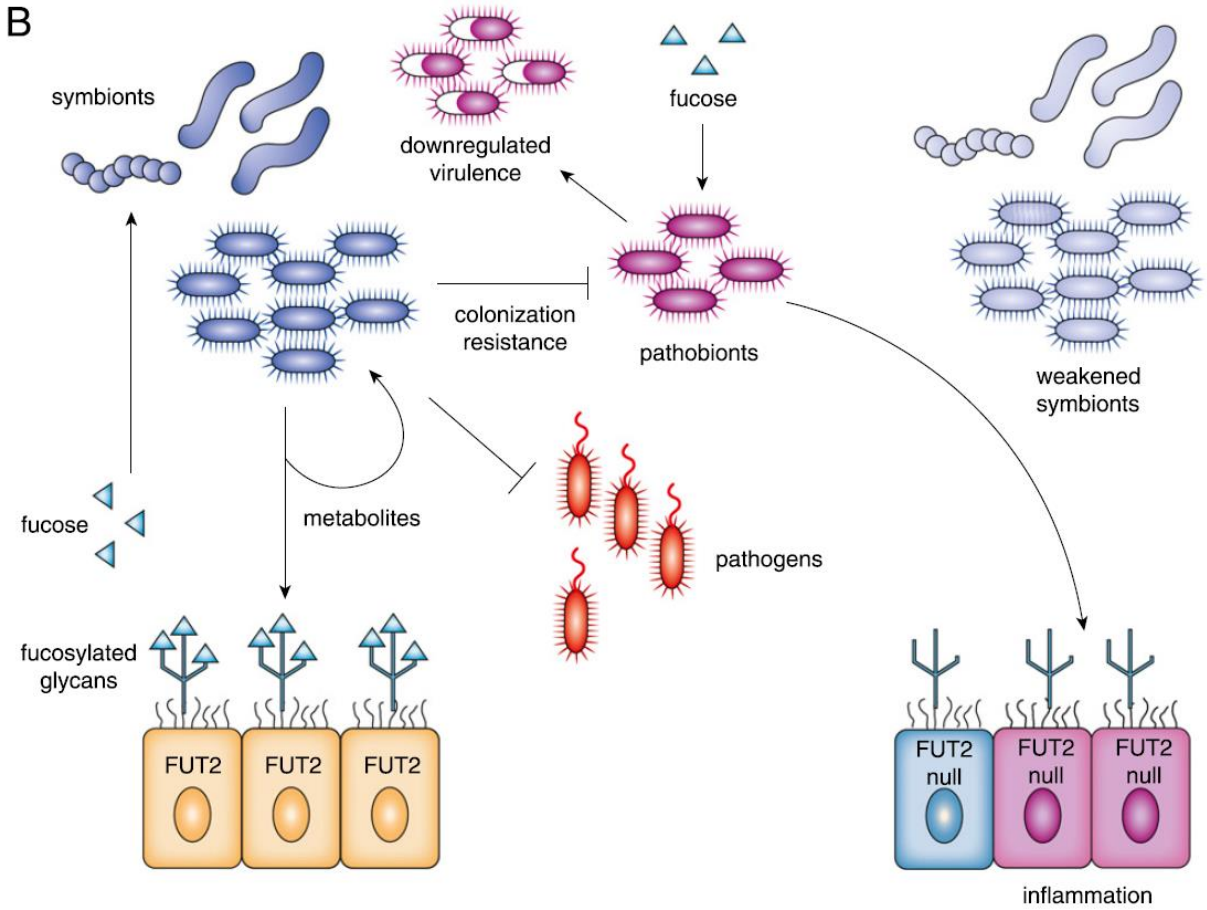
- Synthèse & modifications de vitamines, de nutriments, de médicaments
  - Vitamine K
  - Calcium, Magnésium, fer
  - Modification des acides biliaires primaires en secondaires
  - Synthèse d'acides aminés essentiels
  - Digestion des polyphénols polyosidiques
  - Médicaments

- Immunologique :
  - Stimulation du système immunitaire intestinal
  - Éducation du système immunitaire

Koppel *et al*, *Cell Chemical Biology* 2016

Barrière d'implantation : interaction hôte/barrière/microbiote

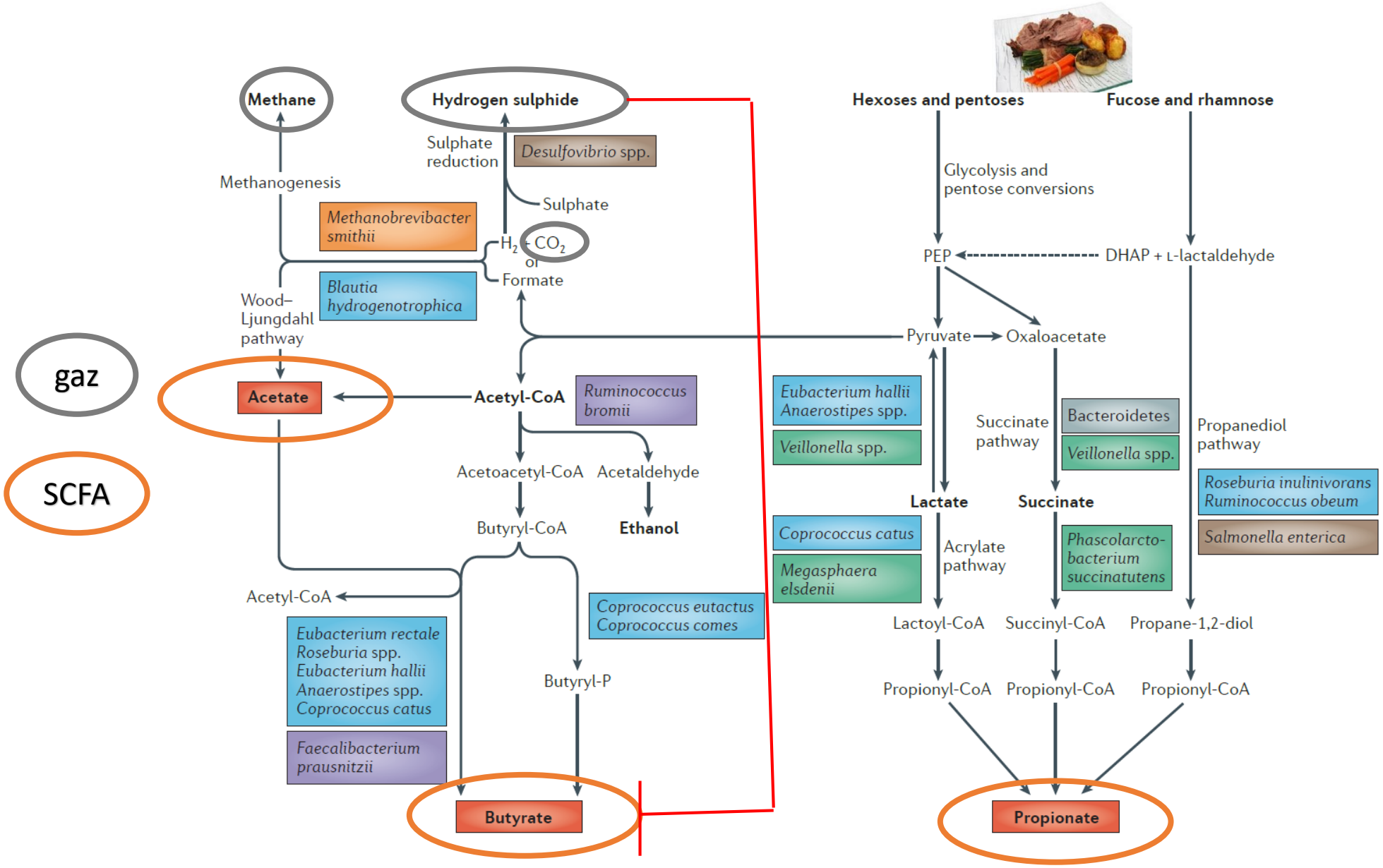




Les souris déficientes pour FUT2 ont une colite spontanée
FUT2 est associée aux maladies inflammatoires de l'intestin

Pickard & Chervonsky, *J immunol* 2015

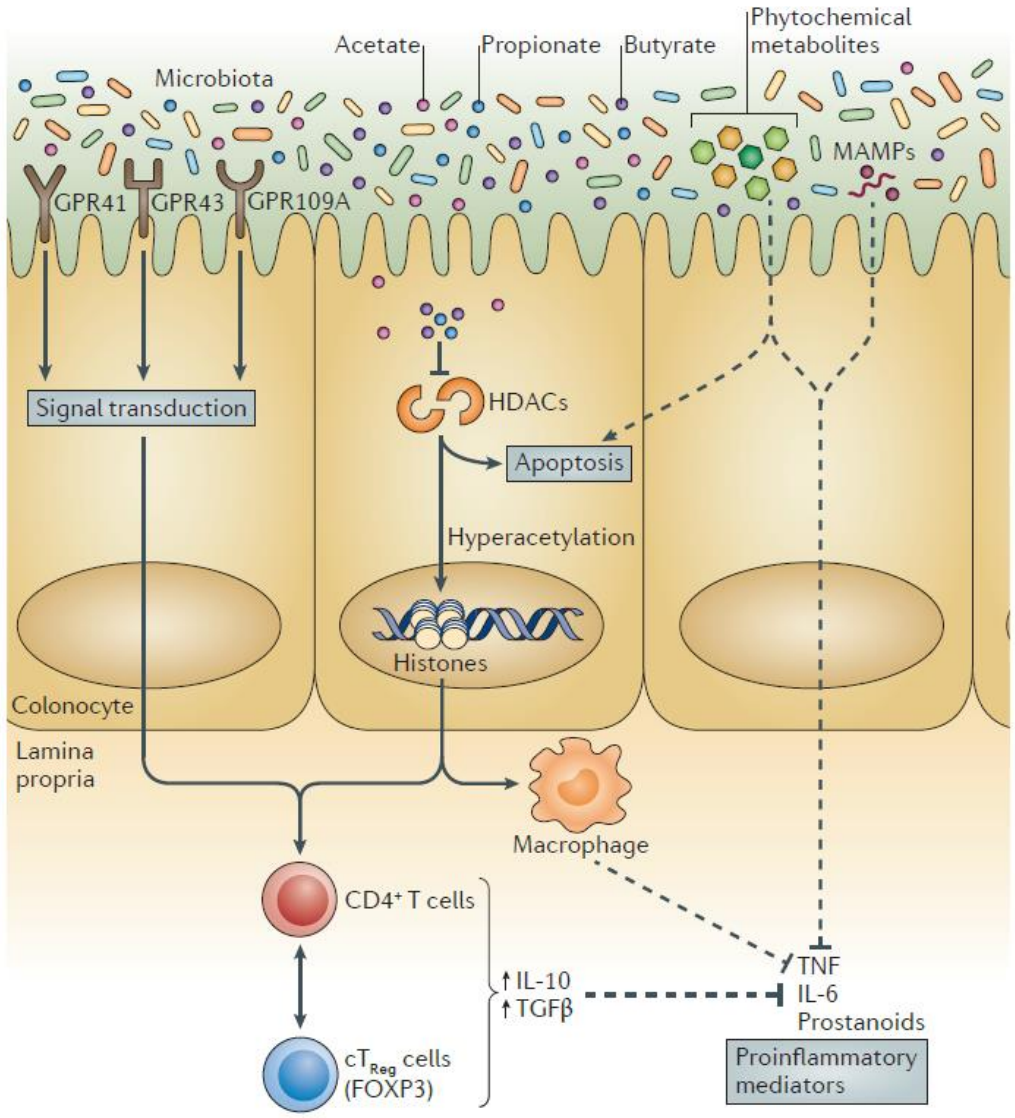
Activité métabolique du microbiote anaérobie



SCFA : substrats énergétiques majeur du colon.

Louis, Hold & Flint, *Nature reviews Microbiology* 2014

Exemple : acides gras à chaine courte (SCFA)

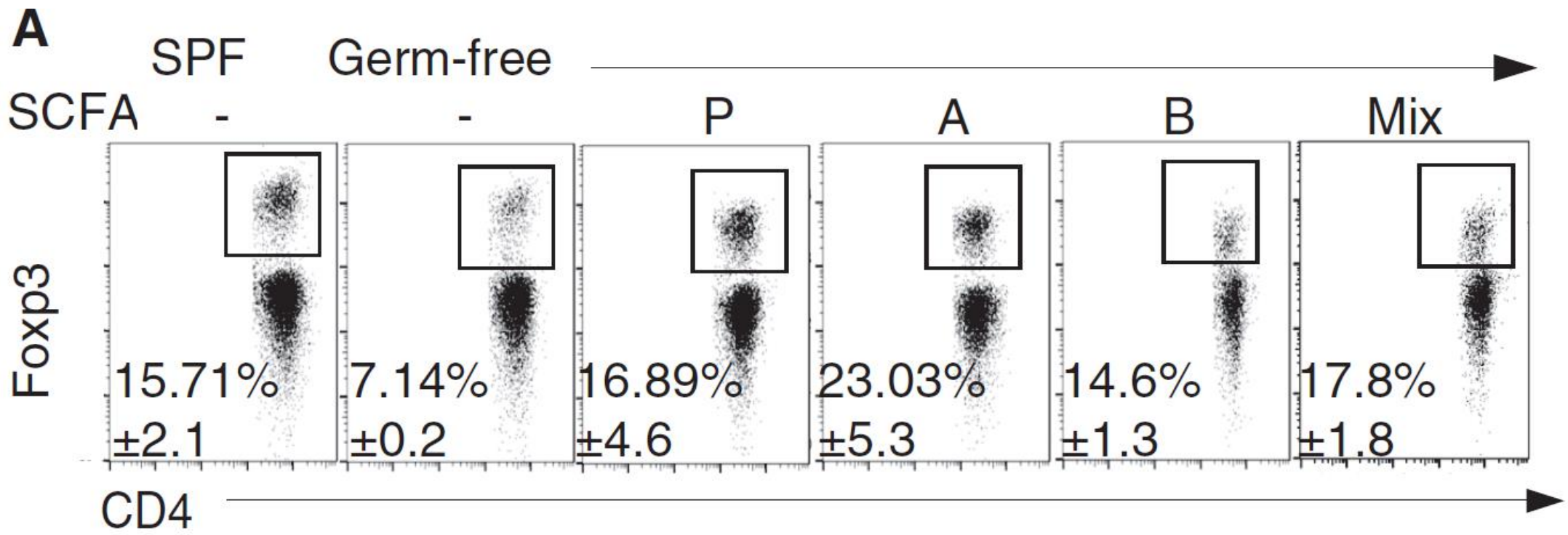


La liaison du proprionate à Ffar2 augmente
- le nombre de LT-CD4 Treg Foxp3+
- la sécrétion d'IL-10

par inhibition d'histone-déacétylases (HDAC)

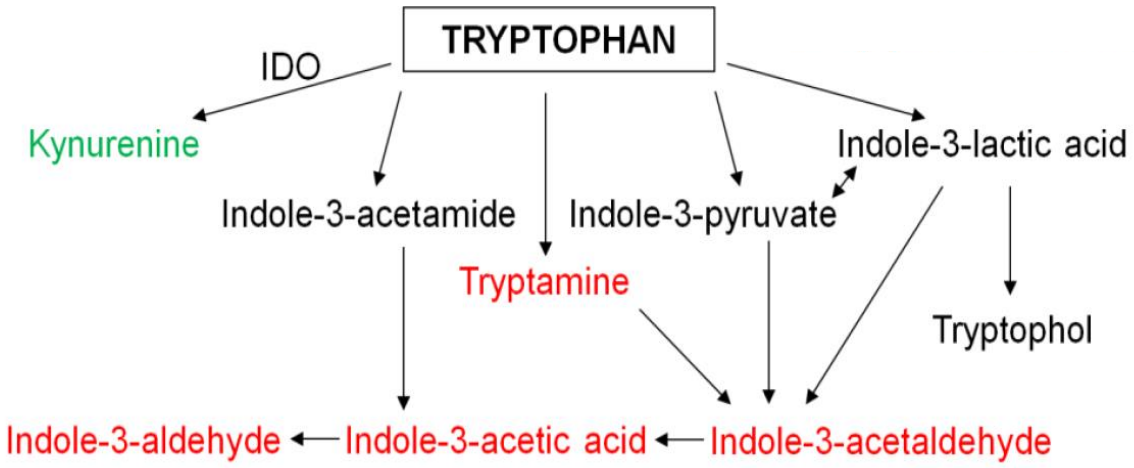
Le Butyrate est GPR43, et entraine :
- activation de PPARγ
- augmentation des LTreg

Byndloss *et al, Science* 2017
Kim *et al, Sci Report* 2017
Smith *et al, Science* 2013
Louis, Hold & Flint, *Nature reviews Microbiology* 2014

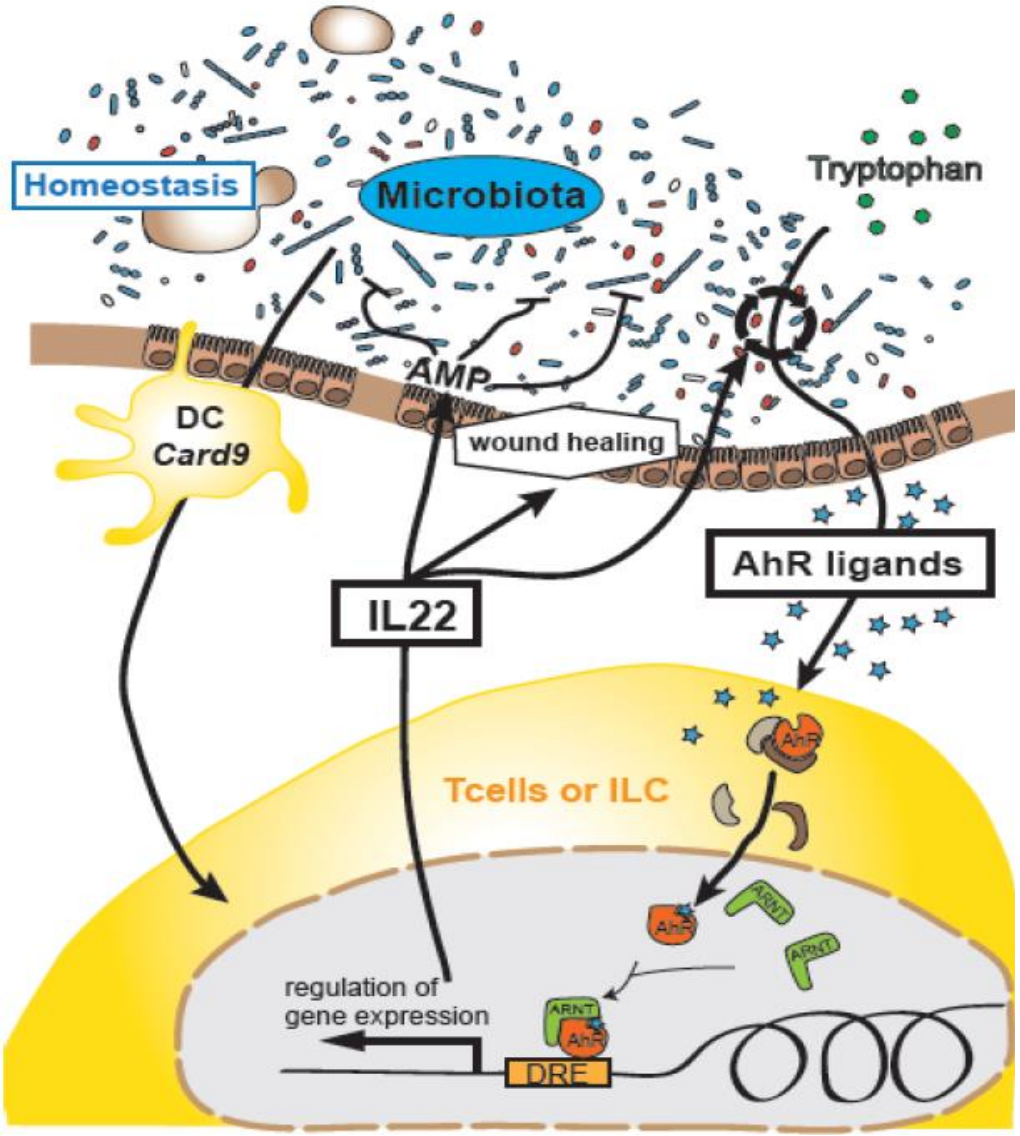


Smith *et al, Science* 2013

Interaction microbiote/hôte : la voie AHR

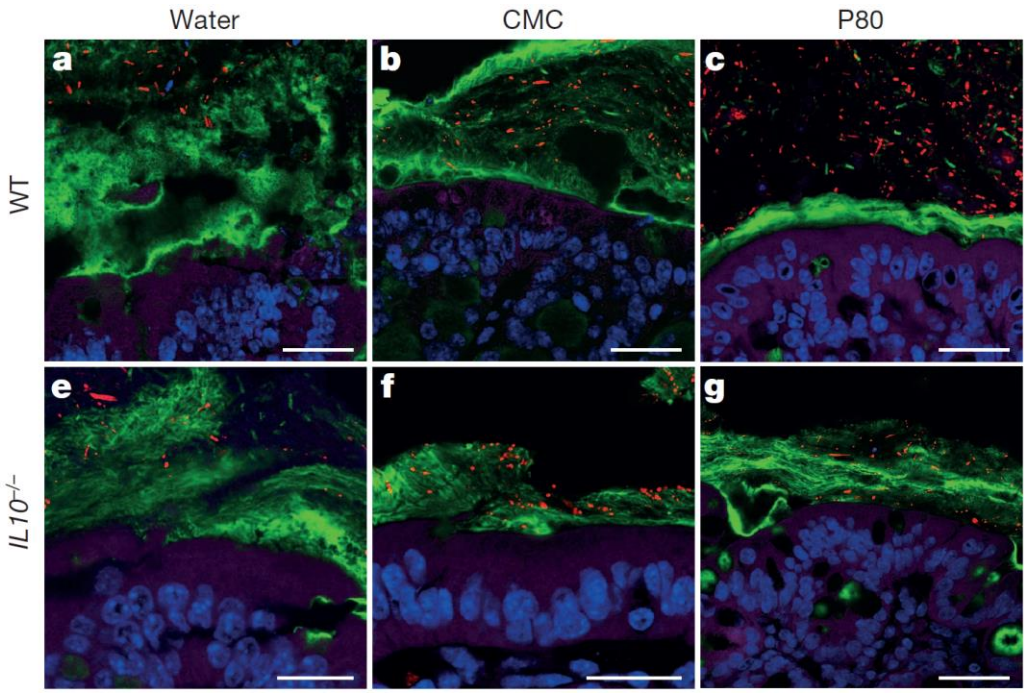


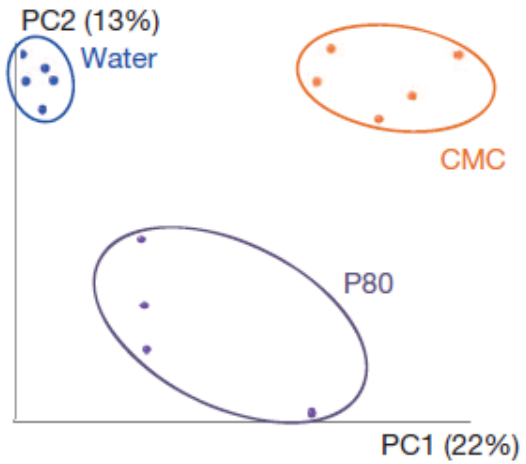
- Souris CARD9 KO :
  - sont susceptibles à la colite
  - Ont une dysbiose, caractérisée par une diminution des ligands AhR
  - L'administration de lactobacilles producteurs de ligands AHR atténue la colite
- Déficience en AhR hématopoïetique
  - pas de ILC3, pas de lymphocytes intra-épithéliaux
- Dégradation excessive des ligands AhR (par surexpression de Cyp1)
  > pas d'ILC3, et sensibilité à C. rodentium, récupéré par IL-22

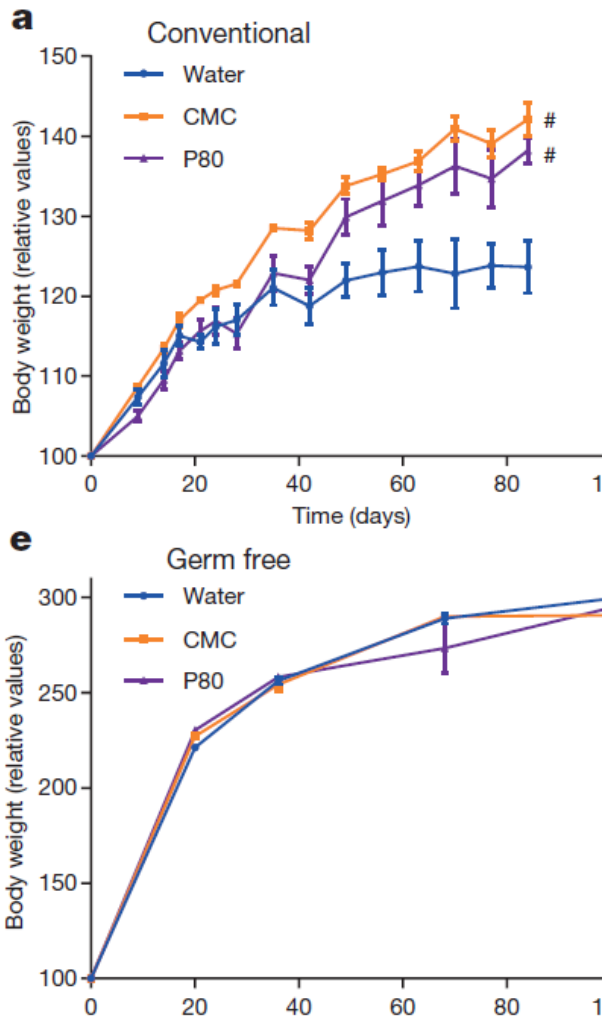


Lamas *et al, Nature Medicine* 2017
Schiering *et al*, *Nature* 2017

Additifs alimentaires : les émulsifiants sont ils incriminables ?





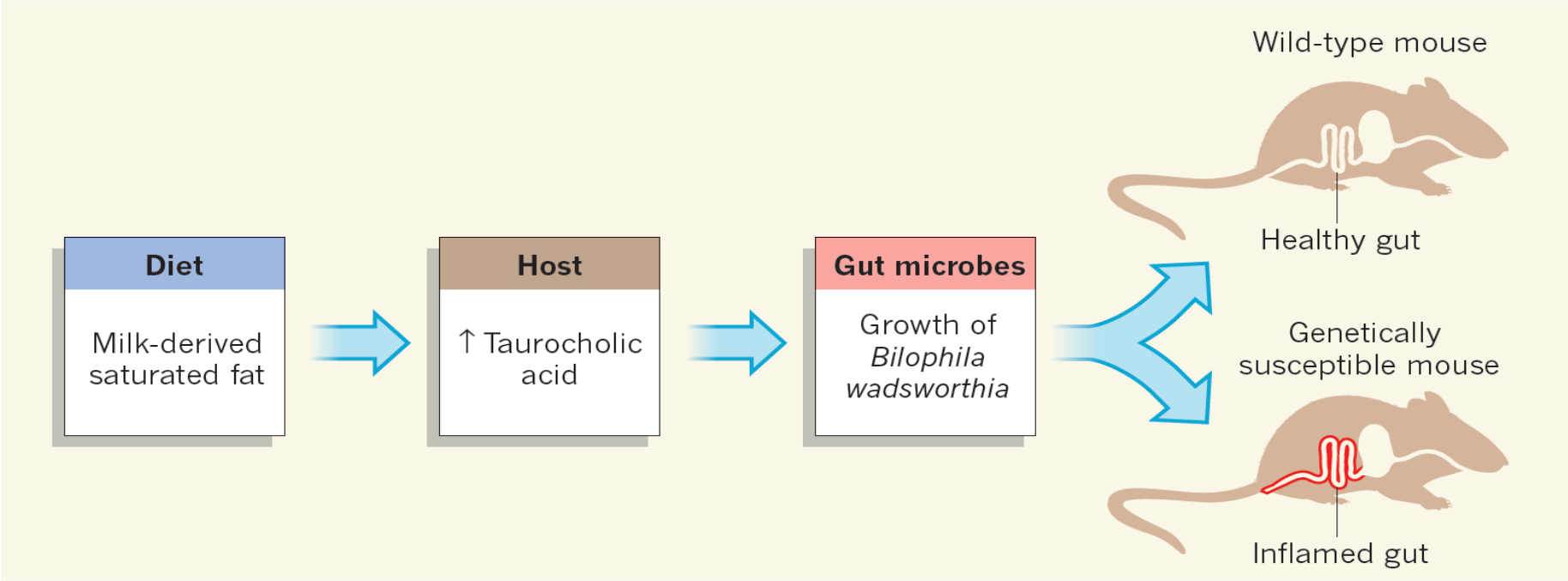


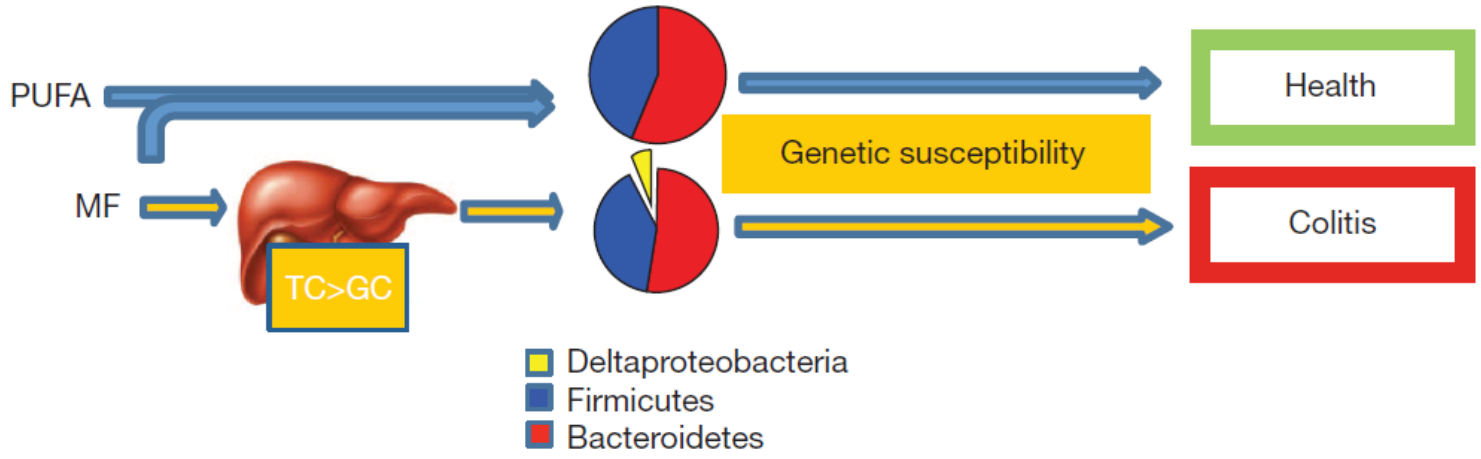
Les émulsifiants induisent
- une dysbiose
- Une perturbation de la perméabilité intestinale
- majorent la colite dans un modèle murin de colite spontanée
- Modifient le statut métabolique, de façon microbiote-dépendante

Chez la souris

Chassaing et al, Nature 2015

Alimentation: les graisses





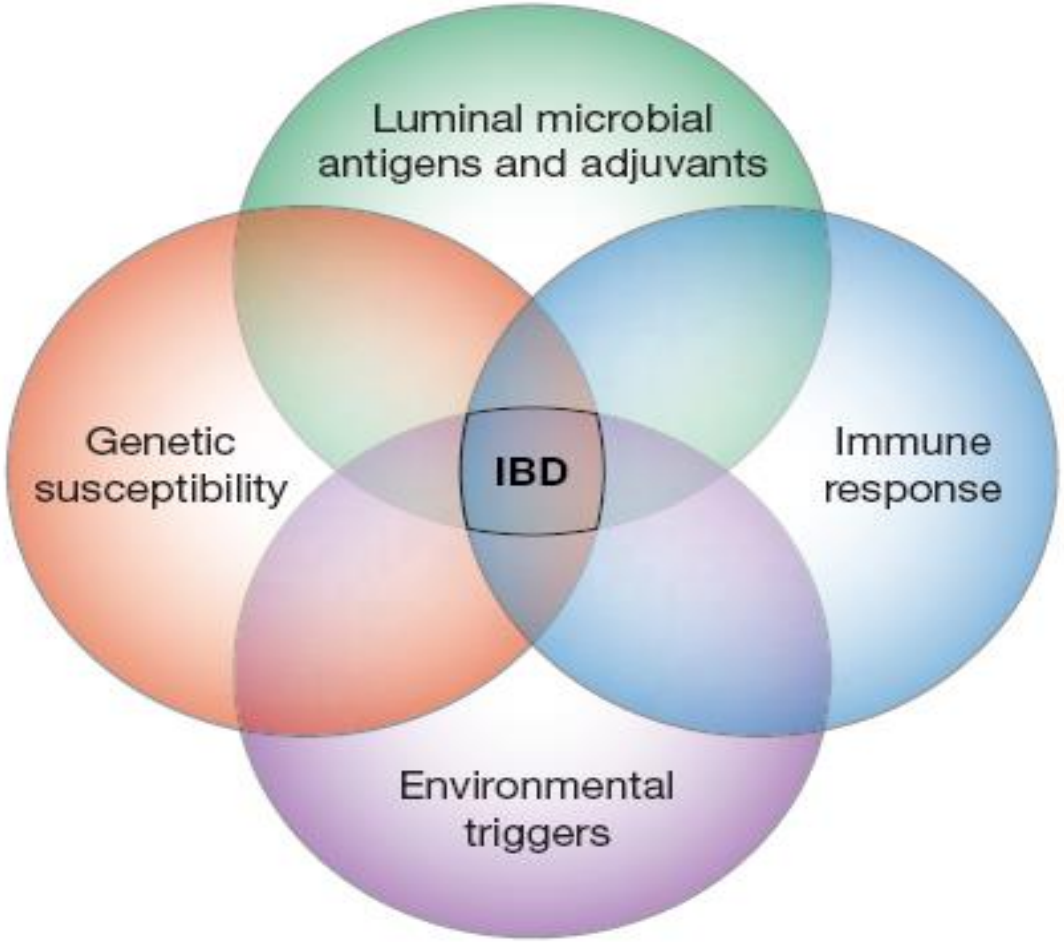
Devkota et al, Nature 2012

Conclusion

Physiopathologie **complexe, avec nombreux intervenants cellulaires&moléculaires**

Mécanismes initiateurs et promoteurs hétérogènes, et multiples

Relation Alimentation/Microbiote/hôte en pleine expansion



Pr Franck Carbonnel
Dr Thibaut Vaysse
Dr Isabelle Boytchev
Dr Rita Bou Farah
Dr Lysiane Marthey
Dr Emilie Soularue
Dr Audrey Giaoui
Dr Christophe Bellanger
Dr Jules Berthaux

ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

Inserm
La science pour la santé
From science to health

UMR-S-1193
Pr Didier Samuel
Equipe 3
Dr Jamila Faivre
Nicolas Moniaux
Patrick Gonzalez
Nicolas Joffre

Emma Valentino
Alice Deshayes
Alexandre Dos Santos