

Intestin, microbiote et spondyloarthrites

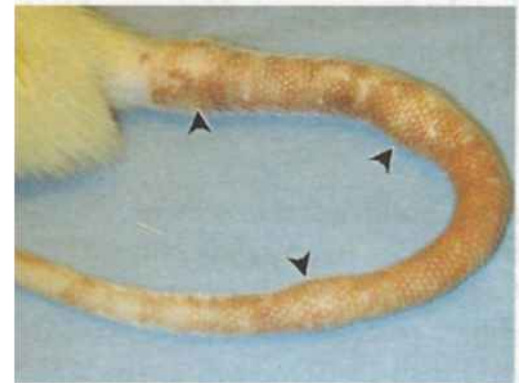
Thierry Schaefferbeke
CHU de Bordeaux

Université de Bordeaux



Rats transgéniques B27 : rôle du microbiote intestinal

- Rats Lewis, lignées 21-4H ou 33-3 :
 - Maladie inflammatoire spontanée :
 - Arthrites
 - Colite
 - Epididymite, balanite
 - Uvéite
 - Hyperkératose cutanée



- Les rats transgéniques axéniques

Hammer RE. Cell. 1990 Nov 30;63(5):1099-112

Figure SD. J Exp Med. 1994 Dec 1;180(6):2359-64

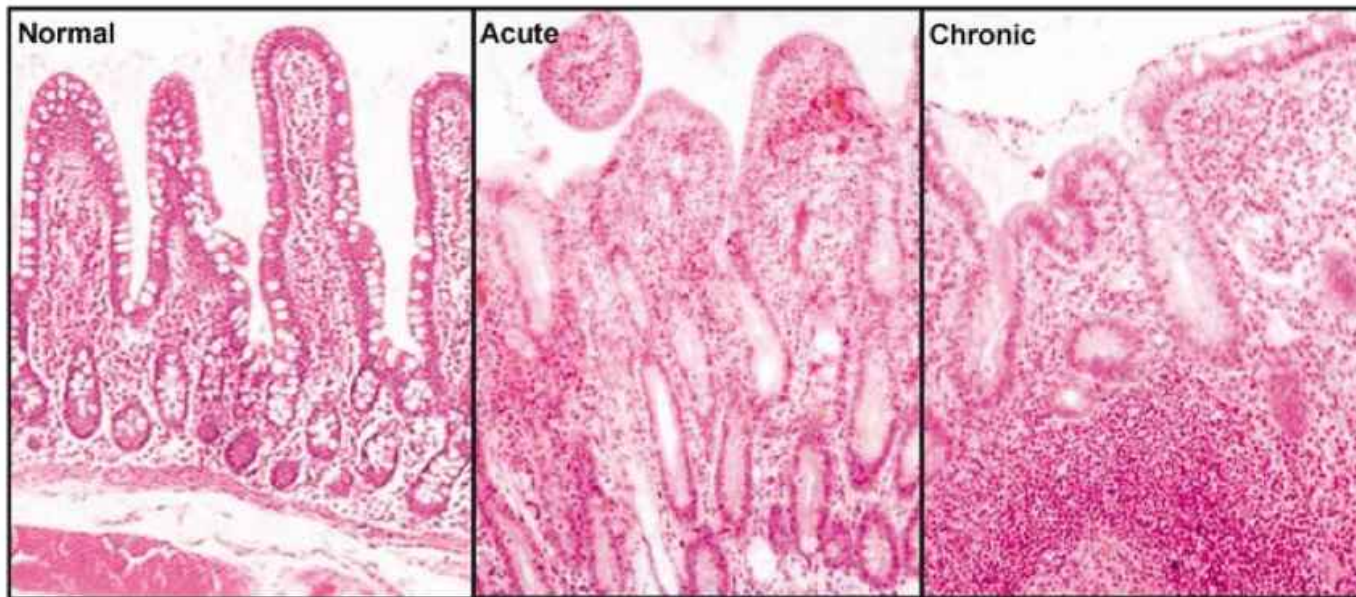
Rath HC. J Clin Invest. 1996 Aug 15;98(4):945-53

Intestin et spondyloarthrites

- Arthrites réactionnelles post-dysentériques
- Fréquente association SA – MICI
- Fréquence des troubles digestifs au cours de la SA
- $\approx 70\%$ des SA ont une inflammation iléale microscopique, sans symptômes digestifs
- Suivi prospectif clinique et endoscopique -> parallélisme entre inflammation articulaire et intestinale

Intestin et spondyloarthrites

2 types d'inflammation digestive :



←
Aiguë (type infectieux) = arthrite le plus souvent transitoire

↓
Chronique (type Crohn) = arthrite le plus souvent persistante

Inflammation digestive associée à l'atteinte axiale et au sexe

Iléocoloscopie chez 65 patients de la cohorte de SpA de Gent masculin

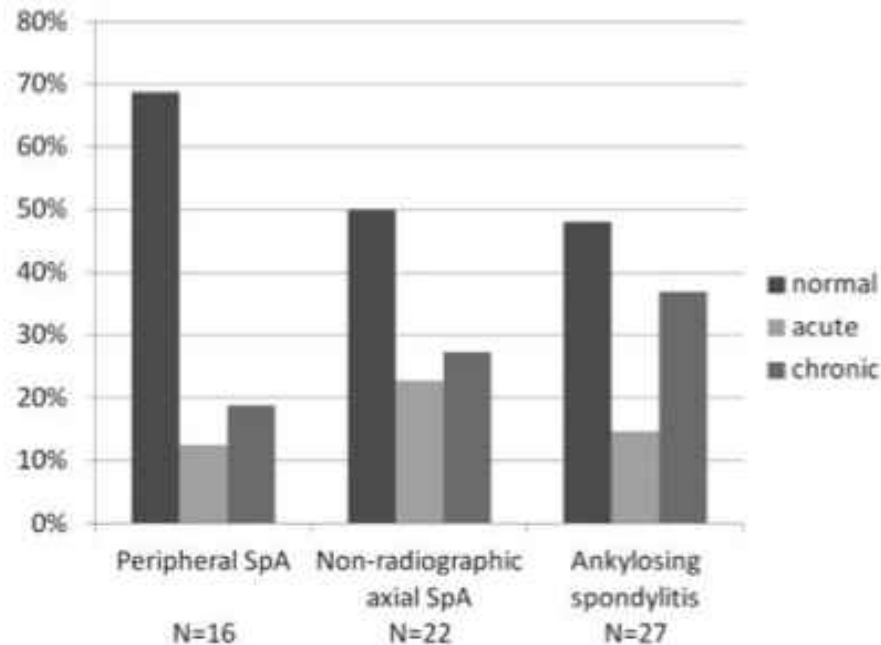


Figure 2 Prevalence of gut inflammation according to classification.

Table 2 Multivariate analysis of microscopic gut inflammation in axial SpA

Model variable	OR	CI	p Value
Age	0.85	0.75 to 0.97	0.013
Sex, male	8.90	1.18 to 67.37	0.035
BASMI	1.94	1.18 to 3.19	0.009
BASDAI	2.05	1.06 to 3.95	0.032
Presence or history of enthesitis	0.32	0.04 to 2.40	0.27
Constant	0.97		0.981
Nagelkerke R ²	0.52		
TPR and TNR	81.8% and 78.3%		
ROC-AUC	0.88		

Statistically significant p values are given in bold.

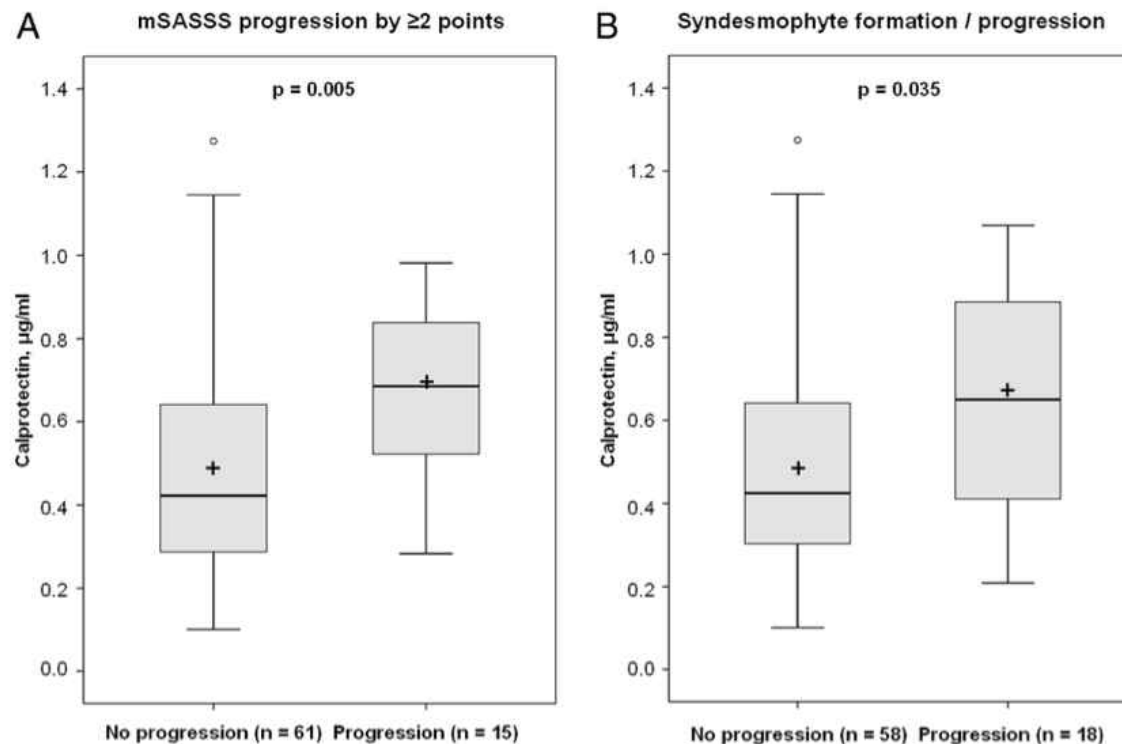
BASDAI, the Disease Activity Index; BASMI, Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index; ROC-AUC, Receiver Operating Characteristic-Area Under the Curve; TNR, True negative rate, specificity; TPR, True positive rate, sensitivity.

Calprotectine (marqueur de l'inflammation intestinale) associée à la progression radiologique axiale dans la SA

76 patients / cohorte GESPIC

- 63 SA axiale NY-
- 13 SA axiale NY+ avec ≥ 1 syndesmophyte

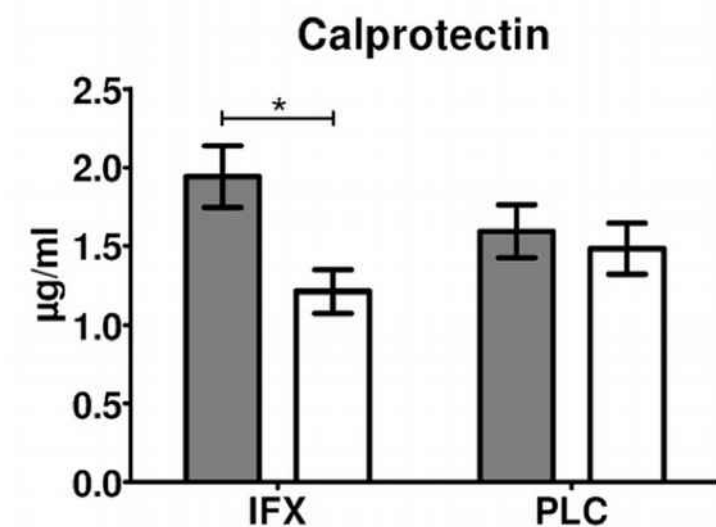
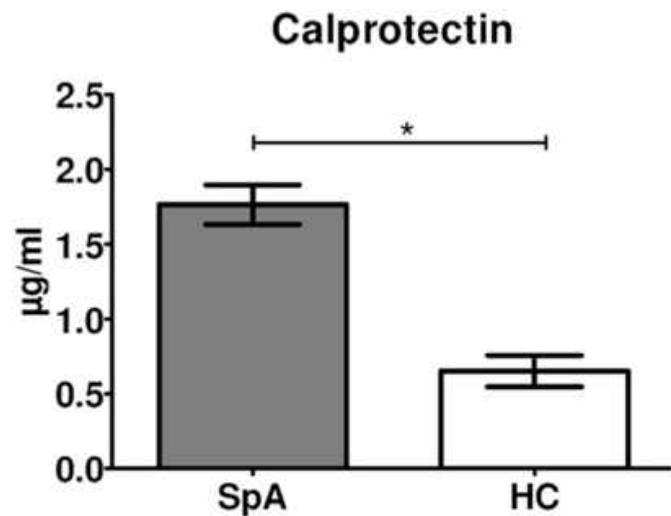
Corrélation de la progression radiologique au taux de calprotectine



Calprotectine : marqueur de la réponse clinique dans la SA

Taux de calprotectine sérique + hs-CRP, IL-6, pentraxine-3, MMP-3, α_2 glob

- Témoins sains (n=20)
- SpA avant et 2 semaines après perf d'infliximab (n=18) ou placebo (n=19)



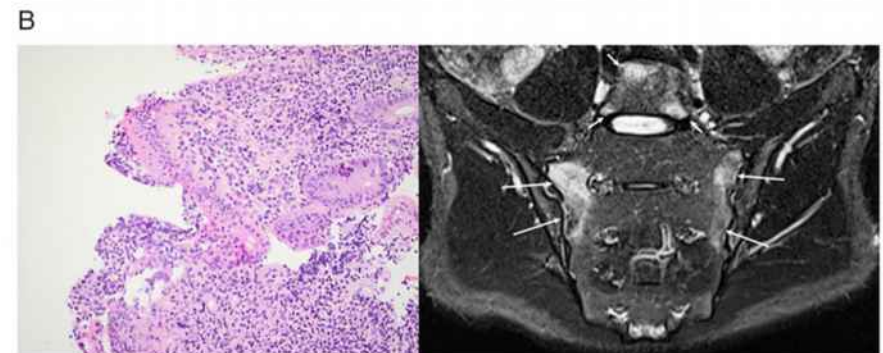
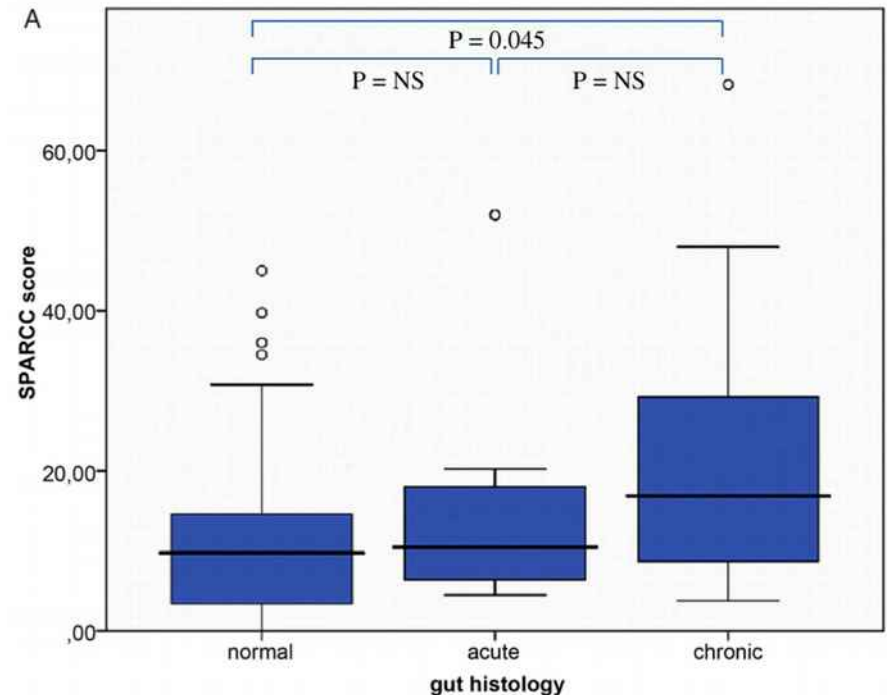
L'intensité de l'œdème médullaire des sacro-iliaques est associé à l'inflammation intestinale

67 patient SA axiale / cohorte de Gent

- IRM
- iléoscopie

Table 1 Baseline demographic and clinical characteristics of the study population

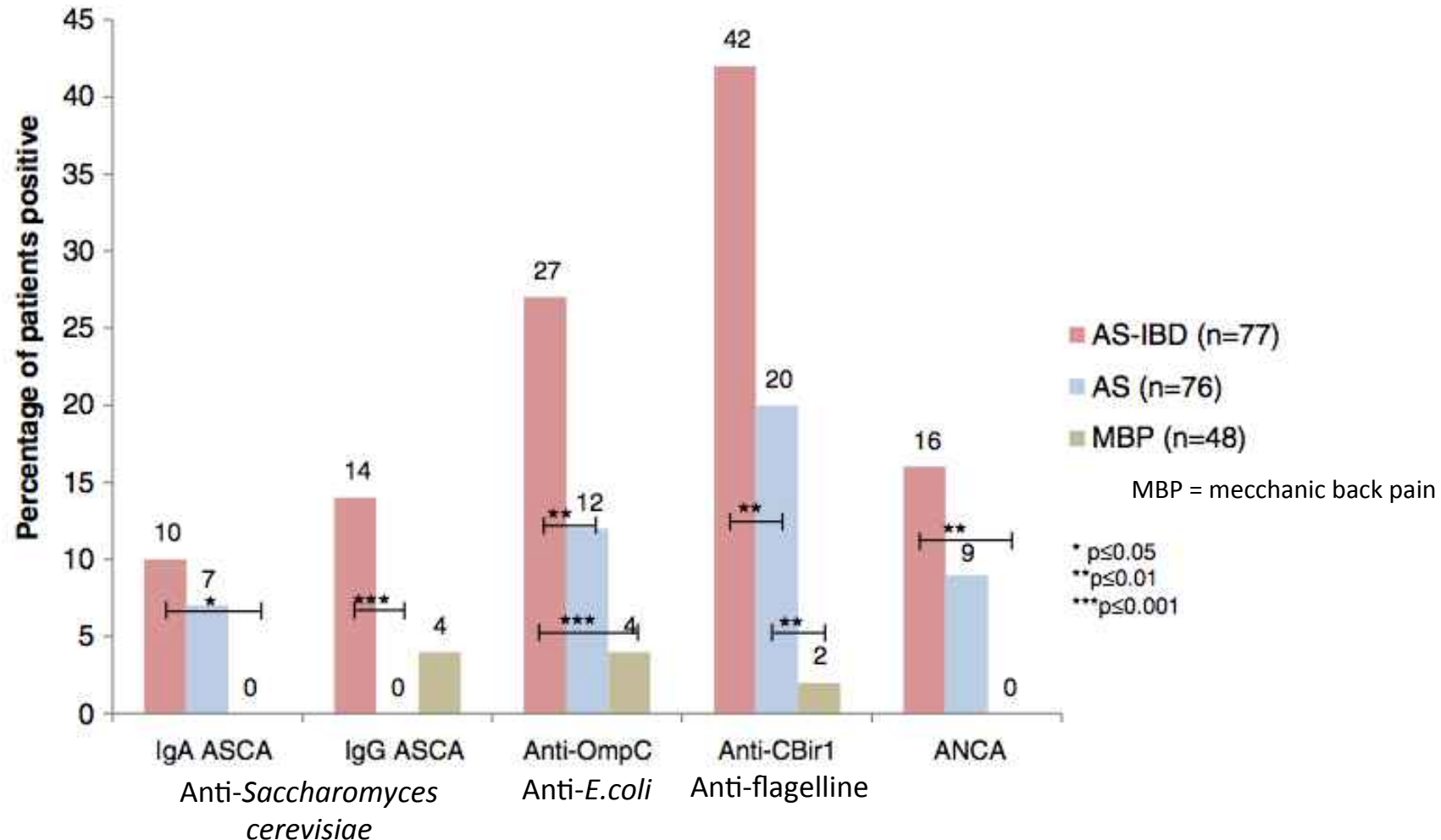
	Normal gut histology (n=35)	Acute inflammation (n=11)	Chronic inflammation (n=16)
Age, years*	36.4±9.0	32.8±8.3	28.9±7.0
Symptom duration, years†	7.6±7.5	2.6±3.7	4.1±4.5
Male gender	19 (54.3)	4 (36.4)	7 (43.8)
HLA-B27 (+)	28 (80.0)	10 (90.9)	11 (68.8)
ModNY AS	11 (31.4)	3 (27.3)	7 (43.8)
CRP, mg/dL	0.4 (0.0–2.4)	0.5 (0.0–5.4)	0.6 (0–2.2)
BASDAI, numeric rating scale‡	3.7 (0.4–7.1)	6.0 (2.4–9.6)	5.3 (0.4–6.6)
ASDAS	2.3 (0.4–3.9)	3.0 (1.2–5.4)	2.8 (1.0–4.2)



La présence d'anticorps anti-commensaux témoigne d'une inflammation intestinale infra-clinique dans la SA

76 patients AS, 77 patients AS-IBD et 48 patients lombalgie mécanique

Taux sérique de ≠ anticorps anti-germes commensaux de la flore intestinale

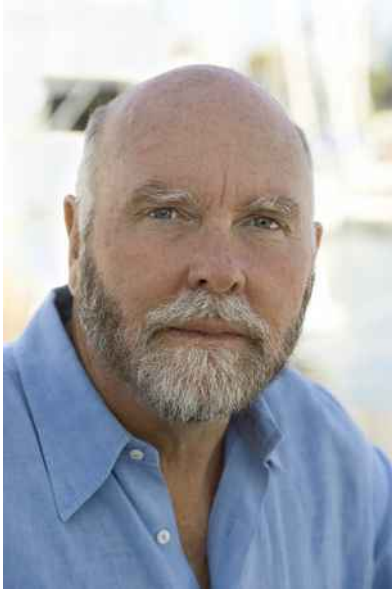


Synthèse

- Une inflammation intestinale infraclinique est présente au cours de la SA
- Cette inflammation intestinale :
 - Est corrélée à la progression radiologique et à l'intensité de l'inflammation osseuse en IRM
 - Régresse parallèlement à la réponse thérapeutique sous anti-TNF
 - Est associée à des taux élevés d'anticorps dirigés contre des germes de la flore intestinale commensale

Le microbiote intestinal

Les séquenceurs automatiques « NGS »



Craig Venter



Analyse simultanée de plus de 200.000 fragments d'ADN

Permet l'analyse de l'ensemble des gènes contenus dans un milieu = métagénome

bouche

voies
aériennes

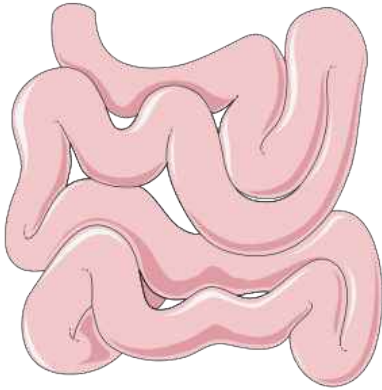
intestin

peau

vagin



Le métagénome intestinal



Notre tube digestif contient :

- 10^{14} bactéries = microbiote intestinal
- = 10x le nb de nos propres cellules
- = 1,2 kg...

- ≈ 1000 espèces différentes / personne
- 90% de germes anaérobies incultivables
- = 100 à 150 x le nb de gènes contenus dans le génome humain
- ≈ 60 espèces retrouvées chez 90% des sujets testés

95% des bactéries du microbiote intestinal appartiennent à 4 phylum

FIRMICUTES

50 % à 75 %

Clostridii +++, SFB

Lactobacillus

Ruminococacae

Enterococcus

Mollicutes

BACTEROIDETES

10 % à 50 %

Bacteroides

Prevotella

Porphyromonas

ACTINOBACTERIES

1 % à 10 %

bifidobactéries

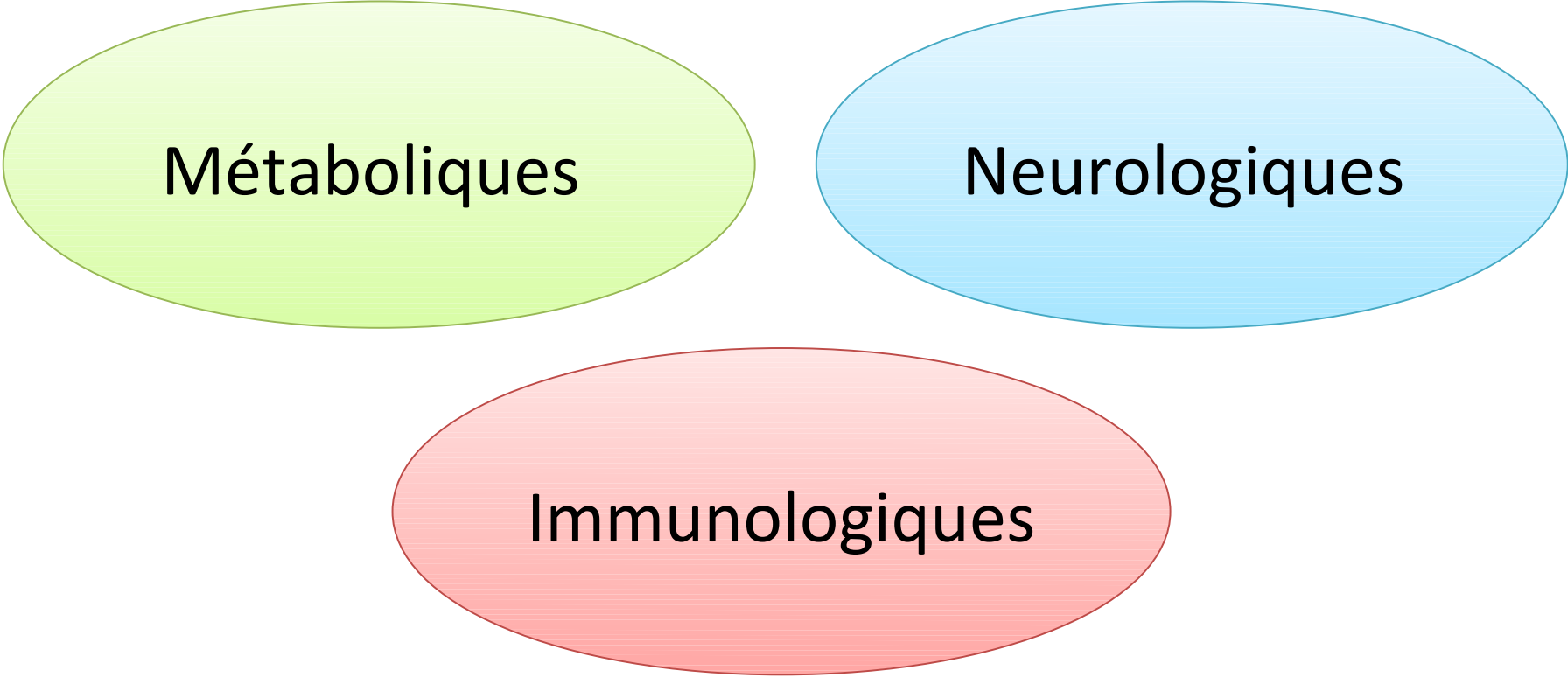
Collinsella-Atopobium

PROTEOBACTERIES

< 1 %

Escherichia coli

Les grandes fonctions du microbiote



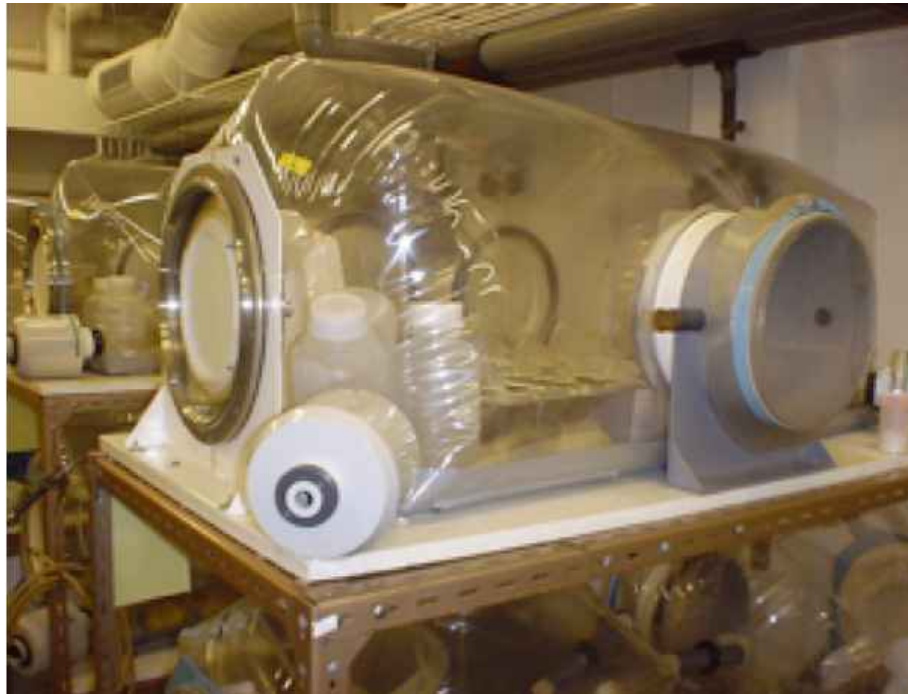
Métaboliques

Neurologiques

Immunologiques

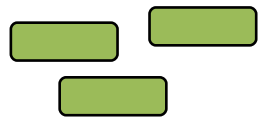
Le rôle du microbiote intestinal dans les modèles animaux d'arthrite inflammatoire

Repose sur l'étude d'animaux gnotobiotiques
(à flore contrôlée)



Rôle de la flore digestive dans l'orientation du système

Souris gnotobiotique = flore contrôlée = souris axéniques (germ free) chez lesquelles on introduit des souches bactériennes connues



Bacteroides fragilis

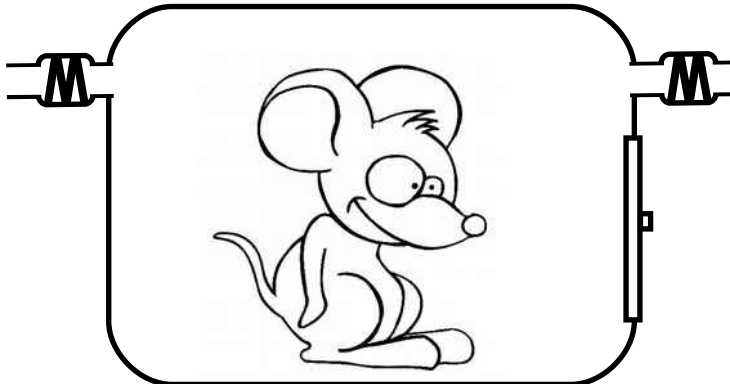


↑ FoxP3
↑ Treg

- Fragilité vis-à-vis des entéropathogènes
- Résistance à l'arthrite expérimentale et à l'EAE



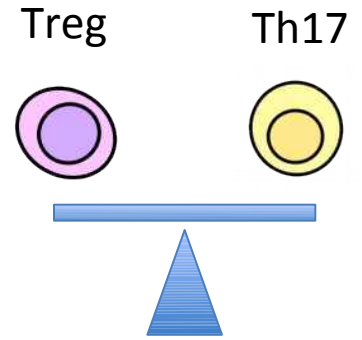
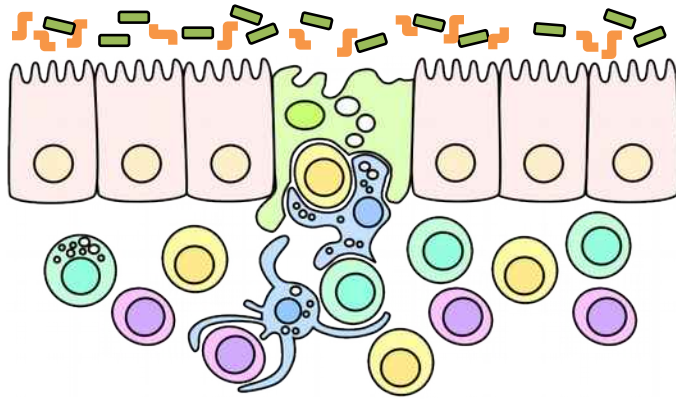
Bactéries
filamenteuses



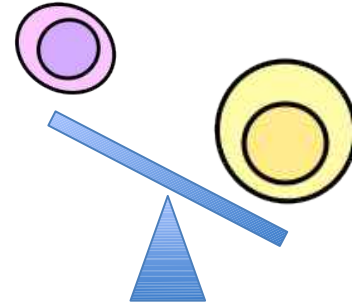
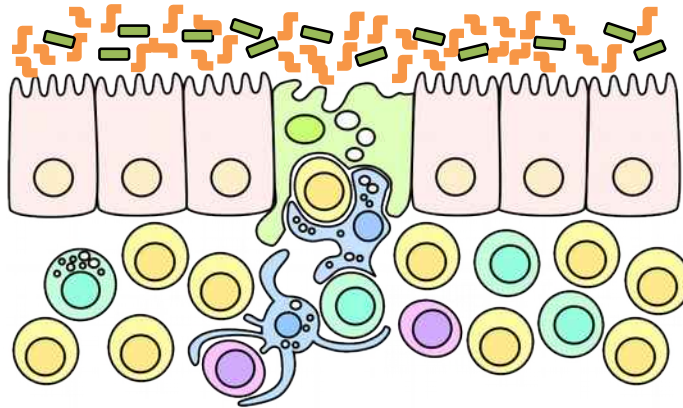
↑ TCD4+
↑ Th17

- Protection contre les entéropathogènes
- Susceptibilité accrue à l'arthrite expérimentale et à l'EAE

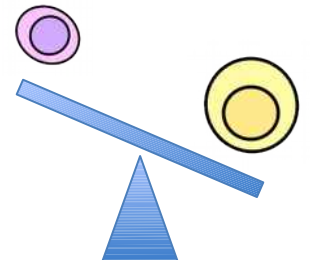
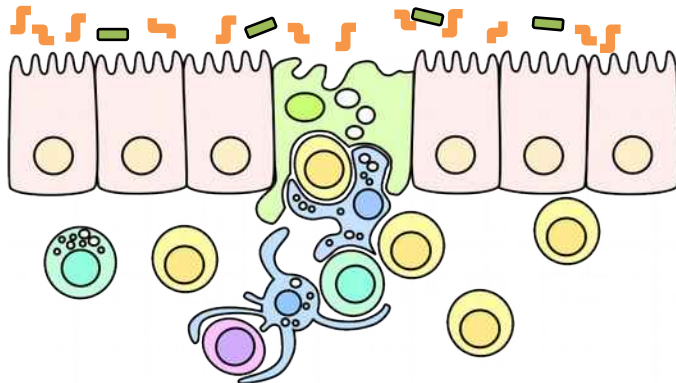
Microbiome
normal



Dysbiose
excès de
bactéries
pro-inflam.

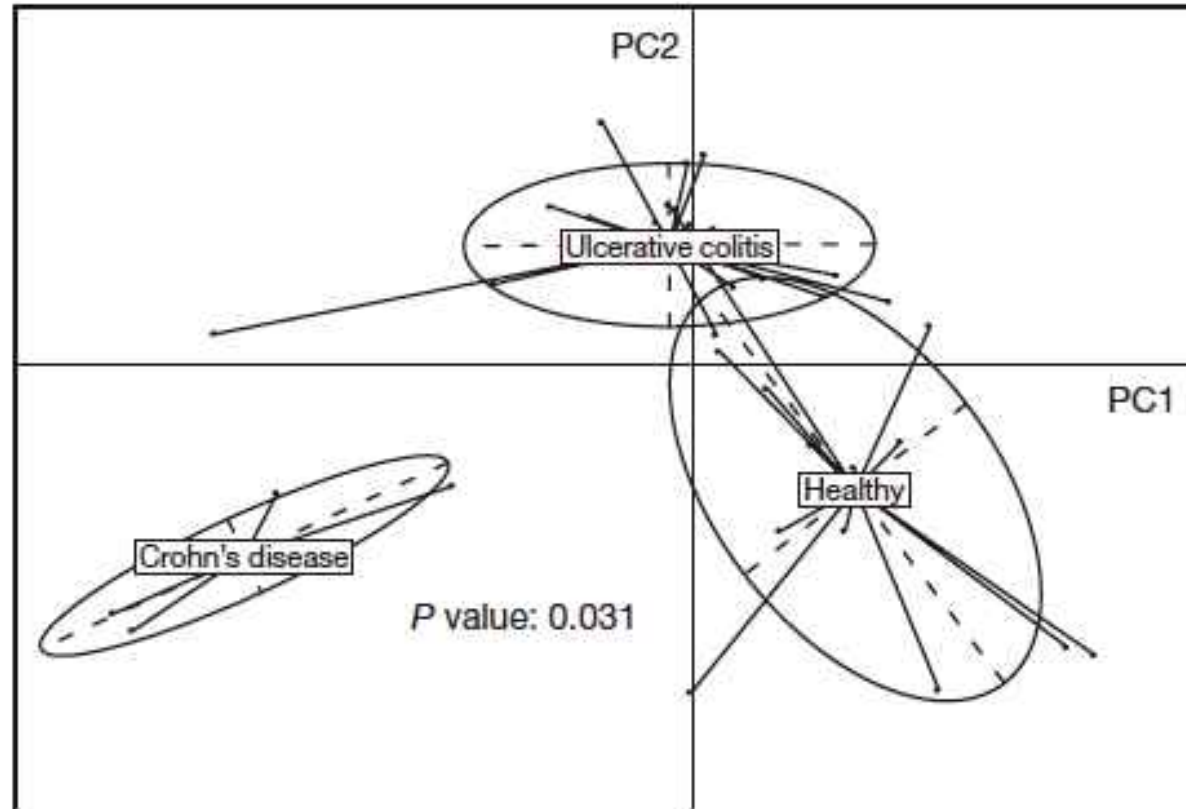
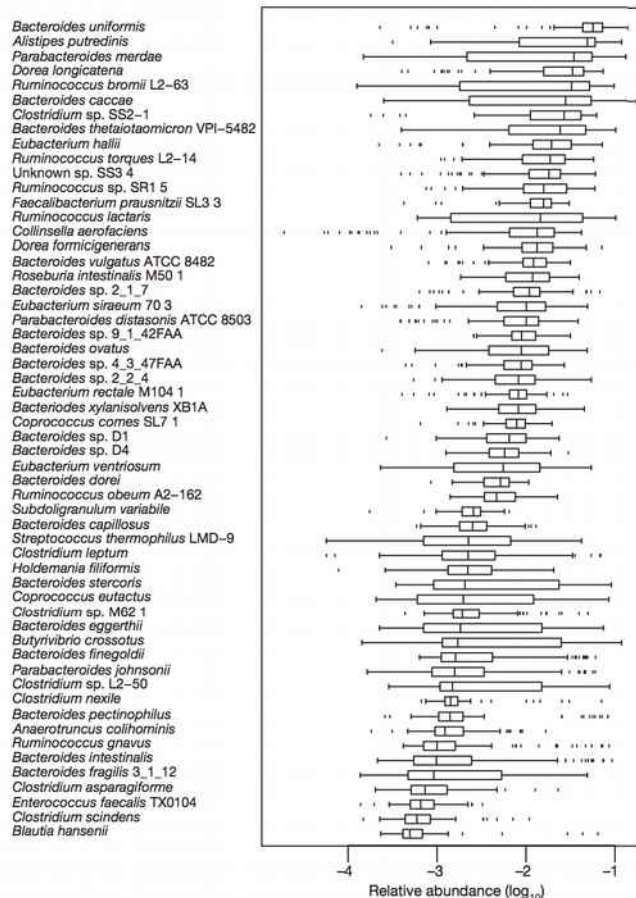


Dysbiose
déficit de
bactéries
anti-inflam.

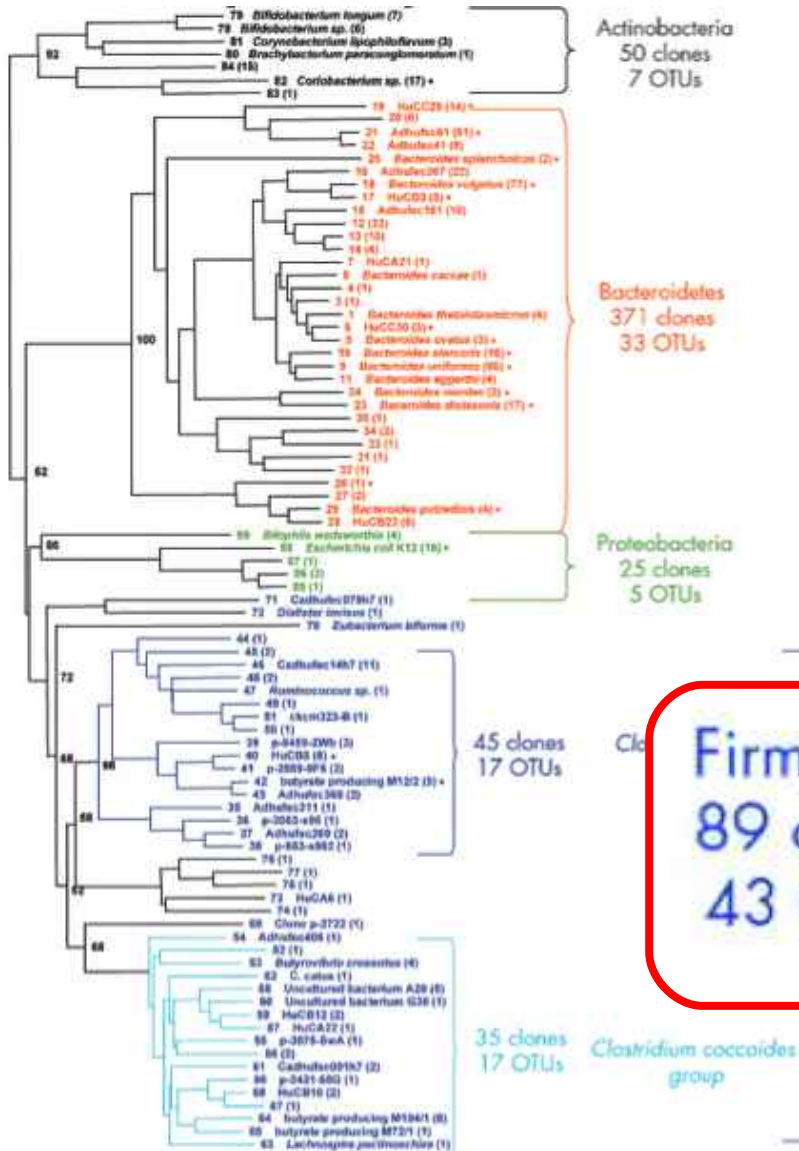


Microbiotes spécifiques des MICI

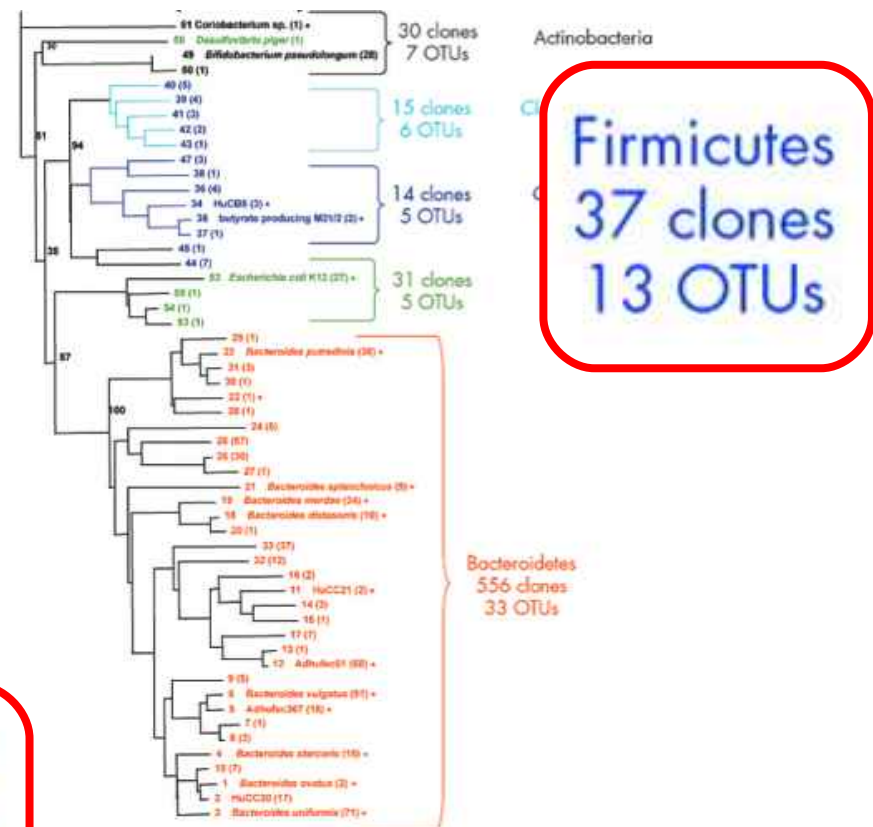
Analyse en composante principale



6 témoins sains

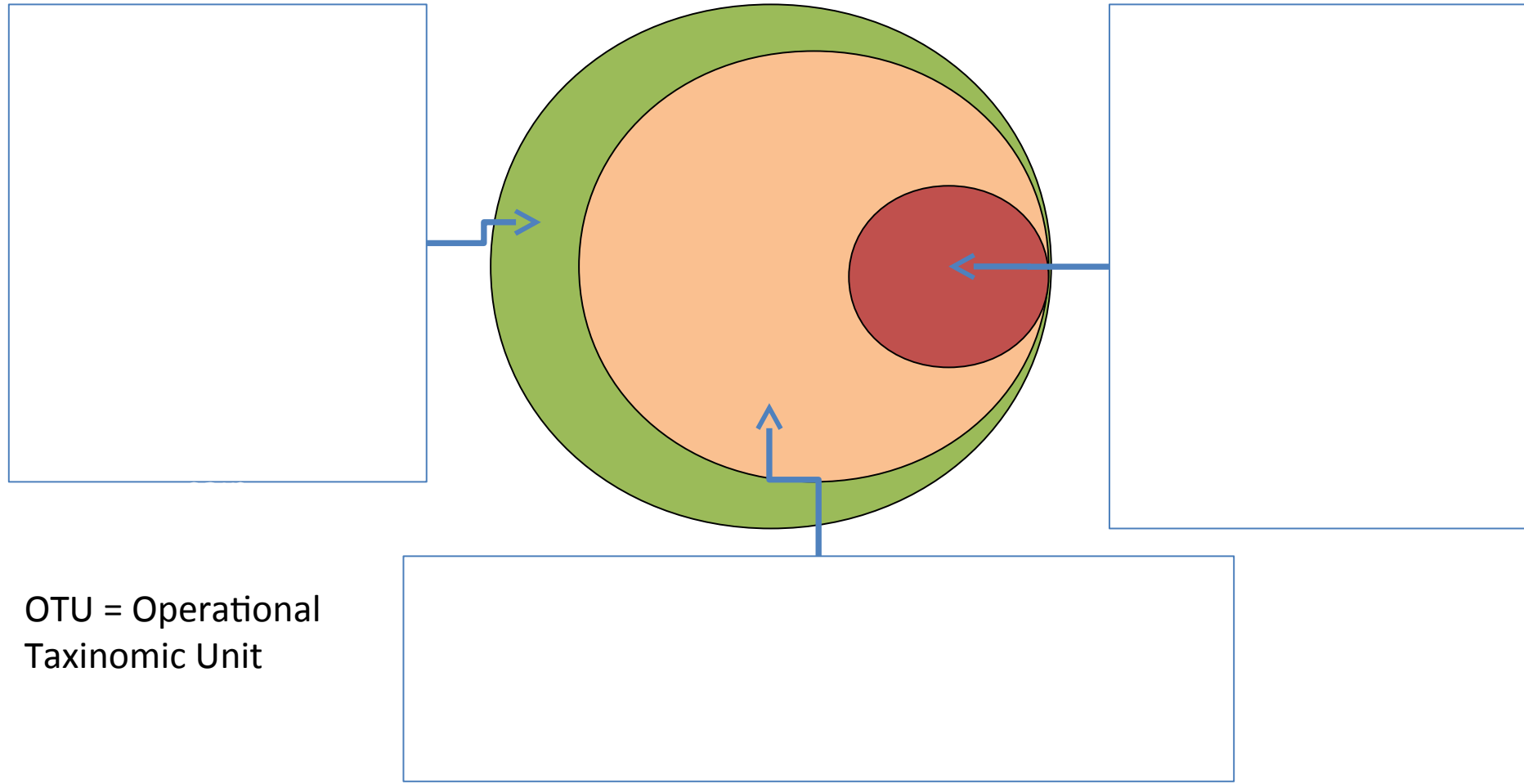


6 patients Crohn



OTU = Operational Taxinomic Unit
= espèces phylogénétiquement proches

MICI = réduction de la diversité du microbiote intestinal



Lepage P. *Inflam. Bowel Dis.* 2005; **11**: 473-480
Gophna U. *J Clin Microbiol* 2006; **44**: 4136-4141
Manichanh C. *Gut* 2006; **55**: 205-211

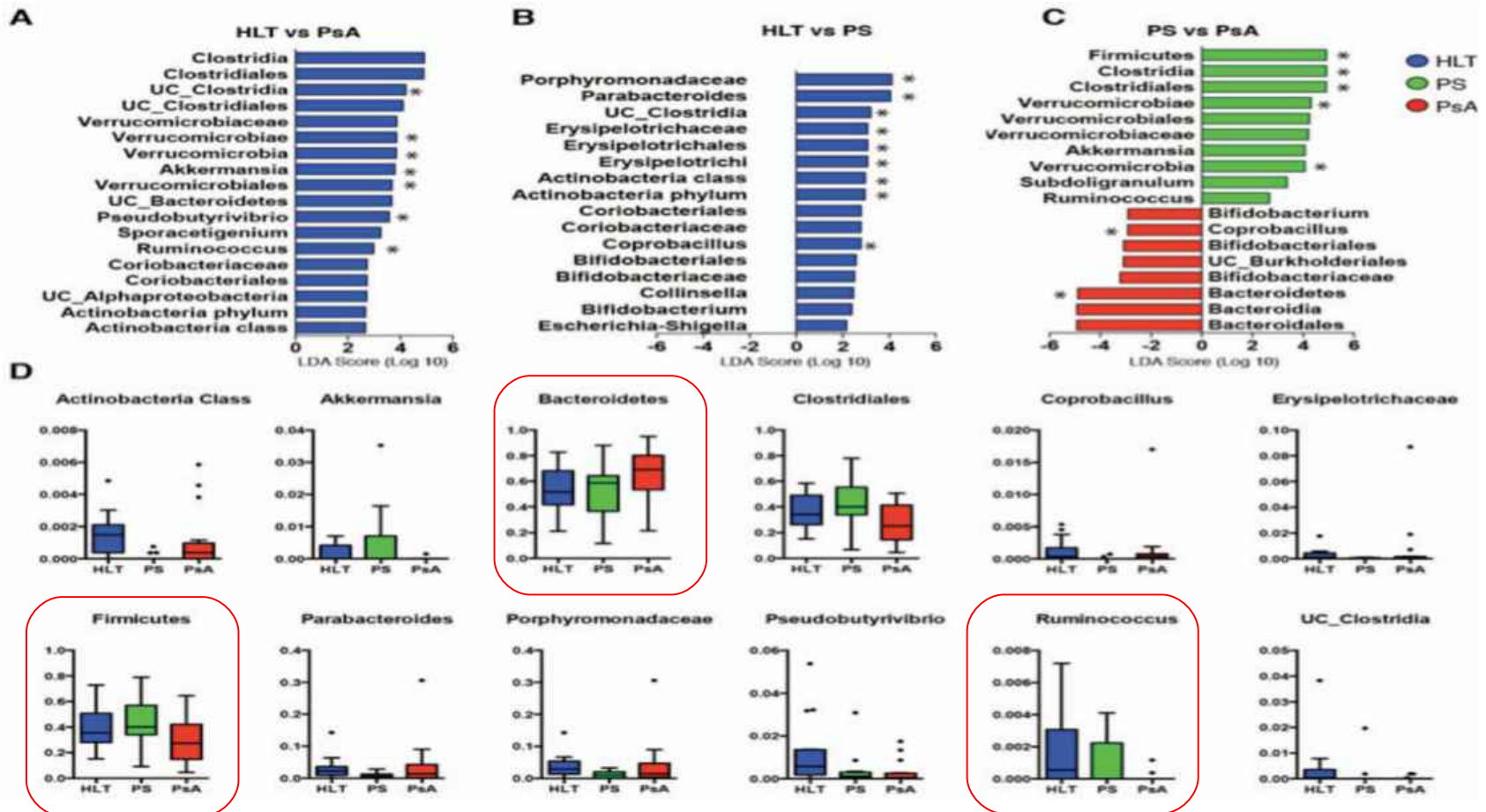
Eckburg P.B. *Science* 2005; **308**: 1635-1638
Gill S.R. *Science* 2006; **312**: 1355-1359
Li W. *Bioinformatics* 2006; **22**: 1658-1659

**Que connaît-on du microbiote
intestinal dans les
spondyloarthrites ?**

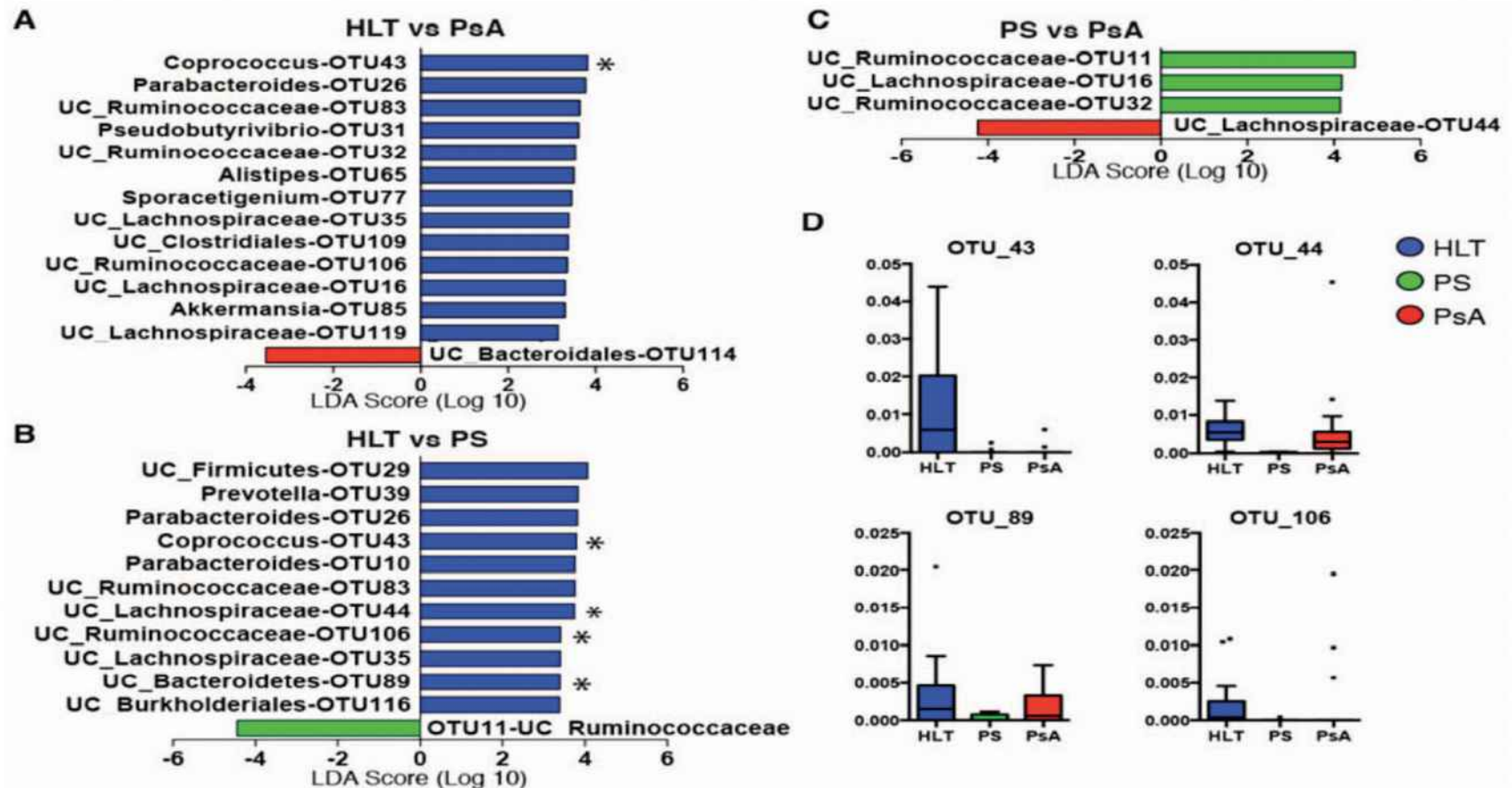
Microbiote intestinal dans le Rh

PCR 16s et pyroséquençage / selles chez 16 patients Rh pso (naïfs de DMARD),
15 pso cutané, 17 témoins sains

pso



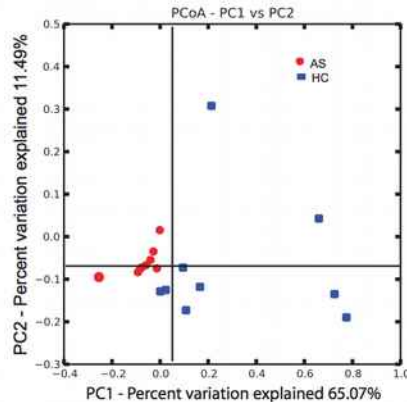
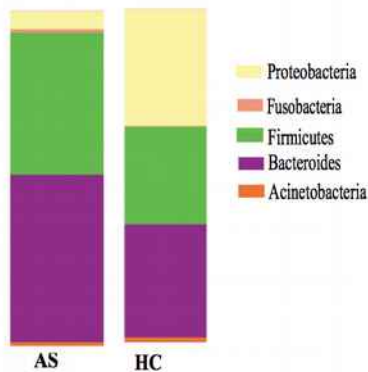
Microbiote intestinal dans le Rh



Augmentation des Bacteroïdètes, des *Prevotellaceae* et diminution des *Firmicutes* et des *Ruminococcus*, comme dans le Crohn

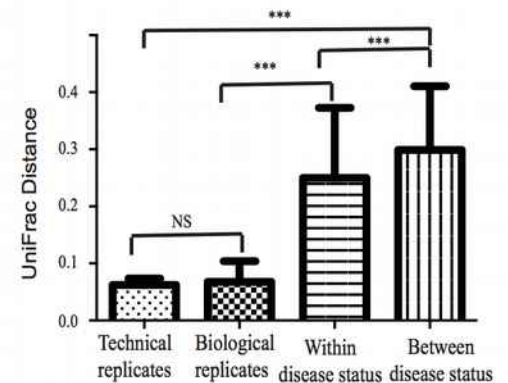
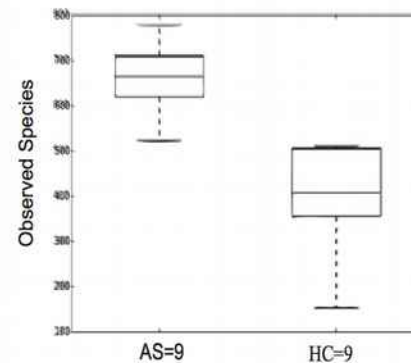
Microbiote intestinal dans la SA

- Biopsies iléon terminal chez 9 patients SA



Supervised Learning

True/Predicted	AS	HC
AS	9	0
HC	0	9



- Abondance ↑: *Lachnospiraceae*, *Veillonellaceae*, *Prevotellaceae*, *Porphyromonadaceae* et *Bacteroidaceae*,
- Abondance ↓↓: *Ruminococcaceae* and *Rikenellaceae*

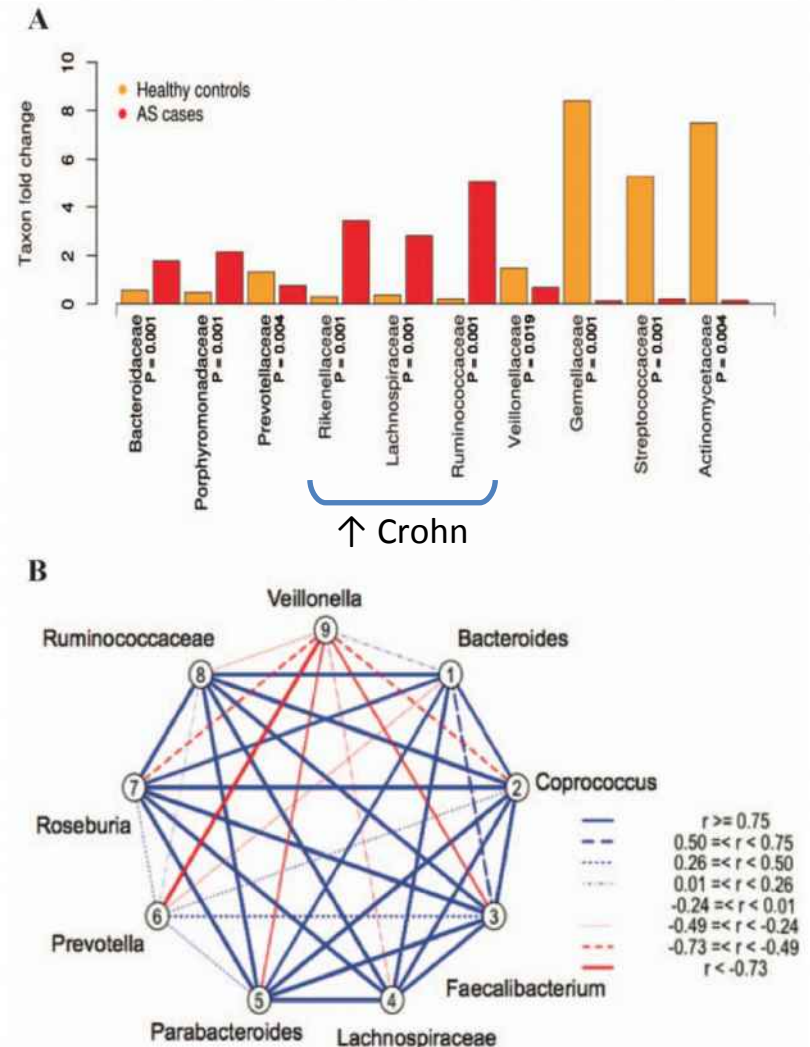
Augmentation des *Prevotellaceae* et diminution des *Rikenellaceae* = rats Tg B27
Augmentation *Prevotellaceae* et diminution des *Ruminococcus* = Crohn

Microbiote intestinal dans la SA

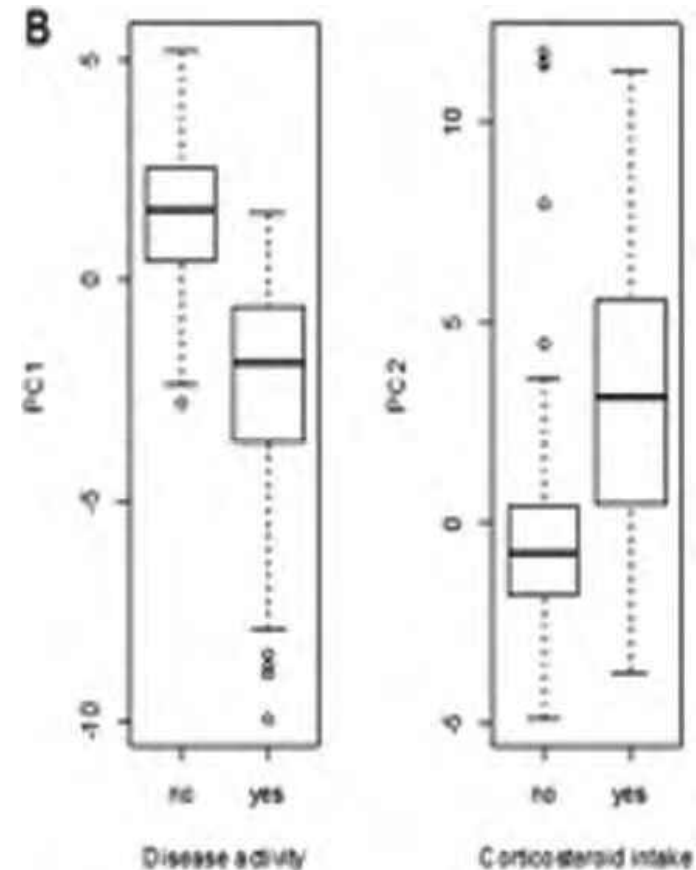
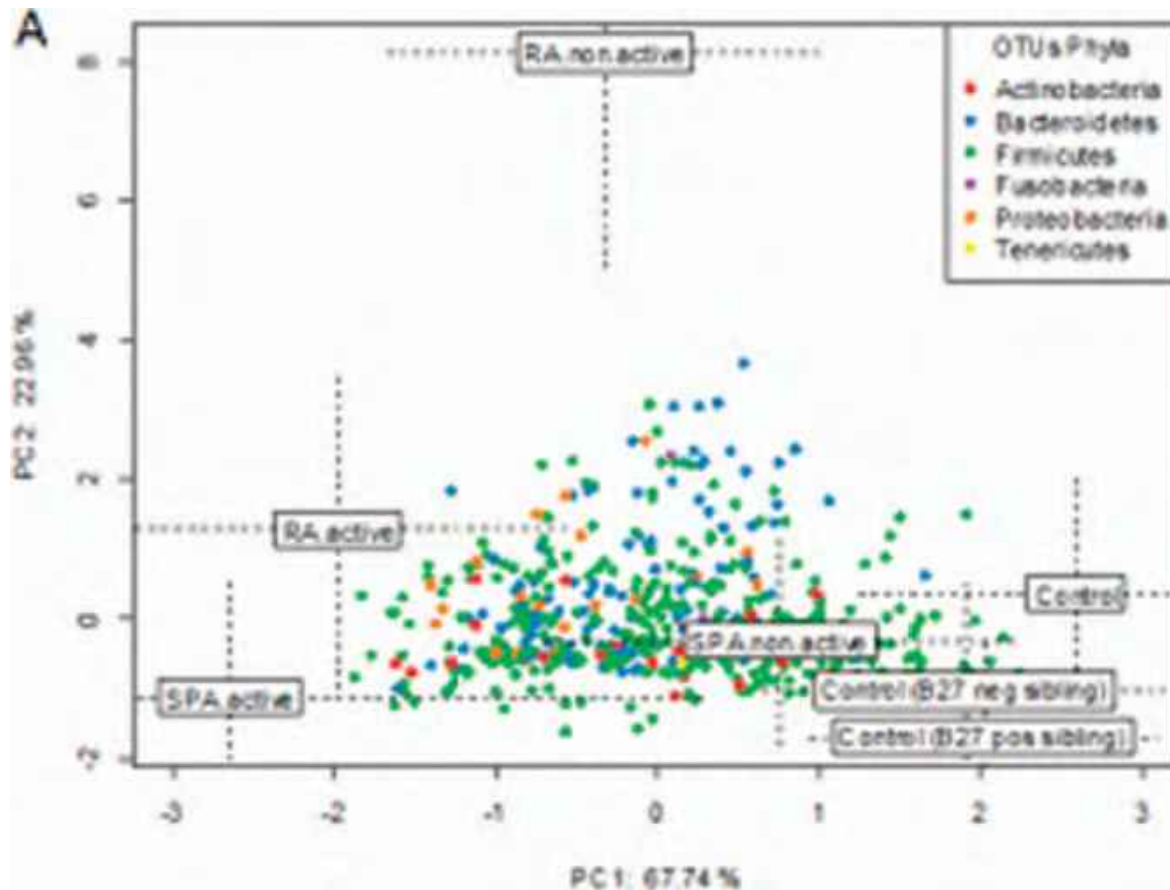
Groupes taxonomiques où se concentrent les différences :

Analyse de co-occurrence patients SA :

- Corrélation positive *Lachnospiraceae* et *Ruminococcaceae*
- Corrélation négative *Veillonella* et *Prevotella*

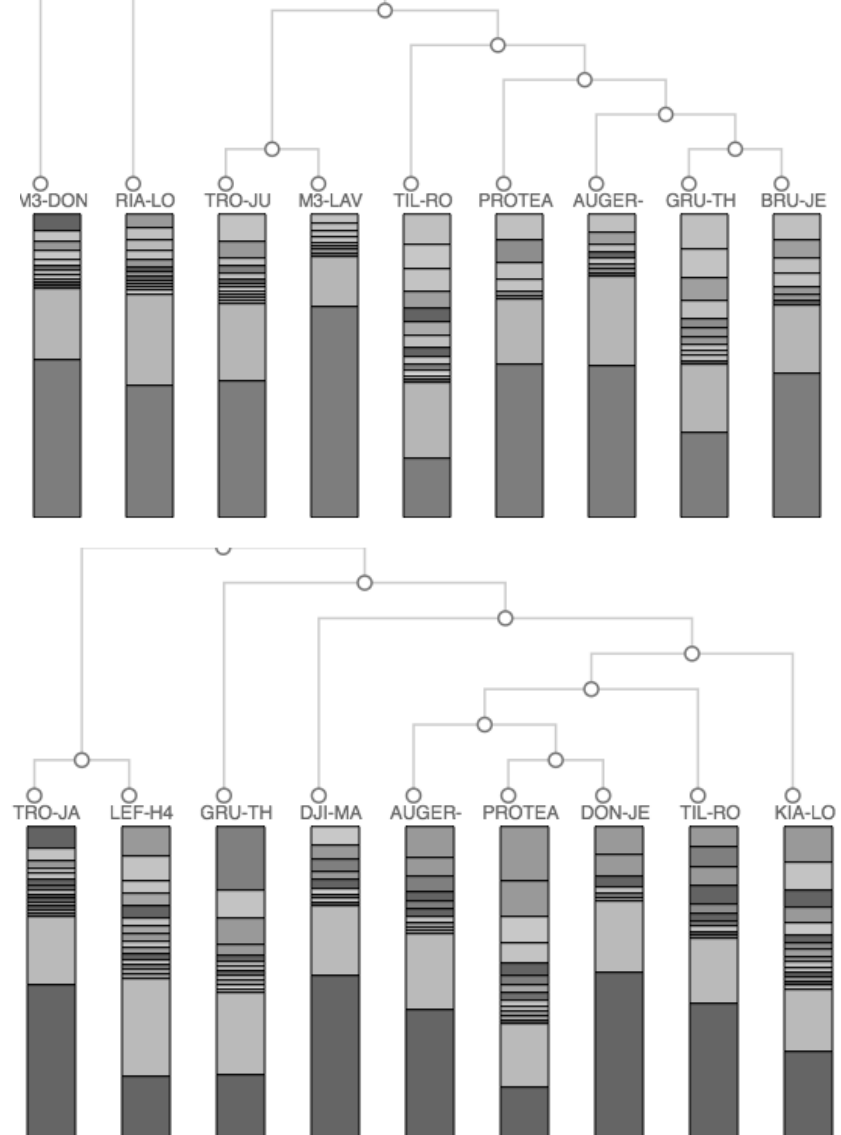


Variation du microbiote intestinal parallèlement à l'activité des spondyloarthrites (et de la PR)



Influence d'un anti-TNF sur le microbiote intestinal dans la SA

- Étude microbiote conduite chez 12 patients (avant et après traitement)
- Des modifications importantes dans la



Synthèse

- Il semble bien qu'il y ait un microbiote intestinal spécifique des SA
- Ce microbiote pourrait varier avec :
 - L'activité de la maladie
 - La réponse thérapeutique

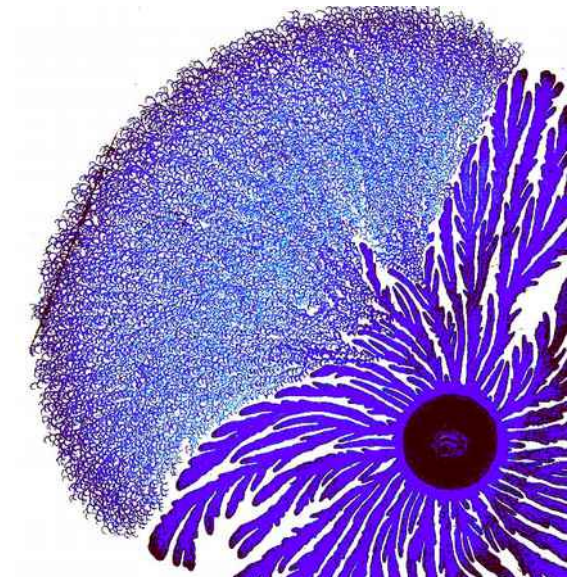
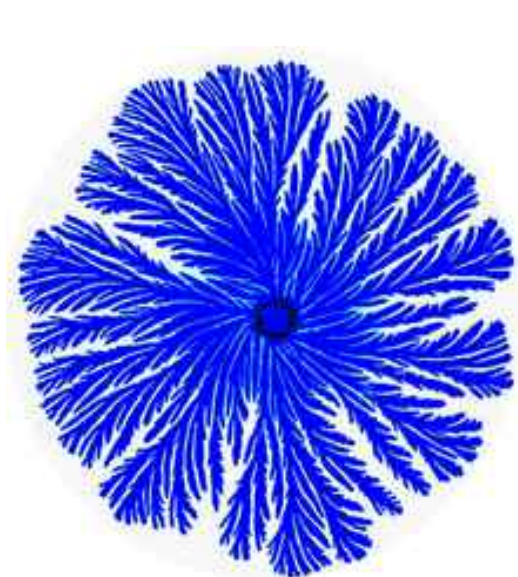
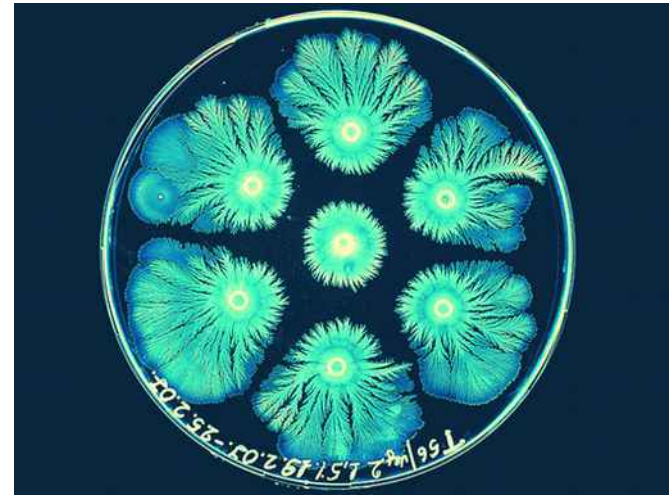
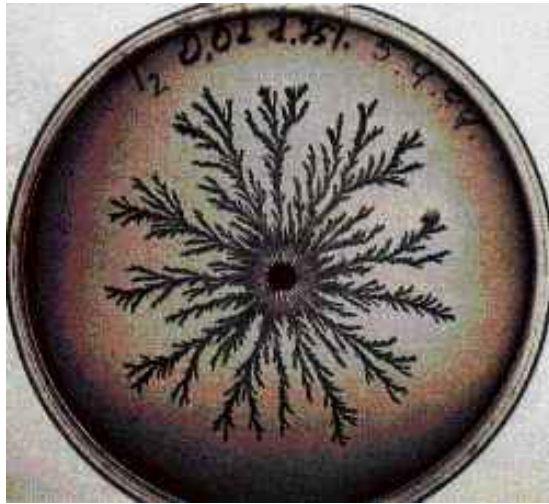
4 questions résiduelles majeures :

- Comment le microbiote discute-t-il avec notre système immunitaire ?
- Modification du microbiote : cause ou conséquence ?
- Comment pourrait s'opérer le transfert de l'inflammation de l'intestin à l'articulation ?
- Peut-on imaginer des perspectives thérapeutiques ?

**Comment les bactéries ont-elles
appris à « parler » humain ?**

**Il faut réfléchir comme le ferait
une bactérie... ou un être
unicellulaire ancestral**

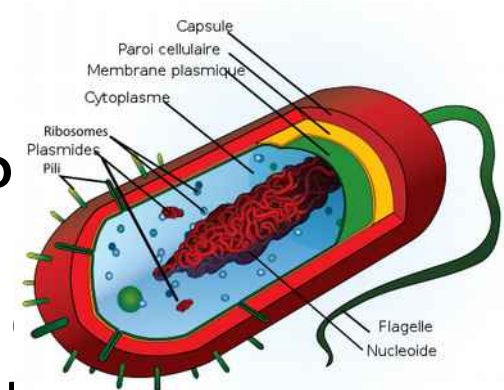
La vie sociale des bactéries



Quelles sont les informations nécessaires à la survie d'une bactérie ou d'une levure ?

- Est-ce qu'il y a à manger ?
 - Des « palpeurs » renseignent la bactérie sur la présence de nutriments dans son environnement

- Est-ce qu'il y a des risques imminents ?
 - D'autres « palpeurs » permettent de détecter des substances témoignant de la mort de bactéries :



- fraction liposoluble des lipoprotéines membranaires

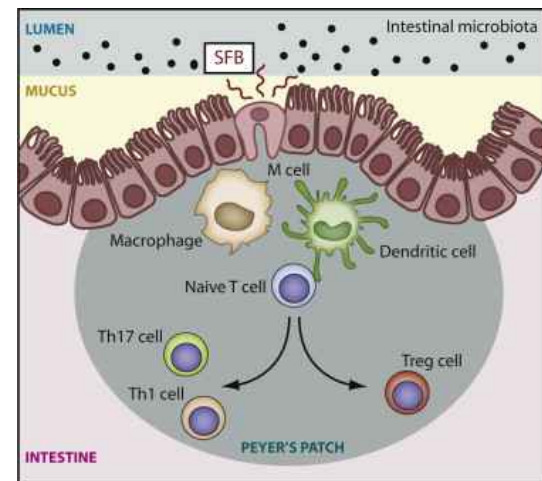
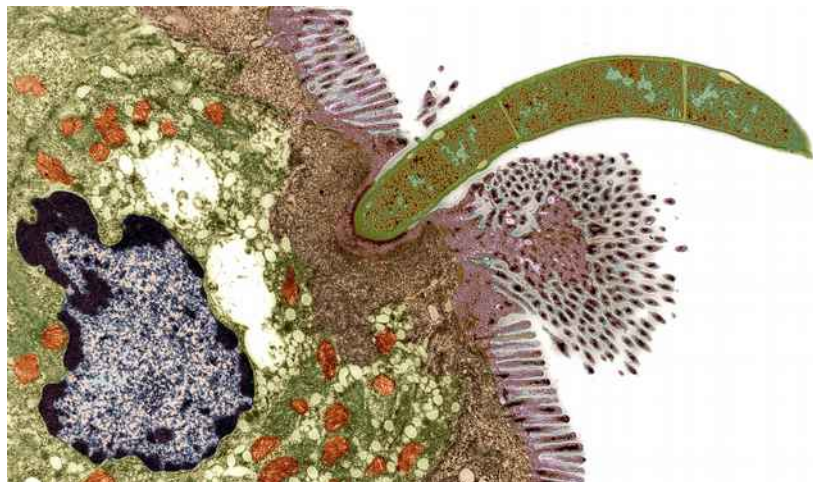
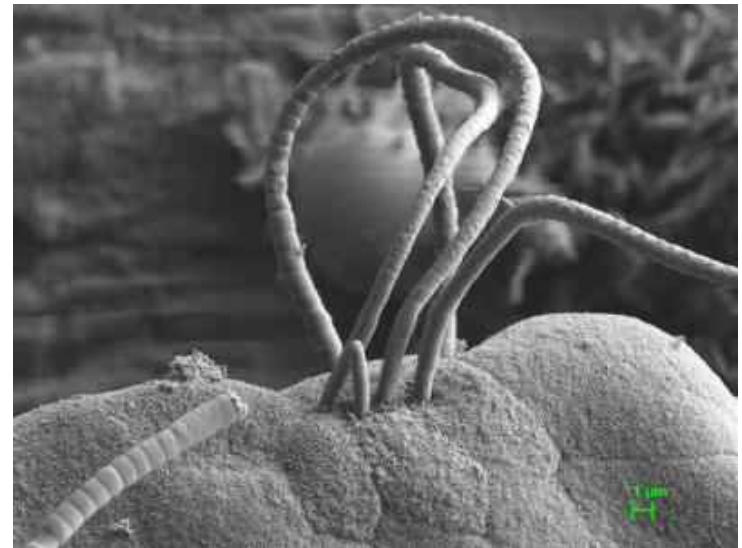
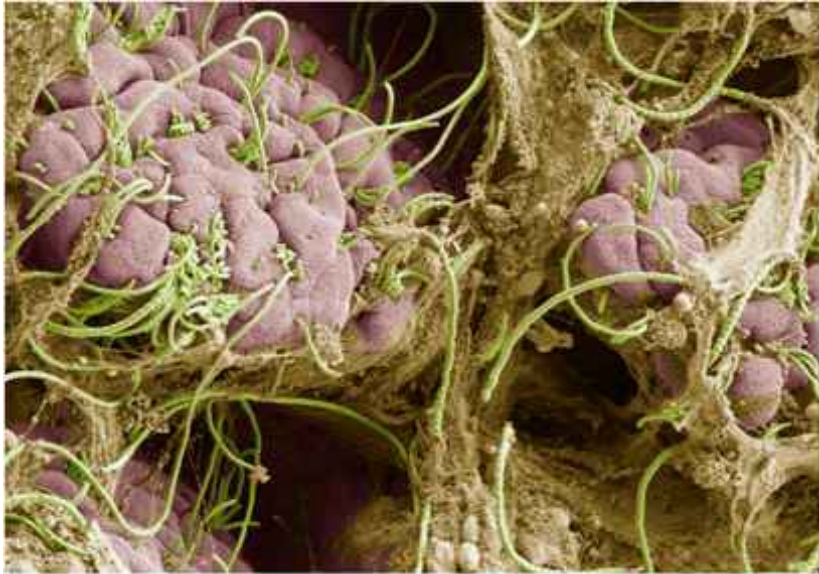
- acides nucléiques
- Quorum sensing**

Un langage universel ?

Non, mais des universaux dans les langages...

- L'adaptation d'une cellule vivante ou d'un organisme vivant à son milieu est une nécessité absolue pour survivre
 - fonction primitive
 - hautement conservée
 - les mécanismes sont très voisins pour les procaryotes et les eucaryotes

Ce langage universel permet aux bactéries
filamenteuses d'utiliser notre système immunitaire
pour se protéger d'autres micro-organismes



Quorum sensing : système de communication des procaryotes

- Dialogue procaryote-procaryote intra-espèce
 - Contrôle de la taille de la colonie
 - Spécialisation fonctionnelle
- Dialogue procaryote-procaryote inter-espèces
 - Organisation du microbiote intestinal
 - Biofilms
- Dialogue procaryote-eucaryote
 - Bactéries sensibles à nos sécrétions hormonales, neuromédiateurs...
 - Certaines bactéries pilotent le système immunitaire à leur avantage...
 - Exemple : la différenciation Th17 promue par les bactéries

**Modification du microbiote =
cause ou conséquence ?**

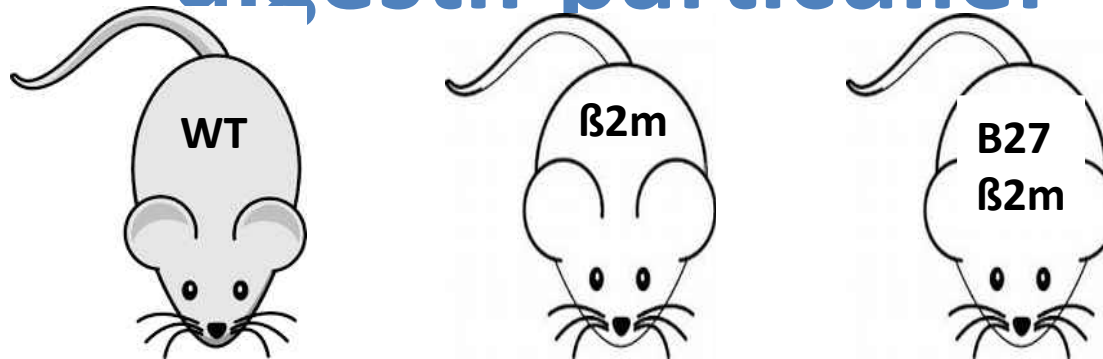
Un microbiote « colitogénique » ?

- Souris TRUC (Tbet-/- x Rag-/-) = modèle de RCH
- Le profil immunitaire des souris TRUC sélectionne un microbiote digestif spécifique
- Transfert de cette flore à des souris sauvages : transmission de la RCH

B27 et la $\beta 2m$ humaine sélectionnent un microbiote

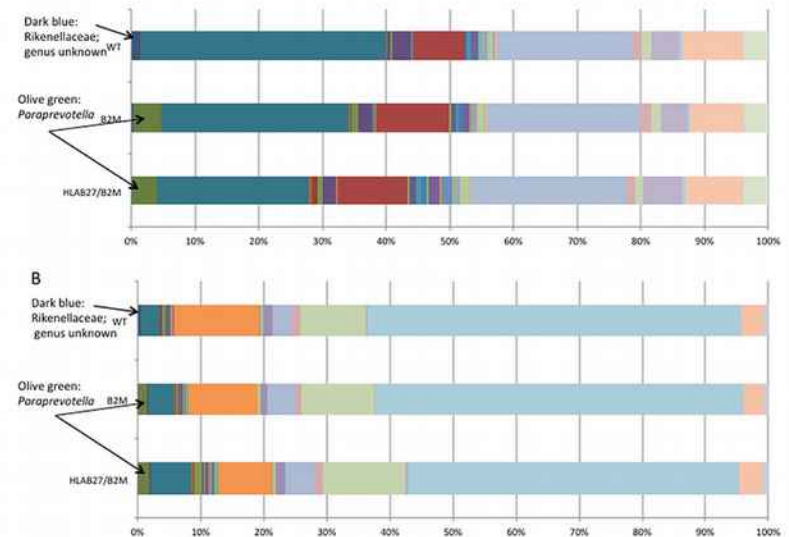
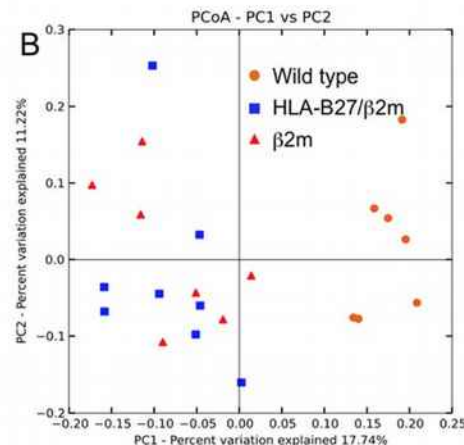
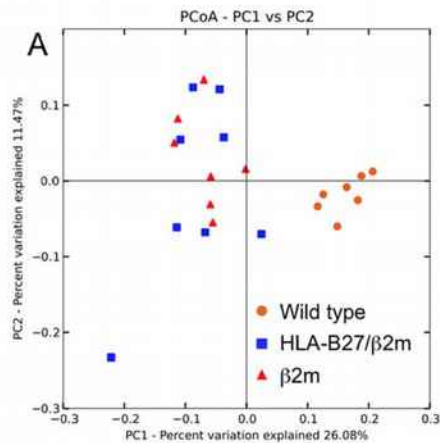
Comparaison du microbiote fécal de souris sauvages, Tg $\beta 2m$ et Tg B27 + $\beta 2m$

digestif particulier



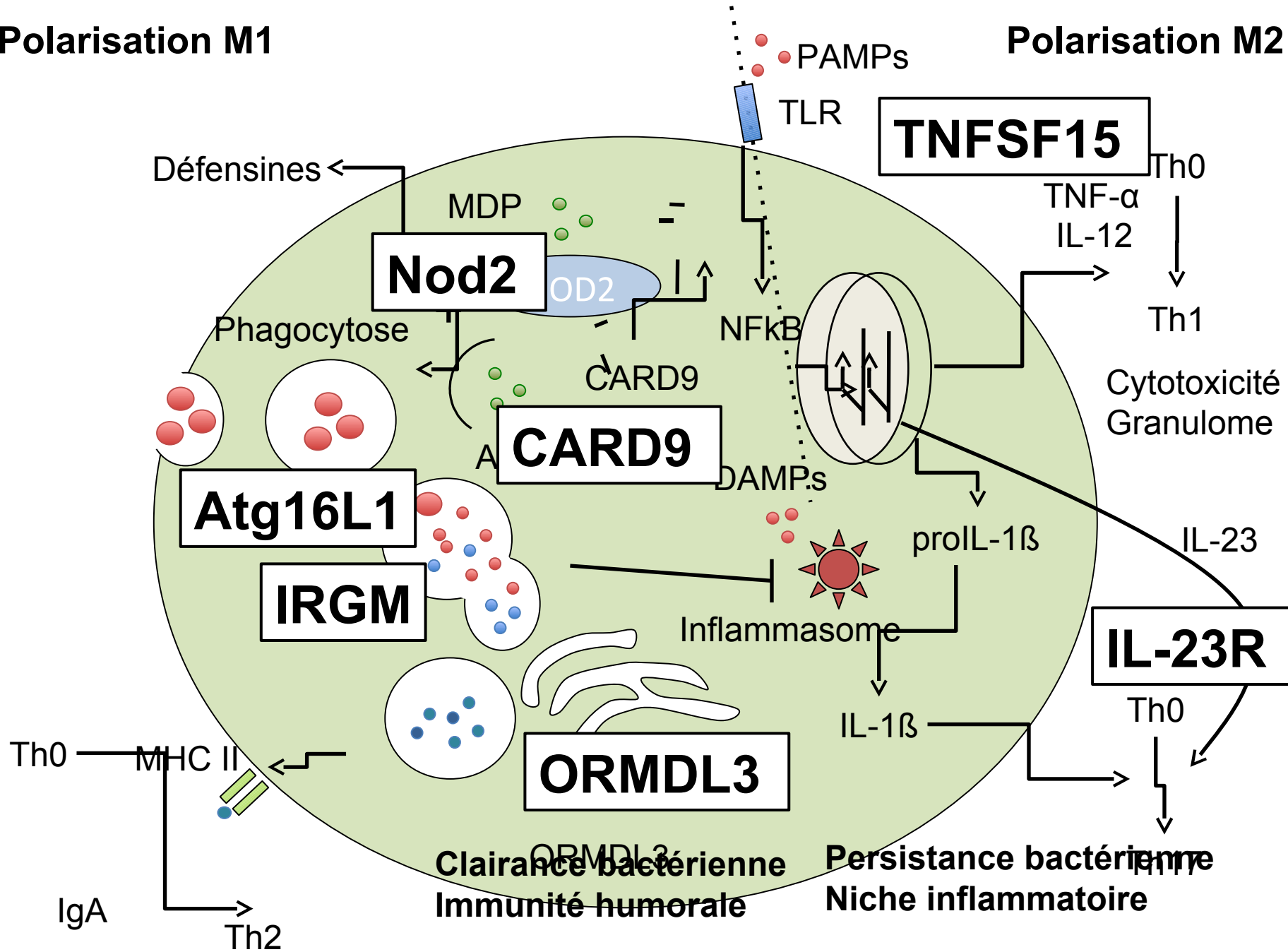
LUMEN

MUCOSA



Polarisation M1

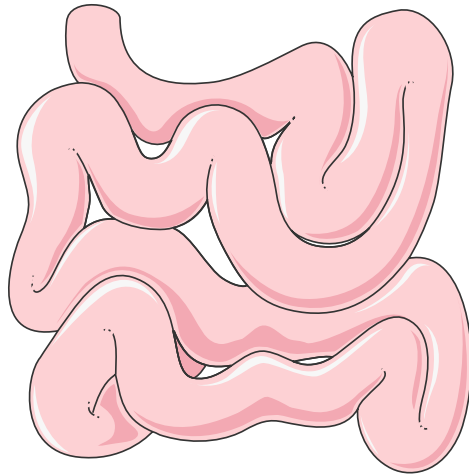
Polarisation M2



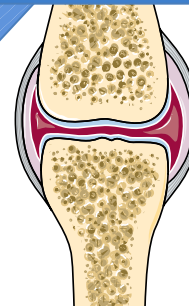
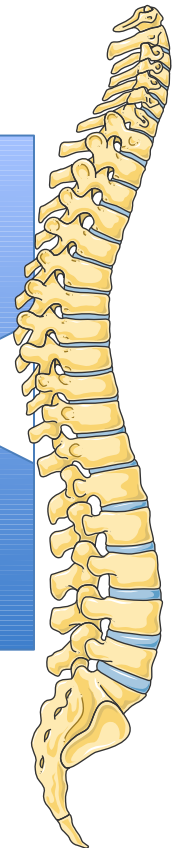
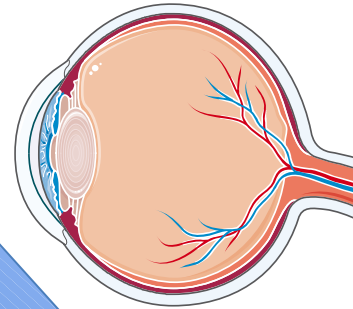
Le chaînon manquant...

comment la maladie est transférée aux organes
cibles ?

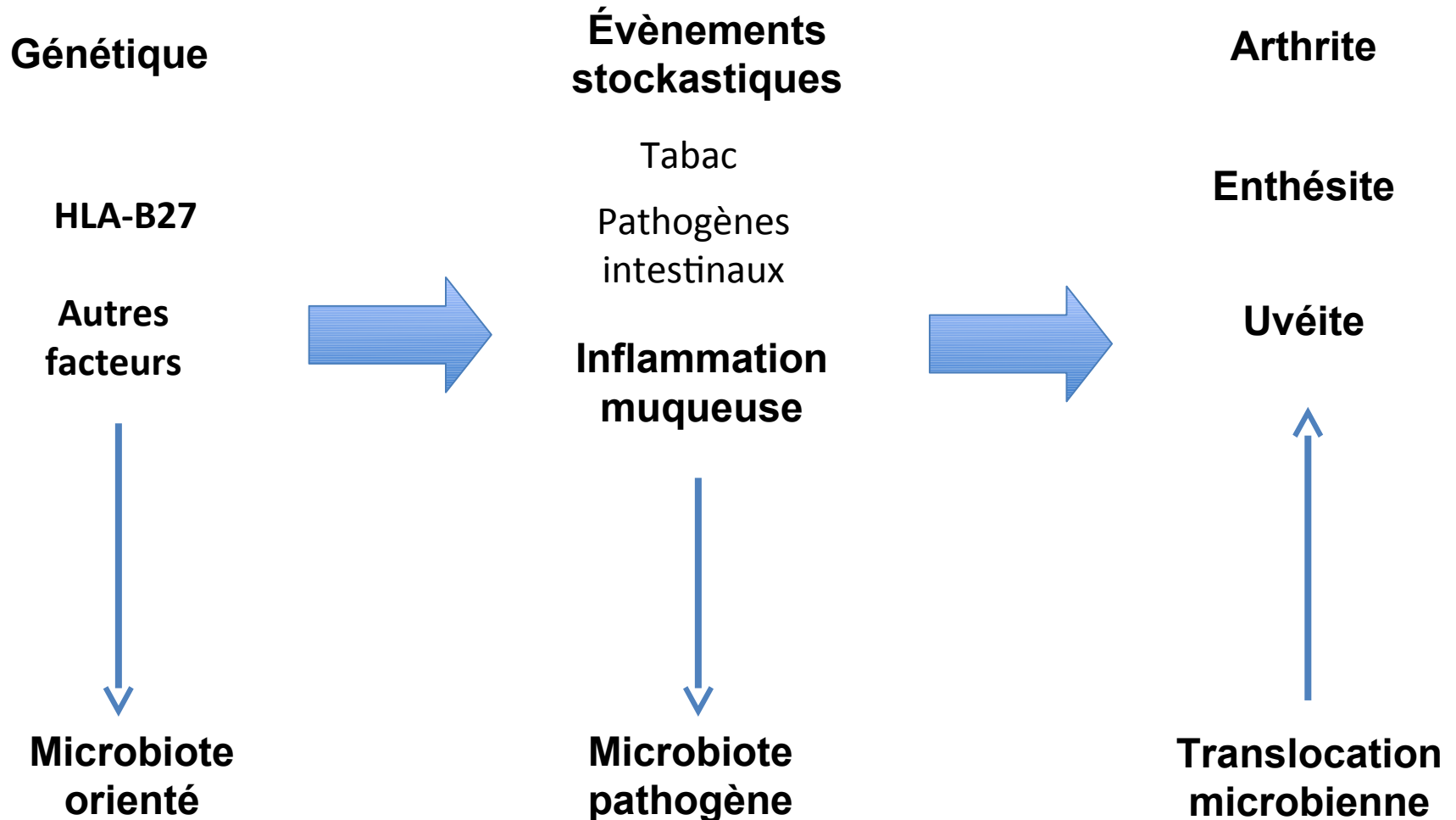
Pilotage à distance
d'une réaction
inflammatoire
médiée par Th17 ?



Translocation
bactérienne ?



Rôle potentiel du microbiome dans les spondyloarthrites



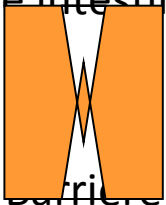
**L'étude du microbiote peut-elle
avoir des débouchés
thérapeutiques ?**

Perspectives thérapeutiques

Restaurer la biodiversité (microbiome sain) ?

Un traitement (éco) logique ?

Flore intestinale

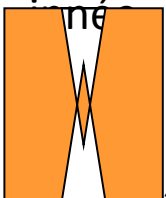


Barrière

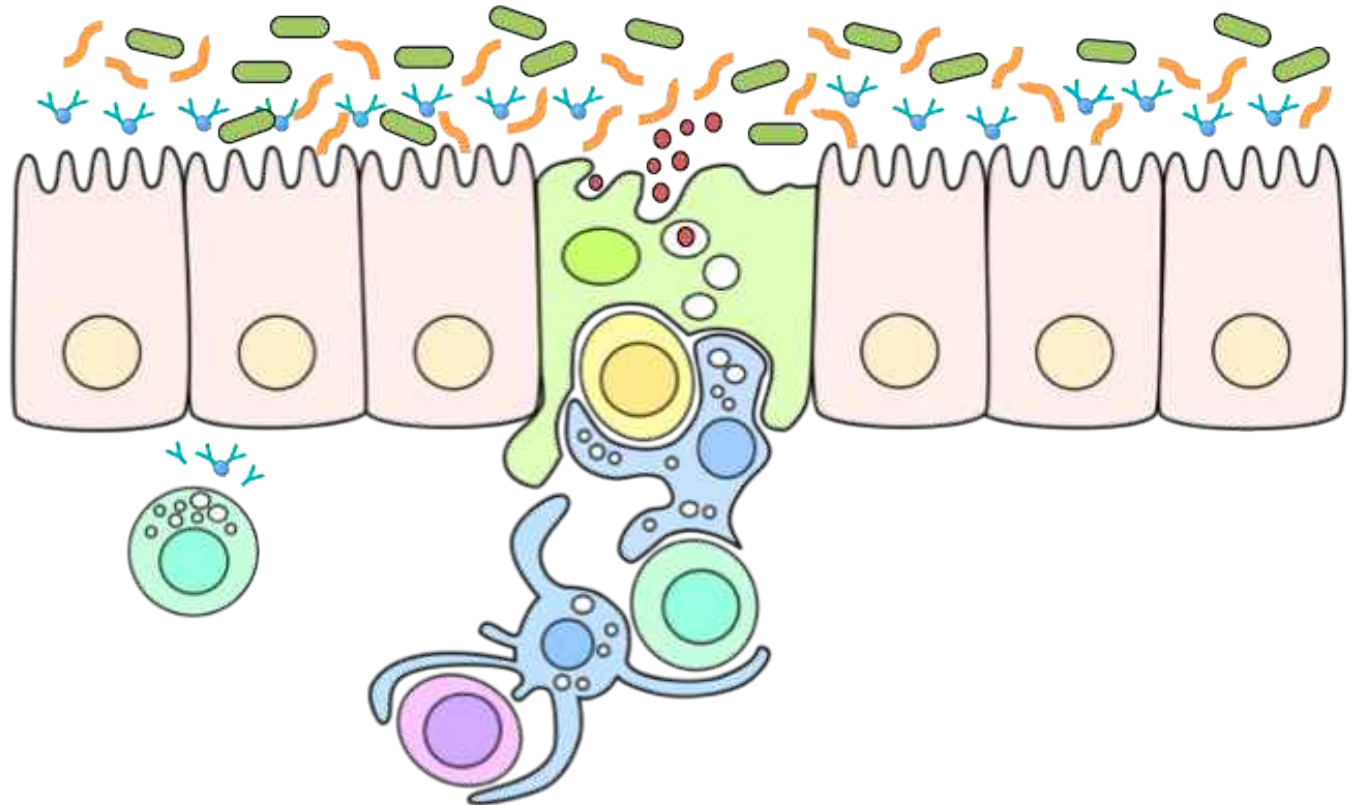
Intestinale



Immunité



Immunité
adaptative



Clostridium difficile

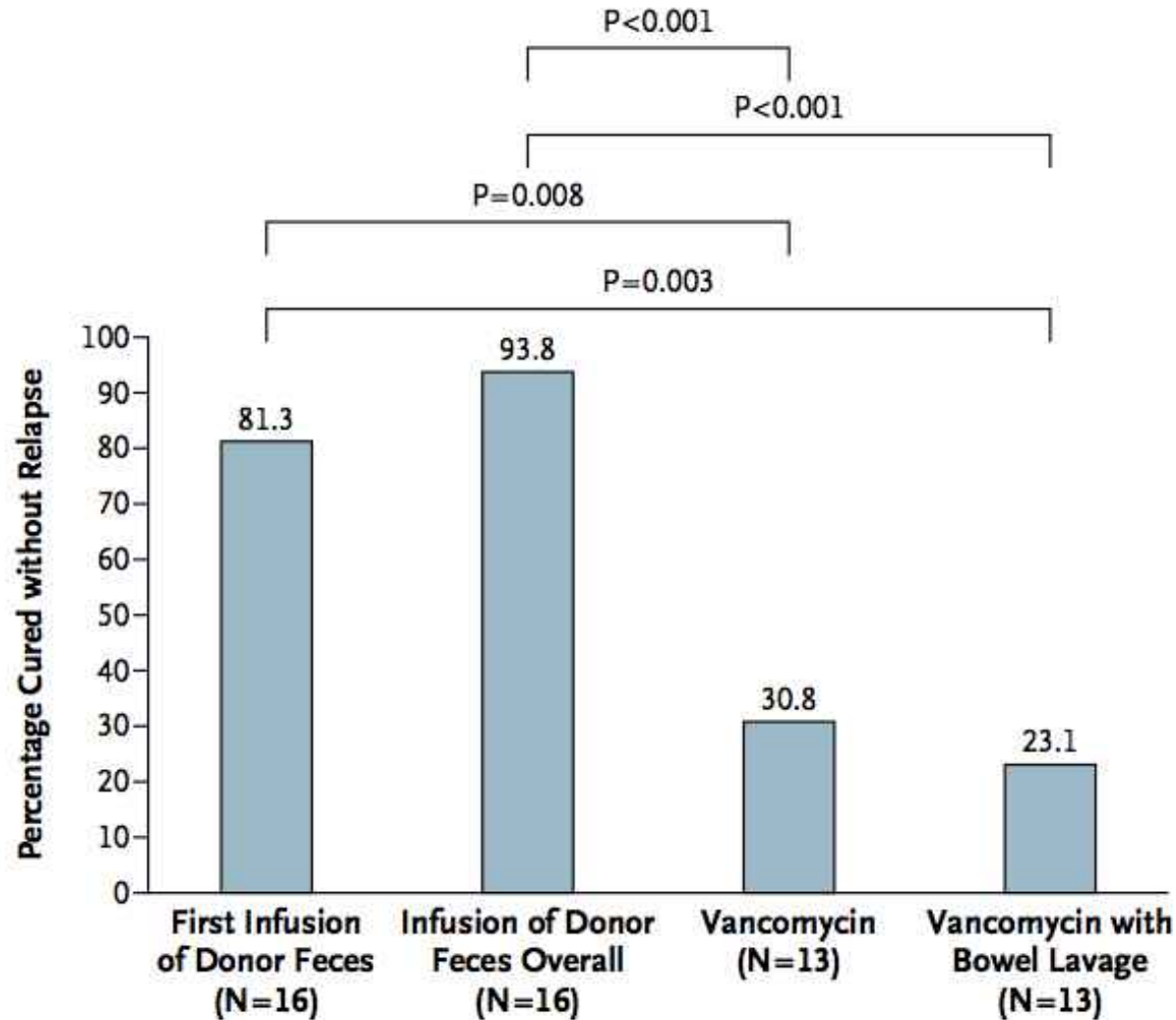
- Bacille Gram + anaérobie strict
 - Appartient à la flore intestinale normale
 - Normalement présent en faible abondance
- Agent des colites pseudomembraneuses :
 - Infection digestive sévère
 - Surtout chez le sujet âgé
 - Après antibiothérapie
- Répond au traitement antibiotique
- Mais risque de récurrence +++
 - 25% après 1er épisode
 - 35 à 45% après 2e épisode



Kelly CP. N Engl J Med. 2013;368(5):474–5.

Transplantation fécale :

taux de rémission sans rechute

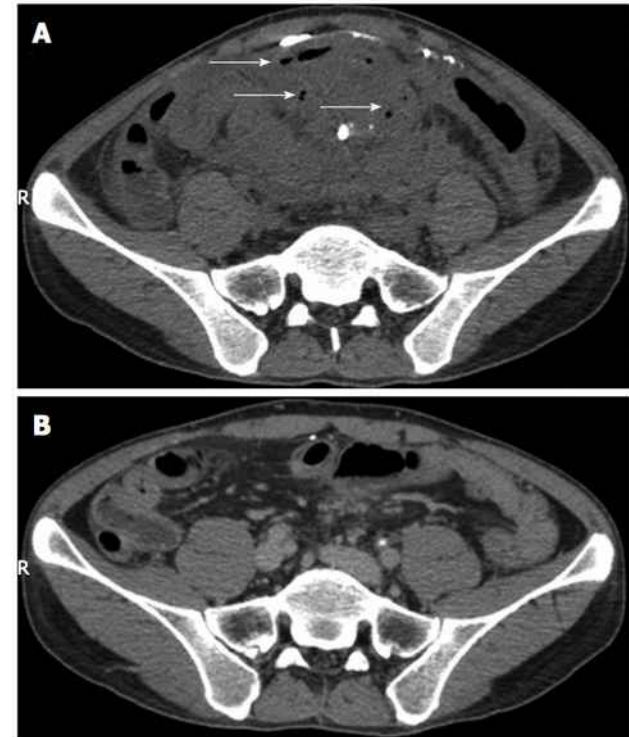
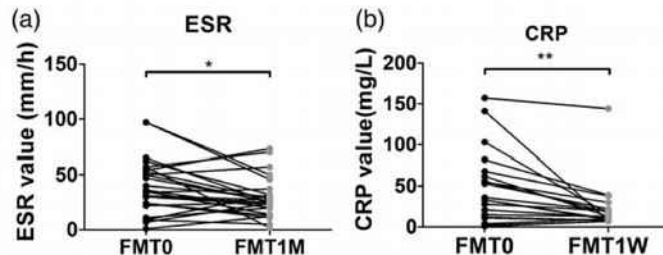
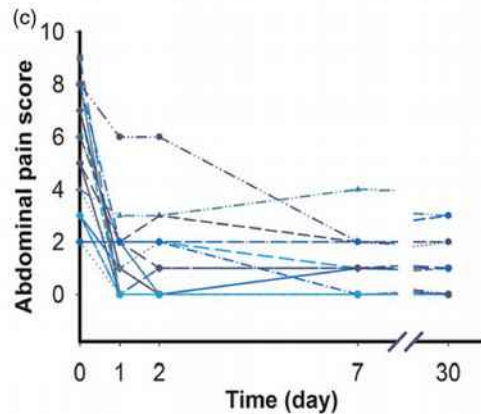


Quelques tentatives dans des Crohn réfractaires

CLINICAL TRIALS AND THERAPEUTICS

Fecal microbiota transplantation through mid-gut for refractory Crohn's disease: Safety, feasibility, and efficacy trial results

Bota Cui,^{*,1} Qiang Feng,^{†,1} Honggang Wang,^{*,1} Min Wang,^{*} Zhaoyuan Peng,^{*} Pan Li,^{*} Guangming Huang,^{*} Zheng Liu,^{*} Ping Wu,^{*} Zhining Fan,^{*} Guozhong Ji,^{*} Xin Wang,[‡] Kaichun Wu,[‡] Daiming Fan[‡] and Faming Zhang^{*}



Conclusion

- Le microbiote intestinal peut être assimilé à un véritable organe :
 - Alimentation
 - Apports énergétiques, vitamines, acides aminés et lipides essentiels
 - Éducation du système immunitaire
 - Participation à la défense vis-à-vis des entéropathogènes
- Un dialogue permanent existe entre la flore muqueuse et le système immunitaire de l'hôte