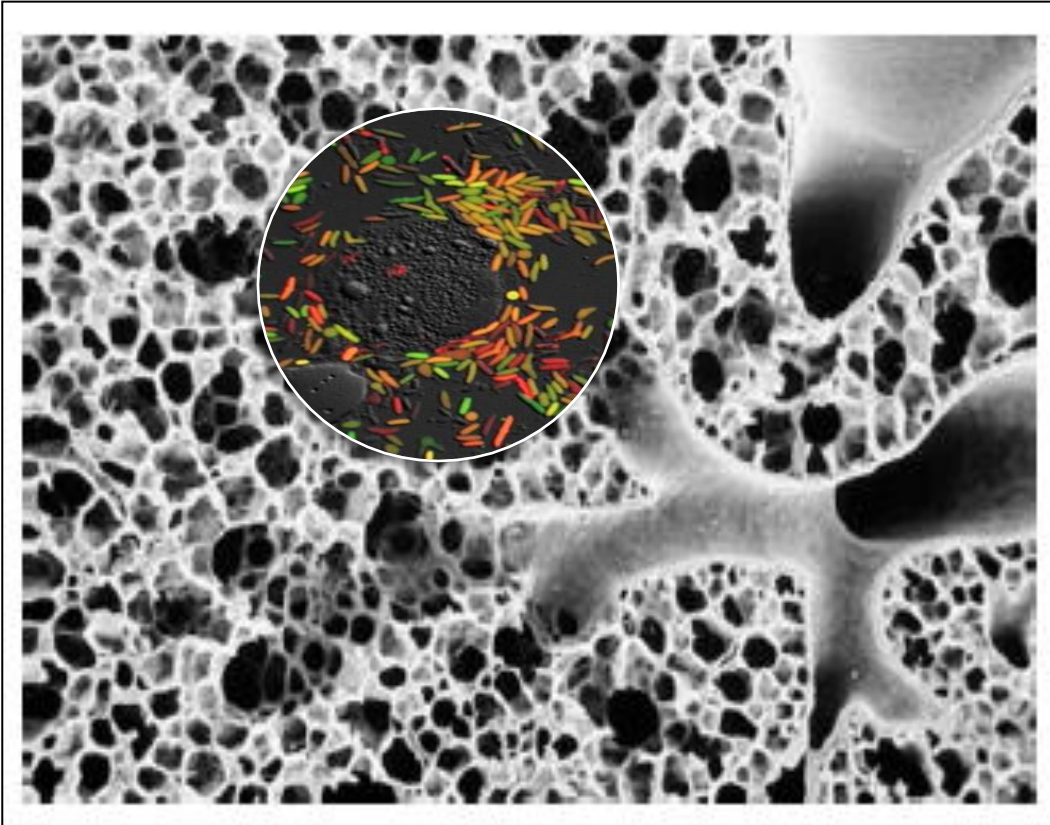


17 mars 2023

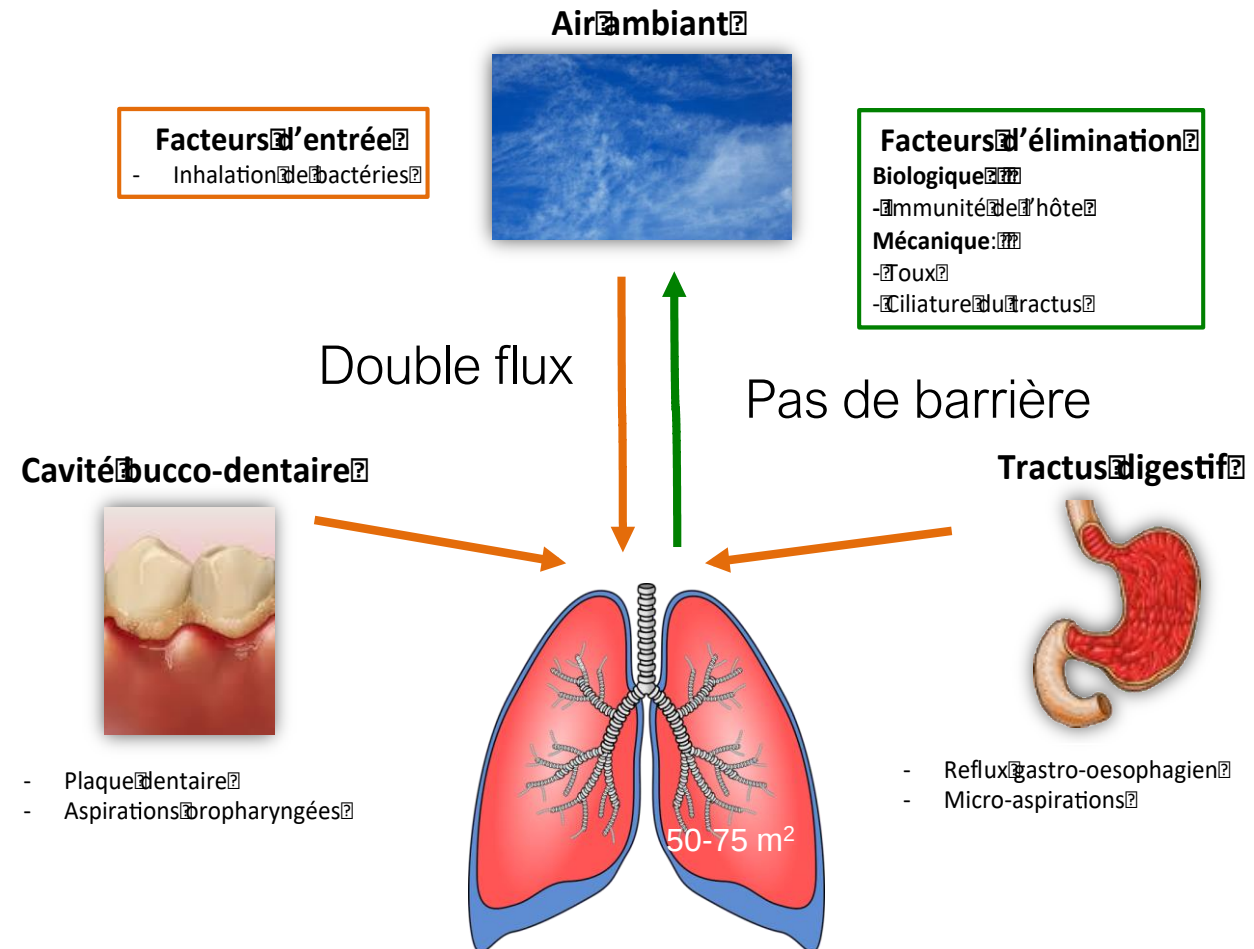
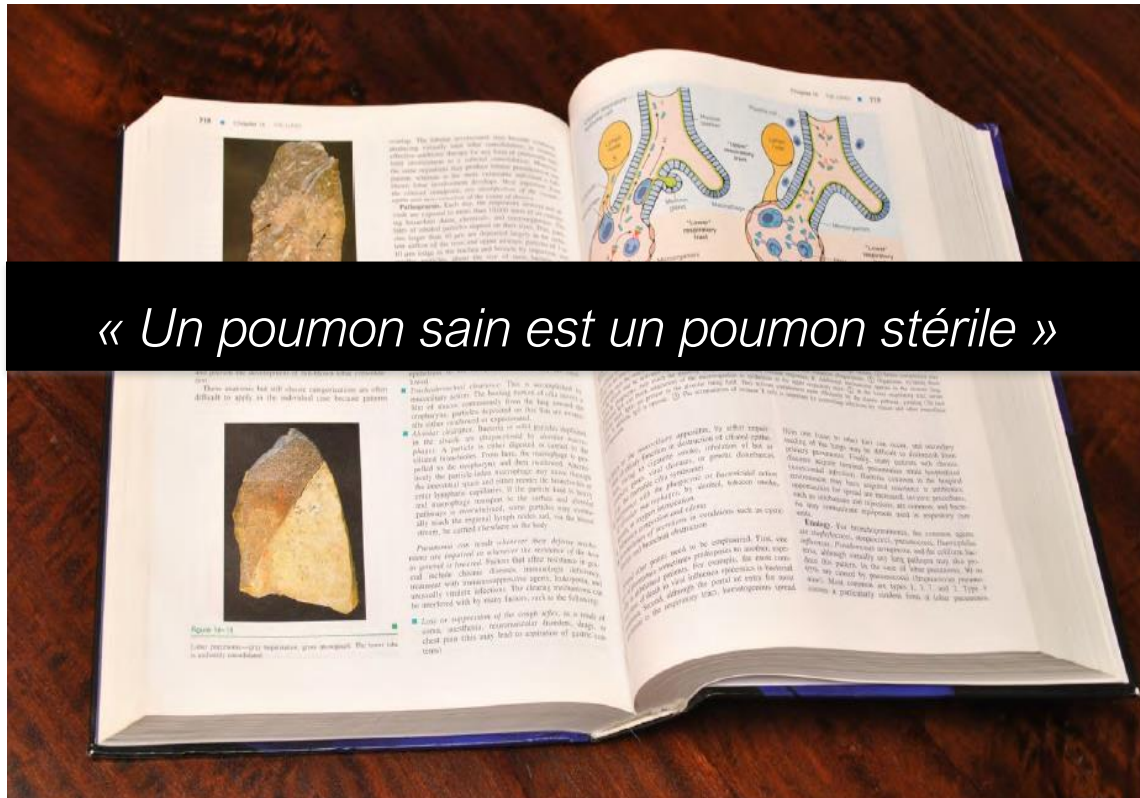


Le microbiote pulmonaire, à l'interface entre l'épithélium et le système immunitaire

Geneviève HÉRY-ARNAUD, bactériologue
INSERM UMR 1078 GGB / CHU BREST / UBO

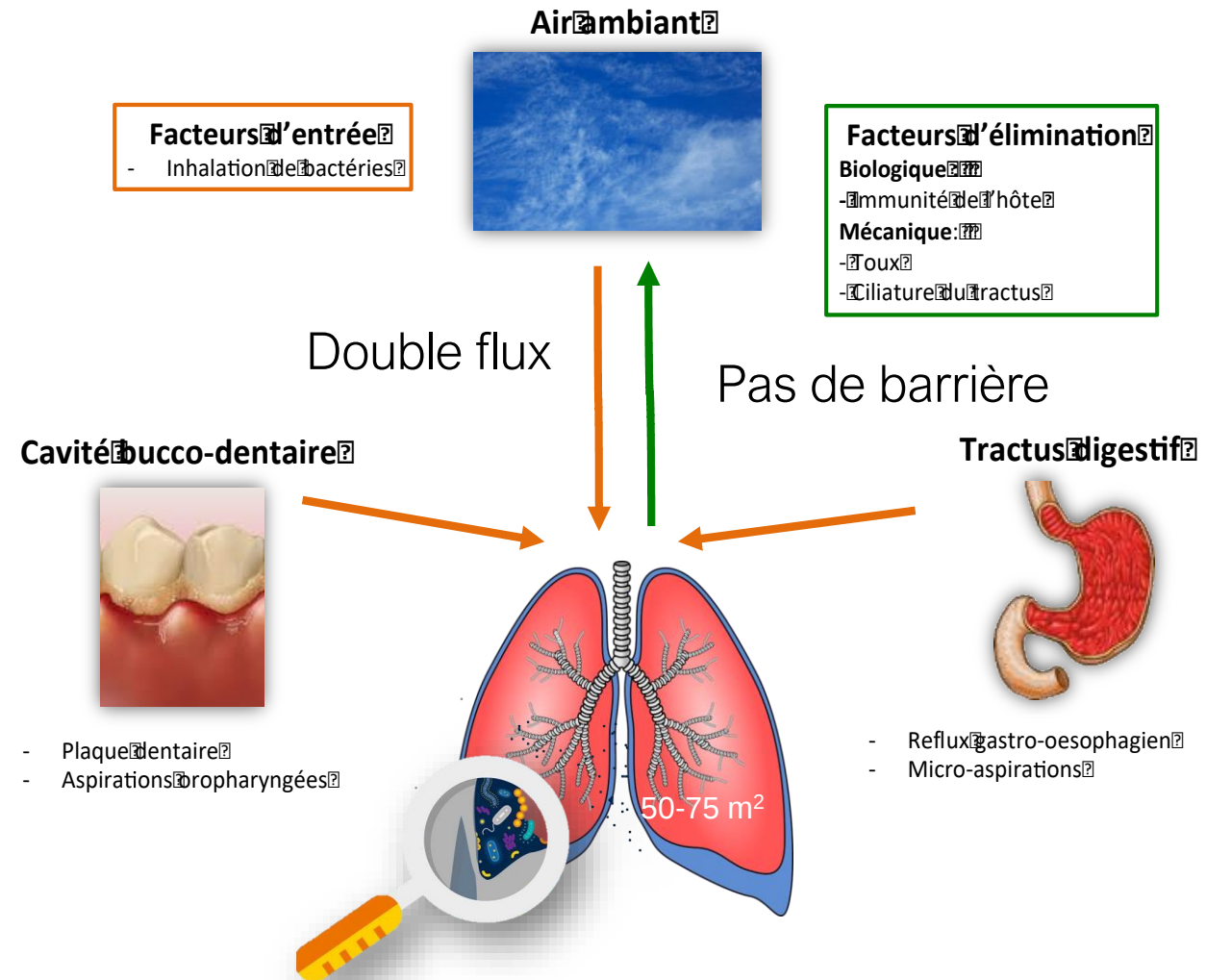
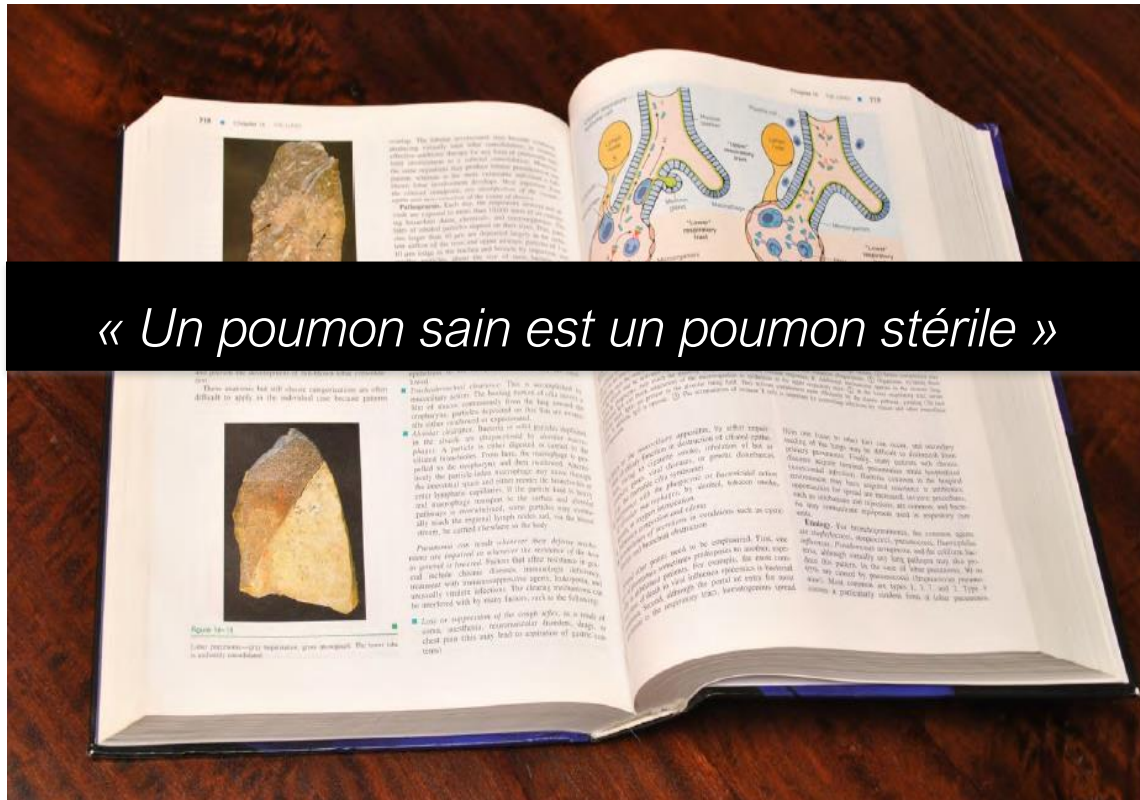
Le microbiote, une pièce importante du puzzle

• La fin d'un dogme



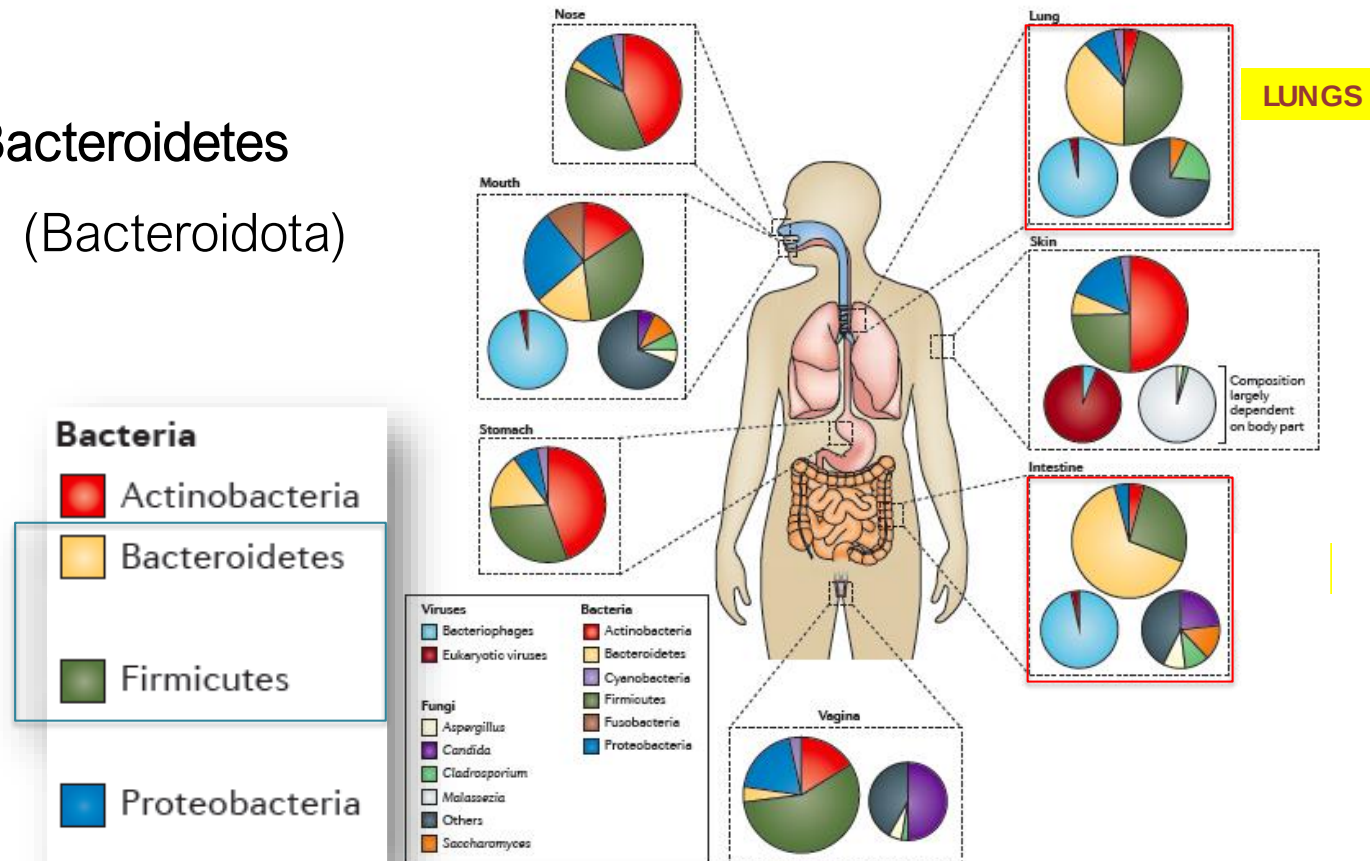
Le microbiote, une pièce importante du puzzle

• La fin d'un dogme



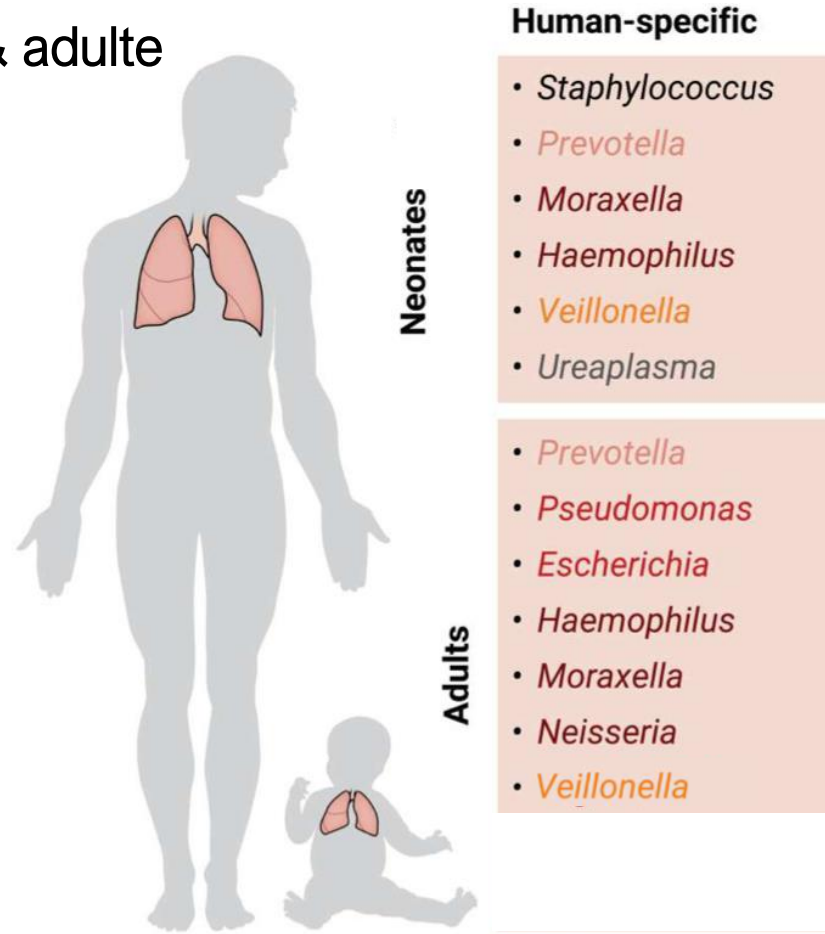
Carte d'identité du microbiote pulmonaire

- Faible densité bactérienne : 10^4 - 10^5 UFC/mL (LBA), 10^2 - 10^3 UFC/g (parenchyme)
- Forte biodiversité bactérienne (différents réservoirs)
- Microbiote dynamique
- 4 grands phyla représentés, y compris Bacteroidetes (Bacteroidota)
- Pas que des bactéries !
 - Virome
 - Mycobiome
 - Archéome



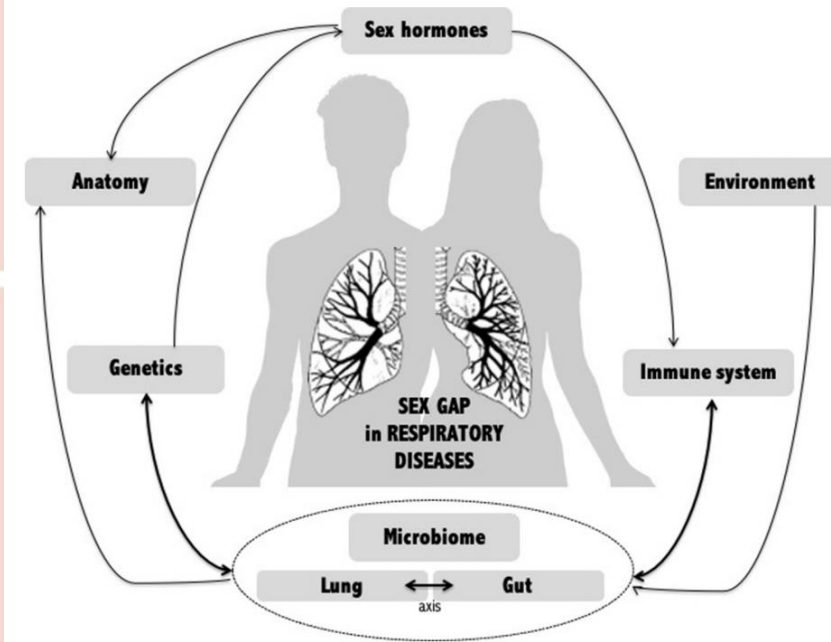
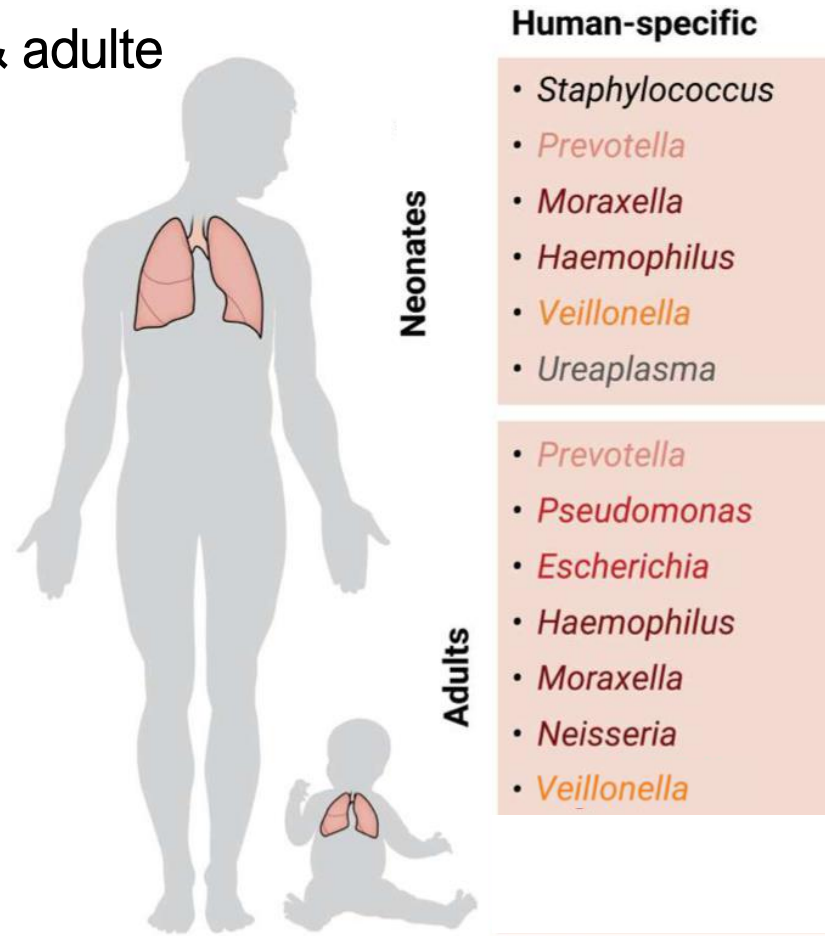
Les microbiotes pulmonaires

- Nourrisson *versus* enfant & adulte



Les microbiotes pulmonaires

- Nourrisson *versus* enfant & adulte
 - Femme *versus* homme
- « Microgenderome »



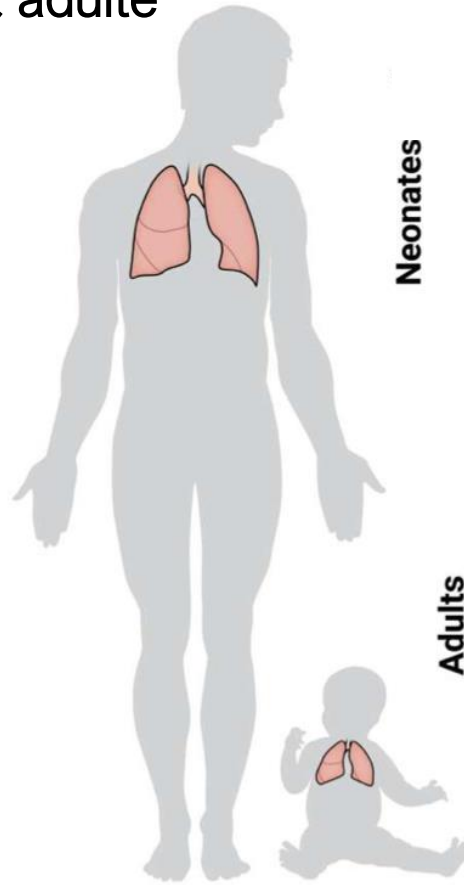
Les microbiotes pulmonaires

- Nourrisson *versus* enfant & adulte
- Femme *versus* homme
« Microgenderome »
- Homme *versus* souris



Modèles
animaux

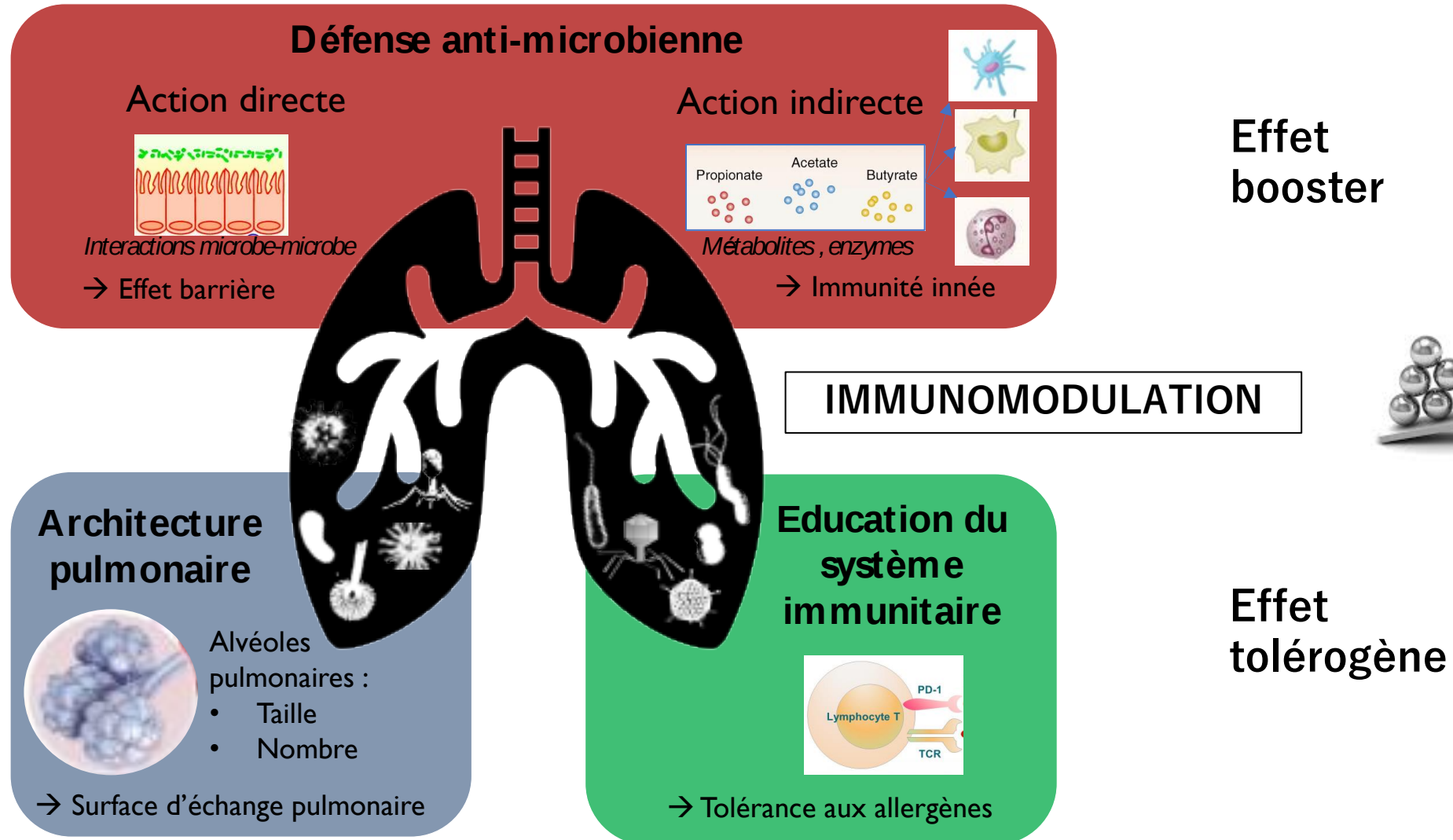
- ✓ Etude de la physiopathologie pulmonaire
- ✓ Etude de l'effet d'un principe actif



Human-specific	Shared	Mouse-specific
• <i>Staphylococcus</i> • <i>Prevotella</i> • <i>Moraxella</i> • <i>Haemophilus</i> • <i>Veillonella</i> • <i>Ureaplasma</i>	• <i>Streptococcus</i> • <i>Lactobacillus</i>	• <i>Defluviobacter</i>
• <i>Prevotella</i> • <i>Pseudomonas</i> • <i>Escherichia</i> • <i>Haemophilus</i> • <i>Moraxella</i> • <i>Neisseria</i> • <i>Veillonella</i>	• <i>Streptococcus</i> • <i>Staphylococcus</i>	• <i>Lactobacillus</i> • <i>Bacillus</i> • <i>Achromobacter</i> • <i>Defluviobacter</i> • <i>Lysinibacillus</i>



Rôles du microbiote broncho-pulmonaire



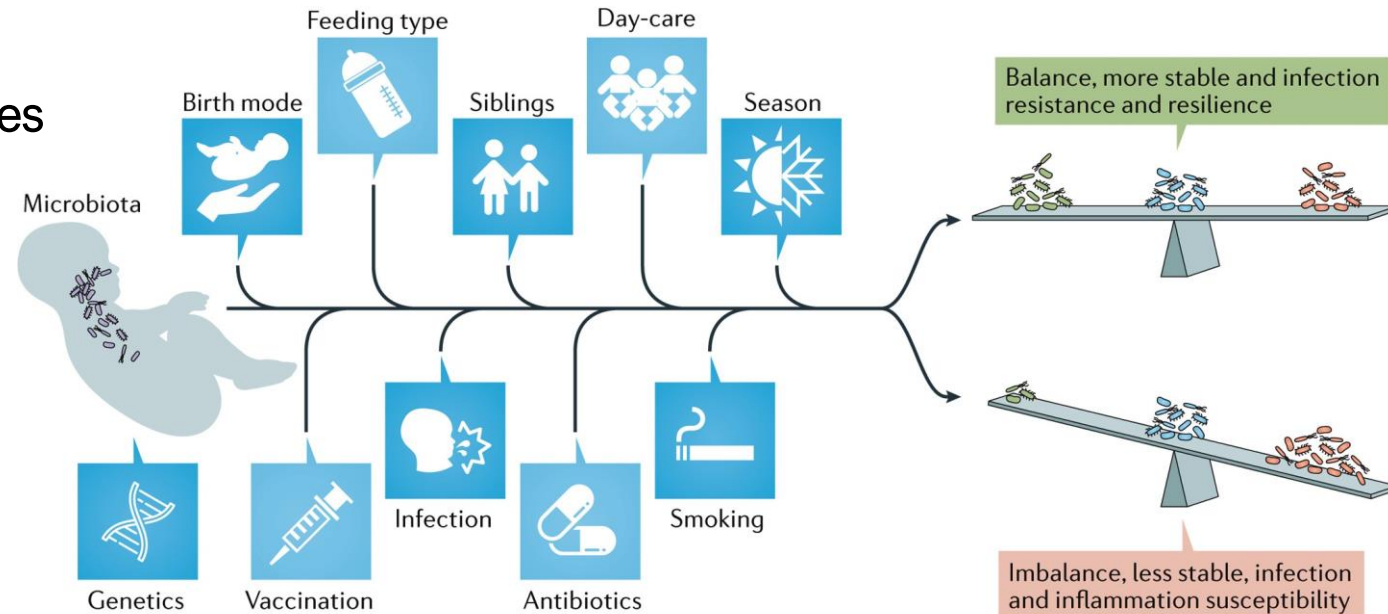
Maturation du microbiote pulmonaire & Système Immunitaire

- Soumise à l'influence de 5 facteurs majeurs



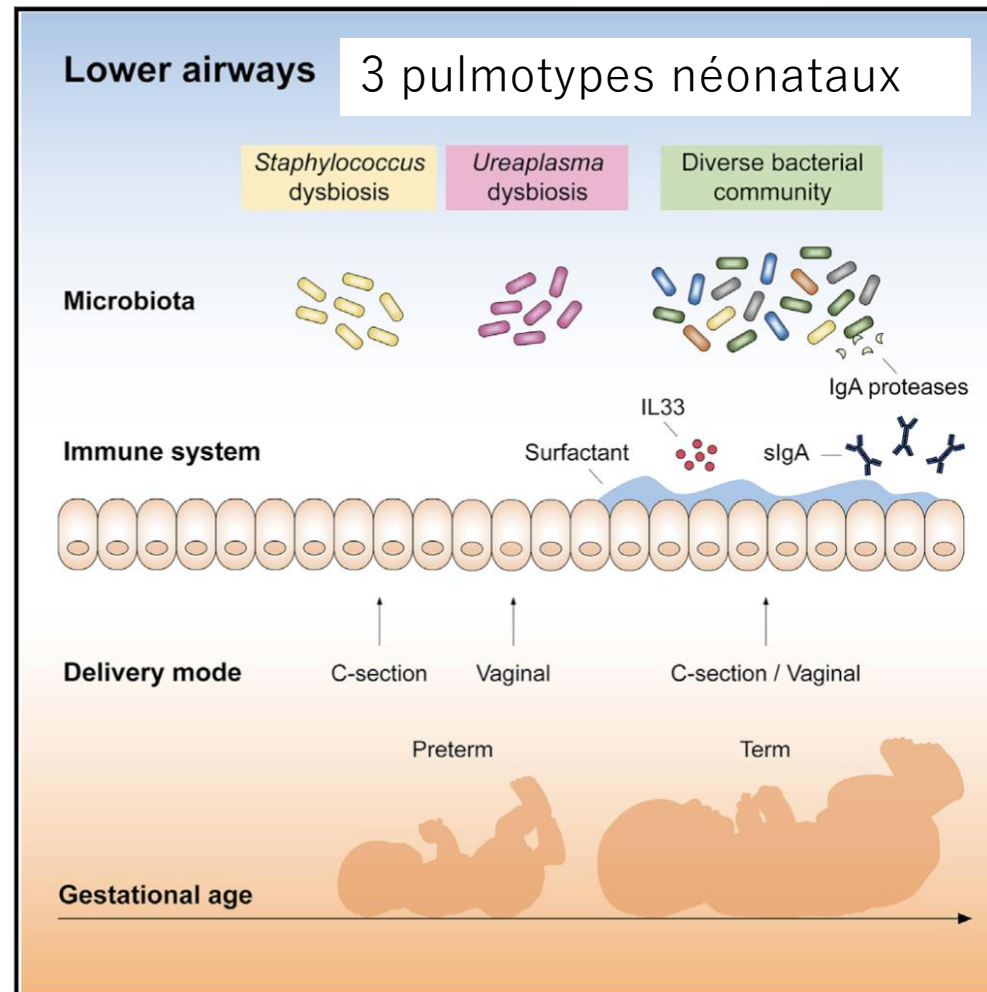
1. Age gestationnel
2. Mode de délivrance : pour les enfants prématurés
3. Mode d'alimentation
4. Exposition aux antibiotiques
5. Développement de maladies intercurrentes

Ex. Infections virales respiratoires



Maturation du microbiote pulmonaire & Système Immunitaire

- Précoce : 2 premiers mois de vie



Maturation du microbiote pulmonaire & Système Immunitaire

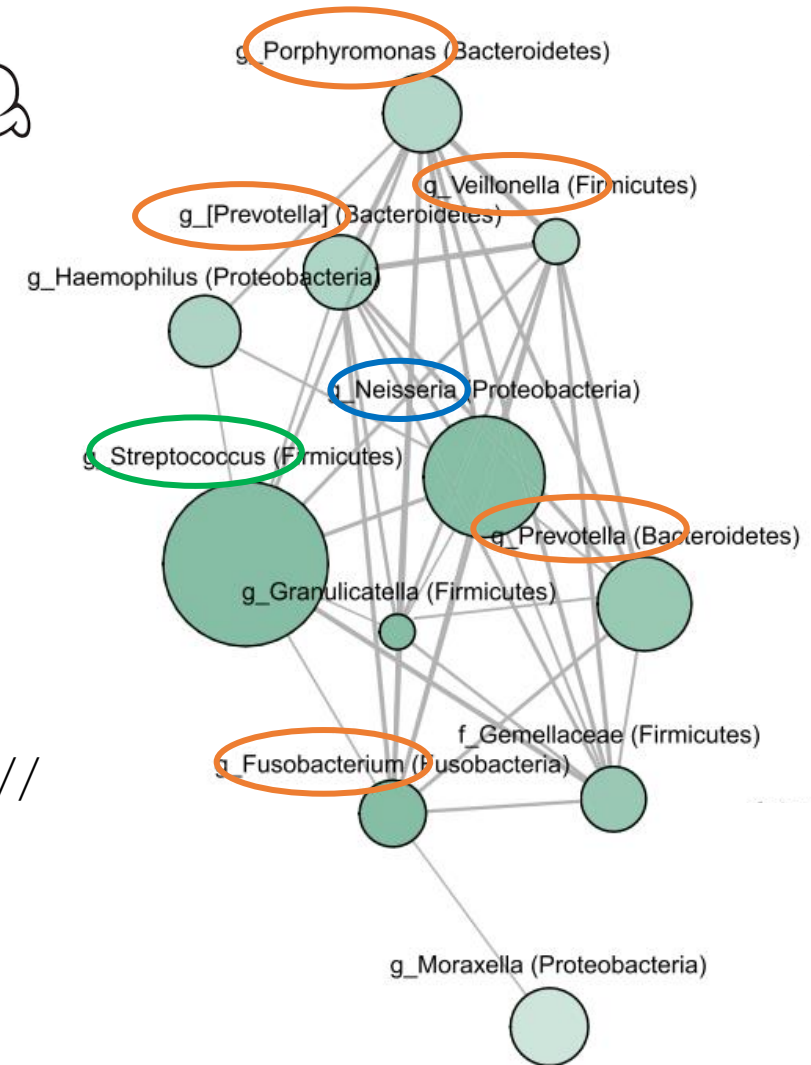
- **Caractéristiques du pulmotype néonatal sain**

- Diversifié
- Genres prédominants : *Streptococcus* et *Neisseria*
- Nombreuses bactéries anaérobies

- **Rôle du microbiote néonatal diversifié :**

- Induction de l'expression du gène de l'IL-33
- Accélération de la maturation de la voie de synthèse des IgA
- Augmentation de l'expression des gènes bactériens anti-IgA en //

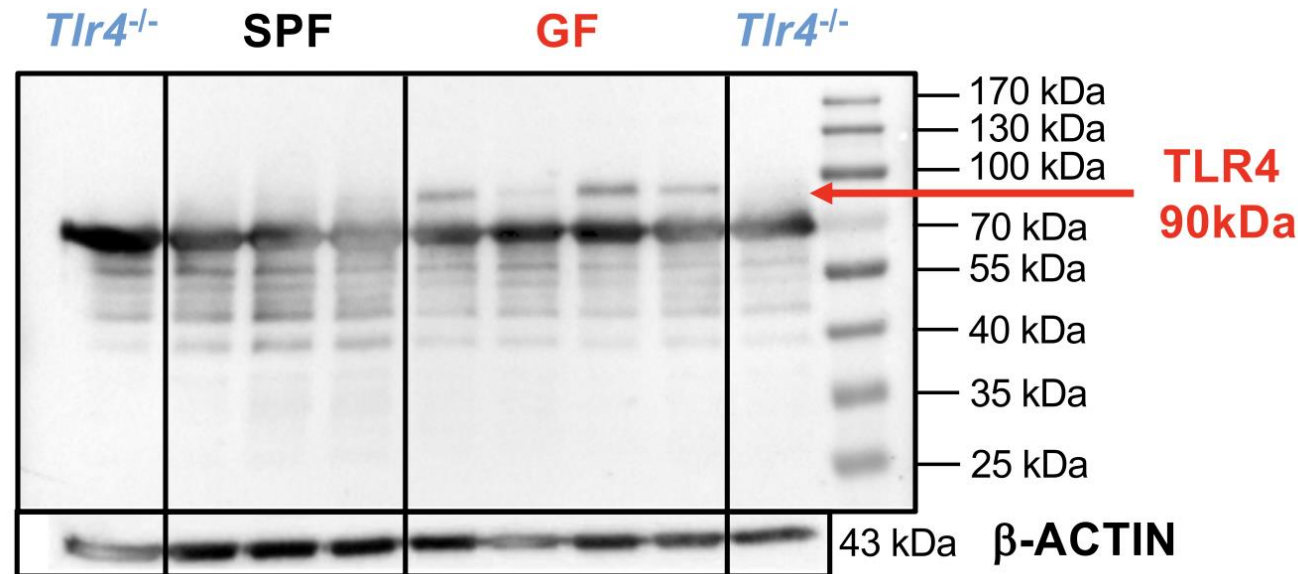
→ « Cross-talk » précoce entre le système immunitaire
et le microbiote pulmonaire



Le microbiote pulmonaire, un éducateur immunologique

- Rôle dans la tolérance immunitaire innée : « imprinting » par le microbiote pulmonaire


Souriceaux
soumis à du LPS
intranasal



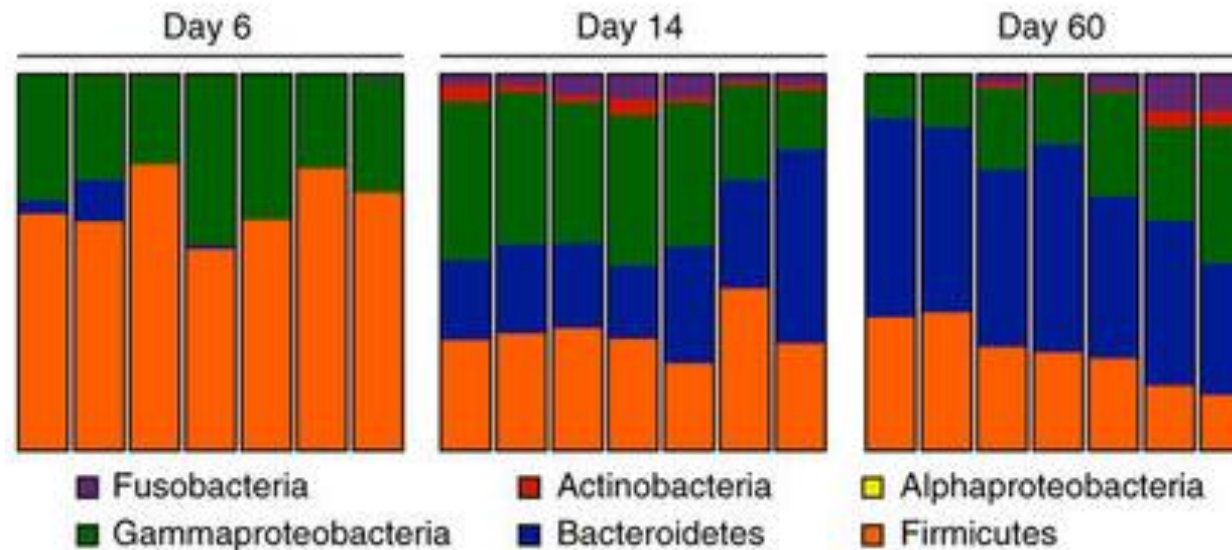
- Réaction inflammatoire plus précoce et plus intense chez les souris axéniques (GF)
- **Surexpression de TLR4** chez les souris GF
- Le microbiote contrôlerait l'expression de TLR4

Le microbiote pulmonaire, un éducateur immunologique

- Rôle dans l'éducation du système immunitaire adaptatif : induction de la tolérance



Souriceaux
soumis à des
aéro-allergènes



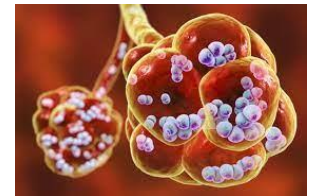
- 2 premières semaines de vie : augmentation de la biomasse du microbiote pulmonaire
 - Shift du microbiote : ↗ **Bacteroidetes**
- émergence des **Treg** PDL-1 dpt → diminution de la réactivité aux aéro-allergènes

Le microbiote pulmonaire, un protecteur immunologique

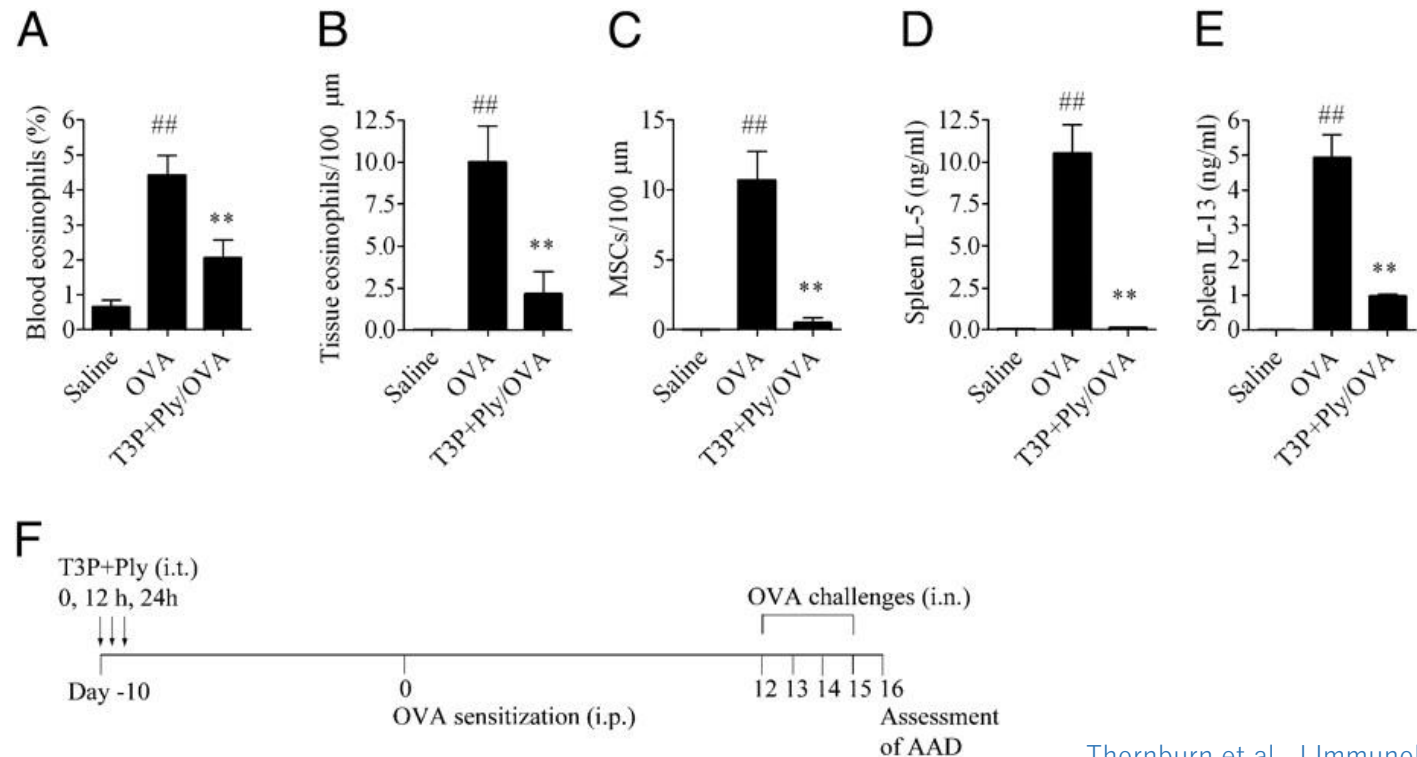
- Rôle dans la prévention contre l'asthme allergique.

Exemple du pneumocoque commensal administré par voie intratrachéale.

→ Augmentation de la suppression des cellules NK, des éosinophiles et des réponses TH2 médiée par les cellules Treg.



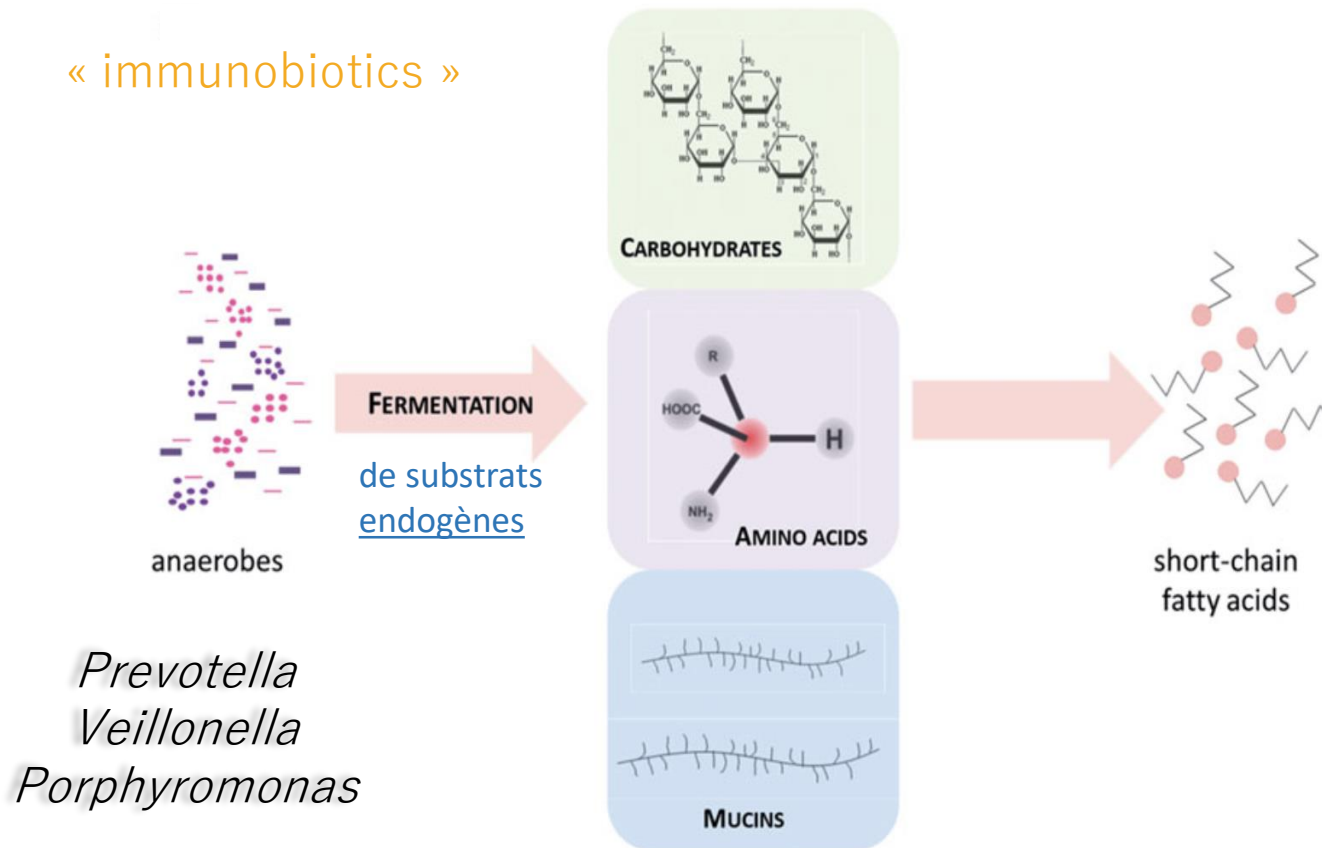
Souris soumises
à des allergènes



Le microbiote pulmonaire, un médiateur immunologique

- **Rôle des bactéries anaérobies pulmonaires** (50% de l'abondance des espèces pulmonaires)

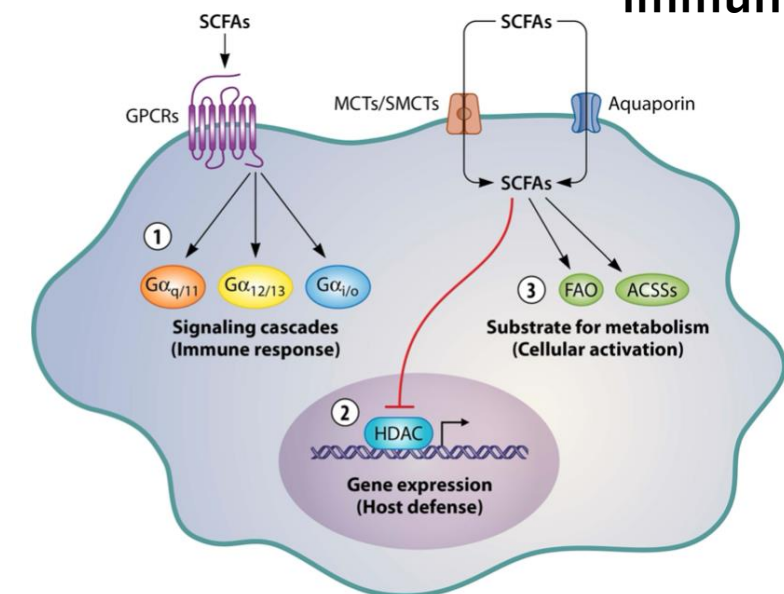
« immunobiotics »



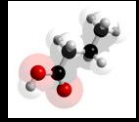
Acides gras à chaîne courte (AGCC) :

- Acétate (C2)
- Propionate (C3)
- Butyrate (C4)

= régulateurs cellulaires (cellules immunitaires)



Les AGCC bactériens, des immuno-métabolites



- **Origine locale** (pas que d'origine intestinale !)

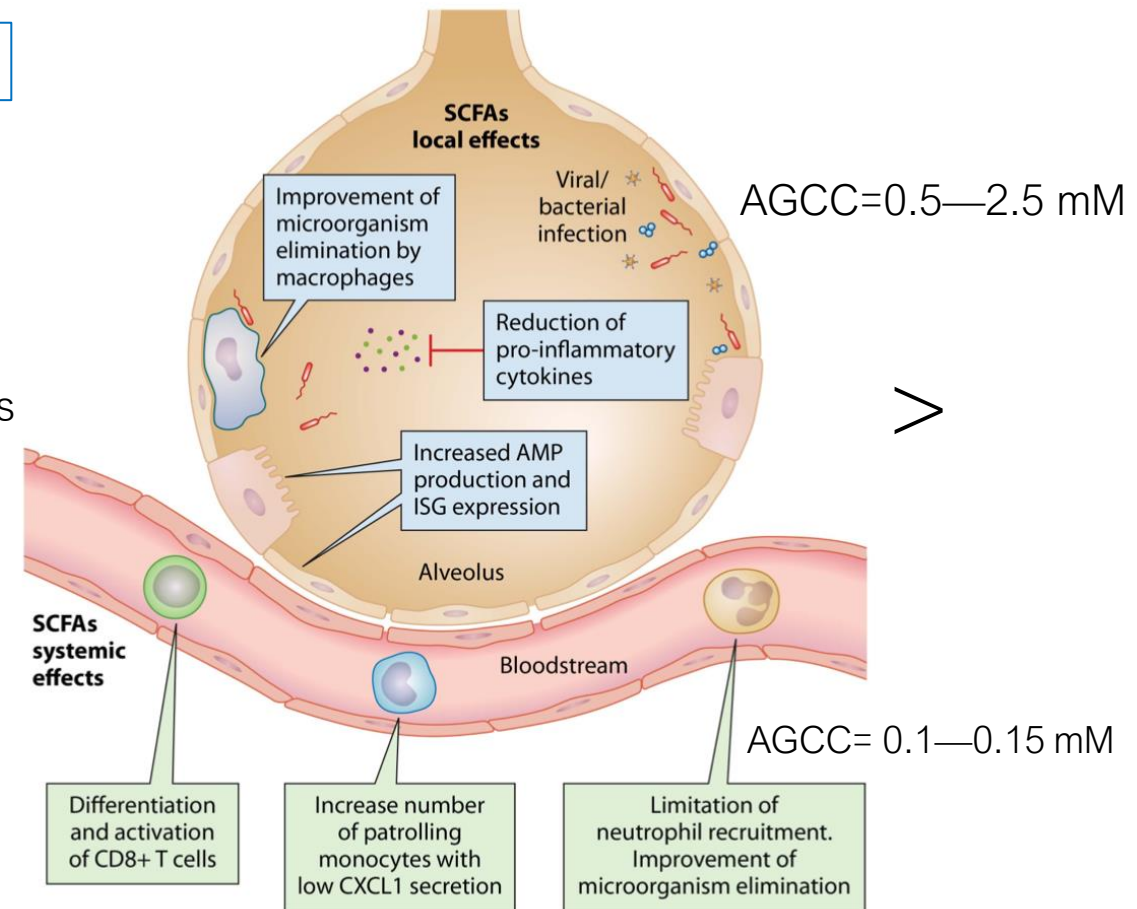
- **Action :** Antimicrobien + Anti-inflammatoire

LOCALE

- Effet anti-bactérien direct
- Stimulation de l'activité macrophagique anti-microbienne
- Stimulation de l'expression de *ISG* : production d'IFN- β 1
- Réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires

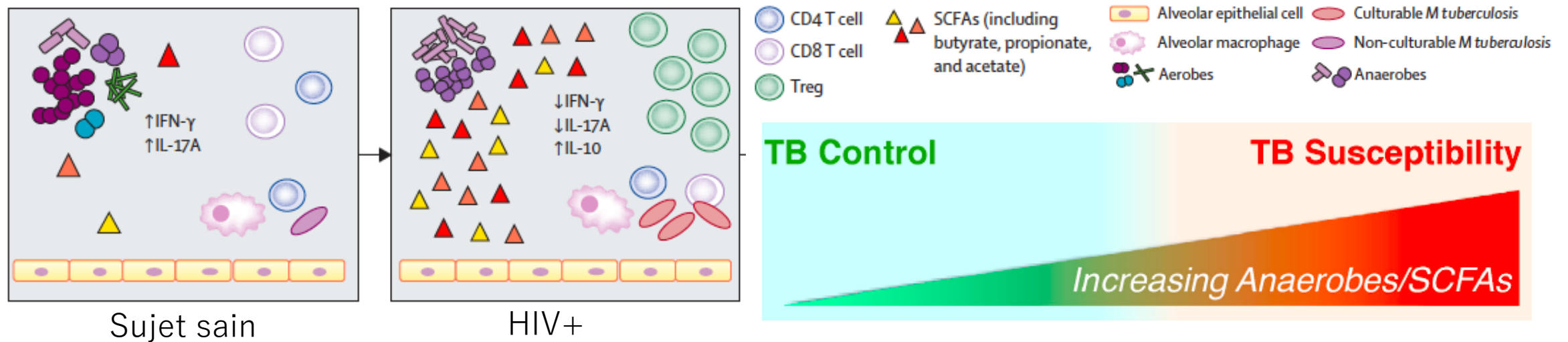
SYSTEMIQUE

- Différentiation et activation des LT CD8+
- Augmentation des monocytes circulants faiblement producteurs de CXCL-1
- Limitation du recrutement des PNN
- Amélioration du pouvoir bactéricide des PNN



Action des AGCC bactériens : fonction du terrain

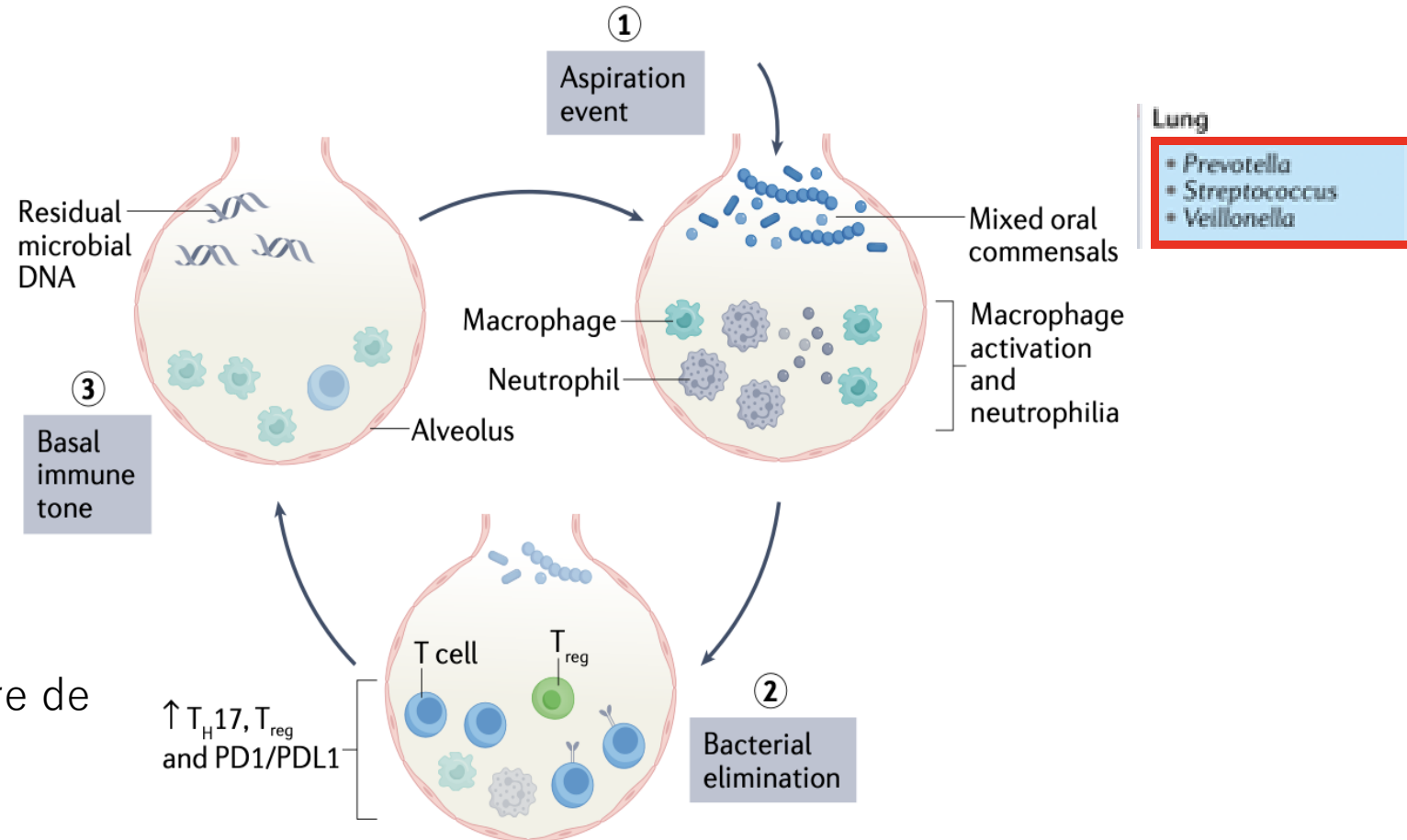
- **Les AGCC pulmonaires stimulent la progression de la tuberculose chez les VIH+**
 - Dysbiose → Augmentation de l'abondance en *Prevotella*
 - Concentration élevée en AGCC (butyrate et propionate) dans les LBA
 - Corrélation positive entre la concentration en AGCC et le risque de tuberculose maladie



→ La réponse immunitaire au microbiote pulmonaire : conditionnée par le contexte général.

Impact de l'homéostasie dynamique du microbiote pulmonaire

- Entretien de la stimulation immunitaire

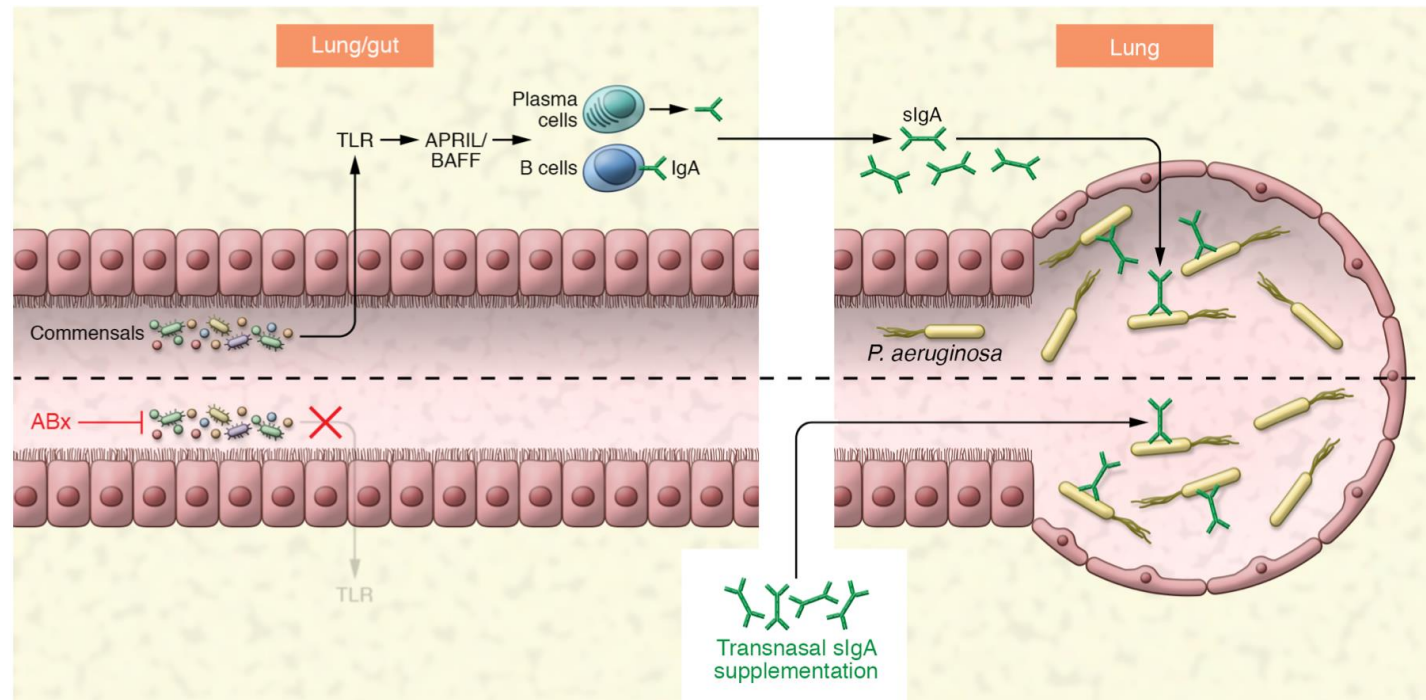


« Upregulation » transitoire de l'immunité adaptative

Impact de la dysbiose pulmonaire antibio-induite

- Altération de la défense antibactérienne pulmonaire
- Explication : diminution de la production d'IgA pulmonaire.

Exemple de l'infection à *P. aeruginosa* traitée par une antibiothérapie à large spectre



APRIL : TLR-dependent production of a proliferation-inducing ligand

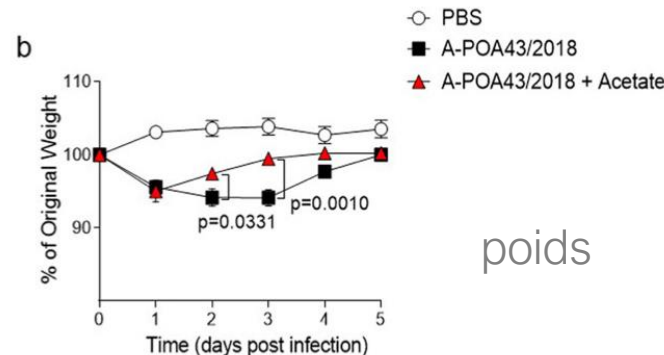
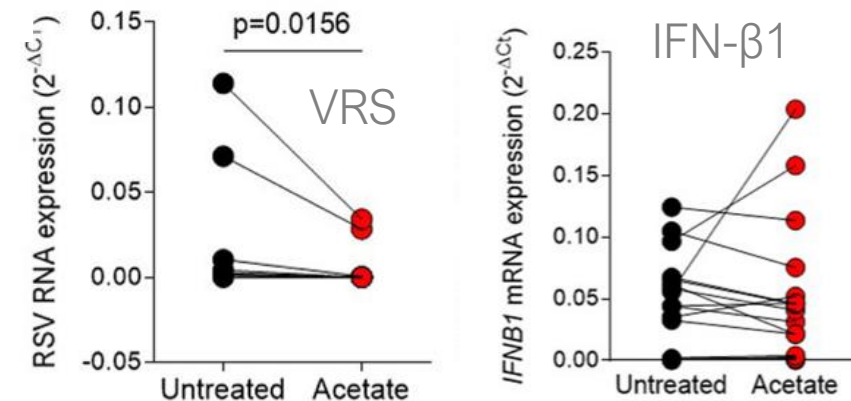
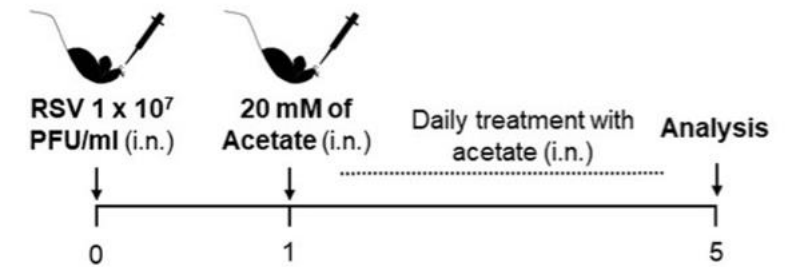
Take-home messages

- Importance du microbiote pulmonaire dans **l'homéostasie immunitaire**.
- Levier d'action pour la **prévention** des pathologies respiratoires à composante infectieuse/inflammatoire (muco, asthme, BPCO, DDB, ...).
- Renforcer cette **barrière microbiologique respiratoire** pour mieux prévenir les affections respiratoires sur les terrains à risque.
- Nécessité de le préserver **le plus tôt** possible : limiter les antibiotiques, pollution aux particules fines, tabac,...
- Développement de **l'immunothérapie** en pneumologie (ex. traitement du cancer pulmonaire) : *quid* de **l'impact du microbiote pulmonaire** sur le succès thérapeutique ?



Le microbiote pulmonaire : Rôle dans la prévention des infections virales

- La production d'AGCC stimulent la défense immunitaire innée
- Etude des effets de l'**acétate** contre le VRS et SARS-CoV-2 (approche *ex vivo* 🧐 et *in vivo* 🐭)
- Réponse médiée par :
 - Récepteur membranaire : GPR43
 - Récepteur cytosolique : RIG-1 (retinoic acid-inducible gene I)
- Effet : stimulation de la production d'IFN- β 1 (et gènes inhérents)



poids

→ Réponse antivirale +++

Antunes et al., The Lancet 2022

Antunes et al., Nature Communication 2021

Microbiote, reflet de l'hôte

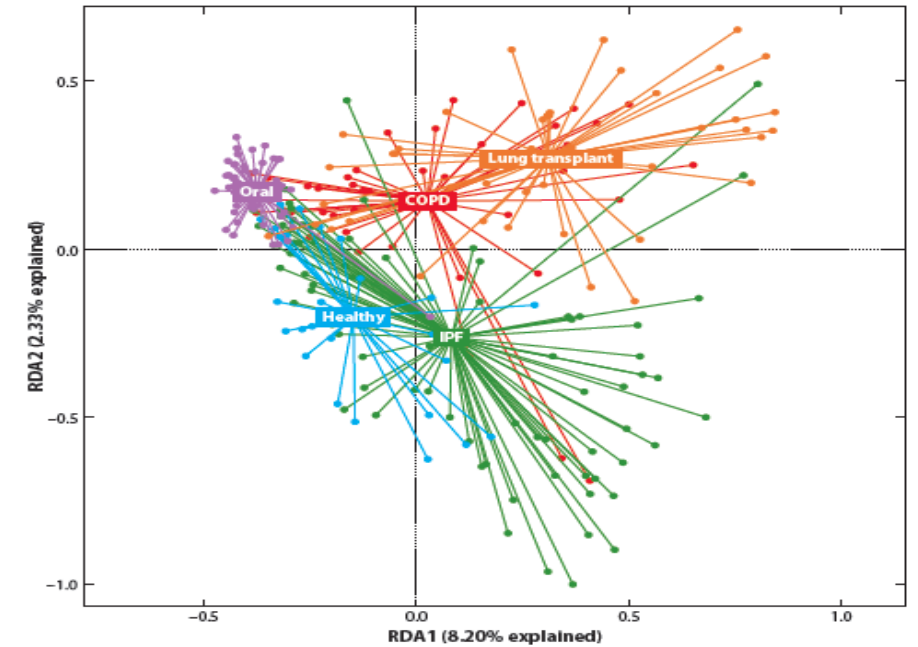
Signatures microbiennes selon le terrain

- Sain
- Transplantés pulmonaires
- Fibrose pulmonaire idiopathique
- BPCO

Concept de « phenomics »

Le microbiote fait la synthèse entre le génome de l'hôte et l'environnement.

→ Etude du microbiote = voie d'accès à la médecine de précision.

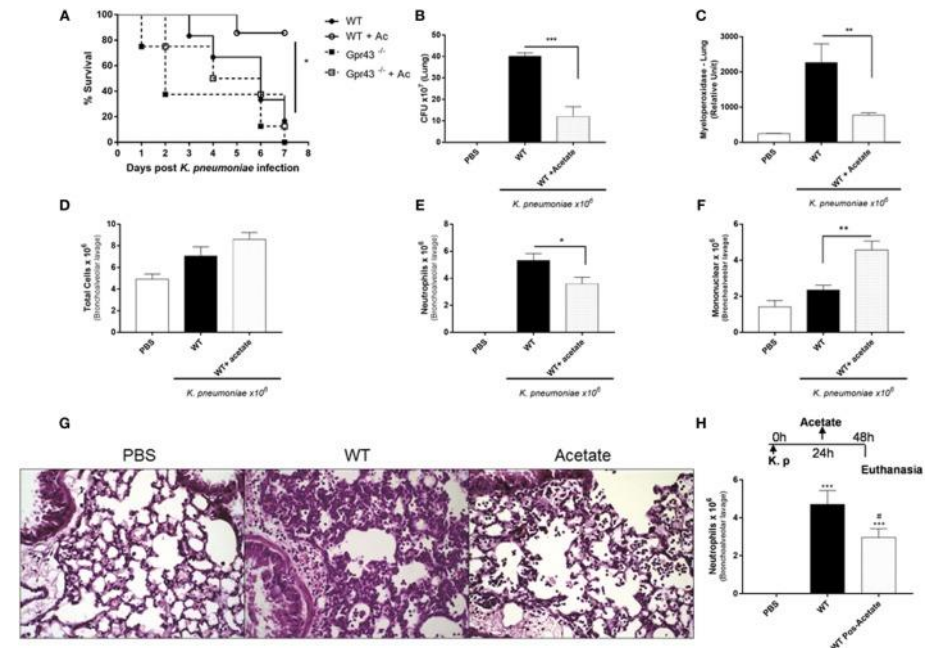


LES AGCC, le couteau suisse bactérien

➤ Action indirecte anti-microbienne *via* la modulation de l'hôte

✓ Action de l'acétate sur les **macrophages** et **PNN**

- Augmentation de la phagocytose
 - sur *Klebsiella pneumoniae*
 - sur *Streptococcus pneumoniae*
- Souris KO sur GPR43 : plus sensible à l'infection à *K. pneumoniae*



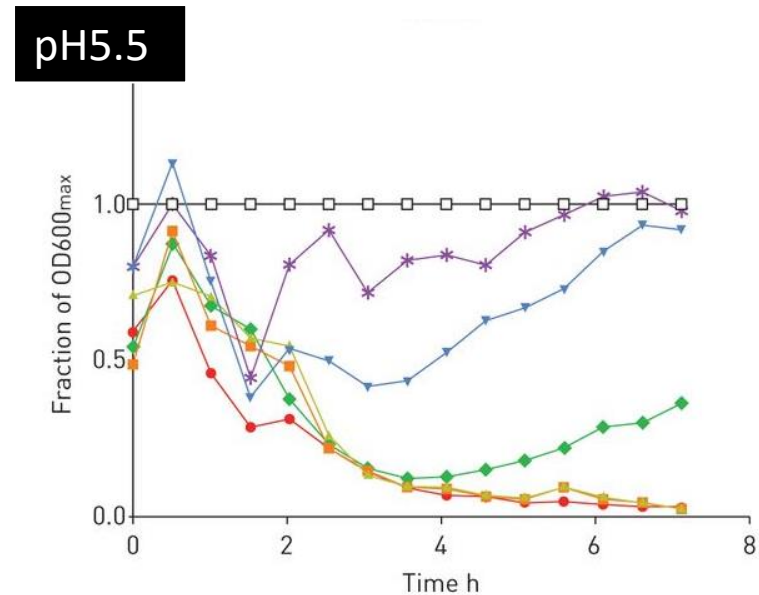
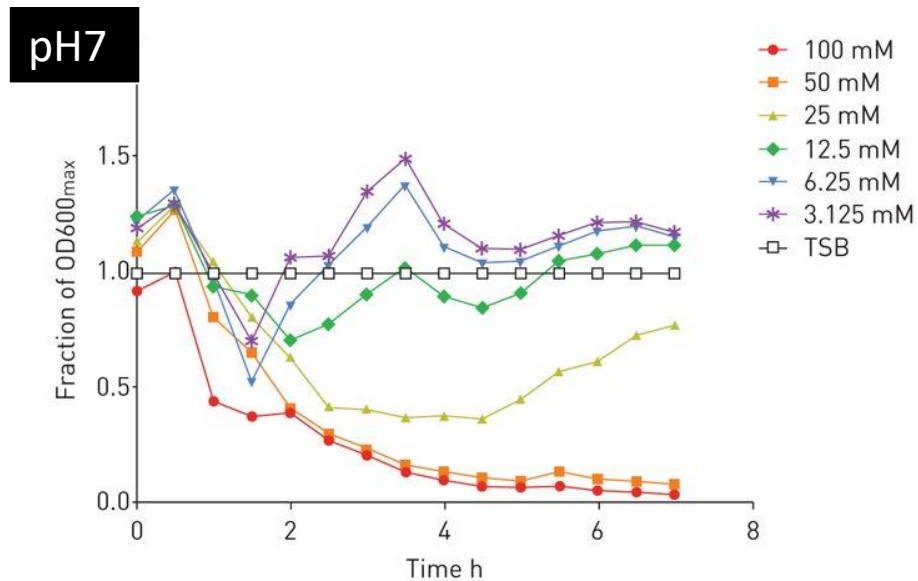
LES AGCC, le couteau suisse bactérien

➤ Action directe sur la croissance des pathogènes : ↘

- Activité bactéricide ou bactériostatique des AGCC
- Ex. Effet du **propionate** sur *P. aeruginosa*

in vitro

- Différents pH
- Différentes concentrations en propionate

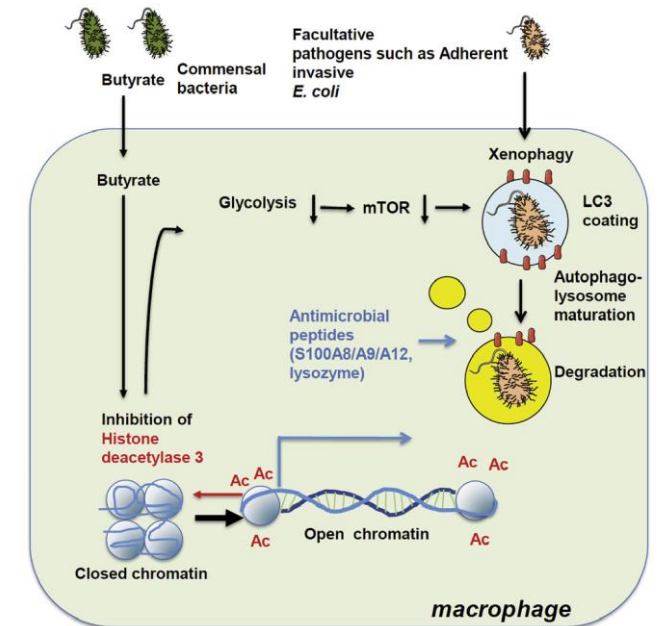


LES AGCC, le couteau suisse bactérien

➤ Action indirecte anti-microbienne *via* la modulation de l'hôte

✓ Action du **butyrate** sur les **macrophages**

- Programmation à la défense anti-bactérienne (M1)
- Augmentation de leur pouvoir de phagocytose sur *Candida* et *M. tuberculosis*



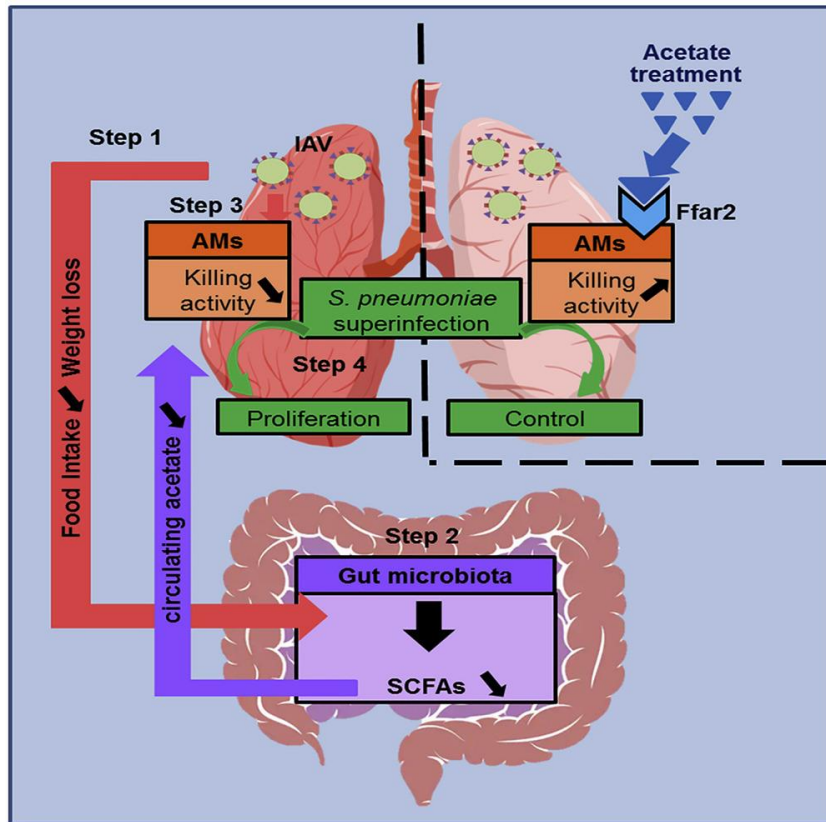
✓ Action du **butyrate** sur les **cellules épithéliales respiratoires**

- Augmentation de la production de peptides antimicrobiens

LES AGCC et l'axe « gut-lung »

AGCC : origine uniquement intestinale ?

Grippe Super-infection

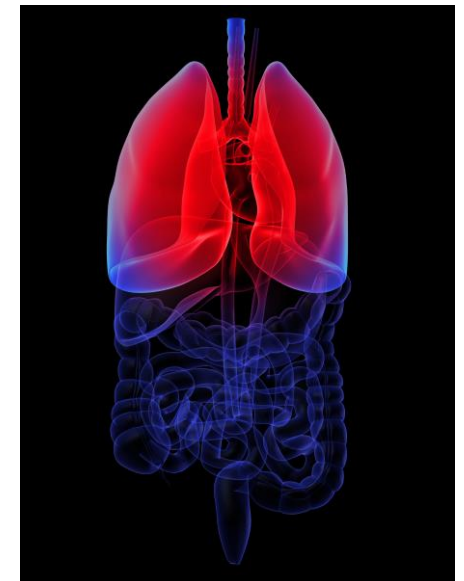
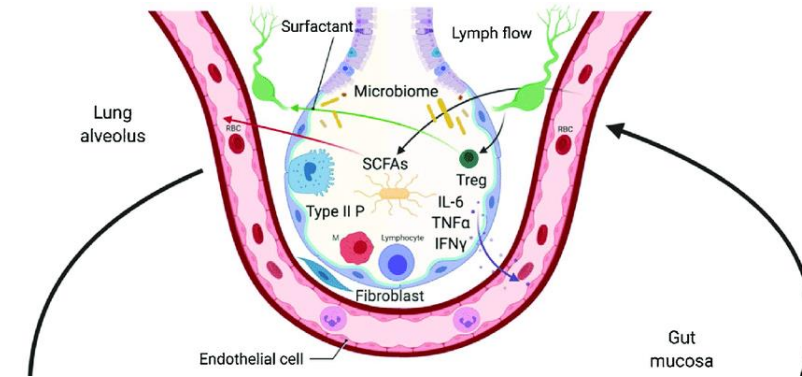


SENCIO ET AL., CELL REPORTS 2020

SYNTHESE+EFFET LOCAL DES AGCC

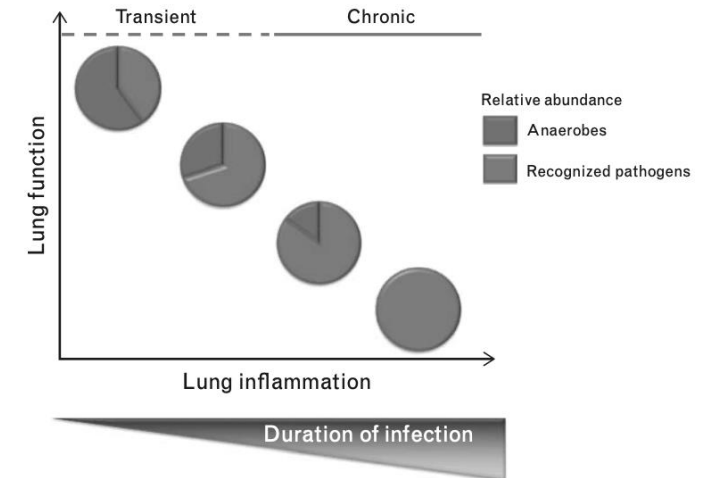
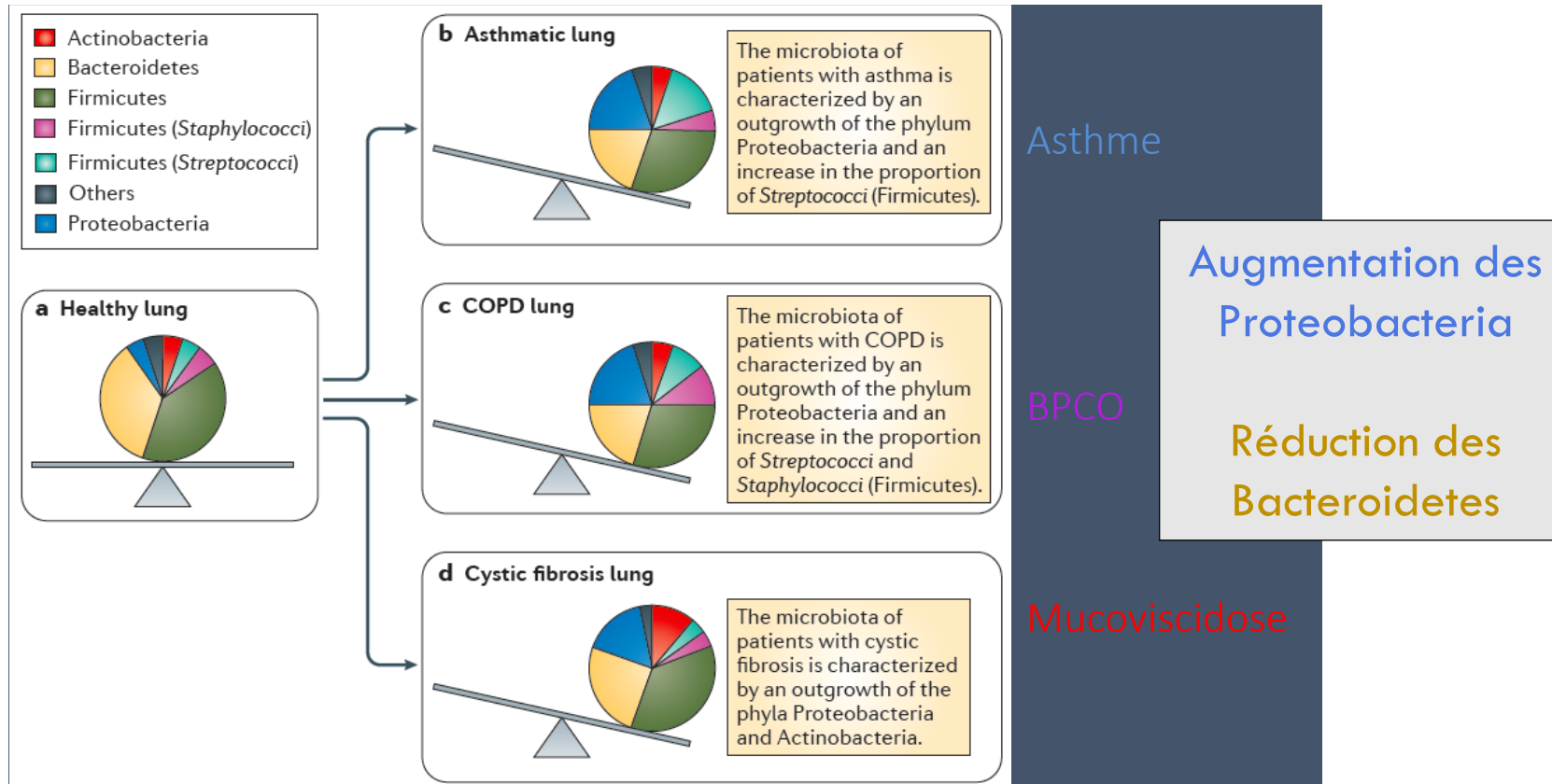
Principaux AGCC	Intestin	Sang	Poumon
Acétate (C2)	60%	100-150 μ M	?
Propionate (C3)	20%	4-5 μ M	?
Butyrate (C4)	20%	1-3 μ M	?
Total	10-100 mM	0.10-0.15 mM	0.5-2.5 mM

TROMPETTE ET AL., NATURE 2018; SEGAL ET AL., CELL HOST MICROBES 2017



Importance physiologique des anaérobies

Homéostasie pulmonaire



Rupture de l'homéostasie :
graduelle

Lien avec l'immunité PULMONAIRE

Transférabilité du phénotype hyperinflammatoire/microbiote

- Greffe de microbiote pulmonaire



Ex. modèle
murin BPCO

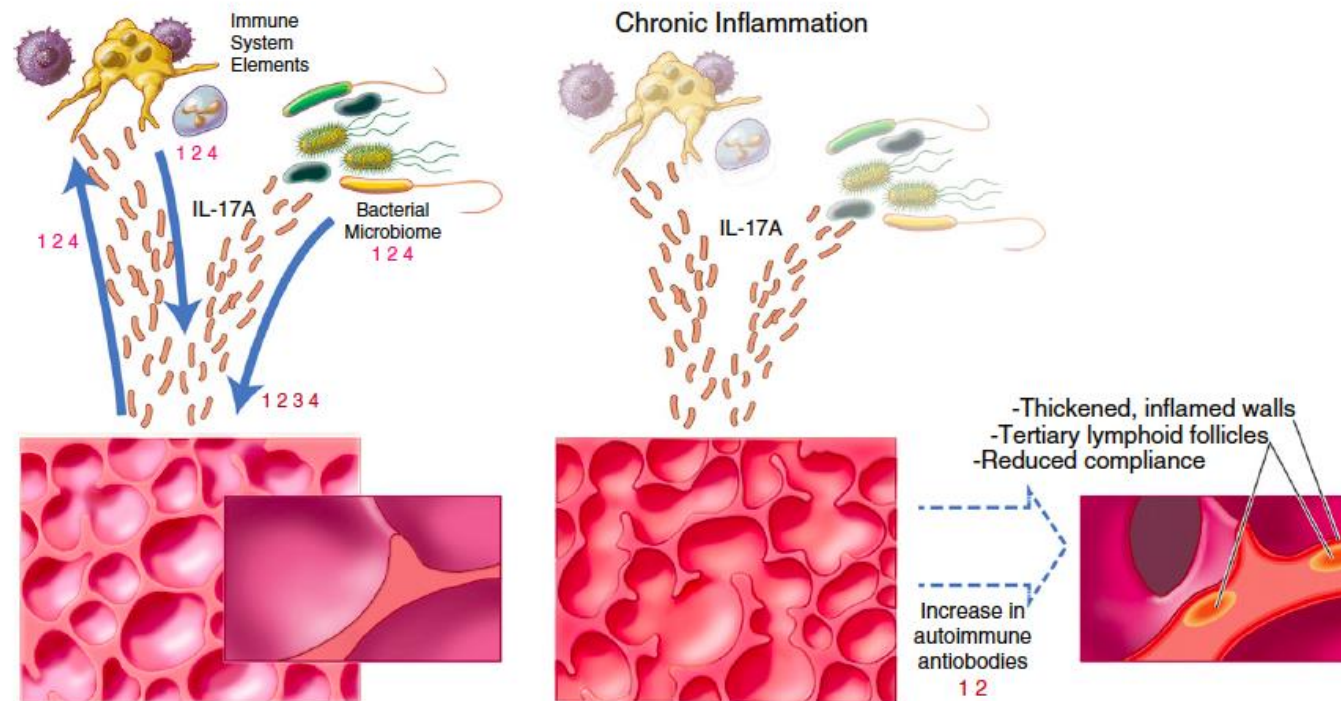


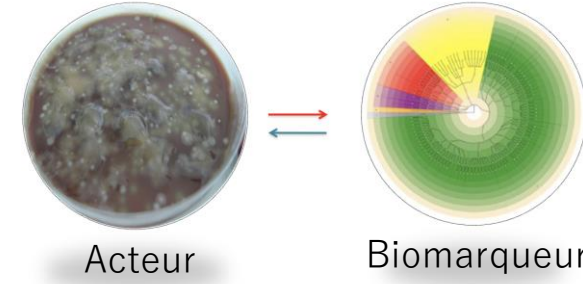
Figure 1. An overview of Yadava and colleagues' proposed model. The *numbers in red* represent the components of the experiments in the study that provide support for the proposed mechanism of action: (1) LPS/elastase model, (2) antibiotic treatment, (3) IL-17A neutralization, and (4) germ-free experiments. The *dashed arrow* represents a tentative result.

Défis & Perspectives

Amélioration de la précision des identifications bactériennes

- Taxonomie → fonction

CULTUROMICS → ACCES AUX SOUCHES



Identification des métabolites bactériens pulmonaires

- Rôle des bactéries broncho-pulmonaires à préciser (virulence, résistance, interaction avec le SI)

Outil pour la médecine de précision :

- Stratification des patients
- Prédiction de la trajectoire (risque infectieux, réponse au ttt)
- Impact/suivi du traitement (test compagnon)

Nouvelles thérapies ?

- Action sur le microbiote intestinal (régime, probiotiques, TMF)
- Action sur l'arbre respiratoire directement (évite effets indésirables)



microbiologie

pneumologie

pharmacie

A

1. SCFA

- + Phagocytosis by macrophages and neutrophils (Galvao et al. 2018)
- + Antiviral immune response (IFN- β) (Antunes et al. 2019)
- + Tregs in asthma (Antunes et al. 2019, Roduit et al. 2019)
- Proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β) in BPD (Zhang et al. 2020)
- Airway hyperresponsiveness in asthma (Roduit et al. 2019)
- Th2 effector function in asthma (Stein et al. 2016, Arrieta et al. 2018)

2. TLR

- + Pathogen elimination (IL-1 β) (Liu et al. 2021)
- + Tolerance (FoxP3, IL-10) in asthma (Han et al. 2013, Johnson et al. 2015)
- Eosinophils in asthma (Conrad et al. 2009, Nembrini et al. 2011)

3. SFB

- + Pathogen elimination (IL-22, IL-17) (McAleer et al. 2016, Gauguier et al. 2015)
- + T cells and neutrophils in lung infection (Gauguier et al. 2015)
- + Induction of pulmonary autoantibodies (Flannigan et al. 2018)

B

