

# Microbiote intestinal et dialogue immunitaire au cours de la maladie métabolique

Rémy Burcelin<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), 31024 Toulouse, France

<sup>2</sup> Université Paul Sabatier (UPS), Unité Mixte de Recherche (UMR) 1048, Hôpital Rangueil, 31400 Toulouse, France

<sup>3</sup> Institut des Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires (I2MC), 31432 Toulouse Cedex 4, France

Auteur correspondant : Rémy Burcelin, [remy.burcelin@inserm.fr](mailto:remy.burcelin@inserm.fr)

Reçu le 21 janvier 2017

**Résumé** – Cette revue se propose de discuter le rôle joué par un dialogue entre le microbiote et le système immunitaire intestinaux dans le développement de la maladie métabolique, comme l'obésité et le diabète. À partir des aspects physiologique et pathologique et des données publiées les plus récentes, cette revue examine comment la théorie hologénomique de l'évolution peut expliquer la progression de la maladie métabolique. La notion « d'infection métabolique » pour expliquer « l'inflammation métabolique » est discutée. Le processus de translocation bactérienne et la dégradation de la défense immunitaire intestinale contre les commensaux seront considérés dans ce cadre. Finalement cette revue pose les bases d'une médecine personnalisée. Un nombre croissant de publications démontre l'importance de ce champ de recherche. Il en ressort que la notion de commensal en tant que « soi » ou « non soi » doit être réévaluée à la lumière des données récentes. De plus, les informations acquises démontrent le rôle majeur des chaînes courtes d'acides gras, des acides biliaires secondaires, des lipopolysaccharides (LPS), des peptidoglycanes, des dérivés de l'indole, et d'autres molécules ayant un rapport avec les bactéries, sur l'adaptation des cellules impliquées dans la protection de l'intestin contre ses commensaux, une fonction qui apparaît maintenant centrale dans l'incidence de la maladie métabolique. La littérature démontre que l'initiation des maladies métaboliques et de certaines co-morbidités spécifiques peut s'expliquer par un dialogue entre le microbiote et le système immunitaire intestinal. On peut donc maintenant considérer cette voie de recherche comme une source putative de biomarqueurs et de cibles thérapeutiques pour personnaliser le traitement de la maladie métabolique et de ses co-morbidités. Le microbiote intestinal est considéré comme un régulateur majeur de la maladie métabolique. Cela réconcilie la notion d'inflammation métabolique et le développement épidémique de la maladie. En plus des données montrant qu'un microbiote spécifique caractérise les patients affectés d'obésité, de diabète de type 2, ou de stéatose hépatique, les mécanismes responsables de la maladie pourraient être liés à la translocation du microbiote de l'intestin vers les tissus, qui induirait l'inflammation. Les mécanismes régulant ce processus sont basés sur les échanges entre le microbiote et le système immunitaire de l'hôte. La théorie hologénomique de l'évolution étaye ce concept et implique que les stratégies thérapeutiques destinées à contrôler la glycémie devraient prendre en compte aussi bien le microbiote intestinal que le système immunitaire de l'hôte. Cette revue discute les données les plus récentes sur l'impact bidirectionnel du dialogue entre le microbiote et le système immunitaire de l'hôte pour le contrôle de la maladie métabolique, de l'hyperglycémie et de l'obésité. Pour éviter des redondances avec la littérature, nous pointerons notre attention sur le système immunitaire intestinal, et nous identifierons les indications pour la mise au point de nouvelles stratégies thérapeutiques, qui pourraient être fondées sur le contrôle de la translocation de bactéries intestinales vers les tissus. Ces stratégies devraient contrer le rôle joué par la dysbiose du microbiote dans le développement de l'inflammation métabolique. Les données récentes obtenues

chez les rongeurs nous permettent de conclure qu'une détérioration du système immunitaire intestinal caractérise le développement de la maladie métabolique et peut en être la cause. La compréhension fine des mécanismes moléculaires impliqués pourrait permettre le développement d'une première ligne de traitement pour la maladie métabolique et ses co-morbidités.

**Mots clés :** Diabète de type 2 / obésité / microbiote / système immunitaire intestinal / translocation bactérienne

**Abstract – Gut microbiota and immune crosstalk in metabolic disease.**

The aim of the review is to discuss about the role played by the defence crosstalk between the gut microbiota and the intestinal immune system, in the development of metabolic disease focusing on obesity and diabetes. Starting from physiological and pathological stand points and based on the latest published data, this review is addressing how the concept of the hologenome theory of evolution can drive the fate of metabolic disease. The notion of “metabolic infection” to explain the “metabolic inflammation” is discussed. This imply comments about the process of bacterial translocation and impaired intestinal immune defense against commensals. Eventually this review sets the soil for personalized medicine. The monthly increase in the number of publications on the gut microbiota to intestinal immune defense and the control of metabolism demonstrate the importance of this field of investigation. The notion of commensal as “self or non-self” has to be reevaluated in the light of the current data. Furthermore, data demonstrate the major role played by short chain fatty acids, secondary bile acids, LPS, peptidoglycans, indole derivatives, and other bacteria-related molecules on the shaping of cells involved in the intestinal protection against commensals is now becoming a central player in the incidence of metabolic diseases. The literature demonstrates that the onset of metabolic diseases and some specific co-morbidities can be explained by a gut microbiota to intestinal immune system crosstalk. Therefore, one should now consider this avenue of investigation as a putative source of biomarkers and therapeutic targets to personalize the treatment of metabolic disease and its co-morbidities. Gut microbiota is considered as a major regulator of metabolic disease. This reconciles the notion of metabolic inflammation and the epidemic development of the disease. In addition to evidence showing that a specific gut microbiota characterizes patients with obesity, type 2 diabetes, and hepatic steatosis, the mechanisms causal to the disease could be related to the translocation of microbiota from the gut to the tissues, which induces inflammation. The mechanisms regulating such a process are based on the crosstalk between the gut microbiota and the host immune system. The hologenome theory of evolution supports this concept and implies that therapeutic strategies aiming to control glycemia should take into account both the gut microbiota and the host immune system. This review discusses the latest evidence regarding the bidirectional impact of the gut microbiota on host immune system crosstalk for the control of metabolic disease, hyperglycemia, and obesity. To avoid redundancies with the literature, we will focus our attention on the intestinal immune system, identifying evidence for the generation of novel therapeutic strategies, which could be based on the control of the translocation of gut bacteria to tissues. Such novel strategies should hamper the role played by gut microbiota dysbiosis on the development of metabolic inflammation. Recent evidence in rodents allows us to conclude that an impaired intestinal immune system characterizes and could be causal in the development of metabolic disease. The fine understanding of the molecular mechanisms should allow for the development of a first line of treatment for metabolic disease and its co-morbidities.

**Key words:** Type 2 diabetes / obesity / microbiota / intestinal immune system / bacterial translocation

---

## Abréviations

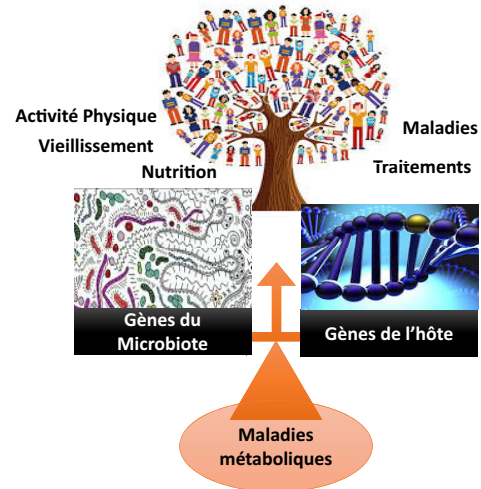
Ahr :	récepteur des aryle-hydrates de carbone
AMP :	<i>Anti-Microbial Peptides</i>
APC :	<i>Antigen Presenting Cells</i>
AMPK :	Adénosine Monophosphate Protéine Kinase
BMI :	<i>Body Mass Index</i>
CD :	Cellules Dendritiques
CMH :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
DIO :	<i>Diet Induced Obesity</i>
GM-CSF :	<i>Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
ILC :	<i>Innate Lymphoid Cells</i>
IRS-1 :	<i>Insulin Receptor Substrate-1</i>
LPS :	LipoPolySaccharides
MAIT :	cellules T invariantes associées à la muqueuse
NK :	<i>Natural Killers</i>
NLR :	<i>Nod-Like Receptor</i>
NOD 1 :	<i>Nucleotide-binding Oligomerization Domain</i>
PAM :	Peptides AntiMicrobiens
RIG :	<i>Retinoic acid Inducible Gene</i>
TCR :	<i>T Cell Receptor</i>
TLR :	<i>Toll-Like receptor</i>
Treg :	cellule T régulatrice

## Introduction

La théorie hologénomique de l'évolution propose que la sélection naturelle agit non sur l'organisme individuel mais sur « l'holobionte », qui comprend l'organisme hôte et son microbiome (ses gènes et ses métabolites). Quand l'holobionte est confronté à des changements importants, tels qu'une modification du régime alimentaire, une réduction de l'activité physique, le vieillissement, des médicaments ou une maladie, il met en œuvre des mécanismes adaptatifs sous forme de réorganisation/rééquilibrage de son microbiome, c'est-à-dire de ses populations microbiennes résidentes (Fig. 1). L'hôte partenaire dans l'holobionte doit aussi évoluer et s'adapter aux changements. Les mécanismes de cette double évolution, *i.e.* le dialogue moléculaire, reste à déterminer précisément, mais les données commencent à affluer.

Au sein de l'holobionte, le partenaire le plus évident du microbiome est le système immunitaire de l'hôte, qui peut être considéré comme le candidat le plus adapté à la diversité du microbiome et à la théorie hologénomique de l'évolution. Son adaptabilité rapide et la plasticité du génome des cellules immunitaires sont telles qu'il peut détecter en quelques jours ou semaines des variations du microbiote, suscitant une réponse appropriée de l'hôte. En conséquence, une dérégulation majeure de l'un des composants va probablement impacter l'autre,

## La théorie hologénomique de la diversité métabolique



**Fig. 1.** L'hologénome : théorie de la diversité métabolique. La diversité métagénomique du microbiote intestinal et la diversité génétique de l'hôte régulent la diversité métabolique humaine. Cet équilibre est contrôlé par l'âge, l'alimentation, les médicaments, l'exercice physique et la pathologie, pour citer quelques-uns des facteurs impliqués.

et donc l'holobionte. Cependant, la sélection darwinienne, inhérente à la théorie hologénomique de l'évolution, permet d'évincer rigoureusement toutes les dérégulations relationnelles entre le microbiote et le système immunitaire, qui constituent un risque pour la santé de l'holobionte. Les maladies métaboliques se développent de par le monde de manière pandémique à une vitesse qui est incompatible avec de potentielles variations génétiques. Ainsi, pour expliquer le développement épidémique de la maladie métabolique, on peut supposer que les bactéries constituant le microbiote intestinal sont responsables de cette augmentation rapide de l'incidence. Pour le démontrer et identifier des stratégies thérapeutiques, il est donc nécessaire de comprendre les mécanismes moléculaires responsables de déséquilibres combinant des altérations subtiles ou peu sévères de l'adaptabilité du microbiote et de l'hôte aux conditions environnementales ou évolutives. En conséquence, dans le cas de maladies chroniques et fréquentes telles que la maladie métabolique, la compréhension au niveau moléculaire et les traitements de maladies chroniques qui peuvent en résulter doivent prendre en compte la dégradation combinée du microbiote et du système immunitaire.

La responsabilité du microbiote intestinal dans les maladies métaboliques a été mise en évidence à l'aide d'expériences de transferts de microbiote chez les rongeurs (Turnbaugh *et al.*, 2006) et chez l'Homme (Vrieze *et al.*, 2012) : le microbiote d'un donneur sain peut restaurer le poids corporel et la glycémie

d'un receveur obèse ou diabétique. Des mécanismes spécifiques à l'hôte, l'adaptant aux changements du microbiote, ont pu être proposés mais ils ne s'accordaient pas avec la notion de l'adaptation de l'holobionte. *Vice-versa*, le système immunitaire représente la première ligne d'adaptation aux changements du microbiome, sa composante innée y étant, avec une spécificité moins étroite, la plus rapide à s'adapter. Il est suivi par le système immunitaire adaptatif, qui apporte au microbiome dysbiotique spécificité, rapidité, et mémoire. Ce dialogue pourrait constituer le premier concept intégrant l'impact de l'environnement (social, nutritionnel, chimique et comportemental) sur la génétique de l'hôte pour expliquer la diversité et le développement de la maladie métabolique à la lumière de la définition de l'holobionte.

Cette revue mettra l'accent sur les découvertes récentes concernant le dialogue microbiote/système immunitaire de l'hôte à propos de la maladie métabolique. Elle a également pour objectif de promouvoir le concept selon lequel le développement et le traitement de la maladie métabolique doivent prendre en compte le fait que l'holobionte, comprenant le microbiome et le système immunitaire comme mécanisme régulateur maître, constitue un organisme complexe adapté à l'environnement. Un changement d'environnement pourrait avoir un impact sur les deux partenaires et conduire à la maladie métabolique. Le rôle du système immunitaire, comme adaptateur clé pour l'impact de l'environnement sur le microbiome, sera développé dans le cadre de la maladie métabolique.

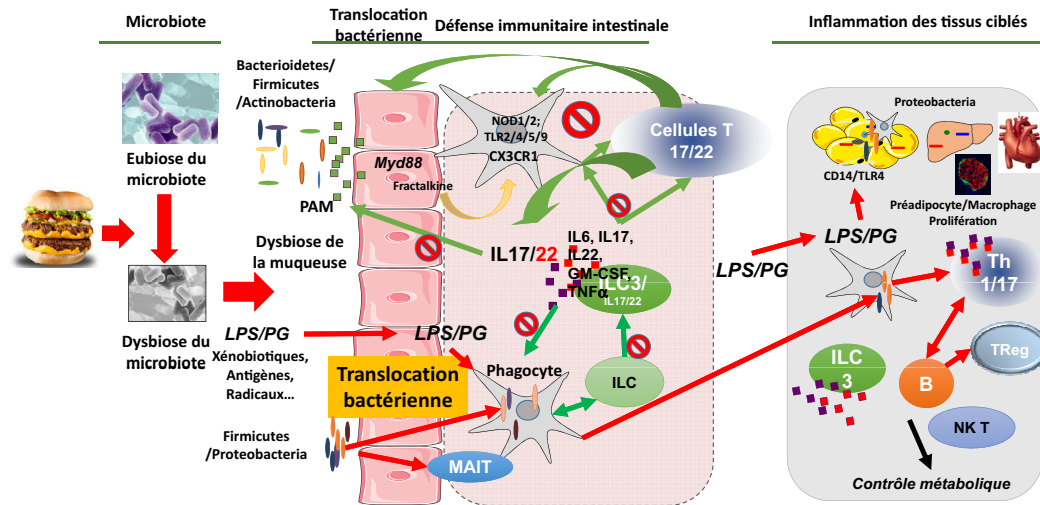
On pourrait imaginer que la limite de la capacité tampon de l'hôte, c'est-à-dire du système immunitaire, et du microbiote à s'adapter à l'environnement serait une ligne étroite séparant l'homéostasie de la pathologie. Il faut cependant considérer que ces deux conditions représentent un continuum, résultant de la capacité de ces deux acteurs à s'adapter à l'environnement. Le seuil d'un mécanisme moléculaire donné du dialogue hôte-microbiome, classant les individus dans le camp de la santé ou de la maladie métabolique, devrait toujours être considéré dans le cas d'un groupe d'individus homogènes dans un environnement spécifique. La classification de biomarqueurs et les stratégies médecine/nutrition sur mesure sont des retombées directes du déchiffrement de l'adaptation de l'holobionte dans son environnement, qui pourrait être réduit au microbiome et au système immunitaire.

## **La maladie métabolique : l'origine « infectieuse » et le rôle de la translocation bactérienne**

Les maladies métaboliques, obésité et diabète de type 2, sont des maladies multifactorielles, chroniques,

non contagieuses, dont les dernières décennies de recherche ont essayé d'identifier une origine génétique. Après des analyses extensives, 2–3 % seulement de l'incidence des maladies métaboliques peuvent être expliqués par une trentaine de *loci* géniques combinés (Lu & Loos, 2013). Ceci est la conséquence du fait qu'un nouveau paradigme, englobant beaucoup de mécanismes responsables, est nécessaire pour élucider le développement épidémique de cette maladie. Pendant la dernière décennie, il a été montré qu'une vaste majorité des rongeurs et des patients obèses sont caractérisés par un microbiote dysbiosique (Ley *et al.*, 2005; Cani *et al.*, 2007, Cani *et al.*, 2008); (Fig. 2). Cependant plusieurs entités bactériennes, définies par leurs entérotypes (Arumugam *et al.*, 2011), ont été identifiées, révélant la notion selon laquelle tous les patients obèses ne présentent pas la même dysbiose de leur microbiote intestinal et soulignant l'existence de plusieurs mécanismes liés à cette dysbiose (Le Chatelier *et al.*, 2013). Le microbiote intestinal comprend plus de 10 millions de gènes (Li *et al.*, 2014), alors que les cellules eucaryotes en expriment, en moyenne, 25 000. Ce potentiel génomique pose les bases d'un holobionte complexe, qui devrait être bien adapté aux variations environnementales. Pour la première fois, le dialogue entre les grands métagénomes et les diversités génomiques devrait expliquer le développement pandémique des maladies métaboliques. Toutefois la difficulté présentée par ce phénomène réside dans la complexité génomique. Pour déchiffrer les mécanismes moléculaires correspondants, des stratégies multiOmiques sans *a priori*, à partir de grandes cohortes et de modèles animaux pertinents, sont nécessaires pour valider les hypothèses. La communauté scientifique a identifié, grâce à des efforts prodigieux, que les Firmicutes et les Bacteroidetes sont les deux phylums majeurs du microbiote fécal, les Actinobacteria y contribuant pour moins de 5 %, bien que le rôle de ces dernières ne soit pas négligeable (Qin *et al.*, 2010). À partir de ce catalogue taxinomique et génétique, des caractéristiques classant les patients selon leur maladie, telles que l'obésité et le diabète de type 2, ont été identifiées (Qin *et al.*, 2012). Ainsi il n'y a qu'une petite proportion des bactéries communes qui produisent du butyrate, tandis beaucoup d'autres, capables de réduire les sulfates et de résister au stress oxydatif, sont plus abondantes. Il faut remarquer que le catalogue de gènes a été établi à partir d'échantillons fécaux et que, dans l'ensemble du tube digestif (à commencer par la bouche), le pH, les nutriments, l'oxygène, et les gradients d'acide biliaire sont des facteurs essentiels qui modèlent l'écologie bactérienne, et qui ne peuvent être diagnostiqués par le séquençage fécal. Ceci est d'une importance majeure si l'on envisage de comprendre le dialogue entre le microbiote intestinal

## L'induction des maladies métaboliques par la translocation bactérienne



**Fig. 2.** L'interaction entre le microbiote intestinal et la défense immunitaire intestinale dans le contrôle de l'inflammation tissulaire induite par la translocation bactérienne et le contrôle métabolique. Un microbiote intestinal eubiotique comporte une population bactérienne diversifiée, qui réside essentiellement dans la lumière plutôt que dans la muqueuse intestinale. L'AMP, les défensines, et les cellules immunitaires empêchent l'adhérence à la muqueuse et la translocation des bactéries luminales (flèches vertes). Dans la dysbiose, induite par exemple par un régime hyperlipidique, un microbiote mucosal composé de Protéobactéries et de Firmicutes apparaît ; il altère la fonction épithéliale de l'intestin et la production d'AMP et provoque une augmentation de la perméabilité intestinale. Pendant le développement de la maladie métabolique (représentée par les flèches rouges et les étiquettes), les bactéries de la muqueuse et les fragments qui en sont issus, comme les LPS et les peptidoglycanes, se transloquent au travers de la couche épithéliale, et atteignent la *lamina propria* où les phagocytes capturent les bactéries. La dysbiose du microbiote intestinal dénature le dialogue entre les phagocytes, les ILC et les cellules T. La co-activation entre les phagocytes et les cellules T est notablement modifiée, et la production d'IL 17/22 réduite en conséquence. La fonction des ILC et des MAIT pourrait en être dégradée, mais ceci reste à confirmer. Dans l'ensemble, l'altération des défenses immunitaires innée et adaptative permettent la translocation des bactéries et des composants bactériens, LPS et peptidoglycanes, vers les tissus métaboliques, tels que les dépôts lipidiques, le foie, les îlots de Langerhans ainsi que le cœur et les vaisseaux. Dans ces sites, ces éléments déclenchent l'inflammation, conduisant à la prolifération des pré-adipocytes et des macrophages, si bien que les cytokines correspondantes contribuent à la réduction de la signalisation insulinique. Un mécanisme de compartimentalisation se produit, la fréquence des ILC3 augmentant dans les tissus, et l'inflammation est encore promue par la libération des cytokines. Les tissus sont également caractérisés par une infiltration accrue de lymphocytes B et T, qui interagissent avec les phagocytes nouvellement recrutés, et aggravent encore l'inflammation.

et l'hôte, puisque les marqueurs de la dysbiose du microbiote le long du tube digestif ne sont pas encore établis. Depuis, de nombreuses études ont été entreprises pour identifier les signatures fécales du microbiote dysbiotique dans la maladie ou sous l'influence de l'environnement. Les premières données sont issues de souris soumises à différents régimes (Qin *et al.*, 2012) et d'humains traités aux prébiotiques (Gibson, 1998; Clavel *et al.*, 2006). Un impact majeur s'observe chez des souris qui reçoivent un régime riche en lipides (Cani *et al.*, 2007; Cani *et al.*, 2008; Flint *et al.*, 2007; Turnbaugh *et al.*, 2008), chez lesquelles les mécanismes impliqués dans le développement de la maladie métabolique sont liés à la translocation de composants bactériens comme les lipopolysaccharides (Cani *et al.*, 2007) ou de bactéries entières (Amar

*et al.*, 2011) (Fig. 2). Chez les rongeurs, il faut noter que la prolifération de Protéobactéries a été observée dans la muqueuse (Fig. 2), provoquant une concentration locale accrue de lipopolysaccharides (Wang *et al.*, 2014).

La première preuve du concept, qui considère le microbiote intestinal comme le facteur essentiel de contrôle du gain de poids du corps, a été apportée en 2004 quand il a été montré que des souris axéniques, nourries avec un régime riche en graisses, prennent moins de poids que les souris conventionnelles, bien qu'elles augmentent leur prise de nourriture (Backhed *et al.*, 2004). On postula que les mécanismes responsables de cette différence reposaient sur un renforcement insulino-indépendant de la voie de la kinase activée par l'AMP (AMPK). L'AMPK contrôle



la consommation d'énergie en augmentant l'oxydation du glucose dans les situations de stress métabolique, comme le jeûne hypoxique et l'exercice. Dans une expérience apparentée, un transfert de microbiote intestinal a été réalisé entre des souris obèses conventionnelles et des souris axéniques maigres. Cette expérience a démontré l'intervention du microbiote intestinal dans l'obésité, puisque les souris axéniques ont pris plus de poids lorsqu'elles ont été colonisées par des microbiotes de souris obèses plutôt que de souris maigres (Turnbaugh *et al.*, 2006). Les auteurs de cette étude pointent une efficacité plus grande du microbiote intestinal à tirer de l'énergie du même régime. Des transplantations fécales chez l'Homme ont démontré une amélioration faible mais significative du contrôle de la glycémie et des effets de l'insuline, évalués à l'aide de clamps hyperinsulinémiques, lorsque le microbiote d'un donneur sain a été transplanté à un patient dépendant diabétique de type 2 (Vrieze *et al.*, 2012). Dans un sous-groupe de patients transplantés, l'insuline a été plus efficace pendant plus de trois mois; cet effet dépendait du receveur, suggérant qu'un mécanisme spécifique de l'hôte était très probablement un régulateur essentiel de la réussite du processus de greffe. Malheureusement, cette étude n'a pas réussi à identifier ce mécanisme.

Dans la dernière décennie, d'autres mécanismes ont été proposés pour raccorder système immunitaire et dysbiose du microbiote intestinal, en particulier dans le cas de l'inflammation métabolique. Les maladies métaboliques sont caractérisées par le développement progressif d'une inflammation de bas grade dans les tissus métaboliques (Bouloumié *et al.*, 2005; Hotamisligil, 2006; Shoelson *et al.*, 2006) tels que le tissu adipeux, le foie, les muscles et les îlots pancréatiques. Des cellules du système immunitaire inné infiltrer les tissus par un mécanisme qui requiert l'expression du récepteur 2 de la chémokine à motif CC (CCR2) par les monocytes circulants, les macrophages tissulaires, ainsi que la production du ligand-2 des chémokines (CCL2) et de MCP1 (*Monocyte Chemoattractic Protein 1*) par des cellules dérivées du tissu adipeux (Weisberg *et al.*, 2006). Les macrophages M1 activés produisent de grandes quantités de TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL6, qui contribuent à la résistance à l'insuline en phosphorylant la kinase c-Jun (JNK) aminoterminal et l'inhibiteur de la sous-unité  $\beta$  (IKK- $\beta$ ) du facteur nucléaire  $\kappa$ B kinase, responsable de la phosphorylation de la sérine de IRS-1 (Tanti *et al.*, 2004; Bloch-Damti *et al.*, 2006). Cette phosphorylation inactive l'IRS, qui réduit la signalisation de l'insuline et déclenche la résistance à l'insuline. Inversement, dans des modèles d'animaux maigres, ce sont les macrophages M2 qui sont alors activés et produisent surtout des cytokines anti-inflammatoires, comme l'IL10, qui maintiennent la sensibilité à l'insuline (Lumeng

*et al.*, 2007a, 2007b). L'équilibre M1/M2 est sous le contrôle des cellules T et B *via* la production des cytokines IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$  qui favorisent M1 ou *via* celle de l'IL4-5-10-13 qui favorise M2. Des données récentes démontrent que le tissu adipeux des souris mises au régime à teneur lipidique élevée est infiltré de cellules immunitaires adaptatives, parmi lesquelles il y a des lymphocytes T (Winer *et al.*, 2009a, 2009b, 2011; Nishimura *et al.*, 2009; Cavallari *et al.*, 2016) et des *natural killers* (NK) (Ohmura *et al.*, 2010). Le rôle déterminant de ces dernières a été démontré en traitant les souris avec de l' $\alpha$ -L-galactosyl-céramide, qui active les cellules T NK et induit l'infiltration du tissu adipeux par des macrophages, ainsi qu'une inflammation et la résistance à l'insuline (Ohmura *et al.*, 2010). L'infiltration par les lymphocytes T était très vraisemblablement spécifique, puisque les cellules T-CD4 du tissu adipeux étaient caractérisées par des répertoires biaisés de récepteurs B V- $\alpha$ , suggérant une expansion spécifique par l'antigène (Winer *et al.*, 2009a, 2009b; 2011; Nishimura *et al.*, 2009; Cavallari *et al.*, 2016). La greffe de lymphocytes CD4 chez les souris obèses diabétiques a inversé la prise de poids et la résistance à l'insuline. Le transfert de ces lymphocytes et le traitement par un anticorps dirigé contre CD3 ou le fragment Fab d'anticorps ont eu le même effet chez des souris déficientes en Rag-1, *i.e.* sans lymphocytes (Winer *et al.*, 2009a, 2009b; 2011). Dans d'autres cas, on a observé que les cellules T-CD8 infiltrer le tissu adipeux des souris obèses, ce qui précède l'accumulation des macrophages (Nishimura *et al.*, 2009). La liaison de cause à effet était claire puisque la déplétion génétique des cellules T-CD8 a réduit l'infiltration macrophagique ainsi que l'inflammation du tissu adipeux et abaissé la résistance à l'insuline systémique (Nishimura *et al.*, 2009). Inversement, le transfert adoptif de cellules T-CD8 à des souris déficientes en CD8 aggrave l'inflammation adipeuse.

Un rôle des cellules B dans l'immuno-métabolisme lié à l'obésité doit aussi être pris en compte, puisque ces cellules infiltrer les dépôts adipeux (Winer *et al.*, 2011). Des données récentes montrent que, dans l'obésité, les cellules immunes sont séquestrées par les tissus du corps, en particulier en réponse à un régime hyperlipidique (Cavallari *et al.*, 2016). Des éléments convergents issus de différents groupes ont montré que la fréquence des cellules produisant l'IL-17 et l'IL-21/22 et d'autres réponses liées à l'IL-17 augmentaient dans le foie et le tissu adipeux alors qu'elles diminuaient de manière spectaculaire dans l'intestin (Cavallari *et al.*, 2016; Garidou *et al.*, 2015); Les cellules B contribuent également à l'inflammation métabolique, et en dernier recours à la résistance à l'insuline, en présentant les antigènes aux cellules T, conduisant ainsi à la production de cytokines

anti-inflammatoires ainsi que d'anticorps IgG pathogènes (Winer *et al.*, 2011). Les cellules B réduisent le nombre de cellules T régulatrices et, en général, contrôlent l'activation des cellules T (DeFuria *et al.*, 2013).

Dans l'ensemble, l'infiltration par des cellules immunes adaptatives, caractérisées par un répertoire spécifique, dans la fraction stromale vasculaire des tissus métaboliques au cours de l'obésité induite par le régime, paraît constituer la première étape vers l'inflammation métabolique. Ceci suggère qu'un antigène spécifique des tissus métaboliques est responsable du répertoire lymphocytaire. L'infiltration secondaire par des cellules immunes adaptatives menant à la production sur site des cytokines inflammatoires IL-1b, TNF $\alpha$  et interféron  $\gamma$  crée un cercle vicieux. Pourtant des antigènes inconnus s'accumulent dans les tissus, qui rencontrent des cellules de l'immunité innée résidentes (Cousin *et al.*, 2003); celles-ci pourraient éduquer les cellules immunes adaptatives, menant à la production de chémokines. Des monocytes et des macrophages spécifiquement sensibles à ces molécules seraient attirés par les chémokines des tissus et renforceraient encore l'inflammation tissulaire. Un problème clé est d'identifier les antigènes qui s'accumulent dans les tissus.

Des données récentes de notre laboratoire suggèrent que des fragments bactériens provenant du microbiote intestinal pourraient se transloquer dans les tissus et initier l'inflammation métabolique (Burcelin *et al.*, 2012). Nous avons observé que des lipopolysaccharides (LPS) issus de bactéries intestinales Gram négatives s'accumulent dans le sang des souris nourries d'un régime riche en graisses, chez lesquelles ils provoquent un état d'endotoxémie métabolique (Cani *et al.*, 2007). Il est remarquable que les profils endotoxémiques suivent un cycle nyctéméral, au cours duquel la concentration des LPS plasmatiques est au plus haut à la fin du repas et au plus bas pendant la période de repos, correspondant ainsi aux modifications de la prolifération bactérienne après les repas. Nous avons ensuite validé le fait que des individus apparemment en bonne santé, nourris avec un régime riche en graisses plutôt qu'avec un régime riche en sucres et en protéines, avaient une concentration plus grande en LPS sanguins (Amar *et al.*, 2008); les individus diabétiques de type 2 ou dyslipidémiques ont eux aussi de fortes concentrations de LPS dans le sang (Lassenius *et al.*, 2011). Le rôle causal de l'endotoxémie métabolique dans le développement de la maladie métabolique a été montré pour la première fois quand une infusion chronique de LPS à bas niveau pendant un mois a été réalisée chez la souris (Cani *et al.*, 2007). Une résistance hépatique à l'insuline, une hyperglycémie, et une réduction de la sécrétion insulinaire induite par le glucose ont été

provoquées par l'infusion de LPS. De plus, le gain de poids corporel et la prolifération du tissu adipeux précurseur dépendaient directement du déclenchement d'un mécanisme lié à CD14 (Luche *et al.*, 2013), associé à l'activation locale de la prolifération macrophagique dans le tissu. Cette observation fut ensuite confirmée *in vivo* à l'aide d'un *bolus* intraveineux de lipopolysaccharides (4ng /kg), qui causa une augmentation rapide et constante des niveaux de pyruvate interstitiel, de lactate sérique et de glycérol 90 minutes après le traitement, démontrant l'impact métabolique des LPS chez l'Homme. Les endotoxines peuvent être absorbées pendant la synthèse de chylomicrons par l'intestin (Ghoshal *et al.*, 2009) et représentent les molécules bactériennes les plus inflammatoires produites par les bactéries, bien que leur synthèse requière plus de 20 gènes (Schnaitman & Klena, 1993). De plus, selon que leur structure est hexa- ou penta-mérique, les LPS peuvent respectivement lancer ou inhiber la production de cytokines induite par TLR4/CD14 (D'Hauteville *et al.*, 2002). L'activité inflammatoire des molécules de LPS peut être réduite par le CD14 circulant (Wright *et al.*, 1990; Schutt *et al.*, 1992; Grunwald *et al.*, 1993; Haziot *et al.*, 1995) et par les protéines liant les LPS (Schumann *et al.*, 1990), qui sont sécrétées par les cellules immunitaires (Wright *et al.*, 1990) et les adipocytes (Kitchens & Thompson, 2005; Jialal *et al.*, 2015), contrôlant ensuite l'inflammation et la résistance à l'insuline (Fernandez-Real *et al.*, 2003; Moreno-Navarrete *et al.*, 2012). Les LPS peuvent aussi être transportés par les lipoprotéines vers les cellules adipeuses (Morel *et al.*, 1986), où ils agissent comme tampon sur leur activité pro-inflammatoire (Mazière *et al.*, 1999). Cependant les LPS peuvent aussi oxyder les lipoprotéines et induire la production d'anions superoxyde, stimulant encore plus l'inflammation (Harris *et al.*, 2000; Kitchens *et al.*, 2001). Un processus impliquant sCD14 et une lipase de lipoprotéines, pour libérer les acides gras libres (Kitchens *et al.*, 2001; Gupta *et al.*, 2005) et échanger l'apoprotéine entre les lipoprotéines, pourrait être considéré comme un régulateur de l'inflammation (Rensen *et al.*, 1997; Chaby, 2004; Yan *et al.*, 2006). Les chylomicrons peuvent être utilisés pour tamponner les LPS et réduire l'inflammation (Kasravi *et al.*, 2003; Vreugdenhil *et al.*, 2003), ce qui a été démontré par l'activation de NF $\kappa$ B sur des hépatocytes de rat. Nous avons observé chez des patients diabétiques de type 2 que les taux sériques de LPS n'étaient pas différents de ceux des témoins, mais que la distribution des LPS dans les deux groupes n'étaient pas la même (Vergès *et al.*, 2014). Les patients diabétiques de type 2 avaient des taux de LP-VLDL et de LPS libres (non liés aux lipoprotéines) plus hauts mais des taux de LPS- LDL plus bas, présentant ainsi une dysrégulation des échanges entre lipoprotéines. Chez

l'Homme, les LPS libres sont transférés d'abord aux HDL et ensuite aux VLDL, alors que la fraction des LDL liés aux LPS est dérivée surtout du catabolisme des VLDL, qui pourrait représenter une voie catabolique des LPS, altérée chez les patients diabétiques de type 2 et responsable d'inflammation. Dans l'ensemble l'homéostasie des LPS et son rôle dans l'induction de l'inflammation est subtile et, sans aucun doute, contrôlée par de nombreux facteurs. Une mesure isolée des LPS plasmatiques ne peut permettre de les considérer ni comme pro- ni comme anti-inflammatoires si l'on ne prend pas en compte les protéines liant les LPS et l'environnement cellulaire.

Une perméabilité intestinale altérée est donc responsable d'une translocation bactérienne plus active. Plusieurs mécanismes sont susceptibles de déclencher une migration bactérienne aiguë, comme l'ont démontré les suites d'irradiations uniques (Paulos *et al.*, 2007). En conséquence, le simple déplacement de bactéries ou de composés bactériens comme des peptidoglycane ou des LPS pourrait réveiller le système immunitaire inné. Dans une situation homéostatique, la réaction inflammatoire correspondante dans les tissus peut augmenter la vigilance, favorisant les mécanismes de défense contre une prolifération tumorale (Paulos *et al.*, 2007). Toutefois, dans des conditions non homéostatiques, par exemple pendant la maladie métabolique, les paramètres détournés vers un mécanisme délétère sont responsables d'une altération chronique de la perméabilité intestinale, menant à une translocation permanente de bactéries et de facteurs bactériens vers les tissus, et initiant éventuellement un processus inflammatoire de longue durée. Cette inflammation chronique pourrait contrecarrer l'action et la sécrétion de l'insuline, avec pour corollaire le diabète et l'obésité (Bassols *et al.*, 2009).

Comme on l'a vu plus haut, un régime riche en graisses altère la perméabilité intestinale (Moreira *et al.*, 2012) par des mécanismes qui modifient l'expression de gènes codant pour des protéines impliquées dans la jonction serrée des cellules épithéliales (Cani *et al.*, 2008). Les occludines font partie de ces protéines dont l'expression et la phosphorylation dans l'intestin sont dégradées, avec pour conséquence éventuelle une translocation para-cellulaire de composants bactériens (Sakakibara *et al.*, 1997). L'insuline régule la phosphorylation des protéines du cytosquelette en activant la kinase de la chaîne légère de la myosine, ce qui favorise un défaut d'étanchéité de l'intestin pendant et après un repas (Cao *et al.*, 2013). Des fragments bactériens pourraient donc se transloquer physiologiquement de l'intestin à la circulation systémique vers les tissus. Par conséquent, la qualité et la quantité des molécules bactériennes transloquées pourraient dépendre de la composition du microbiote intestinal. Si celui-ci est

dysbiotique, cela peut conduire à la translocation de bactéries ou de fragments évalués différemment par l'hôte. Phénomène important, au travers de jonctions serrées dégradées, les cellules dendritiques peuvent échantillonner les bactéries de la muqueuse et transloquer des bactéries vivantes intracellulaires vers les tissus (Rescigno *et al.*, 2001). Ce passage de bactéries bien vivantes de l'intestin aux tissus a été souvent décrit (Berg, 1995), par exemple dans la réponse à un état d'immunodéficience (Berg *et al.*, 1988), lors de stress tissulaires majeurs (Moore *et al.*, 1991), lors du syndrome inflammatoire de l'intestin court (Stoidis *et al.*, 2011), lors d'infections (Koh *et al.*, 2006) et lors de la destruction des cellules des îlots de Langerhans induite par la streptozotocine (Imai & Kurihara, 1984). Nous avons démontré chez des souris soumises à un régime gras que, lorsque des souris diabétiques obèses sont gavées avec des bactéries marquées à la GFP, celles-ci peuvent atteindre le dépôt adipeux dans les deux heures qui suivent l'administration (Amar *et al.*, 2011) (Fig. 2). Ces souris étant construites avec une résistance à l'ampicilline, des *colony-forming units* ont poussé dans les boîtes contenant cet antibiotique, ce qui démontrait que des bactéries vivantes venues de l'intestin avaient bien atteint le tissu (Amar *et al.*, 2011). Ce processus était médié par des cellules exprimant le récepteur NOD 1 (*Nucleotide-binding Oligomerization Domain*); en effet la délétion du gène correspondant au récepteur de Nod 1 bloquait la translocation des bactéries et le développement de la maladie métabolique. De plus, dans d'autres cas, des agents immunosuppresseurs, tels que la cyclophosphamide, inhibaient la translocation depuis le tractus digestif vers les ganglions lymphatiques mésentériques, et réduisaient le nombre des cellules lymphoïdes, plus particulièrement des cellules B, dans les plaques de Peyer, les ganglions mésentériques et la rate, suggérant un rôle de ces cellules dans le processus de translocation (Suzuki *et al.*, 1996).

L'importance physiologique ou délétère du processus de translocation bactérienne dans le développement de la maladie métabolique est encore à déterminer. Des données démontrent que l'effet bénéfique de cette translocation est lié au développement de la réponse immunitaire intestinale par l'interaction physiologique entre les bactéries et l'hôte (Koh *et al.*, 2006; Salzedas-Netto *et al.*, 2006). L'effet bénéfique implique la dégradation de la muqueuse par des bactéries comme les probiotiques (Abe *et al.*, 2010), qui augmentent la défense intestinale de l'hôte contre l'extension éventuelle de l'invasion qui conduirait au passage de bactéries délétères vers les tissus. Les mécanismes de la translocation comportent l'identification des bactéries par l'hôte à l'aide de récepteurs des patterns associés aux microbes, comme NOD (Barreau *et al.*, 2010).



Dans la maladie métabolique induite par un régime gras, nous avons démontré le rôle protecteur de NOD2 vis-à-vis du contrôle de la glycémie et de la résistance à l'insuline (Denou *et al.*, 2015), et le rôle délétère de NOD1 qui favorise la translocation des bactéries (Denou *et al.*, 2015). Lorsqu'ils se lient à NOD2 exprimé par des cellules immunitaires innées, des résidus de peptidoglycanes bactériens spécifiques empêchent la translocation des fragments bactériens. Il est très probable que les cellules immunitaires restent dans la région entérique et dégradent les bactéries *in situ*. Certains probiotiques peuvent contenir la maladie métabolique (Stenman *et al.*, 2014) et on leur a attribué un rôle dans le contrôle de la translocation bactérienne et dans la défense de la muqueuse (Osman *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006; Stoidis *et al.*, 2010), bien que les mécanismes n'aient pas encore été élucidés. Le mécanisme invoqué à l'heure actuelle impliquerait une restauration de la fréquence des cellules intestinales Th17 (Garidou *et al.*, 2015).

Tout bien considéré, la translocation de fragments bactériens et de bactéries vivantes vers les tissus par le biais d'une perméabilité intestinale dégradée est un mécanisme physiologique qui, s'il est dérégulé, conduirait à un état d'inflammation chronique, de résistance à l'insuline, de prolifération du tissu adipeux et de maladie métabolique. Ce paradigme dépend étroitement de la défense intestinale, notamment exercée par les cellules immunitaires et épithéliales, qui joue un rôle de sentinelle, réglant le flux de déterminants bactériens, agissant sur l'hôte et déclenchant une réponse appropriée. Une telle fonction impliquerait également que les bactéries et les fragments de bactéries puissent être identifiés dans les tissus et y avoir un rôle, définissant le « microbiote tissulaire ».

### **Le microbiote tissulaire : un changement de paradigme par rapport au rôle régulateur de l'intestin dans les maladies métaboliques**

Comme cela a été mentionné dans l'introduction, l'hypothèse de l'holobionte considère l'ensemble organisme et microbiome. Un des microbiomes découverts est le « microbiome tissulaire », ce qui établit que des bactéries vivantes, ainsi que des fragments bactériens résident dans les tissus de l'hôte et pourraient réguler leur fonctionnement. Ces dernières années, nous avons mis au point une procédure qui permet, bien au-delà des contaminants issus des réactifs expérimentaux, de quantifier et de séquencer le rADN16S des tissus hôtes (Lluch *et al.*, 2015; Paissé *et al.*, 2016); À partir du sang de patients prélevé avant l'initiation d'un diabète de type 2 (Amar *et al.*, 2011)

ou d'une défaillance cardiaque (Amar *et al.*, 2013), nous avons caractérisé et quantifié l'accumulation de séquences d'un rADN16s particulier qui définissent des signatures spécifiques prédictives de ces deux maladies 3 à 6 ans avant leur survenue. Ces données démontraient qu'une translocation bactérienne altérée pouvait mener à une maladie métabolique mais n'en était pas la conséquence. Des lots de bactéries Gram négatives, telles que des membres de la famille des Burkholderiaceae, s'accumulent dans la fraction vasculaire stromale de patients en surpoids ou obèses porteurs d'un diabète de type 2, de manière presque proportionnelle à l'index de poids corporel de ceux-ci (Burcelin *et al.*, 2013). Remarquablement, les signatures des microbiotes tissulaires dépendent du tissu considéré, puisque différents tissus de la même souris abritent des signatures d'ADN bactérien qui leur sont spécifiques (Lluch *et al.*, 2015; Paissé *et al.*, 2016). L'ADN bactérien du tissu adipeux viscéral ressemble étroitement à celui des microbiotes fécal et cœcal, alors que les séquences d'ADN16s du cœur, du foie, des muscles et même du cortex cérébral, sont caractérisées par des signatures très différentes (Lluch *et al.*, 2015; Paissé *et al.*, 2016). L'impact des microbiotes tissulaires, et notamment des bactéries gram négatives, sur les préadipocytes a été étudié, et les LPS de ces microbiotes se révélèrent induire une prolifération de ces cellules ainsi que des macrophages dépendante de CD14 (Luche *et al.*, 2013). En présence d'un excès d'énergie, les préadipocytes se différencient en adipocytes, qui contribuent au développement de l'obésité (Luche *et al.*, 2013). Simultanément, les macrophages du tissu adipeux sont activés et produisent des cytokines, qui induisent une résistance à l'insuline et un diabète de type 2. Il faudra encore beaucoup de travail pour comprendre les mécanismes moléculaires par lesquels le microbiote tissulaire régule le fonctionnement de l'hôte, mais ce paradigme indique certainement le chemin de cette découverte. De plus, des stratégies pharmacologiques visant à réduire l'impact du microbiote tissulaire sur le fonctionnement du tissu hôte devraient permettre de contrôler des développements pathologiques, tels que la résistance à l'insuline, l'obésité, la stéatose hépatique et la fibrose, pour n'en citer que quelques-uns.

### **Le système immunitaire intestinal protège l'hôte de la dysbiose des microbiotes intestinal et tissulaire : des candidats pour la maladie métabolique**

Le meilleur moyen pour contrôler les changements d'écologie microbienne intestinale qui conduisent à un microbiote dysbiotique délétère est certainement de mettre en place une défense intestinale. Cette défense

doit être capable de contrebalancer la présence d'une famille de bactéries dominante, non homéostasique comme les Protéobactéries, dont la fréquence dans l'intestin, surtout dans la muqueuse, s'accroît en réponse à un régime riche en graisses. Cette défense pourrait également empêcher les bactéries commensales elles-mêmes de se transloquer en grand nombre vers les tissus. Cette première ligne de défense est fondée sur la sécrétion de peptides anti-microbiens (PAM), appelés défensines, par les cellules épithéliales intestinales. Ces défensines sont codées par des gènes multiples, étroitement homologues, notamment dans le jéjunum et l'iléon, répondant à la colonisation par le microbiote intestinal pendant toute la vie (Vora *et al.*, 2004). En réponse aux pathogènes ou aux commensaux dans la couche muqueuse, qui ne sont pas tolérés par le système immunitaire de l'hôte, les cellules épithéliales sécrètent des peptides anti-microbiens. Les cellules épithéliales, c'est-à-dire les cellules de Paneth, reconnaissent les patterns moléculaires associés aux microbes (PMAB) par l'intermédiaire des récepteurs aux PMAB, TLR2,4,5,9, des *Nod-Like Receptors* (NLR) et d'autres molécules RIG, pour en citer quelques-uns. Les cellules épithéliales sécrètent des défensines,  $\alpha$ ,  $\beta$ -défensine 2,5 et le lysozyme (Vora *et al.*, 2004; Menendez *et al.*, 2013) qui se raréfient chez les patients obèses (Hodin *et al.*, 2011). La voie intracellulaire TLR-MYD88 est impliquée et peut être activée par des probiotiques comme les lactobacilles après traitement antibiotique chez la souris (Menendez *et al.*, 2013), pour restaurer un certain niveau de défense. Les patients diabétiques de type 2 sont caractérisés par un changement dans l'expression de certains PAM dans le tractus digestif, y compris dans le tissu périodontal (Yilmaz *et al.*, 2015), par des mécanismes qui impliquent l'expression de My88 dans les cellules épithéliales intestinales (Everard *et al.*, 2014). Chez les individus obèses, un changement dans les défensines  $\alpha$ , en particulier la défensine  $\alpha 5$  (Hodin *et al.*, 2011), a été observé. Les individus sévèrement obèses montrent des niveaux protéiques abaissés de HD5 et du lysozyme, tandis que le nombre des cellules de Paneth reste inchangé; les niveaux de lysozyme sont inversement corrélés à ceux de l'index de masse corporelle (BMI).

Une seconde ligne de défense consiste en la production d'IgA qui peuvent traverser la barrière épithéliale de l'hôte vers le microbiote de telle sorte que chaque bactérie est entièrement enrobée d'immunoglobuline, ce qui bloque probablement la translocation bactérienne (Pabst *et al.*, 2016). L'émission d'IgA à la naissance est la conséquence de la production, par les facteurs microbiens de l'intestin, des ligands du récepteur des aryle-hydrates de carbones (Ahr) comme les indoles (Culbreath *et al.*, 2015). Les souris KO correspondantes sécrètent moins d'immu-

noglobulines, et leur barrière intestinale est altérée. Des IgA peuvent être fournies par le lait maternel (Rogier *et al.*, 2014) et protègent l'hôte jusqu'à ce que les défenses intestinales se soient convenablement développées. De même, la production des IgA protégeant contre la dysbiose du microbiote intestinal induites par un régime riche en lipides peut être améliorée par des polyphénols comme le revastrol (Taira *et al.*, 2015), qui renforce la barrière intestinale. Les immunoglobulines liées à la surface des bactéries constituent également un excellent signal pour que la cellule immune intestinale reconnaisse les bactéries et devienne phagocytaire.

Une troisième ligne de défense est représentée par les cellules immunitaires innées et adaptatives; elle a été discutée ailleurs (McPhee & Schertzer, 2015) (Fig. 2). On considérera ici les résultats nouveaux. Les maladies métaboliques sont associées à des changements cellulaires dans le compartiment immunitaire inné de l'intestin (Burcelin *et al.*, 2012). Les macrophages, les cellules dendritiques, et les polynucléaires neutrophiles sont des répondeurs rapides, qui peuvent capturer non spécifiquement les fragments bactériens et les bactéries qui se sont transloquées de la muqueuse à la *lamina propria* ou aux plaques de Peyer. Aucune variation spectaculaire dans la fréquence des macrophages et des cellules dendritiques dans l'intestin n'a été décrite (Garidou *et al.*, 2015). Une modification de leur fonction, comme une co-activation, est soupçonnée. Une sous-population de cellules dendritiques, exprimant le récepteur de chimiokines CX3CR1 activable par la fractaline, et formant des dendrites transépithéliales qui permettent aux cellules d'échantillonner directement les antigènes luminaux, peut peupler la *lamina propria* de l'intestin (Niess *et al.*, 2005). Ces cellules pourraient avoir une importance majeure, car elles favorisent la translocation des bactéries de la muqueuse à la *lamina propria* par un mécanisme dépendant de MyD88 (Hapfelmeier *et al.*, 2010). Il est à noter que la déplétion du gène MyD88, spécifiquement dans l'épithélium, contrôle l'obésité (Everard *et al.*, 2014), suggérant que cette voie de signalisation pourrait être importante aussi bien dans les cellules dendritiques que dans les cellules épithéliales pour le contrôle de la maladie métabolique.

De plus, un rôle important dans le développement des tissus lymphoïdes a été attribué aux cellules lymphoïdes innées (ILC, pour *Innate Lymphoid Cell*) ainsi que, plus récemment, dans l'initiation de l'inflammation aux surfaces barrières, notamment à la barrière épithéliale intestinale, en réponse à l'infection ou aux blessures tissulaires (McKenzie *et al.*, 2014). Les cellules lymphoïdes innées sont des cellules immunitaires qui n'expriment pas de TCR spécifiques contre un antigène précis et ne subissent ni sélection clonale

ni amplification lorsqu'elles sont stimulées (Eberl, 2012) (Fig. 2). Les ILC constituent une première ligne de défense lymphoïde, qui répondent rapidement aux agressions bactériennes et aux blessures tissulaires en démarrant la production d'AMP et la réaction immunitaire locale généralisée (Eberl, 2012). Ce mécanisme est lié à la production d'un grand nombre de cytokines telles que l'IL6, l'IL7, l'IL22, le GM-*Colony Stimulating Factor* et le TNF. Parmi celles-ci, il est clair que l'IL22 déclenche la production d'AMP et est donc un régulateur direct d'une défense intestinale non spécifique (Wang *et al.*, 2014), par exemple dans la maladie métabolique. Le récepteur nucléaire hormonal orphelin  $\gamma$ -t (ROR $\gamma$ t) apparenté aux rétinoïdes induit un programme pro-inflammatoire dans les cellules lymphoïdes, les amenant à se différencier en ILC1, 2 ou 3. Les ILC3 sont très abondantes dans l'intestin et assurent la réponse aux bactéries, comme par exemple aux commensales, qui adhèrent à la couche muqueuse des cellules épithéliales intestinales puis se transloquent à travers la *lamina propria* intestinale pendant le développement de la maladie métabolique (Fig. 2). Les ILC2 réagissent aux parasites. Il est à noter que les ILC3 sécrètent de l'IL22 et de l'IL17, qui pourraient cibler les cellules épithéliales et augmenter la sécrétion des peptides anti-microbiaux (PAM), apportant une protection non spécifique contre les commensales. De plus, une fonction des ILC est de réguler les cellules T-CD4 adaptatives, comme l'ont montré les stratégies génétiques ou les stratégies de déplétion médiées par les anticorps pour cibler les ILC murines en présence d'un système immunitaire adaptatif (Eberl *et al.*, 2015). Les ILC expriment les antigènes de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité et peuvent traiter et présenter l'antigène (Hepworth *et al.*, 2013), mais elles limitent les réponses des cellules T-CD4 spécifiques des bactéries commensales plutôt que d'induire la prolifération de cellules T, ce qui atténue l'inflammation intestinale. Cette étude importante démontre que les ILC maintiennent l'homéostasie par des interactions dépendantes du CMHII avec les cellules T-CD4 qui restreignent les réponses pathologiques des cellules immunitaires adaptatives aux bactéries commensales. Par conséquent, une homéostasie intestinale déficiente, et donc une défense déficiente, pourraient être à l'origine de la maladie métabolique. Cette hypothèse est appuyée par des données récentes, qui montrent que les rongeurs obèses sont caractérisés par une réduction d'IL22, responsable d'une diminution des cellules lymphoïdes innées (Wang *et al.*, 2014). Cette réduction semble être une cause de la maladie puisque les souris IL22 KO ne présentent pas de phénotype métabolique. Et pourtant, un traitement chronique à l'IL22 améliore le phénotype métabolique et divers aspects immunologiques dans

l'intestin (Wang *et al.*, 2014). D'autres analyses ont pointé une production réduite d'IL22 en réponse au régime riche en lipides et à l'endotoxémie métabolique (Luck *et al.*, 2015).

Une autre fonction des ILC est de réguler les lymphocytes Treg, qui exercent une activité anti-inflammatoire par la sécrétion d'IL10 (Qiao *et al.*, 2013). Les Treg étant sous le contrôle du GM-CSF (van den Hout *et al.*, 2016), les ILC représentent la source primaire de GM-CSF dans l'intestin (Pearson *et al.*, 2016), et puisque la production de ce facteur induite par les ILC dépend de la capacité des macrophages à capter les signaux microbiens et à produire de l'interleukine-1 $\beta$  (Mortha *et al.*, 2014) il a été suggéré que les microbes commensaux promeuvent un dialogue entre les cellules myéloïdes et les cellules lymphoïdes innées, qui induit une homéostasie immunitaire dans l'intestin (Pearson *et al.*, 2016; Mortha *et al.*, 2014). Puisque les fonctions effectrices des phagocytes mononucléés sont altérées et le nombre de Treg réduit chez les souris déficitaires en GM-CSF, ces cellules pourraient avoir un rôle dans la translocation des bactéries vers les tissus. Les ILC peuvent être sous le contrôle des cellules dendritiques, des résultats récents étayant la notion que des sous-groupes distincts de cellules dendritiques classiques agissent sur les ILC et les cellules T de manière similaire pour promouvoir soit les réponses ILC1/Th1/CTL, soit les réponses ILC3/Th17 (Murphy, 2013). Les cellules dendritiques régulent une première commutation de l'expression de leurs récepteurs de *homing* (de lymphoïde vers intestinale), qui permet aux ILC1 mais pas aux ILC2 de s'installer dans l'intestin (Kim *et al.*, 2015). Cette fonction pourrait ne s'exercer qu'en présence de l'acide rétinoïque intestinal tissu-spécifique (Kim *et al.*, 2015).

Par conséquent, un ensemble hiérarchisé de réponses à une variation des bactéries commensales de la muqueuse comprendrait la reconnaissance des PAM par les cellules épithéliales et les phagocytes, c'est-à-dire les cellules dendritiques, qui pourraient réguler les ILC, qui, à leur tour, activeraient les lymphocytes T et renforceraient la sécrétion d'AMP par les cellules épithéliales (Murphy, 2013). Dans la même mouvance, d'autres cellules lymphoïdes innées considérées comme des « cellules T invariantes associées à la muqueuse » (MAIT) sont présentes principalement dans des épithéliums comme celui de l'intestin (Huang *et al.*, 2009). Elles sont également impliquées dans la réponse rapide aux microbiotes (Salerno-Goncalves *et al.*, 2014), générant de l'inflammation par le biais d'une production de cytokines, notamment quand elles reconnaissent des molécules issues de microbiotes, comme les dérivés de la riboflavine. Leur récepteur de classe I non polymorphe MR1 assure cette fonction. Il faut mentionner que, les travaux sur ces cellules étant

rare, d'autres études sont encore nécessaires. Jusqu'à présent, les patients obèses étaient caractérisés par une fréquence réduite de MAIT circulantes (Magalhaes *et al.*, 2015, Apostolopoulos *et al.*, 2016). Les MAIT sont plus abondantes dans le tissu adipeux que dans le sang des patients obèses et montrent un profil IL-17 évident, qui est partiellement inversé par la chirurgie bariatrique. Il faut donc des analyses complémentaires pour identifier la fréquence et la fonction des MAIT dans l'intestin.

Un important corpus de données démontre le rôle essentiel des lymphocytes T dans le contrôle de la défense intestinale contre le microbiote commensal (Fig. 2). Dans l'intestin, les lymphocytes T- $\gamma\delta$  sont les cellules T prédominantes et leur fréquence s'accroît dans le côlon lors de l'évolution de la maladie métabolique (Luck *et al.*, 2015). Mais leur répertoire se restreint et ils ne répondent pas à la stimulation du CMH, ce qui pose la question de leur rôle en réaction à une dysbiose du microbiote intestinal. Pourtant leur fréquence reste inchangée, chez la souris (Garidou *et al.*, 2015) et l'humain obèse (Monteiro-Sepulveda *et al.*, 2015), dans l'intestin grêle qui est le site majeur, sinon le seul, de translocation bactérienne observée pendant la maladie métabolique induite par un régime riche en lipides (Amar *et al.*, 2011). Inversement la fréquence des lymphocytes T- $\alpha\beta$  s'est trouvée dramatiquement réduite dans la *lamina propria* de l'iléon de ces souris nourries de graisses après une semaine seulement de ce régime, indiquant que ce dérèglement est la cause et non la conséquence de la maladie métabolique (Garidou *et al.*, 2015). La responsabilité d'une baisse de fréquence des cellules productrices d'IL17 a été démontrée chez des souris ROR $\gamma\tau$  KO, qui développent spontanément, avec le temps, une intolérance au glucose, lorsqu'elles reçoivent un régime alimentaire normal. Leur phénotype métabolique dépendait, au moins en partie, de l'absence de cellules Th17, car le transfert de leurs cellules spléniques, qui ne comportent pas d'ILC, à des souris naïves, induit l'hyperglycémie (Garidou *et al.*, 2015). L'hyperglycémie induite par la déficience en Th17 et la dégradation de la défense intestinale étaient la cause de la dysbiose du microbiote tissulaire et de l'inflammation tissulaire conduisant à la résistance à l'insuline (Garidou *et al.*, 2015). En effet la co-activation phagocytes/lymphocytes était réduite. Des analyses par microarrays de cellules CD45/CMHII/CD4+ et de cellules CD3/TCR/CD4+ ont montré une expression réduite des gènes impliqués dans la co-activation. De plus, d'autres travaux ont montré que le régime riche en graisses réduisait la fréquence des cellules Treg dans le côlon (Luck *et al.*, 2015). Résultat important, la réduction de fréquence des cellules Th1 pro-inflammatoires apparaît dès trois semaines de régime, mais de manière transitoire, cette

fréquence se normalisant après 12 semaines de régime (Luck *et al.*, 2015). Il faut noter dans cette étude que la fréquence des cellules Th17 dans l'intestin grêle et dans le côlon n'a pas été modifiée par le régime. Il faudra encore caractériser précisément l'impact du régime hyperlipidique sur la population de lymphocytes T intestinale. Des différences dans cet impact sur le microbiote intestinal pourraient être responsables des anomalies constatées. Le rôle important de la dysbiose du microbiote dans l'affaiblissement de la défense intestinale pendant le régime hyperlipidique a été démontrée par la colonisation de souris axéniques avec des microbiotes fécaux. Deux semaines après la colonisation, les souris receveuses ont développé une intolérance au glucose et une réduction de la fréquence des cellules Th17 dans la *lamina propria*. La signature principale du microbiote dysbiotique induit par le régime hyperlipidique était la rarefaction des Porphyromonadacées, dont on sait qu'elle induit les Th17. Le traitement chronique des souris mises au régime hyperlipidique avec un microbiote tissulaire symbiotique, *i.e.* un mélange de *Bifidobacterium animalis lactalis* 420 et d'un polydextrose, a modifié la dysbiose et restauré la défense intestinale et le contrôle de la translocation bactérienne, rétablissant un microbiote tissulaire eubiotique. Le microbiote intestinal eubiotique des souris sous régime hyperlipidique traitées par un symbiotique (association entre un probiotique et un prébiotique), transféré à des souris axéniques, a augmenté la fréquence des cellules produisant l'IL17 et amélioré le contrôle de la glycémie. Dans l'ensemble, la dysbiose du microbiote intestinal était responsable d'une altération précoce de la co-activation des lymphocytes par les macrophages.

Les mécanismes moléculaires induits par le microbiote intestinal, qui diminuent la co-activation, pourraient avoir une origine épithéliale. Des signalisations comme celle de la fractaline pourraient être affaiblies, ce qui pourrait réduire la capacité de co-activation de la cellule présentatrice d'antigène. Des variants du gène du récepteur CX3CR1 de la fractaline sont associés au diabète (Garidou *et al.*, 2015; Bagci *et al.*, 2016), de même qu'à des maladies métaboliques apparentées comme l'athérosclérose (Golbus *et al.*, 2016). Chez les rongeurs, le défaut de CX3CR1 est associé à une tolérance au glucose et à une sensibilité à l'insuline améliorées lors d'un clamp hyperinsulinémique-euglycémique (Shah *et al.*, 2015). D'autres hypothèses impliquent l'impact délétère de métabolites bactériens sur le métabolisme énergétique des cellules présentatrices d'antigènes. Pour essayer d'y voir clair, nous avons mis en œuvre une stratégie vaccinale, utilisant des extraits bactériens de la muqueuse d'iléons de souris rendues diabétiques par un régime hyperlipidique (Pomié *et al.*, 2016). Des souris saines naïves ont reçu une injection sous-cutanée d'extraits bactériens



de souris diabétiques pour déclencher et éduquer leur système immunitaire adaptatif; 45 jours plus tard, les souris ont reçu le régime gras. Dans ces conditions, les souris vaccinées ont été protégées du développement de l'hyperglycémie (Pomié *et al.*, 2016). Le transfert de splénocytes de souris vaccinées à des souris naïves leur a conféré une résistance à la maladie métabolique induite par le régime, démontrant le rôle du système immunitaire adaptatif. Il est intéressant de constater que la dysbiose microbienne intestinale a été contrôlée par la stratégie vaccinale, qui augmente la concentration des immunoglobulines circulantes et fécales.

## Conclusion

La maladie métabolique est à l'orée d'une compréhension nouvelle. Quiconque décide de l'étudier devra examiner en profondeur la diversité du microbiote intestinal et des réponses immunes. Des stratégies thérapeutiques, qu'elles soient pharmacologiques ou nutritionnelles, devraient très vraisemblablement émerger dans la prochaine décennie. Puisqu'il est maintenant clairement démontré que le système immunitaire adaptatif est engagé dans le combat contre la dysbiose du microbiote intestinal, on pourrait imaginer de développer une stratégie vaccinale spécifique assurant une défense intestinale efficace contre le microbiote dysbiotique. De telles stratégies devraient inclure la notion de biomarqueurs de la dysbiose microbienne intestinale, qui permettraient de classer les patients selon leur pathologie et selon l'efficacité des médicaments.

## Références

- Abe, F., Muto, M., Yaeshima, T., Iwatsuki, K., Aihara, H., Ohashi, Y., Fujisawa, T., (2010). Safety evaluation of probiotic bifidobacteria by analysis of mucin degradation activity and translocation ability. *Anaerobe*, 16, 131-136.
- Amar, J., Burcelin, R., Ruidavets, J. B., Cani, P. D., Fauvel, J., Alessi, M. C., Chamontin, B., Ferrières, J., (2008). Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr*, 87, 1219-1223.
- Amar, J., Chabo, C., Waget, A., Klopp, P., Vachoux, C., Bermudez-Humaran, L. G., Smirnova, N., Bergé, M., Sulpice, T., Lahtinen, S., Ouwehand, A., Langella, P., Rautonen, N., Sansonetti, P. J., Burcelin, R., (2011). Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes : molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med*, 3, 559-572.
- Amar, J., Lange, C., Payros, G., Garret, C., Chabo, C., Lantieri, O., Courtney, M., Marre, M., Charles, M. A., Balkau, B., Burcelin, R., (2013). Blood microbiota dysbiosis is associated with the onset of cardiovascular events in a large general population : the D.E.S.I.R. study. *PLoS One*, 8, e54461.
- Apostolopoulos, V., de Courten, M. P., Stojanovska, L., Blatch, G. L., Tangalakis, K., de Courten, B., (2016). The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Mol Nutr Food Res*, 60, 43-57.
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J. M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., Kurokawa, K., Leclerc, M., Levenez, F., Manichanh, C., Nielsen, H. B., Nielsen, T., Pons, N., Poulain, J., Qin, J., Sicheritz-Ponten, T., Tims, S., Torrents, D., Ugarte, E., Zoetendal, E. G., Wang, J., Guarner, F., Pedersen, O., de Vos, W. M., Brunak, S., Doré, J., Antolin, M., Artiguenave, F., Blottière, H. M., Almeida, M., Bréchet, C., Cara, C., Chervaux, C., Cultrone, A., Delorme, C., Denariáz, G., Dervyn, R., Foerstner, K. U., Friss, C., van de Guchte, M., Guedon, E., Haimet, F., Huber, W., van Hylckama-Vlieg, J., Jamet, A., Juste, C., Kaci, G., Knol, J., Lakhdari, O., Layec, S., Le Roux, K., Maguin, E., Mérieux, A., Melo Minardi, R., M'Rini, C., Muller, J., Oozeer, R., Parkhill, J., Renault, P., Rescigno, M., Sanchez, N., Sunagawa, S., Torrejon, A., Turner, K., Vandemeulebroeck, G., Varela, E., Winogradsky, Y., Zeller, G., Weissenbach, J., Ehrlich, S. D., Bork, P. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473, 174-180.
- Backhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., Semenkovich, C. F., Gordon, J. I., (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101, 15718-15723.
- Bagci, B., Bagci, G., Huzmeli, C., Sezgin, I., Ozdemir, O., (2016). Associations of fractalkine receptor (CX3CR1) and CCR5 gene variants with hypertension, diabetes and atherosclerosis in chronic renal failure patients undergoing hemodialysis. *Int Urol Nephrol*, 48, 1168-1170.
- Bassols, J., Ortega, F. J., Moreno-Navarrete, J. M., Peral, B., Ricart, W., Fernandez-Real, J. M., (2009). Study of the proinflammatory role of human differentiated omental adipocytes. *J Cell Biochem*, 107, 1107-1117.
- Berg, R. D., (1995). Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends Microbiol*, 3, 149-154.
- Berg, R. D., Wommack, E., Deitch, E. A., (1988). Immunosuppression and intestinal bacterial overgrowth synergistically promote bacterial translocation. *Arch Surg*, 123, 1359-1364.

- Bloch-Damti, A., Potashnik, R., Gual, P., Le Marchand-Brustel, Y., Tanti, J. F., Rudich, A., Bashan, N., (2006). Differential effects of IRS1 phosphorylated on Ser307 or Ser632 in the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Diabetologia*, 49, 2463-2473.
- Bouloumié, A., Curat, C. A., Sengenès, C., Lolmède, K., Miranville, A., Busse, R., (2005). Role of macrophage tissue infiltration in metabolic diseases. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 8, 347-354.
- Burcelin, R., Garidou, L., Pomié, C., (2012). Immunomicrobiota cross and talk : the new paradigm of metabolic diseases. *Semin Immunol*, 24, 67-74.
- Burcelin, R., Serino, M., Chabo, C., Garidou, L., Pomié, C., Courtney, M., Amar, J., Bouloumié, A., (2013). Metagenome and metabolism : the tissue microbiota hypothesis. *Diabetes Obes Metab*, 15 Suppl 3, 61-70.
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Tuohy, K. M., Chabo, C., Waget, A., Delmee, E., Cousin, B., Sulpice, T., Chamontin, B., Ferrières, J., Tanti, J. F., Gibson, G. R., Casteilla, L., Delzenne, N. M., Alessi, M. C., Burcelin, R., (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56, 1761-1772.
- Cani, P. D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., Burcelin, R., (2008). Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, 57, 1470-1481.
- Cao, M., Wang, P., Sun, C., He, W., Wang, F., (2013). Amelioration of IFN-gamma and TNF-alpha-induced intestinal epithelial barrier dysfunction by berberine via suppression of MLCK-MLC phosphorylation signaling pathway. *PLoS One*, 8, e61944.
- Cavallari, J. F., Denou, E., Foley, K. P., Khan, W. I., Schertzer, J. D., (2016). Different Th17 immunity in gut, liver, and adipose tissues during obesity : the role of diet, genetics, and microbes. *Gut Microbes*, 7, 82-89.
- Chaby, R., (2004). Lipopolysaccharide-binding molecules : transporters, blockers and sensors. *Cell Mol Life Sci*, 61, 1697-1713.
- Clavel, T., Borrmann, D., Braune, A., Doré, J., Blaut, M., (2006). Occurrence and activity of human intestinal bacteria involved in the conversion of dietary lignans. *Anaerobe*, 12, 140-147.
- Cousin, B., André, M., Arnaud, E., Pénicaud, L., Casteilla, L., (2003). Reconstitution of lethally irradiated mice by cells isolated from adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*, 301, 1016-1022.
- Culbreath, C., Tanner, S. M., Yeramilli, V. A., Berryhill, T. F., Lorenz, R. G., Martin, C. A., (2015). Environmental-mediated intestinal homeostasis in neonatal mice. *J Surg Res*, 198, 494-501.
- D'Hauteville, H., Khan, S., Maskell, D. J., Kussak, A., Weintraub, A., Mathison, J., Ulevitch, R. J., Wuscher, N., Parsot, C., Sansonetti, P. J., (2002). Two mshB genes encoding maximal acylation of lipid A are required for invasive *Shigella flexneri* to mediate inflammatory rupture and destruction of the intestinal epithelium. *J Immunol*, 168, 5240-5251.
- DeFuria, J., Belkina, A. C., Jagannathan-Bogdan, M., Snyder-Cappione, J., Carr, J. D., Nersesova, Y. R., Markham, D., Strissel, K. J., Watkins, A. A., Zhu, M., Allen, J., Bouchard, J., Toraldo, G., Jasuja, R., Obin, M. S., McDonnell, M. E., Apovian, C., Denis, G. V., Nikolajczyk, B. S., (2013). B cells promote inflammation in obesity and type 2 diabetes through regulation of T-cell function and an inflammatory cytokine profile. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110, 5133-5138.
- Eberl, G., (2012). Development and evolution of ROR $\gamma$ t+ cells in a microbe's world. *Immunol Rev*, 245, 177-188.
- Eberl, G., Colonna, M., Di Santo, J. P., McKenzie, A. N., (2015). Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells : a new paradigm in immunology. *Science*, 348, aaa6566.
- Everard, A., Geurts, L., Caesar, R., Van Hul, M., Matamoros, S., Duparc, T., Denis, R. G., Cochez, P., Pierard, F., Castel, J., Bindels, L. B., Plovier, H., Robine, S., Muccioli, G. G., Renaud, J. C., Dumoutier, L., Delzenne, N. M., Luquet, S., Backhed, F., Cani, P. D., (2014). Intestinal epithelial MyD88 is a sensor switching host metabolism towards obesity according to nutritional status. *Nat Commun*, 5, 5648.
- Fernandez-Real, J. M., Broch, M., Richart, C., Vendrell, J., Lopez-Bermejo, A., Ricart, W., (2003). CD14 monocyte receptor, involved in the inflammatory cascade, and insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab*, 88, 1780-1784.
- Flint, H. J., Duncan, S. H., Scott, K. P., Louis, P., (2007). Interactions and competition within the microbial community of the human colon : links between diet and health. *Environ Microbiol*, 9, 1101-1111.
- Garidou, L., Pomié, C., Klopp, P., Waget, A., Charpentier, J., Aloulou, M., Giry, A., Serino, M., Stenman, L., Lahtinen, S., Dray, C., Iacovoni, J. S., Courtney, M., Collet, X., Amar, J., Servant, F., Lelouvier, B., Valet, P., Eberl, G., Fazilleau, N., Douin-Echinard, V., Heymes, C., Burcelin, R., (2015). The Gut Microbiota Regulates Intestinal CD4 T Cells Expressing ROR $\gamma$ t+ and Controls Metabolic Disease. *Cell Metab*, 22, 100-112.
- Ghoshal, S., Witta, J., Zhong, J., de Villiers, W., Eckhardt, E., (2009). Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J Lipid Res*, 50, 90-97.
- Gibson, G. R., (1998). Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *Br J Nutr*, 80, S209-212.
- Golbus, J. R., Stitzel, N. O., Zhao, W., Xue, C., Farrall, M., McPherson, R., Erdmann, J., Deloukas, P.,

- Watkins, H., Schunkert, H., Samani, N. J., Saleheen, D., Kathiresan, S., Reilly, M. P., (2016). Common and Rare Genetic Variation in CCR2, CCR5, or CX3CR1 and Risk of Atherosclerotic Coronary Heart Disease and Glucometabolic Traits. *Circ Cardiovasc Genet*, 9, 250-258
- Grunwald, U., Kruger, C., Schutt, C., (1993). Endotoxin-neutralizing capacity of soluble CD14 is a highly conserved specific function. Inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by an apolipoprotein AI mimetic peptide. *Circ Shock*, 39, 220-225.
- Gupta, H., Dai, L., Datta, G., Garber, D. W., Grenett, H., Li, Y., Mishra, V., Palgunachari, M. N., Handattu, S., Gianturco, S. H., Bradley, W. A., Anantharamaiah, G. M., White, C. R., (2005). Inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by an apolipoprotein AI mimetic peptide. *Circ Res*, 97, 236-243.
- Hapfelmeier, S., Lawson, M. A., Slack, E., Kirundi, J. K., Stoel, M., Heikenwalder, M., Cahenzli, J., Velykoredko, Y., Balmer, M. L., Endt, K., Geuking, M. B., Curtiss, R., 3rd, McCoy, K. D., Macpherson, A. J., (2010). Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses. *Science*, 328, 1705-1709.
- Harris, H. W., Gosnell, J. E., Kumwenda, Z. L., (2000). The lipemia of sepsis : triglyceride-rich lipoproteins as agents of innate immunity. *J Endotoxin Res*, 6, 421-430.
- Haziot, A., Rong, G. W., Lin, X. Y., Silver, J., Goyert, S. M., (1995). Recombinant soluble CD14 prevents mortality in mice treated with endotoxin (lipopolysaccharide). *J Immunol*, 154, 6529-6532.
- Hepworth, M. R., Monticelli, L. A., Fung, T. C., Ziegler, C. G., Grunberg, S., Sinha, R., Mantegazza, A. R., Ma, H. L., Crawford, A., Angelosanto, J. M., Wherry, E. J., Koni, P. A., Bushman, F. D., Elson, C. O., Eberl, G., Artis, D., Sonnenberg, G. F., (2013). Innate lymphoid cells regulate CD4+ T-cell responses to intestinal commensal bacteria. *Nature*, 498, 113-117.
- Hodin, C. M., Verdam, F. J., Grootjans, J., Rensen, S. S., Verheyen, F. K., Dejong, C. H., Buurman, W. A., Greve, J. W., Lenaerts, K., (2011). 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.
- Hotamisligil, G. S., (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444, 860-867.
- Huang, S., Martin, E., Kim, S., Yu, L., Soudais, C., Fremont, D. H., Lantz, O., Hansen, T. H., (2009). MR1 antigen presentation to mucosal-associated invariant T cells was highly conserved in evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106, 8290-8295.
- Imai, A., Kurihara, Y., (1984). Endogenous infection in mice with streptozotocin-induced diabetes. A feature of bacterial translocation. *Can J Microbiol*, 30, 1344-1348.
- Jialal, I., Devaraj, S., Bettaieb, A., Haj, F., Adams-Huet, B., (2015). Increased adipose tissue secretion of Fetuin-A, lipopolysaccharide-binding protein and high-mobility group box protein 1 in metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 241, 130-137.
- Kasravi, F. B., Welch, W. J., Peters-Lideu, C. A., Weisgraber, K. H., Harris, H. W., (2003). Induction of cytokine tolerance in rodent hepatocytes by chylomicron-bound LPS is low-density lipoprotein receptor dependent. *Shock*, 19, 157-162.
- Kim, M. H., Taparowsky, E. J., Kim, C. H., (2015). Retinoic Acid Differentially Regulates the Migration of Innate Lymphoid Cell Subsets to the Gut. *Immunity*, 43, 107-119.
- Kitchens, R. L., Thompson, P. A., (2005). Modulatory effects of sCD14 and LBP on LPS-host cell interactions. *J Endotoxin Res*, 11, 225-229.
- Kitchens, R. L., Thompson, P. A., Viriyakosol, S., O'Keefe, G. E., Munford, R. S., (2001). Plasma CD14 decreases monocyte responses to LPS by transferring cell-bound LPS to plasma lipoproteins. *J Clin Invest*, 108, 485-493.
- Koh, I. H., Liberatore, A. M., Menchaca-Diaz, J. L., Ruiz-Silva, M., Vilela-Oliveira, L., Watanabe, A. Y., Salomao, R., Fagundes-Neto, U., Silva, R. M., (2006). Bacterial translocation, microcirculation injury and sepsis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 6, 143-150.
- Lassenius, M. I., Pietilainen, K. H., Kaartinen, K., Pussinen, P. J., Syrjanen, J., Forsblom, C., Porsti, I., Rissanen, A., Kaprio, J., Mustonen, J., Groop, P. H., Lehto, M., (2011). Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. *Diabetes Care*, 34, 1809-1815.
- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., Almeida, M., Arumugam, M., Batto, J. M., Kennedy, S., Leonard, P., Li, J., Burgdorf, K., Grarup, N., Jorgensen, T., Brandslund, I., Nielsen, H. B., Juncker, A. S., Bertalan, M., Levenez, F., Pons, N., Rasmussen, S., Sunagawa, S., Tap, J., Tims, S., Zoetendal, E. G., Brunak, S., Clément, K., Doré, J., Kleerebezem, M., Kristiansen, K., Renault, P., Sicheritz-Ponten, T., de Vos, W. M., Zucker, J. D., Raes, J., Hansen, T., Meta, H. I. T. C., Bork, P., Wang, J., Ehrlich, S. D., Pedersen, O. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*, 500, 541-546.
- Ley, R. E., Backhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C. A., Knight, R. D., Gordon, J. I., (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 11070-11075.

- Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., Arumugam, M., Kultima, J. R., Prifti, E., Nielsen, T., Juncker, A. S., Manichanh, C., Chen, B., Zhang, W., Levenez, F., Wang, J., Xu, X., Xiao, L., Liang, S., Zhang, D., Zhang, Z., Chen, W., Zhao, H., Al-Aama, J. Y., Edris, S., Yang, H., Wang, J., Hansen, T., Nielsen, H. B., Brunak, S., Kristiansen, K., Guarner, F., Pedersen, O., Doré, J., Ehrlich, S. D., Meta, H. I. T. C., Bork, P., Wang, J., Meta, H. I. T. C., (2014). An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol*, 32, 834-841.
- Lluch, J., Servant, F., Paissé, S., Valle, C., Valière, S., Kuchly, C., Vilchez, G., Donnadiou, C., Courtney, M., Burcelin, R., Amar, J., Bouchez, O., Lelouvier, B., (2015). The Characterization of Novel Tissue Microbiota Using an Optimized 16S Metagenomic Sequencing Pipeline. *PLoS One*, 10, e0142334.
- Lu, Y., Loos, R. J., (2013). Obesity genomics : assessing the transferability of susceptibility loci across diverse populations. *Genome Med*, 5, 55.
- Luche, E., Cousin, B., Garidou, L., Serino, M., Waget, A., Barreau, C., André, M., Valet, P., Courtney, M., Casteilla, L., Burcelin, R., (2013). Metabolic endotoxemia directly increases the proliferation of adipocyte precursors at the onset of metabolic diseases through a CD14-dependent mechanism. *Mol Metab*, 2, 281-291.
- Luck, H., Tsai, S., Chung, J., Clemente-Casares, X., Ghazarian, M., Revelo, X. S., Lei, H., Luk, C. T., Shi, S. Y., Surendra, A., Copeland, J. K., Ahn, J., Prescott, D., Rasmussen, B. A., Chng, M. H., Engleman, E. G., Girardin, S. E., Lam, T. K., Croitoru, K., Dunn, S., Philpott, D. J., Guttman, D. S., Woo, M., Winer, S., Winer, D. A., (2015). Regulation of obesity-related insulin resistance with gut anti-inflammatory agents. *Cell Metab*, 21, 527-542.
- Lumeng, C. N., Bodzin, J. L., Saltiel, A. R., (2007a). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest* 117, 175-184.
- Lumeng, C. N., Deyoung, S. M., Bodzin, J. L. & Saltiel, A. R., (2007b). Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes*, 56, 16-23.
- Magalhaes, I., Pingris, K., Poitou, C., Bessesis, S., Venteclef, N., Kiaf, B., Beaudoin, L., Da Silva, J., Allatif, O., Rossjohn, J., Kjer-Nielsen, L., McCluskey, J., Ledoux, S., Genser, L., Torcivia, A., Soudais, C., Lantz, O., Boitard, C., Aron-Wisnewsky, J., Larger, E., Clément, K., Lehuen, A., (2015). Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients. *J Clin Invest*, 125, 1752-1762.
- Mazière, C., Conte, M. A., Dantin, F., Mazière, J. C., (1999). Lipopolysaccharide enhances oxidative modification of low density lipoprotein by copper ions, endothelial and smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 143, 75-80.
- McKenzie, A. N., Spits, H., Eberl, G., (2014). Innate lymphoid cells in inflammation and immunity. *Immunity*, 41, 366-374.
- McPhee, J. B., Schertzer, J. D., (2015). Immunometabolism of obesity and diabetes : microbiota link compartmentalized immunity in the gut to metabolic tissue inflammation. *Clin Sci (Lond)*, 129, 1083-1096.
- Menendez, A., Willing, B. P., Montero, M., Wlodarska, M., So, C. C., Bhinder, G., Vallance, B. A., Finlay, B. B., (2013). Bacterial stimulation of the TLR-MyD88 pathway modulates the homeostatic expression of ileal Paneth cell alpha-defensins. *J Innate Immun*, 5, 39-49.
- Monteiro-Sepulveda, M., Touch, S., Mendes-Sa, C., André, S., Poitou, C., Allatif, O., Cotillard, A., Fohrer-Ting, H., Hubert, E. L., Remark, R., Genser, L., Tordjman, J., Garbin, K., Osinski, C., Sautès-Fridman, C., Leturque, A., Clément, K., Brot-Laroche, E., (2015). Jejunal T Cell Inflammation in Human Obesity Correlates with Decreased Enterocyte Insulin Signaling. *Cell Metab*, 22, 113-124.
- Moore, F., Moore, E., Poggetti, R., McAnena, O., Peterson, V., Abernathy, C., (1991). Gut bacterial translocation via the portal vein : a clinical perspective with major torso trauma. *J Trauma*, 31, 629-636.
- Moreira, A. P., Texeira, T. F., Ferreira, A. B., Peluzio Mdo, C., Alfenas Rde, C., (2012). Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br J Nutr*, 108, 801-809.
- Morel, D. W., DiCorleto, P. E., Chisolm, G. M., (1986). Modulation of endotoxin-induced endothelial cell toxicity by low density lipoprotein. *Lab Invest*, 55, 419-426.
- Moreno-Navarrete, J. M., Ortega, F., Serino, M., Luche, E., Waget, A., Pardo, G., Salvador, J., Ricart, W., Frühbeck, G., Burcelin, R., Fernandez-Real, J. M., (2012). Circulating lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as a marker of obesity-related insulin resistance. *Int J Obes (Lond)*, 36, 1442-1449.
- Mortha, A., Chudnovskiy, A., Hashimoto, D., Bogunovic, M., Spencer, S. P., Belkaid, Y., Merad, M., (2014). Microbiota-dependent crosstalk between macrophages and ILC3 promotes intestinal homeostasis. *Science*, 343, 1249288.
- Murphy, K. M., (2013). Transcriptional control of dendritic cell development. *Adv Immunol*, 120, 239-267.
- Niess, J. H., Brand, S., Gu, X., Landsman, L., Jung, S., McCormick, B. A., Vyas, J. M., Boes, M., Ploegh, H. L., Fox, J. G., Littman, D. R., Reinecker, H. C., (2005). CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science*, 307, 254-258.
- Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Eto, K., Yamashita, H., Ohsugi, M., Otsu, M., Hara, K., Ueki, K., Sugiura, S., Yoshimura, K., Kadowaki, T., & Nagai, R., (2009). CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*, 15, 914-920.



- Ohmura, K., Ishimori, N., Ohmura, Y., Tokuhara, S., Nozawa, A., Horii, S., Andoh, Y., Fujii, S., Iwabuchi, K., Onoe, K., Tsutsui, H., (2010). Natural killer T cells are involved in adipose tissues inflammation and glucose intolerance in diet-induced obese mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 30, 193-199.
- Pabst, O., Cerovic, V., Hornef, M., (2016). Secretory IgA in the Coordination of Establishment and Maintenance of the Microbiota. *Trends Immunol*, 37, 287-296.
- Paissé, S., Valle, C., Servant, F., Courtney, M., Burcelin, R., Amar, J., Lelouvier, B., (2016). Comprehensive description of blood microbiome from healthy donors assessed by 16S targeted metagenomic sequencing. *Transfusion*, 56, 1138-1147.
- Paulos, C. M., Wrzesinski, C., Kaiser, A., Hinrichs, C. S., Chieppa, M., Cassard, L., Palmer, D. C., Boni, A., Muranski, P., Yu, Z., Gattinoni, L., Antony, P. A., Rosenberg, S. A., Restifo, N. P., (2007). Microbial translocation augments the function of adoptively transferred self/tumor-specific CD8+ T cells via TLR4 signaling. *J Clin Invest*, 117, 2197-2204.
- Pearson, C., Thornton, E. E., McKenzie, B., Schaupp, A. L., Huskens, N., Griseri, T., West, N., Tung, S., Seddon, B. P., Uhlig, H. H., Powrie, F., (2016). ILC3 GM-CSF production and mobilisation orchestrate acute intestinal inflammation. *Elife*, 5, e10066.
- Pomié, C., Blasco-Baque, V., Klopp, P., Nicolas, S., Waget, A., Loubières, P., Azalbert, V., Puel, A., Lopez, F., Dray, C., Valet, P., Lelouvier, B., Servant, F., Courtney, M., Amar, J., Burcelin, R., Garidou, L., (2016). Triggering the adaptive immune system with commensal gut bacteria protects against insulin resistance and dysglycemia. *Mol Metab*, 5, 392-403.
- Qiao, Y., Sun, J., Ding, Y., Le, G., Shi, Y., (2013). Alterations of the gut microbiota in high-fat diet mice is strongly linked to oxidative stress. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97, 1689-1697.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D. R., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., Xie, Y., Tap, J., Lepage, P., Bertalan, M., Batto, J. M., Hansen, T., Le Paslier, D., Linneberg, A., Nielsen, H. B., Pelletier, E., Renault, P., Sicheritz-Ponten, T., Turner, K., Zhu, H., Yu, C., Jian, M., Zhou, Y., Li, Y., Zhang, X., Qin, N., Yang, H., Wang, J., Brunak, S., Doré, J., Guarner, F., Kristiansen, K., Pedersen, O., Parkhill, J., Weissenbach, J., Bork, P., Ehrlich, S. D., (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464, 59-65.
- Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J., Zhang, F., Liang, S., Zhang, W., Guan, Y., Shen, D., Peng, Y., Zhang, D., Jie, Z., Wu, W., Qin, Y., Xue, W., Li, J., Han, L., Lu, D., Wu, P., Dai, Y., Sun, X., Li, Z., Tang, A., Zhong, S., Li, X., Chen, W., Xu, R., Wang, M., Feng, Q., Gong, M., Yu, J., Zhang, Y., Zhang, M., Hansen, T., Sanchez, G., Raes, J., Falony, G., Okuda, S., Almeida, M., Le Chatelier, E., Renault, P., Pons, N., Batto, J. M., Zhang, Z., Chen, H., Yang, R., Zheng, W., Yang, H., Wang, J., Ehrlich, S. D., Nielsen, R., Pedersen, O., Kristiansen, K., (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490, 55-60.
- Rensen, P. C., Oosten, M., Bilt, E., Eck, M., Kuiper, J., Berkel, T. J., (1997). Human recombinant apolipoprotein E redirects lipopolysaccharide from Kupffer cells to liver parenchymal cells in rats In vivo. *J Clin Invest*, 99, 2438-2445.
- Rescigno, M., Urbano, M., Valzasina, B., Francolini, M., Rotta, G., Bonasio, R., Granucci, F., Kraehenbuhl, J. P., Ricciardi-Castagnoli, P., (2001). Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol*, 2, 361-367.
- Rogier, E. W., Frantz, A. L., Bruno, M. E., Wedlund, L., Cohen, D. A., Stromberg, A. J., Kaetzel, C. S., (2014). Secretory antibodies in breast milk promote long-term intestinal homeostasis by regulating the gut microbiota and host gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111, 3074-3079.
- Sakakibara, A., Furuse, M., Saitou, M., Ando-Akatsuka, Y., Tsukita, S., (1997). Possible involvement of phosphorylation of occludin in tight junction formation. *J Cell Biol*, 137, 1393-1401.
- Salerno-Goncalves, R., Rezwan, T., Szein, M. B., (2014). B cells modulate mucosal associated invariant T cell immune responses. *Front Immunol*, 4, 511.
- Salzedas-Netto, A. A., Silva, R. M., Martins, J. L., Menchaca-Diaz, J. L., Bugni, G. M., Watanabe, A. Y., Silva, F. J., Fagundes-Neto, U., Morais, M. B., Koh, I. H., (2006). Can bacterial translocation be a beneficial event? *Transplant Proc*, 38, 1836-1837.
- Schnaitman, C. A., Klena, J. D., (1993). Genetics of lipopolysaccharide biosynthesis in enteric bacteria. *Microbiol Rev*, 57, 655-682.
- Schumann, R. R., Leong, S. R., Flaggs, G. W., Gray, P. W., Wright, S. D., Mathison, J. C., Tobias, P. S., Ulevitch, R. J., (1990). Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science*, 249, 1429-1431.
- Schutt, C., Schilling, T., Grunwald, U., Schonfeld, W., Kruger, C., (1992). Endotoxin-neutralizing capacity of soluble CD14. *Res Immunol*, 143, 71-78.
- Shah, R., O'Neill, S. M., Hinkle, C., Caughey, J., Stephan, S., Lynch, E., Birmingham, K., Lynch, G., Ahima, R. S., Reilly, M. P., (2015). Metabolic Effects of CX3CR1 Deficiency in Diet-Induced Obese Mice. *PLoS One*, 10, e0138317.
- Shoelson, S. E., Lee, J., Goldfine, A. B., (2006). Metabolic Effects of CX3CR1 Deficiency in Diet-Induced Obese Mice. *J Clin Invest*, 116, 1793-1801.
- Stoidis, C. N., Misiakos, E. P., Patapis, P., Fotiadis, C. I., Spyropoulos, B. G., (2011). Potential benefits of pro- and prebiotics on intestinal mucosal immunity and intestinal barrier in short bowel syndrome. *Nutr Res Rev*, 24, 21-30.

- Suzuki, T., Itoh, K., Hagiwara, T., Nakayama, H., Honjyo, K., Hirota, Y., Kaneko, T., Suzuki, H., (1996). Inhibition of bacterial translocation from the gastrointestinal tract of mice injected with cyclophosphamide. *Curr Microbiol*, 33, 78-83.
- Taira, T., Yamaguchi, S., Takahashi, A., Okazaki, Y., Yamaguchi, A., Sakaguchi, H., Chiji, H., (2015). Dietary polyphenols increase fecal mucin and immunoglobulin A and ameliorate the disturbance in gut microbiota caused by a high fat diet. *J Clin Biochem Nutr*, 57, 212-216.
- Tanti, J., Gual, P., Grémeaux, T., Gonzalez, T., Barres, R., Le Marchand-Brustel, Y., (2004). Alteration in insulin action : role of IRS-1 serine phosphorylation in the retroregulation of insulin signalling. *Ann Endocrinol*, 65, 43-48.
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., Gordon, J. I., (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444, 1027-1031.
- Turnbaugh, P. J., Backhed, F., Fulton, L., Gordon, J. I., (2008). Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe*, 3, 213-223.
- van den Hout, M. F., Sluijter, B. J., Santegoets, S. J., van Leeuwen, P. A., van den Tol, M. P., van den Eertwegh, A. J., Scheper, R. J., de Gruijl, T. D., (2016). Local delivery of CpG-B and GM-CSF induces concerted activation of effector and regulatory T cells in the human melanoma sentinel lymph node. *Cancer Immunol Immunother*, 65, 405-415.
- Vergès, B., Duvillard, L., Lagrost, L., Vachoux, C., Garret, C., Bouyer, K., Courtney, M., Pomié, C., Burcelin, R., (2014). Changes in lipoprotein kinetics associated with type 2 diabetes affect the distribution of lipopolysaccharides among lipoproteins. *J Clin Endocrinol Metab*, 99, E1245-1253.
- Vora, P., Youdim, A., Thomas, L. S., Fukata, M., Tesfay, S. Y., Lukasek, K., Michelsen, K. S., Wada, A., Hirayama, T., Arditi, M., Abreu, M. T., (2004). Beta-defensin-2 expression is regulated by TLR signaling in intestinal epithelial cells. *J Immunol*, 173, 5398-5405.
- Vreugdenhil, A. C., Rousseau, C. H., Hartung, T., Greve, J. W., van't Veer, C., Buurman, W. A., (2003). Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein mediates LPS detoxification by chylomicrons. *J Immunol*, 170, 1399-1405.
- Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojarvi, J., Kootte, R. S., Bartelsman, J. F., Dallinga-Thie, G. M., Ackermans, M. T., Serlie, M. J., Oozeer, R., Derrien, M., Druesne, A., Van Hylckama Vlieg, J. E., Bloks, V. W., Groen, A. K., Heilig, H. G., Zoetendal, E. G., Stroes, E. S., de Vos, W. M., Hoekstra, J. B., Nieuwdorp, M., (2012). Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 143, 913-916 e917.
- Wang, L., Wang, J., Jin, Y., Gao, H., Lin, X., (2014). Oral administration of all-trans retinoic acid suppresses experimental periodontitis by modulating the Th17/Treg imbalance. *J Periodontol*, 85, 740-750.
- Weisberg, S. P., Hunter, D., Huber, R., Lemieux, J., Slaymaker, S., Vaddi, K., Charo, I., Leibel, R. L., Ferrante, A. W., Jr., (2006). CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest*, 116, 115-124.
- Winer, S., Chan, Y., Paltser, G., Truong, D., Tsui, H., Bahrami, J., Dorfman, R., Wang, Y., Zielenski, J., Mastronardi, F., Maezawa, Y., Drucker, D. J., Engleman, E., Winer, D., Dosch, H. M., (2009a). Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med*, 15, 921-929.
- Winer, S., Paltser, G., Chan, Y., Tsui, H., Engleman, E., Winer, D., Dosch, H. M., (2009b). Obesity predisposes to Th17 bias. *Eur J Immunol*, 39, 2629-2635.
- Winer, D. A., Winer, S., Shen, L., Wadia, P. P., Yantha, J., Paltser, G., Tsui, H., Wu, P., Davidson, M. G., Alonso, M. N., Leong, H. X., Glassford, A., Caimol, M., Kenkel, J. A., Tedder, T. F., McLaughlin, T., Miklos, D. B., Dosch, H. M., Engleman, E. G., (2011). B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat Med*, 17, 610-617.
- Wright, S. D., Ramos, R. A., Tobias, P. S., Ulevitch, R. J., Mathison, J. C., (1990). CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*, 249, 1431-1433.
- Yan, Y. J., Li, Y., Lou, B., Wu, M. P., (2006). Beneficial effects of ApoA-I on LPS-induced acute lung injury and endotoxemia in mice. *Life Sci*, 79, 210-215.
- Yilmaz, D., Guncu, G. N., Kononen, E., Baris, E., Caglayan, F., GURSOY, U. K., (2015). Overexpressions of hBD-2, hBD-3, and hCAP18/LL-37 in Gingiva of Diabetics with Periodontitis. *Immunobiology*, 220, 1219-1226.