



HAL
open science

Immunomodulation de la sensibilité néonatale au Virus Respiratoire Syncytial: Vers une approche thérapeutique basée sur des bactéries primo-colonisatrices du poumon

Quentin Marquant, Daphné Laubretton, Carole Drajac, Elliot Mathieu, Edwige Bouguyon, Marie-Louise Noordine, Aude Remot-Brizion, Sabine Riffault, Muriel Thomas, Delphyne Descamps

► To cite this version:

Quentin Marquant, Daphné Laubretton, Carole Drajac, Elliot Mathieu, Edwige Bouguyon, et al.. Immunomodulation de la sensibilité néonatale au Virus Respiratoire Syncytial: Vers une approche thérapeutique basée sur des bactéries primo-colonisatrices du poumon. Vaincre la mucoviscidose, Feb 2020, Paris, France. halshs-04172975

HAL Id: halshs-04172975

<https://shs.hal.science/halshs-04172975>

Submitted on 28 Jul 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

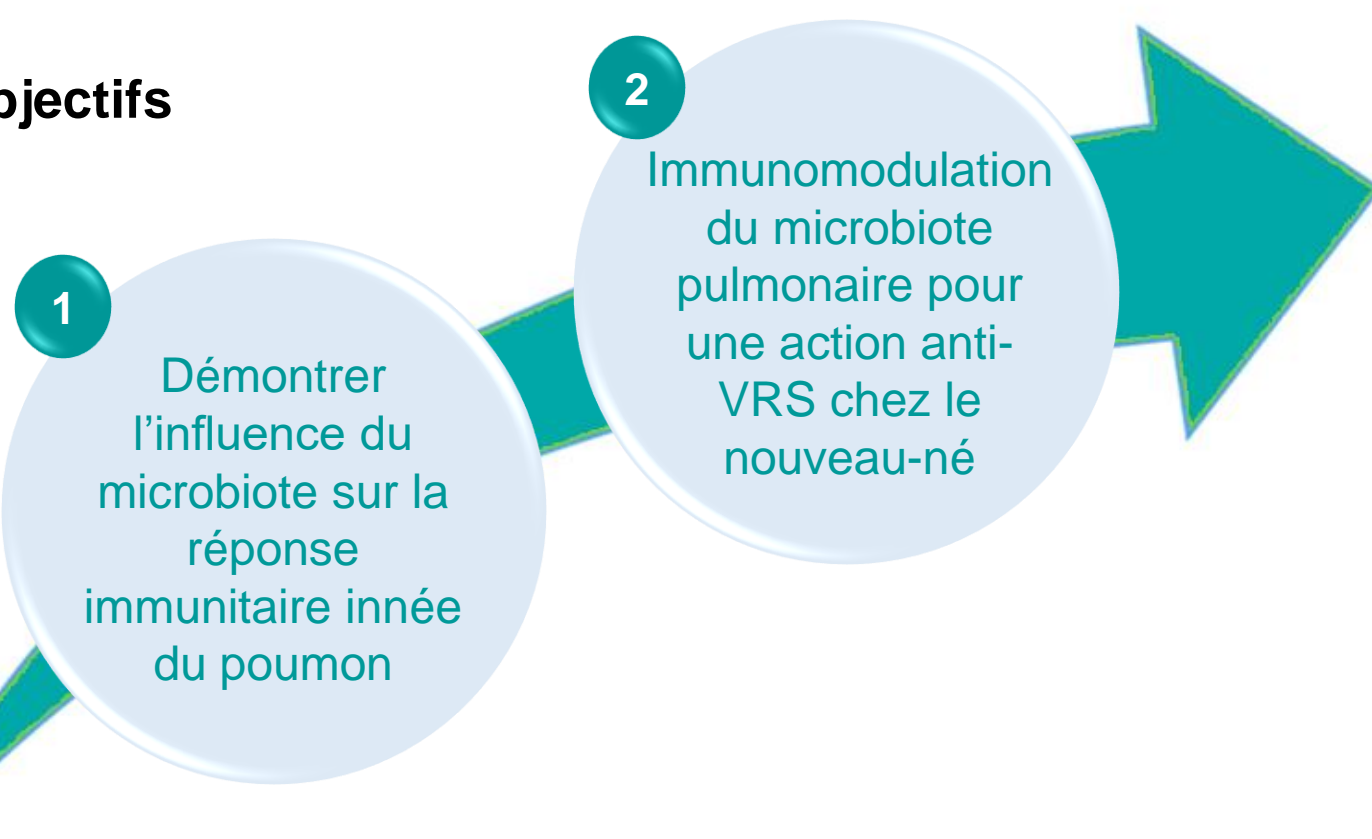
Introduction et objectifs

Les pathologies respiratoires constituent la première cause de mortalité chez les jeunes enfants. Le virus respiratoire syncytial (VRS) humain est l'agent principal des bronchiolites des jeunes enfants. L'infection par le VRS prédispose à l'implantation pulmonaire de bactéries telles que *P. aeruginosa* ou *S. pneumoniae*, agents responsables de complications importantes chez les patients atteints de mucoviscidose. Cette sensibilité du jeune est intrinsèquement liée aux caractéristiques de la muqueuse pulmonaire en période néonatale qui dépendent de la mise en place de l'immunité et de la colonisation du poumon par un microbiote bactérien. Ce processus de colonisation du poumon pose la question de son influence sur la maturation de la barrière épithéliale et sur le développement de l'immunité, et donc de sa contribution à la sensibilité du nouveau-né à des pathologies respiratoires. Notre hypothèse est que les bactéries commensales primo-colonisatrices du poumon participeraient à la maturation des défenses immunitaires.

Hypothèse

Les bactéries commensales primo-colonisatrices du poumon participent à la maturation des défenses immunitaires.

Objectifs



Résultats 1

La réponse inflammatoire pulmonaire est augmentée en absence de microbiote après instillation du LPS

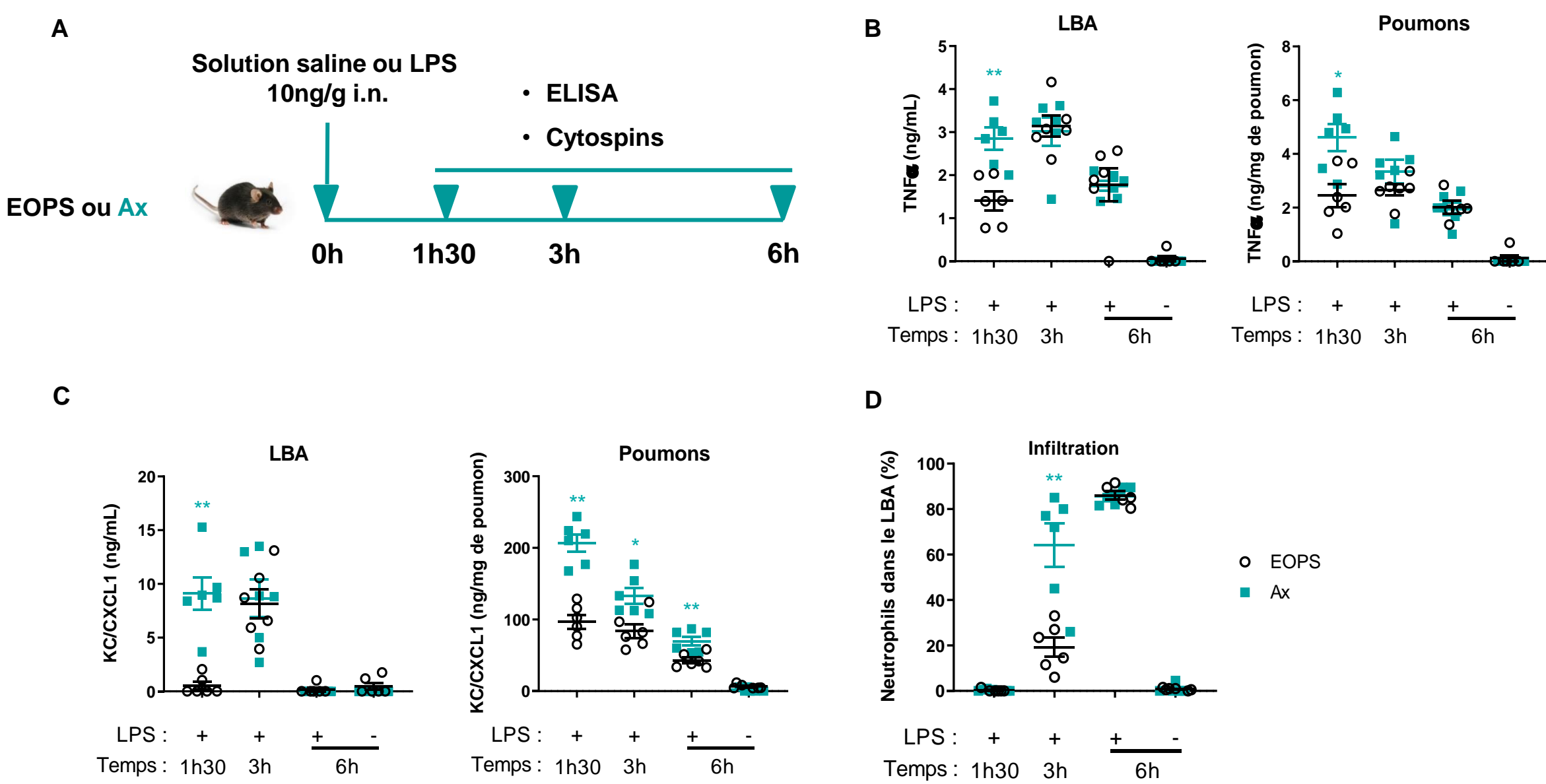


Figure 1: (A) Les souris exemptes d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS: ayant un microbiote contrôlé) et axéniques (Ax: dépourvues de microbiote) ont été anesthésiées puis instillées avec une solution saline ou le LPS (10ng/g). Les souris ont ensuite été euthanasiées à 1h30, 3h et 6h après l'administration du LPS pour évaluer les paramètres inflammatoires. (B et C) La production de TNF α et de KC/CXCL1 a été déterminée dans les lavages bronchoalvéolaires (LBA) et dans les lysats de poumon des souris EOPS et Ax à 1h30, 3h and 6h après instillation. (D) Le pourcentage des Neutrophiles a été déterminé dans les LBA. Le test non-paramétrique Mann-Whitney a été utilisé pour déterminer la présence d'une différence significative entre les groupes Conv et Ax. $p < 0,05^*$ et $p < 0,01^{**}$ (B-D).

La réactivité de l'immunité innée est augmentée dans les explants de poumon issus de souris axéniques

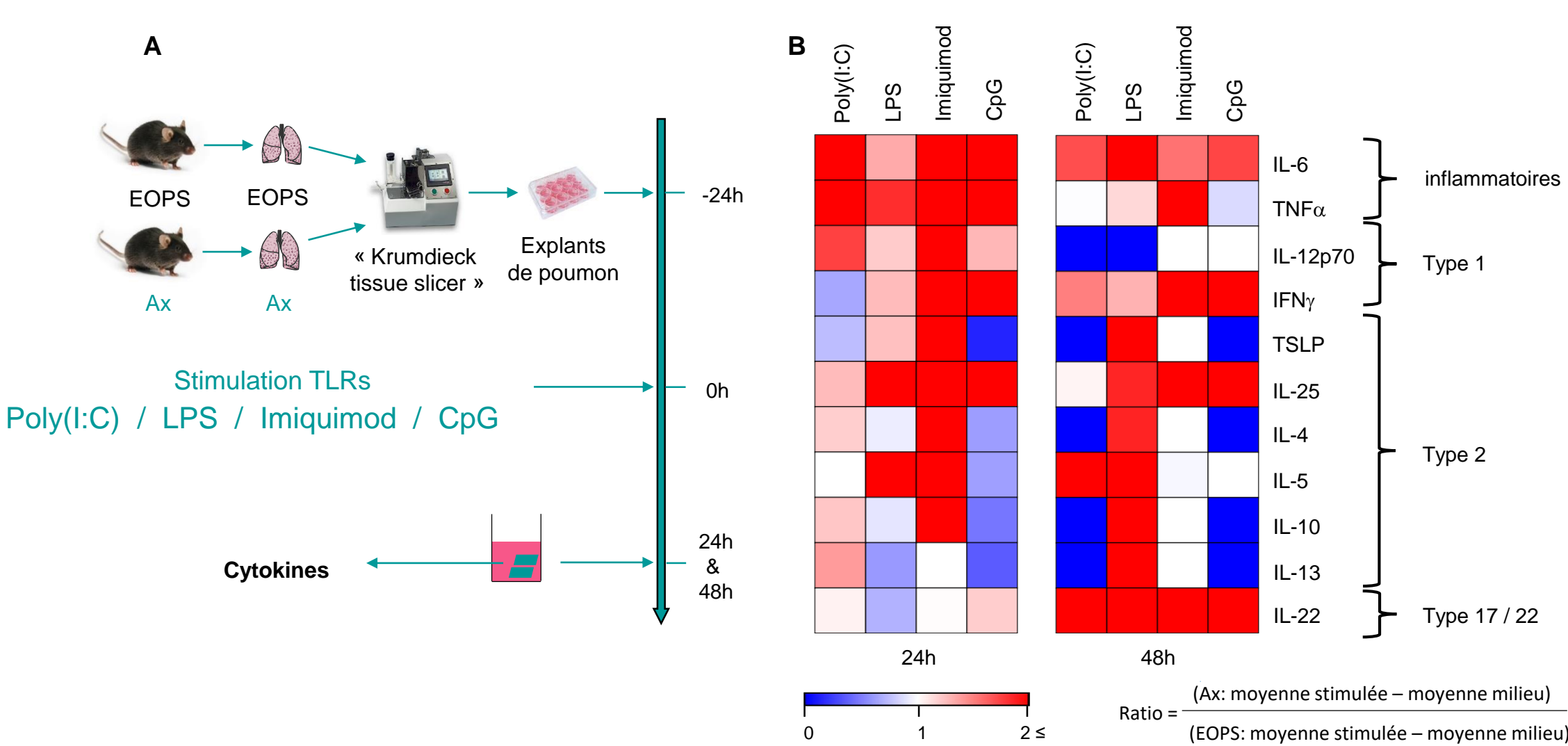


Figure 2: (A) Les poumons de souris EOPS et Ax ont été collectés puis coupés, à l'aide d'un "Krumdieck tissue slicer", pour obtenir des explants de poumon. 24h après, les explants ont été stimulés avec du milieu, le Poly(I:C) (TLR3), le LPS (TLR4), l'Imiquimod (TLR7) ou le CpG (TLR9). La production de cytokines a été mesurée dans les surnageants par ELISA à 24h et 48h après stimulation. (B) Les "Heatmaps" représentent les ratios (Ax/EOPS) de la production des cytokines à 24h et 48h après stimulation.

La réactivité de l'immunité innée est augmentée dans les explants de poumon issus des souris axéniques après infection par le VRS

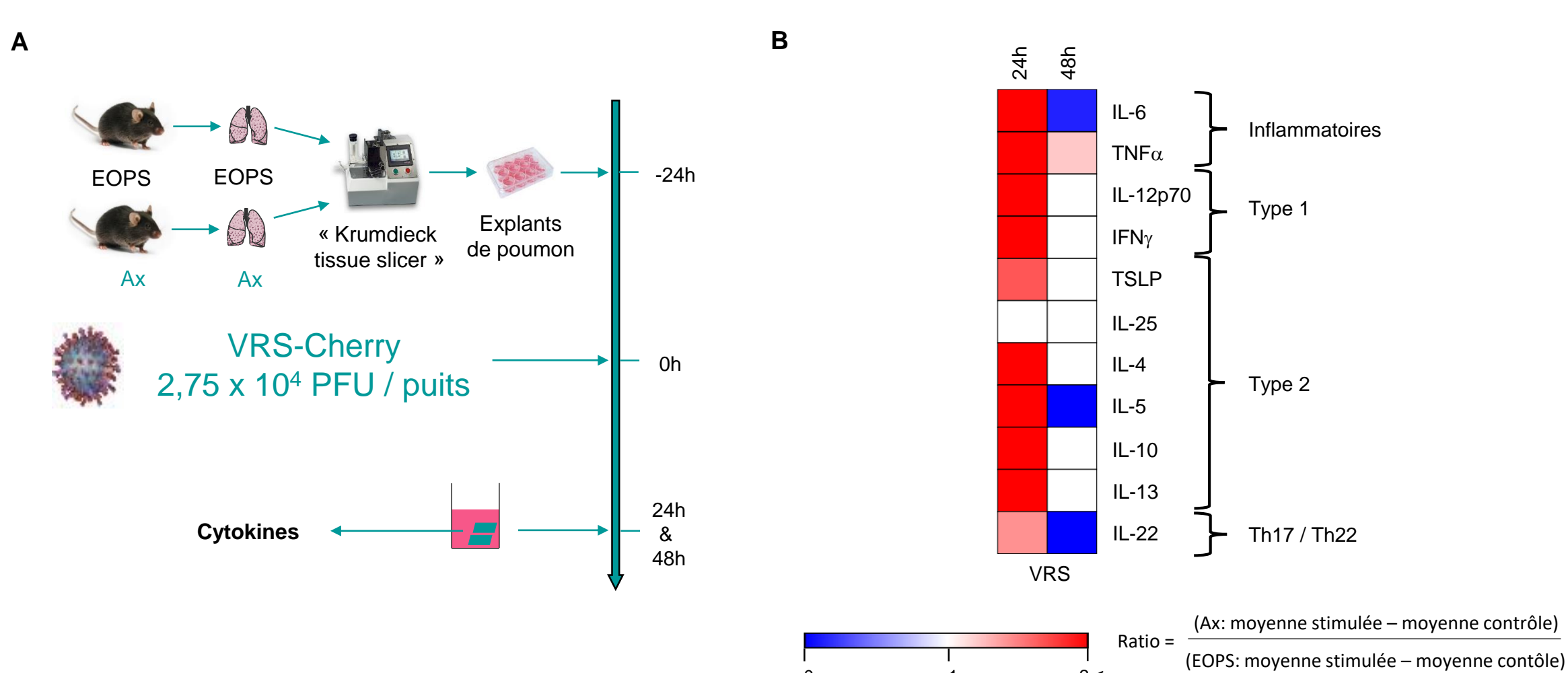


Figure 3: (A) Les poumons de souris conventionnelles EOPS et Ax ont été collectés puis coupés, à l'aide d'un "Krumdieck tissue slicer", pour obtenir des explants de poumon. 24h après, les explants ont été stimulés avec le surnageant de cellules non-infectées lors de la production du VRS-Cherry (Contrôle) ou infectés avec le VRS-Cherry. La production de cytokines a été mesurée dans les surnageants par ELISA à 24h et 48h après infection. (B) Le "Heatmap" représente les ratios (Ax/EOPS) de la production des cytokines à 24h et 48h après infection.

Résultats 2

L'immunomodulation de la réponse immunitaire du poumon par des bactéries primo-colonisatrices modifie la replication du VRS

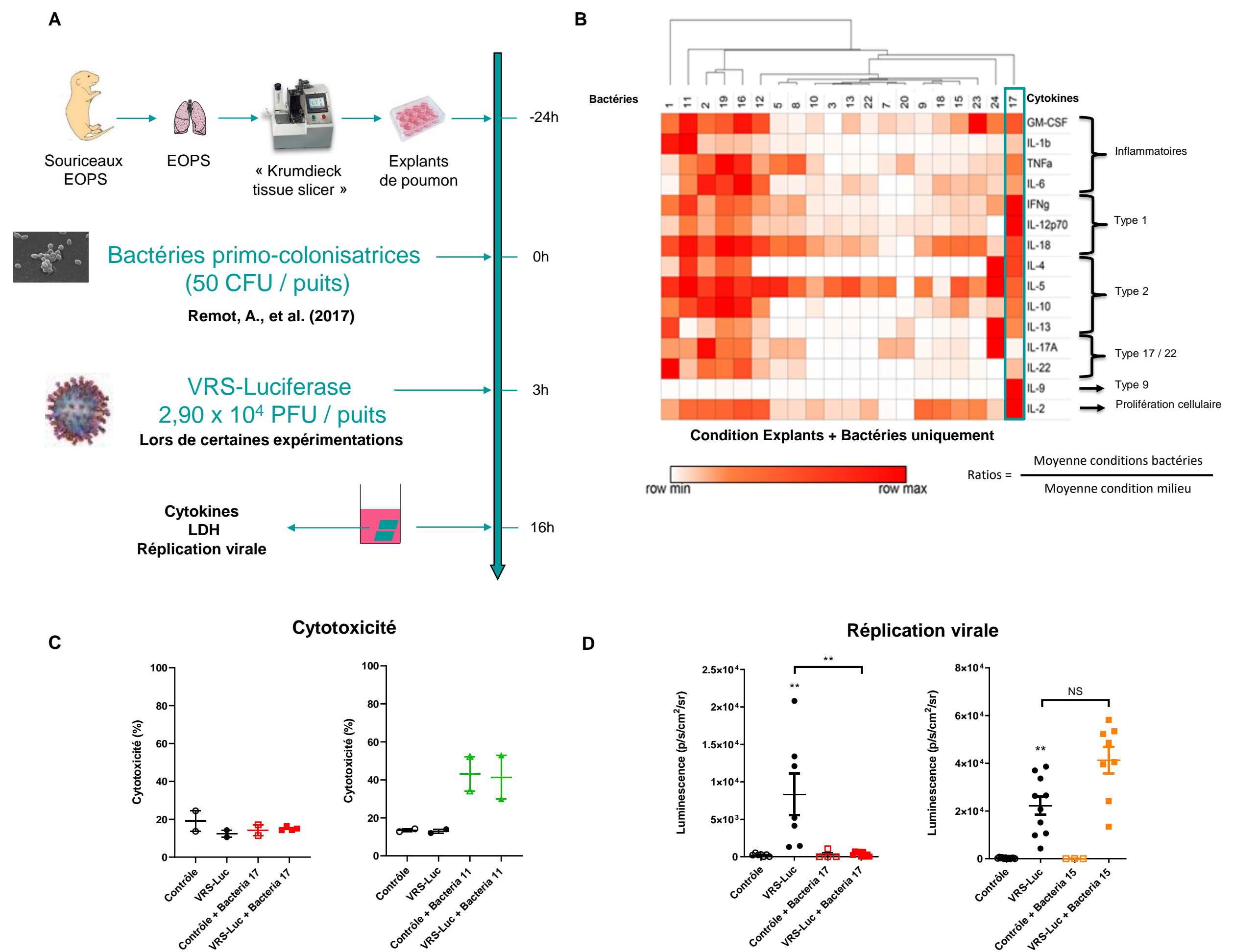
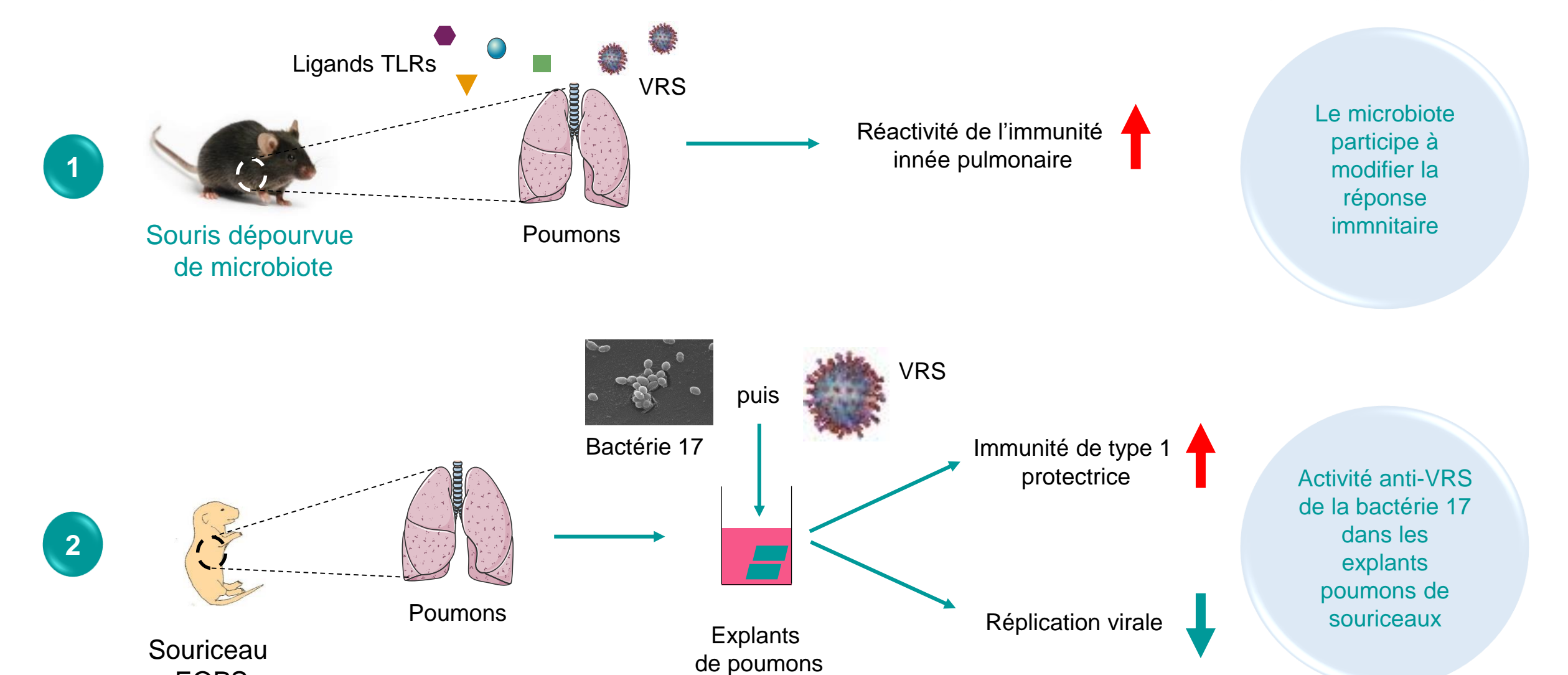


Figure 4: (A) Les poumons de souris axéniques EOPS âgées de 6 jours ont été prélevés puis coupés, à l'aide d'un "Krumdieck tissue slicer", pour obtenir des explants de poumon. 24h après, les explants ont été mis en contact avec 20 bactéries primo-colonisatrices du poumon (ajoutées de manière individuelle; 50 CFU/puits). Lors de certaines expériences, le VRS-Luc (2,90x10⁴ PFU/puits) a été ajouté 3h après les bactéries. Les surnageants et les explants ont été récupérés 16h après pour doser les cytokines, la lactate déshydrogénase (LDH) et la réplication virale. (B) Le "Heatmap" représente les ratios (Stimulé/Milieu) de la production des cytokines par les explants 16h après mise en contact avec les bactéries. (C) Le pourcentage de cytotoxicité des bactéries 11 et 17 ont été mise en évidence via un dosage de la LDH. (D) La réplication virale a été déterminée dans les lysats des explants par luminescence (p/s/cm²/sr). Le test non-paramétrique Kruskal-Wallis a été utilisé pour déterminer la présence d'une différence significative entre les groupes contrôle vs VRS-Luc et VRS-Luc vs VRS-Luc + Bactérie 17. NS: non significatif; $p < 0,01^{**}$.

Conclusion



Perspectives

- Validation *in vivo* de l'effet protecteur anti-VRS de la souche 17 en période néonatale
- Validation de l'efficacité de la souche 17 sur des modèles humains de culture primaire de cellules épithéliales nasales de patients sains ou présentant une mutation au niveau du gène *CFTR*
- Tester l'efficacité de la souche dans un modèle de sensibilisation par le VRS à une surinfection bactérienne chez le nouveau-né

Remerciements

Air Liquide HEALTHCARE, Ihealth, INRAE, Infectiologie Expérimentale des Rongeurs et des Poissons (IERP), Animallerie Axénique (ANAXEM)

Références bibliographiques

Belkaid, Y. and O. J. Harrison (2017). "Homeostatic Immunity and the Microbiota." *Immunity* 46(4): 562-576.
 Brealey, J. et al. (2015). "Viral bacterial co-infection of the respiratory tract during early childhood." *FEMS Microbiology letters*: 362-2015
 Huffnagle, G. B., et al. (2017). "The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street." *Mucosal Immunol* 10(2): 299-306.
 Mathieu, E., et al. (2018). "Paradigms of Lung Microbiota Functions in Health and Disease, Particularly, in Asthma." *Front Physiol* 9: 1168.
 Remot, A., et al. (2017). "Bacteria isolated from lung modulate asthma susceptibility in mice." *ISME J* 11(5): 1061-1074.