

Présentent
Dans le cadre du cycle de conférences « Sciences du Vivant et Société »

L'inflammation silencieuse

Colloque du vendredi 12 décembre 2014



S O M M A I R E

L'immunité innée : des insectes à l'Homme Pr Jules Hoffmann.....	10
Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire Pr Fabio Martinon.....	23
Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique - Pr Rémy Burcelin.....	36
Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements - Pr Pierre Miossec	52
Table ronde : Prévention et traitements de l'inflammation chronique.....	67

Sciences du Vivant et Société



A l'initiative de leurs deux présidents, Messieurs **Alain MÉRIEUX** et **Jean-Pierre CLAVERANNE**, les Fondations Mérieux et Bullukian se sont associés pour favoriser la réflexion entre les différents acteurs concernés par l'évolution de la science et son impact potentiel sur la société.



Les thèmes choisis pour ces réflexions concernent les applications des découvertes scientifiques et leurs conséquences potentielles dans les domaines de la santé de l'alimentation et de l'environnement.

Ces découvertes scientifiques vont, sans aucun doute, façonner notre société par leurs applications



Monsieur **Jean-Pierre DECOR**, ancien directeur scientifique d'Aventis Agriculture, membre de l'Académie d'Agriculture de France et président ou administrateur de plusieurs organismes scientifique et grandes écoles, a été chargé d'organiser cette réflexion sous forme de colloques et de rencontres.

Ces évènements se déroulent dans des lieux particulièrement appropriés à ce type de débat comme le centre de conférences des Pensières, sur les bords du lac d'Annecy ou le Collège des Bernardins à Paris.

Les intervenants

L'immunité innée : des Insectes à l'Homme

Pr. Jules Hoffmann

Université de Strasbourg
Membre de l'Académie française
UPR 9022 du CNRS
Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire
15, rue René Descartes
67084 Strasbourg Cedex, FRANCE
J.Hoffmann@ibmc.u-strasbg.fr



Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire

Pr. Fabio Martinon

Université de Lausanne
Faculté de biologie et médecine
Département de Biochimie
Quartier UNIL-Epalinges, Ch. des Boveresses 155
CH-1066 Epalinges - LAUSANNE
Fabio.Martinon@unil.ch



Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

Pr. Rémy Burcelin, PhD, Directeur de Recherche
Inserm U 1048, Equipe 2, « Facteurs de Risque
intestinaux, diabète, Dyslipidémie »
Bt L4, Hôpital Rangueil, BP84225
31432 TOULOUSE
remy.burcelin@inserm.fr



Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements

Pr. Pierre Miossec

Professeur d'immunologie Clinique Université
Lyon I
Hôpital Edouard Herriot
Pavillon F
5 Place d'Arsonval - 69437 LYON
miossec@univ-lyon1.fr



«L'inflammation silencieuse»

Dr Jean-Pierre DECOR,

président de l'ENSC de Montpellier,
membre de l'Académie d'Agriculture de France



Mesdames Messieurs, chers amis, bonjour et bienvenue.

En préambule, je vais vous rappeler les finalités de nos colloques.

La science exerce une grande influence dans notre société et les technologies qui en sont issues sont de plus en plus rapidement intégrées dans la vie courante.

De plus la science, potentiellement constitutive de progrès, est perçue comme facteur de risques. Les usages qui sont faits de certaines découvertes scientifiques, provoquent une grande méfiance. C'est la situation dans laquelle se trouvent les plantes génétiquement modifiées, spécialement en France.

Par ailleurs, du fait de sa complexité croissante et de sa grande diversité, elle est de moins en moins accessible.

Comment rapprocher science et société, alors qu'aujourd'hui, elles tendent plutôt à se séparer ?

C'est l'objectif de ce type de colloques organisés par les Fondations Mérieux

et Bullukian, à l'initiative de leurs deux présidents, Messieurs Alain Mérieux et Jean-Pierre Claveranne, perpétuant ainsi l'oeuvre de Charles Mérieux et du baron Edmond de Rothschild.

Notre objectif est de vous familiariser, en tant qu'acteurs de la société civile dont vous êtes les représentants, avec les découvertes scientifiques les plus récentes dans les domaines de la santé, de l'alimentation et de l'environnement. Ces découvertes scientifiques sont susceptibles d'avoir un impact direct majeur dans notre société.

S'il est vrai que l'on peut se déplacer en avion sans savoir piloter ou utiliser un four micro-ondes sans connaître son fonctionnement, aujourd'hui, il nous semble nécessaire d'avoir un degré suffisant de compréhension des problèmes de santé, de nutrition et d'environnement pour pouvoir débattre des avancées dans ces domaines sensibles des sciences de la vie.

Débattre ne signifie pas dire oui ou non. C'est d'abord s'informer, participer, faire éventuellement évoluer et accepter en connaissance de cause.

Les découvertes dans les sciences de la vie vont certainement façonner de plus en plus notre société par leurs applications.

Ainsi, après avoir traité des thèmes généraux tels que «De l'eau pour l'humanité, quelles perspectives ?» ou «Nourrir 9 milliards d'humains», nous nous sommes plus focalisés sur l'Homme.

En 2012, nous avons examiné l'apport possible des nouvelles technologies sur

la longévité humaine («L'Homme immortel : jusqu'où aller ?»). L'an dernier, nous avons abordé les recherches en cours concernant le fonctionnement du cerveau. Le colloque avait pour titre «Dans les secrets du cerveau». Pour tous ces colloques un compte rendu est disponible sur le site Internet :
www.institut-vivant.org.

Il est également possible d'avoir, sur demande, les brochures relatives aux deux derniers colloques.

Aujourd'hui, nous vous proposons d'aborder un aspect plus médical en traitant de
« **L'inflammation silencieuse.** »

En médecine, des progrès spectaculaires ont été réalisés pour les traitements, l'hygiène, la prévention, avec notamment pour conséquence l'augmentation de l'espérance de vie. Aujourd'hui, par exemple, Mozart ou Schubert qui sont morts à 35 et 31 ans auraient pu survivre et continuer leurs œuvres.

Durant des siècles, la médecine a toujours assumé l'idée que différentes causes déclenchaient différentes maladies, c'est-à-dire qu'il n'existait pas un lien commun entre les différentes affections.

Les recherches qui vont vous être présentées aujourd'hui modifient radicalement cette opinion.

L'inflammation est la composante du système immunitaire qui aide à vaincre les bactéries ou les virus, à réparer les tissus endommagés. Il s'agit là de la réaction inflammatoire aiguë bénéfique dans ce cas.

Mais l'inflammation se situe entre le bien et le mal. Silencieuse et ignorée, elle serait à

l'origine de nombreuses maladies chroniques et dégénératives comme le cancer, Alzheimer, l'asthme, les allergies, l'arthrite ou le diabète. À l'intérieur de la cellule, en réponse à un stress, un certain nombre de mécanismes vont se déclencher conduisant à cette réaction inflammatoire.

Celle-ci formerait le chaînon manquant entre toutes les maladies chroniques, vasculaires, métaboliques, digestives, neurobiologiques et articulaires. Les résultats de ces recherches pourront, de ce fait, avoir un impact considérable en médecine prédictive et devrait contribuer aussi au renforcement de l'aspect préventif.

La journée va s'articuler autour de 4 conférences et se terminera par une table ronde:

1. L'inflammation est une composante du système immunitaire, c'est une des premières réponses au processus non spécifique de défense de l'organisme contre l'infection ou l'irritation. En introduction, le professeur Jules Hoffmann va nous présenter les grandes lignes du système immunitaire inné. Ce sont des mécanismes très comparables que les organismes, des plus primitifs jusqu'à l'homme, opposent aux agents infectieux.
2. Lors de la deuxième intervention, le professeur Martinon nous décrira comment, au niveau de la cellule, peut être caractérisé un complexe protéique appelé inflammasome qui va déclencher la réponse inflammatoire silencieuse.
3. Parmi les facteurs susceptibles de générer un inflammasome, le professeur Burcelin nous montrera les conséquences d'une alimentation trop riche en graisse. En modifiant la composition du microbiote, c'est-à-dire des bactéries intestinales, elle

«L'inflammation silencieuse»

induit une inflammation en générant de nombreux troubles métaboliques.

4. Enfin, le professeur Miossec nous exposera les aspects cliniques des différentes maladies ayant pour origine cette inflammation silencieuse et fera le point sur les traitements en cours.

Pour terminer, au cours la table ronde, nous essaierons de dégager des pistes pour détecter et éventuellement prévenir cette inflammation silencieuse.

Pour le déroulement du colloque, fort de l'expérience des années précédentes, nous avons décidé d'opérer à nouveau en deux parties : l'objectif est de se donner du temps pour favoriser l'interaction entre les conférenciers et l'auditoire lors de la table ronde.

Je vous souhaite donc une excellente journée très instructive.

(Applaudissements).

L'immunité innée : des insectes à l'Homme

Pr Jules HOFFMANN

Université de Strasbourg, membre de l'Académie française



Sans plus attendre, je vais céder le pupitre à notre premier conférencier, le professeur Jules Hoffmann.

Son œuvre et son humanité sont reconnues par la communauté scientifique. Il est le lauréat d'une liste impressionnante de distinctions dont nous sommes convenus de ne pas les citer.

Je mentionnerai tout de même qu'il a présidé l'Académie des Sciences et vous avez tous en mémoire qu'il est lauréat du prix Nobel de physiologie et de médecine.

Son œuvre et son humanité sont également reconnues par la partie la plus illustre de notre société en l'accueillant à l'Académie française comme immortel.

Soucieux des applications de ses découvertes, j'ai eu la chance de le côtoyer et de l'apprécier chez EntoMed, société que nous avons créée pour valoriser, à des fins thérapeutiques, les peptides antifongiques, antimicrobiens qui sont des acteurs de l'immunité innée dont il va vous parler.

Ses découvertes ont éclairé la compréhension du système immunitaire en dévoilant les principes clés de son activation.

Le titre de son intervention est : «L'immunité innée : des insectes à l'Homme».

(Applaudissements)

Pr Jules HOFFMANN - J'adresse en premier lieu mes remerciements très chaleureux à Jean-Pierre Décor et à toute l'organisation. Je suis très heureux d'être invité pour ce colloque.

La question que l'on me pose souvent ces dernières années est la suivante :

Pour quelle raison avez-vous travaillé sur la santé des insectes ?

La réponse est simple. Les insectes forment 80 % des espèces animales sur Terre. Ils mettent près d'un tiers de l'humanité en situation de risque de transmission de maladies graves, entraînant des millions de morts tous les ans. Ils détruisent plus du tiers des récoltes tous les ans ; mais par ailleurs ils contribuent à la pollinisation.

Ils ont donc un rôle extrêmement important dans notre vie de tous les jours.

Je suis issu du laboratoire de zoologie du Professeur Pierre Joly qui avait fait ses études à la Sorbonne avec Pierre Grasset. Pierre Joly travaillait sur le contrôle endocrine du développement chez le grand criquet.

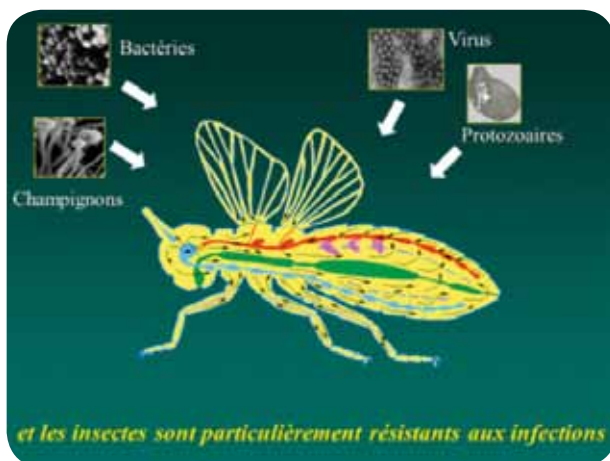
À cette époque, on prenait un organe dans un animal donné et on le transplantait dans un autre insecte sans aucune précaution d'asepsie. On pouvait même couper la tête à deux insectes et les remettre ensemble en parabiose. En prenant un animal jeune et un animal plus âgé on observait ainsi les facteurs qui influencent le développement.

L'immunité innée : des insectes à l'Homme

En 1963, quand M. Joly m'a confié le sujet de thèse, il m'a dit que l'endocrinologie sur les insectes qu'il avait pratiquée pendant 30 ans était une science qui s'achevait pour la bonne raison que tout ce que l'on pouvait faire expérimentalement à l'époque avait été effectué.

Mais il ajouta quelque chose qui m'a surpris:

«Ces insectes sont extrêmement résistants aux infections. Nous n'avons jamais pris de précautions et pourtant, il n'y a jamais eu une infection. Ces insectes doivent développer des mécanismes de défense antimicrobiens extrêmement puissants.»



C'est la genèse de toute notre histoire. Elle remonte à 50 ans et c'était véritablement de la pure curiosité scientifique. À l'époque, personne ne vous demandait si cette recherche allait permettre d'avoir des répercussions pour la société ou créer des emplois.

Pour le CNRS, il suffisait que ce soit une question scientifique intéressante en soi.

Avec M. Joly, nous pensions que nous trouverions quelque chose de totalement différent de ce qui était connu à l'époque chez les mammifères. À part la phagocytose, ce qui était connu était le système des

anticorps, de la mémoire immunitaire et nous pensions qu'il n'y avait rien de semblable chez les insectes. Nous nous attendions à découvrir un monde totalement nouveau et différent de celui des mammifères.

Je vais vous montrer dans quelques instants à quel point nous nous sommes trompés. En effet, il existe entre l'insecte et l'homme beaucoup d'aspects semblables. Nous avons découvert beaucoup de choses chez les insectes grâce aux recherches chez l'homme et inversement, les insectes ont permis d'avancer dans quelques domaines spécifiques. Ils ont eu une contribution extrêmement intéressante.

Les insectes infectés par des champignons, des bactéries se défendent extrêmement bien. Quels mécanismes peuvent expliquer cette grande résistance ?

Je ne vais pas aller dans les détails, nous n'en avons pas le temps et ce n'est pas nécessaire. Je parlerai des études que nous avons menées à partir des années 80 et me bornerai à celles relatives à la drosophile. Ce modèle nous a permis de faire de la génétique moléculaire et d'aller plus vite dans un certain nombre de domaines.

Si vous piquez une drosophile avec une pointe plongée dans une culture de bactéries, au bout de quelque temps, cette expérience vous montre que l'injection de bactéries a provoqué l'apparition d'une activité antimicrobienne puissante.

La première question a été la suivante : quelle est l'identité des molécules responsables de cette protection ? S'agit-il de peptides ? Nous le pensions par analogie avec les résultats obtenus à Stockholm par Hans Boman chez les papillons.

Deuxièmement, si nous trouvions effectivement chez la drosophile des peptides antimicrobiens, nous pensions nous intéresser au contrôle d'expression de leurs gènes.

La troisième question qui s'est avérée la plus longue à résoudre est : comment l'infection est-elle reconnue par les insectes et éventuellement, discriminent-ils entre différents types d'agresseurs ?

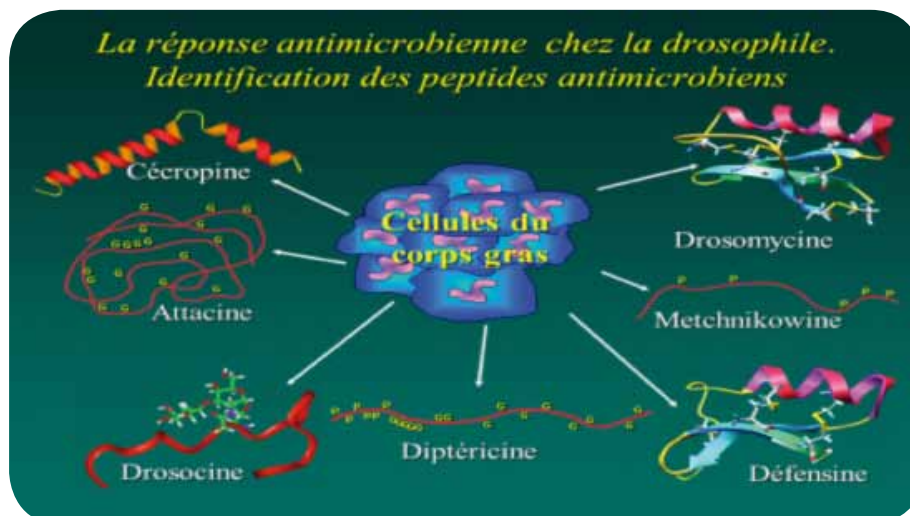
Tel est le plan de mon exposé. Je passerai de la drosophile aux mammifères et à l'homme par moments.

Première question, quelle est l'identité des molécules induites qui expliquent l'efficacité de cette réaction de défense ?

Au bout de plusieurs années, notre groupe a réussi à identifier, avec l'aide du laboratoire de Guy Ourisson à Strasbourg, plusieurs familles de molécules.

Les cellules du corps gras des insectes, l'équivalent fonctionnel de notre foie, produisent au minimum sept familles de peptides antimicrobiens : des peptides actifs sur les germes à Gram négatif, dont la cécropine homologue à la première molécule trouvée par Hans Boman chez *cecropia*, l'attacine, la drosocine et la **diptéricine**.

Nous avons ensuite trouvé un premier peptide, actif contre les germes à Gram positif, la défensine, puis la metchnikowine et la **drosomycine** actives contre les champignons.



La drosomycine s'est avérée être une molécule particulièrement intéressante pour la suite de nos travaux. Elle nous a permis de mieux comprendre le mécanisme d'expression.

Il est important, dès à présent, de noter que dans les années où ces travaux étaient en cours, parallèlement, des peptides antimicrobiens ont été trouvés chez l'homme dans toutes les cellules épithéliales de

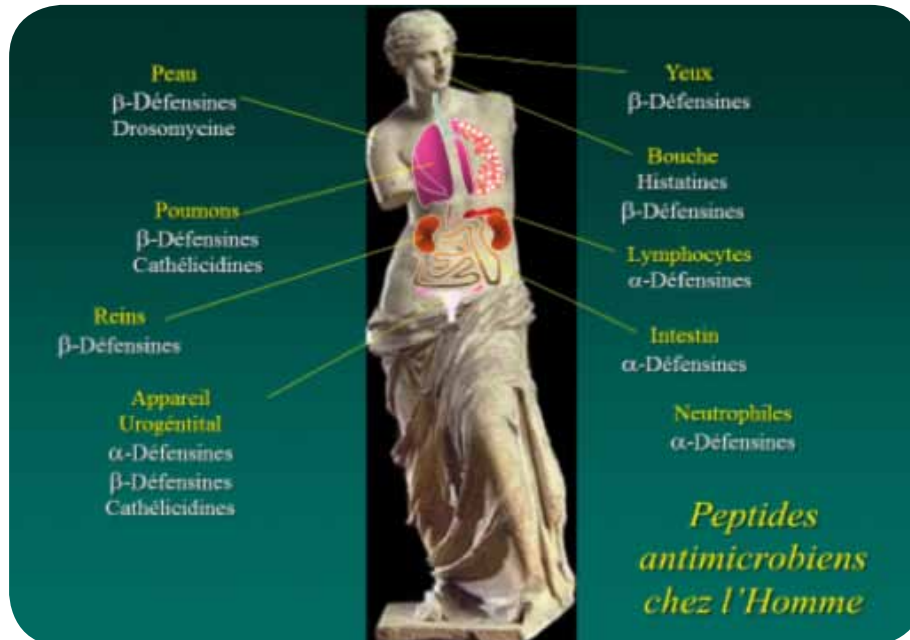
surface, grâce notamment aux travaux de Bob Lehrer et Tom Ganz aux Etats Unis.

Il y a toutefois une différence. Chez la drosophile, les peptides produits sont sécrétés dans le sang et s'y accumulent à des concentrations très élevées, alors que chez l'homme, ils sont essentiellement localisés sur les cellules épithéliales de surface (peau, poumons, reins, appareil uro-génital, yeux, bouche, intestin).

L'immunité innée : des insectes à l'Homme

Bob Lehrer a calculé que nous produisons sur notre peau de l'ordre de 10 grammes

par jour de peptides antimicrobiens. Cette quantité est considérable.



Depuis, de très nombreux travaux ont porté sur les peptides antimicrobiens. Nos connaissances sont toutefois encore imparfaites. Nous savons qu'ils sont présents chez tous les organismes animaux et végétaux. Leur rôle primordial, chez les mammifères, se situe au niveau des surfaces de contact avec le milieu extérieur. Ils neutralisent les microbes en déstabilisant la structure de leur membrane. Beaucoup de travaux très sophistiqués ont porté sur le mode d'action. Le plus simple pour nous ce matin est de considérer une déstabilisation de la structure de la membrane des agresseurs microbiens.

Des développements récents sont très intéressants et extrêmement importants chez les mammifères. On s'est rendu compte qu'ils peuvent aussi jouer le rôle de chémokine (messager chimique entre les tissus) ou de cytokine (activation des cellules du système immunitaire).

Les peptides antimicrobiens ne sont donc pas uniquement des molécules qui s'opposent à la croissance des microbes.

Avec mon ami Jean-Pierre Décor, nous avons souffert sur les applications potentielles en thérapie. Nous avons créé ensemble une entreprise que nous avons appelée EntoMed. L'objectif était d'apprécier l'intérêt potentiel de ces peptides en thérapie antimicrobienne. Nous avons rencontré plusieurs problèmes dont le premier était la dégradation rapide de ces peptides par les protéases, à l'exception de la drosomycine, qui avec quatre ponts disulfure, résiste très bien.

Le deuxième problème était que leur efficacité requiert des concentrations élevées qui sont effectivement réalisées chez les insectes. Chez la drosophile, les concentrations sont de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-7} molaire. Nous avons pu synthétiser ces molécules en laboratoire par voie chimique, mais les rendements sont relativement faibles. Un traitement journalier

chez l'homme coûterait à peu près 600 dollars ; ce qui n'est pas dramatique dans le cas où vous avez une transplantation de moelle osseuse, mais cela n'aurait pas permis de faire un véritable « blockbuster ».

Avec la Société Rhône Poulenc nous avons réussi à exprimer ces gènes sous forme recombinante dans des plantes de tabac. Nous avons obtenu de très bons résultats. Mais les investisseurs craignaient que nous n'arriverions jamais à commercialiser un médicament produit dans des plantes OGM et se sont malheureusement retirés.

A l'époque quatre entreprises avaient été lancées, trois aux États-Unis et la nôtre à Strasbourg. Nous avons eu jusqu'à 40 employés. Nous étions confiants sur le plan scientifique. Mais l'histoire s'est arrêtée là quand les investisseurs se sont retirés. La situation a été identique aux États-Unis. Personne n'a réussi pour l'instant à développer ces molécules pour une antibiothérapie efficace et financièrement soutenable.

Je clos cette partie pour en arriver à la deuxième question :

Comment l'expression des gènes de ces peptides est-elle contrôlée ?

Quand nous avons cloné le gène de la diptéricine, nous avons observé dans ses promoteurs des séquences fixatrices NF- κ B. Nous produisons des mouches transgéniques où nous avons cassé ces séquences et nous observions alors que l'on ne pouvait plus induire la réponse anti-infectieuse. Ceci nous indiquait que ces séquences étaient indispensables pour que la réponse puisse se faire.

Qu'est-ce qu'un NF- κ B (nuclear factor-kappa B)? Il s'agit d'un activateur transcriptionnel trouvé par David Baltimore à la fin des années 80. Je l'ai souvent rencontré et il disait : « Jamais je n'aurais cru que cette découverte deviendrait aussi importante. »

Des études structurales sur NF- κ B ont montré qu'il est situé dans le cytoplasme de la cellule mais n'est pas actif car lié à un inhibiteur appelé I κ B. Une enzyme IKK va phosphoryler I κ B, celui-ci change alors de conformation et se détache de NF- κ B qui se trouve par conséquent libre et va migrer dans le noyau. Il se fixe sur les gènes autour des sites de réponse NF- κ B et conduit à la transcription des gènes de la réponse immunitaire. Ce mécanisme est général dans tous les métazoaires étudiés. Il est par contre absent chez les plantes.

Ce système joue-t-il un rôle dans la réponse immunitaire de la drosophile ?

La famille NF- κ B comprend 5 membres chez l'homme.

Chez les insectes, un seul membre était connu à l'époque de nos travaux. Il avait été découvert par Christiane Nüsslein-Volhard (prix Nobel de Physiologie ou Médecine 1995 avec Eric Wieschaus et Ed Lewis), en étudiant la cascade de gènes codants pour la formation de l'axe dorso-ventral. Ils avaient procédé par mutagenèse non biaisée : l'ingestion d'un mutagène entraîne des mutations qui se répercutent dans le développement des embryons.

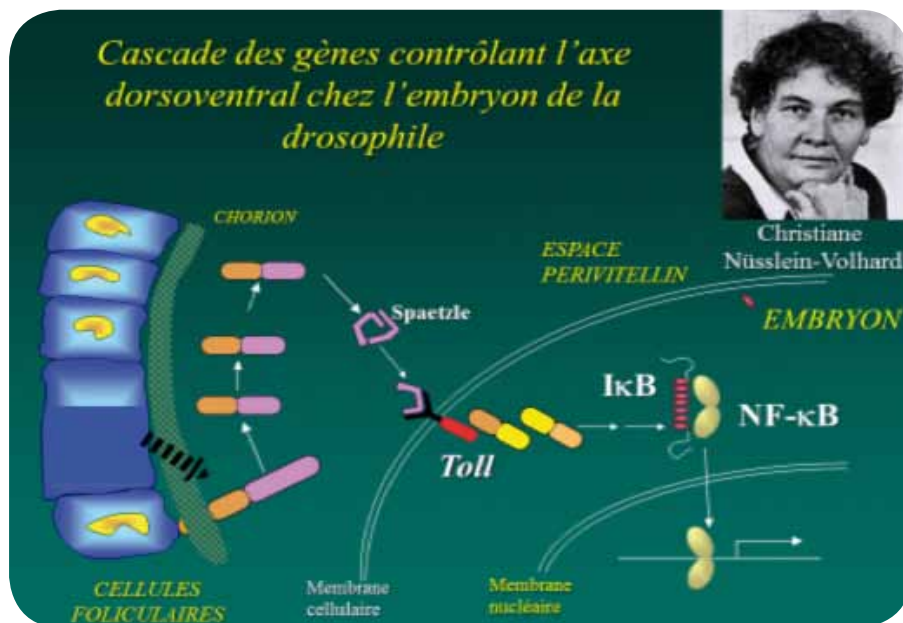
Ces travaux ont permis la description d'une cascade de gènes requis pour la mise en place de l'axe dorso-ventral. Parmi ces gènes se trouve celui qui code pour NF- κ B ainsi que le gène qui code pour l'inhibiteur I κ B. Les auteurs ont noté que l'activation du système

L'immunité innée : des insectes à l'Homme

NF- κ B dans leur modèle impliquait un input de la part d'un récepteur transmembranaire qu'ils ont appelé Toll pour la simple raison que le phénotype correspondant (l'apparition de l'embryon muté) était tout à fait bizarre, ce qui se dit toll en allemand.

Nüsslein-Volhard et ses collaborateurs ont également montré que le système

devait être activé par une véritable cascade protéolytique qui clive une cytokine. Cette dernière a été appelée Spätzle en raison de sa structure moléculaire ressemblant aux nouilles. Rappelons que ces noms ont été donnés bien avant que les gènes correspondants n'aient été clonés ni les protéines pour lesquelles ils codent n'aient été caractérisées au plan structurel.



Nous avons donc appris qu'il y avait dans le développement embryonnaire I κ B, NF- κ B et par ailleurs nous savions que des sites de réponse à NF- κ B étaient requis pour qu'il y ait l'expression des peptides antimicrobiens.

Ces mêmes gènes peuvent-ils être impliqués dans le contrôle de l'expression des peptides antimicrobiens ?

Cela semblait à priori peu probable parce que les gènes de la cascade de Nüsslein-Volhard étaient des gènes exprimés chez la mère, ce que l'on appelle des gènes à expression maternelle.

Or, en l'occurrence, nous travaillions sur des adultes mâles ou des larves âgées qui n'étaient plus dans ce contexte.

Par ailleurs, si la cascade contrôlait effectivement l'expression des gènes des peptides antimicrobiens, on pouvait penser que l'embryon devrait contenir quantités de peptides antimicrobiens ; ce qui n'était pas observé !

Le laboratoire a alors tenté de répondre à cette question par le biais d'une vaste opération qui associait des biochimistes (Charles Helru, Jean-Luc Dimarcq, Philippe Bulet), un généticien de drosophile (Bruno Lemaitre), et des biologistes moléculaires (notamment Jean-Marc Reichhart).

Nos études ont initialement portées sur l'induction par des bactéries de la diptéricine, peptide actif contre les germes à Gram-

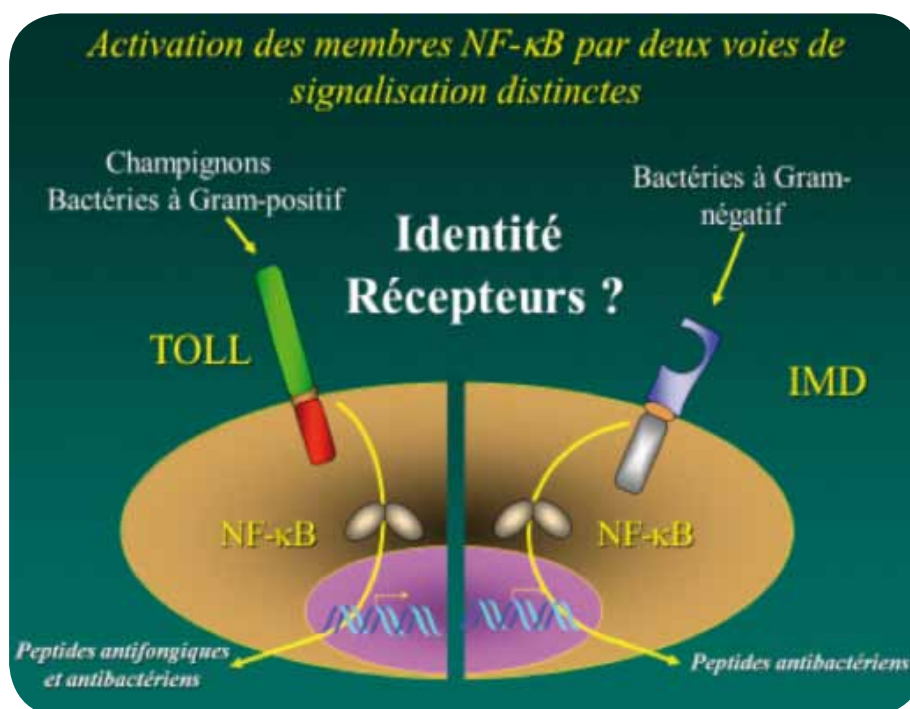
négalif. Malheureusement pour nous il s'est avéré que cette molécule n'était pas la cible de la cascade Toll.

Ce n'est qu'à partir du moment où, Jean-Luc Dimarcq, Philippe Bulet, et Charles Hetru ont réalisé au laboratoire une analyse protéomique différentielle en comparant les peptides induits après infection à ceux présents chez les insectes témoins, qu'ils ont identifié un polypeptide massivement induit. Ce peptide n'avait pas d'activité antibactérienne et il a fallu de nombreux mois avant que notre laboratoire ne puisse montrer (en association avec le groupe de Willem Broeckart de Gand) qu'il était puissamment antifongique. Nous avons nommé ce peptide drosomycine. Le clonage du gène codant pour la drosomycine par JM Reichhart permit ensuite à B Lemaitre de

montrer que son induction après blessure septique dépendait de Toll, contrairement au gène de la diptéricine.

A cette époque, des données génétiques nous ont portées à proposer qu'une deuxième voie était responsable de l'induction de cette diptéricine et d'autres peptides antibactériens. Nous avons appelé cette deuxième voie IMD (pour Immune Deficiency).

Au bout de 5 ans, le laboratoire avait donc réussi à démontrer qu'il existait deux voies distinctes, la voie Toll et la voie IMD, contrôlant l'expression des gènes qui codent pour les peptides antimicrobiens. Il est d'ailleurs possible que ces deux voies puissent concourir dans le contrôle de l'expression de certains gènes.



L'immunité innée : des insectes à l'Homme

Pourquoi ce travail a eu une incidence beaucoup plus générale que pour la drosophile?

En 1992, j'avais contacté Charlie Janeway, professeur à Yale, qui s'intéressait, avec Alan Ezekowitz d'Havard, à ce qu'ils appelaient l'*ante-antibody response*, c'est-à-dire la réponse avant que les anticorps n'apparaissent. Ils travaillaient chez les mammifères (y compris chez l'homme). Charlie Janeway était convaincu, en 1989, que l'immunité adaptative, centre de toutes les études à l'époque, ne pouvait se réaliser que s'il y avait un input préalable de l'immunité innée. Quand un peptide est présenté aux lymphocytes T, il faut qu'il y ait un signal d'infection. L'immunité adaptative ne peut pas décider si le peptide qui lui est présenté est lié à une infection ou fait partie du soi de l'individu. Il faut donc un système avertisseur. Selon Charlie Janeway, cela ne pouvait qu'être l'immunité innée. A l'époque on ne connaissait pas le système de récepteur.

Nous avons décidé de nous mettre ensemble pour décrypter les parallèles potentielles entre la souris (l'homme) et la drosophile, partant de l'idée que NF-kB était impliqué dans les deux systèmes. Nous fûmes en particulier soutenus dans nos travaux collaboratifs par le programme Human Frontiers in Science au départ, et depuis, de façon non interrompue par les National Institutes of Health.

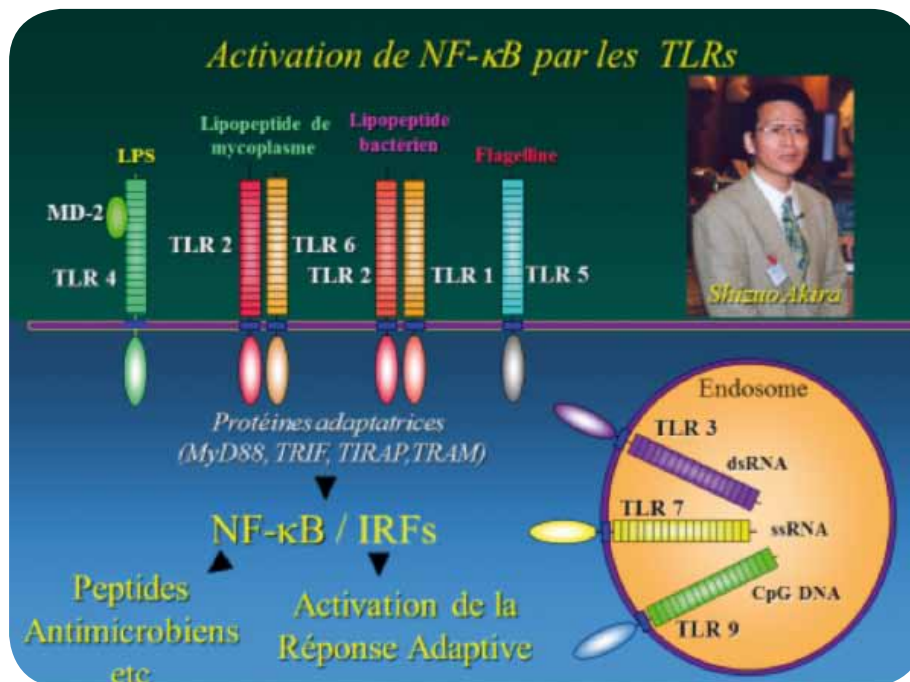
En 1996, j'avais présenté les travaux de

notre laboratoire sur la mouche à une réunion interne avec les laboratoires de Charlie Janeway et d'Alan Ezekowitz dans le cadre du programme Frontières humaines. L'année suivante, le laboratoire Janeway identifiait par clonage homologue un récepteur humain qu'ils ont appelé *Toll-like receptor*, (TLR).

Encore une année plus tard, Bruce Beutler identifiait le récepteur du lipopolysaccharide (LPS) chez la souris. Le LPS (composant de la paroi des bactéries à Gram-négatif) est l'un des inducteurs essentiels de la réponse immunitaire innée chez les mammifères.

Au bout de 2 ou 3 ans, la communauté scientifique a découvert que l'homme possède une douzaine de récepteurs TLR. Ceux-ci sont des protéines transmembranaires présentes soit sur la membrane cytoplasmique soit sur la membrane des endosomes. Ces récepteurs reconnaissent différents déterminants microbiens extérieurs à la cellule (lipopeptide, LPS, flagelline, profiline...) et des séquences nucléotidiques au sein des endosomes (voir figure).

L'interaction ligand-TLR active NF-kB et conduit à l'expression des gènes codant pour les polypeptides de l'immunité innée. Par ailleurs, cette interaction sur les cellules dendritiques en particulier (comme dans les toutes les cellules dites présentatrices d'antigènes) conduit à l'activation de l'immunité adaptative en stimulant des lymphocytes naïfs.



Il est apparu au fil des années que en dehors de l'action des ligands microbiens sur les TLR, ceux-ci peuvent également subir une activation par des molécules résultant de dommages ou de morts cellulaires (exemples: heat shock proteins, HMGB1, biglycan, hyaluronane, héparane sulfate). A noter cependant que, contrairement aux cas des interactions entre TLR et agonistes bactériens ou fongiques, il n'y a pas encore d'études structurales sur ces dernières interactions.

Comme nous l'avons vu tantôt, les TLR ont été initialement associés exclusivement à la défense anti-infectieuse. Les très nombreux travaux réalisés au cours des quinze dernières années, notamment en recherche clinique, ont conduit à une image beaucoup plus large et nous savons aujourd'hui que ces récepteurs jouent un rôle primordial dans

l'inflammation, interviennent fréquemment dans l'auto-immunité, et dans l'allergie. Ils jouent également un rôle dans le système nerveux notamment dans les cellules de la microglie. Comme certains adjuvants utilisés au cours de la vaccination agissent par les TLR, des recherches actives portent sur ce domaine pour améliorer l'efficacité et la spécificité de ces adjuvants TLR-dépendants. Notons enfin que l'immunothérapie, notamment anticancéreuse, est en train de prendre un essor remarquable, et que les TLR jouent également un rôle dans ce domaine. L'essor de ce domaine de recherche en relation avec les récepteurs transmembranaires TLR/Toll est illustré par le fait qu'au cours des vingt dernières années plus de 20 000 publications ont été consacrées à cette thématique, notamment dans le domaine clinique.

L'immunité innée : des insectes à l'Homme



Je reviens rapidement à la drosophile, qui est quand même notre domaine de travail et à l'activation des NF- κ B par les deux voies de signalisation distinctes

Quelles sont les récepteurs chez la drosophile?

Nous nous sommes rendu compte, après des années de travail, que Toll n'était pas un récepteur direct de champignons ou de bactéries à Gram-positif, mais répondait à une cascade protéolytique, comme dans le système embryonnaire.

Quel est donc le véritable récepteur ? En 2001, nous ne le savions pas.

Par ailleurs, pour les bactéries à Gram-négatif, nous n'avions aucune idée de la nature du récepteur.

Je vais vous résumer le travail qui a pris des années et qui nous a amenés avec plusieurs collègues d'autres laboratoires à la découverte de protéines de reconnaissance du Peptidoglycane de la paroi des bactéries (PGRP). Il s'agit chez la drosophile d'une famille de 13 molécules qui ont en commun

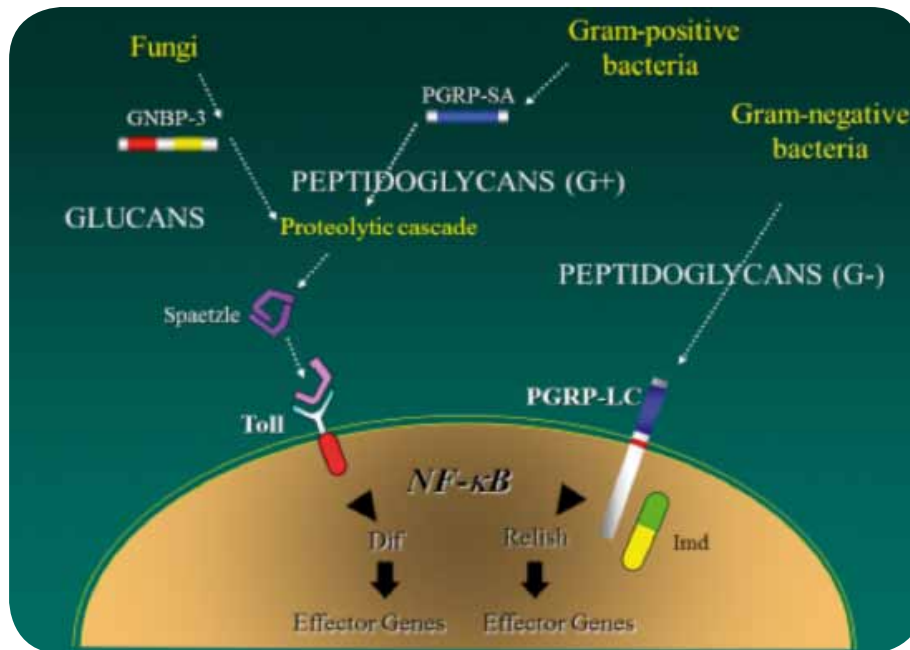
un site dans lequel se fixe le Peptidoglycane. Des travaux de structure réalisés notamment aux États-Unis, ont montré que ce site est capable, selon le type de molécule, dans la famille des 13 protéines, de discriminer entre du Peptidoglycane de bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif.

La fixation du Peptidoglycane de ces bactéries à PGRP-SA active une cascade protéolytique qui conduit au clivage de Spätzle, la cytokine découverte dans le développement embryonnaire. Cette cascade protéolytique est bien connue maintenant, grâce à une série de travaux réalisés dans plusieurs laboratoires. On notera qu'elle est différente de celle du développement embryonnaire.

Les bactéries à Gram-négatif activent par leur Peptidoglycane spécifique un autre récepteur, PGRP-LC, transmembranaire celui-ci, et n'induisent pas de cascade protéolytique. Notons enfin qu'au laboratoire Dominique Ferrandon a trouvé des protéines (GNBP) de reconnaissance du β -Glucane des champignons dont la structure 3D a été établie en collaboration avec le groupe

d'Alain Roussel. Les champignons activent également cette cascade protéolytique, tout

comme les bactéries à Gram-positif.



Quelles sont les étapes entre la reconnaissance de l'agresseur et l'expression de gènes codant pour des molécules effectrices ?

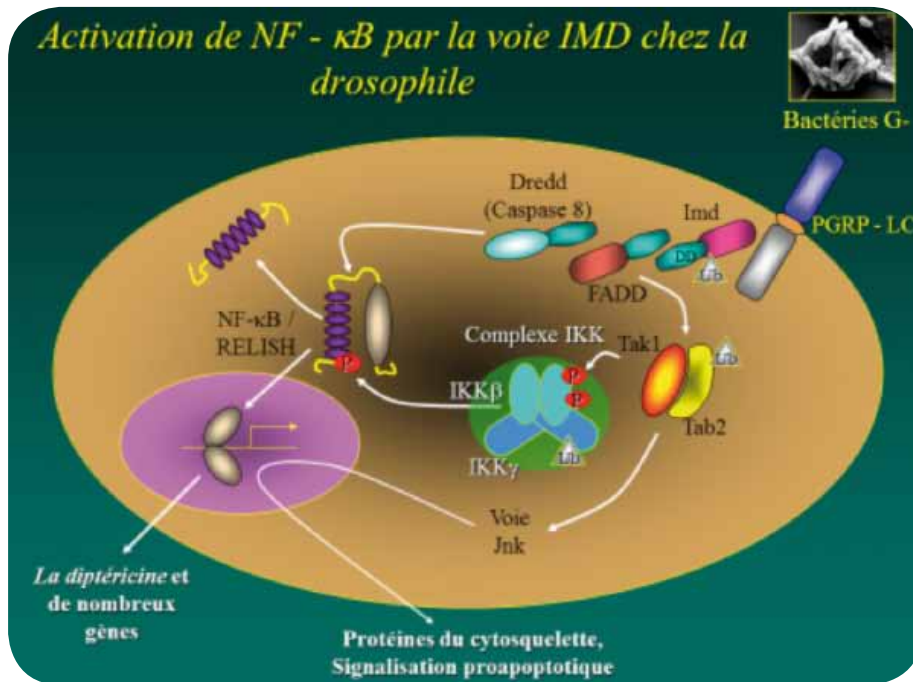
Quand nous avons cloné le gène codant pour IMD, il s'est avéré que cette molécule était proche de la molécule RIP (TNF-Receptor interacting protein) de la souris. Ce fut aussi le cas du complexe IKK propageant la réponse cellulaire en activant la protéine NF-κB qui avait été découvert les années précédentes chez la souris, ainsi que pour la kinase amont, TAK1 identifié par Lemaitre à Gif-sur-Yvette.

Subitement, nous nous trouvons dans un système, mis à part les récepteurs d'activation, équivalent à ce qui était trouvé chez la souris. C'était totalement différent de

ce que nous anticipions !

Nous nous sommes par ailleurs rendu compte que la voie IMD chez la drosophile n'est pas seulement activée par des infections bactériennes à Gram-négatif ; elle l'est également dans des conditions parfaitement stériles qui simulent une inflammation. En présence d'excès d'ADN (mutation perte de fonction d'enzymes lysosomiales de dégradation d'ADN), il y a une induction de la voie IMD, tout comme chez les mouches vieillissantes et celles qui développent des tumeurs.

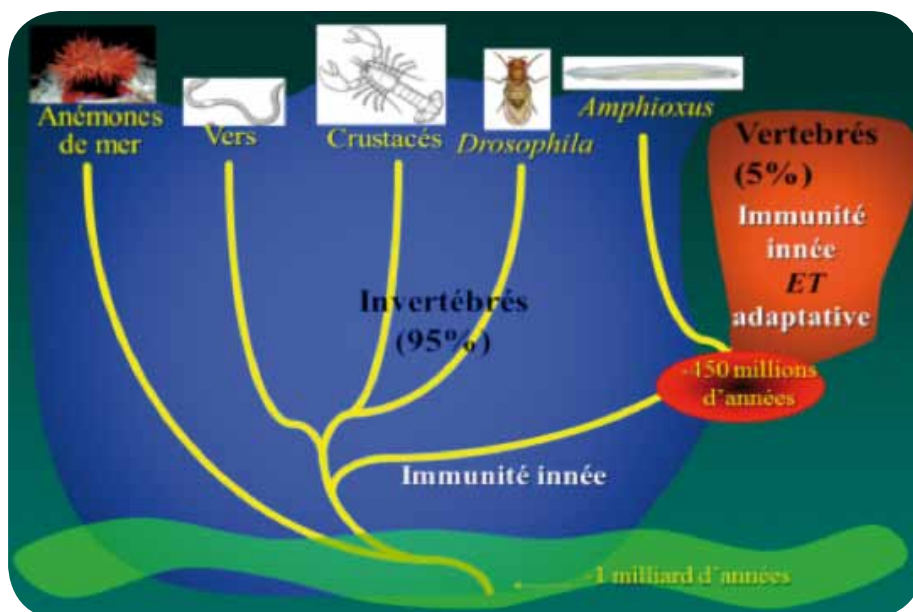
En fin de compte il apparaît ainsi que la voie IMD est assez semblable à celle du récepteur du TNF chez la souris.



La drosophile n'est bien sûr pas l'ancêtre de la souris, ni la souris l'ancêtre de la drosophile. Si ce système est aussi proche chez la drosophile et la souris, quand est-il apparu ?

À ce stade, nous nous sommes mis à regarder les séquences génomiques chez différentes espèces animales. La surprise fut de voir que

le système découvert chez la drosophile et la souris était présent chez l'anémone de mer. Une autre surprise est que le système chez l'anémone de mer est plus proche de celui des vertébrés que celui de la drosophile. Tout ce qui est présent chez la drosophile est également chez l'anémone de mer et chez l'homme.



Nous avons récemment fait une analyse protéomique qui nous a permis d'isoler 400 protéines qui interagissent avec les 11 membres canoniques de la voie de signalisation IMD. Sur ces protéines, 90 % sont communes entre la drosophile et l'homme. Malheureusement nous ignorons pour la plupart de ces protéines les fonctions précises au cours de la réponse immunitaire. Dans des essais d'interférence à l'ARN, nous avons cependant montré que 60 % ont un effet net sur le taux d'induction des gènes codant pour certains peptides antimicrobiens chez la drosophile.

Au plan phylogénétique, on admet aujourd'hui que l'immunité innée est apparue très tôt avec la multicellularité, probablement il y a 1 milliard d'années. C'est la seule défense antimicrobienne chez 95 % des formes animales. Certaines estimations indiquent que cette réponse serait responsable de 95 % de nos propres réactions de défenses antimicrobiennes.

L'immunité adaptative est apparue avec les poissons lorsque les lymphocytes se sont différenciés, il y a environ 450 millions d'années. Alors que l'immunité innée se caractérise par un nombre restreint (une centaine probablement) de récepteurs dont les gènes sont présents dans le génome, dans l'immunité adaptative par contre, nous trouvons un répertoire fantastique de récepteurs sur les lymphocytes (en millions par individu). Ceux-ci résultent du réarrangement de fragments de gènes d'immunoglobulines dans chaque lymphocyte.

Certains de ces lymphocytes évoluent, après une infection, en cellules-mémoire. C'est la base de la vaccination.

Finalement, comme je l'ai exprimé à plusieurs

reprises, pour qu'il y ait une forte activation de l'immunité adaptative, il faut un input des cellules de l'immunité innée.

Je termine en remerciant les personnes sans les contributions desquelles ce travail n'aurait jamais pu aboutir. Parmi les chimistes et biochimistes, le rôle de Charles Hetru, Jean-Luc Dimarcq et Philippe Bulet a été essentiel. Jean-Marc Reichhart et ses collaborateurs directs ont joué un rôle prééminent dans les approches moléculaires et Bruno Lemaitre fut le premier généticien de drosophile que j'ai pu recruter au laboratoire où il fut bientôt rejoint par Dominique Ferrandon et Julien Royet. D'autres personnes ont joué un rôle significatif dans l'histoire du laboratoire, notamment Marie Lagueux, Danièle Hoffmann, Marie Meister. Je n'oublie pas non plus les chercheurs post-doctoraux et les étudiants de thèse qui furent nombreux pendant la réalisation de ces travaux.

Je voudrais également souligner les contributions de Jean-Luc Imler, en particulier sur les réactions antivirales de drosophile, et les travaux d'Elena Levashina sur les défenses des moustiques contre l'agent du paludisme, recherches dont je n'ai pas eu l'occasion par manque de temps de parler pendant mon exposé.

(Applaudissements)

Dr Jean-Pierre DECOR.- Merci pour l'histoire de cette belle découverte des mécanismes de l'immunité innée que tu as su nous rendre accessible même s'il y a quelques noms de protéines qu'il va falloir revoir ...

Pr Jules HOFFMANN.- Les noms ne sont pas importants.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Il y a quand même une grosse lacune dans cette immunité innée : elle n'a pas de mémoire. Chaque fois,

L'immunité innée : des insectes à l'Homme

il faut recommencer et cela laisse du temps à l'infection pour s'installer.

Pr Jules HOFFMANN.- Oui, on peut le dire ainsi. Je ne suis pas à l'origine de l'immunité innée, mais c'est une question qui revient souvent, en particulier des journalistes.

Il y a deux attitudes. Si 95 % des formes animales sur terre se défendent si bien avec l'immunité innée, pourquoi fallait-il l'immunité adaptative ? Une autre façon est de dire que c'est une énorme lacune. Il n'y a pas de réponse parfaite à cela.

Cependant, on peut imaginer que les insectes ont une durée de vie relativement courte et un taux de reproduction faramineux. L'homme a une vie longue et ne fait pas une reproduction incontrôlée, en tout cas plus en France ni en Allemagne.

C'est une explication possible. C'est presque une question philosophique. C'est la question du pourquoi et du comment.

Il y a une explication de comment cela a pu se faire : c'est l'apparition des lymphocytes. C'est un phénomène unique.

À partir de ce moment-là, il y avait un double phénomène requis : l'introduction de transposon dans les gènes de l'immunité. Cela ne s'est fait que dans les lymphocytes. A partir de ce moment-là, vous aviez un système qui était certes coûteux, mais qui avait le bénéfice de pouvoir faire des cellules-mémoires. C'est ainsi que cela s'est fait.

Sans cela, on n'aurait pas pu obtenir la longévité. On peut dire qu'on n'est plus nécessaire à partir du moment où l'espèce s'est propagée.

Dr Jean-Pierre DECOR.- C'est bien au niveau

des poissons qu'il y a eu la transition ?

Pr Jules HOFFMANN.- Les poissons que nous connaissons actuellement sont apparus après la transition. L'estimation, c'est le placoderme. Tous les poissons aujourd'hui ont le système. En revanche, l'amphioxus ne l'a pas. Il n'a pas de lymphocytes. Il existe une situation un peu plus ambiguë avec les agnathostomes (poissons sans mâchoire). C'est un autre système de type pré-lymphocytes.

Alain COLENO.- Les micro-organismes transmis, aussi bien dans le règne végétal qu'animal, ne déclenchent pas le phénomène d'immunité ?

Pr Jules HOFFMANN.- Si.

Alain COLENO.- Alors, pourquoi sont-ils toujours vivants à l'intérieur ?

Pr Jules HOFFMANN.- Comme tout système, il n'est pas parfait. Il n'arrive pas à éradiquer l'ensemble. Si le virus de la dengue vous est transmis, il est là, votre système immunitaire de façon compliquée se met en route. Il y a à la fois le système inné et adaptatif. Tout cela est relativement bien connu. Si le virus se développe très rapidement, l'histoire devient grave pour le sujet s'il n'est pas vacciné.

Alain COLENO.- Pourquoi le système Toll ne se déclenche pas ?

Pr Jules HOFFMANN.- Le système Toll se déclenche. Selon le cas, cela ne suffit pas pour l'éradiquer.

Alain COLENO.- Par ailleurs, vous avez dit avoir arrêté vos travaux, car, d'une manière générale, on craignait la réaction du public au fait qu'on faisait multiplier des systèmes de défense dans les tabacs transgéniques.

Or le traitement Ébola qu'on utilise maintenant et qui sauve les personnes atteintes, est obtenu à partir de plants de tabac transgéniques.

En France, il faut se taire car tout le monde est contre les OGM. En Amérique, les journalistes en parlent. Les écoles vont visiter les serres de tabac où ce système est fait. C'est étrange.

Pr Jules HOFFMANN.- Absolument. La seule réponse que je puisse vous donner est que les investisseurs ont arrêté de nous financer il y a 15 ans. Aujourd'hui, tout évolue, même cela.

Alain COLENO.- Peut-être que vous aurez l'occasion de reprendre, je l'espère...

Claude DELCAYRE.- Je suis directeur de recherche dans une unité de l'INSERM qui s'intéresse à l'insuffisance cardiaque. C'est une maladie en partie inflammatoire.

Les questions que l'on se pose sont de savoir si les systèmes hormonaux activés qui sont bénéfiques au début et qui malheureusement restent activés de manière maléfique, peuvent être éliminés.

Quel est le mécanisme de contrôle ? Une fois que ces systèmes sont activés, comment vont-ils être inactivés ? Quels sont les mécanismes censeurs, qui permettent de dire : ce n'est plus la peine d'activer le système si vous ne pouvez pas le calmer ?

Pr Jules HOFFMANN.- Tous les systèmes, à la fois chez la drosophile, chez la souris et chez l'homme, ont un système de rétrocontrôle inhibiteur. Lorsque je montre tous les gènes qui sont induits, il y a aussi l'inhibiteur. NF-kB va produire la transcription de toute une série de gènes, dont le gène inhibiteur qui

va bloquer. S'il n'y a pas un input continu, le système va s'arrêter.

Claude DELCAYRE.- Nous vivons dans un milieu qui contient beaucoup plus de bactéries que nous. Elles sont bénéfiques. Comment pouvons-nous les supporter ?

Pr Jules HOFFMANN.- Nous sommes entourés de millions d'espèces de bactéries (50 millions, 100 millions, c'est comme avant Jésus-Christ, cela ne veut rien dire), mais certainement une centaine de millions de bactéries.

Il y a, selon ce que me disent mes collègues compétents, peut-être tout au plus une cinquantaine de bactéries qui sont un problème pour la santé.

Nous sommes entourés de millions de champignons. Il n'y en a qu'une douzaine posant un problème, peut-être 18.

Pour les virus, c'est un peu différent. On commence à parler de 100 milliards d'espèces. On n'est pas encore d'accord sur ce qu'est une espèce de virus. Il y a tout au plus 200 virus qui posent un problème.

Pourquoi certains sont pathogènes ? La très grande majorité est éliminée par l'immunité innée. Ceux qui posent problème ne sont pas éliminés, c'est pour cela qu'ils sont pathogènes. Certains arrivent à mieux s'accoler aux membranes des cellules. D'autres font des toxines. Le système de l'immunité innée n'est pas capable de s'opposer aux toxines. Les anticorps eux peuvent les bloquer.

Pourquoi les commensaux ne déclenchent-ils pas de problème ? Ils déclenchent des problèmes, mais pas des problèmes pathologiques. Ils jouent un rôle très important d'instruction du système immunitaire.

L'immunité innée : des insectes à l'Homme

En peu de temps, je ne pourrai pas répondre à la question, mais c'est une question réelle. Récemment, en parlant devant des cardiologues, bien que n'étant pas médecin, je me suis rendu compte que le récepteur Toll jouait un rôle important dans l'infarctus du myocarde.

Claude DELCAYRE.- Et dans l'athérosclérose.

Pr Jules HOFFMANN.- Absolument. On pourrait poser la question : où ne joue-t-il pas un rôle ? L'inflammation est dans tout.

Roland MOREAU.- Vous avez évoqué tout à l'heure l'activation de la voie IMD chez les drosophiles vieillissantes et chez les drosophiles atteintes de tumeurs. Est-ce à dire que cette activation intervient dans l'augmentation de la longévité et éventuellement dans une action anticancéreuse ?

Ce serait tout à fait extraordinaire. Je pense par exemple à la télomérase, qui a été affichée comme étant une molécule qui allait augmenter la longévité, mais on s'est très vite aperçu qu'elle était cancérogène.

Cette activation est-elle à la fois anti-cancérogène et propice à l'augmentation de l'espérance de vie ?

Pr Jules HOFFMANN.- Pour être très honnête, c'est à peu près les questions que l'on se pose actuellement, pour lesquelles le travail n'est encore pas fait. On est sur la même ligne. Actuellement, je n'ai pas de réponse satisfaisante. Il faudra se revoir d'ici 10 ans !

Philippe PARDIEU.- Tout à l'heure, vous avez évoqué brièvement le rôle du microbiote dans l'espèce humaine. C'est à peu près le poids du cerveau digestif. On commence

à comprendre son rôle en particulier dans l'apparition du cancer de l'estomac. D'autres germes sont pathogènes au niveau inflammatoire et induisent par défense immunitaire une éventuelle cancérisation.

Quels sont actuellement les voies de recherche au niveau biomoléculaire des messagers pour essayer d'expliquer pourquoi on commence à soupçonner *helicobacter pylori* dans l'apparition de certaines tumeurs du tube digestif ?

Pr Jules HOFFMANN.- On garde votre question pour Rémy BURCELIN qui parlera en fin de matinée.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Merci encore, Cher ami.
(Applaudissements)

Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire

Pr Fabio MARTINON

Directeur de Biochimie, Université de Lausanne



Fabio MARTINON est professeur à l'université de Lausanne. Il est le spécialiste mondial des voies de réponses cellulaires au stress et des mécanismes moléculaires responsables de l'inflammation.

Il est resté fidèle à l'université qui l'a formé. Après un long séjour à la Harvard School of Public Health de Boston, il est revenu à l'université de Lausanne. Il est récipiendaire de nombreux prix et distinctions, dont le prestigieux prix Pfizer en rhumatologie et en immunologie clinique.

À l'intérieur des cellules stressées, il se produit un certain nombre de mécanismes qu'il va nous décrire à l'origine de la réaction inflammatoire.

Cher Collègue, je vous cède le pupitre pour nous éclairer sur ce sujet

Pr Fabio MARTINON.- Merci à vous, Monsieur Decor pour l'invitation.

C'est un vrai plaisir d'être ici aujourd'hui et de discuter avec vous de certains mécanismes liés au processus inflammatoire. On va opérer

à partir de quelques exemples particuliers. On en a déjà vu quelques-uns dans la première partie de ce colloque.

Ce deuxième thème concerne le stress cellulaire et l'inflammation, ce que l'on entend par stress cellulaire et quelles sont les connexions entre ces deux mécanismes.

Quand on parle d'inflammation ou de stress, on a en général un sentiment assez négatif par rapport à ces mécanismes. Ils ont en général mauvaise presse. C'est souvent justifié. On sait que ce sont des mécanismes qui peuvent être associés à des pathologies.

Pour comprendre les mécanismes qui régissent les aspects pathologiques de l'inflammation ou de la réponse au stress, il faut essayer de comprendre leur rôle, leur utilité et leur fonctionnement d'abord dans une situation normale.

Pourquoi ont-ils été mis en place par la nature et sélectionnés au cours de l'évolution? En effet le but de ces mécanismes n'est pas, en premier lieu, de causer des maladies, mais plutôt de répondre à une infection, à un changement dans l'environnement, à une modification au niveau de la cellule.

Nous allons examiner les aspects fonctionnels et les raisons d'être de ces réponses.

Commençons avec la réponse inflammatoire aiguë.

C'est une réponse associée à différents

Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire

événements. Ces phénotypes de la réponse inflammatoire ont été décrits il y a déjà plusieurs années.

Aulus Celsus au premier siècle, après Jésus-Christ, avait déjà décrit les quatre premiers signes cardinaux de l'inflammation : la chaleur (augmentation de la température), les rougeurs, une enflure (la région enflammée qu'on arrive à détecter), souvent l'inflammation est aussi associée avec la douleur.

La réponse inflammatoire aiguë



En effet des maladies inflammatoires, comme la goutte sont associées à une douleur très intense. Il y a une centaine d'années, Rudolf Virchow a ajouté à ce catalogue de signes cardinaux de l'inflammation, le concept de perte de fonction du tissu enflammé.

Pour comprendre ces différents phénotypes observés, quels sont les mécanismes ? On vient de voir que les récepteurs de l'immunité innée sont impliqués.

Lorsqu'il y a une lésion dans un tissu ou lorsqu'il y a présence de signaux chimiques liés à une infection, il se produit une activation de récepteurs comme les Toll.

Il nous a été mentionné l'existence d'inflammations dites stériles : il n'y a pas nécessairement présence d'un agent

pathogène, le simple fait de détruire l'intégrité des cellules d'un tissu peut entraîner une réponse inflammatoire.

La première étape consiste à un relâchement de signaux chimiques, appelés médiateurs, par les tissus endommagés.

Ce sont des molécules qui sont naturellement présentes à l'intérieur des cellules, localisées dans le noyau ou dans le cytoplasme. La cellule, à l'état normal, est protégée par une membrane. Lorsque cette cellule est endommagée, il y a d'abord une rupture de l'intégrité de la membrane et certains médiateurs sont relâchés de façon plus ou moins spécifique, mais aussi de façon passive, à l'extérieur de la cellule et du tissu ; ils sont alors reconnus par le système immunitaire comme étant des signaux de danger.

Le système immunitaire les détecte comme étant présents à un endroit où ils ne devraient pas être ! Si de l'ADN est présent à l'extérieur de la cellule, ce n'est pas normal, l'ADN devrait être exclusivement dans le noyau.

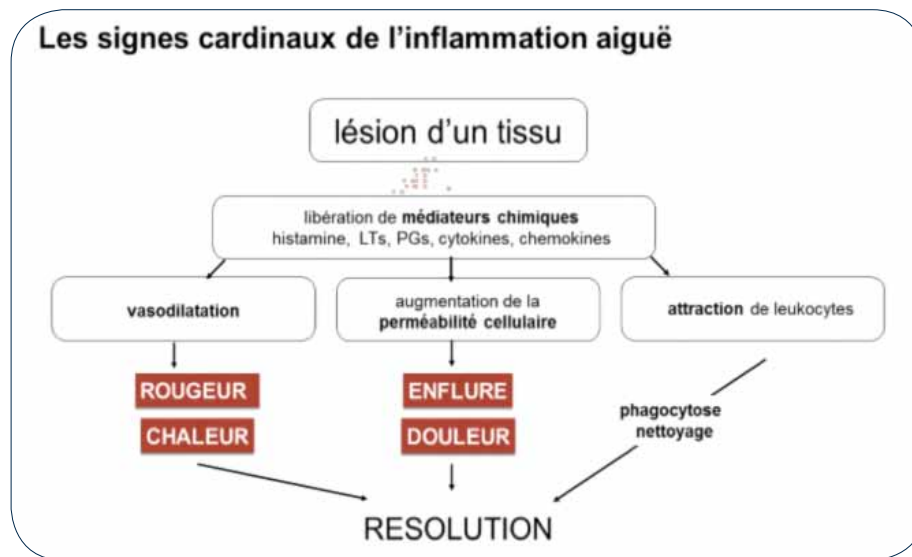
De ce fait, des mécanismes de détection de cet ADN extracellulaire peuvent induire et activer une réponse inflammatoire.

La question fondamentale dans la compréhension des mécanismes en amont du déclenchement de la réponse inflammatoire est l'identification des signaux qui sont relâchés, des récepteurs, des censeurs et des cellules qui détectent ces signaux.

Dans l'exemple de pathogènes impliquant les Toll récepteurs, grâce à l'exposé précédent on comprend bien les mécanismes de détection de ces pathogènes.

Mais comme Jules HOFFMANN l'a précisé, pour la plupart des médiateurs relâchés par les tissus endommagés, on ne connaît pas encore bien les mécanismes impliqués.

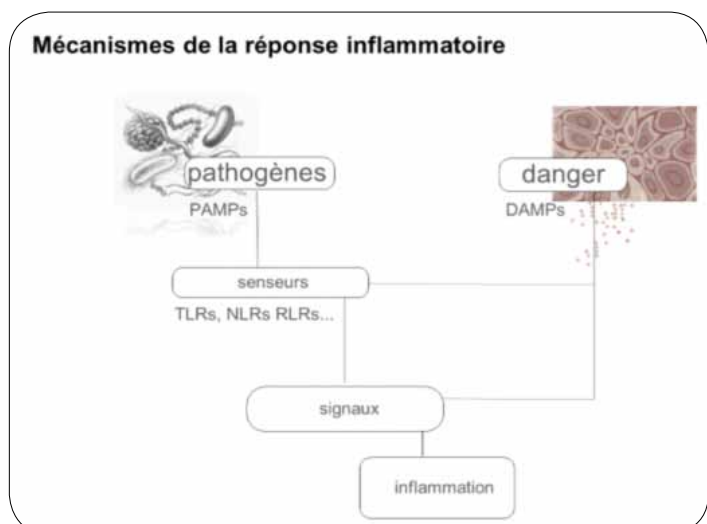
La libération de ces médiateurs chimiques va activer toute une série de cascades et de réactions à l'intérieur même de la cellule qui vont aboutir aux phénotypes caractéristiques de l'inflammation : rougeur, chaleur, enflure, douleur.



Une étape importante de la réponse inflammatoire reste la résolution : on a allumé le feu, on a réparé, on a réussi à gérer la situation il faut ensuite arrêter le processus inflammatoire pour éviter d'avoir trop de dommages collatéraux suite à cette réponse.

Dans certains processus inflammatoires où des pathogènes induisent des dommages tissulaires ou des inflammations stériles causées par un dommage dans un tissu, il se produit un relâchement de médiateurs qui sont, eux aussi, capables d'interagir avec certains de ces senseurs TLR, NLR, RLR pour contribuer à la mise en place d'une réponse inflammatoire.

Les mécanismes de base de la réponse inflammatoire sont très similaires et complètement superposés aux mécanismes de détection des pathogènes expliqués dans l'exposé précédent. Nous avons vu l'exemple des récepteurs où la présence de pathogènes est détectée par les cellules du système immunitaire qui ont à leur surface ou dans leur cytoplasme des détecteurs de ces signaux spécifiques de pathogènes. Ces cellules vont transmettre l'information via des facteurs comme NF- κ B pour l'activation du signal.



Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire

Je vais illustrer par l'exemple de l'inflammasome

J'ai eu l'occasion de travailler ce sujet lors de ma thèse dans le laboratoire du professeur Jürg Tschopp à l'université de Lausanne.

L'inflammasome est une sorte de machine intracellulaire dont on a réalisé une

représentation purement artistique. Ce n'est pas complètement de la science-fiction, mais nous n'avons pas aujourd'hui de données structurales nous permettant d'avoir une bonne information quant à la structure de l'inflammasome. La structure initiale, qui était basée sur un complexe moléculaire que l'on retrouve dans le processus d'apoptose, est probablement erronée.



Si sa structure n'est pas bien déterminée, néanmoins les composants présents formant cet inflammasome sont bien identifiés d'un point de vue génétique. Nous avons dans les inflammasomes une protéine cytosolique pouvant détecter différents stress et pathogènes. Nous avons comme dans les Toll receptors différents types de senseurs qui peuvent détecter différents types de stress ou de changements au niveau de la cellule.

La différence est la localisation de cet ensemble, à l'intérieur même, dans le cytoplasme de la cellule du macrophage ou de la cellule immunitaire.

Une fois qu'il est activé, l'inflammasome va entraîner une cascade protéolytique dans laquelle une protéase est impliquée dans

la maturation et le relargage d'une cytokine appelée IL-1.

Cette cytokine IL-1 est très importante dans la mise en place de certains aspects de la réponse inflammatoire, comme par exemple ce que l'on décrit sous le nom de fièvre. Si vous prenez un patient, un lapin ou une souris, expériences menées dans les années 50, l'injection de l'IL-1, ce que l'on appelait à l'époque l'endogenous pyrogen, induit une réponse de type fiévreuse. Mais l'IL-1 est aussi capable de monter une réponse inflammatoire relativement complète.

L'inflammasome contrôle l'activation de l'IL-1 et le relâchement de cette activité. C'est un senseur de perturbation cellulaire.

Un inflammasome appelé NALP3 est

très sensible aux changements dans la composition ionique des cellules. Il détecte certains médiateurs chimiques, ainsi que la dépression d'ions (ions potassium par exemple) à l'intérieur des cellules. Lorsque la cellule est endommagée ou lorsqu'elle reçoit un signal spécifique, cet inflammasome est assemblé formant ce complexe moléculaire impliqué dans l'activation d'IL-1.

Les premières études menées à l'époque étaient essentiellement biochimiques et avaient vraiment très peu d'aspects fonctionnels. Au début, nous n'avions pas de souris déficientes dans les différents composants de l'inflammasome. En revanche, il est apparu assez tôt que certains patients présentaient des mutations dans les gènes qui forment l'inflammasome. Ces mutations activent l'inflammasome de façon aberrante. Ainsi dans les maladies auto-inflammatoires, du type Muckle Wells par exemple, il y a une sur-activation de l'inflammasome

Il est constitutivement activé chez ces patients. Ils ont depuis la naissance une inflammation, une fièvre périodique qui se caractérise par différents aspects liés à la sur-activation d'IL-1 comme le relâchement de protéines du Cold familial syndrome, protéines impliquées dans la réponse inflammatoire.

Nous avons mené ces expériences avec l'équipe de Philip Hawkins et Michael Mc Dermott à Londres. Ce marqueur d'inflammation

était constamment élevé chez ces patients. Il reste élevé durant toute leur vie. Certains développent des conséquences plus ou moins graves suite à cette inflammation systémique.

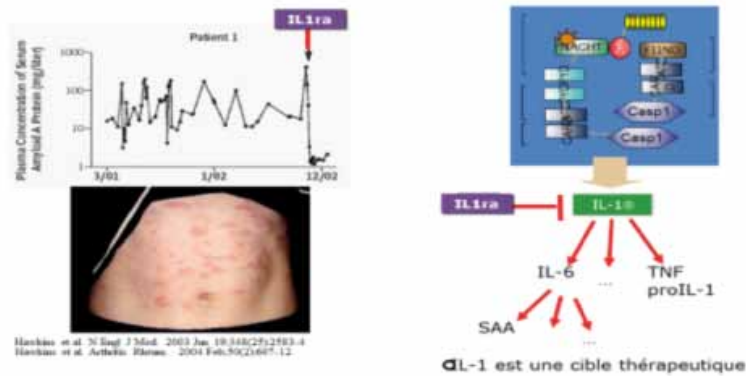
Certains patients avaient aussi un phénotype plus léger et pouvaient vivre relativement normalement toute leur vie, mais en étant fébrile en permanence.

Cette maladie est périodique parce que les épisodes de fièvre viennent par vagues. Bien que l'inflammasome soit toujours activé, le phénotype inflammatoire ou phénotype fièvre survient par vague : chez certains patients quotidiennement, chez d'autres, au moins une fois par semaine. C'est probablement dû au mécanisme de feedback négatif qui conduit à ce que la réponse inflammatoire essaie de se contrôler. Il y a toujours un feedback négatif qui va empêcher la réponse inflammatoire. Quand le feedback est terminé, l'inhibition n'est plus là et étant donné que le complexe est toujours actif, un mouvement cyclique se met en route.

Le schéma suivant résume les protéines impliquées : Le gène NALP3 code pour une protéine appelée cryopyrine qui induit une auto-activité du complexe et l'enzyme caspase 1 est recrutée au niveau du complexe.

Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire

Sur-activation de l'inflammasome dans des maladies auto-inflammatoires



L'inflammation qui en résulte est « médiée » par cette cytokine IL-1. Si vous injectez à ces patients un inhibiteur d'IL-1, une molécule naturelle déjà présente en clinique dans des protocoles d'arthrite (cet inhibiteur empêche la liaison d'IL-1 au récepteur), vous avez un effet extrêmement rapide sur le phénotype inflammatoire. La réponse est spectaculaire car c'est l'un des exemples où la réponse inflammatoire est directement causée par une seule voie. Il n'y a pas de voies biochimiques multiples impliquées, mais une seule qui lance toute la cascade inflammatoire. Si vous avez la possibilité de cibler ce premier point de la cascade, l'effet sur le patient est extrêmement important.

Le deuxième exemple de maladie auto-inflammatoire est celui de la **goutte**. C'est une maladie que l'on retrouve chez l'homme en raison d'une petite déficience chez homo sapiens au niveau d'une enzyme, appelée uricase, qui dégrade l'acide urique, produit par le catabolisme. En conséquence, les concentrations en acide urique sont assez élevées dans la circulation. Si l'on consomme beaucoup d'alcool et de produits riches en purine, les concentrations d'acide urique vont atteindre un seuil critique. Cet acide urique cristallise et forme des précipitations qui vont se localiser dans les orteils ou d'autres articulations en créant une inflammation aiguë, très douloureuse

Exemple d'inflammation aiguë: Activation de l'inflammasome dans la goutte



On s'est posé la question de savoir si ces cristaux par eux-mêmes pouvaient activer cet inflammasome

La réponse est affirmative. Chez une souris déficiente en NALP3, cet inflammasome muté chez les patients que je vous ai présentés précédemment, vous n'arrivez plus à produire l'IL-1, cytokine qui induit l'inflammation. Pourtant ces cristaux d'acide urique activent cet inflammasome avec production d'IL-1.

Toutefois nous pensons que l'inflammasome n'est pas capable de détecter directement les cristaux à cause de leur taille trop importante. On ne sait pas clairement ce que l'inflammasome détecte dans ce cas précis, s'il détecte l'effet d'un dommage produit par le cristal sur la cellule ou si des messagers secondaires sont impliqués dans l'activation de l'inflammasome. Ce domaine n'est pas complètement bien compris.

Les patients qui ont la goutte ne peuvent pas prendre d'anti-inflammatoires classiques et répondent de façon assez impressionnante aux anti-IL-1.

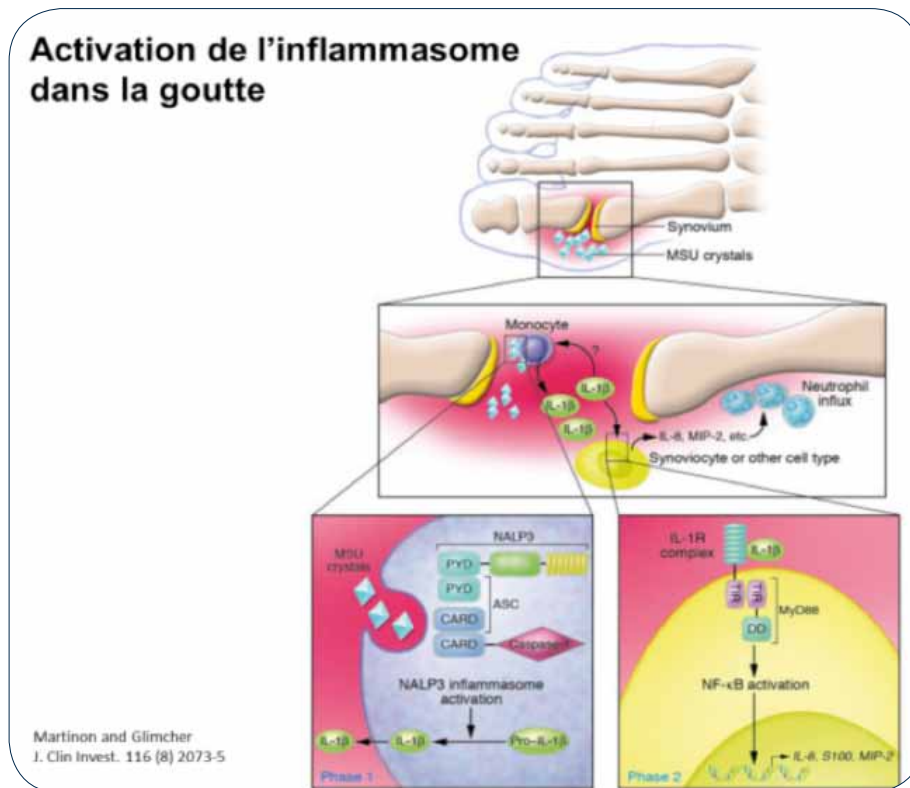
Dans cette maladie auto-inflammatoire, vous avez le dépôt d'un agoniste de

l'inflammasome, d'une molécule capable d'activer l'inflammasome, le cristal. Ce dernier est détecté au niveau de l'articulation par les cellules du système immunitaire, type monocyte macrophage. Elles vont relâcher l'IL-1, cytokine maturée par le processing dû à l'inflammasome. L'IL-1 va interagir avec d'autres cellules présentes dans l'articulation et avec un récepteur, IL-1 receptor.

Le récepteur ressemble énormément à un Toll, il ne détecte pas directement les pathogènes, mais l'IL-1 activée par l'inflammasome. Nous retrouvons le système Toll, les mécanismes de base de la réponse immunitaire innée conservés. L'activation d'un facteur de transcription, le facteur NF-kB, est à nouveau présent dans cette réponse.

Cet inflammasome est juste une variation du système Toll puisque l'un des aboutissements est d'activer des récepteurs ressemblant au Toll. Dans la drosophile, le Toll détecte la cytokine Spätzle et pas directement le pathogène comme c'est le cas chez l'humain. Spätzle est mûri par des cascades de protéases. Nous retrouvons ici les mêmes concepts, nous observons une convergence dans l'évolution.

Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire



Dans cette réponse, il y a 2 aspects :

- le senseur, cet inflammasome à l'intérieur de certaines cellules, de certains monocytes ;
- le médiateur, l'IL-1, qui va transmettre l'information à d'autres cellules pour activer la réponse inflammatoire.

L'inflammasome est peut être l'un des mécanismes impliqués dans le relâchement de médiateurs cellulaires.

Des études ont montré que l'acide urique relâché lors de dommages tissulaires peut agir comme un signal de danger. Dans ce contexte, on peut imaginer que certains mécanismes détectant l'acide urique peuvent être impliqués dans la réponse inflammatoire.

D'autres mécanismes, comme le relâchement de l'ATP intracellulaire ou d'ADN d'une cellule endommagée, active l'inflammasome pour induire cette inflammation aiguë.

Ces mécanismes sont mis en place lors de la réponse inflammatoire. L'inflammasome a essentiellement été décrit dans le contexte de l'inflammation aiguë.

Les inflammations chroniques ou silencieuses, à faible intensité, présentes dans certains tissus par exemple au cours de la vieillesse ou dans certaines maladies (obésité, cancer), dans la littérature, sont caractérisées par la présence de stress cellulaire

Quelle est la différence entre une cellule stressée et une cellule endommagée ? La cellule stressée a la capacité de revenir à l'état normal. Il y a un état de réversibilité. Quelque chose ne va pas bien, mais elle a la capacité de développer une réponse à ce stress, de s'adapter et d'éventuellement restaurer une situation normale.

Cette situation est un peu moins critique que celle de la cellule endommagée. En

général, on estime que la cellule, une fois endommagée, disparaît, éliminée.

On s'est posé la question de savoir s'il existait un lien entre ces cellules stressées et la réponse inflammatoire.

Pour répondre à cette question, nous avons essayé de définir ce qu'était une cellule stressée. Ce n'est pas du tout évident et nous sommes loin de l'avoir fait.

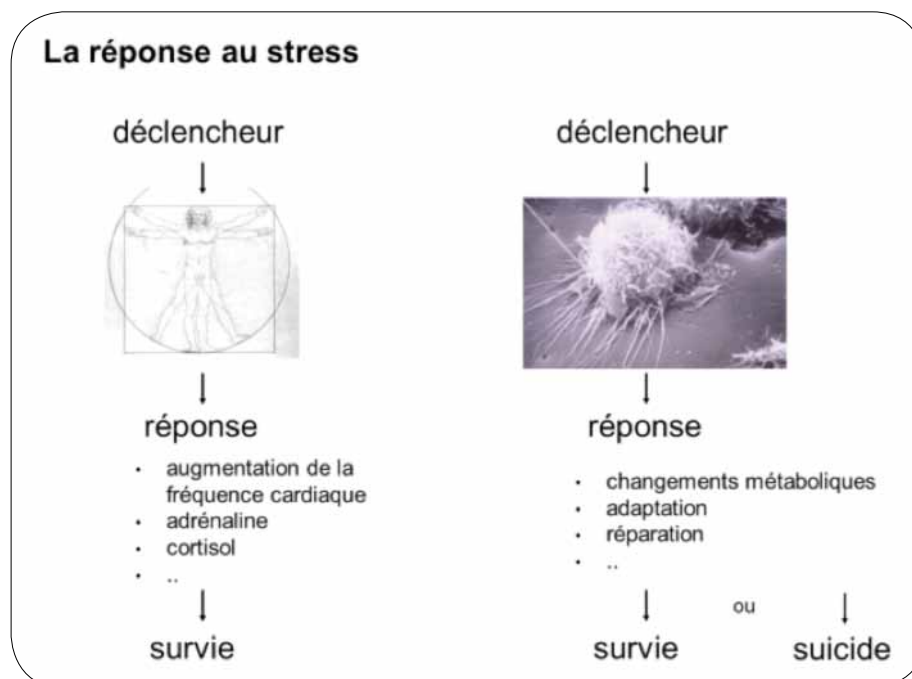
Prenons comme approche du stress dans un organisme, par exemple, l'irruption soudaine d'un fauve dans cette salle. Cela va créer un certain stress. Cela entraîne une réponse physiologique dans l'organisme qui a pour objectif de réagir et en l'occurrence, probablement de prendre ses jambes à son cou !

Il faut une modification de certains facteurs

physiologiques qui vont en l'occurrence augmenter votre rythme cardiaque, votre attention pour conduire à une réponse de survie.

Si nous prenons le cas de l'une de nos cellules qui composent notre organisme, les processus sont relativement similaires. La cellule a une capacité de détecter un changement, une perturbation, quelque chose qui n'est pas normal et d'avoir une réponse à ce challenge pour restaurer une certaine homéostasie à son niveau.

Dans la réponse cellulaire, il y a encore un élément supplémentaire, le fait que la cellule n'est qu'un composant d'un organisme pluricellulaire. L'organisme a la possibilité de sacrifier la cellule s'il le faut si le dommage est trop important. Il peut aussi activer un programme de suicide cellulaire pour éliminer les cellules trop stressées dont on n'arrive pas à rétablir la situation



Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire

Quels sont les différents types de stress qui peuvent altérer l'homéostasie des cellules ? Vous en avez ici une petite liste :

- les dommages dans l'ADN ;
- des changements métaboliques, comme excès ou un manque d'énergie ;
- des tissus en hypoxie (manque d'oxygène) ; par exemple dans les tumeurs,
- le stress oxydatif, produit du métabolisme de la cellule ;
- les infections virales mettant à mal la machinerie de la cellule. Le virus pour produire ses propres particules infectieuses va utiliser la machinerie de la cellule, ce qui nécessite une certaine adaptation de la part de la cellule ;
- le stress physiologique de l'organisme entier qui peut affecter certains tissus ;
- des mécanismes impliqués dans la fabrication, la synthèse des protéines, dans leur pliage correct. Ces mécanismes sont très régulés et dès qu'il y a des altérations elles induisent du stress

Dans la suite de notre exposé, nous allons nous focaliser sur le **stress du réticulum endoplasmique** car c'est l'un des mieux caractérisés.

C'est l'un des mécanismes conservé de la levure jusqu'à l'humain. Les mécanismes moléculaires dans ce stress du réticulum endoplasmique sont bien étudiés.

Le réticulum endoplasmique est vraiment un organe essentiel dans la cellule. Il est impliqué dans toute la communication avec les autres cellules. À quelques exceptions près, il n'y a pas de protéine sécrétée, de médiateurs qui vont aller informer d'autres cellules, de récepteurs synthétisés à la surface de la cellule sans l'intervention du réticulum endoplasmique. Toutes les

protéines de la surface des cellules, ainsi que celles sécrétées, passent par le réticulum endoplasmique. C'est vraiment le centre de communication de la cellule. De plus, des synthèses de lipides ont lieu à son niveau.

Le réticulum endoplasmique est en général en continuum avec la membrane nucléaire de la cellule.

Les machineries positionnées sur ce réticulum sont capables d'appréhender le bon déroulement ou les anomalies biochimiques de la synthèse des protéines, phénomènes invisibles au microscope.

Ces machineries ont été caractérisées, identifiées de façon génétique dans la levure. Elles sont la voie de réponse au stress dans le réticulum endoplasmique.

Dans le réticulum endoplasmique, il y a un **facteur de transcription** appelé **XBPI**, il va aller dans le noyau activer la transcription de gènes impliqués dans la réponse au stress.

Lorsque j'ai commencé ces études dans le laboratoire de Laurie Glimcher à Harvard, on s'est posé la question de savoir si ce facteur de transcription pouvait jouer un rôle dans la réponse immunitaire et inflammatoire. La réponse a été d'une façon surprenante affirmative.

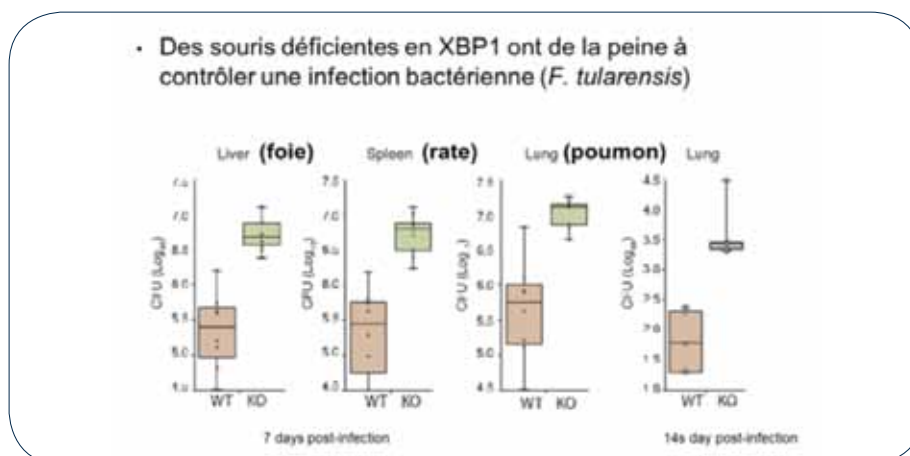
Nous avons montré que, dans certaines cellules, comme les macrophages, ce facteur de transcription XBPI pouvait être activé après un traitement par des médiateurs de l'inflammation les *Toll receptors* (TLRs).

Par ailleurs la déficience dans la protéine XBPI affectait la réponse inflammatoire et

l'immunité. Une cellule déficiente en XBPI produit moins de cytokine après traitement avec des agonistes des *Toll receptors*, TLR4 par exemple. Nous avons vraiment une réponse spécifique sur un groupe de gènes particuliers impliqués dans la réponse inflammatoire.

Chez la souris, cela se reflète par une difficulté de gérer l'inflammation bactérienne. Nous avons pris comme modèle la bactérie

Francisella tularensis, agent de la tularémie. Ce n'est pas une bactérie très pertinente d'un point de vue santé publique, mais c'est un modèle extrêmement intéressant à étudier. Les souris qui sont déficientes en XBPI ont des quantités de bactéries qui colonisent le foie et différents organes, plus importantes que les souris sauvages. Mais une fois que l'immunité adaptative arrive à se mettre en place, ces souris sont plus ou moins capables de récupérer et la plupart survivent.



Des expériences ont montré des résultats similaires dans *C. elegans* avec le facteur XBPI.

Ce facteur XBPI, seulement mis en évidence dans la réponse du stress dans le réticulum endoplasmique, joue donc également un rôle dans la réponse inflammatoire et peut-être aussi dans la réponse immunitaire innée.

En utilisant des souris déficientes en IRE1, kinase qui active le XBPI, dans un modèle d'arthrite, on observe une diminution de l'arthrite en l'absence de cette voie de signalisation ; ce qui suggère que cette voie participe et même peut-être contribue à monter une réponse inflammatoire.

De nombreuses maladies sont caractérisées par un stress dans le réticulum endoplasmique

et un phénotype inflammatoire. Ces maladies ont des mutations dans des gènes qui peuvent affecter le pliage des protéines s'effectuant dans le réticulum endoplasmique à l'instar du gène de la mucoviscidose.

Dans ce cas, il y a non seulement un manque de fonctionnalité de la protéine, cause d'un changement dans son expression (structure primaire) mais aussi d'un défaut dans son pliage (structure tertiaire), tout cela dans le réticulum endoplasmique. L'impact sur les cellules β du pancréas constitue une évidence du stress provoqué dans le réticulum endoplasmique par le gène provoquant la mucoviscidose

Dans les maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson, la maladie

Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire

d'Alzheimer ou les maladies à prion, des dépôts d'agrégats de protéines induisent aussi du stress dans le réticulum endoplasmique. Même chose dans les infections virales et au cours du vieillissement, où l'on observe une augmentation du stress dans le réticulum endoplasmique.

Est-ce que la sur-activation de XBP1 en présence de stress augmente la réponse inflammatoire?

Si une cellule est stressée, par exemple un macrophage, avec le facteur XBP1 activé et qu'à la suite d'une infection, un *Toll récepteur* est également activé, l'inflammation sera-t-elle plus importante ?

Pour répondre à cette question, voici les premiers résultats qui restent encore à mettre en perspective dans une situation clinique réelle. Néanmoins, si l'on prend des macrophages et qu'on les traite avec des stress du réticulum endoplasmique (on utilise ici des drogues qui affectent le réticulum endoplasmique) et que l'on active le *Toll receptor-4* (TLR4) avec du lipopolysaccharide, la production de certaines cytokines est fortement augmentée et se corrèle avec la liaison du facteur de transcription XBP1 sur le promoteur de ces gènes en question.

Nous observons que la cellule stressée a une réponse inflammatoire ; bien qu'elle ne soit pas encore bien définie ou caractérisée en matière de voies impliquées.

La réponse au pathogène induit également une forte réponse inflammatoire. Si vous avez les deux en même temps, l'inflammation peut être synergique et plus importante.

C'est peut-être une des pistes à explorer dans certaines maladies caractérisées par la présence de stress. On a peut-être une hyper-réponse et cette inflammation silencieuse chronique qui peut contribuer à des épisodes d'inflammation aiguë dans certains cas.

En résumé, le message que je vous propose est que les premiers maillons de la cascade (la compréhension des mécanismes, l'identification des médiateurs en amont), responsables d'une réponse inflammatoire, peuvent constituer de très bonnes cibles thérapeutiques.

C'est le cas pour quelques maladies induites par la sur-activation de l'inflammasome parce que le médiateur IL-1 est facile à cibler.

Je vous ai présenté des exemples montrant que les tissus stressés activent une réponse inflammatoire faible.

Toutefois ces tissus stressés ont une réponse immunitaire exacerbée en présence d'une infection, ou d'autres stimuli au niveau de l'immunité innée (*Toll receptors*).

Je vous remercie de votre attention et je répondrai avec plaisir à vos questions.

(Applaudissements).

M. Claude DELCAYRE. - Parmi les nombreuses questions que j'aurai à vous poser, il y a celle de la température.

Nous vivons, ou plutôt survivons après tous les dangers que vous nous décrivez, avec une température corporelle de 37 degrés. Si notre température était à 15 ou 45 degrés, nous ne serions pas bien du tout !!!

Ma question suite à votre exposé et à celui de Jules Hoffmann est la suivante : Des

mécanismes comparables fonctionnent très bien chez la mouche qui n'est pas régulée, alors que nous, nous sommes liés à une gamme extrêmement étroite de température. Dans l'inflammation, il y a production de chaleur. Si vous prenez les cellules, les isolez, les chauffez à 42 degrés, des protéines de stress apparaissent et bloquent toute la synthèse. Il ne reste plus qu'elles. On dit que c'est bénéfique.

La chaleur liée à l'inflammation est-elle utile ou maléfique ?

Pr Fabio MARTINON.- C'est une très bonne question. L'augmentation de la température dans la cellule elle-même a plusieurs implications. Il y a déjà une mobilisation des énergies car pour un seul degré de changement de température, notre métabolisme modifie l'utilisation d'énergie de près de 10 %. Il y a vraiment un impact au niveau de la cellule. Celle-ci va ralentir tous les mécanismes de traduction qui demandent de l'énergie. Ces réponses de stress se traduisent souvent par une diminution de la quantité de protéines produites.

Mais comme vous l'avez précisé, nombre de facteurs bénéficient de ce ralentissement de l'inflammation et vont être exprimés de façon plus importante, des facteurs de transcription comme ATF4.

Dans la réponse inflammatoire, nous avons plutôt l'impression qu'ex vivo, cela ralentirait un peu l'inflammation. J'avoue que nous ne l'avons pas observé dans le détail. Ce n'est pas une question à laquelle je pourrai répondre de façon claire.

Au niveau cellulaire, nous observons

plutôt un *shutdown* de la traduction des protéines. Du point de vue d'ARN messenger, on peut détecter l'augmentation de certains médiateurs inflammatoires qui résultent d'une limitation de la capacité de produire de nouvelles protéines.

Dans les maladies auto-inflammatoires que j'ai mentionnées, je vous ai montré précédemment un patient Mücke Wells. Avec la même mutation, vous pouvez avoir des familles qui ont ce que l'on appelait à l'époque les *familial cold urticaria*. Chez ces patients, l'inflammation est médiée par le changement de température. Mais une adaptation se fait. Typiquement, vous prenez le patient, en l'installant en chambre froide, vous pouvez déclencher la réponse inflammatoire.

Nous ne savons pas pourquoi, un stress additionnel contribue probablement à l'augmentation de l'inflammation ou agit comme déclencheur.

Vous prenez les cellules de ces patients indépendamment de la température, vous les mettez en culture, leur inflammasome est constitutivement actif. Vous pouvez le prendre à n'importe quel moment, n'importe quel jour, vous avez beau modifier les températures, rien ne change. C'est la réponse physiologique qui est différente.

M. Michel VAN DER REST.- Vous avez donné l'exemple de la goutte. Dans votre présentation, vous avez surtout parlé d'un mécanisme cellulaire direct entre les cristaux d'acide urique et la réponse inflammatoire. Du fait que vous êtes dans un tissu qui est relativement peu cellulaire, le cartilage, les effets mécaniques de démolition de la matrice peuvent libérer notamment l'acide

Mécanismes inflammatoires liés au stress cellulaire

hyaluronique et Jules Hoffmann suggérerait qu'il pourrait y avoir une activation de la voie Toll par ce type de molécule, peut-être existe-t-il une voie parallèle à celle que vous décrivez.

Pr Fabio MARTINON.- Dans la situation réelle du malade, des études ont montré que des *Toll réceptors* (TLR-2) jouaient aussi un rôle.

Il y a une sorte de communication des *Toll receptor* et de l'inflammasome. L'inflammasome seul n'est pas suffisant. Pour qu'il puisse fonctionner, il faut qu'un peu de Toll receptor soit activé pour que l'IL-1 ou le NALP3 soit exprimé et présent dans la cellule. Un premier signal de base est quand même nécessaire.

Le deuxième signal est le cristal. Mais celui-ci n'active pas directement les *Toll receptors*. Les cristaux d'acide urique, même chez les patients qui en ont une accumulation, ils ne déclenchent pas une très forte activité car ils sont trop gros et les cellules n'arrivent pas à les détecter. En laboratoire, on sait que les cristaux plus grands que la cellule qui fait 10 µm sont très peu actifs. Il faut que les cristaux soient petits. Il n'existe pas d'expérience l'ayant démontré de façon scientifique, mais nous avons le sentiment qu'il y a peut-être un effet mécanique. Il faut qu'une certaine quantité de microcristaux puisse être prise par les macrophages pour déclencher un épisode de goutte chez les patients.

M. Jean-Louis NAHON.- Vous êtes en train de nous dire que tout type cellulaire serait capable d'induire une réponse inflammatoire.

Le stress cellulaire induirait globalement le même type de réponse. N'y a-t-il pas aussi des sous-classes en fonction du stress ?

Pr Fabio MARTINON.- Toute cellule peut activer une réponse inflammatoire, mais ne pas forcément monter une réponse inflammatoire. Le dommage dans n'importe quelle cellule peut activer une réponse inflammatoire détectée par des cellules spécialisées.

Si l'on prend l'exemple de l'inflammasome, son expression est plus restreinte, par exemple, que celle des *Toll receptors*. Dans certains cas, il faut l'induire, une régulation additionnelle a lieu. Ce ne sont que des cellules spécialisées qui peuvent répondre à ces inflammasomes. Ils sont plutôt exprimés dans l'intestin. Il en est d'autres que l'on retrouve dans les monocytes.

Le NALP3 est le plus étudié car il est présent essentiellement dans les phagocytes.

Les cellules capables de monter l'inflammation sont très restreintes.

Quant aux cellules stressées, il faudra sans doute en débattre dans une dizaine d'années, mais il y a des évidences chez *C. elegans* et chez la souris que le stress est communicatif. Un article paru, il y a deux ans a montré que les tumeurs, qui sont des cellules très stressées car situées dans un environnement hostile, avec peu d'oxygène, peu de nutriment ; ces cellules tumorales communiquent le stress aux macrophages. Cela contribuerait à certains aspects inflammatoires.

Le stress est présent dans les différentes cellules. On ne comprend pas bien s'il peut être transmis, mais le rôle inflammatoire du stress est spécifique à certaines cellules.

Dr Jean-Pierre DECOR

Toutes les cellules peuvent être stressées, seules quelques-unes peuvent développer une réponse inflammatoire, mais comme le stress peut être communiqué entre les cellules, le stress doit finir par créer une réponse inflammatoire...

Je vous remercie pour cette présentation.

(Applaudissements)

Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

Pr Rémy BURCELIN

Directeur de Recherche Inserm,
Hôpital Rangueil Toulouse



J'appelle Rémy BURCELIN, directeur de recherche à l'institut de médecine moléculaire de Rangueil à Toulouse, centre de réputation mondiale sur le diabète.

Après sa thèse, il a fréquenté plusieurs laboratoires : l'institut Monod à Paris, le collège de médecine Albert Einstein à New York et l'institut de pharmacologie de Lausanne.

Il est actuellement professeur à l'université de Paul Sabatier de Toulouse et fondateur de plusieurs sociétés de biotechnologie qui développent des traitements pour les maladies métaboliques.

Rémy BURCELIN et son équipe s'intéressent aux mécanismes moléculaires qui contrôlent la glycémie. Il a démontré d'une manière très originale que le diabète serait lié à une réaction inflammatoire provoquée par un changement de flore bactérienne intestinale caractéristique.

Le titre de son exposé est :

«Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique».

Pr Rémy BURCELIN.- Je remercie les membres des fondations qui me font l'immense honneur de m'inviter et de vous présenter quelques travaux que nous considérons comme assez originaux. Ils sont le fruit d'un intense labeur réalisé au cours de cette dernière décennie.

Une dizaine d'années a permis de générer un nouveau concept. Nous parlions d'inflammation silencieuse, nous allons également parler du monde silencieux qui nous habite, silencieux mais pas moins important et actif, que l'on appelle la flore ou microbiote intestinal.

Ce microbiote intestinal est relié à une observation relativement claire et simple dont vous avez tous entendu parler : l'évolution pandémique des maladies métaboliques diabète et obésité.

A l'échelle des temps, l'augmentation des cas de diabète de type 2 dans le monde est extrêmement rapide avec de manière très concomitante le développement de l'obésité.

Jusqu'à présent, pour les maladies métaboliques associées à une composante nutritionnelle ou génétique, on pouvait définir une équation capable d'expliquer leur incidence et leur développement dans la population.



Or, il est difficile d'expliquer comment l'on passe de 20 à 30 puis 40 millions en quelques décennies avec simplement des facteurs génétiques ou même nutritionnels.

Il s'agit d'une véritable épidémie. Toutefois qui dit épidémie sous-entend infection.

Vous connaissez autour de vous des gens qui mangent beaucoup et qui ne sont ni diabétiques ni obèses et inversement, des gens qui mangent peu et qui le deviennent.

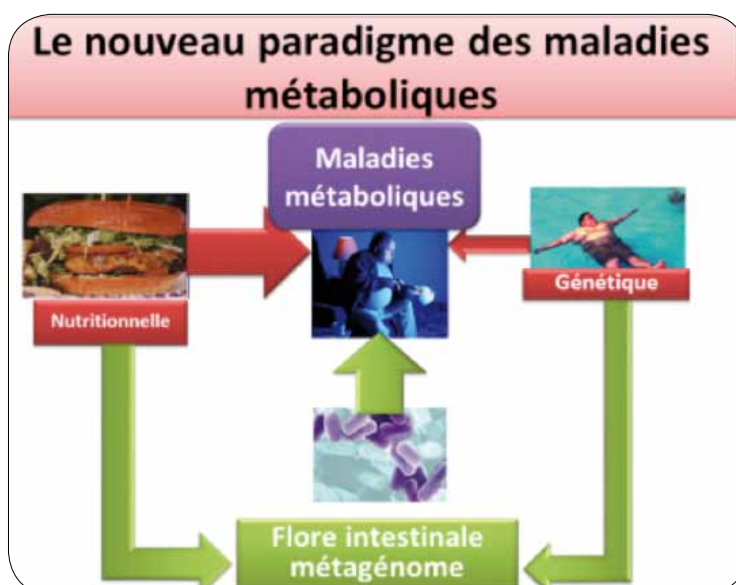
Cette inégalité ne peut pas avoir comme unique source la nutrition ou quelques mutations génétiques ponctuelles.

Il y a une dizaine d'années, mon collègue le professeur Jacques Amar, cardiologue avait observé quelque chose d'original dans les maladies cardio-vasculaires : certains fragments bactériens étaient associés à la vasodilatation des artères. À cette époque, je travaillais sur le rôle d'agent vasodilatateur et le diabète. L'idée nous est venue de faire une association relativement logique entre certains facteurs bactériens, la

vasodilatation et l'incidence des maladies cardiovasculaires et métaboliques qui la plupart du temps, vont de pair.

Ainsi des facteurs bactériens pourraient être des agents expliquant cette évolution pandémique et épidémique puisqu'il s'agissait de facteurs «infectieux» et ils pourraient être le *primum movens* de l'interface cardio-métabolique et épidémique.

C'est sur cette base que le concept de flore intestinale est né.



Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

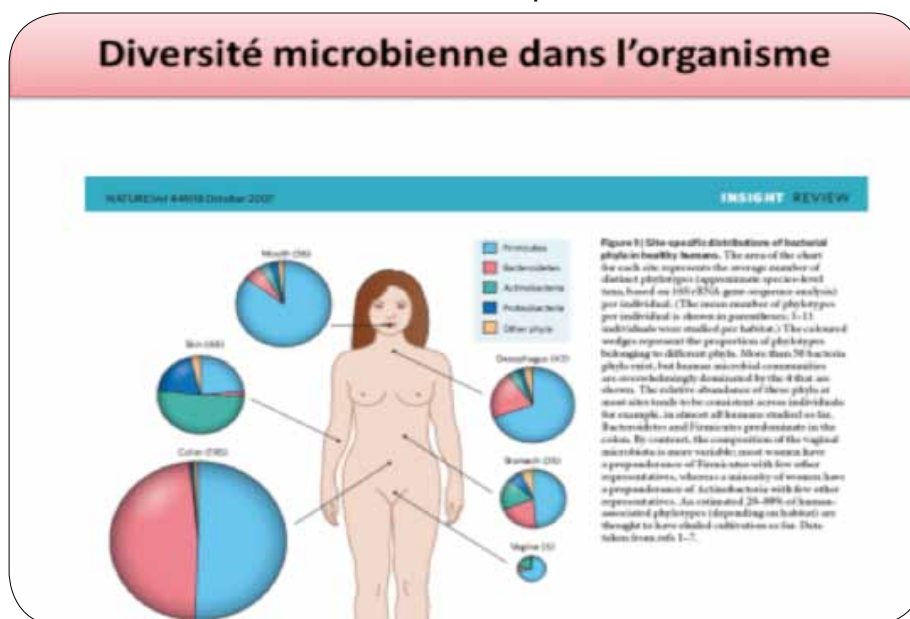
En parallèle, d'autres laboratoires avaient eu la même idée et des Américains ont été plus rapides que nous. Toutefois nous sommes allés beaucoup plus loin dans l'analyse comme je vais vous les démontrer.

Cette flore intestinale est silencieuse, mais n'en est pas moins active. Elle se met en place à la naissance. Au moment de la naissance, il n'y a aucune bactérie dans l'intestin et sur la peau.

Dès les premières heures, les premiers jours, les premières semaines de notre vie, des groupes bactériens commencent de coloniser l'intestin.

C'est vrai pour l'être humain. C'est aussi vrai pour tout organisme qui délient un intestin ou une sorte de tube digestif comme le ver microscopique, *C. elegans*. Tout organisme qui a un intestin se fait coloniser à la naissance par des bactéries. Dans le sud-ouest, à Toulouse, nos oisons naissent sans bactérie. Tous les œufs sont stériles, la colonisation intervient très rapidement dès l'éclosion. Il se met en place une sorte d'écosystème qui va régir un grand nombre de nos fonctions et potentiellement un grand nombre de nos pathologies.

Il faut mentionner que ces écosystèmes n'existent pas uniquement dans notre intestin ; des groupes bactériens colonisent également toutes les cellules épithéliales de la peau, la bouche, etc...



Les couleurs correspondent à des groupes bactériens différents. La peau a des groupes très différents de l'intestin.

Toutes ces écologies sont là en symbiose parfaite et vont conduire au maintien de l'immunité innée et également de l'immunité adaptative pour nous permettre de vivre en harmonie avec l'environnement.

Cela permet de démystifier le rôle des bactéries. Il ne faut pas toujours les considérer comme des agents pathogènes toxiques. Seul un tout petit nombre sont réellement pathogènes par rapport à toutes celles qui existent.

En fait on doit considérer leur rôle comme extrêmement bénéfique, pour notre

développement et notre survie. C'est cela que je vais essayer de vous expliquer. Je vais résumer une décennie de travaux concernant le rôle des bactéries sur les fonctions physiologiques.

En ce qui concerne le système digestif : nous mangeons, nos bactéries mangent ! Il est même intéressant de savoir qui mange en premier : les bactéries ou nos cellules du foie, de la rate et du cerveau ? C'est une question qui demande une certaine réflexion.

Ce système bactérien est très important, par exemple, pour le développement du système vasculaire à la naissance.

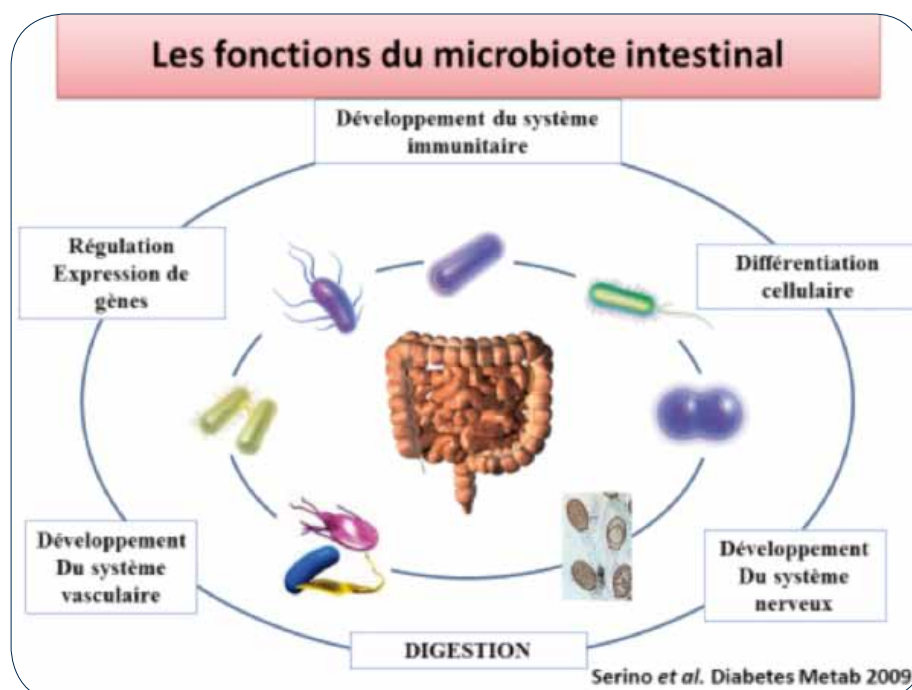
Pour un nouveau-né, si vous faites le rapport entre ce qu'il ingurgite avec son biberon et son poids, vous seriez surpris de savoir que si l'on mangeait à l'âge adulte, par rapport à notre poids, ne serait-ce que la moitié de ce que mange un bébé, on serait massivement obèse et je pense même qu'on n'y arriverait pas.

En revanche, l'efficacité alimentaire d'un bébé, à savoir la quantité de nutriments qu'il arrive à absorber est relativement faible, cela parce que son système digestif n'est pas développé.

Les bactéries à la naissance sont des facteurs essentiels qui vont permettre le développement vasculaire avec la capture des nutriments pour notre survie.

Il est possible d'avoir des animaux qui n'ont pas bactérie, on les appelle axéniques, ce sont des souris de laboratoire. Elles mangent à peu près 5 à 10 fois plus que les mêmes souris conventionnelles qui ont une flore commensale. C'est un peu comme le nouveau-né, leur système vasculaire d'absorption des nutriments est extrêmement faible.

Il en va de même pour le système immunitaire. Le système immunitaire est très immature à la naissance. Il se développe pendant les premières semaines, entre 6 mois et 2 ans.



Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

Lors du passage à l'alimentation solide, le jeune enfant va alors nourrir ses bactéries avec une nouvelle alimentation. Il va y avoir un changement de cette écologie bactérienne qui va conduire à de nouveaux mécanismes physiologiques.

Souvent les enfants se plaignaient d'avoir des coliques tous les jours à la même heure. Elles sont en relation avec le développement du système nerveux intestinal.

Les terminaisons nerveuses se développent et englobent l'ensemble de l'intestin. Elles vont alors informer le système nerveux central sur les modifications de la nature des bactéries et notre cerveau va s'éduquer de cette façon en relation avec ce que nous sommes en train de manger.

Ceci pourrait correspondre à une sorte d'éducation, de programmation de nos habitudes alimentaires. Si certains d'entre vous, comme moi, adorent le chocolat, c'est peut-être parce que nos bactéries aiment le chocolat...

Aujourd'hui, pour en revenir aux maladies métaboliques, une des questions essentielles est de savoir si finalement les sujets obèses et diabétiques ont un microbiote différent. On a vraiment pu répondre à cette question essentielle grâce à l'évolution des technologies.

Auparavant, on n'était capable de faire pousser en vue de leur identification qu'une petite proportion des bactéries intestinales. 30 %, au maximum, des bactéries qui habitent notre intestin sont cultivables. Ce sont, uniquement celles que l'on retrouve dans les selles car il est très difficile de faire des

prélèvements tout le long du tube digestif...

L'avènement de la technologie nous a permis de découvrir la partie immergée de l'iceberg et cette multitude de bactéries.

Nous avons dans notre intestin en moyenne 300 000 à 600 000 gènes bactériens différents alors que nos cellules de peau par exemple contiennent entre 20 000 et 30 000 gènes, il s'agit donc d'un facteur 100 !

Si l'on considère l'ensemble du microbiome sur la planète, il a été estimé entre 10 et 11 millions de gènes bactériens différents. On estime maintenant ne pas pouvoir augmenter beaucoup plus ce nombre. La courbe de découverte atteindrait un plateau.

Nous avons donc, en nous, un potentiel génétique extrêmement diversifié dont nous n'avons pu identifier qu'une infime partie.

Cela remet potentiellement en cause une question philosophique qui est de savoir : Qui est l'hôte de l'autre ? Il y a en nous à peu près 10 fois plus de cellules bactériennes que de cellule eucaryotes.

En termes d'évolution, les bactéries sont apparues bien avant les organismes pluricellulaires.

Nous sommes apparus bien plus tard. Somme toute, les bactéries nous ont tolérées. Elles ont toléré notre développement, car probablement elles y voyaient un bénéfice : l'hébergement, la protection contre les radiations extérieures, mais également l'alimentation.

Très intuitivement, on peut bien imaginer que, quand nous nous nourrissons, peut-être des

messages qui proviennent de nos bactéries nous forcent à le faire. Si on se nourrit trop, on devient obèse. Peut-être que les bactéries qui sont dans notre intestin finalement apprécient de bien manger et nous poussent à le faire. Quand on aime beaucoup le chocolat, ce n'est peut-être pas tout à fait notre faute...

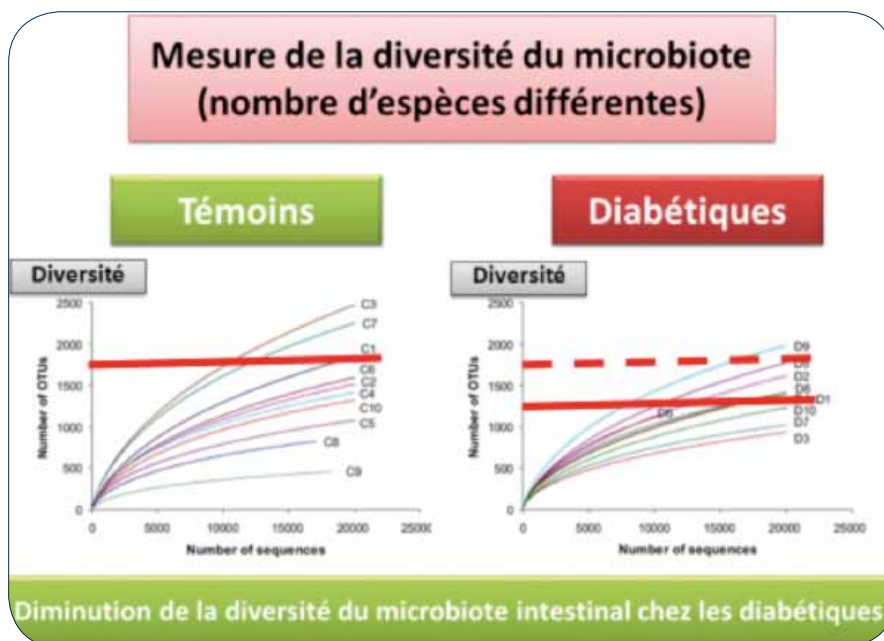
Les obèses et les diabétiques ont-ils des bactéries différentes des sujets sains ?

Grâce aux techniques de séquençage, on a pu les compter, identifier leur carte génétique

et donner un nom à l'ensemble des bactéries qui nous habitent.

Si on calcule un index de diversité (le nombre de bactéries différentielles qui existent dans notre organisme), dans des populations témoins, on a un score de 1 500 à 2 000 groupes différents.

Si l'on compare avec des sujets diabétiques, cette diversité est bien inférieure ; elle se situe entre 1 000 et 1 500, ce qui donne 30 % de réduction suivant les individus.



Ceci peut être associé au fait que la plupart des gens obèses et diabétiques ont une nourriture beaucoup moins diversifiée.

Traditionnellement, une nourriture variée est recommandée : manger de tout en petite quantité est bon pour la santé. On ne savait pas pourquoi ; probablement, parce que cela est bon pour notre microbiote et celui-ci nous le rend bien. Une grande diversité de bactéries, c'est beaucoup de gènes différents et ce grand nombre nous éduque pour l'ensemble de nos fonctions, comme j'ai

commencé à le détailler tout à l'heure.

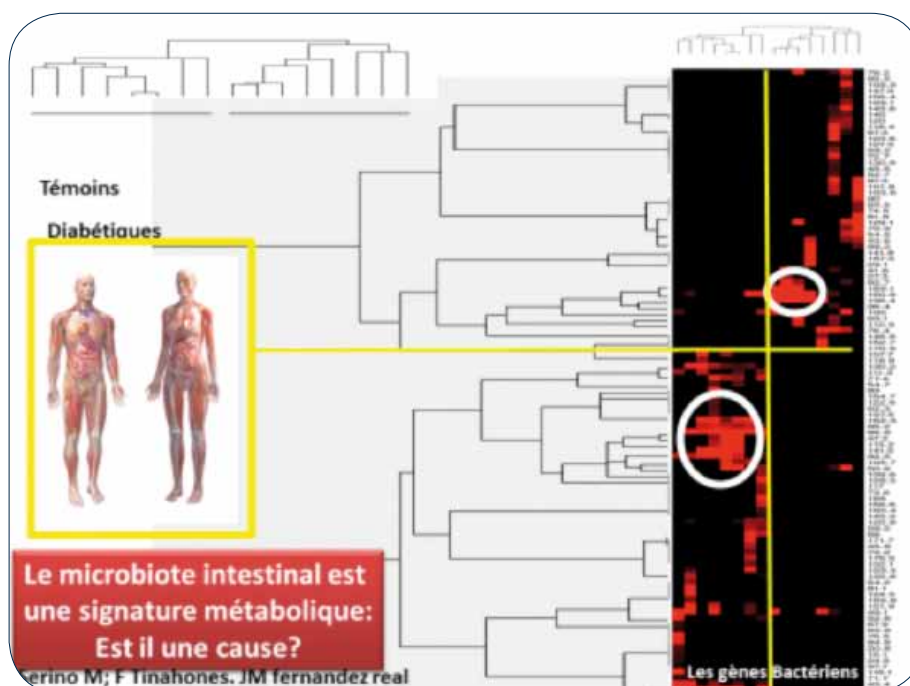
La diminution de la diversité du microbiote est alors un trait phénotypique des patients obèses et diabétiques.

A l'échelle moléculaire, au laboratoire avec nos collègues cliniciens on a étudié deux populations : des témoins et des diabétiques. On a réalisé une cartographie des gènes bactériens. Chaque petit carré est un gène bactérien.

Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

Il se trouve que nous avons pu bénéficier d'appendices saines. Pour des raisons professionnelles : les sous-marinières doivent avoir une appendicectomie, même s'ils ne sont pas malades de façon à ne pas avoir l'appendicite pendant une plongée ce qui serait catastrophique.

Nous avons pu obtenir ces prélèvements extrêmement rares. Nous avons séquencé les gènes bactériens et nous les avons regroupés d'un point de vue bio-statistique.



On observe deux îlots de groupes de gènes qui définissent une sorte de cartographie méta-génétique que l'on peut séparer en deux. Des analyses statistiques nous ont permis d'identifier qu'une série de patients correspondait à la partie gauche de ce graphe et tous les autres correspondaient à la partie droite.

On a pu séparer de manière statistique, suivant les caractéristiques des gènes bactériens, les témoins et les diabétiques.

Vous me direz, pour savoir si quelqu'un est obèse, avec une balance on arrive à le voir, mais pour savoir si quelqu'un est diabétique, ce n'est pas aussi évident. Détecter une

réduction de l'action de l'insuline demande une investigation clinique bien plus poussée et coûteuse.

En termes de besoins cliniques, on a ici la possibilité d'avoir un bio-marqueur, bien mesurable dans l'intestin.

Nous avons franchi une étape supplémentaire qui nous permettait d'identifier le phénotype par le génotype bactérien.

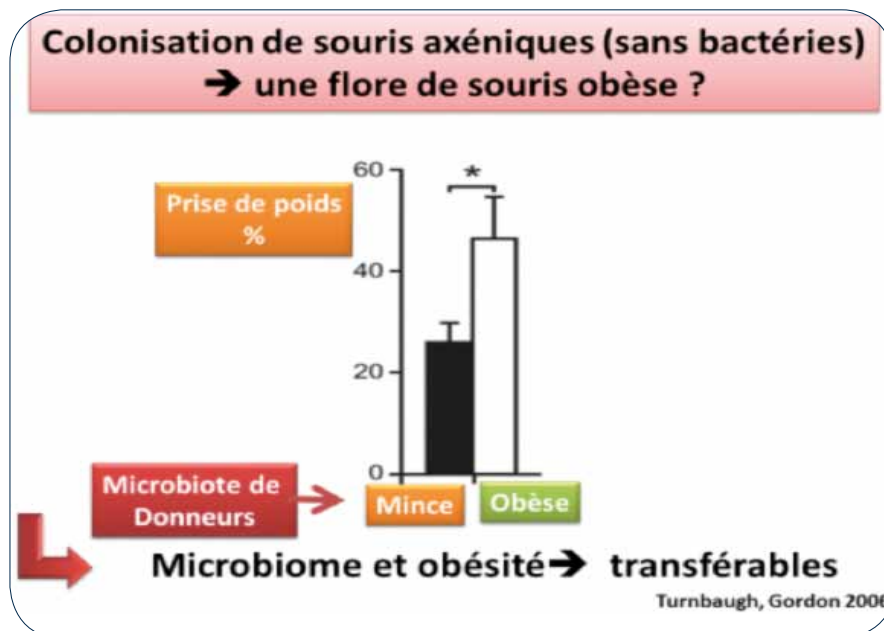
Cette signature ne démontre pas de causalité. Comment définir une cause ? **Comment démontrer que ces variations de microbiote sont bien une cause de la maladie ?**

Le groupe de Gordon aux États-Unis a fait une expérience que l'on pu reproduire au laboratoire.

A la naissance, il a mis des souris dans des isolateurs, elles sont axéniques, elles n'ont pas de bactérie. Il les a séparées en deux groupes. Puis, il les a colonisées avec soit le microbiote intestinal de souris minces soit celui de souris obèses.

Pour obtenir un microbiote obèse, cela est simple ; il suffit d'alimenter une souris avec un régime gras, elle va grossir, puis vous récupérez son microbiote

Le résultat était frappant : les souris colonisées avec le microbiote obèse grossissaient beaucoup plus que celles colonisées avec le microbiote mince.



Il y a deux informations : d'abord coloniser une souris avec un microbiote la fait grossir. Lorsqu'il n'y a pas de microbe, la souris est très maigre, même si elle mange 5 à 10 fois plus. Ensuite, la coloniser avec un microbiote obèse la fait grossir encore plus et induit de surcroît un diabète chez cette souris.

Cela démontre que l'obésité et le diabète peuvent être considérés comme des maladies « contagieuses », que l'on peut transférer.

Par rapport à la question initiale : Quelle est l'origine de cette épidémie de diabète et d'obésité ?

On pouvait suggérer l'intervention d'un agent infectieux, car l'obésité et le diabète semblent être transférables. Nous sommes toutefois dans des conditions particulières avec des souris axéniques. Cela ne signifie pas que, chez l'homme, ce soit le cas. On peut en effet côtoyer des patients diabétiques, sans le devenir pour autant !

Le concept de maladie transférable permettait de répondre au questionnement relatif à cette épidémie.

Maintenant, on va examiner d'un point de vue mécanistique :

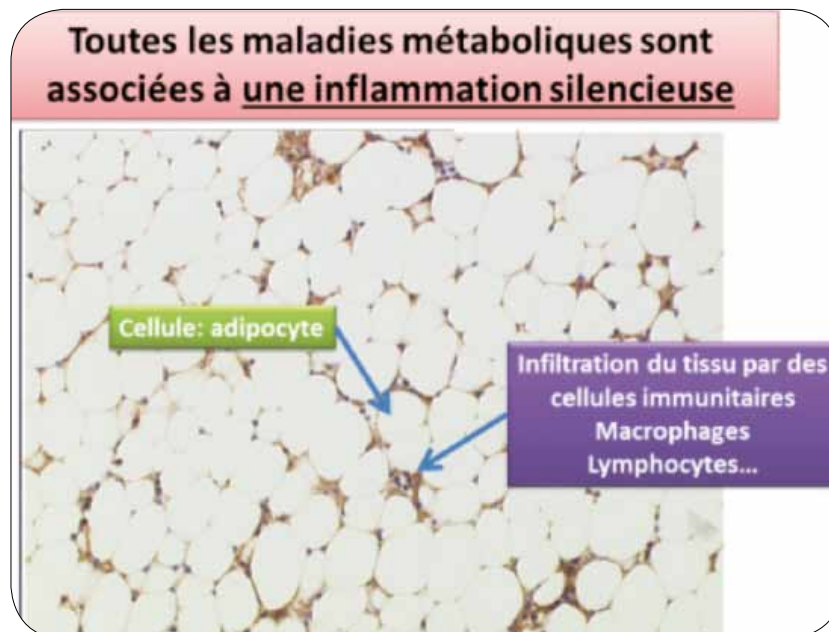
Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

Comment les bactéries induisent-elles les maladies métaboliques ?

Sur une coupe de tissu adipeux on observe les grosses cellules adipeuses de plusieurs dizaines de microns, ce sont les plus grosses cellules de l'organisme. On ne voit quasiment

que des gouttelettes lipidiques.

Chez le patient obèse et diabétique, ce tissu adipeux est infiltré par des cellules immunitaires, macrophages, mais également lymphocytes, c'est-à-dire des cellules immunitaires innées et adaptatives.



Cette inflammation silencieuse de bas grade (il ne s'agit pas d'une infection au sens infectieux du terme, ni d'une inflammation de type cancer) est une infiltration parfaitement physiologique, mais qui est exacerbée, donc probablement pathologique.

Dans les deux exposés précédents nous avons noté le rôle sur le système immunitaire et dans l'inflammation des lipopolysaccharides (LPS) Or ils sont les composants des parois des bactéries Gram-négatives

Ils pourraient donc constituer la relation moléculaire entre le développement de l'obésité et du diabète, cette inflammation et des agents bactériens potentiels.

La première expérience simple de physiologie a consisté en la mesure au cours du cycle nyctéméral, des variations de la concentration de ces LPS dans le sang de souris

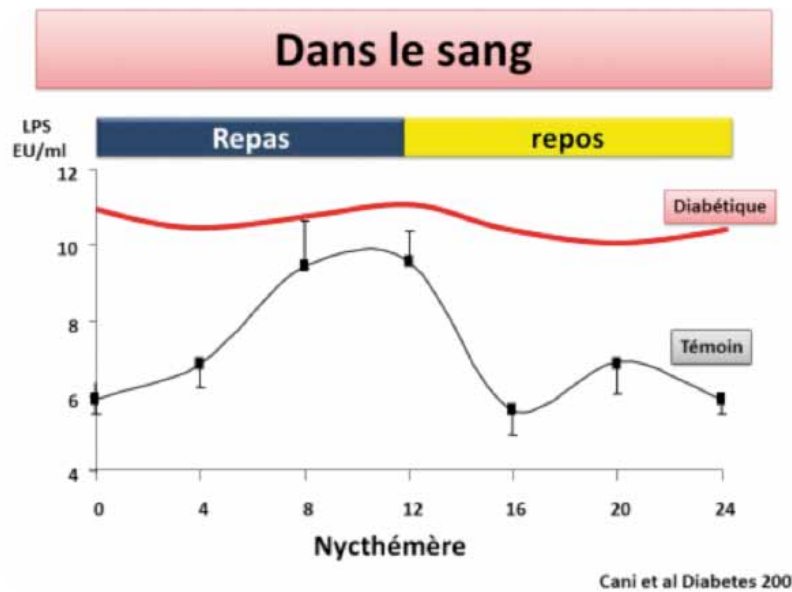
Même lorsque les souris mangent quand elles veulent, et de manière relativement continue, à la fin de la prise alimentaire, il y a une augmentation de la concentration de LPS dans leur sang. Cette concentration a doublé. Lors du repos, pendant la sieste ou la période de récupération, sans alimentation, on revient à la valeur de base.

Il y a donc un cycle nyctéméral de la concentration de ces LPS, fragments bactériens. Très intuitivement, on peut dire, puisque les fragments de bactéries varient

en fonction de l'alimentation dans notre sang, qu'ils correspondent à une modification de la concentration des bactéries dans l'intestin.

Ceci est en accord avec le fait que nous éliminons tous les jours des bactéries.

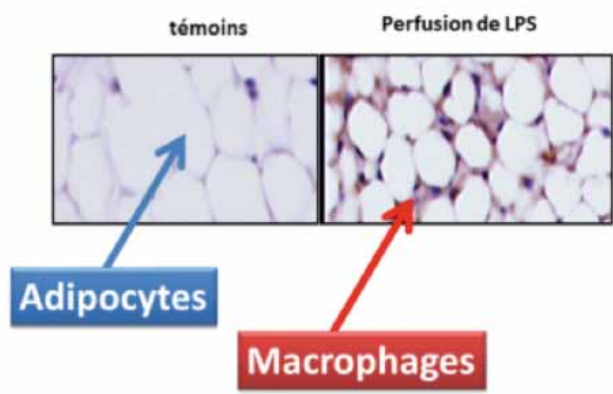
Par contre, chez les souris diabétiques, il n'y a plus de cycle nyctéméral. La concentration en LPS reste stable toute la journée à un niveau élevé y compris pendant les périodes dites de repos.



Il y a donc un tonus inflammatoire permanent. Contrairement à ce que veut la nature qui cycle la plupart de nos mécanismes moléculaires et physiologiques, il n'y a plus de variation de LPS associée au cycle nyctéméral. Nous avons démontré que l'administration chronique de LPS dans des souris témoins

induit une inflammation silencieuse. Pour cela on a simplement mimé cette augmentation des LPS dans le sang en les perfusant pendant un mois. On voit très clairement dans le tissu adipeux l'infiltration de cellules immunitaires, également dans le foie et dans certains organes, y compris le cerveau.

L'administration chronique de LPS à faibles concentrations induit une inflammation silencieuse



Cani et al Diabetes 2007

Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

Il y a donc une pénétration de cellules immunitaires comme dans le cas d'un agent bactérien. Jules Hoffmann a démontré que les agents bactériens activent le système immunitaire inné.

Il y a aussi beaucoup de lymphocytes du système immunitaire adaptatif dans les dépôts adipeux et dans le foie de ces souris.

Pour expliquer comment ces mécanismes pouvaient générer de l'obésité, on a incubé des progéniteurs (cellules souches) du tissu adipeux avec des concentrations croissantes de LPS. Il se produit une augmentation de la prolifération de ces précurseurs qui se traduit par l'augmentation des cellules d'adipocytes et donc une augmentation du nombre de cellules et de leur taille par hyperplasie.

A noter que s'il n'y a pas de récepteur de type TLR4 sur ce groupe de cellule, il n'y a pas de prolifération.

Les fragments bactériens sont capables d'induire la prolifération des précurseurs du tissu adipeux, ce qui conduira à plus d'adipocytes et plus de dépôts adipeux, donc à l'obésité et a posteriori réduira la fonction d'insuline et donc le diabète.

Après seulement un mois de traitement, cela suffisait pour induire diabète et obésité chez la souris.

Quels autres composés bactériens sont présents dans l'organisme ?

En plus des LPS, on s'est posé cette question : y a-t-il d'autres composés d'origine bactérienne, présents dans le sang, qui pouvaient entraîner le diabète et l'obésité ?

Nous avons mis au point une technique qui nous permet de quantifier très précisément la quantité d'ADN bactérien à l'intérieur du sang et dans les tissus. Il y en a de grandes quantités dans l'intestin ; dans le sang, il est en très petite quantité (100 à 1 000 fois moins que dans l'intestin, peut-être même 10 000 fois moins) mais de manière détectable. Nous avons pu trouver également de l'ADN bactérien dans les tissus, y compris dans le tissu adipeux.

Des molécules bactériennes (ADN, LPS...) peuvent alors rentrer dans l'organisme et le coloniser de manière parfaitement commensale en toute innocuité.

Nous avons tous dans notre sang des composés bactériens qui ne nous rendent pas malades a priori.

Ces premières estimations définissaient la notion de microbiote tissulaire, symbiotique, commensal, parfaitement inoffensif pour l'organisme.

En revanche la pathologie pourrait être provoquée par l'augmentation de ces concentrations et l'absence de cycle nyctéméral ou bien par des variations de structure moléculaire des LPS

Pour examiner cela nous avons fait appel à des techniques beaucoup plus sophistiquées, réalisées par une entreprise de biotechnologies avec qui nous collaborons. Ils ont pu comparer le nombre de bactéries différentielles entre l'intestin, les selles et différents tissus (tissu adipeux, foie, cerveau...).

Nous pouvons les rassembler en deux groupes.

Nous sommes surpris de voir que le tissu adipeux viscéral avait une diversité très importante de bactéries qui correspondait pratiquement à celle retrouvée dans l'intestin. Un deuxième groupe tissulaire plus homogène comprenait le foie, le cerveau, le muscle, le cœur et d'autres tissus. Le taux de diversité était non négligeable, mais bien moindre.

Une analyse statistique nous montre que les microbiotes des selles, de l'intestin se ressemblent, et sont également assez similaires à celui du tissu adipeux, comme si les bactéries de l'intestin pouvaient coloniser le tissu adipeux.

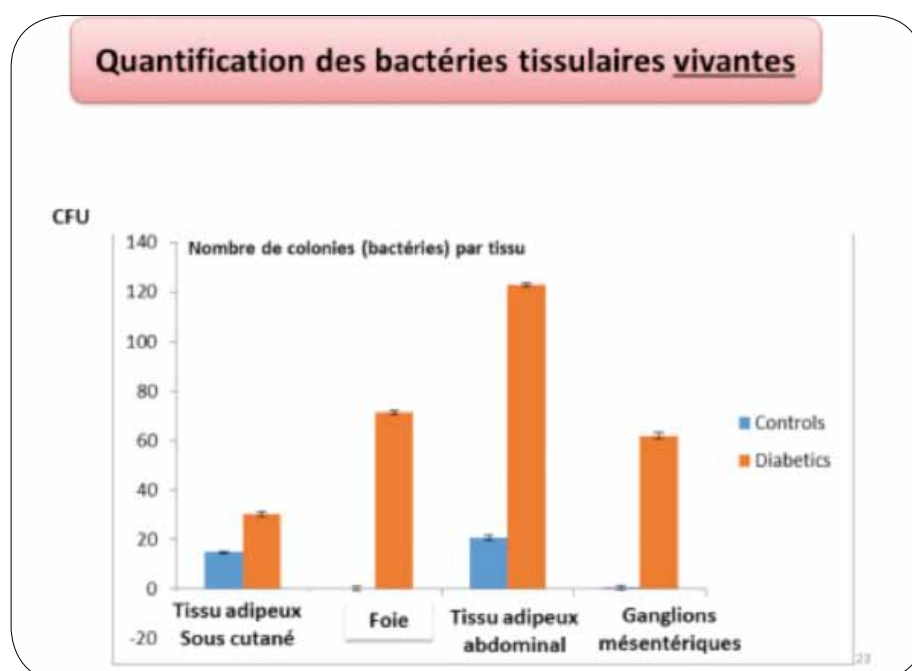
C'était très surprenant alors que la diversité sur les autres organes reste assez différentielle d'un organe à un autre.

Ce sont simplement des fragments d'ADN bactérien que nous avons identifiés.

Une vraie question est de savoir s'il y a des bactéries vivantes. Pour répondre à cette question une expérience très simple a été réalisée : dans des conditions extrêmement stériles nous avons mesuré la quantité de bactéries vivantes dans différents tissus de souris, en les déposant sur des boîtes de Petri pour les faire pousser. Ainsi, seules les bactéries vivantes pouvaient former des colonies.

Nous avons comparé des souris diabétiques à des souris témoins. Nous retrouvons des bactéries vivantes dans le tissu adipeux, mais également dans le tissu sous-cutané et dans le tissu adipeux abdominal qui semble être un tissu favorisant le dépôt des bactéries.

La quantité de bactéries était fortement augmentée uniquement chez les souris diabétiques, comme si ces dépôts adipeux étaient capables d'abriter de manière relativement inoffensive des bactéries vivantes.



Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

Elles ne sont pas détruites par le système immunitaire inné ou adaptatif. Cette observation nous a beaucoup perturbés. Je dois dire que nous ne savons toujours pas pourquoi elles ne sont pas détruites.

Une expérience ultérieure a été conduite chez l'homme. Nous avons récupéré du tissu adipeux de patients sains, en surpoids et obèses. Nous avons pu identifier la carte génétique des bactéries présentes dans leurs tissus.

Les bactéries du groupe de *Ralstonia* s'accumulaient de manière prépondérante dans le tissu adipeux des patients obèses. Il y a donc une sorte de signature. Les *Ralstonia* sont des bactéries à Gram-négatif qui contiennent des lipopolysaccharides (LPS). Nous avons vu précédemment que ces fragments bactériens sont capables d'induire la prolifération de cellules souches du tissu adipeux et donner naissance à des adipocytes matures avec augmentation de l'obésité.

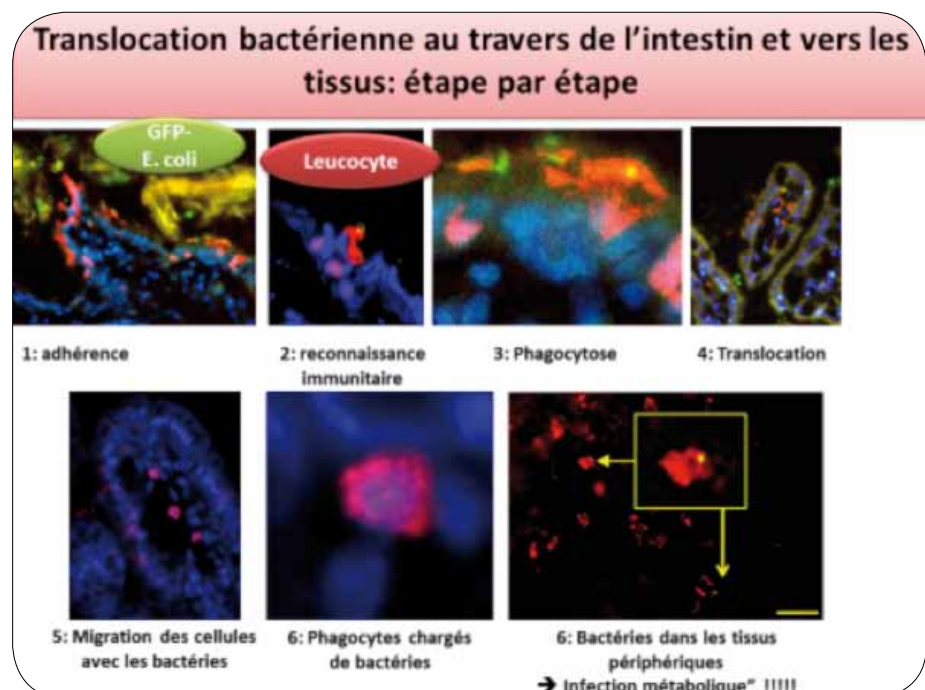
Cette expérience suggère que les bactéries peuvent être causales en se logeant dans le tissu adipeux.

Une question clé était de savoir **comment ces bactéries peuvent entrer dans notre organisme sans nous infecter ?**

Je vais résumer de très nombreux travaux qui ont mis en

évidence qu'en fonction d'une alimentation déséquilibrée et en combinaison avec un risque génétique, ce microbiote différent (dysbiotique) est capable de générer des composés bactériens. Ceux-ci d'infiltrent les tissus clés pour la régulation de l'homéostasie et activent les cellules immunitaires.

Ce processus de translocation bactérienne passe de l'intestin vers les tissus. Nous avons voulu savoir comment il était régulé. Pour cela, nous avons utilisé un « espion », un *Escherichia coli*, isolé de l'intestin d'une souris, marqué avec un fluorochrome. Avec cet *Escherichia coli* fluorescent, nous avons gavé des souris témoins saines et des souris diabétiques. Nous avons suivi l'évolution de cette bactérie dans l'organisme. Chez la souris témoin, nous ne voyons rien. Cette bactérie est parfaitement éliminée. Chez la souris diabétique, il n'en est rien, voici, étape par étape, l'évolution de cette bactérie fluorescente.



En rouge, vous avez des cellules immunitaires qui tapissent naturellement l'intestin. Dans une première étape ces bactéries, au lieu d'être éliminées, restent collées à l'épithélium intestinal à l'intérieur du mucus.

Les leucocytes en rouge qui sont des macrophages vont aller capturer les bactéries en vert qui s'approchent de trop près de l'épithélium intestinal, car ce dernier est parfaitement stérile. Les bactéries vont être identifiées par les récepteurs TLR, phagocytées et tentées d'être dégradées. Dans certains cas cela se produit.

Dans d'autres cas le phagocyte rentre dans la pilosité intestinale et commence son parcours à l'intérieur de l'organisme, il ne suit pas le tube digestif.

L'ADN bactérien est coloré en violet. Nous voyons tous les leucocytes qui rentrent dans l'organisme jusqu'au tissu adipeux. Vous retrouvez ce phagocyte qui a transporté une bactérie vivante à l'intérieur du tissu. Chez la souris, cela prend entre une et trois heures. C'est très rapide, il va rester à peu près 24 heures puis finit par être éliminé. Il est toutefois remplacé par un flux permanent de bactéries qui passent de l'intestin vers l'organisme.

Il y a donc une translocation bactérienne.

Chez la souris obèse et diabétique, il existerait un défaut de défense. **Pourquoi ces bactéries**

ne sont-elles pas détruites ?

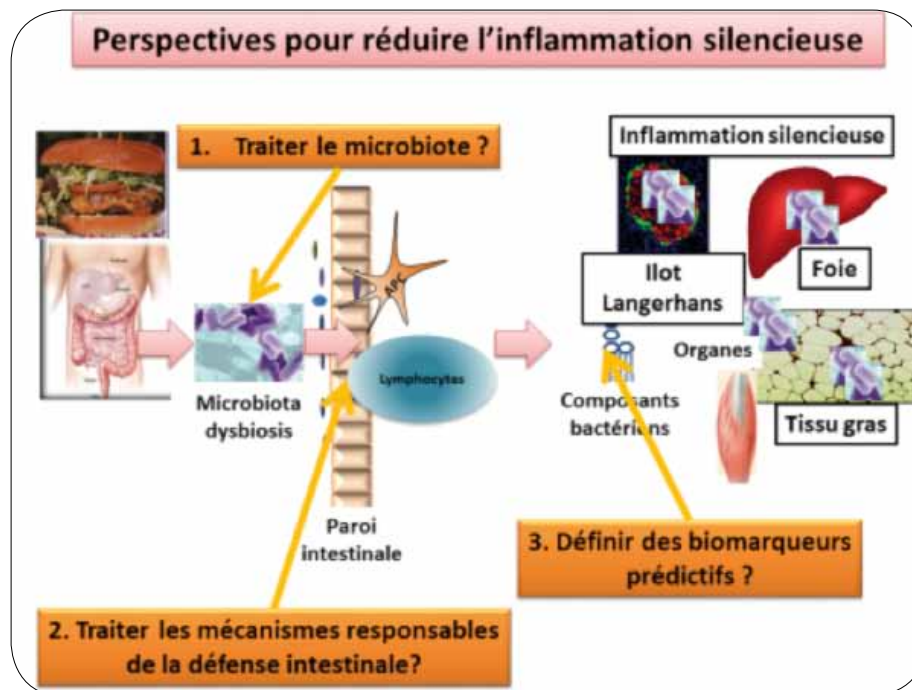
La défense intestinale, sans entrer dans le détail, est assurée par des groupes de cellules immunitaires formés de lymphocytes, de phagocytes. Ces cellules sont soit pro-inflammatoires soit anti-inflammatoires. Cette balance permet de maintenir une homéostasie fonctionnelle de l'intestin qui lui évite de rentrer dans une réaction inflammatoire trop importante.

Nous nous sommes aperçus qu'il y avait un risque de dysfonctionnement de ces lymphocytes. Pour cela nous nous sommes intéressés à un des groupes lymphocytaires TH17

Ainsi, sur des souris qui n'avaient plus de lymphocytes TH17 dans leur intestin, nous avons réalisé une simple charge orale en glucose pour voir si elles étaient capables de contrôler correctement leur glycémie. Alors leur glycémie, par rapport aux souris témoins, a augmenté de manière démesurée. Cela suggérerait qu'il y aurait un défaut de défenses intestinales autorisant le passage des bactéries.

Cela a été corroboré par un grand nombre d'expériences qui mettent également en évidence qu'un défaut dans le système TLR et NLR est associé à une translocation. Un défaut de reconnaissance bactérienne se traduit par un passage accru de bactéries.

Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique



De façon à démontrer que ce défaut lymphocytaire était vraiment la cause de l'hyperglycémie, nous avons récupéré les lymphocytes intestinaux d'une souris diabétique pour les mettre dans une souris parfaitement saine. Nous avons challengé à nouveau notre souris ayant reçu ces lymphocytes défectueux avec du glucose. Dans ces conditions, cette souris a développé une hyperglycémie et un diabète assez spontanément.

Nous avons été capables de transférer le diabète à une autre souris uniquement par la déficience du système immunitaire, impliqué dans la reconnaissance bactérienne. Par une cascade de réactions qui partent du microbiote intestinal, qui peut traverser l'intestin par un défaut de vigilance intestinale, des lymphocytes anormaux sont capables d'induire le diabète par eux-mêmes.

Voilà en résumé nos travaux en physiologie :

Nous avons démontré que dans des

conditions parfaitement saines les bactéries sont capables de pénétrer de manière quotidienne dans notre organisme et d'aller coloniser les tissus.

Au cours du diabète, il y a une anomalie fonctionnelle. Ces cellules immunitaires, qui ont pour fonction physiologique de contrôler le flux massif de ces bactéries, sont défectueuses. Cela autorise une grande translocation de bactéries allant coloniser nos organes. Les fragments bactériens vont générer cette inflammation silencieuse métabolique, activer les cellules souches entraînant une prolifération de cellules précurseurs du tissu adipeux. Ils sécrètent des cytokines qui bloqueront l'action de l'insuline, hormone essentielle pour la régulation glycémique et pour la survie. On a observé que les diabétiques ont, en moyenne, une durée de vie plus courte d'une dizaine d'années que les personnes non diabétiques.

Sur la base de ce paradigme qui est

le microbiote tissulaire, la translocation bactérienne et la défense immunitaire intestinale, quels sont les développements thérapeutiques que l'on peut envisager?

Perspectives pour réduire l'inflammation silencieuse

Nous pouvons envisager de traiter le microbiote :

- de manière très peu spécifique, en mangeant un yaourt avec des probiotiques, des fibres;
- de manière extrêmement spécifique par l'antibiothérapie. A long terme, chez la souris, on peut réduire la prise de poids et l'état diabétique.

Nous pourrions également traiter les mécanismes immunitaires défectueux chez le diabétique. A partir de nos connaissances chez la souris, nous sommes en train d'essayer chez l'homme de redonner une certaine imperméabilité dans l'intestin contre

les bactéries.

D'un point de vue pharmacologique, agir sur ces organes avec une molécule thérapeutique.

Avec des biomarqueurs, mesurer dans le sang des fragments bactériens qui sont associés à tel ou tel défaut fonctionnel et suivant celui-ci déterminer la bonne molécule.

Ce sont des perspectives que nous espérons pouvoir mettre en place et qui feront l'objet de développements pharmacologiques et nutritionnels dans la prochaine décennie.

Ce travail est le résultat de toute une équipe. Nous avons la chance d'avoir un laboratoire avec des compétences multiples : des physiologistes, des microbiologistes, des spécialistes du système immunitaire, des immunologistes et également des mathématiciens pour les modélisations.



Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

Je vous remercie pour votre attention.

(Applaudissements)

Claude DELCAYRE.- Nous nous sommes intéressés au diabète de type 2 chez la souris dans le cadre de recherches liées au diabète chez le patient cardiaque. Nous avons induit un diabète de type 2 avec un régime non sucré, ce qui n'est pas simple.

En général on obtient des résultats variables que l'on dit dépendants de la souche de souris. Lorsqu'on induit le diabète, est-ce qu'on peut modifier le microbiote ?

Pr Rémy BURCELIN.- Lorsque vous nourrissez une souris avec un régime riche en graisse en l'espace de 4 jours maximum, le microbiote change à 80 % et cela est également vrai pour l'être humain. C'est extrêmement rapide, mais parfaitement réversible en une à deux semaines. Mais après un mois de régime chez McDonald, il va vous falloir plusieurs mois pour éliminer ces bactéries et revenir à une écologie microbienne importante.

Il y a un phénomène absolument passionnant. Si vous prenez une centaine de souris et vous les nourrissez dans la même cage avec le même régime, elles n'auront pas toutes le même microbiote. Il sera différent de celui de la cage témoin, mais chaque souris aura son microbiote avec un certain pourcentage de similitudes entre les souris. Puis vous pourrez les regrouper par signature microbienne.

L'année dernière nous avons publié une étude sur ce sujet: en fonction de la signature microbiote intestinale, nous pouvions calculer une incidence du diabète. Nous pensons que c'est un équilibre entre le microbiote et le système immunitaire probablement

adaptif qui donne une certaine spécificité à cette écologie. Le couple microbiote/système immunitaire adaptatif va définir votre susceptibilité à devenir diabétique par rapport à un stress nutritionnel.

Vous pouvez très bien le traiter par antibiothérapie, mais c'est non spécifique. En nourrissant votre microbiote de fibres ou du fer vous allez favoriser des sous-groupes bactériens. Les bactéries ont une grande affinité pour le fer. Sans bactérie, le métabolisme du fer serait insignifiant pour l'être humain. Il en va de même pour le cuivre et un grand nombre de métaux ainsi que des vitamines.

Maxime SCHWARTZ.- D'après ce que j'avais compris, le microbiote était déterminé très rapidement après la naissance et dépendait en grande partie de celui de la mère et de l'environnement immédiat. Ensuite, il restait stable jusqu'à 65 ans.

Comment peut-on parler d'une épidémie de diabète, étant donné que la plus grande partie de notre vie en gardant son propre microbiote, on est insensible à l'environnement. Comment expliquez-vous cela ?

Pourrait-on imaginer que le diabète des personnes âgées soit consécutif au fait que leur microbiote soit beaucoup moins stable ?

Pr Rémy BURCELIN.- La première question fait appel à la notion de programmation. On voit des familles de personnes obèses, y compris les enfants. Très clairement, les enfants ont récupéré pas uniquement le matériel génétique des parents, mais également leur microbiote. Les enfants naissent avec une colonie bactérienne extrêmement proche de

celle des parents.

Pour des jumeaux homozygotes, qui ont exactement les mêmes gènes, il arrive que l'apparition du diabète de type 2 ou l'obésité soit différente. Il se trouve que celui qui est obèse aura un microbiote plus proche de celui de sa mère que de son frère, même si génétiquement ils sont parfaitement identiques. Il y a en effet une programmation à la naissance, non génétique.

Ensuite la question était de savoir si le microbiote restait identique du jeune adulte au vieillard, sachant que la puberté chez les femmes induit une modification importante.

Pour le microbiote, il n'y a pas d'âge, mais simplement des maladies.

Vous pouvez avoir 90 ans, être en parfaite santé, et avoir un microbiote d'un jeune de 20 ans. Vous pouvez, à l'inverse, avoir 60 ans et un microbiote d'un patient de 110 ans. Il ne change pas, à condition que vous ne le stressiez pas. Si vous passez quinze jours avec un régime déséquilibré, il va changer en quelques jours. Il reviendra ensuite à ce qu'il était, car il a été programmé ainsi. Il s'est calibré avec le système immunitaire à la naissance et probablement avec celui de la mère, via les anticorps qui sont transférés par le lait maternel.

Un équilibre à la naissance se met en place. On hérite de notre mère, nos anticorps. Si on déséquilibre cela, il y a un risque et pas uniquement de maladies métaboliques. Au cours des heures qui suivent un infarctus du myocarde, on a pu montrer une augmentation du microbiote dans le cœur.

Une sorte de programmation se met en place.

Si ce sont de « bonnes » bactéries, à la rigueur, c'est moins grave. Si ce sont des « mauvaises », vous aurez potentiellement un remodelage cardiaque qui sera pathologique. Chez le patient âgé, il y a un âge microbiote et celui de la carte d'identité. En quelque sorte, tant que votre microbiote est en bonne santé, votre carte d'identité ment !

M. Alain COLENO.- J'ai cru comprendre que dans le phénomène de l'obésité, vous aviez deux étapes : une première étape qui est le grossissement des cellules amniotiques et une deuxième étape qui est la multiplication des cellules adipocytaires.

Quand vous faites un traitement avec le microbiote, qu'obtenez-vous ? Une diminution du nombre ou du volume ?

Pr Rémy BURCELIN.- Cette question est très pertinente. Car la prolifération des cellules souches qui vont donner a posteriori les adipocytes est un processus de programmation à la naissance et pendant les premières années de la vie. Une fois que le nombre de cellules adipocytaires est acquis, il ne changera pas. La seule chose qui va changer, c'est leur taille : ils vont ou non se remplir.

Le microbiote est capable de contrôler la différenciation, ce que l'on appelle la lipolyse ou la lipogenèse, le stockage des lipides. Nous avons tous entendu parler de HDL, LDL, de cholestérol. Ces particules lipidiques qui sont dans le sang sont très riches en composés bactériens, notamment en LPS dont j'ai parlé précédemment. Quand on mange gras, ces particules lipidiques vont porter les agents inflammatoires de type LPS jusqu'au foie, au dépôt adipeux et vont être libérés. Ceux-ci peuvent être lipolytiques,

Le microbiote tissulaire : paradigme silencieux de l'inflammation métabolique

c'est-à-dire activer ou au contraire bloquer la fonte des graisses.

On peut donc agir, soit sur le nombre de l'adipocyte à la naissance, soit sur leur taille à l'âge adulte.

M. Didier HALIMI.- Vous analysez les microbiotes de ces modèles induits de diabète. Qu'en est-il des microbiotes dans certains modèles de diabète animaux chez la souris ou le rat induits par la streptozotocine ou d'autres modèles ? Retrouvez-vous des analogies sur les microbiotes à ce moment-là ?

Pr Rémy BURCELIN.- Non. Chaque modèle animal a son type de microbiote. Il y a des traits communs, mais si l'on prend un modèle très différent comme celui que vous mentionnez, la streptozotocine avec des mutations sur le gène OB, DB, etc., les microbiotes sont différents. Le traitement a un impact.

Tout traitement pharmacologique, quel qu'il soit, un médicament contre les troubles du rythme cardiaque par exemple, entraîne à terme une modification du microbiote parce que l'on modifie l'homéostasie de l'organisme entier. Le fait de la modifier, va avoir une répercussion tôt ou tard sur le microbiote. La difficulté est de savoir si c'est la cause de complications.

Si l'on pratique une mutation sur un lymphocyte comme je l'ai mentionné, alors qu'au départ la souris allait très bien, il y aura en conséquence une modification du microbiote. Si l'on transfère ce microbiote à une nouvelle souris axénique, on va assez souvent voir apparaître un phénotype métabolique.

Pour la streptozotocine qui consiste à détruire les cellules qui sécrètent de l'insuline dans

l'organisme, l'insuline en soi est un régulateur essentiel de la prise alimentaire, de l'équilibre glycémique. Secondairement, vous changez l'homéostasie de l'organisme, mais aussi l'homéostasie de votre microbiote parce que nous vivons en écologie, en symbiose parfaite avec nos microbes. Si l'on modifie un côté, l'autre en subit aussi les conséquences. Vous pouvez toujours vous attendre à une modification microbiote. La question est de savoir si cela risque d'amplifier les complications de ce qui était généré au départ. C'est en cours d'étude, mais c'est une question importante.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Je vous remercie. Il est 13h15 nous allons suspendre la séance pour une reprise à 14h30

(Applaudissements).

Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements

Pr Pierre MIOSSEC

Professeur d'immunologie clinique, Université Lyon I



Cet après-midi, nous accueillons Pierre MIOSSEC, professeur d'immunologie clinique et de rhumatologie à l'Université Claude Bernard. Il est également le spécialiste des rhumatismes inflammatoires et des maladies auto-immunes au Groupement Hospitalier Édouard Herriot de Lyon.

Le professeur Miossec est récipiendaire du prix Carole Nachman qui est le prix international le plus prestigieux en rhumatologie pour sa découverte de l'interleukine 17 et de son rôle dans la réaction inflammatoire et dans les mécanismes de destruction caractéristiques de la polyarthrite.

Au cours de votre carrière vous avez enseigné dans les Universités de Montpellier et de Dallas.

Le titre de votre intervention est :

« *Maladie inflammatoire chronique : compréhension et nouveaux traitements.* »

Pr Pierre MIOSSEC.- Je vous remercie de cette invitation et merci à tous d'être resté après la stimulation des cellules intestinales dont on a vu la contribution dans l'inflammation.

Je vais poursuivre sur le thème de l'inflammation en traitant des exemples réels vécus, de ce que l'on appelle la médecine translationnelle, c'est-à-dire comment à partir d'approches fondamentales, on peut envisager un traitement

En plus de tout ce qui a été dit tout à l'heure, j'introduirai un élément nouveau : la notion de chronicité.

Elle est consécutive à une inflammation qui n'est pas entièrement maîtrisée. Ce contrôle étant déficitaire, il y a apparition progressive d'anomalies devenant chroniques. Elles affectent ainsi des individus pendant pratiquement toute la durée de leur vie.

Il y a une différence majeure entre la réaction initiale que l'on peut qualifier d'aiguë et les conséquences ultérieures chroniques.

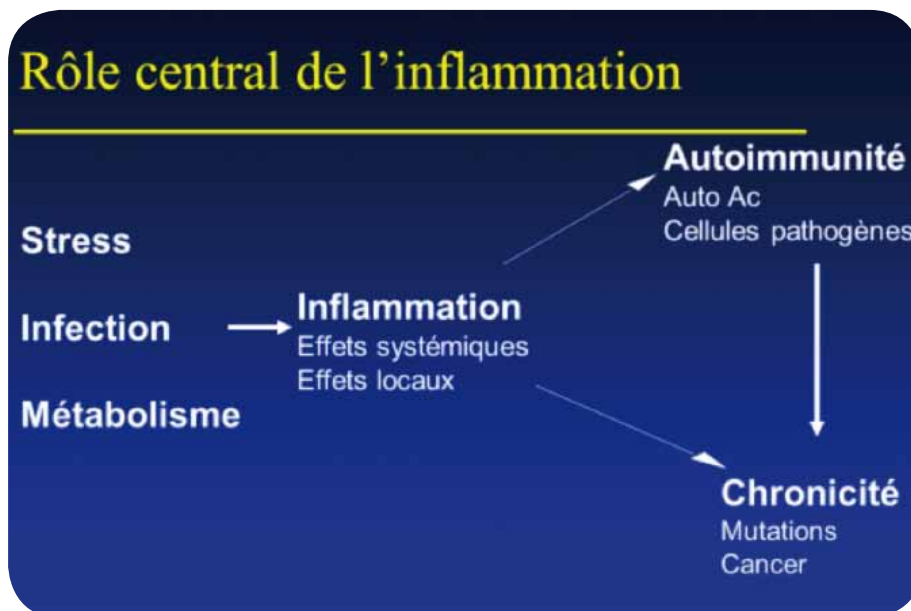
Je présenterai les connaissances acquises pour le contrôle de l'inflammation, le rôle des cytokines, les interactions cellulaires et le ciblage thérapeutique avec ses avantages et inconvénients.

À partir d'exemples, on mesurera les progrès réels réalisés dans la compréhension des maladies inflammatoires chroniques.

Si l'on reprend les termes employés tout à l'heure, la notion de stress au sens large, c'est à dire l'activation, la stimulation, est facile à comprendre à partir d'un agent infectieux. Nous venons de voir aussi que l'infection et la réaction métabolique sont liées dans les deux sens.

L'inflammation, en règle générale, va toujours associer deux composantes que l'on trouvera sur le plan clinique : des manifestations

locales, visibles ou non, et des manifestations plus diffuses, systémiques.



Pendant longtemps, on a parlé de maladies auto-immunes avec une difficulté de compréhension de ces maladies. Sans prétendre que les choses se sont complètement clarifiées, on a compris que c'est par étape, progressivement, que la réaction inflammatoire au sein d'un organe ou d'un organisme va entraîner des modifications.

Elles peuvent concerner, par exemple, certaines protéines du foie qui semblaient normales, elles vont devenir bizarres, puis reconnues comme extérieures. Nous aurons l'apparition de signes d'auto-immunité que l'on peut résumer de 2 façons : soit les lymphocytes B vont produire des auto-anticorps pouvant devenir pathogènes, soit, plus souvent, les cellules directement, en particulier les lymphocytes B, auront un rôle pathogène. Cette inflammation locale est aussi systémique.

Par définition, le terme chronique implique une durée qui va de quelques semaines à des années, voire toute une vie. Au cours du temps, cette pression régulière, quotidienne de l'inflammation va entraîner des changements locaux qui, étape par étape, provoquent des modifications moléculaires. Alors les cellules vont devenir anormales aboutissant aux maladies tumorales.

L'inflammation peut être véritablement une situation extrêmement polymorphe :

On peut prendre l'exemple de la **destruction articulaire**. L'inflammation de l'articulation en devenant chronique, va entraîner des dégâts fonctionnels par une destruction des structures de l'articulation.

La sclérose en plaques est une sorte de polyarthrite, se situant au **niveau cérébral**. La réaction locale va être une réaction inflammatoire qui détruit, non pas l'os et le

cartilage, mais ce qui fait la spécificité du tissu nerveux : sa capacité à conduire l'influx électrique.

La destruction est relativement facile à intégrer. On oublie souvent que tout doit être une question d'équilibre. Trop de destructions, on comprend que ce n'est pas bien. Mais d'une certaine façon, trop de constructions, trop de réparations, c'est presque pire, ce sont les **maladies fibrosantes**. Par exemple, s'il y a trop de réparations dans le poumon, il ne peut plus fonctionner avec les conséquences faciles à imaginer...

La régulation est une question d'équilibre : il faut ce qu'il faut au bon moment mais pas trop.

Nous avons vu aussi ce matin l'**inflammation métabolique** avec des exemples multiples dont le diabète.

Dans les maladies inflammatoires chroniques comme la polyarthrite ou la maladie lupique, on considère en premier lieu les dégradations d'organes : pour le lupus la destruction des reins, et pour la polyarthrite celle des articulations avec une dégradation de la qualité de vie associée

Mais les maladies chroniques affectent aussi la durée de vie. L'inflammation chronique fait perdre en moyenne 10 à 20 ans d'espérance de vie. À titre d'exemple, dans toute la population de mes patients, une seule a atteint 90 ans

Les exemples de lien entre inflammation et **cancer** sont multiples. Il a été mentionné ce matin les conséquences possibles d'une infection par une bactérie dans l'enfance. Dans un contexte génétique favorisant, cette

infection précoce aura pour conséquence la gastrite, l'inflammation, l'atrophie, caractérisée par des anomalies tissulaires et 20 ou 40 ans après l'apparition d'un cancer gastrique.

Un autre exemple est l'hépatite C : un virus extérieur peut entraîner des lésions inflammatoires du foie pendant des mois, des années et le risque évolutif est le carcinome hépatique.

Après ces données un peu générales, j'aimerais introduire les effets locaux et systémiques de molécules appelées **facteurs solubles**, regroupées sous le terme générique de **cytokines**. Les plus connues sont le TNF, l'IL-1, l'IL-6 qui ont déjà été mentionnés ce matin.

Leur rôle est très spécifique. Une cytokine va agir seulement si elle est capable de se fixer sur un récepteur lui-même particulier. Cette spécificité est dépendante de la cellule qui exprime ou non ce récepteur fonctionnel.

On retrouve ici la partie aiguë mentionnée ce matin. Mais il faut comprendre que cet élément est transitoire quand la régulation est normale. Quand on contrôle une infection avec ou sans aide extérieure, on a une disparition des manifestations. Si l'on se retrouve en situation chronique, l'expression clinique va devenir différente. La douleur va persister et, progressivement, les conséquences seront la perte de fonction, éventuellement la destruction d'une articulation, du cerveau, du tube digestif...

Au niveau systémique, cela ne sera plus la fièvre mais le mauvais état général, la fatigue, la perte de poids.

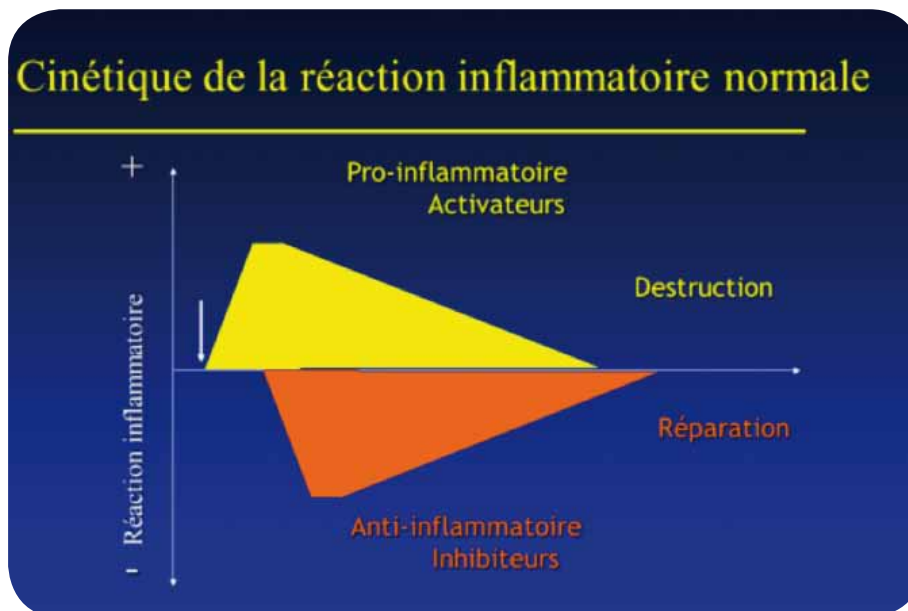
Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements

Pour une réaction inflammatoire normale, par exemple, nous avons tous eu de la fièvre lors d'une infection virale, même si on a eu l'impression de mourir, 3 jours après, tout a disparu ! Pourquoi et comment ?

Au départ, il y a l'apparition du stress au sens large entraînant une activation de la réaction inflammatoire qui aura une certaine durée explicable par le temps de mise en

place de l'effet protecteur, l'effet bénéfique. L'anti-fièvre, l'anti-inflammation apparaît avec un décalage.

S'il y a eu un phénomène de destruction, il y aura un phénomène de réparation. Finalement il s'est passé quelque chose, mais il ne reste aucune trace. C'est la régulation normale de la réaction inflammatoire.

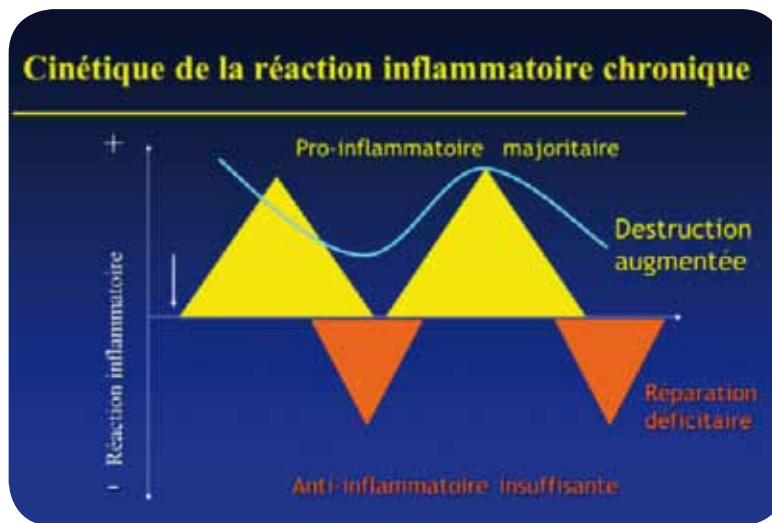


Que se passe-t-il chez un malade atteint de maladie inflammatoire chronique ? Il est facile de comprendre que, s'il y a une expression clinique, c'est parce que la réaction pro-inflammatoire est prédominante et que la tentative de l'organisme pour compenser est insuffisante.

L'image n'est plus symétrique. Il reste un certain degré d'inflammation. Les malades vous décrivent ainsi qu'ils ont des poussées, une fluctuation au cours du temps qui correspond véritablement à ces éléments.

De la même façon, une destruction sera accentuée et une réparation sera déficitaire.

Il y a souvent une confusion sur les notions de destruction et réparation. Je prends souvent un exemple trivial pour l'illustrer : regardez le plafond, imaginez qu'il manque une ardoise sur le toit, il se produit une fuite ; c'est l'élément de destruction. On répare en remettant l'ardoise. Mais si pendant 20 ans, la même fuite persiste, ce n'est plus une ardoise qu'il faudra changer, mais l'ensemble de la toiture qui sera à refaire à cause du déficit de réparation.



Le drame de la destruction est le déficit de réparation.

Inversement, dans les maladies fibrosantes, il y a trop de réparations et pas assez de destructions.

Prenons l'exemple de mon vécu quotidien, la polyarthrite rhumatoïde.

L'image serait similaire si on prenait la sclérose en plaque ou la maladie de Crohn dans le tube digestif. La liste de ces maladies que l'on peut qualifier de relativement spécifiques d'organes est longue.

La polyarthrite chronique entraîne la destruction par un défaut majeur de

réparation. Elle détruit très vite parce qu'il n'y a pas de réparation suffisante.

Depuis 20 ans, on a pu établir que cette réaction inflammatoire détruisait l'os et le cartilage par des interactions entre les molécules solubles, les cytokines. Plus particulièrement, je vous montrerai la contribution du TNF (*tumor necrosis factor alpha*).

Cette réaction inflammatoire est liée au fait que cette membrane synoviale, c'est simplement des fibroblastes, une structure qui fait une poche avec le liquide synovial à l'intérieur. Pourquoi une réaction inflammatoire alors qu'il y a très peu de cellules ?

Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements



Cela reste encore une succession de points d'interrogation.

Il y a un phénomène de migration des cellules autour des vaisseaux, cette réaction inflammatoire comporte tous les éléments d'un système immunitaire en situation ectopique en gardant toutefois la structure d'un ganglion lymphatique.

Si le fragment d'une lésion, obtenu par chirurgie, est mis en culture, il se produit une prolifération des cellules ; c'est l'effet pro-tumoral de la réaction inflammatoire. Il faut bien intégrer que cette réaction obtenue en quelques jours au laboratoire, se produit chez le patient après des années.

Avec le temps, la réaction inflammatoire exerce une pression constante sur le tissu de soutien. Ce tissu qui était normal au début va devenir progressivement anormal, voire

tumoral.

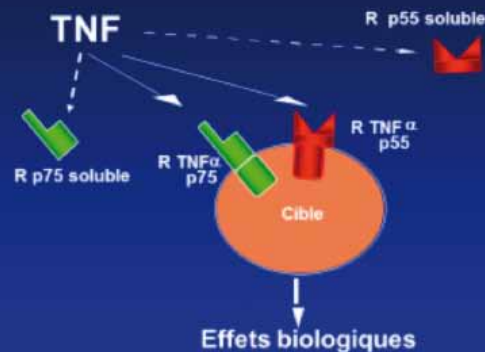
Un deuxième élément est le rôle de facteurs solubles, **les cytokines**.

Une cytokine comme le TNF se fixe sur un récepteur d'une cellule apte à répondre et on a un effet biologique. C'est l'exemple de la fièvre.

Pourquoi a-t-on d'abord de la fièvre suivie de l'anti-fièvre ? C'est parce que le système est organisé pour libérer le récepteur membranaire pro-fièvre, pro-inflammatoire. Ce récepteur, lorsqu'il est libéré, est un piège à TNF et va le retirer de la circulation comme une éponge en supprimant sa fonction.

En résumé, il se produit l'activation pro-inflammatoire, pro-fièvre pour simplifier, suivie du contrôle anti-fièvre, anti-inflammatoire.

Modulation physiologique de l'action du TNF α

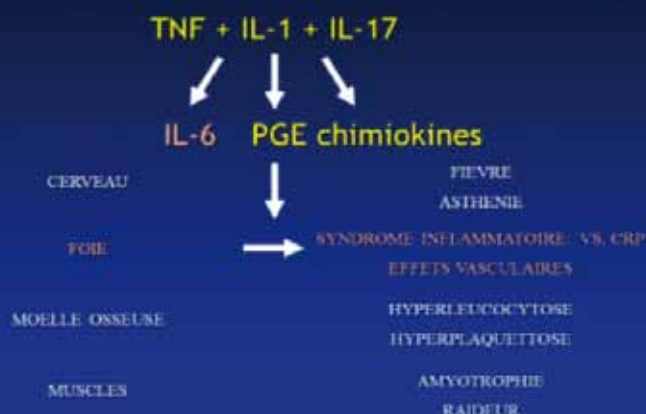


Les cellules monocytaires, qui ont des capacités de phagocytose, produisent les cytokines. Le monocyte va produire trop de TNF qui agira sur les cellules mésenchymateuses, entraînant, en cascade, l'expression d'autres cytokines, comme l'interleukine 6 (IL-6). Dans le même temps, ces cellules mésenchymateuses produiront, des activités enzymatiques contribuant à la destruction.

Voilà simplifié ce qui se passe dans une articulation ou dans le cerveau, le tube digestif, la peau, dans une longue liste d'organes.

Il y a dans cette réaction inflammatoire une contribution à 2 niveaux. Le premier systémique sera, par définition, le tronc commun. Ensuite, nous aurons une différenciation localement par organe. Il y a une cascade de facteurs dont certains classiques comme le TNF, puis d'autres, plus récemment découverts comme, l'interleukine 17 (IL-17). Ces facteurs vont entraîner la sécrétion et l'hyperproduction d'autres facteurs comme l'interleukine 6 et les chimiokines, qui vont attirer des cellules inflammatoires en renforçant l'effet.

Cytokines et manifestations systémiques



Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements

Les manifestations systémiques comportent quatre organes cibles.

Le premier est le **cerveau**, l'effet de la cytokine sur l'hypothalamus précisément, provoque la fièvre, mais aussi la dépression associée aux maladies inflammatoires créant une fatigue générale.

Le **foie** est l'organe central dans les processus de défense. Apte à synthétiser les protéines, il va, sous l'effet de l'inflammation et des cytokines, produire des facteurs mesurables en clinique : la vitesse de sédimentation, qui est une modification des protéines, et un marqueur peut-être plus simple à intégrer, parce qu'unique, qui est la C-reactive protein ou CRP. C'est l'élévation de ces marqueurs qui permet de détecter un syndrome, une réaction inflammatoire.

Depuis peu de temps, on s'est rendu compte que cette réaction inflammatoire avait aussi des **effets vasculaires**, comme l'infarctus du myocarde. Le taux de CRP dans la population générale est directement corrélé au risque cardiovasculaire. Le malade cardiovasculaire a une maladie inflammatoire relativement silencieuse jusqu'au moment où le tableau clinique peut éventuellement être fatal.

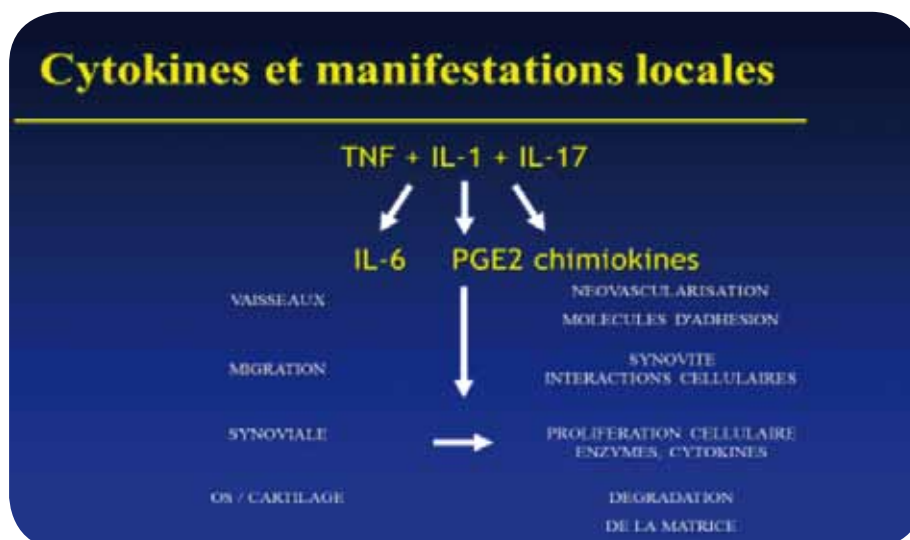
La **moelle osseuse** est le lieu de production des cellules aptes à faire les processus de contrôle et de régulation. Dans une réaction inflammatoire, vont circuler plus de leucocytes, de polynucléaires neutrophiles, de plaquettes, au niveau de la moelle osseuse.

Les maladies inflammatoires donnent également des **manifestations musculaires**. Au quotidien, c'est une raideur différente de la raideur matinale. Dans une maladie chronique, on perd du poids parce qu'on perd des muscles. Ils sont utilisés sous forme d'acides aminés, qui repartent vers le foie pour essayer de contrôler la situation.

C'est la vision systémique qui est commune à toutes les maladies inflammatoires.

La réaction inflammatoire comporte la migration de cellules. Pour cela, il faut des vaisseaux, des routes, pour les véhiculer.

Lorsqu'elle s'accélère, il faut plus de vaisseaux. C'est ce que l'on appelle la néovascularisation, réaction inflammatoire hypervascularisée



Dans le même temps, au niveau de l'endothélium, il y a l'expression de molécules de direction entraînant l'accumulation de cellules autour des vaisseaux pour aller dans le site synovial, tout comme il y a des cellules faites pour aller dans le site cérébral. Ce sera l'origine des manifestations locales

La réaction inflammatoire chronique impacte le tissu local : ces interactions cellulaires auront pour conséquence sur la matrice une bi-régulation construction/réparation avec une destruction prépondérante.

Ce sont les éléments associés à la phase soluble que l'on est capable de contrôler. Nous avons vu que la réaction inflammatoire peut produire une longue liste de facteurs, le TNF, l'IL-6, l'IL-1 ... Ce sont les cytokines relativement non spécifiques, produites par des cellules dont c'est la réponse majeure initiale.

Sous l'aspect local, il y a accumulation des cellules. C'est la présence en abondance de lymphocytes T et de lymphocytes B qui contribuent à la réaction inflammatoire. Cette réaction a un effet sur la prolifération cellulaire, sur les changements moléculaires qui font que les cellules mésenchymateuses deviennent pseudo tumorales au bout d'un certain nombre d'années.

En 1996, François Fossiez, en testant un nouveau facteur jusqu'ici sans activité, s'est dit : *«et si l'on utilisait les synoviocytes, les fibroblastes de la membrane synoviale de Polyarthrite Rhumatoïde (PR) ?»*.

Il a ainsi démontré l'induction de la production d'IL-6 par les synoviocytes en réponse à l'IL-17 produite par des fragments de synoviale

de polyarthrite. La production d'interleukine 6 faisait le lien avec IL-17 et inflammation. C'est ainsi qu'a été découvert le rôle de l'interleukine 17.

En 1999, il a produit le premier anticorps monoclonal bloquant IL -17.

L'IL-1, et le TNF testés sur des synoviocytes entraînaient une production considérable d'interleukines 6. Suite à un essai thérapeutique dans un tube, il a été montré, de façon surprenante, que les deux liens de cette activité étaient inhibés par l'anti-IL17. Ce résultat est somme toute modeste, sans comparaison avec une cytokine plus classique. La cytokine, seule, ne fait pas grand-chose, mais associée elle a un effet fonctionnel important.

L'expression prolongée de l'IL-17 dans une articulation normale induit la destruction de l'os et du cartilage

Ceci a été démontré chez la souris. Dans des genoux normaux l'administration prolongée de l'interleukine 17 produit l'accumulation de cellules inflammatoires, puis des trous dans l'os avec l'érosion et la destruction du cartilage.

Cette cytokine agit sur les cellules mésenchymateuses, les cellules fibroblastiques, les cellules synoviales, entraînant une réaction inflammatoire. On retrouve l'IL-6, l'IL-8 qui est la chémokine impliquée dans la migration des polynucléaires neutrophiles.

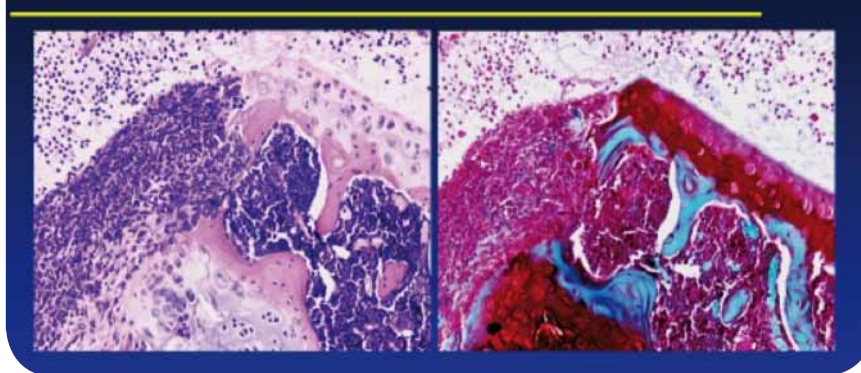
Le lien est établi entre interleukine 17 et pathologie à polynucléaires neutrophiles.

Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements

Ce facteur est capable de rendre l'IL-1, TNF, IL-6 plus inflammatoires qu'elles ne le

seraient étant seules.

L'expression prolongée de l'IL-17 dans une articulation normale induit la destruction de l'os et du cartilage



A l'intérieur de l'articulation on observe un effet systémique sur l'endothélium. C'est un résultat expérimental qui s'explique par la notion de balance entre pro-inflammatoire et anti-inflammatoire.

La thrombose résulte d'un déséquilibre entre les facteurs pro-thrombotiques et les facteurs inhibiteurs de la thrombose. La survie sur le plan cardio-vasculaire c'est l'équilibre permanent entre pro-thrombose et anti-thrombose.

Lorsqu'on expose des cellules endothéliales aux cytokines de l'inflammation, il y a une induction massive du facteur central de la coagulation, donc un effet de pro-coagulation et d'agrégation plaquettaire, deux éléments néfastes. De plus, l'effet anti-thrombotique est inhibé ce qui conduit à l'aggravation de la thrombose.

Le traitement classique du risque cardio-vasculaire est celui des statines. On dit que c'est parce que l'on mange trop qu'il faut prendre des statines. En effet, cela fonctionne parce qu'elles bloquent l'effet de l'inflammation. Les statines ont un effet anti-

inflammatoire. Si vous mettez l'anti-statine, vous inhibez l'effet protecteur.

Les statines inhibent les effets pro thrombotiques de l'IL-17 et du TNF par un effet spécifique de l'HMG-COA

Ce matin, il a été fait mention des lymphocytes capables de produire de l'IL-17, appelés les lymphocytes TH17. Il s'agit d'une nouvelle population de lymphocytes effecteurs

Je vais maintenant revenir sur la classification des lymphocytes T. Ils sont essentiels pour la survie : pas de lymphocytes T, pas de survie possible dans un environnement habituel.

Ces lymphocytes Th (*Helper*) ont été classés par groupes en fonction de leurs capacités à sécréter des cytokines distinctes en fonction de la nature des pathogènes. Ils orientent vers des voies de contrôle spécifiques

Pour les germes, les bactéries à situation intracellulaire dont le meilleur exemple est la tuberculose. C'est la voie TH1 : la cellule centrale est le macrophage avec à l'intérieur l'agent de la tuberculose, la cytokine associée est l'interféron gamma.

Pour les infections parasitaires comme les pathogènes muqueux le contrôle est assuré par la voie TH 2. La cellule n'est plus le macrophage ou le monocyte mais le granulocyte éosinophile. La cytokine n'est plus l'interféron, mais l'interleukine-4.

Pendant plus de 10 ans on n'arrivait pas à comprendre le mécanisme des infections bactériennes extracellulaires. Ensuite on a découvert la voie TH 17 qui sécrète notamment l'IL-17. Celui-ci est très important dans les défenses contre des infections bactériennes à répliquations extracellulaires dont le grand signe clinique caractéristique est l'élévation de l'IL-17 et les polynucléaires neutrophiles. Associés à la production de l'interleukine 17 ou des membres de la famille de l'IL-17 on retrouve également des cytokines déjà mentionnées : IL-6, IL-1, TNF.

L'inflammation non spécifique provoquée par un stress bactérien extracellulaire ou fongique va donner cette réaction TH17.

L'organisme doit sélectionner cette voie et non pas la voie TH2 qui serait parfaite pour une infection locale d'un parasite.

En fait, ces voies sont l'objet d'une grosse inhibition de manière à avoir la réaction adaptée à la situation. Il ne faut pas se tromper de voie au moment critique.

Ces lymphocytes spécifiques sont des **effecteurs**, cela veut dire qu'ils ont un effet, visible positif face à un stress.

Face à cet effet, il faut un phénomène de régulation. Ainsi est apparue en parallèle la notion de lymphocytes dits **régulateurs**, appelés auparavant supresseurs. Ils ont la propriété d'inhiber les lymphocytes effecteurs. A côté des situations qui vont être pro-inflammatoires, pro-auto-immunité, pro-destruction, pro-défaut de réparation. Les lymphocytes régulateurs en situation normale devraient permettre un retour à l'équilibre.

C'est la balance entre les lymphocytes effecteurs et régulateurs.

Interactions locales entre lymphocytes T pathogéniques et cellules mésenchymateuses

- Sites d'interactions between lymphocytes T pathogéniques et cellules mésenchymateuses

Moelle osseuse MSC

Ganglions

Sites inflammatoires: Synoviale: synoviocytes

Peau: fibroblastes

Psoriasis



Non lésionnel



Lésionnel

Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements

En situation physiologique normale, les contacts entre les lymphocytes T pathogéniques et les cellules mésenchymateuses ont lieu dans la moelle osseuse et dans les ganglions pour le fonctionnement normal du système immunitaire. Mais de façon ectopique, ces contacts peuvent avoir lieu ailleurs, par exemple dans la peau qui donnera le fibroblaste de la peau.

Ainsi des lymphocytes vont migrer par les vaisseaux et vont interagir avec les cellules en place, les cellules de soutien, les cellules fibroblastiques.

Il se produit une inflammation de la peau que l'on appelle le psoriasis. Il y aura des zones non atteintes et des zones atteintes.

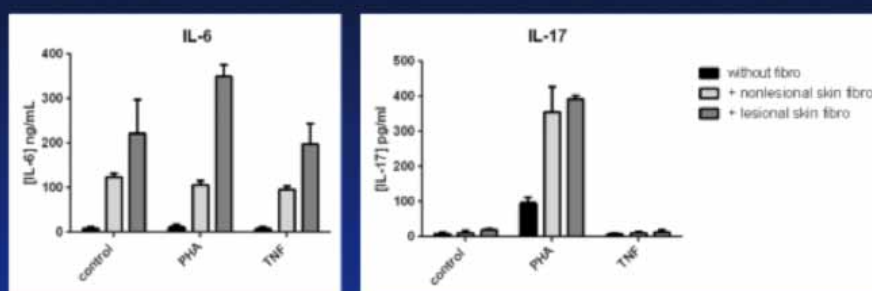
Si vous pratiquez une biopsie dans chacune des zones, en mettant simultanément les

fragments en culture; au bout de quelques semaines, il y a beaucoup plus de cellules à partir des zones atteintes.

Après des années de stimulations, les fibroblastes de la peau sont devenus anormaux, difficiles à contrôler. On est progressivement passé d'une réaction qui peut être vécue comme transitoire à une accumulation d'anomalies qui font que les cellules oublient de mourir. Elles deviennent, étape par étape, des cellules anormales.

Si l'on reprend les fibroblastes non lésionnels et lésionnels et qu'on les met en contact avec des cellules qui circulent, la réaction inflammatoire, mesurée par la production d'IL-6, sera différente. L'augmentation d'IL-17 est considérable dans les cellules anormales. Dans ce contexte, la cellule est devenue capable de produire de l'IL-17.

Le contact entre les fibroblastes de la peau et les lymphocytes du sang augmente considérablement la production d'IL-6 et d'IL-17



Différence entre les cellules lésionnelles et non-lésionnelles pour la production d'IL-6

Ciblage thérapeutique et résultats

J'arrive maintenant à la partie pleine d'espoir. Comment ces observations, au cours des années, issues de multiples laboratoires, ont

permis un progrès thérapeutique.

Considérons le TNF, nous avons vu qu'il existe un anti-TNF naturel qui est son récepteur soluble. Il est devenu au cours du temps un

médicament, ENBREL. Il s'agit d'apporter en quantité suffisante ce que l'organisme n'est pas capable de produire. On augmente l'effet anti-inflammatoire en restaurant l'équilibre étape par étape.

Deux grands inhibiteurs du TNF sont des anticorps monoclonaux. Cela fait un complexe tellement volumineux qu'il n'est plus capable de se fixer sur le récepteur créant un effet inhibiteur. Ces deux anticorps sont le REMICADE et l'HUMIRA. Ils représentent un marché considérable.

Pour l'IL-6, il y a sur le marché un anticorps anti-récepteur qui bloque l'interaction ligand et récepteur.

Je vais vous montrer comment un anticorps monoclonal anti-TNF devient un médicament.

En 1990 et 2000, on a sélectionné un groupe de malades avec polyarthrite rhumatoïde. On leur donne le traitement standard : une molécule chimique de synthèse, le METHOTREXATE. 20 % de ces malades vont

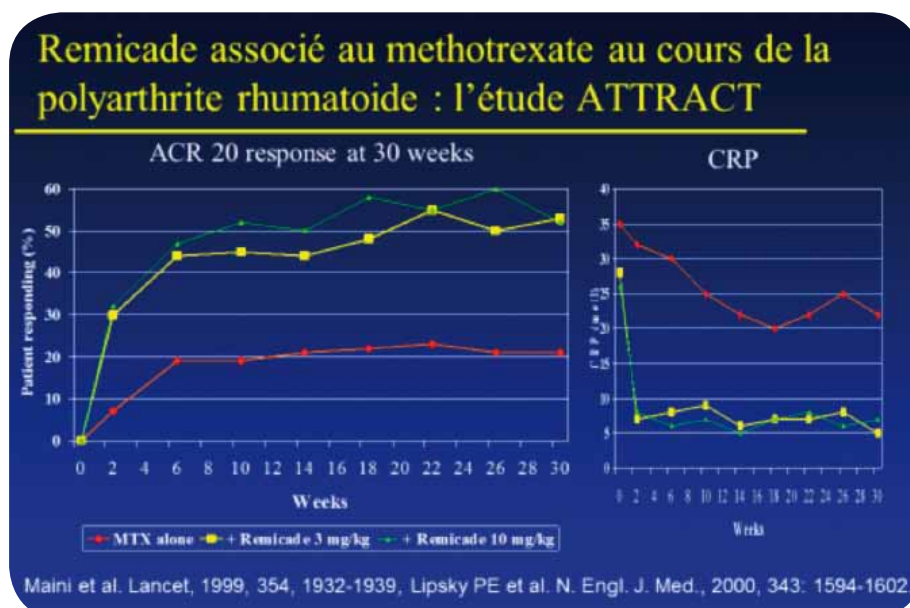
atteindre une amélioration de 20 %. C'est la base de départ.

En parallèle, on a donné à d'autres malades, sans qu'ils soient au courant du traitement qu'ils allaient recevoir, le METHOTREXATE plus l'anticorps anti-TNF à deux doses différentes.

Le pourcentage des patients améliorés est passé de 20 à 60 %. C'est la vision très positive. C'est sur la base de ces résultats que ce médicament a été enregistré pour traitement de la polyarthrite rhumatoïde, en association au METHOTREXATE et à la dose de 3 mg par kilo.

L'aspect négatif est qu'il reste 40 % de malades que l'on va décrire comme non répondeurs.

Pour les patients répondant positivement, le marqueur CRP a déjà diminué avec le METHOTREXATE, il atteint un niveau normal en bloquant en plus le TNF. C'est un progrès thérapeutique.



Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements

La vie est faite d'avantages et d'inconvénients. Je viens de vous parler des avantages.

L'inconvénient est que des molécules, comme le TNF et les cytokines, contribuent à un effet de protection. Si on la retire, le risque d'infection en particulier peut être augmenté.

Pour illustrer cela considérons la voie TH1 qui contrôle les germes en situation intracellulaire comme le bacille de Koch de la tuberculose. La cytokine centrale est l'interféron gamma. Toutes ces maladies inflammatoires s'accompagnent d'un déficit de l'immunité cellulaire, d'un défaut de fonction de production de l'interféron gamma. C'est pour cette raison que des malades à l'hôpital prennent plus d'infections. Les malades atteints d'une maladie inflammatoire ont en effet un déficit de l'immunité.

Ce n'est pas bien d'avoir trop d'interactions cellulaires, car cela donne l'inflammation et, au final, la destruction. En bloquant cette interaction, en inhibant le TNF, l'objectif est d'éliminer ces interactions cellulaires. On va mieux, car il y a moins de ces interactions cellulaires, moins d'inflammation et au final, on contrôle la destruction ; c'est le point positif

Si, par malchance, le même patient a par ailleurs un granulome, l'interaction entre les cellules, crée un « mur » autour du bacille de la tuberculose. Or beaucoup d'individus ont été en contact sans le savoir avec le bacille la tuberculose et ils sont porteurs latents de la maladie. Le bacille est à l'intérieur d'une « prison » avec ce granulome.

Sa destruction est finalement l'ouverture des portes de la prison. Le bacille de la tuberculose sort brutalement, se répand entraînant une

tuberculose d'une gravité considérable. Ce sont des réactivations, cette personne était en cohésion avec son environnement contrôlé par ce granulome, brutalement rompue par le traitement...

Après le TNF, et l'IL 6, le ciblage thérapeutique de l'IL-17 progresse : les molécules de Novartis et Lilly bloquent le ligand du récepteur, la molécule d'ABgene cible le récepteur.

Hier, j'avais une réunion à Londres sur le psoriasis. Sur cette maladie, les résultats sont exceptionnels. Sur la base de ces résultats, ces molécules vont certainement devenir des médicaments.

Le psoriasis cutané peut aussi s'accompagner d'une manifestation articulaire : le rhumatisme psoriasique.

Sur une autre maladie, la spondylarthrite, l'inhibition de l'IL-17 montre des résultats intéressants.

Les résultats sont irréguliers dans la polyarthrite rhumatoïde, où on voit de très bons répondeurs et des non-répondeurs. Il est nécessaire de mieux sélectionner les malades.

La sclérose en plaques est complexe à contrôler, car l'accès intracérébral des molécules est plus compliqué du fait de la barrière hémato-méningée. On a observé, au début de l'ère des anti-TNF, chez certains malades, que l'utilisation de ces produits non seulement n'apportait pas de bénéfice, mais provoquait quelquefois une aggravation. Les ciblage des cytokines avaient donc été exclus. Des essais thérapeutiques ont

néanmoins été tentés avec ces nouvelles molécules dans cette maladie. Les résultats sont encore trop précoces pour les qualifier de spectaculaires. Ils sont à considérer comme intéressants.

La maladie inflammatoire du tube digestif est la maladie de Crohn. Elle est traitée déjà par les inhibiteurs du TNF. Les anti-IL-17 ont été expérimentés, non seulement, il n'y a pas eu d'effet, mais ils ont provoqué une accentuation des lésions.

Les molécules comme l'IL-17 sont impliquées dans la survie initiale. Leur inhibition à certains endroits ou moments, peut avoir des conséquences néfastes.

Parmi les dix médicaments les plus vendus, l'année dernière. Six produits sont des anticorps monoclonaux. Les anti-TNF sont les trois premiers. Ils réalisent des chiffres d'affaires de plusieurs milliards de dollars. Au total trente milliards de dollars sont dépensés pour l'inhibition du TNF. Le coût d'un malade, en moyenne, est autour de 10 000 €.

Ces produits sont américains. Un seul est de la société suisse Roche, il s'agit d'un produit biotechnologique qui ne cible pas les cytokines.

Nous avons une réelle difficulté à transformer nos découvertes en application pratique. Ceci a les conséquences économiques que vous pouvez chiffrer.

The 10 best-selling drugs of 2013

Rank in 2013	Product	Company	To treat	2013 sales (US \$ m)	
1	Humira	AbbVie	Rheumatoid arthritis Autoimmune diseases	10,659	Biotech
2	Enbrel	Pfizer/Amgen	Rheumatoid arthritis autoimmune diseases	8,776	Biotech
3	Remicade	Johnson & Johnson/Merck	Rheumatoid arthritis autoimmune diseases	8,386	Biotech
4	Seretide/Advair	GlaxoSmithKline	Asthma	8,251	
5	Lantus	Sanoft	Diabetes	7,592	
6	Rituxan	Roche	Rheumatoid arthritis Lymphoma	7,503	Biotech
7	Avastin	Roche	Bowel cancer	6,751	Biotech
8	Herceptin	Roche	Breast cancer	6,562	Biotech
9	Crestor	AstraZeneca	Cholesterol	5,622	
10	Abilify	Otsuka Holdings	Depression	5,500	

J'ai parlé de réaction inflammatoire. C'est parce qu'on est capable d'avoir une réaction inflammatoire que nous pouvons survivre.

Le point central est que cette réaction doit être adaptée en termes de quantité, de qualité, au bon moment ni trop tôt ni trop tard.

C'est donc ce défaut de régulation qui

finalement au cours du temps va faire passer d'une situation équilibrée, contrôlée (dégradation, réparation, inflammation, anti-inflammation) à une situation de déséquilibre. On évolue alors étape par étape vers la chronicité.

Il est facile de comprendre que c'est au tout début de cette réaction inflammatoire, que les

Maladies inflammatoires chroniques : compréhension et nouveaux traitements

médicaments ciblant le système immunitaire vont être efficaces.

Cette réaction induite par le système immunitaire va entraîner ensuite des anomalies en particulier sur le tissu de

soutien. À ce niveau, le traitement par les moyens ciblant le système immunitaire vont être progressivement de moins en moins efficaces, d'où les répondeurs sont très nombreux précocement, et le sont moins plus tardivement.

Maladies inflammatoires chroniques: les points à retenir

- Une réponse inflammatoire adaptée permet la survie
- Un défaut de régulation entraîne la chronicité
- Le contrôle thérapeutique de la réaction immunitaire sera plus efficace à un stade précoce
- Ensuite l'effet sera réduit sur les anomalies secondaires à l'inflammation
- Un diagnostic et un traitement précoces de l'inflammation sont le moyen le plus efficace pour éviter la chronicité

Pour être très pratique, sur le plan clinique, c'est vraiment ce qu'il faut retenir : il est toujours dommage de voir des situations chroniques qui auraient pu être traitées avec les moyens dont on dispose plus précocement.

Je vous remercie.
(Applaudissements)

Dr Jean-Pierre DECOR.- Merci pour cette intervention, elle illustre parfaitement ce que vous avez appelé la médecine translationnelle : le lien entre les approches fondamentales et les possibilités thérapeutiques

Elle démontre à nouveau que la détection précoce d'une inflammation silencieuse est le facteur clé de succès. Comment les détecter plus précocement avant qu'elles aillent s'établir dans un organe sera certainement un point abordé au cours de la discussion générale

Pr Jules HOFFMANN.- J'avais vu à plusieurs reprises au Japon le professeur KISHIMOTO le découvreur de l'Interleukine-6 et vous n'avez pas parlé anti-IL-6.

Pr Pierre MIOSECC.- Le Tocilizumab en termes de chiffre d'affaires n'est pas encore, une molécule parmi les dix premières. Il est plein d'espoir si c'est la question.

Le Professeur KISHIMOTO est l'exemple de la translation, à savoir de quelqu'un qui a passé sa vie sur l'IL-6, dirigeant la recherche et qui a pu faire dans son pays ce que certains n'ont pas pu faire, à savoir de développer tout cela avec une vision économique que l'on qualifiera de redoutable.

Claude DELCAYRE.- Vous n'avez pas dit pourquoi l'IL-17 ne fonctionne pas pour la maladie de Crohn. Ce ne serait pas une maladie inflammatoire semblable aux autres?

Pr Pierre MIOSSEC.- La maladie de Crohn répond partiellement à l'inhibition de IL-17: 60/40. Cela peut être lié au fait que la contribution locale est insuffisante ou qu'en bloquant IL-17, on bloque en même temps un inhibiteur de l'IL-17.

Il y a en permanence un contrôle local dans le tube digestif. En parallèle à la production d'IL-17, il doit y avoir une régulation de celle-ci.

Sans entrer dans le détail, l'IL-17 est une famille de molécules. Des membres sont pro-inflammatoires. Il y en a aussi qui ont des propriétés anti-inflammatoires. Ces facteurs sont logiquement produits localement par les cellules de soutien.

La balance est peut être localement différente de ce qui se passe dans d'autres situations, comme au niveau de la peau où les résultats sont impressionnants, résultats qui n'ont jamais toutefois atteint 100 % de réponse.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Les 60-40, s'expliquent-ils par le fait qu'on intervient trop tardivement ?

Pr Pierre MIOSSEC.- Mon explication la plus simple est le bon sens, encore faut-il le prouver.

Pour répondre à une maladie avec un anti-TNF, il faut avoir une maladie spécifiquement TNF dépendante. Or il y a déjà une hétérogénéité quant à la contribution à un moment donné des différents mécanismes. Des malades ne vont pas répondre, simplement parce que la cible n'est pas présente.

Dans les 60/40 effectivement, il faut inclure les non-répondeurs. Si leur maladie était

initialement immunitaire, avec le temps, elle est devenue, en simplifiant, presque tumorale. Ces malades sont classés comme non répondeurs chroniques, pour des moyens ciblant le système immunitaire.

Didier HALIMI.- Considérez-vous que ces traitements ont une visée curative ou simplement modulatrice ?

Pr Pierre MIOSSEC.- C'est ce que vous devez déduire de ma conclusion : « Un diagnostic et un traitement précoce de l'inflammation sont le moyen le plus efficace pour éviter la chronicité. »

Quand les anomalies chroniques s'installent, la maladie devient autonome. Ainsi lorsqu'on arrête l'inhibition, au bout d'un certain temps, la maladie a un risque important de revenir. Ce risque de rechute va diminuer si le traitement est mis en place plus précocement, à savoir quand la maladie est encore strictement immunitaire. Quand l'inflammation a fait des dégâts locaux, on se retrouve avec une maladie qui va être progressivement indépendante de l'inhibition de l'inflammation. Plus tardivement, on peut voir ces malades initialement répondeurs primaires, perdre le contrôle et devenir des non-répondeurs secondaires.

C'est le problème de la maladie chronique. Même si les progrès sont absolument considérables, la question fondamentale pour ces malade est : comment prévenir ce caractère chronique, voire irréversible ? Le temps est certainement un élément central.

Didier HALIMI.- Les traitements par TNF datent de plus de dix ans. Vous avez des patients avec plus de dix ans de recul. Pour vous, quel est globalement le bénéfice/risque de

ces traitements très critiqués ?

Pr Pierre MIOSSEC.- Les infirmières qui prennent leur retraite aujourd'hui disent : depuis que vous êtes arrivé, la situation a changé. Dans le passé, on voyait encore un handicap immédiatement visible. Aujourd'hui, pour beaucoup de ces malades, ils seraient dans la salle, vous ne les distingueriez plus. Il y a eu un changement complet de l'image publique.

Ces traitements ont bien évidemment un effet dans les relations au quotidien. Le bénéfice est absolument considérable. Comme toujours, on aurait aimé que le bénéfice soit pour tout le monde, ce qui n'est pas le cas... Ces options thérapeutiques se poursuivent. Il y a des industriels comme Abbott, UCB qui ciblent avec la même molécule le TNF classique, l'IL-17a, et également l'IL-17f pour proposer des molécules à triple spécificité.

Le bourgeonnement de la recherche est absolument considérable. Il n'y a pas aujourd'hui une petite ou grosse entreprise dans le domaine des médicaments qui ne soit pas sur ces approches. Vous avez vu comment cela a commencé et regardez la situation actuelle. Cela devient un énorme business.

Didier HALIMI.- Comment expliquez-vous le moindre succès des inhibiteurs de l'IL-6 qui sont sur le marché depuis un certain nombre d'années qui ont montré des bons résultats en développement ?

Pr Pierre MIOSSEC.- Il faut bien retenir cette notion de cascade. Le TNF a une couverture plus large. Il est en amont. L'IL-6 est en aval. C'est une histoire de positionnement.

C'est mon interprétation. Les effets anti-inflammatoires, quand ils sont présents, sont absolument spectaculaires, mais on a une hétérogénéité de réponse dans une même maladie et entre les maladies.

Pr Rémy BURCELIN.- Qui dit réaction anti-inflammatoire suggère antigène. Suite à la question sur la prévention, pourquoi ne pas chercher l'antigène, et éventuellement proposer une sorte de vaccination ?

Pr Pierre MIOSSEC.- Absolument, c'est le travail de trois siècles que je vais résumer

On observe, pour revenir à la vision infectieuse, que l'inflammation par sa chronicité peut être due à une stimulation relativement non spécifique, comme le tabac. C'est un irritant des surfaces muqueuses. Cette irritation des jours, des années va entraîner localement une modification des protéines. Cela peut être aussi par des contaminations d'agents bactériens dentaires. La liste courte au départ, s'allonge au fil du temps.

Pour l'instant, la notion de maladie auto-immune est un peu un cache-misère. Il est probablement plus logique de conclure que ces maladies sont la conjonction de deux éléments : l'individu (avec son statut, y compris génétique) et l'environnement à un moment donné. D'où le caractère extrêmement polymorphique des conclusions, qui les éloignent très clairement des maladies génétiques.

Pr Rémy BURCELIN.- Il est paradoxal d'envisager une thérapeutique anti-IL-17 sachant que l'IL-17 n'est pas simplement restreinte à la maladie rhumatoïde inflammatoire, mais est impliqué dans de très

nombreux mécanismes biologiques. Pour le diabète, c'est même très bénéfique d'avoir de l'IL-17 dans l'intestin.

Pr Pierre MIOSSÉC.- La rançon positive de cette non-spécificité est la polyvalence de leur utilisation. Si l'on considère la situation actuelle des inhibiteurs du TNF, ils ont débuté contre la polyarthrite rhumatoïde, ils ont ensuite été utilisés contre le psoriasis, le rhumatisme psoriasique, la spondylarthrite ankylosante...

La non-spécificité a élargi la possibilité d'utilisation dans une liste croissante de maladies, l'inconvénient étant qu'on n'atteint pas la cause initiale.

Probablement, les anomalies que l'on voit chez un patient ont peut-être commencé in utero, à l'accouchement. La difficulté est de réécrire l'histoire face à une maladie qui n'est visible que progressivement. On sait clairement que les anomalies inflammatoires apparaissent des années avant l'expression clinique.

Table ronde : prévention et traitements de l'inflammation chronique

Modérateur : Dr Jean-Pierre DECOR

Membre de l'Académie d'Agriculture de France



Dr Jean-Pierre DECOR.- Nous allons avoir une discussion générale relative à l'ensemble des exposés. Il y a des attentes parmi les auditeurs, à savoir comment peut-on éviter ou détecter rapidement cette inflammation avant d'en arriver au point de non-retour.

On a évoqué un certain nombre de causes. On a parlé d'alimentation, de stress. Aujourd'hui, l'ensemble de ces maladies sont-elles en progression comme cela a été montré dans le cas du diabète. Pour les autres, que peut-on dire de leur évolution ?

Par exemple l'arthrite rhumatoïde est-elle en progression ?

La parole est à la salle.

Alain COLENO.- Parmi mes proches, il y a une

dame qui souffre de polyarthrite. Elle est à un stade où je ne pense pas qu'on puisse faire grand-chose ; ses enfants se demandent si c'est une maladie qui peut être pour partie d'origine génétique.

Une des questions essentielle, comme vient de le demander Jean-Pierre Decor est comment établir un diagnostic relativement précoce ? Si la maladie est détectée tôt, on a de meilleures chances de la contenir. Que peut-on dire sur les détections précoces à l'heure actuelle ?

Par ailleurs elle m'a dit le coût du traitement qu'on lui proposait, valait à peu près 12 000€, je me doute que pas grand monde puisse se payer ce type de prestation. Que peut-on espérer avoir en matière de réduction du coût de ces traitements ?

Pr Pierre MIOSSEC.- Ces maladies auto-immunes en général ou inflammatoires chroniques vont affecter plus souvent les femmes que les hommes. Souvent à un âge où se pose la question de la transmission éventuelle de la maladie et de l'effet éventuel d'une grossesse sur la maladie.

Quand je parle de maladies génétiques, je veux dire qu'il y a une certaine contribution génétique. Cette contribution génétique est absolument insuffisante pour pouvoir dire à un individu que son risque pour telle ou telle maladie est suffisamment élevé pour qu'il soit logique, utile, possible d'essayer d'intervenir. La composante génétique existe, mais elle est associée, pour ne pas dire noyée dans de multiples autres éléments qu'il faut également prendre en considération.

On ne peut pas, répondre à votre question: oui, il y a un risque génétique.

Ensuite, face à une femme qui veut avoir des enfants, ma réponse est toujours de conseiller de les avoir tôt, c'est une règle générale. Même si la polyarthrite est modulée par la grossesse. De temps en temps, on voit des jeunes femmes qui, quelques semaines après l'accouchement, commencent à avoir les douleurs articulaires, annonçant une polyarthrite rhumatoïde. C'est copié-collé pour la sclérose en plaque où il existe un pic de survenue de scléroses en plaques quelques semaines après l'accouchement.

Pour la polyarthrite on peut noter aussi quelquefois une amélioration plutôt qu'une altération...

Cela montre à nouveau que la génétique peut contribuer mais également, l'état hormonal,

immunitaire associé à la grossesse.

Il n'y a pas de recommandation particulière concernant une possible maternité. Je pense qu'il vaut mieux avoir des enfants.

La deuxième question est politique. Notre pays a la chance d'être un pays riche, en tout cas en termes d'utilisation des biothérapies. Même nos amis suisses ont un contrôle beaucoup plus strict qu'en France pour la prescription de ces traitements.

Toutefois en fin d'année, la facture est à payer.

Didier HALIMI.- Le coût de ces thérapies est extrêmement élevé. Pour les premiers des anti-TNF, des génériques de ce type de produits, viennent d'avoir une acceptation au niveau européen. Ils vont être sur le marché avec une baisse de prix extrêmement importante.

Pr Pierre MIOSSEC.- Elle sera seulement 20 à 30 %.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Ce sont quand même des molécules qui ont un coût de fabrication élevé.

Pr Pierre MIOSSEC.- Il faut considérer le progrès qu'elles ont représenté. C'est tout à fait différent d'une molécule très ancienne comme le METHOTREXATE qui a un coût dérisoire.

Jean-Louis BERNARD.- Nous avons vu l'importance de la composition du microbiote. Nous avons vu le fait que pouvoir s'en préoccuper dès la naissance offrirait des perspectives intéressantes en matière de santé. Existe-t-il aujourd'hui des perspectives

Table ronde : prévention et traitements de l'inflammation chronique

réalistes qui permettraient d'envisager, d'initier une évolution positive du microbiote dès la naissance, dans les hôpitaux par exemple ?

Pr Rémy BURCELIN.- Cher citoyen, je crois que c'est une question à poser au comité éthique. Je ne pense pas qu'on puisse trouver quelqu'un qui souhaiterait que ses enfants soient traités à la naissance de manière expérimentale, avec un microbiote A, B ou C.

Autant, on peut très bien le faire chez la souris avec des résultats très probants. Autant, je ne crois pas qu'éthiquement, on puisse envisager cela. D'autant plus qu'il nous faudrait une bonne cinquantaine d'années de recul pour être sûr que, même si on est protégé de la polyarthrite rhumatoïde, du diabète et de l'obésité, on ne développe pas un cancer du pancréas a posteriori ou tout simplement qu'on ne perde pas 10 ou 20 années d'espérance de vie. Il faudrait le temps d'une génération pour y apporter une réponse.

Par contre, un débat important, en rapport avec la question économique précédente sur le coût de la thérapeutique pourrait être, compte tenu des éléments dont on dispose: quel effort financier devrait faire l'État pour investir dans le dépistage ?

Je pense qu'on ferait énormément d'économies à avoir une thérapie ciblée pour des patients parfaitement diagnostiqués à l'aide de biomarqueurs, bien avant le développement de la maladie. Le coût serait bien inférieur. Sur une ou deux générations, les États rentreraient facilement dans leurs fonds.

L'effort, compte tenu des technologies que l'on a, doit être porté sur le dépistage précoce.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Que proposez-vous : la vitesse de sédimentation, la CRP ?

Pr Rémy BURCELIN.- Non, je propose des approches, sans a priori, basées sur le séquençage de tout le génome. Ceci peut être fait en 24 heures actuellement avec certains outils informatiques, pour la recherche de certaines maladies génétiques ou pour la réalisation de profil de sensibilité.

On peut très bien envisager de classer par modélisation les patients selon leur profil de sensibilité et leur recommander tel ou tel type de pharmacopées ou de nutrition. On améliorerait énormément ainsi les conditions thérapeutiques et le coût du traitement.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Sans envisager de l'appliquer à des enfants, les transferts totaux de microbiote existent dès à présent. Dans quel cas sont-ils pratiqués ?

Pr Rémy BURCELIN.- Oui. On parlait d'infections. Aujourd'hui, les patients atteints de Clostridium difficile peuvent être traités par cette thérapie avec des taux de succès inimaginables alors qu'aucune antibiothérapie n'est fonctionnelle. C'est même préconisé et remboursé par la FDA.

Pr Pierre MIOSSEC.- Sur un point de santé publique la question que vous posez peut être reliée en fait à la pratique ou non de la césarienne. Des éléments commencent à être établis sur le fait que les voies dites naturelles apportent un plus qui est justement le transfert du microbiote maternel. Il semble apparaître que l'incidence de certaines maladies puisse être différente en relation avec le mode d'accouchement.

Pr Rémy BURCELIN.- Il semble difficile d'imaginer des enfants de parents manifestement obèses subtilisés à la naissance pour être éduqués par des parents minces. Pour les souris on peut le faire, je ne suis pas sûr qu'on puisse le proposer pour les êtres humains. On peut toujours poser la question aux parents, mais on ne peut pas la poser aux enfants en tout cas.

Philippe PARDIEU.- Vous avez parlé de *helicobacter pylori* et de son rôle dans la promotion des lésions ulcéreuses ou cancéreuses du cardia. Quels sont actuellement les moyens de prévention en dehors du dépistage ?

Pr Pierre MIOSSEC.- C'est un aspect à nouveau de santé publique. C'est lié malheureusement aux conditions de vie dans l'enfance. Il y a une sorte de corrélation tout simplement avec le nombre d'individus partageant la même chambre ou la même pièce dans les premières années de la vie.

On retombe sur les problèmes de contamination précoce. Elle est d'autant plus favorisée que les conditions sanitaires générales sont mauvaises.

Dr Jean-Pierre DECOR.- L'évolution d'une inflammation due à *helicobacter* n'est pas forcément locale. De plus on peut vivre avec, très longtemps, sans avoir de cancer d'estomac.

Pr Rémy BURCELIN.- Il y a de manière assez surprenante dans la littérature des corrélations entre *helicobacter* et la maladie d'Alzheimer qui sont assez frappantes. Cela peut avoir un impact sur le long terme.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Cela signifie que la conséquence n'est pas uniquement locale, à l'origine de l'inflammation, au niveau où se trouve l'*helicobacter* ?

Pr Rémy BURCELIN.- Tout à fait. Il faut bien voir que l'organisme est un peu, d'un point de vue physiologique, schizophrénique. Il y a quand même deux cerveaux : un entre les oreilles et un dans l'intestin. Il y a un nerf et des systèmes vasculaires qui communiquent. Le fait d'agir sur un point, à savoir l'intestin, a des conséquences très claires sur le cerveau.

Une infection *helicobacter pylori* peut avoir comme conséquence une transmission d'un signal inflammatoire véhiculé par le système nerveux vers le cerveau.

On sait qu'une forme d'autisme a en partie comme origine un déséquilibre du microbiote intestinal, des facteurs inflammatoires agissent sur l'axe intestin/cerveau et pourrait conduire à un déséquilibre de la neurogénèse centrale.

Pr Fabio MARTINON.- Faut-il, pour nos enfants, favoriser un environnement plus hygiénique alors que des données montrent que les enfants qui naissent dans des fermes ont une meilleure protection contre certaines maladies auto-immunes ?

Pr Rémy BURCELIN.- Si on était une drosophile, il est très clair que l'on naîtrait dans un environnement très complexe. D'un point de vue évolution, je pense que la partie éducation du système immunitaire à la naissance est fondamentale. C'est ni trop ni trop peu. Il peut y avoir des réactions biaisées qui aboutissent à des maladies auto-immunes à terme.

Alain COLENO.- En sait-on assez pour faire

Table ronde : prévention et traitements de l'inflammation chronique

des régimes adéquats ?

Pr Rémy BURCELIN.- Non, absolument pas. Mais c'est une question de moyens et tant qu'ils ne seront pas mis de manière importante, nous avancerons extrêmement lentement. Même si nous pouvons faire beaucoup de choses avec peu d'argent, quand nous devons faire énormément de choses à la fois, cela fait tout de même beaucoup d'argent. Nous sommes devant une capacité de découvertes énorme, mais nous sommes freinés par des problèmes de moyens plutôt que par un problème d'idées.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Personne n'a encore posé cette question, nous sommes assaillis de publicités sur les régimes anti-inflammatoires où l'on recommande de consommer des produits riches en antioxydants, l'utilisation d'huile d'olive, d'oméga 3, d'éviter les oméga 6. Quel est votre avis ?

Pr Rémy BURCELIN.- Il y a quelques évidences. Une très belle étude avait fait grand bruit, c'est l'étude PREDIMED. Elle a concerné plusieurs milliers de patients. L'étude consistait pour les patients, aux alentours des 45, 55 ans, à consommer pendant 3 ans des régimes riches en huiles d'olive, en amandes, en poisson gras. L'impact cardio-vasculaire est énorme. La survenue d'événements a été réduite de 30 % dans une population générale des patients autour de 50, 55 ans.

Oui, l'alimentation a sûrement un impact qui a été mesuré. On a bien vérifié que les personnes avaient bien observé les régimes proposés. On ne l'explique pas sous l'aspect moléculaire. Nous sommes encore loin de comprendre comment cela marche. Mais manifestement, cette histoire de régime

méditerranéen a un impact majeur.

Oui, par l'alimentation, nous pourrions faire beaucoup en termes de prévention, même chez l'adulte. Il n'y a pas, dans ce cas, obligatoirement de programmation à la naissance...

Mme Michelle MOCK.- Je reviens à l'influence du microbiote sur le comportement. Puisqu'on dit qu'il peut avoir une influence sur le psychisme. Selon une étude publiée, des souris étaient placées dans un microbiote particulier, puis un lot avait fait un apprentissage auquel l'autre lot n'avait pas eu accès et apparemment, le microbiote avait transféré la capacité.

Je ne sais pas si vous avez entendu parler de cette étude.

Pr Rémy BURCELIN.- On s'est en effet aperçu que suivant le type de microbiote que l'on utilise pour coloniser des souris sans bactérie, mises dans des isolateurs complètement à l'abri de toute contamination, on est capable de faire une programmation chez l'adulte du développement nerveux central, des effets cognitifs, de la mémoire. On a commencé à identifier quelques souches bactériennes qui permettent d'améliorer la mémoire et les aspects cognitifs, voire contrôler la dépression.

Si l'on traite une souris aux antibiotiques suffisamment longtemps, on s'aperçoit qu'elle va être quasi euphorique avec beaucoup moins de risque de dépression. Quand on isole une souris qui, comme l'être humain, vit en société, elle est généralement plus triste que si on la met en groupe, sauf si on la traite aux antibiotiques assez longtemps. C'est purement expérimental, le concept est que

des bactéries rendent tristes, d'autres rendent heureux au moins chez la souris. Cela a été observé indirectement chez l'homme dans les cas de la chirurgie de l'obésité. Les très gros obèses (150, 180 kilos) sont opérés par chirurgie dite de l'obésité, ce qui consiste à faire de la tuyauterie avec l'intestin pour raccourcir la phase digestive. Un des impacts majeurs est la modification du microbiote intestinal. Les patients obèses après l'opération sur quelques mois retrouvent fort bien une grande partie de leur mémoire perdue. On a commencé à se poser des questions pour savoir quelle était l'influence de ce changement de microbiote sur le développement de l'axe intestin-cerveau nerveux pour restaurer ces aspects mémoriels.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Pourquoi n'applique-t-on pas aux gros obèses un traitement antibiotique qui réduirait la population bactérienne. Cela reviendrait à ce que vous disiez dans votre exposé, diminuer l'apport calorique des aliments.

Pr Rémy BURCELIN.- L'antibiotique est extrêmement drastique. Vous avez des carences par ailleurs. Il aura certes un effet positif sur le poids, la glycémie et certains aspects que je viens de mentionner, mais il y aura des carences en vitamines.

Pr Jules HOFFMANN.- Quand on parle de microbiote, on parle toujours de bactéries. Mais il y a aussi des champignons et surtout des virus. Nous avons un groupe à Strasbourg qui travaille sur le virobiote. C'est spectaculaire.

Quel est votre avis ?

Pr Rémy BURCELIN.- Autant tout à l'heure, je disais que nous avons entre 300 et 600 000 gènes bactériens par individu, autant là, on peut en rajouter 10 à 100 fois plus avec les virus. La richesse à découvrir est immense. On ne connaît absolument rien. On ne connaît déjà pas grand-chose des eucaryotes, mais des procaryotes et des virocaryotes, nous sommes qu'à l'aube de nombreuses découvertes.

Ce n'est pas le manque d'idées ni de techniques. Les technologies sont aujourd'hui accessibles et nous savons maîtriser ce n'est qu'une question de moyens pour avancer à une vitesse dont nos enfants pourront profiter des résultats. Autrement cela servira à nos petits-enfants ou aux petits-enfants de nos enfants...

Claude DELCAYRE.- A propos de l'inflammation silencieuse, j'ai une remarque et une question. Vous parliez d'enfants nés à la ferme dans un milieu riche en agents divers. Dans les laboratoires, nous travaillons sur les souris dont nous essayons de contrôler tous les éléments. Il en est un que nous contrôlions assez mal, celui de l'environnement. En effet, précédemment, les animaleries étaient ce que l'on appelait grises, c'est-à-dire que l'on rentrait avec des chaussures sales souvent sans blouse. J'ai l'exemple d'un collègue qui travaillait sur le gène NOTCH 3 avec des souris. Lorsqu'il imposait une hypertension à ses souris, elles développaient des affections rénales et cardiaques qui l'intéressaient. Le jour où l'animalerie a été fermée et qu'ils ont construit une animalerie blanche où peu de personnes rentrent et où l'on s'habille de manière adéquate, les souris ne développaient plus de lésions rénales ni de lésions cardiaques.

Table ronde : prévention et traitements de l'inflammation chronique

Ceci pour illustrer que tout ce que nous étudions sur des modèles ne correspond pas forcément à ce qui se reproduit dans la vraie vie.

Comment opérer avec les patients que vous voyez avec une maladie chronique ou inflammatoire, ils ont, au cours de leur existence, été en contact avec une multitude d'agents divers.

Ce que nous faisons dans les laboratoires correspond-il vraiment à la question que nous nous posons ?

Pr Rémy BURCELIN.- Nous ne faisons que générer des hypothèses. Une souris aura toujours 4 pattes et une queue, même si elle mange un régime qui est très proche du nôtre. Nous sommes là pour générer des hypothèses. Pour générer des hypothèses simples, nous sommes obligés de faire du réductionnisme. Mais vous avez raison, ce réductionnisme apporte, non pas des aberrations, car ce que nous voyons est vrai, mais il est extrêmement important de pouvoir conclure sur l'observation et non pas sur l'hypothèse.

Une approche intéressante de la réalité a été exposée ce matin c'est l'aspect pléiotrope d'un mécanisme, c'est-à-dire que l'on retrouve dans de très nombreuses familles de vertébrés et d'invertébrés comme tous les systèmes Toll ou NLR.

Une approche aujourd'hui réalisable est celle des hypothèses sans a priori. On peut très bien faire des expériences sans comparer le groupe A avec le groupe B, mais en examinant un seul groupe. Par exemple, on

prend tous les gens dans cette pièce et on essaie d'identifier quel est le trait moléculaire commun qui explique le poids ou la glycémie dans cette grande diversité. Grâce aux méthodes analytiques de génération de très grandes données et aux capacités que l'on a pour mathématiquement les modéliser, on est capable de faire des modélisations qui génèrent des hypothèses qui seront basées sur cette grande diversité de résultats. Ces hypothèses seront beaucoup plus fortes que des précédentes qui étaient basées sur l'observation et de l'idée géniale qui en découle. C'est un exemple d'approche différentielle.

Pr Françoise FORETTE.- Quelles perspectives voyez-vous dans les cas de la maladie d'Alzheimer ? On sait qu'il y a des phénomènes inflammatoires au niveau des lésions cérébrales qui sont évidentes, en particulier au niveau de la plaque amyloïde. Nous avons eu depuis une quinzaine d'années des études épidémiologiques qui montrent que les personnes qui prenaient des anti-inflammatoires à haute dose avaient une incidence de maladie d'Alzheimer diminuée de façon spectaculaire. Dans l'un des essais, c'est une diminution de 70 %.

Malheureusement, quand on a procédé à des effets contrôlés avec les anti-inflammatoires, tous les essais ont été négatifs.

À l'heure actuelle, d'autres essais s'adressent aux lésions elles-mêmes. Des thérapeutiques antigéniques cherchent à diminuer la charge amyloïde au niveau du cerveau, que ce soit par des antigènes, c'est-à-dire l'amyloïde elle-même, ou par des anticorps. Pour l'instant, les résultats ne sont pas extrêmement intéressants. Aucun de ces produits n'est à

l'heure actuelle sur le marché.
Voyez-vous d'autres perspectives ?

Pr Rémy BURCELIN.- Non. Il faut différencier l'analyse phénotypique de l'analyse mécanistique. Comme tout à l'heure par rapport à la polyarthrite rhumatoïde, je posais la question de l'antigène de départ. La bonne réponse, ce sont les antigènes spécifiques pour Alzheimer, le diabète, l'obésité. Ce n'est pas parce que vous avez un phénotype de neurodégénérescence que vous n'avez qu'une maladie. Vous avez pléthore de maladies.

Les progrès seront faits lorsque nous pourrons cartographier le plus tôt possible le type précis de la maladie ou le développement pathologique potentiel vers lequel on se dirige. Une fois que l'on aura une cartographie précise, on pourra calculer un risque. Il nous suffira de proposer une thérapeutique très adaptée à ce risque qui sera beaucoup plus efficace que si l'on compare inflammatoire et anti- inflammatoire en aveugle.

Le décryptage précis, c'était l'objectif du séquençage du génome, du métagénome, de l'épigénome et de tous les facteurs qui contrôlent l'expression de nos gènes et l'activité de nos protéines ou de nos enzymes. La cartographie précise nous permettra à terme d'identifier très précisément le meilleur traitement pour chaque patient. C'est également vrai pour la maladie d'Alzheimer.

Mais tant que l'on tapera au hasard, on aura atteint les limites de l'efficacité qu'est le hasard. J'aime bien prendre cette image de la logique Shadocks qui disait : «Si j'ai une chance sur un million de réussir, dépêchons-nous de rater les 999 999 premières pour

réussir la dernière.»

Il faut dire les choses comme elles sont, à part quelques traits de génie, on a émis beaucoup d'hypothèses en pensant que l'on avait la bonne et la plupart du temps, on s'est trompé.

Grâce aux technologies actuelles, nous en sommes à la capacité d'observer, de mesurer, de quantifier, de mettre dans des tableaux, de faire des approches mathématiques et de faire des groupes de patients pour des améliorations thérapeutiques. Les sociétés pharmaceutiques pourront enfin cibler les médicaments sur la cause et pas forcément sur la conséquence.

Les anti-IL-17 sont fantastiques, fonctionnent extrêmement bien sur le psoriasis. Mais a-t-on posé la question de savoir pourquoi beaucoup d'IL-17 sont sécrétés. Si on sait pourquoi, on évitera peut-être des effets collatéraux parce que l'on sera plus spécifique sur le long terme. Mais on ne le sait pas encore.

Dr Jean-Pierre DECOR.- C'est un peu l'histoire de la poule et l'œuf. En l'absence de connaissance précise de la cible moléculaire, une approche empirique a aussi son mérite à condition d'avoir un bon moyen de criblage représentatif.

Elle peut permettre de découvrir la cible à postériori avec le mode d'action du produit

L'industrie pharmaceutique a fait de nombreuses découvertes avec des modèles animaux comme outils de criblage. Aujourd'hui, elle ne fait plus de recherche sur des maladies comme la dépression parce qu'il n'y a pas de cible thérapeutique mais surtout parce qu'il n'y a pas de modèle animal

Table ronde : prévention et traitements de l'inflammation chronique

de la dépression pour cribler les molécules. Dans ma carrière, cela a été un dilemme permanent entre approche rationnelle et approche empirique. Je pense que c'est entre les deux qu'il faut évoluer le plus intelligemment possible.

Bernard BODO.- J'ai souvenir d'une conférence où l'on expliquait qu'une diminution des maladies infectieuses, entraînait de façon concomitante une augmentation des maladies auto-immunes. C'était Jean-François BACH qui nous avait présenté cela il y a quelques années.

Pr Jules HOFFMANN.- C'est l'hypothèse de trop d'hygiène. Je suis trop proche de lui... J'ai toujours cru tout ce qu'il m'a dit. L'inverse est vrai !

À un moment donné, après la guerre, il y avait la Carélie soviétique et la Carélie finlandaise. En Carélie finlandaise, l'hygiène était très soignée par rapport à la Carélie soviétique de l'époque. Les maladies auto-immunes étaient en augmentation constante en Carélie finlandaise alors que, du côté soviétique, le taux était relativement faible.

C'est un exemple, il y en a beaucoup. Si vous étiez à cette conférence, vous avez vu des tableaux de la géographie où l'on voyait que plus on est hygiénique, plus on a des risques de maladies auto-immunes.

Bernard BODO.- Concernant les peptides antimicrobiens, vous avez expliqué qu'ils ont une action membranaire. Pensez-vous que c'est une action directement sur les membranes des cellules cibles ou la déstabilisation de récepteurs d'enzymes ancrés dans la membrane ?

Pr Jules HOFFMANN.- C'est une de ces questions pour laquelle la réponse est difficile. Bien que depuis 25 ans, tous les deux ans, il y ait une grande communication sur les antimicrobiens, la communauté n'a toujours pas proposé de conclusion définitive.

La question est toujours : pourquoi les bactéries sont touchées par cela et pas les cellules eucaryotes ? On explique toujours que la charge négative des membranes d'eucaryote est différente de celles des micro-organismes.

Au-delà, je ne sais pas ce que je peux vous répondre.

Bernard BODO.- Les quantités de peptides efficaces sont infinitésimales et beaucoup plus faibles que le nombre de canaux à travers des bicouches. Cela peut expliquer qu'un très petite nombre de peptides venant s'ancrer puissent déstabiliser soit une enzyme membranaire soit un récepteur.

Certains champignons, dans leur lutte antagoniste, émettent des peptides qui sont relativement proches des nôtres. On s'est aperçu qu'il agissait à des doses très faibles. Finalement, ils inhibaient les enzymes de resynthèse de la paroi qui étaient localisés dans les membranes. Le champignon qui attaquait avait auparavant émis des enzymes lytiques des parois, ce qui fait que l'autre adversaire était K.-O.

Pr Jules HOFFMANN.- C'est très beau. Les peptides chez les insectes et la plupart des peptides que nous produisons sont actifs à des concentrations extrêmement élevées.

Table ronde : prévention et traitements de l'inflammation chronique

Nous avons calculé qu'il faut à peu près 1,5 million de molécules de diptéricine pour tuer une bactérie.

Ce n'est pas du tout le cas que vous mentionnez, qui est très beau. Il y a certainement plus de potentiel si on arrive à faire cela comme la nature l'a fait.

Dr Jean-Pierre DECOR.- Pour les peptides antimicrobiens qui sont sur notre corps, dont Jules Hoffmann nous a parlé ce matin, il y a

un message à retenir : manipuler votre gel douche avec modération, les tensioactifs qu'ils contiennent doivent certainement avoir un effet délétère sur les bi-couches lipidiques des membranes de nos bactéries...

Il y a apparemment plus de question. Nous arrivons au terme de ce colloque.

(Applaudissements)

(La séance est levée à 16 h 20)



Je tiens à remercier le panel prestigieux qui nous a apporté un bel éclairage sur cette inflammation silencieuse incontestablement à l'origine de nombreuses pathologies chroniques.

Je tiens également à remercier l'auditoire pour son assiduité et sa participation.

Enfin, mes remerciements au Collège des Bernardins pour la qualité de l'accueil.



17, rue Bourgelat
69002 Lyon - France