

*Fungal microbiota
and Inflammatory
Bowel Diseases*

Mathias L. Richard¹
Harry Sokol^{1,2}

¹ Micalis Institute,
INRA, AgroParisTech,
université Paris-Saclay,
Jouy-en-Josas

² Sorbonne Université, Inserm,
Centre de Recherche Saint-Antoine,
CRSA,
AP-HP, Hôpital Saint Antoine,
Service de gastroenterologie,
F-75012 Paris, France

@ Correspondance : H. Sokol
harry.sokol@aphp.fr

Le microbiote fongique et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

La pathogenèse des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) est multifactorielle, impliquant notamment la génétique et l'environnement. Un des aspects aujourd'hui intensivement analysés pour comprendre l'apparition et le développement des MICI est l'étude de la population microbienne (microbiote) colonisant le tractus digestif des patients ; et notamment des déséquilibres au sein de ce microbiote (dysbiose).

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe où coexistent, en plus de la population bactérienne largement majoritaire, des virus, des bactériophages et des cellules eucaryotes dont des champignons. Les équilibres entre ces sous-populations sont très peu étudiés et on ne connaît donc pas aujourd'hui les conséquences que pourraient avoir leur rupture sur l'homéostasie intestinale. L'importance de l'équilibre entre des populations bactériennes pro- et anti-inflammatoires au sein du microbiote a été clairement mise en évidence [1]. Une fois cette homéostasie rompue, les conséquences sur le tractus gastro-intestinal (TGI) sont diverses et peuvent notamment conduire à une réponse immunitaire exacerbée et à une inflammation intestinale ou extra-intestinale. Ces phénomènes sont ainsi observés dans les MICI comme la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH), mais aussi possiblement dans des maladies dysimmunitaires extra-intestinales comme la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante, la sclérose en plaques ou le diabète de type 1 [2].

Ainsi, si une population microbienne spécifique est altérée, l'équilibre est rompu et le microbiote tend à évoluer vers un autre état de stabilité, des populations minoritaires peuvent prendre le dessus, influençant fortement l'homéostasie intestinale. Ces phénomènes ont déjà été relativement bien décrits au sein de la population procaryote (bactérienne), mais les conséquences d'une dysbiose sur la population des micro-organismes eucaryotes (particulièrement les champignons) ont été négligées alors qu'elles pourraient s'avérer tout aussi importantes.

// Les conséquences d'une dysbiose sur la population des micro-organismes eucaryotes (particulièrement les champignons) ont été négligées alors qu'elles pourraient s'avérer tout aussi importantes //

Les premières données suggérant l'influence des champignons ou à minima de l'existence de modifications du microbiote fongique lors des MICI datent de la fin des années 1990 quand il a été observé que chez des patients atteints de MC, le taux sérique d'anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) était plus élevé que chez des sujets sains. Ainsi, des analyses sérologiques montrent que les taux d'ASCA positifs peuvent atteindre plus de 60 % chez les patients atteints de MC et seulement 8-10 % chez des sujets sains ou chez les patients atteints

Pour citer cet article : Richard ML, Sokol H. Le microbiote fongique et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Hépatogastro et Oncologie Digestive 2019 ; 26 : 11-14. doi : 10.1684/hpg.2018.1720

de RCH, ce qui en a fait d'ailleurs un outil de diagnostic différentiel entre MC et RCH (avec l'utilisation des anticorps anti-cytoplastes des polynucléaires – ANCA). Ensuite, une autre observation convaincante d'une action possible des champignons sur l'homéostasie intestinale est l'effet reconnu empiriquement puis caractérisé scientifiquement de la levure *Saccharomyces boulardii* sur l'inflammation et la phase de récupération [3]. Diverses études indépendantes menées *in vitro* et *in vivo* chez l'animal ont montré comment cette levure pouvait modifier la cicatrisation de l'épithélium, la circulation de cellules immunitaires, la production d'interleukines dans un processus aux effets globalement anti-inflammatoires [3]. Les molécules responsables de ces effets de *S. boulardii* sur l'hôte n'ont pas été identifiées à ce jour et, malheureusement, les essais cliniques chez les patients atteints de MICI n'ont pour l'instant pas été convaincants. On peut ajouter qu'un autre champignon (commensal – pathogène opportuniste) *Candida albicans* a lui, en modèles murins, des effets pro-inflammatoires et que cette même inflammation favorise son développement, créant ainsi un cercle vicieux [3]. Toutes ces données suggèrent qu'à titre individuel les champignons peuvent agir sur l'homéostasie intestinale. Qu'en est-il si l'on s'intéresse plus globalement à la population fongique ?

■ ■ Plusieurs champignons ont montré une influence sur l'inflammation intestinale ■ ■

Les recherches sur la diversité et les fonctions possibles de la population fongique dans le TGI se sont diversifiées, ce qui permet d'avancer des réponses à cette question. Deux types d'approches ont été menées : (i) des approches descriptives profitant du bond en avant technique effectué ces dix dernières années permettant la description de microbiotes complexes ; (ii) des approches plus fonctionnelles visant à comprendre le rôle de l'immunité dans les interactions avec le microbiote fongique. Concernant cette dernière approche, deux travaux publiés récemment décrivent l'implication de deux composants de la même voie de signalisation du système immunitaire inné : Dectin1 (ou *C-type lectin domain family 7 – CLEC7A*) et la *Caspase recruitment domain-containing protein 9* (CARD9). Dectin1 est un récepteur reconnaissant les sucres de la paroi des champignons et Card9 intègre les signaux de différents récepteurs dont Dectin1 pour l'activation de la réponse Th1 et Th17 permettant la riposte à une agression extérieure, particulièrement fongique. Or, dans ces deux études qui s'intéressent au phénotype de souris invalidées (KO) pour Dectin1 ou Card9, il a été observé un microbiote fécal perturbé avec notamment une augmentation de la charge fongique. L'expérience montre dans ces deux modèles que dans ces conditions la susceptibilité à l'inflammation chimiquement induite (au *dextran sodium sulfate* – DSS) est augmentée et, de manière encore plus intéressante, qu'un traitement antifongique permet une réduction de l'hypersensibilité à l'inflammation induite par le DSS [4, 5]. Ces effets sont néanmoins complexes car une troisième étude suggère que les effets observés dépendent du microbiote fongique présent à l'état basal chez les souris. Ainsi, le phénotype varie en fonction de la présence ou de l'absence de champignons pathogènes opportunistes [6]. Enfin, l'effet délétère des anticorps anti-IL17 (séculinumab) dans la MC [7] suggère également un rôle potentiel du microbiote fongique car cette cytokine est l'une des plus importantes dans la réponse immune aux champignons.

■ ■ À l'instar des bactéries, les champignons interagissent fortement avec le système immunitaire ■ ■

Sans réduire l'inflammation à la seule action des champignons, ces résultats suggèrent que ceux-ci, au même titre que les bactéries, ont un rôle dans le

développement de l'inflammation, directement ou indirectement, via les bactéries ou leurs effets sur les cellules de l'hôte.

La combinaison de l'apport des technologies de séquençages avec l'augmentation des banques d'échantillons récoltées de cohortes de patients atteints de MICI a permis non seulement de décrire avec de plus en plus de précision la population microbienne (bactéries comme champignons) dans diverses niches du corps humain, mais aussi de les corrélérer avec des données de physiopathologie. On peut illustrer cela avec deux publications très récentes de notre groupe caractérisant le microbiote bactérien et fongique chez des patients atteints d'une MICI.

Une première étude s'est intéressée au microbiote associé à la muqueuse intestinale chez des patients atteints de la MC [8]. Techniquement, il a fallu extraire l'ADN microbien associé aux biopsies, permettant ainsi d'accéder à la population des micro-organismes associée à la muqueuse. Les populations bactériennes et fongiques ont été suivies grâce à l'analyse des séquences 16S pour les bactéries et ITS2 pour les champignons. L'échantillonnage de patients même de taille réduite (23 atteints de la MC et 10 sujets sains) a permis de montrer qu'il y avait un déséquilibre de la population associée aux muqueuses chez les patients atteints de la MC comparativement aux sujets sains, pour les bactéries comme pour les champignons. On observait en particulier une baisse du phylum des *Ascomycetes* au profit des *Basidiomycetes* (les deux groupes principaux de champignons du microbiote intestinal) chez les patients. Il est à noter qu'en dépit d'une augmentation significative de la charge fongique dans les muqueuses entre sujets sains et patients en phase d'inflammation, il n'y avait pas de grande différence de diversité. Une étude plus approfondie a permis de mettre en évidence par des analyses statistiques que certains genres étaient plus souvent associés à la MC : *Candida glabrata*, *Malassezia globosa* et des *Cystofilobasidiales*. De manière très intéressante, chez des patients en phase aiguë d'inflammation, entre zone enflammée et zone non enflammée, des différences de population fongique étaient visibles, ce qui n'était pas le cas pour le microbiote bactérien, suggérant des modifications plus fines du microbiote fongique en fonction des conditions environnementales.

À partir de la cohorte de patients de l'hôpital Saint-Antoine, nous avons réalisé récemment la première étude à grande échelle du microbiote fongique par séquençage haut débit de fèces de patients atteints de MICI [9]. 235 patients ont ainsi été intégrés dans cette étude, accompagnés de 38 sujets sains. L'extraction d'ADN des fèces a fourni une masse inégalée jusqu'ici de données pour l'analyse de la diversité des microbiotes portés par ces sujets. Il a ainsi été montré pour la première fois que l'équilibre entre les souches de champignons chez les sujets sains était perturbé chez des patients atteints de MICI. Comme pour les bactéries, une population (les *Ascomycetes*) était réduite au profil d'une autre (les *Basidiomycetes*), ce qui est un résultat d'ailleurs identique à celui observé chez les populations associées aux muqueuses chez les patients atteints de MC. En ciblant différents champignons modèles dans ces échantillons, il a été observé que, globalement, la levure *S. cerevisiae* était en quantité plus réduite chez les patients atteints de MICI, et qu'au contraire, la concentration de *C. albicans* était augmentée. Une analyse plus fine au sein des MICI a montré que le microbiote fongique est relativement différent entre MC et RCH : chez les patients atteints de RCH, la diversité fongique baisse fortement alors qu'elle est quasiment stable chez les patients atteints de MC. Une analyse par corrélation suggère que les interactions entre bactéries et champignons sont réduites au cours de la MC alors qu'elles sont plutôt augmentées au cours de la RCH. Dans une étude récente ciblant ces interactions entre bactéries et champignons dans l'inflammation intestinale, nous avons pu montrer que les *Enterobacteriaceae* (une famille de bactéries comprenant notamment *Escherichia coli*) jouaient un rôle majeur dans les effets pro- ou anti-inflammatoires des champignons dans l'intestin [10]. Ces

résultats s'ajoutent à d'autres données soulignant le rôle crucial que peuvent jouer ces interactions inter-règnes, et ouvrent un pan majeur de recherche dans l'étude du microbiote intestinal.

Ces données apportent des résultats originaux confirmant le rôle potentiel des champignons dans l'écosystème complexe qu'est le microbiote intestinal et potentiellement dans la pathogenèse des MICI. La composante fongique doit donc être prise en compte dans les travaux sur le microbiote. Ainsi, on peut imaginer qu'à côté du microbiote bactérien le microbiote fongique pourrait devenir une cible thérapeutique dans les MICI.

■ ■ L'équilibre du microbiote fongique chez les patients atteints de MICI est perturbé ■ ■

Liens d'intérêts :

les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec l'article.

Références

Les références importantes apparaissent en gras.

- 1 • Sokol H, Seksik P. The intestinal microbiota in inflammatory bowel diseases: time to connect with the host. *Curr Opin Gastroenterol* 2010 ; 26 : 327-31.
- 2 • Ochoa-Reparaz J, Mielcarz DW, Ditrio LE, *et al.* Role of gut commensal microflora in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2009 ; 183 : 6041-50.
- 3 • Richard ML, Lamas B, Liguori G, *et al.* Gut fungal microbiota: the Yin and Yang of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2015 ; 21 : 656-65.
- 4 • Iliev ID, Funari VA, Taylor KD, *et al.* Interactions between commensal fungi and the C-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis. *Science* 2012 ; 336 : 1314-7.
- 5 • Sokol H, Conway KL, Zhang M, *et al.* Card9 mediates intestinal epithelial cell restitution, T-helper 17 responses, and control of bacterial infection in mice. *Gastroenterology* 2013 ; 145 : 591-601.
- 6 • Tang C, Kamiya T, Liu Y, *et al.* Inhibition of Dectin-1 Signaling Ameliorates Colitis by Inducing Lactobacillus-Mediated Regulatory T Cell Expansion in the Intestine. *Cell Host Microbe* 2015 ; 18 : 183-97.
- 7 • Hueber W, Sands BE, Lewitzky S, *et al.* Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *Gut* 2012 ; 61 : 1693-700.
- 8 • Liguori G, Lamas B, Richard ML, *et al.* Fungal Dysbiosis in Mucosa-associated Microbiota of Crohn's Disease Patients. *J Crohn's Colitis* 2016 ; 10 : 296-305.
- 9 • Sokol, H. Leducq V, Aschard H, *et al.* Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut* 2017 ; 66 ; 1039-1048.
- 10 • Sovran, B. Planchais J, Jegou S, *et al.* Enterobacteriaceae are essential for the modulation of colitis severity by fungi. *Microbiome* 2018 ; 6 : 152.