

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 12/07/2023
Par Madame Eloïse Debret**

« L'impact du microbiome sur le cancer colorectal »

Membres du jury :

Président : Professeur Rébecca Deprez-Poulain.

Assesseurs :

Professeur Benjamin Bertin,
Professeur Benoît Foligné,
Professeur Nicolas Simon.

Membre extérieur : Docteur Claire Degand.

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, Professeur Benjamin Bertin, pour sa patience, en effet, la rédaction de ce manuscrit a été longue car elle m'a pris presque deux ans, mais aussi pour son immense soutien et proactivité qui ont accéléré l'organisation de la soutenance (arrivée plus vite que prévue).

Je remercie également les membres du jury, Professeur Rébecca Déprez-Poulain, Professeur Benoît Foligné, Professeur Nicolas Simon, et ma chère amie Docteur Claire Degand d'avoir accepté d'être présents et d'apporter leur expertise.

D'un point de vue général, j'aimerais remercier la faculté de Lille et ses enseignants qui nous ont offert une formation intéressante et très complète. Cette thèse marque la fin de six ans d'études (et deux ans de rédaction) au cours desquels j'ai beaucoup appris et évolué. Merci également au laboratoire U1177 qui m'a permis de faire plusieurs stages en chimie médicinale, que j'ai adorés, bien que j'aie depuis pris une autre direction dans mon parcours professionnel.

Merci à mes parents, Maria et Philou, qui n'ont cessé de me rappeler qu'il fallait bien que je l'écrive cette thèse, et merci à mes chers amis de la faculté de Lille, pour ces belles années passées ensemble en amphithéâtre, salles de TP ou dans les bars, et ces liens forts qui continuent à nous unir aujourd'hui malgré la distance.

Liste des abréviations :

5FU : 5- fluorouracil

ABSL : acides biliaires secondaires lithocholiques

ABSD : acides biliaires secondaires désoxycholiques

ADCC : cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps

ACE : antigène carcino-embryonnaire

ADN : acide désoxyribonucléique

AGCC : acides gras à chaîne courte

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien

AJCC : American Joint Committee on Cancer

APC : adenomatous polyposis coli

ARN : acide ribonucléique

BFT : toxine de *Bacteroides fragilis*

CAR-T : lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique

CEE : cellule entéro-endocrine

CH₄ : méthane

CIK : cellules tueuses induites par des cytokines

CIMP : CRC à phénotype de méthylation des îlots CpG

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CMS : Consensus du sous-type moléculaire ou cellules myéloïdes suppressives

CO₂ : dioxyde de carbone

CRC : cancer colorectal

dMMR : déficience MMR

EBV : virus Epstein-Barr

EGFR : facteur de croissance endothéliale

ETBF : *Bacteroides fragilis* entero-toxigénique

FadA : *Fusobacterium* adhésine A

Fap2 : *Fusobacterium* autotransporteur 2

FDA : Food and Drug Administration

Fn : *Fusobacterium nucleatum*

FOLFIRI : association d'acide folinique, de 5-fluorouracil et d'irinotécan

FOLFOX 4 : association d'acide folinique, de 5-fluorouracil, et d'oxaliplatine

GABA : acide gamma-amino-butyrique

GLP-1/2 : glucagon-like peptide ½
H₂S : sulfides d'hydrogènes
HPV : papillomavirus humain
IAP2 : protéine 2 inhibitrice d'apoptose
ICD-O : classification internationale de maladies en oncologie
ICI : inhibiteur de point de contrôle immunitaire
IFN : interféron
IgA : immunoglobulines de type A
IL-10 : interleukine 10
INCa : Institut National du Cancer
IPAN : neurones afférents primaires intrinsèques ou neurones sensoriels intrinsèques
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
KPP : kinase polyphosphate
LcT : lymphocyte T
Lc Treg : lymphocytes T régulateurs
LPS : lipopolysaccharide
LV5FU2 : association d'acide folinique et 5FU
mCRC : CRC métastatique
MDM : métabolisme dérivé du microbiome
MET : micro-environnement tumoral
MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin
mL : millilitre
MLCK : kinases de chaînes légères de la myosine
MMR : mismatch repair
MSI : instabilité microsatellite
MSI-H : MSI élevée
MSI-L : MSI faible
MSS : stabilité microsatellite
NFS : numération formule sanguine
NGS : séquençage de nouvelle génération
NFkB : facteur nucléaire kappa B
NK : cellules natural killer
ODC : ornithine décarboxylase
OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAF : polypose adénomateuse familiale
PAR : récepteurs activés par les protéases
PCR : amplification en chaîne par polymérase
PRR : pattern recognition receptors
PYY : peptide YY
RCP : réunion de concertation pluridisciplinaire
RCPG : récepteurs couplés aux protéines G
ROS : espèces réactives de l'oxygène
SNA : système nerveux autonome
SNC : système nerveux central
SNE : système nerveux entérique
SS : système de sécrétion
TAA : antigène associé à la tumeur
TCR : récepteur des lymphocytes T
TDM : tomodensitométrie
TDM TA : tomodensitométrie thoraco-abdominale
TGF- β : facteur de croissance transformant bêta
TLAM : tissus lymphoïdes associés à la muqueuse
TLR : Toll-like receptor
TNM : tumeur, adénopathie, métastase
TSA : antigène spécifique à la tumeur
UFC : unités formant colonie
UICC : International Union Against Cancer
VEGF : facteur de croissance endothélial vasculaire

Table des matières

INTRODUCTION.....	10
I. LE MICROBIOME	12
I.1. Définitions et généralités	12
I.1.1. Définitions.....	12
I.1.2. Généralités.....	12
I.2. Composition du microbiote intestinal	14
I.2.1. Généralités.....	14
I.2.2. Évolution au cours de la vie d'un individu	15
I.2.3. Influences environnementales et génétiques.....	17
I.3. Fonctions du microbiote intestinal	19
I.3.1. Fonctions métaboliques.....	19
I.3.2. Fonctions défensives.....	22
I.3.3. Fonctions trophiques et axe microbiote-intestin-cerveau.....	24
I.4. Impact sur la santé	26
I.4.1. Diversité microbienne, un marqueur de bonne santé ?.....	26
I.4.2. Dysbiose et pathologies	26
II. LES CANCERS COLORECTAUX.....	29
II.1. Généralités	29
II.1.1. Définitions et anatomie	29
II.1.2. Épidémiologie	30
II.1.3. Facteurs de risque et protecteurs en fonction du type de CRC.....	30
II.1.4. Origine et progression	31
II.2. Classifications des CRC.....	32
II.2.1. Classification ICD-O selon la localisation.....	32
II.2.2. Classification TNM	34
II.2.3. Classification CMS	35
II.3. Mécanismes de carcinogenèse	36
II.3.1. Altération de l'ADN	36
a) Instabilité chromosomique et génique.....	37
b) Instabilité microsatellite	37

c) Méthylation des îlots CpG	38
II.3.1. Système immunitaire, inflammation et cancer	39
II.4. Tableau clinique et diagnostique	40
II.4.1. Symptomatique.....	40
II.4.2. Dépistage	40
II.4.3. Diagnostic.....	41
II.4.4. Biomarqueurs et pronostic	43
II.5. Prévention et traitements	44
II.5.1. Prévention.....	44
II.5.2. Traitements du cancer du côlon, du 1/3 supérieur et du haut rectum	45
II.5.3. Traitement du cancer du moyen et bas rectum	47
II.5.4. Thérapies futures	47
III. MICROBIOME ET CANCERS COLORECTAUX	51
III.1. Microbiote intestinal des patients CRC	51
III.1.1. Généralités	51
III.1.2. Bactéries pathogènes associées aux CRC.....	52
a) Fusobacterium nucleatum	53
b) Bacteroides fragilis entéro-toxigénique.....	55
c) Escherichia coli pks+	56
d) Autres bactéries.....	58
III.1.3. Composition en fonction du stade de la maladie.....	60
III.1.4. Rôle des parasites	62
III.1.5. Rôle du mycobiome.....	64
III.1.6. Rôle du virome et du bactériophageome	65
III.1.7. Rôle des archées	66
III.2. Mécanismes de carcinogénèse liés au microbiome.....	67
III.2.1. Inflammation, dérégulation immunitaire et hyper-prolifération.....	68
III.2.2. Altération de l'ADN	70
III.2.3. Rôle des métabolites.....	70
III.3. Microbiome et traitements	73
III.3.1. Le métabolisme dérivé du microbiome.....	73
III.3.2. Les antibiotiques	74
III.3.3. Impact du microbiote sur les traitements anticancéreux	74
III.3.4. Modulation du microbiote comme outil préventif ou thérapeutique	76
a) Transplantation fécale	76
b) Probiotiques.....	77

c) Prébiotiques.....	79
d) Postbiotiques.....	80
e) Régime diététique	81
III.3.5. Virothérapie et bactériophages	83
CONCLUSION.....	85
RÉFÉRENCES.....	87

Introduction

Les microbes sont une découverte des années 1670s par le néerlandais Van Leeuwenhoek, reconnu comme étant le premier microscopiste ayant observé des bactéries et protistes, qu'il avait à l'époque appelés « animalcules » (1). En observant des échantillons provenant de divers environnements extérieurs mais aussi de différentes parties du corps humain, Van Leeuwenhoek a découvert que notre environnement et notre propre corps étaient peuplés d'innombrables « animalcules ». C'est deux cents ans plus tard que d'importantes découvertes microbiologiques sont faites notamment par Louis Pasteur ou encore Robert Koch, et que la théorie des germes ou théorie microbienne est émise selon laquelle les microorganismes sont à l'origine de nombreuses infections et maladies. Ces découvertes ont ensuite permis le développement de produits et de techniques d'asepsie, la découverte des antibiotiques et des vaccins, et l'émergence du monde sanitaire que l'on connaît aujourd'hui.

Les microbes ont donc longtemps été considérés comme extérieurs voire dangereux, et nous n'avons cessé de tenter de les exterminer. Bien que Metchnikoff ait supposé aux 19^{ème} et 20^{ème} siècles que le microbiome était essentiel à notre santé, ce n'est que récemment que nous avons commencé à changer le regard que nous portions sur ces « monstres microscopiques », qui sont maintenant reconnus comme étant des éléments primordiaux de notre santé. En effet, les microbiotes, et notamment le microbiote intestinal, sont des écosystèmes complexes, impliqués dans de nombreuses fonctions biologiques et étant de réels acteurs de notre homéostasie et de notre état de santé. Le microbiote intestinal est si important qu'il a même été considéré comme notre deuxième cerveau, et imaginez-vous vivre sans cerveau ?

Les cancers sont de plus en plus prévalents, ils représentent maintenant la deuxième cause de décès d'un point de vue global et les fardeaux associés, qu'ils soient physiques, psychologiques ou financiers, ne cessent d'augmenter. Bien que les avancées de la médecine aient permis d'améliorer la prise en charge et l'accompagnement des patients atteints de cancers, il reste toujours des besoins non satisfaits, tels que la variabilité de réponse aux traitements, l'émergence de résistances ainsi que le challenge du maintien de la qualité de vie des patients lorsqu'ils doivent avoir recours à des traitements lourds. Les cancers

colorectaux (CRC) font notamment partie des cancers les plus mortels et complexes de par leur hétérogénéité, et représentent une problématique en santé.

D'abord difficile à étudier, l'évolution des techniques de séquençage et l'émergence de la métagénomique ont permis l'accélération de la recherche en ce qui concerne le microbiome, et de nombreuses données ont été publiées au cours des dernières décennies. Il a notamment été montré que les microbes seraient impliqués dans 20% des cancers, incluant les cancers colorectaux (2). En effet, une perturbation de cet écosystème affectant sa composition et ses fonctions, impacterait les relations symbiotiques entre l'hôte et ses microbes, ce qui pourraient avoir de nombreuses conséquences à potentiel carcinogène.

Mais alors, est-ce que notre microbiome et son déséquilibre sont liés au développement de CRC ? Peut-on identifier des espèces dont la présence a une relation causale avec l'initiation et la progression de la maladie ? Et enfin, est-il possible de remodeler le microbiome à des fins thérapeutiques ou préventives ?

L'objectif de cette thèse d'exercice est de résumer l'état de la science actuelle sur la relation entre le microbiome et le cancer colorectal. Pour cela, nous présenteront d'abord le microbiome et plus spécifiquement le microbiote intestinal, nous introduirons ensuite le cancer colorectal, et enfin nous étudierons le lien entre les deux. Il est important de noter qu'il s'agit d'un travail bibliographique qui n'est bien sûr pas exhaustif. Mon but est d'éveiller votre curiosité sur l'impact que ces organismes microscopiques peuvent avoir sur notre santé, et plus précisément sur un cancer à incidence et gravité importantes. J'ai pour espoir personnel que les efforts de recherche scientifique permettront un jour d'offrir de nouveaux outils diagnostiques, pronostiques, préventifs et thérapeutiques afin de prévenir la survenue de CRC ou d'aider les individus qui en sont atteints à s'en soigner tout en garantissant une bonne qualité de vie.

I. Le microbiome

I.1. Définitions et généralités

I.1.1. Définitions

Un microbiote est un ensemble ou une communauté de microorganismes peuplant un environnement spécifique (3). Le corps humain héberge différents microbiotes ou flores, tels que le microbiote intestinal, le microbiote buccal et nasopharyngé, le microbiote vaginal ou urogénital, celui des poumons et enfin celui de la peau, comme illustrés dans le Figure 1 ci-dessous. Ces microbiotes correspondent à différents sites de colonisation et résident au niveau des barrières épithéliales de notre corps (4,5). Ils sont composés d'eucaryotes et de procaryotes dits commensaux, avec notamment des bactéries, virus, champignons, parasites, levures et archées (6). L'ensemble des génomes de ces microorganismes est appelé « microbiome », et on parle de relation symbiotique entre l'hôte et ses symbiotes (4). Un microbiote est également reconnu comme étant un réel écosystème en équilibre, et dont la perturbation se nomme « dysbiose ».

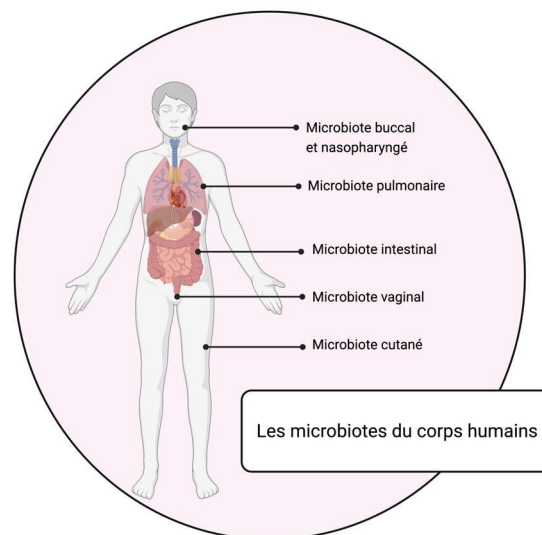


Figure 1 : Les différents microbiotes du corps humain (créé sur biorender.com)

I.1.2. Généralités

Nous nous concentrerons ici sur le microbiote intestinal, que nous appellerons par la suite microbiote pour plus de simplicité. Celui-ci est logé au niveau des muqueuses de notre

système digestif dont la surface épithéliale est estimée entre 200 et 400 m² (4). Le microbiote intestinal est composé de dix fois plus de microorganismes que toutes les cellules somatiques et germinales de notre corps, de 10¹³ à 10¹⁴ symbiotes, ce qui correspond à une masse de 2 kg chez l'adulte (3). Le microbiome intestinal de l'Homme, également appelé métagénome intestinal humain, comporte environs 3 millions de gènes ce qui est 150 fois plus que le génome humain lui-même (4,7).

Nous évoquerons de nombreux microorganismes et principalement des bactéries, il est donc important de faire un rappel taxonomique ou de classification microbiologique. D'abord introduite au 18^{ème} siècle par Linnaeus, la classification hiérarchique du monde vivant a jusqu'à aujourd'hui bien évolué (8). Le monde vivant est d'abord classé en trois grands domaines étant les archées, les eucaryotes, qui comprennent les protozoaires et les métazoaires, et les bactéries ou eubactéries. Ensuite viennent le règne, il y en aurait désormais sept même si cela n'est pas officiellement approuvé (8), puis l'embranchement, la classe, l'ordre, la famille, le genre et l'espèce. D'un point de vue microbiologique, les bactéries ont longtemps été classées selon des critères phénotypiques et morphologiques, utilisant une certaine nomenclature, et non pas selon une approche évolutive (9). Par exemple, on les différencie en fonction de la composition de leur paroi après une coloration Gram, avec les bactéries Gram positives dont la paroi comporte un épais peptidoglycane ne permettant pas la décoloration par l'alcool et qui sont donc violettes, et les bactéries Gram négatives qui comportent un peptidoglycane fin mais qui ont un lipopolysaccharide et qui apparaissent roses suite à la décoloration du cytoplasme par l'alcool. On les classe désormais de plus en plus d'un point de vue phylogénétique selon leur taux de similarités en acide ribonucléique (ARN) ribosomique 16S ou après séquençage génomique. En effet, le génome étant désormais très accessible, un travail de taxonomie est en cours dans le but d'atteindre un consensus et d'adapter la classification bactérienne (9). Les bactéries sont donc en général divisées en phylums, puis classes, ordres, familles, genres et espèces. On distingue ensuite les souches, qui sont des groupes cellulaires infra-espèces, et enfin les clones qui sont des cellules identiques issues d'une même cellule mère originelle. Il existe plus de 50 phylums du domaine des Eubactéries, mais seulement une dizaine seraient retrouvés dans le microbiote de l'Homme, les principaux étant les suivants : *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobactéries*, *Fusobactéries*, *Spirochètes* et *Actinobactéries* (10).

I.2. Composition du microbiote intestinal

I.2.1. Généralités

La principale composante du microbiote est donc bactérienne avec plus de mille espèces différentes retrouvées chez l'Homme bien que le microbiote intestinal de chaque individu comprend entre 200 et 400 espèces bactériennes différentes (6). Les phylums principalement retrouvés sont *Firmicutes* à 65%, *Bacteroidetes* de 30 à 40%, puis *Actinobacteria* et *Proteobacteria* (3,11,12). La composition du microbiote varie aussi grandement entre individus sains bien que les gènes impliqués dans les différentes voies métaboliques du microbiome restent stables et conservés (13). De plus, même s'il existe une grande variabilité inter et intra-individuelle, des études ont déterminés qu'il existait trois principaux entérotypes chez l'Homme, c'est-à-dire des groupes d'individus avec une composition bactérienne spécifique à l'échelle du genre, avec prédominance de *Bacteroides* pour le premier, *Prevotella* pour le second et *Ruminococcus* pour le dernier (10).

La composition diffère également d'un point de vue plus local, au sein d'un même individu, en fonction du segment gastro-intestinal en question et ses propriétés physicochimiques associées comme le montre la Figure 2. Par exemple, au niveau de l'estomac les bactéries doivent pouvoir résister à l'acidité stomacale, on y retrouve notamment des *Lactobacillus*, *Streptococcus* ainsi que l'espèce *Helicobacter pylori*, et la densité est de 10^3 unités formant colonie (UFC) par mL (4). Plus on avance dans le petit intestin, du duodénum à l'iléum, en passant par le jéjunum, plus la diversité et la densité augmentent, ceci étant important pour les fonctions de digestion et d'absorption de nutriments. De 10^3 à 10^4 UFC/mL dans le duodénum, la densité bactérienne atteint 10^9 UFC/mL dans l'iléum, en passant d'une prédominance aérobie Gram-positive ou anaérobie facultative à une majorité de bactéries anaérobies Gram-négatives dans les parties plus distales (4). De même, dans le gros intestin, composé du cæcum reliant l'iléon au côlon, des segments du côlon ascendant, transverse, descendant puis enfin du rectum, la composition bactérienne diffère, principalement avec des bactéries anaérobiques et une prédominance des phylums *Firmicutes* et *Bacteroidetes*, et la densité augmente encore pour atteindre 10^{12} UFC/mL (4). Enfin, le microbiote du côlon est le plus abondant et métaboliquement actif (5).

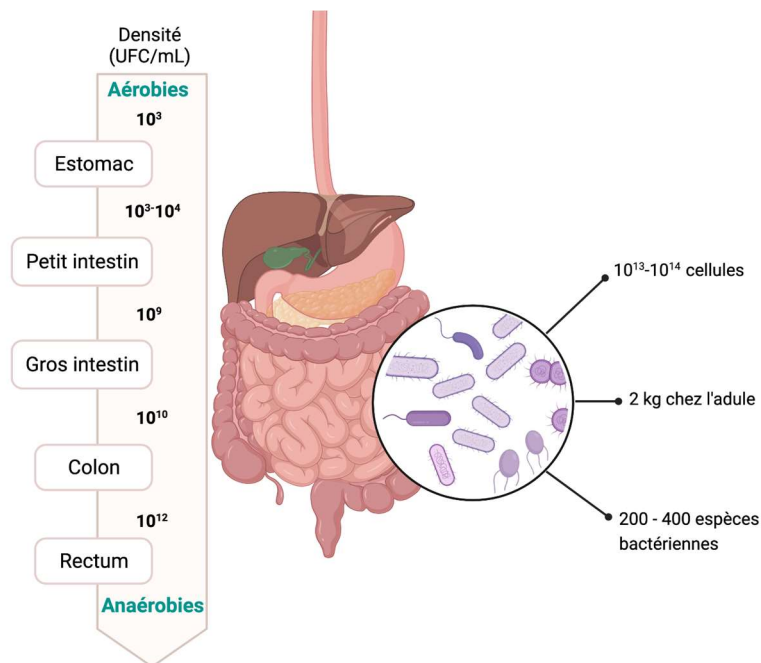


Figure 2 : A gauche, la densité bactérienne selon les segments gastro-intestinaux, avec le passage d'une composition bactérienne aérobie vers une composition anaérobie. A droite, résumé en quelques points de la composition globale du microbiote intestinal d'un individu. (Créée sur biorender.com)

I.2.2. Évolution au cours de la vie d'un individu

Le microbiote intestinal n'est pas fixe et sa composition évolue au cours de la vie d'un même individu. Il est généralement accepté qu'il est stérile avant la naissance, même si de récentes analyses d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) et de séquençage suggèreraient la possible présence de bactéries dans le placenta, le liquide amniotique et le méconium qui est l'excrément fœtal accumulé au cours de la gestation (4). La colonisation débute principalement à l'accouchement, notamment par l'exposition au microbiote vaginal maternel en cas de naissance par voie basse, ou le microbiote cutané en cas de césarienne. Ce dernier étant moins dense et divers, notamment par le manque de *Bacteroidetes*, les enfants nés par césarienne seraient plus sensibles aux pathogènes et affections atopiques (4). Le microbiote se développe ensuite progressivement au contact des microorganismes de l'environnement, en parallèle à la maturation immunitaire, pour installer une tolérance face à ces microorganismes pour faire partie du « soi » (14).

Le type d'allaitement influence également la composition du microbiote intestinal des jeunes enfants. En effet, le lait maternel humain contient de nombreux oligosaccharides qui

alimentent et encouragent l'installation de certaines communautés bactériennes. Un allaitement au sein est en général associé à une prédominance de *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* contrairement à un allaitement par formule lactée qui favorise les genres *Clostridium*, *Bilophila*, *Enterobater*, *Granulicatella* et *Citrobacter* (4). A un âge d'environ 4 à 6 mois, il y a introduction de la nourriture solide qui, de par le lien entre le microbiote et le système immunitaire, est primordiale et peut laisser influencer à terme le développement d'hypersensibilités ou maladies immunitaires (15). Au cours des premières années de la vie le microbiote présente une grande variabilité inter et intra-individuelle, puis devient plus stable à partir de la troisième année, pour, vers 5 ans, ressembler à celui de l'adulte, avec 40 à 60% de similarités (4,16).

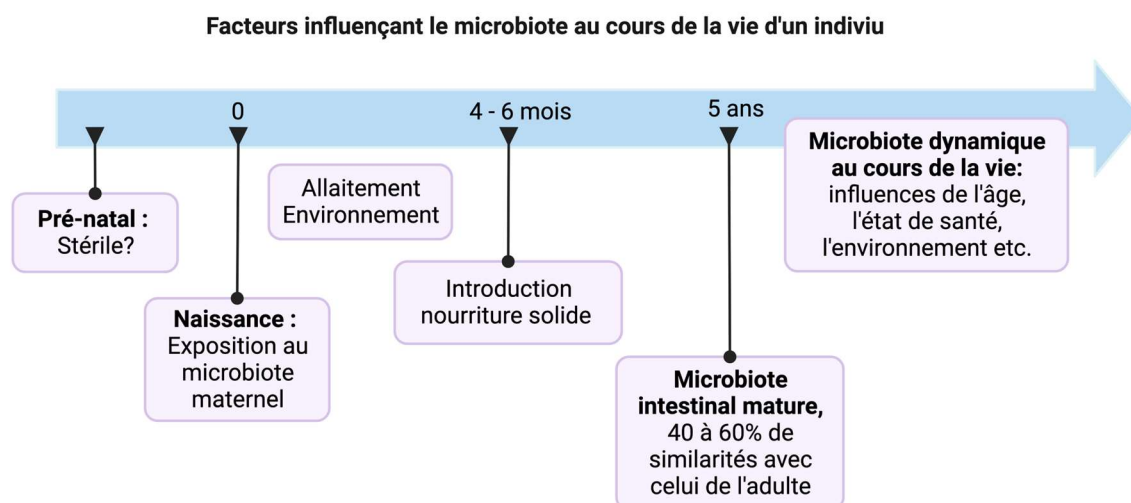


Figure 3 : Facteurs influençant l'évolution du microbiote intestinal au cours de la vie d'un individu. (Créée sur biorender.com)

D'un point de vue général, une partie du microbiote est conservée, comme un noyau, mais la majeure partie est dynamique et en constante évolution ou adaptation avec son hôte et son environnement. Bien que relativement stable, la composition et la densité du microbiote changent en fonction de nombreux facteurs individuels tels que l'âge, l'état physiopathologique ou la communauté socio-économique à laquelle appartient l'individu (4).

En prenant encore plus de recul, à l'échelle de l'évolution, nous pouvons souligner l'influence des transitions épidémiologiques sur la composition générale du microbiote

intestinal de l'Homme. Ces transitions épidémiologiques sont définies par des modifications majeures dans les tendances de santé et sont associées à d'importants changements dans notre mode de vie, par exemple le passage du mode chasseur-cueilleur à l'agriculture et la domestication des animaux. Ces transitions ont impacté la biodiversité de nos microbiomes qui contenaient auparavant des microorganismes maintenant considérés comme pathogènes ou parasites (3).

I.2.3. Influences environnementales et génétiques

Bien qu'il y aurait certains taxons dits héréditaires, la génétique d'un individu n'impacterait que très peu la composition de son microbiote dont la part héritable est estimée entre 2 et 8% (15,17). Cela signifie que l'influence environnementale est dominante. En effet, en faisant varier le facteur génétique en étudiant des individus ayant ou non un lien de parenté, ainsi que le facteur environnemental, en les faisant vivre dans un même foyer ou dans des foyers différents et après analyse génétique et phénotypique des individus ainsi que l'analyse métagénomique par séquençage de l'ARN 16S des espèces microbiologiques, il a été démontré que des microbiomes similaires étaient retrouvés chez des individus génétiquement différents vivant dans un même foyer par rapport à des individus apparentés mais vivant dans des foyers différents (17).

Quelles sont donc ces influences extérieures qui modèlent notre microbiote ? Il y a d'abord bien sûr le régime alimentaire, par exemple un régime riche en fibres favorise l'augmentation de la population de *Firmicutes* qui ont des propriétés anti-inflammatoires, et les acides gras polyinsaturés de type oméga 3 entraînent la sélection de populations bactériennes dites bénéfiques au détriment de bactéries pathogènes (5). Des études évaluant les microbiotes de populations indigènes comme la tribu Hadza en Tanzanie, adoptant un mode de vie chasseur-cueilleur et qui consomment donc une majorité de fibres contenant des polysaccharides complexes, a montré qu'ils avaient un microbiote bien plus diversifié et doté d'outils enzymatiques et métaboliques plus larges que celui des sédentaires adoptant un régime alimentaire occidental (18). En effet, les populations développées se nourrissent de plus en plus d'aliments transformés dépourvus de ces sucres complexes et n'ont donc pas l'utilité de certaines espèces bactériennes, principalement *Firmicutes*, qui permette leur digestion. L'entérotype 1 évoqué précédemment avec prédominance de *Bacteroides* est notamment lié à une alimentation riche en viandes rouges

et en graisses ainsi que certains états pathologiques ou à risques (10). De plus, bien que réalisée sur un petit échantillon d'individus, une autre étude a montré l'impact de l'alimentation en comparant un régime alimentaire animal à un régime alimentaire végétal, et a conclu que le changement de régime alimentaire à court terme impacte la structure du microbiote ainsi que l'expression génique (19).

Il ne faut pas sous-estimer l'impact de l'aseptisation ainsi que l'exposition aux antibiotiques qui, de par leur mécanisme d'action visant à éradiquer nos habitants microscopiques jugés pathogènes, touchent également les espèces bénéficiaires et causent une dysbiose de nos microbiotes, notamment le microbiote intestinal (5). Il faut noter que bien que la surutilisation des antibiotiques ait été freinée, après la réalisation de son impact sur le développement de germes multirésistants, et ce plus rapidement que le développement de nouvelles molécules antibactériennes, les antibiotiques sont encore couramment utilisés. En 2018 en France, plus de 700 tonnes ont été vendus à des fins de santé humaine (15). Un traitement par antibiotiques, notamment chez les jeunes enfants, a des impacts à court- et long-termes sur le microbiote intestinal, au niveau de sa diversité qui prend un certain temps pour se rétablir, alors que certaines espèces restent parfois indétectables après arrêt du traitement (10).

Enfin, le tabagisme affecterait les microbiotes respiratoire, oral et intestinal. Une étude récente a montré que le microbiome d'anciens fumeurs ou de fumeurs actifs était modifié, avec un enrichissement des taxons *Prevotella* et *Veillonellaceae* qui sont associés à des voies de réponses aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de dégradation de toxines, suggérant un lien possible avec des mécanismes de carcinogenèse, et ce indépendamment de l'origine ethnique et de la composition initiale du microbiote (20). La majorité des études cherchant à évaluer l'impact du tabagisme sur le microbiote rapporteraient une diminution de la diversité de celui-ci, et une augmentation de l'abondance de *Prevotella spp* chez les anciens fumeurs et fumeurs actifs, contrairement aux non-fumeurs et même aux utilisateurs de cigarettes électroniques (21).

Le microbiote est donc très diversifié et en perpétuelle évolution, principalement influencé par des facteurs extérieurs, mais à quoi nous sert-il ?

I.3. Fonctions du microbiote intestinal

Il est admis que les microorganismes qui peuplent notre corps ont un impact sur notre physiologie, notamment en influençant les mécanismes métaboliques, les défenses de notre système immunitaire ainsi que des fonctions dites trophiques comme le développement des fonctions cognitives (10,22). La Figure 4 résume les principales fonctions de notre microbiote intestinal que nous allons développer dans les parties qui suivent.

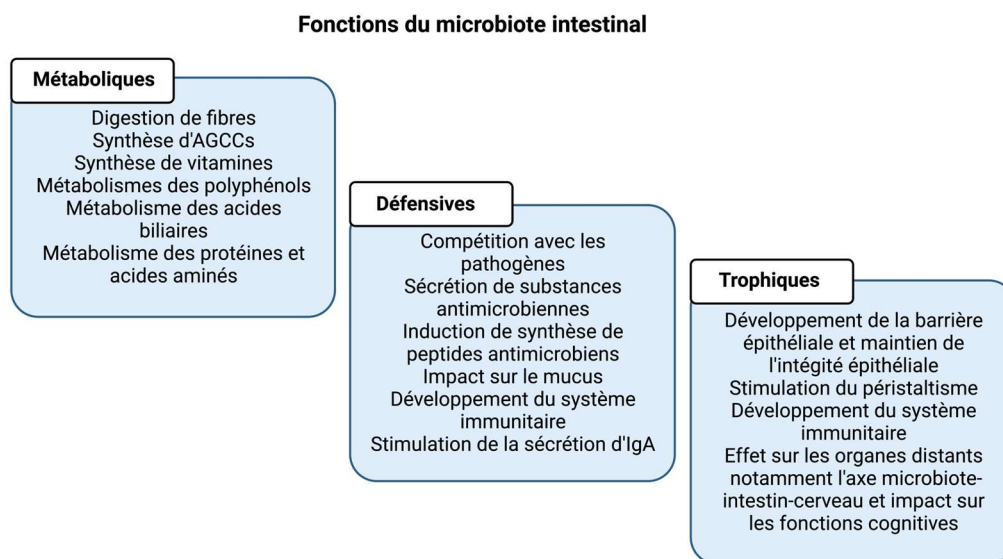


Figure 4 : Les fonctions du microbiote intestinal. (Créée sur biorender.com)

I.3.1. Fonctions métaboliques

Les microorganismes, et en particulier les bactéries peuplant notre microbiote, sont dotées d'un répertoire métabolique qui diffère de celui des cellules humaines, et complètent donc les fonctions digestives de notre corps (7). En effet, la digestion et l'assimilation de certaines fibres alimentaires comme la lignine et les polysaccharides non-amylacés provenant de légumes, noix, fruits et céréales complètes, ne peuvent parfois être faites que par certaines bactéries sachant les métaboliser (13). La fermentation anaérobie de ces fibres dans le gros intestin entraîne notamment la formation de gaz tels que de l'hydrogène, du méthane (CH_4), du dioxyde de carbone (CO_2), de l'oxygène, en plus de gaz odorifiques tels que les sulfures d'hydrogène, indoles ou encore amines volatiles (4,7). Les gaz produits ne sont pas entièrement excrétés, l'hydrogène et le dioxyde de carbone sont notamment réutilisés par

d'autres bactéries afin de permettre l'oxydation complète de substrats organiques, par exemple la réduction de sulfates produisant des sulfites d'hydrogène qui sont inflammatoires et toxiques pour les cellules du côlon. A noter que toutes les bactéries ne produisent pas systématiquement de gaz bien qu'en milieu anaérobie, comme par exemple les *Lactobacilles* et *Bifidobactéries*, probiotiques courants (7).

La fermentation saccharolytique, caractéristique de la partie proximale de nos intestins, entraîne la production de métabolites avec notamment les acides gras à chaîne courte (AGCCs). Les AGCCs sont des molécules de 2 à 6 carbones issues de la fermentation de protéines, fibres ou glycoprotéines indigestibles au niveau du cæcum et du côlon et dont les principaux sont l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique, représentés dans la Figure 5 ci-dessous. Les principaux producteurs d'AGCCs sont *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii*, ainsi que les groupes de *Clostridium* IV et XIVa (4). Ces molécules ont un rôle de régulation des fonctions locales mais sont aussi absorbées par diffusion passive ou échange d'ions et utilisées comme source d'énergie, représentant 10% des besoins calorifiques d'un individu (4). L'acétate est notamment retrouvé dans le sang et utilisé par les tissus périphériques, impliqué dans le métabolisme du cholestérol et la lipogenèse, alors que le butyrate est directement utilisé par les colonocytes, ou cellules épithéliales coliques, représentant leur principale source d'énergie (7). Les AGCCs sont aussi des molécules de signalisation reconnues par des récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs) ou récepteurs aux acides gras libres, et influencent l'homéostasie intestinale par des mécanismes endocriniens (13).

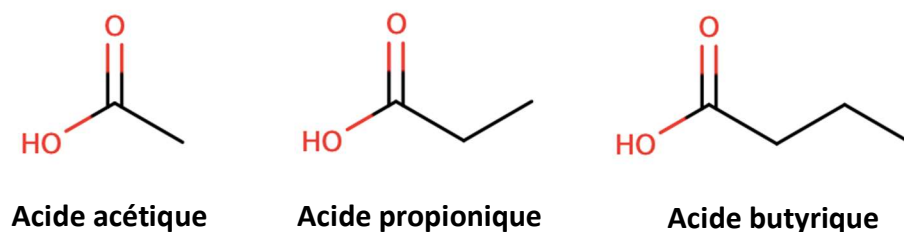


Figure 5 : Structure des trois AGCCs principaux.

Notre microbiote, notamment dans les parties plus distales de nos intestins, permet la métabolisation de protéines (7). Grâce à des protéases et peptidases, les bactéries telles que *Bacteroides* spp, *Clostridium* spp et *Lactobacillus* spp, aident à la métabolisation de protéines et peptides non-digérés qui, en plus de la libération d'AGCCs entraîne la libération de composés neuro-actifs, de polyamines, de molécules aromatiques ou de sulfures d'hydrogène, qui peuvent influencer notre homéostasie (4). Par exemple, de nombreuses espèces bactériennes peuvent métaboliser le tryptophane en indole qui module la sécrétion d'incrétine et glucagon-like peptide 1 (GLP-1) avec leurs effets sur la sécrétion d'insuline. En effet, à court terme l'indole augmente la sécrétion de GLP-1 mais a des effets inverses à plus long terme (13).

Le microbiote a aussi un effet sur la formation de polyamines dont nous verrons l'impact dans les sections suivantes. Ce sont des molécules poly-cationiques contenant plus de deux groupes aminés et synthétisées à partir des acides aminés ornithine et arginine. Ces molécules, comme la spermine, la spermidine ou la putrescine, peuvent être synthétisées par l'homme, par les bactéries du microbiote ou provenir de l'alimentation, et sont essentielles à la croissance cellulaire (23).

Les bactéries du notre microbiote agissent également sur les acides biliaires en convertissant les acides biliaires primaires, comme l'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique, issus du foie, en acides biliaires secondaires lithocholiques et désoxycholiques. Les acides biliaires primaires sont en grande partie réabsorbés via des transporteurs au niveau de l'iléon pour être ensuite recyclés selon la voie entéro-hépatique (13), mais le reste, environs 5%, est métabolisé par les bactéries qui sont dotées d'une 7- α déshydroxylase en ces acides biliaires secondaires. D'autre bactéries dotées d'une hydrolase peuvent hydrolyser les acides biliaires conjugués en acides biliaires primaires qui peuvent ensuite être réabsorbés par voie passive.

Les polyphénols sont des phyto-nutriments ou métabolites secondaires produits par de nombreuses plantes, et d'une grande diversité que l'on distingue notamment entre flavonoïdes et non-flavonoïdes. Souvent retrouvés sous forme de glycosides inactifs, leur activation et donc leur biodisponibilité se fait par séparation de leur sucre, notamment par le microbiote du petit intestin (4,24). Le microbiome des individus d'origine africaine serait le plus abondant en protéines permettant la métabolisation de polyphénols, et ses protéines seraient contenues dans des bactéries telles que des *Bifidobactéries* ou des bactéries du

phylum *Firmicutes*. La consommation au long terme de polyphénols serait protectrices de nombreuses maladies et cancers (24).

Enfin, d'autres bactéries sont essentielles à la mise à disposition de micronutriments comme les vitamines et minéraux, certaines comme *Bacteroides*, *Enterococcus*, et *Bifidobacterium* permettent notamment la synthèse *de novo* des vitamines indispensables à l'organisme comme des vitamines B et K (7,25). L'axe entre microbiome et micronutriments est bidirectionnel, et la consommation de certains micronutriments permet également de modifier la composition du microbiote, avec expansion des espèces qui les métabolisent ou les utilisent pour leur propre fonctionnement (25). Notre microbiote intestinal permet en plus la synthèse d'acides aminés essentiels et la dégradation de toxines (26) et contient des gènes codant pour la dégradation de glycosaminoglycanes (10).

I.3.2. Fonctions défensives

La muqueuse intestinale est une barrière protectrice mécanique, composée d'une monocouche de cellules épithéliales avec des jonctions serrées, jonctions adhérentes et desmosomes, médiant le passage paracellulaire (4,27). Ces jonctions intercellulaires limitent le passage transépithélial en fonction de la taille et de la charge, et avec l'aide de la couche de mucus cela permet de compartimenter le microbiote. Une dysbiose ou rupture de l'équilibre du microbiote peut entraîner des modifications de la perméabilité, et notamment le lipopolysaccharide (LPS) de bactéries Gram-négatives peut induire la phosphorylation des kinases de chaînes légères de la myosine (MLCK) et favorise la pénétration de microorganismes pouvant entraîner un sepsis potentiellement fatal (4,26). Certaines entérotoxines peuvent également engendrer des modifications au niveau des jonctions intercellulaires, et la perméabilité peut aussi être augmentée par certaines cytokines produites dans l'intestin. De par le phénomène de compétition pour l'attachement à la surface épithéliale et l'accès aux nutriments, les bactéries commensales empêchent la croissance d'autres bactéries potentiellement pathogènes, et jouent donc un rôle protecteur.

La barrière intestinale n'est pas qu'une barrière mécanique, c'est également une barrière immunitaire, mettant en jeu le mucus, les peptides antimicrobiens produits par les cellules de Paneth qui sont des cellules sécrétoires de la muqueuse du petit intestin, et cellules

immunitaires, mais aussi d'autres structures comme des tissus lymphoïdes associés à la muqueuse (TLAM), avec des plaques de Peyer's dans le petit intestin et des follicules éparpillés, et le microbiote commensal en lui-même (2,20). L'épithélium est notamment recouvert d'une couche de mucus composé de glycoprotéines appelées mucines qui aident au maintien des microorganismes en dehors de la barrière épithéliale (4). C'est aussi une source de peptides et de sucres permettant d'alimenter les bactéries commensales. La sécrétion et les propriétés du mucus peuvent être affectées par des bactéries, et ce positivement ou négativement, comme par exemple *Helicobacter pylori* qui est équipé d'une uréase qui peut augmenter le pH local ce qui rend le mucus moins visqueux et plus facile à pénétrer par des microorganismes munis de flagelles comme *Salmonella* spp. Additionnellement, les bactéries de notre microbiote produisent des peptides antimicrobiens qui contribuent à la protection épithéliale contre certains microorganismes pathogènes (26). Le microbiote induit également la production de protéines antimicrobiennes comme des défensines, cathélicidines et lectine de type-C par de différents types cellulaires de l'hôte.

Les immunoglobulines de type A (IgA) dites sécrétoires, représentent une ligne supplémentaire de défense. Elles sont sécrétées à hauteur de plusieurs grammes par jour, et le microbiote peut stimuler leur production (10). Les IgA sont diminuées chez les animaux exempts de germe, aussi appelés axéniques, puis augmentent en réponse à une colonisation microbienne (16). On parle de relation mutualiste entre les IgA et le microbiote, la diversité de l'un influence la diversité de l'autre et contribue au maintien de la tolérance immunitaire via une boucle régulatrice.

Le microbiote influence également la différenciation des cellules immunitaires et la réponse immunitaire par l'immunogénicité de ses composants comme le LPS, ainsi que par les métabolites et signaux externes qu'il produit (26). En effet, les cellules immunitaires peuvent reconnaître les bactéries via des « pattern recognition receptors » (PRR), notamment les « toll-like receptors » (TLRs) (27). Son rôle dans le développement du système immunitaire a été démontré notamment chez la souris axénique où l'absence de germe est associée avec une immaturité du système immunitaire, l'absence ou l'altération des tissus et organes lymphoïdes secondaires et tertiaires, une incapacité de répondre à la vaccination et une diminution de lymphocytes intra-épithéliaux (16,22). De plus, l'inoculation de souris stériles avec *Lactobacillus reuteri* stimule la production de cellules immunitaires (26). Les AGCCs

évoqués précédemment, comme l'acétate et le butyrate, ont un impact sur la tolérance intestinale car ils favorisent les lymphocytes T régulateurs (Lc Treg) chez les souris, la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires comme le facteur de croissance transformant β (TGF- β) et l'interleukine 10 (IL-10), et inhibent l'activité du facteur nucléaire kappa B (NFkB) des neutrophiles.

L'intégration de signaux du microbiote permet également la diversité phénotypique de cellules innées lymphoïdes qui sont des cellules permettant la sécrétion rapide de cytokines et chimiokines contre les infections et favorisant la réparation tissulaire (16). L'interaction entre le microbiote et le système immunitaire, qui se forme dès le plus jeune âge, est donc maintenant bien établie, même si les mécanismes restent parfois encore peu compris.

I.3.3. Fonctions trophiques et axe microbiote-intestin-cerveau

Le microbiote comporte des fonctions trophiques, c'est-à-dire relatives au développement et à la nutrition des organes, en régulant la maturation et le développement de la muqueuse intestinale, le maintien de l'intégrité de l'épithélium ou la régulation et le développement du système immunitaire (10,26). De plus, nos habitants microscopiques stimulent le péristaltisme intestinal et ont des effets sur des organes plus distants, notamment le système nerveux central.

Il existe notamment un réel circuit de communication entre le système nerveux entérique (SNE) composé de 200 millions de neurones intestinaux, qui fait partie du système nerveux autonome (SNA), et le système nerveux central (SNC), c'est ce que l'on appelle l'axe intestin-cerveau (6,28). Celui-ci implique les systèmes sympathiques et parasympathiques (4). Contrairement à ce que nous pensions auparavant, on parle maintenant de communication bidirectionnelle, mettant en jeu des mécanismes complexes qu'ils soient locaux, endocrines ou paracrines. Cette communication permettrait de maintenir l'homéostasie entérique mais, dans l'autre sens, aurait un impact sur nos capacités cognitives (13). Il est maintenant reconnu que le microbiote est impliqué dans cette transmission d'informations entre notre cerveau et notre système gastro-intestinal, formant donc l'axe microbiote-intestin-cerveau. Le catabolisme microbiotique peut produire de nombreuses molécules dites neurochimiques comme les neurotransmetteurs suivants : acide gamma-amino-butyrique (GABA), sérotonine, mélatonine, histamine, acétylcholine, noradrénaline et dopamine pouvant

influencer l'activité neuronale du SNC (4). Plus de 90% de la sérotonine et 50% de la dopamine proviennent des intestins et notamment du microbiote intestinal (4). La libération de protéases par les cellules de l'hôte mais aussi par les bactéries du microbiote peut entraîner l'activation de récepteurs par clivage, les récepteurs activés par les protéases (PARs) localisés sur les cellules épithéliales, les nerfs extrinsèques et les neurones entériques. Cela peut stimuler des neurones afférents primaires intrinsèques (IPAN) qui sont aussi appelés neurones sensoriels intrinsèques et qui détectent l'état des organes et le contenu biochimique qui, par l'intermédiaire d'autres types de neurones permettra un contrôle réflexe de la motilité par exemple. Il y a de nombreuses cellules entéro-endocrines (CEEs) au sein de l'épithélium qui sécrètent différentes hormones et sont situées à différents segments du tractus gastro-intestinal, par exemple les cellules L sont situées au niveau de l'iléon et du côlon, sécrètent GLP-1, GLP-2, peptide YY (PYY) et l'oxytomoduline, et influencent l'absorption des sucres par sécrétion d'insuline, la motilité intestinale en ralentissant le transit, et réduisent l'appétit. Les CEEs forment des synapses avec les neurones entériques afférents et donc un système de transduction transépithélial vers le système nerveux central. Le microbiote pourrait notamment communiquer avec ces CEEs. La Figure 6 ci-dessous schématise l'axe microbiote-intestin-cerveau non lié au système immunitaire.

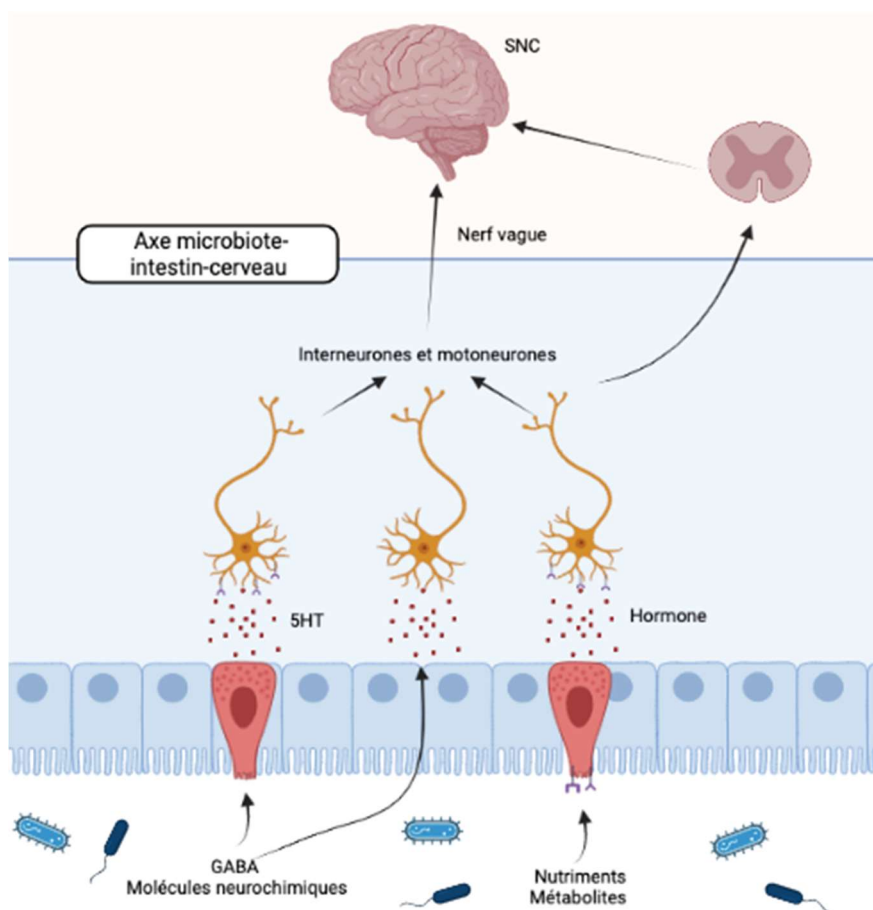


Figure 6 : Schéma simplifié de la voie afférente d'information lumineuse vers le système nerveux central en passant par les neurones afférents du système nerveux entérique, mettant en jeu les cellules entéro-endocrines en rouge, les neurones entériques afférents en jaune (communication non liée au système immunitaire). (Créée sur www.biorender.com)

I.4. Impact sur la santé

I.4.1. Diversité microbienne, un marqueur de bonne santé ?

La biodiversité du microbiome est généralement reconnue comme étant un marqueur de bonne santé (3). Des études ont été menées afin de déterminer une composition universelle du microbiote type d'un individu sain, mais les résultats demeurent inconcluants. Cela peut être dû à l'immense variabilité inter- et intra-individuelle et la composition très contextuelle du microbiote, rendant ces études complexes. Cela peut également s'expliquer par l'existence de multiples compositions microbiotiques saines, tant qu'il y a maintien de l'équilibre et de l'homéostasie entre microorganismes et hôte.

Ce serait plutôt les fonctions apportées par les microorganismes qui importeraient plus que le microorganisme en question, et donc le protéome ou métabolome plus que la simple composition microbiologique (29). Par exemple, on étudie le ratio entre *Firmicutes* et *Bacteroidetes* qui évolue au cours de la vie et du statut physiopathologique d'un individu et qui pourrait être un marqueur prédictif de l'état de santé (4). Certaines études ont proposé une modification de ce ratio comme pouvant être un biomarqueur d'obésité, mais les résultats sont encore une fois peu concluants et non reproductibles (30). Ce qui est certain, c'est qu'une diminution de la diversité du microbiote est fréquemment retrouvée dans des états pathologiques et est souvent accompagnée d'un déséquilibre entre espèces pro et anti-inflammatoires (10).

Un état de bonne santé est donc en général associé à un microbiote intestinal comportant une haute diversité et de la redondance fonctionnelle, avec peu ou pas de microorganismes pathogènes (22).

I.4.2. Dysbiose et pathologies

De nombreuses études réalisées chez la souris ont montré que l'inoculation de certains microbiotes provenant de souris ou humains pathologiques vers des souris saines, était liée au développement de diverses maladies. Il est généralement admis qu'il y a une corrélation entre dysbiose et pathologie, mais il est important de définir ce qui est considéré comme dysbiose.

Comme indiqué précédemment, une dysbiose est la perturbation de l'écosystème microbiotique, perçue par des changements dans sa composition et ses fonctions, mais c'est aussi la perturbation de l'équilibre symbiotique entre l'hôte et son microbiote (10). Et n'est-il pas difficile de déterminer une telle perturbation dans un écosystème qui est en perpétuelle évolution et qui change physiologiquement en fonction du contexte ? On parle notamment de modifications de proportions relatives ou de ratio de certains phylums ou espèces, comme avec le ratio entre *Firmicutes* et *Bacteroidetes* évoqué dans la partie précédente, et des études ont conclu que ces changements pourraient entraîner de la résistance à l'insuline et une prise de poids, contribuant au développement de maladies métaboliques comme l'obésité et le diabète de type II (29). L'abondance de certains phylums serait aussi corrélée au développement de syndromes dépressifs majeurs ou de syndromes inflammatoires des intestins, et l'utilisation de probiotiques ou simplement un changement de régime alimentaire peuvent permettre l'amélioration de la qualité de vie de ces patients (4).

De par son interaction avec le système immunitaire, il y aurait une implication du microbiote dans le développement de certaines maladies gastro-intestinales notamment les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), la maladie cœliaque, mais aussi des maladies affectant des sites extra-intestinaux comme la polyarthrite rhumatoïde (16). De plus, des études observationnelles ont permis de montrer l'implication de l'exposition aux antibiotiques dans la pathogenèse et l'augmentation de la prévalence de certaines de ces maladies chroniques, comme l'asthme, les allergies, les MICI et l'obésité (10). En causant une rupture de l'équilibre microbiotique, les antibiotiques peuvent aussi favoriser des infections opportunistes (10).

Comme indiqué dans le Tableau 1 ci-dessous, au plus l'état de santé se dégrade, en passant par un état inflammatoire, puis pré-cancéreux, et enfin aux stades précoces et avancés du cancer, au plus la diversité du microbiote intestinal diminue alors que la présence de

bactéries pathogènes augmente, en parallèle avec l'état inflammatoire, et le déclin de l'immunité systémique (22).

	Sain	Inflammation associée à la maladie (hors cancer)	Pré-cancer	Cancer à stade précoce	Cancer à stade avancé
Immunité systémique	++++	++	++	+	Minimale
Inflammation systémique	Minimale	+	++	++	++++
Immunité tissulaire	++++	++	++	+	Minimale
Microbiote intestinal	Haute diversité avec haute redondance fonctionnelle. Pas ou peu de microorganismes pathogènes.	Diversité intermédiaire avec redondance fonctionnelle intermédiaire. Peu de microorganismes pathogènes.	Diversité intermédiaire avec redondance fonctionnelle intermédiaire. Peu de microorganismes pathogènes.	Faible diversité avec peu de redondance fonctionnelle. Niveau modéré de microorganismes pathogènes.	Très faible diversité sans redondance fonctionnelle. Niveau élevé de microorganismes pathogènes.

Tableau 1 : Influence du microbiote sur les différents états de santé, maladie et cancer, inspiré de (22). Les + indiquent les niveaux d'immunité et d'inflammation observés (++++ indique le plus haut niveau, minimal indique le niveau de le plus bas).

Le système gastro-intestinal héberge donc un réel écosystème qui est en perpétuelle évolution et qui soutient des fonctions primordiales pour notre homéostasie. Cet écosystème, dont la composition est influencée par des facteurs génétiques mais surtout extérieurs, serait lié à notre état de santé bien qu'il soit encore difficile de déterminer une composition saine type. Nous avons également vu que le microbiote était impliqué ou associé au développement de certaines maladies, mais qu'en est-il du cancer ? Commençons d'abord par décrire ce que sont les cancers colorectaux.

II. Les cancers colorectaux

II.1. Généralités

II.1.1. Définitions et anatomie

Les cancers colorectaux regroupent les cancers du côlon et du rectum, qui, ensemble, forment le gros intestin. Les différents segments du côlon peuvent être affectés ; le côlon droit, le côlon gauche, le côlon transverse et le colon sigmoïde. La Figure 9 se trouvant à la page 33 résume l'anatomie du côlon et du rectum.

La paroi du côlon est composée de nombreuses couches comme présentées dans la Figure 7 ci-dessous. D'abord l'épithélium, reposant sur la *lamina propria* qui est une couche de tissu conjonctif, il y a ensuite la *muscularis mucosae*, la sous-muqueuse en dessous de laquelle se trouvent la musculeuse, puis la séreuse sous laquelle on retrouve les vaisseaux sanguins et les ganglions lymphatiques. La paroi interne du côlon est tapissée de glandes, pouvant faire l'objet de tumeurs bénignes appelées adénomes. Les cancers colorectaux sont des carcinomes car ils sont issus de cellules épithéliales. Plus le cancer sera à un stade avancé, plus les couches profondes seront affectées, pour ensuite envahir le système lymphatique et aboutir à la formation de métastases dans d'autres sites du corps.

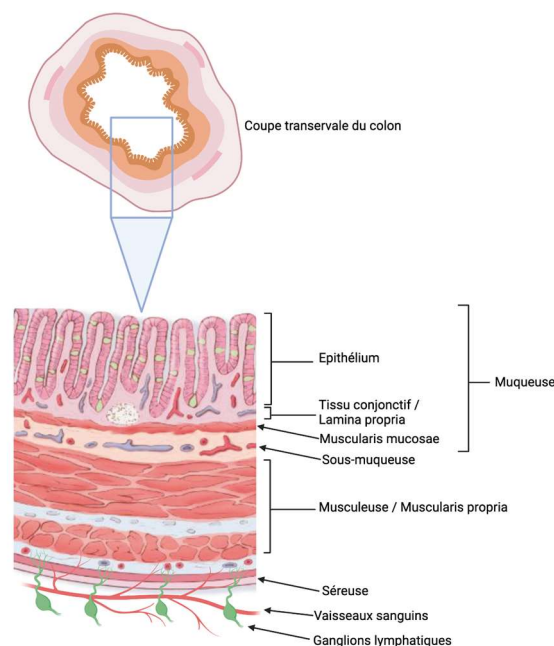


Figure 7 : Les différentes couches de la muqueuse intestinale colonique. (Créée sur [biorender.com](https://www.biorender.com))

II.1.2. Épidémiologie

Au niveau mondial, en 2018, le CRC était le troisième cancer le plus courant en termes d'incidence, et le second en termes de mortalité, entraînant 861 000 décès (31). Selon l'Institut National du Cancer (INCa), en France, le CRC est le troisième cancer le plus fréquent chez l'homme et le second chez la femme, et se situe aux deuxième et troisième rangs pour les causes de décès par cancer en fonction du sexe, ce qui représente 10 à 12% des décès par cancer totaux (31,32). L'incidence du CRC est notamment augmentée dans les pays socio-économiquement développés (31). En France, l'âge médian de diagnostic varie autour de 70 ans selon le sexe, mais d'un point de vue général l'incidence et la mortalité augmentent avec l'âge, à partir de 50 ans. La survie nette à 5 ans est estimée à 63% mais diffère selon les pays et le stade ; elle est de 90% au stade I, contre 13% au stade métastatique, d'où l'intérêt d'un diagnostic et d'une prise en charge précoces (32).

II.1.3. Facteurs de risque et protecteurs en fonction du type de CRC

D'origine multifactorielle et pouvant allier facteurs génétiques et environnementaux, la majorité des cas de CRC, soit 70%, est sporadique, sans facteur de risque associé (33). On différencie des CRC sporadiques, les CRC associés aux MICIs et les CRC héréditaires.

Selon l'INCa, les principaux facteurs de risque du CRC sporadique sont l'âge, notamment supérieur à 50 ans, des antécédents de CRC ou d'adénome colorectal, qu'ils soient personnels ou familiaux, l'affection par des MICIs, les prédispositions héréditaires, puis secondairement, des facteurs de risques diététiques avec une surconsommation de viandes rouges, plus de 500g par semaine, une faible consommation de fibres, un surpoids, la sédentarité, la consommation d'alcool et de tabac. Au contraire, la pratique d'activités sportives et la consommation de fibres alimentaires sont inversement associés à l'incidence de CRC et seraient des facteurs protecteurs (5,32).

Les CRC héréditaires représentent une très faible proportion, en effet seulement 5% des cas de CRC sont associés à une prédisposition génétique, avec notamment le CCR héréditaire non-polyposique aussi appelé syndrome de Lynch, et qui est causé par des mutations essentiellement des gènes mismatch repair (MMR) comme *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*. Il

existe également les polyposes incluant les polyposes adénomateuses familiales (PAFs) avec la présence de nombreux adénomes dans le tube digestif. Celles-ci sont causées par des mutations à transmission autosomique dominante du gène répresseur de tumeur *APC* pour « adenomatous polyposis coli », et des gènes *MYH/MUTYH* codant pour une protéine de réparation de l'ADN, ou encore par mutation à transmission autosomique récessive du gène *MUTYH* (C) (34,35). Le syndrome de Lynch a un spectre plus large et peut affecter le côlon, le rectum, la sphère uro-génitale, le foie, le pancréas, le système biliaire et le cerveau sous forme de glioblastome (35). Il existe enfin d'autres syndromes avec des oligopolyposes, le syndrome polyposique juvénile, le syndrome de Cowden et le syndrome de Peutz-Jeghers que nous ne développerons pas (36).

Nous nous concentrerons pour la suite sur les cancers colorectaux dits sporadiques.

II.1.4. Origine et progression

Le CRC prend ses origines au niveau de la base des cryptes intestinales où se trouvent les cellules souches qui se divisent habituellement soit en cellules souches ou en cellules destinées à la différenciation. Lorsqu'elles accumulent des mutations, notamment dans la voie de signalisation Wnt, associées à une perte du gène *APC* ou du gène *p53* qui sont suppresseurs de tumeur, ou par activation *KRAS* impliqué dans la prolifération et la différenciation, cela peut conférer un avantage prolifératif et donc carcinogène (33).

La majorité des CRC débute par des lésions précancéreuses ou précurseurs, comme des adénomes ou polypes, qui sont des tumeurs bénignes se développant à partir de glandes et dont la résection permet de prévenir leur évolution vers un carcinome ou tumeur maligne des cellules épithéliales (33,37). 80% des CRC se développent à partir d'un adénome par transformation maligne, mais seule une faible proportion des polypes progresse vers un cancer. Les polypes se développent à partir de glandes situées dans la muqueuse du côlon et du rectum. Il existe deux types de polypes :

- Les polypes pédiculés constitués d'un pied qui facilite leur résection.
- Les polypes sessiles plus plats nécessitant des techniques de résection plus complexes.

Il y a donc d'abord atteinte superficielle de la muqueuse, au niveau de l'épithélium, puis invasion des couches plus profondes comme illustré par la Figure 8, pour aboutir à un adénocarcinome, et pour ensuite s'essaimer vers les ganglions (38). Il pourra y avoir atteinte des tissus à proximité ou à distance de la tumeur avec formations de métastases, en effet, le CRC a un taux élevé de métastases et 50% des patients en développeront à un moment ou un autre de la maladie (39).

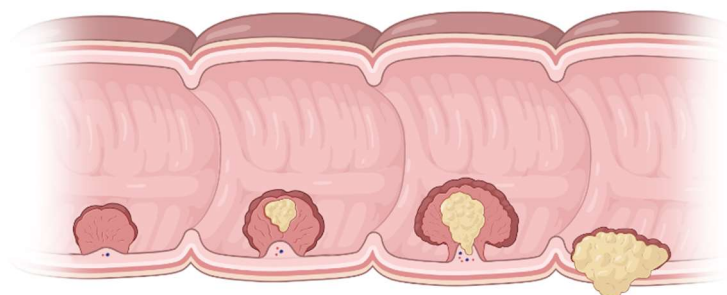


Figure 8 : Illustration de l'invasion progressive du cancer au niveau de la muqueuse intestinale. (Créée sur biorender.com)

Les cancers colorectaux sont divers et hétérogènes, et leur prise en charge, nous le verrons, diffère selon le stade, il est donc maintenant important d'évoquer la classification ou stratification de ce type de cancers.

II.2. Classifications des CRCs

Il existe trois classifications principales s'appliquant aux cancers colorectaux, d'abord en fonction de la localisation, ensuite en fonction de l'atteinte et de l'étendu permettant de définir différents stades, et enfin en fonction du profil moléculaire.

II.2.1. Classification ICD-O selon la localisation

On peut d'abord localiser les CRC de manière spécifique à l'aide de codes topographiques de « l'International Classification of Disease in Oncology » ou ICD-O de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), troisième édition (ICD-O-3.2 de 2019) (40,41).

Des codes sont attribués aux segments comme listés ci-dessous :

- Colon C18
 - Cæcum C18.0
 - Colon ascendant C18.2
 - Angle hépatique C18.3
 - Colon transverse C18.4
 - Angle splénique C18.5
 - Colon descendant C18.6
 - Colon sigmoïde C18.7
- Jonction rectosigmoïde C19
- Rectum C20

En ce qui concerne le cancer du rectum, on peut différencier le haut rectum, le moyen rectum, et le bas rectum en fonction de la distance par rapport à la jonction anorectale, et le canal anal (35).

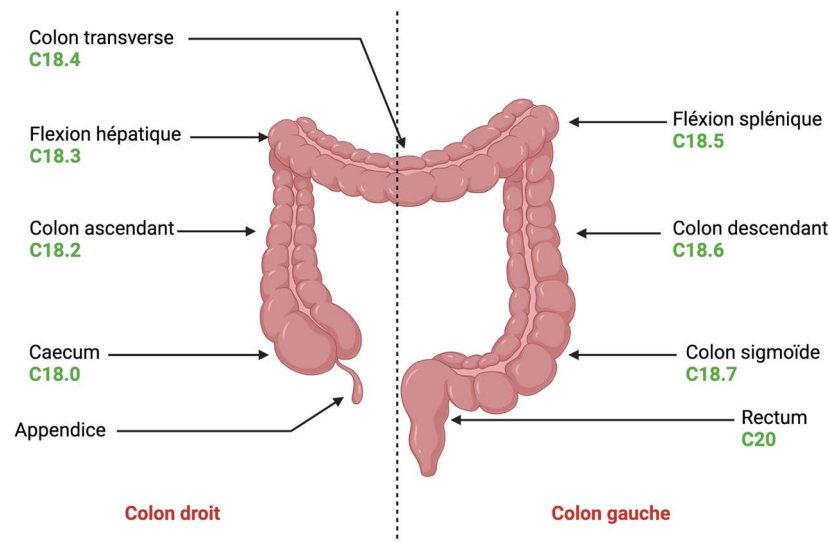


Figure 9 : Anatomie du colon et du rectum ainsi que leurs codes ICD-O. (Créée sur biorender.com)

Il faut noter que les CRC sont à 65% coliques, avec plus de la moitié d'entre eux étant préférentiellement situés au niveau du côlon sigmoïde, et les 35% restants sont rectaux (12).

Une classification ne prenant en compte que la localisation n'est bien sûr pas suffisante pour différencier tous les cancers colorectaux, c'est pourquoi nous utilisons aussi la classification TNM qui suit.

II.2.2. Classification TNM

Non spécifique au cancer colorectal, le système TNM est la classification la plus largement utilisée en oncologie (42). Elle a été créée et mise à jour par l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) et l'International Union Against Cancer (UICC), et permet de décrire la majorité des cancers notamment les carcinomes (40). Elle tient compte de trois critères principaux : l'étendue de la tumeur primitive (T), la présence d'adénopathies régionales (N) et la présence de métastases à distance (M), on l'appelle donc la classification TNM pour « tumor, node, metastasis » en anglais. En combinant ces trois critères et leur notation, en découlent différents stades du cancer, allant du stade 0 au stade IVC. Le Tableau 1 Tableau 2 ci-dessous détaille cette classification et les stades associés.

Classification TNM/AJCC		Stades			
T : tumeur primitive	TX : Tumeur primitive ne peut être évaluée	Stade 0	Tis	N0	M0
	T0 : Pas d'évidence de tumeur primitive	Stade I	T1, T2	N0	M0
	Tis : <i>In situ</i> (intraépithéliale ou intra-muqueuse)	Stade II	T3, T4	N0	M0
	T1 : Invasion de la sous-muqueuse	Stade IIA	T3	N0	M0
	T2 : Invasion de la musculuse (<i>muscularis propria</i>)	Stade IIB	T4a	N0	M0
	T3 : Invasion de la sous-séreuse ou des tissus péri-coliques ou péri-rectaux non-péritonisés	Stade IIC	T4b	N0	M0
	T4a : Pénétration du péritoine viscéral	Stade III	Quel que soit T	N1, N2	M0
	T4b : Invasion d'autres organes ou structures	Stade IIIA	T1, T2	N1	M0
N : adénopathies régionales	NX : Métastases ganglionnaires ne peuvent être évaluées	Stade IIIB	T1	N2a	M0
	N0 : Pas de métastases ganglionnaires		T3, T4a	N1	M0
	N1a : Métastase dans 1 ganglion régional		T2, T3	N2a	M0
	N1b : Métastase dans 2 à 3 ganglions régionaux	Stade IIIC	T1, T2	N2b	M0
	N1c : dépôts tumoraux (satellites, dans la sous-séreuse, ou des tissus péri-coliques ou péri-rectaux non-péritonisés) sans métastase dans un ganglion régional		T4a	N2a	M0
	N2a : Métastase dans 4 à 6 ganglions régionaux		T3, T4a	N2b	M0
	N2b : Métastase dans 7 ganglions régionaux ou plus	Stade IVC	T4b	N1, N2	M0
	M0 : Pas de métastase à distance		Quel que soit T	Quel que soit N	M1a
M : métastases à distance	M1a : Métastases à distance mais confinées à un organe	Stade IVC	Quel que soit T	Quel que soit N	M1b
	M1b : Métastases à distance dans plus d'un organe				M1c
	M1c : Métastases au niveau du péritoine				

Tableau 2 : Classification TNM/AJCC. Le tableau de gauche décrit les codes en fonction de l'étendue de la tumeur primitive, l'atteint des ganglions régionaux et la présence de métastases à distance. Le tableau de droite décrit les différents stades de cancer en fonction de l'association des codes du tableau gauche.

Comme mentionné précédemment, le CRC est une maladie très hétérogène, c'est pourquoi, en plus de la classification TNM, s'ajoutent le statut MMR et le statut mutagène ou d'instabilité microsatellite. Ceci est évalué par une autre classification appelée « CMS » pour Consensus du sous-type moléculaire en anglais (43).

II.2.3. Classification CMS

Plus récente et introduite par Guinney *et al.*, la classification selon le consensus de sous-type moléculaire ou « Consensus molecular subtype » (CMS) en anglais a été créée afin d'établir l'hétérogénéité des cancer colorectaux, selon leur profil moléculaire et de l'expression génique des cellules cancéreuses et du micro-environnement tumoral (MET). Cette classification est basée sur six systèmes de classification CRC indépendants, et bien que reconnue comme plus robuste, elle ne fait pas encore partie intégrante de la pratique clinique, elle peut pourtant aider à l'évaluation pronostique et au choix de la stratégie thérapeutique (33,43,44).

La classification CMS comprend 4 sous-types :

- CMS1 dit immunogénique de par la forte infiltration et activation immunitaire, mais aussi l'instabilité microsatellite et le statut hyper-muté,
- CMS2 dit canonique avec une activation marquée des voies de signalisation comme Wnt,
- CMS3 dit métabolique car il présente une forte dérégulation métabolique, des mutations *KRAS*, des statuts MSI mixtes et un phénotype de méthylation des îlots CpG,
- et enfin CMS4 dit mésenchymateux avec activation de TGF- β , de l'angiogenèse et de l'infiltration stromale.

Les différents sous-types sont représentés à 14%, 37%, 13% et 23%, respectivement, avec CMS1 plus souvent retrouvé au niveau du côlon proximal, CMS2 touchant le côlon distal et le rectum, CMS3 au niveau du côlon sigmoïde et le rectum et enfin CMS4 au niveau du côlon distal et le rectum (45). Cette classification prend en compte de nombreuses caractéristiques telles que l'altération génique, le système immunitaire et l'infiltration tumorale, le métabolisme cellulaire, l'épithélium, l'angiogenèse, mais aussi la dimension clinique et pronostique.

La Figure 10 ci-dessous détaille les caractéristiques des différents sous-types moléculaires ainsi que l'approche thérapeutique et l'impact pronostique associés.

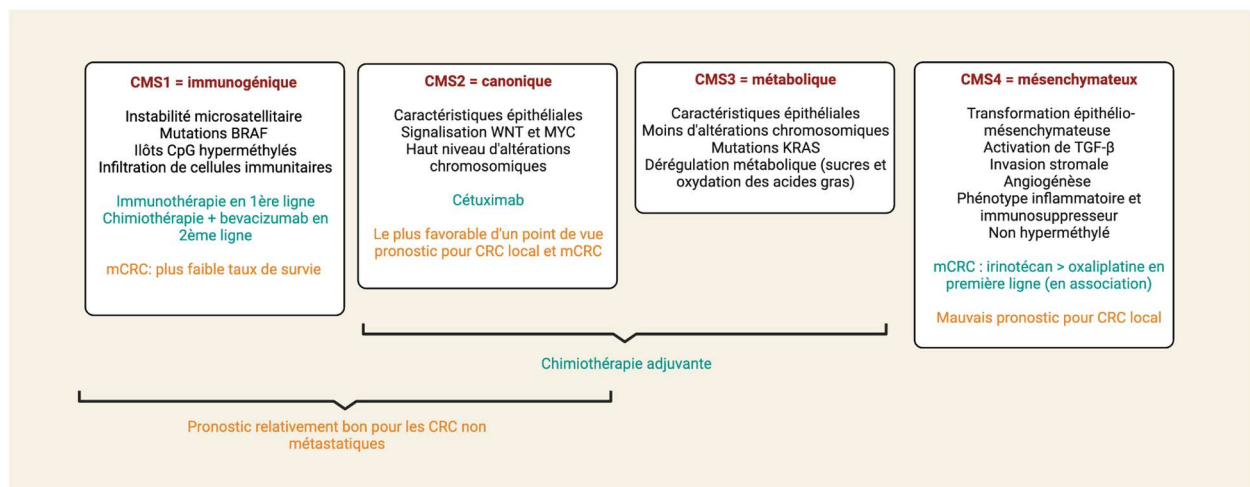


Figure 10 : Les différents sous-types CMS avec leur appellation (rouge), leur caractéristiques (noir), les approches thérapeutiques dont ils peuvent bénéficier (vert) et leur évaluation pronostique (jaune) selon (34). (Créée sur biorender.com)

Maintenant que nous savons classer les cancers colorectaux, quels sont les mécanismes liés à leur initiation et développement ?

II.3. Mécanismes de carcinogénèse

Il y a deux versants principaux impliqués dans la carcinogénèse, le premier est l'altération de l'acide désoxyribonucléique (ADN), et le second est lié au système immunitaire et à l'inflammation, le deux aboutissant à des phénomènes hyper-prolifératifs.

II.3.1. Altération de l'ADN

En 1990 a été formulée la théorie selon laquelle il était nécessaire d'accumuler des mutations au niveau d'oncogènes ou de gènes suppresseurs de tumeur pour développer un cancer, cela représente maintenant un des critères de référence de cancérogenèse. En général, ce sont des mutations de gènes clés, mais cela peut être associé à des mutations additionnelles d'une grande variabilité, pouvant expliquer l'hétérogénéité biologique des

cancers. Trois voies principales de carcinogenèse ont été identifiées et un CRC peut donc impliquer une ou plusieurs de ces voies : l'instabilité chromosomique, l'instabilité microsatellite et une voie dites « dentelée » mettant en jeu la méthylation d'îlots CpG (33,39).

a) Instabilité chromosomique et génique

L'instabilité chromosomique est associée à près de 70% des CRCs sporadiques, et est principalement retrouvée dans les cancers CMS2, 3 et 4 (46). Elles incluent une perte d'aneuploïdie c'est-à-dire une modification du nombre de chromosomes, et une perte d'hétérozygotie, étant la perte d'un allèle parental d'un gène, et sont dues à des défauts mitotiques de ségrégation, mais aussi défaut de la réparation de l'ADN, cassure de télomères ou encore à des mutations spécifiques comme insertions, des délétions, des amplifications, dans des oncogènes comme *KRAS* ou gènes suppresseurs de tumeur comme *APC* et *TP53*. (33,39).

Le gène *APC* est un élément important de la voie Wnt mentionnée précédemment, et sa mutation entraîne l'augmentation des niveaux de β -caténine activant la voie de signalisation. Cette voie est impliquée dans l'activation des cellules souches dans l'embryogenèse mais aussi dans la régénération. *APC* est le gène le plus muté chez les patients CRC, et des mutations différentes, par exemple qu'elles soient en C-terminal ou en N-terminal, sont associées à des pronostics différents (33,47).

Le gène *KRAS* code pour une protéine *KRAS* avec un signal d'auto-inactivation, elle se lie à des récepteurs à tyrosine kinase comme le récepteur au facteur de croissance endothéliale (EGFR), et active la voie de signalisation RAS-RAF-MEK kinase impliquée dans la prolifération, la différenciation, l'apoptose et l'angiogenèse. Une mutation activatrice de *KRAS* est donc carcinogène.

b) Instabilité microsatellite

L'instabilité microsatellite (MSI) correspond à des anomalies ou variations au niveau des microsatellites ou répétitions en tandem, qui sont de courtes séquences répétées d'ADN, en général de 1 à 6 nucléotides, qui peuvent se trouver dans des régions codantes ou non-

codantes. Ces altérations sont dues à des erreurs de réplication, qui en temps normal sont réparées par des protéines impliquées dans la réparation de mésappariement ou MMR, mais ce système est défectueux pour les cellules cancéreuses à cause de mutations inactivantes ou de modifications épigénétiques telles que de l'hyper-méthylation de promoteurs réprimant l'expression de gènes MMR, c'est ce qu'on appelle la déficience MMR (dMMR) (48). Cela entraîne l'impossibilité de corriger les erreurs issues de la réplication de l'ADN et accélère la progression du CRC (33). On distingue trois niveaux d'instabilité microsatellite en fonction du pourcentage d'instabilité déterminé au niveau de cinq marqueurs validés :

- MSI élevée (MSI-H) lorsqu'il y a 30% d'instabilité ou plus,
- MSI faible (MSI-L) lorsqu'il y a moins de 30% d'instabilité
- et stabilité microsatellite (MSS) lorsqu'il n'y a pas d'instabilité (46).

L'instabilité microsatellite est retrouvée dans 15% des cas de CRC, la majorité correspondant à des CRC sporadiques avec inactivation épigénétique des gènes MMR comme *MLH1*. 3% des cancers MSI sont associés à des syndromes de Lynch. L'évaluation MSI est donc importante pour la suite de la démarche diagnostique afin de différencier les CRC MSI sporadiques des syndromes de Lynch, mais aussi pour le choix de la stratégie thérapeutique comme nous le verrons par la suite.

c) Méthylation des îlots CpG

Dans 15% des cas de CRC cela est plutôt lié au phénotype de méthylation des îlots CpG. Ces îlots sont des sites régulateurs situés au niveau des promoteurs de gènes. On observe généralement au cours de cancers, une hypo-méthylation globale de l'ADN avec de l'hyper-méthylation localisée au niveau de promoteurs. L'hyper-méthylation au niveau de gènes suppresseurs de tumeur ou gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire entraîne leur répression avec des effets carcinogènes (46).

Les CRC à phénotype de méthylation des îlots CpG, ou CIMP en anglais, sont associés à des mutations *BRAF*, qui codent pour une sérine-thréonine kinase régulant la voie MAPK impliquée dans de nombreuses réponses physiopathologiques telles que la prolifération cellulaire. *BRAF* est un oncogène lié à l'initiation et la progression de cancers (33). Ce serait un évènement précoce, qui est associé à l'hyper-méthylation de *MLH1*.

Encore une fois, il y a eu développement d'un panel de 5 marqueurs afin de déterminer le statut d'hyper-méthylation de promoteurs de gènes, et on appelle le CRC CIMP élevé (CIMP-H) lorsque deux ou plus de ces promoteurs sont hyper-méthylés. D'autres panels ont été développés, dont un comportant plus d'une centaine de marqueurs et qui différencie CIMP-1 dit élevé de CIMP-2 dit faible mais la détection de CIMP-2 reste peu fiable (46).

II.3.1. Système immunitaire, inflammation et cancer

Nous ne pouvons parler de carcinogenèse sans évoquer son association avec l'inflammation, et plus particulièrement l'inflammation chronique qui est reconnue comme étant un facteur de risque de développement du CRC. Cela est notamment illustré par l'incidence plus élevée de CRC chez les individus atteints de MICIs telles de la rectocolite hémorragique ou la maladie de Crohn dont le risque cumulé sur 30 ans est augmenté de 18% et 8%, respectivement (27). Selon une estimation, près de 20% des tumeurs seraient précédées par la présence d'inflammation chronique (5).

Il est important de noter que le MET est composé de nombreux types cellulaires en plus des cellules cancéreuses, comme des cellules endothéliales, des fibroblastes, mais aussi des cellules immunitaires de types Treg ou des cellules myéloïdes suppressives (CMS). A toutes ces cellules s'ajoutent des composants extracellulaires comme la matrice extracellulaire ainsi que des cytokines et facteurs de croissance (26). Le MET est notamment alimenté par un réseau vasculaire et contiendrait également des microorganismes (26).

Les CRC associés aux MICIs suivent un modèle particulier, mettant en jeu des altérations génétiques et morphologiques des cellules épithéliales. Il y a installation d'une inflammation chronique avec recrutement de cellules immunitaires au niveau de la muqueuse intestinale, comme des neutrophiles et macrophages qui produisent de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- α , IL-6 et IL-1 β , des chimiokines, mais aussi la libération d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Il y a ensuite implication des lymphocytes T à profils Th1, Th2 et Th17. Cette exposition inflammatoire chronique facilite les altérations génétiques de carcinogenèse évoquées précédemment et l'installation d'une dysplasie évoluant vers le carcinome (49).

En plus d'un terrain pro-inflammatoire, des mécanismes de suppression immunitaire sont aussi impliqués dans la progression cancéreuse, sculptant un environnement immunosuppresseur dans lequel les cellules cancéreuses prospèrent. En effet, le développement de cancer est favorisé par le blocage de la surveillance antitumorale, notamment par recrutement de macrophages M2 ou de lymphocytes Treg ou encore de lymphocytes T exprimant des protéines de surface comme PD-1 ou CTLA-4 qui, liées à certains ligands suppresseurs exprimés par les cellules cancéreuses, entraînent une inhibition des lymphocytes T qui sont l'élément crucial de la réponse antitumorale (49).

Nous avons désormais une idée des différents mécanismes impliqués dans le développement des cancers colorectaux, mais alors, comment ceux-ci se manifestent-ils chez les patients ?

II.4. Tableau clinique et diagnostique

II.4.1. Symptomatique

Le tableau clinique peut être diverse et inclure notamment des symptômes digestifs non pathognomoniques tels que des troubles du transit alternant diarrhée et constipation, des douleurs de l'abdomen, une rectorragie ou un syndrome rectal incluant des ténésmes ou épreintes (32). Il peut aussi y avoir des troubles de l'état général avec perte de poids, anorexie et anémie ferriprive d'origine inconnue et autres maladies thromboemboliques. Des symptômes hépatiques comme un ictère ou une hépatomégalie, ainsi que des symptômes respiratoires peuvent être associés si le cancer s'est étendu au foie ou aux poumons (50).

II.4.2. Dépistage

Le souci des cancers est qu'ils sont souvent asymptomatiques au cours des stades précoces, et la découverte d'un CRC peut se faire de façon fortuite au cours d'une palpation s'il y a d'envahissement locorégional, ou d'une imagerie. La plupart des cas de CRC sont diagnostiqués à un stade avancé (32), c'est pour cela qu'au cours des années 2000 en France, il y a eu mise en place d'un programme de dépistage organisé par les autorités de santé publique, comme pour deux autres types de cancers étant le cancer du sein et le

cancer de l'utérus. La campagne de dépistage a pour but de détecter les lésions pré-cancéreuses à un stade précoce asymptomatique et de les traiter avant qu'elles n'évoluent vers un cancer et donc *in fine* de diminuer la mortalité associée au CRC (34).

Différents tests peuvent être utilisés pour le dépistage, notamment les tests basés sur la recherche de sang dans les selles comme le test immunologique qui utilise des anticorps visant à détecter l'hémoglobine humaine dans les selles, à la différence de l'hémoglobine animale d'origine alimentaire. C'est le test couramment utilisé en France (34). Il y a également le test au Gaïac ou Hemoccult, utilisé auparavant et basé sur la détection de sang dans les selles mais cette fois-ci par utilisation d'un papier réactif à l'activité peroxydase de l'hème. D'autres tests peuvent être utilisés comme la coloscopie-sigmoïdoscopie, des tests radiologiques, ou d'analyse PCR sanguine selon les stratégies et la catégorie de risque dans laquelle le patient se trouve.

En effet, les modalités de dépistage varient selon les facteurs de risques :

- chez les personnes entre 50 et 74 ans avec un risque moyen, c'est à dire sans antécédents et sans symptômes, un dépistage est proposé tous les deux ans par recherche de sang dans les selles.
- Pour les personnes à risque élevé, c'est à dire qui ont des antécédents personnels ou familiaux de CRC, le dépistage se fait par coloscopie avec des fréquences qui varient.
- Enfin, les personnes à risque très élevé, en cas d'altérations génétiques potentiellement liées à un syndrome de Lynch ou une PAF, se verront proposer des consultations oncogénétiques (34).

II.4.3. Diagnostic

Il est ensuite nécessaire d'établir un diagnostic, et en France, en cas de suspicion de CRC, le diagnostic repose sur un examen anatomopathologique incluant une coloscopie totale avec des prélèvements biopsiques pour analyse biologique moléculaire. La coloscopie est le « gold standard » car elle permet de visualiser directement les lésions pré-cancéreuses et cancéreuses, et de réaliser une éventuelle prise en charge mini-invasive (34,35). La Figure 11 ci-dessous représente une image coloscopique d'un cancer du côlon. Dans 10% des cas, si la coloscopie est incomplète, une colo-tomodensitométrie (colo-TDM) aussi appelée colo-scanner peut être réalisée, cette technique est non invasive mais irradiante.



Figure 11 : Image coloscopique montrant un cancer colique, issue de (35)

A cela s'ajoute un bilan clinique avec touché rectal pour une estimation subjective de la distance par rapport au sphincter externe en cas de cancer du bas rectum, ainsi que la potentielle détection d'adénopathies (35), et un bilan biologique avec numération formule sanguine (NFS), tests des fonctions rénale et hépatique et analyse de marqueurs tumoraux. De plus, des techniques d'imageries seront utilisées pour le bilan d'extension locorégional, notamment un scanner ou tomodensitométrie thoraco-abdominale (TDM TA) après injection de produits de contraste, qui est un examen de référence du bilan initial, ou encore une Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) (35).

La démarche diagnostique sera différente en cas de suspicion de syndrome de Lynch, selon les critères Bethesda qui permettent d'identifier les CRC pour lesquels un test immunohistochimique ainsi qu'une détection de MSI doivent être faits, ou de PAF, avec une analyse génétique et l'utilisation de techniques endo et fibroscopiques.

Le stade sera ensuite déterminé selon la classification AJCC, avec détermination du TxNxMx, qui sera précédé de différentes lettres en fonction de la technique d'évaluation : « ct » pour TDM-TA, « mr » pour l'IRM, « us » pour écho-endoscopie, « p » pour analyse anatomopathologique, « y » pour un traitement néoadjuvant et « r » pour récidence (35).

Les biomarqueurs présents dans les selles sont aussi de plus en plus utilisés, principalement dérivés de l'ADN, mais seul le test « Cologuard multitarget stool DNA » a été approuvé en

2014 par la Food and Drug Administration (FDA) pour l'utilisation clinique. Ce test reconnaît une combinaison de mutations, de marqueurs de méthylation de l'ADN et des tests immunochimiques fécaux (33). Il existe aussi un test de détection plasmatique du gène *SEPT9* méthylé, qui serait associé aux tumeurs malignes, mais qui aurait une sensibilité limitée notamment s'il est utilisé à des stades précoces.

Avec l'émergence de la médecine de précision, il y a possibilité d'utiliser le séquençage génomique et protéomique recherchant des anomalies particulières par séquençage de nouvelle génération (NGS) ou séquençage ciblé et profilage immunitaire, qui peuvent aider au choix de la stratégie thérapeutique avant et pendant le traitement (22). Par exemple, il y a le test BRAF chez les patients avec CRC métastatique (mCRC), ou notamment pour déterminer s'il s'agit d'un syndrome de Lynch afin d'adapter la prise en charge et envisager l'exploration chez des membres apparentés (33). Enfin comme indiqué précédemment, l'instabilité microsatellite peut être déterminée par une analyse PCR ; et s'il y a 2 critères ou plus alors le CRC sera classé comme haut niveau d'instabilité microsatellite (MSI-H) (33).

II.4.4. Biomarqueurs et pronostic

Pour les stades précoces, il existe des tests de signature d'expression génique comme « ColoPrint », ou « Oncotype DX » pouvant prédire les récurrences ou aider au choix du traitement, mais celles-ci ne font toujours pas partie de la pratique courante et des recommandations actuelles (45).

En ce qui concerne les stades métastatiques, les statuts mutationnels MSI, RAS et BRAF sont évalués de façon routinière pour leur valeur pronostique (45). En effet, les CRC avec MSI-H ont en général un meilleur pronostic que ceux avec MSS, et sont moins à même de développer des métastases lymphatiques ou hépatiques (33). Le statut MSI aide aussi à la décision de la stratégie thérapeutiques ; les CRC MSI-H de stade II ne recevront pas de chimiothérapie adjuvante, et pour les CRC de stades IV, le statut MSI-H, bien que de prévalence moindre, est prédictif d'une bonne réponse aux traitements d'immunothérapie anti-PDL1. La présence de mutation BRAF, elle, est prédictive d'un pronostic plus pauvre que BRAF non muté, notamment la mutation V600E qui est associée à une survie globale moindre chez les patients de stades II à IV (33).

Le dosage sanguin du marqueur tumoral antigène carcino-embryonnaire (ACE) est aussi utilisé pour le pronostic et le suivi au cours du traitement, en effet cette glycoprotéine peut être augmentée chez les patients CRC et un niveau élevé est annonciateur d'un pauvre pronostic (35).

II.5. Prévention et traitements

II.5.1. Prévention

La prévention représente les actions prises afin d'éviter le développement du cancer colorectal et *in fine* de réduire l'incidence et les décès liés à cette pathologie. Ces actions découlent des facteurs de risques et facteurs protecteurs identifiés. En ce qui concerne l'âge, l'origine ethnique et les prédispositions, ceci est adressé par le dépistage. Il est recommandé de limiter la consommation d'alcool et d'éviter le tabagisme, ainsi que de maintenir un mode de vie sain, car l'obésité représente un facteur de risque du CRC (37).

L'exérèse de polypes fait également partie de l'approche préventive afin d'écarter leur potentiel transformation en tumeur maligne, et la Figure 12 ci-dessous montre une photo de dissection sous-muqueuse d'un polype adénomateux. La résection d'adénome sera accompagnée d'une étude histologique afin de confirmer le caractère bénin.

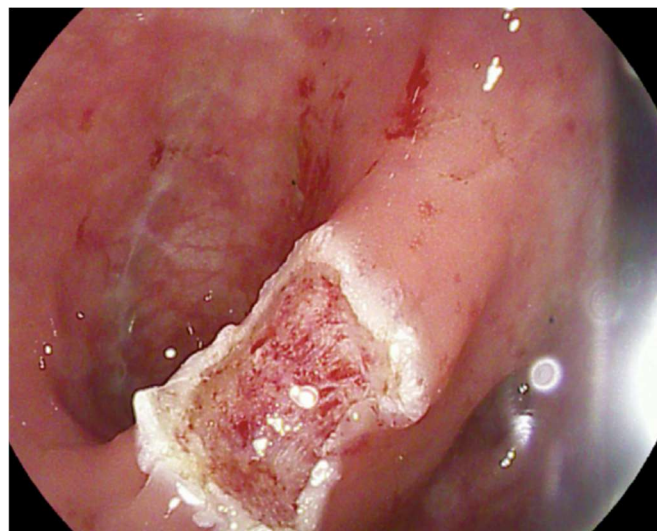


Figure 12 : Dissection sous-muqueuse d'un polype adénomateux, issue de (51)

Enfin, l'utilisation régulière et ancienne d'aspirine, et potentiellement celle d'autres anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), serait liée à une diminution du risque de développer des polypes et CRC mais aucune recommandation n'a été établie (38).

II.5.2. Traitements du cancer du côlon, et cancer du 1/3 supérieur du rectum

Pour les CRC détectés de façon suffisamment précoce, la résection endoscopique associée ou non à une chirurgie complémentaire seront les interventions de référence des formes isolées ou non métastatiques. En cas de CRC avec invasion loco-régionale, quand la résection n'est pas possible d'emblée, il peut être envisagé d'utiliser un traitement néoadjuvant, en général une chimiothérapie pour les cancers du côlon, et ce afin de réduire la taille de la tumeur pour faciliter l'intervention (38). Il existe différentes techniques d'exérèse, par exemple la mucoséctomie, qui consiste en l'injection d'un liquide au niveau de la sous-muqueuse permettant de soulever la muqueuse, ou alors par dissection sous-muqueuse comme montré dans la Figure 12, mais la microchirurgie endoscopique est la technique recommandée actuellement.

Les autres traitements de première ligne incluent, selon les stades, une chimiothérapie adjuvante à partir du stade II, et/ou thérapie ciblée pour le stade IV métastatique, avec réévaluation périodique en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) et possibilité de chirurgie en urgence en cas de complications occlusives, hémorragiques ou perforatrices (32).

Les protocoles de chimiothérapie adjuvante après chirurgie incluent l'association FOLFOX 4 à base d'acide folinique, de 5-fluorouracil (5FU), et d'oxaliplatine, ou l'association LV5FU2 à base d'acide folinique et 5FU seulement. Pour les thérapies néoadjuvantes, il s'agit en général de FOLFOX 4 avec ou sans thérapie ciblée comme le bévaccizumab, un anti-VEGF, ou le cétuximab, un anti-EGFR (52).

La Figure 13 ci-dessous décrit l'arbre décisionnel de la prise en charge en fonction du stade de CRC.

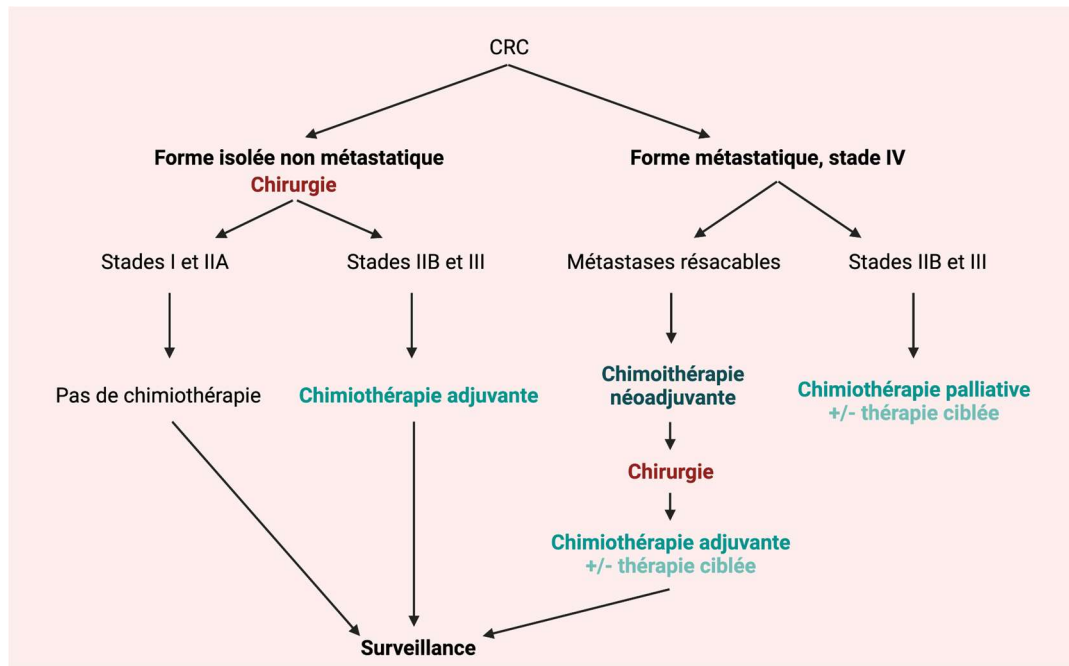


Figure 13 : Arbre décisionnel pour le traitement du CRC du colon et du 1/3 supérieur et haut rectum. (Créée sur biorender.com)

Selon un document de l'INCa, il est important de réaliser un bilan pré-thérapeutique afin de déterminer les marqueurs de réponse au traitement, comme les gènes *RAS* pour thérapies ciblées, *BRAF* de mauvais pronostic et la recherche de MSI, cela a un intérêt pour le choix d'une thérapie adjuvante, ou le diagnostic du syndrome de Lynch comme nous l'avons évoqué précédemment. En effet, les CRC avec instabilité microsatellite répondent mieux aux traitements par inhibiteur de checkpoint immunitaire PD-1 comme le nivolumab ou le pembrolizumab même si 50% des patients progresseront tout de même sous ces thérapies (33).

Des traitements ciblant les récepteurs à l'EGFR, comme les anti-EGFR cétuximab et panitumumab, sont approuvés pour le traitement de première ligne des patients sans mutation *BRAF/KRAS/NRAS*. En effet, une mutation dans l'exon 2 mais également d'autres exons de *KRAS*, entraîne une résistance à ce type de thérapie (33,39). Des résistances secondaires peuvent également apparaître chez des patients initialement de type sauvage (33). La mutation *BRAF* V600E est associée à une résistance aux chimiothérapies ainsi que certaines thérapies ciblées comme cétuximab et panitumumab, il est donc recommandé d'utiliser en première ligne de traitement de CRC de stade IV avec mutation *BRAF* V600E le FOLFOXIRI qui est une association d'acide folinique, 5FU, oxaliplatine, et l'antinéoplasique irinotécan, utilisée avec la molécule anti-angiogénique bévacizumab (33). L'encorafénib, un

inhibiteur de kinase RAF, peut être utilisé en association au cétuximab en seconde ligne ou plus du mCRC avec mutation *BRAF* V600E (52). De plus, le régorafénib est une molécule dite « multikinase » qui peut être utilisée en troisième ligne de traitement du mCRC (53).

Enfin, pour les formes métastatiques, des administrations intra-péritonéales ou intra-artérielles pourront être utilisées (43). S'il y a présence de métastases hépatiques, une chimiothérapie intra-artérielle à base de 5FU ou oxaliplatine pourra être envisagée (52).

II.5.3. Traitement du cancer du moyen et bas rectum

Encore une fois la résection endoscopique est la référence du stade 0 selon l'InCA et l'exérèse locale chirurgicale pour le stade I. A cela pourront être associées une radiothérapie et/ou une chimiothérapie selon les cas. La référence pour les stades II et III est une radiothérapie suivie d'une chirurgie, à la différence du cancer du côlon pour lequel la radiothérapie n'est pas indiquée (38). En cas d'envahissement ganglionnaire élevé pour un cancer rectal, une proctectomie, étant une ablation du rectum et du sphincter anal, devra être envisagée.

A ces traitements, pour le cancer du côlon et le cancer du rectum, devront s'ajouter l'accompagnement nutritionnel afin d'éviter la dénutrition des patients, l'accompagnement par des infirmières pour les patients stomisés ou des soins palliatifs en cas de maladie avancée ne pouvant bénéficier d'une stratégie curative. La chimiothérapie palliative inclue 5FU, irinotécan, avec ou sans l'anti-VEGF bévacizumab ou l'anti-EGFR cétuximab.

II.5.4. Thérapies futures

Il existe maintenant des inhibiteurs *BRAF* mais qui n'ont pas démontré de bons résultats en monothérapie chez les patients CRC contrairement à certains autres cancers comme le mélanome, mais il y a développement de nouvelles associations. Par exemple, l'essai BEACON CRC a montré l'avantage en terme de survie et de qualité de vie de la bithérapie encorafénib, qui est un inhibiteur de *BRAF*V600E, et cétuximab, ou la trithérapie avec le binimetinib, qui est un inhibiteur de *MEK*1/2, chez les patients mCRC avec mutation *BRAF*V600E après au moins une première ligne de traitement, par rapport aux patients recevant cétuximab associé à une chimiothérapie comme irinotécan ou FOLFIRI (53,54).

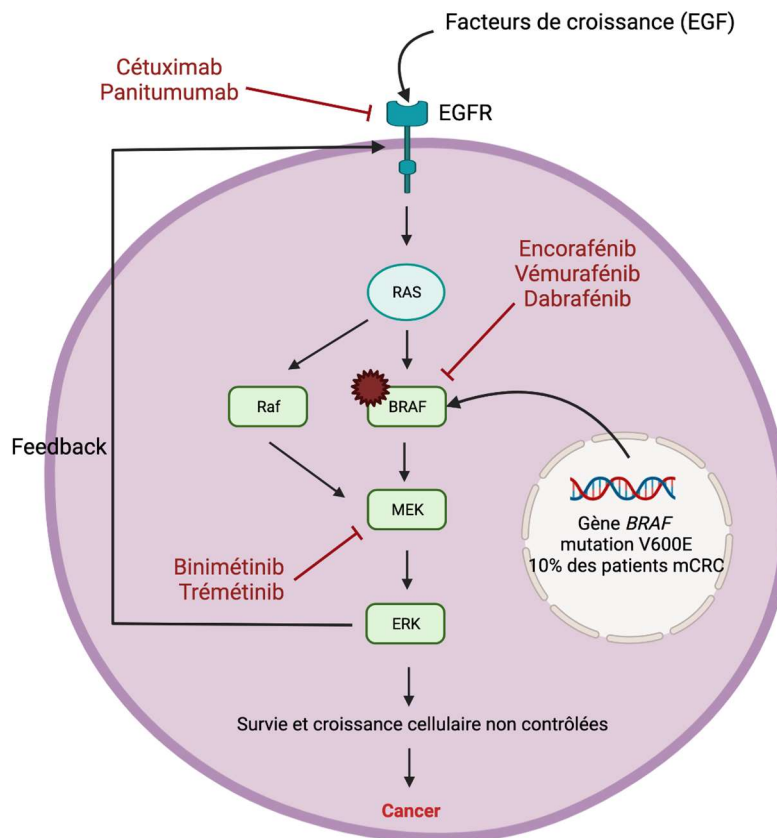


Figure 14 : La voie de signalisation RAS/BRAF/MEK avec la mutation BRAFV600E qui provoque une suractivation de BRAF avec augmentation de la survie et la croissance cellulaire pouvant entraîner le développement de cancer, et les traitements agissant sur cette voie de signalisation. (Créée sur biorender.com)

Des associations d'inhibiteurs du récepteur HER2 , comme trastuzumab, lapatinib, tucatinib ou pertuzumab, sont à l'étude car des mutations activatrices du récepteur HER2 sont retrouvées chez 2 à 3% des patients mCRC, même si aucune de ces associations n'a encore été approuvée (53).

En termes de thérapie cellulaire, il existe par exemple les cellules tueuses induites par des cytokines ou « cytokine-induced killer cells » en anglais (CIK), qui sont des cellules mononuclées du sang périphérique stimulées *ex vivo* par un cocktail de cytokines, et qui administrées en association à une chimiothérapie peuvent augmenter la survie des patients mCRC. Il y a ensuite développement de vaccins basés sur la stimulation de cellules dendritiques par des lysats de cellules cancéreuses et autres facteurs, cette stratégie a été testée en combinaison avec CIK chez des patients CRC de stade III et IV avec des résultats

encourageants. D'autres études évaluent une thérapie à base de cellules natural killer (NK) associées à un anti-EGFR, ce qui entraîne une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), avec une action synergique. Les NK dérivés de cellules souches de cordon ombilical seraient encore plus cytotoxiques que les NK périphériques. De plus, l'utilisation de lymphocytes T (LcT) $\alpha\beta$ activés *ex vivo* en association à de la chimiothérapie et thérapie ciblée aurait entraîné un taux de réponse élevé chez des patients de stade IV (39)

Des études en cours visent à identifier les antigènes associés à la tumeur (TAA) qui sont surexprimés par les cellules cancéreuses, ou spécifiques à la tumeur (TSA) encore appelés néo-antigènes, qui eux sont spécifiquement exprimés par les cellules cancéreuses, afin de développer de nouvelles thérapies ciblées comme les lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique ou « CAR-T cell » en anglais (39). La technologie CAR-T cell utilise des lymphocytes T génétiquement manipulés afin de leur faire exprimer un récepteur des lymphocytes T (TCR) chimérique reconnaissant spécifiquement un antigène d'intérêt associé à la tumeur, indépendamment du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), pour engendrer une réponse antitumorale (39). Les CAR-T cells commencent à être utilisées dans les cancers hématologiques mais cela est plus difficile en cas de tumeurs solides de par l'infiltration limitée des cellules T, le manque de TSA et la caractéristique immunosuppressive du MET. Plusieurs essais cliniques de thérapie CAR-T cells sont en cours avec pour cibles principales CEA, NKG2DL, EGFR et HER2, parfois associée à des systèmes de délivrance permettant d'améliorer l'infiltration des CAR-T cells sur le site tumoral, mais ces études sont toujours en phase précoce.

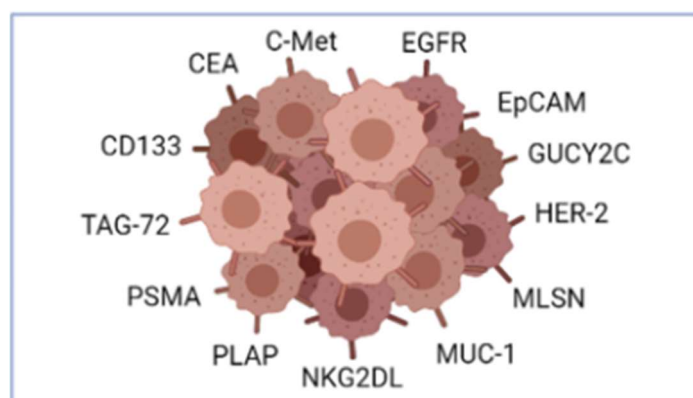


Figure 15 : Les potentielles cibles de CAR-T cells dans le CRC, tirée de (29)

Enfin, l'adagrasib, un inhibiteur irréversible et sélectif prometteur des protéines KRAS mutées est actuellement approuvé aux Etats-Unis pour d'autres cancers mais est à l'étude dans le cadre des cancers colorectaux (33).

Les cancers colorectaux sont donc des cancers fréquents et encore trop souvent mortels, qui présentent une grande hétérogénéité. Leur incidence et le faible pourcentage de survie lorsqu'ils sont diagnostiqués à des stades avancés ont entraîné la mise en place d'une politique de dépistage, mais le diagnostic et la prise en charge thérapeutique restent complexes. L'épithélium du côlon et du rectum est en contact constant avec les microorganismes du microbiote intestinal, il est donc légitime de se demander si cela est impliqué dans le développement des cancers colorectaux, et si oui, comment ? Ce sont les questions auxquelles nous allons tenter de répondre dans la troisième partie.

III. Microbiome et cancers colorectaux

III.1. Microbiote intestinal des patients CRC

III.1.1. Généralités

Deux hypothèses ont été proposées pour tenter d'expliquer le lien causal entre microbiote intestinal et la survenue de CRC ; la première, appelée « alpha bug », selon laquelle une ou plusieurs espèces microbiennes seraient carcinogènes, ces espèces étant persistantes, elles prendraient le dessus sur d'autres espèces dites protectrices. Selon la seconde hypothèse, des bactéries commensales productrices de toxines pourraient entraîner l'altération de l'ADN au niveau des cellules épithéliales initiant donc le processus de développement du CRC puis l'environnement tumoral favoriserait ensuite l'installation d'espèces opportunistes, au détriment des bactéries protectrices (27). Dans ce modèle, la composition du microbiome évolue donc suivant les différents stades de la maladie.

Des études chez l'animal suggèrent un lien entre la composition du microbiote intestinal et la survenue de cancer colorectal, notamment par la production de métabolites microbiens interagissant avec le système immunitaire de l'hôte et causant la libération de facteurs de virulence génotoxiques (5). De plus, les microorganismes peuvent se concentrer dans des niches comme le MET qui favorise la colonisation et la croissance de ceux-ci, par les phénomènes d'angiogenèse rapide et de nécrose qui permettent l'accès à certains nutriments et à un environnement hypoxique pouvant accueillir des germes anaérobies et/ou facultatifs (22). L'étude des microbiomes cancéreux a également confirmé que leur profil différait en fonction du type de cancer.

D'un point de vue général, la population CRC présente une diminution de la diversité et de la densité de son microbiote intestinal par rapport à la population saine, et ce déterminé à partir de l'étude d'échantillons fécaux et muqueux (5,27). Il y a notamment une diminution des bactéries productrices d'AGCCs telle que *Faecalibacterium prausnitzii*, ainsi qu'une perturbation locale du métabolisme des AGCCs au niveau de la muqueuse (3,5). Il est important de rappeler que ces espèces ont un effet protecteur puisque les AGCCs ainsi formés entraînent la production de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10. Il y aurait également diminution des genres suivants : *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, et *Roseburia*, la plupart sont des bactéries fermentatrices de fibres

alimentaires et certaines sont productrices d'AGCCs. On noterait au contraire une augmentation des espèces *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus gallolyticus*, de la famille des *Enterococcaceae*, et des genres *Campylobacter*, *Peptostreptococcus*, et *Shigella* (5).

On observe également différents profils en fonction du sous-type de CRC, en effet, le microbiome est associé aux sous-types moléculaires CMS1 dit immunogénique et CMS2 dit canonique (45). Une étude analysant le lien entre sous-type CMS et composition microbienne de 34 patients CRC a notamment montré que le sous-type CMS1 était associé à une augmentation de *Fusobactéries* et *Bacteroidetes* et une diminution de *Firmicutes* et *Proteobactéries* (55). Les auteurs ont observé principalement un enrichissement des espèces *Fusobacterium hwasookii* et *Porphyromonas gingivalis* pour sous-type CMS1, mais aussi de *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra* et *Peptostreptococcus stomatis*, qui sont des microbes oraux. *P. gingivalis* est un pathogène oral connu, formateur de biofilm et qui serait associé à des cancers oraux et aux CRCs. Le rôle de *F. hwasookii* n'a pas encore été étudié mais il serait supposé être proche de celui de *F. nucleatum* qui sera décrit par la suite. Les auteurs ont conclu que le sous-type CMS2 était plutôt enrichi en *Selenomonas* et *Prevotella*. Il faut garder à l'esprit que la cohorte étudiée était de petite taille, ces résultats doivent donc être validés par de plus amples études.

Il semble donc que les patients atteints de cancers colorectaux font l'objet d'une dysbiose intestinale, avec des genres et espèces augmentés ou diminués par rapport aux populations saines, mais, concrètement, quel est leur impact ? Il est en effet difficile de déterminer avec certitude le potentiel carcinogène de ces nombreuses bactéries, mais peut-on au moins identifier des bactéries spécifiques qui seraient liées de façon causale au développement des CRC ?

III.1.2. Bactéries pathogènes associées aux CRC

Certaines bactéries, appelées bactéries pathogènes, sont hautement associées au cancer colorectal et enrichies chez les patients CRC (27). Il est important de noter que bien qu'appelées « pathogènes » celles-ci sont en général opportunistes, et leur présence n'assure pas le développement d'un CRC. En effet, ces mêmes espèces peuvent être retrouvées chez des individus sains. Les bactéries ne sont en général pas simplement bonnes

ou mauvaises, mais sont à étudier en fonction du contexte dans lequel elles se trouvent. De plus, elles agissent souvent en communauté et non pas seules, ce qui complexifie l'étude du lien entre microbiome et pathologie. Ici, nous évoquons les espèces pour lesquelles une association entre l'augmentation de leur proportion et la pathologie est de plus en plus reconnue.

Comme mentionné précédemment, de nombreuses bactéries seraient associées à la carcinogenèse colorectale mais *Escherichia coli* pks+, *Bacteroides fragilis* entéro-toxigénique (ETBF) et *Fusobacterium nucleatum* (Fn) sont les principales et donc celles sur lesquelles nous allons nous concentrer (47).

a) *Fusobacterium nucleatum*

Fusobacterium nucleatum (Fn) est une bactérie opportuniste Gram négative anaérobie du phylum *Fusobacteria* ne produisant pas de toxine et qui a pour site de colonisation ou habitat naturel la zone buccale, étant rarement présente dans les intestins d'individus sains (47). Il existe quatre sous-espèces avec une grande diversité : *nucleatum*, *animalis*, *vincentii*, and *polymorphum*. La Figure 16 représente Fn observée en microscopie à transmission électronique et nous pouvons voir sa morphologie de bacille fusiforme.

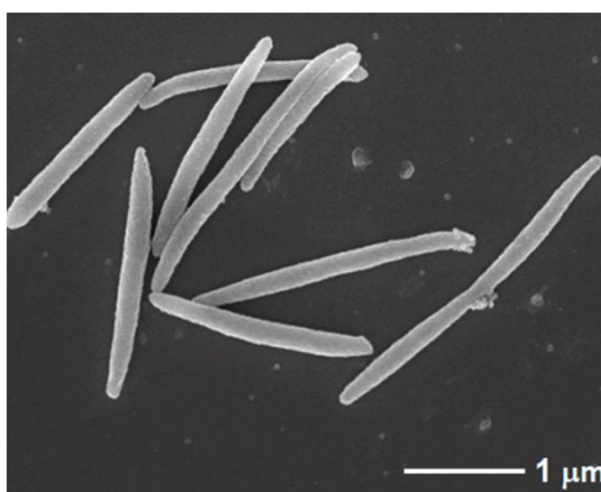


Figure 16 : *Fusobacterium nucleatum* en microscopie à transmission électronique, image tirée de (56).

En termes de facteurs de virulence, Fn contient un système de sécrétion (SS) de type V avec différents sous-types, ce sont des auto-transporteurs avec des fonctions d'adhésines comme

Fusobacterium autotransporteur 2 (Fap2), ou de protéase et lipases comme FplA, ceci étant codé par le gène *fadA*. L'adhésine Fap2 contient un domaine de liaison à Gal-GalNAc qui facilite l'adhésion de la bactérie aux tissus dysplasiques, mais interagit également avec les récepteurs de cellules T et NK, et active les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire, ceci diminuant l'immunité antitumorale par échappement à l'immuno-surveillance (5,47). D'autres adhésines comme RadD aident à l'adhérence à d'autres bactéries et donc la formation de biofilms. La *Fusobacterium* adhésine A (FadA), elle, se lierait à la cadhérine E entraînant une augmentation de la β -caténine qui active la signalisation Wnt, ce qui stimule l'expression d'oncogènes avec des effets hyper-prolifératifs (5,29,47). *Fn* peut induire un environnement inflammatoire qui encore une fois favorise l'hyper-prolifération cellulaire (22). Enfin, *Fn* agit également par son LPS qui est reconnu par TLR4, et induit l'expression de microARN-21 provoquant une dérégulation de la prolifération et donc facilitant la croissance tumorale. Ceci est résumé et schématisé dans la Figure 17.

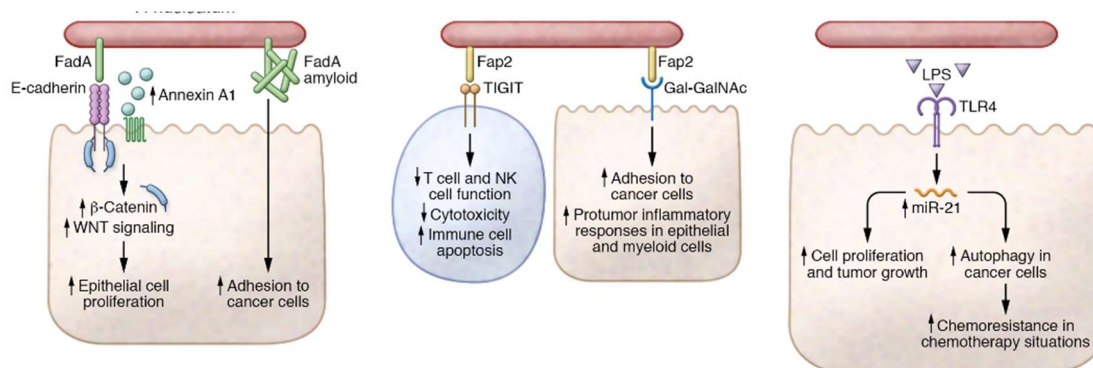


Figure 17 : Facteurs de virulence de *Fusobacterium nucleatum* liés au CRC. Illustration tirée de (47).

Fn était d'abord associée au développement de périodontites et appendicites (29), mais son lien avec le développement de CRC est dorénavant bien établi, en effet, cette espèce aurait un effet cancérogène local (22). Elle est retrouvée en quantité plus élevée chez les patients CRC et notamment dans les tissus cancéreux par rapport aux tissus sains, avec une abondance qui augmente avec le stade de la maladie, en passant du tissu sain à l'adénome puis à l'adénocarcinome. Il existe aussi une corrélation entre la présence élevée de cette espèce bactérienne et la diminution de la survie des patients CRC, sa présence est donc marqueur de mauvais pronostic (6,27). De plus, son inoculation à des tissus CRC entraîne notamment le phénomène de transformation d'adénome à carcinome, et *Fn* entraîne

également une résistance à la chimiothérapie ainsi qu'une augmentation du risque de rechute (5,6,27). Enfin, une abondance élevée de *Fn* est associée au développement de métastases des ganglions lymphatiques (57).

b) *Bacteroides fragilis* entéro-toxigénique

Bacteroides fragilis est une espèce Gram négative anaérobie du phylum *Bacteroidetes*, avec une grande diversité de souches que l'on peut différencier entre toxigéniques et non-toxigéniques. ETBF est détectée chez environ 90% des patients CRC et est reconnue comme étant associée au développement de CRC et de MICIs de par la production d'une toxine inflammatoire de type métalloprotéase appelée BFT pour toxine de *Bacteroides fragilis* en anglais. Cette toxine comporte trois isoformes, avec BTF-1 et BTF-2 majoritairement présentes dans la muqueuse des patients CRC à stade évolué (27,47). Une étude réalisée chez la souris a comparé les effets d'ETBF et *B.fragilis* non-toxigénique, et seule ETBF a entraîné une inflammation du côlon avec développement de tumeurs (11).

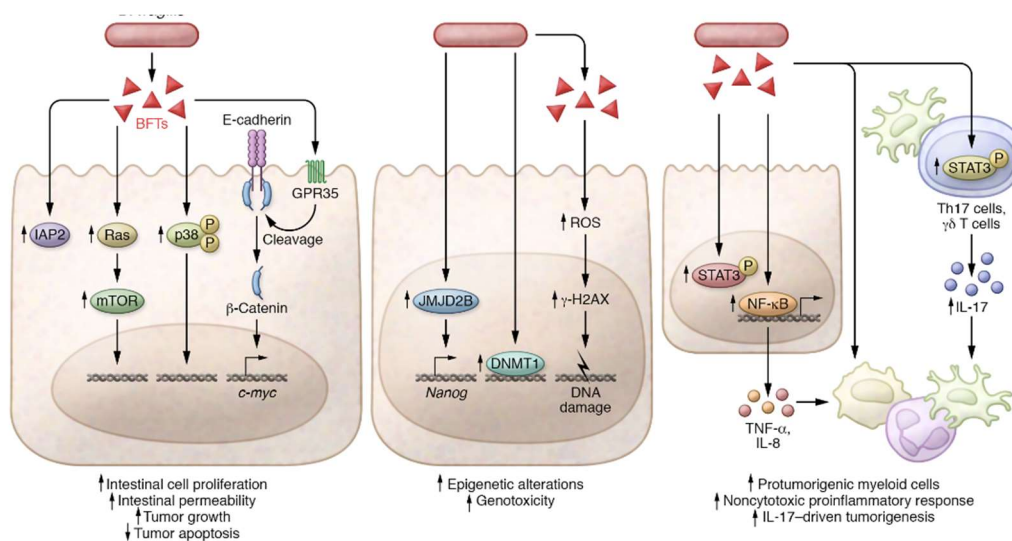


Figure 18 : Facteurs de virulence d'ETBF liés au CRC, image tirée de (47).

Comme résumé dans la Figure 18 ci-dessus, ETBF entraîne le développement de tumeurs par différents mécanismes, d'abord en favorisant l'hyperplasie. De par sa toxine BFT elle provoque l'activation de voies de signalisation des cellules épithéliales avec suppression de l'apoptose, notamment par l'augmentation de la protéine 2 inhibitrice d'apoptose (IAP2), expression de MAPK ou encore l'activation des voies Ras/mTOR et p38, le tout entraînant une hyper-prolifération épithéliale (47). BFT, par l'intermédiaire du RCPG 35 ou GPR35 en

anglais, entraîne le clivage de la cadhérine-E au niveau de la membrane des cellules épithéliales, ce qui active la signalisation nucléaire de la β -caténine qui stimule l'expression de *c-myc* aboutissant là encore à un effet hyper-prolifératif. Un autre mécanisme d'hyper-prolifération met en jeu le long ARN1 non-codant associé à *B. fragilis* qui active la voie de cancérogenèse mTOR.

ETBF favorise également l'altération de l'ADN. En effet, ETBF entraîne des altérations épigénétiques par activation d'ADN méthyltransférases comme DNMT1 ou d'histone déméthylase comme JMJD2B, causant de la génotoxicité. Sa toxine entraîne aussi la production d'espèces réactives de l'oxygène qui ont un effet délétère sur l'intégrité de l'ADN.

Enfin, ETBF et ses toxines, contribuent à un environnement pro-inflammatoire via les facteurs de transcription STAT3 et NF- κ B, ce qui provoque le recrutement de lymphocytes Th17 et $\gamma\delta$ puis la libération de cytokines pro-inflammatoires comme TNF- α , IL-17, IL-23 et IL-8, cela entraîne le recrutement de cellules myéloïdes pro-tumorales (22,47).

c) *Escherichia coli* pks+

Les *Escherichia coli* sont des bactéries Gram négatives anaérobies facultatives du phylum des *Protéobactéries*, retrouvées dans la partie distale du tractus gastro-intestinal. Il existe des centaines de sérotypes dont la plupart sont inoffensifs mais d'autres sont pathogéniques notamment par la production de toxines ou par des mécanismes d'adhérence et d'invasion (47). La Figure 19 montre *E. coli* en microscopie à transmission électronique avec sa forme de bâtonnet.



Figure 19 : *E. coli* en microscopie à transmission électronique, barre d'échelle représentant 200 nm, image tirée de (58).

Escherichia coli pks⁺ exprime la polykétide synthase qui produit de la colibactine (47). La colibactine est une génotoxine métabolite secondaire, de la même famille que certaines molécules utilisées en thérapeutiques comme l'érythromycine, la cyclosporine ou la bléomycine, et qui altère l'ADN aboutissant à de la mutagenèse. En effet, la colibactine, composée de deux cyclopropanes, entraîne l'alkylation de l'ADN sur l'azote des bases adénines, causant la formation d'adduits, de cassures double brin ainsi que des réticulations ou liaisons inter-caténaires (5). Cette génotoxine est produite grâce à des gènes présents dans l'îlot *pks* chez *E. coli* pks⁺ mais qui sont aussi retrouvés chez des membres de la famille des *Enterobacteriaceae*. L'activité de kinase polyphosphate (KPP) est essentielle aux fonctions de la colibactine, cette activité KPP peut notamment être inhibée par la molécule mésalamine utilisée en thérapeutique contre les colites ulcéraives. La Figure 20 ci-dessous résume le mode d'action carcinogène d'*E. coli* pks⁺.

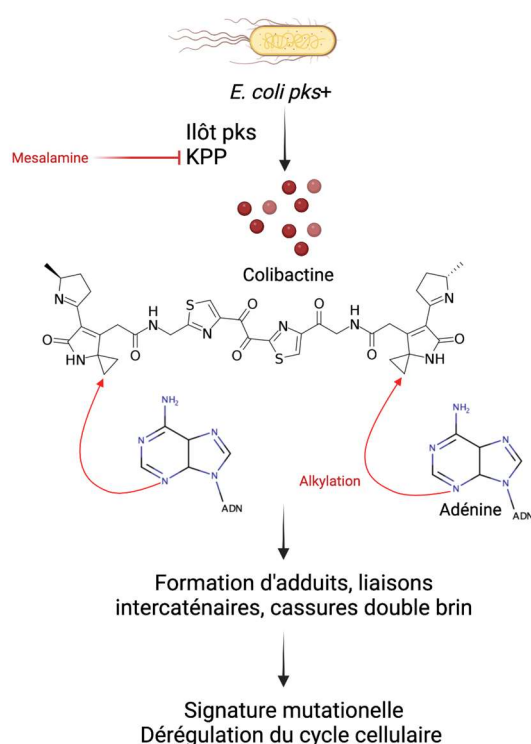


Figure 20 : Mode d'action carcinogène d'*E. coli* pks⁺ par sa génotoxine, la colibactine. (Créée sur biorender.com)

Il y a une association positive entre la présence d'*E. coli* pks+ et le développement de CRC ; son niveau de détection atteint 60% dans la population malade contre seulement 20% dans la population saine (11,27,47).

d) Autres bactéries

En plus de ces trois bactéries pathogènes principales, d'autres espèces sont des candidats « alpha bug » et pourraient être associées au développement du CRC. Par exemple, *Streptococcus bovis* est un coccus Gram positif du phylum *Firmicutes* représentant un facteur de risque et qui serait un signe précoce du CRC, sa détection pourrait donc être utile dans le dépistage précoce (27). D'autres candidats sont *Enterococcus faecalis*, également membre du phylum *Firmicutes*, qui produit des superoxydes pouvant altérer l'ADN au niveau des cellules épithéliales du côlon, ou encore *Peptostreptococcus anaerobius*, une bactérie qui prend le dessus au détriment de bactéries commensales bénéficiaires ou encore des bactéries du genre *Prevotella* (11,27).

Les *Salmonelles* qui sont des bactéries Gram négatives, anaérobies facultatives, dont l'infection est souvent la conséquence d'intoxications alimentaires par consommation d'aliments contaminés, peuvent entraîner des complications chroniques notamment de la carcinogenèse (57). Leur protéine effectrice AvrA entraîne notamment l'ubiquitination de protéines de dégradation de la β -caténine et donc favorisent la stabilité de celle-ci avec des effets hyper-prolifératifs.

Le Tableau 3 ci-dessous propose une liste des espèces associées aux CRCs actifs contre des espèces associées à un statut sain sans cancer. On parle d'association et non pas de relation causale et il est important de rappeler que la présence de ces espèces n'est pas spécifique au diagnostic de CRC ou à un état sain.

Espèces associées à un CRC actif	Espèces associées à un statut cancer-free
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	<i>Prevotella copri</i>
<i>Anaerotruncus colihominis</i>	<i>Prevotella stercora</i>
<i>Bilophila wadsworthia</i>	<i>Aeriscardovia aeriphila</i> <i>Anaerostipes hadrus</i>
<i>Butyrivibrio synergistica</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>

<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Clostridium asparagiforme</i>	<i>Bifidobacterium dentium</i>
<i>Clostridium bolteae</i>	<i>Dialister</i> sp CAG 357
<i>Clostridium bolteae</i> CAG 59	<i>Dorea longicatena</i>
<i>Clostridium citroniae</i>	<i>Eubacterium hallii</i>
<i>Clostridium clostridioforme</i>	<i>Eubacterium ventriosum</i>
<i>Clostridium lavalense</i>	<i>Turibacter sanguinis</i>
<i>Clostridium</i> sp. CAG 58	<i>Roseburia</i> sp. CAG 471
<i>Clostridium symbiosum</i>	
<i>Eisenbergiella massiliensis</i>	
<i>Eisenbergiella tayi</i>	
<i>Firmicutes bacterium</i> CAG 145	
<i>Harryflintia acetispora</i>	
<i>Intestinimonas butyriciproducens</i>	
<i>Lawsonibacter asaccharolyticus</i>	
<i>Ruthenibacterium lactatiformans</i>	
<i>Butyricimonas virosa</i>	
<i>Bifidobacterium dentium</i>	
<i>Clostridium</i> sp. CAG 242	
<i>Hafnia alvei</i>	

Tableau 3 : Signature de l'onco-microbiome colorectal : espèces associées au diagnostic de CRC (à gauche) et espèces sur-représentées chez les patients sains (à droite) potentiellement protectrices, à partir d'analyse d'échantillons fécaux selon (22).

Bien que le microbiome soit de plus en plus étudié, le souci est la diversité et le manque de spécificité des résultats entre les études. Le facteur « étude » a un impact important sur les résultats en termes de composition, et ceci est probablement dû à l'hétérogénéité et au manque de reproductibilité des études en question, sans oublier la variabilité inter- et intra-individuelle du microbiote. Pour renforcer l'interprétabilité de ces études, il est possible de réaliser une méta-analyse, comme celle de *Wirbel et al* , une méta-analyse de 8 études sur métagénome fécal et qui a montré que les CRC ont des signatures microbiennes taxonomiques et fonctionnelles spécifiques, avec notamment 29 espèces augmentées, et l'augmentation de gènes du catabolisme de protéines et mucines, l'augmentation de la

production d'acides biliaires secondaires et la diminution de gènes de dégradation des carbohydrates. Ceci est concordant avec les facteurs de risques identifiés comme une haute consommation de viandes rouges, et une faible consommation de fibres. Les résultats indiquent aussi que la présence de certains microbes pathogènes contribue plus à la carcinogenèse que l'absence de bactéries dites protectrices. Les auteurs ont notamment identifié 4 clusters dont le premier, composé de *Porphyromonas spp*, est lié au cancer rectal et le quatrième, composé de membres de l'ordre de *Clostridiales*, est lié aux patientes de sexe féminin atteintes de CRC. Enfin, l'étude a montré une augmentation chez les patients CRC de l'abondance des facteurs de virulences comme *fadA* de *Fn*, *pks* d'*E. coli* *pks* +, et l'opéron *bai*, mais pas réellement du gène *bft* associé à ETBF. L'opéron *bai* est un facteur de virulence de *Costridium spp* qui code pour la voie de 7 α -deshydroxylation de production des acides biliaires secondaires qui sont liés au cancer du foie mais le lien avec les CRC reste à établir, bien que cela soit concordant avec le facteur de risque lié à une alimentation riche en graisses (59).

Nous avons désormais identifié des bactéries pathogènes associées aux CRC, il reste maintenant à se demander si cette dysbiose est initiatrice du cancer ou bien sa conséquence, et ceci représente encore une zone d'ombre de nos jours. Pour tenter d'éclaircir cela, il faut étudier la composition microbienne en amont de la déclaration de la maladie et au cours des stades précoces, mais le manque de marqueurs prédictifs de développement du CRC entrave cette étude.

III.1.3. Composition en fonction du stade de la maladie

Il est de plus en plus admis par exemple que l'oncomicrobe *Fn* est retrouvé chez les patients à stade précoce de CRC et qu'il est indicateur de progression et de mauvais pronostic (27), mais comment évolue le microbiote au cours de l'initiation et du développement du CRC et a-t-on identifié des espèces ou genres qui seraient prédictifs de la maladie ?

Une étude datant de 2015 a tenté d'analyser par séquençage génique de l'ARN 16S, les méta-communautés microbiennes à différents stades de développement du CRC, étant l'adénome et le carcinome, tout en les comparant à des individus sains. Les résultats ont permis d'identifier cinq méta-communautés différentes ; la méta-communauté C avec une grande variabilité était associée à 40% des adénomes, alors que la méta-communauté E avec

une majorité de *Fusobacterium* et *Firmicutes* typiques du microbiote oral était associée à 48% des carcinomes. Au contraire, la méta-communauté A avec une composition variée et comprenant notamment des membres des *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Protéobacteries* et *Fusobactéries*, ainsi que la méta-communauté D enrichie en *Firmicutes* et *Bacteroides*, étaient associées à près de 60% des contrôles sains (60). En comparant ces résultats avec ceux d'autres études, il semblerait qu'un enrichissement en méta-communauté E et une déplétion en méta-communauté D soient associés plutôt aux carcinomes. De plus, au-delà de *Fusobacterium* et *B. fragilis*, il semblerait que *Gemella*, *Peptostreptococcus* et *Parvimonas* soient également associées aux stades précoces de CRC, sans oublier ces bactéries typiques du microbiote oral. Il y a donc évolution de notre écosystème microbiotique au cours de la progression de la maladie, avec la formation des méta-communautés aux structures et fonctions particulières.

Une étude plus récente, publiée en 2021, sur une population de patients chinois, a également identifié des signatures microbiennes différentes en fonction des stades de CRC, les numérotant de I à III (61). Les potentiels biomarqueurs identifiés selon les différents stades du cancer sont indiqués dans le

Tableau 4 ci-dessous.

Stade du CRC	Potentiel biomarqueurs
I	<i>Peptostreptococcus</i> <i>Parvimonas</i>
II	<i>Fusobacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Parvimonas</i> , <i>Burkholderiales</i> , <i>Caulobacteraceae</i> , <i>Delftia</i> <i>Oxalobacteraceae</i>
III	<i>Fusobacterium</i> , <i>Burkholderiales</i> , <i>Caulobacteraceae</i> , <i>Oxalobacteraceae</i> ,

	<i>Faecalibacterium</i> <i>Sutterella</i>
--	--

Tableau 4 : Potentiels biomarqueurs microbiens en fonction des stades de CRC dans un échantillon de patients chinois selon (61).

La diversité α , c'est-à-dire la richesse du microbiote, n'aurait pas montré de différence entre les stades et par rapport aux contrôles sains, ce qui diffère des résultats d'autres études ayant indiqué une diminution de la diversité chez les patients CRC. On peut noter qu'il y a de la redondance ou superposition, avec des genres qui sont retrouvés à différents stades comme *Parvimonas* ou *Fusobacterium*, leur présence n'est donc pas spécifique à un stade particulier de la maladie. De plus, après analyse de leur co-occurrence et interactions co-exclusives, probablement sous forme de biofilms, les auteurs ont montré que celles-ci étaient importantes au stade I mais qu'elles diminuaient avec la progression de la maladie (61). Cela laisse donc penser que la signature microbienne avec son bagage fonctionnel, diffère à l'initiation et au cours du développement de la maladie. De plus, il faut garder à l'esprit que ces résultats pourraient différer de ceux provenant d'un échantillon de patients européens, en effet, comme expliqué précédemment, le microbiote reste un écosystème complexe et contextuel, qui varie avec l'environnement extérieur et les facteurs culturels.

D'un point de vue général, on observe, en fonction de la progression de la maladie, une diminution des bactéries productrices de butyrate ou autres AGCCs et une augmentation des bactéries pathogènes opportunistes (61), mais il reste encore à identifier des espèces prédictives du développement de CRC.

Nous avons jusqu'ici essentiellement parlé des bactéries et de leur implication dans les CRC car celles-ci sont majoritaires dans le microbiote intestinal puisqu'elles comptent pour 99%, mais il ne faut pas oublier que le microbiome contient d'autres individus microscopiques étant les parasites, les champignons, les virus et les archées, c'est ce que nous allons donc survoler dans les parties suivantes.

III.1.4. Rôle des parasites

Le terme « parasite » englobe des protozoaires, qui sont des eucaryotes unicellulaires, mais aussi des métazoaires qui sont des organismes multicellulaires comme des vers par exemple.

En ce qui concerne les métazoaires, il existe un type de cancer colorectal associé à *Schistosoma japonicum*, qui est un parasite de la classe des trématodes. Ce sous-type de CRC comporte des analogies avec le CRC induit par la colite. Il affecte en général une population jeune, masculine, et touche la partie distale du tube digestif, notamment le côlon sigmoïde et le rectum, et est indicateur d'un pauvre pronostic (62). Ce trématode zoonique qui est endémique en Asie a été caractérisé de carcinogène probable chez l'Homme, et est notamment associé au cancer du foie. La pathogénicité de ce parasite est principalement due aux réactions de l'hôte contre les œufs qui sont logés dans la paroi du gros intestin ou qui parfois provoquent des embolismes en atteignant d'autres organes, ainsi qu'à la libération de toxines schistosomales. Ces réactions entraînent de l'inflammation locale avec ulcération puis fibrose et hyperplasie, et provoqueraient une symptomatique de colite. La transition vers le stade de cancer a en général lieu après 10 ans ou plus d'infection schistosomale chronique chez 6 à 40% des individus infectés (62). Une co-infection bactérienne semblerait être aggravatrice, en effet, l'effet immunomodulateur de l'infection parasitaire confère un avantage pour la survie des oncomicrobes comme certaines espèces de Salmonelles, en plus de diminuer la surveillance antitumorale et donc l'élimination des cellules cancéreuses. Ces données découlent d'études épidémiologiques et pathologiques, il est donc nécessaire d'apporter des preuves expérimentales.

Du côté des protozoaires, *Pentatrichomonas hominis* est un eucaryote unicellulaire qui colonise les intestins, et est associé à 30% des CRC, bien que les mécanismes impliqués restent incertains (63). Il a été supposé que le parasite pourrait notamment réguler le microbiote. Après comparaison des microbiomes de patients CRC infectés ou non par *P. hominis*, et de patients sains, il a été observé que les abondances relatives des bactéries associées au CRC étaient augmentées chez les patients infectés par rapport aux patients non infectés, supposant que *P. hominis* pourrait être aggravateur du CRC.

Les parasites ne seraient pas que délétères, en effet, une étude récente a montré un potentiel effet protecteur et antitumoral de *Plasmodium* qui réduirait la croissance tumorale en favorisant l'apoptose dans une étude chez la souris (64). Ceci pourrait représenter une potentielle piste thérapeutique.

III.1.5. Rôle du mycobiome

Parlons maintenant du règne des fungi ou mycètes, et donc de notre mycobiome, qui pourrait également influencer le développement de CRC bien qu'il ne représente que 0.1% du microbiome global (65). Le lien entre dysbiose fongique et cancer colorectal reçoit de plus en plus d'attention, et la modulation de nos champignons et levures pourrait être une piste thérapeutique intéressante dans la prévention et la prise en charge du CRC.

Le mycobiote est principalement composé de trois phylums : *Ascomycota*, *Basidiomycota* et *Chytridiomycota*, avec les genres *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, et *Saccharomyces* étant les plus représentés dans les selles humaines et *Candida albicans* étant l'espèce la plus abondante dans nos intestins (65). Certains champignons peuvent passer de levure, c'est-à-dire un champignon unicellulaire, à des structures pluricellulaires appelées hyphes, ce dernier facilitant les phénomènes d'adhésion et d'invasion.

Comme pour les bactéries, les levures sont majoritairement des pathogènes opportunistes et une augmentation des opportunistes comme *Malassezia* ou *Trichosporon* a été observée au cours du développement du CRC ainsi qu'une augmentation de la proportion des genres *Phoma* et *Candida* dans des biopsies CRC et des genres *Fusarium* et *Trichoderma* au niveau d'adénomes avancés (5,65).

Le ratio ascomycète/basidiomycète serait indicateur de dysbiose fongique et il a été observé chez les patients CRC que ce ratio était augmenté par rapport aux contrôles sains. Le ratio augmenterait d'autant plus avec le stade de la maladie. D'autres études ont en revanche observé l'inverse, avec une augmentation du ratio cette fois-ci basidiomycète/ascomycète, il est donc difficile de conclure (5,27,65). Enfin, on observe une diminution en pneumocystidomycètes et saccharomycètes, notamment de *Saccharomyces cerevisiae* qui seraient anti-inflammatoire et régulatrice (5).

De potentiels biomarqueurs fécaux du CRC ont été identifiés par rapport aux sujets sains, tels que : *Aspergillus flavus*, *Kwoniella mangrovensis*, *Malassezia globosa*, *Debaryomyces fabryi*, et pourraient être utilisés dans le futur comme techniques de dépistage non-invasives (65). De plus, la surreprésentation de *C. albicans* a été confirmée par culture aérobie et

anaérobie de prélèvement rectaux, rendant cette technique potentiellement intéressante pour le dépistage de CRC.

Les mécanismes proposés pour l'impact carcinogène d'une dysbiose fongique sont similaires à ceux proposés pour les bactéries, en effet les métabolites fongiques ont un impact sur la perméabilité de la barrière épithéliale, permettant la translocation des levures qui activent le système immunitaire, entraînant une inflammation chronique qui favorise le développement de cancer. Les métabolites toxiques causent également du stress oxydatif qui mène à des altérations de l'ADN (65). Enfin, cela se complexifie avec les interactions entre levures et bactéries, qui peuvent être antagonistes ou synergétiques en fonction des espèces impliquées.

III.1.6. Rôle du virome et du bactériophageome

Tout comme les champignons, les virus font partie intégrante du microbiote intestinal, et pourraient donc être liés au développement de cancers, comme il est bien connu pour le papillomavirus (HPV) et le virus Epstein-Barr (EBV) avec les cancers du col de l'utérus pour le premier et différents lymphomes, cancers gastriques ou nasopharyngés pour le second (22). Il existe également des troubles immunologiques des intestins qui sont liés à la présence de certains virus, et peuvent avoir des conséquences sur l'initiation et le développement de cancers intestinaux (66).

En ce qui concerne le cancer colorectal, des études ont montré une charge virale plus importante au niveau des tissus cancéreux par rapport aux tissus sains (5), ainsi qu'une plus grande diversité du virome du côlon chez les patients CRC par rapport aux sujets sains, avec des profils distincts en fonction des stades de la maladie (66). De plus, une étude d'analyse métagénomique a identifié des altérations du virome entérique chez les patients atteints de CRC avec un enrichissement du genre *Orthobunyavirus*, mais ces virus n'ont pas encore été décrits dans le cadre de maladies intestinales (66).

Enfin, les virus peuvent affecter les communautés bactériennes, en tant que bactériophages qui sont des virus qui ciblent et infectent les bactéries. Ceux-ci peuvent à terme modifier la composition bactérienne du microbiote en facilitant l'implantation et la croissance d'oncomicrobes (5). En effet, des altérations d'interaction entre bactériophages et bactéries

orales commensales ont été identifiés dans les échantillons fécaux de patients CRC par rapport aux contrôles (66). Par exemple, des membres des genres *Inovirus* et *Tunalikevirus* sont enrichis chez les patients CRC, et ces virus sont connus pour infecter des bactéries Gram négatives comme *ETBF*, *Fn* et *E. coli* pks+. On observe également une altération progressive du bactériophageome au cours des différents stades du CRC, avec une forte abondance de phages ciblant *Streptococcus* aux stades précoces puis augmentation des phages à *Parabacteroides* aux stades plus avancés (67). De plus, les familles *Siphoviridae* et *Myoviridae* seraient positivement associées à la progression du cancer colorectal. Ces interactions sont donc à prendre en compte, il est suggéré que la dynamique d'interaction entre phages et bactéries soit modifiée au cours d'affections pathologiques, ce qui complexifie d'autant plus l'étude du microbiome et son impact sur le développement du CRC.

III.1.7. Rôle des archées

Enfin, les archées sont des cellules procaryotes avec des caractéristiques qui diffèrent de celles des bactéries, notamment par l'absence de peptidoglycane ou d'acides gras. Présentes dans différents écosystèmes parfois extrêmes, certaines sont retrouvées chez l'Homme, faisant partie du microbiome, bien qu'elles soient drastiquement moins abondantes que les bactéries. La diversité et l'abondance des archées dans le microbiote serait notamment influencée par l'âge des individus (68). Encore peu étudiées, de par les contraintes techniques car celles-ci ne sont pas cultivables, certaines archées auraient été identifiées comme étant associées à des pathologies ou comorbidités. Mais quel est leur impact sur le développement du cancer colorectal ?

Une étude sur deux cohortes de patients chinois a identifié différents clusters dans les échantillons de selles en fonction de s'ils étaient atteints de CRC, d'adénomes ou sains (68). Les échantillons de patients CRC étaient notamment enrichis en archées halophiles alors que les archées méthanogènes étaient diminuées. Les archées halophiles ont une croissance optimale en milieux salins, mais peuvent persister en milieu anaérobie comme le tube digestif. Les archées méthanogènes sont les archées les plus étudiées dans l'intestin de l'Homme, impliquées dans les fonctions digestives et l'élimination de métabolites potentiellement nocifs. La forte présence d'archées méthanogènes serait associée à une diminution du développement de CRC sporadique, cela pouvant être dû à la déplétion de

l'hydrogène causant une diminution de la formation de sulfites d'hydrogène par les bactéries qui sont délétères pour la barrière épithéliale.

Les archées interagissent avec le métabolisme et la croissance des bactéries présentes dans notre tube digestif, et une association entre les diversités d'archées et de bactéries a été observée chez les individus sains mais celle-ci est perdue chez les patients atteints de CRC. Il y a encore trop peu de données relatives aux archées et leur rôle dans le développement des cancers colorectaux, de plus amples études sont donc nécessaires.

III.2. Mécanismes de carcinogénèse liés au microbiome

Nous avons brièvement discuté des mécanismes par lesquelles certaines bactéries pathogènes telles qu'ETBF, *Fn* et *E. coli* pks+ sont suspectées d'être liées aux CRC, cette partie aborde donc les mécanismes de carcinogénèse du microbiome d'un point de vue plus général.

De plus en plus d'études confirment le lien entre dysbiose et cancer colorectal, par exemple la transplantation de microbiotes fécaux provenant de patients CRC entraîneraient le développement de lésions précancéreuses au niveau de la muqueuse colique de modèles expérimentaux (15). Cette carcinogénèse induite par les microorganismes de notre microbiote implique différents mécanismes, comme indiqué dans la Figure 21 ci-dessous, une dysbiose microbienne peut entraîner des altérations de la perméabilité de la muqueuse, du métabolisme microbien, du système immunitaire et de l'intégrité de l'ADN, tout cela entraînant inflammation et hyper-prolifération, favorisant la dysplasie et transformation maligne (5,47). Il est important de rappeler que les facteurs de virulence des bactéries et leur impact sur la carcinogénèse sont hautement dépendants de la génétique de l'hôte. Il faut également noter que les mécanismes sont évoqués de façon indépendante, sous forme de mono-colonisation, mais qu'une co-colonisation, impliquant d'innombrables interactions entre espèces, peut aggraver le développement d'adénocarcinome comme il a été montré avec ETBF et *E. coli* pks+ (47).

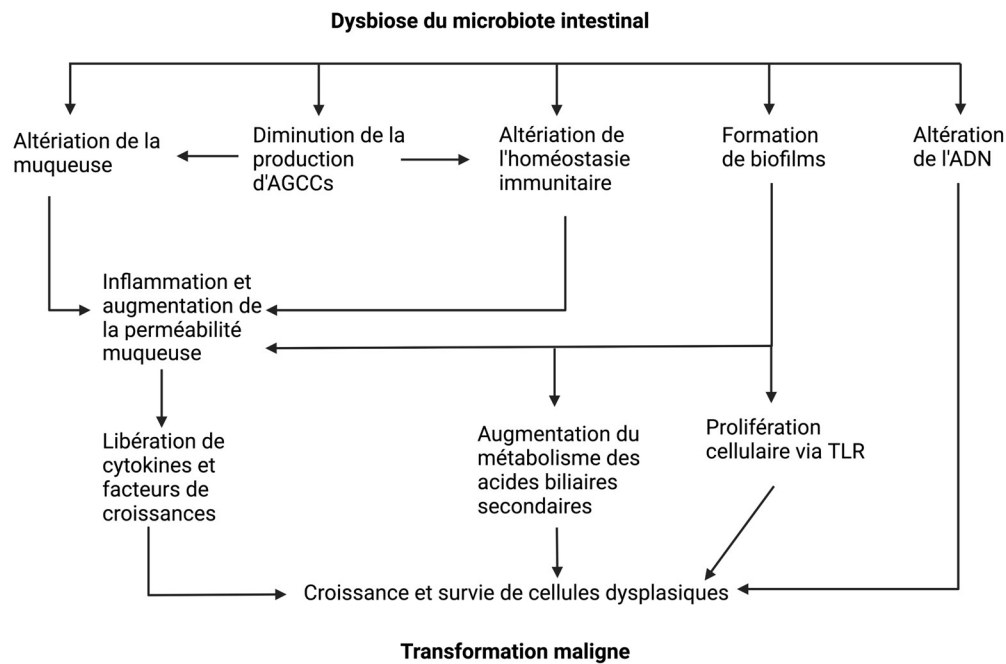


Figure 21 : Mécanismes carcinogènes associés à une dysbiose microbienne selon (29). Créé sur biorender.com.

III.2.1. Inflammation, dérégulation immunitaire et hyper-prolifération

L'hyper-prolifération cellulaire est une caractéristique clé des cancers et les oncomicrobes associés au CRC ont un impact sur la croissance des cellules épithéliales ainsi que des effets anti-apoptotiques. L'inflammation et la dérégulation immunitaire sont également hautement impliqués dans l'initiation et la progression de cancers.

Rappelons d'abord la fonction de barrière de la muqueuse intestinale qui, normalement, sépare le microbiote des cellules immunitaires. Dans le CRC, il y a une réponse inflammatoire locale avec sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme IL-17, Cxcl-2, TNF- α , et IL-1, ceci est associé à une altération de l'intégrité de la muqueuse avec augmentation de la perméabilité (5). La muqueuse étant plus perméable, les bactéries commensales peuvent se retrouver en contact avec les cellules immunitaires reconnaissant les motifs microbiens via leurs TLRs. Les TLRs activent ensuite la voie Myd88, entraînant la libération d'autres interleukines et l'activation des facteurs de transcriptions NF- κ B et STAT3 qui promeuvent la prolifération des cellules tumorales, la libération d'autres cytokines et facteurs de croissance tels que TGF- β , TNF- α , IL-6 et le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) favorisant l'initiation et la progression cancéreuse (5,27,29).

Le microbiote affecte aussi le système immunitaire local au niveau du MET, en effet, une dysbiose peut entraîner une diminution de l'immuno-surveillance avec donc diminution de l'immunité antitumorale (26). Les oncomicrobes peuvent favoriser le recrutement de cellules suppressives myéloïdes dans le MET, supprimant l'activité des lymphocytes T et favorisant l'échappement des cellules cancéreuses. Par exemple leur LPS peut activer certains PRRs comme TLR-4 et tromper le système immunitaire par induction de la différenciation de monocytes en macrophages M2 à phénotype immunosuppresseur, ou encore via une activation de NOD1 par le peptidoglycane entraînant aussi une immunosuppression par cellules suppressives dérivées myéloïdes, ou par modification de cytokines telles qu'IL-10 immuno-régulatrice, ou une diminution des LcT Th1 IFN- γ + en favorisant les M2 et donc l'évasion immunitaire (22). Les microorganismes du MET peuvent aussi interagir avec les lymphocytes Treg qui diminuent la réponse immunitaire (26).

Des études chez la souris ont montré qu'un déséquilibre de la flore intestinale entraîne l'activation des macrophages du MET avec sécrétion d'IL-8 et TNF- α qui favorisent la transition épithélio-mésenchymateuse qui, dans un contexte de CRC, confère des capacités migratoires et invasives, favorisant les métastases (26,69). Chez la souris CRC, un déséquilibre de la flore entraîne une augmentation de la sécrétion de cathepsine K, protéine qui favorise également l'invasion et la survenue de métastase, et qui stimule la polarisation de macrophage M2 dans le MET (26,70).

Il est intéressant d'observer la potentielle dualité de notre microbiote, entre effets protecteur et accélérateur de développement de cancer. En effet, d'autres bactéries peuvent entraîner l'activation de lymphocytes CD8+ dans le MET sans inflammation associée, permettant de limiter le développement de CRC (26). Encore une fois, il s'agit d'un équilibre ou plutôt d'un déséquilibre.

Enfin, il est important d'évoquer la formation de biofilm mixtes, contenant des bactéries et des levures, qui permettent aussi d'échapper au système immunitaire en plus d'avoir un impact sur la prolifération des cellules épithéliales et la perméabilité de la barrière (65). Les bactéries et levures coopèrent pour former des biofilms robustes, avec des liens physiques forts entre les microorganismes, permettant à l'inflammation de persister.

III.2.2. Altération de l'ADN

Un autre mécanisme de carcinogenèse connu est l'altération de l'intégrité de l'ADN, et ceci peut être dû aux toxines produites par les oncomicrobes. Nous l'avons vu précédemment avec *E. coli* pks+ et sa génotoxine : la colibactine. Il a été démontré, par une étude sur organoïdes puis chez des patients, qu'il y aurait une signature mutationnelle dans les cellules épithéliales exposées à cette bactérie pks+ fonctionnelle, contrairement à l'exposition à la bactérie déficiente en colibactine. Il y a notamment des mutations somatiques de type substitution ou insertion de thymine dans des zones riches en adénine, ceci étant particulièrement présent chez les patients CRC, notamment dans le gène *APC* et des gènes impliqués dans la signalisation *p53* (47).

La toxine produite par ETBF induit elle des modifications épigénétiques impliquant la répression génique par îlots CpG ou par méthylation de l'ADN, ou encore par modification de l'accessibilité de la chromatine au niveau de certains sites de liaison de facteurs de transcription (47).

Les oncomicrobes créent également du stress oxydatif avec production d'espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote qui ont une toxicité directe sur l'ADN et autres molécules (22,47). En ce qui concerne les virus, ils pourraient également être impliqués en altérant l'ADN de l'hôte au niveau épigénétique ou en détournant son système de transcription.

III.2.3. Rôle des métabolites

On ne peut parler des mécanismes carcinogènes liés au microbiote sans évoquer l'impact des nombreux métabolites qu'il produit. En effet, il a été estimé que 50% des métabolites présents dans notre plasma ont une origine bactérienne (23). La production de métabolites microbiens a un impact sur notre système immunitaire et peut induire la libération de facteurs de virulence génotoxiques selon des études sur modèles animaux (5). Grâce à l'association entre techniques de métagénomiques et analyse métabolomique utilisant la spectrométrie de masse et la RMN, il est maintenant possible d'étudier notre métabolome et son lien avec le microbiome et les pathologies.

Le microbiome CRC est associé à des altérations du métabolisme des polyamines qui sont pro-carcinogènes car elles aident les cellules tumorales à échapper la surveillance immunitaire (5). Il est important de noter que les polyamines ne sont pas que délétères, elles sont même essentielles à la croissance cellulaire normale et il est possible de les produire de façon endogène via l'ornithine décarboxylase (ODC). Cette enzyme est notamment augmentée au niveau des tissus CRC, en effet, les cellules tumorales de par leur croissance rapide, nécessitent d'autant plus de polyamines (23). Il y aurait un circuit de feedback positif dans lequel les polyamines produites par l'hôte induisent la croissance du biofilm qui en retour produit encore plus de polyamines facilitant le développement de tumeur. Le catabolisme des polyamines produit aussi des métabolites réactifs, comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , qui ont une toxicité sur l'ADN, les protéines et autres composants cellulaires.

Nous avons évoqué l'altération du métabolisme des AGCCs qui sont des métabolites protecteurs impliquant la production de certaines cytokines ou l'expansion de lymphocytes T reg qui ensemble diminuent l'inflammation et le développement tumoral. Le butyrate a notamment permis l'expression de régulateurs de cycle cellulaire dans une étude sur des lignées cellulaires de CRC, limitant la croissance tumorale. Les AGCCs ont aussi un effet bénéfique sur la barrière épithéliale puisqu'ils permettent la production de mucines qui sont un composant du mucus (71). Le butyrate exerce aussi une activité anti-cancéreuse en permettant l'apoptose de cellules CRC par remodelage métabolique, via des RCPGs et par inhibition des histone désacétylases permettant la régulation de l'expression génique de gènes répresseurs de tumeur (7,23). Cette inhibition des histone désacétylases confère des activités de modifications épigénétiques. Une diminution des bactéries productrices d'AGCCs au cours du CRC entraîne une dérégulation de ces enzymes avec changement de conformation de la chromatine qui prévient l'expression de gènes suppresseurs de tumeurs favorisant le développement de CRC (23).

Les acides biliaires secondaires formés par métabolisation bactérienne des acides biliaires primaires, sont associés à différents cancers digestifs, notamment le CRC (22,57). En effet, ceux-ci sont retrouvés en quantités augmentées chez les patients CRC, parallèlement aux bactéries productrices de 7-alpha-déshydroxylase permettant cette métabolisation. Les acides biliaires secondaires lithocholiques (ABSL) et désoxycholiques (ABSD), et en particulier les ABSL, en quantité trop élevée, détruisent la muqueuse et affectent l'intégrité de la

barrière (72). Cela stimule le phénomène de réparation et peut conduire à de l'hyperprolifération, étape initiatrice de cancer. Ils peuvent aussi générer des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, ces radicaux aboutissant à l'altération de l'ADN et donc de l'instabilité génomique (57). De plus, les acides biliaires désoxycholiques favorisent l'agrégation spatiale de phospholipides comme l'acide phosphatidique qui est un composant des nano-domaines de l'EGFR et qui stimulent sa dimérisation avec activation de la voie MAPK et causant de l'hyperprolifération (72). En plus de cela, les acides biliaires désoxycholiques pourraient activer la voie proliférative MAPK via signalisation calcique.

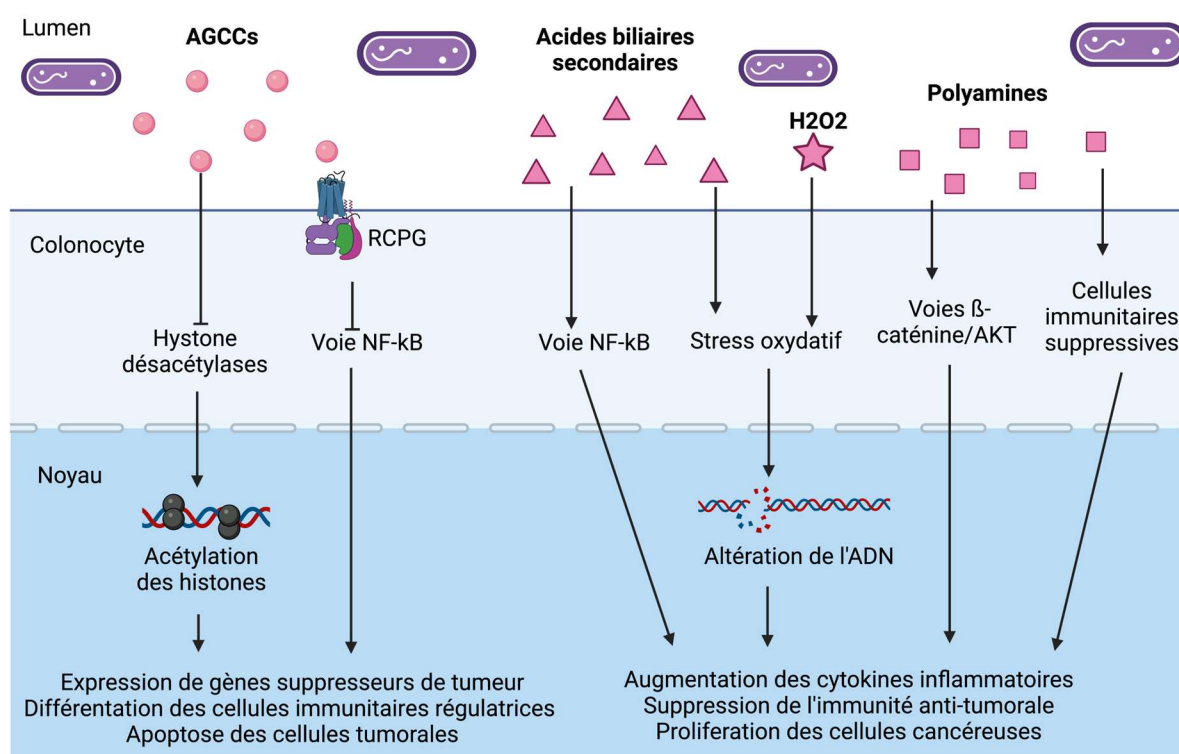


Figure 22 : Implication des métabolites issues du microbiote sur la pathogenèse du CRC selon (23). (Créé sur biorender.com)

Les sulfides d'hydrogène (H₂S) produits par les bactéries réduisant les sulfates, sont retrouvés en plus grande quantité dans les selles des patients CRC par rapport aux contrôles sains. Le rôle carcinogène des H₂S est controversé, en effet, des études ont suggéré un effet pro-inflammatoire par altération des ponts disulfures au niveau du mucus, alors que d'autres affirment qu'ils ont un effet protecteur et réparateur de cette couche de mucus (72).

Les potentiels mécanismes liant microbiote et cancer sont donc multiples ce qui rend leur étude particulièrement complexe.

III.3. Microbiome et traitements

Maintenant que nous avons montré que le microbiome pouvait influencer le développement de CRC par de nombreuses voies, il est temps de se pencher sur les différentes façons d'exploiter ce lien à des fins préventives et thérapeutiques.

III.3.1. Le métabolisme dérivé du microbiome

Avant d'aborder le potentiel thérapeutique du microbiote, il faut noter que celui-ci a un impact sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de certaines molécules utilisées en thérapeutique. En effet, la métabolisation de ces molécules par le microbiome, ce que l'on appelle le métabolisme dérivé du microbiome (MDM), principalement intestinal, entraîne des interactions entre substances actives et microbiote, pouvant être sujettes à une grande variabilité interindividuelle. Le MDM devrait même être inclus dans la médecine personnalisée, de par sa capacité à faire varier la biodisponibilité et donc potentiellement le niveau de réponse thérapeutique de certains médicaments (73). En effet, une grande partie des molécules utilisées en thérapeutique passe par le système digestif, que ce soit par administration orale ou par sécrétion biliaire du cycle entéro-hépatique, où les bactéries interviennent dans le phénomène de biotransformation ou de déconjugaison (73).

Selon une étude sur plus de 500 molécules thérapeutiques, 13% des molécules étudiées étaient caractérisées comme étant MDM+ c'est-à-dire métabolisées par le microbiote, et cela représentait 28 classes thérapeutiques différentes.

Il peut y avoir deux types d'interactions entre le microbiome et les médicaments, d'abord l'action directe des enzymes du microbiote, puis des interactions indirectes de par une compétition entre molécules ou métabolites pour les enzymes responsables de la biotransformation, ou encore l'impact du microbiome sur le système immunitaire pouvant entraîner des modifications de la réponse aux immunothérapies anti-cancéreuses par exemple. Cela peut causer des effets voulus ou non voulus sur les substances actives administrées. L'étude du MDM pourra à l'avenir être incluse dans le processus de développement de médicaments afin de contourner de potentiels effets indésirables du

microbiome sur les traitements, bien que cela soit encore complexe de par l'incroyable diversité du microbiome et les difficultés techniques de son étude, ainsi que ses nombreuses implications biologiques.

III.3.2. Les antibiotiques

De par leur mécanisme, les antibiotiques affectent intrinsèquement les bactéries du microbiote intestinal, et il y aurait une augmentation dose-dépendante du risque de développement de CRC avec l'utilisation d'antibiotiques à spectres anaérobie et anaérobie (5). En effet, ces molécules réduisent la biodiversité du microbiote, sélectionnent des bactéries antibiorésistantes et modifient leurs fonctions métaboliques (74). L'utilisation d'antibiotiques chez les enfants serait associée à une augmentation du développement d'adénomes au niveau du colon dans la vie adulte, et représente donc un facteur de risque du CRC. Pour limiter leur impact délétère, il est primordial de réduire leur utilisation, ou alors d'accompagner ces traitements avec une approche de restauration florale.

Au-delà de ces effets « nocifs », les d'antibiotiques pourraient permettre la modulation volontaire du microbiome afin de diminuer le développement de tumeurs, comme montré dans des études murines. En effet, l'utilisation de la céfoxitine, une céphamycine de seconde génération, chez la souris a permis l'élimination d'ETBF, et ce maintenue dans le temps (5,74). La relation entre microbiote, antibiotiques et CRC reste complexe et peu connue, elle est donc à étudier plus en détails afin de déterminer les potentielles applications en thérapeutique.

III.3.3. Impact du microbiote sur les traitements anticancéreux

Le microbiote et sa dysbiose sont impliqués dans la modification de la réponse et des résistances aux traitements anti-cancéreux systémiques (29). Par exemple, *Fn* serait associé à une chimiorésistance notamment à l'oxaliplatine, qui est, on le rappelle, une molécule clé utilisée dans le cocktail de chimiothérapie adjuvante ou néoadjuvante du CRC. *Fn* activerait les TLR-4 et la voie Myd88, stimulant l'expression de protéines d'autophagie au niveau des cellules cancéreuses (26,47). De plus, une dysbiose induite par l'utilisation d'antibiotiques peut causer une réduction de la réponse antitumorale au 5FU, encore une fois, molécule clé de la chimiothérapie anti-CRC (5).

Certaines bactéries peuvent au contraire renforcer la réponse à certains traitements anticancéreux, notamment par mimétisme d'antigènes tumoraux entraînant une augmentation de la réponse immunitaire. On parle « d'oncobiotiques » qui sont des associations de bactéries bénéfiques pouvant être utilisés en traitement adjuvant (15). Par exemple l'inoculation de *Lactobacillus plantarum* dans des cellules CRC résistantes au 5FU permet de rétablir l'activité anticancéreuse de la molécule.

Au-delà de l'interaction avec les traitements de chimiothérapie, il y a émergence de données concernant l'impact du microbiome sur la réponse aux traitements d'immunothérapie, et notamment les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire (ICIs) qui sont maintenant largement utilisés en oncologie, bien qu'un faible nombre de patients atteints de CRC bénéficient de ces ICIs. En effet, ce sont souvent les patients avec une instabilité microsatellite qui y ont accès (47). La réponse au traitement par ICIs est influencée par des signatures de microbiote différentes entre des patients sains et patients atteints de cancers, tous cancers confondus (22). Plusieurs études ont montré que la prise d'antibiotiques à spectre large chez des patients atteints de cancer avant ou au cours du traitement par ICIs raccourcissait la période de survie sans progression ou de survie globale par rapport aux patients ne prenant pas d'antibiotiques. Cela renforce l'idée selon laquelle un microbiote déséquilibré aurait un impact sur la réponse immunitaire de son hôte. Par exemple, des espèces de *Bacteroides* seraient associées à une meilleure efficacité des thérapies anti-CTLA-4, comme l'ipilimumab, et des espèces de *Bifidobacterium* avec une augmentation de la réponse aux traitements anti-PD-1/PDL-1, comme le nivolumab ou le pembrolizumab (47).

Au-delà d'influencer la réponse aux traitements, le microbiote peut aussi agir sur leur toxicité. L'élimination de l'irinotécan, inhibiteur de topoisomérase I, est précédée d'une étape de métabolisation par glucuronidation pour passer de la forme active à un métabolite inactif, mais certaines bactéries peuvent cliver la partie glucuronidée, cela augmente donc la proportion de forme active avec augmentation de la toxicité, notamment des diarrhées (12). Il pourrait donc être intéressant d'associer l'irinotécan à des inhibiteurs enzymatiques ciblant les β -glucuronidases afin d'améliorer la tolérance digestive.

Une nouvelle stratégie serait donc de moduler le microbiome à des fins thérapeutiques, afin de restaurer ou d'améliorer la réponse aux ICIs. Il y a également une opportunité

d'identifier des signatures microbiotiques avec certains taxa bactériens prédicteurs de la réponse à certaines immunothérapies, pouvant permettre d'éclairer la stratégie thérapeutique.

III.3.4. Modulation du microbiote comme outil préventif ou thérapeutique

Le microbiome ayant la capacité d'influencer notre système immunitaire ainsi que notre réponse à certains traitements, il est possible de développer de nouvelles stratégies interventionnelles visant à modifier la composition microbiologique et donc les différentes fonctions associées au microbiote, pour modifier la réponse au traitement ou restaurer un niveau de santé (22).

Il existe différentes approches permettant de moduler le microbiote intestinal, comme l'utilisation de prébiotiques, de probiotiques, la transplantation fécale mais aussi l'utilisation d'antibiotiques et bien sûr la modification de notre régime alimentaire.

a) Transplantation fécale

Commençons par la transplantation fécale, qui est probablement la moins attirante bien que prometteuse. Cette technique consiste en l'implantation du microbiote provenant de fèces d'un donneur sain vers le receveur malade afin de restaurer un équilibre dit « naturel » (65). Il faut noter que la transplantation fécale n'est pas actuellement recommandée dans la prise en charge du CRC, sa seule utilisation autorisée en France concerne les infections récidivantes de *Clostridium difficile*.

Selon une étude pré-clinique chez la souris, cette approche permettrait de diminuer la toxicité associée au traitement par 5FU au niveau de la muqueuse intestinale (22,75). Une autre étude pré-clinique a montré que le transfert du microbiote fécal de souris dites sauvages à des souris de laboratoire permettrait de prévenir le développement de CRC. Au contraire, l'implantation du microbiote fécal de patients CRC à des souris axéniques entraînait une augmentation de la formation de tumeurs (74).

De plus, la transplantation fécale pourrait être utilisée en association à l'immunothérapie afin de prévenir les résistances. Il a été montré que la transplantation chez la souris

d'échantillons de selles provenant de patients répondeurs à l'immunothérapie anti-PD1 entraînait une amélioration de la réponse aux ICIs et retardait la croissance tumorale (65).

Un essai clinique de phase II est en cours de recrutement dans le mCRC chez des patients non-répondeurs aux immunothérapies anti-PD1 telles que le nivolumab et le pembrolizumab. Le but est d'utiliser la transplantation fécale provenant de donneurs répondeurs aux anti-PD1, d'abord par coloscopie puis *per os* sous forme de gélules, sur une période de 6 mois de traitement sans progression ou jusqu'à toxicité intolérable, dans le but de déterminer si cela permettrait de restaurer la réponse aux anti-PD1 pour une potentielle réintroduction de la thérapie (76).

Il reste encore à déterminer s'il serait préférable d'utiliser le microbiote d'un donneur ayant vaincu le cancer grâce à l'utilisation de ces immunothérapies ou alors celui d'un patient sain n'ayant jamais eu de cancer.

b) Probiotiques

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, administrés à la bonne dose, confèrent des avantages en santé humaine (4,65). Il faut être vigilant dans l'utilisation de probiotiques disponibles dans le commerce, qui lorsqu'ils sont utilisés en parallèle d'un traitement par ICI, peuvent avoir un impact négatif, ceci a été montré en préclinique ainsi qu'en clinique (22). En revanche des études indiquent que des probiotiques de nouvelle génération peuvent renforcer la réponse antitumorale notamment par l'induction de structures lymphoïdes tertiaires (22).

Les probiotiques affectent le CRC par trois mécanismes : par immuno-modulation, par renforcement de l'intégrité et des fonctions de la barrière épithéliale et enfin par inhibition de la colonisation par des bactéries pathogènes soit par modification du pH, production de peptides anti-microbiens ou encore modification de l'adhésion au mucus (74). Une étude *in vitro* sur cellules CRC a montré que l'utilisation de probiotiques contenant *Bacillus polyfermenticus* avait des effets anti-inflammatoires et antiprolifératifs.

Un essai clinique randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo a été complété en 2018, analysant le rôle des probiotiques en tant que suppléments alimentaires dans le cours

du CRC chez des patients non métastatiques et non récidivants, devant subir une résection. L'étude visait à analyser la diminution des marqueurs de l'inflammation liés au CRC, telles que les cytokines pro-inflammatoires suivantes TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-12, IL-17A, IL-17C & IL-22, et la diminution des symptômes, avant et après l'intervention chirurgicale. La prise de probiotique se faisait par voie orale deux fois par jours pendant 6 mois, à base de 3g x 10¹⁰ ou 30 milliards UFC contenant 6 souches viables de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* étant les suivantes : *Lactobacillus acidophilus* BCMC® 12130, *Lactobacillus lactis* BCMC® 12451, *Lactobacillus casei subsp* BCMC® 12313, *Bifidobacterium longum* BCMC® 02120, *Bifidobacterium bifidum* BCMC® 02290 et *Bifidobacterium infantis* BCMC® 02129. Cela était associée à une chimiothérapie (77). Les résultats ont montré une réduction des taux de cytokines inflammatoires chez les patients prenant les probiotiques comparé aux niveaux avant traitement, alors qu'il y avait une augmentation des taux pour le groupe sous placebo (78).

D'autres espèces pourraient être considérées pour leur utilisation en tant que probiotique ; par exemple *Clostridium butyricum*, une espèce productrice de butyrate, et *Bacillus subtilis*, ont des effets supprimeurs de tumeur entraînant une diminution de la prolifération des cellules CRC, un arrêt du cycle cellulaire et une promotion de l'apoptose (65). *Helicobacter hepaticus* a également un effet supprimeur de tumeur par la formation de structures lymphoïdes tertiaires autour de la zone cancéreuse (26).

D'autres auteurs ont étudié la prise de probiotiques pour la prévention de CRC, et ont montré des résultats positifs avec modification de l'activité enzymatique de la flore intestinale, prévention de la colonisation de souches pathogènes par compétition, diminution des acides biliaires secondaires carcinogènes, augmentation des AGCCs protecteurs et diminution de l'altération de l'ADN (29). Par exemple, l'administration d'une association d'inuline enrichie en oligofructoses, de *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Bifidobacterium lactis* Bb12 chez des patients a montré une diminution de la prolifération des cellules colorectales et amélioration de l'intégrité de la muqueuse.

En terme de probiotiques fongiques, l'association des *Saccharomyces* avec les bactéries *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, et *Bifidobacterium breve* aurait une activité anti-biofilm diminuant la progression de CRC (65). De plus, *S. cerevisiae* et *S. boulardii* confèreraient des avantages antiinflammatoires et antitumoraux.

Les probiotiques ont aussi un potentiel pour alléger les effets indésirables, notamment digestifs, des traitements anti-cancéreux, par diminution des diarrhées et des taux de cytokines pro-inflammatoires chez la souris, mais les données chez l'Homme sont encore limitées (29).

Enfin, il faut noter que bien que les probiotiques soient en général bien tolérés, des études ont rapporté des effets indésirables quand ceux-ci étaient administrés à des patients immunodéprimés. Ces effets secondaires impliquaient une stimulation immunitaire excessive, des infections, de la migration de bactéries pathogènes ainsi que le transfert de mécanismes d'antibiorésistance du probiotique à des bactéries pathogènes (79). De plus amples études sont donc nécessaires afin d'identifier quels probiotiques peuvent être administrés à quelles populations de patients de façon sûre.

c) Prébiotiques

Les prébiotiques sont des substances non-digestibles qui, spécifiquement digérées par certains microorganismes, stimulent leur croissance ou leur activité, conférant des avantages ou des bénéfices à l'hôte (4,29,65). Les bactéries sont dotées de différentes enzymes chacune spécialisée dans la fermentation d'un type de fibre. Des exemples de prébiotiques sont certains polyphénols, carbohydrates, ou acides gras polyinsaturés. Leur efficacité dépend beaucoup des bactéries qui sont déjà présentes au niveau du microbiote.

Des oligosaccharides provenant de lait de chèvre, notamment ceux fucosylés ou sialylés, peuvent également promouvoir la croissance de lactobacilles et bifidobactéries, tout en diminuant l'adhésion de bactéries pathogènes sur lignée cellulaire de CRC (74). Similairement, des études chez l'Homme ont montré que l'inuline, des fructooligosaccharides et galactooligosaccharides avaient des effets préventifs sur le développement de cancers, en favorisant la croissance de bactéries bénéfiques comme les bifidobactéries (80).

Il est aussi possible d'associer probiotiques et prébiotiques, c'est ce qu'on appelle des symbiotiques, le prébiotique, en tant que substrat métabolique permet d'assurer l'implantation et la survie du probiotique co-administré, en plus d'aider à la croissance de

probiotiques déjà résidant (79). Un exemple serait les spores-dex associant le probiotique *Clostridium butyricum* à des dextrans modifiés chimiquement que la bactérie peut fermenter. Ceux-ci entraîneraient la formation d'AGCCs protecteurs et l'augmentation de bactéries productrices d'AGCCs, ayant un effet inhibiteur sur le développement de tumeurs (74). D'autres exemples sont l'association de fructooligosaccharides à *Bifidobacterium* ou du lactitol à *Lactobacillus* (80).

Un avantage des prébiotiques en tant que traitement adjuvant des patients CRC, est qu'ils sont en général bien tolérés, avec peu d'effets indésirables gastro-intestinaux, bien que certaines fibres prébiotiques peuvent interférer avec l'absorption de certains nutriments et minéraux (79). Il faut également noter que la plupart des prébiotiques commercialisés aujourd'hui sont issus d'une fabrication chimique et synthétique, il faut donc garder à l'esprit que ces procédés par exemple d'extraction peuvent laisser des traces de contaminants.

Bien que les probiotiques et prébiotiques aient été démontrés comme étant bénéfiques par des études chez l'animal, les études chez l'Homme dans le cadre du CRC restent encore limitées. De plus, il ne faut pas oublier le statut de ces produits, entre supplément alimentaire et médicament, pouvant complexifier cette approche d'un point de vue réglementaire.

d) Postbiotiques

Les postbiotiques sont des préparations de composants microbiens inactivés qui sont soit sécrétés ou obtenus après lyse cellulaire. Cela comprend de nombreuses micro- et macromolécules, et ces composants peuvent par exemple être des fractions cellulaires, des cellules microbiennes inactivées ou des métabolites cellulaires (74). On peut donc imaginer utiliser le surnageant de cultures après avoir enlevé les cellules bactériennes par centrifugation, ce surnageant contenant les métabolites sécrétés par les bactéries, ou des composants cellulaires tels que les acides téichoïques issus de la paroi cellulaire, le peptidoglycane, des enzymes ou des exopolysaccharides (81).

Des cellules inactivées par la chaleur, comme *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* pourraient être bénéfiques, notamment par immuno-modulation avec un effet anti-inflammatoire (81).

Il a été montré que l'administration d'*Akkermansia muciniphila* pasteurisée chez la souris inhibait la carcinogenèse associée à la colite, supposant donc un effet bénéfique avec ralentissement de la progression de CRC.

Certains métabolites postbiotiques de *L. plantarum* ont par exemple des effets cytotoxiques et antiprolifératifs sur de nombreux types cellulaires comme les cellules CRC. Les postbiotiques peuvent aussi agir en diminuant l'inflammation et restaurant l'intégrité de la barrière épithéliale. Les AGCCs sont un autre exemple de postbiotiques, excrétés par certaines bactéries de notre microbiote, ces molécules peuvent être utilisées par les cellules CRC dans le cadre de la glycolyse aérobie, et ont des effets protecteurs (82).

Les probiotiques et l'étude de leur impact sur le développement de CRC sont encore à leurs prémices, bien qu'encore peu connus, leur potentiel thérapeutique et leur faible coût de production en font une future approche prometteuse dans la prise en charge du CRC.

e) Régime diététique

Notre régime alimentaire et notre mode de vie sont des facteurs environnementaux majeurs influençant la composition et l'abondance de notre microbiome, il va donc de soi que des interventions diététiques puissent avoir des effets bénéfiques ou délétères qui pourraient être exploités d'un point de vue préventif et thérapeutique dans le cadre du CRC.

Comme il a été évoqué dans la partie « facteurs de risques et protecteurs », la consommation de fibres provenant de fruits, légumes ou graines céréales, a un effet préventif sur le CRC, alors qu'une alimentation riche en graisses et en viandes rouges ainsi que la consommation excessive d'alcool sont positivement associées au développement de CRC (82). De plus, les aliments riches en sulfures métabolisés par certaines bactéries entraînent la production de sulfide d'hydrogène, mais comme indiqué précédemment il n'est pas clair si ceux-ci sont des carcinogènes strictes ou s'ils ont aussi une dimension protectrice.

Les aliments riches en fibre contiennent notamment des polyphénols, qui sont également retrouvés dans le vin rouge. Ces molécules ont des propriétés anti-inflammatoires et antitumorales (5). Par exemple, la quercétine, présente dans les oignons et pommes, a

démontré des effets antiprolifératifs sur des lignées CRC. Un autre polyphénol, l'anthocyanine, présente dans des fruits tropicaux, permettrait la diminution des taux de cytokines pro-inflammatoires.

Similairement, et cette fois issus de la médecine chinoise traditionnelle, le curcuma, présent dans les racines de la plante *Curcuma longa*, ou l'évodiame, peuvent diminuer l'inflammation intestinale et réguler l'abondance de certaines bactéries, en réduisant les bactéries pathogènes et augmentant les bactéries productrices de butyrate (82).

Les acides gras omega-3 polyinsaturés, présents dans les huiles de poissons par exemple, présentent également un effet protecteur, encore une fois en entraînant la diminution de bactéries pathogènes et l'augmentation de bactéries productrices d'AGCCs, bien que certaines études ont montré que ces molécules étaient sujettes à la peroxydation pouvant donc produire des radicaux et du stress oxydatif ce qui aurait un effet pro-tumoral (5).

Une étude sur adultes sains avait pour but d'identifier les effets à court terme d'une consommation de jus de gingembre frais sur le microbiote, comparé à une prise de NaCl 0.9%. Les auteurs ont montré une augmentation du nombre d'espèces bactériennes et donc de la diversité microbienne, avec diminution d'espèces dites inflammatoires au bénéfice d'une augmentation d'espèces anti-inflammatoires (83). Bien que non spécifique au cancer colorectal, cela montre que certains aliments ou suppléments ont un potentiel dans la modulation du microbiote et pourraient être envisagés comme approche adjuvante chez les patients atteints de cancer, même si la dose doit jouer un rôle important, rappelons que toute substance peut être un poison en fonction de la dose utilisée.

Un essai clinique est en cours de recrutement, cette fois-ci plus spécifique au CRC, et qui aura pour but d'évaluer l'impact d'une supplémentation d'environ 56g (ou 2 onces) de noix par jour pendant 21 jours, les noix étant composées des polyphénols appelés ellagitannines, sur la composition du microbiote intestinal, les marqueurs d'inflammation et la membrane du colon.

Enfin, l'intervention chirurgicale étant le gold standard dans la prise en charge des patients CRC, ceux-ci rencontrent souvent des complications post-opératives, ainsi qu'un microbiote déséquilibré. En effet, le stress de l'opération, les antibiotiques et autres traitements ainsi

que potentiellement l'apport d'oxygène dans cet environnement anaérobie sont de potentiels perturbateurs de la flore intestinale. Il y a donc là l'opportunité d'associer une intervention diététique à l'approche chirurgicale. Un essai est en cours de recrutement en Espagne et aura pour but d'analyser l'impact d'une intervention diététique avec un régime riche en fibres et acides gras poly-insaturés sur la balance microbienne de patients CRC en préopératoire, dans l'espoir de diminuer les complications post-opératoires (84).

Le lien entre microbiome et CRC ouvre donc la voie pour le développement de diverses approches préventives et thérapeutiques, reste-t-il encore à s'assurer de leur efficacité et innocuité ainsi que de déterminer, comme pour tout traitement, la balance bénéfice risque en prenant en compte les potentiels effets à long terme, et la variabilité inter-individuelle des patients, encore peu connus.

III.3.5. Virothérapie et bactériophages

Une autre approche serait l'utilisation de la virothérapie, via des virus oncolytiques, afin de spécifiquement cibler et éliminer les cellules cancéreuses tout en épargnant les cellules saines. Cette approche permet la lyse cellulaire en plus de stimuler l'immunité antitumorale par libération de molécules associées aux pathogènes, et il est à noter que contrairement aux thérapies conventionnelles, les virus oncolytiques ont la capacité de proliférer au site tumoral (85). Il est par exemple possible d'éliminer chez le virus oncolytique un gène associé à une enzyme uniquement présente ou surexprimée ou encore mutée, dans les cellules tumorales afin d'augmenter sa sélectivité. La méthode de délivrance est importante afin de limiter l'impact de l'activité antivirale de l'hôte sur la thérapie, notamment par l'utilisation de vecteurs ciblant le MET. L'association d'approches oncolytiques aux chimiothérapies et immunothérapies conventionnelles pourrait permettre une action synergétique et donc hautement intéressante dans le traitement du CRC.

L'efficacité et la sécurité des virus oncolytiques ont été démontrés en pré-clinique et ils sont maintenant étudiés en clinique. Des études de phase I ont montré l'innocuité, puis des études de phases II ou cas d'étude dans le mCRC ont observé une efficacité augmentée en terme de taux de réponse objectif lorsque la virothérapie était associée à FOLFOX/bévacizumab, bien que l'étude de phase II ait montré une faible survie globale et survie sans progression alors que le cas d'étude a démontré une rémission complète avec

stabilité plus de 7 ans après le diagnostic initial (85). Les résultats cliniques sont en général prometteurs mais de plus amples investigations sont nécessaires.

Les bactériophages sont des virus qui infectent les bactéries et qui peuvent utiliser soit un cycle lytique ou un cycle lysogénique, le premier entraînant la lyse de la bactérie alors que le second permet l'intégration du génome du phage dit tempéré dans les chromosomes bactériens, c'est ce qu'on appelle un prophage, jusqu'à un stimulus qui mènerait à l'activation du cycle lytique (67). Leur activité antimicrobienne et donc de modulation du microbiote intestinal est évidente, et contrairement aux antibiotiques, les phages peuvent éradiquer des bactéries en limitant le développement d'antibiorésistance. Mais que sait-on de leur potentiel dans la prévention ou la prise en charge du CRC ?

Une étude *in vivo* chez la souris CRC aggravé par *E. coli* a montré que l'utilisation d'un cocktail de bactériophages provenant d'échantillons humains purifiés ciblant *E. coli* dite adhérente-invasive pouvait diminuer l'abondance de la bactérie, prévenir le développement de la tumeur et améliorer la survie. Une analyse transcriptomique des tissus intestinaux a montré une diminution de l'expression de gènes associés au CRC, à la croissance tumorale, à l'invasion et au développement de métastases. Comme attendu, aucun effet n'a été observé chez les souris en absence d'*E. coli* (86). Il a également été observé que l'administration de bactériophages renforçait la réponse immunitaire avec activation de lymphocytes T et stimulation d'IFN- γ , ce pouvant exacerber les symptômes liés à une affection inflammatoire chronique comme une colite intestinale.

Une autre étude chez la souris et le porcelet, a montré que des nanoparticules de dextrans, un prébiotique, contenant de l'irinotécan et liées à des bactériophages ciblant *Fn*, pouvait s'accumuler au niveau de la tumeur, entraînant la diminution de *Fn* intra-tumoral, et permettant l'enrichissement en *C. butyricum* avec augmentation d'AGCCs et ralentissement de la croissance tumorale (67). L'association de ces différentes approches semble donc intéressante.

Il est encore tôt pour supporter l'utilisation de bactériophages en clinique, en effet, peu de données sont disponibles en ce qui concerne leur utilisation chez l'Homme dans le cadre du traitement ou de la prévention de CRC.

Conclusion

Ces dernières décennies ont été riches en études et découvertes sur l'impact du microbiote dans la santé humaine. Nous avons notamment observé une profonde évolution du regard porté sur ces microbes, avant considérés comme nocifs, nous les voyons dorénavant comme des organismes qui intrinsèquement ne sont ni bons ni mauvais, mais qui vivent en équilibre avec leur hôte et où la perturbation de cet équilibre entraîne des conséquences qui, elles, peuvent être bénéfiques ou pathogéniques.

Les cancers colorectaux, qui font partie des cancers les plus courants et mortels en France et dans le monde, sont très hétérogènes que ce soit d'un point de vue anatomique mais aussi à l'échelle moléculaire, c'est pourquoi une classification dédiée a été créée : la classification CMS. Celle-ci, bien que ne faisant pas encore partie de la pratique courante, aidera à mieux différencier les CRC, afin d'ensuite adapter la prise en charge thérapeutiques, qui encore une fois diffère grandement en fonction du type de CRC.

L'implication du microbiote dans le développement des cancers colorectaux est maintenant évidente bien que les mécanismes et la chronologie des événements ne soient pas encore bien compris. Nous ne savons par exemple pas si la dysbiose est une cause ou une conséquence de l'état pathologique, cette relation est hautement complexe et contextuelle. En effet, il faut considérer les nombreux facteurs associés aux patients et aux types de cancers qui, nous le rappelons sont très hétérogènes dans le cadre du CRC, mais en plus de cela, les microbes agissent souvent en communauté alors qu'on les étudie de façon séparée. De plus, il y a un manque de reproductibilité dans les études, il est donc important d'instaurer et de standardiser des protocoles et pratiques reproductibles et robustes.

L'état de la science actuelle indique que certains oncomicrobes comme *ETBF*, *Fn*, et *E. coli* pks+, ou encore des bactéries provenant du microbiote oral sont augmentés chez les patients CRC, alors que les bactéries productrices d'AGCCs dites protectrices, elles, sont diminuées. Pour le reste, il y a encore beaucoup de confusion et de contradictions nécessitant de plus amples études. Ce qui est encourageant c'est qu'il y a aujourd'hui un grand intérêt pour le microbiome et son implication dans différentes pathologies, comme nous pouvons le voir avec la multitude de papiers scientifiques publiés ces dernières années

à ce sujet, en parallèle des continuelles avancées technologiques, ce n'est donc qu'une question de temps avant de percer les secrets de cet écosystème.

Lorsque nous en saurons davantage sur le microbiome, nous pourrons utiliser son potentiel thérapeutique, diagnostique mais également préventif, avec des techniques non-invasives et probablement plus douces que l'arsenal proposé actuellement, pour remplacer ou améliorer la réponse aux thérapies conventionnelles.

Références

1. Lane N. The unseen world: reflections on Leeuwenhoek (1677) ‘Concerning little animals’. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 19 avr 2015;370(1666):20140344.
2. Pandey H, Tang DWT, Wong SH, Lal D. Gut Microbiota in Colorectal Cancer: Biological Role and Therapeutic Opportunities. *Cancers.* 30 janv 2023;15(3):866.
3. Salvucci E. The human-microbiome superorganism and its modulation to restore health. *Int J Food Sci Nutr.* nov 2019;70(7):781-95.
4. Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cell Mol Life Sci.* 1 févr 2019;76(3):473-93.
5. Sánchez-Alcoholado L, Ramos-Molina B, Otero A, Laborda-Illanes A, Ordóñez R, Medina JA, et al. The Role of the Gut Microbiome in Colorectal Cancer Development and Therapy Response. *Cancers.* 29 mai 2020;12(6):1406.
6. Matson V, Chervin CS, Gajewski TF. Cancer and the Microbiome—Influence of the Commensal Microbiota on Cancer, Immune Responses, and Immunotherapy. *Gastroenterology.* janv 2021;160(2):600-13.
7. Rowland I, Gibson G, Heinken A, Scott K, Swann J, Thiele I, et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr.* 2018;57(1):1-24.
8. Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, Bailly N, Bourgoin T, Brusca RC, et al. A Higher Level Classification of All Living Organisms. *PLoS ONE.* 29 avr 2015;10(4):e0119248.
9. Hugenholtz P, Chuvpochina M, Oren A, Parks DH, Soo RM. Prokaryotic taxonomy and nomenclature in the age of big sequence data. *ISME J.* juill 2021;15(7):1879-92.
10. Ramirez J, Guarner F, Bustos Fernandez L, Maruy A, Sdepanian VL, Cohen H. Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol.* 24 nov 2020;10:572912.
11. Hanus M, Parada-Venegas D, Landskron G, Wielandt AM, Hurtado C, Alvarez K, et al. Immune System, Microbiota, and Microbial Metabolites: The Unresolved Triad in Colorectal Cancer Microenvironment. *Front Immunol.* 2021;12:612826.
12. Bruneau A, Baylatry MT, Joly AC, Sokol H. Le microbiote intestinal : quels impacts sur la carcinogenèse et le traitement du cancer colorectal ? *Bull Cancer (Paris).* 1 janv 2018;105(1):70-80.
13. Kuwahara A, Matsuda K, Kuwahara Y, Asano S, Inui T, Marunaka Y. Microbiota-gut-brain axis: enteroendocrine cells and the enteric nervous system form an interface between the microbiota and the central nervous system. *Biomed Res.* 16 oct 2020;41(5):199-216.

14. Armand JP, Brun MP, Cossy J. Chimie et nouvelles thérapies Ed. 1 [Internet]. EDP Sciences; 2020 [cité 21 avr 2023]. Disponible sur: <https://univ-scholarvox-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/book/88901655>
15. Cole S, Chambon JF, Chegaray F, Jamma C. La Lettre de l'Institut Pasteur, n°108. Microbiote : vers une révolution thérapeutique. [Internet]. 2020. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/file/32574/download>
16. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res.* juin 2020;30(6):492-506.
17. Rothschild D, Weissbrod O, Barkan E, Kurilshikov A, Korem T, Zeevi D, et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature.* mars 2018;555(7695):210-5.
18. Rampelli S, Schnorr SL, Consolandi C, Turrone S, Severgnini M, Peano C, et al. Metagenome Sequencing of the Hadza Hunter-Gatherer Gut Microbiota. *Curr Biol.* 29 juin 2015;25(13):1682-93.
19. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 23 janv 2014;505(7484):559-63.
20. Prakash A, Peters BA, Cobbs E, Beggs D, Choi H, Li H, et al. Tobacco Smoking and the Fecal Microbiome in a Large, Multi-ethnic Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1 juill 2021;30(7):1328-35.
21. Antinozzi M, Giffi M, Sini N, Gallè F, Valeriani F, De Vito C, et al. Cigarette Smoking and Human Gut Microbiota in Healthy Adults: A Systematic Review. *Biomedicines.* 21 févr 2022;10(2):510.
22. Park EM, Chelvanambi M, Bhutiani N, Kroemer G, Zitvogel L, Wargo JA. Targeting the gut and tumor microbiota in cancer. *Nat Med.* avr 2022;28(4):690-703.
23. Peng Y, Nie Y, Yu J, Wong CC. Microbial Metabolites in Colorectal Cancer: Basic and Clinical Implications. *Metabolites.* 10 mars 2021;11(3):159.
24. Zheng Y, Wang T, Tu X, Huang Y, Zhang H, Tan D, et al. Gut microbiome affects the response to anti-PD-1 immunotherapy in patients with hepatocellular carcinoma. *J Immunother Cancer.* 23 juill 2019;7:193.
25. Hadadi N, Berweiler V, Wang H, Trajkovski M. Intestinal microbiota as a route for micronutrient bioavailability. *Curr Opin Endocr Metab Res.* 4 sept 2021;20:100285.
26. Yang X, Guo Y, Chen C, Shao B, Zhao L, Zhou Q, et al. Interaction between intestinal microbiota and tumour immunity in the tumour microenvironment. *Immunology.* nov 2021;164(3):476-93.
27. Cheng Y, Ling Z, Li L. The Intestinal Microbiota and Colorectal Cancer. *Front*

Immunol. 30 nov 2020;11:615056.

28. Microbiote intestinal (flore intestinale) · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. [cité 2 nov 2022]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/microbiote-intestinal-flore-intestinale/>
29. Hendler R, Zhang Y. Probiotics in the Treatment of Colorectal Cancer. *Medicines*. 7 sept 2018;5(3):101.
30. Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Pessoa S, Navarrete P, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? *Nutrients*. 19 mai 2020;12(5):1474.
31. Colonna M. Chapter 1 - Épidémiologie. In: Faucheron JL, éditeur. *Cancérologie Colorectale* [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2020 [cité 13 juill 2022]. p. 1-10. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294774546000015>
32. Institut National du Cancer. Cancers colorectaux - Du diagnostic au suivi [Internet]. 2018 [cité 21 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Cancers-colorectaux-Du-diagnostic-au-suivi>
33. Currais P, Rosa I, Claro I. Colorectal cancer carcinogenesis: From bench to bedside. *World J Gastrointest Oncol*. 15 mars 2022;14(3):654-63.
34. Seigneurin A, Delafosse P. Chapter 3 - Dépistage. In: Faucheron JL, éditeur. *Cancérologie Colorectale* [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2020 [cité 13 juill 2022]. p. 21-30. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294774546000039>
35. Hobeika C, Lefevre J. Chapter 4 - Bilan du cancer colorectal. In: Faucheron JL, éditeur. *Cancérologie Colorectale* [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2020 [cité 13 juill 2022]. p. 31-50. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294774546000040>
36. PDQ Cancer Genetics Editorial Board. Genetics of Colorectal Cancer (PDQ®): Health Professional Version. In: PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002 [cité 7 juill 2022]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK126744/>
37. PDQ Screening and Prevention Editorial Board. Colorectal Cancer Prevention (PDQ®): Patient Version. In: PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002 [cité 7 juill 2022]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65938/>
38. Tumeurs du colon et du rectum : polypes et cancers | Hôpital DCSS [Internet]. [cité 14 juill 2022]. Disponible sur: <https://hopital-dcss.org/en/node/177>
39. Aparicio C, Belver M, Enríquez L, Espeso F, Núñez L, Sánchez A, et al. Cell Therapy

- for Colorectal Cancer: The Promise of Chimeric Antigen Receptor (CAR)-T Cells. *Int J Mol Sci.* 29 oct 2021;22(21):11781.
40. Sobin LH. TNM classification of malignant tumours. Wiley-Blackwell; 2009.
 41. ICD-O-3 Site Codes | SEER Training [Internet]. [cité 2 nov 2022]. Disponible sur: <https://training.seer.cancer.gov/colorectal/abstract-code-stage/codes.html>
 42. Cancer Staging - NCI [Internet]. 2015 [cité 7 nov 2022]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/staging>
 43. ten Hoorn S, de Back TR, Sommeijer DW, Vermeulen L. Clinical Value of Consensus Molecular Subtypes in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 11 avr 2022;114(4):503-16.
 44. Menter DG, Davis JS, Broom BM, Overman MJ, Morris J, Kopetz S. Back to the Colorectal Cancer Consensus Molecular Subtype Future. *Curr Gastroenterol Rep.* févr 2019;21(2):5.
 45. Rebersek M. Consensus Molecular Subtypes (CMS) in Metastatic Colorectal Cancer - Personalized Medicine Decision. *Radiol Oncol.* 28 mai 2020;54(3):272-7.
 46. Tariq K, Ghias K. Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. *Cancer Biol Med.* mars 2016;13(1):120-35.
 47. Clay SL, Fonseca-Pereira D, Garrett WS. Colorectal cancer: the facts in the case of the microbiota. *J Clin Invest.* 132(4):e155101.
 48. Li K, Luo H, Huang L, Luo H, Zhu X. Microsatellite instability: a review of what the oncologist should know. *Cancer Cell Int.* 13 janv 2020;20(1):16.
 49. Frigerio S, Lartey DA, D'Haens GR, Grootjans J. The Role of the Immune System in IBD-Associated Colorectal Cancer: From Pro to Anti-Tumorigenic Mechanisms. *Int J Mol Sci.* 25 nov 2021;22(23):12739.
 50. American Cancer Society. About Cancer of Unknown Primary. [cancer.org | 1.800.227.2345 \[Internet\]. 2018. Disponible sur: https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8589.00.pdf](https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8589.00.pdf)
 51. Challine A, Panis Y, Maggiori L. Chapter 5 - Cancer colorectal : traitement de la forme isolée. In: Faucheron JL, éditeur. *Cancérologie Colorectale* [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2020 [cité 13 juill 2022]. p. 51-72. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294774546000052>
 52. Recommandations Cancer colorectal [Internet]. VIDAL. [cité 14 juill 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/recommandations/cancer-colorectal-3506.html>
 53. Cherri S, Libertini M, Zaniboni A. New drugs for the treatment of metastatic colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol.* 15 nov 2021;13(11):1551-60.
 54. Targeted Drug Trio for Colorectal Cancer with BRAF Mutations - NCI [Internet].

- 2019 [cité 15 juill 2022]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2019/colorectal-cancer-braf-triplet-targeted-therapy>
55. Purcell RV, Visnovska M, Biggs PJ, Schmeier S, Frizelle FA. Distinct gut microbiome patterns associate with consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Sci Rep*. 14 sept 2017;7:11590.
 56. Imai K, Ogata Y. How Does Epstein–Barr Virus Contribute to Chronic Periodontitis? *Int J Mol Sci*. 12 mars 2020;21(6):1940.
 57. Fan X, Jin Y, Chen G, Ma X, Zhang L. Gut Microbiota Dysbiosis Drives the Development of Colorectal Cancer. *Digestion*. 2021;102(4):508-15.
 58. Ochiai N, Kraft EL, Selker JS. Methods for colloid transport visualization in pore networks. *Water Resour Res* [Internet]. 2006 [cité 11 avr 2023];42(12). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/2006WR004961>
 59. Wirbel J, Pyl PT, Kartal E, Zych K, Kashani A, Milanese A, et al. Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer. *Nat Med*. 1 avr 2019;25(4):679-89.
 60. Nakatsu G, Li X, Zhou H, Sheng J, Wong SH, Wu WKK, et al. Gut mucosal microbiome across stages of colorectal carcinogenesis. *Nat Commun*. 30 oct 2015;6:8727.
 61. Zhang M, Lv Y, Hou S, Liu Y, Wang Y, Wan X. Differential Mucosal Microbiome Profiles across Stages of Human Colorectal Cancer. *Life*. 13 août 2021;11(8):831.
 62. Hamid HKS. *Schistosoma japonicum*–Associated Colorectal Cancer: A Review. *Am J Trop Med Hyg*. mars 2019;100(3):501-5.
 63. Zhang H, Yu Y, Li J, Gong P, Wang X, Li X, et al. Changes of gut microbiota in colorectal cancer patients with *Pentatrichomonas hominis* infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 31 août 2022;12:961974.
 64. Yao X, Cao Y, Lu L, Xu Y, Chen H, Liu C, et al. Plasmodium infection suppresses colon cancer growth by inhibiting proliferation and promoting apoptosis associated with disrupting mitochondrial biogenesis and mitophagy in mice. *Parasit Vectors*. 6 juin 2022;15:192.
 65. Qin X, Gu Y, Liu T, Wang C, Zhong W, Wang B, et al. Gut mycobiome: A promising target for colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer*. 1 janv 2021;1875(1):188489.
 66. Nakatsu G, Zhou H, Wu WKK, Wong SH, Coker OO, Dai Z, et al. Alterations in Enteric Virome Are Associated With Colorectal Cancer and Survival Outcomes. *Gastroenterology*. 1 août 2018;155(2):529-541.e5.
 67. El Haddad L, Mendoza JF, Jobin C. Bacteriophage-mediated manipulations of microbiota in gastrointestinal diseases. *Front Microbiol*. 17 nov 2022;13:1055427.

68. Coker OO, Wu WKK, Wong SH, Sung JJY, Yu J. Altered Gut Archaea Composition and Interaction With Bacteria Are Associated With Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 1 oct 2020;159(4):1459-1470.e5.
69. Wan G, Xie M, Yu H, Chen H. Intestinal dysbacteriosis activates tumor-associated macrophages to promote epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer. *Innate Immun*. nov 2018;24(8):480-9.
70. Li R, Zhou R, Wang H, Li W, Pan M, Yao X, et al. Gut microbiota-stimulated cathepsin K secretion mediates TLR4-dependent M2 macrophage polarization and promotes tumor metastasis in colorectal cancer. *Cell Death Differ*. nov 2019;26(11):2447-63.
71. Martínez-Montoro JI, Martínez-Sánchez MA, Balaguer-Román A, Gil-Martínez J, Mesa-López MJ, Egea-Valenzuela J, et al. Dietary modulation of gut microbiota in patients with colorectal cancer undergoing surgery: A review. *Int J Surg*. 1 août 2022;104:106751.
72. Fang Y, Yan C, Zhao Q, Xu J, Liu Z, Gao J, et al. The roles of microbial products in the development of colorectal cancer: a review. *Bioengineered*. 12(1):720-35.
73. Javdan B, Lopez JG, Chankhamjon P, Lee YCJ, Hull R, Wu Q, et al. Personalized mapping of drug metabolism by the human gut microbiome. *Cell*. 25 juin 2020;181(7):1661-1679.e22.
74. Wang Y, Li H. Gut microbiota modulation: a tool for the management of colorectal cancer. *J Transl Med*. 21 avr 2022;20:178.
75. Chang CW, Lee HC, Li LH, Chiang Chiau JS, Wang TE, Chuang WH, et al. Fecal Microbiota Transplantation Prevents Intestinal Injury, Upregulation of Toll-Like Receptors, and 5-Fluorouracil/Oxaliplatin-Induced Toxicity in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 8 janv 2020;21(2):386.
76. M.D. Anderson Cancer Center. Pilot Trial of Fecal Microbiota Transplantation and Re-Introduction of Anti-PD-1 Therapy in dMMR Colorectal Adenocarcinoma Anti-PD-1 Non-Responders [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2021 août [cité 13 juill 2022]. Report No.: NCT04729322. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04729322>
77. Zaharuddin DL. Probiotic Effects On Clinical and Circulating Inflammatory Cytokines Status In Patients With Colorectal Cancer: A Randomised Double Blind Clinical Trial [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2018 déc [cité 13 juill 2022]. Report No.: NCT03782428. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03782428>
78. Zaharuddin L, Mokhtar NM, Muhammad Nawawi KN, Raja Ali RA. A randomized double-blind placebo-controlled trial of probiotics in post-surgical colorectal cancer. *BMC Gastroenterol*. 24 juill 2019;19:131.
79. Wang H, Chen K, Ning M, Wang X, Wang Z, Yue Y, et al. Intake of Pro- and/or Prebiotics as a Promising Approach for Prevention and Treatment of Colorectal Cancer. *Mol*

Nutr Food Res. 2023;67(3):2200474.

80. Alam Z, Shang X, Effat K, Kanwal F, He X, Li Y, et al. The potential role of prebiotics, probiotics, and synbiotics in adjuvant cancer therapy especially colorectal cancer. *J Food Biochem*. 2022;46(10):e14302.
81. Song D, Wang X, Ma Y, Liu NN, Wang H. Beneficial insights into postbiotics against colorectal cancer. *Front Nutr*. 10 mars 2023;10:1111872.
82. Gao ZY, Cui Z, Yan YQ, Ning LJ, Wang ZH, Hong J. Microbe-based management for colorectal cancer. *Chin Med J (Engl)*. 20 déc 2021;134(24):2922-30.
83. Wang X, Zhang D, Jiang H, Zhang S, Pang X, Gao S, et al. Gut Microbiota Variation With Short-Term Intake of Ginger Juice on Human Health. *Front Microbiol*. 23 févr 2021;11:576061.
84. Martínez-Sánchez MA, Núñez-Sánchez MÁ, Balaguer-Román A, Oliva-Bolarín A, Pujante-Gilabert G, Hernández-Agüera Q, et al. Gut Microbiome Modification through Dietary Intervention in Patients with Colorectal Cancer: Protocol for a Prospective, Interventional, Controlled, Randomized Clinical Trial in Patients with Scheduled Surgical Intervention for CRC. *J Clin Med*. 22 juin 2022;11(13):3613.
85. Kana SI, Essani K. Immuno-Oncolytic Viruses: Emerging Options in the Treatment of Colorectal Cancer. *Mol Diagn Ther*. 1 mai 2021;25(3):301-13.
86. Gogokhia L, Buhrke K, Bell R, Hoffman B, Brown DG, Hanke-Gogokhia C, et al. Expansion of bacteriophages is linked to aggravated intestinal inflammation and colitis. *Cell Host Microbe*. 13 févr 2019;25(2):285-299.e8.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2022/2023

Nom : DEBRET

Prénom : Eloïse

Titre de la thèse : « L'impact du microbiome sur le cancer colorectal »

Mots-clés : Cancer colorectal, microbiome, microbiote intestinal, oncomicrobes, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis* entérotoxigénique, *Escherichia coli* pks+

Résumé : Le corps humain héberge différents microbiotes ou flores, composés d'eucaryotes et de procaryotes avec notamment des bactéries, virus, champignons, parasites, levures et archées. Ces microorganismes sont en équilibre avec leur hôte et participent à son homéostasie de par leurs fonctions métaboliques, immunologiques ou trophiques. Une dysbiose, ou perturbation de cet équilibre, serait associée à différents états pathologiques notamment les cancers. Les cancers colorectaux font partie des cancers les plus fréquents et mortels dans le monde, et il est de plus en plus reconnu que notre microbiote aurait un impact sur leur initiation et développement. L'objectif de cette thèse est d'évaluer l'état de la science actuelle à ce sujet. Il est clair aujourd'hui que certains oncomicrobes comme *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis* entérotoxigénique ou *Escherichia coli* pks+ sont enrichis chez les patients CRC, alors que d'autres espèces dites « protectrices », par le biais de production de métabolites anti-inflammatoires par exemple, sont, elles, diminuées. Bien que de plus en plus étudiée, cette relation entre microbiome et cancers colorectaux reste complexe et contextuelle et le manque de reproductibilité entre études entraîne confusion et contradiction. Il existe tout de même de réels potentiels préventif, diagnostique et thérapeutique que les efforts de recherche permettront de mettre à disposition dans les années qui suivent.

Membres du jury :

Président : Professeur Rébecca Deprez-Poulain.

Assesseurs :

Professeur Benjamin Bertin,

Professeur Benoît Foligné,

Professeur Nicolas Simon.

Membre extérieur : Docteur Claire Degand.