



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

Modulation du microbiote intestinal en vue de l'amélioration de la chimiothérapie et de l'immunothérapie anticancéreuses

Préparé par : SMIRA Amel et BRADAI Nesrine

Le : 23 /09/2021

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Pr ZERIZER Sakina (Professeur- UFM Constantine 1).

Encadrante : Dr BOUBEKRI Karima (MCA- UFM Constantine 1).

Examineur : Pr HADDI Mohamed Laid (Professeur- UFM Constantine 1).

Année universitaire
2020- 2021

ميكروبيوتا الأمعاء هو نظام بيئي معقد يتكون من مجموعة من الكائنات الدقيقة الموجودة في الجهاز الهضمي. تطورها المشترك مع مضيفها يخلق علاقات متبادلة المنفعة. هذا التعايش ضروري للبشر لأنه يمارس وظائف بيولوجية مهمة. أظهرت الدراسات القائمة على التقنيات المبتكرة للبيولوجيا الجزيئية والتجارب على الفئران في الجسم الحي، كيف تساهم بكتيريا معينة في تطور السرطانات، وأن العلاجات المضادة للسرطان يمكن أن تخل بتوازن الجراثيم المعوية. تلعب الكائنات الدقيقة دورًا رئيسيًا في التأثير على فعالية أدوية العلاج الكيميائي وتحملها، على سبيل المثال السيكلوفوسفاميد، والتي يتم تعديلها بواسطة لاكتو باسيلوس جونسوني و اونتروكوكوس هيري. فيما يتعلق بالعلاج المناعي تعمل بيفيدوبكتيريوم على تحسين فعالية مضادات بروتين موت الخلية المبرمج 1، أما بكتروبيدس فراجيليس و بورخولديريا تتفاعل مع مضادات البروتين 4 المرتبط بالخلايا للمفاوية التائية السامة للخلايا.

كل هذا سيؤدي إلى النظر في الطب الشخصي ويمهد الطريق لتطوير الاونكوميكروبيوتا لاسترجاع توازن البكتيريا المعوية وتزويد المرضى بنوعية حياة أفضل طوال فترة العلاج من السرطان.

الكلمات المفتاحية : ميكروبيوتا الأمعاء، السرطان، التسرطن، سيكلوفوسفاميد العلاج الكيميائي، العلاج المناعي، مضادات CTLA4 ، تايمر.

Abstract

The gut microbiota is a complex ecosystem made up of a collection of microorganisms, present in the gastrointestinal tract. Its co-evolution with its host creates mutually beneficial relationships. This symbiosis is essential for humans because they exercise important biological functions. Studies based on innovative techniques of molecular biology and experiments on mice *in vivo*, showed that some bacteria contribute to the development of cancers and those anticancer treatments can disrupt the balance of the intestinal microbiota. The microbiota plays a key role in influencing the efficacy and tolerance of chemotherapy drugs, for example Cyclophosphamide, which is modulated by *Lactobacillus johnsonii* and *Enterococcus shirae*. Regarding immunotherapy, *Bifidobacterium* spp improves the efficacy of anti-programmed cell death protein 1/ programmed death-ligand 1, *Bacteroides fragilis* and *Burkholderia cepacia* interact with anti-cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4. This will lead to a consideration of personalized medicine and pave the way for the development of oncomicrobiotics to correct dysbiosis and provide patients with a better quality of life throughout cancer therapy.

Key words: Gut microbiota, dysbiosis, cancer, carcinogenesis, cyclophosphamide, chemotherapy, immunotherapies, anti-CTLA4 antibodies, TIMER

Résumé

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe composé d'un ensemble de microorganismes, présents dans le tractus gastro-intestinal. Sa co-évolution avec son hôte crée des relations bénéfiques mutuelles. Cette symbiose est indispensable pour l'homme, car il exerce d'importantes fonctions biologiques. Des études basées sur les techniques innovantes de la biologie moléculaire et des expériences sur des souris *in vivo*, ont su démontrer comment certaines bactéries contribuent à l'évolution des cancers, et que les traitements anticancéreux peuvent perturber l'équilibre du microbiote intestinal. Le microbiote joue un rôle primordial dans l'influence de l'efficacité et la tolérance des médicaments chimiothérapeutiques. Le Cyclophosphamide, par exemple, est modulé par *Lactobacillus johnsonii* et *Enterococcus hirae*. Concernant l'immunothérapie, les *Bifidobacterium* spp améliorent l'efficacité des anti-programmed cell death protein 1/ programmed death-ligand 1, *Bacteroides fragilis* et *Burkholderia cepacia* interagissent avec l'anti-cytotoxique T-lymphocyte-associated protein 4. Cela conduira à une réflexion sur la médecine personnalisée et ouvrir la voie au développement d'oncomicrobiotiques pour corriger la dysbiose et assurer aux patients une meilleure qualité de vie tout au long des thérapies anticancéreuses.

Mots clés : Microbiote intestinal, dysbiose, cancer, carcinogénèse, chimiothérapie cyclophosphamide, immunothérapies, anticorps anti-CTLA4, TIMER.

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à manifester notre louange à Dieu de nous avoir donné la volonté et la santé pour pouvoir achever ce travail, veuillez-t-Il nous guider toujours dans le droit chemin

*Nous tenons à adresser nos très vifs remerciements à notre enseignante, **Dr BOUBEKRI Karima** pour sa participation, ses performances remarquables et exceptionnelles durant notre cursus de formation.*

*Nous tenons à exprimer nos vives reconnaissances toujours au **Dr BOUBEKRI Karima** pour tous les efforts, les compétences, l'aide précieuse, l'accompagnement et surtout pour avoir accepté de nous encadrer pour la réalisation de ce travail de recherche.*

*Nous adressons nos remerciements à notre chef de département **Dr. ABDELAZZIZ WIDED** pour nous avoir créé les conditions favorables durant notre formation.*

Nous exprimons nos profondes gratitude à tous les enseignants de la filière de la microbiologie qui ont participé à notre formation ainsi que tout le personnel du département et de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Frères Mentouri Constantine I

*Nous terminons ces remerciements en saluant vivement les membres du jury **Pr ZERIZER Sakina** et **Pr HADDI Mohamed Laid** pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de juger ce travail*

Table des matières

ملخص.....	iii
Abstract.....	ii
Résumé.....	iii
<i>Remerciements</i>	iv
Table des matières	v
Liste des abréviations.....	viii
Liste des figures	xi
Introduction.....	1
Chapitre I: Le microbiote intestinal.....	3
1- Microbiote intestinal, définition	3
2- Composition	3
3- Mise en place	6
4- Exploration du microbiote	9
4-1- La culture bactérienne	9
4-2- La métagénomique	10
5- Fonctions du microbiote intestinal	11
5-1- Effet barrière et fonctions immunitaires	11
5-2- Fonctions métaboliques.....	11
5-2-1- Métabolisme des glucides	11
5-2-2- Métabolisme des gaz.....	12
5-2-3- Métabolisme des protéines.....	12
5-2-4- Métabolisme des lipides.....	12
5-3- Synthèse de facteurs vitaminiques	13
Chapitre II: Microbiote et cancer	14
1- Physiopathologie microbiote et cancer.....	14
1-1- Microbiote, source de signaux d'activation de la prolifération épithéliale aberrante.....	14
1-2- Sénescence cellulaire induite par le microbiote	16
1-3- Le microbiote et la modulation de la prolifération tissulaire et la tumorigénèse.....	17
1-4- Interaction entre microbiote et système immunitaire de l'hôte.....	18
1-5- Capacité du microbiote à induire des lésions de l'ADN et une instabilité génomique.....	18
1-6- Processus d'angiogenèse	21
Chapitre III: Chimiothérapie et immunothérapie anticancéreuses.....	23

1-La chimiothérapie	23
1-1-Présentation générale	23
1-2- Principes généraux des médicaments anticancéreux cytotoxiques	23
1-3 Principales classes thérapeutiques des médicaments anticancéreux cytotoxiques	24
1-3-1- Les médicaments ayant une action directe sur l'ADN ou ces enzymes associées	24
1-3-2- les médicaments ayant une action en « amont » du matériel génétique	25
1-3-3- les médicaments ayant une action en « aval » du matériel génétique : Les antimitotiques ou poisons du fuseau mitotique.....	26
2- L'immunothérapie	27
2-1- l'immunothérapie dans la prise en charge des cancers	27
2-2- Réaction de système immunitaire face au développement de cellules tumorales: Le concept d'immun édition	28
2-3- Réactivation de l'immunité contre le cancer.....	28
2-3-1- La vaccination thérapeutique : dresser le système immunitaire contre une cible précise.	29
2-3-2- La thérapie cellulaire : création des cellules immunitaires plus puissante	29
2-3-3- Les anticorps inhibiteurs monoclonaux	30
2-3-4- Les anticorps monoclonaux pour inhiber les points de contrôle du système immunitaire : restaurer les fonctions effectrices des LT.....	31
2-3-5- Immunothérapie des cancers par oligonucléotides immunostimulants	32
2-4- Perspectives.....	33
2-4-1- IDO inhibiteurs (epacadostat).....	33
2-4-2- Virothérapie oncolytique	33
Chapitre IV: Microbiote intestinal et chimiothérapie anticancéreuse	35
1- Le cadre du mécanisme TIMER.....	35
1-1-translocation	35
1-2-immunomodulation	35
1-3- Métabolisme et dégradation enzymatique.....	35
1-4- diversité réduite et variation écologique	36
2 Le microbiote intestinal et efficacité des chimiothérapies.....	37
2-1- Cyclophosphamide	37
2-3- Gemcitabine	40
3- Microbiote et toxicité des chimiothérapies.....	42
3-1- L'irinotecan	43

4- Microbiote et chimiorésistance.....	43
Chapitre V: Microbiote intestinal et immunothérapie anticancéreuse	45
1- Impact de microbiote sur la réactivation du système immunitaire par l'administration intratumorale de cytosine-phosphate-guanine (CPG).....	45
2- Rôle du microbiote intestinal dans l'efficacité d'un anticorps anti-CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4).	46
3- Rôle de microbiote dans l'efficacité du blocage impliquant l'axe programmed cell death ligand 1 (PD1/PDL1).	46
Chapitre VI: Modulation de microbiote intestinal pour booster la thérapie anticancéreuse	50
1- Notion d'oncomicrobiotique	50
2-le potentiel antitumoral des stratégies biotiques.....	50
2-1- les probiotiques	50
2-2- les prébiotiques.....	51
2-3- les synbiotiques	51
2-4- les antibiotiques.....	52
3- Le partage des épitopes entre les commensaux et la tumeur.....	53
4- La transplantation fécale.....	55
Conclusion	56
Références	58

Liste des abréviations

5-FU : 5-Fluorouracile.

8-OXO-DG : 8-dihydro-2-deoxyguanosine.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AMM : Autorisations de Mise sur le Marché.

APC : Polypose Adénomateuse Coli.

ARNr : Acide Ribonucléique Ribosomique.

ARNs : Acide Ribonucléique Small.

BFT : Toxine *Bacteroides fragilis*.

BIRC3: Baculoviral IAP Repeat-Containing protein 3.

CCR : Cancer Colorectal.

CD : Cellules Dendritiques.

CD4 : Cluster de Différentiation 4.

CD8 : Cluster de Différentiation 8.

CE : Carboxylestérases

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité.

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

CPG : Cytosine-Phosphate-Guanine.

CPT : Chlorhydrate d'irinotécan.

CTD : Toxine de Distension Cytoléthale.

CTLA-4 : Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4.

CTX : Cyclophosphamide.

C-MYC: Cellular Myelocytomatosis.

DHFR : Dihydrofolate Réductase.

ETBF : *Bacteroides fragilis* Entérotoxigène.

FadA : Facteur de virulence l'Adhésine A.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FAP2: Fusobacterial Apoptosis Protein 2.

FIP: Fusobacterial Immunosuppressive Protein.

Fn: Fusobacterium Nucleatum.2

FOS : Fructo-oligosaccharides.

G2 : Growth 2.

HDAC : Histone Désacétylase

HER-2: Human Epidermal Receptor 2

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

IDO: Indolamine dioxygénase

IFN- γ : Interféron γ .

IgA : Immunoglobuline A.

IL : Interleukine.

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.

ITIM: Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif.

JAX: Jackson Laboratory

LPS: Lipopolysaccharides.

LT: Lymphocyte T.

LTh: Lymphocyte T Helper.

M: Métaphase.

MI : Microbiote Intestinal.

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin.

MIN: Multiple Intestinal Neoplasia.

MMR: Mismatch Repair.

MYD88: Myeloid Differentiation primary response gene 88.

NF- κ B: Nuclear Factor-Kappa B.

NK : Natural Killer.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PD-1: Programmed cell Death protein 1.

PD-L1: Programmed Death-Ligand 1.

PKS: Polyketide Synthase.

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène.

SASP : Phénotype Sécrétoire Associé à la Sénescence. (Senescence Associated Secretory Phenotype).

SCFA : Acides Gras à Chaine Courte. (Short Chain Fatty Acid).

SMS : Sécrétome Associé à la Sénescence. (Senescence-Messaging Secretome).

STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription.

TAC: Taconic Farms laboratory.

TFH: Cellules T Follicular Helper.

TIGIT: T cell Immunoglobulin and ITIM domain.

TIL: Tumour-Infiltrating Lymphocytes

TIMER: Translocation, Immunomodulation, Métabolisme, dégradation Enzymatique,
Réduction de la diversité et de la variation.

TLR: Toll Like Receptor.

TNF: Tumour Necrosis Factor.

Treg : Lymphocyte T Régulateur.

TS : Thymidylate Synthase.

UGT: Glucuronosyl-Transférase.

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor.

Liste des figures

Figure 01: Composition et densité de la flore intestinale	5
Figure 02: Les concepts par lesquels le microbiote humain est acquis chez le nouveau-né.	8
Figure 03: Schéma représentant les étapes clés de l'établissement du microbiote chez l'enfant et ces facteurs influençant	9
Figure 04: Implication de <i>Bacteroides fragilis</i> dans la carcinogenèse colorectale	15
Figure 05: Implication de <i>Fusobacterium nucleatum</i> dans la carcinogenèse colorectale	16
Figure 06: Mécanisme d'action de la BFT qui favorise la tumorigénèse	19
Figure 07: Les signaux d'origine microbienne qui modulent de nombreuses caractéristiques du cancer par le biais de divers mécanismes	21
Figure 08: Processus d'angiogenèse tumorale	22
Figure 09: Mécanisme d'action des antimétabolites	26
Figure 10: Les différents mécanismes d'action de la chimiothérapie cytotoxique	27
Figure 11: Le fonctionnement de l'immunothérapie anticancéreuse	29
Figure 12: Principe de la CAR-T celltherapy	30
Figure 13: Mécanisme d'action du bévacizumab	31
Figure 14: Schéma des mécanismes de contrôle immunitaire - CTLA4	32
Figure 15: Exemple des traitements anti-PD-1 et anti-PD-L1	33
Figure 16: Schéma TIMER présentant une vue d'ensemble des interactions entre le microbiote et l'hôte modulant l'efficacité et la toxicité des chimiothérapies	37
Figure 17: Mécanisme d'action de la flore intestinale dans l'efficacité antitumorale du cyclophosphamide	38
Figure 18: (A) La variation du nombre des colonies cultivées à partir des ganglions lymphatiques mésentériques (mln) et les cellules spléniques en fonction de leurs types respiratoires (B) Représentant les différentes bactéries identifier par spectrométrie de masse.....	39
Figure 19: Les variations du volume de la tumeur en fonction du	39
Figure 20: Les variations du volume de la tumeur en fonction de l'oxaliplatine avec une antibiothérapie	41
Figure 21: Le volume de la tumeur en fonction de la thérapie avec la gemcitabine	41
Figure 22: La structure de la gemcitabine basée sur l'analyse par spectrométrie de masse..	42
Figure 23: Métabolisme du CPT-11 à travers ses différentes phases de biotransformation : Activation, inactivation et son interaction avec les β -glucuronidases du microbiote.....	44
Figure 24: Impact du microbiote intestinal sur l'efficacité du traitement par les CPG	46

Figure 25: La variation du volume de la tumeur en fonction de l'injection de l'anti-PD1/PDL1 dans les souris TAC et JAX (A) souris séparées (E) souris co-hébergées	47
Figure 26: La composition du microbiote intestinal influence la réponse clinique aux anti-PD1/PDL1.....	48

Introduction

Introduction

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe composé de bactéries, champignons et en partie dominante sont les virus (bactériophages). Il joue un rôle capital et indispensable dans la physiologie de l'intestin et dans la santé de l'hôte. Ceci en exerçant des fonctions importantes métaboliques, immunitaires et effets barrière (**Bonnet et al., 2014**). Le microbiote contrôle la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales, régule l'homéostasie intestinale, la production d'énergie et de vitamines, les défenses contre les microorganismes pathogènes par la compétition sur les nutriments et la production de facteurs antimicrobiens (**Arthur et al., 2012**). Grâce à cette relation symbiotique et les propriétés qui lui sont propres, le microbiote est considéré comme un véritable organe caché (**Lopez, 2018**).

La dysbiose ou le déséquilibre de la composition du microbiote est associé à des résultats néfastes pour l'hôte. Ce déséquilibre cause des pathologies humaines comme l'obésité, autismes, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, maladies auto-immunes (un des acteurs majeurs impliqués dans le domaine de la cancérologie) (**Delgado et al., 2013**). Il a été constaté que certaines bactéries pathogènes peuvent induire le cancer via divers mécanismes (**Yang et al., 2016**). Cependant le microbiote peut moduler l'efficacité et la toxicité des médicaments anticancéreux (**Underwood, 2014**).

Au niveau de notre université, aucune recherche n'a été réalisée sur la relation entre le microbiote intestinal et le cancer ce qui mérite d'avoir plus d'attention vue son importance

Dans le cadre de cette recherche bibliographique nous allons cibler le microbiote et comprendre le lien et son influence sur les effets de la chimiothérapie et l'immunothérapie anticancéreuse. Comprendre comment il améliore leurs efficacités et réduit leurs toxicités. Décrire comment le microbiote des patients cancéreux pourrait être modifié et manipulé afin de développer une médecine personnalisée qui implique la pharmacomicrobiomique pour avoir de bons résultats cliniques.

Pour cela en premier lieu, nous allons définir le microbiote intestinal et sa mise en place, ces différentes fonctions ainsi que les techniques d'exploration.

La deuxième partie s'intéresse à la relation entre microbiote et cancer, le but est savoir son rôle dans la carcinogenèse. Une troisième partie permettra de donner une présentation

générale de la chimiothérapie et de l'immunothérapie, ses différentes classes thérapeutiques et leurs modes d'action.

La quatrième partie concerne l'effet du microbiote sur l'amélioration de quelques médicaments chimiothérapeutiques en détaillant leurs mécanismes. La cinquième partie est consacrée à éclaircir la relation entre le microbiote et l'immunothérapie et son rôle dans l'efficacité du traitement. Enfin, nous terminerons par la sixième partie qui englobe les différentes méthodes et outils qui peuvent être utilisés pour moduler et modifier le microbiote afin de booster la thérapie anticancéreuse.

Chapitre I

Le microbiote intestinal

1-Microbiote intestinal

1-1- Définition

Le microbiote est l'ensemble des microorganismes commensaux non pathogènes qui colonisent un environnement spécifique appelé microbiome dont l'hôte peut être un animal comme il peut être un végétal ou une matière provenant de ces deux derniers (par exemple : l'humus du sol) (**Burcelin et al., 2016**).

Le microbiote se localise, au niveau de l'organisme humain, sur plusieurs niveaux, la peau, la bouche, le vagin, et on distingue le microbiote le plus important au niveau intestinal (**CDU-HGE, 2014**).

2- Composition du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal, est composé de 10^{14} microorganismes répartis entre les bactéries, les archées, les protozoaires, les virus et les champignons. Le microbiote intestinal se localise entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal. Le microbiote, dont la concentration est maximale au niveau de l'intestin grêle et du colon (figure 01), est présent tout au long du tube digestif avec des variations quantitative et qualitative (**CDU-HGE, 2014**).

La flore buccale comprend des bactéries aérobies et anaérobies, en revanche la flore gastrique est limitée quantitativement et qualitativement. Au niveau de l'estomac, on trouve quelques centaines de bactéries par gramme de contenu, tant dit qu'au niveau du colon distal on trouve 10^{11} bactéries par gramme de contenu (**CDU-HGE, 2014**).

Les bactéries du microbiote intestinal sont de l'ordre de 400 espèces bactériennes chez chaque individu. Les bactéries dominantes du microbiote intestinal peuvent être réparties en 3 phylums bactériens (**Barbut et Joly, 2010**).

➤ **Phylum des Firmicutes**

Les bactéries à Gram positif représentent plus de la moitié des microorganismes du microbiote. Elles se composent de trois classes :

- **Classe I des Clostridia** : contenant les genres, *Clostridium*, *Ruminococcus* et *Faecalibacterium*.
- **Classe II des Mollicutes** : contenant les bactéries du genre *Mycoplasma*.

- **Classe III des Bacilli** : contenant les genres *Listeria*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Streptococcus*.

➤ **Phylum des Bacteroidetes**

Les bactéries de ce phylum se présentent sous forme bacillaire, ont un Gram négatif et sont anaérobies. Elles représentent 30 % de la population bactérienne. Le genre *Bacteroides* est le plus abondant. On trouve aussi le genre *Prevotella* (**Barbut et Joly, 2010**).

➤ **Phylum des Actinobacteria**

Les bactéries de ce phylum sont Gram positif représentent moins de 10% du microbiote intestinal et sont représentées notamment par les genres *Actinomyces*, *Mycobacterium* ou *Bifidobacterium*.

En faible quantité, on retrouve le phylum des Proteobacteria, contenant l'ordre des Entérobactériales qui sont des bactéries anaérobies facultatives et une minorité de bactéries des phylums Fusobacteria, Verrucomicrobia et Spirochaetes (**Barbut et Joly, 2010**).

-Le mycobiote intestinal représente moins de 0.1 % du microbiote intestinal total. Il est constitué de levures, de micromycètes unicellulaires qui se multiplient par bourgeonnement, et de micromycètes. L'étude de « Human Microbiome Project » a montré que pour les enfants âgés de 10 jours à 3 mois, leur mycobiote intestinal est dominé par la levure *Debaryomyces hansenii* provenant du lait maternel. Au cours de la croissance, les enfants sont soumis à des conditions variables par rapport aux régimes alimentaires, aux conditions environnementales et à des influences des médicaments et des hormones, influençant ainsi la composition de leur mycobiote dont une prédominance de levures et en particulier de levures appartenant aux genres *Saccharomyces*, *Malassezia* et *Candida* (majoritairement *Candida albicans*) (**Bonnin et Dalle, 2018**).

- Les archées, principalement des méthanogènes représentent 12% de la flore anaérobie totale du colon distal et 0,003% du colon proximal. Le genre prédominant est celui des *Methanobrevibacter* suivi par les genres *Methanosphaera* et *Methanomassiliicoccus*. *Methanobrevibacter smithii* (*MBS*) est l'espèce la plus fréquemment retrouvée dans l'intestin ont elle représente jusqu'à 11.5% de tous les microorganismes du microbiote intestinal (Blais Lecours, 2014).

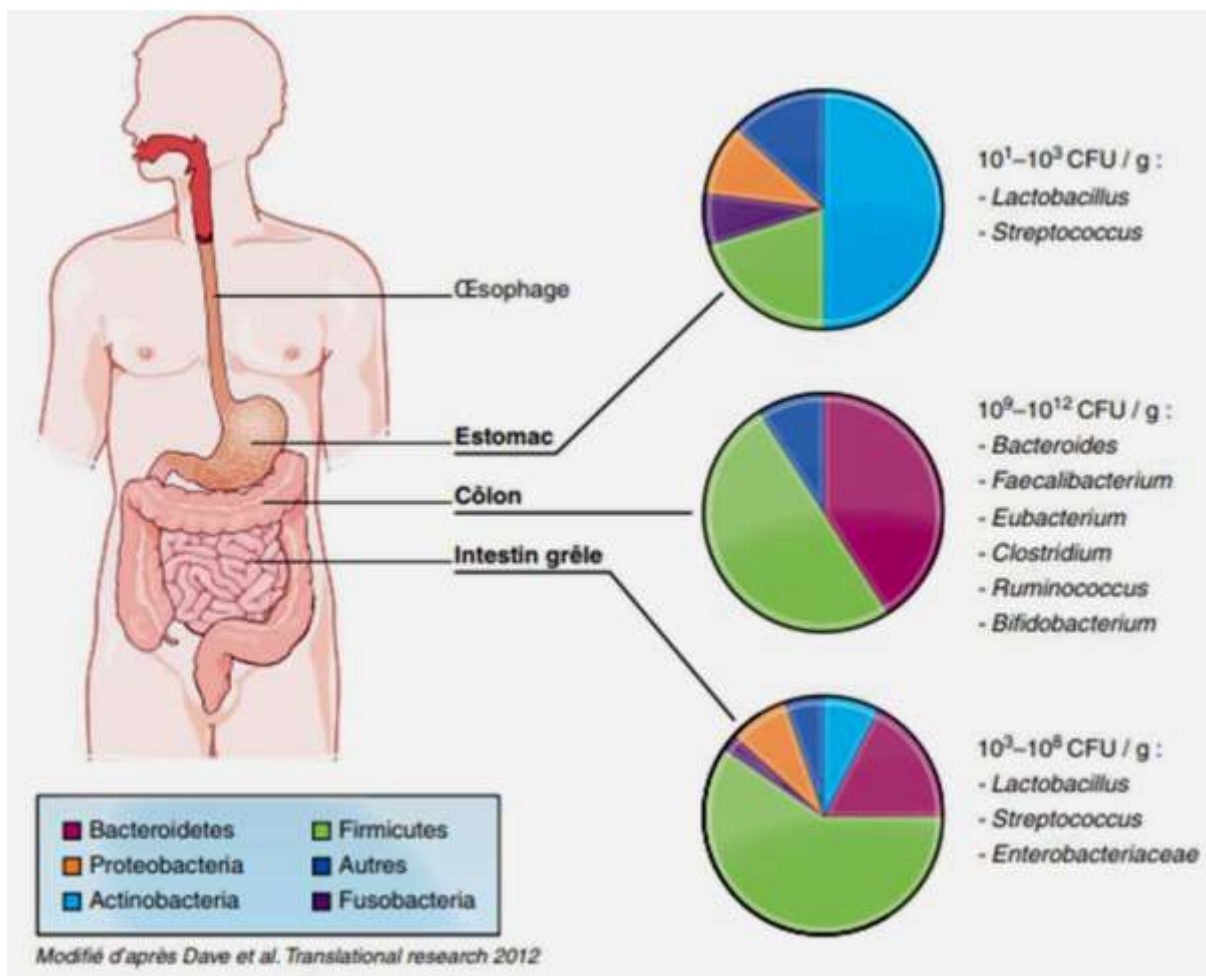


Figure 01 : Composition et densité de la flore intestinale. La concentration en micro-organismes augmente entre la bouche et le côlon et atteint son maximum dans ce dernier. Trois phyla bactériens, Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria rassemblent la plus grande part des bactéries fécales dominantes (CDU-HGE, 2014).

-Les bactériophages sont présents à l'ordre de plus de $10^{10}/g$, ils jouent un rôle dans la formation de la composition microbienne, dans la diversité bactérienne et dans le transfert horizontal de gènes. La mise en évidence des phages libres était possible par la technique du séquençage à partir des échantillons fécaux filtrés. La majorité des phages détectés, sont des virus à ADN non enveloppés, soit à ADN double brins « les *Caudovirales* », soit à ADN simple brin « les *Microviridae* » (Sausset et al., 2020).

La présence des phages filamenteux à ADN simple brin à cycle lysogénique avec un pourcentage élevé, a été prouvée par des études récentes tant dis que les phages à ARN sont très rares dans la composition des phages intestinal (Sausset et al., 2020).

-Une étude de Lokmer *et al.* a permis de confirmer que les protozoaires résident dans l'intestin d'un homme sain et de déterminer la prévalence particulièrement importante de *Entamoeba* sp. (Plusieurs espèces non pathogènes de ce genre) et de *Blastocystis* spp. (Divers sous-types de ce genre majoritairement non pathogènes). Une variation des taux de ces deux genres parasites a été enregistrée entre différentes populations ayant chacune un mode de vie différent (urbaine industrialisée et rurale) déterminant ainsi le mode de vie comme un facteur influençant la présence des protozoaires intestinaux. Tant dit qu'il existe toujours une corrélation positive entre la présence de *Blastocystis* et d'*Entamoeba* (Lokmer *et al.*, 2019).

La caractérisation des espèces et des sous-types a montré une prédominance d'*Entamoeba coli* et *Entamoeba hartmanni* ainsi qu'une fréquence élevée des sous-types *Blastocystis* ST1, *Blastocystis* ST2 et *Blastocystis* ST3 (Lokmer *et al.*, 2019).

Ces protozoaires intestinaux affectent positivement le microbiote intestinal en interagissant avec le microbiote bactérien par l'intermédiaire de différents mécanismes qui sont à déterminer par le développement des méthodes de l'étude de l'écologie microbienne (Lokmer *et al.*, 2019).

Il a été établi que l'ensemble des individus peuvent être répartis en 3 groupes ou entérotypes distincts selon la signature bactérienne caractérisée par un genre bactérien dominant parmi *Prevotella*, *Bacteroides* et *Ruminococcus* (Dolié, 2018).

3- Mise en place du microbiote intestinal

La colonisation du microbiote chez l'enfant s'établit au cours des 3 premières années de vie et comporte 4 étapes clés allant de la grossesse à la petite enfance (Milani *et al.*, 2017 ; Perez-Muñoz *et al.*, 2017).

Depuis longtemps, on a accepté le dogme que le fœtus vit (*in utero*) dans un environnement stérile et que la colonisation de son tractus digestif se fait pendant et après l'accouchement. Cependant, cette vérité a été controversée par des études récentes utilisant des techniques moléculaires. Selon les résultats de ces études, la mise en place du microbiote commence *in utero* et suggère des communautés bactériennes associées au placenta, le cordon ombilical et le liquide amniotique. Ces études démontrent aussi que le placenta abrite un microbiome unique à faible abondance. On parle alors de la transmission verticale du microbiote entre la

mère et son fœtus lors de la grossesse saine à terme (**Milani et al., 2017 ; Perez-Muñoz et al., 2017**).

Au moment de l'accouchement, le nouveau-né se retrouve brutalement plongé dans un large éventail de microorganismes, riche et varié provenant de diverses sources. Les bactéries qui vont s'implanter dépendent du mode d'accouchement. Dans le cas de l'accouchement par voie basse, son contact sera avec la flore vaginale et fécale de sa mère et de l'environnement proche, on rencontre principalement les genres *Lactobacillus*, *Prevotella* et *Bifidobacterium spp* (**Dominguez-Bello et al., 2010**).

À l'inverse de l'accouchement normal, avec la césarienne, la colonisation se fait par les microorganismes de la peau de la mère, de l'équipe hospitalière et de l'environnement hospitalier (figure 2). Le microbiote du nouveau-né sera plus hétérogène que celui des bébés nés par voie basse, constituée surtout par les genres *Staphylococcus*, *Propionibacteriaceae* et *Corynebacterineae* (**Dominguez-Bello et al., 2010**).

Les premières bactéries implantées sont des organismes aérobies-anaérobies facultatifs : les entérobactéries (principalement l'espèce *E. coli*), les entérocoques et les staphylocoques en consommant l'oxygène contenu dans la lumière intestinale, elles favorisent ensuite l'implantation de bactéries anaérobies strictes (*Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides*) ainsi que celle des *Lactobacilles*, microaérophiles. Par la suite, le nouveau-né est continuellement exposé à de nouvelles bactéries, cette exposition est influencée par (**Campeotto et al., 2007**) :

- L'âge gestationnel
- L'alimentation : nourriture au sein ou par lait infantile
- L'hygiène
- Les traitements antibiotiques
- L'environnement familial comme la présence d'un aîné ou d'un animal de compagnie et la situation géographique
- L'âge et le mode de sevrage
- Les caractéristiques génétiques de l'hôte.

Pour le mode de nourriture, l'allaitement peut transmettre des bactéries au nourrisson, mais elles sont moins diversifiées que celles du nouveau-né nourri au lait artificiel. Des études de culture bactériologique démontrent la présence de bactéries des genres *Streptococcus* et

Staphylococcus dans le lait maternel. Ces études ont été étendues par le séquençage de l'ARNr 16S pour inclure d'autres genres bactériens tels que *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* (Campeotto et al., 2007).

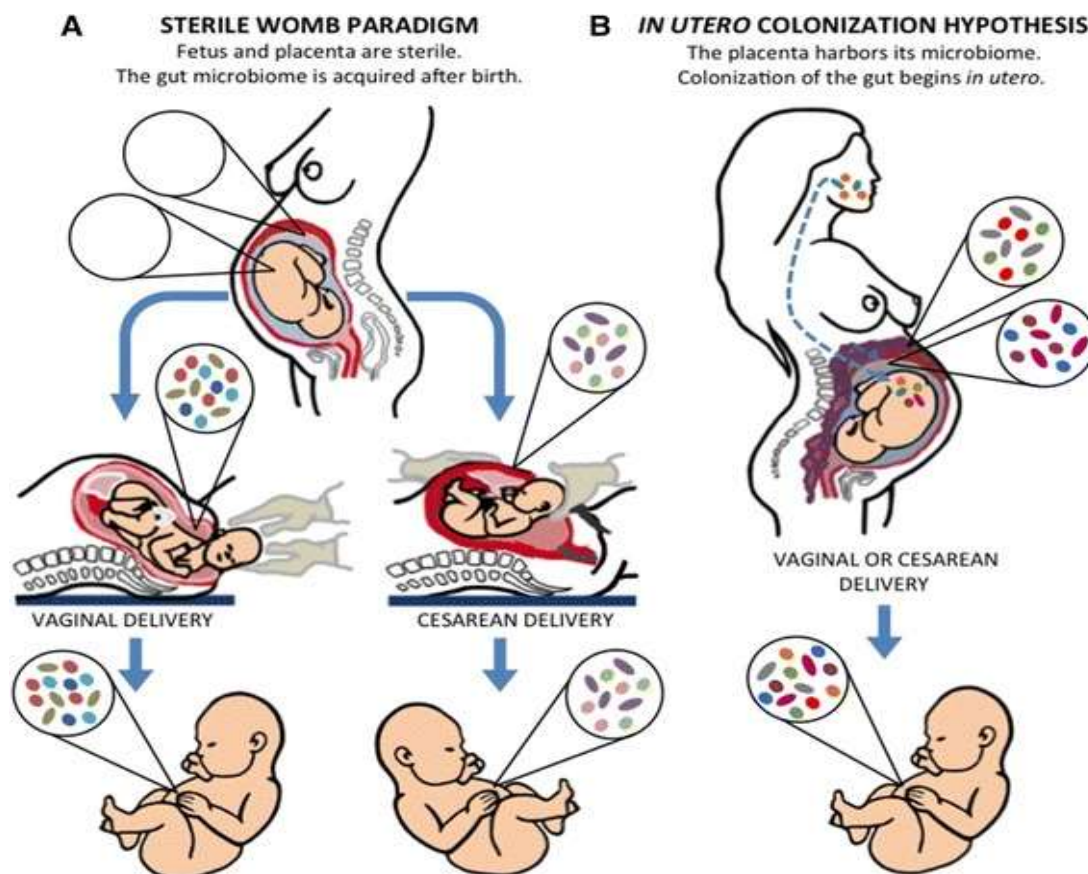


Figure 02 : Les concepts par lesquels le microbiote humain est acquis chez le nouveau-né. En (A) l'acquisition du microbiote intestinal chez le nouveau-né après l'accouchement lorsque le placenta est stérile. En (B) la colonisation du microbiote intestinal commence en phase de fœtus quand le placenta abrite un microbiome (Perez-Muñoz et al., 2017).

L'allaitement ne transmet pas que des bactéries, mais elle peut aussi transmettre potentiellement des virus et servent à établir un virome gastro-intestinal infantile (Heikkila et Saris, 2003).

Pannaraj et son équipe, ont réalisé une étude sur l'analyse du contenu du virome du lait et des selles du nourrisson sur une population de 10 paires mère-enfant pour déterminer si les virus du lait colonisent le tractus gastro-intestinal du nourrisson. Ces chercheurs ont démontré une grande diversité alpha virale (les variations virales au niveau du même échantillon) dans le lait que dans les selles des nourrissons, il y avait des différences significatives dans les

familles virales dans les selles du nourrisson (bactériophages abondants de la famille des Siphoviridae) par rapport au lait (bactériophages abondants de la famille des Myoviridae) (Pannaraj et al., 2018).

La période de développement du microbiote pendant l'enfance est cruciale (figure 3) pour la future santé de l'adulte, car elle joue un rôle important dans la maturation de son système immunitaire.

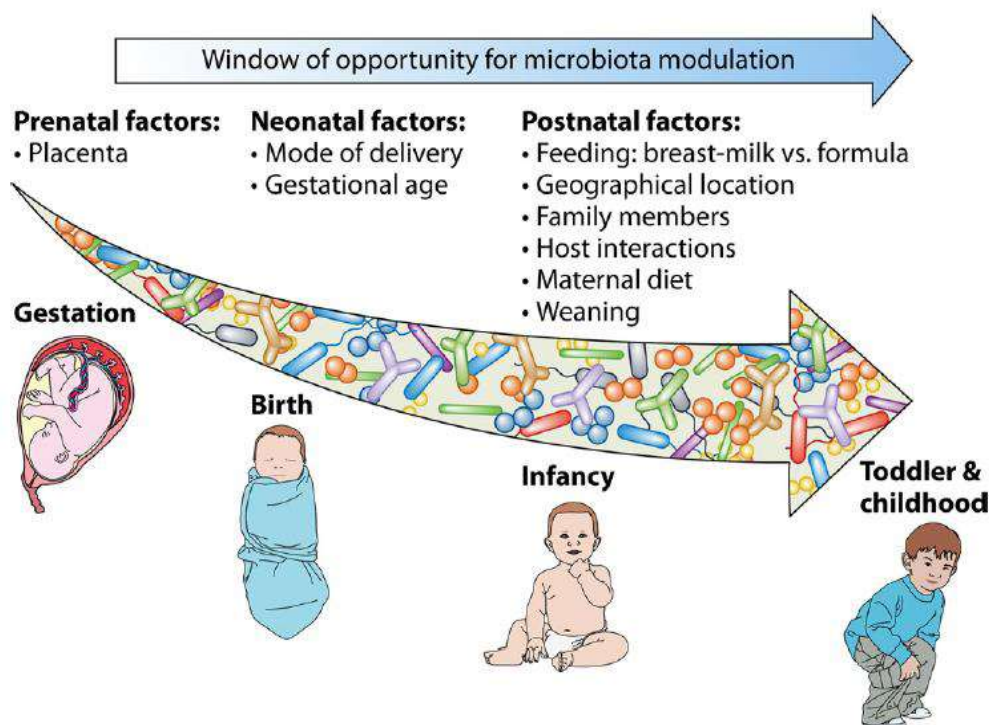


Figure 03 : Étapes clés de l'établissement du microbiote chez l'enfant et les facteurs influençant leur mise en place. Une liste de facteurs et d'opportunités prénatals, néonatals et postnatals qui contribuent à la modulation de la composition bactérienne intestinale chez les nourrissons (Milani et al., 2017).

4- Exploration du microbiote

4-1- La culture bactérienne

La culture bactérienne permet d'isoler et identifier 30% de notre flore commensale cultivable *in vitro*, alors que la partie restante n'est pas cultivable *in vitro* ou nécessite des milieux très spécifiques, car elle est composée de bactéries anaérobies strictes (Browne et al., 2016).

4-2- La métagénomique

Des études métagénomiques ont permis d'établir le lien entre la dysbiose et l'infection. Un autre élément majeur de l'exploration du microbiote est son implication dans le cancer à travers sa relation avec le système immunitaire.

Les méthodes de séquençage de nouvelle génération ont permis de multiples séquençages : c'est ainsi que la métagénomique est devenue une méthode clé pour l'analyse du microbiote intestinal. La métagénomique consiste à détecter tous les composants d'un échantillon avec un génome, en séquençant leurs gènes sans recourir à la culture. Deux approches différentes sont possibles :

- la métagénomique ciblée qui repose sur l'amplification d'une séquence sélectionnée (une région du gène ARN 16s le plus souvent) avant le séquençage. Elle permet une description taxonomique de tous les composants bactériens de l'échantillon analysé.
- Shotgun matagénomique qui repose sur le séquençage de tout l'ADN présent dans un échantillon sans connaissance préalable de son contenu et permet une description globale de l'échantillon incluant des bactéries, des virus et des parasites (**Amrane, 2018**).

Anglakis *et al.* ont démontré que les différents protocoles d'extraction de l'ADN modifiaient la taxonomie bactérienne finale, ce qui représente une limite de la metagénomique et qui montre qu'il est impossible d'utiliser la métagénomique pour déterminer si les séquences détectées appartiennent à des microbes actifs ou kystiques. Pour cela, une alternative a été mise en place, le séquençage de l'ARN appelé ainsi la métatranscriptomique et comme la plupart des bactéries du microbiote intestinal n'ont pas été cultivées, leur génome reste inconnu, et ce malgré le fait qu'elles soient détectées par métagénomique, elles ne peuvent pas être nommées (**Amrane, 2018**).

Afin de dépasser ces limites de la métagénomique, une autre approche complémentaire « la culturomique » a été développée. Elle a permis de découvrir 247 bactéries intestinales potentiellement nouvelles. Son but est de détecter un maximum de bactéries par échantillon en effectuant des cultures de dilutions en série d'un même échantillon, après croissance, chaque colonie est isolée. La première étape d'identification de chaque colonie est complétée par une amplification d'ARN 16s et séquencée en fournissant sa dénomination taxonomique (**Amrane, 2018**).

Ainsi, l'analyse des échantillons de selles recueillies auprès de 124 personnes a identifié un total de 3,3 millions de gènes différents, appartenant à plus de 1 000 espèces différentes, dont une large majorité est d'origine bactérienne (**Claude et al., 2011**).

5- Fonctions du microbiote intestinal

Considéré comme un organe à part entière, le microbiote exerce des effets physiologiques bénéfiques sur l'hôte la plupart du temps (**Landmana et al., 2016**).

5-1- Effet barrière et fonctions immunitaires

L'invasion des pathogènes est favorisée par le relâchement des jonctions serrées entre les cellules épithéliales, pour ce fait, le microbiote intestinal joue un rôle dans la synthèse des peptides antimicrobiens, des bactériocines et des IgA sécrétées pour maintenir la structure des jonctions et par conséquent, prévenir toutes invasions microbiennes (**CDU-HGE, 2014**).

Les résultats des études portant sur le microbiote intestinal en vue de déceler son rôle sur le développement et la maturation du système immunitaire, ont montré que le microbiote participe d'une part au maintien de l'homéostasie intestinale par le maintien des taux des cellules immunitaires « les lymphocytes T », par l'induction de la production des lymphocytes T helper 17 (Th17) et par la stimulation des lymphocytes T régulateurs (Treg). D'autre part, le microbiote intestinal joue un rôle dans la sécrétion des IgA (dont le rôle est la protection des muqueuses), la sécrétion d'autres immunoglobulines sériques et de cytokines (**CDU-HGE, 2014**).

5-2-Fonctions métaboliques.

Le microbiote intestinal dégrade les glucides et les protéines issues de l'alimentation de l'hôte, pour obtenir de l'énergie nécessaire à sa croissance et la production de plusieurs métabolites absorbés par la suite par l'hôte. La nature des aliments détermine la nature des substrats ainsi leurs concentrations et par conséquent elle influence aussi l'équilibre du microbiote (**CDU-HGE, 2014**).

5-2-1 Métabolisme des glucides.

La première étape du métabolisme des glucides est la dégradation des différents polymères en fragments plus petits (oligosides, oses...) par l'intermédiaire des d'hydrolases (polysaccharidase, glycosidases...) produites par les bactéries du microbiote colique dites « fibrolytiques », appartenant principalement aux genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia*. Les bactéries glycolytiques transforment les glucides ainsi

produits en pyruvate en utilisant la voie de la glycolyse qui sera transformé (le butyrate) par la suite en acides gras à chaînes courtes, produits finaux de la fermentation (acétate, propionate, butyrate...) (**Pryde et al., 2002**).

5-2-2 Métabolisme des gaz

L'hydrogène majoritairement produit lors de la fermentation est éliminé par plusieurs voies, par l'émission de gaz rectaux ou par voie pulmonaire, mais la plus grande partie de l'hydrogène est transformée *in situ* par des bactéries du microbiote colique hydrogénotrophes. Les trois types principaux de transformation de l'hydrogène sont : en méthane par les archées méthanogènes en acétate par les bactéries acétogènes et enfin, en sulfures au potentiel délétère par les bactéries sulfatoréductrices (**Christl et al., 1992**).

5-2-3 Métabolisme des protéines.

Le métabolisme des protéines fait intervenir plusieurs espèces protéolytiques ayant des activités complémentaires appartenant aux genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*. Le microbiote intestinal capable d'hydrolyser les protéines en petits peptides. Certaines espèces bactériennes peuvent assimiler ces peptides, ce qui s'accompagne fréquemment par la libération d'acides aminés libres qui seront utilisés par d'autres bactéries incapables d'assimiler directement des peptides.

De nombreux autres composés comme des phénols, des acides dicarboxyliques et des acides gras ramifiés (isobutyrate, isovalerate, etc.) sont également produits ; l'ammoniac est aussi une source majeure d'azote pour un grand nombre de bactéries du microbiote colique qui l'utilise pour la synthèse d'acides aminés grâce à leur activité aminotransférase (**CDU-HGE, 2014**).

5-2-4 Métabolisme des lipides

Les acides gras de la lumière colique sont transformés (hydrolyse, oxydation, réduction, hydroxylation...) par les bactéries du microbiote colique. Alors que le cholestérol colique est converti en coprostanol qui n'est pas absorbé et donc est éliminé dans les fèces (**Lichtenstein et al., 1990**).

Les acides biliaires sécrétés dans la bile (5%) parviennent au côlon où ils sont métabolisés (déconjugaison, oxydation, épimérisation, désulfatation...) par les bactéries du microbiote en

acides biliaires dits secondaires, qui rend les acides biliaires plus hydrophobes et favorise leur absorption passive (**Ridlon et al., 2006**).

Le métabolisme des hormones stéroïdiennes et des xénobiotiques se réalise en deux étapes : une conjugaison hépatique et déconjugaison par le microbiote colique, c'est ce qu'on appelle le cycle entéro-hépatique (**Landmana et al., 2016**).

5-3- Synthèse de facteurs vitaminiques

Le microbiote joue un rôle dans la synthèse de plusieurs vitamines, telles que la vitamine K, la cobalamine (B12), l'acide folique (B9), la pyridoxine (B6), la biotine (B8), la riboflavine (B2), qui jouent des rôles primordiaux dans l'organisme (**Kaze, 2018**).

Chapitre II

Microbiote et cancer

1- Physiopathologie microbiote et cancer

1-1 Microbiote, source de signaux d'activation de la prolifération épithéliale aberrante

Le microbiote est considéré comme un facteur contribuant à part entière au développement du cancer. Parmi plus de 1000 espèces différentes, nous avons focalisé notre attention sur deux bactéries types qui ont des propriétés inflammatoires et oncogéniques, par lesquelles elles vont favoriser l'activation de la prolifération épithéliale qui sera par la suite la première étape de développement du cancer (l'initiation).

➤ *Bacteroides fragilis* entérotoxigène (ETBF)

C'est une bactérie anaérobie qui ne représente que 1 à 2 % des bactéries cultivables du microbiote, certaines souches sécrètent une toxine protéique à chaîne unique de type métalloprotéase dépendante du zinc, appelée fragilysine ou *Bacteroides fragilis* toxin (BFT) (Boquet et Ricci, 2014).

Après la sécrétion de la fragilysine dans l'intestin, elle se fixe sur un récepteur spécifique exprimé au niveau des cellules épithéliales intestinales, cette dernière va induire d'une part l'activation de plusieurs voies de signalisations (figure 04) et conduit à l'expression et la sécrétion de chimiokines/cytokines telle que l'interleukine-8. La production de ces molécules déclenche des réponses inflammatoires et participe à la promotion du cancer (Raisch et al., 2016).

D'autre part, elle conduit au clivage de l'E-cadhérine (rôle dans le maintien de l'intégrité de l'épithélium). Ce qui va conduire au déclenchement d'une perte de contact au niveau de la jonction cellule-cellule des cellules épithéliales du côlon et à une diminution de la fonction barrière de la muqueuse colique, ce qui pourrait contribuer à l'exacerbation de l'inflammation (Raisch et al., 2016). Ce clivage induit aussi la libération de la β -caténine dans le cytoplasme qui peut alors passer dans le noyau et activer la transcription de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire, telle que l'oncogène c-myc¹ (Rhee et al., 2009).

La β -caténine agit aussi comme co-activateur transcriptionnel de la voie Wnt², connue pour ses rôles dans l'embryogenèse et le cancer (Fulbright et al., 2018).

¹**c-MYC** : est un proto-oncogène qui est surexprimé dans certains cancers humains. Quand il est soumis à des mutations ou à une surexpression, il stimule la prolifération des cellules et se conduit comme un oncogène.

²**Wnt** : est une famille de glycoprotéines riches en cystéines sécrétées dans le milieu extracellulaire, jouant un rôle important dans l'embryogenèse et l'homéostasie des tissus adultes, de ce fait son dérèglement peut conduire à des cancers.

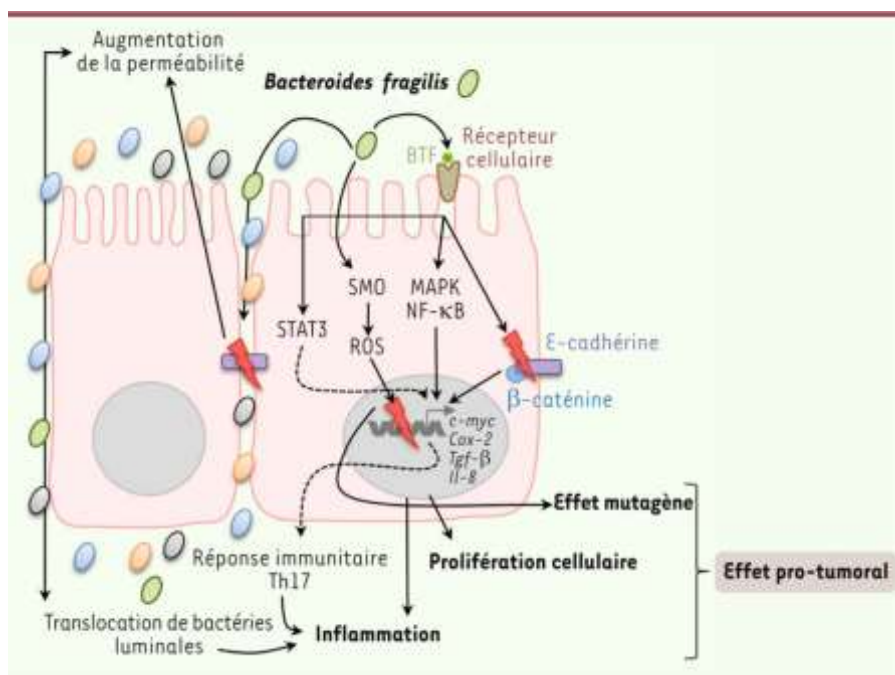


Figure 04 : Implication de *Bacteroides fragilis* dans la carcinogénèse colorectale. La fixation de la fragilysine sur un récepteur exprimé au niveau des cellules épithéliales intestinales, induit l'activation des voies de signalisation MAPK (mitogen-activated protein kinases), NFκB (nuclear factor-kappa B), STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) et COX2 (cyclooxy génase2) et conduit à l'expression et la sécrétion de chimiokines/cytokines tels que le TGFβ (transforming growth factor beta) et l'IL8 (interleu kine8), et de PGE2 (protaglandine E2) et au clivage de l'E-cadhérine (**Raisch et al., 2016**).

➤ *Fusobacterium nucleatum*

Grâce à un mécanisme méconnu à ce jour, cette bactérie induit l'expression de cytokines pro-inflammatoires. Par ailleurs, un de ces trois facteurs de virulences appelées l'adhésine FadA (*fusobacteriumadhesin A*) s'attache à la E-cadherine (figure 05), ensuite active la voie Wnt/β-caténine conduisant à l'expression des gènes c-myc impliqués dans la prolifération cellulaire (**Rubinstein et al., 2013**).

- La protéine FIP (fusobacterial immunosuppressive protein) inhibe le cycle cellulaire des lymphocytes T (**Raisch et al., 2016**).

- La fixation de Fap2 (fusobacterial apoptosis protein 2) sur le récepteur TIGIT (T cell immunoglobulin and ITIM domain) présent au niveau de la membrane cytoplasmique des lymphocytes T et des cellules NK (Natural killer) conduit à l'inhibition de leur activité antitumorale (**Gur et al., 2015**).

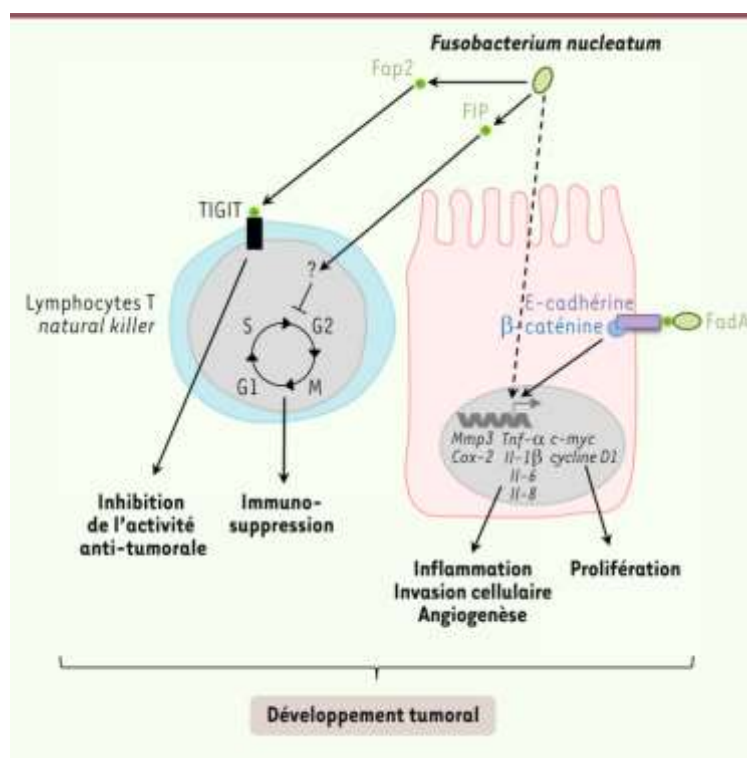


Figure 05 : Implication de *Fusobacterium nucleatum* dans la carcinogénèse colorectale. *F. nucleatum* est capable d'induire l'expression de cytokines proinflammatoires telles que l'IL6, le TNF α , l'IL8 et l'IL1 β et des gènes codant les protéines COX2 (cyclooxygénase 2) et MMP3 (matrix metalloproteinase-3) impliquées dans de nombreux processus protumoraux, par ailleurs, trois facteurs de virulence ont été identifiés Fad, FIP, Fap2 qui peuvent jouer un rôle dans le développement tumoral (**Raisch et al., 2016**)

1-2 Sénescence cellulaire induite par le microbiote

La sénescence cellulaire est un arrêt irréversible de la capacité proliférative des cellules, elle est considérée comme une barrière à la division cellulaire et aussi un mécanisme de protection contre les cellules qui risquent de se transformer en tumeurs. Cependant la cellule sénescence survit pendant un laps de temps assez long, elle persiste et reste métaboliquement active en sécrétant des cytokines inflammatoires, des chimiokines et des facteurs matriciels de remodelage ; ces produits ont un effet néfaste sur le microenvironnement tissulaire qui contribue à l'inflammation chronique et favorise la tumorigénèse, ce phénotype est appelé le phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP) ou le sécrétome messager sénescence (SMS) (sécrétome associée à la sénescence) (**Tiphanie et al., 2018**).

Ce processus peut être induit par la souche d'*Escherichia coli* qui héberge l'îlot génomique *pks* qui code pour des génotoxines (cyclomodulines et colibactine). La colibactine est une toxine qui cause des ruptures double brin de l'ADN, et un arrêt du cycle cellulaire en

phase G2/M, ceci conduit la cellule d'entrer en sénescence associée au SASP qui est un facteur de risque de développement d'un cancer colorectal (CCR) (Cougoux et al., 2014).

1-3 - Le microbiote et la modulation de la prolifération tissulaire et la tumorigénèse

➤ Le butyrate

Le microbiote intestinal a un rôle important dans la dégradation des aliments consommés par l'hôte, la fermentation bactérienne des fibres alimentaires génère plusieurs acides gras dans la lumière intestinale particulièrement le butyrate, un acide gras à chaîne courte produit par différentes espèces de *Firmicutes* et des bactéries anaérobies (*Roseburia*, *Lachnospiraceae*...) (Fulbright et al., 2017).

Le butyrate est considéré comme la principale source d'énergie (compte pour 60 à 70 %) des colonocytes (cellules épithéliales du côlon) et il a plusieurs effets bénéfiques sur la santé :

- Un effet anti-inflammatoire : en inhibant les cytokines pro-inflammatoires et en stimulant les cytokines anti-inflammatoires.
- Un prometteur contre les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).
- Réduit les symptômes de la maladie de *Crohn*.
- Favorise la fonction barrière de l'intestin

Le rôle le plus important est sa protection du colon contre le cancer. Cette action anticancéreuse se traduit par une inhibition de la prolifération cellulaire, et en même temps favorise leurs apoptoses par l'intermédiaire des modifications épigénétiques en agissant comme un inhibiteur de l'histone désacétylase (HDAC) (Lupton, 2004).

- L'enzyme qui modifie les histones conduit à une hyperacétylation, cette modification entraîne une dérégulation au niveau de l'expression des gènes impliqués dans la différenciation des cellules cancéreuses et finissent par mourir (Donohoe et al., 2014).

➤ Régulation du taux œstrogène circulant

Le faible taux d'œstrogènes circulants entraîne une variété du cancer notamment : un cancer d'endomètre, cervical, ovarien, de la prostate et le cancer du sein. La régulation se fait principalement par le microbiote intestinal à travers la sécrétion de l'enzyme β -glucuronidase. Cette enzyme joue le rôle de la déconjugaison des œstrogènes conjugués sécrétés par les acides biliaires et les phytoestrogènes dans leurs formes actives. Cela lui permet d'être réabsorbés par l'intestin et de se déplacer dans la circulation sanguine. Ensuite, il sera transporté vers les sites muqueux distaux pour se lier sur des récepteurs

complexes et spécifiques, cette liaison entraîne des changements physiologiques par l'activation de gènes en aval, des effets épigénétiques et le déclenchement de cascades de signalisation intracellulaire. si le microbiote présente une faible diversité microbienne (dysbiose) le processus sera d'une efficacité diminuée (**Baker et al., 2017**).

1-4 Interaction entre microbiote et système immunitaire de l'hôte

Des études comparatives sont réalisées afin de démontrer le rôle important des bactéries de microbiote intestinal dans la maturation et la modulation des réactions immunitaires de l'hôte en favorisant la tumorigénèse (**Chung, 2017**).

Une de ces études a été menée sur des souris axéniques (sans microbiote) et leurs homologues élevées en animalerie, en colonisant des souris *Apc^{Min}* (des souris qui ont une mutation ponctuelle au niveau d'allèle (Min) (Néoplasie intestinale multiple) du locus murin (Apc) (Polypose Adénomateuse Coli)) par la bactérie modèle procancérigène *Bacteroides fragilis* entérotoxigène (ETBF). Dont la toxine BFT orchestre une cascade des réactions inflammatoires qui nécessitent l'activation de la signalisation STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3: un facteur de transcription appartenant à la STAT, régule la synthèse de plusieurs microARNs et intervient dans l'inflammation, l'apoptose et l'immunité et l'angiogénèse) (**Chung, 2017**).

Dans la première étape, une activation sélective rapide et forte de STAT3 par la BFT qui va induire le développement des cellules T helper 17 (Th17) (figure 06) qui vont induire la libération de l'interleukine 17 (IL17) suivie par une activation de la NF-κB (Nuclear Factor-Kappa B: facteur de transcription impliqué dans la réponse immunitaire et la réponse au stress cellulaire) dans les cellules du colon proximal (**Chung, 2017**).

Un enchaînement de la production des chimiokines CXC y compris CXCL1 (homologue de l'IL-8) agissant comme des chimioattractants pour les cellules myéloïdes immatures polymorphonucléaires qui expriment CXCR2 ce qui conduit par la suite à l'apparition d'une tumorigénèse du côlon distal (**Chung, 2017**).

1-5 - Capacité du microbiote à induire des lésions de l'ADN et une instabilité génomique

Le microbiote intestinal est le premier facteur qui influence l'apparition et le développement des cancers en interagissant avec la génétique de l'hôte en créant un stressé génotoxique dans l'intestin qui induit des mutations et favorise des altérations épigénétiques (**Irrazábal et al., 2014**).

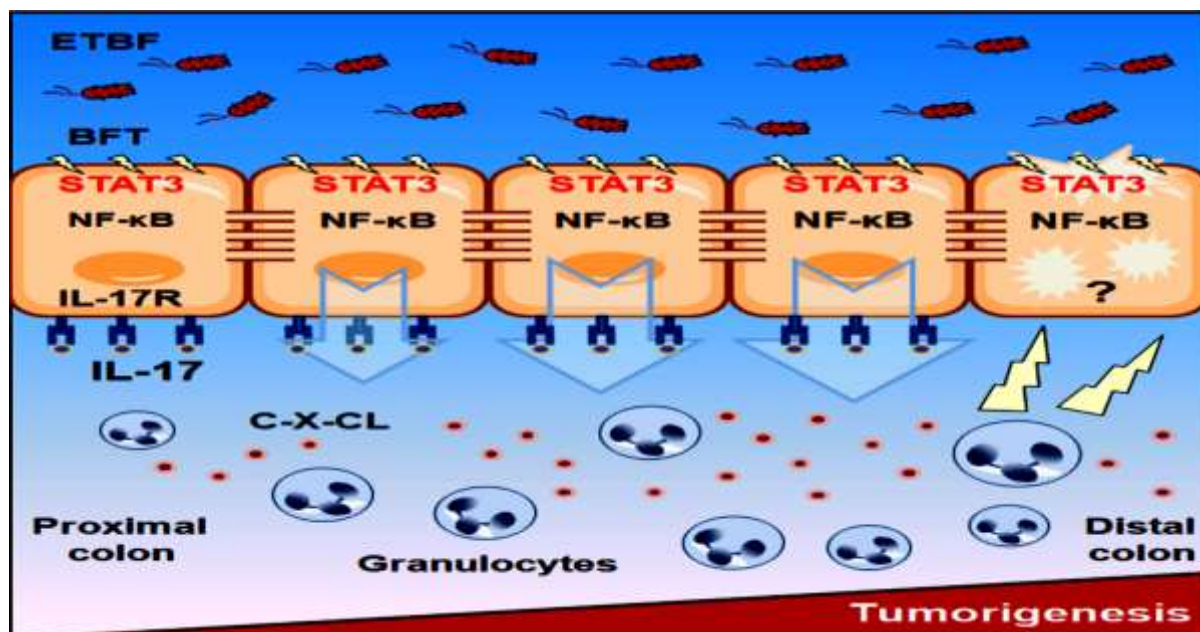


Figure 06 : Mécanisme d'action de la BFT qui favorise la tumorigénèse. La toxine BFT active la voie de signalisation STAT3 qui va induire la libération de l'interleukine 17 (IL17) suivie par une activation de la NF-κB et la production des chimiokines CXCL conduit par la suite à l'apparition d'une tumorigénèse du côlon distal (Chung, 2017).

Ces lésions vont toucher précisément les gènes impliqués dans la voie de réparation des mésappariements (MMR) ; et touchent aussi le gène de la polypose adénomateuse coli (APC) dont son expression a pour rôle la suppression des tumeurs ; impliquer aussi dans divers mécanismes physiologiques de la croissance cellulaire à l'apoptose et régule la voie Wnt/β-caténine) (Irrazábal et al., 2014).

L'effet du microbiote sur l'ADN peut être direct (par les microorganismes) ou indirect (par les métabolites).

➤ Action directe sur le génome

L'oxyde nitrique a la capacité d'endommager l'ADN (Lundberg et al., 2004), ce composé est généré par les bactéries dénitrifiantes anaérobies de l'intestin pendant le cycle de l'azote par l'enzyme nitrite réductase, ou par les *lactobacilles* et les *bifidobactéries*, elles génèrent des quantités significatives à partir des nitrites (Sobko et al., 2006).

Un autre mutagène puissant provient des espèces réactives de l'oxygène (ROS), provoque des mutations ponctuelles, des cassures d'ADN et une réticulation protéine-ADN et pourrait contribuer à l'instabilité chromosomique, il est produit directement par *Enterococcus faecalis*, cette bactérie induit des macrophages muqueux à produire des clastogènes diffusibles (facteurs de rupture chromosomique) (Huycke et al., 2001 ; Cooke et al., 2003).

Des études ont démontrés que les génotoxines produites par les bactéries du microbiote ont également la capacité de léser l'ADN, on cite la toxine de distension cytoléthale (CTD) et la colibactine et d'autres cyclomodulines : Cycle inhibiting factor, Cytolethal distending toxin et Cytotoxic necrotizing factor qui sont sécrétés par *E. coli pks+* ; elles exercent des ruptures double brin d'ADN médiés par leurs activités DNase (**Arthur et al., 2012**).

Les fécapentaènes sont des lipides polyinsaturés de type éther générés par les *Bacteroides*, ils induisent des dommages oxydatifs à l'ADN en produisant le 8-oxo-dG (alkyles) qui vont former des mutagènes secondaires (**Huycke et Gaskins, 2004**).

L'alcool est une molécule qui présente un grand risque sur la santé de l'être humain et surtout au développement du cancer. Sa fermentation au niveau de l'intestin est catalysée par l'alcool déshydrogénase pour obtenir de l'acétaldéhyde (**Salaspuro, 1996**), cette enzyme est exprimée par les commensaux coliques, tels que *E. coli*, *Klebsiella oxytoca* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'alcool contribue d'une façon indirecte à la mutagenèse par son altération du métabolisme des folates (antagoniste), s'il atteint un niveau faible, il va affecter la méthylation de l'ADN et conduit à un déséquilibre dans la synthèse des nucléotides qui se traduit par une fréquence d'incorporation élevée d'uracile, par conséquent, une apparition des mutations et ceci peut provoquer le début d'un cancer chez les cellules qui sont déficientes en MMR (**Choi et Mason, 2002**).

➤ Action indirecte sur le génome

Les bactéries commensales durant leur métabolisme normal produisent des métabolites qui peuvent causer des dommages à l'ADN d'une façon indirecte. Par exemple les bactéries sulfatées réductrices : *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfobacter* et *Desulfococcus* produisent le sulfure d'hydrogène (H₂S) qui a des propriétés génotoxiques dont :

- La modulation de l'expression des gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire.
- La différenciation et apoptose des cellules épithéliales intestinale.
- Le déclenchement des réponses inflammatoires et de réparation de l'ADN (**Christl et al., 1995 ; Deplancke et al., 2003**).

Un régime alimentaire riche en protéines (comme les viandes rouges) constitue un risque à cause des bactéries intestinales qui dégradent ces protéines en nitrosamine et en amines hétérocycliques, ces deux derniers incitent l'apparition du CCR (**Gill et Rowland, 2002**).

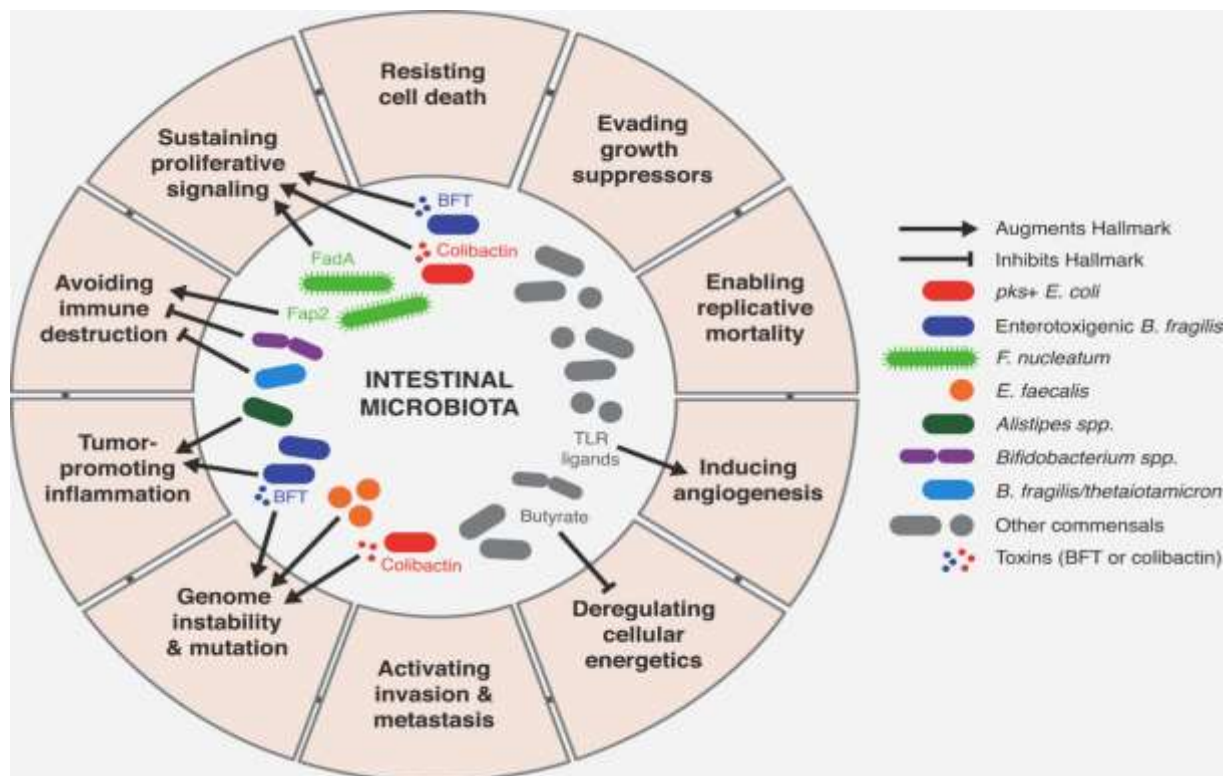


Figure 07 : Les signaux d'origine microbienne qui modulent de nombreuses caractéristiques du cancer par le biais de divers mécanismes. Quelques exemples sur les effets négatifs des différentes espèces bactériennes du microbiote intestinal et leurs produits sur le cancer soit par une augmentation ou une inhibition (Fulbright et al., 2017).

1-6- Processus d'angiogénèse

On définit l'angiogénèse comme l'expansion des vaisseaux sanguins à partir de ceux existants par germination (figure 08), c'est un processus essentiel pour la croissance, le remodelage, la régénération, et la cicatrisation. Elle joue un rôle dans le développement du cancer, avec l'augmentation du nombre de cellules au fur et à mesure, elles vont s'éloigner de la circulation sanguine. Essentiellement les cellules centrales qui vont être en hypoxie ; ce manque d'oxygène va lui permettre de produire des VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) qui va induire à son tour une formation de nouveaux vaisseaux et assurer une oxygénation suffisante (Feige, 2010).

Ce processus « switch angiogénique » va être toujours activé par un déséquilibre entre les facteurs inducteurs et inhibiteurs de l'angiogénèse, dans ce cas, les cellules cancéreuses vont le détourner pour leurs propres profits pour répondre à leurs besoins métaboliques et permettre une circulation sanguine adéquate, ce qui va augmenter leurs persistances et leurs proliférations (Feige, 2010).

Des études ont démontré que les bactéries endogènes sont nécessaires pour le développement normal du système vasculaire intestinale et font aussi un remodelage en périphérie des tumeurs, ils ont un lien direct avec l'angiogenèse, en la favorisant par les lipopolysaccharides (LPS) qui s'engagent avec des récepteurs de type Toll (TLR) (Hontaas, 2014).

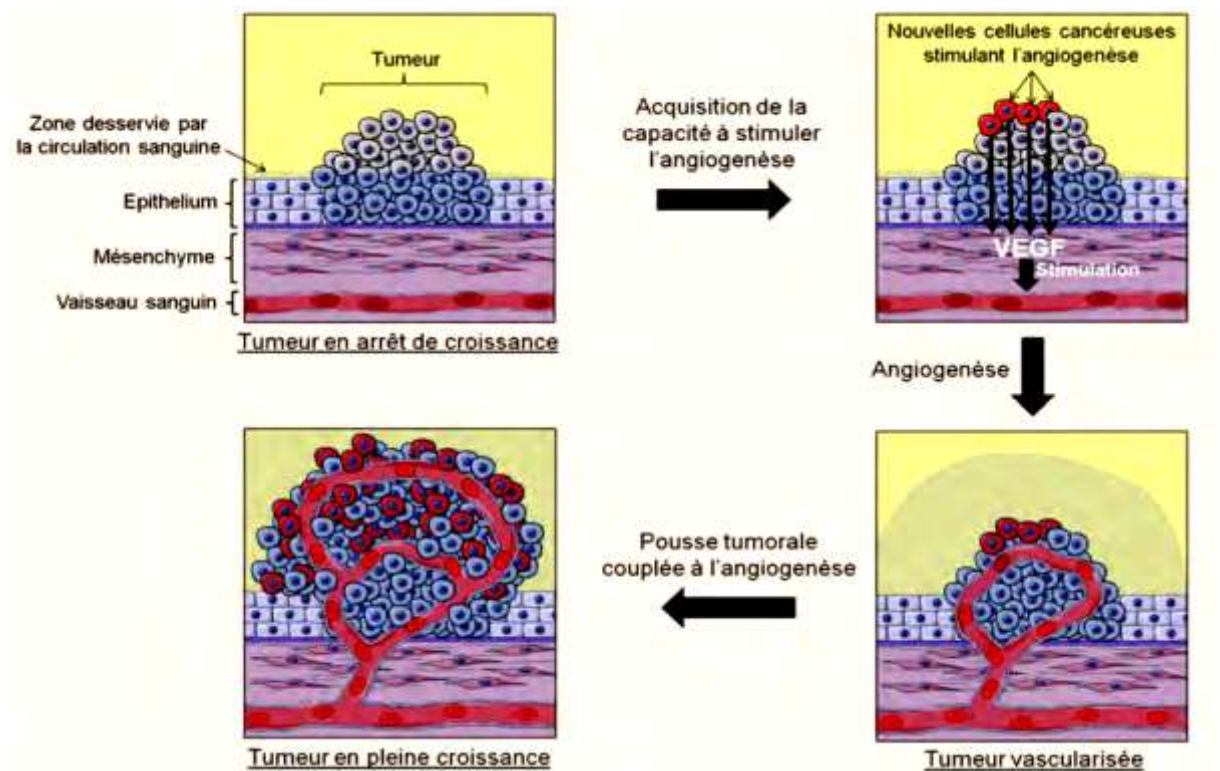


Figure 08 : Processus d'angiogenèse tumorale. À partir de quelques millimètres cubes, la tumeur ne peut plus se développer sans oxygène et les cellules en hypoxie vont produire du VEGF pour stimuler l'angiogenèse tumorale. La tumeur vascularisée va pouvoir assurer la nutrition des cellules qui la composent, même les cellules périphériques, et poursuivre sa croissance (Ségala, 2012).

Chapitre III

Chimiothérapie et immunothérapie anticancéreuses

1 -La chimiothérapie

1-1 Présentation générale

Le cancer peut être traité par une ou plusieurs stratégies que ce soit par la chirurgie d'exérèse, la radiothérapie externe ou interne ou bien par des traitements médicamenteux qui englobent : la chimiothérapie, immunothérapie, hormonothérapie, traitement ciblé.

La chimiothérapie est une thérapie connue depuis 1940 qui consiste à inhiber la croissance des cellules cancéreuses et leurs destructions, elle fait appel à des médicaments cytotoxiques qui peuvent être administrés par voie intraveineuse, orale, cutanée ou sous-cutanée. On distingue plusieurs types de la chimiothérapie selon la période pendant laquelle elle est administrée aux malades (**Heron, 2003**).

- **La chimiothérapie néoadjuvante** : est une stratégie précoce, elle est administrée avant la chirurgie pour traiter les métastases et surtout afin de diminuer la taille de la tumeur et par conséquent diminuer le risque durant l'intervention et la faciliter (**NSCLC Meta-analysis Collaborative Group, 2014**).

- **La chimiothérapie adjuvante** : administrée après la chirurgie (post opératoire), elle a pour but l'élimination des cellules cancéreuses ou les micrométastases qui ont échappé à l'ablation (**Heron, 2003**).

- **La chimiothérapie palliative** : utilisé pour le cancer dans un stade avancé et incurable c'est - à-dire que les cellules cancéreuses sont diffusées dans l'organisme et que l'espoir de la guérison est très faible (**Molina, 2008**).

1-2- Principes généraux des médicaments anticancéreux cytotoxiques

Les médicaments anticancéreux sont difficiles à développer par rapport aux anti-infectieux, car les cellules cancéreuses proviennent des cellules saines de l'organisme, ils sont classés selon leurs cibles que ce soit le matériel génétique (ADN, ARN) ou bien les protéines essentielles à la division cellulaire et selon leurs actions sur le cycle cellulaire ou la phase, ces médicaments sont répartis comme suit :

- **cycle-dépendants** : agissent sur les cellules qui sont en train de se diviser quel que soit la phase.
- **phase-dépendants** : agissent seulement sur une phase donnée.
- **non-cycle-dépendants** : agissent sur les cellules, peu importe, la phase du cycle et même en repos (phase G0) (**Monassier, 2012**).

Le traitement se fait en association de plusieurs médicaments à cause de l'hétérogénéité des cellules cancéreuses (différents phénotypes), dont elles ne sont pas synchronisées lors de leurs divisions, la polychimiothérapie va permettre ainsi de réduire la toxicité individuelle en raison que les anticancéreux agissent à la fois sur les cellules saines et les cellules cancéreuses, ils peuvent aussi développer une résistance contre ces traitements comme pour certains microorganismes (Carol, 2017).

1-3 - principales classes thérapeutiques des médicaments anticancéreux cytotoxiques

1-3-1 - Les médicaments ayant une action directe sur l'ADN ou ces enzymes associées

Ces médicaments vont cibler et agir d'une manière directe sur le matériel génétique des cellules et même sur les enzymes associées ; ils sont dits cycle-dépendants. Leurs mécanismes d'action sont soit par l'induction de cassures soit par la modification de l'activité de l'ADN polymérase. Il en existe 4 classes (figure 10) (Olaussen et Postel-Vinay, 2016) :

➤ **Les agents alkylants et apparentés**

Ils sont des agents bifonctionnels qui possèdent deux groupements alkyle et qui réagissent avec toutes molécules hydrogénées, sur l'ADN, ils se lient aux nucléotides, créant des liaisons covalentes avec les brins d'ADN, cette liaison va former des ponts intra ou intercaténaire ce qui va bloquer la réplication ou la transcription d'ADN (Bianchiet al., 2012).

➤ **Les inhibiteurs des topoisomérases**

Les topoisomérases I et II (gyrase) participent lors de la réplication et la transcription en contrôlant la topologie de l'ADN au cours de la progression des fourches par la suppression des torsions et la décondensation de l'hélice, et aussi pour séparer les chromosomes en induisant des coupures bicaténaire juste avant la mitose. Les inhibiteurs de ces enzymes vont bloquer leurs activités et inhibent la réplication (Bianchiet al., 2012).

➤ **Les agents intercalant**

Les intercalant sont des structures trimériques qui vont s'intercaler entre les deux brins et forment un complexe qui va bloquer la transcription et la réplication (Bianchi et al., 2012).

➤ **Les agents scindant**

Ceux sont des antibiotiques associés avec un glycopeptides et un chélateur de métaux. Ce produit induit une production des radicaux libres et des cassures monocaténaire ce qui va bloquer la réplication et la transcription de l'ADN (Bianchi et al., 2012).

1-3-2 - Les médicaments ayant une action en « amont » du matériel génétique

Ces médicaments dits antimétabolites, vont inhiber la biosynthèse des bases nucléiques ou bien ils s'incorporent à la place des bases pyrimidiques ou puriques comme un analogue structural. Il existe 3 types (Bianchi et al., 2012) :

➤ Les antagonistes foliques ou antifolates (anti-métabolites)

À l'intérieur de la cellule, le folate ou vitamine B₉ va être dégradé en plusieurs étapes pour donner à la fin l'acide tétrahydrofolique qui va contribuer comme un cofacteur essentiel à la biosynthèse de la thymidine. Il existe deux enzymes clés au cours de ce processus, la première est la thymidylate synthase (TS) qui va réduire l'acide tétrahydrofolique en acide dihydrofolique, ce dernier va être réduit par la deuxième enzyme clé, la dihydrofolate réductase (DHFR) pour donner l'acide tétrahydrofolique (figure 09) (Olaussen et Postel-Vinay, 2016).

Ces médicaments inhibent ces deux enzymes clés par des analogues structuraux qui ont plus d'affinité aux enzymes que l'acide folique par exemple : le *Méthotrexate*, le *Pémétréxed*. La cellule cancéreuse peut développer des mécanismes de résistance contre cette classe thérapeutique par une diminution de l'affinité de la DHFR, une surproduction de cette enzyme et une diminution du transport intracellulaire (figure 09) (Olaussen et Postel-Vinay, 2016).

➤ Les analogues nucléosidiques

Il existe deux types de médicaments les anti-puriques et les anti-pyrimidiques, après pénétration dans la cellule, ces substances vont être utilisées comme faux substrat et ceci va altérer la synthèse des bases soit par l'inhibition des enzymes ou bien ils s'incorporent comme de fausses bases. Le meilleur exemple est le 5-fluorouracile triphosphate (5-FU) qui se lie à la place de l'uracile et entraîne des erreurs dans la lecture du code génétique (Carol, 2017).

➤ Les hydroxyurées

Ceux sont des inhibiteurs de l'enzyme ribonucléotide réductase responsable de la formation des désoxy-ribonucléotides (Carol, 2017).

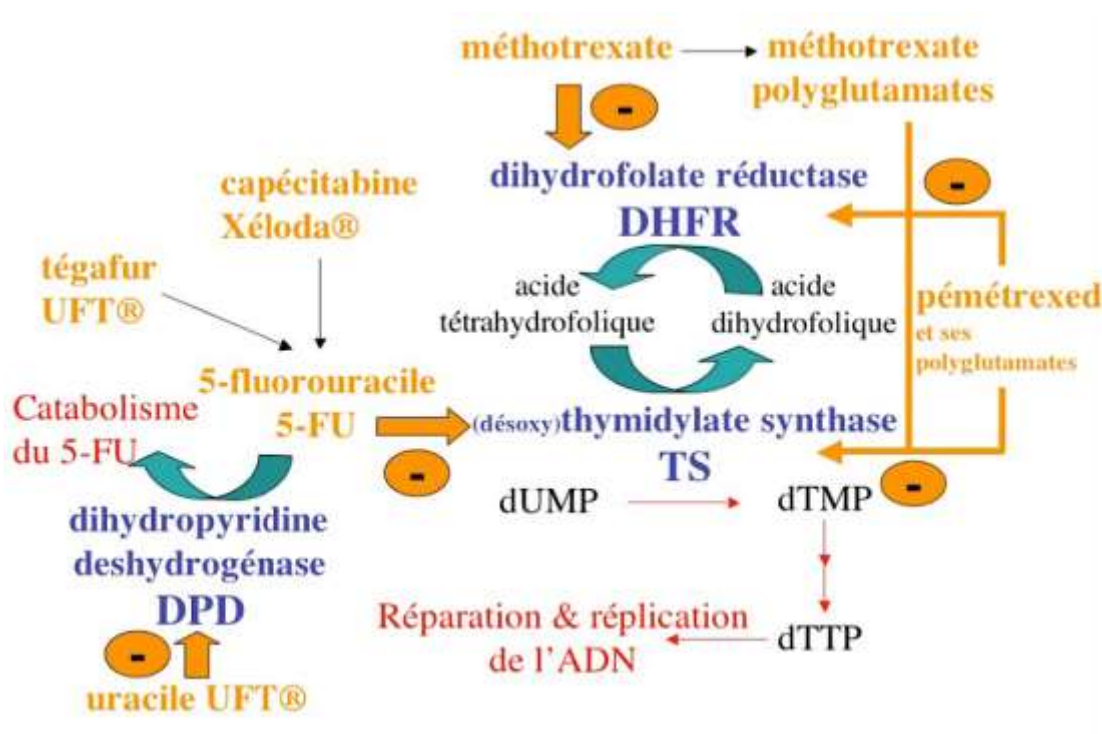


Figure 09 : Mécanisme d'action des antimétabolites. Voie métabolique de L'acide folique, généré suite à des réductions l'acide tétrahydrofolique par le biais de deux enzymes clés ; le TS et la dihydrofolate réductase (DHFR). La DHFR est bloquée par le méthotrexate alors que le TS est inhibé par les métabolites polyglutamates du méthotrexate et les métabolites actifs du 5 - fluorouracile (5-FU). La capécitabine et le ftorafur sont deux prodrogues orales du 5-FU. L'UFT (Uracile FTorafur) est associé à l'uracile et inhibe la dihydropyridine deshydrogénase (DPD) (Olaussen et Postel-Vinay, 2016).

1-3-3 Les médicaments ayant une action en « aval » du matériel génétique : Les antimétabolites ou poisons du fuseau mitotique

Ces médicaments bloquent les cellules en métaphase dont leurs cibles sont les microtubules qui forment le fuseau mitotique. Ils sont divisés en 2 sous-classes (figure 10) (Bianchi et al., 2012) :

➤ Les alcaloïdes de la Pervenche ou Vinca - alcaloïdes

Ces médicaments sont des antimétabolites qui vont agir sur la tubuline, ils inhibent sa polymérisation et désorganisent les microtubules, ceci va aboutir à un blocage de la mitose en métaphase (Bianchi et al., 2012).

➤ Les taxanes

Ces médicaments empêchent la rétraction du fuseau mitotique par l'inhibition de la dépolymérisation donc les microtubules restent rigides et polymérisés, ce blocage aboutit à la mort cellulaire (Bianchi et al., 2012).

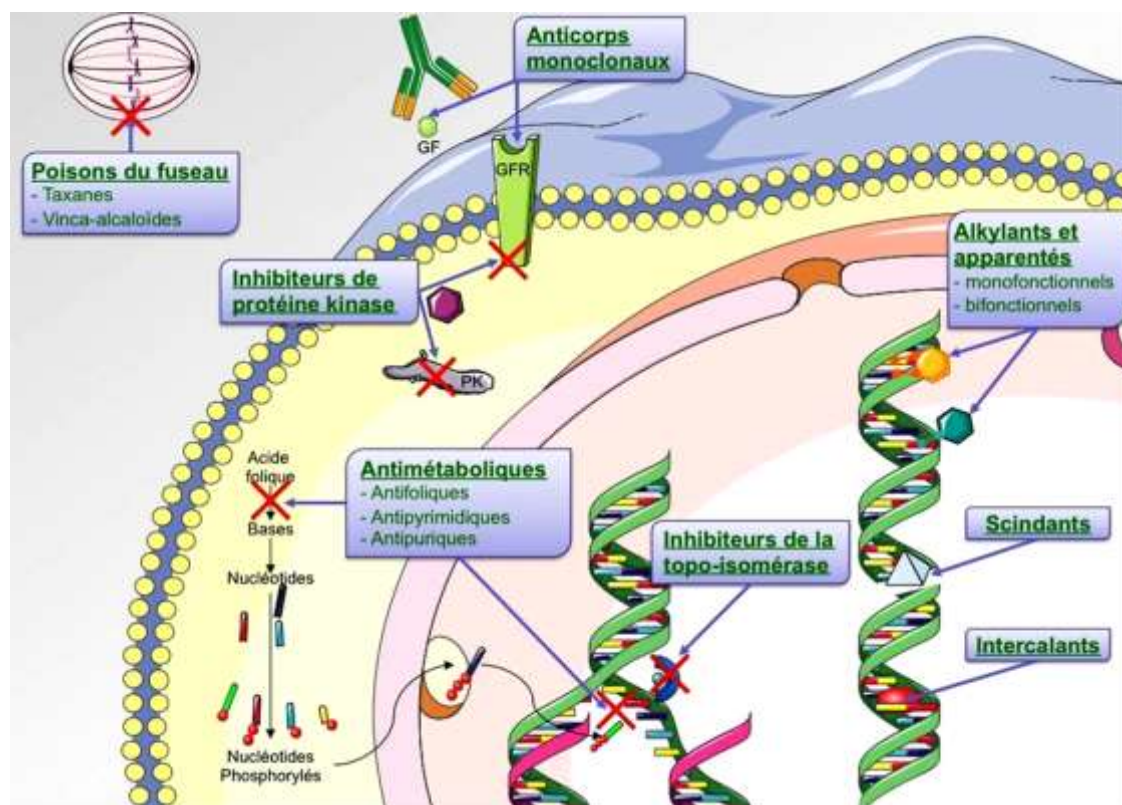


Figure 10 : Les différents mécanismes d'action de la chimiothérapie cytotoxique
(Pharmacomédicale org, 2021)

2- L'immunothérapie

2-1- L'immunothérapie dans la prise en charge des cancers

Le système immunitaire protège l'organisme de toutes les agressions. Il comprend deux types de réponses : innée et adaptative. Il est doté aussi d'un processus de contrôle continu en cas de développement de cellules tumorales par le biais des récepteurs sur la surface des cellules immunitaires qui sont appelées les points de contrôle comme les CTLA-4, PD-1 et LAG-3. Il arrive que les cellules cancéreuses puissent s'échapper à la reconnaissance par les lymphocytes T en détournant ces points de contrôle. C'est pour cette raison les chercheurs ont développé une nouvelle approche thérapeutique appelée l'immunothérapie (figure 11). L'immunothérapie est une gamme de traitements qui lutte contre le cancer et vise à stimuler le système immunitaire pour le rendre apte à détecter les cellules cancéreuses (Blay, 2017).

2-2- Réaction du système immunitaire face au développement de cellules tumorales : Le concept d'immunoédition

Lorsqu'un cancer commence à se développer, il va passer par trois phases ou ce qu'on appelle la théorie des trois E. La première phase est appelée **élimination** ou immunosurveillance où le système immunitaire va reconnaître les cellules cancéreuses et les éliminer, par l'activation des deux systèmes de défense immunitaires, une réponse innée due à l'inflammation provoquée par l'apparition des cellules tumorales qui va induire un recrutement des cellules NK³, NKT⁴, macrophages, cellules dendritiques (CDs), lymphocytes (T $\gamma\delta$) pour former la première ligne de défense, et une réponse adaptative impliquant des lymphocytes T CD4+ et T CD8+ (**Ghiringhelli, 2013**).

Quelques cellules tumorales vont persister malgré l'élimination et rentrent dans un état de dormance et deviennent cliniquement invisibles pour le système immunitaire. Elles vont développer un équilibre dynamique avec l'hôte d'où vient l'appellation de la deuxième phase : **l'équilibre**. Cette phase est très longue et se caractérise par l'acquisition des mutations génétiques qui vont mener à la troisième phase : **l'échappement** (**Ghiringhelli, 2013**).

Les cellules cancéreuses vont s'échapper à la réponse immunitaire par deux mécanismes. Soit par immunosélection (sélection des cellules tumorales non immunogène qui ont perdu leurs expressions du CMH de classe I et leurs antigènes tumoraux) ou bien par immunosubversion (mécanisme immunosuppresseur qui induit une tolérance du système immunitaire vis-à-vis du cancer) en exploitant des points de contrôles des cellules immunitaires et par conséquent désactive les lymphocytes T. cette phase favorise le développement de la tumeur (**Schreiber et al., 2011**).

2-3 - Réactivation de l'immunité contre le cancer.

La stimulation du système immunitaire est rendue possible grâce à l'immunothérapie anticancéreuse (figure 11) par différents mécanismes d'action qui vont contrer l'échappement des cellules cancéreuses (**Blay, 2017**).

³**Natural killer:** cellules capables de faire la différence entre une cellule saine et une cellule anormale et ont une activité cytotoxique.

⁴**Natural Killer T:** des cellules activées peuvent remplir des fonctions attribuées à la fois aux cellules T auxiliaires et aux cellules T cytotoxiques.

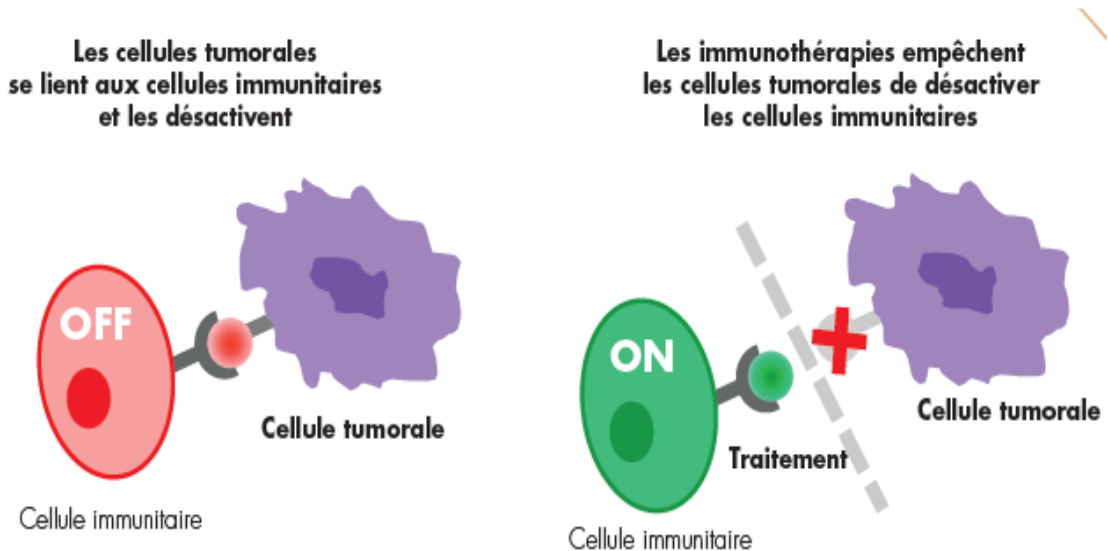


Figure 11 : Le fonctionnement de l'immunothérapie anticancéreuse
(Blay, 2017).

2-3-1 - La vaccination thérapeutique : dresser le système immunitaire contre une cible Précise.

Ce type de vaccin va aider le système immunitaire à être ciblé contre les cellules cancéreuses, ils sont constitués des fragments de cellules, d'antigènes ou de cellules immunitaires. Les chercheurs estiment aussi de concevoir un vaccin personnalisé pour chaque patient, il faut d'abord réaliser une analyse génétique de la tumeur pour détecter les mutations qui ont été responsables de l'apparition des néo-antigènes sur la surface des cellules cancéreuses, ensuite développer un vaccin spécifique qui va cibler ces protéines d'une manière efficace qui permette au système immunitaire de les reconnaître. Elle est utilisée aussi dans le cas où le cancer est d'origine virale (Maubrey, 2018).

2-3-2-La thérapie cellulaire : création des cellules immunitaires plus puissante

Appelé aussi transfert adoptif de cellules, elle consiste à prélever et sélectionner des lymphocytes T, les modifier au niveau du laboratoire et les réinjecter dans le patient. Il existe plusieurs approches qui sont en cours du développement (Blay, 2017).

La première s'appelle le transfert adoptif de lymphocytes T infiltrant (TIL pour tumor-infiltrating lymphocytes), cette méthode repose sur un prélèvement des LT à partir d'un

échantillon de tumeur du patient concerné puis une sélection des cellules les plus puissantes et les cultiver pour avoir un grand nombre de lymphocytes, et enfin les réinjecter (**E-cancer**).

Une méthode plus récente consiste à injecter des lymphocytes modifiés génétiquement in vitro, appelé **CAR-T** (cellules T porteuses d'un récepteur chimérique) (figure 12) ces récepteurs vont lui permettre de repérer les cellules cancéreuses, car ils sont spécifiques à l'antigène tumoral. (**Brudno, 2017**)

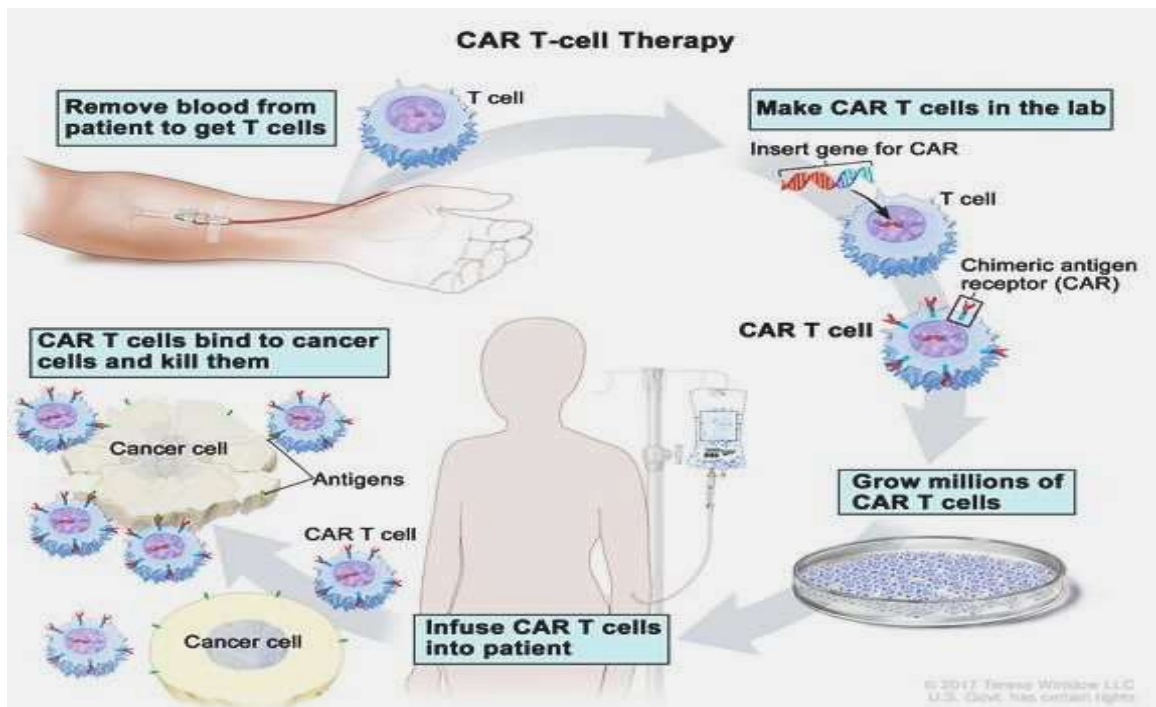


Figure 12 : Principe de la CAR-T cell therapy. Extraction et modification génétique (insertion de gène codant pour le récepteur CAR) des cellules T, à partir du sang du malade. Après culture, les cellules T modifiées sont réinjectées aux patients, une liaison avec les cellules cancéreuses sera observée (**Winslow, 2017**).

2-3-3 les anticorps inhibiteurs monoclonaux.

Les anticorps monoclonaux ont différentes cibles et différents mécanismes pour lutter contre le cancer, ils peuvent jouer le rôle d'attracteur de cytokines vers la tumeur, bloquer les signaux d'activation de prolifération cellulaire ou par une action directe cytotoxique. On cite les deux exemples suivants (**Carpentier, 2005**) :

Le bévacicumab est un anticorps monoclonal fabriqué par génie génétique dirigé contre le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) qui est un facteur de croissance angiogénique, dès que la liaison avec l'anticorps aura lieu (figure 13), il sera immobilisé et ces

récepteurs FLT-1 (VEGFR-1) et KDR (VEGFR-2) vont rester libres à la surface des cellules endothéliales. Ce qui va induire une régression des vaisseaux tumoraux et l'angiogenèse sera inhibée (Maubrey, 2018).

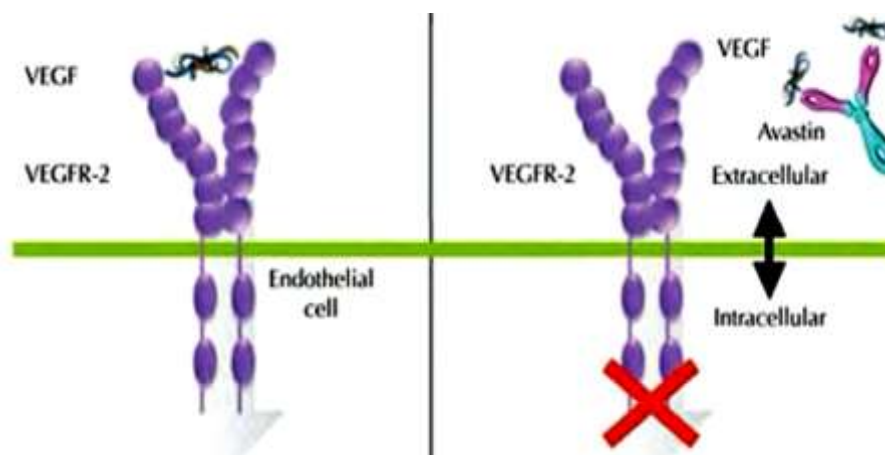


Figure 13 : Mécanisme d'action du bévacizumab. L'anticorps se lie avec le VEGF et le VEGFR-2 reste libre ce qui va inhiber l'angiogenèse (Source interne Roche, 2018).

Dans le cas du cancer du sein, la protéine HER-2 (human epidermal receptor 2) est surexprimée engendrant une division cellulaire excessive. Les chercheurs ont pensé à fabriquer des anticorps monoclonaux qui vont cibler cette protéine au niveau de son domaine extracellulaire et la bloquer, cet anticorps s'appelle le trastuzumab (Romond, 2005).

2-3-4 Les anticorps monoclonaux pour inhiber les points de contrôle du système immunitaire : restaurer les fonctions effectrices des LT

➤ Les anti-CTLA4

CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) est un récepteur situé à la surface des lymphocytes T qui joue le rôle d'un point de contrôle pour désactiver leurs réponses, il présente aussi une grande homologie structurale avec CD28 et il a plus d'affinité au corécepteur B7 chez les CPA, cette compétition va diminuer les réactions auto-immunes (Mccoy et LeGros, 1999).

La liaison CTLA4-B7 va déclencher une production d'un facteur inhibiteur par les CPA appelés IDO : Indolaminedioxygénase.

Pour les cellules cancéreuses, elles présentent aussi à leurs surfaces le récepteur B7 et donc on aura le même mécanisme d'inhibition, pour résoudre ce phénomène les chercheurs ont

développé un anti-CTLA4, qui va inhiber sa liaison avec le B7 et donc il restera libre pour le CD28 (figure 14), qui à son tour déclenche un signal d'activation pour les LT. La première molécule développée est appelée : ipilimumab (Mccoy et LeGros, 1999).

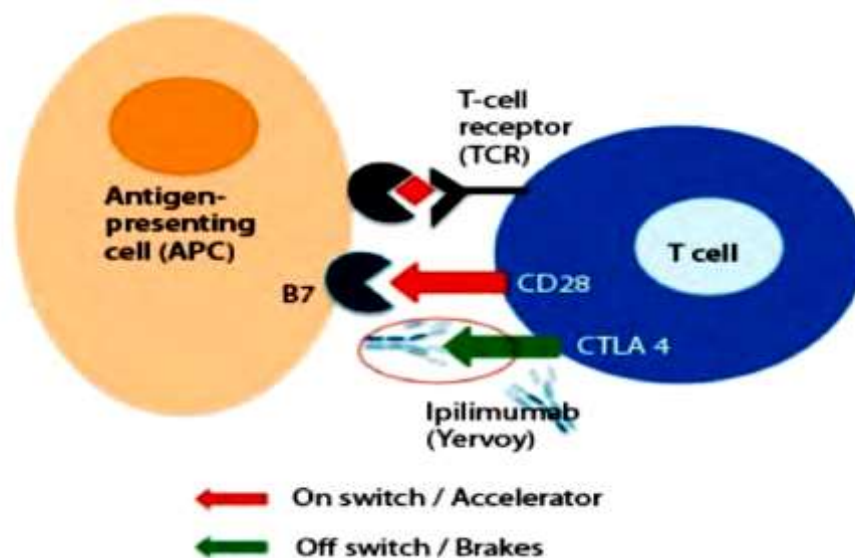


Figure 14 : Schéma des mécanismes de contrôle immunitaire - CTLA4. L'antécps va se lier avec le CTLA4 pour empêcher sa liaison avec le B7 et reste libre pour le CD28, et par conséquent, inhiber la désactivation des LT (Daniel, 2013).

➤ Les inhibiteurs du récepteur PD-1 et de son ligand PD-L1

La molécule PD-L1 (Programmed death-ligand 1) se trouve à la surface des cellules cancéreuses, elle a été développée pour inactiver la réponse immunitaire en se liant avec le récepteur PD-1 (Programmed cell Death protein 1) chez les cellules immunitaires.

Cette thérapie empêche la liaison entre le ligand PD-L1 et son récepteur PD1 pour empêcher la désactivation des cellules immunitaires (figure 15). C'est pour cela ils ont développé deux types d'anticorps qui ciblent le récepteur (anti-PD1) et le ligand (anti-PDL1) (Brahmer et al., 2013).

2-3-5 Immunothérapie des cancers par oligonucléotides immunostimulants

En 1984 les chercheurs ont découvert que l'ADN a des propriétés immunostimulantes lié à l'existence de motifs 5' -CG non méthylé de *Mycobacterium tuberculosis*, qui pouvait activer les cellules NK *in vivo* et *in vitro*, alors ils ont eu l'idée de synthétiser une telle séquence.

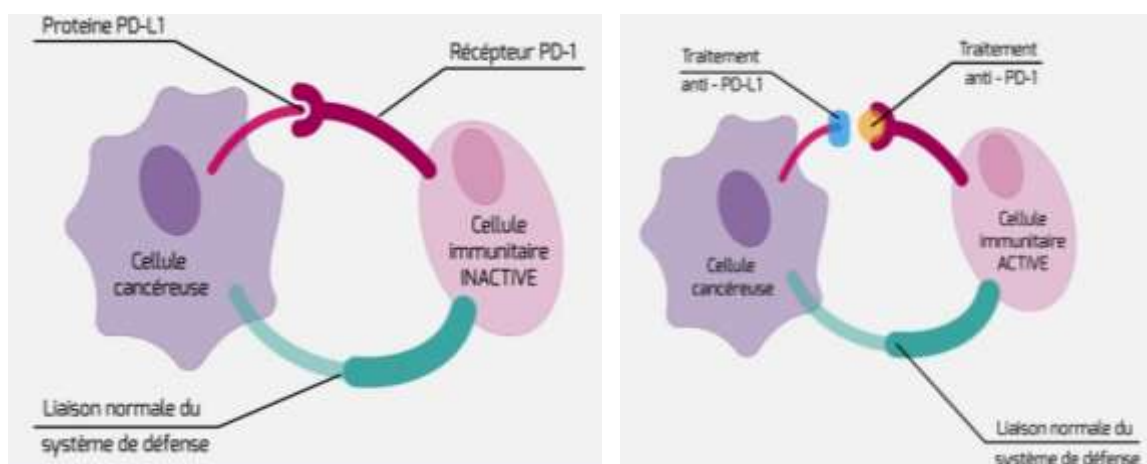


Figure 15 : exemple des traitements anti-PD-1 et anti-PD-L1. Ces anticorps vont empêcher la liaison entre le ligand PD-L1 et son récepteur PD1 pour empêcher la désactivation des cellules immunitaires (**Source E-cancer**)

Ces dinucléotides «CG» non méthylés sont les ligands synthétiques du TLR-9 et peuvent induire une activation des macrophages, des cellules Natural Killer (NK) et des lymphocytes B, et oriente la réponse lymphocytaire T vers le profil Th1. On distingue deux méthodes de traitements avec les CpG-ODN : utilisation seule par voie locale (immunisation *in situ*) ou en association avec des antigènes, des anticorps ou des cellules dendritiques (immunisation à distance) (**Carpentier, 2005**).

2-4 Perspectives

2-4-1 IDO inhibiteurs (epacadostat)

IDO ou bien Indolaminedioxygénase, c'est une enzyme produite par les cellules cancéreuses pour dégrader le tryptophane et comme les LT nécessitent cet acide aminé pour fonctionner d'une bonne manière, la diminution de sa concentration va influencer indirectement sur l'efficacité des LT. C'est pour cette raison, ils ont développé un inhibiteur pour bloquer l'IDO (**Mbongue, 2015**).

2-4-2 Virothérapie oncolytique

Lors des infections virales naturelles, les chercheurs ont observé une diminution dans la charge tumorale, à partir de cette coïncidence ils ont développé des virus avec un pouvoir thérapeutique en cancérologie en utilisant la technologie de l'ADN recombinant, le premier virus qui a obtenu son AMM (autorisations de mise sur le marché) est l'*adénovirus* recombinant et prochainement le talimogène laherparepvec appelé aussi T-VEC.

C'est un virus Herpes simplex de type 1 atténué (HSV-1) produit par délétion fonctionnelle de deux gènes (ICP34.5 et ICP47) et insertion de la séquence codant le facteur humain stimulant des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF) (**Zitvogel et al., 2014**).

Chapitre IV

Microbiote intestinal et chimiothérapie anticancéreuse

1- Le cadre du mécanisme TIMER

Une meilleure compréhension de la phramacomicrobiomique et des interactions hôte-chimiothérapie-microbiote conduit au développement d'une médecine personnalisée qui cible le microbiote intestinal, car il contribue à améliorer l'efficacité de la chimiothérapie, réduire sa toxicité et module l'action des médicaments chimiothérapeutiques et leur devenir (**Alexander et al., 2017**).

Pour mieux décrire les mécanismes par lesquels le microbiote intestinal peut moduler les résultats de la chimiothérapie, ceci par le biais d'un mécanisme appelé « TIMER » qui a été suggéré par Alexandre et al. En 2017 (figure 16) qui signifie Translocation, Immunomodulation, Métabolisme, dégradation enzymatique et Réduction de la diversité et de la variation écologique (**Alexander et al., 2017**).

1-1 Translocation

La chimiothérapie entraîne de nombreux effets secondaires sur le microbiote et la barrière intestinale, provoquant un raccourcissement des villosités intestinales, une accumulation focale de cellules inflammatoires et des lésions de la barrière muqueuse (la mucite), cette forte porosité et perméabilité intestinale va conduire par conséquent à la translocation qui est un passage des bactéries du microbiote vers la circulation sanguine et pénètre dans les organes lymphoïdes secondaires.

Ce passage va déclencher une réponse immunitaire pour lutter contre cette action, elle peut toucher les cellules cancéreuses et les détruire donc la tumeur est attaquée par les médicaments chimiothérapeutiques d'une façon directe et indirectement par la réponse immunitaire appelée aussi l'effet boostant des bactéries (**Alexander et al., 2017**).

1-2 Immunomodulation

L'immunomodulation est l'étape qui suit toujours la translocation transmuqueuse des bactéries dans les ganglions lymphatiques qui stimule la différenciation des cellules T-helper 17 (Th17) et des réponses immunitaires Th1 mémoire, entraînant une réponse immunologique adaptative antitumorale (**Montassier et al., 2015 ; Alexander et al., 2017**).

1-3 Métabolisme et dégradation enzymatique

Le microbiote intestinal a le pouvoir de métaboliser et transformer les médicaments chimiothérapeutiques d'une façon directe et indirecte par une large gamme de processus

métabolique comme la réduction, l'hydrolyse, la déshydroxylation, la désalkylation, etc. Ce potentiel peut conduire aux résultats souhaitables qui sont la facilitation de l'efficacité des médicaments ; abrogation et compromission des effets anticancéreux ; et médiation ou libération des composés toxiques après leur entrée dans l'intestin via le foie ou voies biliaires on prend l'exemple de l'irinotécan (CPT-11) (**Montassier et al., 2015, Alexander et al., 2017**).

1-4 Diversité réduite et variation écologique

La chimiothérapie menace la composition du microbiote, cette perturbation est appelée dysbiose. Elle peut induire un déséquilibre de la diversité de la flore intestinale associée à des effets secondaires qui est dus à une altération de l'excrétion biliaire et du métabolisme secondaire ou par l'utilisation d'antibiotiques et des modifications alimentaires (**Alexander et al., 2017**).

Une étude sur des rats traités par une chimiothérapie a démontré qu'ils ont développé une mucite et une réduction de la longueur des villosités, ces conséquences ont apparus après la modification de la composition du microbiote : une diminution des anaérobies (13 fois) et des streptocoques (296 fois) et une augmentation des Bacteroides (**Alexander et al., 2017**).

Une autre recherche effectuée cette fois sur des patients cancéreux ; après amplification et séquençage des gènes de l'ARNr 16S à partir d'échantillons fécaux avant et après la chimiothérapie. Ils ont constatés un développement d'une mucite chez tous les patients avec une augmentation des protéobactéries et des entérobactéries, une diminution de niveaux de Firmicutes et d'Actinobacteria et épuisement des taxons responsables de la diminution de l'inflammation par la modulation de la voie NF- κ B et par la production d'acides gras à chaîne courte (SCFA) (**Alexander et al., 2017**).

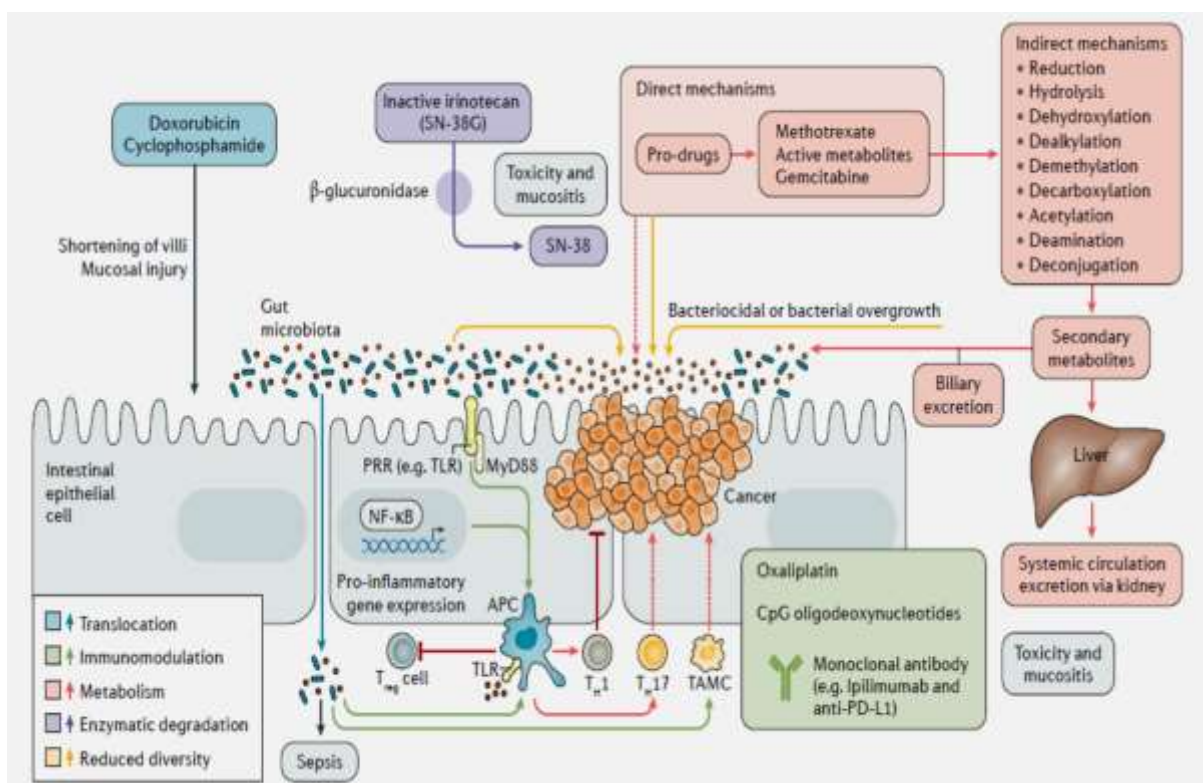


Figure 16 : Schéma TIMER présentant une vue d'ensemble des interactions entre le microbiote et l'hôte modulant l'efficacité et la toxicité des chimiothérapies. TIMER représente la Translocation, l'Immunomodulation, le Métabolisme, la dégradation enzymatique et Réduction de la diversité et de la variation écologique (Alexander et al., 2017).

2- Le microbiote intestinal et efficacité des chimiothérapies

2-1 Cyclophosphamide

Le microbiote intestinal a un impact sur l'efficacité du cyclophosphamide (CTX), c'est un agent alkyle cytotoxique appartenant à la famille des moutardes azotées, il est parmi les médicaments chimiothérapeutiques le plus utilisés cliniquement, car il a une propriété de stimuler les réponses immunitaires antitumorales autrement dite immunomodulatrices et anti-angiogéniques, selon une recherche effectuée par Viaud et al. (Viaud et al., 2013).

En 2013, les chercheurs ont constaté que le CTX dès qu'il sera activé il provoque une dysbiose et affecte l'intégrité de la barrière intestinale, qui va engendrer une translocation des bactéries commensales Gram positif dans les ganglions lymphoïdes secondaires. Ces bactéries sont *Lactobacillus johnsonii* et *Enterococcus shirae* qui favorisent l'activation du système immunitaire en stimulant la différenciation des cellules T-helper 17 (Th17) qui entraînent une réponse immunologique adaptative antitumorale et des lymphocytes mémoires de polarité Th1 (Viaud et al., 2013).

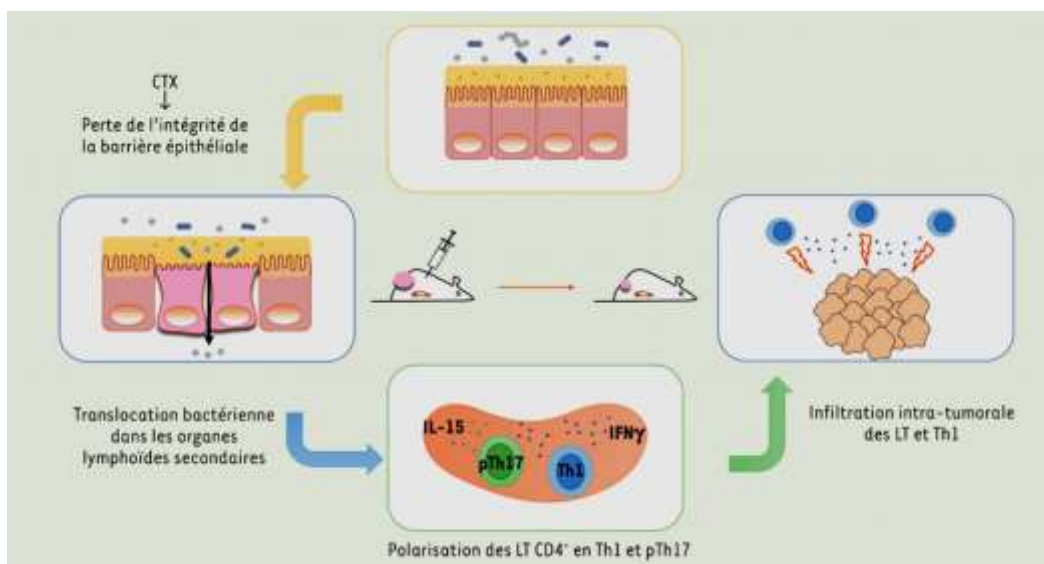


Figure 17 : Mécanisme d'action de la flore intestinale dans l'efficacité antitumorale du cyclophosphamide. Le CTX affecte l'intégrité de la barrière intestinale et provoque une translocation bactérienne dans les organes lymphoïdes secondaires qui favorisent l'activation du système immunitaire et la différenciation des cellules T-helper 17 (Th17) et Th1 (Vétizou et al., 2016).

Pour prouver cette translocation bactérienne dans les organes lymphoïdes secondaires, une expérience a été menée par Viaud et son équipe sur des souris porteuse d'un cancer, et traité par le CTX. Après 48 h les ganglions lymphatiques mésentériques (mLN) et les cellules spléniques (Spleen) de ces souris ont été cultivées dans des conditions aérobies et anaérobies, les colonies ont été dénombrées et identifiées par spectrométrie de masse (figure 18).

D'autres essais sur deux groupes de souris, un groupe témoins (Co) qui n'a pas été traité et le deuxième qui a subi un prétraitement de 3 semaines avec de l'ATB à large spectre (la vancomycine), donc leurs microbiotes seront déséquilibrés. Ensuite ils ont été inoculés avec des mastocytomes (jour 0), traitées au jour 6 avec du CTX (flèche) et la croissance tumorale a été surveillée. La cinétique de croissance tumorale est illustrée (figure 19).

Les résultats ont montré que le CTX n'est plus efficace et leurs tumeurs étaient résistantes au traitement, avec une absence totale d'accumulation des Th17 et Th1 observé dans les organes lymphoïdes, mais l'administration de *lactobacillus johnsonii* et *Enterococcus hirae* a restauré l'efficacité du CTX chez les mêmes souris (Viaud et al., 2013).

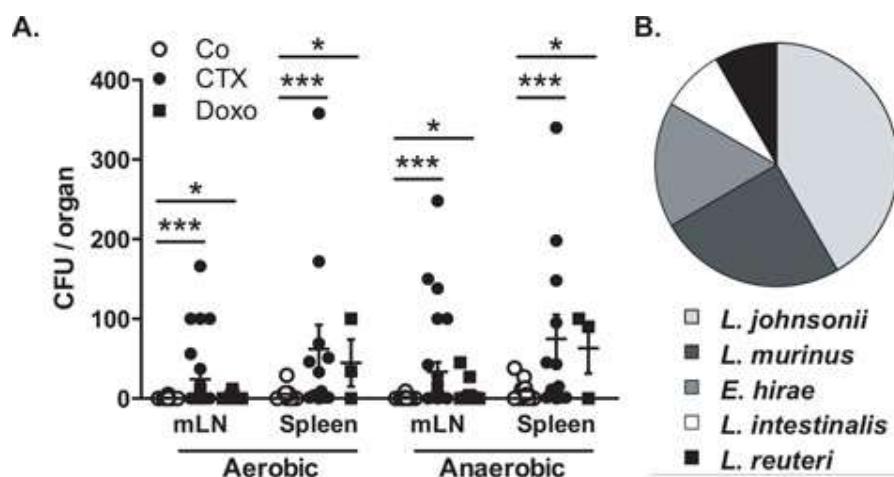


Figure 18 : (A) la variation du nombre des colonies cultivées à partir des ganglions lymphatiques mésentériques (mLN) et les cellules spléniques en fonction de leurs types respiratoires (B) les différentes bactéries identifier par spectrométrie de masse. 48 heures après l'injection de CTX ou Doxo⁵, les ganglions lymphatiques mésentériques (mLN) et les cellules spléniques de souris naïves ont été cultivés dans des conditions aérobie et anaérobies et les colonies ont été dénombrées de chaque souris témoin (Co), traitée avec CTX ou Doxo et identifiée par spectrométrie de masse (Viaud et al., 2013).

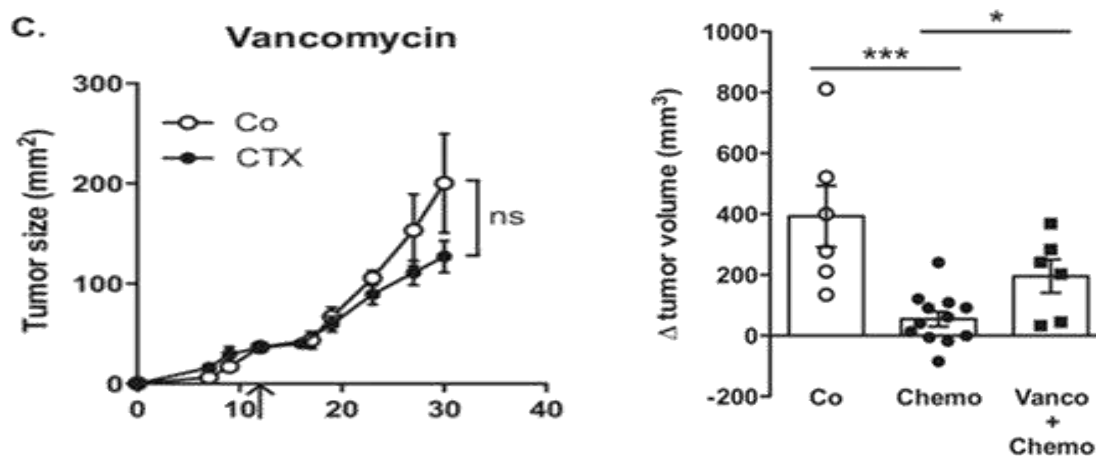


Figure 19 : Les variations du volume de la tumeur en fonction du CTX et/ou en présence de vancomycine. (C) Après un conditionnement de 3 semaines avec de la vancomycine, des souris ont été inoculées avec des sarcomes (jour 0), traitées aux jours 12-15 avec du CTX (flèche) et la croissance tumorale a été surveillée. (D) une chimiothérapie à base de CTX a été appliquée à des souris n'ayant reçu qu'une chimiothérapie (« Chemo ») ou celles ayant reçu en parallèle de la vancomycine (« Chemo + Vanco »). Un groupe témoin n'a pas été traité ("Co"). Les données montrent l'évolution des volumes totaux de tumeurs évalués (Viaud et al., 2013).

⁵ **Doxo** : Doxorubicine type de chimiothérapie

Une autre étude qui complète la précédente et montre que *E. hirae* déplaçait de l'intestin vers les organes lymphoïdes secondaires augmente le rapport CD8/Treg intratumoral, *Barnesiella intestinihominis* une autre bactérie qui s'accumule dans le colon et favorise l'infiltration des cellules $\gamma\delta$ T producteurs des d'IFN- γ dans les lésions cancéreuses. En revanche la bioactivité de ces deux bactéries a été limitée à cause du récepteur NOD2 (**Daillère et al., 2016**).

2-2-l'Oxaliplatine.

L'oxaliplatine est une substance utilisée pour traiter les cancers colorectaux, il a un pouvoir cytotoxique basé sur la formation des adduits d'ADN de platine et des liaisons croisées intrabrin qui bloquent la réplication de l'ADN, en plus il stimule la réponse immunitaire antitumorale des cellules T comme pour le CTX. D'après l'étude de Iida et al. L'efficacité de l'oxaliplatine dépend du microbiote en modulant la production des ROS par les cellules myéloïdes par le mécanisme de signalisation TLR4-MYD88 (myeloid differentiation primary response gene 88), qui va entraîner un stress oxydatif élevé et provoque par la suite la mort des cellules cancéreuses en endommageant l'ADN (**Hekmatshoar et al., 2019**).

Pour prouver que le microbiote est essentiel pour l'efficacité de l'oxaliplatine, un essai a été entamé sur deux types de souris porteuses du cancer colorectal sous cutané, divisées en 3 groupes, un dépourvu du microbiote et le deuxième traité avec un cocktail d'antibiotique (ABX) composé de vancomycine, d'imipénem et de néomycine, le dernier alimenté que par l'eau. La production de ROS mesurée in vivo par bioluminescence (figure 20), un des résultats de l'effet antitumoral de l'oxaliplatine étaient faible ceci est dû à l'absence du microbiote (**Iida et al., 2013**).

2-3 Gemcitabine.

Les bactéries résidentes dans le corps humain peuvent influencer et affecter l'efficacité des chimiothérapies positivement (en l'augmentant) ou bien négativement (en la réduisant). Ces effets sont dus au pouvoir du microbiote à biotransformer les molécules chimiothérapeutiques par ces propres enzymes endogènes. Une équipe de Lehouritis et al. a examiné l'efficacité de 30 médicaments *in vitro*. Parmi les, on s'intéresse aux résultats de la gemcitabine, qui est une molécule classée parmi les antimétabolites plus précisément dans les analogues nucléosidiques, ils ont observé que lorsque cet agent est injecter chez des souris porteuses de tumeurs soit seul ou en présence avec *E. coli*. Les résultats démontrés sur la figure 21 (en vert et en bleu) prouvent que la toxicité et l'efficacité de la gemcitabine

diminuent envers les cellules tumorales que ce soit in vitro ou bien in vivo en présence d'*E. coli* (Lehouritis et al., 2015).

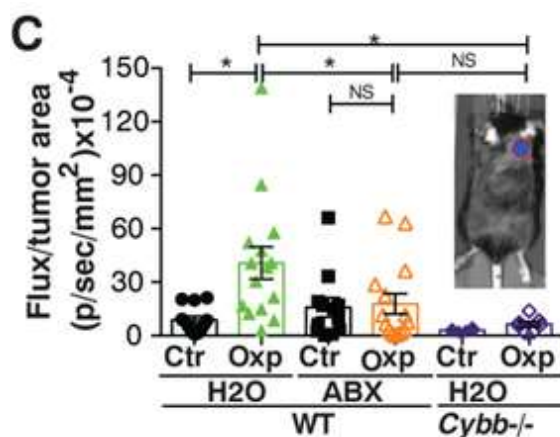


Figure 20 : Les variations du volume de la tumeur en fonction de l'oxaliplatine avec une antibiothérapie. Production de ROS 24 heures après l'injection d'oxaliplatine dans des tumeurs sous-cutanées de souris de type sauvage (WT) traitées par H₂O ou ABX et de souris ⁶Cybb ^{-/-} a été mesurée in vivo par bioluminescence représentée avec une zone tumorale marquée en rouge (Iida et al., 2013).

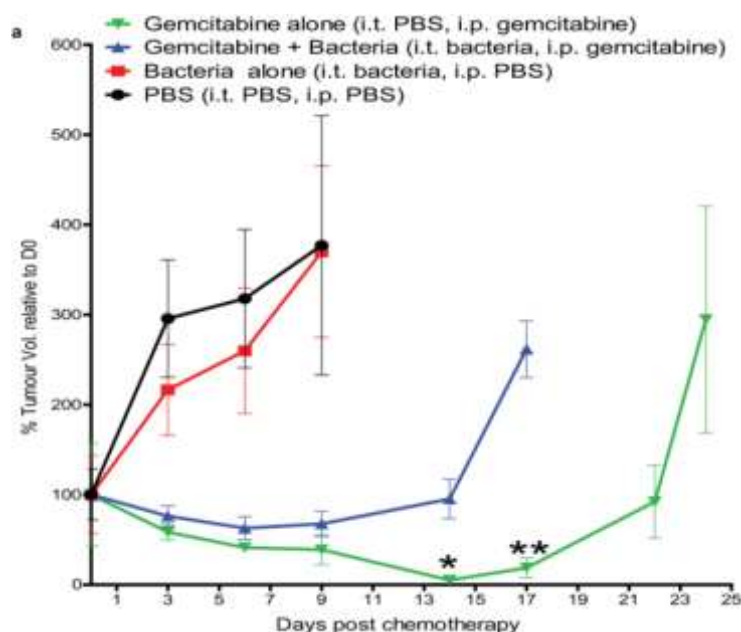


Figure 21 : le volume de la tumeur en fonction de la thérapie avec la gemcitabine. Le volume tumoral (%) par rapport au premier jour d'injection de gemcitabine (jour 0) est indiqué pour la gemcitabine seule versus gemcitabine + bactéries (Lehouritis et al., 2015).

⁶ **Cybb** ^{-/-} : souris dépourvue du gène *Cybb* codant pour une protéine appelée cytochrome b-245, elle est une sous-unité d'un groupe de protéines qui forme un complexe enzymatique appelé NADPH oxydase, qui joue un rôle essentiel dans le système immunitaire

Une analyse HPLC et spectrométrie de masse a été effectuée sur la molécule de la gemcitabine après son injection dans le corps, ils ont démontré une modification de sa structure chimique (figure 22) par une acétylation bactérienne qui peut être un des facteurs influençant l'efficacité de la gemcitabine (Lehouritis et al., 2015).

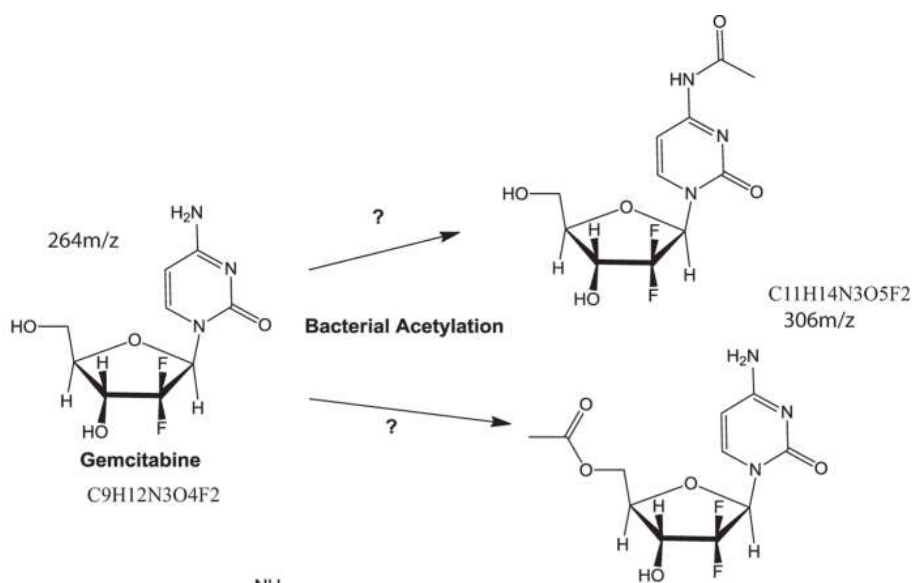


Figure 22 : La structure de la gemcitabine basée sur l'analyse par spectrométrie de masse. Prédiction de la structure des médicaments et dérivés basée sur l'analyse par spectrométrie de masse et Illustrations hypothétiques de structures basées sur l'analyse de la composition élémentaire et l'ajustement de la masse atomique des pics HPLC de médicaments ou de dérivés de médicaments après co-incubation avec des bactéries (Lehouritis et al., 2015).

Une autre équipe démontre que la gemcitabine provoque une dysbiose dans l'intestin des souris traitées par ce médicament. Il fait augmenter le taux des protéobactéries (*Escherichia coli* et *Aeromonas hydrophila*) de 15 à 32 % et des Verrucomicrobia qui dégradent le mucus (*Akkermansia muciniphila*) de 5 à 33 %, cette augmentation a remplacé la diminution de Firmicutes à Gram positif (d'environ 39 à 17 %) et de Bacteroidetes à Gram négatifs (de 38 à 17 %) qui sont les deux phylums dominants dans l'intestin. La voie NF- κ B a été aussi trouvée activée dans les tissus cancéreux de souris traitées à la gemcitabine (Panebianco et al., 2018).

3- Microbiote et toxicité des chimiothérapies

Le métabolisme bactérien des médicaments conduit à la production des métabolites toxiques comme cité dans la partie du TIMER et on va détailler l'exemple de l'irinotecan (Wallace et al., 2010).

3-1- L'irinotecan

Le chlorhydrate d'irinotecan (CPT-11) est un agent chimiothérapeutique classé avec les inhibiteurs des topoisomérases utilisé principalement pour traiter les cancers colorectaux et généralement tous types de cancers solides, mais cette prodrogue a des effets secondaires qui vont limiter et empêcher l'intensification de la dose sur tout dans les cas graves. En premier lieu il faut d'abord comprendre d'où vient cet effet indésirable qui est une diarrhée sévère chez les patients ensuite chercher la solution pour contrer et prévenir ces effets (**Wallace et al. 2010**).

Le CPT-11 est pris par voie intraveineuse, ensuite transformé en sa forme active SN-38 par les carboxylestérases (CE) (figure 23), pour exercer son effet anticancéreux. Après il va s'inactiver dans le foie par glucuronidation en SN-38G par les enzymes UDP-glucuronosyl-transférase (UGT), cette forme est excrétée par la voie biliaire dans le tractus gastro-intestinal pour qu'elle soit éliminée. Dès que le SN-38G sera dans l'intestin il va être ciblé par les bactéries pour utiliser le glucuronide comme source de carbone, il va être le substrat des enzymes β -glucuronidases secréter par le microbiote. Cette dégradation enzymatique va réactiver encore une fois ce métabolite et produire le SN-38 dans l'intestin qui génère une diarrhée et d'autres effets nuisibles (**Panebianco et al., 2018**).

Pour inhiber ces effets secondaires et éviter la réactivation de l'irinotecan au niveau de l'intestin, les chercheurs ont d'abord établi la structure des β -glucuronidases afin de pouvoir développer des inhibiteurs qui bloquent leurs activités, et les donner en association avec le CPT-11 pour avoir moins de toxicité et plus d'efficacité chimiothérapeutique, ou bien l'utilisation d'antibiotiques pour réduire les niveaux de bactéries gastro-intestinales avant le traitement CPT-11 cependant, cette approche présente plusieurs inconvénients (**Wallace et al., 2010**).

4- Microbiote et chimiorésistance

La chimiothérapie provoque une dysbiose qui par son tour engendre une chimiorésistance. Par exemple la bactérie *Fusobacterium nucleatum* (Fn) provoque le CCR, elle a un impact sur le traitement par le 5-fluorouracile en développant une résistance contre lui, son mécanisme d'action est lié avec l'activation et la régulation positive de BIRC3 (Baculoviral I.A.P. repeat-containing protein3), un membre de la famille IAP qui peut inhiber l'apoptose, en inhibant directement la cascade des caspases (une famille d'enzymes de protéase) et favorise la survie des cellules tumorales. Donc la Fn et le 5 -Fu ont des actions opposées.

Pour réduire la chimiorésistance au 5 -Fu on peut cibler F n et BIRC3 (Zhang et al., 2019).

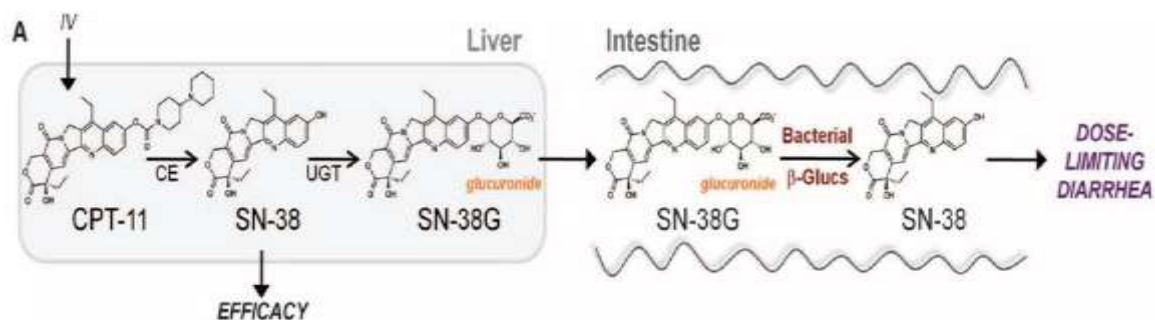


Figure 23 : Métabolisme du CPT-11 à travers ses différentes phases de biotransformation : Activation, inactivation et son interaction avec les β -glucuronidases du microbiote. Le CPT-11 administré par voie intraveineuse est activé par les carboxylestérases (CE) en SN-38, un poison antinéoplasique de la topoisomérase I. Dans le foie SN-38 est inactivé par glucuronidation en SN-38G par les enzymes UDP-glucuronosyltransférase (UGT) et envoyé aux intestins. Les β -glucuronidases (β -glucs) dans les bactéries gastro-intestinales symbiotiques éliminent le glucuronide en tant que source de carbone, et le SN-38 actif dans la lumière intestinale génère une diarrhée (Wallace et al., 2010).

F. nucleatum cible la signalisation immunitaire innée TLR4 et MYD88 et des microARN spécifiques pour activer la voie de l'autophagie et modifier la réponse chimiothérapeutique du cancer colorectal. Ainsi, il orchestre un réseau moléculaire du récepteur de type Toll, des micro-ARN pour contrôler cliniquement, biologiquement et mécaniquement la chimiorésistance au cancer colorectal (Yu et al., 2017).

Chapitre V

Microbiote intestinal et immunothérapie anticancéreuse

1-Impact de microbiote sur la réactivation du système immunitaire par l'administration intratumorale de cytosine-phosphate-guanine (CPG)

Le traitement par les CPG est déjà détaillé (voir chapitre3), ces propriétés immunostimulantes induisent une production de cytokines inflammatoires (TNF et IL-12) par les cellules myéloïdes, et des réponses immunitaires de type TH1, empêchent la croissance tumorale par la production de TNF par les cellules myéloïdes associées aux tumeurs (**Vétizou et al., 2016**).

Iida et al. ont effectué des études précliniques sur des souris traitées par un cocktail d'antibiotique (ABX), et/ou sans germes, avant 3 semaines de l'inoculation de : lymphome EL4, d'un carcinome du côlon MC38, et le mélanome B16, après l'administration sous-cutanée des CpG-ODN, ils observent une stimulation d'une réponse immunologique d'éradication des tumeurs chez les souris témoins. Par contre chez les souris qui ont subi une antibiothérapie, le taux de survie et d'induction du TNF ont été significativement réduites. Donc les antibiotiques altèrent l'immunothérapie à base de CpG-ODN, car ils vont altérer le microbiote qui a un rôle crucial et une grande importance dans l'amélioration de l'efficacité des CPG (**Iida et al., 2013**).

Une administration orale d'une espèce bactérienne connue par son effet positif sur la réponse des CPG, avec une neutralisation du récepteur à l'IL (interleukine)-10 dans les souris traitées par ABX, ils ont trouvé que la production de TNF et de monoxyde d'azote NO qui vont entrainer une nécrose de la tumeur est restaurée (figure24) ceci dépend de *Alistipes shahii* et du TLR4. par contre l'administration de *L. fermentum* atténue la réponse (**Hekmatshoaret al., 2019**).

2- Rôle du microbiote intestinal dans l'efficacité d'un anticorps anti-CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4).

L'immunothérapie par les anticorps qui ciblent les points de contrôles immunitaires a été utilisée avec succès, mais leurs pouvoirs dépendent de la présence des espèces de *Bacteroides* (*Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides fragilis*) et *Burkholderia cepacia* qui induisent une réponse immunitaire Th1. Pour le prouver, un traitement par anti-CTLA4 a été effectué sur des tumeurs chez des souris axéniques ou bien traité par des antibiotiques à large spectre, le résultat était négatif et ils n'ont pas répondu au blocage de cet anticorps, mais l'efficacité de l'ipilimumab est restaurée après le gavage de *B. fragilis* (**Vétizou et al., 2015**).

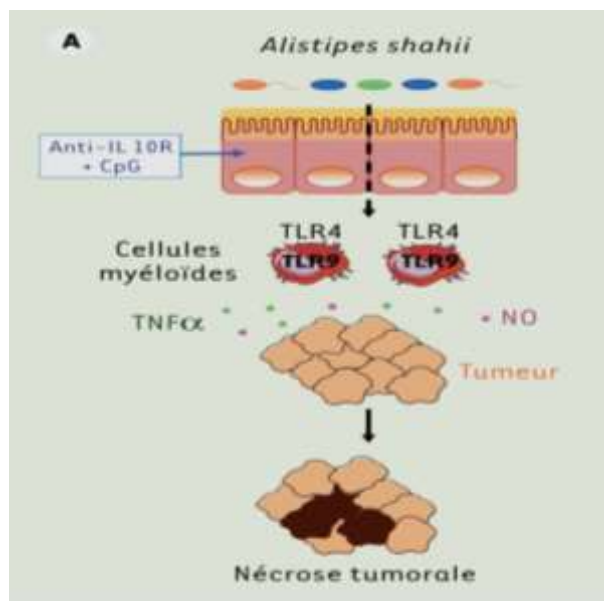


Figure 24 : Impact du microbiote intestinal sur l'efficacité du traitement par les CpG. L'administration de *Alistipes shahii* avec une neutralisation du récepteur à l'IL10 chez des souris traitées par les CpG, vont restaurer la production de TNF et de monoxyde d'azote NO qui vont entraîner une nécrose de la tumeur (Vétizou et al., 2016).

La transplantation microbienne fécale des patients cancéreux traités avec l'anti-CTLA4 à des souris axéniques a révélé une corrélation inverse entre tailles de la tumeur et quantité de *B. fragilis*. Ils ont conclu alors que le traitement par anti-CTLA4 favorisait la croissance de *B. fragilis*. Une étude complémentaire par Dubin et al., montre que cette croissance accrue des bactéries appartenant au phylum Bacteroidetes provoque un développement d'une colite, et même l'absence des voies génétiques impliquées dans le transport des polyamines et la biosynthèse de la vitamine B est associée à ce risque (Dubin et al., 2016).

3- Rôle de microbiote dans l'efficacité du blocage impliquant l'axe programmed cell death ligand 1 (PD1/PDL1).

Le microbiote affecte l'activité immunothérapeutique telle que les anticorps monoclonaux anti-PD-1/PD-L1. une étude effectuée sur deux souris de la même lignée avec un fond génétique similaire (C57BL/6), mais provenant de deux fournisseurs différents Jackson Laboratory (JAX) et Taconic Farms (TAC) donc ils auront des microbiotes différents selon leurs environnements au cours de l'élevage, ensuite les faire implanter par des tumeurs en sous cutané et comparer sa croissance (Sivan et al., 2015).

Ils ont constaté que les souris JAX ont une réponse immunitaire plus élevée et que la croissance tumorale est moins agressive que chez les TAC (figure 25 A), pour confirmer cette différence un co-hébergement est réalisé entre les JAX et TAC. Le résultat était la suppression de la différence de la croissance tumorale entre les deux (figure 25 E). Les souris TAC ont bénéficié d'un meilleur contrôle tumoral, ce résultat est probablement dû à une acquisition du phénotype JAX par les TAC ceci par un transfert du microbiote par coprophagie, cette hypothèse a été vérifiée par une transplantation fécale des JAX à des TAC par voie orale et ils ont eu le même résultat (Sivan et al., 2015).

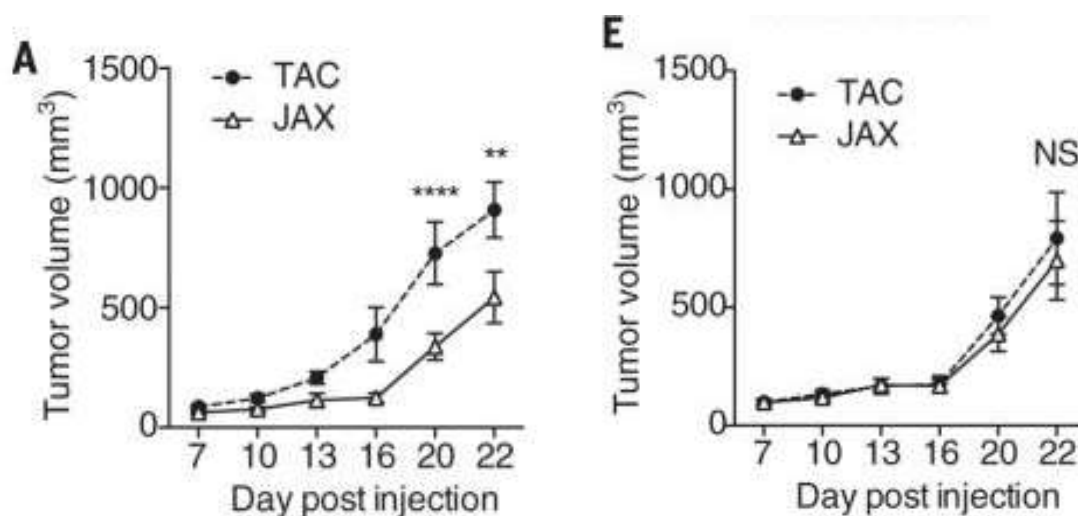


Figure 25 : la variation du volume de la tumeur en fonction de l'injection de l'anti-PD1/PDL1 dans les souris TAC et JAX (A) souris séparées (E) souris co-hébergées. (A) Cinétique de croissance tumorale chez les souris JAX et TAC nouvellement arrivées sont différentes. (E) Les différences dans la croissance du mélanome et les réponses immunitaires spécifiques à la tumeur entre les souris JAX et TAC sont éliminées lorsque les souris sont co-hébergées pendant 3 semaines (Sivan et al., 2015).

Les deux souris ont été traitées par les anti-PDL1, l'efficacité de la thérapie était plus élevée chez les JAX. Ces résultats suggèrent que le microbiote module l'immunothérapie du cancer, pour cette raison ils ont réalisé une analyse par pyroséquençage de l'ADN 16S de la matière fécale des deux souris, pour identifier les bactéries spécifiques responsables à ces réponses immunitaires antitumorales améliorées, le résultat était la présence de trois espèces *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* et *Bifidobacterium adolescentis*. Le traitement des souris TAC par gavage d'un cocktail de *Bifidobacterium* spp., l'efficacité de l'immunothérapie est restaurée (Sivan et al., 2015).

Les patients traités par des antibiotiques avant l'immunothérapie ont inhibé le bénéfice clinique des anti-PD1/PDL1. Un transfert de la matière fécale des patients répondeurs aux traitements à des souris sans germes porteuses de tumeurs a amélioré les effets antitumoraux du blocage de PD-1/PD-L1 contrairement aux patients non répondeurs, la métagénomique des selles de ces patients a démontré une abondance d'*Akkermansia muciniphila*. (Routy et al., 2018 ; Messaoudene et al., 2018).

Pour déterminer spécifiquement le rôle de cette bactérie, un gavage oral de cette dernière avec une transplantation fécale (FMT) des patients non répondeurs aux traitements chez des souris sans germes a restauré l'efficacité du traitement (figure 26). Tous ces résultats soulignent l'importance et le rôle de microbiote à améliorer tous les types des traitements antitumoraux. (Routy et al., 2018 ; Messaoudene et al., 2018).

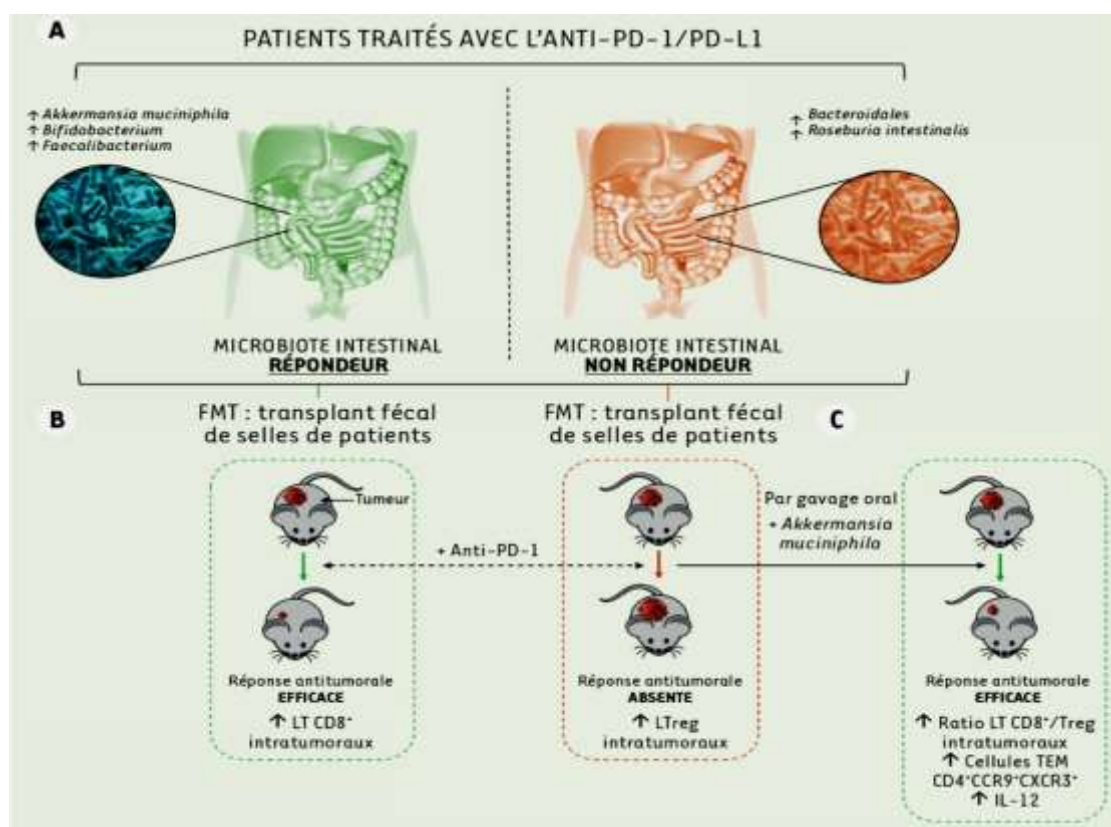


Figure 26 : La composition du microbiote intestinal influence la réponse clinique aux anti-PD1/PDL1. (A) Le microbiote intestinal des patients répondeurs aux traitements avec l'anti PD-1/PDL1 est composé d'*Akkermansia muciniphila* principalement et de *Bifidobacterium*, par contre chez les patients non répondeurs elles sont absentes. (B) une transplantation fécale de selles des patients répondeurs à des souris sans germes et porteuses de tumeurs, traités par l'anti-PD1 donne une réponse antitumorale efficace, par contre avec les selles des patients non répondeurs on remarque l'absence de la réponse antitumorale et une augmentation du volume tumoral. (C) gavage oral d'*Akkermansia muciniphila* aux souris non répondeuses au traitement restaure l'efficacité antitumorale (Messaoudene et al., 2018).

4- Microbiote intestinal, immunothérapies et toxicités

L'anti-CTLA4 développe une toxicité et des événements indésirables liés au système immunitaire (irAE) qui touchent la peau (des éruptions cutanées), une colite associée à l'absence d'une signalisation impliquée dans le transport des polyamines et de la biosynthèse de vitamine B démontré par Dubin et al., une hypophysite, une hépatite, une pancréatite, une iridocyclite, une lymphadénopathie, des neuropathies et une néphrite. Mais le microbiote peut protéger l'hôte contre cette toxicité (**Weber et al., 2012**).

Chapitre VI

Modulation du microbiote intestinal pour booster la thérapie anticancéreuse

1- Notion d'oncomicrobiotique

La composition du microbiote peut être manipulée pour améliorer les résultats thérapeutiques anticancéreux via l'administration des oncomicrobiotiques qui sont des bactéries immunogènes encapsulées, vivantes ou atténuées, sous forme de pré-, de probiotiques ou de métabolites bactériens, aussi par la greffe fécale (transplantation du microbiote d'un individu sain dans le tube digestif du malade). Ces stratégies vont corriger la dysbiose provoquée par le traitement et assurer aux patients une meilleure qualité de vie tout au long de la thérapie **(Biocodex microbiota institute) (Choukroune, L 2020)**.

2- le potentiel antitumoral des stratégies biotiques.

2-1 les probiotiques

Les probiotiques selon la définition de la FAO et l'OMS sont « des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte » utilisé en tant que compléments alimentaires ou médicaments **(Panebianco et al., 2018)**.

Ils ont des propriétés bénéfiques pour la santé, renforcent notre armée intestinale par la production de facteurs antimicrobiens (tels que H₂O₂, bactériocines, défensives, acides gras à chaîne courte), la concurrence pour l'adhérence et les éléments nutritifs des microorganismes pathogènes, la dégradation des toxines, la régulation des activités enzymatiques dans le côlon, et l'activation de la réponse immunitaire, réduisent les effets secondaires associés au traitement du cancer. Généralement les probiotiques sont constitués des bactéries lactiques tels que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* et même des levures *Saccharomyces* **(Panebianco et al., 2018)**.

Des études cliniques étaient réalisées pour voir le potentiel des probiotiques à améliorer la toxicité des chimiothérapies, Bowen et al. ont administré un mélange de probiotiques VSL#3 constitués de *Streptococcus thermophile*, *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, chez des souris cancéreuses traitées avec l'irinotécan et ils ont constatés que la diarrhée et la perte de poids étaient réduites **(Bowen et al., 2007)**.

Plusieurs études ont abouti au même résultat qui est l'amélioration de la mucite intestinale chez les Souris traitées avec le 5-FU après une supplémentation de *L. rhamnosus* GG,

Lactobacillus casei variety *rhamnosus* et *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus* TH-4. La souche Yakult de *Bifidobacterium breve* minimise la perturbation du microbiote et améliore l'environnement intestinal en gardant le pH en dessous de 7,0 il s'est avéré que même les symptômes extra-intestinaux de la chimiothérapie peuvent être éliminés. Pour résumer, les probiotiques sont efficaces pour prévenir les effets secondaires de la chimiothérapie (**Osterlund et al., 2007 ; Wada et al., 2010**).

Une autre étude donne l'information sur le mécanisme de modulation du microbiote par les probiotiques, en administrant un cocktail de probiotiques appelé Prohep chez des souris porteuses de carcinomes hépatocellulaires (**Li et al., 2016**).

Les résultats ont démontré un ralentissement de la croissance tumorale par la diminution de la fréquence des cellules Th17 productrices d'IL17 et favorisent la différenciation des cellules Treg/Tr1 anti-inflammatoires, un enrichissement de la flore intestinale par des bactéries bénéfiques qui sont capables de produire des métabolites anti-inflammatoires et de réduire la polarisation Th17 : *Prevotella* et *Oscillibacter* (**Li et al., 2016**).

2-2 les prébiotiques

Les prébiotiques sont des oligo- ou polysaccharides alimentaires non digestibles dont leurs rôles sont de stimuler de manière sélective la croissance, l'implantation ou l'activité de microorganismes bénéfiques dans le microbiote intestinal (**Gibson et al., 2017**).

D'après les études du professeur Hillon, qui ont montré des résultats encourageants. Ces études consistent à administrer sous forme d'au moins 5 yaourts par semaine, chez une cohorte italienne de 45 000 personnes, le prébiotique *Lactobacillus Casei* réduit de 40 %. Ce dernier paraît également réduire le risque de récurrence d'adénomes rectocoliques dans un essai sur de 400 personnes.

D'après l'Inserm, « des probiotiques connus pour être capables de promouvoir les lymphocytes intratumoraux pourraient être associés au traitement conventionnel anticancéreux » (**Pandey et al., 2015**).

2-3 les Synbiotiques

Les prébiotiques sont des oligo- ou polysaccharides alimentaires non digestibles qui stimulent de manière sélective la croissance, l'implantation ou l'activité de microorganismes bénéfiques dans le microbiote intestinal et lorsqu'ils sont administrés simultanément à des probiotiques, on parle alors de symbiotiques (**Pandey et al., 2015**).

Pour donner plus de chances aux probiotiques de coloniser l'intestin de l'individu qui les reçoit ; y a une alternative d'utiliser des symbiotiques. Il a été montré dans une étude clinique réalisée en Inde rurale sur plus de 4500 nouveau-nés non prématurés, que l'administration simultanée de *Lactobacillus plantarum* et des fructo-oligosaccharides (FOS) pendant une semaine réduisait significativement la morbi-mortalité infectieuse jusqu'à 2 mois de vie **(Société française en microbiologie)**.

Les recherches s'orientent actuellement vers des espèces bactériennes provenant du microbiote intestinal plutôt que de l'alimentation, seules ou sous forme de consortia, possédant à la fois des activités métaboliques et immunomodulatrices. Plusieurs taxons ont déjà démontré leur intérêt en tant que probiotiques de nouvelle génération dont les principaux sont : *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*, *Parabacteroides distasonis*, et plusieurs espèces de *Bacteroides* ou de *Blautia* **(Société française en microbiologie)**.

2-4 les antibiotiques

Il a parfois été envisagé d'utiliser des antibiotiques ciblant certaines bactéries impliquées dans la physiopathologie de certaines maladies en se basant sur des observations comme l'amélioration de symptômes dépressifs ou psychiatriques, comme certains types du cancer dont l'administration augmente significativement l'effet des traitements prescrits **(Pflug et al., 2016)**.

Cependant, une telle approche doit être envisagée avec de prudence en raison :

- d'une part à la pression de sélection risquant d'entraîner l'émergence de bactéries multirésistantes.
- D'autre part à l'impact de l'antibiotique sur le microbiote intestinal pouvant induire une nouvelle dysbiose, voire même de nouvelles pathologies associées **(Gunzburg et al., 2018)**.

Des approches de protection du microbiote intestinal contre la dysbiose induite par les antibiotiques sont également proposées sous la forme d'administration de β -lactamases ou de charbon activé dont la formulation leur permettrait de détruire ou d'absorber spécifiquement les reliquats d'antibiotiques dans l'intestin **(Kokai-Kun et al., 2020)**.

Certaines équipes ont utilisé des bactériophages ou des souches de probiotiques génétiquement modifiées pour produire des molécules du quorum-sensing, des peptides antimicrobiens ou des systèmes CRISPR-Cas afin de détruire spécifiquement les bactéries

impliquées ou qui augmentent le risque pathologique ou des bactéries multi-résistantes au sein du microbiote intestinal (Thompson et al., 2015).

3 le partage des épitopes entre les commensaux et la tumeur

Une étude internationale publiée dans la revue *Nature Medicine* et menée en France par des chercheurs de Gustave Roussy, l'Inserm, l'Université Paris-Saclay, l'Institut Pasteur, l'IHU Méditerranée Infections et l'INRA a montré que la mort cellulaire des cellules de l'intestin provoqué par la chimiothérapie stimule l'efficacité de la réponse immunitaire des patients atteints d'un cancer du côlon (Roberti et al., 2020).

La Pr Laurence Zitvogel qui a dirigé l'étude a indiqué que le défi était de comprendre les mécanismes expliquant l'inefficacité des combinaisons d'immunothérapie et d'oxaliplatine chez les patients atteints d'un cancer du côlon proximal dont l'incidence de maladie est de plus de 43 000 nouveaux cas chaque année et une mortalité estimée de 17 000 décès par an (Roberti et al., 2020).

Puisque ce cancer et notamment celui du côlon proximal n'a pas bénéficié des deux révolutions thérapeutiques récentes en oncologie, on parle alors de l'immunothérapie et la médecine de précision ; le traitement à base d'oxaliplatine reste la base thérapeutique de ce cancer digestif. Cette chimiothérapie provoque la mort cellulaire des cellules de l'intestin des patients et plus précisément de celles de l'iléon situé dans la partie terminale de l'intestin en amont du côlon droit (Roberti et al., 2020).

Les chercheurs ont analysé les conditions qui provoquent une réponse immunitaire composée de cellules uniques dites TFH (cellules T Follicular Helper) nécessaires à l'immunisation de l'hôte contre son cancer. Chez les patients atteints d'un cancer du côlon, ils ont observé que le traitement par oxaliplatine a des effets encore plus importants si les deux conditions suivantes sont rassemblées :

- Une apoptose des cellules de la crypte iléale.
- Un microbiote iléal particulier caractérisé par la présence de bactéries immunogènes par exemple : *B. fragilis* ou *E. ramosum* (Roberti et al., 2020).

Ces deux conditions sont associées aux TFH qui sont les cellules qui éduquent les lymphocytes B et permettent de s'immuniser contre son cancer. Et comme précise Zitvogel que dans le cas contraire, la mort des cellules de la crypte de l'iléon provoquée par l'oxaliplatine en présence d'une flore intestinale enrichie en certaines espèces bactériennes

tolérogènes est associée à une passivité du système immunitaire et au mauvais pronostic des patients (**Roberti et al., 2020**).

Un co-auteur de l'étude, et responsable de l'unité de Biologie et génétique de la paroi bactérienne, à l'Institut Pasteur Ivo Gomperts-Boneca a expliqué que l'activation de l'immunité innée par certaines bactéries du microbiote intestinal, via leurs structures de surface, est essentielle pour induire une réponse immunogène contre la tumeur, alors que d'autres membres du microbiote intestinal induisent une tolérance délétère au traitement antitumoral (**Roberti et al., 2020**).

Cette étude a montré l'importance du microbiote et de la mort cellulaire dans l'efficacité du traitement par oxaliplatine dans des modèles murins dont le microbiote a été supprimé par un traitement antibiotique ou dans lesquels la mort cellulaire n'était plus possible.

Les chercheurs ont aussi montré dans ces modèles de vaccination par des cellules de l'intestin en apoptose (traitées à l'oxaliplatine) que l'efficacité du vaccin puisse être modulée par l'ajout de bactéries immunogènes telles *B. fragilis* ou *E. ramosum* qui engendrent une réponse immunitaire TFH et lymphocytaire B efficace (**Roberti et al., 2020**).

Les chercheurs, ont aussi montrés que dans des modèles murins de cancer du côlon qui n'ont pas de mutation et par conséquent qui ne répondraient pas normalement aux anticorps anti-PD1, que la compensation du microbiote par des bactéries immunogènes (*B. fragilis* ou *E. ramosum*) rétablit le bénéfice d'un traitement par immunothérapie par anti-PD1 (**Roberti et al., 2020**).

Dans l'ensemble, les résultats démontrent le rôle important d'une partie du colon (l'iléon) dans le pronostic des cancers du côlon, et particulièrement du microbiote et de la mort cellulaire iléaux, dans la bonne réponse aux traitements anticancéreux des cancers coliques graves.

De nouvelles stratégies ont été déduites par la Zitvogel suite à cette recherche, citant en :

- Que nous pourrions vacciner les patients ayant une maladie génétique prédisposant au cancer du côlon comme la maladie de Lynch avec leurs propres cellules intestinales en promouvant leur efficacité par des bactéries immunogènes

- Que nous pourrions aussi dans un premier temps et dans le cadre d'un essai clinique qui inclura un certain nombre de malades atteints d'un cancer du côlon droit métastatique et traité par immunothérapie et chimiothérapie, développer des organoïdes d'iléons humains aussi appelés entéroïdes, pour approfondir les connaissances sur les paramètres microbiens et immuns qui dictent l'efficacité des traitements (**Roberti et al., 2020**).

4- La transplantation fécale

La biotech lyonnaise MaaT Pharma attestée en 2018 les effets de la transplantation fécale une vingtaine de patients atteints d'une leucémie aiguë dont le microbiote avait été altéré après la chimiothérapie et l'antibiothérapie en administrant des selles de personne saine à une personne malade, par sonde naso-gastrique, lavement ou administration de gélules.

Le professeur Sobhani a estimé c'est une piste intéressante pour booster l'efficacité des traitements, car le microbiote a été à 90 % reconstruit qui a permis une meilleure réponse à la suite du traitement (**Mosca, a 2019**).

Conclusion

Conclusion

Nous assistons depuis quelques années à une révolution des connaissances sur le microbiote intestinal, grâce à la diffusion des analyses métagénomiques et au développement d'algorithmes bio-informatiques.

Des preuves ont expliqué l'impact du microbiote sur la carcinogenèse et la progression tumorale et que la dysbiose est fortement impliquée dans l'inflammation liée au cancer via l'activation des gènes de survie au sein des cellules tumorales et des gènes de l'inflammation dans le microenvironnement tumoral, production des toxines, activation d'angiogenèse, induction des lésions de l'ADN.

Cependant, des résultats des travaux récents ont apporté la preuve que le microbiote intestinal est impliqué dans la reprogrammation des cellules myéloïdes intratumorales. Contribuant ainsi à des mécanismes pro-inflammatoires et antitumorale, comme la production de ROS ou la modulation de l'immunité adaptative, améliore l'efficacité et réduit la toxicité de l'immunothérapie et la chimiothérapie anticancéreuse.

Le mécanisme TIMER est désormais disponible pour étayer l'hypothèse selon laquelle le microbiote intestinal joue un rôle majeur dans la définition à la fois de l'efficacité et de la toxicité des agents chimiothérapeutiques, comme le 5-fluorouracile, cyclophosphamide, irinotécan, oxaliplatine, gemcitabine.

Il module aussi l'efficacité des nouvelles immunothérapies ciblées comme les thérapies anti-PD-L1 et anti-CLTA-4. C'est un facteur prédictif de l'efficacité et de la tolérance des thérapies anticancéreuses.

Dans un futur proche, nous nous dirigerons vers une médecine personnalisée où le potentiel du microbiote de chaque patient devra être évalué et pourra orienter le choix thérapeutique des cliniciens, et pourrait être un biomarqueur pour le diagnostic des cancers. Il est en train de se positionner en tant que nouvel outil thérapeutique, dans la prise en charge des patients souffrant de cancers, via une variante de stratégies visant à restaurer son équilibre.

Afin d'améliorer les résultats thérapeutiques et d'atténuer les effets indésirables des médicaments, le microbiote ouvre la voie au développement d'oncomicrobiotiques, par l'administration des cocktails spécifiques des pro et prébiotiques, de symbiotiques, et d'antibiotiques adjuvants de la réponse antitumorale ou de métabolites bactériens, et par la

greffe fécale (transplantation du microbiote d'un individu sain dans le tube digestif du malade). Ces approches vont manipuler sélectivement le microbiote et corriger la dysbiose provoquée par le traitement, assurer aux patients une meilleure qualité de vie tout au long de la thérapie « chimiothérapie ou immunothérapie ».

L'adoption de ces stratégies mérite cependant quelques réflexions. Tout d'abord, la manipulation d'un tel écosystème assez complexe nécessite des recherches d'exploration des mécanismes fondamentaux des interactions hôte-microbiote, de garder à l'esprit que de nombreuses études examinées ici ont été réalisées sur des modèles animaux. Malgré des similitudes dans la composition du phylum, des différences substantielles dans les taxons inférieurs existent entre le microbiote humain et murin ; c'est pourquoi il faut d'autres investigations avant que ces résultats puissent être transposés en milieu clinique.

Malgré ces considérations à prendre en compte, les résultats recueillis jusqu'à présent sur l'amélioration de la thérapie anticancéreuse par le microbiote sont passionnants et très encourageants.

Références

- 1- Alexander, J. L., Wilson, I. D., Teare, J., Marchesi, J. R., Nicholson, J. K., and Kinross, J. M. (2017). Gut microbiota modulation of chemotherapy efficacy and toxicity. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 14, 356–365
- 2- Amrane, S., Didier, R., Lagier, J. C. (2018). Metagenomics, culturomics, and the human gut microbiota. *Expert Review of Anti-infective Therapy* [en ligne], Vol (16) (<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14787210.2018.1467268>) (consulté le 23/09/2021)
- 3- Arthur, J.C., Perez-Chanona, E., Mühlbauer, M., Tomkovitch, S., Uronis, J.M., Ventilateur, T.J., Campbell, B.J., Abujamel, T., Dogan, B., Rogers, A.B. (2012). L'inflammation intestinale cible l'activité cancérogène du microbiote. *Science*. 338 : 120-123
- 4- Baker, J., Al-Nakkash, L., Herbst-Kralovetz, M. (2017). Estrogen–gutmicrobiome axis : Physiological and clinical implications. *Maturitas* [en ligne], vol (103) ([https://www.maturitas.org/article/S0378-5122\(17\)30650-3/full%20texte#%20](https://www.maturitas.org/article/S0378-5122(17)30650-3/full%20texte#%20)) (consulté le 26 mai 2021)
- 5- Barbut, Frédéric, Francisca, J. (2010). Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose. *Hépto-Gastro & Oncologie digestive* 17 (6) : 511-20
- 6- Benyamin, F. W., Lei, Y. M., Jabri, B., Alegre, M. L. (2015). Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti–PD-L1 efficacy. *Science* [en ligne], 350, 1084–1089, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4873287/>) (consultée le 06/07/2021)
- 7- Bianchi, V., El Anbassi, S., Médicaments. *De boeck*. (2012). 208 p.
- 8-Biocodex microbiota institute. Les femmes et leurs microbiotes [en ligne] (https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/sites/default/files/2018-03/Dossier_thematique_Femmes_FR.pdf)
- 9- Blais Lecours, P. (2014). Le rôle des archées dans l'inflammation et leur impact sur la santé humaine. [en ligne]. Université LAVAL, 213 p (<https://corpus.ulaval.ca/jspui/bitstream/20.500.11794/25467/1/31189.pdf>) (consultée le 01/10/2021)

- 10 -Blay, J. (2017). Les défis de l'immunothérapie en oncologie. *France*. 12-20p.
- 11- Blottiere, H. (2018). L'exploration structurale et fonctionnelle du microbiote en 2018 Un référentiel pour quoi faire ? Un outil diagnostique ? Une source de nouveaux médicaments ? Pour ou contre ? *Institut-Servier* [en ligne], (https://institut-servier.com/sites/default/files/publications/H_Blottiere_FR.pdf) (consultée le 18/07/2021)
- 12- Bonnet, M., Buc, E., Sauvane, P. et al. (2014). Colonization of the human gut by *E.coli* and colorectal cancer risk. *Clin Cancer*. 20 : 859-67.
- 13- Bonnin, A., Dalle, F. (2018). *Candida albicans*: a model organism to study the role of micromycetes in the intestinal microbiota. [En ligne] *Academie-médecine*, vol (202), n o 7, 1401-1412, (<https://www.academie-medecine.fr/wp-content/uploads/2018/09/P.1401-1412.pdf>) (consulté le 01/10/2021)
- 14- Boquet, P., Ricci, V. (2014). Bacterial Exotoxins. Module de référence en sciences biomédicales. *Science directe*. [en ligne] (<https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/fragilysin>) (consulté le 18/07/2021)
- 15- Bowen, M.J., Stringer, A.M., Gibson, R.J., Yeoh, A.S.J., Hannam, S., Keefe, D.M.K. (2007). VSL#3 probiotic treatment reduces chemotherapy-induced diarrhea and weight loss [en ligne], Vol(9), (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17881902/>) (consulté le : 11/07/2021)
- 16- Brahmer, J.R., Horn, L., Antonia, S.J. (2013). Survival and long-term follow-up of the phase trial of nivolumab in patients with previously treated advanced non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol*, Vol (31)
- 17- Browne, H.P., Forster, S.C., Anonye, B.O., Kumar, N., Neville, B.A., Stares, M.D., Goulding, D., Lawley, T.D. (2016). Culturing of "unculturable" human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature* [en ligne], 533:543-546, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4890681/>) (consulté le 23/07/2021)
- 18- Brudno, J.N., Kochenderfer, J.N. (2017). Chimeric antigen receptor T-cell therapies for lymphoma. *NATURE REVIEWS, CLINICAL ONCOLOGY*, Vol (128).

- 19- Burcelin, R., Zitvogel, L., Fond, G., Sokol, H. (2016). Microbiote intestinal (flore intestinale). *INSERM* [en ligne], (<https://www.inserm.fr/dossier/microbiote-intestinal-flore-intestinale/>) (consulté le 10/07/2021)
- 20- Campeotto, F., Waligora-Dupriet, A. J., Doucet-Populaire, F., Kalach, N., Dupont, C., Butel, M. J. (2007). Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Elsevier-Masson* [en ligne] vol 31 (5) : 533-42 (<https://www.em-consulte.com/article/130208/mise-en-place-de-la-flore-intestinale-du-nouveau-ne>) (consulté le 29/05/2021)
- 21- Carol, M. (2017). Prise en charge des effets indésirables de la chimiothérapie anticancéreuse à l'officine par homéopathie, aromathérapie et phytothérapie. Thèse de doctorat : sciences pharmaceutiques. Toulouse : université Toulouse iii Paul Sabatier [en ligne], 141 p (<http://thesesante.ups-tlse.fr/1847/>) (consulté le 15/05/2021)
- 22- Carpentier, A.F. (2005). Immunothérapie des cancers par oligonucléotides immunostimulants. *Médecine Sciences* [en ligne], vol (21), (<https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/pdf/2005/01/medsci2005211p73.pdf>) (consulté le 03/07/2021)
- 23- CDU-HGE. (2014). Microbiote et immunité intestinale. *Elsevier-Masson* [en ligne] (page consultée le 28/05/2021) (https://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Formation/chap-13_fondamentaux-pathologie-digestive_octobre-2014.pdf.)
- 24- Cheng, J., Airi, M.P., Willem M., Satokari, R. (2013). Contribution of the Intestinal Microbiota to Human Health: From Birth to 100 Years of Age. *Current Topics in Microbiology and Immunology* [en ligne]358 : 323-46, (https://scholar.google.com/scholar?q=Contribution+of+the+Intestinal+Microbiota+to+Human+Health:+From+Birth+to+100+Years+of+Age%E2%80%89.&hl=fr&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar) (consulté le 15/05/2021)
- 25- Choi, S.W., Maçon, J.B. (2002). Statut en folate : effets sur les voies de la cancérogenèse colorectale. 132 : 2413S-2418S
- 26- Choukroune, L. (2020). Et si chimiothérapie et microbiote faisaient équipe ? Par Institut Rafaël 10 juin, 2020. *Institut Rafael* [en ligne], (<https://institut-rafael.fr/recherche->

innovation/cancer/et-si-chimiotherapie-et-microbiote-faisait-equipe/) (consultée le : 10/07/2021)

27- Christl, S.U., Murgatroyd, P.R., Gibson, G.R., Cummings, J.H. (1992). Production, metabolism, and excretion of hydrogen in the large intestine. *Gastroenterology*. 102:1269–77.

28- Christl, S.U., Scheppach, W., Kasper, H. (1995). Métabolisme de l'hydrogène dans le gros intestin - physiologie et implications cliniques. *Gastroentérologie*. 33 : 408-413

29- Chung, L., Orberg, E., Geis, A. (2018). *Bacteroides fragilis* toxin coordinates a pro-carcinogenic inflammatory cascade via targeting of colonic epithelial cells. *US National Library of Medicine National Institutes of Health* [en ligne], vol 23 (2), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5954996/>) (consulté le 29/05/2021)

30- Claude, J. R., Domenjoud, L., Fattal, E., Guillemain, J., Guillouzo, A., Le Crom, S., Le Pape, A., Lerondel, S., Lescuyer, P., Maillere, B., Morel, F., Pallardy, M., Pineau, C., Rabilloud, T., Rahmani, R. (2011). Concept paper : le séquençage à haut débit méthodes et enjeux en médecine, pharmacologie et toxicologie. *AFSSAPS* [en ligne], (http://dev4-afssaps.marche2017.integra.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0edd877424b6f7301df42c2aff2a9a5a.pdf) (consulté le 29/05/2021)

31- Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Lunec, J. (2003). Dommages oxydatifs à l'ADN : mécanismes, mutation et maladie. *AFSSAPS* [en ligne], 17 : 1195-1214 (<https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/anticancereux-lespoints-essentiels>) (consulté le 29/05/2021)

32- Cougnoux, A., Dalmaso, G., Martinez, R., Buc, E., Delmas, J., Gibold, L. (2014). Bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumor growth by inducing a senescence-associated secretory phenotype. *Gut. BMJ Publishing Group* [en ligne], 63: 1932–1942, (<https://gut.bmj.com/content/63/12/1932.short>) (consulté le 29/05/2021)

33- Daillère, R. (2016). Enterococcus irae et Barnesiella intestinihominis facilitent les effets immunomodulateurs thérapeutiques induits par le CTX. [en ligne], vol (45) ([https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613\(16\)303788?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761316303788%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(16)303788?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761316303788%3Fshowall%3Dtrue)) (consulté le 18/05/2021).

- 34- DANIEL, R. (2013). New Targets and New Mechanisms in Lung Cancer. *Scholarly Journal* [en ligne], Vol (27) N° 5, (<https://www.proquest.com/openview/dfb8633f28ff67862ef73d39cfc4b253/1?pq-origsite=gscholar&cbl=38461>) (consulté le 29/05/2021)
- 35- Delgado, S., Cabrera Rubio, R., Mira, A. et al. (2013). Microbiological survey of the human gastric ecosystem using culturing and pyrosequencing methods. *Microb Ecol.* 65 :763-72.
- 35- Deligne, C. (2015). Étude de l'immunité antitumorale à long terme induite par traitement par un anticorps anti-CD20 de souris porteuses de tumeurs [en ligne]. Thèse de doctorat : immunologie. Paris : l'Université Paris 5 – René Descartes, 135p. (file:///C:/Users/PC/Downloads/vd_Deligne_Claire.pdf) (consulté le 25/04/2021)
- 36- Deplancke, B., Finster, K., Graham, W.V., Collier, C.T., Thurmond, J.E., Gaskins, R.H.(2003). Réponses gastro-intestinales et microbiennes à l'eau potable supplémentée en sulfate chez la souris. *Exp. Biol. Méd. (Maywood)*. 228 : 424-433.
- 37- Dolié, E. (2018). Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des probiotiques et futures indications. Thèse de doctorat : sciences pharmaceutiques. Toulouse : université Toulouse iii Paul sabatier. [en ligne] 105 p. (<http://thesesante.ups-tlse.fr/2231/1/2018TOU32040.pdf>) (consulté le 11/03/2021)
- 38- Dominguez-Bello, M.G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci. The U.S.A.* 107, 11971–11975
- 39- Donohoe, D.R., Holley, D., Collins, L.B., Montgomery, S.A., Whitmore, A.C., Hillhouse, A. (2014). Gnotobiotic mouse model demonstrates that dietary fiber protects against colorectal tumorigenesis in a microbiota- and butyrate-dependent manner. *Cancer Discovery. American Association for Cancer Research*.4: 1387–1397. pmid:25266735

- 40- Dubin, K. (2016). Intestinal microbiome analyses identify melanoma patients at risk for checkpoint-blockade-induced colitis [en ligne], Vol(7), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4740747/>) (consulté le 11/03/2021)
- 41- Feige, J. (2010). L'angiogenèse tumorale : progrès récents et défis persistants. *Bull Cancer*. Vol. 97(11).
- 42- Fulbright, E., Méliissa, Ellermann, J.C. (2017). The microbiome and the hallmarks of cancer PLoS Pathogens [en ligne] (<https://journals.plos.org/plospathogens/article/authors?id=10.1371/journal.ppat.1006480>) (consulté le 13/03/2021)
- 43- Ghiringhelli, F. (2013). Surveillance immune antitumorale et échappement. Correspondances en Onco-Théranostic [en ligne], vol II (1) (<https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/19540.pdf>) (consulté le 08/06/2021)
- 44- Gibson, G.R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S.L., Reimer, R. A., Salminen, S.J. (2017). Expert consensus document : The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, vol 14 (8):491-502.
- 45- Gill, C.I.(2002). Rowland Alimentation et cancer : évaluer le risque. *Fr. J. Nutr.* ; 88: S73-S87
- 46- Gunzburg, J., Ghozlane, A., Ducher, A., Le Chatelier, E., Duval, X., Ruppé, E. (2018) Protection of the Human Gut Microbiome from Antibiotics. *J Infect Dis*. 217 (4):628-636.
- 47- Gur, C., Ibrahim, Y., Isaacson, B. (2015). Binding of the Fap2 protein of *Fusobacteriumnucleatum* to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity*. 42 : 344–355
- 48- Heikkila, M.P., Saris, P.E. (2003). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J. Appl. Microbiol.* 95, 471–478. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02002.x

- 49- Hekmatshoar, Y. (2019). The impact of tumor and gut microbiotas on cancer therapy: Beneficial or detrimental? [en ligne]; vol (10), (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31344431/>) (consulté le 08/06/2021)
- 50- Heron, J.F. (2003). La chimiothérapie. In Faculté de Médecine de Caen - France.
- 51- Hontaas, A. (2014). Prise en charge des patients cancéreux à l'officine. Thèse de doctorat : sciences pharmaceutiques. Toulouse : université Toulouse III Paul sabatier faculté des sciences pharmaceutiques. [en ligne], 124 p, (<http://thesesante.ups-tlse.fr/692/1/2014TOU32104.pdf>) (consulté le 27/05/2021)
- 52- Huycke, M.M., Gaskins, R. (2004). Bactéries commensales, stress redox et cancer colorectal : mécanismes et modèles. *Exp. Biol. Méd. (Maywood)*. 229 : 586-597
- 53- Huycke, M.M., Moore, D., Joyce, W., Sage, P., Shepard, L., Kotake, Y., Gilmore, M.S. (2001). La production extracellulaire de superoxyde par *Enterococcus faecalis* nécessite de la déméthylménaquinone et est atténuée par des quinol oxydases terminales fonctionnelles. *Mol. Microbiote*. 42 : 729-740
- 54- Iida, N. (2013). Commensal Bacteria Control Cancer Response to Therapy by Modulating the Tumor Microenvironment. [en ligne], Vol(10), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6709532/>) (consulté le 04/07/2021)
- 55- Institut national du cancer. (2016) Immunothérapie : mode d'action [en ligne] (<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Immunotherapie-mode-d-action>) (consulté le 08/06/2021)
- 56- Irrazábal, T., Belcheva, A. (2014). The multifaceted role of the intestinal microbiota in colon cancer. *Molecularcell* [en ligne], vol 54 (2) ([https://www.cell.com/molecular-cell/fulltext/S1097-2765\(14\)00272-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS109727651400272X%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/molecular-cell/fulltext/S1097-2765(14)00272-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS109727651400272X%3Fshowall%3Dtrue)) (consulté le 27/05/2021)
- 57- Kato, S., Hamouda, N., Kano, Y., Oikawa, Y., Tanaka, Y., Matsumoto, K., Amagase, K., Shimakawa, M. (2017). Probiotic *Bifidobacterium bifidum* G9-1 attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice via suppression of dysbiosis-related secondary

- inflammatory responses. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. [En ligne], 44 (10), (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28590519/>) (consulté le 11/07/2021)
- 58- Kaze, M.E. (2018). Le lien entre le microbiote intestinal et le cancer colorectal. [En ligne] thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Life: Université de Lille, 84p. (<https://pepite-depot.univ-lille2.fr/nuxeo/site/esupversions/9355aae8-0e3a-4674-90dc-161747390bae>) (Consulté le 03/07/2021)
- 59- Kokai-Kun, J.F., Le, C., Trout, K., Cope, J. L., Ajami, N. J., Degar, A.J., Connelly, S. (2020). Ribaxamase, an Orally Administered β -Lactamase, Diminishes Changes to Acquired Antimicrobial Resistance of the Gut Resistome in Patients Treated with Ceftriaxone. *Infect Drug Resist*.13:2521-2535
- 60- Landmana, C. (2016). Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique Gut microbiota : Description, role and pathophysiological implications. [en ligne], vol (37), (<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0248866315011273>) (Consulté le 11/07/2021)
- 61- Lehouritis, P. (2015). Local bacteria affect the efficacy of chemotherapeutic drugs. [en ligne], Vol(5),(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4586607/>) (Consulté le 03/07/2021)
- 62- Li, J., Sung, C.Y.J., Lee, N. (2016). Probiotics modulated gut microbiota suppresses hepatocellular carcinoma growth in mice. *Proc Natl AcadSci USA*. [en ligne], 113, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4780612/> 11/07/2021) (consulté le 03/07/2021)
- 63- Lichtenstein, A.H. (1990). Intestinal cholesterol metabolism. *Ann Med*. 22:49–52.
Lokmer, A., Cian, A., Froment, A., Gantois, N., Viscogliosi, E., Chabé, M., Ségurel, L. (2019). Use of shotgun metagenomics for the identification of protozoa in the gut microbiota of healthy individuals from worldwide populations with various industrialization levels [enligne]. *Plos one*,1-20 p (<https://journals.plos.org/plosone/article/comments?id=10.1371/journal.pone.0211139>) (consulté le 01/10/2021)

- 64- Lopez, A. (2018). Microbiote et cancer. La Lettre de l'Hépatogastroentérologue [en ligne], Vol. XXI - n° 1, (<https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/26428.pdf>) (page consultée le 06/07/2021)
- 65- Lundberg, J.O., Weitzberg, E., Cole, J. A., Benjamin, N. (2004). Nitrate, bactéries et santé humaine. *Nat. Rév. Microbiol.* 2 : 593-602
- 66- Lupton, J.R. (2004). Les produits de dégradation microbienne influencent le risque de cancer du côlon : la controverse sur le butyrate *The Journal of Nutrition*. Vol134, N 02
Maternal inheritance of bifidobacterial communities and bifidophages in infants through vertical transmission. *Microbiome* 5:66. doi: 10.1186/s40168-017-0282-6
- 67- Maubrey, C. (2018). Immunothérapie en cancérologie : exemple d'atezolizumab dans le cancer de la vessie [en ligne]. Thèse de doctorat : sciences pharmaceutiques. Toulouse : université Toulouse III Paul sabatier, 90 p. (<http://thesesante.ups-tlse.fr/2629/1/2018TOU32005.pdf>) (consulté le 07/06/2021)
- 68- Mbongue, J.C. (2015). The Role of Indoleamine 2, 3-Dioxygenase in Immune Suppression and Autoimmunity. *Vaccines Sep.* 3 (3) : 703–729.
- 69- Mccoy, K.D, LE GROS, G. (1999). The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunol Cell Biol.* 77 (1) : 1-10.
- 70- Messaoudene, M. (2018). In bacteriaveritas: le rôle pronostique du microbiote intestinal dans le cancer [en ligne], vol (34), (https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2018/08/msc180143/msc180143.html) (consulté le 10/07/2021)
- 71- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado, Palacio, S., Arboleya Montes, S., Mancabelli, L.(2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 8
- 72- Molina, J.R. (2008). Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Treatment, and Survivorship. *Mayo Clin Proc.* 11.
- 73- Monassier, L. (2012). Les anticancéreux - *DCEM3 Pharmacologie à Strasbourg*.

- 74- Montassier, E. (2015) Chemotherapy-driven dysbiosis in the intestinal microbiome [en ligne], Vol (166), (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apt.13302>) (consulté le 30/06/2021)
- 75- Mosca, A. (2019). La transplantation de microbiote fécal. *La Revue des Microbiotes*. 13:4-11.
- 76- NSCLC Meta-analysis Collaborative Group. (2014). Preoperative chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *The Lancet*. 383, 1561–1571.
- 77- Olausson, K.A., and Postel-Vinay, S. (2016). Predictors of chemotherapy efficacy in non-small-cell lung cancer: a challenging landscape. *Annals of Oncology*. 27, 2004–2016.
- 78- Osterlund, P., Ruotsalainen, T., Korpela, R., Saxelin, M., Ollus, A., Valta, P., Kouri, M., Elomaa, I., Joensuu, H. (2007). Lactobacillus supplementation for diarrhea related to chemotherapy of colorectal cancer: a randomized study. *Br J Cancer*. [en ligne], 97 (8), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2360429/> 11/07/2021) (consulté le 30/06/2021)
- 79- Pandey, K.R., Naik, S.R., Vakil, B.V. (2015). Probiotiques, prébiotiques et symbiotiques - un examen. *J Food Sci Technol*. 52 (12) : 7577-87
- 80- Panebianco, C. (2018). Influence of gemcitabine chemotherapy on the microbiota of pancreatic cancer xenografted mice [en ligne], Vol(4), (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29473096/>) (consulté le 03/07/2021)
- 81-Panebianco, C. (2018). Pharmacomicrobiomics: exploiting the drug-microbiota interactions in anticancertherapies [en ligne], Vol (6), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5964925/>) (consulté le 11/07/2021)
- 82- Pannaraj, P. (2018). Shared and Distinct Features of Human Milk and Infant Stool Viromes. [en ligne], vol (9), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5992295/>) (page consultée le 20/09/2021)

- 83- Pensec, C. (2018). Impact de la chimiothérapie sur le microbiote intestinal à travers l'exemple du pemetrexed sur les modèles murins PDX [en ligne]. Thèse doctorat : biologie et santé. Bretagne : Université de Nantes 148 p. (<http://archive.bu.univ-nantes.fr/pollux/show.action?id=76ab13d2-5c2b-41f9-9a5c-ec069e222d4e> page consultée le 30/06/2021) (consulté le 20/09/2021)
- 84-Perez-Muñoz, M.E., Arrieta, M.C., Ramer-Tait, A.E., Walter, J. (2017). A critical assessment of the “sterile womb” and “*in utero* colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 5, 48.
- 85-Pflug, N., Kluth, S. (2016). Efficacy of antineoplastic treatment is associated with the use of antibiotics that modulate intestinal microbiota. *Oncoimmunology*. [en ligne], Vol 5, (<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2016.1150399>) (consulté le 20/09/2021)
- 86- Pharmacomédicale. org. Anticancéreux : les points essentiels [en ligne] (<https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/anticancereux-les-points-essentiels>) (consulté le 27/05/2021)
- 87- Pryde, S.E., Duncan, S.H, Hold, G.L., Stewart, C.S., Flint, H.J. (2002). The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiol Lett* .217:133–9.
- 88-Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. [en ligne],464 (7285):59-65, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3779803/>) (consulté le 27/05/2021)
- 89- Raisch, J., Dalmaso, G., Bonnet, R., Barnich, N., Bonnet, M., Bringer, MA. (2016) Certaines bactéries de la flore commensale exacerberaient-elles la carcinogenèse colorectale ?. *Med Sci (Paris)*. [en ligne], vol 32 n 2 (https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2016/02/medsci20163202p175/medsci20163202p175.html#R16) (consulté le 27/05/2021)
- 90- Rhee, K.J., Wu, S., Wu, X., Huso, D.L., Karim, B., Franco, A.A. (2009). Induction of Persistent Colitis by a Human Commensal, Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*, in Wild-Type C57BL/6 Mice. *Infect Immun*.77: 1708–1718. pmid:19188353

- 91- Ridlon, J.M., Kang, D.J., Hylemon, P.B. (2006). Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res.* 47:241–59.
- 92- Roberti, M.P. (2020). Chemotherapy-induced ileal crypt apoptosis and the ileal microbiome shape immunosurveillance and prognosis of proximal colon cancer. [en ligne], vol6 (919-931), (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32451498/>) (consulté le 24/05/2021)
- 93- ROMOND, E.H. (2005). Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER-2 positive breast cancer. *New England. K. Med.*353: 1673-1684.
- 94- ROUTY, B. (2018). Gut microbiome influences efficacy of PD-1–based immunotherapy against epithelial tumors [en ligne], Vol(359), (<https://science.sciencemag.org/content/359/6371/91>) (consulté le 06/07/2021)
- 95- Rubinstein, M.R., Wang, X., Liu, W. (2013). *Fusobacteriumnucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/beta-catenin signaling via its Fad Adhesin. *Cell Host Microbe.*14: 195–206
- 96-Rubinstein, M.R., Wang, X., Liu, W., Hao, Y., Cai, G., Han, Y.W. (2013). *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe.* 14: 195–206. pmid:23954158
- 97-Rutayisire, E., Kun, H., Yehao, L., Fangbiao, T. (2016). The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gutmicrobiotaduring the first year of infants’ life: a systematic review». *BMC Gastroenterology* .86.
- 98- Salaspuro, M. (1996). Voie bactériocolique pour l’oxydation de l’éthanol : caractéristiques et implications. *Anne. Méd.* 28 : 195-200
- 99- Sausset, R., Petit, M.A., Gaboriau-Routhiau, V., De Paepe, M. (2020). De nouvelles connaissances sur les phages intestinaux. [en ligne] *Nature*, vol (13) 205–215 p, (https://www-nature-com.translate.goog/articles/s41385-019-02505?error=cookies_not_supported&code=6f4f9fe0-062c-447d-b941-9950389c8ea9&_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=fr&_x_tr_hl=fr&_x_tr_pto=nui,sc) (consulté le 01/10/2021)

- 100- Schreiber, R. D., Old, L. J., Smyth, M.J. (2011). Cancer Immunoediting : Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion. [en ligne], Vol (331), (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21436444/>) (consulté le 08/06/2021)
- 101- Ségala, G. (2012). Cancer : les mécanismes biologiques. *Futura Sciences*
- 102-Sivan, A., Corrales, L., Hubert, N., Williams, J.B., Aquino-Michaels, K., Earley, Z.M., Benyamin, F.W., Lei, Y.M., Jabri, B., Alegre, M.-L., et al. (2015). Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 350, 1084–1089.
- 103-Sobko, T., Huang, L., Midtvedt, T., Norin, E., Gustafsson, L.E., Normand, M.E.A., Jansson Lundberg, J.O. (2006). Génération de NO par des bactéries probiotiques dans le tractus gastro-intestinal. *Radic libre. Biol. Méd.* 41 : 985-991
- 104- Société française en microbiologie. (2020) Modulation du microbiote intestinal : vers une médecine personnalisée [en ligne], (<https://www.sfm-microbiologie.org/2020/10/28/modulation-du-microbiote-intestinal-vers-une-medecine-personnalisee/>) (consulté le 17/06/2021)
- 105- Syndicat des biologistes, quand le microbiote intestinal optimise l'effet des chimiothérapies [en ligne], (<https://www.sdbio.eu/actualites/fil-d-infos/quand-le-microbiote-intestinal-optimise-l-effet-des-chimiotherapies>) (consulté le 05/06/2021)
- 106-Thompson, J.A., Oliveira, R.A., Djukovic, A., Ubeda, C., Xavier, K.B. (2015) Manipulation of the quorum sensing signal AI-2 affects the antibiotic-treated gut microbiota. *Cell Rep.* 10(11):1861-71
- 107-Tiphonie, F., Julien, D., Nicolas, B., Richard, B., Guillaume, D. (2018). Colibactin: More Than a New Bacterial Toxin. *US National Library of Medicine National Institutes of Health* [enligne], vol. 10(4), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5923317/>) (consulté le 26/05/2021)
- 108-Underwood, M.A. (2014). Intestinal dysbiosis: novel mechanisms by which gut microbes trigger and prevent disease. *Prev Med.* 65:133-7.

- 109- Vétizou, M. (2015). Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota [en ligne], Vol (350), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4721659/>) (consulté le 12/06/2021)
- 110- Vétizou, M., (2016). Microbiote intestinal et réponses aux thérapies antitumorales [en ligne], vol (32), (https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2016/11/medsci20163211p974/medsci20163211p974.html) (consulté le 12/06/2021)
- 111- Viaud, S. (2013). The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide [en ligne], Vol(20), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4048947/>) (consulté le 30/06/2021)
- 112- Wada, M., Nagata, S., Saito, M., Shimizu, T., Yamashiro, Y., Matsuki, T., Asahara T., Nomoto, K. (2010). Effects of the enteral administration of *Bifidobacterium breve* on patients undergoing chemotherapy for pediatric malignancies. *Support Care Cancer*. [en ligne],18(6), (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19685085/> 11/07/2021) (consulté le 08/06/2021)
- 113- Wallace, B.D., Wang, H., Lane, K.T., Scott, J.E., Orans, J., Koo, J.S., Venkatesh, M., Jobin, C., Yeh, L.A., Mani, S., (2010). Alleviating Cancer Drug Toxicity by Inhibiting a Bacterial Enzyme. *Science*. [en ligne], 330, 831–835. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3110694/>) (consulté le 03/07/2021)
- 114- Weber, S. (2012). Management of Immune-Related Adverse Events and Kinetics of Response with Ipilimumab. *Journal of Clinical Oncology*. [en ligne], Vol (30), (https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2012.41.6750?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org & rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed) (consulté le 06/07/2021)
- 115- Whitford, E.J., Cummins, A.G., Butler, R.N., Prisciandaro, L.D., Fauser, J.K., Yazbeck, R., Lawrence, A., Cheah, K.Y., Wright, T.H., Lymn, K.A., Howarth, G.S. (2009). Effects of *Streptococcus thermophilus* TH-4 on intestinal mucositis induced by the chemotherapeutic agent 5-fluorouracil (5-FU) *Cancer BiolTher*. [en ligne], 8(6), (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19305160/>) (consulté le 11/07/2021)

- 116- Winslow, T. (2017). CAR T-Cell Therapy. *National Cancer Institute Homepage*. [en ligne], ([https : //visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=11776](https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=11776)) (consulté le : 07/06/2021)
- 117- Yang, L., Woltemate, S., Piazuelo, M. B. et al. (2016). Different gastric microbiota compositions in two human populations with high and low risk in columbia. *Sci*. 6 : 18594.
- 118- Yeung, C.Y., Chan, W.T., Jiang, C.B., Cheng, M.L., Liu, C.Y., Chang, S.W., Chiang Chiau, J.S., Lee, H.C. (2015). Correction: amelioration of chemotherapy-induced intestinal mucositis by orally administered probiotics in a mouse model. *PLoS One*. [en ligne], 10 (10), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4613823/>) (consulté le : 11/07/2021)
- 119- Yu, T., Guo, F., Yu, Y., Sun, T., Ma, D., Han, J., Qian, Y., Kryczek, I., Sun, D., , Nagar, N., sheth, Chen, Y., Chen, H., Hong, J., Zou, W., Fang, JY. (2017) *Fusobacterium nucleatum* Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy vol 170 (3) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5767127/>) (consulté le : 11/07/2021)
- 120- Zhang, S. (2019). *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to 5-fluorouracil by upregulation of BIRC3 expression in colorectal cancer. [en ligne], Vol(38), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6327560/>) (consulté le : 06/07/2021)
- 121- Zitvogel, L., Hannani D., Martin F. (2014). Immunothérapies des cancers au troisième millénaire. *EDP Sciences*. 26-278

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biologie moléculaire des Microorganismes

Titre

Modulation du microbiote intestinal en vue de l'amélioration de la chimiothérapie et de l'immunothérapie anticancéreuses

Résumé

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe composé d'un ensemble de microorganismes, présents dans le tractus gastro-intestinal. Sa co-évolution avec son hôte crée des relations bénéfiques mutuelles. Cette symbiose est indispensable pour l'homme, car il exerce d'importantes fonctions biologiques. Des études basées sur les techniques innovantes de la biologie moléculaire et des expériences sur des souris *in vivo*, ont su démontrer comment certaines bactéries contribuent à l'évolution des cancers, et que les traitements anticancéreux peuvent perturber l'équilibre du microbiote intestinal. Le microbiote joue un rôle primordial dans l'influence de l'efficacité et la tolérance des médicaments chimiothérapeutiques. Le Cyclophosphamide, par exemple, est modulé par *Lactobacillus johnsonii* et *Enterococcus ira*. Concernant l'immunothérapie, les *Bifidobacterium* spp améliorent l'efficacité des anti-programmed cell death protein 1/programmed death-ligand 1, *Bacteroides fragilis* et *Burkholderia cepacia* interagissent avec l'anti-cytotoxique T-lymphocyte-associated protein 4. Cela conduira à une réflexion sur la médecine personnalisée et ouvrir la voie au développement d'oncomicrobiotiques pour corriger la dysbiose et assurer aux patients une meilleure qualité de vie tout au long des thérapies anticancéreuses.

Mots clés : microbiote intestinal, dysbiose, cancer, carcinogénèse, chimiothérapie cyclophosphamide, immunothérapies, anticorps anti-CTLA4.

Membre du jury :

Présidente du jury : Pr ZERIZER Sakina (Professeur - UFM Constantine 1).
Encadrante : Dr BOUBEKRI Karima (MCA - UFM Constantine 1).
Examineur : Pr HADDI Mohamed Laid (Professeur - UFM Constantine 1).

Présentée par : SMIRA Amel
BRADAI Nesrine

Année universitaire : 2020-2021

