

Revue de Presse

1788_MOLEKULARBIOLOGIE (24739)

lundi 18 mai 2009

S O M M A I R E

lundi 18 mai 2009

24739 MOLEKULARBIOLOGIE

Ces bactéries qui font l'homme
La Recherche .- 01/05/2009

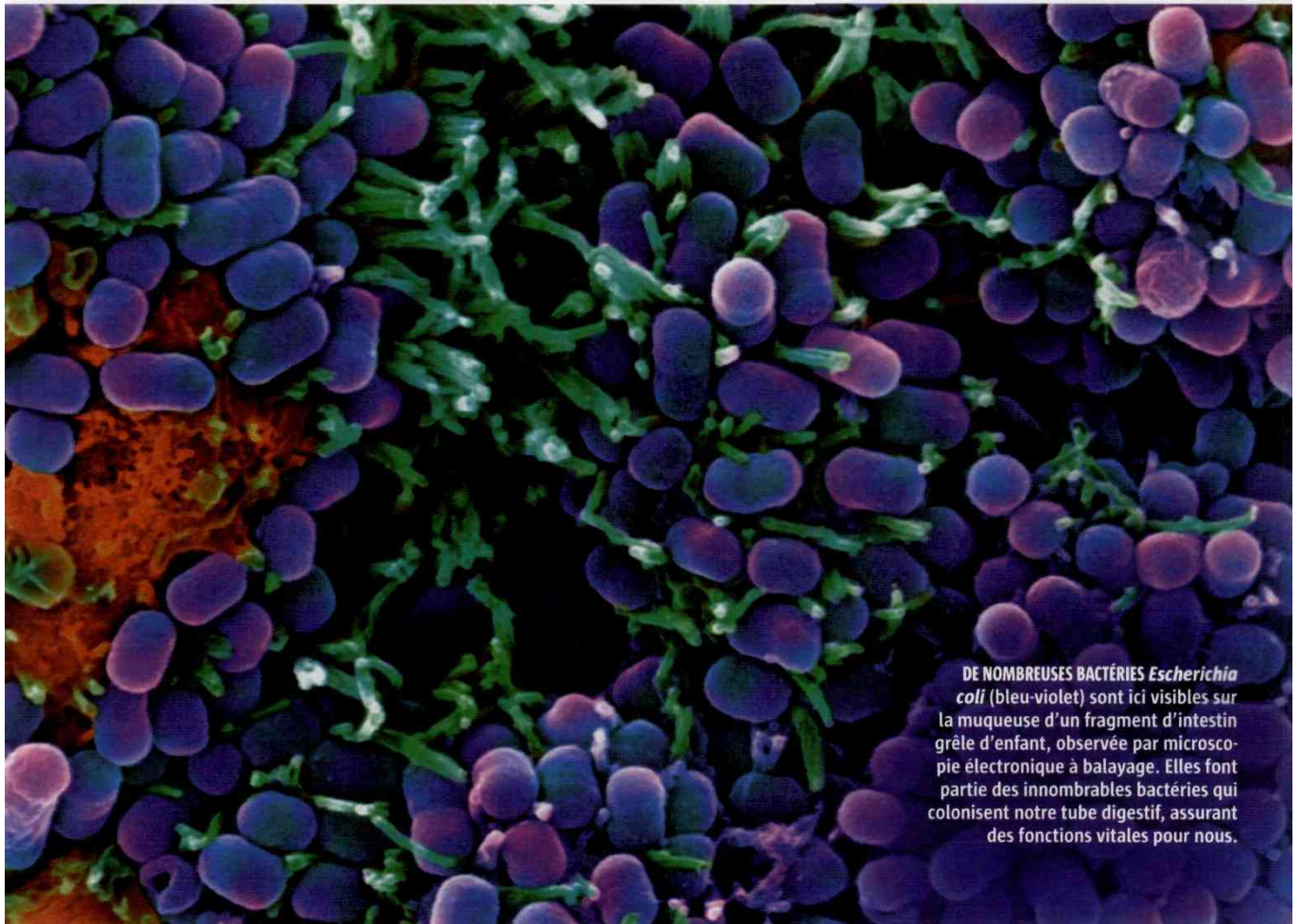
1

24739 MOLEKULARBIOLOGIE

► DOSSIER

Ces bactéries qu

Notre corps est un repaire de bactéries. Lorsque nous sommes adultes, nous en hébergeons au minimum cent mille milliards. Cette flore microbienne, notre « microbiote », forme des écosystèmes complexes sur notre peau et dans la moindre de nos cavités. Nous devons d'ailleurs nous en féliciter la plupart du temps : sans ces bactéries nous ne saurions pas réaliser nombre de fonctions essentielles. Conscients de cette importance, des biologistes dans le monde entier ont entrepris depuis l'an dernier un effort coordonné de séquençage du génome du microbiote. Et pas seulement pour le décrire : cette connaissance donnera de nouveaux moyens d'action contre des maladies, telles l'obésité ou le diabète. Les premiers résultats sont déjà là.



DE NOMBREUSES BACTÉRIES *Escherichia coli* (bleu-violet) sont ici visibles sur la muqueuse d'un fragment d'intestin grêle d'enfant, observée par microscopie électronique à balayage. Elles font partie des innombrables bactéries qui colonisent notre tube digestif, assurant des fonctions vitales pour nous.

DOSSIER PRÉPARÉ PAR CÉCILE KLINGLER ET SOPHIE COISNE

i font l'homme

■ **CONTEXTE** ■ Fin 2008, l'ambitieux « consortium international du microbiome humain » a vu le jour. Son rôle consiste à fédérer les grands programmes de recherche lancés au printemps dernier pour

mieux connaître cet « organe caché » que constituent nos bactéries. Une suite logique aux résultats préliminaires fournis par quelques recherches pionnières en ce domaine.

► Sommaire

- 1 - Notre seconde réserve de gènes
- 2 - Le corps humain à la loupe
- 3 - Des alliées contre l'obésité
- 4 - Soigner par les bactéries
- 5 - Des probiotiques au secours des prématurés

Notre seconde réserve de gènes

Comment mieux connaître les milliards de bactéries qui nous habitent et nous font vivre ? Depuis peu, les progrès de la génétique permettent d'explorer dans toute sa diversité cet écosystème jusqu'alors réfractaire aux investigations.

Cécile Klingler
est journaliste
à *La Recherche*.

Heidelberg, le 16 octobre 2008. Cette petite ville allemande, qui abrite le laboratoire européen de biologie moléculaire, voit affluer des représentants d'institutions de recherche françaises, américaines, chinoises, ou encore canadiennes ou japonaises. En toute discrétion, voilà qu'est créé le Consortium international du microbiome humain.

Rien à voir avec le rugissement médiatique qui avait entouré le lancement, il y a vingt ans, du Programme génome humain... Pourtant, l'objectif est tout aussi ambitieux que le séquençage de notre propre génome. Il s'agit de rien moins que d'explorer un autre patrimoine génétique caché dans notre organisme, celui des milliards de micro-organismes qui vivent sur et dans l'homme : le patrimoine génétique de ce que l'on nommait autrefois « flore bactérienne », et que l'on appelle aujourd'hui « microbiote ». Car en réalité, avec 10 à 100 cellules bactériennes pour une cellule humaine, l'homme est, selon l'estimation la plus basse, constitué à 90 % de bactéries. Et leur diversité est telle que, grâce à elles, nous possédons

environ cent fois plus de gènes que les 20 000 gènes de notre génome.

Le nouveau consortium va jouer un rôle fédérateur, coordonnant les grands programmes d'exploration du microbiote que différentes instances ont engagés courant 2008. Fer de lance de ces recherches, l'Europe a grillé la politesse aux Instituts nationaux de la santé américains, les NIH. C'est en avril 2008 qu'elle a officiellement lancé le projet MetaHIT, coordonné par Dusko Ehrlich, de l'unité génétique microbienne de l'INRA. Les NIH ont annoncé le lancement de leur propre projet, le Human Microbiome Project, un mois plus tard.

Tube digestif

Sous l'égide du consortium, ces deux projets poursuivent des objectifs à la fois communs et différents. Le Human Microbiome Project, ou HMP, ambitionne de séquencer le génome de toutes les bactéries du corps humain, qu'elles colonisent la peau, le tube digestif, le nez, ou encore le vagin. Libre ensuite aux équipes désireuses d'étudier le fonctionnement de ces bactéries de puiser dans la base de données génétiques ainsi élaborée. Le projet MetaHIT, lui, a une approche qui ⇨

DOSSIER • I

[1] A. Suau et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 4799, 1999.

[2] P.B. Eckburg et al., *Science*, 308, 1635, 2005.

⇒ s'intéresse d'emblée à la fonction du microbiote. Il concentre ses efforts sur le tube digestif, avec un objectif bien défini: comparer le microbiote de personnes saines avec celui de personnes obèses ou atteintes d'une maladie chronique inflammatoire intestinale, pour mieux comprendre son rôle dans ces maladies. Pourquoi privilégier le microbiote intestinal? Parce qu'il est le principal composant du microbiote humain. Notre tube digestif renferme, à lui seul, près de 1 kilogramme de bactéries, avec un maximum au niveau du côlon: 100 milliards de bactéries par gramme de selles! Qui plus est, ce microbiote assume des fonctions dont on commence à entrevoir l'importance, par exemple pour notre nutrition ou notre système immunitaire, et cela justifie qu'on le considère comme un organe à part entière (lire « Quelques grandes fonctions du microbiote intestinal », p. 33).

Oxygène fatal

Malheureusement, quiconque souhaite l'étudier par des méthodes de microbiologie classique se heurte à un problème de taille: la plupart des bactéries qui le composent sont réfractaires à la mise en culture. Ce constat ne date pas d'hier. Dès le début du XX^e siècle, les microbiologistes observant des selles au microscope avaient constaté qu'à peine exposées au milieu extérieur, la plupart des bactéries présentes mouraient – l'oxygène leur était fatal. Certes, depuis cette époque, des systèmes de culture anaérobies de plus en plus perfectionnés ont été mis au point. Mais cela n'a pas suffi: « Nous savions que nous n'accédions toujours qu'à une fraction modeste de l'ensemble, explique Joël Doré, directeur adjoint de l'unité écologie et physiologie du système digestif à l'INRA. Heureusement,



CETTE ANIMALERIE de l'unité d'écologie et de physiologie du système digestif, à l'INRA de Jouy-en-Josas, est très particulière: elle abrite des animaux dits axéniques, nés et élevés en milieu stérile et donc dépourvus de microbiote.

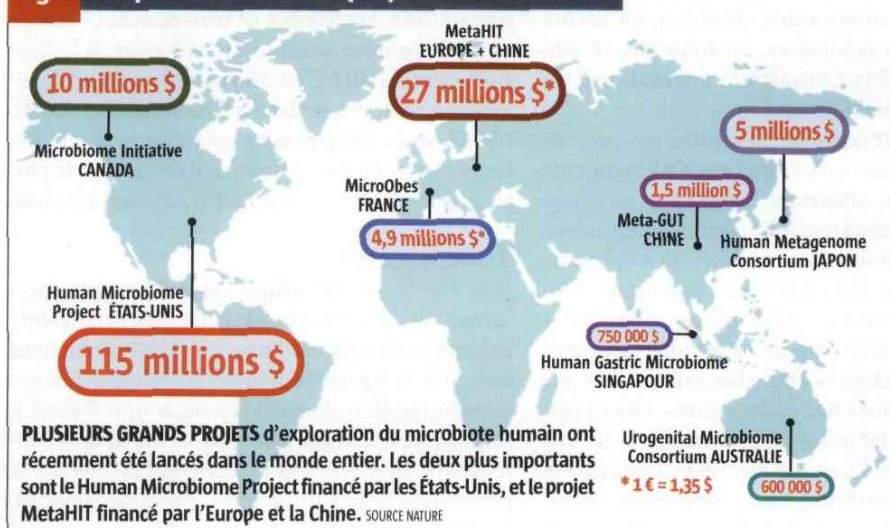
depuis dix ans, les outils génomiques viennent changer la donne. Grâce à eux, on peut étudier tant la diversité que le fonctionnement du microbiote.»

Concernant la diversité, l'équipe de Joël Doré est l'une des deux premières au monde à avoir utilisé, pour l'analyser, un outil appelé ARN16S. Il s'agit d'un ARN constitutif des ribosomes, les usines de synthèse des protéines. Il présente un double intérêt: la séquence du gène qui le code est à la fois suffisamment différente d'une espèce à une autre pour que l'on puisse distinguer ces dernières, et suffisamment proche pour que l'on puisse établir leur degré de parenté.

La découverte de cette particularité par l'Américain Carl Woese, en 1977, a rendu l'utilisation de l'ARN16S incontournable en phylogénie, pour préciser les liens de parenté entre des organismes en général bien connus par ailleurs. Mais son utilisation pour décrypter des écosystèmes en partie constitués d'organismes inconnus est récente, car techniquement complexe. Elle date du milieu des années 1990, avec par exemple l'analyse des bactéries de sédiments marins, de sources chaudes, et de sols.

En 1999, donc, l'équipe de Joël Doré, associée à des chercheurs de l'université de Reading, au Royaume-Uni, analyse par cette méthode des échantillons de selles d'un homme adulte. Ils repèrent 82 espèces, dont 24 %

Fig.1 La prolifération des projets de recherche



seulement étaient connues auparavant [1]. « Cela nous a permis de chiffrer l'étendue de notre ignorance », plaisante le chercheur. En 2005, l'équipe de David Relman, à l'université Stanford, étudie quant à elle le microbiote de trois personnes à différents niveaux du côlon, à partir d'échantillons prélevés lors d'une coloscopie. Résultat: sur les 395 espèces bactériennes mises en évidence, 80 % ne correspondent à aucune espèce cultivée [2].

De plus, cette deuxième étude révèle que toutes ces bactéries appartiennent en majorité à seulement quatre grands embranchements bactériens, alors qu'on en connaît cinquante sur la planète. Quatre, c'est très peu.

À ce niveau taxonomique, tous les humains se ressemblent donc. En revanche, pour peu que l'on descende au niveau des espèces et des souches, on s'aperçoit que chaque individu est unique. Cela soulève la question de savoir s'il existe un « tronc commun » d'espèces présent chez tout un chacun (lire « Nous partageons peu de bactéries », p. 34).

D'ici quelques années, lorsque les séquences d'ARN16S se seront suffisamment accumulées dans les banques de données du Consortium, il sera sans aucun doute possible de répondre à cette question. En revanche, aussi précieux que soit l'ARN16S pour analyser la diversité du microbiote, il ne donne aucune information sur le fonctionnement de ce dernier. On sait que les bactéries qui le composent interagissent entre elles et avec les cellules humaines. Mais comment ?

C'est la deuxième grande question à laquelle MetaHit et le Human Microbiome Project doivent répondre. De ce point de vue, on attend beaucoup de l'analyse des gènes bactériens à grande échelle. Car la comparaison de ces gènes avec ceux déjà répertoriés dans les banques de données, et dont on connaît la fonction, donne des indications sur le fonctionnement des bactéries.

Quelques exemples isolés l'ont déjà montré, cette démarche est fructueuse. D'abord, l'analyse du

génomique permet de mieux connaître les bactéries cultivables, même celles dont on pouvait estimer qu'elles étaient déjà bien connues. L'exemple de *Bacteroides thetaiotaomicron* en témoigne. Il s'agit d'une bactérie présente en abondance dans l'intestin et le côlon de l'homme et la souris. Comme elle est plutôt facile à cultiver, on a assez vite découvert qu'elle dégrade les polysaccharides des plantes, ce que les cellules intestinales sont, elles, incapables de faire. Cette capacité métabolique fait de *Bacteroides thetaiotaomicron* un fournisseur d'énergie pour son hôte.

D'autres expériences, menées avec des souris dites « axéniques », ont ensuite montré que son rôle ne se résumait pas à cela. Les souris axéniques sont des souris dépourvues de microbiote car on les fait naître en milieu stérile. En les mettant

en contact avec telle ou telle bactérie, on peut alors étudier l'effet de ces dernières. En 2002, Jeffrey Gordon et ses collaborateurs de l'université Washington à Saint-Louis, dans le Missouri, ont procédé ainsi avec *Bacteroides thetaiotaomicron*. Ils ont alors montré que cette bactérie contribue à la bonne vascularisation de la muqueuse intestinale après la naissance [3].

Mais l'équipe américaine ne s'est pas arrêtée là. En 2003, elle s'est lancée dans le séquençage du génome de la bactérie. L'analyse des gènes ainsi mis en évidence a alors révélé à Jeffrey Gordon que les capacités métaboliques de *Bacteroides thetaiotaomicron*, et en particulier ses capacités de digestion enzymatique, étaient beaucoup plus étendues que celles découvertes jusque-là [4].

Séquençage intensif

C'est précisément pour accroître ce type de connaissances que le HMP et MetaHIT incluent le séquençage de bactéries déjà connues car cultivées: 900 génomes pour le HMP (toutes parties du corps confondues), 100 génomes pour MetaHIT (tube digestif uniquement). « Nous avons choisi les 30 premières espèces ⇨

[3] T.S. Stappenbeck et al., *PNAS*, 99, 15451, 2002.

[4] Xu et al., *Science*, 299, 2074, 2003.

Chaque personne possède sa propre « carte d'identité » bactérienne

PHYSIOLOGIE Quelques grandes fonctions du microbiote intestinal

■ LA DÉGRADATION DE COMPOSÉS D'ORIGINE ALIMENTAIRE

Le microbiote du gros intestin fermente les aliments comme les fibres végétales, qui ne sont pas digérés dans l'intestin grêle. Ces réactions de fermentation libèrent des acides gras dont certains servent de nutriments à l'hôte – ou sont stockés dans les graisses.

■ LE DÉVELOPPEMENT DU TUBE DIGESTIF

En l'absence de microbiote, la paroi du tube digestif ne se développe pas correctement. Par exemple, la muqueuse intestinale est plus fine. De plus, le réseau sanguin qui irrigue la muqueuse est moins dense. Le microbiote intervient également dans la vitesse de renouvellement de l'épithélium du côlon chez l'adulte.

■ LA DÉFENSE IMMUNITAIRE

La stimulation permanente par le microbiote du système immunitaire est nécessaire au bon développement et à la maturation de ce dernier, ainsi qu'à l'équilibre entre les réactions pro et anti-inflammatoires, et à la fonction de barrière de l'épithélium vis-à-vis d'agents infectieux.

DOSSIER • I

[5] P.J. Turnbaugh et al., *Nature*, 444, 1027, 2006.

⇒ *cultivables dont nous voulons séquencer le génome complet, et nous avons mené cette tâche à bien pour déjà six d'entre elles, au Sanger Institute de Grande-Bretagne, l'un des partenaires de MetaHIT*», annonce Dusko Ehrlich, coordinateur du projet.

Quant aux bactéries non cultivables, le séquençage n'est pas un moyen complémentaire permettant de mieux les connaître: c'est le seul! «*Pour appréhender leur fonctionnement, explique Dusko Ehrlich, nous adoptons une démarche de métagénomique: cela consiste à séquencer globalement l'ADN d'un échantillon et à déterminer l'ensemble des gènes qui s'y trouvent.*» Sans se soucier de savoir quelles sont les espèces bactériennes présentes dans ledit échantillon.

Fonctions révélées

MetaHIT ambitionne de séquencer ainsi l'équivalent de 1 000 génomes bactériens, à partir d'individus en bonne santé d'une part, et d'individus obèses ou touchés par une maladie inflammatoire du côlon, d'autre part. De la comparaison on attend des avancées notables sur l'implication du microbiote dans la pathologie considérée, sur le modèle de ce qu'a montré l'équipe de Jeffrey Gordon en 2006, chez la souris [5]. En comparant les gènes du microbiote de souris génétiquement obèses et de souris normales, les biologistes américains ont en effet constaté que le microbiote des souris obèses était plus apte à transformer les polysaccharides en un certain type d'acides gras qui, une fois absorbés par l'hôte, sont stockés sous forme

de lipides complexes dans le tissu adipeux (lire «*Des alliées contre l'obésité*», p. 36).

Cela dit, une telle démarche comparative ne tient que lorsqu'on connaît globalement la fonction des gènes repérés. Or, dans le microbiote, il en est beaucoup dont on ignore complètement quelles protéines ils codent. Heureusement, une facette de la métagénomique permet d'y avoir accès: la métagénomique fonctionnelle. Le principe est de transférer, dans une bactérie très bien connue (par exemple *Escherichia coli*), un fragment d'ADN du microbiote contenant un gène dont on ignore la fonction. Et l'on regarde ensuite comment la bactérie se comporte.

Supposons par exemple que l'on mette cette *Escherichia coli* modifiée en contact avec des cellules intestinales humaines. Va-t-elle interagir avec ces dernières de la même façon que des *Escherichia coli* non modifiées? Ou pas? Si changement il y a, on peut en déduire qu'il provient du gène de fonction inconnue «*Pour moi, il s'agit là d'une porte d'accès à la connaissance extrêmement importante, et il est heureux que MetaHIT, contrairement au Human Microbiome Project, inclut ce type d'approche*», s'enthousiasme Joël Doré. On l'aura compris, la complémentarité des grands programmes leur donne toute leur force, même si leur coordination n'exclut pas une certaine compétition. MetaHIT est prévu sur quatre ans, le Human Microbiome Project sur cinq ans: rendez-vous en 2012 pour un bilan complet. ■ C. K.

ENTRETIEN

« Nous partageons peu de bactéries »



GÉRARD CORTTHIER dirige l'unité «*écologie et physiologie du système digestif*», à l'INRA de Jouy-en-Josas.

Le microbiote intestinal des humains est-il différent de celui des autres mammifères?

Oui, car la majorité des bactéries de notre tube digestif appartiennent à trois embranchements, les *Firmicutes*, les *Bacteroidetes* et les *Actinobacteria*. Or, ce n'est pas le cas chez la souris ou chez les animaux domestiques tels que la chèvre, le mouton ou la vache, que nous étudions à l'INRA, et chez qui les *Lactobacillus* sont dominants.

Y a-t-il un «tronc commun» d'espèces présent chez chacun d'entre nous?

Il faudra attendre les résultats des pro-

grammes tels que MetaHIT pour avoir des certitudes. Néanmoins, des données préliminaires obtenues sur un échantillon de 20 personnes indiquent deux choses. D'abord que 80 % des espèces présentes chez un individu donné lui sont propres. Chaque personne présente donc une singularité forte. Mais aussi que 30 % de l'ensemble des bactéries est représenté chez 60 % des individus. Autrement dit, il n'existe pas d'espèces qui soient présentes chez tous les individus, mais il en existe plusieurs qui sont présentes chez une majorité d'individus. Donc, oui, il semble bien qu'il y ait un petit tronc commun. Cela dit, parler de différences ou de similarités d'espèces ne doit pas faire oublier qu'il existe une redondance fonctionnelle forte entre toutes ces bactéries, puisque le microbiote de chacun

d'entre nous accomplit *grosso modo* les mêmes fonctions.

La composition du microbiote varie-t-elle selon les pays par exemple?

L'étude Infabio, menée chez des nourrissons de 6 semaines en Suède, en Espagne et en France, a montré des différences significatives entre ces pays. À cet âge-là, la variabilité géographique est plus grande que la variabilité entre individus. En revanche, chez les adultes, la variabilité entre individus est supérieure à la variabilité géographique. On pense que l'identité du microbiote est intimement liée à l'histoire personnelle de chacun. Au point que deux conjoints ayant soixante ans de vie commune ont, statistiquement, un microbiote aussi différent que deux personnes ne s'étant jamais côtoyées! ■ **Propos recueillis par C. K.**