



HAL
open science

Rôle des cellules dendritiques CD103+ CD11b+ dans la réponse au régime riche en lipides

Adélaïde Gélineau

► **To cite this version:**

Adélaïde Gélineau. Rôle des cellules dendritiques CD103+ CD11b+ dans la réponse au régime riche en lipides. Sciences du Vivant [q-bio]. Sorbonne université, 2021. Français. NNT : . tel-04040880

HAL Id: tel-04040880

<https://hal.science/tel-04040880>

Submitted on 22 Mar 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.

THESE DE DOCTORAT EN PHYSIOLOGIE DE SORBONNE UNIVERSITE

École doctorale 394 - Physiologie, Physiopathologie, Thérapeutique

Présentée par Adélaïde Gélineau

Pour l'obtention du titre de Docteur de Sorbonne Université

Rôle des cellules dendritiques CD103⁺ CD11b⁺ dans la réponse au régime riche en lipides

Sous la direction du Dr Emmanuel Gautier

Soutenue le 2 juin 2021

Devant le jury composé de

| | |
|-----------------------|--------------------|
| Pr Patricia SERRADAS | Présidente du jury |
| Pr Gérard EBERL | Rapporteur |
| Pr Gilles MITHIEUX | Rapporteur |
| Pr Harry SOKOL | Examineur |
| Dr Pierre GUERMONPREZ | Examineur |
| Dr Emmanuel GAUTIER | Directeur de thèse |

Remerciements

Je tiens à adresser mes remerciements sincères aux membres du jury, en espérant que mon travail et mon implication font honneur à votre expertise et à votre temps. Merci au Pr Gérard EBERL et au Pr Gilles MITHIEUX de lire ce manuscrit et d'évaluer mon travail. Merci au Pr Harry SOKOL et au Dr Pierre GUERMONPREZ de participer à ma soutenance en tant qu'examineurs. Enfin, merci au Pr Patricia SERRADAS d'avoir accepté de présider ce jury.

Je remercie également le Dr Emmanuel GAUTIER d'avoir dirigé ce travail pendant presque 4 ans. J'ai beaucoup apprécié notre précieuse harmonie professionnelle. Merci de m'avoir formée à la science rigoureuse et d'avoir su me rassurer souvent. Je suis très reconnaissante d'avoir effectué ma thèse sous ta supervision !

Merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à cette thèse. En particulier,

A Rebecca, mon pilier, au front en permanence. Cette thèse n'aurait pas été la même sans le don du ciel que tu es. Merci pour ton soutien sans faille, ton humour impertinent, ta générosité sans limite, ton honnêteté brute, ton intelligence fine et ta sagesse de vieil ermite, et de m'avoir gracieusement accordé ton temps pour ce manuscrit. Tu m'apprends et m'inspires tellement. Ce paragraphe de remerciements est dérisoire face à la reconnaissance que j'ai pour toi !

A Seb. Tu m'as offert parmi les meilleurs souvenirs de ma période de thèse ... et tu m'aides à progresser (autant que possible). Et ce n'est pas fini !

A Thierry, pour tes conseils avisés.

A Inès et Elissa pour ces heures de manip ingrates partagées à filtrer des intestins sur des égouttoirs à nouilles.

A Melissa qui m'a léguée ce projet sur lequel j'ai adoré travailler, et à Sophie, merci à vous deux de m'avoir accueillie avec bienveillance dans ce laboratoire et formée à la paillasse.

A Hasna pour ton aide, et à Camille pour ton aide, pour ta fraîcheur et ton humanité, que tu as amenées dans le labo à un moment où j'en avais bien besoin.

A Martine pour toutes tes lumières (et il y en a.. !).

A Geneviève pour les manip notamment les escargots de colon. Il paraît que c'est une compétence appréciée sur LinkedIn.

Aux équipes du 105b et de la NAC, en particulier Aurélie et Juliane, pour leur gestion des foules de souris.

A toute l'équipe de jeunes, présente et passée, qui m'a bien aidée à être heureuse en thèse !

Sur un plan plus personnel, merci à Dany pour ton accompagnement quotidien et ton soutien, ta tolérance et ton amour. Merci du fond du cœur à mes incroyables parents de m'avoir permis de réaliser cette thèse et de m'avoir soutenue dans tous les bouts du rouleau, et à Pierre-Emmanuel de m'avoir autant aidée à élaborer mon projet cette année. Merci à Anne-Fleur pour ton soutien et à Théotime. Merci aux copains-copines-cousines d'avoir été là dans les moments faciles et moins faciles.

Enfin, merci et surtout désolée à la population de souris décimée par mes soins au nom de l'espèce humaine et de la science.

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Table des matières | 4 |
| Table des abréviations | 8 |
| Table des illustrations | 10 |
| Avant-propos | 12 |
| Introduction bibliographique | 13 |
| Chapitre 1 | 14 |
| Alimentation humaine et métabolisme | 14 |
| 1.1 Grandes transitions et paysage épidémiologique | 14 |
| 1.1.A – Les grandes transitions des derniers siècles | 14 |
| 1.1.B – Émergence des pathologies chroniques..... | 15 |
| 1.1.C – Le régime de type Western Diet, facteur de risque des NCD | 16 |
| 1.2 Les lipides alimentaires et leur utilisation | 17 |
| 1.2.A – Digestion, absorption et transport des lipides..... | 18 |
| 1.2.B – Métabolisme des lipides dans le tissu adipeux et le foie..... | 21 |
| 1.3 Absorption et métabolisme des sucres..... | 21 |
| 1.3.A – Digestion et absorption du glucose | 22 |
| 1.3.B – Métabolisme cellulaire du glucose..... | 22 |
| 1.3.B.2 - La glycolyse..... | 22 |
| 1.3.B.2 - Le glycogène..... | 24 |
| 1.3.B.3 - La néoglucogenèse | 24 |
| 1.3.C – Régulation hormonale du métabolisme glucidique..... | 24 |
| 1.4 Les fibres alimentaires | 26 |
| 1.4.A – Définition et hétérogénéité des fibres alimentaires..... | 26 |
| 1.4.B – Fibres alimentaires et maladies chroniques | 28 |
| 1.4.C – Les fibres et le microbiote intestinal | 28 |
| 1.5 Modèles animaux de régime Western..... | 29 |
| 1.5.A – Les High-Fat Diets (HFD)..... | 29 |

| | |
|---|-----------|
| 1.5.B – Évaluation de l'homéostasie glucidique..... | 31 |
| 1.5.C – Évaluation de l'inflammation..... | 31 |
| Chapitre 2..... | 33 |
| Processus immuno-métaboliques associés au régime gras | 33 |
| 2.1 WD et déséquilibre de la balance énergétique..... | 33 |
| 2.1.A – Régulation entéro-hormonale de la prise alimentaire | 34 |
| 2.1.B – Absorption intestinale des sucres et des lipides lors d'un WD..... | 34 |
| 2.2 L'intolérance au glucose | 36 |
| 2.2.A – Signalisation insulinique et résistance à l'insuline | 36 |
| 2.2.B – Adaptation de la sécrétion d'insuline lors d'un WD | 38 |
| 2.3 Métainflammation..... | 39 |
| 2.3.A – L'inflammation due aux lipides..... | 39 |
| 2.3.B – L'endotoxémie métabolique | 40 |
| 2.4 Contribution intestinale à l'endotoxémie | 42 |
| 2.4.A – La dysbiose | 42 |
| 2.4.A.1 - La dysbiose sous régime de type WD..... | 42 |
| 2.4.A.2 - Dysbiose et fibres alimentaires..... | 44 |
| 2.4.A.3 - Implication du microbiote dans la pathologie métabolique | 44 |
| 2.4.B – La barrière intestinale..... | 45 |
| 2.4.B.1 - Les jonctions serrées | 46 |
| 2.4.B.2 - La couche de mucus..... | 46 |
| 2.4.B.3 - Les peptides antimicrobiens et les immunoglobulines A | 47 |
| Chapitre 3..... | 49 |
| Immunité intestinale et régime WD..... | 49 |
| 3.1 Acteurs de l'immunité dans l'intestin sain | 49 |
| 3.1.A – Introduction au système immunitaire intestinal..... | 49 |
| 3.1.B – L'immunorégulation par les Tregs intestinaux..... | 51 |
| 3.1.B.1 - Importance de l'immunorégulation par les Tregs intestinaux..... | 51 |
| 3.1.B.2 - Hétérogénéité des Tregs intestinaux..... | 52 |
| 3.1.B.3 - Régulation des pTregs par le microbiote..... | 52 |
| 3.1.B.4 - Régulation des Tregs par les métabolites d'origine alimentaire..... | 53 |
| 3.1.C – Réponses LT CD4 ⁺ effectrices aux commensaux | 54 |
| 3.1.C.1 - Induction des Th17 intestinaux..... | 54 |
| 3.1.C.2 – Hétérogénéité des Th17 | 54 |
| 3.1.C.3 - Sécrétome des Th17 : l'IL-17 et l'IL-22 | 54 |
| 3.1.D – Maintien de l'équilibre immunitaire : les cDCs intestinales..... | 55 |
| 3.2 Mécanismes d'induction des LTs CD4 ⁺ | 58 |
| 3.2.A - Acquisition des antigènes par les cDCs de la LP et migration..... | 58 |

| | |
|---|------------|
| 3.2.B – Éducation des LTs CD4 ⁺ dans les GLMs | 59 |
| 3.2.B.1 - Activation et polarisation des LTs CD4 ⁺ | 59 |
| 3.2.B.2 - Induction du « gut-homing » | 60 |
| 3.2.C – Régulation nutritionnelle des DC intestinales | 61 |
| 3.3 L'immunité intestinale sous HFD..... | 62 |
| 3.3.A – HFD et cDCs intestinales | 62 |
| 3.3.B – Altérations de la tolérance orale..... | 62 |
| 3.3.C – Inflammation Th1 intestinale de bas grade..... | 63 |
| 3.3.D – Réponses de type Th17 sous HFD..... | 64 |
| Objectifs du travail de thèse..... | 65 |
| Résultats | 66 |
| Conclusion et discussion | 93 |
| 1 Diminution des LTs CD4 ⁺ RORγt ⁺ intestinaux par le régime HFD | 93 |
| 2 Rétablissement des LTs CD4 ⁺ RORγt ⁺ intestinaux par les fibres | 94 |
| 3 Les cDC2 dans les effets immunitaires des fibres..... | 95 |
| 4 Mécanismes impliquant les cDC2 dans les effets immunitaires des fibres..... | 96 |
| 5 Hypothèse de la boucle de régulation positive..... | 97 |
| 6 Les cDC2 intestinales, nouvelles actrices du métabolisme | 99 |
| 7 Intégration des cDC2 aux bénéfices métaboliques des fibres..... | 100 |
| 8 Perspectives..... | 101 |
| Valorisation des résultats de la thèse..... | 102 |
| Bibliographie..... | 104 |

Table des abréviations

| | | | |
|--------------|--|---------------|--------------------------------------|
| 4EBP1 | Eukaryotic translation initiation factor 4E-Binding Protein | Fas | Fatty Acid Synthase |
| Acc | Acetyl CoA Carboxylase | FAT | Fatty Acid Translocase |
| ADP | Adénosine DiPhosphate | FATP | Fatt Acid Transport Protein |
| AG | Acide Gras | FLT3L | FMS-Like Tyrosine kinase 3 Ligand |
| AHR | Aryl Hydrocarbon Receptor | FOS | Fructooligosaccharides |
| AMP | Adénosine MonoPhosphate | FOX | Forkhead Box protein |
| APC | Antigen Presenting Cell | G6Pase | Glucose-6 Phosphatase |
| ATP | Adénosine TriPhosphate | GALT | Gut-Associated Lymphoid Tissues |
| BATF | Basic leucine zipper ATF-like Transcription Factor | GIP | Gastric Inhibitory Peptide |
| CCL | C-C motif Chemokine Ligand | GLUT | Glucose Transporter |
| CCR | C-C motif Chemokine Receptor | GPR | G-Protein coupled Receptor |
| CD | Cluster of Differentiation | GSIS | Glucose-stimulated Insulin Secretion |
| cDC | Conventional Dendritic Cell | GSK | Glycogen-Synthase Kinase |
| CE | Cholesterol Ester | GLP | Glucagon-Like Peptide |
| CFTR | Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator | HFD | High-Fat Diet |
| CTLA | Cytotoxique T Lymphocyte Associated protein | HSL | Hormone-sensitive Lipase |
| DC | Dendritic cell | IFN | Interferon |
| DT2 | Diabète de Type 2 | IL | Interleukine |
| FABP | Fatty-Acid Binding Protein | NGI | Néoglucogénèse intestinale |

| | | | |
|----------------|--|--------------------------------|--|
| INOS | inducible Nitric Oxyde Synthase | PIP3 | Phosphatidylinositol Triphosphate |
| IR | Insulin Receptor | PKB | Protein Kinase B |
| IRF | Interferon-Related Factor | PL | Phospholipide |
| IRS | Insulin Receptor Substrate | PPAR | Peroxisome Proliferator-Activated Receptor |
| LDLR | Low Density Lipoprotein Receptor | PTREG | Lymphocyte T régulateur périphérique |
| LP | Lamina Propria | PYY | Peptide YY |
| LPL | Lipoprotein Lipase | qPCR | Quantitative Polymerase Chain Reaction |
| LPS | Lipopolysaccharide | AR | Acide rétinoïque |
| LT | Lymphocyte T | RORγt | RAR-Related Orphan Receptor γ t |
| MADCAM | Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule | SCFA | Short-Chain Fatty Acid |
| MAPK | Mitogen-Activated Protein Kinase | SFB | Segmented Filamentous Bacteria |
| MHC | Major Histocompatibility Complex | SGLT | Sodium-dependent Glucose Transporter |
| MIC1 | Maladie Inflammatoire Chroniques de l'intestin | sIGA | Immunoglobuline A sécrétoire |
| GLM | Ganglion lymphatique mésentérique | SII | Système Immunitaire Intestinal |
| MODC | Monocyte-derived dendritic cell | TCR | T Cell Receptor |
| MTOR | Mammalian Target of Rapamycin | TG | Triglycéride |
| MTTP | Microsomal Triglyceride Transfer Protein | TGF | Transforming Growth Factor |
| n/tTreg | Lymphocyte T régulateur naturel/thymique | Th | Helper T cell |
| NCD | Non Communicable Diseases | TLR | Toll-Like Receptor |
| NK | Natural Killer | TNF | Tumor Necrosis Factor |
| NLRP3 | NLR Family Pyrin Domain Containing | Treg | Lymphocyte T régulateur |
| NRP1 | Neuropiline 1 | VLDL | Very Low Density Lipoprotein |
| OMS | Organisation Mondiale de la Santé | WD | Western Diet |
| PAM | Peptides antimicrobiens | ZO | Zona Occludens |
| pDC | Plasmacytoid Dendritic Cell | | |
| PDL | Programmed-Death Ligand | | |
| PEPCK | Phosphoenolpyruvate Carboxylase | | |
| PI3K | Phosphatidylinositol-3 Kinase | | |

Table des illustrations

- Figure 1, page 17 :** Morphologie et structure de la muqueuse intestinale
- Figure 2, page 19 :** Absorption et métabolisme entérocytaire des lipides
- Figure 3, page 20 :** Métabolisme des acides gras dans les adipocytes : lipogénèse et lipolyse
- Figure 4, page 23 :** Le métabolisme du glucose : glycolyse et néoglucogénèse
- Figure 5, page 25 :** Régulation hormonale du métabolisme énergétique : l'insuline et le glucagon
- Figure 6, page 35 :** Le compartiment métabolique de l'intestin dans les bénéfices des fibres alimentaires
- Figure 7, page 37 :** Voie de signalisation de l'insuline
- Figure 8, page 41 :** Voie de signalisation LPS/TLR4
- Figure 9, page 43 :** Classification des bactéries du microbiote intestinal
- Figure 10, page 47 :** Composants de la barrière intestinale
- Figure 11, page 50 :** Structure du système immunitaire intestinal
- Figure 12, page 56 :** Développement et spécificités fonctionnelles des cDCs intestinales
- Figure 13, page 60 :** Education des LT CD4⁺ dans les GLMs
- Figure 14, page 63 :** Effets immunitaires des fibres alimentaires dans l'intestin
- Figure 15, page 98 :** Hypothèse explicative des effets des fibres sur les Th17
- Tableau 1, page 27 :** Principaux types de fibres alimentaires et propriétés physico-chimiques
- Tableau 2, page 30 :** Composition pour 100g de croquettes du régime standard et du régime gras

Avant-propos

Les maladies chroniques sont aujourd'hui responsables d'environ 70% des décès mondiaux dont 40% avant l'âge de 70 ans. Parmi elles, les pathologies cardiométaboliques, comme l'obésité qui concerne environ 1/3 de la population des régions industrialisées, lient inflammation et troubles de l'homéostasie énergétique.

Ces maladies métaboliques sont associées à un mode de vie qui favorise l'excès énergétique, notamment par le biais d'un régime alimentaire fort en graisses et en sucres simples, et pauvre en fibres alimentaires. Ce régime est aujourd'hui reconnu comme l'un des facteurs capitaux du développement des pathologies métaboliques. Ainsi, un effort de recherche conséquent est placé dans la compréhension des mécanismes pathogéniques associés à sa consommation. Toutefois, un grand nombre d'études se focalise sur ce que le régime contient, en particulier les graisses, plutôt que sur ses carences. Pourtant, l'importance des fibres alimentaires dans le régime se manifeste avec évidence et les études épidémiologiques ont associé une forte consommation de fibres avec une meilleure santé métabolique et une plus grande richesse du microbiote intestinal.

Les mécanismes qui sous-tendent les bénéfices des fibres font également l'objet de recherche sur les modèles animaux de pathologies métaboliques. Ils se révèlent complexes et multifactoriels. Les fonctions intestinales d'absorption, de production du glucose et de sécrétion endocrine y jouent un rôle majeur. Les fibres sont également capables de promouvoir la fonction de barrière intestinale et le maintien de la symbiose avec le microbiote, qui ont récemment émergé comme des acteurs déterminants de la pathogenèse métabolique.

En parallèle, le rôle du système immunitaire intestinal et de ses interactions avec les autres fonctions progresse notamment grâce à la discrimination des populations de cellules présentatrices d'antigènes. En revanche, l'effet du régime sur le système immunitaire de l'intestin reste peu connu, notamment l'intégration des signaux associés à la présence ou à l'absence des fibres alimentaires.

Ainsi, au cours de ma thèse, je me suis intéressée à l'impact de la pauvreté en fibres dans le régime gras sur le système immunitaire intestinal, notamment au niveau de populations primordiales pour le maintien de la symbiose.

Introduction bibliographique

Chapitre 1

Alimentation humaine et métabolisme

Les deux derniers siècles ont été marqués par de grandes transitions démographiques et économiques, porteuses de nouveaux modes de vie. A ces derniers est associé le paysage épidémiologique des maladies chroniques, qui constituent aujourd'hui la première cause de décès dans le monde¹. Parmi les facteurs de risque de ces pathologies, la composition du régime alimentaire est en première ligne.

1.1 Grandes transitions et paysage épidémiologique

1.1A – Les grandes transitions des derniers siècles

Le développement économique, l'industrialisation et l'urbanisation des dernières décennies ont entraîné une transition vers des nouveaux modes de soin, d'alimentation, de travail et de loisir. Ces transitions s'inscrivent dans un paradigme théorique majeur qui comprend d'une part la transition démographique, d'autre part la transition épidémiologique, et enfin la transition nutritionnelle^{2,3,4}.

Cette évolution est associée au recul de deux fléaux majeurs de l'histoire de l'humanité. Premièrement, les maladies infectieuses ont connu une grande dépression. Au XIX^{ème} siècle, les infections microbiennes étaient responsables d'environ la moitié des décès mondiaux. Aujourd'hui,

elles ne sont plus la cause que de 15% des morts⁵. Un grand nombre de facteurs est potentiellement responsable de cette évolution, parmi lesquels l'amélioration des conditions sanitaires au cours du XIX^e siècle, ainsi que l'introduction et le déploiement des vaccins et des antibiotiques⁶.

Le deuxième fléau en déclin est la famine, bien que plus de 800 millions de personnes dans le monde demeurent en état de sous-nutrition chronique. L'économiste Barry Popkin décrit la régression de la famine comme une étape clé de la transition nutritionnelle associée à l'évolution structurelle du régime. Le développement économique d'un pays entraîne ainsi de nouveaux processus dans la chaîne d'approvisionnement et des améliorations dans les provisions alimentaires du pays. La sous-nutrition est ainsi éliminée progressivement, bien que ce phénomène soit très localisé, et se produise inégalement selon les régions⁷.

1.1.B – Émergence des pathologies chroniques

Les changements de mode de vie dans les pays industrialisés et en développement favorisent des facteurs de risques pour les pathologies associées. En contraste avec la diminution du poids des maladies infectieuses et de la famine, les dernières décennies se font le témoin de l'explosion d'un groupe de pathologies chroniques appelés les « maladies non communicables » (NCD, non communicable diseases)⁷. Les NCD correspondent à des pathologies chroniques qui associent troubles métaboliques et inflammation. Il s'agit principalement des maladies cardiométaboliques (obésité, diabète de type 2, athérosclérose) mais également des maladies respiratoires et des cancers. En Europe, 85% des décès sont attribuables aux NCDs⁸. Elles sont également responsables de 68% des décès mondiaux en 2012, dont 40% chez des personnes de moins de 70 ans. Ces pathologies représentent un coût socio-économique considérable^{9,10}.

Les comorbidités principales associées aux maladies métaboliques chroniques ces pathologies sont regroupées sous le terme de syndrome métabolique. Le syndrome métabolique recoupe généralement un état d'obésité ou de pré-obésité avec des anomalies de l'homéostasie glucidique et de l'hypertension artérielle¹¹. L'obésité, qui correspond à un stockage excessif de graisses dans le tissu adipeux, est un facteur de risque majeur des pathologies chroniques. Elle conditionne chez les adultes européens le développement de 88% des diabètes de type 2, 35% des maladies cardiaques ischémiques et 55% des hypertensions artérielles¹². L'obésité est aujourd'hui considérée comme une épidémie, car elle touche 20 à 30% de la population européenne¹³. Aux Etats-Unis, 34% des adultes et 15 à 20% des enfants sont obèses¹⁴. Malgré la mise en place de mesures de prévention, ces proportions continuent de s'accroître.

1.1.C – Le régime de type Western Diet, facteur de risque des NCD

Le régime alimentaire est largement reconnu comme un facteur de risque des pathologies chroniques inflammatoires, et notamment du syndrome métabolique. De fait, le maintien de l'équilibre entre les apports et les dépenses énergétiques est essentiel pour maintenir la santé métabolique et une masse corporelle saine. Or, l'industrialisation et l'urbanisation croissantes ont restructuré les manières de s'alimenter, altérant l'équilibre entre la disponibilité alimentaire et les dépenses énergétiques. Les importations et le développement des filières de la viande, des huiles tropicales et des sucres issus de la betterave et de la canne ont ainsi permis la diminution du coût et une plus grande accessibilité des aliments à forte densité calorique. Par exemple, la consommation d'huiles végétales raffinées, notamment sous la forme de margarine, n'a cessé d'augmenter aux Etats-Unis depuis les années 1900 passant de 5kg par habitant par an à quasiment 30 en 2000¹⁵. En outre, les produits manufacturés gagnent de l'importance dans le régime¹⁶. Ainsi, au cours des deux derniers siècles, des régimes traditionnels à base végétale, ont été remplacés par des régimes à haute teneur en graisses et denses en énergie, basés sur les produits animaux et transformés^{17,18}.

Le type de régime occidental à haute densité calorique à laquelle cette transition aboutit est désigné communément sous le nom de « Western Diet » (WD). Il n'existe pas de standard défini des apports d'un WD, ce qui rend la notion relativement floue. Néanmoins, certaines caractéristiques sont répandues. Il s'agit tout d'abord d'une structure nutritionnelle orientée vers une grande densité énergétique. En effet, entre 1960 et 1990, la disponibilité alimentaire a augmenté de 600 kilocalories (kcal) dans les pays industrialisés, aboutissant à un total de 3380 kcal journalières disponibles à la consommation par habitant alors qu'une consommation quotidienne de 2000kcal environ est recommandée¹⁸. D'autre part, le régime de type WD comprend une proportion élevée de sucres et de graisses, ainsi qu'un faible apport en fibres alimentaires¹⁷. Ces évolutions bouleversent les apports nutritionnels en macro- et en micronutriments et l'équilibre métabolique qui en dépend. En effet, les nutriments, notamment les sucres et les lipides, sont absorbés au niveau intestinal ([figure 1](#)) et entrent

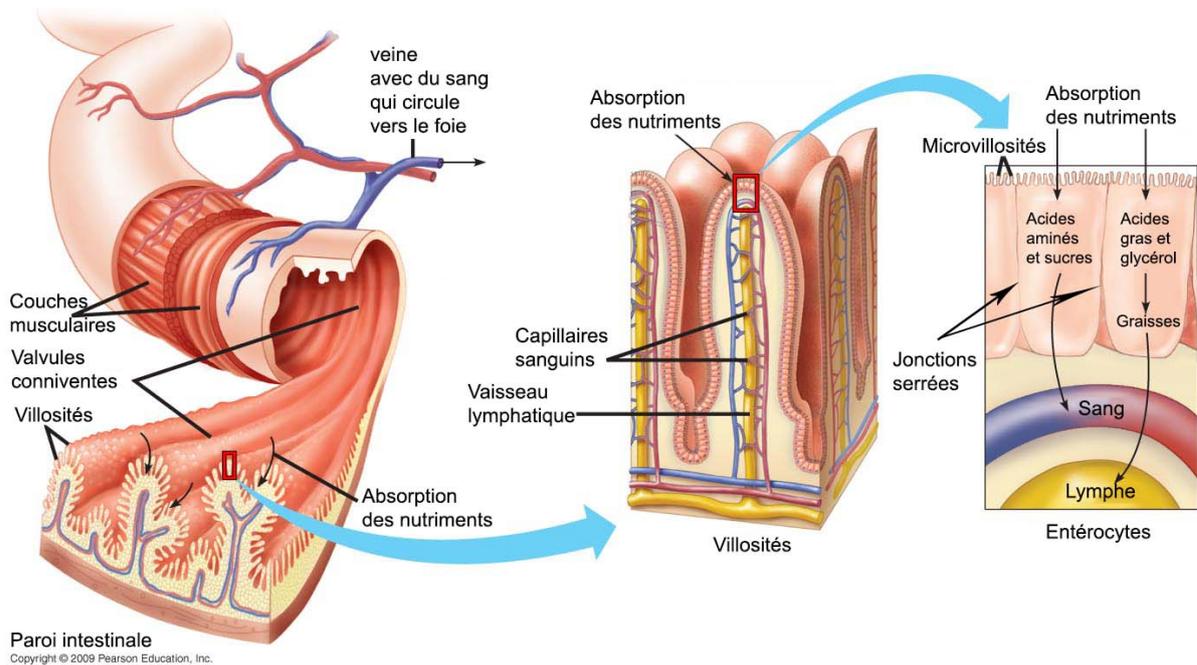


Figure 1 Morphologie et structure de la muqueuse intestinale

La structure intestinale maximise l'absorption des nutriments grâce à de multiples niveaux de replis : valvules conniventes, villosités, microvillosités de la surface apicale des entérocytes. L'épithélium intestinal est une monocouche qui sépare le milieu extérieur (la lumière) de la lamina propria sous-tendue par la couche sous-muqueuse et la couche musculuse. La villosité est l'unité fonctionnelle de l'absorption intestinale. Elle est en renouvellement continu grâce à la prolifération des cellules souches au fond des cryptes qui progressent vers le haut de la villosité au fur et à mesure de leur différenciation, s'exfolient au sommet. La villosité est irriguée au pôle basal des entérocytes par la circulation sanguine dans laquelle le glucose et les protéines sont relargués par les entérocytes, et par la circulation lymphatique qui récupère les chylomicrons contenant les lipides. Outre les entérocytes absorbants, la monocouche épithéliale comprend les cellules entéroendocrines, les cellules de Paneth qui sécrètent des peptides antimicrobiens, les cellules caliciformes productrices de mucus ainsi que des cellules participant à l'immunité comme les cellules M et Tuft. Les fonctions intestinales suivent une spécialisation selon un axe proximo-distal (duodénum-jéjunum-iléon-colon). L'épithélium du colon est peu absorbant et ne contient pas de structure villositaire mais seulement des cryptes.

dans des voies métaboliques spécifiques pour produire de l'énergie cellulaire sous forme d'ATP ou pour soutenir des fonctions anaboliques comme la synthèse des acides nucléiques.

1.2 Les lipides alimentaires et leur utilisation

Selon l'OMS, la proportion d'énergie du régime apportée par les lipides dépasse les 35% dans les régions industrialisées, alors que la recommandation correspond à environ 20% pour une activité physique moyenne. Le terme de « lipides » rassemble une grande variété de molécules hydrophobes

et amphiphiles comme les acides gras, les triglycérides, les stérols et les phospholipides. Outre leurs qualités de substrats énergétiques, ces molécules sont impliquées dans la formation des structures fondamentales des cellules et des tissus, comme les membranes biologiques, ainsi que dans la régulation d'un grand nombre de processus biologiques. Les substrats lipidiques majeurs apportés par l'alimentation humaine sont les acides gras (AGs), sous forme libre ou sous forme de triglycérides (TGs), c'est-à-dire liés à un glycérol. Selon la longueur de leur chaîne carbonée, ils sont classés en trois types : AGs à chaîne courte (jusqu'à 6 carbones), moyenne (6 à 12 carbones) ou longue (plus de 12 carbones). Leur caractère hydrophobe nécessite un transport spécifique dans la circulation, réalisé par les lipoprotéines.

1.2.A – Digestion, absorption et transport des lipides

La digestion des lipides commence dès la salive et l'estomac, sous l'effet des lipases linguales et gastriques. Cela aboutit à la digestion partielle des TGs, ainsi qu'à une émulsification mécanique par le péristaltisme stomacal¹⁹. La digestion des TGs se poursuit dans la lumière intestinale et nécessite le déversement des lipases pancréatiques et de la bile dans le duodénum²⁰. La bile, synthétisée par les cholangiocytes, est composée d'acides biliaires amphiphiles, de cholestérol et de déchets métaboliques comme la bilirubine^{21,22}. Les propriétés physico-chimiques des acides biliaires leur permettent de former des micelles avec les lipides pour les transporter jusqu'à la surface apicale des entérocytes. En outre, elle rend les lipides accessibles aux lipases luminales qui ne peuvent pas accéder à l'intérieur des gouttelettes lipidiques. Ainsi, l'hydrolyse des TGs libère le glycérol et 3 AGs alors absorbés par les entérocytes. Les AGs à chaîne courte et le glycérol sont capables de diffuser passivement à travers la membrane apicale des entérocytes, surtout au niveau de l'iléon où sont aussi réabsorbés les acides biliaires²³. Par ailleurs, certains transporteurs ont été identifiés pour faciliter le passage des AGs à chaîne longue et moyenne²⁴. C'est le cas du CD36 ou FAT (Fatty Acid Translocase) qui transporte les AGs à chaîne longue²⁵, ou de FATP4 (Fatty Acid Transport Protein 4) qui transporte les acides gras à chaîne moyenne et longue²⁶ (figure 2). L'absorption des lipides alimentaires permet également l'absorption des vitamines liposolubles A, D, E et K²⁷, dont une consommation microdosée est nécessaire pour certaines fonctions comme la croissance, la reproduction et l'immunité. Par

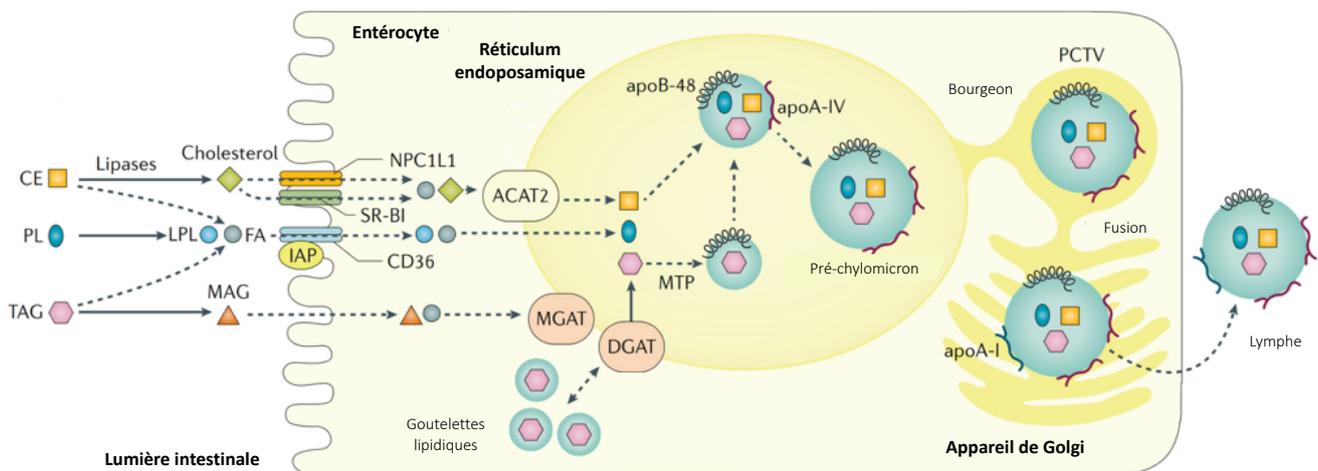


Figure 2 Absorption et métabolisme entérocytaire des lipides

Les lipides absorbés par les entérocytes sont les phospholipides (PL) le cholestérol et les acides gras libres (FA) provenant des triglycérides (TAG) et des esters de cholestérol (CE) hydrolysés par les lipases luminales. Le cholestérol pénètre l'entérocyte par les transporteurs NPC1L1 et SRB1 et sera métabolisé dans la formation des chylomicrons. Les fonctions biologiques du cholestérol sont diverses : il participe notamment à la composition des membranes plasmiques dont il favorise la rigidité et constitue le précurseur des acides biliaires. Les acides gras à chaîne longue et moyenne entrent dans l'entérocyte grâce à CD36. Les acides gras à chaîne courte et le glycérol diffusent à travers la membrane apicale. Les lipides sont intégrés avec les apolipoprotéines dans la formation des chylomicrons qui sont ensuite sécrétés dans la lymphe et qui rejoignent la circulation sanguine au niveau de l'artère sous-clavière.

Adapté d'après Ko C.W., Qu J., Black D.D., Tso P. Regulation of intestinal lipid metabolism: Current concepts and relevance to disease. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. (2020)

exemple, la vitamine A, par le biais de son métabolite l'acide rétinoïque, participe aux bonnes fonctions épithéliales, ainsi qu'à la régulation immunitaire²⁸.

Parvenus dans le cytosol de l'entérocyte, où leur transport en milieu aqueux est assuré par les FABP (Fatty Acid Binding Protein), les AGs et le glycérol sont de nouveau métabolisés en TGs. Les lipides peuvent ensuite connaître plusieurs sorts selon les besoins de la cellule, de l'environnement et du type de lipide. Ils peuvent être stockés sous forme de gouttelette lipidique dans l'entérocyte, ou directement oxydés pour fournir de l'énergie à l'entérocyte.

En période de forte absorption, la majorité des lipides qui entre dans l'entérocyte participe à la synthèse des chylomicrons, les lipoprotéines synthétisées par l'intestin. Les lipoprotéines sont composées d'une fraction lipidique hydrophobe en leur cœur, enveloppée d'une fraction hydrophile constituée par les apolipoprotéines. Ces protéines permettent la solubilisation des particules lipidiques dans la circulation sanguine, mais également la reconnaissance de récepteurs cellulaires. Dans le cas des chylomicrons, l'apolipoprotéine dominante et spécifique est l'apoB48. Les lipides sont transférés aux chylomicrons par le biais de la MTP (Microsomal Triglyceride Transfert Protein)²⁹. Les

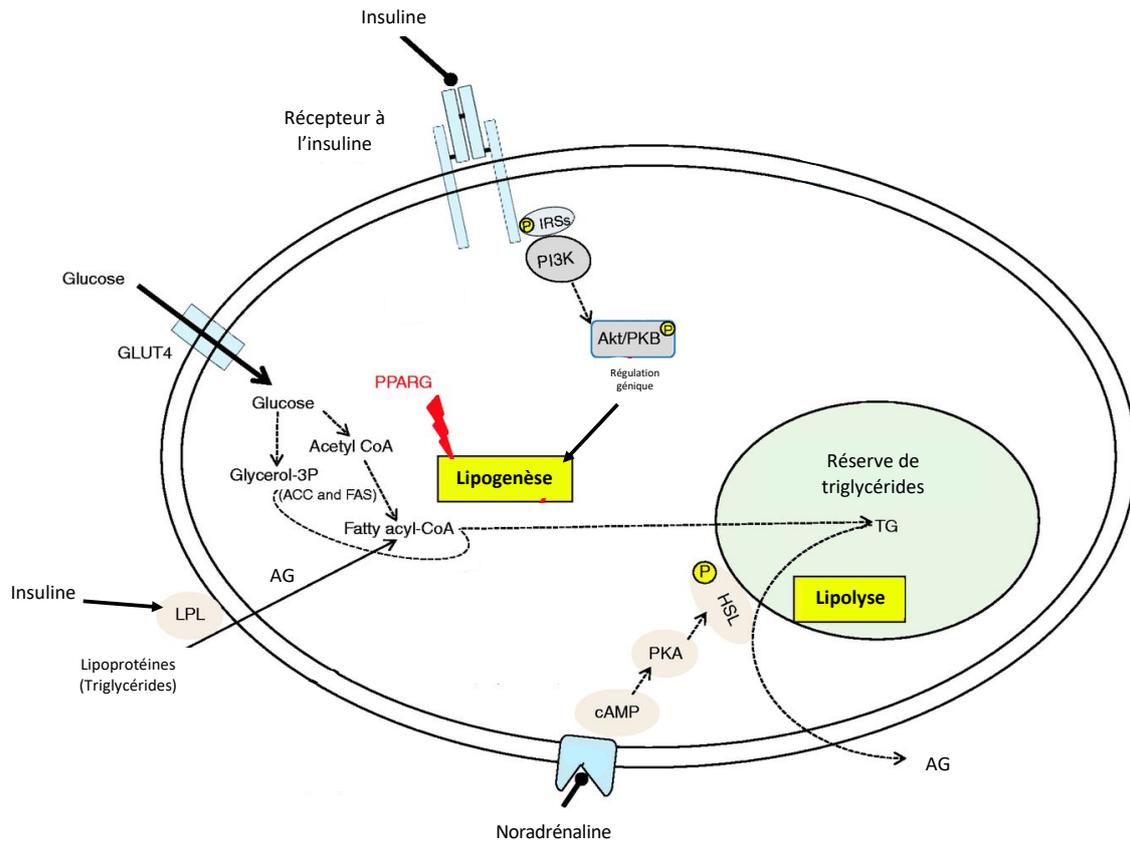


Figure 3 Métabolisme des acides gras dans les adipocytes : lipogénèse et lipolyse

Les adipocytes et les hépatocytes sont les principales cellules du métabolisme et du stockage des lipides. Les acides gras libres (AG) peuvent diffuser dans la cellule après l'hydrolyse des lipoprotéines par la lipoprotéine lipase (LPL) activée par l'insuline. Ils peuvent aussi provenir de la lipogénèse de novo provoquée par l'insuline à partir du glucose. Après leur conversion en fatty-acyl-coA, ils sont estérifiés en triglycérides (TG) avec le glycérol et stockés dans les gouttelettes de stockage lipidique. Les catécholamines, dont la noradrénaline, activent la lipase hormono-sensible (HSL) responsable de la lipolyse des TG de la réserve intracellulaire. Un grand nombre de facteurs est régulateur du métabolisme cellulaire des acides gras, comme PPAR γ , un récepteur aux acides gras capables de stimuler la lipogénèse.

Adapté d'après Breton C. *The hypothalamus-adipose axis is a key target of developmental programming by maternal nutritional manipulation.* J. Endocrinol. (2013)

chylomicrons permettent ainsi la distribution des lipides absorbés par l'intestin aux organes périphériques¹⁹.

Les chylomicrons sont sécrétés dans les vaisseaux lymphatiques intestinaux, qui se déversent dans la circulation sanguine au niveau de l'artère sous-clavière³⁰. Pendant que les chylomicrons circulent, leurs TGs sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase (LPL), située à la surface des cellules endothéliales des capillaires dans les muscles et le tissu adipeux³¹. Cette enzyme, dont l'activité est favorisée par l'insuline, libère des AGs et du glycérol et permet aux tissus d'oxyder ou de stocker les AGs. Ce qui reste après la délipidation vasculaire des chylomicrons par la LPL est une lipoprotéine à très faible densité (VLDL) appelé « résidu de chylomicron ». Les VLDL sont rapidement éliminés par le foie en se fixant au récepteur LDLR pour une endocytose³².

1.2.B – Métabolisme des lipides dans le tissu adipeux et le foie

Les AGs sont une source d'énergie considérable, notamment stockée sous forme de TGs dans les cellules du parenchyme hépatique (réserve temporaire) et du tissu adipeux (réserve permanente). La première étape pour l'utilisation du gras comme source d'énergie est l'hydrolyse des TGs par les lipases, c'est-à-dire la lipolyse, pour aboutir au relargage d'AGs libres³³ (figure 3). Dans le tissu adipeux, la lipolyse est notamment activée par les hormones β -adrénergiques ou le glucagon³⁴. En revanche, elle est inhibée par l'insuline. Ainsi, en phase postprandiale et sous l'effet de l'insuline, la lipolyse est inhibée en faveur du stockage et de l'oxydation des lipides alimentaires absorbés. Les AGs libérés par la lipolyse intracellulaire sont alors utilisés directement par la cellule pour ses propres besoins, ou exportés dans la circulation où ils sont transportés par l'albumine³⁵. De cette manière, les AGs libres deviennent une source d'énergie disponible pour les autres tissus. Les AGs sont oxydés par la voie de la β -oxydation, génératrice d'ATP, dans les mitochondries³⁶.

L'oxydation des AGs résulte en la production d'acétyl-coA, qui peut entrer dans le cycle de Krebs. L'oxydation complète du palmitate, un AG à chaîne longue, rend 106 molécules d'ATP, ce qui en fait un matériau énergétique très dense. En effet, un gramme de lipides permet la production de 9kcal d'énergie, tandis qu'un gramme de glucose permet la production de 4 kcal d'énergie³⁷.

1.3 Absorption et métabolisme des sucres

La consommation élevée de sucres simples est l'une des problématiques majeures du WD. L'OMS recommande un apport en sucres inférieur à 5% des apports caloriques journaliers³⁸. A titre d'exemple concernant le WD, une étude estime à 14% l'énergie apportée par les sucres libres dans le régime moyen des néerlandais³⁹.

Les sucres obtenus par l'alimentation correspondent aux monosaccharides comme le glucose et le fructose, et aux disaccharides, comme le saccharose et le lactose. Ce sont des molécules hydrosolubles à 6 atomes de carbones. Le glucose est la forme prédominante de sucre circulant chez l'homme et la souris. Il est utilisé en tant que source d'énergie par l'ensemble des cellules de leur organisme. L'importance du glucose s'explique également par la nécessité biochimique de générer à partir de cette molécule un grand nombre de molécules capitales dans la structure et la fonction des cellules, comme les acides aminés ou les acides nucléiques⁹⁷.

1.3.A – Digestion et absorption du glucose

Les sucres sont exclusivement absorbés par les entérocytes sous forme de monosaccharides au niveau du duodénum et du jéjunum, les segments intestinaux proximaux. Au niveau intestinal, les oligo- et disaccharides sont hydrolysés par des enzymes spécifiques (disaccharidases) situées à la surface de l'épithélium⁴⁰. L'absorption entérocytaire des monosaccharides obtenus après digestion se fait grâce des transporteurs spécifiques⁴¹. Deux transporteurs de glucose, SGLT1 et GLUT2, coexistent à la surface des entérocytes. En conditions basales, SGLT1 est présent à la membrane apicale et GLUT2 à la membrane basolatérale des entérocytes. Dans un premier temps, un transport actif contre le gradient est réalisé par SGLT1 qui couple le transport du glucose à celui du sodium⁴². GLUT2 transporte ensuite de manière facilitée les monosaccharides depuis l'entérocyte jusqu'à la circulation⁴¹. Lors d'un fort influx de glucose dans la lumière, GLUT2 est également transloqué à la membrane apicale en réponse à l'augmentation du glucose intracellulaire médié par SGLT1⁴³. Cela permet de faciliter l'entrée du glucose depuis la lumière jusqu'au compartiment intracellulaire de l'entérocyte lors d'un repas fort en sucres. En phase postprandiale, l'insuline fait disparaître GLUT2 des membranes apicale et basolatérale pour réguler la glycémie postprandiale⁴⁴.

1.3.B – Métabolisme cellulaire du glucose

Les monosaccharides accèdent par la circulation sanguine aux cellules des organes périphériques. A l'échelle cellulaire, plusieurs voies majeures entrent dans la gestion du glucose et permettent de l'utiliser en tant que substrat énergétique, ou de le stocker pour une mobilisation ultérieure. D'une part, la glycolyse produit de l'ATP à partir de glucose. D'autre part, le glucose peut être stocké sous forme de glycogène (glycogénogenèse) puis déstocké (glycogénolyse) en cas d'utilisation des réserves. Enfin, la néoglucogenèse permet la synthèse de glucose à partir de substrats non glucidiques (lipides, pyruvate, acides aminés) (figure 4).

1.3.B.2 - La glycolyse

La glycolyse est utilisée par toutes les cellules de l'organisme pour générer de l'énergie. C'est une voie métabolique cytosolique en 10 étapes qui permet de convertir le glucose (hexose) en deux pyruvates (trioses). L'enzyme limitante principale de la glycolyse est la phosphofructokinase, qui est inhibée par le glucagon, l'adrénaline et l'ATP et activée par l'insuline, l'ADP et le 5'AMP⁴⁵. Les pyruvates sont ensuite convertis en acétyl-coA dans la mitochondrie. En contexte aérobie, le pyruvate peut entrer dans le cycle de Krebs dont les agents réducteurs sont ré-oxydés dans la chaîne respiratoire

mitochondriale. Au total, la glycolyse suivie du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire permet la production de 36 molécules d'ATP par molécule de glucose. L'acétyl-coA est un carrefour métabolique : en effet, il peut provenir non seulement du pyruvate mais également des lipides et des protéines⁴⁶. Ainsi, le cycle de Krebs peut être emprunté à partir du glucose, mais également d'autres substrats énergétiques. Il faut également noter que le glucose-6-phosphate, le premier métabolite généré lors de la glycolyse, peut entrer dans la voie des pentoses phosphate pour générer d'autres molécules comme les acides nucléiques ou le NADPH.

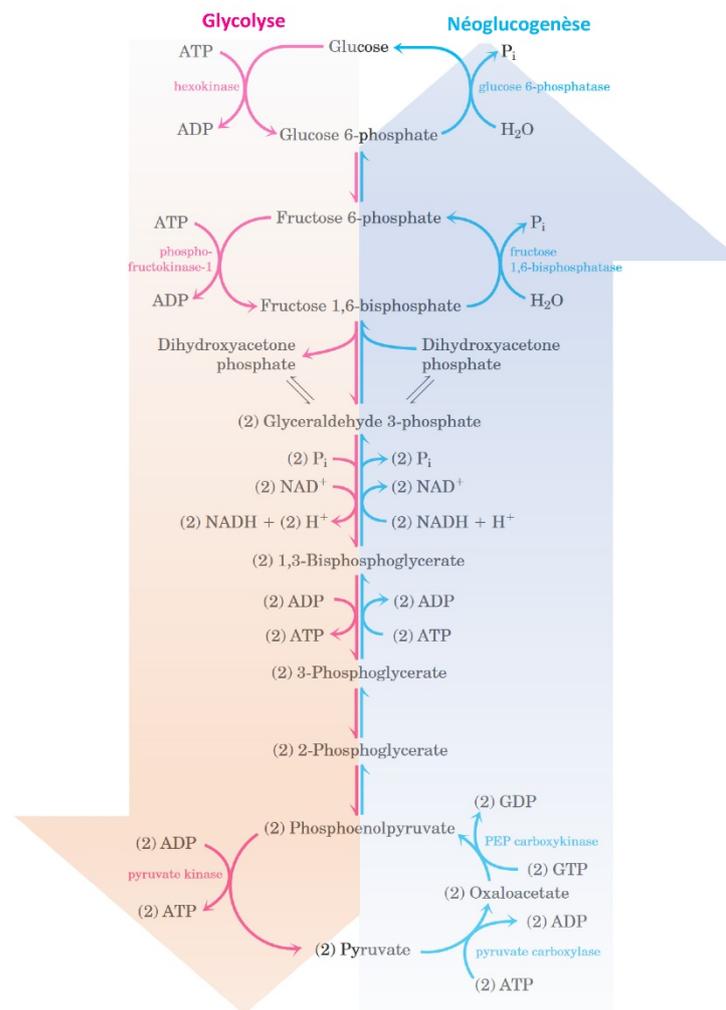


Figure 4 Métabolisme du glucose : glycolyse et néoglucogénèse

Dans toutes les cellules de l'organisme, le glucose est dégradé par la voie de la glycolyse dans le cytoplasme. Cette voie aboutit à la formation de deux molécules de pyruvate qui peuvent être convertis en acétyl-coA, carrefour métabolique permettant la production d'énergie cellulaire dans la mitochondrie. La glycolyse est régulée par ses enzymes majeures dont la phospho-fructokinase. A l'inverse, la néoglucogénèse est une voie métabolique inhibée par l'insuline qui permet la formation de glucose à partir de pyruvate. Les enzymes principales de cette voie comprennent la phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), exprimée par la plupart des cellules, et la glucose phosphatase (G6Pase) dont l'expression est restreintes aux cellules hépatiques, entérocytaires et du cortex rénal.

1.3.B.2 - Le glycogène

Si le glucose n'est pas immédiatement hydrolysé, il peut être stocké dans le cytosol sous forme de glycogène. Cela se produit généralement lorsque la glycémie est élevée. Cette voie métabolique de stockage est activée par l'insuline. Le stockage sous forme de glycogène a lieu principalement dans le foie⁴⁷. Les réserves hépatiques de glycogène sont rapidement mobilisables, notamment en contexte d'hypoglycémie. Le glycogène hépatique est alors hydrolysé en glucose sous l'action du glucagon lors de la glycogénolyse. Ce processus permet le maintien d'une glycémie stable.

1.3.B.3 - La néoglucogenèse

Le glucose peut donc être apporté par l'alimentation ou par la lyse du glycogène. Toutefois, suite à l'épuisement des réserves de glycogène pendant le jeûne prolongé, le glucose peut aussi être produit de manière endogène à partir d'autres substrats tels que les acides aminés, le pyruvate, le lactate ou le glycérol. Ce processus appelé néoglucogenèse est un ensemble de voies métaboliques qui s'opèrent à partir du pyruvate emprunte les 7 étapes réversibles de la glycolyse. En revanche, elle contourne les réactions irréversibles (gluco/hexokinase, phosphofructokinase I, pyruvate kinase) de manière spécifique avec des enzymes parallèles⁴⁵. La néoglucogenèse est inhibée par l'insuline⁴⁸ permettant un équilibre entre le glucose endogène et le glucose absorbé lors de la prise alimentaire. La néoglucogenèse prend place dans le foie, l'intestin et le tubule contourné proximal du cortex rénal en raison de leur expression spécifique de la dernière enzyme de la néoglucogenèse, la glucose-6-phosphatase⁹⁷. Il faut noter le rôle particulier de la néoglucogenèse intestinale, qui, grâce à la détection portale du glucose, permet d'activer la régulation centrale du métabolisme glucidique et de diminuer la production hépatique de glucose. Ce processus est notamment stimulé par la consommation de fibres alimentaires ou de leurs métabolites microbiens^{110,254}.

1.3.C – Régulation hormonale du métabolisme glucidique

Le métabolisme glucidique est contrôlé par deux hormones pancréatiques aux effets antagonistes : le glucagon et l'insuline (figure 5). L'équilibre entre ces deux hormones détermine le maintien de la glycémie en toutes conditions.

Le glucagon est sécrété par les cellules α des îlots de Langerhans du pancréas en réponse à l'hypoglycémie⁴⁹. Il s'agit d'une hormone hyperglycémisante qui permet la mobilisation des réserves intracellulaires de glucose lors d'une baisse de glycémie. Le glucagon agit surtout au niveau du foie. Il entraîne l'augmentation la production hépatique de glucose en stimulant dans un premier temps la glycogénolyse, puis la néoglucogenèse, et en inhibant la glycogénogénèse et la glycolyse⁵⁰. Le

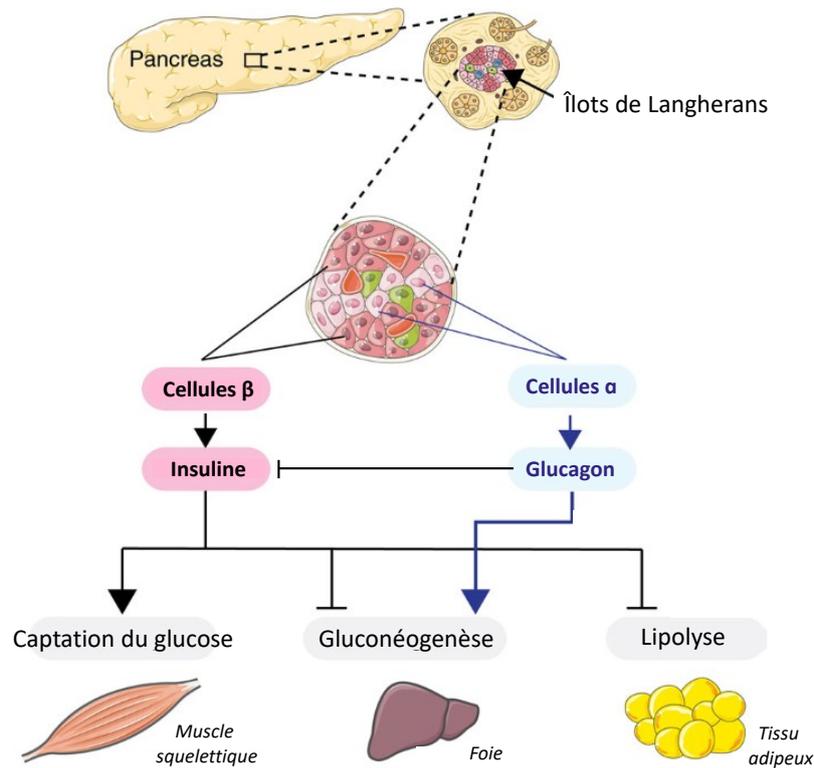


Figure 5 Régulation hormonale du métabolisme énergétique : l'insuline et le glucagon

L'insuline et le glucagon sont deux hormones pancréatiques aux effets antagonistes. L'insuline est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans et favorise les voies de captation et de stockage du glucose. Dans le muscle, le foie et le tissu adipeux elle permet la localisation de GLUT4 à la membrane plasmique pour l'entrée du glucose. Elle stimule les voies de stockage sous forme de glycogène ou de triglycérides et favorise l'activité LPL pour l'entrée des acides gras dans les cellules. Elle inhibe également les voies de la lipolyse au niveau des réserves de triglycérides ainsi que la néoglucogénèse et la lyse du glycogène. Le glucagon est produit par les cellules α des îlots de Langerhans et favorise la mobilisation des substrats énergétiques en période de jeûne. Il stimule ainsi la néoglucogénèse, la lyse du glycogène et la lipolyse. Les effets du glucagon peuvent s'exercer de manière directe dans le foie et par le biais de l'inhibition de la sécrétion d'insuline dans le tissu adipeux.

Adapté d'après Ruud, J., Steculorum, S. & Brüning, J. Neuronal control of peripheral insulin sensitivity and glucose metabolism. *Nat Commun* (2017).

glucagon exerce également ses actions hyperglycémiantes en inhibant la synthèse de l'insuline par les cellules β pancréatiques.

L'insuline est une hormone peptidique pléiotrope produite par les cellules β du pancréas⁵¹. L'un des rôles essentiels de l'insuline est de réguler le métabolisme en favorisant les voies de prise en charge et de stockage du glucose et des lipides. L'insuline exerce ses fonctions sur ses organes cibles par diverses cascades de signalisation intracellulaire. Dans le muscle squelettique, elle permet la captation du glucose en stimulant la translocation de GLUT4 à la membrane plasmique. Dans le foie, l'insuline inhibe l'expression d'enzymes clés de la néoglucogénèse. Dans le tissu adipeux, la signalisation insulinique diminue la lipolyse et ainsi l'efflux d'acides gras libres.

La sécrétion de l'insuline par les cellules β en réponse au glucose (GSIS) est un mécanisme complexe qui implique un large réseau de signalisations. Suite à son entrée dans la cellule β , le glucose entre

dans la voie de la glycolyse. L'ATP produit par ce moyen entraîne la fermeture des canaux K_{ATP} et un influx intracellulaire de calcium qui permet l'exocytose des vésicules d'insuline⁵¹. Dans un second temps, des messagers hormonaux et neuronaux entrent en jeu pour potentialiser la réponse insulinaire en réponse au glucose. Parmi ces régulateurs, on trouve des entérohormones appelées incrétines. Les incrétines comprennent le Gastric Inhibitory Polypeptide (GIP) et le Glucagon-Like Peptide 1 (GLP-1) et sont sécrétées respectivement par les cellules entéroendocrines K et L de l'intestin. La sécrétion intestinale du GIP et du GLP-1 est provoquée par le passage des nutriments dans la lumière intestinale, notamment le glucose^{52,53}. Ces peptides augmentent la sécrétion d'insuline en réponse au glucose via la stimulation de la voie AMP cyclique dans les cellules β pancréatiques. L'« effet incrétine » explique les différences de sécrétion d'insuline observées entre une administration orale ou intrapéritonéale de glucose^{54,55}. Les incrétines contrôlent jusqu'à 70% de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose administré par voie orale⁵⁶. Des études de blocage de la signalisation de ces deux hormones ont montré leur nécessité dans le fonctionnement physiologique du métabolisme glucidique^{57,58}.

Les besoins permanents de l'organisme en glucose à des fins énergétiques et structurelles sont ainsi couverts par l'alimentation, la glycogénolyse et la néoglucogenèse. La régulation de l'homéostasie du glucose et des lipides s'effectue de manière hormonale au moyen des deux hormones pancréatiques majeures, l'insuline et glucagon, sécrétées selon les niveaux de glucose circulant. Cela permet d'adapter constamment le métabolisme glucidique et lipidique à l'état nutritionnel de l'organisme.

1.4 Les fibres alimentaires

L'une des caractéristiques du régime Western est sa pauvreté en fibres alimentaires due à une faible consommation de fruits, de légumes, de tubercules et de céréales complètes⁵⁹, et au traitement industriel des aliments comme le blé⁶⁰. Dans le cadre d'un régime de type WD, la moyenne de consommation des fibres alimentaires est estimée à moins de 15 grammes par jour⁶¹. Or, un minimum de 25 grammes est conseillé par l'OMS, du fait des bénéfices constatés de ces molécules pour l'homéostasie énergétique.

1.4.A – Définition et hétérogénéité des fibres alimentaires

Les fibres alimentaires sont des polymères d'oses qui ne sont pas hydrolysables, ni

dégradables par les enzymes de l'organisme. La définition des fibres alimentaires est très variable et sujette à débat scientifique, du fait qu'il s'agisse d'un groupe très large et hétéroclite d'oligo- et de polysaccharides^{62,63}. Le Codex Alimentarius, programme normatif de l'ONU et de la FAO concernant les substances alimentaires et leurs usages, a défini les fibres alimentaires en 2009 comme « des polymères glucidiques composés de trois unités monomériques ou plus, qui ne sont ni digérés ni absorbés dans l'intestin grêle humain et appartiennent à l'une des catégories suivantes :

- polymères glucidiques comestibles, présents naturellement dans la denrée alimentaire telle qu'elle est consommée,
- polymères glucidiques comestibles qui ont été obtenus à partir de matières premières alimentaires brutes par des moyens physiques, enzymatiques ou chimiques et ont un effet physiologique bénéfique démontré par des critères scientifiques généralement acceptés,
- polymères glucidiques comestibles synthétiques qui ont un effet physiologique bénéfique démontré par des critères scientifiques généralement acceptés. »⁶⁴

Il est également précisé que « la décision d'inclure ou non les glucides à 3-9 unités monomériques doit revenir aux autorités nationales ». L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) inclut ces oligosaccharides dans la définition des fibres (saisine n°2003-SA-0232).

Les fibres sont généralement des éléments structurels ou de défense des plantes qui entrent dans la

| Type de fibres | Propriétés | | | Sources principales |
|----------------------------|------------|------------|--------------|--|
| | Viscosité | Solubilité | Fermentation | |
| Cellulose | | | | Légumes |
| Hémicellulose | Faible | Faible | Faible | Légumes |
| Lignine | | | | Graines |
| Inuline | | | | Racines et tubercules |
| Oligosaccharides | Faible | Elevée | Elevée | Fruits, légumes, légumineuses, céréales |
| Amidons résistants | | | | Céréales complètes, pomme de terre et banane... |
| Pectine | | | | Fruits, légumes, légumineuses |
| β glucane | Elevée | Elevée | Elevée | Avoine et seigle |
| Gommes et mucilages | | | | Plantes légumineuses, algues, gommes d'origine bactérienne |
| Psyllium | | | | Graines |
| Méthylcellulose | Elevée | Elevée | Faible | Additifs alimentaires |

Tableau 1 Principaux types de fibres alimentaires et propriétés physico-chimiques

Les fructo-oligosaccharides sont des oligosaccharides non digestibles ; ils ne sont pas représentés car ils sont le produit de la lyse chimique de l'inuline.

Adapté d'après Bozzetto L, Costabile G, Della Pepa G, Ciciola P, Vetrani C, Vitale M, Rivellese AA, Annuzzi G. Dietary fibre as a unifying remedy for the whole spectrum of obesity-associated cardiovascular risk. Nutrients (2018).

composition de leur paroi cellulaire⁶⁵. Elles sont ainsi retrouvées dans une grande quantité d'aliments d'origine végétale, comme les fruits et légumes, les racines et tubercules, et les céréales complètes (tableau 1).

1.4.B – Fibres alimentaires et maladies chroniques

La consommation de fibres est corrélée avec la santé métabolique des individus, notamment avec le maintien d'un poids sain à long terme^{66,67}. Si les recommandations officielles de l'OMS se situent à 25 grammes par jour, les études de supplémentation chez l'homme suggèrent qu'une dose de 50 grammes minimum serait nécessaire pour obtenir les bénéfices des fibres sur la santé. En effet, une supplémentation supérieure à 50 grammes de fibres par jour permet des améliorations significatives des marqueurs métaboliques étudiés, notamment de l'homéostasie glucidique^{68,69,70,71}. En parallèle, un certain nombre d'études s'intéresse aux régimes dits « traditionnels », de populations qui n'ont pas ou peu effectué la transition nutritionnelle. Par exemple, les populations humaines peu industrialisées qui consomment plus de 50 grammes de fibres par jour, comme dans les milieux ruraux d'Ouganda, sont connues pour être épargnées par les maladies chroniques inflammatoires⁷². Outre les pathologies métaboliques, la faible consommation de fibres pourrait être associée à d'autres maladies chroniques du monde occidental. Notamment, les immunopathologies comme l'asthme, les allergies et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont en recrudescence depuis quelques années^{73,74,75}. Les mutations du régime alimentaire participent probablement de cette évolution⁷³. En effet, l'obésité est un facteur de risque pour l'asthme⁷⁶ alors que la consommation de fibres alimentaires a été associée à une diminution de la physiopathologie allergique et du risque de maladie de Crohn^{77,78,79,80}.

1.4.C – Les fibres et le microbiote intestinal

Comme introduit précédemment, les fibres ne sont ni hydrolysables, ni dégradables par les enzymes de l'organisme. Elles peuvent en revanche être fermentées par le microbiote, c'est-à-dire les bactéries commensales résidentes de la lumière intestinale^{81,82}. Le microbiote représente environ 10^{14} bactéries réparties en plus de 20000 espèces dont la majeure partie réside dans le colon et le caecum^{83,84,85}. La composition du microbiote varie d'un individu à l'autre et de manière spatio-temporelle, bien que de grands types structurels puissent être dégagés⁸⁶.

Les fibres alimentaires détiennent un rôle trophique pour les populations bactériennes de l'intestin. Ainsi, les espèces qui sont capables de les fermenter sont plus présentes chez les individus qui en

consomment⁸⁷. La consommation de fibres alimentaires participe donc à l'écologie bactérienne dans l'intestin, en fournissant des substrats pour la croissance bactérienne⁸⁸. Il est aujourd'hui établi que la consommation ou l'absence chronique de fibres dans le régime entretient un schéma microbien à long terme^{87,89,90,91}. Le microbiote est aussi capable de se réarranger dès les premières 24h lors d'une diminution de la consommation de fibres⁹².

Le microbiote est une entité dynamique et réactive. Il est très sujet aux perturbations, comme la prise d'antibiotiques ou le changement de régime alimentaire. Ainsi, un changement rapide de microbiote se produit chez l'homme lors d'une immigration dans un environnement industrialisé⁹³. Aujourd'hui, le « microbiote industrialisé », associé à la consommation du régime WD, est envisagé comme un contributeur aux pathologies chroniques^{94,95,96}. En contraste, les populations consommant un régime riche en fibres alimentaires, comme les chasseurs-cueilleurs Hadza de Tanzanie, présentent une plus grande diversité du microbiote intestinal et sont peu atteints par les pathologies chroniques⁹⁸. Une étude comparative des enfants européens et africains a également montré une réduction de la diversité microbienne et une déplétion des bactéries responsables de la digestion des fibres chez les premiers⁸⁹. Ainsi, une corrélation positive est établie chez l'homme entre la consommation de fibres alimentaires, la diversité du microbiote et la santé métabolique.

1.5 Modèles animaux de régime Western

Étant donnés les enjeux sanitaires des NCD, un grand effort est placé dans la recherche sur les pathologies métaboliques comme l'obésité. Elle s'est notamment développée à partir de modèles animaux comme la souris.

1.5.A – Les High-Fat Diets (HFD)

De nombreux régimes dédiés à l'étude des NCD chez la souris reposent sur des modèles de WD. Parmi eux, on compte surtout des régimes hypercaloriques inducteurs d'obésité, appelés High-Fat Diet (HFD). En comparaison des régimes pauvres en gras qui comprennent typiquement entre 8 et 15% de graisses, les régimes HFD sont composés d'une fraction de graisses variant entre 40 et 80% des apports caloriques⁹⁹. Ils peuvent également être constitués par une plus grande part de saccharose. Selon la durée du régime, le développement précoce des dysfonctionnements ou l'obésité avérée peuvent être étudiés. Les modèles d'obésité et de pathologie métabolique induites par le régime sont

aujourd'hui bien caractérisés. Pendant ma thèse, j'ai modélisé la pathologie métabolique précoce avec un HFD à 60% de kcal issues des graisses pendant 4 semaines. Le régime HFD à 60% de kcal issues des graisses permet la modélisation du syndrome métabolique, puisqu'il entraîne l'obésité et les perturbations métaboliques caractéristiques de cette pathologie. Il s'agit d'un régime très riche en énergie (521 kcal pour 100 grammes) du fait de sa très haute teneur en gras animal provenant du lard. Par ailleurs, il contient très peu de fibres et d'amidons en comparaison du régime contrôle, et aucune fibre fermentable (tableau 2). Ce régime est l'un des plus utilisés dans la littérature pour modéliser l'obésité induite par le régime dans les modèles murins. Il entraîne une prise de poids rapidement significative^{100,101}. Des perturbations de l'homéostasie glucidique apparaissent également dès les premières semaines voire dès les premiers jours^{102,103,243}. Les effets du régime varient selon les fonds génétiques¹⁰⁴, mais également selon les animaleries.

Il existe également des modèles génétiques de pathologie, notamment d'obésité. Par exemple, les souris *ob/ob* sont un modèle de mutation du gène de la leptine, responsable de la sensation de satiété. L'absence de leptine empêche le sentiment de satiété et provoque une hyperphagie chronique^{105,106}. Les souris *ob/ob* sont obèses à partir de 4 semaines de vie¹⁰⁷. Ce modèle permet d'étudier l'impact de l'hyperphagie chez la souris, mais pas la réponse aux variations nutritionnelles, puisque l'excès

| Pour 100g de croquettes | Régime standard Safe Diets A04 (8,4% kcal provenant des lipides) | Régime gras Research Diet D12492 (60% kcal provenant des lipides) |
|----------------------------|--|---|
| Protéines | 16,1 g | 26,2 g |
| <i>Origine</i> | <i>Protéines végétales > animales</i> | <i>Protéines animales</i> |
| Glucides simples | 2 g | 25,4 g |
| <i>Origine</i> | <i>Céréales (seigle, blé, soja, maïs)</i> | <i>Saccharose, maltodextrine</i> |
| Fibres et amidons | 35 g | 6,4 g |
| <i>Origine</i> | <i>Céréales (seigle, blé, soja, maïs)</i> | <i>Cellulose (Solka Floc)</i> |
| Lipides | 3,1 g | 34,8 g |
| <i>Origine</i> | | <i>Lard > Huile de soja</i> |

Tableau 2 – Composition pour 100g de croquettes du régime standard et du régime gras à 60% de kilocalories (kcal) provenant des lipides

La masse restante correspond aux minéraux et aux vitamines, à l'humidité et à une partie de la masse non azotée non identifiée. Le régime standard A04 contient 85% de céréales tandis que le régime gras D12492 n'en contient aucune. Les fibres du régime D12492 proviennent de cellulose purifiée Solka Floc.

D'après les fiches de composition des régimes et Ong K. J., Ede J. D., Pomeroy-Carter C. A., Sayes C. M., Mullenos M. R., Shatkin J. A. A 90-day dietary study with fibrillated cellulose in sprague-dawley rats. Toxicology Reports (2020)

calorique se met en place de manière constitutive à partir d'un régime équilibré.

1.5.B – Évaluation de l'homéostasie glucidique

L'évaluation de l'homéostasie du glucose chez l'homme comme chez la souris s'effectue à partir de plusieurs variables. Par exemple, la tolérance au glucose représente la capacité à gérer le glucose alimentaire, depuis son absorption jusqu'à sa clairance grâce à l'insuline. Elle est évaluée par un test de tolérance orale au glucose (OGTT), qui correspond à un suivi cinétique de la glycémie après un apport de glucose. Chez la souris, les tests de tolérance à l'insuline (ITT) permettent d'estimer l'efficacité de l'insuline en suivant la glycémie après une injection d'insuline. La résistance à l'insuline peut également s'évaluer par HOMA-IR, un rapport de l'insulinémie sur la glycémie à jeun. La résistance à l'insuline peut également être évaluée par la technique du clamp euglycémique hyperinsulinémique. Celui-ci consiste à administrer en continu de l'insuline et du glucose pour estimer la quantité de glucose nécessaire à maintenir la glycémie. Plus cette quantité est grande, plus l'insuline est efficace ; plus elle diminue, plus l'individu est résistant à l'actions de l'insuline. Cette technique peut également être adaptée chez la souris à l'aide de dispositifs spécifiques^{108,109}. Enfin, la néoglucogenèse hépatique peut être estimée par un test de tolérance au pyruvate (PTT), en mesurant la glycémie suite à l'administration de pyruvate par voie intapéritonéale.

1.5.C – Évaluation de l'inflammation

Les régimes HFD entraînent également l'activation chronique du système immunitaire, décrite comme un « état inflammatoire de bas grade », également observée chez les patients obèses. Cette inflammation est observable dans divers organes^{111,112} mais également dans le sang¹¹³. Dans le cas d'un régime HFD à 60% chez la souris, une inflammation généralisée se met en place dès les 2 premières semaines de régime¹¹⁴. L'inflammation est généralement étudiée par quantification qPCR des gènes des cytokines inflammatoires, ou par cytométrie en flux sur les populations de cellules immunitaires circulantes ou d'un tissu précis.

Ainsi, la recherche sur les maladies métaboliques a permis le développement d'un certain nombre d'outils pour étudier leur mise en place chez la souris. Cela a permis de mettre en évidence des processus physiopathologiques au niveau métabolique et immunitaire en réponse au régime de type Western.

En conclusion

Pour résumer, la consommation à long terme d'un WD, fort en lipides et en sucres simples et faibles en fibres alimentaires, influence l'homéostasie métabolique. Elle favorise le gain de poids, la survenue de perturbations métaboliques, et l'activation du système immunitaire. Ces processus se mettent en place dans les organes métaboliques, et les modèles animaux permettent leur étude. Je vais maintenant décrire plus précisément l'établissement de ces altérations au niveau des principaux tissus concernés : le tissu adipeux, le foie, le pancréas et l'intestin.

Chapitre 2

Processus immuno-métaboliques associés au régime gras

La consommation d'un régime de type WD peut induire un déséquilibre de la balance énergétique en favorisant un excès calorique, et entraîner ainsi une augmentation de la masse grasse. Les études animales montrent que la gestion chronique de cet excès aboutit rapidement à une résistance périphérique à l'insuline et à une compensation pancréatique dans la sécrétion d'insuline. L'insulinorésistance résulte notamment d'une inflammation systémique due à la surcharge lipidique et à une perméabilité intestinale accrue.

2.1 WD et déséquilibre de la balance énergétique

La balance énergétique est l'équilibre entre l'apport et les dépenses énergétiques. Chez la souris de laboratoire, la consommation d'un régime gras (HFD) suffit à déséquilibrer la balance énergétique vers l'excès calorique, et ainsi à entraîner l'obésité. Le stockage des calories absorbées mais non dépensées s'effectue notamment sous la forme de réserves de triglycérides dans les adipocytes. Parmi les paramètres régulateurs de la balance énergétique, on compte la prise alimentaire et l'absorption intestinale qui conditionnent les apports en substrats énergétique.

2.1.A – Régulation entéro-hormonale de la prise alimentaire

Pendant l'obésité, la régulation centrale de la prise alimentaire est dysfonctionnelle. Par exemple, la signalisation hypothalamique anorexigène de la leptine sécrétée par le tissu adipeux est altérée chez la souris¹¹⁵. L'intestin est également responsable de la production de peptides anorexigènes, comme le peptide YY (PYY). Au même titre que le GLP-1, il est produit par les cellules L entéroendocrines, majoritairement localisées dans l'iléon et le colon¹¹⁶. Le PYY est un peptide de 36 acides aminés qui appartient à la famille des neuropeptides Y (NPY). La sécrétion du PYY dans la circulation est provoquée par les nutriments luminaux, comme le propionate, un acide gras à chaîne courte produit par le microbiote à partir des fibres alimentaires¹¹⁷. Ainsi, les niveaux de PYY circulant sont faibles à jeun et augmentent rapidement en phase postprandiale^{118,119}. Le PYY interagit avec le récepteur Y2, notamment exprimé dans le système nerveux central¹²⁰, qui signale les effets anorexigènes du PYY^{119,121,122,123}. Chez la souris, l'expression du PYY peut être diminuée lors d'un régime HFD^{124,125}. Chez l'homme, les sujets en surpoids présentent une déficience en PYY circulant en phrase postprandiale, associée à une réduction de la satiété¹²⁶. Cette diminution participe probablement du phénotype métabolique associé au WD. En effet, la délétion génétique du PYY entraîne l'obésité et l'hyperinsulinémie¹²⁷, tandis qu'un traitement chronique au PYY lors d'un HFD promeut l'oxydation des AGs et prévient la résistance à l'insuline^{128,129,130}.

En somme, les signaux de faim et de satiété intégrés au niveau central peuvent être déséquilibrés dans le cadre d'un régime de type WD. Ce dérèglement a plusieurs origines, mais la perturbation des signaux provenant de l'intestin semble y participer.

2.1.B – Absorption intestinale des sucres et des lipides lors d'un WD

Outre le dérèglement de la fonction entéroendocrine, le WD promeut l'absorption intestinale des sucres et des lipides par plusieurs mécanismes. D'une part, il accroît la surface d'absorption chez l'homme comme chez la souris. En effet, la longueur de l'intestin et la masse entérocytaire sont supérieures lors de la consommation d'un régime gras^{131,132}. Cela peut s'expliquer par une augmentation de la taille des villosités de l'intestin grêle, mise en évidence chez l'homme comme chez la souris^{132,133}. De fait, la surnutrition encourage la prolifération des cellules souches intestinales chez la souris^{134,135}. Les transporteurs et le métabolisme entérocytaires sont également modulés en faveur de l'absorption des nutriments. Chez la souris, la consommation d'un HFD augmente

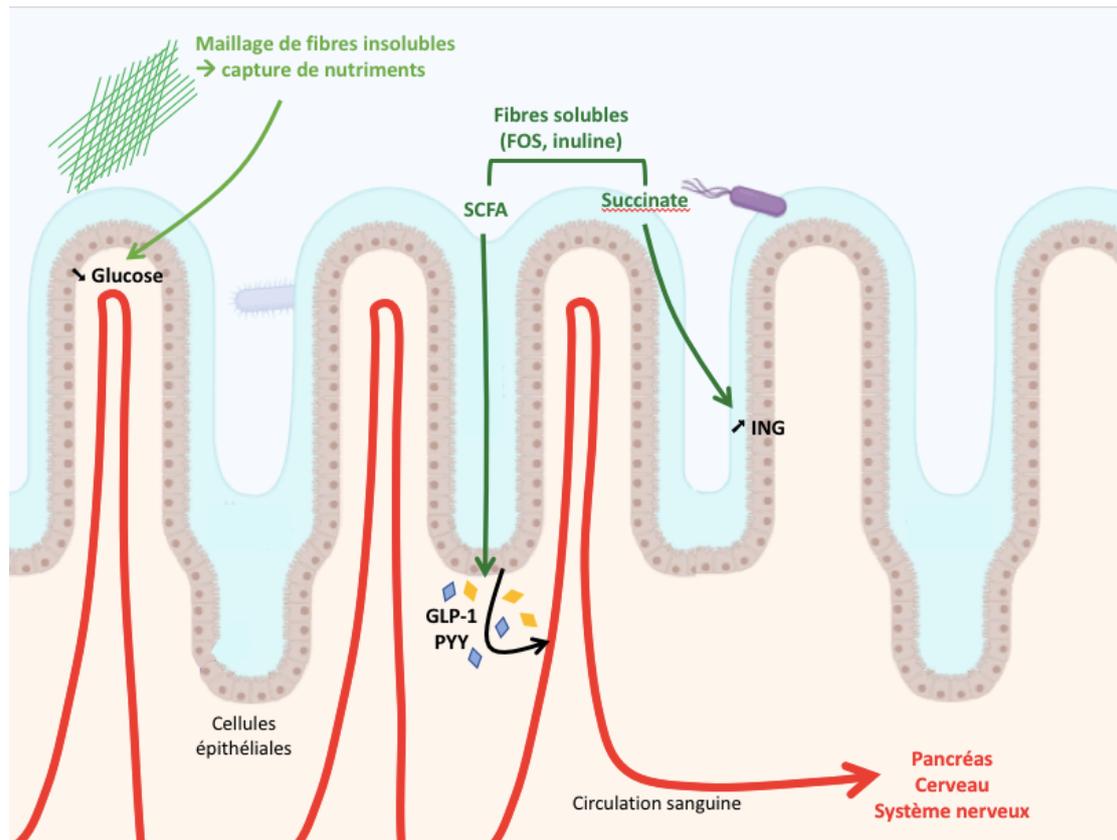


Figure 6 Le compartiment métabolique de l'intestin dans les bénéfices des fibres alimentaires

Les fibres ont des bénéfices métaboliques sur l'homéostasie énergétique à l'échelle systémique. Certains de ces bénéfices prennent leur origine dans l'intestin. D'une part, la viscosité des fibres leur fait adopter une structure en maillage dans la lumière qui diminue la bioaccessibilité et la biodisponibilité des nutriments, et prévient leur absorption. Ainsi, l'augmentation de la glycémie est moindre lors d'un apport en glucose. Ensuite, les fibres et leurs métabolites acides gras à chaîne courte stimulent la production de messagers hormonaux et peptidiques comme le GLP-1 et le PYY qui établissent des axes de communication vers le pancréas, le système nerveux ou encore le cerveau. Cela participe par exemple à la régulation de la prise alimentaire au niveau central (PYY), à la potentialisation de la sécrétion d'insuline (GLP-1), ou à la régulation de la vitesse de vidange gastrique (VIP). En outre, les fibres alimentaires stimulent également la néoglucogenèse intestinale (NGI) par le biais des acides gras à chaîne courte et du succinate. Or, la NGI permet les effets métaboliques des fibres sur la régulation centrale de l'homéostasie métabolique en entraînant une diminution de la production hépatique de glucose^{110,254}.

l'expression des gènes associés au transport et au métabolisme des lipides dans les entérocytes^{136,137,138}. En accord avec ces données, la consommation d'un HFD pendant 3 semaines ne modifie pas le contenu fécal en lipides par rapport au régime contrôle, démontrant l'augmentation de leur absorption¹³⁶. L'absorption du glucose est également augmentée dans les conditions physiopathologiques associées au WD, comme lors d'un diabète induit expérimentalement chez la souris^{139,140,141}, le rat¹⁴² ainsi que chez les patients diabétiques et/ou obèses^{143,144}. De fait, en conditions d'insulinorésistance entérocytaire, GLUT2 demeure localisé aux membranes apicales et basales, prévenant l'arrêt de l'afflux de glucose et favorisant l'hyperglycémie post prandiale¹⁴⁵. Ainsi, une forte absorption de glucose est maintenue malgré une glycémie déjà élevée. De cette manière, la plasticité morphologique et fonctionnelle de l'intestin participe au déséquilibre de la balance

énergétique induite par le HFD.

En parallèle, le contenu du bol alimentaire, notamment la teneur en fibres alimentaires, conditionne directement les capacités d'absorption. L'augmentation du volume fécal par les fibres insolubles affecte la structure de la matrice luminale et diminue la biodisponibilité et la bio-accessibilité des macronutriments^{146,147,148,149}. Cela permet de réduire la prise d'énergie et contribue aux effets bénéfiques des fibres sur la balance énergétique. Les effets morphologiques des fibres solubles sont sans commune mesure avec ceux des fibres insolubles¹⁵⁰, mais un enrichissement des repas avec de l'inuline permet une diminution de la vidange gastrique et de la glycémie à jeun chez l'homme¹⁵¹. Ainsi, l'absence de fibres alimentaires, solubles ou insolubles, altère le transit intestinal et la biodisponibilité des nutriments qui conditionnent l'apport énergétique (figure 6).

2.2 L'intolérance au glucose

La réponse au WD peut aboutir à des altérations de l'homéostasie glucidique, voire au développement d'un diabète de type 2. Chez la souris C57BL6 nourrie au HFD 60%, l'intolérance au glucose et l'hyperglycémie s'installent dès les premières semaines de régime^{152,153,154}. Celles-ci sont témoins d'un déséquilibre entre la glycémie, la sécrétion d'insuline et la capacité de réponse des organes cibles.

2.2.A – Signalisation insulinique et résistance à l'insuline

La signalisation de l'insuline dans les organes cibles est un réseau complexe. Le récepteur à l'insuline (IR) appartient à la superfamille des récepteurs à tyrosine kinases. Il s'agit d'un hétérodimère qui s'active par transphosphorylation des domaines kinases lors de la liaison de l'insuline. Les kinases phosphorylent à leur tour les résidus tyrosines auxquels se fixent des protéines adaptatrices. La phosphorylation de ces protéines adaptatrices permet l'assemblage des partenaires et provoque la transduction intracellulaire du signal¹⁵⁵. Parmi les adaptateurs principaux, on trouve les membres IRS1 et 2 de la famille des IRS (figure 7). Les deux voies principales de signalisation à partir du nœud IR/IRS sont la voie PI3K/AKT et la voie Raf/Ras/Mek/MAKP(ERK). La voie PI3K/AKT est responsable de la plupart des effets métaboliques de l'insuline et est connectée à l'IR exclusivement par IRS1 ou IRS2¹⁵⁵. L'activation de la voie PI3K/AKT est provoquée par sa fixation à IRS1 ou 2, et entraîne la génération de PIP3. PIP3 active ensuite PDK au niveau de la membrane

plasmique, qui à son tour active AKT/PKB par phosphorylation. Parmi les principaux substrats phosphorylés par AKT/PKB, on trouve mTOR (régulation de la synthèse protéique par la phosphorylation de 4EBP1 et p70S6K), GSK3 (régulation de la synthèse de glycogène) et FoxO1 (régulation de gènes gluconéogéniques et adipogéniques)¹⁵⁶.

La résistance à l'insuline correspond à des dysfonctions de la signalisation associée à l'IR. Ces dysfonctions peuvent survenir à plusieurs endroits de la voie¹⁵⁵. L'une des plus connues est la phosphorylation de l'IRS1¹⁵⁷. En conditions physiologiques, IRS1 est phosphorylé au niveau d'une vingtaine de tyrosines après interaction de l'insuline et de l'IR¹⁵⁸. En revanche, lorsqu'IRS1 est phosphorylé de manière alternative sur la sérine 307, son activité signalisatrice est inhibée¹⁵⁹. Or, des kinases associées aux voies de l'inflammation, comme IKKB et JNK, sont capables de phosphoryler

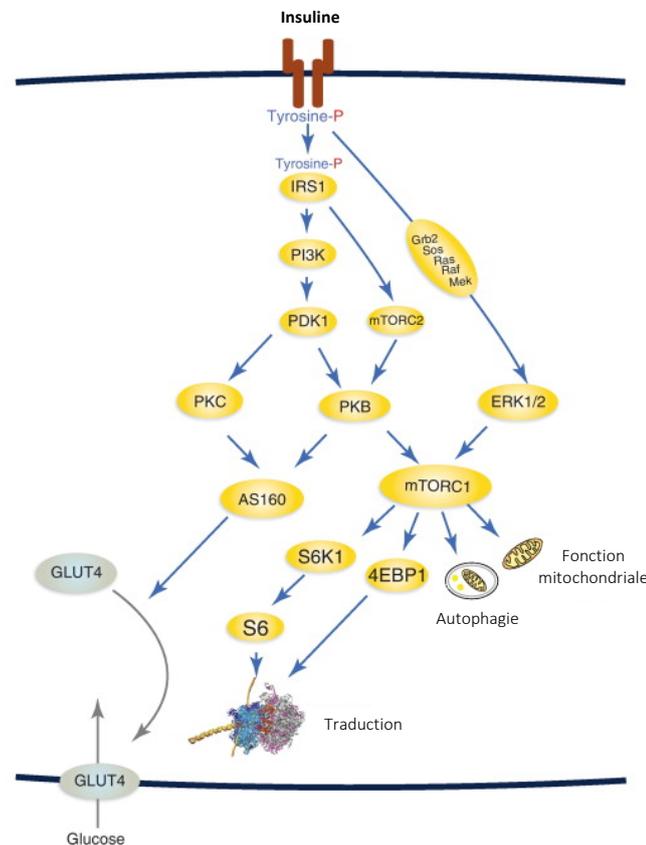


Figure 7 Voie de signalisation de l'insuline

La fixation de l'insuline sur son récepteur à tyrosine kinase active une cascade de phosphorylation selon plusieurs voies dont la voie PI3K/AKT(PKB) et Ras/Raf/Mek/ERK. Cela aboutit à la régulation de gènes du métabolisme FoxO1, mTor ou Gsk3, et au recrutement de GLUT4 à la membrane plasmique. En conditions d'insulinorésistance, IRS1 est phosphorylé en position sérine 301 par des kinases induites lors d'une inflammation cellulaire comme IKKB ou JNK. La transduction du signal en aval d'IRS1 n'a donc pas lieu.

D'après Nyman E., Brännmark C., Palmér R., Brugård J., Nyström F.H., Strålfors P. et al. A hierarchical whole body modeling approach elucidates the link between in vitro insulin signaling and in vivo glucose homeostasis. J. Biol. Chem (2011)

ce résidu sérine et d'induire l'insulinorésistance^{160,161,162,163,164}. L'activation des voies intracellulaires de l'inflammation est donc primordiale dans l'installation de l'obésité et de la résistance à l'insuline en réponse au régime. Ainsi, les souris déficientes en JNK nourries au HFD sont protégées contre l'obésité, l'insulinorésistance hépatocytaire et musculaire et l'intolérance au glucose^{165,166}. En outre, des traitements inhibiteurs de NF- κ B permettent l'amélioration de l'insulinorésistance¹⁶⁷.

Les conséquences de la résistance à l'insuline sont considérables. Elles comprennent une élévation des niveaux de glucose et de lipides circulants^{168,169}. Au niveau glucidique, l'insuline étant responsable de la captation de glucose par GLUT4 dans le foie, le tissu adipeux et le muscle squelettique, l'insulinorésistance empêche ces tissus de capter et de métaboliser le glucose. En outre, le foie relargue de grandes quantités de glucose en raison de l'absence d'inhibition de la néoglucogénèse par l'insuline¹⁷⁰. Enfin, la baisse de l'action de l'insuline dans l'intestin prévient le retrait de GLUT2 de la membrane apicale lors de l'apport de glucose, favorisant son absorption en plus grandes quantités¹⁴⁵. Au niveau lipidique, l'insuline a un effet anti-lipolytique en diminuant l'activité de la LPL. Ainsi, en conditions d'insulinorésistance, l'efflux d'acides gras libres hors du tissu adipeux est augmenté¹⁷¹.

Ainsi, les voies de signalisation inflammatoires préviennent l'action de l'insuline dans ses tissus cibles lors de la consommation d'un WD. Cela altère considérablement la gestion des nutriments circulants.

2.2.B – Adaptation de la sécrétion d'insuline lors d'un WD

Outre la résistance périphérique à l'insuline, des adaptations métaboliques se mettent en place au niveau pancréatique. Les cellules β pancréatiques adaptent leur sécrétion d'insuline à l'hyperglycémie chronique. De cette manière, une hyperinsulinémie s'établit dès les stades précoces de la réponse au HFD. Sous HFD, la sécrétion d'insuline est augmentée de par l'expansion de la masse la masse β pancréatique en réponse à l'hyperglycémie^{152,172,173,174}. En effet, le glucose et l'insuline activent la survie, la croissance et la prolifération dans les cellules β ^{175,176,177}. Chez la souris C57BL6, la prolifération des cellules β commence dès 3 jours de HFD 60%¹⁵². La masse β est déjà augmentée à 3 semaines de régime, avant même le développement de la résistance à l'insuline^{152,172}. L'intolérance au glucose est manifeste lorsque la sécrétion d'insuline est insuffisante pour compenser l'hyperglycémie et l'insensibilité des organes périphériques. A très long terme, les stress cellulaires lié à l'inflammation et à la glucolipotoxicité aboutissent à la dysfonction et à la mort des cellules β pancréatiques^{178,172,179}.

Il est également possible que le HFD altère la potentialisation de la production d'insuline en réponse

au glucose (GSIS) via un impact sur la réponse incrétine. En effet, certaines études suggèrent une altération fonctionnelle du processus de sécrétion du GLP-1 lors d'un HFD chez la souris ou chez les patients obèses diabétiques, bien qu'aucun consensus ne soit établi^{124,180,181}. En outre, les fibres et les acides gras à chaîne courte sont connus pour induire l'expression et la sécrétion des entérohormones, notamment le GLP-1 et le PYY^{182,183,184,185,186,187}. Leur pauvreté dans le régime pourrait donc affecter la GSIS.

En somme, l'hyperglycémie provoquée par le régime sollicite les cellules β pancréatiques, induisant dans un premier temps leur prolifération et une hyperinsulinémie. En outre, la fonction endocrine de l'intestin, capitale dans la sécrétion d'insuline, semble diminuée par la consommation d'un régime pauvre en fibres.

2.3 Métainflammation

Le régime WD met également en place une inflammation systémique de bas grade, aussi appelée « métainflammation », qui sous-tend l'insulinorésistance. Il s'agit d'un état inflammatoire chronique et persistant, sans modification structurelle des tissus¹⁸⁸. Cette inflammation a diverses origines, dont l'inflammation du tissu adipeux et à l'augmentation de l'endotoxémie.

2.3.A – L'inflammation due aux lipides

L'inflammation métabolique se met en place en réponse à l'excès lipidique, en particulier dans le tissu adipeux. En effet, le stockage de l'énergie en excès lors d'un HFD s'accompagne d'une hypertrophie des adipocytes et une situation d'hypoxie dans le tissu adipeux^{189,190}. Cette lipotoxicité locale active les voies de stress au sein des adipocytes¹⁹¹ et entraîne leur mort, dont témoignent les structures « crown-like » formées de macrophages et de débris nécrotiques^{192,193}. La mort cellulaire des adipocytes augmente ainsi les acides gras libres et les débris cellulaires dans le tissu. Cela favorise l'installation d'une inflammation et d'une lipotoxicité locales. De fait, les cellules immunitaires résidentes, dont les macrophages, adoptent un phénotype pro-inflammatoire lors d'une alimentation au HFD^{194,195,196}. Il y a également un recrutement important de monocytes^{197,198,199,200,201}. L'activation et le recrutement immunitaires aboutissent à l'augmentation de la sécrétion de $\text{TNF}\alpha$, de MCP1 et d'autres médiateurs inflammatoires^{197,202,196}. Les voies $\text{IKK}\beta/\text{NF-}\kappa\text{B}$ et JNK sont ainsi activées dans les adipocytes et les macrophages^{160,165,203} et établissent une insulinorésistance locale. Les cytokines

pro-inflammatoires produites par le tissu adipeux participent également à l'insulinorésistance systémique^{202,204}. L'activation des voies inflammatoires dans le tissu adipeux peut s'expliquer d'une part par la mort cellulaire dans le tissu, et d'autre part par le potentiel pro-inflammatoire des lipides. En effet, l'acide palmitique est capable d'induire JNK dans les macrophages lorsqu'ils ont été sensibilisés par le lipopolysaccharide (LPS)²⁰⁵.

2.3.B – L'endotoxémie métabolique

Un autre paramètre déterminant de la métabolisme-inflammation est l'endotoxémie, c'est-à-dire l'augmentation du lipopolysaccharide (LPS) circulant. Le LPS est la molécule principale qui compose la membrane externe des bactéries à Gram-négatif. Il sert de barrière imperméable entre la bactérie et son environnement, et il confère aux bactéries intestinales une protection contre les peptides antimicrobiens de l'hôte²⁰⁶. Le LPS peut passer dans la circulation de l'hôte, et former un complexe avec le CD14 soluble. Ce complexe est reconnu par le récepteur TLR4, présent à la surface de nombreux types cellulaires. La fixation du LPS sur TLR4 permet la dimérisation de ce dernier et l'activation des voies JNK et NF- κ B par l'adaptateur MyD88. Le complexe LPS/TLR4 peut aussi être internalisé et activer des voies de régulation de l'immunité antivirale^{207,208}(figure 8). Ainsi, l'interaction entre le LPS et son récepteur aboutit à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, comme le TNF α , l'IL1 β et l'iNOS²⁰⁹.

Plusieurs études suggèrent l'importance de l'endotoxémie dans le phénotype métabolique et inflammatoire associé au WD. D'une part, de hauts niveaux de LPS circulants ont été mesurés chez la souris sous HFD²¹⁰. L'obésité et le syndrome métabolique chez l'homme ont aussi été associés à une endotoxémie élevée^{211,212,213,214}. En outre, l'administration chronique de LPS chez la souris est

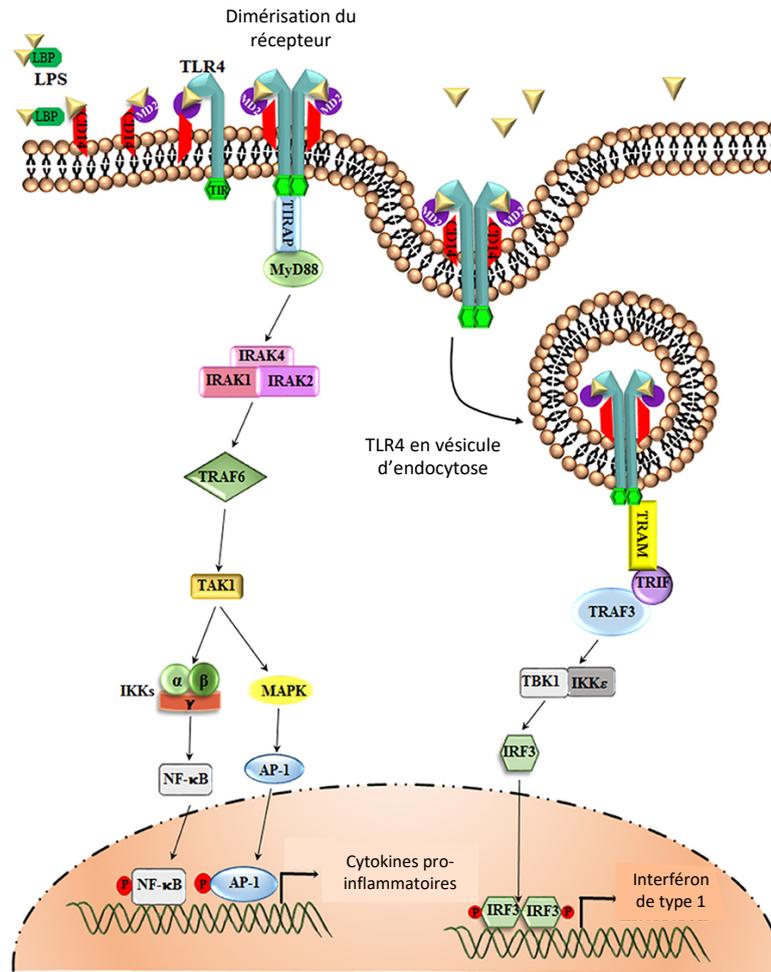


Figure 8 Voie de signalisation LPS/TLR4

La fixation du LPS à CD14 et à MD2 permet la dimérisation du récepteur TLR4. Cela active l'adaptateur Myd88 puis les voies NF-κB et MAPK/JNK/AP-1. Ces voies permettent la stimulation de l'expression des gènes pro-inflammatoires. Le complexe TLR4/LPS peut aussi être internalisé dans une vésicule d'endocytose et activer une voie de signalisation régulatrice de l'interféron de type 1 impliqué dans la défense antivirale.

D'après Fimal P, Shah VK, Chattopadhyay S. Insight Into TLR4-Mediated Immunomodulation in Normal Pregnancy and Related Disorders. Front Immunol. (2020)

suffisante pour aboutir à une prise de poids, une intolérance au glucose due à une insulino-résistance hépatique et une inflammation systémique similaires au régime HFD²¹⁰. Chez l'homme, une injection intraveineuse de LPS induit les marqueurs d'inflammation et de résistance systémique et adipeuse à l'insuline²¹⁵. L'importance métabolique de la signalisation du LPS est également illustrée par le phénotype métabolique des souris KO pour CD14, qui sont hypersensibles à l'insuline et protégées contre la pathologie métabolique induite par le HFD dans les stades précoces^{216,217,218,219}.

En conclusion, l'endotoxémie en réponse au régime gras peut contribuer à la pathogenèse métabolique en activant les voies de l'inflammation dépendantes de TLR4. Ce mécanisme peut induire directement une inflammation cellulaire mais pourrait aussi potentialiser l'inflammation due aux lipides.

2.4 Contribution intestinale à l'endotoxémie

L'endotoxémie métabolique repose sur deux facteurs clés, aujourd'hui reconnus comme des déterminants majeurs de la pathogenèse métabolique : la dysbiose en réponse au régime, et la perméabilité de la barrière intestinale.

2.4.A – La dysbiose

2.3.A.1 - La dysbiose sous régime de type WD

Le microbiote intestinal est dominé par les phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia et Proteobacteria (figure 9). La flore commensale participe à l'homéostasie de l'hôte de manière symbiotique, notamment en métabolisant les composants indigestibles et en interagissant avec le système immunitaire²²⁰. Une dysbiose, c'est-à-dire un déséquilibre des populations microbiennes, a été identifiée lors de la consommation d'un HFD chez la souris. Celle-ci inclut une diminution des Bacteroidetes et une expansion des Firmicutes et des Proteobacteria^{221,222,223,224}. Cette dysbiose en réponse au régime gras a également été décrite chez des souris possédant un microbiote humanisé²²⁵. En outre, une diminution du commensal *Akkermansia muciniphila* a été observée^{226,227}, ainsi qu'une diminution du nombre de bifidobacteria, un groupe connu pour réduire les niveaux de LPS intestinal chez la souris^{228,218}. Chez l'homme, une dysbiose semblable a été décrite chez les sujets obèses ou atteints du syndrome métabolique^{229,230,231} et la perte de richesse du microbiote corrèle avec les dysfonctions métaboliques²³².

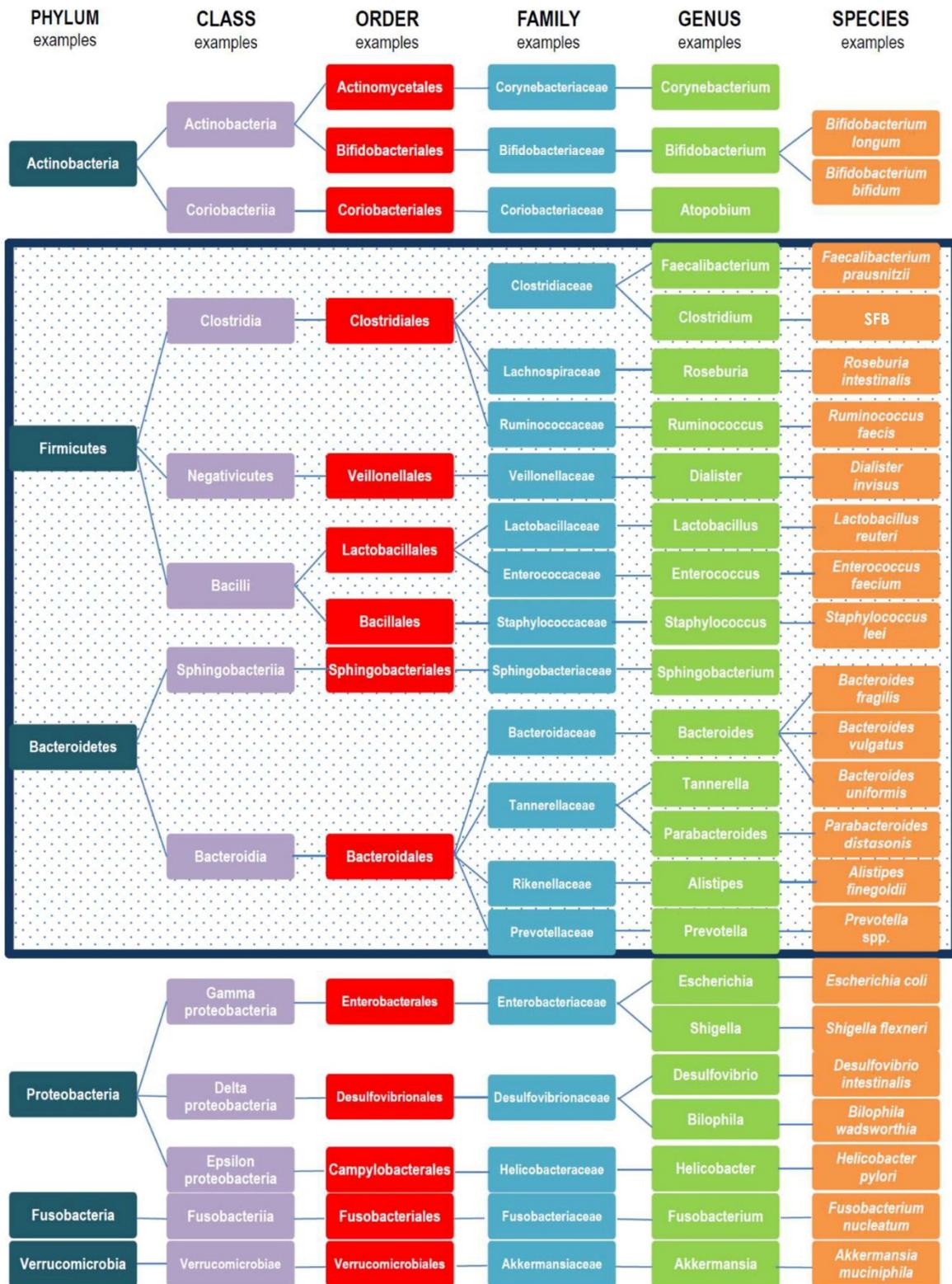


Figure 9 Classification des bactéries du microbiote intestinal

Les Firmicutes et les Bacteroidetes (entourés) représentent généralement 90% des bactéries totales. Sous HFD, les grands phyla sont déséquilibrés, notamment les Firmicutes et les Proteobacteria qui s'expandent et les Bacteroidetes qui diminuent. Certains genres sont diminués comme les Bifidobacteria. Certaines espèces commensales sont également diminuées comme *Akkermansia muciniphila* ou la SFB (*Candidatus savagella*).

D'après Rinninella E, Mele MC, Merendino N, Cintoni M, Anselmi G, Caporossi A, Gasbarrini A, Minnella AM. *The Role of Diet, Micronutrients and the Gut Microbiota in Age-Related Macular Degeneration: New Perspectives from the Gut Retina Axis. Nutrients* (2018)

2.4.A.2 - Dysbiose et fibres alimentaires

De nombreuses études attribuent la modification du microbiote par le HFD au contenu du régime alimentaire plutôt qu'à l'obésité qu'il induit. En effet, la consommation d'un HFD suffit à induire une dysbiose, même lorsque les souris demeurent minces en raison de leurs dispositions génétiques^{233,234,235}. De plus, les variations des communautés bactériennes fécales des souris génétiquement obèses diffèrent selon qu'elles soient nourries ou non avec un HFD²³⁶. Plus précisément, l'absence de fibres alimentaires dans le régime HFD est désignée comme le facteur déterminant de la dysbiose. En effet, retirer les fibres fermentescibles du régime contrôle, sans augmenter le contenu en graisses, est suffisant pour entraîner une dysbiose^{237,238}. En l'absence de fibres, d'autres espèces et d'autres substrats énergétiques, comme les mucines de l'hôte, sont favorisés. Cela participe à fragiliser la barrière intestinale^{239,240,71}.

2.4.A.3 - Implication du microbiote dans la pathologie métabolique

Le microbiote est reconnu comme un facteur essentiel dans le développement de la pathologie métabolique. En effet, les souris axéniques sont protégées contre l'obésité induite par le régime gras^{241,242}. L'administration d'antibiotiques à des animaux soumis au HFD limite également la pathologie métabolique et l'inflammation systémique^{218,243}. Néanmoins, la causalité entre le microbiote et la pathologie métabolique de l'hôte en réponse au régime n'est pas bien établie. Les expériences de transfert fécal, visant à évaluer l'importance du microbiote *per se*, donnent des résultats peu reproductibles. Une étude montre que le transfert d'un microbiote de souris nourries au HFD suffit à induire des perturbations métaboliques chez des souris axéniques sous régime standard²⁴³. Toutefois, plusieurs études ont montré que la modification du microbiote n'est pas suffisante à l'induction de la pathologie métabolique : en effet, l'augmentation de l'extraction énergétique est nécessaire pour l'expansion et les dysfonctions du tissu adipeux^{237,246}. Réciproquement, l'inflammation du tissu adipeux et les dysfonctions métaboliques ne sont pas seulement une conséquence de l'adiposité, mais requièrent les perturbations du microbiote intestinal et l'activation du système immunitaire inné qui en résulte²⁴⁷. D'autres études de transfert de microbiote dans des souris traitées aux antibiotiques concluent que celui-ci ne prédispose pas à l'obésité mais confère au contraire une protection adaptative contre cette pathologie²⁴⁴. En outre, les difficultés associées au modèle de souris axénique, qui comprennent une grande perméabilité intestinale et l'immaturation des tissus intestinaux, nerveux et immunitaires, prêtent à controverse les conclusions obtenues à partir de ce modèle. Néanmoins, certaines souches bactériennes ont été identifiées comme protectrices dans la pathologie métabolique, comme *Akkermansia Muciniphila*²⁴⁵.

L'apport alimentaire en substrats fermentescibles et la production conséquente de métabolites pourrait davantage expliquer le lien entre microbiote et pathologie métabolique. En effet, l'impact de la dysbiose sur le métabolisme s'explique en partie par la diminution de la production intestinale des acides gras à chaîne courte (acétate, propionate et butyrate), et d'autres métabolites comme le succinate, en raison de la pauvreté en fibres du régime^{248,249,250,251}. Les acides gras à chaîne courte ont de nombreuses fonctions biologiques, notamment dans la régulation du métabolisme. Ainsi, une supplémentation en acétate, propionate ou butyrate améliore l'homéostasie du glucose et/ou diminue la prise de poids dans des modèles murins de pathologie métabolique^{252,253,254,255,256}. Chez l'homme, une supplémentation en acides gras à chaîne courte peut corriger les paramètres de l'homéostasie glucidique, réduire la prise calorique et augmenter la concentration plasmatique de GLP-1 et de PYY, deux entérohormones impliquées dans le maintien de l'homéostasie métabolique^{257,258,259}. Également, le butyrate, le propionate et le succinate stimulent la néoglucogenèse intestinale qui permet la régulation du métabolisme glucidique au niveau central^{110,254}. Ainsi, la réponse intestinale en réponse aux fibres et aux métabolites bactériens serait plus importante dans la réponse métabolique au régime que la composition dysbiotique du microbiote.

En résumé, la pauvreté en fibres du régime de type WD participe à l'adaptation du microbiote et de la production des acides gras à chaîne courte, qui participent à la régulation de l'homéostasie énergétique.

2.4.B – La barrière intestinale

La fonction de barrière intestinale prévient le passage de cellules ou de résidus bactériens néfastes dans la circulation systémique, tout en permettant le mutualisme. L'intégrité de la muqueuse intestinale dépend de la régulation coordonnée de la couche de mucus, des jonctions intercellulaires, des sécrétions des cellules épithéliales et des réponses immunitaires innées et adaptatives de l'hôte²⁶⁰ (figure 10). Des défauts de la barrière ont été associés à une variété de pathologies en constante augmentation dans le monde occidental, notamment l'obésité et le DT2. De fait, l'endotoxémie métabolique associée au régime gras est induite en réponse à la dysbiose et à des altérations de la barrière intestinale^{218,261,262}.

2.4.B.1 - Les jonctions serrées

La barrière intestinale est assurée au niveau physique par les jonctions intercellulaires de l'épithélium. La structure des protéines de jonction (E-cadhérines, occludines, claudines) comprend des domaines extracellulaires et intracellulaires. Le domaine extracellulaire se fixe à la surface latéro-apicale des cellules épithéliales contigües. Le domaine intracellulaire comprend notamment les caténines et les zona occludens (ZO) qui ancrent la jonction directement à l'actine²⁶³. Ainsi, ces jonctions connectent les cellules épithéliales adjacentes pour former un joint étroit, qui doit empêcher le passage des toxines, des antigènes et des bactéries dans la circulation systémique. La perméabilité paracellulaire est évaluée chez la souris par le suivi de la fluorescence plasmatique après un gavage au FITC-dextran 4kDA. Chez la souris, un HFD à long terme réduit l'expression des protéines de jonctions serrées, et corrèle avec l'hyperperméabilité intestinale²⁶¹.

2.4.B.2 - La couche de mucus

La couche de mucus est un réseau dynamique de protéines glycosylées, dont les principales sont les mucines Muc2 et Muc3, qui participe au maintien physico-chimique de la barrière intestinale. La consommation du HFD altère la couche de mucus de plusieurs manières. D'une part, la dysbiose associée au HFD cause la destruction de la couche de mucus en favorisant l'augmentation des souches bactériennes qui le consomment^{239,240}. Il faut noter ici que les fibres alimentaires permettent une protection contre la détérioration de la couche de mucus colique en limitant la dysbiose²⁴⁰. D'autre part, le HFD entraîne un stress oxydatif et du réticulum endoplasmique dans les cellules caliciformes productrices de mucus, aboutissant à la dégradation de Muc2 et à la dégénération de la couche de mucus²⁶⁴. De plus, le HFD réduit l'expression du Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (Cftr) dans les entérocytes, ce qui diminue la viscosité et la densité de la barrière de mucus et favorise la perméabilité intestinale^{265,266}.

2.4.B.3 - Les peptides antimicrobiens et les immunoglobulines A

Le régime de type WD altère également la sécrétion épithéliale des peptides antimicrobiens (PAMs), notamment celle des cellules de Paneth. L'un des PAMs les plus connus est la lectine RegIII γ , souvent co-exprimé avec RegIII β ^{267,268}. RegIII γ provoque la lyse osmotique des bactéries en formant des pores transmembranaires²⁶⁹ et permet le maintien d'une distance protectrice entre l'hôte et le microbiote. Cet état de mutualisme est ainsi perdu chez les souris RegIII γ ^{-/-}²⁶⁸. La colonisation par le

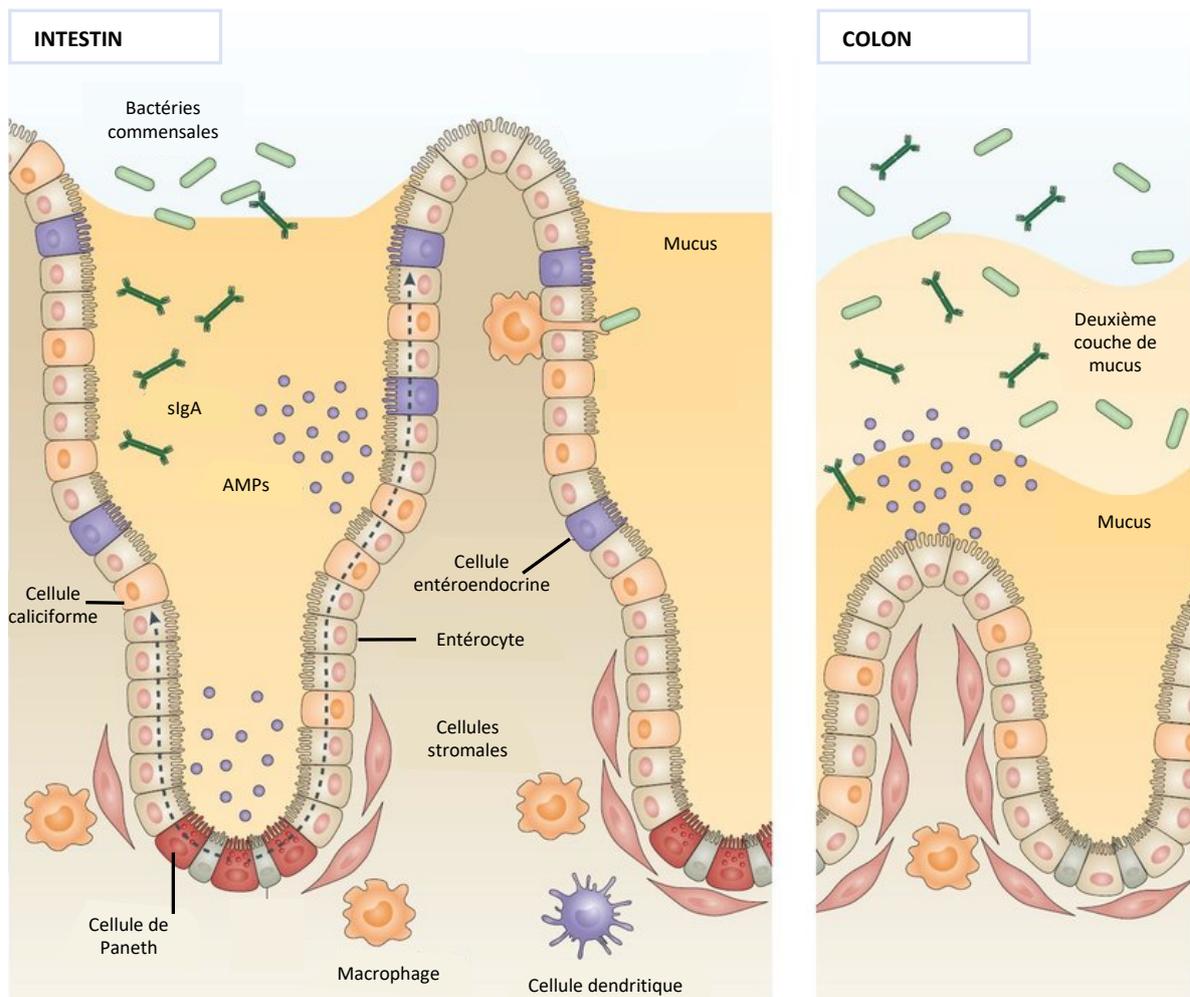


Figure 10 Composants de la barrière intestinale

La fonction de barrière repose sur les cellules de l'épithélium et la lamina propria. Au niveau de l'épithélium, les jonctions entre les cellules constituent un joint étanche contre le passage des éléments luminaux. La couche de mucus produite notamment par les cellules caliciformes fournit également une ligne de défense physico-chimique. Dans le colon, le mucus se divise en deux couches, dont la plus externe est habitée par le microbiote. Les cellules épithéliales sécrètent des peptides antimicrobiens qui permettent chimiquement le maintien d'une distance entre les bactéries et l'épithélium. Les immunoglobulines A sIgA sécrétées par les plasmocytes participent aussi à neutraliser les bactéries. Le système immunitaire intégré à la lamina propria et à l'épithélium participe également à la fonction de barrière. Grâce à la coordination de ces éléments, le microbiote est maintenu à distance mais le mutualisme est préservé.

D'après Peterson LW, Artis D. *Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. Nat Rev Immunol.* (2014)

microbiote est requise pour l'expression de RegIII γ et des défensines comme pour l'établissement de la couche de mucus^{267,270,271}. De plus, des souches bactériennes particulières, comme *Bacteroides Thetaiotaomicon*, sont capables de stimuler la production de PAMs dans l'intestin et le colon²⁶⁷. Les fibres alimentaires jouent également un rôle dans la sécrétion des PAMs, car l'inuline ou les FOS préviennent les perturbations induites par le HFD dans l'expression de RegIII γ ²⁷². En effet, lors d'un HFD de plus de 30 jours, l'expression de RegIII γ augmente, probablement pour contenir le microbiote opportuniste du fait de la dégénération du mucus²⁷³. De plus, le HFD est associé à une dysfonction des cellules de Paneth sécrétices de PAMs²⁷⁴. On retrouve ce phénomène chez les patients obèses²⁷⁵. Les immunoglobulines A sécrétées par les plasmocytes (sIgA) participent également à la défense antimicrobienne. En se fixant aux bactéries pour les neutraliser, les sIgA permettent le maintien de la symbiose avec et entre les bactéries commensales^{276,277}. La consommation d'un régime riche en fibres permet d'augmenter les sIgA circulants et intestinaux^{278,279}. Ceci pourrait expliquer la réduction de la production intestinale des sIgA en réponse à une stimulation pendant l'obésité induite par le régime de type WD pauvre en fibres¹¹⁴.

Ces composants de la barrière intestinale fonctionnent de manière intégrée et coordonnée. Ils appartiennent à la défense immunitaire de l'intestin qui comprend également un réseau cellulaire de grande envergure.

En conclusion

Ainsi, dans la réponse au régime de type WD, des médiateurs bactériens et des substrats énergétiques participent à l'installation d'un état inflammatoire chronique et systémique qui s'accompagne d'une insulino-résistance. L'inflammation induite dans divers organes, comme le tissu adipeux, entretient et nourrit les processus pathologiques en réponse au régime. Plus récemment, le compartiment immunitaire de l'intestin a également émergé comme un acteur de la pathogenèse métabolique et inflammatoire.

Chapitre 3

Immunité intestinale et régime WD

Le système immunitaire de l'intestin est un réseau complexe qui réagit en permanence aux signaux immunogènes de la lumière intestinale. Parmi les acteurs de l'immunité intestinale, on trouve les lymphocytes T CD4⁺, qui participent à adapter spécifiquement chaque réponse immunitaire. Le régime de type WD affecte l'homéostasie de ces réponses.

3.1 Acteurs de l'immunité dans l'intestin sain

Un grand nombre de types cellulaires se coordonnent au sein du système immunitaire de l'intestin. Parmi eux, on compte les lymphocytes T CD4⁺ effecteurs et régulateurs, ainsi que les cellules dendritiques conventionnelles migratoires.

3.1.A – Introduction au système immunitaire intestinal

La muqueuse intestinale est continuellement exposée à une multitude de signaux étrangers qui proviennent de l'alimentation et de la flore commensale et dont les effets peuvent être délétères ou bénéfiques pour l'organisme. Le système immunitaire intestinal (SII) répond en permanence à ces

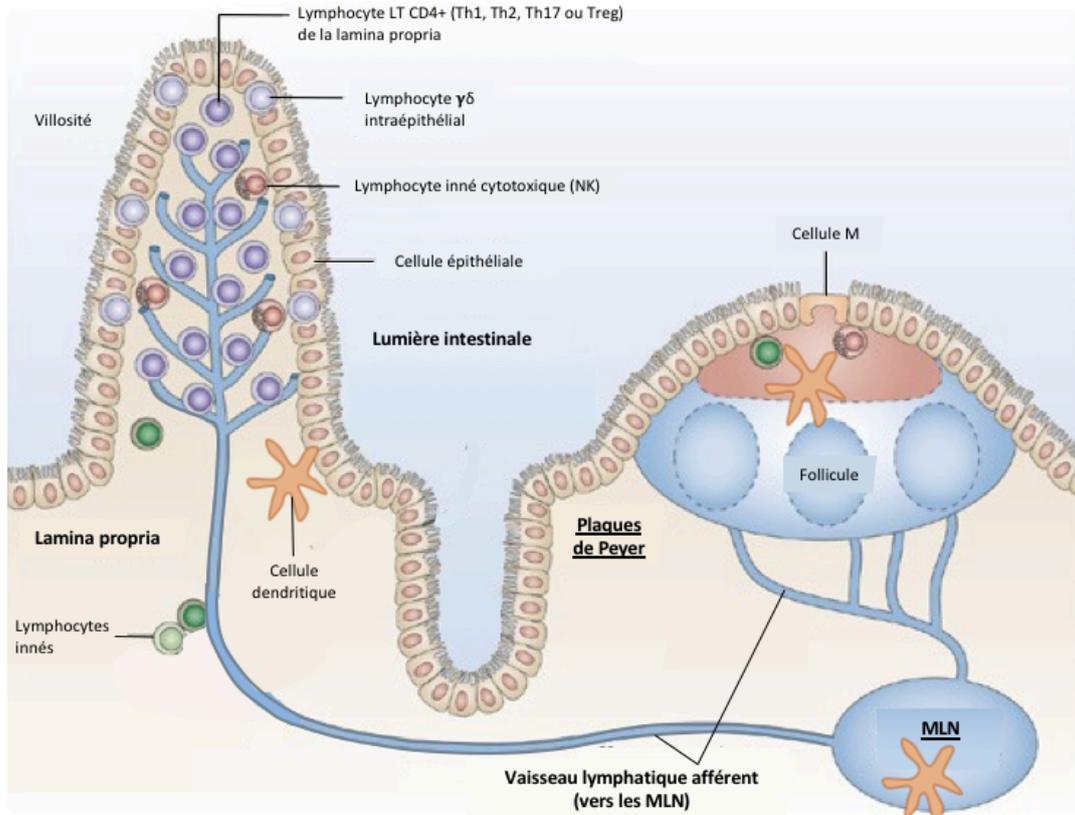


Figure 11 Structure du système immunitaire intestinal

Le système immunitaire de l'intestin comprend la lamina propria (LP), la fraction intraépithéliale, les ganglions lymphatiques mésentériques (GLMs) et les autres tissus lymphoïdes organisés comme les plaques de Peyer. Les sites effecteurs sont soulignés. Les GLMs sont reliés à la lamina propria par le réseau lymphatique et constituent le lieu d'élaboration des réponses LTs CD4⁺ aux antigènes pris en charge par les cellules dendritiques migratoires de la LP. Les plaques de Peyer, surtout présentes au niveau de l'iléon et du colon, sont des agrégats folliculaires sous-épithéliaux de cellules myéloïdes et lymphoïdes. Dans la LP, un grand nombre de cellules cohabitent dont les cellules dendritiques, les macrophages (non représentés), les plasmocytes (non représentés), les lymphocytes innés (dont certains sont intégrés entre les cellules épithéliales) et lymphocytes T (LT) polarisés. Les LTs rejoignent l'intestin après leur polarisation dans les GLMs via la circulation sanguine (non représentée) grâce à des récepteurs spécifiques de « gut-homing ». Les cellules épithéliales participent également à l'immunité, notamment les cellules M invaginées impliquées dans le transfert d'antigènes aux cellules dendritiques.

Adapté de Vivier, E., Spits, H. & Cupedo, T. Interleukin-22-producing innate immune cells: new players in mucosal immunity and tissue repair?. Nat Rev Immunol (2009)

stimuli. Le SII est un réseau de cellules immunitaires réparties dans la lamina propria (LP), l'épithélium, les ganglions lymphatiques et les tissus lymphoïdes associés à l'épithélium comme les plaques de Peyer (figure 11).

Le SII comprend des phagocytes, dont les macrophages de la LP, de la sous-muqueuse et de la musculature. Les cellules dendritiques sont également retrouvées dans la LP et mais aussi dans les GLMs, où certaines d'entre elles initient les réponses adaptatives des lymphocytes T (LT) CD4⁺ spécifiques des antigènes luminaux.

Parmi les cellules immunitaires de l'intestin, les lymphocytes établissent et maintiennent grâce à leur sécrétome un environnement immunitaire adapté. Les lymphocytes peuvent être innés, c'est-à-dire non spécifiques d'un antigène, comme les LTs $\gamma\delta$ souvent intégrés entre les cellules épithéliales, ou les cellules lymphoïdes innées de la LP. L'intestin compte également une grande population de lymphocytes conventionnels à TCR $\alpha\beta$. Les LT conventionnels CD4⁺ intestinaux ont un rôle particulièrement important car ils répondent à des antigènes dont ils sont spécifiques. De plus, ils peuvent induire soit la tolérance immunitaire, soit une réponse effectrice via des lymphocytes T effecteurs de type inflammatoire Th1, allergique Th2 ou Th17. L'équilibre dynamique des LTs CD4⁺ est déterminant pour protéger contre les pathogènes et les toxines, sans induire de réponse dérégulée aux commensaux ni à l'alimentation.

3.1.B – L'immunorégulation par les Tregs intestinaux

3.1.B.1 - Importance de l'immunorégulation par les Tregs intestinaux

La tolérance immunitaire repose sur une population de LT CD4⁺ appelés LT régulateurs (Tregs) qui inhibent les LTs effecteurs. Les Tregs sont présents dans tous les organes et constituent environ 10% de la population de LT CD4⁺ totale. Néanmoins, dans la LP intestinale, ils représentent une proportion bien plus élevée : 20% dans l'intestin grêle et au-delà de 30% dans le colon^{280,281,282,283}. Une grande partie des Tregs intestinaux sont dits « périphériques » car ils sont générés directement dans les GLMs, en contraste de ceux dits « naturels » ou « thymiques » qui se développent dans le thymus.

Les marqueurs constitutifs des Tregs sont CD25 et Foxp3. Foxp3 est le facteur de transcription qui contrôle la fonctionnalité des Tregs^{284,285}. L'une des cytokines principales sécrétées par les Tregs est l'IL-10, connue pour ses propriétés anti-inflammatoires^{281,286,287}. Les souris dont les Tregs n'expriment pas l'IL-10 développent une colite spontanée caractérisée par le développement de réponses Th17 incontrôlées au microbiote commensal^{288,289} pouvant mener à une dysbiose sévère²⁹⁰. La génération des Tregs est la réponse préférentielle des LTs CD4⁺ en conditions homéostatiques. En effet, un transfert adoptif de LTs CD4⁺ naïfs et leur stimulation antigénique *in vivo* aboutit à l'accumulation préférentielle de Tregs, plutôt que de LT effecteurs, dans l'intestin^{291,292,293}. Cette génération de Tregs est capitale, car son dysfonctionnement aboutit à l'établissement d'immunopathologies médiées par les LTs effecteurs, comme les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)²⁹⁴. En outre, l'induction des Tregs au niveau intestinal est indispensable pour

l'établissement de la tolérance systémique aux antigènes, alors appelée tolérance orale²⁹⁵.

3.1.B.2 - Hétérogénéité des Tregs intestinaux

Les Tregs intestinaux comprennent deux populations d'origine développementale distincte^{291,296}. En effet, comme mentionné plus haut, certains Tregs sont générés dans le thymus²⁹⁷ et sont appelés Tregs naturels (nTregs) ou thymiques (tTregs). Leurs marqueurs spécifiques sont la protéine nucléaire Helios et la protéine de surface neuropiline 1 (NRP1)^{298,299,300}. Dans l'intestin, les tTregs sont également identifiables à leur expression de Gata3, et semblent associés à l'état inflammatoire de la muqueuse^{301,302}. De plus, ils ne sont pas sensibles à la composition du microbiote³⁰³.

Les Tregs périphériques (pTregs) sont générés dans les organes périphériques sous l'action des cellules dendritiques et à partir des LTs CD4⁺ conventionnels naïfs. Ils expriment Foxp3, mais pas Hélios ni NRP1^{300,304}. Le processus d'éducation LT CD4⁺ naïfs se produit dans les GLMs sous l'action du TGFβ et d'acide rétinoïque (RA)^{305,293} et les pTregs générés migrent ensuite vers la LP du SI et du colon^{281,299,300}. La majorité des pTregs possède des traits fonctionnels spécialisés comme l'expression de RORγt et une capacité suppressive supérieure aux Tregs RORγt⁻^{306,307}. Les pTregs RORγt⁺ constituent une grande partie des Tregs du colon (environ 65%) et du SI (autour de 30%)^{307,308}, et ils sont également présents chez l'homme³⁰². L'absence d'expression de RORγt dans les Tregs ou la suppression des pTregs RORγt⁺ entraîne des réponses Th2 excessives, ce qui suggère l'implication primordiale des pTregs RORγt⁺ dans le contrôle des réponses immunitaire de type Th2^{309,308}.

3.1.B.3 - Régulation des pTregs par le microbiote

Les pTregs RORγt⁺ sont particulièrement réactifs au microbiote intestinal^{282,281,308,303,302,307}. De fait, les Tregs du colon, où les pTregs RORγt⁺ prédominent, reconnaissent des antigènes dérivés des microbes entériques^{310,311}. Dans le colon, les nombres de Tregs totaux et de pTregs RORγt⁺ sont considérablement réduits lorsque la flore commensale est appauvrie ou manquante, comme après un traitement antibiotique ou chez des souris axéniques^{303,283,312,300}.

Certaines espèces du genre *Clostridium* sont particulièrement connues pour induire la génération des pTregs chez l'homme et la souris. En effet, l'administration orale d'un ensemble de souches de *Clostridia* issus d'échantillons fécaux murins ou humains à des souris axéniques mène à une forte induction de pTregs dans le colon^{281,312}. Plus spécifiquement, la colonisation avec *Clostridium*

ramosum induit à elle seule une augmentation des pTregs ROR γ ⁺ dans le colon chez la souris³⁰². Chez l'homme, le clostridium *Faecalibacterium Prausnitzii*, peu représenté dans les communautés bactériennes fécales des patients MICI, favorise aussi l'accumulation de Tregs CD4⁺ CD8 α ⁺ exprimant l'IL-10 dans le colon et la circulation^{313,314}. L'abondance des espèces de Clostridia chez la souris est associée à une résistance à l'allergie alimentaire²⁸³ et à la colite induite par agent chimique^{281,312}. En outre, les Tregs induits par les Clostridia promeuvent la production intestinale de sIgA protectrices de la muqueuse³¹⁵ qui favorisent en retour la diversité de la flore microbienne, en particulier parmi les espèces Clostridia³¹⁶. Ainsi, certaines espèces de Clostridia sont capables d'induire les Tregs et la production des sIgA, qui maintiennent la diversité du microbiote.

D'autres espèces bactériennes, comme les lactobacilles et les bifidobactéries, sont également capables d'induire la génération de Tregs intestinaux en conditions physiologiques ou physiopathologiques^{312,302,317,318}. Des espèces de Bacteroides, comme *Bacteroides Caccae*, *Bacteroides Thetaiotamicron* ou *Bacteroides Fragilis* favorisent également l'accumulation des pTregs ROR γ ⁺^{319,302,280}.

L'ensemble de ces données montre que l'induction et la maintenance des pTregs ROR γ ⁺ par les commensaux est un mécanisme crucial et conservé pour maintenir la symbiose entre le microbiote et l'hôte.

3.1.B.4 - Régulation des Tregs par les métabolites d'origine alimentaire

Les pTregs sont également régulés par des composants d'origine alimentaire, notamment les fibres alimentaires et la vitamine A. D'une part, les métabolites dérivés des fibres alimentaires, notamment les acides gras à chaîne courte, ont été impliqués dans l'homéostasie immunitaire intestinale et la fonction des Tregs^{320,312,321,322,323,324}. Une étude a également montré que les effets tolérogènes et protecteurs des fibres alimentaires dans l'allergie alimentaire sont dépendants des Tregs ainsi que des récepteurs aux acides gras à chaîne courte³²⁵. D'autre part, le métabolisme de l'acide rétinoïque (AR) est déterminant pour la génération des pTregs dans les GLMs et pour leur capacité à migrer ensuite vers la LP lors du processus de « gut-homing ». L'AR est un dérivé de la vitamine A alimentaire et sa production par les cellules dendritiques (DCs) CD103⁺ intestinales est nécessaire pour la génération des Tregs et l'établissement de la tolérance orale^{293,326}. D'autres composants d'origine alimentaire participent à l'homéostasie des Tregs intestinaux, comme les métabolites du tryptophane qui contribuent au développement des Tregs par l'activation du récepteur Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR)³²⁷.

En somme, certains métabolites issus de l'alimentation et du microbiote influencent le développement et le maintien des Tregs intestinaux, notamment de ceux qui expriment ROR γ t.

3.1.C – Réponses LT CD4⁺ effectrices aux commensaux

3.1.C.1 - Induction des Th17 intestinaux

Bien que l'environnement intestinal soit globalement tolérogène, la LP intestinale contient un grand nombre de LT effecteurs spécifiques des microbes entériques et de l'environnement luminal^{328,329}. Ces cellules effectrices incluent les LTs CD4⁺ Th17, qui représentent une grande part des LTs CD4⁺ de l'intestin et du colon^{330,331}. A l'instar des pTregs, le facteur de transcription clé des Th17 est ROR γ t³³² et son induction en réponse au microbiote dirige la différenciation Th17^{333,334}. Ainsi, les Th17 ne se développent pas en l'absence de microbiote³³³. La bactérie Segmented Filamentous Bacteria (SFB) du groupe Clostridia, capable d'adhérer à l'épithélium intestinal, est particulièrement connue pour induire les Th17^{335,331,333,336,337}. Les cytokines nécessaires à la génération des Th17 sont l'IL-6, l'IL-21, le TGF β et l'IL-23, qui agissent de manière séquentielle pour aboutir à des Th17 fonctionnels³³⁸.

3.1.C.2 – Hétérogénéité des Th17

Les Th17 ont d'une part un rôle homéostatique protecteur dans le maintien de la symbiose et ils sont importants pour lutter contre les infections extracellulaires bactériennes ou fongiques^{339,340,341}. Ils jouent également un rôle dans une grande variété de pathologies inflammatoires et auto-immunes, comme la sclérose en plaque ou les MICI^{330,342,343}. Il faut ainsi distinguer deux types de Th17, car une différence fondamentale existerait entre les Th17 générés en conditions homéostatiques et ceux qui sont associés à un contexte inflammatoire. Les Th17 homéostatiques, induits par la SFB, ne participent pas aux réactions inflammatoires et ont un profil transcriptionnel indiquant un faible potentiel inflammatoire. En contraste, les Th17 générés lors d'une infection à *Citrobacter rodentium*, au cours de la sclérose en plaque ou dans un contexte de MICI présentent un profil effecteur inflammatoire et sécrètent de l'IFN γ ^{344,345,346}.

3.1.C.3 - Sécrétome des Th17 : l'IL-17 et l'IL-22

L'hétérogénéité fonctionnelle des Th17 s'accorde avec les rôles polyvalents attribués à leur

sécrétome, qui peut à la fois contribuer à maintenir l'intégrité de la muqueuse ou favoriser des processus inflammatoires pathologiques. Les cytokines principales sécrétées par les Th17 incluent l'IL-17A, l'IL-17F et l'IL-22³⁴⁷. L'IL-17 a d'abord été décrite pour son rôle pro-inflammatoire³⁴⁸, car elle est capable d'induire l'expression de cytokines pro-inflammatoires dont l'IL-6, l'IL-1, et le TNF α , et de chimiokines permettant le recrutement de cellules inflammatoires sur le site de l'inflammation^{349,350}. Néanmoins, dans l'intestin, l'IL-17 produite en conditions homéostatiques permet de maintenir la symbiose avec le microbiote. En effet, l'invalidation du récepteur à l'IL-17A et F induit une dysbiose en perturbant l'expression des PAMs³⁵¹. L'IL-17 induit aussi la sécrétion des sIgA et des PAMs, et favorise la formation et la fonctionnalité des jonctions serrées *in vitro*^{352,353,354,355,356}. En conditions homéostatiques, les Th17 sont la source principale d'IL-17 dans l'intestin, car 80 à 90% des cellules IL-17⁺ dans l'intestin et le colon expriment les marqueurs CD4 et le TCR $\alpha\beta$ ^{332,331}. En revanche, une étude a montré que lors d'une colite, les effets protecteurs de l'IL-17 sont liés à sa production par les lymphocytes $\gamma\delta$ innés, souvent retrouvés dans la fraction intraépithéliale³⁵⁵.

Dans l'intestin, l'IL-22 est impliquée dans la fonction de barrière et la symbiose en raison de sa capacité à induire l'expression des PAMs^{357,358,359,360,361} ainsi que l'expression des mucines et leur glycosylation^{362,363,364,365,357,358,359,360,361}. L'IL-22 est aussi augmentée chez les patients atteints MICI et promeut la réaction inflammatoire³⁶⁶. Dans l'intestin, la principale source d'IL-22 en conditions homéostatiques n'est pas la population de Th17, mais les lymphocytes innés de type ILC3^{367,357,368}. En somme, les Th17 sont une population lymphocytaire importante dans l'intestin au regard des réponses homéostatiques et inflammatoires, notamment de par leur sécrétion de l'IL-17 capable d'induire des acteurs de la barrière intestinale ou des cytokines pro-inflammatoires.

3.1.D – Maintien de l'équilibre immunitaire : les cDCs intestinales

L'homéostasie immunitaire dans l'intestin dépend de l'équilibre entre réponses tolérogéniques qui limitent l'inflammation face aux antigènes luminaux, et réponses effectrices, qui préviennent les invasions pathogéniques. Les Tregs et les Th17 sont des acteurs majeurs de cet équilibre. Le développement et l'homéostasie de ces deux populations sont déterminés par les cellules dendritiques (DCs) intestinales, qui sont les cellules présentatrices d'antigènes capables d'induire la différenciation

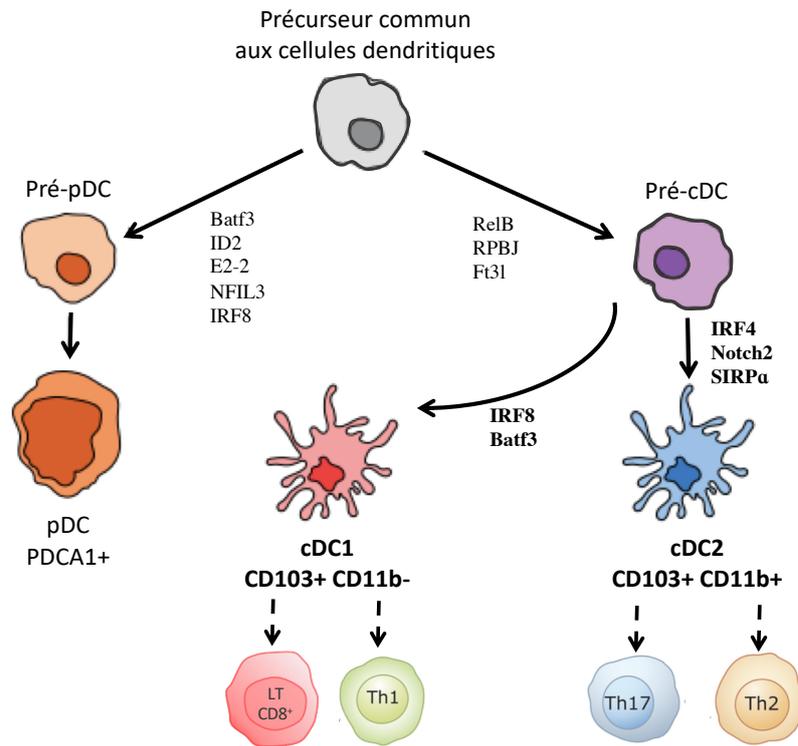


Figure 12 Développement et spécificités fonctionnelles des cDCs intestinales

Le progéniteur commun aux cellules dendritiques peut devenir une pré-pDC ou une pré-cDC selon l'activation des programmes transcriptionnels. Les cDC1 et les cDC2 se développent à partir de la pré-cDC notamment grâce à IRF8 et IRF4, respectivement. Des études récentes suggèrent qu'un autre précurseur de cellules dendritiques pourrait aboutir aux cDC2 et a été appelé pré- μ DC pour pré-mucosal. Les cDC1 activent les LTs CD8+ et polarisent les LTs CD4+ selon la voie Th1. Les cDC2 polarisent les LTs CD4+ selon la voie Th17 et Th2.

Adapté de Steimle A, Frick JS. Molecular Mechanisms of Induction of Tolerant and Tolerogenic Intestinal Dendritic Cells in Mice. J Immunol Res. (2016)

des LTs naïfs dans les GLMs. De manière générale, les DCs jouent un rôle majeur dans la surveillance du milieu et dans l'induction des réponses immunitaires adaptées en conditions physiologiques comme pathologiques³⁶⁹.

Les principales DCs responsables du maintien de la tolérance immunitaire dans l'intestin sont les DC conventionnelles (cDCs). On les trouve notamment dans la LP et les GLMs³⁷⁰. Comme toutes les cDCs, elles expriment le marqueur CD11c, mais cela ne suffit pas à les discriminer des macrophages de l'intestin^{371,372,373}. Elles se distinguent ainsi par l'expression de ZBTB46 qui les différencie des macrophages et des autres sous-types de DC comme les DCs plasmacytoïdes (pDC) ou les DCs dérivées des monocytes (MoDC) recrutées en condition inflammatoires^{374,375}. Dans l'intestin, les cDCs expriment également le marqueur CD103^{371,372,373}. Les cDCs se développent à partir de progéniteurs dédiés, qui migrent depuis la moelle osseuse à l'état de pré-DCs pour achever leur développement et leur maturation dans leur tissu de résidence^{376,377,378,379} (figure 12). Le

développement et l'homéostasie des cDCs CD103⁺ sont notamment dépendants du facteur de croissance Flt3L^{372,373}. Ainsi, les souris invalidées pour le Flt3L ou son récepteur Flt3 présentent une réduction sévère des cDCs dans la LP^{372,373}.

L'équilibre entre les réponses régulatrices et effectrices est influencé par la contribution des sous-populations distinctes de cDCs dont les fonctions sont modulées par des facteurs environnementaux. Il existe deux populations distinctes de cDCs qui ont leurs spécificités développementales et fonctionnelles. L'expression de CD11b permet de les distinguer³⁸⁰. La proportion relative des CD103⁺ CD11b⁻ et des CD103⁺ CD11b⁺ varie au long de l'intestin : dans le duodénum, les CD103⁺ CD11b⁺ constituent 70% du total des DCs CD103⁺, tandis que les CD103⁺ CD11b⁻ constituent 75% des DCs CD103⁺ dans le colon³⁸¹.

Le développement des DCs intestinales CD103⁺ CD11b⁻, aussi appelées cDC1, dépend notamment des facteurs de transcription Batf3 et IRF8^{372,379,382,383,384}. Les cDC1 polarisent surtout les LTs CD4⁺ selon la voie Th1³⁸⁵ et elles activent également les LTs CD8⁺ cytotoxiques^{386,382}. Le développement des cDC2 dépend des facteurs de transcription IRF4^{387,370} et Notch2³⁸⁸. Ainsi, les souris *CD11c-cre x Irf4^{flox/flox}* dont les DCs n'expriment pas IRF4 dès le développement précoce ont un nombre de cDC2 fortement réduit dans la LP et quasiment nul dans les GLMs^{387,370}. D'un point de vue fonctionnel, les cDC2 ont la capacité d'induire la génération des Th17 et la fréquence des cellules Th17 est réduite chez les souris qui n'ont pas ces cDCs^{387,370,388,389}. L'activation des cDC2 résulte en une production accrue d'IL-6 et d'IL-23 qui promeut le développement des Th17^{390,370}. Les cDC2 polarisent également les LTs CD4⁺ naïfs selon la voie Th2 associée à l'allergie³⁹¹. De fait, les souris *CD11c-cre x Irf4^{flox/flox}* présentent une capacité réduite à générer des LTs Th2 dans les GLMs lors de l'allergie³⁹¹. Il faut noter que selon le promoteur *CD11c* utilisé pour conduire l'expression de la cre-recombinase, la délétion d'IRF4 se produit dès le stade pré-DC (*CD11c-cre* générée par le groupe de Boris Reizis) ou lorsque la DC est déjà mature (groupe d'Alexander Chervonsky). Dans le premier cas, le nombre de cDC2 est diminué³⁷⁰. Dans le second, le nombre de cDC2 est inchangé et l'altération fonctionnelle des cDC2 n'a d'impact que sur la réponse Th2³⁹².

Les cDCs CD103⁺ dans leur ensemble sont requises pour la génération des pTregs^{393,305,293}. En revanche, l'implication majoritaire d'un sous-type de cDCs reste méconnue car plusieurs études se contredisent sur ce point. En effet, l'invalidation de l'intégrine $\alpha\beta8$, qui active le TGF β et qui est surtout exprimée par les cDC1, mène à une réduction des Tregs totaux^{394,395,396}. En revanche, les souris invalidées pour *Batf3*, déficientes en cDC1, présentent des nombres normaux de Tregs totaux dans le SI et le colon³⁸⁴. Cependant, les pTregs ROR γ t⁺ n'ont pas été étudiés dans ces modèles. De plus, les souris avec une réduction des cDC2 ont des nombres de Tregs totaux similaires aux souris

contrôles dans le SI et le colon³⁷⁰. En revanche, un modèle de transfert cellulaire a suggéré que la génération de Tregs spécifiques aux commensaux à partir des LTs naïfs était altérée en l'absence des cDC2 mais pas des cDC1³⁹⁷.

Ainsi, les cDC1 semblent avoir un rôle plus inflammatoire, étant donné leur participation à la polarisation Th1 et à l'activation des LTs CD8⁺ cytotoxiques. En contraste, les cDC2 pourraient revêtir un rôle plus homéostatique étant donné leur rôle dans la polarisation des Th17 présents à l'état basal dans la LP. Par ailleurs, le sous-type de DC responsable de l'induction des Tregs n'est pas clairement établi. En outre, la participation des sous-types de DC aux différentes conditions physiopathologiques intestinales, et notamment dans le cadre de variations nutritionnelles, reste majoritairement à élucider.

3.2 Mécanismes d'induction des LTs CD4⁺

Les LTs CD4⁺ sont activés et polarisés dans les GLM après l'activation et la migration des cDCs de la LP. La régulation des cellules dendritiques dans ce processus n'est pas très bien connue mais certains composés d'origine alimentaire ou microbienne semblent y participer.

3.2.A - Acquisition des antigènes par les cDCs de la LP et migration

Après leur migration depuis la moelle osseuse et leur recrutement au niveau intestinal, les cDCs résident dans la muqueuse où elles achèvent leur maturation sous l'influence de l'environnement local³⁹⁵. Les cDCs de la LP fournissent une surveillance permanente de l'environnement luminal, dont elles intègrent les signaux^{398,399}. Plusieurs modalités d'acquisition et d'intégration des signaux sont possibles au niveau de la LP. D'une part, les cDCs sont capables d'échantillonner les antigènes et les complexes associés aux sIgA⁴⁰⁰ grâce à leurs dendrites qui se prolongent dans la lumière intestinale de manière trans- ou paracellulaire^{399,401}. Les macrophages et les cellules épithéliales participent également à l'acquisition antigénique en transférant les antigènes internalisés aux cDCs^{402,403,404,405,406}. Ces processus permettent de prendre en charge aussi bien les antigènes d'origine alimentaire que les résidus microbiens, et ainsi de permettre un contrôle spécifique et adapté de l'environnement luminal.

Les DCs internalisent les antigènes par endocytose médiée par un récepteur, par phagocytose, ou par

macropinocytose. Les antigènes subissent ensuite une série de processus enzymatiques pour aboutir à la génération de peptides immunogéniques complexés aux récepteurs membranaires MHCI ou MHCII, permettant leur reconnaissance par des LTs spécifiques aux antigènes⁴⁰⁷. Les cDC2 présentent une capacité supérieure d'échantillonnage et de traitement intracellulaire des antigènes par rapport aux cDC1^{408,409}. L'expression d'IRF4 par les cDC2 peut expliquer cette spécialisation, car IRF4 est associé à une formation accrue du complexe peptide-MHCII dans les DCs⁴⁰⁹.

Les DCs chargées en antigènes activent et polarisent les LTs CD4⁺ et CD8⁺ dans les GLMs. Pour cela, les cDCs intestinales de la LP ont la capacité de migrer par les vaisseaux lymphatiques jusqu'aux GLMs^{410,372,411}. Les GLMs sont un lieu extrêmement important de l'immunité intestinale et systémique. En effet, l'ablation chirurgicale des GLMs chez la souris abolit la quasi-totalité de la tolérance orale systémique⁴¹⁰. La migration des cDCs intestinales activées dans les vaisseaux lymphatiques requiert CCR7 en conditions homéostatiques comme inflammatoires. En cohérence, l'expression de *Ccr7* est augmentée à la surface des cDCs lorsqu'elles s'activent et les cDCs déficientes en *Ccr7* ne peuvent pas migrer^{412,371}. Les souris invalidées pour *Ccr7* ne parviennent donc pas à élaborer de réponse immunitaire dans les GLMs après une administration orale d'antigènes^{410,413}. En somme, les cDCs sont capables d'acquérir des antigènes dans la LP et de migrer dans les GLMs une fois activées pour induire les réponses immunitaires, et notamment activer et polariser les LTs CD4⁺.

3.2.B – Éducation des LTs CD4⁺ dans les GLMs

Dans les GLMs, les cDCs chargées de l'antigène rencontrent, activent et polarisent les LTs naïfs spécifiques à l'antigène. Selon le microenvironnement et le milieu cytokinique, les LTs CD4⁺ peuvent devenir des effecteurs de type Th1, Th2 ou Th17, ou des pTregs.

3.2.B.1 - Activation et polarisation des LTs CD4⁺

L'activation des LTs CD4⁺ correspond au passage d'un état quiescent des LTs naïfs à un état activé sous l'action des cDCs. Ce processus dépend de plusieurs signaux séquentiels. Premièrement, les cDCs doivent présenter un fragment immunogénique sur leur MHCII afin d'activer la signalisation des récepteurs TCR à la surface des LTs CD4⁺. Ensuite, un deuxième signal appelé co-stimulation a lieu. Les récepteurs co-stimulateurs, comme CD28, CTLA4 ou PDL1, modulent la signalisation TCR en reconnaissant des ligands spécifiques à la surface des cDCs, comme les ligands B7 CD80 et CD86⁴¹⁴. Enfin, un signal de polarisation qui correspond généralement à l'environnement cytokinique

sécrété par les cDCs permet de déterminer le phénotype effecteur. De fait, l'activation des voies intracellulaires dans les LTs activés, et donc la différenciation de chaque type de LT, requiert un ensemble de signaux spécifiques. Par exemple, la polarisation pTregs requiert le TGF β et l'acide rétinoïque et la polarisation Th17 requiert le TGF β , l'IL-6 et l'IL-23. Le lignage Th1 nécessite l'IFN γ , l'IL-12 et l'IL-27, tandis que la différenciation Th2 est associée à l'IL-4 et l'IL-2⁴¹⁵ (figure 13).

3.2.B.2 - Induction du « gut-homing »

Les cDCs des GLMs induisent également l'expression des facteurs de « gut-homing » à la surface des LTs. Les molécules de « gut-homing », dont les plus connues sont le récepteur aux chimiokines CCR9 et l'intégrine $\alpha 4\beta 7$, permettent aux leucocytes de rejoindre la LP^{416,417,418,413}. En effet, les cellules endothéliales expriment CCL25, le ligand de CCR9, dans l'intestin et MADCAM-1, le ligand de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ dans l'intestin et le colon⁴¹⁹. L'expression de CCR9 et de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ est induite grâce à l'activité ALDH des cellules stromales et des cDCs, qui permet la conversion

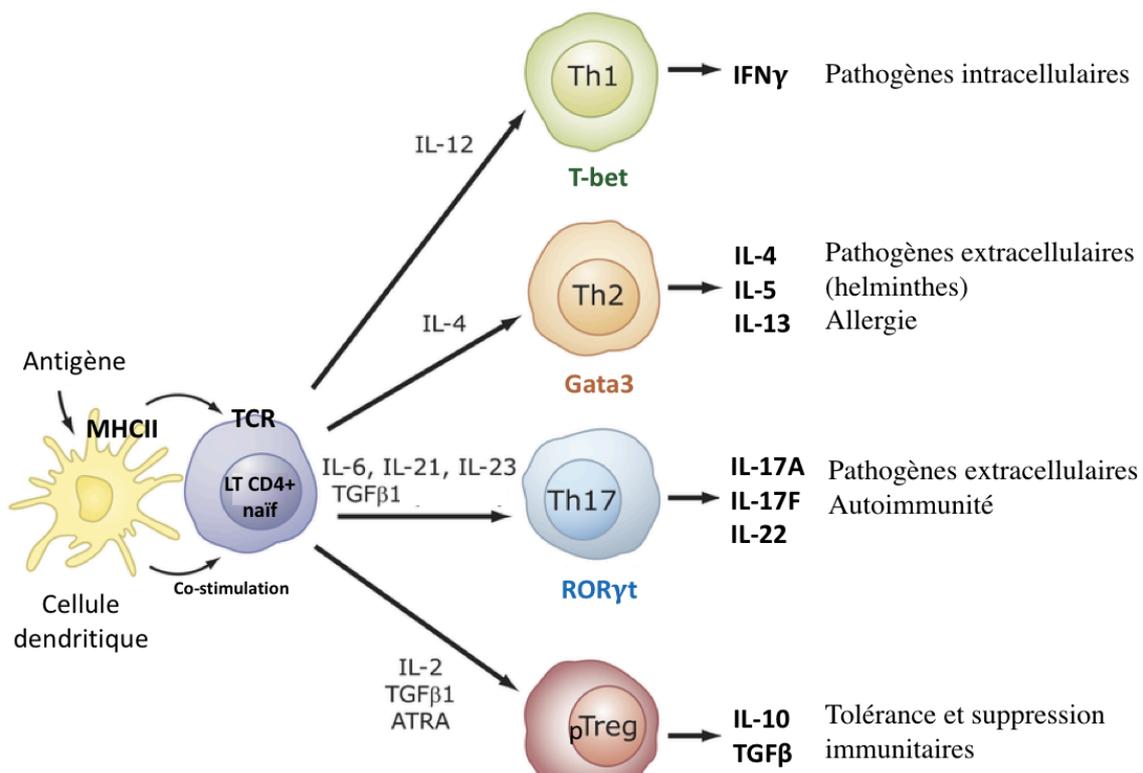


Figure 13 Éducation des LTs CD4⁺ dans les GLM

Pour l'activation des LTs CD4⁺ naïfs, l'interaction entre le complexe MHCII-antigène sur la DC et le TCR des LTs est nécessaire, ainsi que la reconnaissance mutuelle des récepteurs et des ligands de co-stimulation. L'engagement des programmes transcriptionnels pour la polarisation est dépendant de l'environnement cytokinique sécrété par les cDCs. La voie Th1 requiert l'IL-12 et son régulateur principal est T-bet. La voie Th2 nécessite l'IL-4 et son marqueur est Gata3. La voie Th17 est associée à l'IL-6, l'IL-21, l'IL-23 et le TGF β , et la voie pTregs à l'IL-2, au TGF β et à l'acide rétinoïque (ATRA).

D'après Jetten AM. Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. Nucl Recept Signal. (2009)

de la vitamine A en RA^{420,421,422}. Les souris nourries avec un régime dépourvu de vitamine A n'ont quasiment pas de LT CD4⁺ et CD8⁺ dans la LP intestinale, démontrant son importance pour l'homéostasie immunitaire de l'intestin^{420,419}. Ainsi, le « gut-homing » permet d'acheminer les LTs CD4⁺ dans l'intestin, et sa nécessité a par ailleurs été démontrée pour l'établissement de la tolérance orale⁴²³.

3.2.C – Régulation nutritionnelle des DC intestinales

Des composés d'origine alimentaire ont été impliqués dans l'homéostasie et la fonction des cDCs. Comme mentionné plus haut, la fonction et l'homéostasie des cDCs sont dépendantes de l'AR, un métabolite dérivé de la vitamine A alimentaire. D'une part, l'AR semble favoriser en conditions le profil tolérogénique caractéristique des cDCs intestinales en conditions homéostatiques^{293,305}, et les souris nourries avec un régime dépourvu de vitamine A sont incapables d'initier le processus de tolérance orale⁴²¹. D'autre part, l'homéostasie du compartiment des cDCs au sein des GLMs semble également dépendante de la vitamine A alimentaire. En effet, un régime dépourvu de vitamine A entraîne une diminution des cDC2^{424,425}. Ainsi, l'AR affecte le développement et la fonction des cDCs. Les fibres alimentaires semblent également jouer un rôle dans la régulation des cDCs. L'administration d'un régime riche en fibres à des souris ne modifie pas le nombre de cDCs dans les GLMs, mais augmente leur activité enzymatique RALDH génératrice d'AR. Ce phénotype s'accompagne d'une meilleure tolérance orale dans un modèle d'allergie alimentaire³²⁵. Les cDCs de souris nourries avec des fibres possèdent également une plus grande capacité à induire des pTregs et l'expression des récepteurs du « gut-homing » *in vitro*³²⁵. Ces effets des fibres peuvent s'exercer soit de manière directe, car les DCs expriment les récepteurs aux acides gras à chaîne courte³²⁵, soit de manière indirecte. En effet, les acides gras à chaîne courte sont capables de stimuler les cellules épithéliales pour leur permettre d'induire des cellules dendritiques tolérogéniques⁴²⁶.

Ainsi, des composants nutritionnels, dont les fibres alimentaires, et des métabolites microbiens comme les acides gras à chaîne courte peuvent réguler l'homéostasie et la fonction des cDCs intestinales. L'interaction des cDCs de la LP avec le microbiote commensal suggère également qu'il pourrait moduler les cDC, mais cela n'a pas été montré.

3.3 L'immunité intestinale sous HFD

Le système immunitaire est modulé par de nombreux composés d'origine alimentaire ou microbienne. Notamment, les réponses LTs CD4⁺ sont dérégulées lors de la consommation d'un HFD. Néanmoins, malgré leur importance dans l'homéostasie intestinale, l'impact du HFD sur les cDCs, les pTregs RORγt⁺ et les Th17 reste peu décrit.

3.3.A – HFD et cDCs intestinales

Les effets du HFD sur les cDCs intestinales restent méconnus. Leur nombre ne semble pas impacté lors de la consommation d'un HFD chez la souris^{114,427}. D'autres études se sont intéressées aux cellules myéloïdes intestinales chez la souris, mais aucun marqueur spécifique des cDCs ne permet leur identification. Néanmoins, une étude suggère que le HFD réduit l'activation des cellules myéloïdes intestinales et leur capacité à induire la polarisation Th17 *in vitro*, malgré une augmentation de l'expression de gènes inflammatoires comme *Nlrp3*²⁷³. Ainsi, il est possible que le compartiment des cDCs soit fonctionnellement altéré lors d'un HFD, mais la nature de ces dysfonctionnements reste inconnue.

3.3.B – Altérations de la tolérance orale

Plusieurs études ont souligné l'impact d'un régime HFD sur les Tregs intestinaux. En effet, le HFD réduit les proportions de Tregs totaux dans le colon et dans l'intestin après 30 jours de régime comme après 4 mois^{114,273}. Une diminution des Tregs totaux a également été décrite dans le colon de patients obèses¹¹⁴. L'obésité induite par le HFD a aussi été liée à la difficulté de générer des Tregs spécifiques à un antigène administré oralement. En effet, chez les souris minces, l'administration orale de l'antigène modèle ovalbumine provoque une réponse tolérogénique typique caractérisée par l'expansion des Tregs spécifiques. En revanche, le même traitement chez la souris obèse induit une réponse pro-inflammatoire Th1⁴²⁸. Ainsi, l'obésité induite par le HFD perturbe l'homéostasie des Tregs intestinaux et l'induction de la tolérance orale, mais les mécanismes sous-jacents restent méconnus. En outre, les pTregs RORγt⁺ n'ont pas été spécifiquement étudiés dans ce contexte, malgré leur importance dans l'homéostasie intestinale.

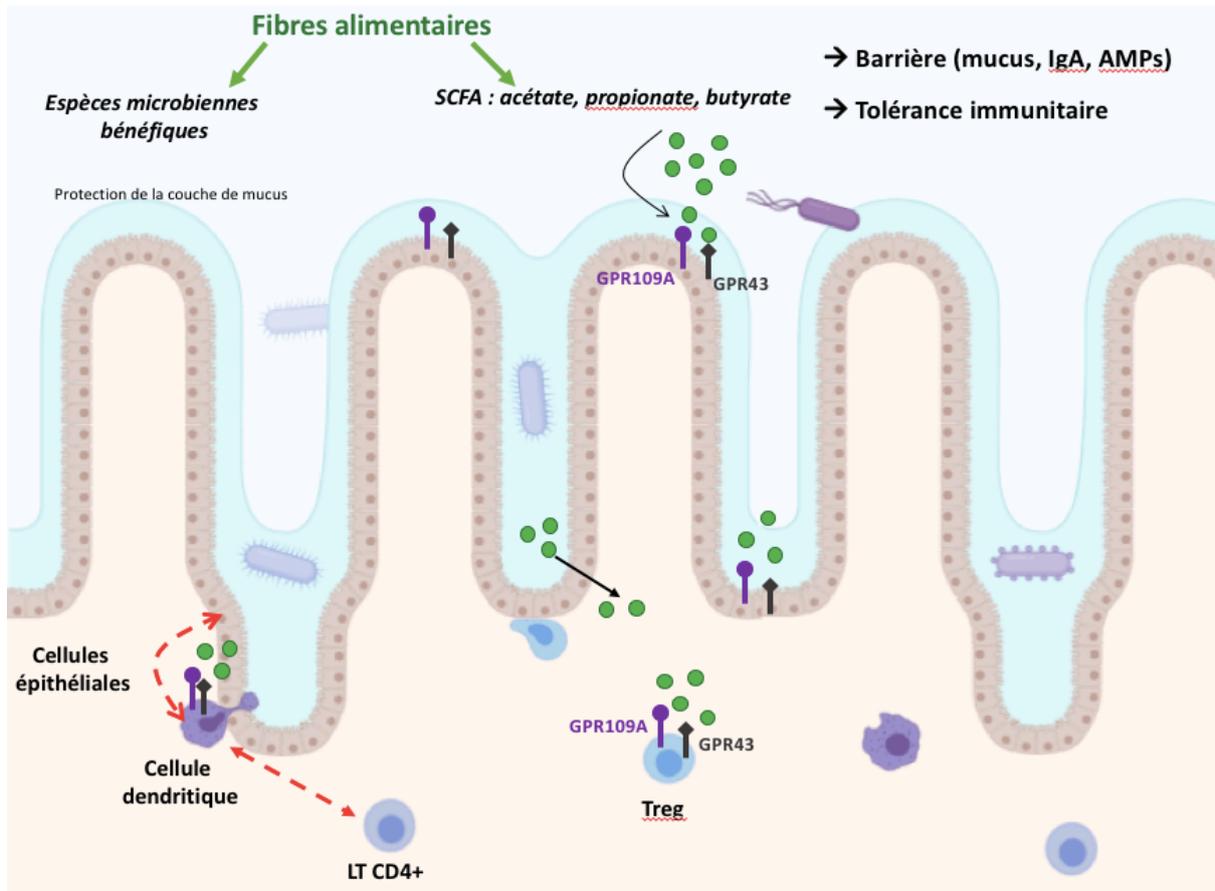


Figure 14 Effets immunitaires des fibres alimentaires dans l'intestin

Les fibres alimentaires peuvent agir sur le système immunitaire d'une part en favorisant des espèces inductrices de LTs CD4⁺ comme les Clostridia qui induisent les pTregs. Elles peuvent également agir par le biais de leurs métabolites comme les acides gras à chaîne courte qui diffusent au travers de l'épithélium. Un grand nombre de cellules immunitaires expriment les récepteurs aux acides gras à chaîne courte GPR43 et GPR109A, dont les cellules épithéliales, les cellules dendritiques et les Tregs. L'effet des acides gras à chaîne courte peut aussi être indirect. En stimulant GPR43 sur les cellules épithéliales, les acides gras à chaîne courte favorisent l'induction de la tolérance par les cellules dendritiques. Cela s'ajoute aux effets des fibres sur la barrière qui peut permettre de limiter l'inflammation du tissu. Flèches en pointillés : interactions possibles.

3.3.C – Inflammation Th1 intestinale de bas grade

En parallèle de la diminution des Tregs intestinaux, les populations de Th1 et de LT CD8⁺ cytotoxiques sont augmentées dans le colon des souris après 4 semaines sous HFD¹¹⁴. En outre, le profil d'expression génique des cellules intestinales devient inflammatoire dès 2 semaines de régime⁴²⁹ et les niveaux de cytokine Th1 restent élevés dans le tissu tout au long du régime^{429,430,431}. L'analyse du jéjunum et du duodénum de patients mince et obèses et/ou insulinorésistants témoigne également de l'augmentation de l'expression des cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires dont l'IL-23, le TNF α , le TGF β , CCL5 et l'IFN γ ^{432,433}. Néanmoins, aucune infiltration de neutrophiles ou ni d'activation des macrophages n'a été décrite, ce qui appuie le caractère de bas grade de cette inflammation, caractéristique des pathologies métaboliques¹¹⁴.

L'inflammation intestinale de type Th1 est associée à la réponse métabolique au HFD. D'une part, elle corrèle avec la prise de poids, l'adiposité, les niveaux d'insuline et de glucose circulants ainsi qu'avec la dysbiose et la perméabilité intestinale^{434,435}. D'autre part, l'administration d'un traitement anti-inflammatoire dédié aux MICI pendant un HFD améliore la dysbiose, la barrière intestinale et l'endotoxémie, ainsi que la gestion du glucose et la stéatose hépatique^{114,436}. D'autres composés pourraient aussi permettre le contrôle de l'inflammation intestinale lors d'un HFD. Notamment, les fibres alimentaires contribuent à l'homéostasie immunitaire intestinale^{322,325} (figure 14), mais leur impact sur la réponse des LT CD4⁺ au régime HFD n'a pas été étudié.

3.3.D – Réponses de type Th17 sous HFD

La littérature récente suggère que l'immunité de type Th17 serait diminuée dans l'intestin lors d'un HFD. En effet, l'expression de l'IL-22 et de l'IL-17A et F est diminuée dès 10 jours de HFD dans l'intestin et les GLM²⁷³. Des études ont montré une diminution de la population des Th17 sous HF, que les auteurs expliquent par la réduction des macrophages intestinaux ou par la diminution de la prolifération des Th17 dans la LP^{437,273}. La diminution des Th17 lors d'un HFD pourrait avoir des conséquences systémiques. En effet, le transfert de Th17 intestinales à des souris dépourvues de lymphocytes améliore le phénotype métabolique et permet l'expansion d'un microbiote bénéfique⁴³⁷. Cela pourrait s'expliquer par les effets de l'IL-17 qui favorise la sécrétion des PAMs et renforce la barrière⁴³⁷. Néanmoins, des études complémentaires sont requises pour décrire la diminution des Th17 en réponse au régime HFD, ainsi que la résonance physiologique de cette réponse.

En conclusion

La littérature récente suggère que la réponse immunitaire des LTs CD4⁺ de l'intestin au régime HFD pourrait participer à la pathogenèse des maladies métaboliques. La réponse inflammatoire Th1 semble activée par le microbiote et participer à l'insulinorésistance systémique. En revanche, les réponses homéostatiques aux commensaux semblent affectées par le HFD sans que l'origine de cette perturbation ni ses conséquences n'aient été déterminées.

Objectifs du travail de thèse

La réponse au HFD s'effectue au niveau métabolique et inflammatoire dans les organes de la gestion nutritionnelle. Au niveau intestinal, une infinité de signaux nutritionnels et microbiens sont potentiellement dérégulés lors de la consommation du HFD, notamment en raison de l'absence de fibres alimentaires dans le régime. Dans ce contexte, le système immunitaire intestinal est perturbé, notamment au niveau des lymphocytes T CD4⁺ régulatrices et effectrices. Parmi eux, les populations mucoales de pTregs et de Th17 ROR γ ⁺, sensibles à l'environnement microbien, peuvent être affectées. Néanmoins, les causes et les conséquences de ce déséquilibre ne sont pas connues. Notamment, l'importance des fibres alimentaires pour l'homéostasie des LTs CD4⁺ ROR γ ⁺ n'a pas été établie. En outre, le rôle des cellules dendritiques intestinales dans la régulation de la réponse LT CD4⁺ au HFD n'a pas été étudié.

L'objectif de ma thèse est donc premièrement de décrire précisément le déséquilibre des LTs CD4⁺ ROR γ ⁺ dans l'intestin de la souris sous HFD et de déterminer l'importance des fibres alimentaires dans leur homéostasie. J'ai ensuite étudié le rôle des cDCs dans l'intégration des signaux associés aux fibres alimentaires par le système immunitaire de l'hôte.

La littérature suggère également que la réponse inflammatoire de l'intestin au régime HFD participe à la pathogenèse des maladies chroniques en réponse au régime. En outre, l'homéostasie des LTs CD4⁺ ROR γ ⁺ intestinaux joue un rôle dans des mécanismes homéostatiques et pathogéniques à l'échelle de l'organisme, comme la tolérance orale ou la régulation de la barrière intestinale. Néanmoins, l'impact du déséquilibre des LTs CD4⁺ ROR γ ⁺ intestinaux dans la réponse systémique au régime HFD n'est pas connu. Ainsi, j'ai aussi évalué l'impact métabolique de la modulation de ces populations immunitaires intestinales par le régime HFD chez la souris.

Résultats

Les cellules dendritiques CD11b⁺ CD103⁺ dans la réponse au régime riche en lipide

Points clés

- La consommation d'un HFD pendant 4 semaines diminue les populations de pTregs ROR γ t⁺ et de Th17 dans la LP.
- Le HFD réduit aussi l'expression des récepteurs du « gut-homing » à la surface des pTregs ROR γ t⁺ et des Th17 dans les GLMs.
- Une supplémentation en fructooligosaccharides (FOS) dans l'eau de boisson rétablit l'homéostasie des pTregs ROR γ t⁺ et des Th17 intestinaux » et améliore la tolérance au glucose.
- L'augmentation des Th17 par les FOS nécessite la présence des cDC2.
- Les cDC2 permettent également l'amélioration de la tolérance au glucose par les fibres alimentaires, notamment par l'intermédiaire de l'IL-17.

Ces résultats confirment l'importance des fibres alimentaires pour l'homéostasie immunitaire dans l'intestin, notamment pour les Th17 et les pTregs ROR γ t⁺, et impliquent pour la première fois les cDC2 comme actrices de la réponse aux fibres alimentaires et du métabolisme.

Dietary fiber-mediated improvement of glucose tolerance requires type 2 conventional dendritic cells in mice fed a high-fat diet.

Adélaïde Gélinau¹, Geneviève Marcelin², Melissa Ouhachi¹, Ines Baba¹, Christine Rouault², Philippe Lesnik¹, Laurent Yvan-Charvet³, Roxane Tussiwand⁴, Thierry Huby¹, Emmanuel L. Gautier^{1,5,*}.

¹ Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm, UMR_S 1166), Sorbonne Université, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

² Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm, UMR_S 1269, « Nutrition and Obesities : Systemic approaches (NutriOmics), Sorbonne Université, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

³ Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm, U1065), Université Côte d'Azur, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire (C3M), Atip-Avenir, Fédération Hospitalo-Universitaire (FHU) Oncoage, Nice, France.

⁴ National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health, Bethesda, United States.

⁵ Lead Contact

* Corresponding author

Running title: Dendritic cells and dietary fibers

Subject terms: High-fat diet, Dietary fibers, Type 2 conventional dendritic cells, Glucose tolerance, Th17 cells.

Address correspondence to:

Dr. Emmanuel L. Gautier

INSERM UMR_S 1166

Sorbonne Université

Faculté de Médecine

Hôpital de la Pitié-Salpêtrière

Paris, France

emmanuel-laurent.gautier@inserm.fr

SUMMARY

Diet composition maintains metabolic health and is now recognized to shape the immune system, especially in the intestinal tract. Nutritional imbalance and increased caloric intake are induced by high-fat diet (HFD) in which lipids are enriched at the expense of dietary fibers. Such nutritional challenge alters glucose homeostasis as well as intestinal immunity. Here, we observed that short-term HFD induced glucose intolerance and decreased intestinal ROR γ t⁺ CD4 T cells, including peripherally-induced Tregs and IL17-producing (Th17) T cells. However, dietary fiber supplementation was sufficient to restore both ROR γ t⁺ CD4 T cell subsets and improve glucose tolerance. Dietary fiber-mediated normalization of Th17 cells and amelioration of glucose handling required the cDC2 dendritic cell subset in HFD-fed animals, while IL-17 neutralization limited fibers impact on glucose tolerance. Overall, we uncovered a novel and pivotal role of cDC2 in the control of the immune and metabolic effects of dietary fibers.

INTRODUCTION

Westernized dietary patterns are linked to the outbreak and sharp increase in noncommunicable diseases (NCDs) over the past decades (Ezzati and Riboli, 2013; GBD 2013 Risk Factors Collaborators et al., 2015). Among NCDs, chronic metabolic disorders are naturally influenced by feeding habits. Indeed, while a healthy diet positively influences host metabolism, changes in the quantity and quality of the dietary intake can favor the onset and persistence of metabolic dysfunctions. (Christ et al., 2019). Besides metabolism, the diet is now recognized to impact other organismal functions such as immunity, and this is especially true in the intestinal tract (Thorburn et al., 2014).

Earlier studies revealed that diets low in vitamins A or aryl hydrocarbon receptor (AhR) ligands alter intestinal lymphocytes homeostasis (Veldhoen and Brucklacher-Waldert, 2012). Lately, dietary fibers have received considerable attention as regards to their widespread impact on immune cells and intestinal homeostasis (Daïen et al., 2017), adding to their well-known ability to prevent metabolic disorders (Reynolds et al., 2019). Importantly, fibers are a major source of energy for the intestinal flora, and thus largely contribute to gut microbiota ecology (Makki et al., 2018). Thus, the tightly regulated cross-talk between the gut microbiota and the host immune system is influenced by the dietary intake, which in turns shapes the metabolites, the microbiome community and the intestinal tract immune subset composition (Levy et al., 2016). Unbalanced diets such as the high-fat diet (HFD) are usually low in fibers, which promotes the development of metabolic disorders (Chassaing et al., 2015; Dalby et al., 2017). HFD intake induces alteration across several organs, including the intestine that contributes to maintain systemic metabolic homeostasis through its role in regulating glucose and lipid intake (Drucker, 2007; Gribble, 2012; Ko et al., 2020). Further, HFD-induced alteration of intestinal immune cells homeostasis concurs to precipitate metabolic dysfunctions (Winer et al., 2016, 2017). Notably, HFD feeding was shown to alter intestinal lymphocytes by hampering ROR γ t-expressing CD4 T cells maintenance (Garidou et al., 2015). Nonetheless, the mechanisms and immune cell subsets that translate dietary cues into intestinal CD4⁺ T cells homeostasis under HFD feeding remain unexplained.

Here, we performed a detailed characterization of the intestinal disbalance of ROR γ t-expressing CD4⁺ T cell subsets upon HFD. We determined that short-term HFD was sufficient to deregulate the homeostasis of Th17 and peripherally-induced ROR γ t⁺ regulatory T cells (pTregs) in the intestinal track as both subsets decreased. Importantly, dietary fiber supplementation was sufficient to revert alterations in both ROR γ t⁺ pTregs and Th17 cells. We then revealed that dietary fibers required type 2 conventional CD11b⁺ dendritic cells (cDC2) to restore intestinal Th17 cells, but not ROR γ t⁺ pTregs, and improve glucose homeostasis in HFD-fed animals. Finally, the impact of dietary fibers on glucose tolerance was limited following IL-17 neutralization. Overall, we were able to link fibers dietary intake to the cDC2 compartment and show how this dendritic cell subset was critical to control the immune and metabolic effects of dietary fibers.

RESULTS

HFD feeding decreases ROR γ t⁺ pTregs and Th17 cells in the small intestine and colon.

Prolonged high-fat diet (HFD) feeding was previously shown to alter the intestinal immune system (Winer et al., 2016, 2017). As the gut rapidly adapts to nutritional changes, we investigated how HFD would impact gut immune cells during the first weeks. Thus, mice were administered either HFD or regular chow diet for 4 weeks. Already at this time point, HFD increased body weight (Figure 1A), weight gain (Figure 1B), epididymal (Figure 1C) and whole-body fat mass (Figure 1D). Furthermore, glucose intolerance (Figure 1E) as well as an elevated HOMA-IR index (Figure 1F), indicative of impaired glucose control, were already noticed after short-term feeding. Higher HOMA-IR reflected both elevated fasting blood glucose (Figure 1G) and insulin levels (Figure 1H). Altogether, short-term HFD feeding alters systemic glucose homeostasis. Morphological changes of the intestinal tract were also evident in HFD-fed animals, including decreased colon weight (Figure 1I) and length (Figure 1J), which are commonly associated with altered colonic homeostasis. In addition, and as previously reported (Chassaing et al., 2015), HFD feeding resulted in decreased caecum weight (Figure 1K).

We next asked how intestinal lymphocytes were adapting to HFD and focused on ROR γ ⁺ CD4 T cells, known to be altered under these conditions (Garidou et al., 2015). ROR γ ⁺ CD4 T cells encompass IL-17-producing effector T cells (Ivanov et al., 2006) and peripherally-induced regulatory T cells (pTregs) (Ohnmacht et al., 2015; Sefik et al., 2015) (Figure 1L), both critical to maintain intestinal homeostasis (Chung et al., 2012; Conti et al., 2009; Ivanov et al., 2009; Ohnmacht et al., 2015; Sefik et al., 2015). In chow diet-fed animals, the proportion of ROR γ ⁺ pTregs was similar in the mesenteric lymph nodes (mesLNs) and small intestine, but markedly higher in the colon (Figure 1M). Th17 effector T cells were more abundant in the small intestine and colonic mucosa as compared to mesLNs, where percentages were low (Figure 1N). In HFD-fed animals, the frequency of total Tregs remained unaltered in the small intestine but slightly diminished in the colon (Figure 1O), while ROR γ ⁺ pTregs waned at both sites (Figure 1P). Similarly, ROR γ ⁺ Th17 cells were also decreased in the small intestinal and colonic lamina propria (Figure 1Q). These results remained unchanged when mice were fed for a longer period of time (14 weeks) (Figure S1A and S1B).

Since altered ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells could be due to HFD-induced obesity, changes in nutrients intake or both, we studied genetically obese *Ob/Ob* mice maintained on a chow diet or fed with the HFD. Within the small intestine, total Tregs were slightly increased in chow-fed *Ob/Ob* mice, while ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells were similar to lean, chow-fed controls. However, and comparable to WT mice, HFD decreased the frequency of both ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells in the small intestine (Figure S1C). In the colon, independently of the genetic background or the diet, total Tregs remained unchanged (Figure S1D). While colonic ROR γ ⁺ pTregs and Th17 were significantly reduced in chow-fed obese *Ob/Ob*, HFD further decreased ROR γ ⁺ pTregs (Figure S1D).

Altogether, our observations reveal that short-term HFD negatively impacts systemic glucose homeostasis and profoundly alters the frequency of ROR γ ⁺ CD4 T cell, independently of obesity.

Dietary fiber supplementation improves glucose tolerance and restores ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells in HFD-fed animals.

Next, we sought to identify the nutritional signal participating to the immune and metabolic alterations observed upon HFD feeding. In the HFD, increasing fat content is possible at the expense of cereal starches rich in dietary fibers (Chassaing et al., 2015). Recent studies pointed out to the lack of fermentable dietary fibers as a leading cause for the metabolic alterations associated to HFD (Chassaing et al., 2015; Dalby et al., 2017; Zou et al., 2018). Since dietary fibers were shown to beneficially impact immune cells homeostasis (Tan et al., 2017), we wondered whether their addition would be sufficient to correct pTregs and Th17 cells alteration. In order to preserve HFD formulation, we administered fructooligosaccharides (FOS) as a fermentable fiber source in the drinking water. Under these conditions, FOS supplementation did not change body weight (Figure 2A) nor significantly impacted on body weight gain (Figure 2B), epididymal fat mass (Figure 2C), body composition (Figure 2D) and food intake (Figure 2E). Importantly, glucose tolerance was significantly improved by FOS supplementation (Figure 2F). This was associated with a lowered HOMA-IR index (Figure 2G) that reflected decreased circulating insulin levels (Figure 2H) rather than decreased plasma glucose concentrations (Figure 2I) in FOS-treated animals. In addition, we observed that FOS increased glucose-stimulated insulin secretion (GSIS), suggesting improved pancreatic β -cell function (Figure 2J). In summary, FOS supplementation improves systemic glucose homeostasis in short term HFD-fed animals. The beneficial effect of FOS supplementation also translated into increased colon weight (Figure 2K) and length (Figure 2L) as well as caecum weight (Figure 2M), reaching values similar to regular chow-fed animals (Figure 1I-K).

Beyond these morphologic parameters, FOS supplementation induced a trend towards increased Tregs frequency in the small intestine, which reached statistical significance in the colon (Figure 2N). More specifically, FOS supplementation restored ROR γ t⁺ pTregs (Figure 2O) and Th17 cells (Figure 2P) in the small intestine and colon to levels similar to chow-fed animals (Figure 1O-Q).

Together, we demonstrate that dietary fiber supplementation is sufficient to improve glucose metabolism, and restore ROR γ t⁺ pTregs and Th17 cells homeostasis in the intestinal tract of HFD-fed animals.

Gut-homing imprinting of ROR γ t⁺ pTregs and Th17 cells is impaired by HFD feeding and restored upon dietary fiber supplementation.

Decreased ROR γ t⁺ CD4 T cells in the intestinal tract of HFD-fed mice could result from impaired priming or defective migration resulting from altered gut-homing imprinting. We thus turned our attention to the mesenteric lymph nodes (mesLNs) where ROR γ t⁺ pTregs and Th17 cells are generated and educated. While total Tregs (Figure 3A) and ROR γ t⁺ pTregs (Figure 3B) were unaltered in the mesLNs of HFD-fed animals, Th17 cells were reduced (Figure 3C), suggesting that priming of the latter was impaired upon HFD. The frequency of ROR γ t⁺ pTregs and Th17 expressing the gut-homing receptor CCR9 was reduced following HFD feeding (Figure 3D-E). In addition, a decrease of gut-homing α 4 β 7⁺ integrin-expressing ROR γ t⁺ pTregs was observed in the mesLNs (Figure 3D-E). Gut-homing imprinting depends on retinoic acid (RA) produced by dendritic cells through the action of aldehyde dehydrogenases (ALDHs) on vitamin A-derived retinol (Iwata et al., 2004). As tissue retinol is decreased in HFD-fed animals (Trasino et

al., 2015) and we observed no defect in ALDHs activity in mesLNs dendritic cells of HFD-fed mice (data not shown), reduced retinol availability probably led to inefficient gut-homing imprinting. In sum, this indicates that ROR γ t⁺ pTregs decrease in the small intestinal and colonic lamina propria is likely due to gut-homing impairment, while Th17 cells decline is owed to defects in both their generation and gut-homing imprinting.

FOS supplementation during HFD feeding increased total Tregs (Figure 3F), ROR γ t⁺ Tregs (Figure 3G) and Th17 cells (Figure 3H) in the mesLNs. In addition, CCR9⁺ and ITG β 7⁺ ROR γ t⁺ pTregs (Figure 3I) as well as CCR9⁺ and ITG β 7⁺ Th17 cells (Figure 3J) were increased after FOS supplementation.

Overall, HFD feeding impairs intestinal ROR γ t⁺ CD4 T cells priming and/or gut-homing imprinting, which are restored by FOS supplementation.

IRF4-dependent dendritic cells (cDC2) participate to the homeostasis of ROR γ t⁺ pTregs and Th17 cells.

CD103⁺ cDCs control intestinal T cells polarization in the mesLNs (Coombes and Powrie, 2008). This DC subset is heterogenous and can be further subdivided into CD103⁺ CD11b⁻ cDC1 and CD103⁺ CD11b⁺ cDC2 (Merad et al., 2013). While cDC1 development depends on the transcription factors BATF3 and IRF8 (Edelson et al., 2010; Ginhoux et al., 2009), cDC2 rely on the transcription factor IRF4 (Persson et al., 2013; Schlitzer et al., 2013) and were shown to be critical for the induction of intestinal Th17 cells (Persson et al., 2013; Schlitzer et al., 2013). Which DC subset is responsible for the induction of intestinal ROR γ t⁺ pTregs generation remains so far unclear. Given that pTregs and Th17 cells share the expression of ROR γ t and are both altered upon HFD, we wondered if both subsets were primed by cDC2. In chow diet-fed *Itgax-cre* x *Irf4^{flox/flox}* (*Irf4^{ADC}*) mice, cDC2 were profoundly reduced in the intestinal lamina propria and mesLNs (Figure S2A and S2B), as previously reported (Persson et al., 2013; Schlitzer et al., 2013). As hypothesized, we found that both Th17 cells (Figure 4A) and pTregs (Figure 4B) were decreased in the small intestine, colon and mesLNs of *Irf4^{ADC}* mice as compared to controls. In addition, the absence of cDC2 impacted gut-homing imprinting of both ROR γ t⁺ CD4 T cell subsets (Figure 4C and 4D). In order to assess whether cDC1 would participate in pTregs priming at the steady state, we used chow-fed *Itgax-cre* x *Irf8^{flox/flox}* (*Irf8^{ADC}*) mice, which lack CD103⁺ CD11b⁻ cDC1 in the intestine (Figure S3A) and mesLNs (Figure S3B). In the small intestine, colon and mesLNs, loss of cDC1 had no impact on ROR γ t⁺ pTregs (Figure S3C) while Th17 cells increased (Figure S3D).

Collectively, we show that cDC2 are responsible for the maintenance of both ROR γ t⁺ CD4 T cell subsets at the steady state.

cDC2 control dietary fiber-mediated restoration of Th17 cells and glucose tolerance improvement in HFD-fed animals.

Since cDC2 control both Th17 and ROR γ t⁺ pTregs at the steady state, we sought to determine if cDC2 could also mediate the ability of dietary fibers to restore both subsets in HFD-fed animals. To this aim, we fed separated cohorts of *Irf4^{ADC}* mice and *Irf4^{flox/flox}* littermate controls with HFD for 4 weeks and supplemented part of them with FOS. As previously observed in wild-type mice

(Figure 2K-M), *Irf4*^{ΔDC} and *Irf4*^{flox/flox} control mice responded to FOS supplementation by increasing their colon weight and length as well as caecum weight (Figure 5A-C). Unexpectedly, RORγt⁺ pTregs, were also increased upon FOS supplementation in the small intestine, colon and mesLNs of mice lacking cDC2 to a comparable extent as in *Irf4*^{flox/flox} control animals (Figure 5D-F). In addition, the lack of cDC2 had no impact on FOS-induced gut-homing imprinting of RORγt⁺ pTregs in the mesLNs (Figure 5G-H). This suggests that other antigen-presenting cells were capable to compensate for the lack of CD103⁺ CD11b⁺ cDC2 in this context. Nevertheless, while FOS increased Th17 cells in the small intestine, colon and mesLNs of *Irf4*^{flox/flox} control animals, their effect was blunted in *Irf4*^{ΔDC} mice lacking cDC2 (Figure 5I-K). Similarly, Th17 cells gut-homing imprinting also remained altered in FOS-supplemented *Irf4*^{ΔDC} mice as compared to their littermate *Irf4*^{flox/flox} controls (Figure 5L-M). Thus, while dietary fiber-induced pTregs most likely benefit from cDC2-independent compensatory mechanisms, the restoration of Th17 homeostasis is fully dependent on cDC2.

As Th17 cells and Th17-derived cytokines play a protective role in metabolic homeostasis (Hong et al., 2017; Wang et al., 2014), we wondered if the absence of cDC2 had any impact on the positive metabolic effects of dietary fiber in HFD-fed animals. To this aim, separated cohorts of *Irf4*^{ΔDC} mice and *Irf4*^{flox/flox} littermate controls were fed HFD for 4 weeks and part of the animals were supplemented with FOS. Separated cohorts were studied as we couldn't perform the metabolic exploration simultaneously with such a number of mice. Body weight (Figure 6A), weight gain (Figure 6B), epididymal fat mass (Figure 6C), body composition (Figure 6D) and food intake (Figure 6E) were not significantly modified by FOS supplementation in *Irf4*^{ΔDC} and *Irf4*^{flox/flox} littermate controls. Importantly, while FOS improved glucose tolerance in *Irf4*^{flox/flox} control animals, this effect was abrogated in *Irf4*^{ΔDC} mice lacking cDC2 (Figure 6F), reflecting the lower HOMA-IR index (Figure 6G) and better glucose-stimulated insulin secretion (Figure 6H) of *Irf4*^{flox/flox} animals but not *Irf4*^{ΔDC} mice.

Finally, we asked whether dietary fibers require an intact IL-17 signaling to improve glucose tolerance in HFD-fed mice. To answer that question, we treated HFD-fed animals supplemented with FOS with neutralizing antibodies directed against IL-17A and IL-17F, which are both produced by Th17 cells, or their appropriate isotype control. While IL-17 neutralization did not impact on body fat mass (Figure 6I), it limited the beneficial impact of FOS supplementation on glucose clearance (Figure 6J). Thus, dietary fibers partially depend on IL-17 to ameliorate glucose homeostasis, arguing that a cDC2-Th17 axis participates to the dietary fiber-mediated improved metabolic fitness of HFD-fed animals.

Together, our work provides new insight regarding the cellular mechanisms by which dietary fibers beneficially impact glucose metabolism. Indeed, we uncover a previously unappreciated role for cDC2 in mediating dietary fibers effects on Th17 cells and systemic glucose control.

DISCUSSION

HFD-induced obesity remains the standard model to study obesity pathogenesis in preclinical models. HFD mimics the human “western” diet, reflecting increased fat content at the expense of dietary fibers. Such nutritional challenge leads to metabolic dysfunctions, including altered glucose homeostasis, and was shown to impact intestinal immune homeostasis. We investigated the effect of a short-term HFD regimen and whether specific changes in intestinal immune subsets participate to the dysregulation of glucose homeostasis. Here, we report that HFD decreases intestinal ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells. Importantly, dietary fiber supplementation was sufficient to restore both subsets in HFD-fed animals and amend glucose homeostasis. The beneficial effect of dietary fibers required cDC2 to restore Th17 cells and improve glucose tolerance, while ROR γ ⁺ pTregs priming and induction of gut homing receptors occurred also in the absence of cDC2. Overall, our findings unveil a previously unappreciated role of type 2 conventional dendritic cells in mediating the beneficial impact of dietary fiber intake on mucosal immunity and glucose homeostasis.

ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells were decreased in the small intestine and colon of HFD-fed animals, as it was previously shown for the whole ROR γ ⁺ CD4 T cell pool (Garidou et al., 2015). This previous observation was attributed to dysbiosis (Garidou et al., 2015) as the gut microbiota plays a central role in the induction of ROR γ expression in Th17 cells (Atarashi et al., 2008; Ivanov et al., 2008) and pTregs (Ohnmacht et al., 2015; Sefik et al., 2015). Recently, the HFD-mediated changes in gut microbiota ecology were shown to mostly stem from the low dietary fiber content (Dalby et al., 2017). We reveal here that dietary fibers restored both ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells in HFD-fed animals by reestablishing their priming and gut-homing imprinting. Overall, we report that nutritional imbalance, *i.e.* dietary fiber paucity, is sufficient to impair ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells.

The beneficial effect of dietary fibers in restoring ROR γ ⁺ CD4 T cell subsets homeostasis likely relied on cDCs as both ROR γ ⁺ pTregs and Th17 cells need cDCs to develop (Ohnmacht et al., 2015; Persson et al., 2013; Schlitzer et al., 2013). First, consistent with the previously described role of *Irf4*-dependent cDC2 in Th17 cells generation (Persson et al., 2013; Schlitzer et al., 2013), we found that fiber-mediated restoration of Th17 cells in HFD-fed animals required cDC2. Then, we observed that cDC2, but not cDC1, participated to ROR γ ⁺ pTregs priming at the steady state. Yet, dietary fiber supplementation restored ROR γ ⁺ pTregs in HFD-fed cDC2-deficient animals. Even though cDC2 have a dominant impact on ROR γ ⁺ pTregs at the steady state, a significant proportion of ROR γ ⁺ pTregs remained in their absence. This suggests cDC1 could somewhat compensate the absence of cDC2 at the steady state and explain why ROR γ ⁺ pTregs were restored upon fiber supplementation in HFD-fed cDC2-deficient animals. Alternatively, plasmacytoid DCs (pDCs) could also play a role in ROR γ ⁺ pTregs homeostasis. Indeed, both cDC1, cDC2 and pDCs are lacking in *Cd11c*-cre x LsL-ROSA-DTA mice (Ohnmacht et al., 2009) in which ROR γ ⁺ pTregs do not develop (Ohnmacht et al., 2015), and pDCs were previously shown to favor pTreg generation in the intestinal tract (Uto et al., 2018). In summary, while dietary fiber intake restores ROR γ ⁺ pTregs homeostasis in the absence of cDC2, Th17 cells observe a strict dependency on cDC2 to benefit from fiber supplementation.

Since dietary fibers did not fully restore ROR γ t⁺ CD4 T cells in the absence of cDC2, we tested whether cDC2 deficiency altered fiber's ability to improve glucose handling. We observed that dietary fibers failed to improve glucose tolerance in HFD-fed mice lacking cDC2. We thus identified a key role for cDC2 in mediating the beneficial metabolic effects of dietary fibers in HFD-fed animals. This effect did not depend on ROR γ t⁺ pTregs but partially relied on Th17 cells since they were not restored in dietary fiber-treated cDC2-deficient animals and IL-17 neutralization limited the full impact of dietary fiber on glucose tolerance. On their side, ROR γ t⁺ pTregs might control other aspects of intestinal homeostasis given their ability to prevent Th2-driven intestinal inflammation (Ohnmacht et al., 2015). Importantly, while we focused our attention on particular subsets of CD4 T cells, other alterations in immune intestinal cells have been reported upon long-term HFD feeding (Winer et al., 2016, 2017), including an increase in Th1 IFN γ -producing CD4 T cells (Luck et al., 2015). Since intestinal Th1 responses are controlled by cDC1 (Luda et al., 2016), further work would be needed to assess the role of cDC1 in HFD-induced metabolic alterations. Together, we show cDC2 are critical to mediate the beneficial impact of dietary fibers on Th17 cells homeostasis and glucose homeostasis in HFD-fed animals.

Dietary fibers were previously shown to protect against HFD-induced obesity. In these studies, adding fibers to the diet markedly limited weight gain and fat mass expansion, leading to an improvement in glucose tolerance (Chassaing et al., 2015; Zou et al., 2018). Here, we delivered fibers in the drinking water to keep the diet formulation similar between groups. Under our experimental conditions, fibers were capable to improve glucose handling independently from any major effect on adiposity. Improved glucose tolerance appeared independent from glucose absorption since blood glucose levels peaked similarly in fiber-treated animals and controls after oral glucose challenge. However, we observed that fiber supplementation accelerates glucose clearance together with improved glucose-stimulated insulin secretion. In this context, multiple mechanisms may concur to ameliorate glucose tolerance in fiber-treated animals.

In summary, the lack of dietary fiber is the nutritional cue leading to decreased intestinal ROR γ t⁺ pTregs and Th17 cells in HFD-fed animals while cDC2 link dietary fiber intake to Th17 homeostasis and the improvement of glucose tolerance. Overall, we provide new insight regarding the cellular mechanisms by which dietary fibers beneficially impact glucose metabolism. More specifically, we uncover a novel and pivotal role of cDC2 in the control of the immune and metabolic effects of dietary fibers.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by grants to ELG from the Fondation de France (project number 00056835), the Agence Nationale pour la Recherche (ANR-14-CE12-0017-03, ANR-15-CE14-0015-02, ANR-17-CE14-0009-02 and ANR-17-CE14-0023-01) and from the city of Paris (Emergence-s- program). Melissa Ouhachi received a one-year doctoral fellowship from the Nouvelle Société Française d'Athérosclérose (NSFA).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

A.G. provided intellectual input, designed and performed experiments, analyzed and interpreted data, and wrote the manuscript. G.M., provided intellectual input, designed and performed experiments, analyzed and interpreted data, and edited the manuscript. M.O., I.B., C.R. performed experiments and analyzed data. P.L., edited the manuscript. L.Y.C, R.T. provided intellectual input and edited the manuscript. T.H., provided intellectual input, designed experiments and edited the manuscript. E.L.G., conceptualized and supervised the study, designed experiments, analyzed and interpreted data, and wrote the manuscript.

DECLARATION OF INTERESTS

The authors declare no competing interests.

FIGURES

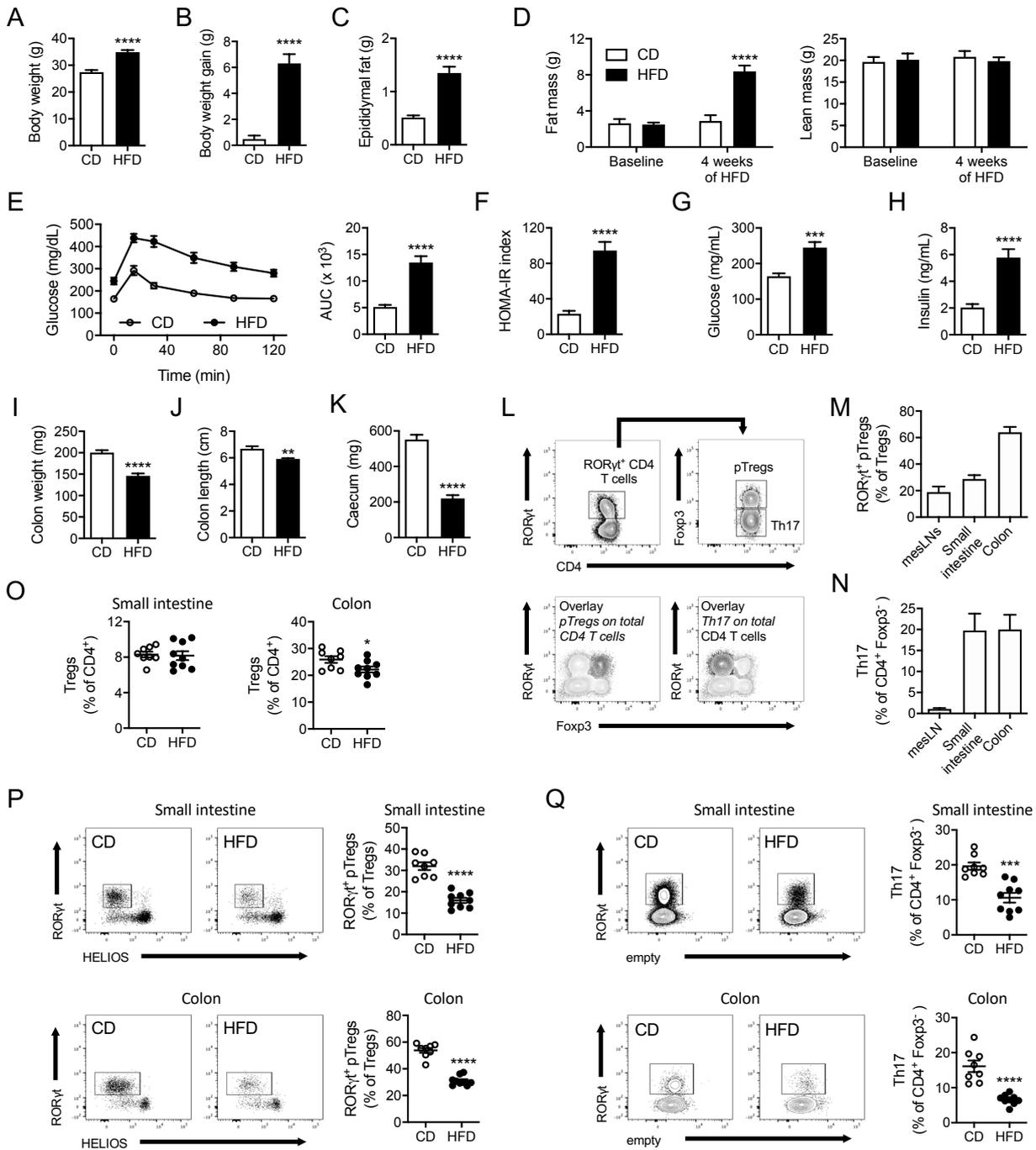


Figure 1. HFD feeding decreases RORγt⁺ pTregs and Th17 cells in the small intestine and colon. (A-D) Body weight (n=13-14 per group) (A), body weight gain (n=13-14 per group) (B), epididymal fat mass (n=13-14 per group) (C) and body composition (fat and lean mass) (n=5-6 per group) (D) in wild-type mice fed a chow diet (CD) or a high-fat diet (HFD) for 4 weeks. (E-F) Oral glucose tolerance test and associated area under the curve (AUC) quantification (E), HOMA-IR index measurement (F), plasma glucose (G) and insulin (H) levels in wild-type mice fed a chow diet (CD) or a high-fat diet (HFD) for 4 weeks (n=13-14 per group).

(I-J) Colon weight (n=13-14 per group) (I), colon length (n=9-10 per group) (J) and caecum weight (n=13-14 per group) (K) in wild-type mice fed a chow diet (CD) or a high-fat diet (HFD) for 4 weeks.

(L) Flow cytometry plots depicting ROR γ t⁺ CD4 T cells, including ROR γ t⁺ pTregs and Th17 cells, in the small intestine of chow diet-fed wild-type animals.

(M and N) Flow cytometry analysis of ROR γ t⁺ pTregs (M) and Th17 cells (N) in the mesenteric lymph nodes (mesLNs) (n=3), the small intestine (n=6) and the colon (n=5) of chow diet-fed wild-type animals.

(O-Q) Flow cytometry analysis of total Tregs (O), ROR γ t⁺ pTregs (P) and Th17 cells (Q) in the small intestine and colon of wild-type mice fed a chow diet (CD) or a high-fat diet (HFD) for 4 weeks (n=8-9 per group).

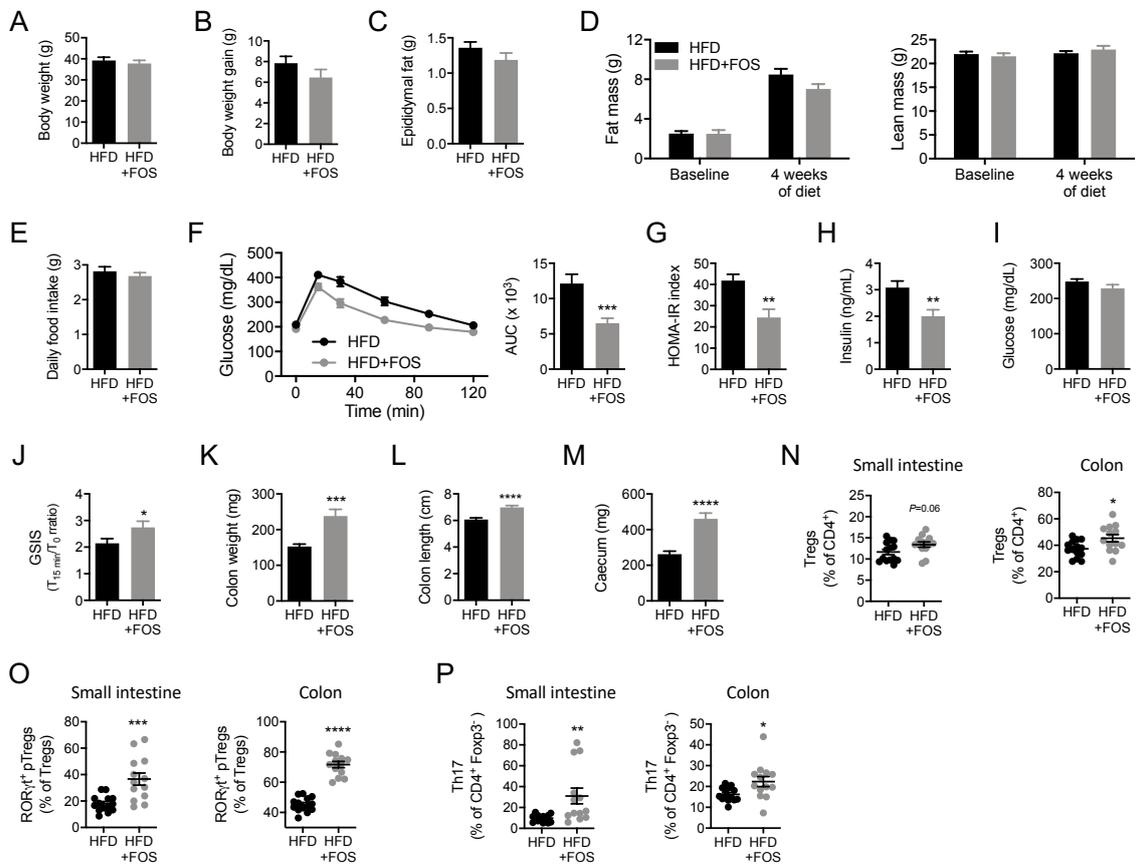


Figure 2. Dietary fiber supplementation improves glucose tolerance and restores RORγt⁺ pTregs and Th17 cells in HFD-fed animals.

(A-E) Body weight (n=15 per group) (A), body weight gain (n=15 per group) (B), epididymal fat mass (n=14-15 per group) (C), body composition (fat and lean mass) (n=7-10 per group) (D) and daily food intake (n=9 per group) (E) in wild-type mice fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented by dietary fibers (fructooligosaccharides, FOS) (HFD+FOS) administered in the drinking water for 4 weeks.

(F-I) Oral glucose tolerance test and associated area under the curve (AUC) quantification (n=15 per group) (F), HOMA-IR index measurement (n=15 per group) (G), plasma insulin levels (n=15 per group) (H), plasma glucose levels (n=15 per group) (I) and glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) (n=9-12 per group) (J) in wild-type mice fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks.

(K-M) Colon weight (n=13-14 per group) (K), colon length (n=9-12 per group) (L) and caecum weight (n=13-14 per group) (M) in wild-type mice fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks.

(N-P) Flow cytometry analysis of total Tregs (N), RORγt⁺ pTregs (O) and Th17 cells (P) in the small intestine and colon of wild-type mice fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks (n=13-14 per group).

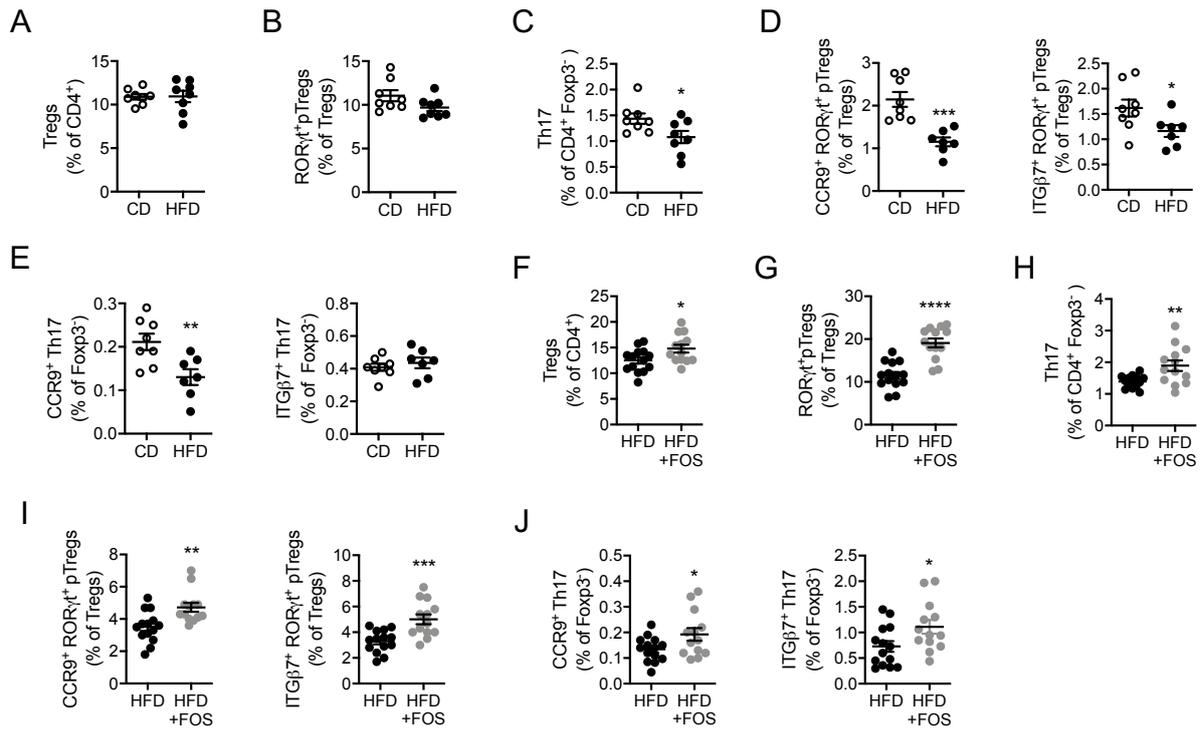


Figure 3. Gut-homing imprinting of RORγt⁺ pTregs and Th17 cells is impaired by HFD feeding and restored upon dietary fiber supplementation.

(A-C) Flow cytometry analysis of total Tregs (A), RORγt⁺ pTregs (B) and Th17 cells (C) in the mesenteric lymph nodes of wild-type mice fed a chow diet (CD) or a high-fat diet (HFD) for 4 weeks (n=8 per group).

(D and E) Flow cytometry analysis of RORγt⁺ pTregs (D) and Th17 cells (E) expressing CCR9 or ITGB7 in the mesenteric lymph nodes of wild-type mice fed a chow diet (CD) or a high-fat diet (HFD) for 4 weeks (n=7-8 per group).

(F-H) Flow cytometry analysis of total Tregs (F), RORγt⁺ pTregs (G) and Th17 cells (H) in the mesenteric lymph nodes of wild-type mice fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks (n=13-14 per group).

(I and J) Flow cytometry analysis of CCR9 or ITGB7-expressing RORγt⁺ pTregs (I) and Th17 cells (J) in the mesenteric lymph nodes of wild-type mice fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks (n=13-14 per group).

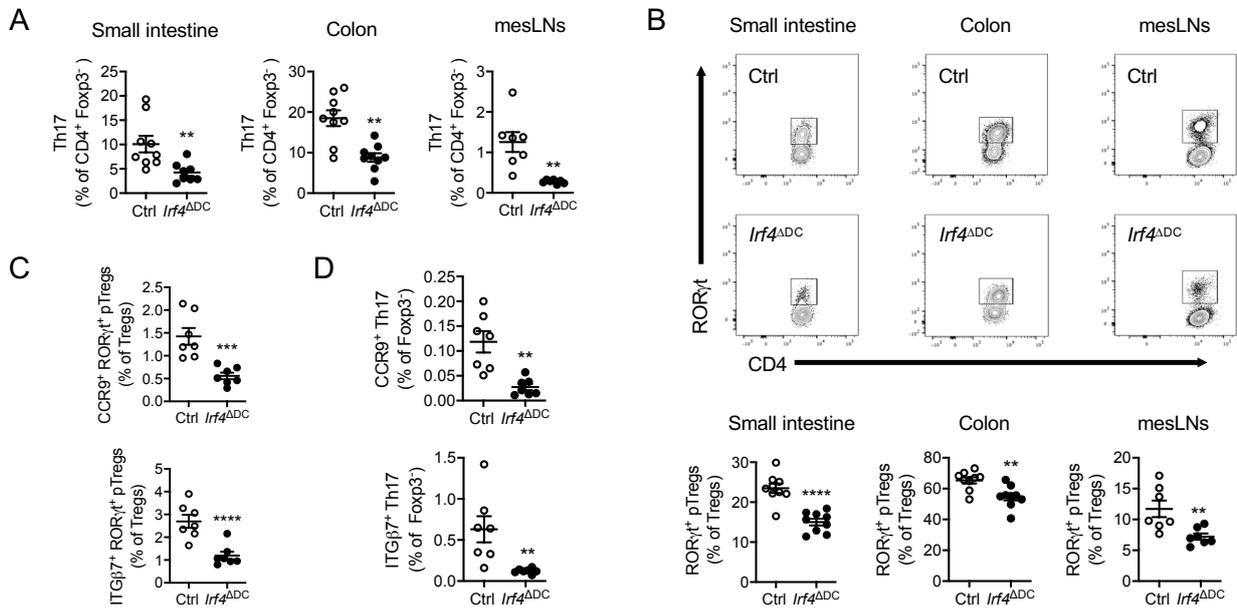


Figure 4. IRF4-dependent dendritic cells (cDC2) participate to the homeostasis of RORγt⁺ pTregs and Th17 cells.

(A) Flow cytometry analysis of Th17 cells in the small intestine (n=9 per group), colon (n=9 per group) and mesenteric lymph nodes (mesLNs) (n=7 per group) of mice lacking *Irf4* in dendritic cells (*Irf4*^{ΔDC}) and *Irf4*^{fllox/fllox} controls (ctrl).

(B) Flow cytometry plots and analysis of RORγt⁺ pTregs in the small intestine (n=9 per group), colon (n=9 per group) and mesenteric lymph nodes (mesLNs) (n=7 per group) of mice lacking *Irf4* in dendritic cells (*Irf4*^{ΔDC}) and *Irf4*^{fllox/fllox} controls (Ctrl).

(C and D) Flow cytometry analysis of CCR9 or ITGB7-expressing RORγt⁺ pTregs (C) and Th17 cells (D) in the mesenteric lymph nodes of mice lacking *Irf4* in dendritic cells (*Irf4*^{ΔDC}) and *Irf4*^{fllox/fllox} controls (Ctrl) (n=7 per group).

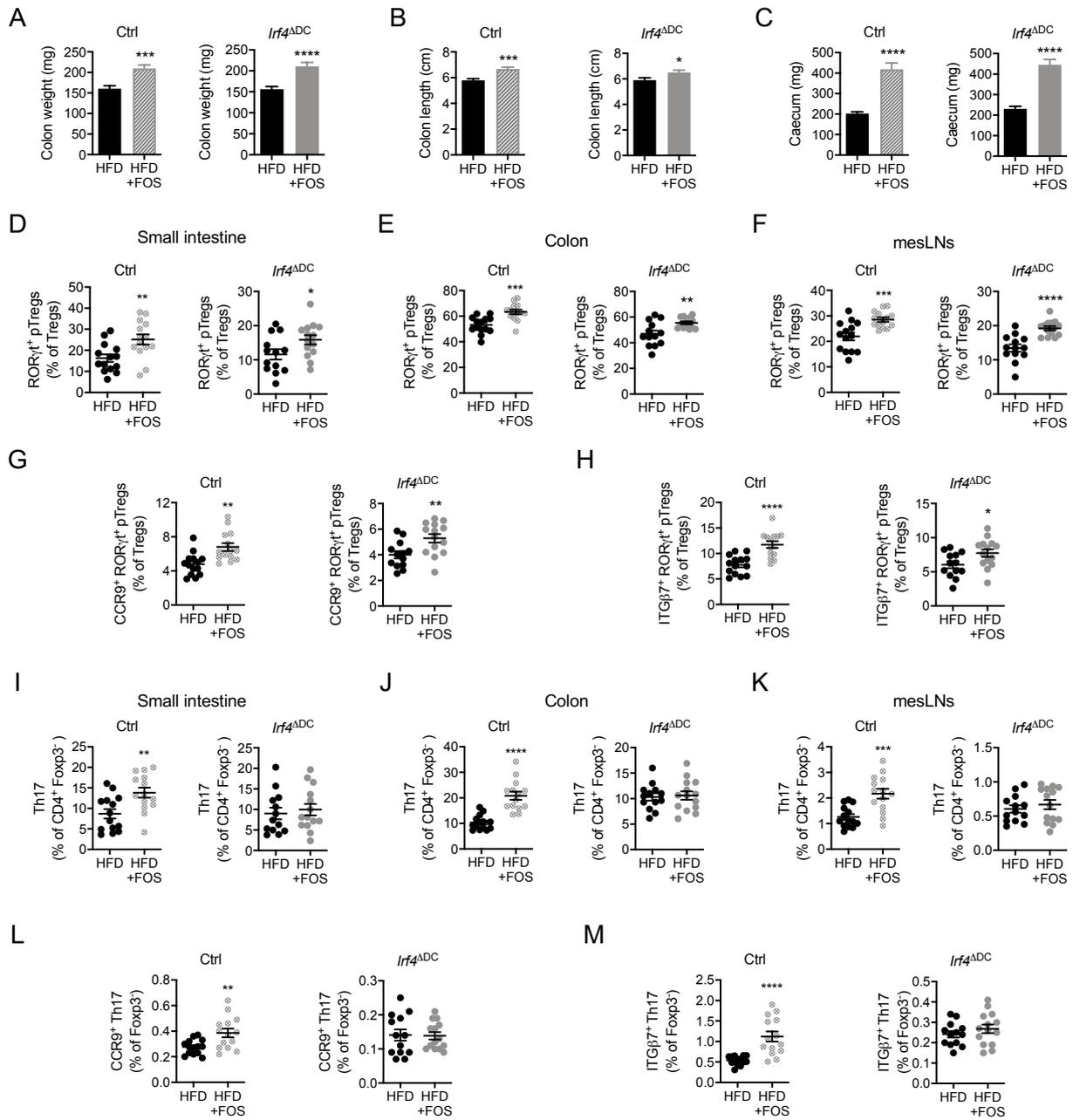


Figure 5. cDC2 control dietary fiber-mediated restoration of Th17 cells in HFD-fed animals.

(A-C) Colon weight (A), colon length (B) and caecum weight (C) in mice lacking *Irf4* in dendritic cells (*Irf4*^{ADC}) (n=13-14 per group) and *Irf4*^{fl^{ox}/fl^{ox}} controls (ctrl) (n=11-14 per group) fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks.

(D-F) Flow cytometry analysis of RORγt⁺ pTregs in the small intestine (D), colon (E) and mesenteric lymph nodes (mesLNs) (F) of mice lacking *Irf4* in dendritic cells (*Irf4*^{ADC}) (n=13-14 per group) and *Irf4*^{fl^{ox}/fl^{ox}} controls (ctrl) (n=11-14 per group) fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks.

(G and H) Flow cytometry analysis of CCR9 (G) or ITGB7 (H)-expressing ROR γ t⁺ pTregs in the mesenteric lymph nodes (mesLNs) of mice lacking *Irf4* in dendritic cells (*Irf4*^{ADC}) (n=13-14 per group) and *Irf4*^{flox/flox} controls (ctrl) (n=14 per group) fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks.

(I-K) Flow cytometry analysis of Th17 cells in the small intestine (I), colon (J) and mesenteric lymph nodes (mesLNs) (K) of mice lacking *Irf4* in dendritic cells (*Irf4*^{ADC}) (n=13-14 per group) and *Irf4*^{flox/flox} controls (ctrl) (n=14 per group) fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks.

(L and M) Flow cytometry analysis of CCR9 (L) or ITGB7 (M)-expressing Th17 cells in the mesenteric lymph nodes (mesLNs) of mice lacking *Irf4* in dendritic cells (*Irf4*^{ADC}) (n=13-14 per group) and *Irf4*^{flox/flox} controls (ctrl) (n=14 per group) fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks.

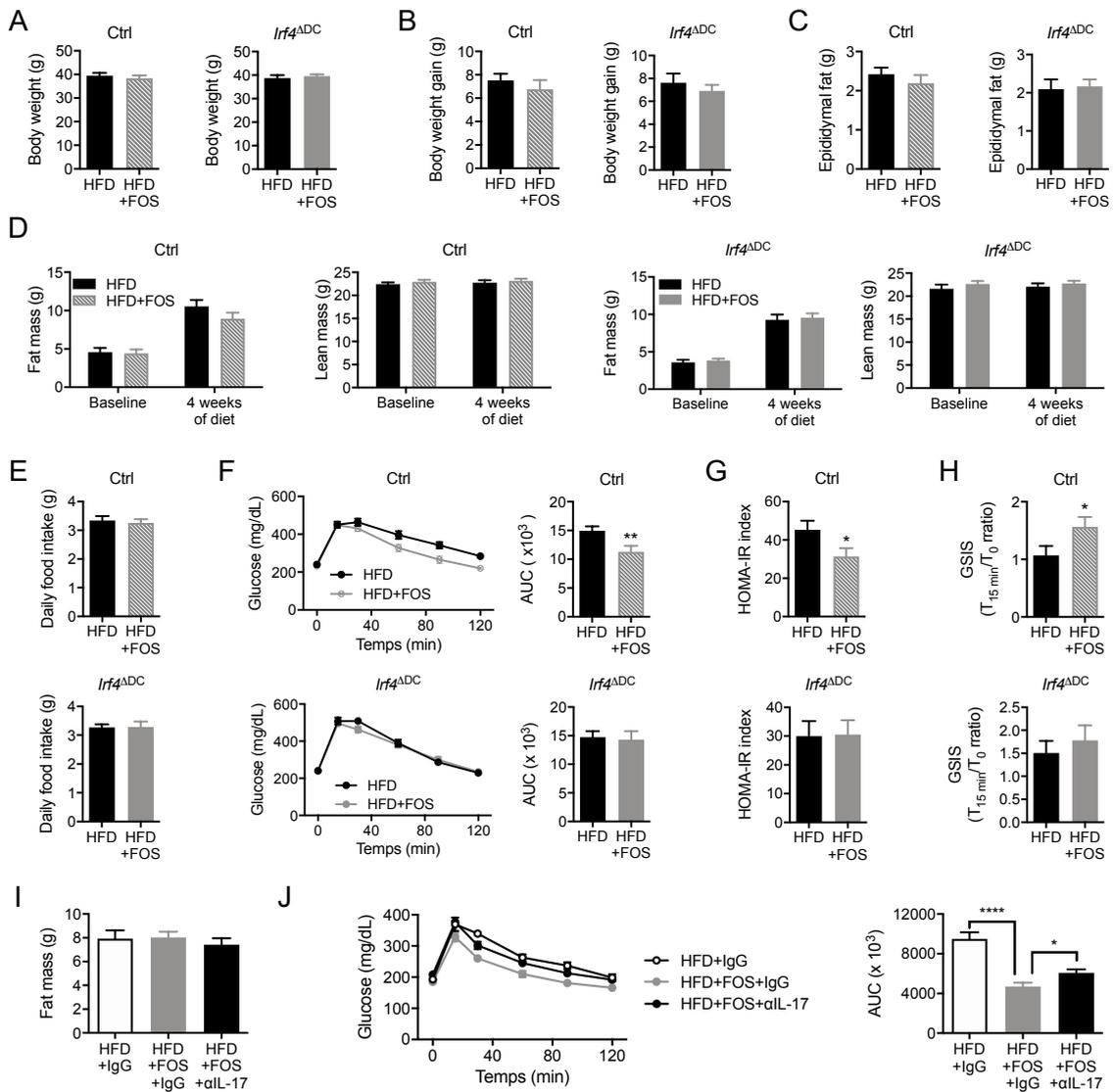


Figure 6. cDC2 control dietary fiber-mediated improvement of glucose tolerance in HFD-fed animals.

(A-E) Body weight (A), body weight gain (B), epididymal fat mass (C), body composition (fat and lean mass) (D) and daily food intake (E) in *Irf4^{ADC}* mice (*Irf4^{ADC}*) (n=6-14 per group) and *Irf4^{fllox/fllox}* controls (ctrl) (n=11-16 per group) fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fibers (HFD+FOS) for 4 weeks.

(F-H) Oral glucose tolerance test and associated area under the curve (AUC) quantification (F), HOMA-IR index measurement (G) and glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) (H) in *Irf4^{ADC}* mice (*Irf4^{ADC}*) (n=8-14 per group) and *Irf4^{fllox/fllox}* controls (ctrl) (n=12-16 per group) fed a high-fat diet (HFD) or a high-fat diet supplemented with dietary fiber (HFD+FOS) for 4 weeks.

(I-J) Body fat mass (I) and oral glucose tolerance test with the associated area under the curve (AUC) quantification (J) measured after 4 weeks of HFD in mice treated with an isotype control (HFD+IgG, n=6) as well as mice supplemented with dietary fiber and treated with an isotype control (HFD+FOS+IgG, n=9) or antibodies neutralizing IL-17A and IL-17F (HFD+FOS+ α IL-17, n=9).

STAR METHODS

RESOURCE AVAILABILITY

Lead Contact

Further information and requests for resources and reagents should be directed to and will be fulfilled by the Lead Contact, Emmanuel Gautier (emmanuel-laurent.gautier@inserm.fr).

Materials Availability

This study did not generate new unique reagents.

Data and Code Availability

This study did not generate any unique datasets or code.

EXPERIMENTAL MODEL AND SUBJECT DETAILS

Mice and housing

Mice were housed in individually ventilated cages at a temperature of 22°C and maintained under specific pathogen-free conditions on a 12-hour light and dark cycle with ad libitum access to water and diet (A04; Safe-Diets). Age-matched male mice were grouped by cages at weaning according to their genotype.

Wild-type C57BL/6J mice were from Charles River and bred in-house. *Ob/+* (B6.Cg-*Lep^{ob}/J*) mice were from Charles River and bred in house to generate obese *Ob/Ob* mice and lean littermate controls (including *Ob/+* and *+/+* animals). *Itgax-cre* (B6.Cg-Tg(*Itgax-cre*)1-1Reiz/J), *Irf4^{flox/flox}* (B6.129S1-*Irf4^{tm1Rdf}/J*) and *Irf8^{flox/flox}* (B6(Cg)-*Irf8^{tm1.1Hm}/J*) were all obtained from the Jackson Laboratory. *Itgax-cre* mice were crossed to *Irf4^{flox/flox}* animals in our facility, while *Itgax-cre* x *Irf8^{flox/flox}* were directly imported from the Tussiwand lab (Basel Institute, Switzerland). Littermate cre-negative mice were used as controls and germline deletion events were screened as previously described (Luda et al., 2016; Persson et al., 2013).

All animal procedures were in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the European Commission Directive 86/609/EEC and given authorization from the French Ministry of Research.

Diet and treatment

For high-fat diet (HFD)-induced metabolic dysfunctions studies, male mice were fed a HFD in which 60% of kilocalories come from fat (D12492, Research Diets) and were compared to chow diet-fed animals (A04; Safe-Diets). The duration of feeding was indicated in the text and figure legends. For dietary fiber supplementation studies, mice were given fructooligosaccharides (obtained from Sigma-Aldrich or Beneo) diluted at 7.5% in filtered drinking water. The solution was renewed every 2 to 3 days for the entire diet duration. IL-17A (clone 17F3) and IL17F (clone MM17F8F5.1A9) neutralizing antibodies, as well as their appropriate isotype control

(MOPC-21), were obtained from BioXcell. Antibodies (200 µg per injection) were injected intraperitoneally 3 times a week over the 4 weeks period of HFD feeding.

Glucose metabolism assessment

For assessment of oral glucose tolerance, mice were fasted for 5 hours prior to glucose intra-gastric gavage at a dose of 1.5 grams per kg of body weight. Glycaemia was measured with a glucometer (Accu-Check, Roche) at baseline and 15, 30, 60, 90 and 120 minutes after gavage. Blood was also collected at baseline and 15 min after gavage for insulin dosage. Insulin dosage was performed with the mouse ultrasensitive insulin ELISA kit from Alpco. The glucose-stimulation insulin secretion index was calculated as the ratio of blood insulin levels measured 15 min after glucose gavage to blood insulin levels at baseline. Finally, the HOMA-IR index was calculated with the following formula: fasting plasma insulin (mU/mL) × fasting plasma glucose (mm/L)/22.5.

Fat and lean mass measurement

Fat and lean mass were measured by TD-NMR using a MinispecPlus LFII90 body composition analyzer (Bruker; PreclinICAN Plateform, Paris).

qPCR analysis of colon samples

Total RNA was extracted from frozen colon samples (20 mg) using the Nucleospin RNA Plus kit (Macherey-Nagel). cDNA was generated with the Transcriptor First strand cDNA Synthesis kit (Roche). Quantitative PCR was performed with SYBR Green I Master (Roche) on a LightCycler® 480 real-time PCR system with dedicated software (Roche). Gene expression was normalized to at least 2 housekeeping genes using the Roche LightCycler® 480 software.

Tissue processing and cell suspensions preparation.

For isolation of lamina propria leucocytes, freshly harvested intestines and colons were quickly washed in PBS, opened and cut into smaller pieces. To remove epithelial cells, samples were placed into 40 mL of PBS (no calcium and magnesium) containing glucose (1g/L), HEPES (10mM), EDTA (5mM), fetal bovine serum (5%) and dithiothreitol (0.5%), and incubated for 30 min at 37°C under vigorous agitation. After cells were washed 5 times in 40 mL PBS, samples were chopped with scissors and placed in the digestion solution. The digestion solution consisted of HBSS (with calcium and magnesium) containing fetal bovine serum (3%), collagenase D (1.25 mg/mL, Sigma-Aldrich), DNase (10 U/mL, Sigma-Aldrich). Digestion was performed at 37°C under agitation for 30 min. After completion, cells suspensions were passed through a 18G needle before filtration on a 70µm filter, washed and finally resuspended in PBS containing BSA (1%).

Pooled mesenteric lymph nodes were cut open with a needle and digested as described above. Cell suspensions were eventually resuspended in PBS containing BSA (1%) before staining.

Flow cytometry

Antibodies were purchased from BioLegend, Thermo Fisher Scientific and BD Biosciences. The following markers and clones were used: CD11c (N418), MHC-II (I-A/I-E, M5/114.15.2), CD103 (2E7), CD11b (M1/70), ROR γ t (Q31-378), Foxp3 (FJK-16s), CD4 (GK1.5), CCR9 (CW-1.2), ITGB7 (DATK32), CD64 (X54-5/7.1) and CD45 (30-F11). Cell suspensions were stained with appropriate antibodies for 30 min on ice. Intracellular staining was performed using the Foxp3 staining kit from Thermo Fisher Scientific. Data were acquired on a BD LSRFortessa™ flow cytometer (BD Biosciences) and analyzed with FlowJo software (Tree Star).

To calculate absolute counts, a fixed number of non-fluorescent beads (10000, 10- μ m polybead carboxylate microspheres from Polysciences) was added to each tube. The formula number of cells = (number of acquired cells \times 10,000) / (number of acquired beads) was used. Cell counts were finally expressed as a number of cells per milligram of tissue.

QUANTIFICATION AND STATISTICAL ANALYSIS

Statistical significance of differences was performed using GraphPad Prism (GraphPad Software). Two-tailed Student's t-test was used to assess the statistical significance of the difference between means of two groups. Graphs depicted the mean \pm SEM. Statistical significance is represented as follows: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 and ****P<0.0001. All experiments were realized on a minimum of 2 independent mouse cohorts.

REFERENCES

- Atarashi, K., Nishimura, J., Shima, T., Umesaki, Y., Yamamoto, M., Onoue, M., Yagita, H., Ishii, N., Evans, R., Honda, K., et al. (2008). ATP drives lamina propria T(H)17 cell differentiation. *Nature* *455*, 808–812.
- Chassaing, B., Miles-Brown, J., Pellizzon, M., Ulman, E., Ricci, M., Zhang, L., Patterson, A.D., Vijay-Kumar, M., and Gewirtz, A.T. (2015). Lack of soluble fiber drives diet-induced adiposity in mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* *309*, G528-541.
- Christ, A., Lauterbach, M., and Latz, E. (2019). Western Diet and the Immune System: An Inflammatory Connection. *Immunity* *51*, 794–811.
- Chung, H., Pamp, S.J., Hill, J.A., Surana, N.K., Edelman, S.M., Troy, E.B., Reading, N.C., Villablanca, E.J., Wang, S., Mora, J.R., et al. (2012). Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota. *Cell* *149*, 1578–1593.
- Conti, H.R., Shen, F., Nayyar, N., Stocum, E., Sun, J.N., Lindemann, M.J., Ho, A.W., Hai, J.H., Yu, J.J., Jung, J.W., et al. (2009). Th17 cells and IL-17 receptor signaling are essential for mucosal host defense against oral candidiasis. *J. Exp. Med.* *206*, 299–311.
- Coomes, J.L., and Powrie, F. (2008). Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nat. Rev. Immunol.* *8*, 435–446.
- Daiën, C.I., Pinget, G.V., Tan, J.K., and Macia, L. (2017). Detrimental Impact of Microbiota-Accessible Carbohydrate-Deprived Diet on Gut and Immune Homeostasis: An Overview. *Front. Immunol.* *8*, 548.
- Dalby, M.J., Ross, A.W., Walker, A.W., and Morgan, P.J. (2017). Dietary Uncoupling of Gut Microbiota and Energy Harvesting from Obesity and Glucose Tolerance in Mice. *Cell Rep.* *21*, 1521–1533.
- Drucker, D.J. (2007). The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J. Clin. Invest.* *117*, 24–32.
- Edelson, B.T., Kc, W., Juang, R., Kohyama, M., Benoit, L.A., Klekotka, P.A., Moon, C., Albring, J.C., Ise, W., Michael, D.G., et al. (2010). Peripheral CD103⁺ dendritic cells form a unified subset developmentally related to CD8 α ⁺ conventional dendritic cells. *J. Exp. Med.* *207*, 823–836.
- Ezzati, M., and Riboli, E. (2013). Behavioral and dietary risk factors for noncommunicable diseases. *N. Engl. J. Med.* *369*, 954–964.
- Garidou, L., Pomié, C., Klopp, P., Waget, A., Charpentier, J., Aloulou, M., Giry, A., Serino, M., Stenman, L., Lahtinen, S., et al. (2015). The Gut Microbiota Regulates Intestinal CD4 T Cells Expressing ROR γ t and Controls Metabolic Disease. *Cell Metab.* *22*, 100–112.
- GBD 2013 Risk Factors Collaborators, Forouzanfar, M.H., Alexander, L., Anderson, H.R., Bachman, V.F., Biryukov, S., Brauer, M., Burnett, R., Casey, D., Coates, M.M., et al. (2015). Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Lond. Engl.* *386*, 2287–2323.
- Ginhoux, F., Liu, K., Helft, J., Bogunovic, M., Greter, M., Hashimoto, D., Price, J., Yin, N., Bromberg, J., Lira, S.A., et al. (2009). The origin and development of nonlymphoid tissue CD103⁺ DCs. *J. Exp. Med.* *206*, 3115–3130.
- Gribble, F.M. (2012). The gut endocrine system as a coordinator of postprandial nutrient homeostasis. *Proc. Nutr. Soc.* *71*, 456–462.
- Hong, C.-P., Park, A., Yang, B.-G., Yun, C.H., Kwak, M.-J., Lee, G.-W., Kim, J.-H., Jang, M.S., Lee, E.-J., Jeun, E.-J., et al. (2017). Gut-Specific Delivery of T-Helper 17 Cells Reduces Obesity and Insulin Resistance in Mice. *Gastroenterology* *152*, 1998–2010.
- Ivanov, I.I., McKenzie, B.S., Zhou, L., Tadokoro, C.E., Lepelley, A., Lafaille, J.J., Cua, D.J., and Littman, D.R. (2006). The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells. *Cell* *126*, 1121–1133.

- Ivanov, I.I., Frutos, R. de L., Manel, N., Yoshinaga, K., Rifkin, D.B., Sartor, R.B., Finlay, B.B., and Littman, D.R. (2008). Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe* *4*, 337–349.
- Ivanov, I.I., Atarashi, K., Manel, N., Brodie, E.L., Shima, T., Karaoz, U., Wei, D., Goldfarb, K.C., Santee, C.A., Lynch, S.V., et al. (2009). Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* *139*, 485–498.
- Iwata, M., Hirakiyama, A., Eshima, Y., Kagechika, H., Kato, C., and Song, S.-Y. (2004). Retinoic acid imprints gut-homing specificity on T cells. *Immunity* *21*, 527–538.
- Ko, C.-W., Qu, J., Black, D.D., and Tso, P. (2020). Regulation of intestinal lipid metabolism: current concepts and relevance to disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* *17*, 169–183.
- Levy, M., Thaiss, C.A., and Elinav, E. (2016). Metabolites: messengers between the microbiota and the immune system. *Genes Dev.* *30*, 1589–1597.
- Luck, H., Tsai, S., Chung, J., Clemente-Casares, X., Ghazarian, M., Revelo, X.S., Lei, H., Luk, C.T., Shi, S.Y., Surendra, A., et al. (2015). Regulation of obesity-related insulin resistance with gut anti-inflammatory agents. *Cell Metab.* *21*, 527–542.
- Luda, K.M., Joeris, T., Persson, E.K., Rivollier, A., Demiri, M., Sitnik, K.M., Pool, L., Holm, J.B., Melo-Gonzalez, F., Richter, L., et al. (2016). IRF8 Transcription-Factor-Dependent Classical Dendritic Cells Are Essential for Intestinal T Cell Homeostasis. *Immunity* *44*, 860–874.
- Makki, K., Deehan, E.C., Walter, J., and Bäckhed, F. (2018). The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. *Cell Host Microbe* *23*, 705–715.
- Ohnmacht, C., Pullner, A., King, S.B.S., Drexler, I., Meier, S., Brocker, T., and Voehringer, D. (2009). Constitutive ablation of dendritic cells breaks self-tolerance of CD4 T cells and results in spontaneous fatal autoimmunity. *J. Exp. Med.* *206*, 549–559.
- Ohnmacht, C., Park, J.-H., Cording, S., Wing, J.B., Atarashi, K., Obata, Y., Gaboriau-Routhiau, V., Marques, R., Dulauroy, S., Fedoseeva, M., et al. (2015). MUCOSAL IMMUNOLOGY. The microbiota regulates type 2 immunity through ROR γ ⁺ T cells. *Science* *349*, 989–993.
- Persson, E.K., Uronen-Hansson, H., Semmrich, M., Rivollier, A., Hägerbrand, K., Marsal, J., Gudjonsson, S., Håkansson, U., Reizis, B., Kotarsky, K., et al. (2013). IRF4 transcription-factor-dependent CD103(+)CD11b(+) dendritic cells drive mucosal T helper 17 cell differentiation. *Immunity* *38*, 958–969.
- Reynolds, A., Mann, J., Cummings, J., Winter, N., Mete, E., and Te Morenga, L. (2019). Carbohydrate quality and human health: a series of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet Lond. Engl.* *393*, 434–445.
- Schlitzer, A., McGovern, N., Teo, P., Zelante, T., Atarashi, K., Low, D., Ho, A.W.S., See, P., Shin, A., Wasan, P.S., et al. (2013). IRF4 transcription factor-dependent CD11b⁺ dendritic cells in human and mouse control mucosal IL-17 cytokine responses. *Immunity* *38*, 970–983.
- Sefik, E., Geva-Zatorsky, N., Oh, S., Konnikova, L., Zemmour, D., McGuire, A.M., Burzyn, D., Ortiz-Lopez, A., Lobera, M., Yang, J., et al. (2015). MUCOSAL IMMUNOLOGY. Individual intestinal symbionts induce a distinct population of ROR γ ⁺ regulatory T cells. *Science* *349*, 993–997.
- Tan, J.K., McKenzie, C., Mariño, E., Macia, L., and Mackay, C.R. (2017). Metabolite-Sensing G Protein-Coupled Receptors-Facilitators of Diet-Related Immune Regulation. *Annu. Rev. Immunol.* *35*, 371–402.
- Thorburn, A.N., Macia, L., and Mackay, C.R. (2014). Diet, metabolites, and “western-lifestyle” inflammatory diseases. *Immunity* *40*, 833–842.
- Trasino, S.E., Tang, X.-H., Jessurun, J., and Gudas, L.J. (2015). Obesity Leads to Tissue, but not Serum Vitamin A Deficiency. *Sci. Rep.* *5*, 15893.
- Uto, T., Takagi, H., Fukaya, T., Nasu, J., Fukui, T., Miyanaga, N., Arimura, K., Nakamura, T., Chojookhuu, N., Hishikawa, Y., et al. (2018). Critical role of plasmacytoid dendritic cells in induction of oral tolerance. *J. Allergy Clin. Immunol.* *141*, 2156-2167.e9.

- Veldhoen, M., and Brucklacher-Waldert, V. (2012). Dietary influences on intestinal immunity. *Nat. Rev. Immunol.* *12*, 696–708.
- Wang, X., Ota, N., Manzanillo, P., Kates, L., Zavala-Solorio, J., Eidenschenk, C., Zhang, J., Lesch, J., Lee, W.P., Ross, J., et al. (2014). Interleukin-22 alleviates metabolic disorders and restores mucosal immunity in diabetes. *Nature* *514*, 237–241.
- Winer, D.A., Luck, H., Tsai, S., and Winer, S. (2016). The Intestinal Immune System in Obesity and Insulin Resistance. *Cell Metab.* *23*, 413–426.
- Winer, D.A., Winer, S., Dranse, H.J., and Lam, T.K.T. (2017). Immunologic impact of the intestine in metabolic disease. *J. Clin. Invest.* *127*, 33–42.
- Zou, J., Chassaing, B., Singh, V., Pellizzon, M., Ricci, M., Fythe, M.D., Kumar, M.V., and Gewirtz, A.T. (2018). Fiber-Mediated Nourishment of Gut Microbiota Protects against Diet-Induced Obesity by Restoring IL-22-Mediated Colonic Health. *Cell Host Microbe* *23*, 41-53.e4.

Conclusion et discussion

Mon travail de thèse s'attache à l'étude des interactions entre immunité mucoale et métabolisme systémique dans le cadre de la réponse au régime gras chez la souris. Mes travaux montrent le régime HFD induit une diminution des pTregs et de Th17 dès les premières semaines de consommation. Ce déséquilibre est corrigé par une supplémentation en fibres alimentaires. Néanmoins, le rétablissement des Th17 par les fibres alimentaires requiert la présence des cellules dendritiques cDC2. En outre, l'amélioration métabolique associée à la consommation de fibres alimentaires est également dépendante des cDC2. J'ai ainsi pu montrer que les cDC2 sont nécessaires pour médier les effets immunitaires et métaboliques des fibres alimentaires.

Mon travail démontre d'une part l'importance des fibres alimentaires dans l'homéostasie immunitaire intestinale. D'autre part, il met en évidence pour la première fois le rôle des cDC2 dans les bénéfices associés aux fibres alimentaires. Ainsi, ma thèse révèle un nouvel intermédiaire cellulaire entre le déséquilibre nutritionnel et l'homéostasie immunitaire et métabolique.

1 Diminution des LTs CD4⁺ ROR γ t⁺ intestinaux par le régime HFD

La population des LTs CD4⁺ ROR γ t⁺ dans l'intestin est composée des pTregs ROR γ t, responsables de la tolérance au microbiote intestinal^{303,308}, et des Th17, population effectrice dont le secrétome participe à la fonction de barrière intestinale³⁵¹. Le premier objectif de ma thèse était de décrire précisément l'impact du HFD sur ces deux populations, ainsi que de déterminer l'origine de ce déséquilibre.

J'ai nourri des souris avec un HFD à 60% de kcal issues des graisses pendant 4 semaines, avant de mesurer les populations de pTregs et de Th17 dans la LP du SI et du colon. J'ai quantifié les pTregs

CONCLUSION ET DISCUSSION

en proportion des Tregs totaux, donc en proportion des réponses régulatrices. J'ai exprimé les Th17 en proportion des LTs CD4⁺ FoxP3⁻, c'est-à-dire des LTs CD4⁺ effecteurs. Cela permet de quantifier les deux populations de manière indépendante l'une de l'autre. Ainsi, j'ai pu constater que les populations pTregs et les Th17 de la muqueuse intestinale et colique étaient diminuées dès 4 semaines de HFD.

La diminution des Th17 associée à celle des pTregs pourrait paraître surprenante. En effet, l'affaiblissement des réponses régulatrices supposerait une augmentation des réponses effectrices en conséquence. Après 4 semaines de HFD, la proportion intestinale des effecteurs de type Th1 et de Th2 est augmentée (résultats non montrés), comme décrit précédemment¹¹⁴. Dans le contexte inflammatoire des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), les Th17 intestinaux les cytokines associées sont augmentées de manière dérégulée chez l'homme et la souris^{438,294,366}. Néanmoins, les voies de développement des Th17 et des pTregs sont proches et ils répondent de manière similaire à certains stimuli, comme la colonisation par la SFB³⁰⁸. En outre, la diminution des Th17 sous HFD serait spécifique à l'intestin, puisque cette population semble augmentée dans le tissu adipeux et le foie^{439,440,441}. Cela pourrait s'expliquer par l'hétérogénéité des populations Th17. En effet, les Th17 induits en réponse aux commensaux ne sont pas de nature inflammatoire, tandis que les Th17 induits en contexte pathologique sécrètent de l'IFN γ et participent à l'inflammation du tissu³⁴⁴. Dans le contexte du HFD, l'absence d'infection suggère que la population de Th17 diminuée par le HFD est homéostatique, et probablement protectrice. Cela pourrait être partiellement vérifié par un marquage de l'IFN γ en cytométrie dans les cellules Th17 de la LP.

Bien qu'ils soient la population majoritaire parmi les Tregs, la diminution des pTregs ROR γ t⁺ intestinaux par le HFD n'avait pas été montrée jusqu'ici. Cette observation suggère une baisse de tolérance au microbiote commensal. Toutefois, dans mon étude, la proportion des Tregs totaux parmi les LTs CD4⁺ n'est pas diminuée par le HFD. Cela ne suffit cependant pas à maintenir la tolérance, puisque les réponses effectrices Th1 et Th2 sont augmentées en contexte de HFD.

2 Rétablissement des LTs CD4⁺ ROR γ t⁺ intestinaux par les fibres

L'absence de fibres alimentaires dans le régime est délétère dans la réponse au régime HFD, notamment pour la signature dysbiotique²³⁷. J'ai émis l'hypothèse que cette déficience pouvait être à l'origine de la diminution des LTs CD4⁺ ROR γ t⁺ sous HFD. J'ai choisi d'ajouter dans l'eau de boisson des souris sous HFD des fructooligosaccharides (FOS 7,5%). Les FOS sont des fibres solubles et fermentescibles issues de la lyse chimique de l'inuline extraite de la chicorée^{442,443}. Elles sont fréquemment utilisées dans les études animales sur la consommation de fibres alimentaires. Une

CONCLUSION ET DISCUSSION

supplémentation à 7,5% de FOS dans l'eau de boisson correspond à une consommation de 6g de fibres par kg de souris par jour. En comparaison, une consommation de 50g de fibres par jour chez l'homme équivaut à 1 gramme de fibres par kg. En supplémentant le régime HFD en FOS dans l'eau de boisson, j'ai observé que cet ajout de fibres alimentaires était suffisant pour restaurer les pTregs ROR γ ⁺ et les Th17 dans la LP du colon et de l'intestin grêle. Le microbiote est vraisemblablement impliqué dans l'impact des fibres alimentaires sur ces populations. Les fibres étant un élément trophique pour le microbiote, elles sont capables de faire varier sa composition. Ainsi, les espèces favorisant la polarisation pTregs ou Th17 peuvent être déséquilibrées lors du HFD puis ré-équilibrées par les fibres alimentaires. De fait, la SFB inductrice des Th17 est perdue lors d'un HFD⁴⁴⁴. Néanmoins, le retour de la SFB dans le microbiote des souris supplémentées en FOS reste à déterminer. Cela pourrait être effectué par qPCR sur l'ARN 16s de la SFB^{445,446}. Concernant les pTregs, les populations connues pour induire leur polarisation appartiennent au genre Clostridia^{281,280}. Une diminution des Clostridia a été décrite sous HFD chez la souris⁴⁴⁷, et ce groupe est connu pour produire des acides gras à chaîne courte à partir des fibres alimentaires^{448,449,450}. Ainsi, l'atténuation de la dysbiose par les fibres pourrait être un signal luminal à l'origine du rétablissement des pTregs ROR γ ⁺ et des Th17. Cette modification du microbiote peut entraîner une différence des médiateurs à l'origine de l'induction des Th17 et des pTregs ROR γ ⁺, comme les acides gras à chaîne courte, les ligands de AhR ou les vésicules endocytotiques qui assurent la communication entre la SFB et l'épithélium^{451,452}.

3 Les cDC2 dans les effets immunitaires des fibres

S'il est connu que les fibres alimentaires régulent le microbiote et sa production de métabolites, l'intégration de ces signaux par l'hôte est méconnue. Ainsi, mon intérêt s'est focalisé sur la médiation des signaux associés aux fibres alimentaires dans mon contexte expérimental. Les LTs CD4⁺ sont activés et polarisés dans les GLMs par les cDCs, qui leur confèrent également l'expression des récepteurs du « gut-homing » CCR9 et l'intégrine α 4 β 7.

J'ai tout d'abord étudié dans les GLMs la génération des pTregs ROR γ ⁺ et des Th17, ainsi que l'induction des récepteurs du « gut-homing » à leur surface chez des souris sous HFD supplémentées ou non en fibres. Le HFD n'a pas modifié la génération des pTregs ROR γ ⁺, mais a diminué leur expression du CCR9 et de l'intégrine α 4 β 7. En revanche, il a diminué la génération des Th17 ainsi que leur expression de CCR9 et de l'intégrine α 4 β 7. Cela pourrait expliquer la diminution de ces deux types cellulaires dans la LP sous HFD. L'apport en fibres alimentaires a permis d'augmenter la génération et le « gut-homing » des pTregs et des Th17, rétablissant ainsi l'homéostasie de ces populations dans les GLMs et dans la LP. Ces observations faites dans les GLMs suggèrent que les

CONCLUSION ET DISCUSSION

DCs pourraient être impliquées dans la réponse au HFD et aux fibres alimentaires.

Les DCs intestinales sont divisées en deux sous-types, les cDC1 CD103⁺ C11b⁻ et les cDC2 CD103⁺ CD11b⁺. La littérature montre que les cDC2 polarisent les Th17, et mes expériences montrent pour la première fois qu'elles polarisent également les pTregs ROR γ t⁺. En effet, dans le modèle de souris *CD11c-cre x Irf4^{flox/flox}* de déplétion des cDC2, les Th17 et les pTregs ROR γ t⁺ sont significativement diminués dans les GLMs, l'intestin grêle et le colon, ainsi que leur expression des récepteurs du « gut-homing ». En soumettant les souris déficientes en cDC2 au régime HFD supplémenté en fibres alimentaires, j'ai premièrement observé que l'augmentation des pTregs ROR γ t⁺ par les fibres alimentaires ne dépendait pas des cDC2. Cela suggère une compensation par d'autres types de cellules présentatrices d'antigènes. De fait, différentes cellules peuvent participer à l'homéostasie des pTregs ROR γ t⁺. En effet, la perte des cDC1 pourrait diminuer l'induction de Tregs lors d'une administration orale d'ovalbumine (OVA), un antigène fréquemment utilisé dans les études de tolérance orale³⁹³. En outre, l'absence des DCs plasmacytoïdes lors d'un gavage à l'OVA réduit la génération des pTregs spécifiques de l'OVA dans les GLMs⁴⁵³. Les macrophages CX3CR1⁺ participent également à la génération des Tregs en réponse à l'OVA dans les GLMs³⁹³. Il est ainsi possible que les cDC2 aient un rôle dominant dans la génération des pTregs en conditions homéostatiques, mais que les cDC1, les pDC et les macrophages puissent compenser en leur absence ou en conditions pathologiques.

En revanche, les Th17 ne sont pas restaurés en l'absence des cDC2. Cela pourrait paraître surprenant, car une étude avait montré que les macrophages étaient plus importants que les DC pour l'induction des Th17 en réponse à la SFB⁴⁴⁶. Néanmoins, cette étude s'inscrit dans des conditions saines avec une supplémentation en SFB commensale. Or, il est possible que le contexte nutritionnel fasse varier l'importance des différentes cellules présentatrices d'antigènes. Il pourrait être intéressant de vérifier dans les GLMs la différence d'expression de l'IL-6 et de l'IL23 inductrices de Th17 pendant la supplémentation en fibres avec ou sans cDC2³⁷⁰.

4 Mécanismes impliquant les cDC2 dans les effets immunitaires des fibres

L'induction de l'expression de CCR9 et de l'intégrine α 4 β 7 est dépendante de la production d'acide rétinoïque (RA) par les cDCs à partir de la vitamine A^{420,421}. Dans mes conditions d'expérimentation, l'activité RADLDH des cellules dendritiques n'est pas diminuée par le HFD, ni augmentée par les fibres (données non montrées). En outre, nous n'avons pas noté de claire diminution de la population de cDC2 (données non montrées). En revanche, il a été montré que le HFD diminue significativement les niveaux de rétinol dans de nombreux organes⁴⁵⁴, et l'expression intestinale des Serum Amyloid A (SAA), des protéines qui se fixent au RA et dont l'expression est dépendante de

CONCLUSION ET DISCUSSION

l'AR⁴⁵⁵, est diminuée dans l'intestin des souris sous HFD (données non montrées). Cela suggère que le métabolisme intestinal de l'AR est altéré par le HFD. Ainsi, les altérations des LT CD4⁺ ROR γ t⁺ sous HFD ne résulteraient pas d'un défaut intrinsèque aux DCs, mais du défaut d'un substrat nécessaire à leur fonction et dépendant des conditions environnementales.

En revanche, les fibres permettent de restaurer l'expression des SAA (données non montrées). Elles permettraient donc de restaurer les conditions environnementales nécessaires à l'homéostasie immunitaire. Les fibres pourraient ainsi jouer un rôle dans la biodisponibilité de la vitamine A ou de l'AR. La SFB est une espèce bactérienne qui induit une production d'AR et l'expression des SAA, et qui favorise la polarisation Th17^{456,457}. Il serait donc possible que l'homéostasie de la SFB, régulée par les fibres alimentaires, altère le métabolisme de l'AR. Dans ce contexte, l'action des fibres sur le métabolisme de l'AR pourrait s'expliquer par leurs effets trophiques directs ou indirects sur la SFB.

5 Hypothèse de la boucle de régulation positive

Les données que j'ai obtenues semblent s'inscrire dans une boucle de régulation positive entre le système immunitaire de l'hôte et le microbiote. De fait, l'environnement luminal impacte la génération de Th17 par les cDC2, possiblement en régulant le métabolisme de l'AR. Mais les cellules de l'immunité modulent aussi l'écologie bactérienne dans la lumière, notamment par le biais des sIgA et des PAMs. En effet, l'activation de mTORC1 dans les cellules myéloïdes de l'intestin suffit à induire une modification du microbiote par la sécrétion des sIgA⁴⁵⁸. En outre, l'IL-17 qui appartient au sécrétome des Th17 assure le contrôle de la SFB par le biais des PAMs^{351,456}.

J'ai observé dans mon modèle que les fibres augmentent l'expression des SAA, induites par l'AR et

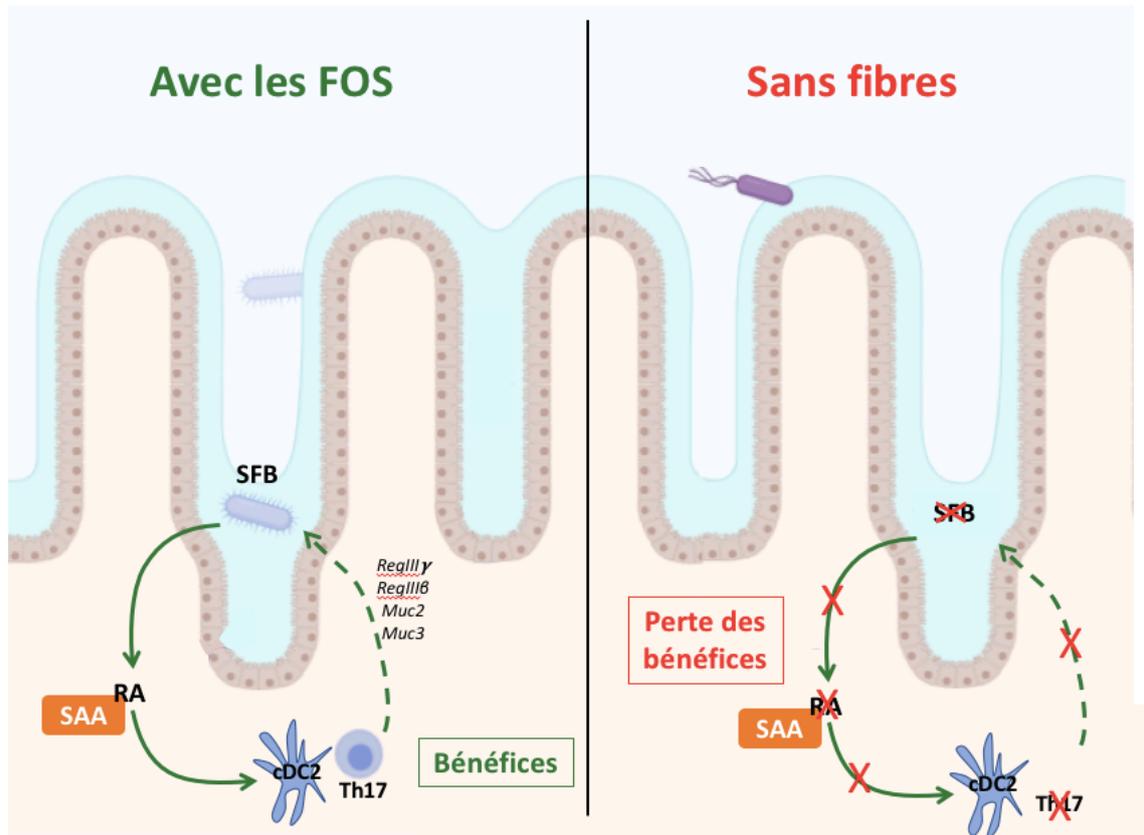


Figure 15 Hypothèse explicative des effets des fibres sur les Th17

Les cDC2 pourraient participer à une boucle de régulation positive entre le microbiote commensal et le système immunitaire de l'hôte. Lors d'un régime riche en fibres, la SFB est maintenue et induit l'AR et la SAA nécessaire à la bonne fonction des cDC2 pour l'induction des Th17 spécifiques. En retour, les Th17 régulent la fonction de barrière de manière avantageuse pour la SFB. En absence de fibres, l'absence de l'un des éléments peut déréguler le système entier, et ainsi entraîner une diminution de la biodisponibilité de l'AR qui altère la capacité des cDC2 à induire les Th17. Les Th17 sont ainsi diminués ainsi que la SFB.

par la SFB. Il est possible que cela illustre la disponibilité du RA, un substrat nécessaire à la fonction des cDC2. Néanmoins, l'augmentation de l'expression des SAA requiert la présence des cDC2 (données non montrées). Cela peut signifier que la présence des cDC2 permet l'amélioration de la dysbiose, et ainsi en retour celui du métabolisme du RA. Ainsi, les cDC2 conditionneraient le milieu luminal, qui influe en retour la disponibilité des substrats nécessaires à leur fonction. En accord avec cette hypothèse, l'absence des cDC2 lors d'une supplémentation en fibres empêche le rétablissement de certains gènes impliqués dans la gestion du microbiote par l'hôte, comme *RegIII γ* , *RegIII β* et les mucines *Muc2* et *Muc3* (données non montrées).

Pour tester cette hypothèse, il faudrait premièrement étudier la dysbiose dans les souris avec et sans cDC2. Cela permettrait d'évaluer si l'absence des cDC2 prévient la restauration de la symbiose avec des espèces bactériennes inductrices du métabolisme du RA et des Th17. Il serait également possible d'effectuer un transfert fécal du microbiote des souris avec ou sans cDC2 dans des souris GF pour

CONCLUSION ET DISCUSSION

voir l'impact de ce microbiote sur l'induction des populations de LT intestinales.

L'absorption intestinale de la vitamine A pourrait également participer à la perturbation du métabolisme intestinal des rétinoïdes. Celle-ci est étroitement liée aux acides biliaires du fait de sa liposolubilité. Or, il est connu depuis longtemps que les fibres alimentaires interagissent avec les acides biliaires⁴⁶². Ainsi, il est possible que les fibres rétablissent l'absorption de la vitamine A de par leur influence sur la physiologie des acides biliaires. Néanmoins, l'interaction entre les FOS et les acides biliaires reste à déterminer.

6 Les cDC2 intestinales, nouvelles actrices du métabolisme

J'ai montré que la supplémentation en fibres alimentaires améliore la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline des souris sous HFD. Les effets bénéfiques des fibres sur le métabolisme peuvent s'expliquer de manière multifactorielle, et notamment par des effets directs sur les fonctions intestinales de sécrétion endocrine et de barrière, ou par le biais des effets transcriptionnels et épigénétiques des acides gras à chaîne courte. Elles ont également des effets bénéfiques sur le système immunitaire dans des pathologies inflammatoires^{77,459}. Or, la pathogenèse métabolique est fondamentalement inflammatoire et les fonctions intestinales participent à leur établissement. En outre, la réponse inflammatoire de l'intestin au régime s'intègre au niveau systémique en favorisant la pathologie métabolique lors d'un HFD¹¹⁴.

J'ai donc émis l'hypothèse que l'absence des cDC2 pourrait prévenir la capacité métabolique à répondre aux fibres alimentaires. J'ai évalué les paramètres métaboliques des souris déficientes en cDC2 supplémentées en fibres. J'ai ainsi constaté que l'absence des cDC2 prévient l'amélioration de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline par les fibres alimentaires. Ainsi, les cDC2 sont nécessaires d'une part à l'augmentation des Th17 en réponse aux fibres, et à leurs bénéfices métaboliques.

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer la participation des cDC2 au phénotype métabolique. D'une part, les Th17 sont impliqués dans le maintien de l'intégrité de la muqueuse, et leurs cytokines jouent notamment un rôle dans l'intégrité épithéliale et la fonction de barrière intestinale. Or, la barrière intestinale est un facteur déterminant de l'endotoxémie inflammatoire dans les pathologies métaboliques chez la souris²¹⁸. Ainsi, les Th17 pourraient être le lien causal entre les cDC2 et le métabolisme. J'ai utilisé des anticorps contre l'IL-17A et l'IL-17F, les cytokines principales du secrétome Th17, pour bloquer la signalisation IL-17 lors de la supplémentation en fibres alimentaires. Ce traitement a partiellement inhibé les améliorations métaboliques induites par les fibres. Ainsi, les Th17 par leur sécrétion de l'IL-17A et de l'IL-17F peuvent partiellement expliquer le rôle des cDC2

CONCLUSION ET DISCUSSION

lors de la supplémentation en fibres. Nos données sont par ailleurs cohérentes avec une étude suggérant un rôle bénéfique des Th17 intestinaux dans la pathologie métabolique⁴³⁷.

Mes données confirment la spécificité des réponses Th17 intestinales au HFD, qui contrastent avec celles du tissu adipeux et du foie. En effet, dans ces deux organes les Th17 et l'IL-17 sont augmentés et ont des effets inflammatoires et délétères^{439,440,460,441}. Ainsi, les injections systémiques d'anti-IL-17 auraient pu inhiber l'inflammation du tissu adipeux et du foie et potentialiser les effets des fibres sur le métabolisme. En accord avec cette supposition, un traitement anti-IL-17 pendant 2 semaines a permis d'améliorer la NASH après 18 semaines de HFD à 60%, suggérant son rôle délétère dans le foie⁴⁶¹. Mes résultats suggèrent ainsi que dans les bénéfices métaboliques des fibres, le comportement des Th17 intestinaux a un rôle plus important que ceux des autres tissus à ce stade. Par ailleurs, je n'ai pas noté de modification des Th17 du tissu adipeux lors de la supplémentation en fibres.

7 Intégration des cDC2 aux bénéfices métaboliques des fibres

Deux hypothèses pourraient expliquer le rôle des cDC2 dans le métabolisme. D'une part, la barrière intestinale à laquelle les Th17 participent conditionne l'endotoxémie et l'inflammation systémique, influant ainsi sur la pathologie métabolique^{210,218}. Nous avons exploré cette hypothèse à l'aide de tests de perméabilité intestinale FITC-dextran mais n'avons obtenu aucun résultat positif. Néanmoins, comme mentionné plus haut, l'expression des gènes *RegIIIγ*, *RegIIIβ*, *Muc2* et *Muc3* est augmentée par les fibres sauf en l'absence des cDC2. Cela montre un impact des cDC2 dans la barrière, sans appuyer son importance métabolique.

La seconde hypothèse concerne la régulation centrale du métabolisme glucidique qui trouve son origine dans le métabolisme intestinal. En effet, les fibres augmentent la néoglucogénèse intestinale qui stimule la régulation centrale du métabolisme glucidique. Ce mécanisme permet notamment l'inhibition de la production hépatique de glucose. Il est ainsi possible que les cDC2 participent à la communication nerveuse entre le métabolisme intestinal et la régulation centrale du métabolisme. Aucun lien entre cellules dendritiques et système nerveux n'est connu à ce jour. Toutefois, les macrophages de la muscularis interagissent avec les neurones locaux notamment pour influencer le péristaltisme⁴⁶³. En outre, l'équipe de Daniel Mucida a récemment montré que ces macrophages, de par leur rôle dans la protection tissulaire, permettaient de prévenir la perte des neurones entériques à long terme après une infection⁴⁶⁴. Or, les Th17 et les cellules sécrétrices d'IL17 et d'IL-22 participent à l'intégrité du tissu intestinal dans la lamina propria en conditions inflammatoires. Ainsi, le rétablissement des Th17 par les fibres pourrait favoriser l'intégrité des fibres nerveuses de la lamina propria,

CONCLUSION ET DISCUSSION

et ainsi la bonne transmission des influx nerveux depuis l'intestin jusqu'à l'hypothalamus. Cette hypothèse reste à être vérifiée. Néanmoins, plusieurs études suggèrent que la consommation d'un HFD est à l'origine d'une neuropathie entérique⁴⁶⁵ se traduisant par l'apoptose et la perte des neurones entériques⁴⁶⁶. En outre, selon des résultats non publiés de l'équipe de Daniel Mucida, les SCFA seraient protecteurs de la perte des neurones à la suite d'une infection⁴⁶⁷. Pour conclure, il est possible que la présence des cDC2 et des Th17 au cours d'un HFD soit requise les bénéfices des fibres sur l'intégrité du tissu et notamment des neurones entériques, qui traduisent les signaux à l'origine des bénéfices métaboliques des fibres.

8 Perspectives

En somme, mes résultats montrent l'importance des fibres dans l'homéostasie immunitaire intestinale et impliquent pour la première fois les cDC2 comme un acteur de la réponse immunitaire et métabolique aux fibres alimentaires. L'impact des cDC2 sur le métabolisme est vraisemblablement multifactoriel, mais leur participation au remodelage du microbiote lors de la consommation de fibres alimentaires pourrait être impliquée. L'axe fibres-cDC2-Th17 peut ainsi constituer un acteur majeur dans l'établissement des pathologies métaboliques et immunitaires en réponse au régime.

Des études pourraient être réalisées dans d'autres contextes pour évaluer la robustesse de l'axe fibres-cDC2-Th17. Chez l'homme, les individus sont soumis à des infections diverses depuis leur naissance, et les LT mucosaux spécifiques aux commensaux présentent en majorité un phénotype mémoire³²⁹. Chez la souris hébergée en conditions SPF, les LTs à phénotype mémoire sont quasiment absents. En revanche, les souris « wildlings », issues d'embryons de souris de laboratoire implantés dans des souris sauvages, présentent un système immunitaire bien plus proche de l'humain⁴⁶⁸. Cela pourrait modifier les interactions immuno-métaboliques en réponse aux variations nutritionnelles. Ainsi, il serait intéressant d'effectuer une étude de supplémentation en fibres chez ces souris. Cela représenterait un contexte d'expérimentation plus proche de l'homme.

Valorisation des résultats de la thèse

Publications scientifiques

Gélineau A, Marcelin G, Ouhachi M, Baba I, Rouault C, Lesnik P, Yvan-Charvet L, Tussiwand R, Huby T, Gautier EL. Dietary fiber-mediated improvement of glucose tolerance requires type 2 conventional dendritic cells in mice fed a high-fat diet. *En cours de soumission*

Tran S, Baba I, Poupel L, Dussaud S, Moreau M, **Gélineau A**, Marcelin G, Magréau-Davy E, Ouhachi M, Lesnik P, Boissonnas A, Le Goff W, Clausen BE, Yvan-Charvet L, Sennlaub F, Huby T, Gautier EL. Impaired Kupffer Cell Self-Renewal Alters the Liver Response to Lipid Overload during Non-alcoholic Steatohepatitis. *Immunity*. 2020 Sep 15;53(3):627-640.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2020.06.003.

Pacoud R, Saint-Laurent C, Piccolo E, Tajan M, Dortignac A, Pereira O, Le Gonidec S, Baba I, **Gélineau A**, Askia H, Branchereau M, Charpentier J, Personnaz J, Branka S, Auriiau J, Deleruyelle S, Canouil M, Breton N, Salles JP, Tauber M, Weill J, Froguel P, Neel B, Araki T, Heymes C, Burcelin R, Castan I, Valet P, Dray C, Gautier E, Edouard T, Pradère JP, Yart A. SHP2 drives inflammation-triggered insulin resistance by reshaping tissue macrophage populations. *Science Translational Medicine*. 2021. *En cours de publication*

Communications affichées

Gélineau A, Moreau M, Huby T, Gautier EL. Hepato-biliary and immuno-inflammatory manifestations in a mouse model of colitis. *20th Doctoral School Days*, 20-21 mai 2019, Paris, France.

Baba I, Tran S, **Gélineau A**, Huby T, Gautier EL. Deciphering the metabolic impact of endotoxin sensing by Kupffer cells in obesity. *20th Doctoral School Days*, 20-21 mai 2019, Paris, France.

VALORISATION

Gélineau A, Ouhachi M, Baba I, Huby T, Gautier EL. IRF4-dependent DCs mediate dietary fibers impact on intestinal Th17 cells to maintain metabolic fitness upon high-fat diet feeding. *Congrès de la Nouvelle Société Française d'Athérosclérose 2019*, 19-21 juin 2019, Biarritz, France.

Gélineau A, Ouhachi M, Baba I, Huby T, Gautier EL. IRF4-dependent DCs mediate dietary fibers impact on intestinal Th17 cells to maintain metabolic fitness upon high-fat diet feeding. *Congrès de la Société Française d'Immunologie 2019*, 12-14 novembre 2019, Nantes, France.

Gélineau A, Ouhachi M, Baba I, Huby T, Gautier EL. IRF4-dependent DCs mediate dietary fibers impact on intestinal Th17 cells to maintain metabolic fitness upon high-fat diet feeding. *36^{ème} journée scientifique de l'Association Française d'Etude et de Recherche sur l'Obésité*, 30-31 janvier 2020, Paris, France. – **Prix du meilleur poster**

Bibliographie

1. The top 10 causes of death. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
2. An overview on the nutrition transition and its health implications: the Bellagio meeting. *Public Health Nutr.* **5**, 93–103 (2002).
3. Lee, R. The Demographic Transition: Three Centuries of Fundamental Change. *J. Econ. Perspect.* **17**, 167–190 (2003).
4. Sanders, J. W., Fuhrer, G. S., Johnson, M. D. & Riddle, M. S. The Epidemiological Transition: The Current Status of Infectious Diseases in the Developed World versus the Developing World. *Sci. Prog.* **91**, 1–37 (2008).
5. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Lond. Engl.* **388**, 1459–1544 (2016).
6. Harper, K. & Armelagos, G. The Changing Disease-Scape in the Third Epidemiological Transition. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **7**, 675–697 (2010).
7. Popkin, B. M. & Bellagio Meeting group. Bellagio Declaration 2013: countering Big Food’s undermining of healthy food policies. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* **14 Suppl 2**, 9–10 (2013).

BIBLIOGRAPHIE

8. Brennan, P., Perola, M., van Ommen, G.-J., Riboli, E. & On behalf of the European Cohort Consortium. Chronic disease research in Europe and the need for integrated population cohorts. *Eur. J. Epidemiol.* **32**, 741–749 (2017).
9. Hoffman, C., Rice, D. & Sung, H. Y. Persons with chronic conditions. Their prevalence and costs. *JAMA* **276**, 1473–1479 (1996).
10. O’Connell, J. M. & Manson, S. M. Understanding the Economic Costs of Diabetes and Prediabetes and What We May Learn About Reducing the Health and Economic Burden of These Conditions. *Diabetes Care* **42**, 1609–1611 (2019).
11. Kassi, E., Pervanidou, P., Kaltsas, G. & Chrousos, G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med.* **9**, 48 (2011).
12. Brandt, L. & Erixon, F. The Prevalence and Growth of Obesity and Obesity-related Illnesses in Europe. 12.
13. Cuschieri, S. & Mamo, J. Getting to grips with the obesity epidemic in Europe. *SAGE Open Med.* **4**, 2050312116670406 (2016).
14. Mitchell, N., Catenacci, V., Wyatt, H. R. & Hill, J. O. OBESITY: OVERVIEW OF AN EPIDEMIC. *Psychiatr. Clin. North Am.* **34**, 717–732 (2011).
15. Gerrior, S. & Bente, L. *Nutrient Content of the U.S. Food Supply, 1909-99: A Summary Report*. (Center for Nutrition Policy and Promotion, U.S. Department of Agriculture, 2002).
16. Grigg, D. The nutritional transition in Western Europe. *J. Hist. Geogr.* **21**, 247–261 (1995).
17. Drewnowski, A. & Popkin, B. M. The nutrition transition: new trends in the global diet. *Nutr. Rev.* **55**, 31–43 (1997).
18. *Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases: report of a WHO-FAO Expert Consultation ; [Joint WHO-FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition, and the Prevention of Chronic Diseases, 2002, Geneva, Switzerland]*. (World Health Organization, 2003).

BIBLIOGRAPHIE

19. Iqbal, J. & Hussain, M. M. Intestinal lipid absorption. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **296**, E1183-1194 (2009).
20. Porter, H. P., Saunders, D. R., Tytgat, G., Brunser, O. & Rubin, C. E. Fat Absorption in Bile Fistula Man: A morphological and biochemical study. *Gastroenterology* **60**, 1008–1019 (1971).
21. Boyer, J. L. Bile formation and secretion. *Compr. Physiol.* **3**, 1035–1078 (2013).
22. Monte, M. J., Marin, J. J., Antelo, A. & Vazquez-Tato, J. Bile acids: Chemistry, physiology, and pathophysiology. *World J. Gastroenterol. WJG* **15**, 804–816 (2009).
23. Wang, T. Y., Liu, M., Portincasa, P. & Wang, D. Q.-H. New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *Eur. J. Clin. Invest.* **43**, 1203–1223 (2013).
24. Mansbach, C. & Abumrad, N. Enterocyte Fatty Acid Handling Proteins and Chylomicron Formation. *Physiol. Gastrointest. Tract* **2**, 1625–1641 (2012).
25. Cifarelli, V. & Abumrad, N. A. Intestinal CD36 and Other Key Proteins of Lipid Utilization: Role in Absorption and Gut Homeostasis. *Compr. Physiol.* **8**, 493–507 (2018).
26. Stahl, A. *et al.* Identification of the Major Intestinal Fatty Acid Transport Protein. *Mol. Cell* **4**, 299–308 (1999).
27. Goncalves, A. *et al.* Fat-soluble vitamin intestinal absorption: absorption sites in the intestine and interactions for absorption. *Food Chem.* **172**, 155–160 (2015).
28. Hall, J. A., Grainger, J. R., Spencer, S. P. & Belkaid, Y. The role of retinoic acid in tolerance and immunity. *Immunity* **35**, 13–22 (2011).
29. Mansbach, C. M. & Gorelick, F. Development and Physiological Regulation of Intestinal Lipid Absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons. *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.* **293**, G645–G650 (2007).

BIBLIOGRAPHIE

30. Xiao, C., Stahel, P. & Lewis, G. F. Regulation of Chylomicron Secretion: Focus on Post-Assembly Mechanisms. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* **7**, 487–501 (2019).
31. Savonen, R. *et al.* The tissue distribution of lipoprotein lipase determines where chylomicrons bind. *J. Lipid Res.* **56**, 588–598 (2015).
32. Herz, J. *et al.* Initial hepatic removal of chylomicron remnants is unaffected but endocytosis is delayed in mice lacking the low density lipoprotein receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92**, 4611–4615 (1995).
33. Bernlohr, D. A. & Simpson, M. A. Chapter 10 Adipose tissue and lipid metabolism. *New Compr. Biochem.* 257–281 (1996) doi:10.1016/S0167-7306(08)60517-7.
34. Duncan, R. E., Ahmadian, M., Jaworski, K., Sarkadi-Nagy, E. & Sul, H. S. Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annu. Rev. Nutr.* **27**, 79–101 (2007).
35. van der Vusse, G. J. Albumin as fatty acid transporter. *Drug Metab. Pharmacokinet.* **24**, 300–307 (2009).
36. Houten, S. M. & Wanders, R. J. A. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid β -oxidation. *J. Inherit. Metab. Dis.* **33**, 469–477 (2010).
37. Berg, J. M., Tymoczko, J. L. & Stryer, L. Triacylglycerols Are Highly Concentrated Energy Stores. *Biochem. 5th Ed.* (2002).
38. Azaïs-Braesco, V., Sluik, D., Maillot, M., Kok, F. & Moreno, L. A. A review of total & added sugar intakes and dietary sources in Europe. *Nutr. J.* **16**, 6 (2017).
39. Sluik, D., van Lee, L., Engelen, A. I. & Feskens, E. J. M. Total, Free, and Added Sugar Consumption and Adherence to Guidelines: The Dutch National Food Consumption Survey 2007–2010. *Nutrients* **8**, 70 (2016).
40. Goodman, B. E. Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *Adv. Physiol. Educ.* **34**, 44–53 (2010).

BIBLIOGRAPHIE

41. Drozdowski, L. A. & Thomson, A. B. R. Intestinal sugar transport. *World J. Gastroenterol.* **12**, 1657–1670 (2006).
42. Gorboulev, V. *et al.* Na(+)-D-glucose cotransporter SGLT1 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose-dependent incretin secretion. *Diabetes* **61**, 187–196 (2012).
43. Chaudhry, R. M., Scow, J. S., Madhavan, S., Duenes, J. A. & Sarr, M. G. Acute enterocyte adaptation to luminal glucose: a posttranslational mechanism for rapid apical recruitment of the transporter GLUT2. *J. Gastrointest. Surg. Off. J. Soc. Surg. Aliment. Tract* **16**, 312–319; discussion 319 (2012).
44. Tobin, V. *et al.* Insulin Internalizes GLUT2 in the Enterocytes of Healthy but Not Insulin-Resistant Mice. *Diabetes* **57**, 555–562 (2008).
45. Berg, J. M., Tymoczko, J. L. & Stryer, L. Gluconeogenesis and Glycolysis Are Reciprocally Regulated. *Biochem. 5th Ed.* (2002).
46. Pietrocola, F., Galluzzi, L., Bravo-San Pedro, J. M., Madeo, F. & Kroemer, G. Acetyl coenzyme A: a central metabolite and second messenger. *Cell Metab.* **21**, 805–821 (2015).
47. Berg, J. M., Tymoczko, J. L. & Stryer, L. Glycogen Metabolism. *Biochem. 5th Ed.* (2002).
48. Hatting, M., Tavares, C. D. J., Sharabi, K., Rines, A. K. & Puigserver, P. Insulin regulation of gluconeogenesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1411**, 21–35 (2018).
49. Gerich, J. E. *et al.* Evidence for a physiologic role of pancreatic glucagon in human glucose homeostasis: studies with somatostatin. *Metabolism.* **24**, 175–182 (1975).
50. I, R., C, N.-L., Nc, B., A, L. & Fk, K. Glucagon Physiology. (2015).
51. Wortham, M. & Sander, M. Mechanisms of β -cell functional adaptation to changes in workload. *Diabetes Obes. Metab.* **18**, 78–86 (2016).
52. Orskov, C., Wettergren, A. & Holst, J. J. Secretion of the incretin hormones glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide correlates with insulin secretion in normal man throughout the day. *Scand. J. Gastroenterol.* **31**, 665–670 (1996).

BIBLIOGRAPHIE

53. Vilsbøll, T., Krarup, T., Madsbad, S. & Holst, J. J. Both GLP-1 and GIP are insulinotropic at basal and postprandial glucose levels and contribute nearly equally to the incretin effect of a meal in healthy subjects. *Regul. Pept.* **114**, 115–121 (2003).
54. McINTYRE, N., HOLDSWORTH, C. D. & TURNER, D. S. Intestinal Factors in the Control of Insulin Secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **25**, 1317–1324 (1965).
55. McIntyre, N., Holdsworth, C. D. & Turner, D. S. NEW INTERPRETATION OF ORAL GLUCOSE TOLERANCE. *Lancet Lond. Engl.* **2**, 20–21 (1964).
56. Gromada, J., Holst, J. J. & Rorsman, P. Cellular regulation of islet hormone secretion by the incretin hormone glucagon-like peptide 1. *Pflüg. Arch.* **435**, 583–594 (1998).
57. Hansotia, T. *et al.* Double incretin receptor knockout (DIRKO) mice reveal an essential role for the enteroinsular axis in transducing the glucoregulatory actions of DPP-IV inhibitors. *Diabetes* **53**, 1326–1335 (2004).
58. Preitner, F. *et al.* Gluco-incretins control insulin secretion at multiple levels as revealed in mice lacking GLP-1 and GIP receptors. *J. Clin. Invest.* **113**, 635–645 (2004).
59. Hall, J., Moore, S., Harper, S. & Lynch, J. Global Variability in Fruit and Vegetable Consumption. *Am. J. Prev. Med.* **36**, 402-409.e5 (2009).
60. Wilder, R. M. A BRIEF HISTORY OF THE ENRICHMENT OF FLOUR AND BREAD. *J. Am. Med. Assoc.* **162**, 1539–1541 (1956).
61. Deehan, E. C. & Walter, J. The Fiber Gap and the Disappearing Gut Microbiome: Implications for Human Nutrition. *Trends Endocrinol. Metab. TEM* **27**, 239–242 (2016).
62. Jones, J. M. CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the ‘fiber gap’. *Nutr. J.* **13**, 34 (2014).
63. Dai, F.-J. & Chau, C.-F. Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *J. Food Drug Anal.* **25**, 37–42 (2017).

BIBLIOGRAPHIE

64. Motarjemi, Y. Codex Committee on nutrition and foods for special dietary uses. *Food Control* **2**, 185 (1991).
65. Dam, J. & Gorshkova, T. A. CELL WALLS AND FIBERS | Fiber Formation. in *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* 87–96 (2003). doi:10.1016/B0-12-227050-9/00046-6.
66. Mozaffarian, D., Hao, T., Rimm, E. B., Willett, W. C. & Hu, F. B. Changes in Diet and Lifestyle and Long-Term Weight Gain in Women and Men. *N. Engl. J. Med.* **364**, 2392–2404 (2011).
67. Menni, C. *et al.* Gut microbiome diversity and high-fibre intake are related to lower long-term weight gain. *Int. J. Obes.* **2005** **41**, 1099–1105 (2017).
68. Jenkins, D. J. *et al.* Effect of a very-high-fiber vegetable, fruit, and nut diet on serum lipids and colonic function. *Metabolism.* **50**, 494–503 (2001).
69. O’Keefe, S. J. D. *et al.* Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. *Nat. Commun.* **6**, 6342 (2015).
70. Pedersen, C. *et al.* Gut hormone release and appetite regulation in healthy non-obese participants following oligofructose intake. A dose-escalation study. *Appetite* **66**, 44–53 (2013).
71. Zhao, L. *et al.* Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science* **359**, 1151–1156 (2018).
72. Schwartz, J. I., Guwatudde, D., Nugent, R. & Kiiza, C. M. Looking at non-communicable diseases in Uganda through a local lens: an analysis using locally derived data. *Glob. Health* **10**, 77 (2014).
73. Devereux, G. The increase in the prevalence of asthma and allergy: food for thought. *Nat. Rev. Immunol.* **6**, 869–874 (2006).
74. Lundbäck, B., Backman, H., Lötvall, J. & Rönmark, E. Is asthma prevalence still increasing? *Expert Rev. Respir. Med.* **10**, 39–51 (2016).

BIBLIOGRAPHIE

75. Kaplan, G. G. & Ng, S. C. Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* **152**, 313-321.e2 (2017).
76. Dixon, A. E. & Poynter, M. E. Mechanisms of Asthma in Obesity. Pleiotropic Aspects of Obesity Produce Distinct Asthma Phenotypes. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **54**, 601–608 (2016).
77. Liu, X., Wu, Y., Li, F. & Zhang, D. Dietary fiber intake reduces risk of inflammatory bowel disease: result from a meta-analysis. *Nutr. Res. N. Y. N* **35**, 753–758 (2015).
78. Berthon, B. S., Macdonald-Wicks, L. K., Gibson, P. G. & Wood, L. G. Investigation of the association between dietary intake, disease severity and airway inflammation in asthma. *Respirol. Carlton Vic* **18**, 447–454 (2013).
79. Halnes, I. *et al.* Soluble Fibre Meal Challenge Reduces Airway Inflammation and Expression of GPR43 and GPR41 in Asthma. *Nutrients* **9**, (2017).
80. Andrianasolo, R. M. *et al.* Association between dietary fibre intake and asthma (symptoms and control): results from the French national e-cohort NutriNet-Santé. *Br. J. Nutr.* **122**, 1040–1051 (2019).
81. Williams, B. A., Grant, L. J., Gidley, M. J. & Mikkelsen, D. Gut Fermentation of Dietary Fibres: Physico-Chemistry of Plant Cell Walls and Implications for Health. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, (2017).
82. Wang, M. *et al.* In vitro colonic fermentation of dietary fibers: Fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota. *Trends Food Sci. Technol.* **88**, 1–9 (2019).
83. Sender, R., Fuchs, S. & Milo, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol.* **14**, e1002533 (2016).
84. Kho, Z. Y. & Lal, S. K. The Human Gut Microbiome - A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front. Microbiol.* **9**, 1835 (2018).

BIBLIOGRAPHIE

85. Frank, D. N. *et al.* Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 13780–13785 (2007).
86. Cheng, M. & Ning, K. Stereotypes About Enterotype: the Old and New Ideas. *Genomics Proteomics Bioinformatics* **17**, 4–12 (2019).
87. David, L. A. *et al.* Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* **505**, 559–563 (2014).
88. Deehan, E. C. *et al.* Modulation of the Gastrointestinal Microbiome with Nondigestible Fermentable Carbohydrates To Improve Human Health. *Microbiol. Spectr.* **5**, (2017).
89. De Filippo, C. *et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 14691–14696 (2010).
90. Smits, S. A. *et al.* Seasonal cycling in the gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers of Tanzania. *Science* **357**, 802–806 (2017).
91. Wu, G. D. *et al.* Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* **334**, 105–108 (2011).
92. Mardinoglu, A. *et al.* An Integrated Understanding of the Rapid Metabolic Benefits of a Carbohydrate-Restricted Diet on Hepatic Steatosis in Humans. *Cell Metab.* **27**, 559-571.e5 (2018).
93. Vangay, P. *et al.* US Immigration Westernizes the Human Gut Microbiome. *Cell* **175**, 962-972.e10 (2018).
94. Bach, J.-F. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N. Engl. J. Med.* **347**, 911–920 (2002).
95. Blaser, M. J. & Falkow, S. What are the consequences of the disappearing human microbiota? *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 887–894 (2009).

BIBLIOGRAPHIE

96. Sonnenburg, E. D. & Sonnenburg, J. L. Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. *Cell Metab.* **20**, 779–786 (2014).
97. Mithieux, G. Détection du glucose sanguin par le système nerveux : pourquoi, où, comment ? *Ann. Biol. Clin. (Paris)* **78**, 134–138 (2020).
98. Schnorr, S. L. *et al.* Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nat. Commun.* **5**, 3654 (2014).
99. Hariri, N. & Thibault, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr. Res. Rev.* **23**, 270–299 (2010).
100. Gallou-Kabani, C. *et al.* C57BL/6J and A/J mice fed a high-fat diet delineate components of metabolic syndrome. *Obes. Silver Spring Md* **15**, 1996–2005 (2007).
101. Buettner, R., Schölmerich, J. & Bollheimer, L. C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obes. Silver Spring Md* **15**, 798–808 (2007).
102. Lang, P., Hasselwander, S., Li, H. & Xia, N. Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice. *Sci. Rep.* **9**, 19556 (2019).
103. Winzell, M. S. & Ahrén, B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes* **53 Suppl 3**, S215–219 (2004).
104. Montgomery, M. K. *et al.* Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding. *Diabetologia* **56**, 1129–1139 (2013).
105. Ingalls, A. M., Dickie, M. M. & Snell, G. D. Obese, a new mutation in the house mouse. *J. Hered.* **41**, 317–318 (1950).
106. Zhang, Y. *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**, 425–432 (1994).

BIBLIOGRAPHIE

107. Kennedy, A. J., Ellacott, K. L. J., King, V. L. & Hasty, A. H. Mouse models of the metabolic syndrome. *Dis. Model. Mech.* **3**, 156–166 (2010).
108. Ayala, J. E. *et al.* Hyperinsulinemic-euglycemic Clamps in Conscious, Unrestrained Mice. *J. Vis. Exp. JoVE* (2011) doi:10.3791/3188.
109. Zhang, Y., Xu, L., Liu, X. & Wang, Y. Evaluation of insulin sensitivity by hyperinsulinemic-euglycemic clamps using stable isotope-labeled glucose. *Cell Discov.* **4**, 1–4 (2018).
110. De Vadder, F. *et al.* Microbiota-Produced Succinate Improves Glucose Homeostasis via Intestinal Gluconeogenesis. *Cell Metab.* **24**, 151–157 (2016).
111. Guillemot-Legris, O. *et al.* High-fat diet feeding differentially affects the development of inflammation in the central nervous system. *J. Neuroinflammation* **13**, 206 (2016).
112. Duan, Y. *et al.* Inflammatory Links Between High Fat Diets and Diseases. *Front. Immunol.* **9**, 2649 (2018).
113. Avtanski, D., Pavlov, V. A., Tracey, K. J. & Poretsky, L. Characterization of inflammation and insulin resistance in high-fat diet-induced male C57BL/6J mouse model of obesity. *Anim. Models Exp. Med.* **2**, 252–258 (2019).
114. Luck, H. *et al.* Regulation of Obesity-Related Insulin Resistance with Gut Anti-inflammatory Agents. *Cell Metab.* **21**, 527–542 (2015).
115. Lin, S., Thomas, T. C., Storlien, L. H. & Huang, X. F. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. J. Int. Assoc. Study Obes.* **24**, 639–646 (2000).
116. Svendsen, B. *et al.* An analysis of cosecretion and coexpression of gut hormones from male rat proximal and distal small intestine. *Endocrinology* **156**, 847–857 (2015).
117. Psichas, A. *et al.* The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents. *Int. J. Obes. 2005* **39**, 424–429 (2015).

BIBLIOGRAPHIE

118. Korner, J. *et al.* Differential effects of gastric bypass and banding on circulating gut hormone and leptin levels. *Obes. Silver Spring Md* **14**, 1553–1561 (2006).
119. Batterham, R. L. *et al.* Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. *Cell Metab.* **4**, 223–233 (2006).
120. Karra, E., Chandarana, K. & Batterham, R. L. The role of peptide YY in appetite regulation and obesity. *J. Physiol.* **587**, 19–25 (2009).
121. Abbott, C. R. *et al.* The inhibitory effects of peripheral administration of peptide YY(3-36) and glucagon-like peptide-1 on food intake are attenuated by ablation of the vagal-brainstem-hypothalamic pathway. *Brain Res.* **1044**, 127–131 (2005).
122. Talsania, T., Anini, Y., Siu, S., Drucker, D. J. & Brubaker, P. L. Peripheral exendin-4 and peptide YY(3-36) synergistically reduce food intake through different mechanisms in mice. *Endocrinology* **146**, 3748–3756 (2005).
123. Ghitza, U. E. *et al.* Peptide YY3-36 decreases reinstatement of high-fat food seeking during dieting in a rat relapse model. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **27**, 11522–11532 (2007).
124. Richards, P. *et al.* High fat diet impairs the function of glucagon-like peptide-1 producing L-cells. *Peptides* **77**, 21–27 (2016).
125. Rahardjo, G. L., Huang, X.-F., Tan, Y. Y. & Deng, C. Decreased plasma peptide YY accompanied by elevated peptide YY and Y2 receptor binding densities in the medulla oblongata of diet-induced obese mice. *Endocrinology* **148**, 4704–4710 (2007).
126. le Roux, C. W. *et al.* Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology* **147**, 3–8 (2006).
127. Boey, D. *et al.* Peptide YY ablation in mice leads to the development of hyperinsulinaemia and obesity. *Diabetologia* **49**, 1360–1370 (2006).

BIBLIOGRAPHIE

128. van den Hoek, A. M. *et al.* Chronic PYY3–36 treatment promotes fat oxidation and ameliorates insulin resistance in C57BL6 mice. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* **292**, E238–E245 (2007).
129. Hoek, A. M. van den *et al.* PYY3–36 Reinforces Insulin Action on Glucose Disposal in Mice Fed a High-Fat Diet. *Diabetes* **53**, 1949–1952 (2004).
130. Pittner, R. A. *et al.* Effects of PYY[3–36] in rodent models of diabetes and obesity. *Int. J. Obes.* **28**, 963–971 (2004).
131. Backman, L. & Hallberg, D. Small-intestinal length. An intraoperative study in obesity. *Acta Chir. Scand.* **140**, 57–63 (1974).
132. Verdam, F. J. *et al.* Small intestinal alterations in severely obese hyperglycemic subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, E379–383 (2011).
133. Dailey, M. J. Nutrient-induced intestinal adaption and its effect in obesity. *Physiol. Behav.* **0**, 74–78 (2014).
134. Mao, J. *et al.* Overnutrition Stimulates Intestinal Epithelium Proliferation Through β -Catenin Signaling in Obese Mice. *Diabetes* **62**, 3736–3746 (2013).
135. Beyaz, S. *et al.* High-fat diet enhances stemness and tumorigenicity of intestinal progenitors. *Nature* **531**, 53–58 (2016).
136. Petit, V. *et al.* Chronic high-fat diet affects intestinal fat absorption and postprandial triglyceride levels in the mouse. *J. Lipid Res.* **48**, 278–287 (2007).
137. Wiśniewski, J. R., Friedrich, A., Keller, T., Mann, M. & Koepsell, H. The Impact of High-Fat Diet on Metabolism and Immune Defense in Small Intestine Mucosa. *J. Proteome Res.* **14**, 353–365 (2015).
138. Zeituni, E. M. *et al.* Endoplasmic Reticulum Lipid Flux Influences Enterocyte Nuclear Morphology and Lipid-dependent Transcriptional Responses. *J. Biol. Chem.* **291**, 23804–23816 (2016).

BIBLIOGRAPHIE

139. Csáky, T. Z. & Fischer, E. Intestinal sugar transport in experimental diabetes. *Diabetes* **30**, 568–574 (1981).
140. Debnam, E. S., Ebrahim, H. Y. & Swaine, D. J. Diabetes mellitus and sugar transport across the brush-border and basolateral membranes of rat jejunal enterocytes. *J. Physiol.* **424**, 13–25 (1990).
141. Thomson, A. B. Uptake of glucose into the intestine of diabetic rats: effects of variations in the effective resistance of the unstirred water layer. *Diabetes* **30**, 247–255 (1981).
142. Levine, G. M., Shiau, Y. F. & Deren, J. A. Characteristics of intestinal glucose secretion in normal and diabetic rats. *Am. J. Physiol.* **242**, G455–459 (1982).
143. Nguyen, N. Q. *et al.* Accelerated intestinal glucose absorption in morbidly obese humans: relationship to glucose transporters, incretin hormones, and glycemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **100**, 968–976 (2015).
144. Young, R. L. *et al.* Disordered control of intestinal sweet taste receptor expression and glucose absorption in type 2 diabetes. *Diabetes* **62**, 3532–3541 (2013).
145. Tobin, V. *et al.* Insulin internalizes GLUT2 in the enterocytes of healthy but not insulin-resistant mice. *Diabetes* **57**, 555–562 (2008).
146. DeVries, J., Miller, P. & Verbeke, K. The effects of intact cereal dietary fiber on measures related to regularity (822.7). *FASEB J.* **28**, 822.7 (2014).
147. Lawton, C. L. *et al.* Short term (14 days) consumption of insoluble wheat bran fibre-containing breakfast cereals improves subjective digestive feelings, general wellbeing and bowel function in a dose dependent manner. *Nutrients* **5**, 1436–1455 (2013).
148. Vuksan, V. *et al.* Using cereal to increase dietary fiber intake to the recommended level and the effect of fiber on bowel function in healthy persons consuming North American diets. *Am. J. Clin. Nutr.* **88**, 1256–1262 (2008).

BIBLIOGRAPHIE

149. Grundy, M. M.-L. *et al.* Re-evaluation of the mechanisms of dietary fibre and implications for macronutrient bioaccessibility, digestion and postprandial metabolism. *Br. J. Nutr.* **116**, 816–833 (2016).
150. Cummings, J. H. & Macfarlane, G. T. Gastrointestinal effects of prebiotics. *Br. J. Nutr.* **87** **Suppl 2**, S145-151 (2002).
151. Russo, F. *et al.* Metabolic effects of a diet with inulin-enriched pasta in healthy young volunteers. *Curr. Pharm. Des.* **16**, 825–831 (2010).
152. Mosser, R. E. *et al.* High-fat diet-induced β -cell proliferation occurs prior to insulin resistance in C57BL/6J male mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **308**, E573-582 (2015).
153. Surwit, R. S., Kuhn, C. M., Cochrane, C., McCubbin, J. A. & Feinglos, M. N. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes* **37**, 1163–1167 (1988).
154. Collins, S., Martin, T. L., Surwit, R. S. & Robidoux, J. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol. Behav.* **81**, 243–248 (2004).
155. Boucher, J., Kleinridders, A. & Kahn, C. R. Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **6**, (2014).
156. Taniguchi, C. M., Emanuelli, B. & Kahn, C. R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 85–96 (2006).
157. Rondinone, C. M. *et al.* Insulin receptor substrate (IRS) 1 is reduced and IRS-2 is the main docking protein for phosphatidylinositol 3-kinase in adipocytes from subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **94**, 4171–4175 (1997).
158. Gual, P., Le Marchand-Brustel, Y. & Tanti, J.-F. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie* **87**, 99–109 (2005).
159. Aguirre, V. *et al.* Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action. *J. Biol. Chem.* **277**, 1531–1537 (2002).

BIBLIOGRAPHIE

160. Aguirre, V., Uchida, T., Yenush, L., Davis, R. & White, M. F. The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307). *J. Biol. Chem.* **275**, 9047–9054 (2000).
161. Ozcan, U. *et al.* Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* **306**, 457–461 (2004).
162. Werner, E. D., Lee, J., Hansen, L., Yuan, M. & Shoelson, S. E. Insulin resistance due to phosphorylation of insulin receptor substrate-1 at serine 302. *J. Biol. Chem.* **279**, 35298–35305 (2004).
163. Zick, Y. Ser/Thr phosphorylation of IRS proteins: a molecular basis for insulin resistance. *Sci. STKE Signal Transduct. Knowl. Environ.* **2005**, pe4 (2005).
164. Kanety, H., Feinstein, R., Papa, M. Z., Hemi, R. & Karasik, A. Tumor Necrosis Factor α -induced Phosphorylation of Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1): POSSIBLE MECHANISM FOR SUPPRESSION OF INSULIN-STIMULATED TYROSINE PHOSPHORYLATION OF IRS-1 (*). *J. Biol. Chem.* **270**, 23780–23784 (1995).
165. Hirosumi, J. *et al.* A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature* **420**, 333–336 (2002).
166. Nakatani, Y. *et al.* Modulation of the JNK pathway in liver affects insulin resistance status. *J. Biol. Chem.* **279**, 45803–45809 (2004).
167. Yekollu, S. K., Thomas, R. & O'Sullivan, B. Targeting curcumin to inflammatory dendritic cells inhibits NF- κ B and improves insulin resistance in obese mice. *Diabetes* **60**, 2928–2938 (2011).
168. Pakiet, A. *et al.* The Effect of a High-Fat Diet on the Fatty Acid Composition in the Hearts of Mice. *Nutrients* **12**, 824 (2020).
169. Gabbia, D. *et al.* Western Diet-Induced Metabolic Alterations Affect Circulating Markers of Liver Function before the Development of Steatosis. *Nutrients* **11**, (2019).

BIBLIOGRAPHIE

170. Michael, M. D. *et al.* Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction. *Mol. Cell* **6**, 87–97 (2000).
171. Gaidhu, M. P., Anthony, N. M., Patel, P., Hawke, T. J. & Ceddia, R. B. Dysregulation of lipolysis and lipid metabolism in visceral and subcutaneous adipocytes by high-fat diet: role of ATGL, HSL, and AMPK. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* **298**, C961–C971 (2010).
172. Stamateris, R. E., Sharma, R. B., Hollern, D. A. & Alonso, L. C. Adaptive β -cell proliferation increases early in high-fat feeding in mice, concurrent with metabolic changes, with induction of islet cyclin D2 expression. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **305**, E149-159 (2013).
173. Peyot, M.-L. *et al.* Beta-cell failure in diet-induced obese mice stratified according to body weight gain: secretory dysfunction and altered islet lipid metabolism without steatosis or reduced beta-cell mass. *Diabetes* **59**, 2178–2187 (2010).
174. Ebato, C. *et al.* Autophagy is important in islet homeostasis and compensatory increase of beta cell mass in response to high-fat diet. *Cell Metab.* **8**, 325–332 (2008).
175. Costes, S. *et al.* ERK1/2 control phosphorylation and protein level of cAMP-responsive element-binding protein: a key role in glucose-mediated pancreatic beta-cell survival. *Diabetes* **55**, 2220–2230 (2006).
176. Beith, J. L., Alejandro, E. U. & Johnson, J. D. Insulin Stimulates Primary β -Cell Proliferation via Raf-1 Kinase. *Endocrinology* **149**, 2251–2260 (2008).
177. Assmann, A., Ueki, K., Winnay, J. N., Kadowaki, T. & Kulkarni, R. N. Glucose Effects on Beta-Cell Growth and Survival Require Activation of Insulin Receptors and Insulin Receptor Substrate 2. *Mol. Cell. Biol.* **29**, 3219–3228 (2009).
178. Hull, R. L. *et al.* Dietary-fat-induced obesity in mice results in beta cell hyperplasia but not increased insulin release: evidence for specificity of impaired beta cell adaptation. *Diabetologia* **48**, 1350–1358 (2005).

BIBLIOGRAPHIE

179. Butler, A. E. *et al.* Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* **52**, 102–110 (2003).
180. Osinski, C. *et al.* Type 2 diabetes is associated with impaired jejunal enteroendocrine GLP-1 cell lineage in human obesity. *Int. J. Obes. 2005* **45**, 170–183 (2021).
181. Hira, T., Pinyo, J. & Hara, H. What Is GLP-1 Really Doing in Obesity? *Trends Endocrinol. Metab.* **31**, 71–80 (2020).
182. Cani, P., Dewever, C. & Delzenne, N. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Br. J. Nutr.* **92**, 521–6 (2004).
183. Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Maton, N. & Delzenne, N. M. Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like Peptide-1. *Obes. Res.* **13**, 1000–1007 (2005).
184. Keenan, M. J. *et al.* A microarray study indicates high-amylose resistant starch increases hormones and improves structure and function of the GI tract. *J. Nutr. Nutr.* **5**, 26–44 (2012).
185. Zhou, J. *et al.* Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* **295**, E1160–E1166 (2008).
186. Psichas, A. *et al.* The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents. *Int. J. Obes.* **39**, 424–429 (2015).
187. Christiansen, C. B. *et al.* The impact of short-chain fatty acids on GLP-1 and PYY secretion from the isolated perfused rat colon. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **315**, G53–G65 (2018).
188. Hotamisligil, G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* **444**, 860–867 (2006).

BIBLIOGRAPHIE

189. Pasarica, M. *et al.* Reduced Adipose Tissue Oxygenation in Human Obesity: Evidence for Rarefaction, Macrophage Chemotaxis, and Inflammation Without an Angiogenic Response. *Diabetes* **58**, 718–725 (2009).
190. Hosooka, T. *et al.* Dok1 mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and obesity through modulation of PPAR- γ phosphorylation. *Nat. Med.* **14**, 188–193 (2008).
191. Kawasaki, N., Asada, R., Saito, A., Kanemoto, S. & Imaizumi, K. Obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes chronic inflammation in adipose tissue. *Sci. Rep.* **2**, 799 (2012).
192. Cinti, S. *et al.* Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* **46**, 2347–2355 (2005).
193. Feng, D. *et al.* High-fat diet-induced adipocyte cell death occurs through a cyclophilin D intrinsic signaling pathway independent of adipose tissue inflammation. *Diabetes* **60**, 2134–2143 (2011).
194. Reynolds, C. M. *et al.* Dietary saturated fatty acids prime the NLRP3 inflammasome via TLR4 in dendritic cells—implications for diet-induced insulin resistance. *Mol. Nutr. Food Res.* **56**, 1212–1222 (2012).
195. Coats, B. R. *et al.* Metabolically Activated Adipose Tissue Macrophages Perform Detrimental and Beneficial Functions during Diet-Induced Obesity. *Cell Rep.* **20**, 3149–3161 (2017).
196. Lumeng, C. N., Bodzin, J. L. & Saltiel, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* **117**, 175–184 (2007).
197. Weisberg, S. P. *et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* **112**, 1796–1808 (2003).
198. Nishimura, S. *et al.* CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat. Med.* **15**, 914–920 (2009).
199. Kim, D. *et al.* CXCL12 secreted from adipose tissue recruits macrophages and induces insulin resistance in mice. *Diabetologia* **57**, 1456–1465 (2014).

BIBLIOGRAPHIE

200. Kitade, H. *et al.* CCR5 plays a critical role in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance by regulating both macrophage recruitment and M1/M2 status. *Diabetes* **61**, 1680–1690 (2012).
201. Shimizu, I. *et al.* Semaphorin3E-induced inflammation contributes to insulin resistance in dietary obesity. *Cell Metab.* **18**, 491–504 (2013).
202. Xu, H. *et al.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **112**, 1821–1830 (2003).
203. Cai, L., Wang, Z., Ji, A., Meyer, J. M. & Westhuyzen, D. R. van der. Scavenger Receptor CD36 Expression Contributes to Adipose Tissue Inflammation and Cell Death in Diet-Induced Obesity. *PLOS ONE* **7**, e36785 (2012).
204. Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S. & Spiegelman, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* **259**, 87–91 (1993).
205. Lancaster, G. I. *et al.* Evidence that TLR4 Is Not a Receptor for Saturated Fatty Acids but Mediates Lipid-Induced Inflammation by Reprogramming Macrophage Metabolism. *Cell Metab.* **27**, 1096-1110.e5 (2018).
206. Mohanram, H. & Bhattacharjya, S. Resurrecting Inactive Antimicrobial Peptides from the Lipopolysaccharide Trap. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 1987–1996 (2014).
207. Park, B. S. *et al.* The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature* **458**, 1191–1195 (2009).
208. Zanoni, I. *et al.* CD14 Controls the LPS-Induced Endocytosis of Toll-like Receptor 4. *Cell* **147**, 868–880 (2011).
209. Lu, Y.-C., Yeh, W.-C. & Ohashi, P. S. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine* **42**, 145–151 (2008).
210. Cani, P. D. *et al.* Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* **56**, 1761–1772 (2007).

BIBLIOGRAPHIE

211. Trøseid, M. *et al.* Plasma Lipopolysaccharide Is Closely Associated With Glycemic Control and Abdominal Obesity: Evidence from bariatric surgery. *Diabetes Care* **36**, 3627–3632 (2013).
212. Awoyemi, A., Trøseid, M., Arnesen, H., Solheim, S. & Seljeflot, I. Markers of metabolic endotoxemia as related to metabolic syndrome in an elderly male population at high cardiovascular risk: a cross-sectional study. *Diabetol. Metab. Syndr.* **10**, (2018).
213. Basu, S. *et al.* Pregravid obesity associates with increased maternal endotoxemia and metabolic inflammation. *Obes. Silver Spring Md* **19**, 476–482 (2011).
214. Kallio, K. A. E. *et al.* Endotoxemia, nutrition, and cardiometabolic disorders. *Acta Diabetol.* **52**, 395–404 (2015).
215. Mehta, N. N. *et al.* Experimental Endotoxemia Induces Adipose Inflammation and Insulin Resistance in Humans. *Diabetes* **59**, 172–181 (2010).
216. Johnson, G. B., Riggs, B. L. & Platt, J. L. A genetic basis for the “Adonis” phenotype of low adiposity and strong bones. *FASEB J.* **18**, 1282–1284 (2004).
217. Roncon-Albuquerque, R. *et al.* Attenuation of the cardiovascular and metabolic complications of obesity in CD14 knockout mice. *Life Sci.* **83**, 502–510 (2008).
218. Cani, P. D. *et al.* Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes* **57**, 1470–1481 (2008).
219. Fernández-Real, J. M. *et al.* CD14 modulates inflammation-driven insulin resistance. *Diabetes* **60**, 2179–2186 (2011).
220. Walter, J., Britton, R. A. & Roos, S. Host-microbial symbiosis in the vertebrate gastrointestinal tract and the *Lactobacillus reuteri* paradigm. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **108**, 4645–4652 (2011).
221. Ley, R. E. *et al.* Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 11070–11075 (2005).

BIBLIOGRAPHIE

222. Turnbaugh, P. J. *et al.* An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **444**, 1027–1031 (2006).
223. Turnbaugh, P. J., Bäckhed, F., Fulton, L. & Gordon, J. I. Diet-Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome. *Cell Host Microbe* **3**, 213–223 (2008).
224. Martinez-Medina, M. *et al.* Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEA-BAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. *Gut* **63**, 116–124 (2014).
225. Turnbaugh, P. J. *et al.* The Effect of Diet on the Human Gut Microbiome: A Metagenomic Analysis in Humanized Gnotobiotic Mice. *Sci. Transl. Med.* **1**, 6ra14 (2009).
226. Plovier, H. *et al.* A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat. Med.* **23**, 107–113 (2017).
227. Schneeberger, M. *et al.* *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Sci. Rep.* **5**, 16643 (2015).
228. Griffiths, E. A. *et al.* In vivo effects of bifidobacteria and lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in Balb/c mice. *Dig. Dis. Sci.* **49**, 579–589 (2004).
229. Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S. & Gordon, J. I. Human gut microbes associated with obesity. *Nature* **444**, 1022–1023 (2006).
230. Turnbaugh, P. J. *et al.* A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* **457**, 480–484 (2009).
231. Lippert, K. *et al.* Gut microbiota dysbiosis associated with glucose metabolism disorders and the metabolic syndrome in older adults. *Benef. Microbes* **8**, 545–556 (2017).

BIBLIOGRAPHIE

232. Le Chatelier, E. *et al.* Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* **500**, 541–546 (2013).
233. Hildebrandt, M. A. *et al.* High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology* **137**, 1716–1724.e1–2 (2009).
234. Xiao, L. *et al.* High-fat feeding rather than obesity drives taxonomical and functional changes in the gut microbiota in mice. *Microbiome* **5**, (2017).
235. Carmody, R. N. *et al.* Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host Microbe* **17**, 72–84 (2015).
236. Murphy, E. F. *et al.* Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. *Gut* **59**, 1635–1642 (2010).
237. Dalby, M. J., Ross, A. W., Walker, A. W. & Morgan, P. J. Dietary Uncoupling of Gut Microbiota and Energy Harvesting from Obesity and Glucose Tolerance in Mice. *Cell Rep.* **21**, 1521–1533 (2017).
238. Riva, A. *et al.* A fiber-deprived diet disturbs the fine-scale spatial architecture of the murine colon microbiome. *Nat. Commun.* **10**, 4366 (2019).
239. Desai, M. S. *et al.* A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell* **167**, 1339–1353.e21 (2016).
240. Schroeder, B. O. *et al.* Bifidobacteria or Fiber Protects against Diet-Induced Microbiota-Mediated Colonic Mucus Deterioration. *Cell Host Microbe* **23**, 27–40.e7 (2018).
241. Rabot, S. *et al.* Germ-free C57BL/6J mice are resistant to high-fat-diet-induced insulin resistance and have altered cholesterol metabolism. *FASEB J.* **24**, 4948–4959 (2010).
242. Bäckhed, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F. & Gordon, J. I. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 979–984 (2007).

BIBLIOGRAPHIE

243. Foley, K. P. *et al.* Long-term but not short-term exposure to obesity related microbiota promotes host insulin resistance. *Nat. Commun.* **9**, 4681 (2018).
244. Nicolas, S. *et al.* Transfer of dysbiotic gut microbiota has beneficial effects on host liver metabolism. *Mol. Syst. Biol.* **13**, 921 (2017).
245. Everard, A. *et al.* Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 9066–9071 (2013).
246. Kübeck, R. *et al.* Dietary fat and gut microbiota interactions determine diet-induced obesity in mice. *Mol. Metab.* **5**, 1162–1174 (2016).
247. Tran, H. Q. *et al.* “Western Diet”-Induced Adipose Inflammation Requires a Complex Gut Microbiota. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* **9**, 313–333 (2019).
248. Russell, W. R. *et al.* High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *Am. J. Clin. Nutr.* **93**, 1062–1072 (2011).
249. Duncan, S. H. *et al.* Reduced Dietary Intake of Carbohydrates by Obese Subjects Results in Decreased Concentrations of Butyrate and Butyrate-Producing Bacteria in Feces. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 1073–1078 (2007).
250. Schwartz, A. *et al.* Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obes. Silver Spring Md* **18**, 190–195 (2010).
251. Fernandes, J., Su, W., Rahat-Rozenbloom, S., Wolever, T. M. S. & Comelli, E. M. Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. *Nutr. Diabetes* **4**, e121 (2014).
252. Gao, Z. *et al.* Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes* **58**, 1509–1517 (2009).
253. Yamashita, H. *et al.* Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in Type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **71**, 1236–1243 (2007).

BIBLIOGRAPHIE

254. De Vadder, F. *et al.* Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell* **156**, 84–96 (2014).
255. Lin, H. V. *et al.* Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *PloS One* **7**, e35240 (2012).
256. Kimura, I. *et al.* The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat. Commun.* **4**, 1829 (2013).
257. Chambers, E. S. *et al.* Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut* **64**, 1744–1754 (2015).
258. Freeland, K. R. & Wolever, T. M. S. Acute effects of intravenous and rectal acetate on glucagon-like peptide-1, peptide YY, ghrelin, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. *Br. J. Nutr.* **103**, 460–466 (2010).
259. Venter, C. S., Vorster, H. H. & Cummings, J. H. Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in healthy volunteers. *Am. J. Gastroenterol.* **85**, 549–553 (1990).
260. Vancamelbeke, M. & Vermeire, S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **11**, 821–834 (2017).
261. Cani, P. D. *et al.* Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* **58**, 1091–1103 (2009).
262. Guerville, M. *et al.* Western-diet consumption induces alteration of barrier function mechanisms in the ileum that correlates with metabolic endotoxemia in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **313**, E107–E120 (2017).
263. Shen, L., Weber, C. R., Raleigh, D. R., Yu, D. & Turner, J. R. Tight junction pore and leak pathways: a dynamic duo. *Annu. Rev. Physiol.* **73**, 283–309 (2011).

BIBLIOGRAPHIE

264. Gulhane, M. *et al.* High Fat Diets Induce Colonic Epithelial Cell Stress and Inflammation that is Reversed by IL-22. *Sci. Rep.* **6**, 28990 (2016).
265. Tomas, J. *et al.* High-fat diet modifies the PPAR- γ pathway leading to disruption of microbial and physiological ecosystem in murine small intestine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **113**, E5934–E5943 (2016).
266. Ooi, C. Y. *et al.* Impact of CFTR modulation with Ivacaftor on Gut Microbiota and Intestinal Inflammation. *Sci. Rep.* **8**, 17834 (2018).
267. Cash, H. L., Whitham, C. V., Behrendt, C. L. & Hooper, L. V. Symbiotic Bacteria Direct Expression of an Intestinal Bactericidal Lectin. *Science* **313**, 1126–1130 (2006).
268. Vaishnava, S. *et al.* The antibacterial lectin RegIII γ promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. *Science* **334**, 255–258 (2011).
269. Brogden, K. A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 238–250 (2005).
270. Johansson, M. E. V. *et al.* The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 15064–15069 (2008).
271. Keilbaugh, S. A. *et al.* Activation of RegIII β/γ and interferon γ expression in the intestinal tract of SCID mice: an innate response to bacterial colonisation of the gut. *Gut* **54**, 623–629 (2005).
272. Everard, A. *et al.* Microbiome of prebiotic-treated mice reveals novel targets involved in host response during obesity. *ISME J.* **8**, 2116–2130 (2014).
273. Garidou, L. *et al.* The Gut Microbiota Regulates Intestinal CD4 T Cells Expressing ROR γ t and Controls Metabolic Disease. *Cell Metab.* **22**, 100–112 (2015).
274. Lee, J.-C. *et al.* Obesogenic diet-induced gut barrier dysfunction and pathobiont expansion aggravate experimental colitis. *PLOS ONE* **12**, e0187515 (2017).

BIBLIOGRAPHIE

275. Hodin, C. M. *et al.* Reduced Paneth cell antimicrobial protein levels correlate with activation of the unfolded protein response in the gut of obese individuals. *J. Pathol.* **225**, 276–284 (2011).
276. Mantis, N. J. & Forbes, S. J. Secretory IgA: Arresting Microbial Pathogens at Epithelial Borders. *Immunol. Invest.* **39**, 383–406 (2010).
277. Nakajima, A. *et al.* IgA regulates the composition and metabolic function of gut microbiota by promoting symbiosis between bacteria. *J. Exp. Med.* **215**, 2019–2034 (2018).
278. Tan, J. *et al.* Dietary Fiber and Bacterial SCFA Enhance Oral Tolerance and Protect against Food Allergy through Diverse Cellular Pathways. *Cell Rep.* **15**, 2809–2824 (2016).
279. Kim, M., Qie, Y., Park, J. & Kim, C. H. Gut Microbial Metabolites Fuel Host Antibody Responses. *Cell Host Microbe* **20**, 202–214 (2016).
280. Round, J. L. & Mazmanian, S. K. Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 12204–12209 (2010).
281. Atarashi, K. *et al.* Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science* **331**, 337–341 (2011).
282. Geuking, M. B. *et al.* Intestinal bacterial colonization induces mutualistic regulatory T cell responses. *Immunity* **34**, 794–806 (2011).
283. Stefka, A. T. *et al.* Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 13145–13150 (2014).
284. Bettelli, E., Dastrange, M. & Oukka, M. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF- κ B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 5138–5143 (2005).
285. Marson, A. *et al.* Foxp3 occupancy and regulation of key target genes during T-cell stimulation. *Nature* **445**, 931–935 (2007).

BIBLIOGRAPHIE

286. Maynard, C. L. *et al.* Regulatory T cells expressing interleukin 10 develop from Foxp3⁺ and Foxp3⁻ precursor cells in the absence of interleukin 10. *Nat. Immunol.* **8**, 931–941 (2007).
287. Kamanaka, M. *et al.* Expression of interleukin-10 in intestinal lymphocytes detected by an interleukin-10 reporter knockin tiger mouse. *Immunity* **25**, 941–952 (2006).
288. Rubtsov, Y. P. *et al.* Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces. *Immunity* **28**, 546–558 (2008).
289. Chaudhry, A. *et al.* Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation. *Immunity* **34**, 566–578 (2011).
290. Neumann, C. *et al.* c-Maf-dependent Treg cell control of intestinal TH17 cells and IgA establishes host–microbiota homeostasis. *Nat. Immunol.* **20**, 471–481 (2019).
291. Curotto de Lafaille, M. A. & Lafaille, J. J. Natural and adaptive foxp3⁺ regulatory T cells: more of the same or a division of labor? *Immunity* **30**, 626–635 (2009).
292. Coombes, J. L. *et al.* A functionally specialized population of mucosal CD103⁺ DCs induces Foxp3⁺ regulatory T cells via a TGF- β - and retinoic acid-dependent mechanism. *J. Exp. Med.* **204**, 1757–1764 (2007).
293. Sun, C.-M. *et al.* Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. *J. Exp. Med.* **204**, 1775–1785 (2007).
294. Fujino, S. *et al.* Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* **52**, 65–70 (2003).
295. Pabst, O. & Mowat, A. M. Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunol.* **5**, 232–239 (2012).
296. Tanoue, T., Atarashi, K. & Honda, K. Development and maintenance of intestinal regulatory T cells. *Nat. Rev. Immunol.* **16**, 295–309 (2016).
297. Owen, D. L. *et al.* Thymic regulatory T cells arise via two distinct developmental programs. *Nat. Immunol.* **20**, 195–205 (2019).

BIBLIOGRAPHIE

298. Thornton, A. M. *et al.* Expression of Helios, an Ikaros transcription factor family member, differentiates thymic-derived from peripherally induced Foxp3⁺ T regulatory cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **184**, 3433–3441 (2010).
299. Yadav, M. *et al.* Neuropilin-1 distinguishes natural and inducible regulatory T cells among regulatory T cell subsets in vivo. *J. Exp. Med.* **209**, 1713–1722, S1-19 (2012).
300. Weiss, J. M. *et al.* Neuropilin 1 is expressed on thymus-derived natural regulatory T cells, but not mucosa-generated induced Foxp3⁺ T reg cells. *J. Exp. Med.* **209**, 1723–1742, S1 (2012).
301. Wohlfert, E. A. *et al.* GATA3 controls Foxp3⁺ regulatory T cell fate during inflammation in mice. *J. Clin. Invest.* **121**, 4503–4515 (2011).
302. Sefik, E. *et al.* Individual intestinal symbionts induce a distinct population of ROR γ ⁺ regulatory T cells. *Science* **349**, 993–997 (2015).
303. Kim, K. S. *et al.* Dietary antigens limit mucosal immunity by inducing regulatory T cells in the small intestine. *Science* **351**, 858–863 (2016).
304. Singh, K., Hjort, M., Thorvaldson, L. & Sandler, S. Concomitant analysis of Helios and Neuropilin-1 as a marker to detect thymic derived regulatory T cells in naïve mice. *Sci. Rep.* **5**, 7767 (2015).
305. Coombes, J. L. *et al.* A functionally specialized population of mucosal CD103⁺ DCs induces Foxp3⁺ regulatory T cells via a TGF- β - and retinoic acid-dependent mechanism. *J. Exp. Med.* **204**, 1757–1764 (2007).
306. Wheaton, J. D., Yeh, C.-H. & Ciofani, M. c-Maf is required for regulatory T cells to adopt ROR γ ^t and follicular phenotypes. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **199**, 3931–3936 (2017).
307. Yang, B.-H. *et al.* Foxp3⁺ T cells expressing ROR γ ^t represent a stable regulatory T-cell effector lineage with enhanced suppressive capacity during intestinal inflammation. *Mucosal Immunol.* **9**, 444–457 (2016).

BIBLIOGRAPHIE

308. Ohnmacht, C. *et al.* The microbiota regulates type 2 immunity through ROR γ ⁺ T cells. *Science* aac4263 (2015) doi:10.1126/science.aac4263.
309. Josefowicz, S. Z. *et al.* Extrathymically generated regulatory T cells control mucosal TH2 inflammation. *Nature* **482**, 395–399 (2012).
310. Lathrop, S. K. *et al.* Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature* **478**, 250–254 (2011).
311. Cebula, A. *et al.* Thymus-derived regulatory T cells control tolerance to commensal microbiota. *Nature* **497**, 258–262 (2013).
312. Atarashi, K. *et al.* T reg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* **500**, 232–236 (2013).
313. Sokol, H. *et al.* Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 16731–16736 (2008).
314. Sarrabayrouse, G. *et al.* CD4CD8 $\alpha\alpha$ lymphocytes, a novel human regulatory T cell subset induced by colonic bacteria and deficient in patients with inflammatory bowel disease. *PLoS Biol.* **12**, e1001833 (2014).
315. Cong, Y., Feng, T., Fujihashi, K., Schoeb, T. R. & Elson, C. O. A dominant, coordinated T regulatory cell-IgA response to the intestinal microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 19256–19261 (2009).
316. Kawamoto, S. *et al.* Foxp3⁺ T Cells Regulate Immunoglobulin A Selection and Facilitate Diversification of Bacterial Species Responsible for Immune Homeostasis. *Immunity* **41**, 152–165 (2014).
317. Di Giacinto, C., Marinaro, M., Sanchez, M., Strober, W. & Boirivant, M. Probiotics ameliorate recurrent Th1-mediated murine colitis by inducing IL-10 and IL-10-dependent TGF-beta-bearing regulatory cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **174**, 3237–3246 (2005).

BIBLIOGRAPHIE

318. Tang, C. *et al.* Inhibition of Dectin-1 Signaling Ameliorates Colitis by Inducing Lactobacillus-Mediated Regulatory T Cell Expansion in the Intestine. *Cell Host Microbe* **18**, 183–197 (2015).
319. Faith, J. J., Ahern, P. P., Ridaura, V. K., Cheng, J. & Gordon, J. I. Identifying Gut Microbe-Host Phenotype Relationships Using Combinatorial Communities in Gnotobiotic Mice. *Sci. Transl. Med.* **6**, 220ra11 (2014).
320. Arpaia, N. *et al.* Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature* **504**, 451–455 (2013).
321. Furusawa, Y. *et al.* Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* **504**, 446–450 (2013).
322. Macia, L. *et al.* Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat. Commun.* **6**, 6734 (2015).
323. Maslowski, K. M. *et al.* Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* **461**, 1282–1286 (2009).
324. Smith, P. M. *et al.* The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* **341**, 569–573 (2013).
325. Tan, J. *et al.* Dietary Fiber and Bacterial SCFA Enhance Oral Tolerance and Protect against Food Allergy through Diverse Cellular Pathways. *Cell Rep.* **15**, 2809–2824 (2016).
326. Villablanca, E. J. Retinoic acid-producing DCs and gut-tropic FOXP3⁺ regulatory T cells in the induction of oral tolerance. *Oncoimmunology* **2**, (2013).
327. Mezrich, J. D. *et al.* An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **185**, 3190–3198 (2010).
328. Maynard, C. L. & Weaver, C. T. Intestinal effector T cells in health and disease. *Immunity* **31**, 389–400 (2009).

BIBLIOGRAPHIE

329. Hegazy, A. N. *et al.* Circulating and Tissue-Resident CD4⁺ T Cells With Reactivity to Intestinal Microbiota Are Abundant in Healthy Individuals and Function Is Altered During Inflammation. *Gastroenterology* **153**, 1320-1337.e16 (2017).
330. Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M. & Kuchroo, V. K. IL-17 and Th17 Cells. *Annu. Rev. Immunol.* **27**, 485–517 (2009).
331. Ivanov, I. I. *et al.* Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe* **4**, 337–349 (2008).
332. Ivanov, I. I. *et al.* The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells. *Cell* **126**, 1121–1133 (2006).
333. Ivanov, I. I. *et al.* Induction of Intestinal Th17 Cells by Segmented Filamentous Bacteria. *Cell* **139**, 485–498 (2009).
334. Ciofani, M. *et al.* A validated regulatory network for Th17 cell specification. *Cell* **151**, 289–303 (2012).
335. Atarashi, K. *et al.* Th17 Cell Induction by Adhesion of Microbes to Intestinal Epithelial Cells. *Cell* **163**, 367–380 (2015).
336. Wang, Y. *et al.* Induction of Intestinal Th17 Cells by Flagellins From Segmented Filamentous Bacteria. *Front. Immunol.* **10**, 2750 (2019).
337. Hedblom, G. A., Reiland, H. A., Sylte, M. J., Johnson, T. J. & Baumler, D. J. Segmented Filamentous Bacteria – Metabolism Meets Immunity. *Front. Microbiol.* **9**, (2018).
338. Bhaumik, S. & Basu, R. Cellular and Molecular Dynamics of Th17 Differentiation and its Developmental Plasticity in the Intestinal Immune Response. *Front. Immunol.* **8**, 254 (2017).
339. Pandiyan, P. *et al.* CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells promote Th17 cells in vitro and enhance host resistance in mouse *Candida albicans* Th17 cell infection model. *Immunity* **34**, 422–434 (2011).

BIBLIOGRAPHIE

340. Conti, H. R. *et al.* Th17 cells and IL-17 receptor signaling are essential for mucosal host defense against oral candidiasis. *J. Exp. Med.* **206**, 299–311 (2009).
341. Cheng, S.-C. *et al.* The dectin-1/inflammasome pathway is responsible for the induction of protective T-helper 17 responses that discriminate between yeasts and hyphae of *Candida albicans*. *J. Leukoc. Biol.* **90**, 357–366 (2011).
342. Seiderer, J. *et al.* Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease (IBD): Upregulated colonic IL-17F expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBD. *Inflamm. Bowel Dis.* **14**, 437–445 (2008).
343. Weaver, C. T., Elson, C. O., Fouser, L. A. & Kolls, J. K. The Th17 pathway and inflammatory diseases of the intestines, lungs, and skin. *Annu. Rev. Pathol.* **8**, 477–512 (2013).
344. Omenetti, S. *et al.* The Intestine Harbors Functionally Distinct Homeostatic Tissue-Resident and Inflammatory Th17 Cells. *Immunity* **51**, 77-89.e6 (2019).
345. Fitzgerald, D. C. *et al.* Suppressive effect of IL-27 on encephalitogenic Th17 cells and the effector phase of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **179**, 3268–3275 (2007).
346. Bsati, M. *et al.* Differential Pathogenic Th17 Profile in Mesenteric Lymph Nodes of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis Patients. *Front. Immunol.* **10**, (2019).
347. Liang, S. C. *et al.* Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *J. Exp. Med.* **203**, 2271–2279 (2006).
348. Gaffen, S. L., Jain, R., Garg, A. V. & Cua, D. J. The IL-23-IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. *Nat. Rev. Immunol.* **14**, 585–600 (2014).
349. Onishi, R. M. & Gaffen, S. L. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology* **129**, 311–321 (2010).
350. Park, H. *et al.* A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat. Immunol.* **6**, 1133–1141 (2005).

BIBLIOGRAPHIE

351. Kumar, P. *et al.* Intestinal interleukin-17 receptor signaling mediates reciprocal control of the gut microbiota and autoimmune inflammation. *Immunity* **44**, 659–671 (2016).
352. Cao, A. T., Yao, S., Gong, B., Elson, C. O. & Cong, Y. Th17 Cells Upregulate Polymeric Ig Receptor and Intestinal IgA and Contribute to Intestinal Homeostasis. *J. Immunol.* **189**, 4666–4673 (2012).
353. Kinugasa, T., Sakaguchi, T., Gu, X. & Reinecker, H. C. Claudins regulate the intestinal barrier in response to immune mediators. *Gastroenterology* **118**, 1001–1011 (2000).
354. Ishigame, H. *et al.* Differential Roles of Interleukin-17A and -17F in Host Defense against Mucoepithelial Bacterial Infection and Allergic Responses. *Immunity* **30**, 108–119 (2009).
355. Lee, J. S. *et al.* Interleukin-23-Independent IL-17 Production Regulates Intestinal Epithelial Permeability. *Immunity* **43**, 727–738 (2015).
356. Ogawa, A., Andoh, A., Araki, Y., Bamba, T. & Fujiyama, Y. Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Clin. Immunol. Orlando Fla* **110**, 55–62 (2004).
357. Sonnenberg, G. F., Monticelli, L. A., Elloso, M. M., Fouser, L. A. & Artis, D. CD4(+) lymphoid tissue-inducer cells promote innate immunity in the gut. *Immunity* **34**, 122–134 (2011).
358. Sanos, S. L., Vonarbourg, C., Mortha, A. & Diefenbach, A. Control of epithelial cell function by interleukin-22-producing ROR γ t⁺ innate lymphoid cells. *Immunology* **132**, 453–465 (2011).
359. Brandl, K., Plitas, G., Schnabl, B., DeMatteo, R. P. & Pamer, E. G. MyD88-mediated signals induce the bactericidal lectin RegIII gamma and protect mice against intestinal *Listeria monocytogenes* infection. *J. Exp. Med.* **204**, 1891–1900 (2007).
360. Zheng, Y. *et al.* Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nat. Med.* **14**, 282–289 (2008).

BIBLIOGRAPHIE

361. Behnsen, J. *et al.* The cytokine IL-22 promotes pathogen colonization by suppressing related commensal bacteria. *Immunity* **40**, 262–273 (2014).
362. Turner, J.-E., Stockinger, B. & Helmby, H. IL-22 mediates goblet cell hyperplasia and worm expulsion in intestinal helminth infection. *PLoS Pathog.* **9**, e1003698 (2013).
363. Pham, T. A. N. *et al.* Epithelial IL-22RA1-mediated fucosylation promotes intestinal colonization resistance to an opportunistic pathogen. *Cell Host Microbe* **16**, 504–516 (2014).
364. Sugimoto, K. *et al.* IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J. Clin. Invest.* **118**, 534–544 (2008).
365. Goto, Y. *et al.* Segmented filamentous bacteria antigens presented by intestinal dendritic cells drive mucosal Th17 cell differentiation. *Immunity* **40**, 594–607 (2014).
366. Brand, S. *et al.* IL-22 is increased in active Crohn’s disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **290**, G827-838 (2006).
367. Sonnenberg, G. F. *et al.* Innate lymphoid cells promote anatomical containment of lymphoid-resident commensal bacteria. *Science* **336**, 1321–1325 (2012).
368. Sawa, S. *et al.* ROR γ t⁺ innate lymphoid cells regulate intestinal homeostasis by integrating negative signals from the symbiotic microbiota. *Nat. Immunol.* **12**, 320–326 (2011).
369. Chang, S.-Y., Ko, H.-J. & Kweon, M.-N. Mucosal dendritic cells shape mucosal immunity. *Exp. Mol. Med.* **46**, e84 (2014).
370. Persson, E. K. *et al.* IRF4 Transcription-Factor-Dependent CD103⁺CD11b⁺ Dendritic Cells Drive Mucosal T Helper 17 Cell Differentiation. *Immunity* **38**, 958–969 (2013).
371. Schulz, O. *et al.* Intestinal CD103⁺, but not CX3CR1⁺, antigen sampling cells migrate in lymph and serve classical dendritic cell functions. *J. Exp. Med.* **206**, 3101–3114 (2009).
372. Bogunovic, M. *et al.* Origin of the Lamina Propria Dendritic Cell Network. *Immunity* **31**, 513–525 (2009).

BIBLIOGRAPHIE

373. Varol, C. *et al.* Intestinal lamina propria dendritic cell subsets have different origin and functions. *Immunity* **31**, 502–512 (2009).
374. Meredith, M. M. *et al.* Expression of the zinc finger transcription factor zDC (Zbtb46, Btbd4) defines the classical dendritic cell lineage. *J. Exp. Med.* **209**, 1153–1165 (2012).
375. Satpathy, A. T. *et al.* Zbtb46 expression distinguishes classical dendritic cells and their committed progenitors from other immune lineages. *J. Exp. Med.* **209**, 1135–1152 (2012).
376. Naik, S. H. *et al.* Intrasplenic steady-state dendritic cell precursors that are distinct from monocytes. *Nat. Immunol.* **7**, 663–671 (2006).
377. Liu, K. *et al.* In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis. *Science* **324**, 392–397 (2009).
378. Onai, N. *et al.* Identification of clonogenic common Flt3+M-CSFR+ plasmacytoid and conventional dendritic cell progenitors in mouse bone marrow. *Nat. Immunol.* **8**, 1207–1216 (2007).
379. Ginhoux, F. *et al.* The origin and development of nonlymphoid tissue CD103+ DCs. *J. Exp. Med.* **206**, 3115–3130 (2009).
380. Milling, S., Yrlid, U., Cerovic, V. & MacPherson, G. Subsets of migrating intestinal dendritic cells. *Immunol. Rev.* **234**, 259–267 (2010).
381. Denning, T. L. *et al.* Functional specializations of intestinal dendritic cell and macrophage subsets that control Th17 and regulatory T cell responses are dependent on the T cell/APC ratio, source of mouse strain, and regional localization. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **187**, 733–747 (2011).
382. Hildner, K. *et al.* Batf3 deficiency reveals a critical role for CD8alpha+ dendritic cells in cytotoxic T cell immunity. *Science* **322**, 1097–1100 (2008).
383. Jackson, J. T. *et al.* Id2 expression delineates differential checkpoints in the genetic program of CD8alpha+ and CD103+ dendritic cell lineages. *EMBO J.* **30**, 2690–2704 (2011).

BIBLIOGRAPHIE

384. Edelson, B. T. *et al.* Peripheral CD103⁺ dendritic cells form a unified subset developmentally related to CD8 α ⁺ conventional dendritic cells. *J. Exp. Med.* **207**, 823–836 (2010).
385. Luda, K. M. *et al.* IRF8 Transcription-Factor-Dependent Classical Dendritic Cells Are Essential for Intestinal T Cell Homeostasis. *Immunity* **44**, 860–874 (2016).
386. Cerovic, V. *et al.* Lymph-borne CD8 α ⁺ dendritic cells are uniquely able to cross-prime CD8⁺ T cells with antigen acquired from intestinal epithelial cells. *Mucosal Immunol.* **8**, 38–48 (2015).
387. Schlitzer, A. *et al.* IRF4 transcription factor-dependent CD11b⁺ dendritic cells in human and mouse control mucosal IL-17 cytokine responses. *Immunity* **38**, 970–983 (2013).
388. Lewis, K. L. *et al.* Notch2 receptor signaling controls functional differentiation of dendritic cells in the spleen and intestine. *Immunity* **35**, 780–791 (2011).
389. Welty, N. E. *et al.* Intestinal lamina propria dendritic cells maintain T cell homeostasis but do not affect commensalism. *J. Exp. Med.* **210**, 2011–2024 (2013).
390. Kinnebrew, M. A. *et al.* Interleukin 23 Production by Intestinal CD103⁺CD11b⁺ Dendritic Cells in Response to Bacterial Flagellin Enhances Mucosal Innate Immune Defense. *Immunity* **36**, 276–287 (2012).
391. Gao, Y. *et al.* Control of T Helper 2 Responses by Transcription Factor IRF4-Dependent Dendritic Cells. *Immunity* **39**, 722–732 (2013).
392. Williams, J. W. *et al.* Transcription factor IRF4 drives dendritic cells to promote Th2 differentiation. *Nat. Commun.* **4**, 2990 (2013).
393. Esterházy, D. *et al.* Classical dendritic cells are required for dietary antigen-mediated induction of peripheral Treg cells and tolerance. *Nat. Immunol.* **17**, 545 (2016).
394. Païdassi, H. *et al.* Preferential expression of integrin $\alpha\beta$ 8 promotes generation of regulatory T cells by mouse CD103⁺ dendritic cells. *Gastroenterology* **141**, 1813–1820 (2011).

BIBLIOGRAPHIE

395. Worthington, J. J., Czajkowska, B. I., Melton, A. C. & Travis, M. A. Intestinal dendritic cells specialize to activate transforming growth factor- β and induce Foxp3⁺ regulatory T cells via integrin $\alpha\beta$ 8. *Gastroenterology* **141**, 1802–1812 (2011).
396. Boucard-Jourdin, M. *et al.* β 8 integrin expression and activation of TGF- β by intestinal dendritic cells is determined by both tissue microenvironment and cell lineage. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **197**, 1968–1978 (2016).
397. Nutsch, K. *et al.* Rapid and Efficient Generation of Regulatory T Cells to Commensal Antigens in the Periphery. *Cell Rep.* **17**, 206–220 (2016).
398. Jaensson, E. *et al.* Small intestinal CD103⁺ dendritic cells display unique functional properties that are conserved between mice and humans. *J. Exp. Med.* **205**, 2139–2149 (2008).
399. Farache, J. *et al.* Luminal bacteria recruit CD103⁺ dendritic cells into the intestinal epithelium to sample bacterial antigens for presentation. *Immunity* **38**, 581–595 (2013).
400. Kadaoui, K. A. & Corthésy, B. Secretory IgA mediates bacterial translocation to dendritic cells in mouse Peyer's patches with restriction to mucosal compartment. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **179**, 7751–7757 (2007).
401. Lelouard, H., Fallet, M., de Bovis, B., Méresse, S. & Gorvel, J.-P. Peyer's patch dendritic cells sample antigens by extending dendrites through M cell-specific transcellular pores. *Gastroenterology* **142**, 592-601.e3 (2012).
402. Mazzini, E., Massimiliano, L., Penna, G. & Rescigno, M. Oral Tolerance Can Be Established via Gap Junction Transfer of Fed Antigens from CX3CR1⁺ Macrophages to CD103⁺ Dendritic Cells. *Immunity* **40**, 248–261 (2014).
403. Fleeton, M. N. *et al.* Peyer's patch dendritic cells process viral antigen from apoptotic epithelial cells in the intestine of reovirus-infected mice. *J. Exp. Med.* **200**, 235–245 (2004).
404. Huang, F. P. *et al.* A discrete subpopulation of dendritic cells transports apoptotic intestinal epithelial cells to T cell areas of mesenteric lymph nodes. *J. Exp. Med.* **191**, 435–444 (2000).

BIBLIOGRAPHIE

405. Yoshida, M. *et al.* Human Neonatal Fc Receptor Mediates Transport of IgG into Luminal Secretions for Delivery of Antigens to Mucosal Dendritic Cells. *Immunity* **20**, 769–783 (2004).
406. McDole, J. R. *et al.* Goblet cells deliver luminal antigen to CD103+ dendritic cells in the small intestine. *Nature* **483**, 345–349 (2012).
407. Blum, J. S., Wearsch, P. A. & Cresswell, P. Pathways of Antigen Processing. *Annu. Rev. Immunol.* **31**, 443–473 (2013).
408. Dudziak, D. *et al.* Differential antigen processing by dendritic cell subsets in vivo. *Science* **315**, 107–111 (2007).
409. Vander Lugt, B. *et al.* Transcriptional programming of dendritic cells for enhanced MHC class II antigen presentation. *Nat. Immunol.* **15**, 161–167 (2014).
410. Worbs, T. *et al.* Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells. *J. Exp. Med.* **203**, 519–527 (2006).
411. MacPherson, G. *et al.* Uptake of antigens from the intestine by dendritic cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1029**, 75–82 (2004).
412. Jang, M. H. *et al.* CCR7 is critically important for migration of dendritic cells in intestinal lamina propria to mesenteric lymph nodes. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **176**, 803–810 (2006).
413. Johansson-Lindbom, B. *et al.* Functional specialization of gut CD103+ dendritic cells in the regulation of tissue-selective T cell homing. *J. Exp. Med.* **202**, 1063–1073 (2005).
414. Chen, L. & Flies, D. B. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat. Rev. Immunol.* **13**, 227–242 (2013).
415. Martinez-Sanchez, M. E., Huerta, L., Alvarez-Buylla, E. R. & Villarreal Luján, C. Role of Cytokine Combinations on CD4+ T Cell Differentiation, Partial Polarization, and Plasticity: Continuous Network Modeling Approach. *Front. Physiol.* **9**, (2018).
416. Stagg, A. J., Kamm, M. A. & Knight, S. C. Intestinal dendritic cells increase T cell expression of alpha4beta7 integrin. *Eur. J. Immunol.* **32**, 1445–1454 (2002).

BIBLIOGRAPHIE

417. Mora, J. R. *et al.* Selective imprinting of gut-homing T cells by Peyer's patch dendritic cells. *Nature* **424**, 88–93 (2003).
418. Annacker, O. *et al.* Essential role for CD103 in the T cell-mediated regulation of experimental colitis. *J. Exp. Med.* **202**, 1051–1061 (2005).
419. Mora, J. R. *et al.* Generation of gut-homing IgA-secreting B cells by intestinal dendritic cells. *Science* **314**, 1157–1160 (2006).
420. Iwata, M. *et al.* Retinoic acid imprints gut-homing specificity on T cells. *Immunity* **21**, 527–538 (2004).
421. Cassani, B. *et al.* Gut-Tropic T Cells That Express Integrin $\alpha 4\beta 7$ and CCR9 Are Required for Induction of Oral Immune Tolerance in Mice. *Gastroenterology* **141**, 2109–2118 (2011).
422. Persson, E. K., Scott, C. L., Mowat, A. M. & Agace, W. W. Dendritic cell subsets in the intestinal lamina propria: Ontogeny and function. *Eur. J. Immunol.* **43**, 3098–3107 (2013).
423. Hadis, U. *et al.* Intestinal tolerance requires gut homing and expansion of FoxP3⁺ regulatory T cells in the lamina propria. *Immunity* **34**, 237–246 (2011).
424. Zeng, R., Bscheider, M., Lahl, K., Lee, M. & Butcher, E. C. Generation and transcriptional programming of intestinal dendritic cells: essential role of retinoic acid. *Mucosal Immunol.* **9**, 183–193 (2016).
425. Klebanoff, C. A. *et al.* Retinoic acid controls the homeostasis of pre-cDC-derived splenic and intestinal dendritic cells. *J. Exp. Med.* **210**, 1961–1976 (2013).
426. Goverse, G. *et al.* Diet-Derived Short Chain Fatty Acids Stimulate Intestinal Epithelial Cells To Induce Mucosal Tolerogenic Dendritic Cells. *J. Immunol.* **198**, 2172–2181 (2017).
427. Johnson, A. M. F. *et al.* High Fat Diet Causes Depletion of Intestinal Eosinophils Associated with Intestinal Permeability. *PLOS ONE* **10**, e0122195 (2015).
428. Mito, N., Kaburagi, T., Yoshino, H., Imai, A. & Sato, K. Oral-tolerance induction in diet-induced obese mice. *Life Sci.* **79**, 1056–1061 (2006).

BIBLIOGRAPHIE

429. de Wit, N. J. *et al.* The role of the small intestine in the development of dietary fat-induced obesity and insulin resistance in C57BL/6J mice. *BMC Med. Genomics* **1**, 14 (2008).
430. Kim, K.-A., Gu, W., Lee, I.-A., Joh, E.-H. & Kim, D.-H. High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PloS One* **7**, e47713 (2012).
431. Ding, S. *et al.* High-fat diet: bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. *PloS One* **5**, e12191 (2010).
432. Monteiro-Sepulveda, M. *et al.* Jejunal T Cell Inflammation in Human Obesity Correlates with Decreased Enterocyte Insulin Signaling. *Cell Metab.* **22**, 113–124 (2015).
433. Veilleux, A. *et al.* Altered intestinal functions and increased local inflammation in insulin-resistant obese subjects: a gene-expression profile analysis. *BMC Gastroenterol.* **15**, 119 (2015).
434. de La Serre, C. B. *et al.* Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **299**, G440-448 (2010).
435. Everard, A. *et al.* Intestinal epithelial MyD88 is a sensor switching host metabolism towards obesity according to nutritional status. *Nat. Commun.* **5**, 5648 (2014).
436. Andrews, C. N. *et al.* Mesalazine (5-aminosalicylic acid) alters faecal bacterial profiles, but not mucosal proteolytic activity in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **34**, 374–383 (2011).
437. Hong, C.-P. *et al.* Gut-Specific Delivery of T-Helper 17 Cells Reduces Obesity and Insulin Resistance in Mice. *Gastroenterology* **152**, 1998–2010 (2017).
438. Lee, S.-Y. *et al.* Metformin Ameliorates Inflammatory Bowel Disease by Suppression of the STAT3 Signaling Pathway and Regulation of the between Th17/Treg Balance. *PLOS ONE* **10**, e0135858 (2015).

BIBLIOGRAPHIE

439. Endo, Y. *et al.* Obesity Drives Th17 Cell Differentiation by Inducing the Lipid Metabolic Kinase, ACC1. *Cell Rep.* **12**, 1042–1055 (2015).
440. Chen, Y. *et al.* Adipose tissue dendritic cells enhances inflammation by prompting the generation of Th17 cells. *PloS One* **9**, e92450 (2014).
441. Cavallari, J. F., Denou, E., Foley, K. P., Khan, W. I. & Schertzer, J. D. Different Th17 immunity in gut, liver, and adipose tissues during obesity: the role of diet, genetics, and microbes. *Gut Microbes* **7**, 82–89 (2016).
442. Van Hul, M. *et al.* Comparison of the effects of soluble corn fiber and fructooligosaccharides on metabolism, inflammation, and gut microbiome of high-fat diet-fed mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **319**, E779–E791 (2020).
443. Rawat, H., Ganaie, M. & Kango, N. Production of inulinase, fructosyltransferase and sucrose from fungi on low-value inulin-rich substrates and their use in generation of fructose and fructo-oligosaccharides. *Antonie Van Leeuwenhoek* **107**, (2015).
444. Harley, I. T. W. *et al.* Differential colonization with segmented filamentous bacteria and *Lactobacillus murinus* do not drive divergent development of diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Mol. Metab.* **2**, 171–183 (2013).
445. Farkas, A. M. *et al.* Colonization and induction of Th17 cells by segmented filamentous bacteria in the murine intestine. *J. Immunol. Methods* **421**, 104–111 (2015).
446. Panea, C. *et al.* Intestinal monocyte-derived macrophages control commensal-specific Th17 responses. *Cell Rep.* **12**, 1314–1324 (2015).
447. Kong, C., Gao, R., Yan, X., Huang, L. & Qin, H. Probiotics improve gut microbiota dysbiosis in obese mice fed a high-fat or high-saccharose diet. *Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif* **60**, 175–184 (2019).
448. Chinda, D. *et al.* The fermentation of different dietary fibers is associated with fecal clostridia levels in men. *J. Nutr.* **134**, 1881–1886 (2004).

BIBLIOGRAPHIE

449. Smith, P. M. *et al.* The microbial metabolites, short chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* **341**, (2013).
450. Van den Abbeele, P. *et al.* Butyrate-producing Clostridium cluster XIVa species specifically colonize mucins in an in vitro gut model. *ISME J.* **7**, 949–961 (2013).
451. Natividad, J. M. *et al.* Impaired Aryl Hydrocarbon Receptor Ligand Production by the Gut Microbiota Is a Key Factor in Metabolic Syndrome. *Cell Metab.* **28**, 737-749.e4 (2018).
452. Ladinsky, M. S. *et al.* Endocytosis of commensal antigens by intestinal epithelial cells regulates mucosal T cell homeostasis. *Science* **363**, (2019).
453. Uto, T. *et al.* Critical role of plasmacytoid dendritic cells in induction of oral tolerance. *J. Allergy Clin. Immunol.* **141**, 2156-2167.e9 (2018).
454. Trasino, S. E., Tang, X.-H., Jessurun, J. & Gudas, L. J. Obesity Leads to Tissue, but not Serum Vitamin A Deficiency. *Sci. Rep.* **5**, (2015).
455. Gattu, S. *et al.* Epithelial retinoic acid receptor β regulates serum amyloid A expression and vitamin A-dependent intestinal immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **116**, 10911–10916 (2019).
456. Sano, T. *et al.* An IL-23R/IL-22 Circuit Regulates Epithelial Serum Amyloid A to Promote Local Effector Th17 Responses. *Cell* **163**, 381–393 (2015).
457. Salzman, N. H. *et al.* Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology. *Nat. Immunol.* **11**, 76–83 (2010).
458. Chagwedera, D. N. *et al.* Nutrient Sensing in CD11c Cells Alters the Gut Microbiota to Regulate Food Intake and Body Mass. *Cell Metab.* **30**, 364-373.e7 (2019).
459. Krishnamurthy, V. M. R. *et al.* High dietary fiber intake is associated with decreased inflammation and all-cause mortality in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* **81**, 300–306 (2012).
460. Zúñiga, L. A. *et al.* Il-17 Regulates Adipogenesis, Glucose Homeostasis, and Obesity. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **185**, 6947–6959 (2010).

BIBLIOGRAPHIE

461. Xu, R., Tao, A., Zhang, S. & Zhang, M. Neutralization of interleukin-17 attenuates high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* **45**, 726–733 (2013).
462. Singh, J., Metrani, R., Shivanagoudra, S. R., Jayaprakasha, G. K. & Patil, B. S. Review on Bile Acids: Effects of the Gut Microbiome, Interactions with Dietary Fiber, and Alterations in the Bioaccessibility of Bioactive Compounds. *J. Agric. Food Chem.* **67**, 9124–9138 (2019).
463. Muller, P. A. *et al.* Crosstalk between Muscularis Macrophages and Enteric Neurons Regulates Gastrointestinal Motility. *Cell* **158**, 300–313 (2014).
464. Matheis, F. *et al.* Adrenergic Signaling in Muscularis Macrophages Limits Infection-Induced Neuronal Loss. *Cell* **180**, 64-78.e16 (2020).
465. Voss, U., Sand, E., Olde, B. & Ekblad, E. Enteric Neuropathy Can Be Induced by High Fat Diet In Vivo and Palmitic Acid Exposure In Vitro. *PLOS ONE* **8**, e81413 (2013).
466. Nezami, B. G. *et al.* MicroRNA 375 Mediates Palmitate-Induced Enteric Neuronal Damage and High-Fat Diet-Induced Delayed Intestinal Transit in Mice. *Gastroenterology* **146**, 473-483.e3 (2014).
467. GLOBAL IMMUNOTALKS. ‘*Neuro-immune interactions in the gut*’ by Dr. Daniel Mucida. (2020).
468. Rosshart, S. P. *et al.* Laboratory mice born to wild mice have natural microbiota and model human immune responses. *Science* **365**, (2019).