



**HAL**  
open science

# Les lymphocytes MAIT induisent l'inflammation, la dysbiose et le diabète de type 2 au cours de l'obésité

Badr Kiaf

## ► To cite this version:

Badr Kiaf. Les lymphocytes MAIT induisent l'inflammation, la dysbiose et le diabète de type 2 au cours de l'obésité. Immunologie. Université Sorbonne Paris Cité, 2017. Français. NNT : 2017US-PCC314 . tel-02325839

**HAL Id: tel-02325839**

**<https://theses.hal.science/tel-02325839>**

Submitted on 22 Oct 2019

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

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

Thèse de doctorat  
de l'Université Sorbonne Paris Cité  
Préparée à l'Université Paris Diderot  
**Ecole doctorale : BioSPC**

*Immunologie des diabètes / U1016*

# Les lymphocytes MAIT induisent l'inflammation, la dysbiose et le diabète de type 2 au cours de l'obésité

Par Badr KIAF

Thèse de doctorat d'Immunologie

Dirigée par Dr Agnès LEHUEN

Présentée et soutenue publiquement à l'institut Cochin le 29/09/2017

Président du jury : Christian Boitard / PU-PH / Université Paris Descartes, INSERM

Rapporteur : Nicolas Venteclef / DR / Université Pierre et Marie Curie, INSERM

Rapporteur : David Dombrowicz / DR / Université de Lille, INSERM

Examineur : Emmanuelle Maguin / DR / Inra-Agro-Paris-Tech, INRA

Examineur : Armelle Leturque / DR / Université Pierre et Marie Curie, CNRS

Directeur de thèse : Agnès LEHUEN / DR / Université Paris Descartes, CNRS

**Titre :** Les lymphocytes MAIT induisent l'inflammation, la dysbiose et le diabète de type 2 au cours de l'obésité

**Résumé :** Le surpoids et l'obésité touchent plus de 1,9 milliard d'adultes à travers le monde et pourraient atteindre 3,3 milliards de personnes dans une dizaine d'année. L'obésité est associée à une inflammation tissulaire et systémique chronique de bas grade, qui contribuent à l'apparition de la résistance à l'insuline. Récemment, notre laboratoire a mis en évidence des anomalies d'une nouvelle population de lymphocytes T innés, les cellules MAIT (Mucosal Associated Invariant T) chez des patients obèses et/ou ayant un diabète de type 2 (T2D). Les cellules MAIT sont des lymphocytes T non conventionnels, qui expriment un récepteur des cellules T (TCR) avec une chaîne alpha invariante. Leur TCR reconnaît la molécule d'histocompatibilité de classe 1 non classique MR1, présentant des métabolites dérivés de la voie de biosynthèse des vitamines B, notamment les vitamines B2 et B9.

Dans cette étude, nous utilisons les modèles murins pour analyser le rôle des cellules MAIT dans le développement du T2D. Au cours de l'obésité induite par un régime riche en graisse, les cellules MAIT du tissu adipeux viscéral (TA) et de l'iléon sont activées de façon précoce et anormale et produisent plus de cytokines pro-inflammatoires (i.e. IL-17, TNF $\alpha$  et l'IFN $\gamma$ ). De plus, l'augmentation de la fréquence tissulaire des MAIT chez des souris V $\alpha$ 19 transgéniques conduit à l'apparition de la résistance à l'insuline et à une intolérance au glucose, au cours de l'obésité. A l'inverse, les souris obèses déficientes en MAIT, MR1<sup>-/-</sup>, sont protégées contre ces anomalies métaboliques. Une fréquence élevée de MAIT est associée au changement de macrophages M2 (anti-inflammatoires) en M1 (inflammatoires) et à une infiltration des cellules NK et des LT $\alpha\beta$ -CD8 au niveau du TA. Par ailleurs, les MAIT contrôlent la fréquence des Treg, ILC2 et ILC3 dans l'iléon et des Treg, ILC2 et éosinophiles dans le tissu adipeux. La modification de la fréquence des ILC2 et ILC3 est associée à la production intestinale d'IL-33 et d'IL-25. De plus, nous montrons que le rôle délétère des MAIT dans le développement du T2D est associé à une dysbiose intestinale. Finalement, des expériences de transfert de flores intestinales montrent que cette dysbiose intestinale est en partie responsable des anomalies immunitaires et métaboliques.

**Mots clefs :** Cellules MAIT, obésité, diabète de type 2, microbiote intestinal, inflammation, LTreg, ILC2, éosinophiles, ILC3, macrophages, résistance à l'insuline, tissu adipeux, intestin.

**Title :** Mucosal Associated Invariant T (MAIT) cells induce inflammation, gut dysbiosis, and type 2 diabetes during obesity

**Abstract :** Obesity and type 2 diabetes are associated with low-grade chronic inflammation. Immune cells are recruited and activated in several tissues, including adipose tissue, thereby contributing to insulin-resistance and diabetes. Recent studies described gut microbiota dysbiosis as a consequence as well as a driver of obesity and type 2 diabetes. Mucosa-associated invariant T cells (MAIT) are innate-like T cells expressing a semi-invariant T-cell receptor restricted by the non-classical MHC class I molecule MR1 presenting bacterial ligands. In obese/T2D patients MAIT cells in blood and adipose tissue exhibit a pro-inflammatory profile. In the present study, we show that during high fat diet-induced obesity MAIT cells produce inflammatory cytokines in adipose tissue and the ileum and induce inflammation in these tissues by modifying other immune cell populations (i.e. macrophages, CD8 T $\alpha\beta$  cells, NK cells, LTreg, eosinophils and ILC2 in the adipose tissue and ILC2, ILC3 and LTreg in the ileum). These changes impair the function of both tissues leading to insulin resistance, glucose intolerance, impaired lipid metabolism and increased gut permeability. MAIT cells also impact gut microbiota dysbiosis during obesity and microbiota transfer experiments highlight a bidirectional crosstalk between MAIT cells and the gut microbiota leading to inflammation and gut leakage. Altogether these results reveal the major role of MAIT cells in promoting the development of type 2 diabetes during obesity.

**Keywords :** MAIT cells, obesity, type 2 diabetes, gut microbiota, inflammation, LTreg, ILC2, eosinophil, ILC3, macrophage, insulin resistance, adipose tissue, intestine.

## Remerciements

Au terme de ce travail, c'est avec une grande déférence que je tiens en tout premier lieu à adresser mes remerciements les plus sincères à ma directrice de thèse, **Pr. Agnes Lehuen**, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et pour m'avoir permis de réaliser ce travail. Je la remercie pour la confiance qu'elle m'a prodiguée en me laissant la liberté nécessaire à l'accomplissement des travaux de recherche, tout en y gardant un œil critique et avisé. J'ai pu apprécier les discussions fructueuses que nous avons pu avoir tout au long de mon parcours, ses précieux conseils et remarques. Merci pour avoir cru en moi et pour le soutien permanent. Je la remercie également pour l'ambiance conviviale et familiale qu'elle a toujours su instaurer au sein de l'équipe. Qu'il me soit permis de lui exprimer mon admiration, ma reconnaissance et mon profond respect.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers **Lucie Beaudoin-Desmarest**, pour sa collaboration, je tiens également à la remercier pour l'amabilité avec laquelle elle a toujours su se démarquer ainsi que pour le temps précieux qu'elle m'a consacré. Qu'elle veuille bien accepter ma sincère considération.

J'adresse mes sincères remerciements au **Dr. et ami Amine Toubal**, pour son implication efficace, sa grande contribution et son rôle important dans l'accomplissement de ce travail. Je le remercie pour sa sympathie, pour ses conseils, pour l'attention qu'il a portée à l'aboutissement de ce travail et pour nos discussions et échanges scientifiques très constructifs. Je le remercie finalement pour son amitié, sa patience et sa présence appréciée.

J'adresse mes respectueux remerciements à **Ophelie Rouxel** et **Jennifer Da Silva** pour la bonne ambiance et pour leur soutien moral et le réconfort dans les moments de doute et de découragement.

Mes remerciements à **Lucie Cagninacci** et au **Dr. Moez Rhimi** qui a collaboré d'une manière très efficace durant la réalisation de ce projet. Qu'elle trouve ici l'assurance de ma sincère reconnaissance pour sa bonne humeur et ses nombreux petits cadeaux.

Un remerciement très chaleureux à **Chantal, Dr Slobodan, Dr Georgia, Dr Sandrine, Dr François, Dr. Roberto, Dr Latif, Masaya, Dr Al Batoul, Dr Nicolas, Dr Cyrile, Dr. Aurore** et toutes les équipes du bâtiment Cassini de l'institut Cochin. Merci pour les bons moments passés ensemble.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury, **Dr Christian Boitard, Dr David Dombrowicz, Dr Nicolas Venteclef, Dr Emmanuelle Maguin** et **Dr Armelle Leturque** d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail et d'assister à ma soutenance.

Je termine par remercier tous les membres de ma famille et particulièrement, ma sœur *Jihane*, mon frère *Amine*, mon père *AbdeLLATIF*, ma mère *Touria*, mes grand parents, *Saadia*, *Fatna*, *Zouhra* et *AbdEssalam*, mes oncles/tantes *Mohammed*, *Rachid*, *AbdErrahim*, *Mustapha*, *Ghanim* le regretté *Ahmed*, ma chère *Aicha*, *Maria*, *Mina*, *Rabia* et *Nadia*, mes cousins(es) *SalahEddine*, *Achraf*, *Adil*, *Soufiane*, *Sanae*, *Myriam*<sup>2</sup>, *Imad*, *Cyrille*, *Sami*, *Akram* pour leur soutien durant les moments difficiles et pour les encouragements prodigués tout au long de ce travail. A mes tantes, oncles, cousines et cousins, pour leur affection et leur présence à mes côtés pendant les moments difficiles.

Ce travail aussi modeste qu'il soit, n'a pu aboutir que grâce à l'aide inestimable de mes collègues et aux encouragements incessants de mes amis et de ma famille, ainsi je tiens à les remercier vivement.



*À toi, Nezha...*

## Table des matières

<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>3</b>
<b>ABREVIATIONS.....</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCTION : LA « DIABESITE » .....</b>	<b>11</b>
<b>I. LE TISSU ADIPEUX : .....</b>	<b>17</b>
<b>A. LES DIFFERENTS TYPES DE TISSUS ADIPEUX : .....</b>	<b>17</b>
<b>B. FONCTIONS DU TISSU ADIPEUX BLANC : .....</b>	<b>18</b>
1. STOCKAGE ENERGETIQUE ET LA LIPOLYSE : .....	18
2. FONCTION ENDOCRINE, LES ADIPOKINES : .....	20
3. LE REMODELAGE DU TA, L'« HYPERTROPHIE » ET L'« HYPERPLASIE » : .....	23
4. L'OBESITE, L'HYPOXIE ET L'INFLAMMATION : .....	24
5. L'INFLAMMATION DU TISSU ADIPEUX : .....	26
<b>C. LES CELLULES IMMUNITAIRES DANS LE TA : L'EFFET DE L'OBESITE.....</b>	<b>28</b>
1. LES MACROPHAGES : .....	29
2. LES LYMPHOCYTES T : .....	32
3. LES EOSINOPHILES ET LES ILC2 : .....	40
4. LES CELLULES NK : .....	42
<b>II. LE MICROBIOTE INTESTINAL : .....</b>	<b>43</b>
<b>A. ETIOLOGIE : .....</b>	<b>43</b>
1. EVOLUTION DE LA FLORE AU COURS DE LA VIE : .....	43
2. L'ENVIRONNEMENT : .....	45
<b>B. LA COMPOSITION DE LA FLORE INTESTINALE ET INTERET DU MODELE MURIN: .....</b>	<b>46</b>
1. LES <i>FIRMICUTES</i> : .....	46
2. LES <i>BACTEROIDETES</i> : .....	47
3. LES <i>ACTINOBACTERIA</i> : .....	47
<b>C. LA NOTION D'« ENTEROTYPE » ET DE LA « FONCTION FLORALE »: .....</b>	<b>48</b>
1. LES ENTEROTYPES ET LA FONCTION FLORALE : .....	48
2. PLASTICITE/STABILITE DU MICROBIOTE : .....	50
<b>D. LE MICROBIOTE INTESTINAL ET LE T2D : .....</b>	<b>51</b>
1. LE MICROBIOTE ET L'OBESITE : LA BALANCE <i>BACTEROIDIES/FIRMICUTES</i> .....	52
2. LA DYSBIOSE ET LA PERMEABILITE INTESTINALE : .....	55
3. LE MICROBIOTE INTESTINAL ET L'INSULINO-RESISTANCE : .....	57
4. VITAMINE B, OBESITE ET L'INFLAMMATION : .....	58
5. LES TRAITEMENTS PROBIOTIQUES : .....	58
<b>III. L'INTESTIN : .....</b>	<b>59</b>
<b>A. FONCTIONS INTESTINALES : .....</b>	<b>59</b>
1. LE « SENSING » DES NUTRIMENTS : .....	59
2. CONTROLE DE L'ABSORPTION/PERMEABILITE : .....	61

3.	STOCKAGE ENERGETIQUE :	63
4.	CONTROLE DE LA LOCALISATION BACTERIENNE :	64
5.	LE SENSING IMMUNITAIRE :	68
<b>B.</b>	<b>LE SYSTEME IMMUNITAIRE INTESTINAL :</b>	<b>70</b>
1.	COMPOSITION :	70
2.	ROLE DU MICROBIOTE DANS LE DEVELOPPEMENT DU SYSTEME IMMUNITAIRE INTESTINAL : ENTRE HOMEOSTASIE ET PATHOLOGIE :	74
<b>IV.</b>	<b>MUCOSAL ASSOCIATED INVARIANT T CELL :</b>	<b>80</b>
<b>A.</b>	<b>LES MAITs, DEVELOPPEMENT ET FONCTION :</b>	<b>83</b>
1.	MAIT AU COURS DU DEVELOPPEMENT :	83
2.	CORRECTION DE CERTAINES NOTIONS :	84
3.	LE PHENOTYPE DES LYMPHOCYTES MAIT :	87
4.	LES FACTEURS DE TRANSCRIPTION :	89
5.	FONCTION DES LYMPHOCYTES MAIT :	89
<b>B.</b>	<b>LA MOLECULE MR1 :</b>	<b>92</b>
<b>C.</b>	<b>LE LIGAND DES LYMPHOCYTES MAIT :</b>	<b>93</b>
<b>D.</b>	<b>LES MAIT ET LES MALADIES INFLAMMATOIRES :</b>	<b>96</b>
1.	INFECTIONS BACTERIENNES :	96
2.	INFECTIONS VIRALES :	97
3.	MALADIES AUTO-IMMUNES :	98
4.	CANCERS :	99
<b>V.</b>	<b>HYPOTHESE ET OBJECTIF DU TRAVAIL :</b>	<b>100</b>
<b>ARTICLE.....</b>	<b>.....</b>	<b>102</b>
<b>DISCUSSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>.....</b>	<b>103</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>.....</b>	<b>124</b>
<b>ANNEXE 1.....</b>	<b>.....</b>	<b>166</b>
<b>MUCOSAL-ASSOCIATED INVARIANT T CELL ALTERATIONS IN OBESSE AND TYPE 2 DIABETIC PATIENTS .....</b>	<b>.....</b>	<b>166</b>
<b>ANNEXE 2.....</b>	<b>.....</b>	<b>167</b>



## Table des illustrations

<b>FIGURE I-1: PREVALENCE DE L'OBESITE (IMC<math>\geq</math>30) CHEZ LA FEMME (CARTE DU HAUT) ET L'HOMME (CARTE DU BAS) EN 2014 (MENDIS ET AL., 2015).</b>	<b>12</b>
<b>FIGURE I-2: LES FACTEURS DE RISQUE ET COMPLICATIONS DE L'OBESITE (MENDIS ET AL., 2015).</b>	<b>15</b>
<b>FIGURE I-3: PREVALENCE DU DIABETE DE TYPE 2 CHEZ LES PERSONNES ADULTES SELON LE SEXE, FEMMES (CARTE DU HAUT) ET HOMMES (CARTE DU BAS) (MENDIS ET AL., 2015).</b>	<b>16</b>
<b>FIGURE I-1: REGULATION DU STOCKAGE/UTILISATION DES LIPIDES AU NIVEAU DES ADIPOCYTES. SELON (RUTKOWSKI ET AL., 2015)</b>	<b>19</b>
<b>FIGURE I-2 : LES ADIPOKINES ET CYTOKINES PRODUITES PAR LE TISSU ADIPEUX (CAO, 2014).</b>	<b>21</b>
<b>FIGURE I-3: DIFFERENCE ENTRE « INFLAMMATION CHAUDE » ET « INFLAMMATION FROIDE » :</b>	<b>25</b>
<b>FIGURE I-4: MECANISME MOLECULAIRE DE L'INSULINO-RESISTANCE AU NIVEAU DES TISSUS INSULINO-SENSIBLES (KHODABANDEHLOO ET AL., 2016).</b>	<b>28</b>
<b>FIGURE I-5 : POLARISATION DES LT-CD4 NAIFS EN TH1, TH2 OU TH17 (GARRIDO-MESA ET AL., 2013).</b>	<b>36</b>
<b>FIGURE I-6: EFFETS METABOLIQUE ET IMMUNITAIRE DE L'OBESITE SUR LE TISSU ADIPEUX BLANC.</b>	<b>38</b>
<b>FIGURE II-1: EVOLUTION DE LA FLORE INTESTINALE AU COURS DE LA VIE (OTTMAN ET AL., 2012).</b>	<b>44</b>
<b>FIGURE II-2: COMPOSITION RELATIVE DES DIFFERENTS ENTEROTYPES CHEZ L'HOMME (DORE ET AL., 2013).</b>	<b>48</b>
<b>FIGURE II-3: EVOLUTION DE LA FLORE INTESTINALE AU COURS DE L'INFLAMMATION (FX MEDECINE, 2016).</b>	<b>56</b>
<b>FIGURE III-1: COMPOSITION DU SYSTEME IMMUNITAIRE INTESTINAL (PARIGI ET AL., 2015).</b>	<b>71</b>
<b>FIGURE III-2: LE MICROBIOTE INTESTINAL CONTROLE LE DEVELOPPEMENT DU SYSTEME INTESTINAL ET SYSTEMIQUE (SCHUIJT ET AL., 2013).</b>	<b>75</b>
<b>FIGURE IV-1: PHENOTYPE DES LYMPHOCYTES MAIT ET PRESENTATION ANTIGENIQUE.</b>	<b>88</b>
<b>FIGURE IV-2: VOIE DE BIOSYNTHESE DE LA RIBOFLAVINE, SOURCE DU LIGAND DES MAIT</b>	<b>94</b>

## Abréviations

♂: Mâle	<b>FAS:</b> FFA synthase
♀: Femelle	<b>FFA:</b> Free Fatty Acid
<b>5-OE-RU :</b> 5-(2-oxoethylideneamino)-6-D-ribitylaminouracil	<b>Fiaf:</b> Fasting-induced adipose factor
<b>5-OP-RU :</b> 5-(2-oxopropylideneamino)-6-D-ribitylaminouracil	<b>FoxP3:</b> Forkhead box P3
<b>6-FP:</b> 6-Formyl Pterin	<b>Fut-2:</b> Fucosyltransferase 2
<b>Ac-6-FP:</b> Acetyl-6-Formyl Pterin	<b>FXR:</b> Farnesoid X Receptor
<b>ACC:</b> Acetyl-Coenzyme A	<b>GALT:</b> Gut-Associated Lymphoid Tissue
<b>ACC1:</b> Acetyl-Coenzyme A Carboxylase 1	<b>GATA-3:</b> Trans-acting T-cell-specific transcription factor
<b>AdipoR(n):</b> Adiponectin Receptor (n)	<b>GLP-1:</b> Glucagon-Like Peptide-1
<b>AG:</b> Acid Gras	<b>GLUT-(n):</b> Glucose Transporter (n)
<b>AhR:</b> Aryl hydrocarbon Receptor	<b>GMC-SF:</b> Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
<b>AMP:</b> Anti Microbial Peptide	<b>GPCR (OU GPR):</b> Récepteur lié à la protéine G
<b>AMPC:</b> Cyclic Adenosine MonoPhosphate	<b>HBV:</b> Hepatitis B Virus
<b>AMP-kinase:</b> Activated Protein kinase	<b>HCV:</b> Hepatitis C Virus
<b>Angptl 4:</b> Angiopoïétine like 4	<b>HIF-1:</b> Hypoxia Inducible Factor 1
<b>APC:</b> Antigen Presenting Cells	<b>HIV:</b> Le virus de l'immunodéficience humaine
<b>APRIL:</b> A Proliferation-Inducing Ligand	<b>HSL:</b> Hormone Sensitive Lipase
<b>ARNm:</b> Acide RiboNucléique messager	<b>ICOS:</b> Inducible T-cell COStimulator
<b>ATGL:</b> Adipose TriGlyceride Lipase	<b>IEL:</b> Intra-Epithelial Lymphocyte
<b>ATP:</b> Adenosine TriPhosphate	<b>IFN<math>\gamma</math>:</b> Interféron $\gamma$
<b>BAFF:</b> B-cell Activating Factor	<b>IgM:</b> Immunoglobuline M
<b>BAT:</b> Brown Adipose Tissue	<b>IKK<math>\epsilon</math>:</b> I Kappa B Kinase $\epsilon$
<b>Bcl-2:</b> B-cell lymphoma 2	<b>IL-(n):</b> Interleukine (n)
<b>BCR:</b> B-Cell Receptor	<b>ILC (n):</b> Innate Lymphoid Cell (n)
<b>CCL (n):</b> Chemokine (C-C motif) Ligand (n)	<b>ILF:</b> Isolated Lymphoid Follicles
<b>CHC:</b> Carcinome Hépatocellulaire	<b>IL-nR:</b> Interleukin (n) Receptor
<b>ChREBP:</b> Carbohydrate-responsive element-binding protein	<b>iL<math>\text{treg}</math>:</b> Lymphocyte T régulateur induit
<b>Coefficient CG:</b> Taux de guanine (G) et de cytosine (C) que contient une molécule d'ADN	<b>IMC:</b> Indice de Masse Corporelle
<b>CP:</b> CryptoPatch	<b>iNKT:</b> invariant Natural Killer T
<b>CXCL(n):</b> Chemokine (C-X-C motif) Ligand (n)	<b>iNOS:</b> inducible Nitric Oxide Synthase
<b>DAG:</b> DiAcyl Glycerol	<b>IRS1:</b> Insulin Receptor Substrate 1
<b>DC:</b> Dendritic Cell	<b>JNK1:</b> c-Jun N-terminal Kinases
<b>DTR:</b> Diphtheria Toxin Receptor	<b>KAR:</b> Killer Activation Receptor
<b>E4BP4:</b> Nuclear factor, interleukin 3 regulated	<b>KIR:</b> Killer Inhibition Receptor
<b>EAE:</b> Experimental Autoimmune Encephalomyelitis	<b>LB:</b> Lymphocyte B
<b>EPX:</b> Eosinophil Peroxidase	<b>LP:</b> Lamina Propria
<b>FAO:</b> Fatty Acid Oxidation	<b>LPL:</b> Lamina Propria Lymphocytes
	<b>LPS:</b> LipoPolySaccharide
	<b>LT:</b> Lymphocyte T
	<b>Lti:</b> Lymphoid Tissue inducer
	<b>LT<math>\alpha</math>:</b> Lymphotoxin-alpha
	<b>LXR:</b> Liver X Receptor, récepteurs des

oxystérols	<b>PPAR<math>\gamma</math></b> : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor $\gamma$
<b>MAIT</b> : Mucosal-Associated Invariant T cell	<b>PRR</b> : Pattern Recognition Receptor
<b>MAMP</b> : Microbe-Associated Molecular Patterns	<b>PSA</b> : PolySaccharide A
<b>MBP</b> : Maltose-Binding Protein	<b>PYCARD</b> : Apoptosis-associated speck-like protein containing a card, ASC
<b>MCP-1</b> : Monocyte chemoattractant protein-1, CCL2	<b>PYY</b> : Peptide YY
<b>MHC</b> : Major Histocompatibility Complex	<b>RANTES</b> : Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted, CCL5
<b>MIF</b> : Macrophage migration Inhibitory Factor	<b>RE</b> : Reticulum Endoplasmic
<b>MLN</b> : Mesenteric Lymph Node	<b>RegIII</b> : Regenerating gene family protein III RIG-Like
<b>MMP2</b> : Matrix Metalloproteinase-2	<b>Roryt</b> : RAR-related orphan receptor gamma T
<b>MR1</b> : Major histocompatibility complex, class I-Related	<b>ROS</b> : Reactive Oxygen Species
<b>MS</b> : Multiple Sclerosis	<b>SAA</b> : Serum Amyloid A
<b>MSR1</b> : Macrophage Scavenger Receptor 1	<b>SCFA</b> : Short Chain Fatty Acids
<b>MUC2</b> : Mucine 2	<b>SFB</b> : Segmented Filamentous Bacteria
<b>MyD88</b> : Myeloid Differentiation primary response gene 88	<b>sIgA</b> : Immunoglobulines A Secréttoire
<b>NCR1</b> : Natural Cytotoxicity Triggering Receptor 1	<b>SNC</b> : Système Nerveux Central
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b> : Nuclear Factor-kappa B	<b>SREBP-1</b> : Sterol regulatory element-binding protein 1
<b>NK</b> : Natural Killer	<b>ST1/ST2</b> : Recepteur à l'IL-33
<b>NLRP3</b> : NOD-like receptor family, Pyrin domain containing 3	<b>STAT-4</b> : Signal Transducer and Activator of Transcription 4
<b>NOD</b> : Nucleotide Oligomerization Domain receptors	<b>SVF</b> : Stromal Vascular Fraction
<b>Occ</b> : Occludine	<b>T2D</b> : Diabète de Type 2
<b>Ogfr</b> : Opioid growth factor	<b>TA</b> : Tissu Adipeux
<b>Oprd1</b> : Opioid Receptor Delta 1	<b>T-bet</b> : T-box transcription factor
<b>OXHPOS</b> : Oxidative Phosphorylation	<b>TCR</b> : T-Cell Receptor
<b>PAI-4</b> : Plasminogen Activator Inhibitor 1	<b>TdT</b> : Terminal deoxynucleotidyl Transferase
<b>PAMP</b> : Pathogen-Associated Molecular Patterns	<b>TG</b> : Triglycérade
<b>PD-1</b> : Programmed cell Death 1	<b>TGF<math>\beta</math></b> : Transforming growth factor $\beta$
<b>PDH</b> : Pyruvate DeHydrogenase	<b>TH17</b> : Lymphocyte T auxiliaire de type 17
<b>PGN</b> : PeptidoGlycaNe	<b>TLR</b> : Recepteur Toll-Like
<b>PLRLC</b> : Precursor Lymphocyte-Specific Regulatory Light Chain	<b>TNF</b> : Tumor Necrosis Factor
<b>PLZF</b> : Promyelocytic Leukaemia Zinc Finger protein	<b>TRBV (ou V<math>\beta</math>)</b> : Sous unité variable du TCR $\beta$
<b>PMA/Iono</b> : Phorbol Myristate Acetate/Ionomycin	<b>TRIF</b> : TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$
<b>PP</b> : Payer Patch	<b>TSLP</b> : Thymic Stromal LymphoPoietin
	<b>UCP</b> : UnCoupling Protein, Thermogenin
	<b>VEGF</b> : Vascular Endothelial Growth Factor
	<b>VLA-4</b> : Very Late Antigen-4, Integrin $\alpha$ 4 $\beta$ 1
	<b>WAT</b> : White Adipose Tissue
	<b>ZO</b> : Zonuline



## Introduction : la « diabésité »

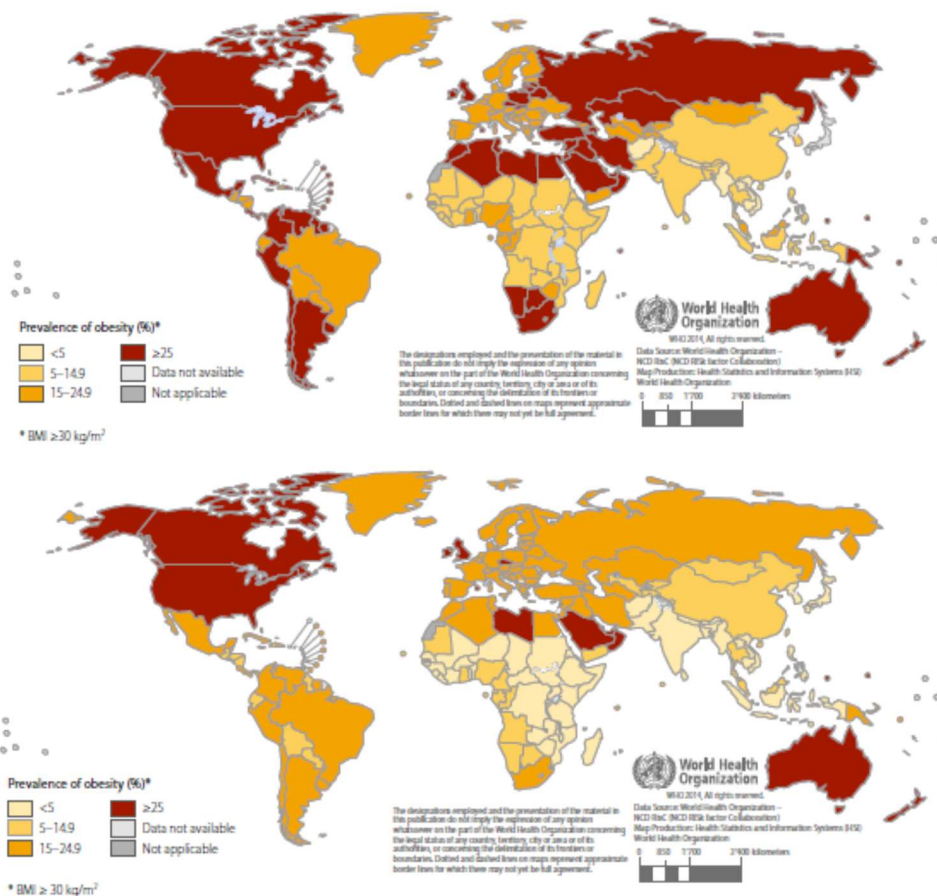
L'obésité, considérée par beaucoup comme une épidémie du 21<sup>ème</sup> siècle (NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), 2016), est caractérisée par un indice de masse corporel (IMC)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. Elle est définie comme une accumulation anormale ou excessive du tissu adipeux (TA) s'accompagne habituellement d'une inflammation systémique, légère et chronique.

L'IMC est l'outil le plus couramment utilisé pour déterminer si et dans quelle mesure une personne est considérée comme obèse (Tableau I-1) (Javed et al., 2015). L'IMC estime généralement l'adiposité et identifie le surpoids et l'obésité en fonction du poids de l'individu exprimé en kilogrammes (kg) et divisé par la hauteur en mètres carrés (m<sup>2</sup>). La classification de l'organisme mondial de santé (OMS) utilisant l'IMC définit l'Insuffisance pondérale comme  $<18,5$  kg/m<sup>2</sup>, un poids normal à 18,5-24,9 kg/m<sup>2</sup>, un surpoids à 25-29,9 kg/m<sup>2</sup>, l'obésité  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> et un IMC  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> est considéré comme une obésité extrême (Tableau I-1) (WHO Expert Consultation, 2004).

Classification	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	
	Principal cut-off points	Additional cut-off points
<b>Underweight</b>	<b>&lt;18.50</b>	<b>&lt;18.50</b>
Severe thinness	<16.00	<16.00
Moderate thinness	16.00 - 16.99	16.00 - 16.99
Mild thinness	17.00 - 18.49	17.00 - 18.49
<b>Normal range</b>	<b>18.50 - 24.99</b>	<b>18.50 - 22.99</b>
		<b>23.00 - 24.99</b>
<b>Overweight</b>	<b><math>\geq 25.00</math></b>	<b><math>\geq 25.00</math></b>
Pre-obese	25.00 - 29.99	25.00 - 27.49
		27.50 - 29.99
<b>Obese</b>	<b><math>\geq 30.00</math></b>	<b><math>\geq 30.00</math></b>
Obese class I	30.00 - 34.99	30.00 - 32.49
		32.50 - 34.99
Obese class II	35.00 - 39.99	35.00 - 37.49
		37.50 - 39.99
Obese class III	$\geq 40.00$	$\geq 40.00$

**Tableau I-1: Les différents niveaux de corpulence en fonction de l'IMC**

Entre 1980 et 2013, l'incidence de l'obésité a augmenté de 27.5% chez les adultes et de 43.1% chez les enfants (Ng et al., 2014). On estime qu'en 2014 plus de 1,9 milliard d'adultes étaient en surpoids. Parmi ceux-ci, plus de 600 millions d'adultes étaient obèses. Dans l'ensemble, environ 13% de la population adulte mondiale (11% des hommes et 15% des femmes) étaient obèses en 2014 et 39% des adultes de 18 ans et plus (38% des hommes et 40% des femmes) étaient en surpoids (Figure I-1). L'obésité modifie la qualité de vie et peut même induire la mort des personnes atteintes. En 2010, les décès dus à l'obésité ont été estimés à 3.4 millions (Lim et al., 2012). Cette prévalence se traduit par un coût global de santé équivalent à 2,8% du produit intérieur brut mondial, soit environ 2 billions de dollars (McKinsey Global Institute, 2014).



**Figure I-1: Prévalence de l'obésité (IMC≥30) chez la femme (carte du haut) et l'homme (carte du bas) en 2014 (Mendis et al., 2015).**

De nos jours, l'obésité concerne à la fois les pays développés et les pays en cours de développement. La distribution du taux d'obésité entre les sexes (♂ et ♀) change selon le niveau de développement des pays. Dans les pays développés, il y a plus d'hommes obèses

que de femmes obèses, alors que la situation s'inverse dans les pays non développés (Figure1). D'autre part, la prévalence de l'obésité est plus élevée dans les pays développés que dans les pays en cours de développement (Ng et al., 2014).

D'ici 2030, les estimations prévoient que 51% de la population sera obèse et que 57,8% de la population adulte mondiale (3,3 milliards de personnes) auront un IMC de 25 kg/m<sup>2</sup> ou plus (Finkelstein et al., 2012; Kelly et al., 2008).

Le dépôt excessif de graisse dans l'obésité est largement considéré comme le résultat d'un déséquilibre entre l'apport et les dépenses énergétiques. Cependant, en réalité, l'étiologie de l'obésité est plus complexe et possède une étiologie multifactorielle (Sellayah et al., 2014).

Le poids corporel est déterminé par l'interaction complexe entre des facteurs comportementaux, génétiques, environnementaux, physiologiques, psychosociaux et économiques (Bhupathiraju and Hu, 2016).

Le contrôle du poids et de la composition du corps tient compte de l'absorption d'énergie, de la dépense énergétique et des dépôts de graisse, qui sont interconnectés par les systèmes nerveux et endocrinien, où différents neuropeptides et hormones participent (Martinez, 2000). Plusieurs facteurs modifient ces processus de régulation, à savoir les facteurs environnementaux (e.g. le manque de sommeil), le niveau d'activité physique, le microbiote intestinal, les perturbateurs endocriniens (i.e. les produits chimiques qui interfèrent avec la régulation endocrinienne), la qualité globale de l'alimentation, les médicaments, les facteurs de reproduction et les effets intergénérationnels et épigénétiques (González-Muniesa et al., 2017; McAllister et al., 2009).

La faim et la satiété sont contrôlées par des interactions complexes entre le système nerveux, les nutriments, la détection mécanique, les rythmes circadiens et les hormones. L'hypothalamus et ses molécules de signalisation jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et la coordination du bilan énergétique et de l'homéostasie (Singh et al., 2017).

L'apport alimentaire déclenche des signaux gastro-intestinaux médiés par une distension mécanique ou des hormones paracrines et des signaux nutritifs qui modulent l'appétit *via* différents neurotransmetteurs, acides aminés et neuropeptides. Le système nerveux autonome et plusieurs hormones circulantes ont également été impliqués dans la réponse métabolique à l'apport alimentaire et au métabolisme nutritif, ce qui affecte l'appétit, la thermogénèse et le dépôt de graisse, ainsi que d'autres processus (Camilleri, 2015).

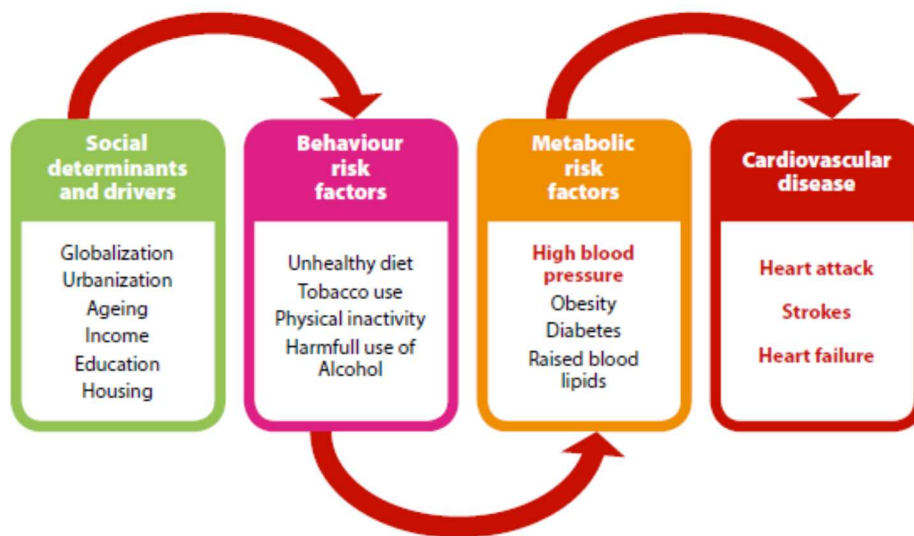
D'autres facteurs endogènes associés à l'obésité pourraient induire une perturbation du contrôle de l'appétit, des processus inflammatoires et des troubles du métabolisme lipidique (McAllister et al., 2009). Plusieurs marqueurs inflammatoires clés ont été régulièrement associés à la fois à l'obésité et au risque des maladies associées à l'obésité, ce qui suggère qu'une réponse inflammatoire persistante et de bas grade soit un facteur de risque potentiellement modifiable.

L'expansion du TA dans l'obésité est caractérisée par une infiltration croissante des cellules immunitaires pro-inflammatoires dans ce tissu provoquant une inflammation chronique de bas grade. Le changement phénotypique des macrophages est un mécanisme important de l'inflammation des TA. De plus, le système immunitaire adaptatif est particulièrement impliqué dans cette réponse inflammatoire. Les changements phénotypiques des lymphocytes T (LT) et leur recrutement précèdent l'infiltration des macrophages et la contrôle. Les cytokines et les chimiokines produites par les cellules immunitaires influencent l'inflammation localisée et systémique, participe à l'induction de la résistance à l'insuline (Nishimura et al., 2009; Sell et al., 2012). Une caractérisation approfondie des mécanismes induisant ces réponses inflammatoires chez les personnes en surpoids et obèses pourrait permettre le développement de stratégies d'intervention pour atténuer les maladies associées à l'obésité.

Par ailleurs, de nombreux travaux décrivent la perturbation du microbiote intestinal et des changements dans la perméabilité intestinale comme déclencheurs potentiels de l'inflammation (Cox et al., 2015). Par exemple, il a été constaté que le microbiote des personnes atteintes d'obésité est moins diversifié avec une proportion différente de *Firmicutes* et des *Bacteroidetes* (Ridaura et al., 2013). Il semblerait que cette dysbiose du microbiote favorise un état inflammatoire, altère le métabolisme de certains nutriments, influence l'absorption d'énergie et ainsi affecte le stockage et la dépense de cette énergie (González-Muniesa et al., 2017).

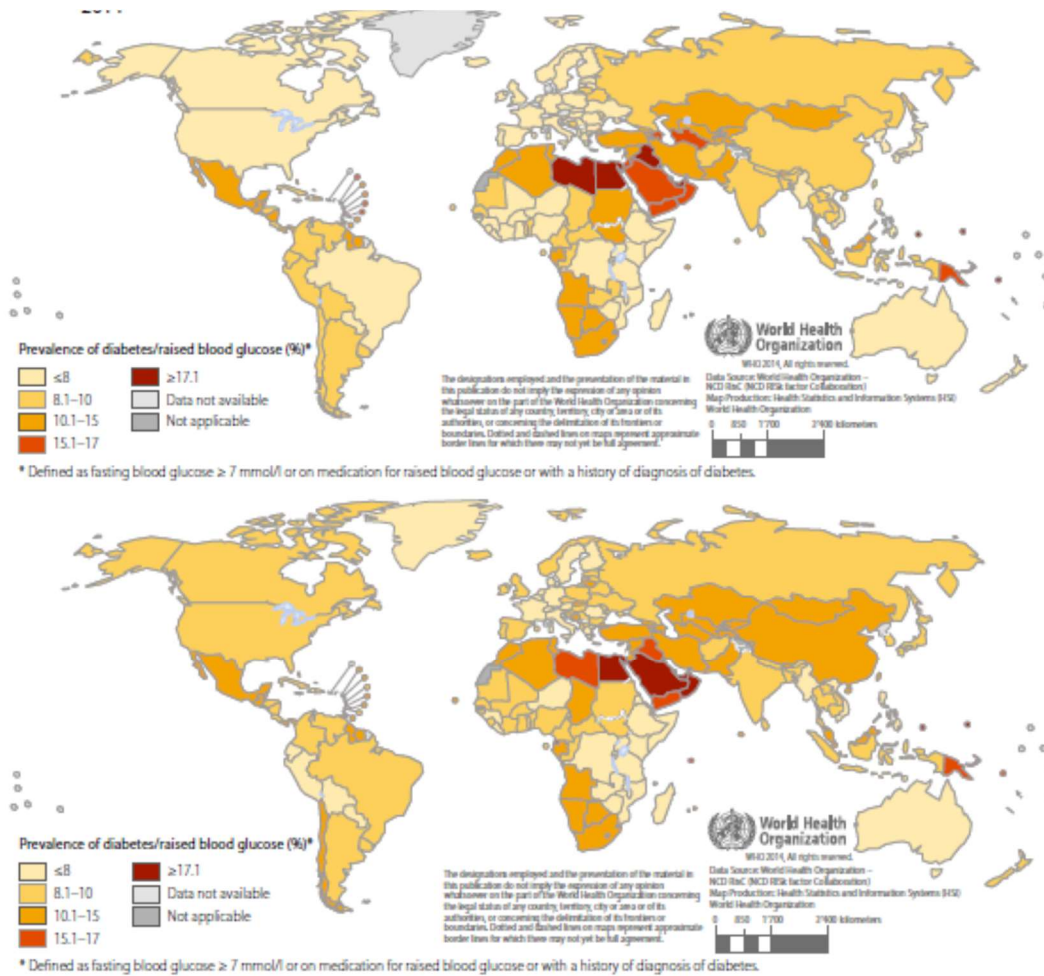


Les études de population ont clairement montré que les personnes atteintes d'obésité risquent de développer de nombreuses complications pathologiques contribuant à des morts prématurées (**Figure I-2**) (Cornier et al., 2011). Ces complications sont principalement une augmentation du risque de développer des syndromes métaboliques (i.e. hypertension et hypercholestérolémie), des troubles endocriniens (Figure I-3), des problèmes respiratoires (e.g. asthme, apnée du sommeil), des maladies cardiovasculaires (e.g. athérosclérose et crise cardiaque), des maladies rénales, les maladies neurodégénératives et des cancers (e.g. cancers de l'endomètre, du foie et des reins) (Després and Lemieux, 2006; Mazon et al., 2017; Park et al., 2014, 2014, Renehan et al., 2010, 2010; Whaley-Connell and Sowers, 2017). De plus, l'obésité peut induire des troubles psychologiques, d'humeur et de fonction cognitive (Jauch-Chara and Oltmanns, 2014).



**Figure I-2: Les facteurs de risque et complications de l'obésité (Mendis et al., 2015).**

Plusieurs travaux ont établi un lien entre l'obésité et le diabète de type 2 (T2D). Ainsi, une étude multicentrique aux Etats Unis a trouvé que 90% des américains qui développent un T2D ont un IMC supérieur ou égal à 23 Kg/m<sup>2</sup> (Allison et al., 1999). De plus, le risque de développer un T2D est plus important chez les personnes à corpulence anormale tôt dans la vie (Stevens et al., 2001; Wannamethee and Shaper, 1999). La « diabésité » est le terme proposé pour parler de cette corrélation étroite (Allison et al., 1999).



**Figure I-3: Prévalence du diabète de type 2 chez les personnes adultes selon le sexe, femmes (carte du haut) et hommes (carte du bas) (Mendis et al., 2015).**

Étant donné que la prévalence de l'obésité et des maladies associées continue de croître et que les préoccupations liées aux coûts économiques et sociaux augmentent également, des stratégies de gestion innovantes, au-delà de la prévention primaire et des interventions traditionnelles sur le mode de vie, sont requises. La base immunitaire de la maladie est une avenue pour une exploration plus poussée dans ce contexte.

# I. Le tissu adipeux :

Le TA est de loin, le premier tissu concerné par les études cliniques et fondamentales en relation avec la « diabésité ». De plus, avec le développement mondial de l'obésité, l'étude du TA est devenue une nécessité et pour lever le voile sur plusieurs nouveaux aspects de la physiologie et du rôle de cet organe.

## A. Les différents types de tissus adipeux :

On compte aujourd'hui 2 groupes majeurs de tissus adipeux, le tissu adipeux blanc (WAT) et le tissu adipeux brun (BAT) (Sanchez-Gurmaches et al., 2016).

Le WAT est beaucoup plus abondant que le BAT. Les adipocytes de ce tissu contiennent une seule grande gouttelette lipidique et assurent le stockage de lipide. Lors de l'obésité ce stockage permet de protéger les autres organes (e.g. le foie et le muscle) de la lipotoxicité. Le WAT viscéral et le WAT sous-cutané se distinguent l'un de l'autre par leur effet opposé sur le développement de l'insulino-résistance. Les causes de ces propriétés métaboliques différentes ne sont pas encore connues. Le WAT sous-cutané a des propriétés anti-inflammatoires contrairement au WAT viscéral qui possède des propriétés pro-inflammatoires (Meisinger et al., 2006; Pischon et al., 2008). Le WAT est capable de réguler l'homéostasie énergétique à travers la sécrétion de facteurs appelés « adipokines » tels que les adiponectines et la leptine (Deng and Scherer, 2010; Trayhurn and Wood, 2004a). Par ailleurs, l'expansion du WAT peut se faire selon deux mécanismes distincts, « L'hypertrophie » et « l'hyperplasie » (Wang et al., 2013). Chez la souris ♂, le WAT épидидymal représentatif du WAT viscéral est le plus étudié.

Récemment décrit, le BAT se distingue du WAT par l'abondance en mitochondries et en gouttelettes lipidiques dans les adipocytes (d'où sa couleur). Les mitochondries de ces adipocytes sont tapissées, au niveau de leur membrane interne, d'une protéine appelée UCP-1, responsable de la thermogenèse (un processus par lequel l'UCP-1 détourne la chaîne respiratoire mitochondriale vers la production de chaleur au lieu d'énergie sous forme d'ATP) (Cannon and Nedergaard, 2004).

En plus du WAT et du BAT, le TA « beige » est considéré comme un nouveau type de TA (Sanchez-Gurmaches et al., 2016). Les adipocytes qui le forment sont morphologiquement similaires à des adipocytes du WAT et sont capables de produire de la chaleur grâce à l'expression d'UCP-1 (Cousin et al., 1992; Young et al., 1984). Comparés aux adipocytes du BAT, les adipocytes du TA « beige » ont des précurseurs cellulaires différents (Wu et al., 2012a).

## B. Fonctions du tissu adipeux blanc :

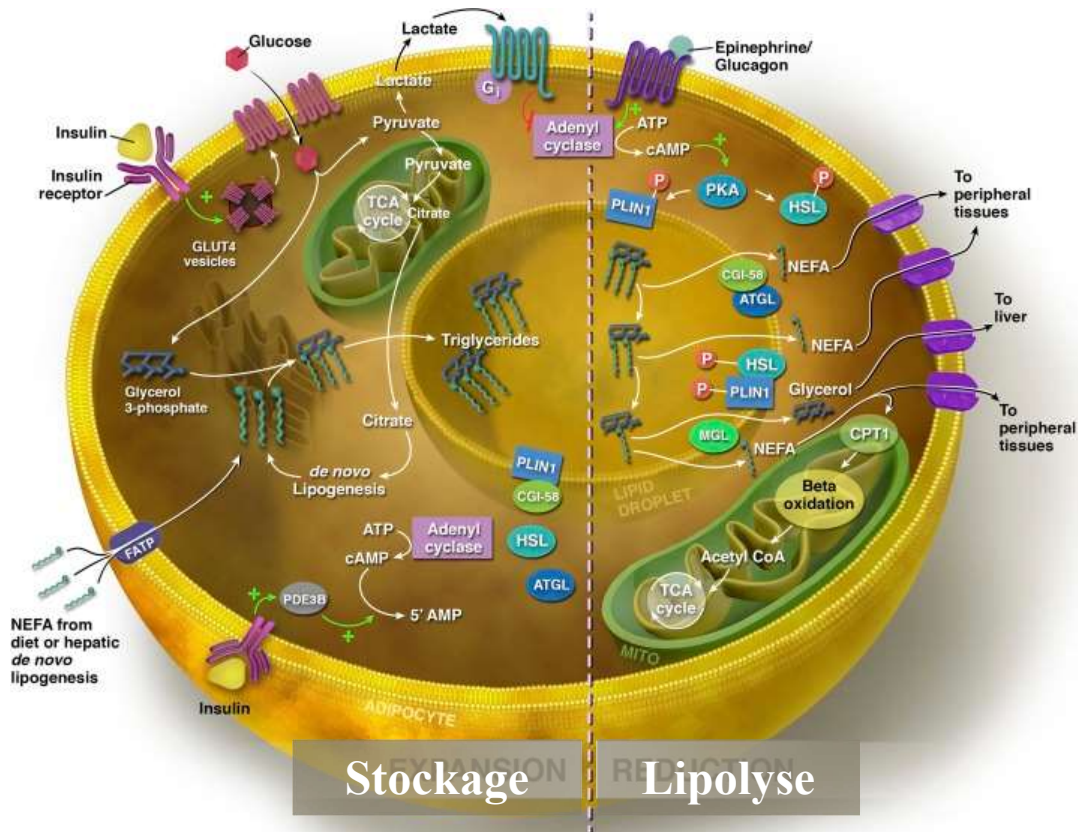
En plus de son rôle d'isolant thermique et mécanique et de stockage énergétique, le TA contrôle étroitement l'homéostasie glycémique et lipidique à travers un réseau de signalisation *in-situ* et à distance assez complexe. Il est considéré, ainsi, comme la plus grande glande endocrine du corps humain.

### 1. Stockage énergétique et la lipolyse :

Le TA stocke le surplus des substrats énergétiques (e.g. acides gras et glucose) sous forme de triglycéride (TG) (Figure I-1). Au niveau de la circulation sanguine, les acides gras (AG) sont sous différentes formes. Ils peuvent être libres (FFA, i.e. *Free Fatty Acid*) ou complexés sous forme de TG à d'autres protéines pour former des chylomicrons ou des lipoprotéines de faible/très faible/haute densité lipidique. Ces complexes assurent l'acheminement des AG vers le TA où se produit des réactions en chaîne d'hydrolyse (pour les TG circulants) en FFA puis d'estérification en TG qui forme les gouttelettes lipidiques des adipocytes (Goldberg, 1996; Tacke et al., 2000).

**Lipogenèse :** Le glucose est une source potentielle d'AG stockés au niveau du TA. La néosynthèse d'AG s'effectue majoritairement au niveau du foie chez l'homme. Chez les rongeurs (e.g. la souris) la néosynthèse d'AG s'effectue à la fois au niveau du foie et du TA. Cette néosynthèse d'AG commence par la glycolyse qui permet la production du pyruvate. Celui-ci est catalysée par la PDH (pyruvate déshydrogénase), l'ACC (acétyl-CoA carboxylase) et la FAS (FFA synthase) pour former des AG à chaîne saturée, qui seront ensuite estérifiés et stockés sous forme de TG au niveau des gouttelettes lipidiques (Figure I-1) (Collins et al., 2011).

**Lipolyse** : En cas de carence en substrats énergétiques, le TA assure la libération des FFA pour assurer l'apport énergétique à l'organisme. Les TG sont hydrolysés en trois chaînes de FFA, en plus de la molécule de glycérol. Plusieurs enzymes (i.e. lipases) sont séquentiellement impliquées dans ce processus (Lafontan and Langin, 2009). La libération des chaînes de FFA se fait en trois étapes. Une première étape fait appel à l'ATGL (*Adipose Tri-Glyceride Lipase*) qui permet de libérer un FFA en plus d'un di-acyl-glycérol (DAG) (Haemmerle et al., 2006). Le DAG sera hydrolysé par la HSL (Hormone Sensitive Lipase) pour libérer le deuxième FFA et un mono-glycéride qui sera hydrolysé par la suite par une lipase spécifique (la lipase des mono-glycérides) pour libérer le troisième FFA et le glycérol (Figure I-1) (Miyoshi et al., 2006; Zechner et al., 2009).



**Figure I-1: Régulation du stockage/utilisation des lipides au niveau des adipocytes. Selon (Rutkowski et al., 2015)**

Au cours de l'obésité, le niveau d'expression de l'ATGL et de la HSL est diminué au niveau des adipocytes (Figure I-1) (Large et al., 1999; Zechner et al., 2009). Ainsi, l'activité lipolytique du TA baisse considérablement chez les personnes obèses.

Le stockage des FFA, la néo-synthèse d'AG et la lipolyse sont des mécanismes régulés par des signaux neuronaux et hormonaux. Les catécholamines (à travers leur récepteurs  $\beta$ -adrénergiques) et l'insuline activent et inhibent la lipolyse au niveau des adipocytes (Lafontan et al., 2008).

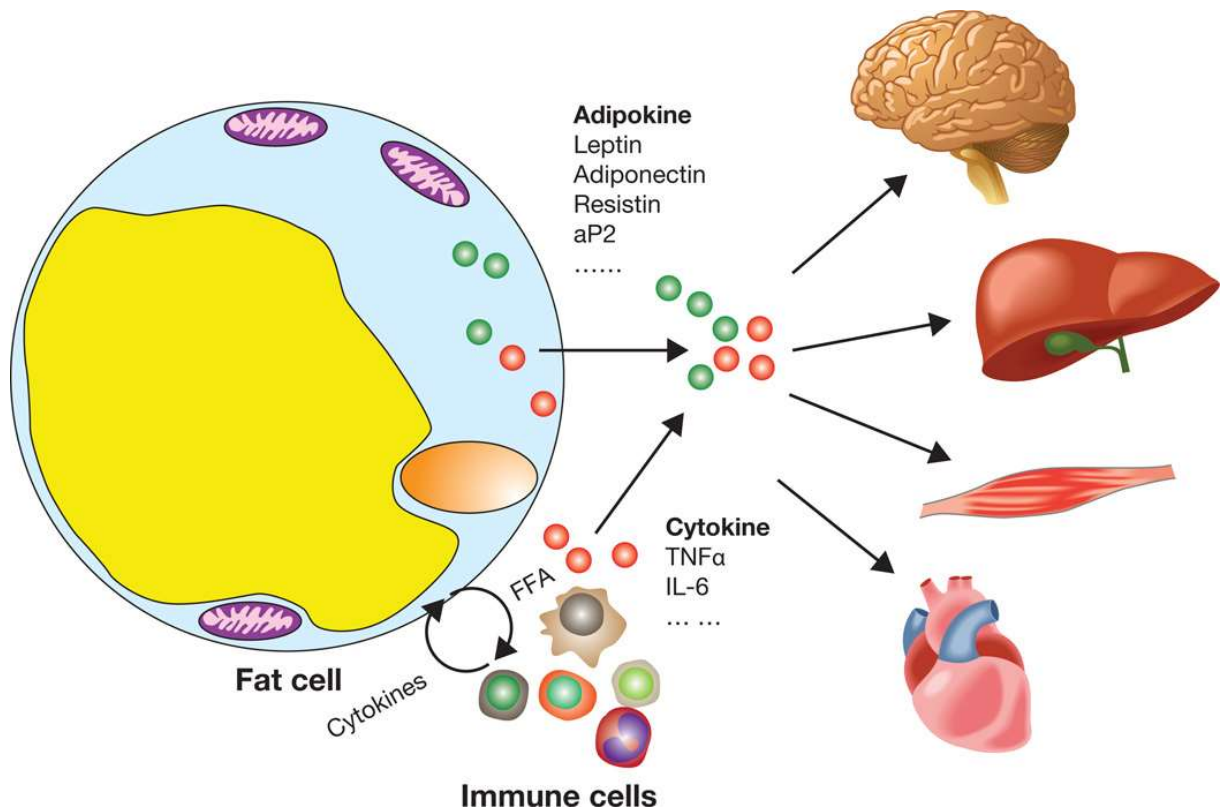
## 2. Fonction endocrine, les adipokines :

Le TA dans son ensemble (i.e. adipocytes et SVF) est un organe sécrétoire à part entière. Il produit de nombreuses protéines et lipides ayant un rôle humoral, métabolique et immuno-modulateur (e.g. TNF $\alpha$ ).

### a) Les hormones :

**La leptine** est une hormone capable de communiquer avec le système nerveux central pour induire la satiété (Figure I-2). Elle agit au niveau de l'hypothalamus et régule la prise alimentaire en activant la voie anorexigène qui coupe la faim et inhibant la voie orexigène qui stimule l'appétit. Son rôle dans la régulation de l'obésité a été découvert chez des souris portant des mutations sur le gène « ob » (Friedman and Halaas, 1998; Morton et al., 2006). Les souris portant la/les mutations en homozygote sur ce gène développent une obésité spontanée. Au niveau du TA, la leptine stimule la lipolyse et peut contribuer à l'inflammation en induisant la production de cytokines inflammatoires (i.e. l'IL-2 et l'IFN $\gamma$ ) (La Cava and Matarese, 2004; Zeng et al., 2015). Sur le foie, la leptine inhibe la lipogénèse en inhibant certains enzymes clés, alors qu'au niveau du muscle, la leptine stimule l'oxydation des AG (Cao, 2014).

L'inflammation du TA induit une augmentation de la production de cette hormone, notamment à travers le TNF $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$  et des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) comme les lipopolysaccharides (LPS) (Grunfeld et al., 1996). De plus en plus de travaux montrent l'effet de la leptine sur le système immunitaire. Entre autres, cette hormone est capable de favoriser le développement des LT à profil TH1 inflammatoire et d'inhiber celui des LT régulateurs (LTreg), ce qui fait de la leptine une molécule liant le métabolisme et la réponse immunitaire (Matarese et al., 2010).



**Figure I-2 : Les adipokines et cytokines produites par le tissu adipeux (Cao, 2014).**

En plus de la leptine, l'**adiponectine** est la deuxième plus importante hormone du TA (Figure I-2). Chez l'adulte le taux d'adiponectine est mille fois plus élevé que celui de la leptine (Whitehead et al., 2006). L'AdipoR1 et l'AdipoR2 sont les deux récepteurs fonctionnels connus de l'adiponectine. Le premier est fortement exprimé dans le muscle squelettique et y agit *via* la voie AMP-kinase, alors que l'AdipoR2 est exprimé, fortement, dans le foie. L'AdipoR2 permet l'induction de l'oxydation des AG et la captation du glucose, et l'inhibition de la néoglucogenèse (Yamauchi et al., 2003, 2007). De plus, l'adiponectine a un effet anti-inflammatoire. Elle diminue le stress oxydatif et l'inflammation et améliore la sensibilité à l'insuline (Figure I-3). L'obésité est liée à une diminution de la production d'adiponectine (Yoon et al., 2006) et son niveau sérique est corrélé négativement à l'IMC et au taux sérique du TNF $\alpha$  (Kern et al., 2003).

## b) Les cytokines et chimiokines :

**Le TNF $\alpha$** , produit majoritairement par les cellules immunitaires, principalement les macrophages (et monocytes). Ce facteur de nécrose tumoral est impliqué dans plusieurs mécanismes inflammatoires (Chu, 2013).

En 2004 puis en 2006, Fain et al publient des travaux montrant que la majorité de la production du TNF $\alpha$  au niveau TA provenait des macrophages, qui selon l'état inflammatoire modulent leur production de cette cytokine pro-inflammatoire (Figure I-2) (Fain, 2006; Fain et al., 2004).

En 1993 Spiegelman et Hotamisligil publient de nombreux travaux qui démontrent l'implication du TNF $\alpha$  dans le développement du T2D. En effet, des observations faites sur le TA de souris obèses de type db/db (souris dont le récepteur à la leptine est invalidé) montre une augmentation importante du taux de TNF $\alpha$  tissulaire (Hotamisligil et al., 1993). Ce TNF $\alpha$  a des effets néfastes sur le rôle métabolique du TA. Le TNF $\alpha$  induit l'augmentation de la phosphorylation « inhibitrice » du récepteur à l'insuline IRS1 (Insulin Receptor Substrate 1), la phosphorylation « activatrice » de HSL, l'augmentation de la production intra-cellulaire d'AMPc (important pour le processus de lipolyse) et la diminution de l'expression du récepteur au glucose GLUT-4, et donc participe au développement de l'insulino-résistance. D'autre part, le rôle pathogène du TNF $\alpha$  passe aussi par une libération des FFA toxiques qui participent à l'inflammation tissulaire (Figure I-4) (Grunfeld and Feingold, 1991; Hotamisligil et al., 1996; Moller, 2000; Zhang et al., 2002).

La production du TNF $\alpha$  est induite principalement par des agents infectieux, qui produisent des PAMPs comme le LPS qui stimule les macrophages/monocytes via le TLR4. Dans des souris mutantes (mutation au niveau du TLR4) ou par des expériences de transferts adoptifs de cellules hématopoïétiques invalidées pour le TLR4, on retrouve une réduction significative de l'infiltrat macrophagique au niveau du TA des souris obèses (et contrôles) ainsi qu'une baisse générale de l'inflammation tissulaire (Coenen et al., 2009; Davis et al., 2008; Saberi et al., 2009). Lors des périodes de jeûne, les FFA libérés peuvent aussi servir de ligand pour le TLR4 et induire l'inflammation tissulaire à l'origine de l'accumulation des macrophages (Shi et al., 2006a).



En plus du TNF $\alpha$ , l'**IL-6** est la cytokine la plus étudiée dans l'obésité et le T2D. Un tiers de la production d'IL-6 retrouvée dans le plasma est attribuée aux WAT (Figure I-2) (Mohamed-Ali et al., 1997). Le stress oxydatif dû à l'hyperglycémie est responsable de l'augmentation de production de l'IL-6 (Deng et al., 2016). D'autre part, la concentration sérique de cette cytokine, comme celle du TNF $\alpha$ , est corrélée au niveau d'obésité et à l'insulino-résistance (Cottam et al., 2004). En effet, l'IL-6 peut également inhiber la phosphorylation du récepteur à l'insuline et de l'IRS (Rotter et al., 2003). Cependant, d'autres travaux relativisent l'effet de l'IL-6 dans le développement de l'insulino-résistance et du T2D. L'IL-6 peut être produits par les muscles squelettiques. L'effort physique augmente la production d'IL-6 mais améliore en même temps la sensibilité à l'insuline (Febbraio and Pedersen, 2002). Au niveau du muscle, contrairement à ses effets au niveau du WAT, l'IL-6 augmente la prise de glucose par les myocytes et stimule l'oxydation des AG (Carey et al., 2006; Glund et al., 2007).

Le TA est capable de produire des molécules chimio-attractantes, appelées **chimiokines**, responsables du recrutement sélectif de différentes cellules immunitaires (Griffith et al., 2014). Parmi ces chimiokines, le CCL2 ou MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1) est produit en grande quantité par les adipocytes. Il permet un recrutement de monocytes à l'origine des macrophages du TA, et participe ainsi à l'inflammation au cours de l'obésité (Meijer et al., 2011). La production/sécrétion de cette chimiokine, comme d'autres chimiokines produites par les adipocytes (i.e. CCL3, CCL5, CCL20, CXCL1, CXCL5, CXCL14 et CX3CL1), est induite dans les conditions d'inflammation. *In vitro*, le TNF $\alpha$  stimule les adipocytes 3T3-L1 à produire ces chimiokines qui induisent le recrutement de cellules immunitaires au sein du TA et ainsi maintiennent l'inflammation responsable des effets métaboliques délétères (Tourniaire et al., 2013).

### 3. Le remodelage du TA, l'« hypertrophie » et l'« hyperplasie » :

Le *turnover* des adipocytes est un paramètre très étudié dans l'obésité et le T2D. La demi-vie des adipocytes, estimée grâce à l'incorporation du  $^{14}\text{C}$ , s'élève à 8,3 années (Spalding et al., 2008). La taille du TA est déterminée par le nombre des cellules adipeuses et leur taille. Des

études montrent que le nombre d'adipocytes augmentent avec l'âge et est fixé à l'âge adulte pour correspondre à un nombre approximatif de moins de 30 billions cellules adipeuses chez l'Homme (Knittle et al., 1979; Prins and O'rahilly, 1997).

Le *turnover* des adipocytes est estimé/fixé à 10% chez l'adulte. Un apport alimentaire important et une faible activité physique conduisent à une accumulation des TG et à un déséquilibre du *turnover* adipocytaire. On parle donc de dyslipidémie.

Par ailleurs, l'adipocyte mature est une cellule incapable de proliférer. Lors de la dyslipidémie, les adipocytes se gorgent de TG jusqu'à atteindre une taille maximale. On parle d'« hypertrophie ». Les adipocytes de grande taille secrètent, en plus de cytokines inflammatoires, des facteurs de croissance qui ont un effet chimio-tractant et proliférateur sur les pré-adipocytes (MacDougald and Mandrup, 2002; Marques et al., 1998). On parle d'« hyperplasie ». L'obésité chez l'enfant induit une augmentation du nombre d'adipocytes qui amplifient l'inflammation tissulaire et ainsi les complications de l'obésité.

#### 4. L'obésité, l'hypoxie et l'inflammation :

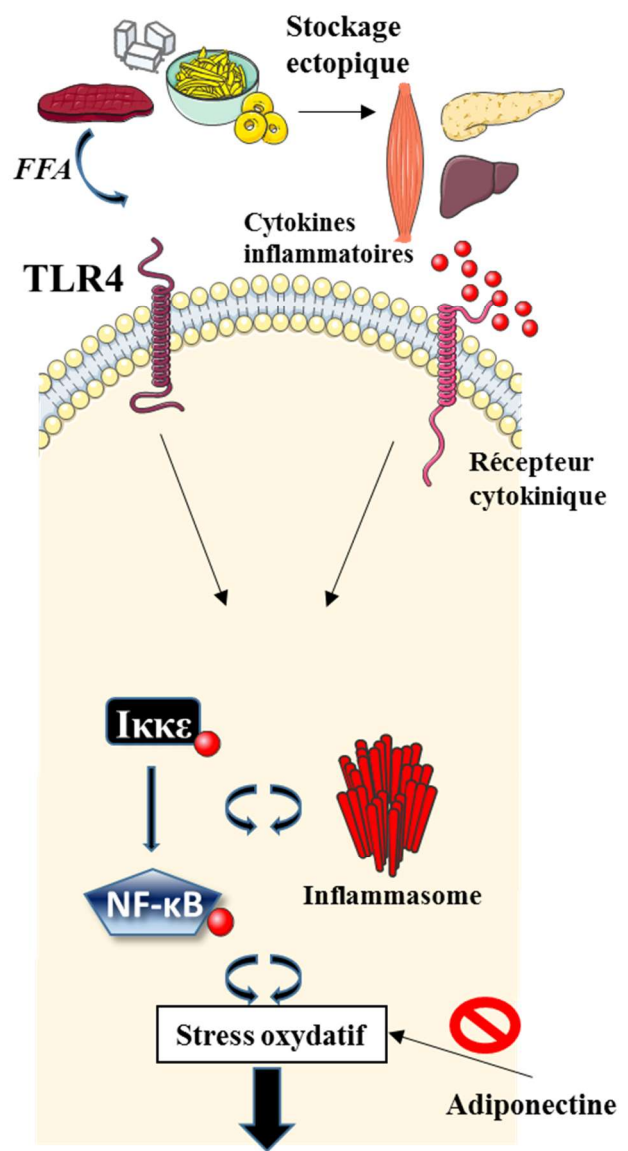
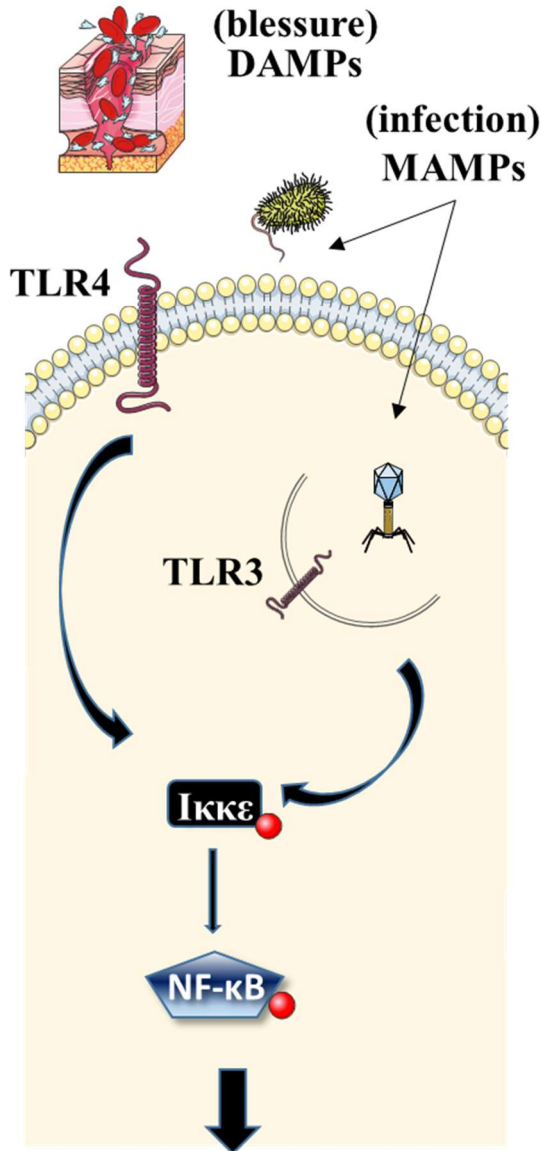
L'un des événements précoces dus à l'expansion du TA est le défaut d'oxygénation du tissu (Kabon et al., 2004; Trayhurn and Wood, 2004b; Virtanen et al., 2002). L'homéostasie de l'oxygène tissulaire est contrôlée par le facteur de transcription HIF-1, qui régule l'expression de plusieurs gènes dont la leptine et le VEGF (Brahimi-Horn and Pouyssegur, 2007; Brahimi-Horn et al., 2007; Hosogai et al., 2007). De plus, plusieurs travaux mettent en cause le rôle de l'hypoxie dans l'augmentation de l'expression d'adipokines inflammatoires tels que le MIF, MMP2, MMP9, IL-6, Angpt4, PAI-4, leptine et le VEGF (Chen et al., 2006; Hosogai et al., 2007; Lolmède et al., 2003; Ye et al., 2007). D'autre part, des investigations poussées pour déterminer le rôle de HIF-1 dans l'inflammation due à l'hypoxie tissulaire montre que les modifications post-transcriptionnelles (la sous-unité HIF-1 $\alpha$  est dégradée sous les conditions normales d'oxygénation tissulaire, ce qui inhibe l'activité transcriptionnelle du HIF-1) que subissent les sous-unités de ce facteur de transcription seraient en relation directe avec l'augmentation de la fibrogénèse du TA, un phénomène déclencheur de l'inflammation tissulaire lors de l'obésité (Halberg et al., 2009).

**Inflammation classique**

**Metainflammation**

**Inflammation chaude**

**Inflammation froide**



- Inflammation ↑
- Dépense d'énergie ↑
- Résistance à l'insuline
- Recrutement immunitaire

- Inflammation ↑
- Dépense d'énergie ↓
- Résistance à l'insuline
- Recrutement immunitaire

Figure I-3: Différence entre « inflammation chaude » et « inflammation froide » :

L'obésité est caractérisée par une inflammation de « bas-grade » chronique due au stress des voies de signalisation. Les ligands d'origine alimentaire (e.g. FFA) et les cytokines inflammatoires stimulent la voie de signalisation NF-κB et l'inflammasome pour induire une inflammation tissulaire à l'origine de l'insulino-résistance (d'après (Hotamisligil and Calay, 2013)).

## 5. L'inflammation du tissu adipeux :

L'inflammation chronique de bas grade, ou « metainflammation » est liée au développement du T2D (Figure I-3). Plusieurs facteurs interviennent dans la mise en place de cette inflammation, la lipo-toxicité, le stress du réticulum endoplasmique et le système immunitaire. Tous ces facteurs sont impliqués dans l'apparition du stress des voies de signalisation, l'élément déclencheur de l'insulino-résistance. A la différence de l'inflammation classique « chaude » due à des pathogènes ou des lésions, l'inflammation métabolique est dite « inflammation froide » (Hotamisligil and Calay, 2013).

### a) Le stress des voies de signalisation :

Plusieurs travaux ont montré qu'un apport nutritionnel excessif induisait un déséquilibre de la physiologie des adipocytes (Figure I-3). Ce déséquilibre se traduit par un **stress du réticulum endoplasmique** (RE) induit par plusieurs mécanismes et facteurs, dont en premier lieu les nutriments (i.e. FFA et glucose) (Hotamisligil, 2010). Le stress du RE induit un autre type de stress impliqué dans l'inflammation, le stress oxydatif (Malhotra and Kaufman, 2007). Ces deux types de stress, qui s'entretiennent en boucle, induisent l'insulino-résistance et de ses complications métaboliques. Ainsi, les adipocytes stressés ont une signalisation à l'insuline défectueuse, augmentent leur lipolyse et contribuent à l'inflammation du TA (Bogdanovic et al., 2015; Gual et al., 2005; Kawasaki et al., 2012; Malhotra and Kaufman, 2007).

**L'inflammasome** est un complexe protéique appartenant au système immunitaire inné. Il est abondant au niveau des cellules myéloïdes et assure, notamment, la maturation par clivage protéique de l'IL-1 $\beta$  et l'IL-18. L'inflammasome est activé en réponse aux signaux de danger (i.e. PAMPs « d'origine exogène » ou DAMPs « d'origine endogène ») (Figure I-3). Au cours de l'obésité, l'activité de l'inflammasome augmente considérablement. L'activation de la voie de signalisation NF- $\kappa$ B (*via* les TLR) par le LPS ou des FFA induit une production de pro-IL-1 $\beta$  et pro-IL-18. Ces deux pro-cytokines inflammatoires sont clivées par l'inflammasome, qui est activé par des voies impliquant entre autres les FFA (Davis et al., 2011). Par conséquent l'inflammasome contribue à l'inflammation du TA. Il est par ailleurs montré que l'inactivation de l'inflammasome (par suppression de l'un de ses composants, NLRP3, PYCARD, caspase-1,

ou l'ASC) réduit l'infiltrat macrophagique pro-inflammatoire et améliore l'état métabolique du TA (i.e. réduit l'insulino-résistance) (Stienstra et al., 2011; Strowig et al., 2012; Vandanmagsar et al., 2011).

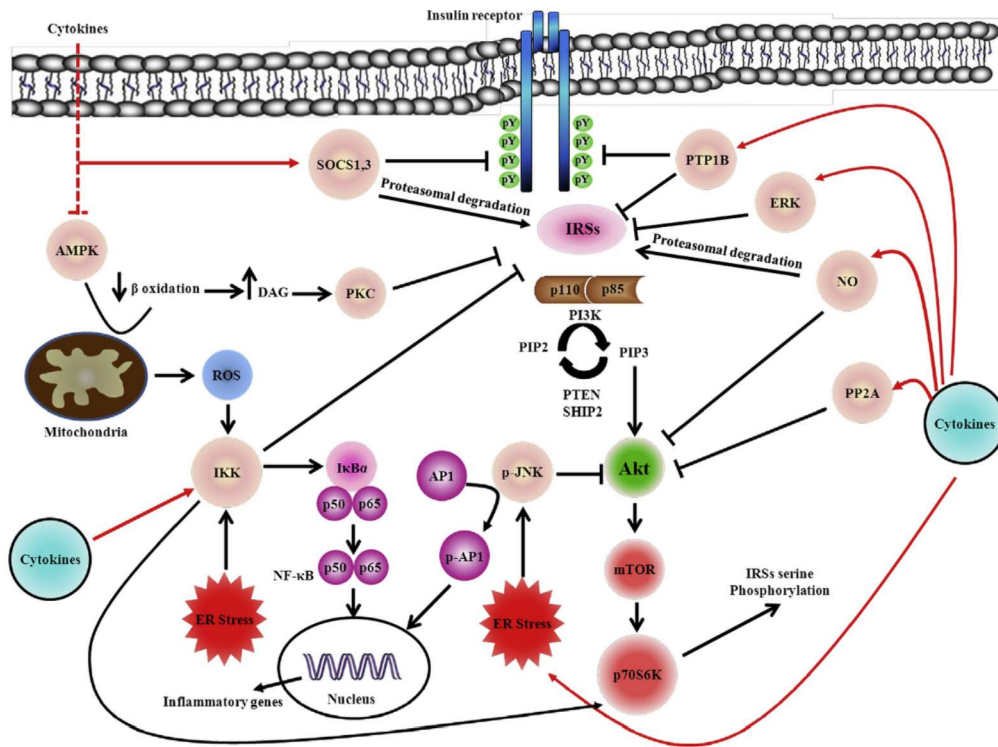
La voie de signalisation NF- $\kappa$ B (IKK–nuclear factor- $\kappa$ B) est impliquée dans le mécanisme qui lie l'obésité/inflammation à l'insulino-résistance/T2D (Baker et al., 2011). Des souris génétiquement modifiées (i.e. invalidation de l'IKK $\epsilon$ , une des molécules activatrices de la voie de signalisation NF- $\kappa$ B), ou traitées avec du amlexanox (un inhibiteur du NF- $\kappa$ B) ont une amélioration des paramètres métaboliques associés au T2D et à l'obésité. Il a été observé une diminution de l'inflammation du système immunitaire et une amélioration de la balance énergétique à travers l'activation d'UCP-1 (Chiang et al., 2009; Scheja et al., 2011). Les macrophages du TA étaient réduits en nombre et présentaient un profil anti-inflammatoire.

Les fonctions métaboliques du TA, dont le stockage des nutriments (notamment AG), sont régulées en grande partie par l'insuline. L'insuline favorise l'induction de l'adipogenèse, la lipogenèse et inhibe la lipolyse. Au cours de l'obésité, les effets conjoints des FFA (*via* le TLR4), des cytokines pro-inflammatoires et du stress du RE contribuent au développement de l'insulino-résistance.

#### b) L'insulino-résistance et la lipotoxicité :

Au niveau moléculaire, les cytokines pro-inflammatoires (e.g. TNF $\alpha$ , IL-6, IFN $\gamma$  et IL-1 $\beta$ ) interfèrent avec la voie de signalisation de l'insuline. Des protéines kinases telles que JNK1 et IKK $\beta$  (sérine/thréonine kinases), contrairement à l'IKK $\epsilon$ , inhibent l'activation d'IRS-1 (Insulin Receptor Substrat 1) (i.e. une molécule adaptatrice responsable de la transmission du signal de l'insuline) (McGillicuddy et al., 2009, 2011). L'interaction de l'insuline avec son récepteur conduit à la phosphorylation activatrice de l'IRS-1 au niveau de la tyrosine. Au cours de l'inflammation, les JNK1 et IKK $\beta$  induisent une phosphorylation au niveau de la sérine de l'IRS-1 qui inhibe l'induction du signal positif de l'insuline à travers l'adipocyte (Figure I-4) (Tanti and Jager, 2009).

La perte de l'effet de l'insuline sur les adipocytes (i.e. inhibition de la lipogénèse et augmentation de la lipolyse) conduit à une accumulation des FFA au niveau du TA et entretient, en retour, l'insulino-résistance de ce tissu. Par ailleurs, l'accumulation des AG dans la circulation conduit à des dépôts ectopiques au niveau d'autres organes, tels que le foie, le pancréas et le muscle où ils ont un effet lipotoxique inflammatoire (Attie and Scherer, 2009).



**Figure I-4: Mécanisme moléculaire de l'insulino-résistance au niveau des tissus insulino-sensibles (Khodabandehloo et al., 2016).**

### C. Les cellules immunitaires dans le TA : l'effet de l'obésité

Les adipocytes représentent 50-80% des cellules du TA. En plus de cette fraction, le TA contient une fraction appelée « fraction stroma-vasculaire » (SVF).

Ce SVF est composé de cellules stromales comprenant des cellules souches (à l'origine des progéniteurs adipocytaires ou des pré-adipocytes), des cellules endothéliales, des

fibroblastes, ainsi que des cellules immunitaires. Nous focalisons la suite de ce chapitre sur la description des cellules immunitaires du TA.

## 1. Les macrophages :

Les macrophages représentent une population cellulaire majoritaire dans l'infiltrat cellulaire du WAT. Lors de l'expansion de ce tissu, l'infiltrat tissulaire est d'autant plus enrichi en macrophages (Weisberg et al., 2003; Xu et al., 2003). Chez l'homme, les macrophages représentent 10% des cellules du SVF et ils sont plus abondants dans le TA des ♀ par rapport aux ♂ murins (Curat et al., 2004; Xu et al., 2003).

La fonction phagocytaire des macrophages dans le TA a été bien décrite. Les macrophages éliminent les gouttelettes lipidiques libérées par les adipocytes morts. Ces gouttelettes sont abondantes dans le cytosol des macrophages infiltrant le TA des patients obèses et les macrophages contenant des gouttelettes lipidiques sont considérés comme une marque d'inflammation. L'enrichissement des macrophages du TA en vésicules lipidiques est dû à l'augmentation de l'expression des transporteurs lipidique CD36 et MSR1 (Scavenger receptor A) à la surface cellulaire (Clément et al., 2004) (Cinti et al., 2005; Clément et al., 2004; Lumeng et al., 2007a).

Des modèles de souris transgéniques à lipoatrophie inductible ont montré que la mort des adipocytes est un moteur conducteur de l'infiltration des macrophages (Pajvani et al., 2005).

### a) Les macrophages au cours de l'inflammation tissulaire :

L'obésité est associée avec une augmentation de l'expression de chimiokines comme MCP-1, CXCL14, MIP-1 $\alpha$ , MCP-2, MCP-3 et RANTES (CCL15) (Kanda et al., 2006; Nara et al., 2007; Xu et al., 2003). Des travaux sur des souris transgéniques montrent que la signalisation MCP-1/CCR2 est la voie principale de recrutement des monocytes dans le TA. L'inactivation de cette voie de signalisation aboutie à une baisse du recrutement des monocytes dans le TA (Arkan et al., 2005; Kanda et al., 2006; Weisberg et al., 2006). En plus de MCP-1/CCR2, le couple CXCL14/

CXCR2 a été décrit comme ayant un rôle potentiel dans le recrutement des macrophages dans le TA (Chavey et al., 2009; Nara et al., 2007; Neels et al., 2009).

Chez les souris maigres les macrophages sont de petite taille et dispersés dans le TA. Lors de l'expansion du TA dans plusieurs modèles animaux (obésité induite par un régime riche en gras, modèle des souris ob/ob et db/db) les macrophages commencent à s'agréger en « couronne » autour des adipocytes et expriment des marqueurs d'inflammation (Weisberg et al., 2003). L'accumulation des macrophages lors de l'expansion du TA précède la dérégulation des paramètres métaboliques et est corrélée à la taille des adipocytes avec une accumulation plus importante dans le TA viscéral par rapport au TA sous-cutané bien que les adipocytes de ce dernier sont de plus grande taille (Canello et al., 2006). Ce rassemblement en agrégat des macrophages est retrouvé dans d'autres maladies inflammatoires comme l'arthrite rhumatoïde ou lors de la clearance des *dead-bodies* (Athanasou and Quinn, 1990; Prieditis and Adamson, 1996; Toyosaki-Maeda et al., 2001). Ainsi, ces observations ont permis d'émettre l'hypothèse du rôle pathologique que joueraient les macrophages dans le développement du T2D. Cette hypothèse est renforcée par les travaux de l'équipe de K. Clément qui montrent que l'état inflammatoire et le recrutement des macrophages dans le TA des patients obèses sont réversibles après une réduction du poids (Canello et al., 2005; Clément et al., 2004). Par la suite, les travaux se sont focalisés sur les mécanismes impliqués dans l'infiltration des macrophages dans le TA. D'autre part, l'inactivation spécifique du NFκB (molécule impliquée dans de nombreuses voies de signalisation liées à l'inflammation) au niveau des cellules myéloïdes permet de réduire l'inflammation tissulaire et ainsi une protection contre l'insulino-résistance (Arkan et al., 2005; Kanda et al., 2006; Weisberg et al., 2006).

#### b) Phénotype M1/M2 des macrophages :

Après la migration des macrophages dans le TA et dans un environnement inflammatoire, cette population immunitaire subit des modifications phénotypiques et fonctionnelles. Ainsi, lors de l'obésité les macrophages du TA développent un phénotype pro-inflammatoire et contribuent à l'insulino-résistance (Figure I-6). On parle de phénotype M1, à l'inverse d'un phénotype M2 anti-inflammatoire retrouvé dans le tissu dans son état physiologique. Les



macrophages M1 produisent des cytokines TH1 comme IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  (pour lequel les macrophages sont la source première), IL-6 (les macrophages contribuent à hauteur de 50% de l'IL-6 total) et le facteur iNOS alors que les macrophages M2 produisent des cytokines de type TH2 comme l'IL-10 et l'Arginase 1 (Lumeng et al., 2007b; Weisberg et al., 2003). Une déplétion des macrophages de type M1 sur la base de leur expression de CD11c (conventionnellement considéré comme un marqueur des macrophages pro-inflammatoires) conduit à une amélioration des paramètres métaboliques avec la réduction de l'insulino-résistance (Patsouris et al., 2008).

En période de jeûne, la lipolyse des TG permet de libérer les FFA qui sont une source d'énergie pour plusieurs organes. Par contre, ces FFA libérés peuvent servir de ligand pour le TLR4 et induire une inflammation tissulaire à l'origine de l'accumulation des macrophages (Shi et al., 2006a).

Plus récemment, le rôle des FFA dans le recrutement des macrophages a été analysé lors de restriction calorique suivie de perte de poids. Il est intéressant de noter que malgré l'amélioration des paramètres métaboliques, certains facteurs liés à l'inflammation comme le TNF $\alpha$  tissulaire ou le PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor-1) circulant continuent à augmenter. Au niveau cellulaire, la première étape de perte de poids connaît un rebond de l'infiltration des macrophages dans le TA et la corrélation entre le nombre de macrophages et le poids du tissu s'inverse. Les analyses des FFA ont montré une forte corrélation entre l'activité lipolytique du TA lors des premières étapes de la restriction calorique et l'infiltrat macrophagique. Ainsi, la balance énergétique négative active le système enzymatique de lipolyse codé par le gène *Atgl/Pnpla2* pour libérer les FFA nécessaires pour un apport énergétique alternatif et ainsi, induire le recrutement supplémentaire des macrophages dans le TA (Clément et al., 2004; Zechner et al., 2009). Les macrophages dans leur rôle de modulation du TA assurent un nettoyage de la matrice extra-cellulaire de l'excédent des FFA. Ainsi, les FFA constituent un intermédiaire entre la balance nutritionnelle, le métabolisme et l'immunité. Le lien entre le métabolisme et l'immunité a été exploré à travers l'étude du récepteur PPAR $\gamma$  exprimé par les macrophages du TA et important pour leur maturation vers un phénotype anti-inflammatoire M2. Les macrophages déficientes en PPAR $\gamma$  cultivés avec des adipocytes internalisent mieux le glucose en présence de l'insuline (Odegaard et al., 2007). D'autre part, les macrophages stimulés par PPAR $\gamma$  expriment moins de CCR2 et produisent

moins de MCP-1 (*Monocyte Chemotactic Protein 1*, CCL2) ce qui résulte en une diminution de l'infiltration des macrophages au niveau du TA (Chen et al., 2005; Guri et al., 2008).

## 2. Les lymphocytes T :

Le WAT est enrichi en deux grandes populations lymphocytaires. Les LT, qui sont reconnus grâce au marquage CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>, et les LB reconnus grâce au marquage CD45<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>. Les LT comprennent deux sous populations, les LTαβ qui expriment un TCRαβ et les LTγδ qui expriment un TCRγδ. On retrouve aussi d'autres populations lymphocytaires, telles que les cellules NK (*natural killer*) et les ILC (*innate lymphoid cells*) majoritairement ILC2 (Figure I-6).

### a) Les lymphocytes Tαβ conventionnels:

Entre 2007 et 2009, plusieurs travaux ont été réalisés pour analyser l'effet de l'obésité sur le devenir et le rôle des LTαβ au niveau du TA. Il a été décrit que l'infiltration des LTαβ était un évènement précédent celui des macrophages (longtemps décrits comme la première cause de l'inflammation tissulaire) et que c'était un élément déterminant pour l'infiltration du TA (Kintscher et al., 2008; Rausch et al., 2008; Wu et al., 2007).

**LTαβ-CD8, le « TH1 » :** Les lymphocytes LTαβ-CD8 à fonction cytotoxique sont capables de tuer des cellules infectées et/ou stressées (e.g. cancéreuses...). En plus de leur fonction cytotoxique, les LT-CD8 (majoritairement T-bet<sup>+</sup>) produisent de l'IFNγ et du TNFα (i.e. cytokines de type TH1) et participent à l'inflammation de bas grade du TA (Zhang and Bevan, 2011).

Grâce à la combinaison de plusieurs modèles expérimentaux, Nishimura et al démontrent le rôle fondamental des LTαβ cytotoxiques (i.e. LTαβ-CD8) dans le recrutement et l'activation des macrophages et ainsi le développement d'inslino-résistance. Aussi, Nishimura et al montrent que l'infiltration des LTαβ-CD8 au niveau du TA précède celle des macrophages, de type M1, lors du développement de l'obésité. L'absence de LTαβ-CD8, réduit l'infiltration des macrophages de type M1, alors qu'un transfert adoptif des LTαβ-CD8 normalise cette infiltration. De plus, une co-culture entre des LTαβ-CD8 du TA et des monocytes issus de la

circulation conduit à une différenciation de ces monocytes vers des macrophages M1 (Nishimura et al., 2009). Par ailleurs, l'obésité conduit à une accumulation de  $LT\alpha\beta$ -IFN $\gamma$ <sup>+</sup>, inflammatoires, au niveau du TA au dépend des  $LT\alpha\beta$ -TH2 et des LT régulateurs, anti-inflammatoires (Rocha et al., 2008).

Ces données indiquent que les  $LT\alpha\beta$ -CD8 jouent un rôle important dans l'initiation et la maintenance de l'inflammation du TA au cours de l'obésité.

**$LT\alpha\beta$ -CD4, le « TH 1/ 2/ 17 » :** Les  $LT\alpha\beta$ -CD4, appeler aussi  $LT\alpha\beta$  « auxiliaires », sont un élément central de la réponse immunitaire adaptative. On distingue plusieurs sous-populations de  $LT\alpha\beta$ -CD4 dont la polarisation est dictée par la stimulation antigénique et le micro-environnement cytokinique (Zhu and Paul, 2008) :

- **TH1 :** En présence d'IL-12 et d'IFN $\gamma$ , les  $LT\alpha\beta$ -CD4 peuvent produire de l'IL-2, IFN $\gamma$  et de la lymphotoxine- $\alpha$  ( $LT\alpha$ ) contre des pathogènes intra-cellulaires. Les facteurs de transcription qui régulent cette polarisation sont T-bet et STAT-4 (Figure I-5).
- **TH2 :** Ces cellules sont principalement impliquées dans la défense contre les parasites et peuvent produire un éventail de cytokines (e.g. IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 et IL-25) qui participent à des réponses immunitaires différentes. L'IL-4 est important pour l'induction de la production des IgE. L'IL-5, assure principalement le recrutement des éosinophiles. L'IL-9, induit, entre autres, la production de mucine au cours de l'allergie. L'IL-10 régule la prolifération cellulaire et la fonction des cellules dendritiques. L'IL-13 est la cytokine effectrice de la réponse anti-parasitaire (e.g. helminthe). Alors que l'IL-25, produit aussi par les cellules épithéliales, induit la production d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13 (Figure I-5).

En 2009, plusieurs équipes ont décrit une dérégulation de la balance TH1 (pro-inflammatoire) et TH2 (anti-inflammatoire) au sein des  $LT\alpha\beta$  du TA au cours de l'obésité. Le transfert adoptif de  $LT\alpha\beta$ -CD4 dans des souris Rag1/2<sup>-/-</sup> (i.e. déficientes en LB et LT) contribue à la réduction de l'insulino-résistance développée sous régime gras. Les  $LT\alpha\beta$ -CD4 réduisent le recrutement des macrophages inflammatoires et des cellules NK au niveau du TA des souris obèses (Duffaut et al., 2009; Winer et al., 2009).

L'équilibre TH1/TH2 implique plusieurs mécanismes de régulation. Les LTreg représente une population immunitaire importante dans ces mécanismes de régulation.

## b) Les lymphocytes régulateurs :

Les  $LT\alpha\beta$  régulateurs (LTreg) sont des  $LT\alpha\beta$ -CD4 capables d'induire une tolérance vis-à-vis du « soi ». FoxP3 est le facteur de transcription caractéristique des LTreg et il régule la fonction des LTreg, qui est principalement médiée par les cytokines régulatrices IL-10 et TGF $\beta$  (Vignali et al., 2008). On compte parmi les LTreg des LTreg « naturels » d'origine thymique et des LTreg « induits » qui apparaissent en périphérie (Josefowicz et al., 2012; Thornton et al., 2010).

Les LTreg du TA sont d'origine thymique et sont issus de l'expansion de clones limités de LTreg qui migrent très tôt dans ce tissu. Leur expansion dépend particulièrement de la stimulation antigénique et de l'IL-33 et ils peuvent représenter environ 50% des  $LT\alpha\beta$ -CD4 (Cipolletta et al., 2011; Feuerer et al., 2009; Kolodin et al., 2015).

Nishimura a montré que lors de l'obésité, il y a une diminution de la production des cytokines de type TH2 avec une baisse de la fréquence des LTreg (Nishimura et al., 2009). Par contre, D. Winer montre que le nombre de LTreg ne change pas au cours de l'obésité, tout comme les  $LT\alpha\beta$ -CD4-GATA3<sup>+</sup>, mais dont la fonction est compromise par l'accumulation de populations immunitaires pro-inflammatoires (i.e. productrices d'IFN $\gamma$ ) (Winer et al., 2009). Des analyses effectuées sur les LTreg du TA montrent que cette population diffère de beaucoup des LTreg retrouvés dans la circulation ou d'autres tissus. Ainsi, D. Cipolletta et al. montrent que cette population exprime le facteur de transcription adipogène PPAR $\gamma$ , qui régule leur accumulation, leur fonction et leur phénotype au niveau du TA (Cipolletta et al., 2011). Ces observations suggèrent un rôle immuno-modulateur particulier de cette population de LTreg au sein du TA. D'autres travaux montrent qu'au cours de l'obésité, la fréquence des LTreg est négativement corrélée à celle des macrophages inflammatoires (Deiuliis et al., 2011). L'ablation spécifique (par le système FoxP3-DTR) des LTreg conduit au développement d'insulino-résistance par l'augmentation de l'inflammation tissulaire (Figure I-6). Par contre, l'activation des LTreg conduit à l'augmentation de la production d'IL-10 et améliore les paramètres métaboliques, inhibant le développement du T2D (Feuerer et al., 2009). De plus, il a été suggéré que le profil et le rôle des LTreg du TA changent en fonction de l'âge et de l'obésité. En effet, les LTreg accumulés au niveau du TA de souris minces seraient responsables du développement du T2D lié à l'âge. L'ablation de cette population permet ainsi de protéger

les souris âgées des désordres métaboliques liés à l'âge. Ces LTreg seraient ainsi différents des LTreg protecteurs retrouvés dans le TA des souris obèses (Bapat et al., 2015).

Par ailleurs, l'obésité serait impliquée dans la réduction de la tolérance aux antigènes issus de l'alimentation. En effet, les tissus adipeux viscéraux accumulent des antigènes alimentaires (i.e. OVA-peptide fourni aux souris par gavage), qui transloquent vers la circulation à l'aide de chylomicrons, et conduisent à une réponse inflammatoire suite à l'infiltration tissulaire en LT. Ces LT induisent une insulino-résistance qui se résorbe après 10 semaines, probablement par l'expansion des LTreg en réponse à ses antigènes/inflammation (Wang et al., 2010).

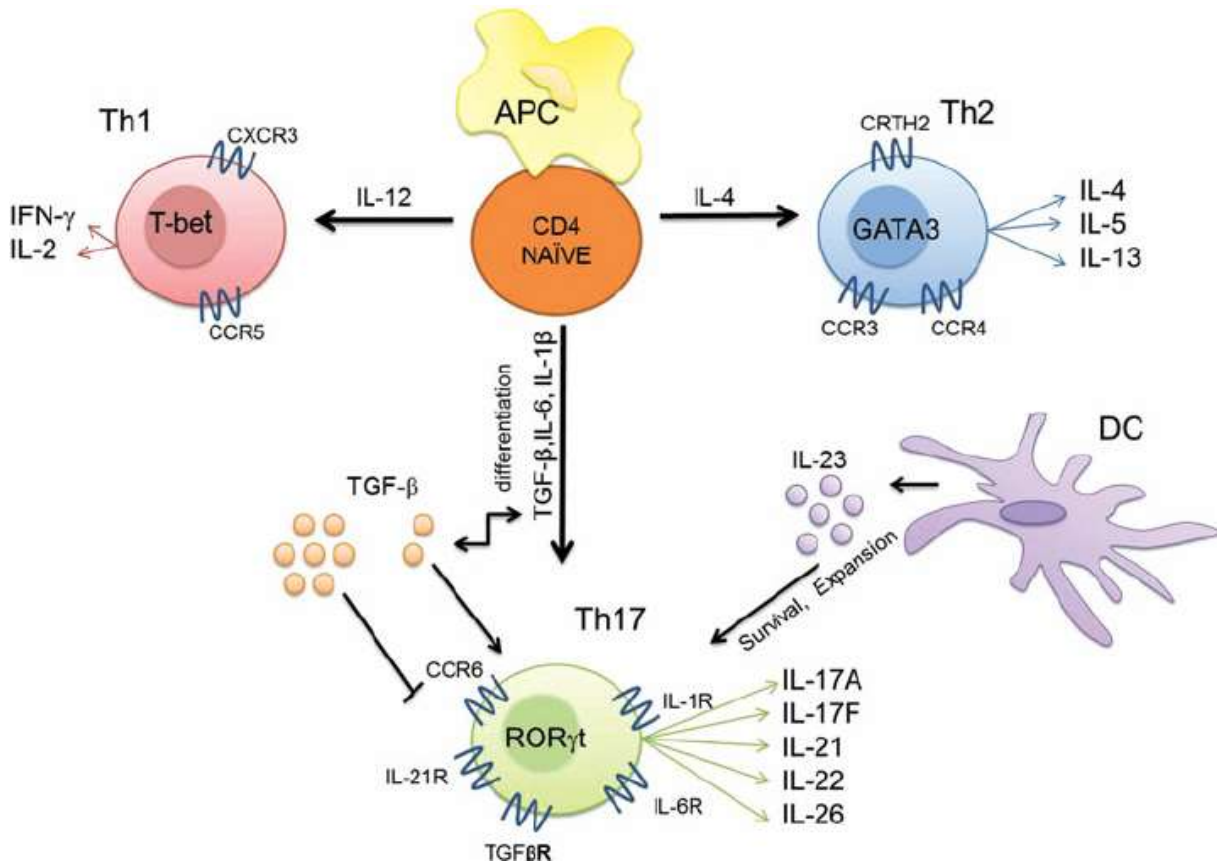
### c) Les lymphocytes TH17 :

Plusieurs travaux suggèrent un rôle pathologique de l'IL-17 dans l'obésité et le T2D. En 2009, des analyses montrent une augmentation sérique de l'IL-17 chez les femmes obèses comparées aux contrôles. L'augmentation de la production de l'IL-17 est corrélée à celle de l'IL-23 (par contre aucune de ces deux cytokines ne corrèle avec la leptine) (Figure I-5) (Sumarac-Dumanovic et al., 2009). L'obésité induite par l'alimentation conduit à une production constitutive (sans stimulation *in-vitro*) de l'IL-17 par des LT $\gamma\delta$  extraits du TA (Figure I-6) (Zúñiga et al., 2010). Par ailleurs, l'IL-17 stimule la production de l'IL-6 (cytokine diabéto-gène) par les pré-adipocytes et les fibroblastes et les souris IL-17<sup>-/-</sup> ont une concentration sérique d'IL-6 réduite (Hwang et al., 2004; Kern et al., 2001; Rotter et al., 2003). De plus, l'obésité est associée à une accumulation des cellules dendritiques (DC) au niveau du TA chez l'Homme et dans les modèles murins. Par ailleurs, des expériences *in-vitro*, montrent que les DC activées du TA sont capables de stimuler la différenciation des LT vers le profil TH17 (Bertola et al., 2012).

En plus de l'IL-17 (IL-17A et IL-17F), les TH17 sont capables de produire plusieurs facteurs qui contribuent à l'inflammation tissulaire. On compte parmi ces facteurs l'IL-21, l'IL-26, l'IL-22 (sous certaines conditions), le GM-CSF, plus des chimiokines CCL20 et CXCL1 qui stimulent le recrutement des monocytes (Korn et al., 2009).

Un nombre important de publications mettent en cause le rôle de l'IL-17 dans le développement de maladies auto-immunes liées à l'obésité. On note parmi ces maladies auto-immunes, la sclérose en plaque, le psoriasis, la maladie de Crohn, l'arthrite rhumatoïde et l'asthme. Des tests de thérapie à base d'anti-IL-17 ont d'ailleurs montré leur efficacité sur des

modèles murins de certaines de ces pathologies auto-immunes. L'ensemble de ces données suggère serait intéressant de contrer le rôle pathologique de l'IL-17 au cours de l'obésité (Ivanov et al., 2006; Leonardi et al., 2012; McGeachy and Cua, 2008; Nylander and Hafler, 2012; Stockinger et al., 2007; Sundrud et al., 2009).



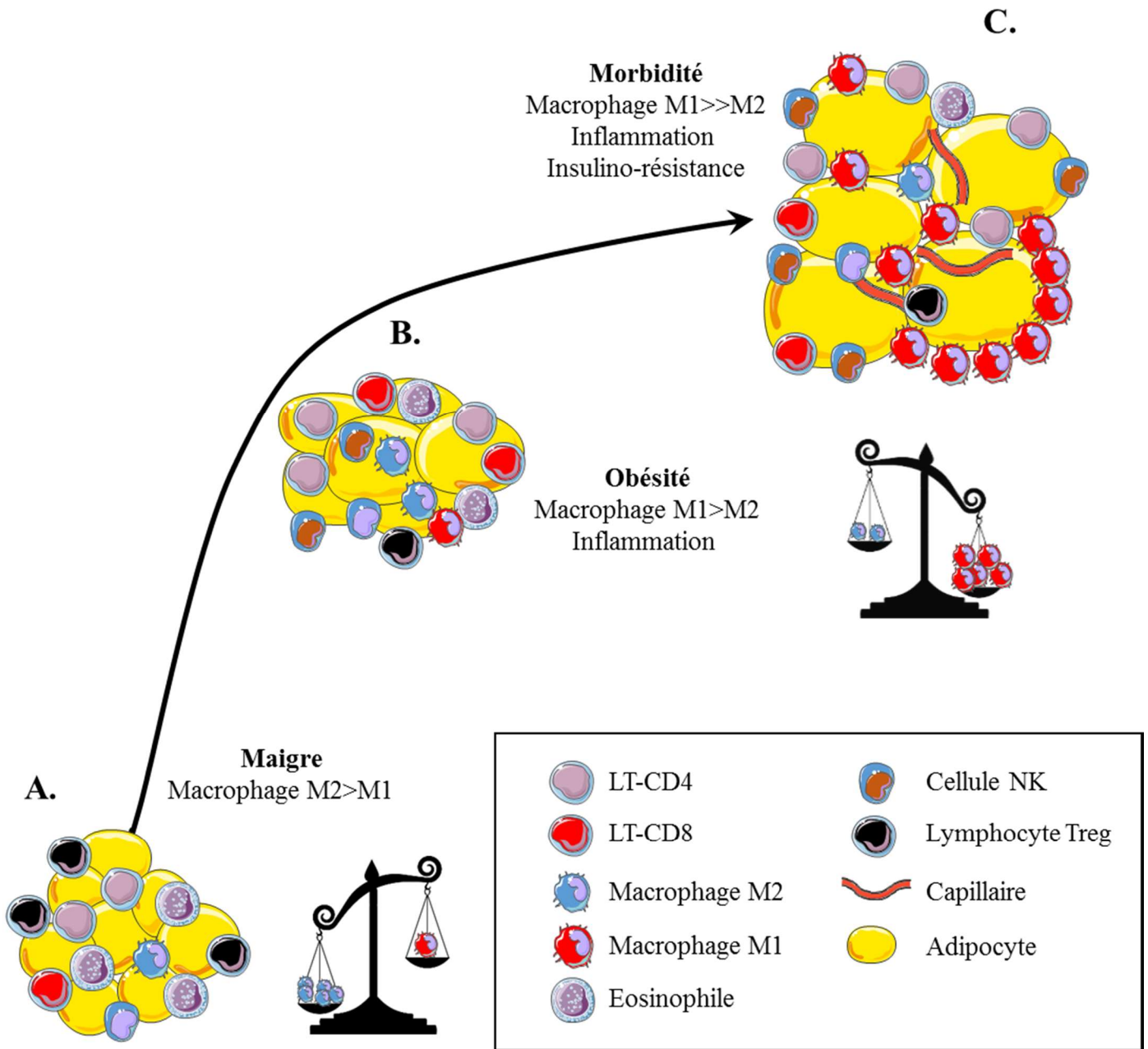
**Figure I-5 : Polarisation des LT-CD4 naïfs en TH1, TH2 ou TH17 (Garrido-Mesa et al., 2013).**

En 2010, l'équipe du Dr Butcher montre que l'IL-17 pourrait jouer un rôle protecteur dans l'obésité et le T2D. Des souris invalidées pour l'IL-17 ont une accumulation de TA plus importante, dans des conditions standards et sous régime gras. Ils ont démontré que l'IL-17 avait des effets négatifs sur l'adipogenèse (mais sans effet sur l'accumulation en TG) et le métabolisme glucidique (tolérance au glucose et sensibilité à l'insuline) chez les jeunes souris. Par contre, cet effet protecteur de l'IL-17 disparaît et s'inverse avec l'âge. D'autre part, l'IL-17 du TA provient essentiellement des LT $\gamma\delta$ . Toutefois, une déplétion par modification génétique des LT $\gamma\delta$  n'a pas d'effet sur le pool TH17 du TA. En effet, les LT $\alpha\beta$  (notamment les LT $\alpha\beta$  CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup>) prennent le relais et produisent d'avantage d'IL-17 en condition d'obésité (Zúñiga et al., 2010). D'ailleurs, des tests cliniques sur l'homme montrent que la neutralisation de l'IL-17

conduit à une exacerbation de la maladie de Crohn (Hueber et al., 2012). D'autres travaux montrent que les cellules TH17, différenciées en présence d'IL-6 et de TGF $\beta$ , possèdent des propriétés anti-inflammatoires et sont capables de limiter le développement de l'arthrite sur des modèles murins. Ces TH17 sont capables de produire de l'IL-10 en plus de l'IL-17; Il pourrait s'agir probablement des LTreg-FoxP3<sup>+</sup>Ror $\gamma$ <sup>+</sup> (Korn et al., 2009; McGeachy et al., 2007).

Ces observations montrent ainsi qu'il existe plusieurs sous-populations de TH17, des TH17 pathogènes et des TH17 régulateurs. Il a été montré que parmi les TH17, celles qui expriment le récepteur à l'IL-23 étaient hautement pro-inflammatoires. L'IL-23 stimule la production de cytokines considérées comme pro-inflammatoires (i.e. IL-22, GM-CSF et TGF $\beta$ <sub>3</sub>) et inhibe celle de l'IL-10 par les TH17 (Codarri et al., 2011; Duvallet et al., 2011). Le TGF $\beta$ <sub>3</sub> avec l'IL-6, ou l'IL-23 en coordination avec l'IL-1 $\beta$ /IL-6, constitue le microenvironnement cytokinique responsable de la différenciation en TH17 pro-inflammatoires responsables des maladies auto-immunes et inflammatoires citées précédemment (Ghoreschi et al., 2010; Jäger et al., 2009; Lee et al., 2012). D'autre part, il a été décrit qu'au cours de l'obésité les TH17 pathogènes développent un métabolisme différent à travers l'expression d'une enzyme impliquée dans la biosynthèse lipidique (ACC1). Ce métabolisme serait crucial pour leur fonction pro-inflammatoire (Endo et al., 2015).

De façon intéressante, le laboratoire du Dr A Wakkach montre que le transfert adoptif de LT $\alpha\beta$ -CD4 dans des souris Rag1<sup>-/-</sup> conduit à la différenciation de ces LT $\alpha\beta$  naïfs vers des profils TH1 (IFN $\gamma$ <sup>+</sup>) ou TH17 (IL-17<sup>+</sup>) relativisant ainsi les travaux décrits plus haut (Bertola et al., 2012; Nishimura et al., 2009). Ces travaux, comme d'autres, montrent la complexité des mécanismes qui régulent l'homéostasie et l'inflammation du TA.



**Figure I-6: Effets métabolique et immunitaire de l'obésité sur le tissu adipeux blanc.**

(A) A l'état basal le tissu adipeux formé de cellules adipeuses de petite taille est enrichi en cellules immunitaires à phénotype régulateur (LTreg, éosinophiles, macrophage M2...etc). (B) et (C) Au cours de l'obésité, l'hypertrophie des cellules adipeuses induit un stress inflammatoire à l'origine d'un changement du système immunitaire tissulaire et au développement de l'insulino-résistance. Il y a une diminution des populations immunitaires régulatrices et un enrichissement en cellules immunitaires inflammatoires (Cellules NK, LT-CD8...) avec un changement du phénotype des macrophages du type M2 « anti-inflammatoire » au type M1 « pro-inflammatoire ».



d) Les lymphocytes T $\alpha\beta$  non-conventionnels :

Parmi les LT $\alpha\beta$  non-conventionnels (dont les propriétés sont détaillées dans les chapitres suivants) présents dans le TA on retrouve les iNKT (*invariant Natural Killer T cell*) et les MAIT (*Mucosal Associated Invariant T cell*).

En 2012, L. Lynch et *al* montrent que l'obésité induit une diminution du nombre et de la fréquence des lymphocytes iNKT au niveau du TA viscéral des souris. Une restriction calorique chez les souris obèses conduit à une normalisation du pool des cellules iNKT comparées aux souris contrôles (Lynch et al., 2012). Utilisant des souris CD1d<sup>-/-</sup> (déficientes en iNKT et en NKT variants) ou J $\alpha$ 18<sup>-/-</sup> (déficientes en iNKT), L. Lynch et *al* montrent que l'absence des iNKT exacerbe l'effet inflammatoire de l'obésité et conduit au développement d'insulino-résistance. Ceci suggère que les iNKT jouent un rôle régulateur et protecteur contre le T2D. De plus, l'activation spécifique de cette population avec son ligand ( $\alpha$ -GalCer) stimule ce rôle protecteur *via* la production de cytokines anti-inflammatoires (i.e. IL-4 et IL-10). Plus récemment, L. Lynch et *al* proposent que les iNKT du TA dérivent d'une maturation / prolifération *in situ* et représentent une population distincte, qui diffère des iNKT thymiques. En effet, les iNKT du TA sont dépourvus du facteur de transcription PLZF, qui caractérise les iNKT classiques, mais expriment le facteur E4BP4. Elles présentent des propriétés immunosuppressives propres (i.e. régulation des macrophages *via* l'IL-10) et stimulent celles des LTreg *via* l'IL-2 (Lynch et al., 2015a). Inversement, les travaux de L. Wu et *al* réfutent le rôle protecteur des iNKT au niveau du TA. Le traitement chronique avec du  $\alpha$ -GalCer contribue à l'inflammation du TA et du foie (i.e. les iNKT augmentent leur production en IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$ ). De plus, contrairement à l'hypothèse de L. Lynch, les iNKT activés au niveau du TA contribuent à la déplétion des LTreg et au recrutement de macrophages pro-inflammatoires (Wu et al., 2012b). Il est intéressant de noter que la méthode d'activation *in vivo* des iNKT diffère entre les deux travaux. Une seule injection de 1 $\mu$ g d' $\alpha$ -GalCer par souris (L. Lynch) et jusqu'à 6 injections de 1 $\mu$ g pour refléter l'activation chronique des iNKT (i.e. une dose par semaine) (L.Wu).

Chez l'homme, lors de l'obésité la fréquence des iNKT baisse au niveau de la circulation (Lynch et al., 2009; Magalhaes et al., 2015).

La population MAIT sera traitée plus loin dans un chapitre consacré.

### a) L'immuno-métabolisme des $LT\alpha\beta$ :

Entre l'état naïf, activé ou mémoire, les lymphocytes  $T\alpha\beta$  ont besoin d'apport énergétique différent. En effet, les  $LT\alpha\beta$  changent leur métabolisme énergétique en fonction du besoin temporel et quantitatif. Ainsi, les  $LT\alpha\beta$  naïfs produisent leur énergie (ATP) à travers la métabolisation du glucose, des lipides et des AG par la phosphorylation oxydative (OXHPOS). Cette voie énergétique fournit une quantité considérable mais lente en énergie. Par contre les  $LT\alpha\beta$  activés ont besoin d'une source d'énergie rapide à lever. Ainsi, ils changent leur métabolisme vers une glycolyse aérobie, qui fournit en plus de l'énergie rapide, des substrats nécessaires pour la biosynthèse de lipides, d'acides aminés, de carbohydrates et d'acides nucléiques (Frauwirth et al., 2002; Macintyre et al., 2014; MacIver et al., 2013; Pearce and Pearce, 2013; Vander Heiden et al., 2009). Les  $LTreg$  utilisent la voie OXHPOS et FAO (*mitochondrial fatty acid oxidation*) pour leur apport énergétique, alors que les lymphocytes TH1, TH2 et TH17 utilisent préférentiellement la glycolyse d'autant plus que ces cellules expriment fortement le récepteur au glucose GLUT1 (Jacobs et al., 2008; Wang and Green, 2012). De façon intéressante le traitement de souris, susceptibles de développer un modèle d'arthrite murin (EAE), avec un inhibiteur de la glycolyse (le 2-déoxyglucose) les protège considérablement de cette pathologie (Ikejiri et al., 2012).

### 3. Les éosinophiles et les ILC2 :

Les éosinophiles sont présents dans différents tissus et organes. La fonction principale « décrite » de cette population est d'assurer une réponse anti-parasitaire (e.g. helminthes). Au niveau du TA, les éosinophiles jouent un rôle homéostatique (Wu et al., 2011a). Ces cellules sont la première source d'IL-4 du TA et ils permettent le maintien des macrophages anti-inflammatoires par leur production d'IL-4 et d'IL-13. Ainsi, les éosinophiles jouent un rôle primordial dans la protection contre l'insulino-résistance. Au cours de l'obésité, le nombre d'éosinophiles tissulaires est fortement réduit. Une augmentation de l'IL-5 (i.e. souris IL-5 transgéniques) ou l'infection avec des helminthes contribuent à la restauration du pool des éosinophiles du TA et ainsi la protection contre les complications métaboliques de l'obésité (Wu et al., 2011a). En plus de l'IL-4 et de l'IL-13, les éosinophiles produisent d'importante

quantité d'IL-10, GM-CSF, IL-5, MCP-1 (i.e. CCL3), CCL5 (i.e. RANTES) et du TGF $\beta$  (Davoine and Lacy, 2014). Par contre, au niveau des poumons et des voies aériennes supérieures les éosinophiles sont un acteur principal d'inflammation allergique. Cette population est fortement infiltrée au niveau de ces tissus inflammés lors des phases tardives et ils dégranulent en libérant des molécules cytotoxiques dont le MBP (i.e. *major basic protein*) et l'EPX (*eosinophil peroxidase*) (Davoine and Lacy, 2014).

En complément des travaux de D. Wu, AB. Molofsky et *al* montrent que les ILC2 (i.e. *Innate Lymphoid type 2 Cells*) sont des acteurs importants dans l'homéostasie du TA. En effet, au niveau du TA, les ILC2 représentent la source principale d'IL-5 et d'IL-13 qui stimulent l'accumulation d'éosinophiles et de macrophages anti-inflammatoires. La déplétion des ILC2 conduit à une déplétion des éosinophiles du TA et au développement des complications métaboliques liées à l'obésité. Par contre, le traitement de souris obèses à l'IL-33 (une cytokine qui stimule la production d'IL-5 et IL-13 par les ILC2) contribue à la restauration des éosinophiles du TA, favorise le phénotype anti-inflammatoire des macrophages et réduit l'expansion du TA (Brestoff et al., 2015; Molofsky et al., 2013). De façon intéressante, l'effet de l'infection intestinale à helminthe semble passer par une induction d'IL-33 par les cellules épithéliales (Molofsky et al., 2013). Aussi, la réponse allergique et l'asthme induit l'IL-33 (et l'IL-25) et stimule fortement l'accumulation des ILC2 au niveau de tissus, comme le poumon. Par contre, leur production d'IL-5 et d'IL-13 au niveau de ce tissu a des effets inflammatoires au niveau de ce tissu (Chang et al., 2011; Klein Wolterink et al., 2012). Récemment, les ILC2 ont été identifiés dans le TA chez l'homme. Comme chez la souris, les ILC2 chez l'homme expriment le facteur de transcription GATA-3, ST1/ST2 (récepteur à l'IL-33) et le marqueur CD25 (Brestoff et al., 2015). Dans cette étude, il a été montré que l'obésité est associée à une forte déplétion des ILC2 et à la perte de leur rôle régulateur au niveau du TA. En plus de l'effet de l'IL-5 et de l'IL-13 sur l'accumulation des éosinophiles au niveau du TA, les ILC2 sont capables d'induire directement la thermogénèse au niveau du TA viscéral. En effet, les ILC2 produisent du méthionine-enkephaline, un peptide qui induit l'expression d'UCP-1 via le récepteur *Ogfr* (*Opioid growth factor receptor*) et/ou *Oprd1* ( $\delta 1$  *opiod receptor*) (Brestoff et al., 2015).

#### 4. Les cellules NK :

Les cellules NK, une sous-population majoritaire des *Groupe 1 innate lymphoid cells* « ILC1 » (Jiao et al., 2016), (i.e. *Natural Killer*) sont des cellules capables de reconnaître et de lyser des cellules dites stressées (i.e. infectées ou transformées). Les cellules stressées changent de niveau d'expression de certaines molécules à la surface cellulaire. Elles sur-expriment des molécules « de stress » reconnues par les cellules NK qui activent leur action cytolytique et/ou leur production d'IFN $\gamma$ . Cette reconnaissance se fait grâce à des récepteurs d'activation appelés KAR (i.e. *Killer Activation Receptors*). Par ailleurs, la fonction des cellules NK est inhibée par la reconnaissance de molécules inhibitrices (e.g. MHC-I) par des récepteurs appelés KIR (*Killer-cell immunoglobulin-like receptors*) (Shi et al., 2011; Vivier et al., 2011). D'autre part, l'IFN $\gamma$  produit par les cellules NK au cours d'infection stimule la polarisation des macrophages vers un profil pro-inflammatoire (Goldszmid et al., 2012). Au cours de l'obésité, les cellules NK s'accumulent rapidement dans le TA et 50% d'entre elles produisent de l'IFN $\gamma$  et contribuent à la polarisation tissulaire des macrophages pro-inflammatoires et au développement de l'insulino-résistance. Le stress métabolique des adipocytes induit une sur-expression du ligand du NCR1 (i.e. un KAR exprimé par les cellules NK) (Gur et al., 2010; Zafirova et al., 2011). Les cellules NK reconnaissent ce ligand s'activent et produisent d'avantage d'IFN $\gamma$  qui déclenche l'insulino-résistance. La délétion de l'IFN $\gamma$  ou des cellules NK protège contre les complications métaboliques dues à l'obésité. De façon, intéressante les souris NCR1<sup>-/-</sup> ont un développement d'insulino-résistance retardé. Ceci prouve que les cellules NK sont impliquées dans les phases initiales de l'inflammation du TA au cours de l'obésité (Wensveen et al., 2015).

## II. Le microbiote intestinal :

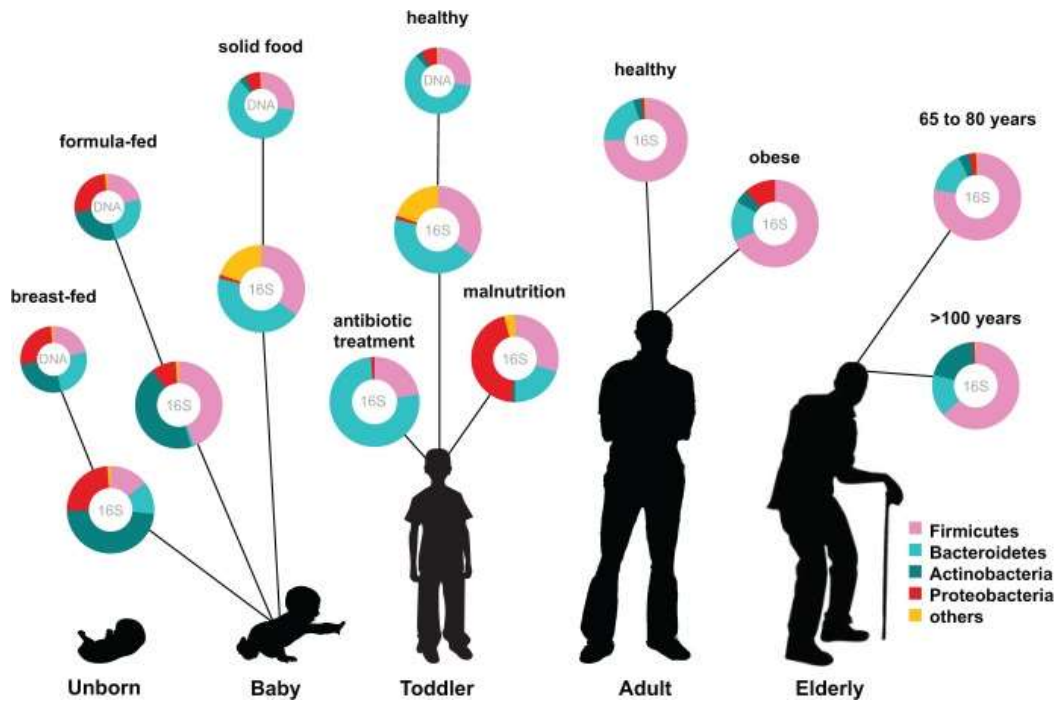
L'espèce humaine cohabite avec les micro-organismes contenus dans son environnement. Généralement décrits comme pathogènes, les bactéries entretiennent une relation mutualiste stable avec l'homme. Cependant, les bactéries sont impliquées dans plusieurs pathologies telles que l'obésité, le diabète, l'athérosclérose et la maladie de Crohn (Hooper and Gordon, 2001).

### A. Etiologie :

Le microbiote intestinal correspond à l'ensemble de micro-organismes résidants dans le tube digestif des animaux multicellulaires. Ce microbiote contient quelques  $10^{14}$  bactéries qui représentent plus de cellules que l'ensemble des cellules qui forment l'organisme humain ( $10^{13}$  cellules eucaryotes) (Human Microbiome Project Consortium, 2012). Le génome du microbiote est beaucoup plus riche (300 000 gènes) que celui de leur hôte (30 000 gènes) et représente un écosystème distinct de tous les autres habitats microbiens étudiés (Ley et al., 2006, 2008). Cet écosystème contient des espèces bactériennes qui n'existent nulle part ailleurs. Il est admis que cette symbiose (commensalisme + mutualisme) a généré un mécanisme de sélection performant (Donaldson et al., 2016). Appartenant à 500-1000 espèces différentes (dominé par des bactéries anaérobiques), le nombre de gène de cet « organe » est 100 fois plus important que celui de son hôte. Le microbiote intestinal est même considéré comme un organe à part entière. Le poids des bactéries totales du tractus intestinal de l'homme est estimé à 1,5 kg et représente environ 30 % de la masse totale du contenu intestinal. De plus, cet organe possède l'exclusivité de certaines voies métaboliques (e.g. métabolisation de certains polysaccharides ou vitamines) (Savage, 1977; Xu and Gordon, 2003).

#### 1. Evolution de la flore au cours de la vie :

Depuis 1987, il a été admis que la colonisation du tube digestif commence au cours de la naissance. Ainsi, la flore vaginale de la mère est la première source des bactéries intestinales du nouveau-né (La Rosa et al., 2014; Mevissen-Verhage et al., 1987).



**Figure II-1: Evolution de la flore intestinale au cours de la vie (Ottman et al., 2012).**

En 2014, le placenta est défini aussi comme une source potentielle des premières bactéries digestives. Avec sa composition bactérienne particulière, la flore placentaire permet la colonisation du tube digestif des nouveau-nés, notamment ceux nés par césarienne (Aagaard et al., 2014).

La composition de la flore change au cours de la vie (Figure II-1). Après la naissance, le tractus digestif du nouveau-né stérile est colonisé par des bactéries anaérobies facultatives telles que les *Entérobactéries*, les *Entérocoques* et les *Staphylocoques*. L'oxygène, jusque-là, présent au niveau du tractus du nouveau-né est consommé rapidement par ces bactéries pour favoriser l'implantation de bactérie anaérobies strictes telles que celle du genre Firmicutes (Favier et al., 2002). Plusieurs facteurs influencent la composition de la flore intestinale. Les peptides anti-microbiens, les IgA sécrétoires et surtout le bol alimentaire, sont les paramètres principaux qui contrôlent cette flore (Bevins and Salzman, 2011; Donaldson et al., 2016; Peterson et al., 2007). D'autre part, il est de plus en plus admis que la colonisation initiale induit un effet permanent (ou du moins sur le long terme) sur le microbiote intestinal (Donaldson et al., 2016).

## 2. L'environnement :

Plusieurs facteurs environnementaux influencent l'évolution de la composition de la flore intestinale. Le mode d'accouchement (i.e. par césarienne ou voie vaginale), les mesures d'hygiène lors de l'accouchement et à la petite enfance, ainsi que le type d'alimentation du nourrisson (i.e. lait maternel ou artificiel) (Dethlefsen et al., 2006).

Le tractus digestif d'un enfant né par césarienne contient peu de *Bactéroïdes* et *Bifidobactéries* (dont la source principale est la muqueuse vaginale de la mère) tandis que la proportion d'*E. coli*, de *Staphylococcus*, de *Streptococcus* et de *Clostridium* est plus importante (Figure II-1). En outre, l'implantation de la flore anaérobie stricte est plus tardive (Biasucci et al., 2008; Penders et al., 2006).

Avant le sevrage, la flore bactérienne est dominée par les *Bifidobacteries* chez les bébés allaités. Par contre, les bébés nourris au biberon présentent une complexité plus importante (*Bifidobacterie*, *Clostridium*, *Bactéroïdes* et *Streptococci*) (Yoshioka et al., 1991). Après le sevrage, cette diversité tend à se réduire suite au contact avec le bol alimentaire et elle commence à ressembler à celle retrouvée chez l'adulte (Penders et al., 2006). Par ailleurs, la flore intestinale de l'adulte est également sensible aux changements hormonaux et aux différences de sexe (Ottman et al., 2012). En effet, le lait maternel influence particulièrement le microbiote du bébé. Ce lait, en plus de l'apport nutritif apporte des bactéries ainsi que des anticorps qui induisent une sélection de certaines souches bactériennes (Fernández et al., 2013; Rogier et al., 2014; Yu et al., 2013). ZT Yu et al montrent *In vitro* que *Bifidobacterium longum* et d'autres espèces de *Bacteroides* utilisent les oligosaccharides fucosylés enrichis dans le lait pour proliférer au dépend d'autres bactéries comme *E. coli* et *Clostridium perfringens*. Ces résultats confirment le rôle des pré-biotiques contenus dans le lait maternel dans le déterminisme de la composition bactérienne. Par ailleurs, l'absence de *fucosyl-transferase 2* qui contrôle la fucosylation des oligosaccharides compromet la colonisation en *Bifidobacteria* et *Bacteroides* chez l'enfant (Lewis et al., 2015).

Les probiotiques sont importants dans la colonisation et le maintien par/de certaines souches bactériennes dans le tractus gastro-intestinal.

## B. La composition de la flore intestinale et intérêt du modèle murin:

Le tractus gastro-intestinal est dominé par trois grands phyla qui rassemblent la plus grande part des bactéries de l'intestin : les *Firmicutes*, les *Bacteroides* et les *Actinobacteria*. Un phylum est subdivisé par la suite en classe, ordre, famille, genre et espèce. Ce microbiote est dominé par des familles bactériennes ayant des effets biologiques bénéfiques pour l'hôte et sont appelées commensales (Gibson and Roberfroid, 1995). La présence de bactéries commensales inhibe la prolifération et/ou la transformation de bactéries pathogènes, favorise la maturation du système immunitaire, améliore la digestion/absorption des aliments et assure la production de vitamines essentielles. D'autre part, certaines familles bactériennes du tube digestif sont exclusivement pathogènes (e.g. *Clostridia* et *Proteus*) ou exclusivement commensales (e.g. *Lactobacilli* et *Bifidobacteria*), alors que d'autres peuvent avoir ces deux rôles en fonction du microenvironnement (Gibson and Roberfroid, 1995). L'équilibre est fragile entre le commensalisme et la pathogénie. Une variation du pH, l'abondance des substrats, le potentiel redox et la concentration en oxygène sont des paramètres importants dans la détermination de la fonction/composition du microbiote (Cummings and Macfarlane, 1991).

Chez l'homme comme chez la souris, le microbiote intestinal est dominé par les *Firmicutes* (jusqu'à 80 % des séquences) et les *Bactéroïdetes* (jusqu'à 40 %) et donc présentent de grandes similitudes avec le microbiote retrouvé chez les rongeurs, particulièrement la souris. Toutefois, 85% des séquences d'ARN ribosomal (16S) analysées chez la souris ne correspondent à aucune famille bactérienne retrouvée chez l'homme (Ley et al., 2005, 2006).

### 1. Les *Firmicutes* :

Les *Firmicutes* sont des bactéries à Gram+ composées de plus de 200 genres à morphologies diversifiées (e.g. spiralee ou coccoïde) et peuvent posséder un métabolisme aérobie ou anaérobie. Les *Firmicutes* sont divisés en trois classes : les *Clostridia* (anaérobie), les *Bacilli* (aérobie stricte ou facultatif) et les Mollicutes. Ils possèdent un large éventail d'enzymes



pouvant métaboliser les carbohydrates et ainsi produire du butyrate et du lactate (Arumugam et al., 2011; Duncan et al., 2007).

## 2. Les *Bactéroïdetes* :

Les Bactéroïdetes comportent 3 classes de bactéries Gram- : *Bacteroidia*, *Flavobacteria* et *Sphingobacteria*. Le genre *Bacteroides* est le membre principal de la classe Bacteroidia. Les bactéries de ce genre participent à l'absorption des nutriments, la maturation du système immunitaire local et systémique (Eckburg et al., 2005; Qin et al., 2010; Tap et al., 2009; Troy and Kasper, 2010).

## 3. Les *Actinobacteria* :

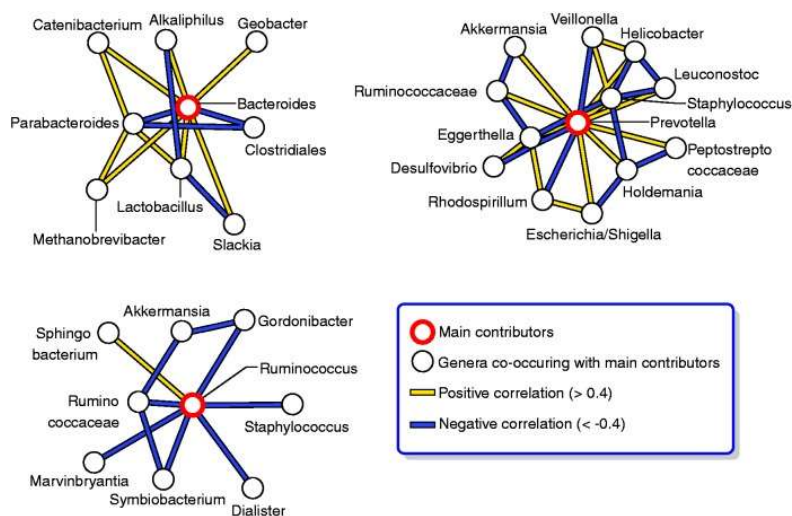
Ce phylum ne représente qu'environ 10% des bactéries du microbiote intestinal. Il regroupe des espèces bactériennes Gram+ et les deux genres les plus connus sont *Bifidobacterium* et *Collinsella*. Ce phylum est caractérisé par un pourcentage de bases cytosine (C) et guanine (G) proportion parmi les bases qui composent une séquence ADN (coefficient de Chargaff) (Arumugam et al., 2011).

Moins abondants, trois autres phyla sont également présents dans le microbiote intestinal : les *Proteobacteria*, les *Lentisphaerae* et les *Verrucomicrobia*. Parmi les *Verrucomicrobia*, l'espèce *Akkermansia muciniphila* sera décrite par la suite (Derrien et al., 2004).

## C. La notion d'« entérotype » et de la « fonction florale »:

### 1. Les entérotypes et la fonction florale :

Une étude exhaustive effectuée sur des fèces de patients issus de continents différents montre l'existence de microbiota avec des compositions bactériennes à signatures particulières. Se basant sur l'abondance des genres bactériens *Bactéridies*, *Prevotella* et *Ruminococcus*, les échantillons de fèces ont été classés dans 3 groupes dominants (Figure II-2). Ainsi, la notion « d'Enterotype » est apparue (Arumugam et al., 2011). Indépendamment de l'âge, de l'indice de masse corporelle ou du sexe, la composition de la flore intestinale semble être plus homogène qu'on ne le pensait. Les enterotypes décrits sont étroitement liés aux régimes alimentaire. L'enterotype N°1 et ses dérivés sont riches en *Bacteroidies* (une abondance liée à l'abondance du genre *Parabacteroidies*). L'énergie y est essentiellement puisée grâce à la fermentation des carbohydrates et des protéines. Par contre, l'enterotype N°2 riche en *Prevotella* lié à celle des *Desulfovibrio*, et l'enterotype N°3 caractérisé par une augmentation des *Ruminococcus* lié à l'apparition des *Akkermansia* qui sont spécialisés dans la métabolisation des glycoprotéines telles que les mucines. D'autre part, les enterotypes 1 et 2 sont caractérisés par une production importante de certaines vitamines comme la biotine, riboflavine, thiamine et l'acide folique. Par contre, l'étude ne montre aucune corrélation entre le rapport *Bacteroidie/Firmicute* et l'IMC des donneurs.



**Figure II-2: Composition relative des différents enterotypes chez l'Homme (Doré et al., 2013).**

Peu de temps après, une autre étude s'est intéressée à l'analyse des enterotypes chez 98 donneurs, et a montré l'existence de 2 grands enterotypes basés sur l'abondance en *Bacteroidies* ou *Prevotella* (Wu et al., 2011b). Ces résultats, regroupent l'enterotype N°1 (riche en *Bacteroidies*) et l'enterotype N°3 (riche en *Ruminococcus*) décrits dans l'étude d'Arumugam et al en un seul enterotype (Arumugam et al., 2011). D'autre part, cette étude s'est intéressée à la relation entre les différents enterotypes découverts et le régime alimentaire. Quelques volontaires ont subi des régimes à composition contrôlée. Les enterotypes des volontaires changent de façon comparable en fonction du régime. La flore change 24h après les tests. L'aliment ingéré transite à travers le système digestif entre 2 à 7 jours (selon la composition en fibre). La flore change de composition et de fonction avant le contact avec la nouvelle alimentation. Une modification qui est orientée pour une meilleure digestion selon les auteurs de l'étude (Wu et al., 2011b). Par contre, et quel que soit le régime (même celui riche en graisses) les chercheurs n'ont pas observé de changement d'entérotipe au cours des 10 jours du test, réfutant l'hypothèse sur l'inversement du ratio des *Bacteroidies/Firmicutes* à cause des régimes riches en graisses/pauvre en fibre (Wu et al., 2011b).

Le microbiote intestinal a une fonction métabolique importante (i.e. la fermentation des résidus alimentaires non digestibles par l'hôte). L'apport énergétique dû à cette fonction est estimé à 10% de l'énergie totale fournie par le bol alimentaire. Il assure aussi un apport essentiel en vitamines. Ces vitamines sont nécessaires, en faible quantité, au métabolisme d'un organisme vivant, mais ne sont généralement pas synthétisées par l'organisme. Les bactéries intestinales sont une source importante de vitamines pour l'homme, en particulier la vitamine K et plusieurs vitamines du groupe B telles que la thiamine (vit B1), la riboflavine (B2), la pyridoxine (B6), la biotine (B8), l'acide folique (B9) ou la cobalamine (B12) (Hill, 1997; Ramakrishna, 2013).

Depuis longtemps, il a été avancé que ces rôles changent en fonction de la composition bactérienne et de l'abondance de tel ou tel genre/famille bactérienne. Cependant, selon Arumugam et al la composition de la flore intestinale ne peut prédire la fonction métabolique de cette dernière. Son étude a montré l'absence de lien entre l'abondance d'un genre bactérien et celui d'une activité génétique/métabolique donnée. Des bactéries peu abondantes dans la

lumière intestinale peuvent contribuer fortement à des fonctions importantes comme la métabolisation, la production de vitamine ou de protéines nécessaires pour le maintien des bactéries dans l'intestin (Arumugam et al., 2011). Plus récemment, des travaux ont montré que seulement 40 à 65% des bactéries qui composent le microbiote intestinal étaient capables de produire les huit membres de la vitamine B. Les bactéries composant ce microbiote, ont ainsi un métabolisme complémentaire et synergique mimant la fonction d'un organe à part entière (Magnúsdóttir et al., 2015).

L'absence de corrélation étroite entre la composition florale et la fonction de cette dernière est due à l'acquisition/perte de fonction par certaines bactéries. On parle de plasticité.

## 2. Plasticité/stabilité du microbiote :

La présence d'enterotypes (dominés par un genre bactérien donné) stable indépendamment de l'origine ethnique, du sexe ou de l'IMC suggère la présence d'un système de contrôle appartenant à l'hôte ou à la flore (Arumugam et al., 2011). Le système de transposons permet au genre bactérien de s'adapter aux variations de l'environnement pour permettre le maintien de leur individus. Des mutations transmissibles permettent une plasticité aux bactéries pour assurer leur survie changeant à volonté leur métabolisme, leur développement et leur reproduction. Ce système est important pour stabiliser la composition du microbiote malgré les challenges quotidiens : milieu perfusé en continu par un bol alimentaire de régimes différents, l'ingestion de bactéries externes et la surveillance immunitaire (Goodman et al., 2009).

La mesure de l'abondance d'environ 40 espèces bactériennes qui représentent 75% du microbiote intestinal, montre que la composition de la flore bactérienne est stable durant au moins un an (i.e. durée de l'étude) (Martínez et al., 2013). Une autre étude suggère que cette stabilité est observée même durant 5 années d'analyse de la composition du microbiote. De plus, la capacité de restauration de certaines souches bactériennes, qui peuvent disparaître des fèces sous certaine condition, montre qu'il existe un réservoir bactérien au niveau du tractus-gastro-intestinal permettant de récupérer une composition bactérienne physiologique (Dethlefsen and Relman, 2011).

De plus, des travaux ont montré que le transfert d'une flore intestinale d'une espèce donnée à une autre espèce axénique fini toujours par changer de composition pour ressembler à celle retrouvée au niveau de l'espèce receveuse ce qui confirme l'implication de paramètres complexes dans la détermination de la composition florale chez une espèce donnée (Rawls et al., 2006).

## D. Le microbiote intestinal et le T2D :

Le microbiote intestinal exerce des fonctions plus complexes que l'apport énergétique supplémentaire à l'hôte. Comme on le verra plus en détail en ce qui concerne le rôle des microorganismes de l'intestin dans la maturation du système immunitaire intestinal, la flore intestinale est importante dans la maturation structurelle, physiologique et fonctionnelle de l'intestin de l'hôte. L'absence de microbiote (i.e. chez des souris axéniques) provoque, une dérégulation dans le développement du système immunitaire inné et adaptatif de l'intestin, un ralentissement du renouvellement de l'épithélium et un amincissement de la muqueuse intestinale. La reconstitution du tractus digestif de ces souris par un mélange de bactéries permet de normaliser ces paramètres et d'induire la production du mucus (dont la production est déficiente chez les souris axéniques) (Round and Mazmanian, 2009; Wrzosek et al., 2013).

En plus de leurs fonctions physiologiques, le microbiote intestinal est décrit comme impliqué/responsable dans plusieurs maladies inflammatoires qui touchent l'intestin directement ou même d'autres organes.

Parmi les maladies inflammatoires où la dysbiose est bien décrite on compte l'obésité et le diabète de type 2.

## 1. Le microbiote et l'obésité : la balance

### *Bactéroidies/Firmicutes*

#### a) La causalité entre la dysbiose et l'obésité :

Malgré les fortes corrélations observées entre l'obésité et le changement de la composition du microbiote intestinal, une question essentielle sur la causalité entre la dysbiose et l'obésité se pose (Rawls et al., 2006). L'équipe du Dr Gordon montre que des souris génétiquement susceptibles de développer l'obésité (*ob/ob*), et même sous régime standard, présentent des dysbioses (diminution des *Bactéroidies* et une augmentation des *Firmicutes*) qui ressemblent à celles retrouvées dans des souris sauvages soumises à un régime obésogène (Ley et al., 2005; Turnbaugh et al., 2006).

En outre, l'étude du microbiote de patients jumeaux obèses ou minces montre des différences au niveau de la diversité phylogénique chez les jumeaux ayant un IMC différent (Turnbaugh et al., 2009). Cette étude montre une baisse de la représentativité des *Bactéroidies* contre une augmentation de celle des *Actinobactéries*. Au niveau fonctionnel, le microbiote des patients obèses présente une augmentation, au niveau génétique, dans le métabolisme des carbohydrates montrant, ainsi, l'effet du métabolisme bactériens sur le métabolisme de l'hôte (Turnbaugh et al., 2009). Ceci prouve l'effet de la flore intestinale sur la prise de poids, indépendamment des facteurs génétiques de l'hôte.

Quelques années avant, en 2004 puis en 2006, des expériences de transfert de flore montrent que d'une part, le microbiote intestinal serait responsable de l'accumulation du TA dans les conditions normales, et que d'autre part cette accumulation de TA peut être pathologique si le microbiote transféré était pathologique (e.g. flore de souris *ob/ob* comparée à une flore contrôle) (Bäckhed et al., 2004; Turnbaugh et al., 2006).

Par ailleurs, des études métagénomiques lient la dysbiose chez l'Homme aux syndromes métaboliques. La diminution de la richesse bactérienne au niveau du microbiote est corrélée à des dyslipidémies, résistance à l'insuline et à l'inflammation. Alors que l'augmentation de la richesse bactérienne est corrélée à des effets anti-inflammatoires et à la production des SCFA (e.g. butyrate, connu pour son rôle anti-inflammatoire) (Karlsson et al., 2013; Le Chatelier et al., 2013; Qin et al., 2012). Chez les patients diabétiques non traités, une baisse dans la

concentration du butyrate est constatée. Cette baisse est reversée après traitement par la metformine (Forslund et al., 2015).

De plus, l'effet pathogène d'une flore peut être dû à la modification du rendement énergétique contrôlé par des paramètres liés d'une part à la flore et d'autre part à l'hôte. Par exemple, les AG à courtes chaînes (e.g. l'acétate et le propionate) produits par le microbiote intestinal peut contrôler l'efficacité intestinale en terme d'absorption lipidique. A travers la stimulation de leur récepteur, le GPR41 (G protein-coupled receptor 41, exprimé par une famille de cellules endocrines de l'épithélium) qui conduit à la production de l'hormone PYY, les AG à courtes chaînes (SCFA, *short chain free fatty acids*) réduisent le transit intestinal et augmentent la motilité intestinale ce qui optimise l'absorption intestinale des lipides et ainsi l'apport énergétique (Samuel et al., 2008).

b) La balance *Bactéroidies/Firmicutes*; Vraie ou fausse ? La notion de fonction :

Récemment, des études remettent en cause l'existence d'un déséquilibre de la balance entre les *Bactéroidies* et les *Firmicutes* (au profit des *Firmicutes*) au cours de l'obésité (Duncan et al., 2008). De plus Daniel H. et al montrent que l'impact du régime obésogène sur la souris est plus important au niveau fonctionnel qu'au niveau de la composition bactérienne (Daniel et al., 2014). De façon similaire, une étude réalisée sur 98 volontaires montre que l'obésité est liée à une augmentation de la production des SCFA sans modification profonde sur la balance en *Bactéroidies* et *Firmicutes* (Schwiertz et al., 2010).

c) *Akkermansia muciniphila* :

Appartenant au phylum des *Verrucomicrobiaceae*, *Akkermansia muciniphila* est à l'origine de nombreuses publications scientifiques sur la relation entre la flore intestinale et le métabolisme. *Akkermansia muciniphila* représente jusqu'à 5% du microbiote intestinal d'un sujet sain. Au cours de l'obésité, l'abondance de cette souche bactérienne diminue et sa ré-administration par voie orale chez des souris obèses entraîne une perte de masse grasse et reverse le phénotype pathologique des souris (i.e. amélioration de la sensibilité tissulaire à l'insuline, diminution de l'inflammation du TA et diminution de l'endotoxémie) (Everard et al.,

2013). De façon intéressante, l'équipe de Levy a montré que l'amélioration du métabolisme et du T2D était fortement liée à une bonne représentativité d'*Akkermansia muciniphila* au niveau du microbiote intestinal. De plus, l'amélioration de l'état métabolique des souris était indépendante du rapport *Bactéroidies/Firmicutes*. Ce qui à nouveau remet en cause l'hypothèse liant la dérégulation de la balance *Bactéroidies/Firmicutes* et l'obésité et au T2D (Anhe et al., 2015).

d) *Segmented filamentous bacteria* :

La *Segmented filamentous bacteria* (SFB) est une bactérie qui colonise la partie distale de l'intestin grêle chez la souris. Son adhésion aux cellules épithéliales stimule la production de peptides antimicrobiens et de cytokines immuno-modulatrices. L'ancrage aux cellules épithéliales est important pour une induction efficace de la réponse TH17 « antigène spécifique » au niveau de la lamina propria. Par contre, l'induction de la production d'IgA par SFB implique un mécanisme différent par lequel les antigènes libérés par SFB sont suffisants. SFB induit le développement d'organes lymphoïdes secondaires / tertiaires ayant un centre germinatif (source d'IgA) ainsi qu'une la réponse TH17 (Lécuyer et al., 2014). D'autre part, l'analyse de la population des ILC3 montre que SFB a un effet sur la fonction de ces cellules (production d'IL-22) par un mécanisme indépendant de son ancrage sur les cellules épithéliales. Il est important de rappeler que les souris axéniques, utilisées comme contrôles, présentent la même fréquence d'ILC3 mais incapables de produire de l'IL-22 (Atarashi et al., 2015a; Schnupf et al., 2015). De plus, des expériences sur des souches bactériennes retrouvées chez l'homme montrent que l'ancrage bactérien sur l'épithélium intestinal est important pour une induction efficace de la réponse TH17 antigène-spécifique (Atarashi et al., 2015a).

Malgré que SFB n'ait pas encore été isolé chez l'homme, le séquençage de l'ARN 16S bactérien montre que cette souche bactérienne (ou similaire) existe aussi au niveau du tractus gastro-intestinal chez l'Homme et sa présence diminue au cours de la maladie de Crohn (Caselli et al., 2013).



## 2. La dysbiose et la perméabilité intestinale :

La dysbiose caractérisée par une augmentation du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* est caractérisé par une augmentation de l'apport énergétique provenant du bol alimentaire et une augmentation du stockage de triglycéride au niveau du foie et du TA (Figure II-3) (Bäckhed et al., 2004; Turnbaugh et al., 2006). Il est intéressant de noter que la dysbiose et ses effets métaboliques sont transmissibles à travers la transplantation de flore intestinale (Ridaura et al., 2013).

L'un des effets majeurs de l'obésité est la dérégulation de l'intégrité intestinale est le passage d'antigènes alimentaires et de MAMPs vers des tissus comme le foie, le TA, le muscle et le cerveau, dans lesquels ils vont induire à une stimulation anormale du système immunitaire (Winer et al., 2017).

Les composés inflammatoires, comme le LPS, passent la barrière intestinale selon deux mécanismes de transport, un transport paracellulaire et un transport transcellulaire. Au cours de l'obésité, les deux mécanismes de transport augmentent la perméabilité intestinale, d'autant plus que le niveau d'expression des gènes des jonctions serrées diminue (Cani et al., 2008). D'autre part, les régimes riches en graisse augmentent la formation de structures, appelées chylomicrons, qui favorisent le transport des lipides, dont le LPS, de la lumière intestinale vers la circulation sanguine (Ghoshal et al., 2009). De plus, des bactéries entières peuvent également passer vers la circulation grâce à la phagocytose assurée notamment par les cellules caliciformes (Birchenough et al., 2016).

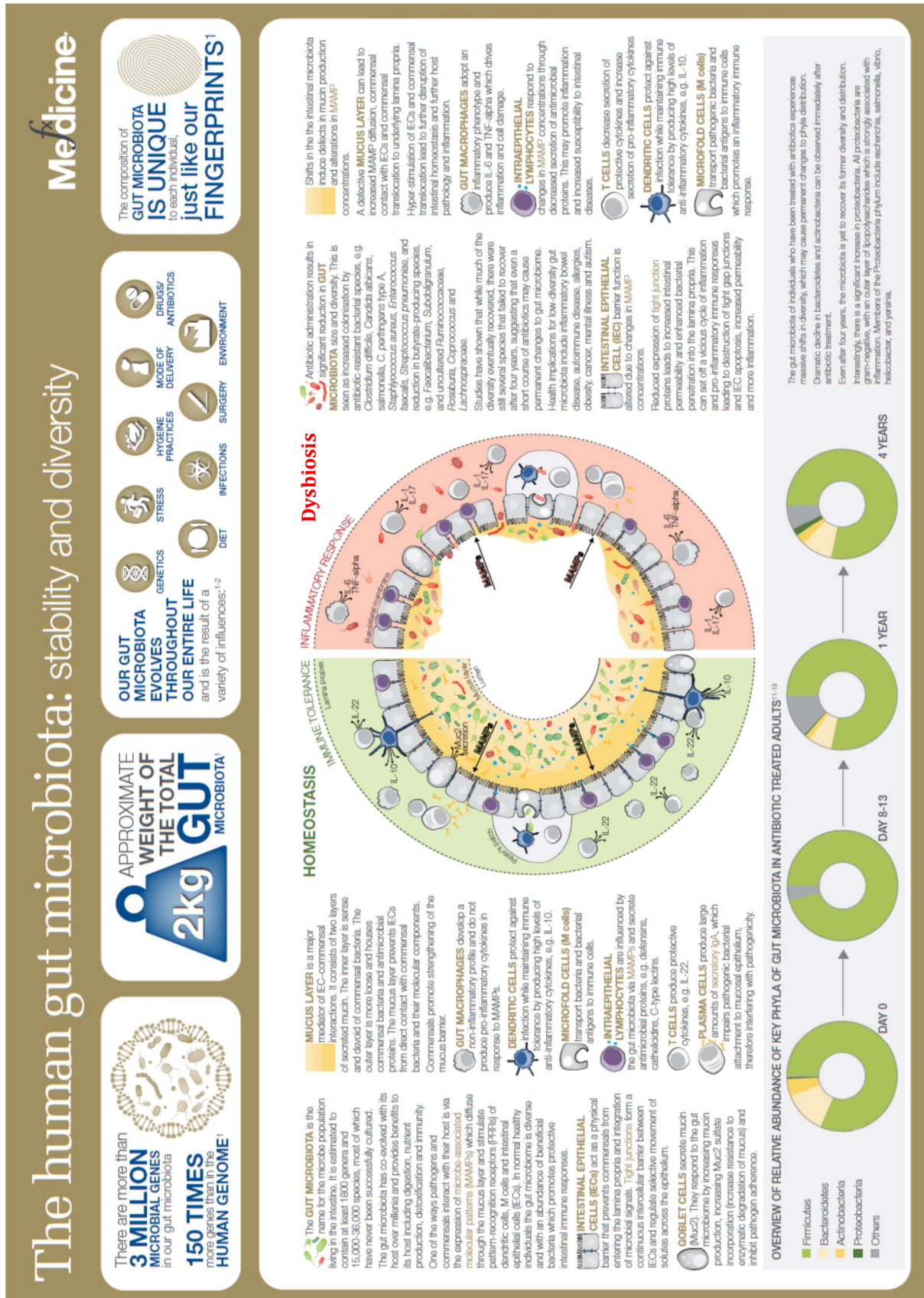


Figure II-3: Evolution de la flore intestinale au cours de l'inflammation (FX Medecine, 2016).

### 3. Le microbiote intestinal et l'insulino-résistance :

Depuis 2004, des expériences de reconstitution de souris axéniques ont mis en évidence un rôle pathogène de certaines flores intestinales (e.g. flore issue de souris obèse) dans l'induction de l'insulino-résistance et le développement du T2D. De nombreux mécanismes moléculaires ont été impliqués et la relation entre le microbiote et cette maladie métabolique. Dans les travaux de Backhed et al, il a été proposé que l'angiopoietin-like protein 4 (Fiaf), un inhibiteur de la LPL (lipoprotéine lipase), et les facteurs de transcription lipogènes ChREBP et SREBP-1 seraient en partie impliqués dans ce mécanisme. La flore de sujets obèses induit une diminution de l'expression de Fiaf et une augmentation de l'expression de ChREBP et SREBP-1. Ces trois molécules intervenants dans le métabolisme lipidique, l'effet de la flore pathogène sur leur niveau d'expression conduit à une lipotoxicité cellulaire suite à l'accumulation des TG au niveau des hépatocytes et des adipocytes (Backhed et al., 2004).

Par ailleurs, Cani et al montre pour la première fois la mise en place d'une endotoxémie (par l'augmentation de la concentration du LPS circulant) métabolique chez les souris obèses. Le LPS serait responsable de l'induction de l'obésité et de l'insulino-résistance hépatique à travers l'activation du TLR4 (Cani et al., 2007). L'endotoxémie serait due à une modification de la composition bactérienne chez les souris obèses, combinée à une augmentation de la perméabilité intestinale (Cani et al., 2008). Il est intéressant de noter que le LPS peut induire son effet inflammatoire *via* l'immunomodulation des cellules immunitaires (e.g. macrophages) mais aussi par une action directe sur des tissus insulino-sensibles comme le TA. En effet, il a été montré que les adipocytes expriment du TLR4 fonctionnel et que cette expression est augmentée lors de l'obésité. L'activation des adipocytes *via* le TLR4 conduit à une augmentation de l'inflammation à travers l'augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires (e.g. IL-6 et TNF $\alpha$ ) et de CCL2 qui contribue à l'infiltration massive des macrophages au niveau de ce tissu (Caesar et al., 2015; Shi et al., 2006a). Dans cette même étude, celle de 2015, la source des lipides alimentaires et leurs propriétés sont déterminantes dans le développement de dysbiose liée « à l'endotoxémie métabolique ». Une alimentation riche en lipides saturés (e.g. lipide d'origine porcine) conduit à une flore riche en *Bilophila* et *Bacteroides* puis à l'augmentation de la translocation de LPS, contrairement à une alimentation riche en lipides issus de poisson qui contribue au développement d'une flore protectrice riche en *Akkermansia*, *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (Caesar et al., 2015).

#### 4. Vitamine B, obésité et l'inflammation :

Sur une cohorte norvégienne de 2797 femmes enceintes, analysées avant et au cours de la grossesse, plusieurs paramètres métaboliques, nutritionnels et inflammatoires ont été analysés pour établir des tables de corrélations multiparamétriques. Une corrélation inverse entre l'IMC et les vitamines B2 (riboflavine), B6 (la pyridoxine), B9 (acide folique) et B12 (cobalamine), et une corrélation positive entre l'IMC et le marqueur d'inflammation cellulaire KTR (kynurenine/tryptophan) ont été observées (Bjørke-Monsen et al., 2016). D'autre part, une équipe américaine a émis l'hypothèse d'un rôle délétère de certaines vitamines B, dont la riboflavine, dans la prévalence à l'obésité (Zhou et al., 2010). D'autres travaux se sont intéressés au rôle immuno-modulateur de la vitamine B2 sur les macrophages. Des tests *in vitro* ont montré que la riboflavine favorise le phénotype M2 (anti-inflammatoire) sur le phénotype M1 (inflammatoire) des macrophages et que ces cellules étaient incapables d'induire une réponse immunitaire efficace après stimulation (Mazur-Bialy and Pocheć, 2016; Mazur-Bialy et al., 2015).

#### 5. Les traitements probiotiques :

L'étude du lien entre la flore intestinale et la santé a commencé il y a plusieurs décennies. Les travaux visant à soigner certaines maladies par la manipulation de la flore intestinale ont commencé très tôt. Des « thérapies probiotiques » ont commencé en Suède depuis 1954 pour soigner la tuberculose (FORSGREN, 1954). En 1989, Fuller définit les traitements « probiotiques » et les conditions de préparation. Composés exclusivement de bactéries vivantes, ces traitements contribuent au rétablissement de la flore intestinale normale (Fuller, 1989). En 1995, les chercheurs commencent la manipulation de la composition bactérienne grâce à des additifs alimentaires. Dans le but d'améliorer le bien-être et la santé des patients à travers les colonisateurs du tube digestif, la notion des aliments « prébiotiques » est née (Gibson and Roberfroid, 1995).

### III. L'intestin :

L'intestin humain est un exemple de symbiose entre d'une part un microbiote intestinal complexe (i.e. regroupe les trois grands domaines de la vie : Les Archées, les bactéries et les eucaryotes) et d'autre part un organisme dont il a besoin mais contre lequel il se défend.

#### A. Fonctions intestinales :

##### 1. Le « *sensing* » des nutriments :

Le système digestif en général et l'intestin en particulier est considéré comme un organe sensoriel par excellence. L'intestin est muni de plusieurs capteurs qui assurent la reconnaissance de facteurs chimiques et mécaniques apportés par le bol alimentaire, et les micro-organismes. Au niveau de l'épithélium intestinal, plusieurs cellules sensorielles possèdent un rôle endocrine comme les cellules L, K, I et D. Une part du mécanisme sensoriel fait appel à des récepteurs couplés à la protéine G qui traduisent les facteurs chimiques du bol alimentaire en une signalisation nerveuse ou endocrine (i.e. hormones intestinales comme PYY, ghréline, cholecystokine et GLP-1) (Janssen and Depoortere, 2013; Janssen et al., 2011). A travers ces signalisations, le système nerveux central contrôle la quantité et la qualité des nutriments absorbés et envoie en retour des signaux qui indiquent la sensation de faim ou de satiété. Un dérèglement de la boucle intestin-SNC est l'une des causes principales du développement de l'obésité.

D'autre part, l'intestin est capable de reconnaître certains composés alimentaires et présente des propriétés immunologiques (Winer et al., 2017).

##### a) L'aryl hydrocarbure :

L'Ahr (Aryl hydrocarbon Receptor) est un facteur de transcription dont le ligand est généralement d'origine végétale. Il est impliqué dans l'homéostasie intestinale à travers le développement et la maturation fonctionnelle du système immunitaire de cette muqueuse.

Des souris AhR<sup>-/-</sup> ont une réduction significative de cellules intra-épithéliales (i.e. LT-CD8 $\alpha$ , LT $\gamma$  $\delta$  et ILC3) (Kiss et al., 2011). De plus, l'AhR est important dans la fonction homéostatique des ILC productrices d'IL-22. Ainsi, les régimes pauvres en fruits et légumes (e.g. régime occidental riche en graisse) induisent une dérégulation du système immunitaire intestinal, qui combinée à la dysbiose (e.g. due à l'obésité) peut conduire à des complications métaboliques. Un autre ligand d'AhR, l'indole-3-aldéhyde, produit par certaines bactéries intestinales à partir du tryptophane, induit la production d'IL-22 par les ILC3 et les TH17 intestinales, ce qui assure une homéostasie intestinale (Lee et al., 2011a; Veldhoen et al., 2008).

b) Les acides gras saturés et poly-insaturés :

Il est de plus en plus établi que les AG saturés ont un effet inflammatoire sur le système immunitaire (Veldhoen and Brucklacher-Waldert, 2012). Ces derniers peuvent induire une réponse inflammatoire par les macrophages par l'intermédiaire des TLR2 et TLR4 (Shi et al., 2006b). Alors que les AG polyinsaturés (e.g. Oméga 3) réduisent cette réponse inflammatoire par le récepteur GPCR GPR120 (Oh et al., 2014). Le cholestérol, à travers ses dérivés oxystérol ou les acides biliaires, peut activer les récepteurs LXR (Liver X Receptor) et FXR (Farnesoid X Receptor). Cette activation réduit la différenciation des LT TH17 (pour le LXR) et induit une réponse anti-inflammatoire (i.e. induction de la thermogénèse et réduction de l'insulino-résistance) (Cui et al., 2011; Fang et al., 2015). Ainsi, les régimes riches en graisses sont responsables de la réduction des populations TH17 au niveau de l'intestin, ce qui est associé au développement d'insulino-résistance (Garidou et al., 2015).

L'inflammasome NLRP3 exprimé au niveau des cellules intra-épithéliales permet de détecter les lipides (e.g. céramide ou des cristaux de cholestérol) et induit une inflammation à travers la production de cytokines telles que l'IL-1 $\beta$  et l'IFN $\gamma$  et contribue au syndrome métabolique lié à l'obésité (Vandanmagsar et al., 2011; Wen et al., 2011; Yan et al., 2013).

c) Les vitamines :

L'hôte est doté de récepteurs de vitamines (ou leurs métabolites) tels que le récepteur de l'acide rétinoïque (dérivé de la vitamine A) ou le récepteur de la vitamine D. L'activation de ces récepteurs induit des modifications transcriptionnelles du système immunitaire et inné.

En effet, l'acide rétinoïque permet la conversion des LT-CD4 conventionnels en iTreg au niveau des GALT de l'intestin grêle. L'acide rétinoïque stimule la production du TGF $\beta$  par les cellules dendritiques à l'origine de l'induction des iTreg (Sun et al., 2007). D'autre part, la vitamine D est requise pour le bon développement des LT-CD8 $\alpha\alpha$ , une population immunitaire nécessaire pour l'homéostasie intestinale. Un défaut de vitamine D ou la délétion de son récepteur conduit à une diminution importante des LT-CD8 $\alpha\alpha$  fonctionnels à l'origine d'inflammations gastro-intestinales (Bruce and Cantorna, 2011).

## 2. Contrôle de l'absorption/perméabilité :

La perméabilité intestinale est l'une des fonctions entérocytaires les plus affectées et est associée à plusieurs maladies inflammatoires et métaboliques.

A l'état basal, on distingue deux mécanismes de perméabilité intestinale qui permet aux molécules de transloquer de la lumière intestinale vers la circulation sanguine. Une perméabilité trans-entérocytaire spécifique (par endocytose de molécules reconnues par des récepteurs spécifiques) ou non spécifique (e.g. molécules entraînées, de façon indifférente, par les micelles qui traversent les cellules épithéliales) à et une perméabilité para-entérocytaire où les micro- et macromolécules traversent la muqueuse à travers les interstices entre entérocytes (Bjarnason et al., 1995; Groschwitz and Hogan, 2009).

Les cellules épithéliales adhèrent les unes aux autres pour d'une part, assurer une symbiose métabolique et électrique (à travers les jonctions communicantes) entre les cellules et d'autre part, pour servir de barrière mécanique qui permet de limiter la translocation transmembranaire non spécifique (à travers les jonctions serrées) (Groschwitz and Hogan, 2009).

Les jonctions serrées sont des complexes multiprotéiques formées de protéines transmembranaires (e.g. occludines et claudines) auxquelles sont liées des protéines intracellulaires (e.g. zonula occludens « ZO ») (Niessen, 2007). L'occludine (Occ) est la protéine la plus importante qui constitue les jonctions serrées.

L'occludine renforce la barrière épithéliale, en liaison à d'autres protéines adaptatrices telles que les zonulines (ZO), et confère une certaine sélectivité de translocation moléculaire (Howarth and Stevenson, 1995).

Les claudines, tout comme les occludines, sont des protéines transmembranaires mais à poids moléculaire plus faible et il en existe 27 (Mineta et al., 2011).

Les zonulines sont des protéines cytoplasmiques capables d'interagir avec des protéines transmembranaires (e.g. occludine et claudines), avec les protéines du cytosquelette (i.e. actine et myosine) et avec d'autres protéines adaptatrices. On compte trois isoformes de zonuline (ZO-1, 2 et 3) (Guillemot et al., 2008).

La rupture de la barrière intestinale est un phénomène lié à plusieurs maladies inflammatoires telles que l'obésité et l'insulino-résistance. Le lien entre la dysbiose intestinale et l'augmentation de la perméabilité intestinale est décrit dans plusieurs travaux de recherche. Au cours de l'obésité, le changement de la composition bactérienne entraîne une augmentation du contenu fécal en endotoxines (e.g. LPS). Le LPS, à l'origine de l'inflammation des cellules épithéliales (*via* le TLR4), conduit à une diminution de l'expression des protéines qui forment les jonctions serrées. Aussi, l'IL-1 $\beta$  et l'IFN $\gamma$  dont l'expression augmente au niveau de l'intestin des souris obèses, contribuent à la réduction de l'expression de ces protéines de jonction épithéliale (Al-Sadi and Ma, 2007; Luck et al., 2015). D'autre part, l'obésité est associée à une baisse précoce de l'expression des peptides antimicrobiens (AMPs) (i.e. RegIII $\beta$  et RegIII $\gamma$ ). Ce phénomène provoque une dysbiose qui participe à la perméabilité intestinale (Garidou et al., 2015).

La rupture des jonctions serrées conduit à une augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale à travers laquelle transloquent des composés inflammatoires (i.e. endotoxines) et même des bactéries entières vers la circulation sanguine (Cani et al., 2007; de La Serre et al., 2010). De plus, l'alimentation riche en graisses (i.e. régime occidental) facilite la translocation des endotoxines et des bactéries grâce aux lipides (i.e. micelles) (Amar et al., 2008). De façon intéressante, les travaux du Dr Cani ont montré que le phénomène d'hyper-perméabilité intestinale pathologique était réversible. Un traitement antibiotique à des souris obèses, *ob/ob* ou sous régime gras, permet le rétablissement de l'intégrité intestinale (Cani et al., 2007, 2008).

*Akkermansia muciniphila*, une souche bactérienne capable de digérer le mucus (d'où son nom), est utilisée comme traitement probiotique capable de réduire la perméabilité intestinale chez les souris obèses. Son action passerait par la stimulation de la production du mucus et des AMPs. Ainsi, *Akkermansia muciniphila*, permet le rétablissement de la barrière



mécanique qui sépare la flore bactérienne des cellules épithéliales et ainsi permet de réduire l'endotoxémie métabolique due à l'obésité (Everard et al., 2013).

Plus récemment, une rupture de la barrière intestinale a été décrite chez les patients séropositifs ainsi que dans des modèles simiens d'infection au virus HIV. Cette hyperperméabilité serait due à l'activation systémique et chronique du système immunitaire et par conséquent l'inflammation de la muqueuse intestinale (Brenchley et al., 2006).

Ces observations remettent en cause, encore une fois, les hypothèses qui donnent comme seul élément déclencheur de l'hyperperméabilité intestinale le changement de la composition du microbiote intestinal (de La Serre et al., 2010).

### 3. Stockage énergétique :

L'intestin a longtemps été considéré comme un organe dont le rôle unique était d'assimiler et absorber les nutriments distribués aux différents organes à travers la circulation sanguine. Des recherches récentes ont montré que cet organe joue également un autre rôle de stockage du glucose sous forme de glycogène, qui contribue à hauteur de 25% du glucose circulant en période de jeûne (Mithieux and Gautier-Stein, 2014). Une alimentation riche en fibre exerce un rôle bénéfique dans la réduction de l'obésité et du T2D. L'un des mécanismes de l'action des fibres implique la glyconéogenèse intestinale. Grâce aux bactéries intestinales, la fermentation des fibres produit des AG à courte chaîne (SCFA), comme le butyrate et le propionate, qui activent par deux mécanismes différents la glyconéogenèse intestinale (Flint et al., 2012). Le butyrate a une action directe sur les cellules épithéliales alors que l'action du propionate passe par le système nerveux central (De Vadder et al., 2014; Gautier-Stein et al., 2006).

Le bypass est l'une des opérations chirurgicales pratiquée chez les personnes atteintes d'obésité morbide. Elle est caractérisée par une amélioration rapide de l'état métabolique des patients. Certaines études ont montré que cet effet passe par l'augmentation de la production du GLP-1 (Sala et al., 2012; Thaler and Cummings, 2009). D'autre part, des travaux chez la souris montrent que la glyconéogenèse intestinale peut jouer un rôle dans l'amélioration des paramètres métaboliques après le bypass. Ainsi, l'intestin grêle, peu actif en glyconéogenèse dans les conditions normales, augmente son activité de glyconéogenèse ce qui contribue, avec

l'augmentation de la production du GLP-1 à l'état de rémission après le bypass (Troy et al., 2008).

#### 4. Contrôle de la localisation bactérienne :

##### a) La compartimentation et la diversité bactérienne:

Le contact hôte-microbiote intestinal s'établit depuis la naissance (Dominguez-Bello et al., 2010). Des changements profonds dans la composition de la flore intestinale se déroulent au cours de la vie, ce qui suggère la présence de processus de « déterminisme » particulier qui contrôle le microbiote au cours du développement (Hasegawa et al., 2010; La Rosa et al., 2014). L'intestin est composé de plusieurs compartiments qui correspondent à des habitats microbiens distincts. Schématiquement, l'intestin est compartimenté en trois parties. L'intestin grêle, le caecum et le colon. Des différences physiologiques existent entre ces compartiments, dont un gradient de composés chimiques et de nutriments différents ainsi qu'une compartimentation de l'activité du système immunitaire tout au long du tractus. A titre d'exemple, l'intestin grêle est plus acide et contient plus d'oxygène et d'AMPs que le colon. Les acides biliaires, du fait de leur composition enrichie en surfactants, sont bactéricides pour les *Bacteroidetes* contrairement aux *Firmicutes* (Islam et al., 2011). D'autre part, la vitesse du péristaltisme et sa magnitude influence l'adhésion bactérienne et compromet le développement de bactéries adhérentes au niveau de l'intestin grêle comparé au colon (Donaldson et al., 2016).

L'analyse du microbiote iléal chez l'Homme montre une diversité bactérienne faible au niveau de ce compartiment, particulièrement enrichi en *Proteobacteria* et en *Clostridium*. L'analyse métagénomique montre une utilisation préférentielle des sucres simples par les bactéries de ce compartiment (Zoetendal et al., 2012). Tout au long de l'intestin grêle, l'organisme hôte est en compétition avec les micro-organismes du microbiote pour les nutriments du bol alimentaire et il utilise la bile et les peptides anti-microbiens pour limiter leur développement. Le caecum et le colon contiennent une densité importante en micro-organismes. Ils assurent la digestion des fibres végétales non digérées au niveau de l'intestin grêle. La faible concentration en peptides anti-microbiens, le faible transit intestinal et l'absence de source

de sucres simples, facilitent le développement de bactéries spécialisées dans la fermentation de polysaccharides notamment les *Bacteroidaceae* and *Clostridiaceae*. Le caecum murin est enrichi en *Ruminococcaceae* et *Lachnospiraceae*, alors que le colon est enrichi en *Bacteroidaceae* et *Prevotellaceae* (Gu et al., 2013). Au sein d'un même compartiment (e.g. colon), il existe des différences entre la composition de la flore de la lumière comparée à celle qui se trouve à proximité de l'épithélium ou au niveau des plissements intestinaux (i.e. cryptes) (Nava et al., 2011; Pédrón et al., 2012).

b) Les facteurs qui contrôlent la localisation bactérienne :

- Les cellules de Paneth localisées au niveau des cryptes de l'intestin grêle produisent une variété d'AMPs qui participent au contrôle de la croissance des microorganismes du microbiote intestinal (Bevins and Salzman, 2011). La plupart de ces AMPs sont chargés positivement (cations) et interagissent avec la surface bactérienne, chargée négativement. L'un des mécanismes de résistance bactérienne à ces AMP est la modification du lipide A (un composant majeur de la membrane externe des bactéries gram (-)) (Needham and Trent, 2013). Par exemple, une diminution du niveau de phosphorylation de ce composé du LPS bactérien est un paramètre primordial qui permet la colonisation au *B. thetaiotaomicron* durant l'inflammation. Il est d'ailleurs intéressant de noter que la bactérie pathogène *Helicobacter pylori* partage cette propriété de résistance aux AMPs (Cullen et al., 2015). Au niveau de l'intestin grêle la lectine RegIIIγ est bactéricide pour les bactéries gram (+). Elle reconnaît et déstructure les membranes qui expriment des peptidoglycanes (PGN). Sa production baisse partant de la partie proximale vers la partie distale de l'intestin. Ceci permet l'augmentation du nombre de bactéries et de leur diversité niveau de la partie distale (Vaishnava et al., 2011a).

Comme alternative à certains AMPs, auxquels certaines souches bactériennes développent une résistance, le système immunitaire inné de l'intestin produit d'autres facteurs anti-microbiens comme les  $\alpha$ -défensines (produites par les cellules de Paneth) et les  $\beta$ -défensines (produites par les neutrophiles) (Gallo and Hooper, 2012). Par contre les *Firmicutes* et *Bacteroidetes* sont généralement résistants à ce type d'AMPs (Cullen et al., 2015). Le rôle de ces AMPs est de limiter, spécifiquement, l'accès à l'épithélium pour certaines souches pathogènes.

En plus de ces AMPs, les cellules épithéliales établissent un gradient de concentration en ROS (*reactive oxygen species*), bactéricide pour les bactéries qui sont généralement anaérobiques. De façon intéressante, certaines espèces, comme *B. fragilis* développent une résistance et commencent même à l'utiliser, à leur profit, comme accepteur terminal d'électron au niveau de leurs chaînes métaboliques (Baughn and Malamy, 2004). De plus, *B. fragilis* et d'autres espèces expriment des catalases, *superoxide dismutase* et d'autres enzymes qui permettent d'inhiber la réactivité des ROS (Miyoshi et al., 2003).

Tous ces mécanismes montrent l'active adaptation de l'hôte vis-à-vis du microbiote et inversement celle du microbiote envers son micro-environnement.

- La MUC2 secrétée forme des liaisons peptidiques pour produire une substance gélatinée qui sert de barrière mécanique et chimique pour défendre l'épithélium (Needham and Trent, 2013; Pelaseyed et al., 2014). Les souris MUC2<sup>-/-</sup> présentent des cryptes submergées en bactéries qui sont en contact direct avec les cellules épithéliales. Ce contact non régulé, contribue au développement de l'inflammation et du cancer dans ce modèle murin (Johansson et al., 2008). Par contre, certaines souches bactériennes sont capables de pénétrer cette mucine et de se frayer un chemin pour entrer en contact avec les cellules épithéliales. La bactérie pathogène, *Salmonella enterica*, utilise ses flagelles et le chimiotaxisme pour atteindre l'épithélium alors que *E. coli* ou *Shigella flexneri* produisent une protéase (*mucin-binding serine protease*) comme Pic ou M60-like, qui permet de digérer rapidement la couche de mucine (Luo et al., 2014; Nakjang et al., 2012; Navarro-Garcia et al., 2010). Ces protéases, spécialement la M60-like, sont nécessaires pour l'ancrage des bactéries sur les villosités enterotypiques (Luo et al., 2014).

L'ancrage bactérien sur la surface épithéliale induit la production de mucine. Une manière pour les souches bactériennes capables de pénétrer le mucus de limiter l'accès à l'épithélium et donc aux nutriments qui se trouvent à proximité des autres espèces bactériennes (Navarro-Garcia et al., 2010). Si *Helicobacter* adhère sur les cellules épithéliales grâce aux glycanes de surface, *SFB* s'ancrent intimement sur l'épithélium (Davis and Savage, 1974; Mahdavi et al., 2002). Le mécanisme de cet ancrage n'est pas encore déterminé, mais les images électroniques faites par l'équipe de N.C. Bensussan montrent que la cellule épithéliale accroît cet ancrage grâce à l'accumulation des filaments d'actine autour du point d'ancrage (Schnupf et al., 2015). Ce mutualisme permet d'assurer une maturation du système immunitaire de

l'intestin et a été impliqué dans certaines maladies auto-immunes dans les modèles murins (Ivanov et al., 2009; Lee et al., 2011b; Wu et al., 2010).

Ce mutualisme peut induire une pathogénicité au profit de certaines bactéries pathogènes. *Listeria monocytogenes* est capable d'adhérer aux cellules épithéliales grâce à l'interaction entre internalin A (bactérien) et E-cadherin (cellulaire). Cet ancrage induit la phagocytose à l'origine de l'invasion de ce pathogène (Lecuit et al., 2001). *S. Typhimurium*, de son côté, induit une inflammation médiée par les neutrophiles. Cette inflammation contribue, paradoxalement, à l'apparition d'infections car elle promeut le développement des souches pathogènes au profit des couches commensales (McCormick et al., 1993; Winter et al., 2010). Par ailleurs, des souches commensales comme *Lactobacillus spp* peuvent tapisser la surface épithéliale afin de protéger l'intestin contre l'invasion de pathogènes (e.g. levure, staphylocoque) (Morotomi et al., 1975; Savage, 1969).

Ces observations montrent que l'adhésion bactérienne à l'épithélium est une stratégie utilisée à la fois par les souches pathogènes pour leur virulence et par les souches commensales pour assurer l'homéostasie intestinale.

- Le système immunitaire intestinal intervient activement pour contrôler le microbiote intestinal est prévenir l'invasion bactérienne. L'immunoglobuline sécrétée A (sIgA) recouvre la surface de la plupart des bactéries du tractus intestinal. Des bactéries adhérentes comme *Helicobacter spp.* et *SFB* sont hautement tapissées par des IgA sécrétoires (Kubinak et al., 2015; Palm et al., 2014). L'opsonisation bactérienne avec ces sIgA permet de réduire la pathogénicité des bactéries cibles. Sur des souris *Rag1<sup>-/-</sup>* (dépourvues en LT et LB) l'opsonisation de *B. thetaiotaomicron*, avant colonisation intestinale, permet de réduire les réponses inflammatoires et modifie l'expression de certains gènes bactériens (Peterson et al., 2007, 2015).

Inversement, les bactéries sont capables de moduler le système immunitaire pour s'assurer une meilleure colonisation du tractus intestinal. *B. fragilis* par exemple, induit la tolérance immunitaire à travers l'induction de la production d'IL-10 par les LTreg (Round and Mazmanian, 2010). Ce mécanisme fait appel au polysaccharide, PSA (un composant de capsule bactérienne). *B. fragilis* mime la surface épithéliale à travers la fucosylation de sa capsule pour induire une tolérance de l'hôte et faciliter sa colonisation (Coyne et al., 2005).

SFB stimule la maturation de la réponse TH17 dont il a besoin pour faciliter son ancrage et sa présence au niveau de l'intestin de l'hôte (Ivanov et al., 2009). Ces observations ont été

réalisées par des mono-colonisations. Les souches décrites ne sont pas capables, à elles seules, d'induire la maturation/réponse du système immunitaire aussi efficacement qu'un cocktail de bactéries (e.g. la flore Schaedle). La communauté bactérienne participe collectivement dans la modulation de la réponse immunitaire grâce à des signaux non-spécifiques comme les SCFA représenté par le butyrate, le propionate et l'acétate issus de la fermentation anaérobie du sucre. Les SCFA induisent la production du mucus et d'IgA, le développement des LTreg et l'inhibition de la voie de signalisation inflammatoire NF- $\kappa$ B (Arpaia et al., 2013; Koh et al., 2016; Smith et al., 2013; Thorburn et al., 2014).

Les bactéries capables de métaboliser la mucine s'approprient un mécanisme de tolérance pour limiter son rejet par le système immunitaire. En effet, la mucine induit la tolérance chez les cellules dendritiques. Ainsi, les bactéries en question s'enveloppent d'une couche de mucine dégradée et s'assure une tolérance vis-à-vis de leurs antigènes en cas d'échantillonnage par les cellules dendritiques (Shan et al., 2013).

Par ailleurs, la réponse immunitaire de l'hôte évolue et s'adapte aux changements du microbiote intestinal. Au cours de l'alimentation par le lait maternel, la flore bactérienne stimule le système immunitaire par le TLR4. Au cours de cette période du développement, le tractus est riche en proteobactéries productrices des ligands du TLR4. Après le sevrage, la modulation du système immunitaire intestinal devient TLR4-independante et fait appel à d'autres PRRs (e.g. NOD1, NOD2, TLR2, TLR5, TLR9, TLR11...etc) et PAMPs (i.e. produits par *Bacteroidales* et/ou *Clostridiales* qui surclassent en nombre les protéobactéries (Hasegawa et al., 2010).

## 5. Le sensing immunitaire :

La barrière intestinale est composée de cellules de Paneth, des cellules M, d'entérocytes qui produisent essentiellement de mucus et des AMPs, ainsi que les ILC qui représentent la première ligne de défense du système immunitaire contre les pathogènes. Le microbiote intestinal et d'autres pathogènes produisent des motifs moléculaires associés aux microbes (MAMPs) qui sont reconnus par des récepteurs spécifiques à chaque type de motifs, tels que les TLRs (*Toll-like receptors*), NLRs (*nuclear oligomerization domain-like receptors*), RLRs (*RIG-*

*1-like receptor*) et les récepteurs aux SCFA, GRPs. Ces récepteurs sont appelés des PRRs (pattern-recognition receptors) (Abreu, 2010; Macia et al., 2015).

A état basal, les entérocytes et les cellules de Paneth produisent des AMPs tels que l' $\alpha$ -défensine qui est produite de façon constitutive. D'autres facteurs bactéricides, comme la lectine RegIII $\gamma$  (C-lectin regenerating islet-derived protein III $\gamma$ ) nécessitent une reconnaissance du microbiote intestinal grâce aux PRRs et l'activation de la voie de signalisation MyD88 (Cash et al., 2006; Hooper and Macpherson, 2010; Ismail et al., 2011). Ces facteurs permettent le contrôle du microbiote intestinal et de le confiner au niveau de la lumière intestinale. Au niveau du colon, la mucine produite par les cellules de goblet et les facteurs antimicrobiens forment une première couche « imperméable » d'environ 50  $\mu$ m pour contrôler la localisation luminale des bactéries (appelée « zone limite »), avant de se dégrader, au-delà de cette couche et de perdre de son étanchéité pour devenir une source de nutriments et une plateforme d'adhésion pour le microbiote intestinal, alors que l'intestin grêle ne contient qu'une seule couche de mucus (Johansson et al., 2008, 2011; McGuckin et al., 2011; Vaishnav et al., 2011b). La zone limite, riche en AMPs et en oxygène sécrété par les cellules épithéliales constitue une barrière physique imperméable. Par contre, des analyses sur des biopsies de colons humains et de modèles murins montrent que le mucus est enrichi en familles bactériennes capables de dégrader le mucus comme *Bacteroides acidifaciens* chez la souris et *Akkermansia muciniphila* chez l'Homme et la souris (Berry et al., 2013; Png et al., 2010).

Des analyses au microscope électronique, puis des méthodes de fixation qui respectent les structures fines de l'intestin, mettent en évidence la présence de bactéries capables de pénétrer les couches du mucus pour s'associer directement aux cellules épithéliales au niveau des cryptes du colon (Davis et al., 1972; Savage and Blumersine, 1974; Swidsinski et al., 2005a, 2005b). Ce compartiment est particulièrement riche en *Acinetobacter spp.* et en *Proteobacteria* capables de métabolisme anaérobique (Pédrón et al., 2012). Cette colonisation particulière nécessite une adaptation mutuelle entre l'hôte (représenté par son système immunitaire) et les bactéries de ce compartiment. L'établissement, par exemple, de *B. fragilis* (bactérie présente dans le tractus humain) au niveau des cryptes du colon murin, nécessite une modulation du système immunitaire et l'utilisation particulière de nutriments issus de l'hôte.

D'autre part, des découvertes récentes mettent en lumière l'importance du fucose épithéliale dans le maintien et l'homéostasie de la flore intestinale. Ce système de régulation implique le

système immunitaire et plus particulièrement la sous-population des ILC3, le microbiote et les entérocytes pour assurer la protection de l'hôte contre les infections et les maladies inflammatoires. Ainsi, les cellules dendritiques sont stimulées par certains produits bactériens de façon TLR-dépendante pour produire de l'IL-23. Ce dernier va stimuler la production de l'IL-22 par l'intermédiaire des ILC3s. Cette IL-22 va induire la fucosylation de la surface des cellules épithéliales (grâce à l'enzyme fucosyltransferase 2) afin d'assurer la croissance/maintien de certaines souches bactériennes commensales au dépend de souches pathogènes. Ce phénomène peut être induit par des bactéries comme les bactéroïdes qui utilisent le résidu L-fucose comme source d'énergie. Anisi, le fucose, lié aux cellules épithéliales ou libéré dans la lumière intestinale, permet d'inhiber la croissance de bactéries pathogènes au profit d'une composition bactérienne homéostatique et induit également la réduction de l'expression des gène de virulence (Goto et al., 2014a; Pham et al., 2014; Pickard et al., 2014).

## B. Le système immunitaire intestinal :

### 1. Composition :

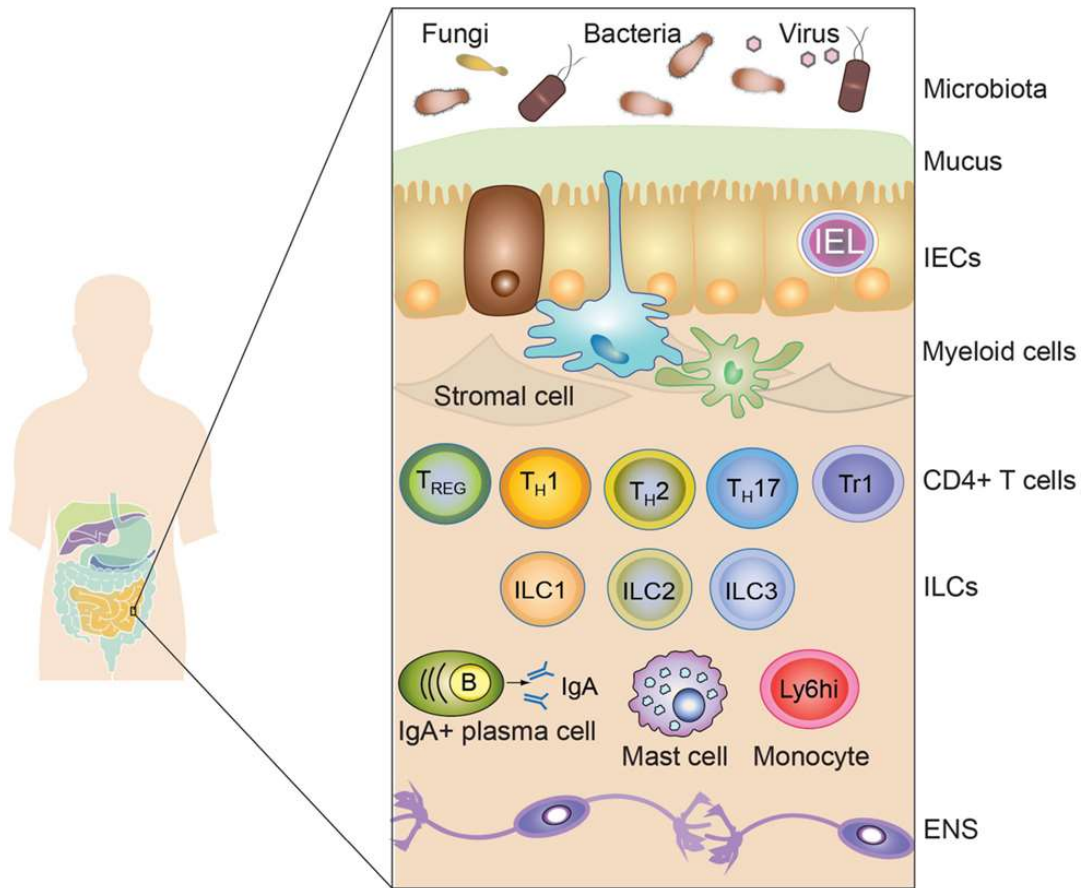
En plus de l'immunité moléculaire innée représentée par les AMPs et la mucine, la muqueuse intestinale contient des cellules immunitaires importantes pour son homéostasie (Figure III-1).

#### a) Les innate lymphoid cells, LT $\gamma$ $\delta$ et éosinophiles :

Au cours de l'obésité les **ILCs** participent activement à l'inflammation. Ce compartiment immunitaire est divisé en 3 groupes : les ILC1, 2 et 3 (Peterson and Artis, 2014).

Les ILC3 sont des cellules exprimant Ror $\gamma$ t productrices d'IL-17A et IL-22. Au cours de l'obésité, il y a réduction de la fréquence des ILC3 de la lamina propria intestinale (Luck et al., 2015). L'IL-22 produit par ces cellules contribue au maintien des tissus lymphoïdes associés au tube digestif (GALT) et protège la barrière intestinale pour contrer la dissémination périphérique





**Figure III-1: Composition du système immunitaire intestinal (Parigi et al., 2015).**

des bactéries intestinales (Sonnenberg et al., 2012). De plus, le traitement des souris obèses par de l'IL-22 permet de renforcer l'intégrité intestinale et réduit l'endotoxémie et son effet sur le métabolisme (Wang et al., 2014). L. Garidou et al reportent les mêmes observations de la baisse intestinale de la production d'IL-22 au cours de l'obésité, ainsi que l'IL-17 et l'IL-10 (Garidou et al., 2015). Un défaut de la production d'IL-23 (une cytokine qui contrôle la production et de l'IL-22 et de l'IL-17) serait à l'origine du défaut de production de l'IL-22. Une injection d'IL-23 recombinante induit les mêmes effets bénéfiques sur l'intégrité intestinale que l'IL-22 (Wang et al., 2014). Il est intéressant de noter que la baisse d'IL-17 au cours de l'obésité décrite par L. Garidou, contrairement à celle de l'IL-22, nécessite plus d'investigations pour statuer sur cette observation. En effet, leurs travaux sont focalisés sur les phases précoces (à 10 ou 30 jours de régime gras) de l'établissement de l'obésité qui peuvent ne pas refléter la réalité de cette maladie chronique.

Les **éosinophiles** intestinaux sont particulièrement impliqués dans l'homéostasie de ce tissu. Produisant à la fois d'IL-1 $\beta$  et d'IL-1 $\beta$ R (récepteur d'IL-1 $\beta$  sécrété), les éosinophiles sont d'une

part décrits comme importants dans le maintien des ILC3, la production d'IgA (un effet médié par l'IL-1 $\beta$ ) et la régulation de la réponse TH17 (un effet médié par l'IL-1 $\beta$ ) (Jung et al., 2015; Sugawara et al., 2016). Sachant que l'IL-1 $\beta$  agit sur les ILC3 et les TH17, il est important d'étudier le rôle des éosinophiles au cours de l'obésité. Des études préliminaires montrent que cette population est rapidement diminuée au cours d'un régime gras. Cette réduction est corrélée avec la perméabilité intestinale (Johnson et al., 2015).

Par ailleurs, les LT $\gamma\delta$  infiltrent fortement l'iléon et le colon des souris sous régime gras. Cependant cette observation reste non confirmés chez l'Homme (Luck et al., 2015; Monteiro-Sepulveda et al., 2015).

#### b) Les cellules présentatrices d'antigènes « APC » :

L'étude des cellules dendritiques intestinales, des macrophages et de leurs rôles dans l'obésité et le T2D est particulièrement délicate. Les données reportées dans différentes études sont parfois contradictoires. De plus, des effets différents du régime gras sont observés entre l'intestin grêle et le colon (Winer et al., 2017). Des souris soumises à un régime gras présentent une augmentation de l'expression du NF- $\kappa$ B liée à une production plus importante du TNF $\alpha$  intestinale. Cet effet est dû à la dysbiose et conduit à l'inflammation intestinale. Un état qui précède l'insulino-résistance et le T2D (Ding et al., 2010). L. Garidou et al montrent que les APC (MHC-II<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>) purifiées de l'intestin de souris obèses sont moins efficaces dans l'induction de la réponse TH17, mais présentent des propriétés inflammatoires comme l'augmentation de l'expression du NLRP3 (Garidou et al., 2015).

Chez l'Homme, l'intestin grêle des personnes obèses est fortement infiltré par les macrophages et les cellules dendritiques (en plus des cellules NK) (Pendyala et al., 2011). On retrouve cette infiltration macrophagique au niveau du colon (en plus des LT). Un régime hypocalorique contribue à la réduction de cet infiltrat inflammatoire en plus de la réduction de production de cytokines/chimiokines inflammatoires telles que TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, et CCL2 (Monteiro-Sepulveda et al., 2015).

c) Lymphocyte  $T\alpha\beta$  :

De nombreux travaux décrivent le rôle des  $LT\alpha\beta$  dans le développement de l'inflammation au cours de l'obésité. Dans les modèles murins, le pourcentage des  $LT\alpha\beta$  TH1 (i.e. producteurs d'IFN $\gamma$ ) et des  $LT-CD8^+$  au niveau du colon et de l'iléon (Luck et al., 2015). L. Garidou et al confirment l'augmentation du pourcentage des  $LT\alpha\beta-IFN\gamma^+$ . Une augmentation observée dès quatre semaines de régime gras (Garidou et al., 2015).

Les équipes de K. Clément et d'E. Brot-Laroche se sont intéressées aux populations immunitaires à localisation intra-épithéliale (au niveau du jéjunum). Les  $LT-CD8\alpha\alpha$ , connus pour leur rôle dans le maintien de l'intégrité épithéliale, sont moins fréquents chez les personnes obèses. Cette baisse est liée à l'apparition/augmentation de la fraction des  $LT-CD8\alpha\beta$  inflammatoires. *In vitro* les  $LT\alpha\beta$  purifiés de la fraction épithéliale produisent des facteurs (i.e. cytokines) qui induisent une insulino-résistance sur des cellules entérocytaires (Monteiro-Sepulveda et al., 2015).

Par ailleurs, l'obésité est liée à une réduction de la proportion des  $LTreg$  au niveau de la lamina propria iléale et colique (Garidou et al., 2015; Luck et al., 2015). Cette réduction semble être liée à la flore intestinale et ses composants (i.e. MAMPs). Les souris déficientes pour la voie de signalisation des TLRs (i.e.  $MyD88^{-/-}$ ) présentent une augmentation de la population  $LTreg$ , au cours de l'obésité et une diminution de l'inflammation intestinale (Everard et al., 2014).

La population  $LT\alpha\beta-TH17$  ( $Roryt^+$ ,  $AhR^+$ , IL-17 et IL-22) est fortement régulée par la flore intestinale (e.g. *SFB* and *Porphyromonas gingivalis*). Chez l'Homme, la proportion des cellules TH17 (ainsi que les TH22) augmente au niveau du jéjunum des patients obèses (Monteiro-Sepulveda et al., 2015). Par contre, dans les modèles murins, l'obésité liée à la baisse de bactéries comme *SFB*, conduit à une baisse de la fraction des  $LT\alpha\beta-TH17$  (en plus de la baisse de production d'IL-17) au niveau de la lamina propria iléale (Cavallari et al., 2016; Cox et al., 2014; Garidou et al., 2015). Une autre étude, par contre, montre l'absence de changement de la fréquence des  $LT\alpha\beta-TH17$  à 12 semaines de régime gras (Luck et al., 2015). La différence entre ces résultats pourrait être due aux conditions d'élevage et à la durée et la composition du régime gras, deux paramètres qui influencent la composition de la flore intestinale et ainsi le système immunitaire intestinal (Winer et al., 2017).

Les capacités migratoires des  $LT\alpha\beta$  sont analysées dans plusieurs travaux. Des études de 2014, basées sur une méthode de photo-conversion (après stimulation endoscopique), montrent

une circulation active et continue des LT (conventionnels et régulateurs) entre l'intestin et les organes lymphoïdes/tissus proximaux ou lointains (Morton et al., 2014). D'autre part, une étude de 2010 montre que la vitamine D (*via* son métabolite, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) inhibe à la fois la différenciation des LT-TH17 (en plus desLTreg) et leur migration vers les tissus inflammés. Cette différence migratoire est probablement due à la différence d'expression du CCR6 (Chang et al., 2010).

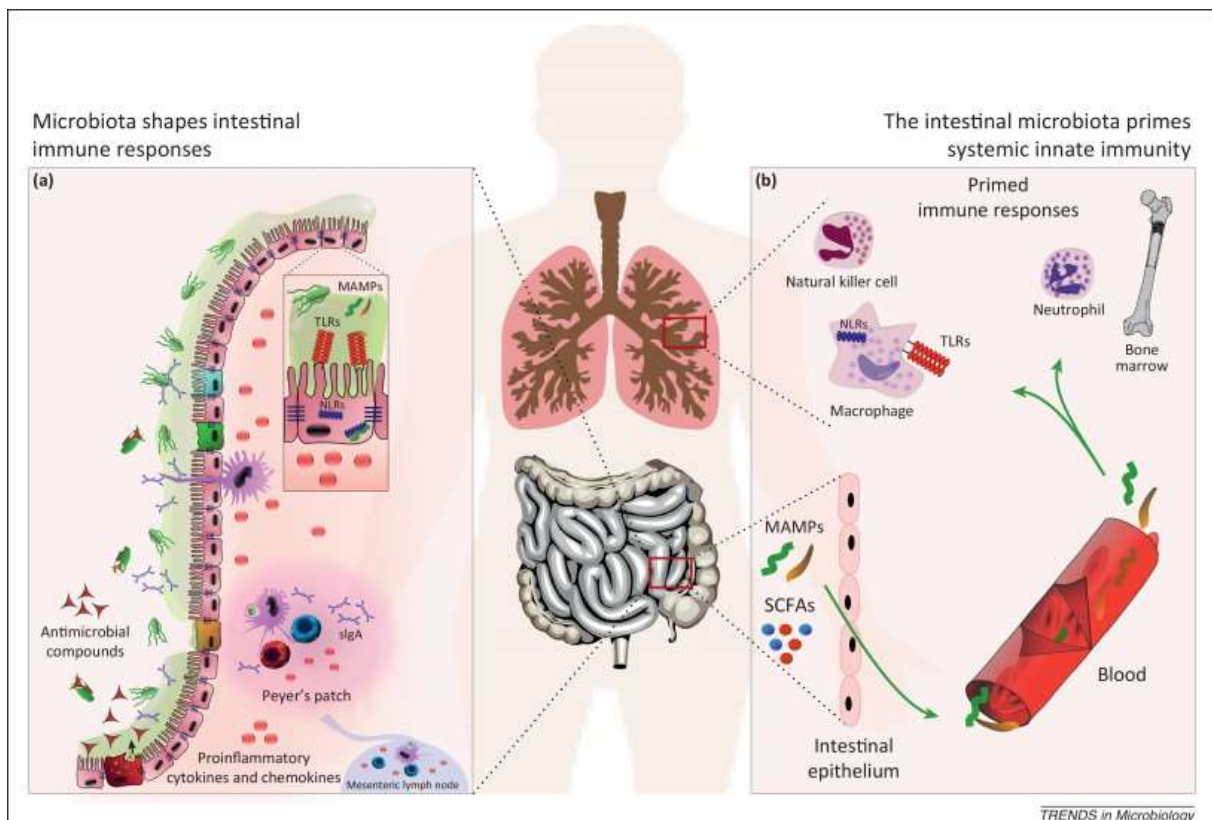
## 2. Rôle du microbiote dans le développement du système immunitaire intestinal : entre homéostasie et pathologie :

La flore intestinale, en co-évolution avec l'hôte, joue un rôle essentiel dans le développement et la fonction du système immunitaire intestinal. Les souris axéniques, dépourvues de flore intestinale, présentent un système immunitaire peu développé (Round and Mazmanian, 2009).

Comme décrit à plusieurs reprises, certaines souches bactériennes (à travers les MAMPs) influencent le développement de sous-populations particulières du SI intestinal. SFB est un fort inducteur de la réponse TH17 au niveau de l'intestin (Ivanov et al., 2009; Wu et al., 2010). *Bacteroides fragilis*, *Clostridium*, *Akkermansia muciniphila* et *Faecalibacterium prausnitzii* potentialisent de leur côté le développement et la fonction des LTreg (Atarashi et al., 2011; Furusawa et al., 2013; Lukovac et al., 2014; Round et al., 2011). Cette induction fait appel à des mécanismes différents et complémentaires. *Bacteroides fragilis* induit la tolérance (i.e. LTreg) *via* un mécanisme TLR-dépendant (i.e. TLR2/MyD88), alors que *Clostridium* utilise à un mécanisme TLR-indépendant (i.e. à travers TGFβ) et *Akkermansia muciniphila* et *Faecalibacterium* produisent des SCFA (e.g. butyrate) qui induisent de façon non spécifique des LTreg.

## a) Le microbiote intestinal contrôle l'hématopoïèse :

Les bactéries présentes dans le tractus intestinal jouent un rôle primordial dans l'établissement et le maintien d'un système immunitaire efficace au niveau de l'intestin. L'effet de cette flore apparaît au-delà du tissu de confinement pour influencer jusqu'à l'hématopoïèse. La diminution des colonies de formation des granulocytes-macrophages, le défaut du système immunitaire inné chez les souris axéniques et la corrélation complexité du microbiote/fréquence des cellules myéloïdes produites dans la moelle osseuse, montrent l'importance d'une flore saine pour l'homéostasie de l'hématopoïèse (Balmer et al., 2014; Goris et al., 1985; Tada et al., 1996). Des études ont décrit les PAMPs (comme le LPS et certains ligands du récepteur NOD1), qui peuvent être reconnus par les cellules souches du mésenchyme, comme facteurs à l'origine de la communication entre la flore intestinale et la moelle osseuse (Iwamura et al., 2017; Shi and Pamer, 2011). De plus, certains produits du métabolisme bactérien tels que les SCFA et des ligands de l'Ahr (aryl hydrocarbon receptor) comme l'indole peuvent aussi influencer le système immunitaire inné et adaptatif de façon systémique (Li et al., 2011; Trompette et al., 2014). Tous ces éléments montrent la complexité et l'envergure du dialogue entre la flore intestinale et l'hôte (Figure III-2).



**Figure III-2: Le microbiote intestinal contrôle le développement du système intestinal et systémique (Schuijt et al., 2013).**

b) Rôle de la flore intestinale dans la formation et la maturation du système immunitaire intestinal:

La flore intestinale est composée d'environ  $10^{14}$  bactéries qui jouent un rôle important dans le développement du système immunitaire intestinal. Au niveau du tractus intestinal, le système immunitaire est représenté par les GALTs, en plus de cellules immunitaires isolées au niveau de la lamina propria (LP) ou au contact des cellules épithéliales (comme les lymphocytes intra-épithéliaux (IELs) et des cellules présentatrices d'Ag (APC)) (Figure III-2). Ces structures comprennent les plaques de Payer (PP), les ganglions mésentérique (MLN), les cryptopatches (CPs) « riches en LTI et en cellules dendritiques (DCs) » (Pabst et al., 2005) et des follicules lymphoïdes isolés (ILF) « contenant une combinaison de LTI, de DCs et de LB organisés en follicule » (Eberl and Littman, 2004; Lorenz et al., 2003). Avant la naissance dans l'environnement stérile du fœtus, les PP sont formées à partir de cellules inductrices de tissus lymphoïdes (LTI) (Mebius, 2003). D'autres organes lymphoïdes secondaires tels que les CPs ou les ILFs sont formés après la naissance. La formation de la plupart de ces structures immunitaires intestinales nécessite l'expression du nuclear retinoic acid-related orphan receptor (Ror $\gamma$ t) par les LTI qui sont capables de produire la lymphotoxine  $\alpha$  (LT $\alpha$ ) (Eberl and Littman, 2004; Eberl et al., 2004; Sun et al., 2000). En effet, Ror $\gamma$ t est nécessaire pour le développement des LTI, cellules précurseurs de ces organes lymphoïdes (Eberl and Littman, 2004; Eberl et al., 2004). Par contre, le développement de follicules lymphoïdes isolés matures (ILF) implique des mécanismes liés à l'environnement inflammatoire de l'intestin après la naissance dont le TNF est un facteur inflammatoire important (Lorenz et al., 2003). Les ILFs matures s'organisent à partir des CPs après le recrutement massif de lymphocytes B (LB). La présence d'une flore intestinale complexe ou une autre source d'inflammation (maladie de Crohn ou colite) est nécessaires pour la maturation des ILFs (Hamada et al., 2002; Kaiserling, 2001; Pabst et al., 2006; Spahn et al., 2002; Yeung et al., 2000). De plus, la présence des ILFs au niveau de la partie distale de l'intestin grêle (iléon) et au niveau du colon, confirme l'importance de la flore intestinale dans la maturation du système immunitaire intestinal. En effet, comparés aux autres parties intestinales, l'iléon et le colon constituent un réservoir important de la flore intestinale (Bouskra et al., 2008). Plus précisément, des travaux du laboratoire de G. Eberl montrent que le peptidoglycane (PGN) produit par les bactéries gram(-

) est nécessaire et suffisant pour induire la formation des ILFs sous leur forme immature au niveau de l'iléon (Bouskra et al., 2008). NOD1 (nucleotide-binding oligomerization domain containing 1), le récepteur spécifique aux PGNs (Fritz et al., 2006), permet aux cellules épithéliales de reconnaître les bactéries gram(-) présentes au niveau du microbiote intestinal pour produire des facteurs inflammatoires nécessaires à l'induction des ILFs immatures au niveau de l'iléon. Ainsi, l'activation des cellules épithéliales via NOD1 induit la production de CCL20 et de la  $\beta$ -défensine 3 (deux ligands spécifiques de CCR6 (McDonald et al., 2007; Tanaka et al., 1999; Yang et al., 1999)). Par l'activation du CCR6, ces deux molécules contribuent à la formation des ILFs au niveau de l'iléon. Par ailleurs, la maturation des iILFs en mILFs au niveau de l'iléon ou la formation des ILFs (iILF et mILF) au niveau du colon impliquent d'autres mécanismes mettant en jeu d'autres familles bactériennes (regroupant et des grams(-) et des grams(+)) et d'autres PRRs tels que les TLR2/4 et NOD2, ou leur voies de signalisation Myd88 ou TRIF (Bouskra et al., 2008). Ceci est probablement dû aux différences au niveau de la physiologie de chaque partie intestinale, de la composition bactérienne de la flore localisée au niveau de l'iléon ou du colon.

Les GALT sont une source importante d'immunoglobuline A (sIgA) sécrétée au niveau de la lumière intestinale. Cette sIgA, jouant le rôle d'une opsonine, permet une surveillance permanente de la quantité et de la qualité de la flore intestinale. Les sIgA sont produites à trois niveaux de l'intestin. Tous sont dépendants directement ou indirectement de la présence du microbiote tant que les souris axéniques sont déficientes en sIgA. Les sIgA sont produites au niveau des follicules B des PPs (de façon LT-dépendants, au niveau des follicules B des mILFs (de façon LT-indépendante) (Macpherson et al., 2000; Tsuji et al., 2008) et par un mécanisme alternatif LT-indépendant qui nécessite une activation des LBs par les cytokines produites par les cellules épithéliales. La flore intestinale stimule les cellules épithéliales pour produire du APRIL (proliferation-inducer ligand) et du TSLP (thymic stromal lymphoprotein) qui à leur tour stimulent les DCs à produire du APRIL en réponse à une activation des TLRs (He et al., 2007). De plus, la production LT-indépendante des sIgA, médiée par des signaux provenant de l'épithélium, implique d'autres cytokines dont le TNF, BAFF (B-cell-activating factor of the TNF-family), CCL20 et CCL28 (He et al., 2007; Shang et al., 2008).

Comme pour l'organogénèse et la maturation de certains GALT (décrit en haut), la production des sIgA implique à des mécanismes différents selon la localisation intestinale. Des travaux, avec des modèles de mono-colonisation bactérienne, montrent que le *Bacteroides*

*acidifaciens*, ou *Citrobacter rodentium*, est capable d'induire la production des sIgA uniquement au niveau du colon (Atarashi et al., 2015b; Yanagibashi et al., 2013), alors que SFB induit cette production au niveau de l'intestin grêle (Atarashi et al., 2015b). Cette production différentielle est expliquée en partie par l'ancrage bactérien à la surface des cellules épithéliales. En utilisant différentes souches de SFB et des mutants de *C. rodentium*, une équipe japonaise a montré que l'adhésion bactérienne est un facteur important dans la production des sIgA. Ainsi, SFB qui adhère préférentiellement au niveau de l'iléon, induit la production des sIgA dans ce tissu et peu au niveau du colon. Alors que, à l'opposé, le *C. rodentium* qui adhère préférentiellement au niveau du colon, induit plutôt une production colique des sIgA (Atarashi et al., 2015b). L'ancrage bactérien stimule la production de certains facteurs tels que le SAA (serum amyloid A) et le ROS (reactive oxygen species) et semble jouer un rôle dans cette induction des sIgA (Atarashi et al., 2015b; Ivanov et al., 2009).

Le système immunitaire intestinal compte une variété de cellules lymphocytaires dont des cellules immunitaires innées. En plus des MAITs, on retrouve des iNKT, des cellules NK, des LT $\gamma$  $\delta$  et surtout des ILCs. L'intestin est particulièrement enrichi en ILC3 (sous-population des ILCs, Ror $\gamma$ t+). Les ILC3 sont particulièrement sensibles à la composition de la flore intestinale. Certes, il a été décrit que l'absence de la flore intestinale n'a aucun impact sur la présence et la fréquence des ILC3 dans l'intestin (Reynders et al., 2011; Sawa et al., 2011), mais plusieurs travaux montrent un impact du microbiote sur la fonction des ILC3. Ainsi, SFB est connu pour induire la production d'IL-22 par les ILC3. Cette production est IL-23-dépendante (Atarashi et al.; Sano et al.). Inversement, les ILC3 sont capables d'influencer la composition bactérienne. Grâce à la présentation antigénique via le CMH-II, les ILC3 sont capables d'éliminer spécifiquement certains LT-CD4 spécifiques de certaines souches bactériennes (Hepworth et al., 2015). Plus récemment, des études transcriptionnelles et épigénétiques sur les différentes sous populations d'ILCs présentes dans l'intestin grêle (ILC1 :T-bet+IFN $\gamma$ +, ILC2 :GATA-3+IL-5/13+ et ILC3 :Ror $\gamma$ t+IL-22+) montrent, d'une part, une spécificité métabolique à chaque sous-population et d'autre part une diversité au sein même de chaque sous-population (qui pourrait compter jusqu'à 5 sous-populations distinctes). Cette étude a montré que la flore intestinale a un impact sur cette diversité et qu'en absence de flore intestinale toutes les sous-populations des ILC1s et ILC2s développent une signature transcriptionnelle propre aux ILC3. Ceci montre le rôle déterminant des bactéries intestinales dans l'éducation/maturation du



système immunitaire et combien ce système immunitaire est doté d'une certaine plasticité (Gury-BenAri et al., 2016).

Plus récemment des études portées sur les MAIT montrent l'importance de cette flore intestinale dans un développement thymique leur expansion tissulaire et leur fonction. Le ligand des MAIT est de nature non peptidique/lipidique. Il appartient à une nouvelle classe de ligand qui permet au système immunitaire d'assurer une protection de l'hôte contre un large éventail de pathogènes. Par ailleurs, certains pathogènes sont capables de s'adapter à l'hôte pour échapper à son système d'immuno-surveillance. Ainsi, pour assurer leur survie, ces pathogènes modifient certains de leurs composants, notamment des composants de structure. Cependant, la production de certaines vitamines telles que les vitamines B (e.g. riboflavine) reste primordiale pour le bon fonctionnement du métabolisme bactérien et pour sa survie. Cet élément fait de cette nouvelle classe de ligand (i.e. ligands issus de la voie de biosynthèse des vitamines) un moyen efficace de lutter contre certains pathogènes. Ainsi, les MAIT présentent une classe de population immunitaire importante pour l'homéostasie de l'hôte.

## IV. Mucosal Associated Invariant T cell :

La réponse immunitaire comprend deux grandes composantes interconnectées. La réponse immunitaire innée et la réponse immunitaire adaptative. La vitesse de réponse à un pathogène (ou non soi) ainsi que la spécificité de la réponse changent selon le type de la réponse impliquée. L'immunité innée est caractérisée par la réponse immédiate mais non spécifique aux pathogènes ou au soi modifié (cellules stressées). La réponse immunitaire innée comprend les barrières physiques (e.g. muqueuse épithéliale et dermique), la phagocytose par des cellules spécialisées (i.e. cellules dendritiques ou macrophage) et les facteurs/protéines sériques (e.g. le système du complément) (Lanier, 2013).

Par contre l'immunité adaptative, comme son nom l'indique, induit une réponse hautement spécifique à un pathogène. Adapter la réponse à un pathogène nécessite l'intervention de plusieurs éléments et se fait en plusieurs étapes, allant de la détection des pathogènes dans les lieux d'infection, l'échantillonnage des antigènes de ces pathogènes, leur présentation dans les organes lymphoïdes secondaires et tertiaires aux cellules répondeuses (i.e. lymphocyte B et T), l'activation et la différenciation de ces cellules, qui au départ sont des cellules naïves, acquièrent des fonctions effectrices, subissent une expansion clonale et migrent vers le site d'infection. Au cours de la différenciation, une série de mutations dirigées des LB et LT permettent de produire des récepteurs (TCR pour les LT et BCR pour les LB) spécifiques vis-à-vis d'un épitope donné. Par exemple, le répertoire des LT est dicté par des recombinaisons de segments V, (D) et J. Lors des recombinaisons, des addition/délétions de nucléotides apparaissent aux points de jonction entre les segments qui s'associent. Ceci augmente considérablement la diversité du répertoire des LT (Lanier, 2013).

Un troisième compartiment de l'immunité émerge depuis plusieurs années. Il s'agit de cellules immunitaires, appartenant soit (1) phylogéniquement à l'immunité adaptative mais qui présentent des caractéristiques innées (e.g. les  $LT\alpha\beta$  innés, LB innés et  $LT\gamma\delta$ ) ou (2) appartenant structurellement à l'immunité innée mais qui présentent des caractéristiques de l'immunité adaptative (e.g. les ILC, innate lymphoid cell). Pour le premier sous compartiment, la présence d'un récepteur invariant (ou semi-invariant) ainsi que la réponse rapide aux stimuli sont les caractéristiques principales (Lanier, 2013).

Le stade foetal est une étape particulière dans le développement/apparition de ce compartiment particulier. Il est caractérisé par une absence de l'expression de certains éléments clés de la diversification lors de la recombinaison V(D)J (i.e. le *Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT)* et le *Precursor Lymphocyte Regulated Myosin-Like Light Chain (PLRLC)*) (Hardy et al., 1996; Oltz et al., 1992). R. R. Hardy a décrit des LB CD5+ qui apparaissent lors du stade foetal du développement (Bendelac et al., 2001; Hardy et al., 1996). Ces lymphocytes, B appelés par la suite les LB1, ont une spécificité antigénique très réduite, un phénotype mémoire et une réponse IgM T-indépendante rapide contre certains pathogènes (Martin et al., 2001). En 1993, W. Haas a mis en évidence l'apparition, dans le thymus foetal, d'une sous-population de LT $\gamma\delta$  mono-spécifiques. Cette sous-population est caractérisée par l'utilisation d'un segment gamma V particulier (Haas et al., 1993).

Des analyses de la séquence des TCR exprimés par les LT $\alpha\beta$  circulants ont mis en évidence l'existence de populations particulières de LT $\alpha\beta$  avec des TCR $\alpha\beta$  invariants parmi les LT $\alpha\beta$  CD4-CD8- (DN) (Porcelli et al., 1993). A. Bendelac et O. Lantz ont analysé le répertoire du TCR des LT NK1+, appelés les lymphocytes NKT. La majorité de ces LT « innate-like » expriment un TCR semi-invariant (une chaîne alpha monomorphe (V $\alpha$ 14-J $\alpha$ 18 appelée aussi V $\alpha$ 24-J $\alpha$ Q) associé à une chaîne V $\beta$ 8, V $\beta$ 7 ou V $\beta$ 2) (Bendelac et al., 1995, 1997). Ces lymphocytes sont restreints par une molécule d'histocompatibilité non classique CD1d. Par la suite F. Tilloy, de l'équipe d'O. Lantz a découvert une nouvelle population de LT $\alpha\beta$  à la frontière entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. Appelées MAIT pour « Mucosal Associated Invariant T cells », ces cellules présentent des caractéristiques similaires à celles de la population iNKT. Avec un TCR semi-invariant, V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33 chez l'Homme, V $\alpha$ 19-J $\alpha$ 33 chez la souris, ces cellules sont restreintes à une molécule similaire au MHC de classe I monomorphe, appelée MR1 (Kjer-Nielsen et al., 2012; Tilloy et al., 1999; Treiner et al., 2003). L'absence des MAITs dans la lamina propria intestinale des souris axéniques donnait des indices sur l'origine bactérienne de l'antigène reconnu par cette nouvelle population (i.e. MAIT) (Treiner et al., 2003). Dix ans plus tard, ce ligand a été identifié. Présenté par le MR1, le ligand correspond à un dérivé de métabolite issu de la voie de biosynthèse de la vitamine B2 (Corbett et al., 2014; Reantragoon et al., 2013).

Les iNKT et MAIT partagent de nombreuses caractéristiques, qui les distinguent des LT $\alpha\beta$  conventionnels (Chandra and Kronenberg, 2015; Das et al., 2010; Le Bourhis et al., 2013) :

- Expression du PLZF, contrairement aux LT $\alpha\beta$  conventionnels
- Sélections de leurs TCR $\alpha\beta$  semi-invariants grâce aux thymocytes « doubles positifs »
- Ligands non peptidiques présentés par des molécules similaires au MHC de classe I non polymorphes
- Majoritairement CD4-CD8 (DN)
- Phénotype mémoire à la sortie du thymus
- Un profil cytokinique préférentiellement TH1/17 pour les MAIT, TH1/2/17 pour les iNKT, alors que les LT $\alpha\beta$  conventionnels peuvent être TH1/2/9/17/10... (Magombedze et al., 2013).

Les similitudes entre ces deux populations suggèrent la présence de fonctions partagées/complémentaires entre elles. D'autant plus que leurs fréquences entre l'homme et la souris s'inversent au niveau de certain tissus (i.e. les iNKT sont peu abondants dans le foie chez l'homme alors que les MAIT représentent jusqu'à 40% des LT $\alpha\beta$  et inversement, les iNKT représentent jusqu'à 50% des LT $\alpha\beta$  du foie de la souris alors que les MAIT y sont peu présents) (Dusseaux et al., 2011). Par ailleurs, l'absence des iNKT (au niveau du thymus de souris CD1d<sup>-/-</sup>) est compensée par une augmentation de la fréquence des MAIT. Ceci confirme que ces deux populations partagent la même niche de par leurs propriétés physiologiques et fonctionnelles rapprochées (Koay et al., 2016).

Les MAIT, tout comme les iNKT, représentent une cible de choix pour les études cliniques. Ils sont de plus en plus analysés et soupçonnés de jouer un rôle délétère dans certaines pathologies. De part leur phénotype/fonction conservés entre les individus, les MAIT représentent une cible thérapeutique et un biomarqueur potentiels. Nous nous intéressons ainsi à la population MAIT, son ontogénie, son phénotype, ses fonctions et son implication dans différentes maladies inflammatoires.

## A. Les MAITs, développement et fonction :

### 1. MAIT au cours du développement :

Des études récentes ont analysé en profondeur les différentes étapes de maturations des MAITs. En 2013, l'équipe d'O. Lantz a mis en évidence le rôle des thymocytes double positifs dans leur sélection thymique. En effet, les thymocytes doubles positifs ont une expression transitoire du MR1 à la surface cellulaire. Il a été ainsi montré que le MR1 acquiert, mais de façon transitoire, une conformation capable de fixer le TCR des MAIT et d'induire leur sélection (Chua et al., 2011; Seach et al., 2013). Par contre, des points d'interrogations subsistent quant à l'origine du ligand qui permet l'expression thymique, et dans d'autres tissus, du MR1. Actuellement, et comme détaillé plus loin, les ligands des MAIT sont retrouvés notamment chez les bactéries gram négatives et la levure et leur présentation par la molécule MR1 est conservée entre les espèces (Huang et al., 2009; Le Bourhis et al., 2010). Au niveau du thymus, les MAITs, comme pour les iNKT, passent par 3 étapes de maturation (i.e. (1)  $CD24^+CD44^-$ , (2)  $CD24^-CD44^-$  et (3)  $CD24^-CD44^+$ ) et nécessite le facteur de transcription PLZF et l'IL-18. Le rôle de la flore intestinale dans le développement intra et extra-thymique des MAITs reste encore méconnu, mais il semble qu'il y ait certaines similitudes par rapport à ce qui est observé chez l'homme, notamment en ce qui concerne le développement des MAIT- $CD8\alpha\alpha^+$ , à partir des MAIT- $CD8\alpha\beta^+$ , au contact de la flore après la naissance (Ichinohe et al., 2011; Koay et al., 2016; Walker et al., 2012). De plus, les bactéries intestinales seraient à la fois une source des ligands des MAITs et un facteur inducteur de l'IL-18 pour produire des MAIT matures et fonctionnels (Levy et al., 2015).

Contrairement aux MAIT circulants chez l'adulte, qui expriment un phénotype mémoire ( $CD45RO^+$ ,  $CD62L^-$ ,  $CD95^+$ ), les MAIT retrouvés au niveau du sang de cordon présentent un phénotype naïf ( $CD45RA^+$ ,  $CD62L^+$ ). Au cours du développement fœtal, les MAIT semblent dériver d'une population minoritaire, parmi les  $CD161^{hi}CD8\alpha^+$  (i.e.  $CD161^{hi}CD8\alpha\beta^+V\alpha 7.2^+$ ), qui présente un phénotype TH17 rappelant celui des MAIT. Très minoritaire au cours du développement, cette population connaît un développement clonal après la naissance et acquiert un phénotype majoritairement  $CD8\alpha\alpha$  (i.e.  $CD161^{hi}CD8\alpha\alpha^+V\alpha 7.2^+$ ) (Billerbeck et al., 2010; Gold et al., 2013; Walker et al., 2012). Au niveau du fœtus, les MAIT de la rate, du

thymus, des organes lymphoïdes mésentériques présentent un phénotype naïf contrairement à ceux du foie, de l'intestin et du poumon, qui présentent un phénotype mémoire. Il semble que la flore bactérienne particulière du liquide amniotique joue un rôle dans cette différence de phénotype (Aagaard et al., 2014; Leeansyah et al., 2014).

## 2. Correction de certaines notions :

Comme leur nom l'indique, on pensait auparavant que les MAIT présentaient un tropisme préférentiellement lié aux muqueuses (jusqu'à 5% des LT $\alpha\beta$  au niveau de l'intestin et du poumon). Cependant, les études ont montré que cette population est abondante au niveau de plusieurs autres tissus. Les MAIT sont abondants dans le sang (jusqu'à 10% des LT $\alpha\beta$ ) où ils expriment des marqueurs (CCR2/5/6/9<sup>+</sup>, CXCR6<sup>+</sup> et CCR7<sup>-</sup>), le foie (jusqu'à 10% des LT $\alpha\beta$ ) et au niveau du TA (Billerbeck et al., 2010; Carolan et al., 2015a; Magalhaes et al., 2015). De plus, ils sont aussi présents au niveau des reins, de la prostate, des ovaires et des amygdales (Dusseaux et al., 2011; Lepore et al., 2014a).

D'autre part, les MAIT étaient, initialement, décrits comme exprimant un TCR $\alpha$  invariant TRAV1-2-TRAJ33 (V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33), associé préférentiellement avec les TCRV $\beta$ 2 et V13 (TRBV20/6). Des études récentes, avec le tétramère MR1, montrent que la population MAIT est plus diversifiée qu'initialement décrite (Reantragoon et al., 2013). Il a même été montré que les MAIT exprimant des TCR $\alpha\beta$  différents (mais qui reconnaissent le même ligand) pouvaient avoir une distribution tissulaire différente. D'une part, le TCR $\beta$ , malgré le biais vers V $\beta$ 6 puis V $\beta$ 20, est plus diversifié parmi les MAIT V $\alpha$ 7.2CD161<sup>hi</sup> du sang de nombreux donneurs. D'autre part, deux sous-populations de MAIT (qui présentent les mêmes propriétés antibactériennes que les MAIT classiques) expriment un TCR $\alpha$  avec un segment V $\alpha$ 7.2 lié à J $\alpha$ 12 (TRAJ12) ou J $\alpha$ 20 (TRAJ20). Ces deux sous-populations sont capables de produire des cytokines de type TH0 (i.e. GMC-SF), TH1 (i.e. TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$ ) et TH2 (i.e. IL-5/10/13 et 15) mais sont incapables de produire de l'IL-17. La population MAIT V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 12 est particulièrement abondante au niveau du foie, des reins et de l'intestin, où elle peut être la seule représentante des différentes sous-populations de MAIT (Lepore et al., 2014a). Les MAIT peuvent exprimer des CDR3 $\beta$  variables, qui donnent une flexibilité d'interaction avec la poche du MR1 chargée avec le ligand. Ainsi, des clones isolés de MAIT peuvent présenter des biais

de 11-14 acides aminés quant à la longueur du CDR3 $\beta$  (Lepore et al., 2014b). Les variabilités du CDR3 $\beta$  sont fines mais présentent un effet considérable sur l'affinité au complexe MR1-Ag et donc sur l'activation MR1-dépendante des MAIT (Eckle et al., 2014). De plus, Lepore a mis en évidence l'existence d'une sous-population de MAIT (appelée lymphocyte MR1-restricted T) qui reconnaissent un (des) antigènes d'origines non bactérienne. Cette population exprimait un TCR $\alpha\beta$  composé d'un TRAV29/DV5- TRAJ23 complexé à différents TRBV. Le TCR $\alpha\beta$  de ces lymphocytes reconnaît spécifiquement le MR1 exprimé uniquement à la surface de certaines cellules cancéreuses et est incapable d'induire une stimulation en présence de MR1 chargé avec un ligand bactérien (contrairement aux autres MAIT classiques) (Lepore et al., 2017). En 2016, l'équipe de Rossjohn montre que le 6-FP et l'Ac-6-FP (i.e. deux molécules connues pour leur pouvoir inhibiteur des MAIT « classiques ») sont capables de stimuler une population restreinte par MR1 qui présente des propriétés différentes de celles des MAIT « classiques ». Cette population est V $\alpha$ 7.2 négative et présente une hétérogénéité fonctionnelle (Gherardin et al., 2016). Les clones isolés de cette sous-population présentent des profils cytokiniques variés (i.e. TH17, TH1, TH2...) (Lepore et al., 2017).

Plus intéressant encore, des travaux récents mettent en lumière le rôle de la chaîne V $\beta$  du TCR, et du ligand dans l'affinité des MAIT au complexe MR1-Ag. Chez l'Homme, les MAIT V $\beta$ 13.2<sup>+</sup> ont une affinité élevée vis-à-vis des complexes MR1-Ag dont l'Ag est d'origine fongique (i.e. *Candida albicans*) alors que les MAIT V $\beta$ 8<sup>+</sup>, 13.1<sup>+</sup>, et 13.6<sup>+</sup> (parmi les autres V $\beta$  dominants chez les MAIT) répondent faiblement à l'Ag d'origine bactérienne (i.e. *E. coli*). Par ailleurs, l'analyse immuno-protéomique des MAIT met en évidence l'existence d'une sous-population dont l'activité est probablement MR1-indépendante. Cette sous-population exprime fortement des marqueurs de type NK (CD56, CD84 et CD94) et ont une expression plus élevées en PLZF, T-bet. Leur fonction est liée, par ailleurs, à leur sensibilité à l'IL-12 et à l'IL-18 (Dias et al., 2017).

Toutes ces observations montrent que les MAIT présentent une certaine hétérogénéité et présentent peut-être des sous-populations ayant des fonctions biologiques différentes.

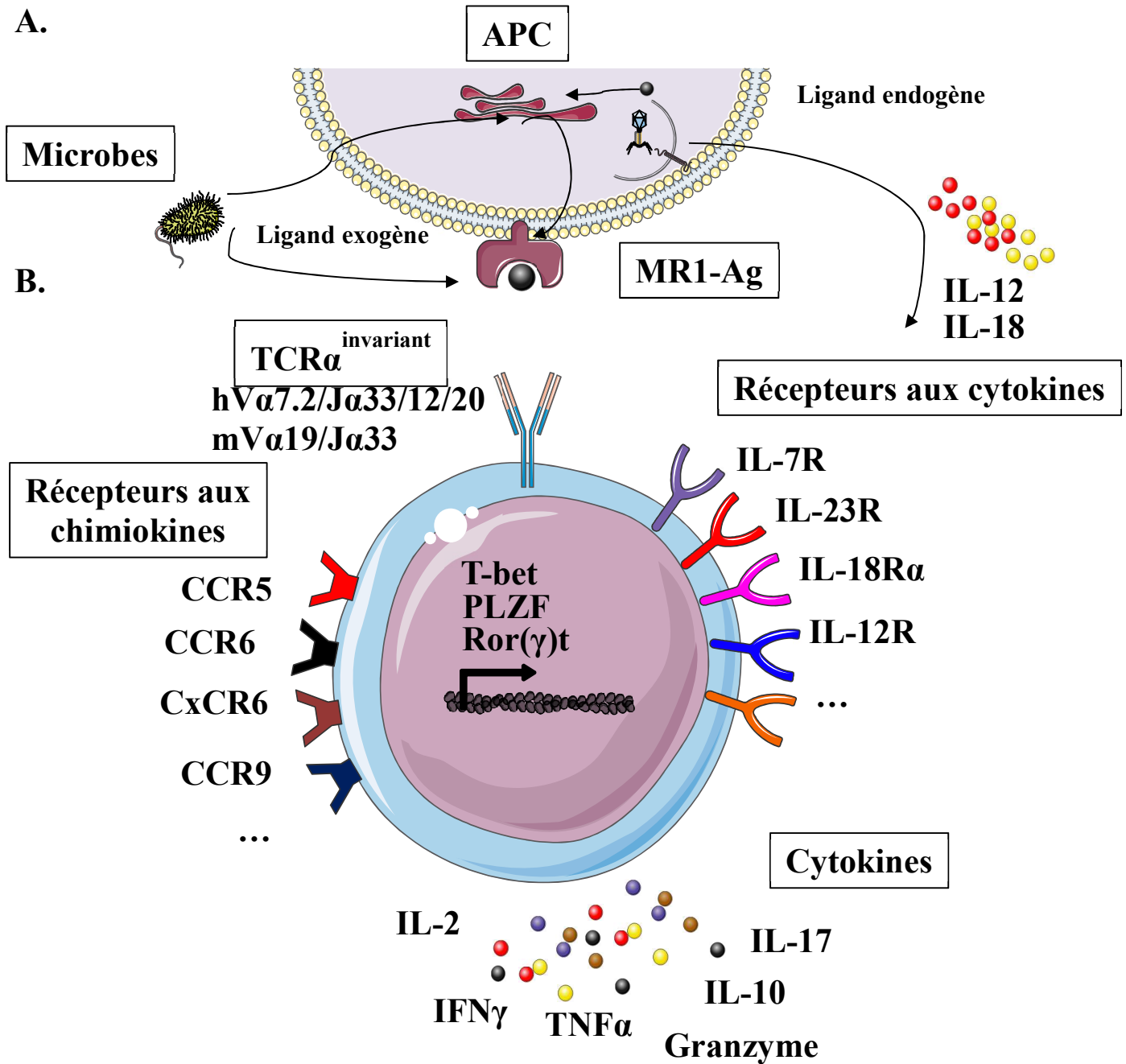
Propriétés	iNKT	MAIT
Récepteur	iTCR $\alpha_{24}$ -J $\alpha_{18}$ en recombinaison préférentielle avec TCR $\beta_{11}$	iTCR $\alpha_{7.2}$ -J $\alpha_{33}$ en recombinaison préférentielle avec TCR $\beta_{2, 13, 12}$ et 20
Molécule MHC et Ag reconnu	CD1d chargé avec un Glycolipide (e.g. $\alpha$ -GalCer)	MR1 chargé avec un métabolite de la VitB2 (e.g. 5-O-RU)
Fréquence en circulation	0.01–0.1% des lymphocytes	1–10% des LT
Fréquence tissulaire	1% des lymphocytes du foie et 10% des lymphocytes de l'omentum	Enrichie dans les muqueuse intestinales et pulmonaire et jusqu'à 50% des lymphocytes du foie
Marqueur de surface et facteur de transcription	CD161, CD25, CD69, CD122, Ror $\gamma$ t, PLZF...	CD161 <sup>hi</sup> , IL-18R, CCR6, CXCR6, CCR9, ABCB1, Ror $\gamma$ t, PLZF...
Phénotype	Phénotype mémoire. CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> , CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup> et CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	Phénotype mémoire. CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup> et CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup>
Profil cytokinique	TH1, TH2, TH17 et IL-10	Majoritairement TH1 et TH17
Cytotoxicité	Oui	Oui
Fonction	A rôle régulateur, dont l'inhibition des maladies auto-immunes, protection contre les infections et surveillance anti-tumorale	Défense antimicrobienne et implication dans l'inflammation tissulaire et systémique

**Tableau IV-1: Résumé des propriétés des lymphocytes MAIT en comparaison avec les iNKT (Bianchini et al., 2017).**



### 3. Le phénotype des lymphocytes MAIT :

Confirmant leur phénotype mémoire et leur sensibilité au microenvironnement cytokinique, les MAIT expriment une panoplie de récepteurs aux cytokines. Ainsi, les MAIT expriment l'IL-18R $\alpha$  (sous-unité  $\alpha$  récepteur à l'IL-18), l'IL-12R $\beta$  (sous-unité  $\beta$  du récepteur à l'IL-12), l'IL-23R (récepteur à l'IL-23), l'IL-7R $\alpha$  (sous-unité  $\alpha$  du récepteur à l'IL-7), l'IL-2R $\beta$  (récepteur à l'IL-2). Ils expriment également le CD103 (intégrine  $\alpha\epsilon\beta_7$ ) et la molécule de costimulation ICOS (Dusseaux et al., 2011; Koay et al., 2016; Le Bourhis et al., 2010; Tang et al., 2013; Turtle et al., 2011a). De plus les MAIT expriment des marqueurs de cellules NK comme le récepteur à la C-lectine (CD161) chez l'homme. Ce récepteur joue le rôle d'un co-stimulateur et est important dans la fonction des MAIT. Il est d'ailleurs utilisé pour l'identification des MAIT chez l'homme. Son expression est liée au phénotype TH17 des LT et l'activation de ce récepteur induit la production de cytokines de type TH1 (i.e. l'IFN $\gamma$  et le TNF $\alpha$ ) et serait impliqué dans la fonction cytotoxique (Fergusson et al., 2011, 2014; Kurioka et al., 2015; Reantragoon et al., 2013). Des observations ont montré que l'activation chronique des MAIT (notamment par le ligand du CD161) conduit à l'internalisation du CD161. Ceci oblige à chercher une méthode alternative d'identification des MAIT (le CD161<sup>hi</sup>V $\alpha$ 7.2<sup>+</sup> est le marquage classiquement utilisé pour identifier les MAIT), d'où l'intérêt d'utiliser le tétramère MR1 (Kurioka et al., 2015; Leeansyah et al., 2013). Toutefois, nos observations sur les MAIT des patients obèses montrent que les MAIT marquée au tétramère MR1 gardent leur expression du CD161 malgré leur niveau d'activation (Magalhaes et al., 2015). En 2015, Sharma montre que l'identification des MAIT répondeuses/sensibles aux bactéries est possible grâce au marquage CD26. Dans cette étude, il est également montré que selon le stimulus, les MAIT donnent une réponse cytokinique différente. Une stimulation par le TCR (i.e. présentation antigénique grâce au MR1) conduit à une production de cytokines de type TH1 (i.e. IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) produites en grande quantité par plus de 80% des MAIT périphériques et une induction de la fonction cytotoxique, alors que l'activation MR1-indépendante conduit à la production de cytokines de type TH17 (Koay et al., 2016; Sharma et al., 2015).



**Figure IV-1: Phénotype des lymphocytes MAIT et présentation antigénique.**

(A) Les MAIT, par leur iTCR reconnaissent la molécule du MR1 chargée par un ligand non peptidique/lipidique. Le ligand peut être d'origine exogène (microbes) ou d'origine endogène. (B) les MAIT peuvent, en plus de l'activation MR1-dépendante, être activés grâce au microenvironnement cytokinique. Les MAIT expriment certains marqueurs de surface (récepteurs aux cytokines et aux chimiokines) et des facteurs de transcription qui caractérisent des lymphocytes inné-like comme les ILC. Selon leur niveau d'activation et l'environnement inflammatoire, les MAIT produisent constitutivement des cytokines majoritairement TH1 et TH17.

#### 4. Les facteurs de transcription :

Les MAIT, comme les iNKT, les ILC et une sous-population de  $LT\gamma\delta$ , expriment le facteur de transcription PLZF. Ce facteur de transcription joue un rôle important dans leur développement (Godfrey et al., 2015; Kovalovsky et al., 2008; Kreslavsky et al., 2009; Savage et al., 2008). Il est exprimé par les MAIT chez l'Homme et chez la souris (Martin et al., 2009; Rahimpour et al., 2015). Cependant, chez des souris  $PLZF^{-/-}$ , une petite population de MAIT est retrouvée en périphérie. Il semblerait que des sous-populations de  $LT\alpha\beta$  non-conventionnels (i.e. iNKT et MAIT)  $PLZF^{-}$  sont présentes en périphérie. Des travaux sur les iNKT- $PLZF^{-}$  montrent que cette sous-population jouerait un rôle régulateur (Lynch et al., 2015b). Par ailleurs, la maturation des MAIT est liée à une expression des facteurs de transcription Ror $\gamma$ t et T-bet dont l'expression est liée, mais non proportionnellement, à la production de cytokines de type TH1 (i.e. IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$ ) ou de type TH17. En effet, alors que 20% des MAIT sont Tbet $^{+}$ , 80% des MAIT produisent de l'IFN $\gamma$  et du TNF $\alpha$  alors que les MAIT, majoritairement Ror $\gamma$ t, produisent de très faibles quantités d'IL-17 à la sortie du thymus (Koay et al., 2016). Il a aussi été observé que l'expression du Tbet augmentait parmi les MAIT sous certaines conditions (i.e. activation in vitro par du *E.coli* fixé) (Kurioka et al., 2015). Plus récemment, des travaux montrent une accumulation/prolifération rapide des MAIT au niveau des poumons de souris infectées par *Salmonella Typhimurium*. Les MAIT retrouvés dans le site d'infection sont majoritairement Ror $\gamma$ t $^{+}$  et T-bet $^{+}$  et produisent de grande quantité d'IL-17 (30% des MAIT en produisent de façon constitutive, sans stimulation *ex-vivo*) puis du TNF $\alpha$  et IFN $\gamma$  dont la proportion augmente au cours de l'infection. L'augmentation de la proportion des MAIT-IFN $\gamma$  $^{+}$  est liée à l'augmentation du niveau d'expression du facteur de transcription T-bet (Chen et al., 2017) Cette accumulation est liée à la production de la riboflavine par la souche infectieuse et la proportion des MAIT augmente pour atteindre jusqu'à 50% des  $LT\alpha\beta$ .

#### 5. Fonction des lymphocytes MAIT :

Les MAIT sont connus pour leur capacité à lyser les cellules infectées. En effet, plusieurs études ont décrit la capacité cytotoxique des MAIT sur des cellules infectées (par *Mycobacterium* ou *E.coli*) (Chua et al., 2012; Le Bourhis et al., 2010).

En fonction des stimuli, les MAIT produisent des molécules de cytotoxicité différentes. Les MAIT à l'état quiescent produisent du granzyme A et K. L'activation antigénique stimule la production de granzyme B et de perforine au détriment du granzyme K (tout en gardant la production du granzyme A) (Kurioka et al., 2015).

Par ailleurs, il est de plus en plus admis que la production cytokinique des MAIT est préférentiellement de type TH1 et TH17. D'autre part, le profil cytokinique des MAIT varie d'un patient à l'autre, d'un tissu à l'autre, en fonction de la sous-population et du type de stimulation (TCR-dépendant ou indépendant). Une stimulation non spécifique par PMA/Iono (i.e. phorbol 12-myristate 13 acetate/ionomycin) montre de très faible quantité d'IL-10 produite par les MAIT alors que la co-culture de cette population avec des monocytes infectés par du *E.coli* augmente particulièrement le niveau de production de cette cytokine (Dusseaux et al., 2011). Au niveau du foie, la production d'IL-17 par les MAIT est plus importante que dans le sang. Cette production est révélée après stimulation PMA/Iono, alors que celle au CD3/CD28 ne permet pas d'induire la production de l'IL-17 par les MAIT (Tang et al., 2013). Au niveau de la circulation sanguine, notre équipe a montré que les MAIT présentait un profil TH1 prononcé (>90% TNF $\alpha$ <sup>+</sup>, 50% IFN $\gamma$ <sup>+</sup> avec des traces de production d'IL-2 et de granzyme B). A l'inverse, on n'observait pratiquement pas de MAIT TH2 (i.e. IL-4, IL-13 ou IL-10) et très peu d'IL-17. Dans des conditions d'inflammation (i.e. chez des patients obèses et/ou diabétiques) le niveau de production des cytokines pro-inflammatoires IL-2 et IL-17 ainsi que le granzyme B augmentent considérablement. Au niveau du TA de ces patients le taux de production de l'IL-17 peut atteindre 80% parmi les MAIT (Magalhaes et al., 2015). La même année, une autre équipe a montré que les MAIT sont capables de produire de l'IL-10 au niveau du sang et du TA. Toutefois, il est important de noter que parmi les lymphocytes analysés comme étant des MAIT on comptait les V $\alpha$ 7.2<sup>+</sup>CD161<sup>hi</sup>CD4<sup>+</sup> (Carolan et al., 2015a). Cette population n'appartient probablement pas aux MAIT (Magalhaes et al., 2015). Dans d'autres pathologies, où les MAIT sont continuellement stimulés avec des ligands (i.e. maladies infectieuses aux mycobactéries) le niveau de production d'IFN $\gamma$  par les MAIT baisse considérablement par rapport à des individus contrôles non infectés (Kwon et al., 2015).

Parmi les sous-populations des MAIT, il a été montré que les MAIT V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 12/20 ont un profil plutôt TH2 (i.e. production d'IL-4, IL-5 et IL-13) plus prononcé que les MAIT « classiques » (Lepore et al., 2014a). D'autre part, seuls les MAIT de l'intestin semblent produire de l'IL-22

en grande quantité (Walker et al., 2012). Ceci confirme l'existence de sous-populations différentes parmi la population des MAIT pouvant exercer ainsi des rôles physiologiques différents. Ce rôle change selon le microenvironnement immunitaire et le niveau d'activation des MAIT. En effet, sous certaines conditions inflammatoires, les MAIT deviennent « suractivés » (i.e. état d'exhaustion) et modifient leur sensibilité aux ligands à travers une modulation de l'expression des molécules intervenant dans la signalisation du TCR (Turtle et al., 2011b). D'autre part, dans certaines maladies inflammatoires (où ne change pas, à priori, le taux des ligands des MAIT) on observe de profondes modifications TCR-indépendantes sur la fonction des MAIT, ce qui prouve que cette population est sensible à l'environnement cytokinique. En effet, ces études montrent que certaines cytokines (e.g. IL-7, IL-12 et IL-18), seules ou combinées stimulent les MAIT pour induire leur prolifération, maturation ou fonction (Jo et al., 2014; Kurioka et al., 2015). Chez l'adulte, les MAIT circulants et tissulaires prolifèrent peu (Dusseaux et al., 2011; Kurioka et al., 2015). En effet, très peu d'expression de Ki67 (un marqueur de prolifération) est retrouvée dans ces lymphocytes. Par contre, une forte expression du marqueur Ki67 et donc un fort pouvoir prolifératif est retrouvé parmi les MAIT au cours du développement fœtal (Leeansyah et al., 2014; Tang et al., 2013). Ceci montre que les MAIT connaissent, tôt au cours de la vie, une phase d'expansion pour atteindre un plateau de quiescence. Pour lever cette quiescence, une combinaison de stimuli (i.e. cytokinique et activation du TCR) est nécessaire (Kurioka et al., 2015; Turtle et al., 2011b).

## B. La molécule MR1 :

Le MR1 (i.e. MHC class I-related gene protein) est une molécule de présentation antigénique non polymorphe. C'est une MHC (Molécule d'HistoCompatibilité) de classe IB qui assure la présentation d'une nouvelle famille de ligands (i.e. non peptidique/lipidique). C'est une molécule hautement conservée chez la plupart des mammifères (Parra-Cuadrado et al., 2000). Les domaines  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  sont homologues à 90% et 89% entre l'homme et la souris. Ces deux domaines sont les plus importants pour la présentation antigénique (Kjer-Nielsen et al., 2012; Ussher et al., 2014; Yamaguchi et al., 1997).

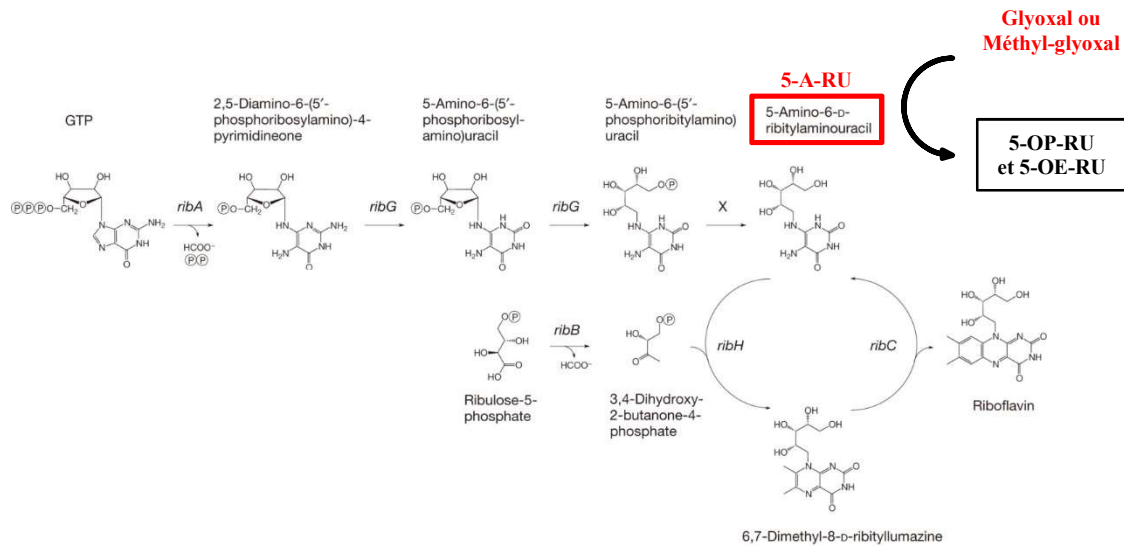
L'ARNm du MR1 est détecté dans différents tissus (e.g. thymus, rate, rein, foie...). Son niveau d'expression est 25 fois plus important au niveau des thymocytes doubles positifs du thymus comparé aux autres types cellulaires. Quatre transcrits de l'ARNm du MR1 (i.e. MR1A, B, C et D) ont été décrits. Le transcrit MR1B code pour une protéine dépourvue de la chaîne  $\alpha 3$ . Cette protéine est supposée être soluble (Riegert et al., 1998). Par contre, l'expression protéique n'a été que très peu décrite. En effet, très peu d'équipes ont pu montrer un marquage MR1 à la surface cellulaire. Gozalbo-López, par des marquages histologiques a détecté l'expression du MR1 au niveau de la lamina propria, à l'extérieur des centres germinatifs. De façon intéressante, ce sont les LB, et plus particulièrement les plasma-blastes IgA<sup>+</sup>, qui expriment le plus MR1. Ceci rejoint les données *in vitro* qui montrent que les LB sont de bonnes présentatrices d'antigènes pour les MAIT (Gozalbo-López et al., 2009; Martin et al., 2009; Treiner et al., 2003). L'expression du MR1 à la surface cellulaire est transitoire. Cependant, l'exposition de cellules à une source de ligands (soit par infection intra-cellulaire par des bactéries productrices de riboflavine ou par rajout du ligand dans le milieu de culture) stabilise MR1 à la surface cellulaire. Cet MR1 chargé acquiert une conformation qui assure l'activation des MAIT (Chua et al., 2011; Ussher et al., 2016). Il est d'ailleurs intéressant de noter que le MR1 peut être exprimé à la surface cellulaire au cours de l'inflammation. L'exposition des THP1 (une lignée de cellules myéloïdes) à des ligands de TLR et l'activation de la voie NF $\kappa$ B stimulent l'expression en surface de MR1 (Chen et al., 1987; Ussher et al., 2016). Par ailleurs, l'absence des MAIT chez les souris  $\beta 2m$  (i.e. une sous-unité nécessaire pour le trafic intracellulaire et l'expression des MHC de classe I) montre l'importance de cette molécule pour l'expression en surface du MR1. L'interaction non covalente entre la  $\beta 2m$  et le domaine

$\alpha 3$  du MR1 est très faible, ce qui explique en partie l'expression transitoire de la molécule du MR1 à la surface des cellules. En effet, l'établissement d'une liaison covalente entre la  $\beta 2m$  et le domaine  $\alpha 3$ , par manipulation génétique, conduit à une surexpression du MR1 à la surface cellulaire (Aldemir, 2008; Miley et al., 2003).

Longtemps décrit comme TAP-dépendant, le chargement des molécules MR1 s'avère plus complexe qu'initialement décrit (Miley et al., 2003). La molécule MR1 est liée au complexe de chargement peptidique (comprend la calréticuline, la tapasine et ERp57) et nécessite un trafic intracellulaire similaire à celui des molécules MHC-I. Toutefois, MR1 présente des caractéristiques de chargement qui ressemblent aussi à celles des molécules MHC-II (Lion et al., 2013). L'inhibition de l'expression la chaîne invariante Ii, qui assure le trafic des MHC-II à travers l'endosome jusqu'à la surface cellulaire, induit une perte de l'expression des MR1 en surface et, par conséquent, une inhibition de l'activation des MAIT. De plus, tout comme pour les molécules MHC-II, l'inhibition de l'acidification des endosomes réduit l'expression du MR1 à la surface cellulaire (Huang et al., 2008; Le Bourhis et al., 2010).

### C. Le ligand des lymphocytes MAIT :

Depuis 2005, malgré l'absence de ligand identifié pour les MAIT, des travaux ont montré que la molécule MR1 (Huang et al., 2009), jouait effectivement un rôle de présentation d'antigène. Le MR1, très faiblement exprimé à la surface des cellules MAIT, remonte à la surface cellulaire sous sa forme chargée et permet l'activation TCR-dépendante des MAIT. Forcer l'expression du MR1 vide à la surface cellulaire n'a aucun effet activateur sur les MAIT, ce qui montre l'importance du ligand dans l'acquisition d'une conformation activatrice (i.e. activatrice des MAIT) par la molécule MR1 (Huang et al., 2005, 2009). Des études mutationnelles ont permis de définir l'origine non peptidique du ligand du MR1 et que ce dernier nécessite un trafic intracellulaire pour sa présentation par le MR1 (Huang et al., 2008, 2009).



**Figure IV-2: Voie de biosynthèse de la riboflavine, source du ligand des MAIT**

En 2010, l'équipe d'O. Lantz a montré que le ligand des MAIT avait une origine bactérienne. Les levures étaient aussi capables de produire le ligand activateur des MAIT, par contre, pas toutes les souches bactériennes testées étaient capables de produire le ligand des MAIT (Le Bourhis et al., 2010). Cinq ans auparavant, une équipe japonaise avait proposé un ligand d'origine lipidique mais cette hypothèse a été rapidement rejetée par d'autres équipes de recherche (i.e.  $\alpha$ -mannosyle ceramide) (Kjer-Nielsen et al., 2012; Okamoto et al., 2005, 2005). La nature non protéique et non lipidique du ligand des MAIT augmente l'intérêt des études portant sur cette population immunitaire (Young et al., 2013).

Ainsi, une nouvelle classe d'antigènes présentés par les MHC pousse les limites de la reconnaissance antigénique du système immunitaire et son interaction avec son environnement. De plus, la conservation de la molécule MR1 entre les espèces montre l'importance que jouent les MAIT dans la reconnaissance et la réponse contre les pathogènes à l'origine de ces ligands (Huang et al., 2009; Reantragoon et al., 2012; Tsukamoto et al., 2013). En 2012 puis 2013, quelques ligands reconnus par les MAIT ont été identifiés. D'une taille moléculaire d'environ 44 kDa, ces ligands font partie des molécules capables de stabiliser le MR1 en surface et d'être ainsi reconnus par les MAIT (Eckle et al., 2015; Kjer-Nielsen et al., 2012; Patel et al., 2013; Young et al., 2013). Kjer-Nielsen et al ont identifié en premier le 6-formylpterin (6-FP), un produit de photo-dégradation de l'acide folique « vitamine B9 » retrouvé dans le milieu de culture RPMI-1640), mais qui était incapable d'activer les lignées de cellules MAIT. Puis l'acetyl-6-FP (Ac-6-FP), un autre ligand inhibiteur des MAIT mais plus



affin à la molécule MR1) (Kjer-Nielsen et al., 2012). Par contre les molécules identifiées *in silico*, par la suite, et qui présenterent les mêmes propriétés physicochimiques que le 6-FP (i.e. (1) 6-hydroxymethyl-8-D-ribityllumazine (rRL-6-CH<sub>2</sub>OH), (2) 7-hydroxy-6-methyl-8-D-ribityllumazine (RL-6-Me-7-OH) et le (3) 6,7-dimethyl-8-D-ribityllumazine (RL-6,7-diMe)) sont capables d'activer les MAIT et d'induire une expression du CD69 et une production de l'IFN $\gamma$ /TNF $\alpha$  (Corbett et al., 2014; Patel et al., 2013). Ces ligands sont dérivés, cette fois-ci, de la riboflavine « vitamine B2 » et sont les premiers d'une série de ligands découverts par la suite. En 2013, la liste des ligands des MAIT comptait en plus le 5-(2-oxoethylideneamino)-6-d-ribitylaminouracil (5-OE-RU) et le 5-(2-oxopropylideneamino)-6-d-ribitylaminouracil (5-OP-RU) (Eckle et al., 2014). A l'origine des ligands naturels des MAIT (i.e. 5-OP-RU et 5-OE-RU), une réaction non-enzymatique de condensation entre 5-Amino-6-D-ribitylaminouracil (5-A-RU) (un métabolite produit par la chaîne de biosynthèse de la riboflavine) et des molécules à fort pouvoir oxydant (i.e. methylglyoxal et glyoxal). Les ligands produits de cette réaction étant instables, les MAIT joueraient un rôle de surveillance instantanée de la fonction métabolique des bactéries. Par des manipulations génétiques, il a été confirmé que seules les souches bactériennes capables de produire du riboflavine sont capables de produire les ligands activateurs des MAIT (Corbett et al., 2014).

Finalement, plusieurs données soutiennent l'hypothèse de l'existence d'un ligand endogène (non bactérien) des MAIT. En effet, (1) la présence de MAIT dans plusieurs différents tissus chez le fœtus (Leeansyah et al., 2014), (2) l'expression faible du MR1 en surface même en absence du ligand (Gozalbo-López et al., 2009; Miley et al., 2003) (3) la réduction de l'expression du MR1 muté au niveau de la poche où se charge l'antigène (Huang et al., 2005) et (4) l'existence d'une sous-population de MAIT restreints à MR1 et qui s'activent grâce au ligands 6-FP ou Ac-6-FP (supposés inhiber l'activation des cellules MAIT), représentent des arguments à prendre en considération pour soutenir la thèse sur l'existence de ligands endogènes d'origine non bactérienne capables de se lier à la molécule de MR1 sans former de base de Schiff (comme c'est le cas pour les ligands bactériens) (Lamichhane and Ussher, 2017; Lepore et al., 2017).

## D. Les MAIT et les maladies inflammatoires :

### 1. Infections bactériennes :

En 2010, l'équipe d'Olivier Lantz montre que la fréquence des MAIT baisse considérablement dans le sang de patients tuberculeux ou pneumopathiques, alors que les MAIT sont très abondants au niveau de l'ascite des patients tuberculeux. Ces données suggèrent qu'ils migrent au niveau du lieu d'infection pour y induire une réponse anti-microbienne. De plus, dans la même publication, il a été montré chez la souris  $\alpha$ 19-transgénique (nombre de MAIT équivalent à celui de l'homme) que les MAIT étaient responsables du contrôle des infections bactériennes chez la souris (Le Bourhis et al., 2010). Dans une étude récente, les MAITs pulmonaires induisent la différenciation GM-CSF-dépendante des monocytes en DC. Une étape importante dans l'induction de la réponse contre l'infection au *F. tularensis* LVS (Meierovics and Cowley, 2016). D'autres travaux confirment ces observations, notamment la réduction de la fréquence des MAIT au niveau du sang des patients tuberculeux, infectés par *Pseudomonas aeruginosa*, ou par des souches non-streptococciques, ainsi que de l'activité anti-bactérienne des MAIT (Gold et al., 2010; Grimaldi et al., 2014; Lamichhane and Ussher, 2017). De façon intéressante, d'autres travaux montrent que l'action anti-bactérienne des MAIT est liée au métabolisme de la riboflavine chez la souche bactérienne à l'origine de la réponse. Des tests *in vitro* sur des souches isolées de *Streptococcus Pneumoniae* chez des patients montrent ainsi que l'action des MAIT dépendait du niveau de production de la riboflavine et par conséquent du ligand des MAIT (Harriff et al., 2017). Par ailleurs, l'analyse des MAIT chez les patients tuberculeux montre une forte expression de PD-1 (Programmed Death-1) qui joue un rôle inhibiteur sur la production de cytokines de type TH1 (e.g. IFN $\gamma$ ). Le blocage de PD-1 stimule les MAIT à produire d'avantage d'IFN $\gamma$  en réponse à une stimulation antigénique. L'inflammation chronique conduit à une exhaustion des MAIT. L'utilisation d'une thérapie ciblée contre le PD-1 pourrait être efficace pour lutter contre les infections bactériennes (Jiang et al., 2014). Plus récemment, des travaux montrent une accumulation/prolifération rapide des MAIT au niveau des poumons de souris infectées par *Salmonella Typhimurium*. De même, cette accumulation est liée à la production de la riboflavine par la souche infectieuse et la proportion des MAIT augmente pour atteindre

jusqu'à 50% des LT $\alpha\beta$ . Les MAIT retrouvés dans le site d'infection sont majoritairement Ror $\gamma$ <sup>+</sup> et T-bet<sup>+</sup> et produisent de grande quantité d'IL-17 (30% des MAIT en produisent de façon constitutive, sans stimulation *ex-vivo*) puis du TNF $\alpha$  et IFN $\gamma$  dont la proportion augmente au cours de l'infection. L'augmentation de la proportion des MAIT-IFN $\gamma$ <sup>+</sup> est liée à l'augmentation du niveau d'expression du facteur de transcription T-bet (Chen et al., 2017).

D'autre part, les MAIT semblent jouer le rôle de LT auxiliaires en potentialisant la réponse humorale. Lors de tests de vaccination contre *Shigella*, une fréquence élevée de MAIT corrèle avec l'efficacité du vaccin. La quantité des IgA spécifiques (i.e. dirigées contre les antigènes de *Shigella*) produite au cours du test est plus élevée chez les patients dont le niveau d'activation des MAIT est plus important (Bourhis et al., 2013). Au paravent, il a été suggéré que les MAIT avaient une interaction privilégiée avec les plasmablastes IgA<sup>+</sup>, de part leur niveau d'expression élevée du MR1. Ces observations permettent de proposer un rôle de LT auxiliaire lors d'une réponse humorale anti-bactérienne (Bourhis et al., 2013; Gozalbo-López et al., 2009).

## 2. Infections virales :

Bien que les MAIT ne reconnaissent pas de ligand d'origine virale, de nombreux travaux décrivent un rôle actif de cette population dans le contrôle des maladies virales. Il a été proposé que, les MAIT répondent indirectement à des ligands de TLR d'origine virale. Les cellules infectées reconnaissent le ssRNA grâce au TLR8. Cette reconnaissance stimule la production d'IL-12 et d'IL-18 qui stimulent à leur tour les MAIT qui produisent de l'IFN $\gamma$ , nécessaire pour la clearance virale. Cette réponse de type LT auxiliaire est décrite lors de plusieurs pathologies virales, notamment celles touchant le foie (e.g. infection aux HBV / HCV). De plus, les MAIT sont d'autant plus enrichis au niveau des foies infectés que leur fréquence au niveau du sang diminue (Billerbeck et al., 2010; Jo et al., 2014). Ces données suggèrent que les MAIT pourraient jouer un rôle important dans les réponses immunes aiguës anti-pathogènes. Et comme décrit auparavant, l'inflammation chronique, a par contre, un effet délétère sur la fonction des MAIT à cause de leur exhaustion.

### 3. Maladies auto-immunes :

Comme mentionné avant, les MAIT peuvent être stimulés par des cellules « du soi » stressées en absence de ligands exogènes (i.e. d'origine bactérienne) (Lamichhane and Ussher, 2017; Lepore et al., 2017; Ling et al., 2016). Ceci suppose que les MAIT peuvent être auto-réactives et participent au développement/contrôle de certaines maladies auto-immunes. Cependant, il est difficile de conclure quant au rôle délétère ou protecteur des MAIT. En 2004, l'analyse de tissus nerveux lésés de patients atteints de sclérose en plaque (MS « multiple sclerosis ») montre une accumulation des MAIT au niveau du système nerveux central (SNC) de ces patients (Illés et al., 2004). Plus tard, l'utilisation d'un modèle animal de sclérose en plaque (i.e. souris EAE) montre que les MAIT jouent un rôle protecteur contre cette maladie. Des souris transgéniques (i.e.  $\nu\alpha 19$ ) possédant des fréquences élevées en MAIT semblent protégées, par rapport aux souris  $MR1^{-/-}$  déficientes en MAIT. Le rôle protecteur des MAIT serait dû à leur production de cytokine anti-inflammatoire (i.e. IL-10) (Croxford et al., 2006). Ce rôle protecteur est confirmé par des études récentes qui montrent que les MAIT peuvent inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires (i.e. TH1) par des LT. Ce rôle immunorégulateur est contact-dépendant et conforte d'avantage la fonction de LT « auxiliaire » des MAIT (Miyazaki et al., 2011). Cependant, d'autres études conduisent à des conclusions opposées. La fréquence des MAIT circulants chez les patients MS diminue, et ceux-ci migreraient au niveau des lésions nerveuses pour participer à l'inflammation par leur production de TNF- $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$  et l'IL-17. L'IL-18, dont la concentration sérique est augmentée chez les patients MS, pourrait favoriser la migration des MAIT par l'induction du VLA-4 (Very Late Antigen-4 ou integrin  $\alpha_4\beta_1$ ), molécule importante dans l'extravasation des LT dans le SNC (Abrahamsson et al., 2013; Annibali et al., 2011; Ransohoff, 2007; Willing et al., 2014).

D'autre part, les MAIT et leur production d'IL-17 semble jouer un rôle délétère dans le développement d'un type de spondyloarthrites (i.e. spondyloarthrites ankylosante). La fréquence des MAIT du sang de ces patients diminue et les MAIT acquièrent un profil TH17 prononcé. Ces MAIT sont retrouvés en fréquence importante au niveau du liquide synovial où ils produisent de grande quantité d'IL-17 et pourraient participer au développement de cette maladie inflammatoire. L'induction d'IL-17 semble passer par une stimulation à l'IL-7 et non par l'IL-23 comme cela est décrit le plus souvent (Gracey et al., 2016).

Outre ces deux exemples du rôle délétère des MAIT dans les maladies auto-immunes, cette population est particulièrement soupçonnée de jouer un rôle pathogène dans plusieurs autres maladies inflammatoires (auto-immunes). On note entre autres, la maladie de Crohn, l'asthme, le psoriasis, le diabète de type 1, le lupus et l'arthrite rhumatoïde. L'IL-17 est la cytokine la plus décrite comme facteur de la pathogénicité des MAIT dans ces maladies (Harms et al., 2015; Hinks et al., 2015; Serriari et al., 2014; Teunissen et al., 2014).

#### 4. Cancers :

Des travaux qui datent de 2008 montrent que les MAIT sont présents en grande quantité au niveau des tumeurs solides (e.g. tumeur du cerveau ou des reins) où elles peuvent participer à l'inflammation par la production de cytokines pro-inflammatoires (Peterfalvi et al., 2008).

Le séquençage d'ARN sur cellules isolées (single-cell RNA sequencing) de carcinomes hépatocellulaires (CHC) et du tissu sain adjacent met en évidence une déplétion de l'infiltrat des MAIT au niveau du CHC, alors qu'au niveau du tissu sain adjacent les MAIT sont abondants. Trois sous-populations de MAIT exprimant le TCR $\alpha$  TRAV1-2/TRAJ33, TRAV1-2/TRAJ20 ou TRAV1-2/TRAJ12, ont été détectées (Zheng et al., 2017). Ces observations ouvrent la porte à de nouvelles investigations sur les rôles thérapeutiques que pourraient jouer le ciblage des MAIT au niveau du foie, surtout que cette population est décrite comme garante de l'intégrité de cet organe (Kurioka et al., 2016).

Au niveau du colon (le deuxième tissu enrichi en MAIT après le foie chez l'homme), cette population infiltre particulièrement les tumeurs colorectales ou les adénocarcinomes. Au niveau des tumeurs colorectales les MAIT produisent de grandes quantités d'IFN $\gamma$  et d'IL-17 (Ling et al., 2016) alors qu'au niveau des adénocarcinomes les MAIT produisent moins d'IFN $\gamma$  peut-être en relation avec des facteurs tumoraux environnants (Sundström et al., 2015). Au niveau de la tumeur, les MAIT seraient capables d'induire l'arrêt du cycle cellulaire de cellules cancéreuses de façon MR1-dépendante, cet effet passe par l'intermédiaire de l'IL-17 (Ling et al., 2016). Par ailleurs, d'autres travaux proposent d'utiliser les MAIT comme biomarqueur indicateur de la sévérité du cancer colorectal (Zabijak et al., 2015).

## V. Hypothèse et objectif du travail :

---

En 2015, nous avons montré que dans le sang des adultes obèses et/ou diabétiques (i.e. diabète de type 2) la fréquence des MAIT baisse, ceux-ci sont mêmes indétectables dans 17% des patients. La fréquence des MAIT circulants est corrélée négativement à l'IMC des patients. De plus, les MAIT de ces patients présentent un profil pro-inflammatoire (i.e. production d'IL-2, IL-17 et granzyme B) plus important par rapport à des adultes contrôles. Comme dans d'autres maladies inflammatoires, il semble que les MAIT migrent/prolifèrent au niveau du site d'inflammation, le TA viscéral dans l'obésité, où ils sont très abondants par rapport au sang des sujets obèses. Les MAIT expriment fortement le CCR6 (récepteur au CCL20) qui participe probablement à la migration et la fonction inflammatoire de ces lymphocytes. Les MAIT au niveau du TA des patients obèses et/ou diabétiques sont plus activés (expriment plus le marqueur d'activation CD25) et produisent de grandes quantités d'IL-17. Une analyse de marqueurs de prolifération ou d'apoptose (i.e. Ki67 et Bcl-2) après des co-cultures montrent que le TA enflammé favorise leur prolifération ainsi que leur apoptose (Magalhaes et al., 2015).

Quelques mois plus tard, l'équipe du docteur O'shea a publié des observations similaires chez les adultes et les enfants, montrant une diminution de la fréquence des MAIT circulants au cours de l'obésité. Les MAIT présentent également un profil pro-inflammatoire au niveau du sang et du TA (i.e. production accrue d'IL-17 et diminuée d'IL-10). Par contre l'analyse de la fréquence des MAIT au niveau du TA montre une diminution de cette population chez les patients obèses comparés aux contrôles (Carolan et al., 2015b).

De plus, la chirurgie bariatrique, qui induit une perte de poids des patients obèses et améliore les paramètres métaboliques, induit également la normalisation de la fréquence des MAIT circulants et réduit leur niveau de production de l'IL-2 et de granzyme B (Magalhaes et al., 2015).

L'ensemble de ces observations montre un lien entre les MAIT et le développement de l'obésité et du T2D. Il nous a semblé intéressant de continuer nos investigations pour déterminer s'il existe un lien de causalité entre cette population immunitaire et l'obésité et

T2D, ainsi que pour élucider les mécanismes impliqués dans cette relation immuno-métabolisme.

L'étude du rôle des MAIT dans le développement de l'obésité et du diabète de type 2 est d'autant plus motivée en raison de la relation étroite entre cette population immunitaire et le métabolisme glucidique. En effet, la production du ligand activateur des MAIT nécessite la présence d'une molécule issue de la glycolyse (i.e. le glyoxal ou le méthylglyoxal) qui se complexe à un métabolite d'origine bactérienne. Il est intéressant de rappeler que d'une part le glyoxal et le méthylglyoxal sont plus abondants chez les patients obèses et diabétiques, et d'autre part la composition et la fonction du microbiote intestinal changent profondément chez ces patients. Ces données suggèrent un rôle combiné entre le métabolisme et le microbiote intestinal dans la fonction des MAIT au cours du développement de l'obésité et du T2D.

Nous avons donc utilisé des modèles murins pour étudier l'effet de l'obésité sur le phénotype et la fonction des MAIT et pour déterminer les mécanismes impliqués dans la relation tri-dimensionnelle MAIT/Microbiote/Métabolisme dans le développement du T2D au cours de l'obésité.

## Article

**Mucosal Associated Invariant T  
(MAIT) cells induce inflammation,  
gut dysbiosis and T2D during obesity**



1 **Mucosal-Associated Invariant T cells promote**  
2 **inflammation, metabolic dysfunction and**  
3 **gut microbiota dysbiosis during obesity**

4  
5 Badr Kiaf<sup>1,2,3,10</sup>, Amine Toubal<sup>1,2,3,10</sup>, Moez Rhimi<sup>4</sup>, Lucie Beaudoin<sup>1,2,3</sup>, Lucie Cagninacci<sup>1,2,3</sup>,  
6 Yannick Simoni<sup>1,2,3</sup>, Delphine Robert<sup>1,2,3</sup>, Olivier Lantz<sup>5</sup>, Jamie Rossjohn<sup>6,7</sup>, James  
7 McCluskey<sup>8</sup>, Philippe Lesnik<sup>9</sup>, Emmanuelle Maguin<sup>4</sup> and Agnès Lehuen<sup>1,2,3,11</sup>.

8  
9 **Author Affiliations:** <sup>1</sup>INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France and Université Paris  
10 Descartes; <sup>2</sup>CNRS, UMR8104, Paris, France. <sup>3</sup>Laboratoire d'Excellence INFLAMEX,  
11 Sorbonne Paris Cité, France. <sup>4</sup>INRA Micalis Institute, Jouy-en-Josas, France; <sup>5</sup>INSERM  
12 U932, Institut Curie, Paris, France. <sup>6</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology,  
13 School of Biomedical Sciences, Monash University, Clayton, Victoria 3800, Australia.  
14 ARC Centre of Excellence in Advanced Molecular Imaging, Monash University, Clayton,  
15 Victoria 3800, Australia. <sup>7</sup>Institute of Infection and Immunity, Cardiff University, School of  
16 Medicine, Heath Park, Cardiff CF14 4XN, UK. <sup>8</sup>Department of Microbiology and  
17 Immunology, Peter Doherty Institute for Infection and Immunity, University of Melbourne,  
18 Parkville, Australia. <sup>9</sup>Institute of Cardiometabolism and Nutrition, ICAN, INSERM 1166,  
19 Paris, France.

20 10 These authors contributed equally to this work

21 11 Lead contact

22  
23 Correspondance to A. Lehuen, INSERM U1016, Institut Cochin, 123 boulevard de Port-  
24 Royal, 75014 Paris

25 Phone: 33 (0)1 76 53 55 90; email: [Agnès.Lehuen@inserm.fr](mailto:Agnès.Lehuen@inserm.fr)

## 26 **Summary**

27 Obesity and type 2 diabetes are associated with low-grade chronic inflammation. Immune  
28 cells are recruited and activated in several tissues, including adipose tissue, thereby  
29 contributing to insulin-resistance and diabetes. Recent studies described gut microbiota  
30 dysbiosis as a consequence as well as a driver of obesity and diabetes. Mucosal-associated  
31 invariant T cells (MAIT) are innate-like T cells expressing a semi-invariant T-cell receptor  
32 restricted by the non-classical MHC class I molecule MR1 presenting bacterial ligands. Here  
33 we show that during obesity MAIT cells produce inflammatory cytokines in adipose tissue  
34 and ileum and induce inflammation in these tissues by modifying immune cell populations.  
35 These changes impair the function of both tissues leading to insulin resistance, glucose  
36 intolerance, impaired lipid metabolism and increased gut permeability. MAIT cells impact gut  
37 microbiota dysbiosis and microbiota transfer experiments highlight a bidirectional crosstalk  
38 between MAIT cells and the gut microbiota leading to inflammation, gut leakage and insulin  
39 resistance.

40

41 **Keywords:** MAIT, obesity, diabetes, inflammation, microbiota dysbiosis, adipose tissue,  
42 gut mucosa, innate immune cells, regulatory T cells

43

## 44 **Highlights**

- 45 • MAIT cells are activated in adipose tissue and ileum during obesity
- 46 • MAIT cells promote insulin resistance and glucose intolerance
- 47 • MAIT cells are pro-inflammatory and decreased the frequency of regulatory cells
- 48 • MAIT cells impact gut microbiota composition

49

50

## 51 **Introduction**

52 Obesity is characterized by a chronic low-grade inflammation of the visceral adipose  
53 tissue (VAT) and this inflammation is a major driver of insulin resistance associated  
54 with the development of T2D (Pereira and Alvarez-Leite, 2014). VAT inflammation in  
55 obesity is the result of tissue accumulation of pro-inflammatory immune cells that  
56 include M1 macrophages, CD8<sup>+</sup> T cells, Th17 CD4<sup>+</sup> T cells, NK cells and neutrophils  
57 (Grant and Dixit, 2015). (Bertola et al., 2012; Nishimura et al., 2009; Talukdar et al.,  
58 2012; Wensveen et al., 2015). In contrast there is a reduction in the frequency of anti-  
59 inflammatory immune cells such as M2 macrophages, Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells, (Treg)  
60 eosinophils and type 2 innate lymphoid cells (ILC2) that are associated with protection  
61 against insulin resistance through local control of inflammation in VAT (Molofsky et al.,  
62 2013; Nishimura et al., 2009; Wu et al., 2011).

63 The gut contains many immune cells as it is continually exposed to microbial antigens  
64 and ingested antigens from the diet. Obesity promotes a pro-inflammatory shift in gut  
65 immune cell populations, characterized by reduced Foxp3<sup>+</sup> Treg cells in the lamina  
66 propria and an increase of IFN- $\gamma$  producing Th1 and CD8<sup>+</sup> T cells as well as increased IL-  
67 17-producing  $\gamma\delta$  T cells (Luck et al., 2015). Obesity is also associated with changes in the  
68 gastrointestinal flora and microbiota transfer from obese patients or mice can impact  
69 body fat expansion, systemic inflammation and insulin resistance (Membrez et al., 2008;  
70 Samuel et al., 2008; Turnbaugh et al., 2006).

71 Mucosal-associated invariant T (MAIT) cells are innate like T-cells that typically express  
72 a invariant TCR  $\alpha$ -chain (V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33 in humans and V $\alpha$ 19-J $\alpha$ 33 in mice), with a limited  
73 number of  $\beta$ -chains (Treiner et al., 2003). MAIT cells recognize the major  
74 histocompatibility complex-related molecule 1 (MR1), presenting antigens from certain  
75 bacteria and yeast (Franciszkiwicz et al., 2016). MAIT cell ligands derived from

76 bacterial metabolites of vitamin B2 synthesis (Corbett et al., 2014; Kjer-Nielsen et al.,  
77 2012). We and others have revealed major MAIT cell alterations in T2D and obese  
78 patients (Carolan et al., 2015; Magalhaes et al., 2015a, 2015b). In these patients MAIT  
79 cells are less abundant in the blood and they produce high level of IL-17 in VAT.  
80 Moreover, bariatric surgery-induced weight loss and associated improvement of  
81 metabolic and inflammatory status were accompanied by a significant increase of blood  
82 MAIT cell frequency (Magalhaes et al., 2015b). All these observations prompted us to  
83 investigate the role of MAIT cells during obesity and T2D in mouse models.  
84 We first analyzed MAIT cell alteration occurring in C57BL/6 (B6) mice upon high fat diet  
85 (HFD) and then we deciphered the impact of MAIT cells in T2D development using V $\alpha$ 19  
86 transgenic B6 mice expressing elevated frequency of MAIT cells and MR1<sup>-/-</sup> B6 mice  
87 devoid of MAIT cells. More particularly we analyzed glucose and lipid metabolism,  
88 inflammation status of VAT and the ileum, immune cell populations in these tissues and  
89 finally the gut microbiota composition. Together our results reveal a major impact of  
90 MAIT cells in the development of T2D and a critical crosstalk between MAIT cells and  
91 the gut microbiota.

92

## 93 **Results**

### 94 **Impaired MAIT cell accumulation in adipose tissue and ileum of obese mice**

95 We first analyzed the frequency of MAIT cells in several tissues from C57BL/6J (B6)  
96 mice fed either high fat diet (HFD) or normal diet (ND) for 12 weeks. Using mouse-MR1  
97 tetramers loaded with 5-OP-RU (TetMR1<sup>+</sup>) (Rahimpour et al., 2015; Reantragoon et al.,  
98 2013), MAIT cells were identified as CD45<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>CD11b<sup>-</sup>TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>TCR $\alpha\beta$ <sup>+</sup>TetMR1<sup>+</sup> (**Figure**  
99 **1A**). As previously observed in obese and T2D patients, MAIT cell frequency was  
100 decreased in the blood of obese B6 mice compared to lean mice (**Figure 1 A-B**).

101 Moreover MAIT cell frequency was also decreased in the epididymal adipose tissue (Epi-  
102 AT) and ileum from obese B6 mice compared to lean mice, whereas MAIT cell frequency  
103 remained unchanged in the spleen, liver and colon. Of note the decreased frequency of  
104 MAIT cells in Epi-AT and ileum was also observed in terms of absolute numbers (**Figure**  
105 **1C**). In these tissues the majority of MAIT cells are CD4<sup>+</sup>CD8 $\alpha$ <sup>-</sup> (> 80 % of total MAIT  
106 cells) and this proportion was not modified under HFD (**Figure 1D**). Since obesity can  
107 induce early modification of immune cell homeostasis in adipose tissue and the gut  
108 (Exley et al., 2014; Winer et al., 2017), we performed a kinetic analysis of MAIT cell  
109 frequency in these tissues (**Figure 1E**). No differences were observed at 6 weeks after  
110 the beginning of HFD, however the difference observed at 12 weeks after HFD were  
111 sustained after 16 weeks of diet.

112 Decreased frequency and number of MAIT cells in Epi-AT and ileum of obese mice could  
113 result from impaired recruitment and proliferation in these tissues and increased cell  
114 death. To analyze MAIT cell migration, CD45.1<sup>+</sup> MAIT cells were injected into lean and  
115 obese B6 mice and analyzed in Epi-AT and ileum 5 days later. Similar frequency of  
116 CD45.1<sup>+</sup> MAIT cells, among  $\alpha\beta$ T lymphocytes as well as among CD45 cells, was observed  
117 in both lean and obese B6 mice (**Figure 1F and Figure S1A**). Analysis of MAIT cell  
118 proliferation based on Ki67 staining did not reveal any difference between MAIT cells  
119 from obese and lean mice (**Figure 1G and Figure S1B**). In contrast analysis of the  
120 expression of anti- and pro-apoptotic molecules in MAIT cells from Epi-AT and ileum  
121 suggested an increased apoptosis of MAIT cells from obese mice compared to lean mice  
122 (**Figure 1H**). Transcript level of pro-apoptotic molecules such as *cMyc*, *caspase9* and *Bax*  
123 were increased whereas the level of *Bcl2* mRNA was decreased in MAIT cells during  
124 obesity. Altogether these data suggest that MAIT cells in the Epi-AT and ileum of obese

125 mice are undergoing apoptosis leading to lower frequency in these tissues, as compared  
126 to lean controls.

127

128 **MAIT cells from adipose tissue and ileum exhibit a pro-inflammatory profile in**  
129 **obese mice**

130 Next we analyzed the phenotype and cytokine production by MAIT cells from Epi-AT  
131 and ileum of B6 mice fed ND or HFD for 12 weeks. The expression of CD44, a marker of  
132 functionally mature MAIT cells, was significantly increased on the surface of MAIT cells  
133 from Epi-AT and ileum of B6 mice fed HFD compared to mice under ND (**Figure 2 A-B**).  
134 In contrast, CD69 activation/retention marker was significantly decreased in these both  
135 tissues from obese mice and there was no difference of CD25 expression on MAIT cells  
136 from B6 under ND and HFD (data not shown).

137 Cytokine mRNA expression by MAIT cells from Epi-AT and ileum was assessed by qPCR  
138 (**Figure 2C**). In both tissues MAIT cells produced higher level of *Tnf $\alpha$* , *Ifn $\gamma$*  and *Il17a* in  
139 obese mice compared to lean controls. Analysis of cytokine and chemokine receptors,  
140 usually associated with Th1 response (IL-18R) and Th17 response (CCR6) in MAIT cells  
141 from obese and lean mice showed overexpression of these receptors by MAIT cells  
142 isolated from ileum and Epi-AT, respectively. According to the overexpression of *Il18r*  
143 mRNA by MAIT cells from the ileum of obese mice, immunofluorescence staining  
144 showed an increased expression of *T-bet*, the key transcription factor of Th1 cytokines  
145 (**Figure 2D and Figure S1C**). Together these data show that MAIT cells are pro-  
146 inflammatory in both Epi-AT and ileum from obese mice compared to lean controls.

147 It has been well established that Epi-AT and ileum from obese mice produced high level  
148 of pro-inflammatory cytokines such IL-1 $\beta$  and IL-6 that could influence MAIT cell  
149 function. However, we wanted to investigate whether MAIT cell activation was

150 associated with modification of MR1 expression in these tissues and the abundance of  
151 MAIT cell ligand produced by the gut microbiota from obese B6 mice. As previously  
152 described, the surface expression of MR1 was extremely low in all cell types and no  
153 differences were detected between obese and lean mice (data not shown) (Chua et al.,  
154 2011). Using a bioassay, we assessed the ability of the gut microbiota from lean and  
155 obese mice to activate MAIT cells (**Figure 2E**). There was a decreased activation of MAIT  
156 cells with caecum microbiota from obese mice compared to those from lean mice. Of  
157 note, this activation was MR1 specific, since it was inhibited by adding the antagonist  
158 ligand Ac-6-FP. These data suggest that the local activation of MAIT cells is not due to  
159 elevated presence of activating ligands but rather to the pro-inflammatory milieu of Epi-  
160 AT and ileum of obese mice. To determine whether these gut microbiota differences  
161 (low MAIT ligand production during obesity) have an impact on MAIT cell frequency in  
162 the ileum and the adipose tissue, we performed microbiota transfer experiments. Feces from  
163 HFD or ND fed B6 mice were transferred to B6 recipient mice (**Figure 2F**). As observed in  
164 feces donor mice, MAIT cell frequency decreased in the ileum and Epi-AT of B6  
165 reconstituted with feces from HFD fed mice compared to B6 reconstituted with feces from  
166 ND fed mice (**Figure 2G**). Of note, as previously described, feces transfer from HFD fed B6  
167 mice into B6 recipient mice induces weight gain and increased glycemia when compared to  
168 controls (**Figure S1D and S1E**) (Ridaura et al., 2013). This result revealed the impact of the  
169 gut microbiota alteration associated with HFD on MAIT cell homeostasis.

170

### 171 **MAIT cells promote lipid metabolism deregulation during obesity**

172 To determine the role MAIT cells in the pathogenesis of T2D and obesity, we analyzed  
173 MR1<sup>-/-</sup> B6 mice that lack MAIT cells, since the MR1 molecule is required for the thymic  
174 development of MAIT cells (Koay et al., 2016; Treiner et al., 2003). Conversely, we also

175 analyzed  $V\alpha 19^{+/-}$  transgenic B6 mice that exhibit a 10-fold increased frequency of MAIT  
176 cells (**Figure 3A**). To induce obesity, we subjected these mice and their respective  
177 littermate controls,  $MR1^{+/-}$  and  $V\alpha 19^{-/-}$ , to HFD or ND for 12 to 16 weeks. During the  
178 course of high fat feeding period, there was no difference on weight gain, and at the end  
179 of the regime there was no differences in food intake, Respiratory Exchange Ratio (RER)  
180 and Epi-AT weight in both  $MR1^{-/-}$  mice and  $V\alpha 19^{+/-}$  mice compared to their littermate  
181 controls (**Figure S2A-S2D**). Furthermore, percentage of fat and lean mass evaluation by  
182 magnetic resonance imaging showed no differences between the various mouse lines  
183 (Figure S2D). However histology analysis showed that under HFD the adipocyte size was  
184 increased in the Epi-AT of  $V\alpha 19^{+/-}$  mice compared to their littermate controls. Inversely,  
185 under HFD the adipocytes size in Epi-AT was smaller in  $MR1^{-/-}$  mice than in littermate  
186 controls (**Figure 3B-C and S2E**). To assess the impact of MAIT cells on Epi-AT function,  
187 the expression of two key adipokines, adiponectin and leptin was measured by qPCR  
188 (**Figure 3D**). *Adiponectin* expression was decreased whereas *leptin* expression was  
189 increased in  $V\alpha 19^{+/-}$  compared to their littermate controls. Opposite results were  
190 obtained in  $MR1^{-/-}$  mice. These results indicate that MAIT cells are involved in the  
191 deregulation of the homeostasis of the Epi-AT. We next analyzed the expression of two  
192 lipolytic enzymes, adipose triglycerides lipase (*Atgl*) and the hormone sensitive lipase  
193 (*Hsl*), involved in the intracellular degradation of triglycerides in the adipose tissue.  
194 Under HFD, while the expression of both genes was increased in  $V\alpha 19^{+/-}$  mice, compared  
195 to their control littermates, in  $MR1^{-/-}$  mice the expression of *Atgl* and *Hsl* (not  
196 significantly) was decreased (**Figure 3E**). According to the increased expression of these  
197 genes in  $V\alpha 19^{+/-}$  mice, there was an elevated concentration of circulating glycerol and  
198 triglycerides in these mice fed HFD, and conversely there was a lower level of these  
199 lipids in the serum of  $MR1^{-/-}$  mice fed HFD (**Figure 3F and 3G**).



200 The expression of an adipogenic regulator, the transcription factor peroxisome  
201 proliferator-activated receptor gamma (*Ppar $\gamma$* ) was significantly decreased in Epi-AT of  
202  $V\alpha 19^{+/-}$  mice and increased in the Epi-AT of  $MR1^{-/-}$  mice (**Figure 3E**). We next  
203 investigated the impact of MAIT cells on the inflammatory status of Epi-AT in mice fed  
204 HFD. Transcript level of cytokines known to be involved in Epi-AT inflammation (*Ccl2*,  
205 *Ccl5*, *Il1 $\beta$* , *Il6*, *Il17a*, *Ifn $\gamma$*  and *Tnf $\alpha$* ) were significantly increased in  $V\alpha 19^{+/-}$  compared to  
206 their littermate controls, whereas in  $MR1^{-/-}$  mice the expression of these genes was  
207 decreased (**Figure 3H**). Opposite results were observed for molecules associated with  
208 anti-inflammatory responses (*Foxp3*, *Il5* and *Il13*). Similar data were observed in  
209 purified immune cells from Epi-AT and this modification of *Il17* expression was  
210 supported by the frequency of ROR $\gamma$ t positive conventional  $\alpha\beta$ T cells (**Figure S3A and**  
211 **S3B**). Of note, under ND only slight differences were observed in  $V\alpha 19^{+/-}$  mice compared  
212 to their controls. Taken together these data reveal the critical role of MAIT cells in the  
213 metabolic deregulation and inflammation occurring in the adipose tissue of obese mice  
214 (**Figure S3C**)

215

### 216 **MAIT cells impair glucose metabolism and induce insulin resistance during** 217 **obesity**

218 Given the impact of MAIT cells on Epi-AT, we investigated glucose homeostasis in  $MR1^{-/-}$   
219 and  $V\alpha 19^{+/-}$  mice and performed insulin tolerance test and oral glucose tolerance test in  
220 these mice after 12-16 weeks of HFD (**Figure 4A and 4B**). Corroborating the  
221 inflammatory status,  $V\alpha 19^{+/-}$  had decreased insulin sensitivity than their littermate  
222 controls whereas  $MR1^{-/-}$  mice presented an enhanced insulin tolerance when compared  
223 to their littermate controls. Similarly while  $V\alpha 19^{+/-}$  mice were more glucose intolerant,  
224  $MR1^{-/-}$  mice had improved glucose tolerance, as compared to their respective littermate

225 controls. In both fasted and fed MR1<sup>-/-</sup> mice, basal blood glucose level was significantly  
226 decreased when compared to control littermates (**Figure 4C**). Conversely, in fasted and  
227 fed Vα19<sup>+/-</sup> mice significant the basal blood glucose level was increased. Moreover the  
228 basal serum insulin concentration and HOMA-IR index were decreased in MR1<sup>-/-</sup> mice  
229 and increased in Vα19<sup>+/-</sup> mice, under HFD (**Figure 4D-E**). The impact of MAIT cells on  
230 insulin resistance was confirmed at the cellular level by the analysis of Akt  
231 phosphorylation, which is a read-out of the intracellular insulin signaling (**Figure 4F**  
232 **and S3D and S3E**). The relative amount of phosphorylated Akt in Epi-AT was increased  
233 in MR1<sup>-/-</sup> mice and reduced in Vα19<sup>+/-</sup> mice compared to their littermate controls and  
234 similar data were observed in the liver and muscle from Vα19<sup>+/-</sup> mice. All these data  
235 demonstrate the deleterious impact of MAIT cells on glucose metabolism during obesity  
236 promoting T2D development.

237

### 238 **MAIT cells promote ileum inflammation and gut leakage during obesity**

239 Since we observed that MAIT cells from the ileum of B6 mice produced high level of pro-  
240 inflammatory cytokines when the mice were fed HFD, we investigated whether MAIT  
241 cells had a general impact on the inflammatory status of this tissue. Analysis of cytokine  
242 mRNA from the ileum of HFD fed Vα19<sup>+/-</sup> mice, compared to their non-transgenic  
243 littermates, showed a significant increased expression of molecules associated with  
244 inflammation such as *Ccl2*, *Ccl5*, *Ccl20*, *Il6*, *Il17a*, *Il18*, *Ifnγ*, *Tnfα*, *lymphotoxin a* and *GrzB*.  
245 (**Figure 5A**). In contrast, the level of anti-inflammatory molecules such as *Foxp3*, *Il5* and  
246 *Il13* was lower in Vα19<sup>+/-</sup> than in controls. Opposite results were obtained in HFD fed  
247 MR1<sup>-/-</sup> mice compared to their littermate controls. As in Epi-AT the inflammatory status  
248 was also confirmed at the level of immune cells from the lamina propria (LP) and  
249 corroborated by the frequency of conventional T cells expressing RORγt (**Figure S4A-**

250 **B)**. Only minor modifications were observed in in LP cells from ND fed mice (**Figure**  
251 **S4C**).–To determine whether the inflammatory status induced by MAIT cells had an  
252 impact on gut integrity, we analyzed FITC-dextran translocation to the blood after oral  
253 gavage of HFD fed  $V\alpha 19^{+/-}$  and  $MR1^{-/-}$  mice and their respective controls (**Figure 5B**).  
254 These experiments clearly indicated that the presence of MAIT cells enhanced FITC-  
255 dextran translocation from the gut to the blood, indicating increased gut leakiness of  
256  $V\alpha 19^{+/-}$  mice and improved gut integrity in  $MR1^{-/-}$  mice. In agreement with these data,  
257 there was higher mRNA level of tight junction proteins such as *zonulin-1*, *claudin-4* and  
258 *occludin*, and of *mucin*, a major component of the mucus layer, in epithelial cells from the  
259 ileum of HFD fed  $MR1^{-/-}$  mice (**Figure 5C**). Opposite results were obtained with  
260 epithelial cells from the ileum of HFD fed  $V\alpha 19^{+/-}$  mice. Together these results indicate  
261 that MAIT cells induce the inflammation of the small intestine and a loss of gut integrity  
262 during obesity.

263

#### 264 **MAIT cells have a major impact on other immune cells in the ileum and adipose** 265 **tissue of obese mice**

266 Since MAIT cells played a key role in the inflammatory status and the function of Epi-AT  
267 and ileum during obesity, we investigated whether MAIT cell influenced the frequency of  
268 other immune cells in both tissues from the different mouse lines fed ND or HFD  
269 (**Figures S5 and S6**). In agreement with *Foxp3* mRNA level in the ileum from HFD fed  
270 mice, there was a decreased frequency of  $Foxp3^{+}$  Treg cells in  $V\alpha 19^{+/-}$  mice and an  
271 increased frequency of  $Foxp3^{+}$  Treg cells in  $MR1^{-/-}$ , compared to their respective  
272 littermate controls (**Figure 6A**). Of note, the analysis of Treg cells in the ileum of WT B6  
273 mice confirmed the decreased frequency of Treg cells already described in obese mice  
274 (Garidou et al., 2015; Luck et al., 2015) (**Figure 6A**). Similarly to Treg cells, both ILC2

275 and ILC3 populations were more frequent in HFD fed MR1<sup>-/-</sup> mice compared to their  
276 littermate controls. Conversely there was a decreased frequency of ILC3 in HFD fed  
277 Vα19<sup>+/-</sup> mice compared to their non-transgenic controls. Of note there was a decreased  
278 frequency of both ILC2 and ILC3 in Vα19<sup>+/-</sup> under ND. The analysis of the Epi-AT from  
279 obese Vα19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice confirmed the inflammatory impact of MAIT cells (**Figure**  
280 **6B**). Among the Epi-AT immune cells, the frequency of inflammatory cells (conventional  
281 CD8<sup>+</sup> T lymphocytes and NK cells) was increased in Vα19<sup>+/-</sup> whereas these cells were  
282 less frequent in MR1<sup>-/-</sup>, compared to their respective littermate controls. On the  
283 contrary, the frequency of regulatory cells (Foxp3<sup>+</sup> Treg cells, ILC2 and eosinophils)  
284 were markedly decreased in Epi-AT from HFD fed Vα19<sup>+/-</sup> and they represented a higher  
285 proportions among immune cells from the Epi-AT of HFD fed MR1<sup>-/-</sup> mice. Interestingly,  
286 there was no modification of these various immune cell populations in Epi-AT from  
287 Vα19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> under ND. As controls, we also analyzed Epi-AT from WT B6 mice  
288 under ND and HFD and confirmed previous studies (Molofsky et al., 2013; Nishimura et  
289 al., 2009; Wensveen et al., 2015) showing an increased frequency of conventional CD8<sup>+</sup>  
290 T cells and NK cells that paralleled the decreased frequency of ILC2 and eosinophils. Of  
291 note, there was no difference in Treg cell frequency between obese and lean controls.  
292 Regarding macrophages, there was no differences in their frequency in Epi-AT from HFD  
293 fed Vα19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice compared to their littermate controls (data not shown).  
294 However macrophages from Vα19<sup>+/-</sup> mice compared to control littermates expressed a  
295 M1 pro-inflammatory profile, higher level of *Ccr2*, *Mcp1*, *Il1β* and *Il6* mRNA and lower  
296 level of *TgfbR2*, *Cd206*, *Cd163* and *Il10* mRNA. Conversely macrophages from HFD fed  
297 MR1<sup>-/-</sup> mice exhibited M2 alternatively activated characteristics with low level of *Ccr2*,  
298 *Mcp1*, *Il1β*, *Il6* and *Tnfα* mRNA and high level of *TgfbR2*, *Cd206*, *Cd163* and *Il10* mRNA.  
299 Unexpectedly, macrophages from Epi-AT of obese Vα19<sup>+/-</sup> mice express lower level of

300 *Tnfa* mRNA than their non-transgenic controls (**Figure 6C**). Taken together, these  
301 analyses of immune cell populations in the ileum and Epi-AT strengthened the pro-  
302 inflammatory role of MAIT cells in obesity and T2D.

303

304 **During obesity MAIT cells modify gut microbiota that controls other immune cell**  
305 **populations and gut permeability**

306 We investigated the effect of MAIT cells on the gut microbiota composition and its  
307 impact on gut mucosa inflammation and function. 16S-rRNA sequencing was performed  
308 to evaluate the relative abundance of different bacterial phyla in the various mouse lines  
309 (**Table S2**). At steady state upon ND feeding, we did not observe differences in the gut  
310 microbiota composition between  $V\alpha 19^{+/-}$  mice or  $MR1^{-/-}$  mice compared to their  
311 respective littermate controls (data not shown).

312 With HFD, we observed a significant decrease of the Actinobacteria phylum in the  $MR1^{-/-}$   
313 mice compared to their littermate controls while the other phyla (Bacteroidetes,  
314 Firmicutes, Proteobacteria and Deferribacteres) remained unchanged (**Figure 7A and**  
315 **S7A**). In agreement, the Coriobacteriaceae family (Actinobacteria phylum) and the  
316 *Olsenella* genus (a member of the Coriobacteriaceae family) decreased in the  $MR1^{-/-}$  mice  
317 when compared to their littermate (**Figure 7B**). Conversely an increase of the  
318 Clostridiaceae (belonging to the Firmicutes phylum) existed in the  $MR1^{-/-}$  mice group  
319 compared to the control group (**Figure 7C**). Consistently at the genus level, *Clostridium*  
320 *sensu stricto* and two *Lachnospiraceae* groups also increased while the *Eubacterium*  
321 *rectale* group displayed lower abundance in the  $MR1^{-/-}$  mice than in control littermates  
322 (**Figure 7C**) and three OTU clusters (556, 21 and 451) assigned to *Lachnospiraceae*  
323 varied between the two mice groups (**Figure 7D and SI 1A**). For  $V\alpha 19^{+/-}$  mice, their gut  
324 microbiota displayed higher content than their littermate controls of Actinobacteria

325 phylum (**Figure 7E and S7B**), Coriobacteriaceae family and eleven bacterial OTU  
326 clusters assigned to this family (**Figure 7F and 7G, SI 1B**).

327 To determine whether these gut microbiota differences induced by MAIT cells altered  
328 ileum inflammation and function, and glucose metabolism, we performed microbiota  
329 transfer experiments. Feces from HFD fed  $V\alpha 19^{+/-}$  mice,  $MR1^{-/-}$  mice, or their littermate  
330 controls were transferred into B6 recipient mice (**Figure S7C**). 16S-rRNA sequencing  
331 analysis after transplantation of B6 mice with gut microbiota from  $MR1^{-/-}$  and control  
332 littermate mice, showed that the difference in Actinobacteria abundance was much less  
333 pronounced when compared to the donors mice (**Figure S7D**) however, it is noteworthy  
334 that at the OTU level, five *Lachnospiraceae* clusters including the three mentioned in  
335 donor mice were differentially distributed (**Figure 7H and SI 1C**). In the B6 mice  
336 transplanted with the microbiota from  $V\alpha 19^{+/-}$  or littermates, the Bifidobacteriaceae  
337 (Actinobacteria phylum) and Lactobacillaceae (Firmicutes phylum) families were  
338 significantly lower after  $V\alpha 19^{+/-}$  than littermate microbiota transplantation (**Figure 7I**  
339 **and S7E**) and the analysis at the OTU level showed a differential distribution between  
340 the two groups of mice (i) eighteen OTU clusters all belonging to the Firmicutes  
341 (assigned to families as follows: 10 Lachnospiraceae, 5 Ruminococcaceae, 1  
342 Christensenellaceae, , 1 Carnobacteriaceae and) (ii) 3 OTU belonging to Actinobacteria  
343 (assigned to Bifidobacteriaceae family and to Coriobacteriaceae) (**Figure 7J and SI 1D**).  
344 These data showed that during obesity MAIT cells impacted gut microbiota composition,  
345 which can partially transferred into B6 recipient mice.

346 Regarding gut mucosa function, as observed in HFD fed  $V\alpha 19^{+/-}$  mice, recipient B6 mice  
347 that had received feces from HFD fed  $V\alpha 19^{+/-}$  mice exhibited increased intestinal  
348 permeability, compared to recipient B6 mice transferred with gut microbiota from  
349 littermate controls. Conversely, recipient B6 mice that had received feces from HFD fed

350 MR1<sup>-/-</sup> mice showed improved intestinal integrity compared to recipient B6 mice  
351 transferred with feces from HFD fed MR1<sup>+/-</sup> littermate (**Figure 7K**). We then evaluated  
352 the impact of the gut microbiota transfer on glucose metabolism. The transfer of gut  
353 microbiota from obese MR1<sup>-/-</sup> mice to B6 recipient mice improved insulin sensitivity and  
354 had a moderate effect on glucose tolerance (**Figure 7L**). No significant metabolic  
355 differences were observed after the transfer of feces from Vα19<sup>+/-</sup> mice. Next we  
356 analyzed different immune cells populations both in ileum and Epi-AT of recipient B6  
357 mice. In the ileum, there was (i) a decreased frequency of Foxp3<sup>+</sup> Treg cells in mice  
358 reconstituted with the microbiota originated from the Vα19<sup>+/-</sup> mice and (ii) an increased  
359 frequency of Foxp3<sup>+</sup> Treg cells in mice reconstituted with MR1<sup>-/-</sup> microbiota, compared  
360 to their respective littermate controls (**Figure 7M**). Moreover, similarly to Treg cells,  
361 both ILC2 and ILC3 populations were more frequent in mice reconstituted with the  
362 microbiota from MR1<sup>-/-</sup> mouse, compared to microbiota from littermate controls. There  
363 was no difference in ILC2 and ILC3 subsets between mice reconstituted with Vα19<sup>+/-</sup>  
364 microbiota compared to their controls (**Figure 7M**). In the Epi-AT, only difference in  
365 ILC2 cell population was observed, with a decreased frequency of ILC2 cells in mice  
366 reconstituted with Vα19<sup>+/-</sup> mouse microbiota and an increased frequency of ILC2 cells in  
367 mice reconstituted with MR1<sup>-/-</sup> mouse microbiota, compared to their respective  
368 littermate controls (**Figure 7N**). Altogether our results highlight the major impact of  
369 MAIT cells on the gut microbiota composition, which can influence gut permeability,  
370 immune cell populations in both ileum and Epi-AT and to some extend glucose  
371 metabolism in the context of obesity.

372

373 **Discussion**

374 This study shows that obesity has an impact on MAIT cell frequency and function in Epi-AT  
375 and ileum and conversely MAIT cells promote the deregulation of lipid and glucose  
376 metabolism and favor gut dysbiosis. In mice fed HFD, MAIT cells became pro-inflammatory  
377 and promoted T2D, in a mechanism involving a bi-directional crosstalk with the gut  
378 microbiota. MAIT cell frequency and cell number decreased specifically in the blood, ileum  
379 and Epi-AT of B6 mice fed HFD, compared to lean controls. These results in mouse models  
380 corroborated previous results showing that blood MAIT cell frequency and number decreased  
381 in obese and/or T2D patients (Carolan et al., 2015; Magalhaes et al., 2015a, 2015b). Thus this  
382 mouse model of obesity seems relevant to perform mechanistic studies on the role of MAIT  
383 cells in obesity and T2D.

384 MAIT cells over-expressed pro-apoptotic genes (Bax, cMyc and Caspase 9) and down-  
385 regulated Bcl-2 (an anti-apoptotic gene) in Epi-AT and ileum of obese mice compared to lean  
386 controls. Our previous data in humans showed that co-culture of MAIT cells with visceral  
387 adipose tissues from obese patients induced the down-regulation of bcl-2 (Magalhaes et al.,  
388 2015b). Together these observations in humans and mice suggest that in the context of obesity  
389 adipose tissue could promote MAIT cell apoptosis. Moreover, the decreased frequency and  
390 number of MAIT cells in mouse Epi-AT and ileum from obese mice was not associated with  
391 decreased recruitment nor decreased proliferation of MAIT cells. Interestingly, B6 mice  
392 reconstituted with HFD fed B6 mouse microbiota harbored a lower MAIT cell frequency in  
393 these tissues than control B6 mice reconstituted with ND fed B6 mouse microbiota. This low  
394 frequency of MAIT cells could result from modifications of the ileum and adipose tissue  
395 induced by the transfer of the gut microbiota from HFD fed mice. Metagenomic analyses  
396 have shown that obesity/T2D in humans and mouse models was associated with impaired  
397 riboflavin synthesis by the feces microbiota (Karlsson et al., 2013; Turnbaugh et al., 2006).  
398 Thus it is possible that the abundance of MAIT cell ligands could play a key role in MAIT



399 cell behavior. Using a bioassay we confirmed that the gut microbiota of obese mice was less  
400 potent to activate MAIT cells than gut microbiota from lean mice. Our data did not analyze  
401 the amount of activating versus inhibitory bacterial ligands but showed the biological  
402 outcome, which probably represents the key parameter (Corbett et al., 2014; Soudais et al.,  
403 2015). Together our data suggest that the lower activation ability of the gut microbiota from  
404 obese mice might contribute to MAIT cell apoptosis in ileum and Epi-AT, in addition to other  
405 local factors produced by these inflamed tissues. May be the role of several factors could  
406 explain why altered homeostasis of MAIT cells was observed in blood, ileum and Epi-AT but  
407 not in other tissues containing MAIT cells such as the liver, colon and spleen.

408 As in humans, mouse MAIT cells expressed a memory phenotype (CD44<sup>high</sup>) and produced  
409 Th1 (mainly IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$ ) and Th17 cytokines (Dusseaux et al., 2011; Koay et al., 2016).  
410 Moreover, in agreement with previous studies (Koay et al., 2016), we observed that mouse  
411 MAIT cells were PLZF<sup>+</sup> Ror $\gamma$ t<sup>+</sup> with low T-bet expression. During obesity, MAIT cell over-  
412 expressed IL-18R and CCR6 in Epi-AT. Two cytokine and chemokine receptors usually  
413 associated with Th1 and Th17 responses, respectively, (Lugo-Villarino et al., 2003;  
414 Yoshimoto et al., 1998). In obese mice MAIT cells from Epi-AT expressed high level of  
415 IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  and IL-17 genes and they favored Epi-AT inflammation during obesity. These  
416 results are in agreement with previous observations in obese/T2D patients showing higher  
417 production of inflammatory cytokines in MAIT from the adipose tissue of these patients  
418 compared to lean individuals (Carolan et al., 2015; Magalhaes et al., 2015b). Analyses of  
419 V $\alpha$ 19<sup>+/-</sup> mice and MR1<sup>-/-</sup> mice, fed with ND or HFD, confirmed the pro-inflammatory role of  
420 MAIT cells during obesity. Elevated frequency of MAIT cells in V $\alpha$ 19<sup>+/-</sup> mice induced a  
421 marked decrease of cells known to dampen inflammation in Epi-AT (Treg cells, ILC2 and  
422 eosinophils), at the advantage of a higher frequency of pro-inflammatory cells such as NK  
423 cells, CD8 T cells and M1-macrophages that promote insulin resistance and T2D (Goto et al.,

424 2014; Molofsky et al., 2013; Wensveen et al., 2015). Conversely, the Epi-AT of MR1<sup>-/-</sup>  
425 mice was protected against pro-inflammatory cell infiltration and was more enriched with  
426 regulatory cells, as compared to their littermates controls. Regarding the impact of MAIT  
427 cells on the function of adipose tissue, our previous data showed a correlation between MAIT  
428 cell alteration (frequency in the blood) and the serum level of these leptin and adiponectin in  
429 obese patients (Magalhaes et al., 2015b). Interestingly, our present mouse analyses further  
430 confirmed the role of MAIT cells in Epi-AT during obesity, since according to the presence  
431 and the frequency of MAIT cells in MR1<sup>-/-</sup> and Vα19<sup>+/-</sup> there was a modification of adipocyte  
432 size and adipocyte expression of these two adipokines. Moreover our data revealed the impact  
433 of MAIT cells on Epi-AT lipolytic enzyme expression, which could control serum level of  
434 glycerol and triglycerides. All these results highlight the role of MAIT cells in promoting Epi-  
435 AT inflammation and dysfunction leading to insulin resistance.

436 In the ileum, during obesity MAIT cells also became pro-inflammatory. MAIT cells  
437 expressed pro-inflammatory cytokines and they enhanced the inflammatory status of this  
438 tissue as seen by the higher expression of inflammatory genes and lower expression of  
439 regulatory genes in Vα19<sup>+/-</sup> mice, and opposite results were observed in MR1<sup>-/-</sup> mice.  
440 Paralleled to the inflammatory status of the ileum, gut integrity was impaired in Vα19<sup>+/-</sup> mice,  
441 and improved in MR1<sup>-/-</sup> mice. Loss of gut integrity can induce endotoxemia, which is a key  
442 step toward systemic insulin resistance and T2D (Cani et al., 2008). Thus increased gut  
443 permeability associated with the inflammatory impact of MAIT cells in Epi-AT could  
444 synergize to promote T2D development in obese mice. Indeed metabolic tests and the low  
445 ratio of phosphorylated-Akt in adipocytes after insulin stimulation confirmed the diabetogenic  
446 role of MAIT cells during obesity.

447 Obesity is associated with early inflammation and immune system changes in both Epi-AT  
448 and ileum. MAIT cells are innate like lymphocytes expressing many cytokine/chemokine

449 receptors that allow them to rapidly respond to modifications of their milieu (Dusseaux et al.,  
450 2011; Koay et al., 2016; Tang et al., 2013; Turtle et al., 2011). Even though the over-  
451 expression of T-bet in MAIT cells could reflect their stimulation by bacterial ligands as  
452 previously observed in the context of bacterial infection (Chen et al., 2017), during obesity  
453 MAIT cells could respond to pro-inflammatory cytokines such as IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-18,  
454 produced by macrophages (Boraschi and Dinarello, 2006; Yamashita et al., 2007). These  
455 cytokines would favor the production of IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  and IL-17 by MAIT cells as observed in  
456 the visceral- and Epi-AT in obese patients and mice, respectively.

457 The gut microbiota is involved in intestinal and systemic immune system function (Atarashi  
458 et al., 2011; Furusawa et al., 2013; Round et al., 2011). Here, we observed that MAIT cell  
459 frequency and their pro-inflammatory function during obesity were regulated by the gut  
460 microbiota. We observed an opposite effect on the Actinobacteria for the MR1<sup>-/-</sup> and the  
461 V $\alpha$ 19<sup>+/-</sup> compared to their control groups indicative of an effect of MAIT cells on the gut  
462 microbiota structure. Of note, the Coriobacteriaceae that are altered according to the MAIT  
463 status have been associated to metabolic diseases and host lipid metabolism in numerous  
464 reports (Martínez et al., 2013a). The other modifications of the microbiota observed at the  
465 family, order, genus and OTU levels presented a strong coherence and targeted  
466 microorganisms have already been associated to metabolic diseases and immunomodulation.  
467 For instance, the *Olsenella* genus constitutes a signature of a metabolic phenotype (Serino et  
468 al., 2011). *Lachnospiraceae* and *Clostridium* genera have been associated to diabetes, obesity,  
469 gut permeability and host immune response in several reports (Jiao et al., 2017). In addition,  
470 an increased abundance of *Eubacterium rectale* has been correlated to the modulation of  
471 the glucose and insulin postprandial response while Lactobacilli and Bifidobacteria  
472 include a number of strains described for their dampening effects on inflammatory response  
473 (Scott et al., 2014; Martínez et al., 2013b; Wells, 2011). The gut microbiota dysbiosis might

474 be related to the inflammatory status of intestine. Moreover, the role of the microbiota is often  
475 linked to its interaction with enterocytes (Chen and Kasper, 2014). Interestingly, the level of  
476 IL-25 and IL-33 expression by enterocytes was higher in HFD fed MR1<sup>-/-</sup> mice compared to  
477 littermate control mice (data not shown). Furthermore, microbiota transfer from HFD fed  
478 MR1<sup>-/-</sup> mice to recipient B6 mice showed that these gut bacteria could enhanced IL-25 and  
479 IL-33 expression by enterocytes as well as modify the frequency of Treg cells, ILC2 and  
480 ILC3. It would be quite interesting to further investigate the crosstalk between MAIT cells,  
481 the gut microbiota, the function of enterocytes and the frequency of these immune cells.

482

483 Altogether these data strengthened our previous results showing MAIT cell alterations in the  
484 blood and visceral adipose tissues from obese patients and most importantly mouse models  
485 had allowed a broaden analysis of several tissues, which revealed the pro-inflammatory  
486 profile of MAIT cells in the ileum. Moreover this study highlights a crosstalk between MAIT  
487 cells and the gut microbiota in obesity promoting inflammation and metabolic dysfunctions.

488

489

#### 490 **Author contributions**

491 B.K. and A.T. performed all the experiments and data analyses; M.R. and E.M. performed  
492 microbiota 16S analyses; L.B., L.C., D.R. and Y.S. performed experiments and data  
493 analyses; O.L. provided *Mr1*<sup>-/-</sup> and *Vα19*<sup>+/-</sup> C57BL/6J and reagents; J.R., J.M-C. provided  
494 mouse MR1 tetramers; P.L. performed metabolism analyses at Pitié-Salpêtrière; B.K.,  
495 A.T., M.R., E.M. and A.L. wrote the manuscript; A.L. supervised the work.

496

497

#### 498 **Acknowledgments**

499 We thank the mouse, Cybio and HistIM facilities from Cochin Institute; Gérard Eberl,  
500 Institut Pasteur, Paris, for the RORyt-GFP C57BL/6; the National Institutes of Health  
501 tetramer core facility for mouse MR1 tetramers; Amine Jablaoui and Aïcha Kriaa for  
502 technical and methodology support and A. Gargouri for support and Nicolas Venteclef  
503 for critical reading. B.K., A.T. and A.L. are supported by ANR-11-IDEX-0005-02  
504 Laboratory of Excellence INFLAMEX; B.K. was supported by the Fondation pour la  
505 Recherche Médicale; E.M. is supported by the project CMCU-PHC Utique (n°14G0816)-  
506 Campus France (n°30666QM). A.L. is supported ANR-14-CE12-0018, ANR-15-CE14-  
507 0029-03, by the Société Francophone de Diabétologie and the Département Hospitalo-  
508 Universitaire on Autoimmune and Hormonal Diseases.

509

510

## 511 **References**

512 Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., Cheng, G.,  
513 Yamasaki, S., Saito, T., Ohba, Y., et al. (2011). Induction of colonic regulatory T cells by  
514 indigenous Clostridium species. *Science* 331, 337–341.

515 Bertola, A., Ciucci, T., Rousseau, D., Bourlier, V., Duffaut, C., Bonnafous, S., Blin-Wakkach,  
516 C., Anty, R., Iannelli, A., Gugenheim, J., et al. (2012). Identification of adipose tissue  
517 dendritic cells correlated with obesity-associated insulin-resistance and inducing Th17  
518 responses in mice and patients. *Diabetes* 61, 2238–2247.

519 Boraschi, D., and Dinarello, C.A. (2006). IL-18 in autoimmunity: review. *Eur. Cytokine*  
520 *Netw.* 17, 224–252.

521 Cani, P.D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A.M., Delzenne, N.M., and Burcelin,  
522 R. (2008). Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced  
523 Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes* 57,  
524 1470–1481.

525 Carolan, E., Tobin, L.M., Mangan, B.A., Corrigan, M., Gaoatswe, G., Byrne, G., Geoghegan, J.,  
526 Cody, D., O’Connell, J., Winter, D.C., et al. (2015). Altered Distribution and Increased IL-  
527 17 Production by Mucosal-Associated Invariant T Cells in Adult and Childhood Obesity. *J.*  
528 *Immunol.* 1402945.

529 Chen, V.L., and Kasper, D.L. (2014). Interactions between the intestinal microbiota and  
530 innate lymphoid cells. *Gut Microbes* 5, 129.

531 Chen, Z., Wang, H., D'Souza, C., Sun, S., Kostenko, L., Eckle, S.B.G., Meehan, B.S., Jackson,  
532 D.C., Strugnell, R.A., Cao, H., et al. (2017). Mucosal-associated invariant T-cell activation  
533 and accumulation after in vivo infection depends on microbial riboflavin synthesis and  
534 co-stimulatory signals. *Mucosal Immunol.* *10*, 58–68.

535 Chua, W.-J., Kim, S., Myers, N., Huang, S., Yu, L., Fremont, D.H., Diamond, M.S., and Hansen,  
536 T.H. (2011). Endogenous MHC-Related Protein 1 Is Transiently Expressed on the Plasma  
537 Membrane in a Conformation That Activates Mucosal-Associated Invariant T Cells. *J.*  
538 *Immunol.* *186*, 4744–4750.

539 Corbett, A.J., Eckle, S.B.G., Birkinshaw, R.W., Liu, L., Patel, O., Mahony, J., Chen, Z.,  
540 Reantragoon, R., Meehan, B., Cao, H., et al. (2014). T-cell activation by transitory neo-  
541 antigens derived from distinct microbial pathways. *Nature* *509*, 361–365.

542 DeSantis, T.Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, E.L., Keller, K., Huber, T.,  
543 Dalevi, D., Hu, P., and Andersen, G.L. (2006). Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA  
544 gene database and workbench compatible with ARB. *Appl. Environ. Microbiol.* *72*, 5069–  
545 5072.

546 Dusseaux, M., Martin, E., Serriari, N., Péguillet, I., Premel, V., Louis, D., Milder, M., Bourhis,  
547 L.L., Soudais, C., Treiner, E., et al. (2011). Human MAIT cells are xenobiotic-resistant,  
548 tissue-targeted, CD161hi IL-17-secreting T cells. *Blood* *117*, 1250–1259.

549 Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., and Knight, R. (2011). UCHIME improves  
550 sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinforma. Oxf. Engl.* *27*, 2194–2200.

551 Exley, M.A., Hand, L., O'Shea, D., and Lynch, L. (2014). Interplay between the immune  
552 system and adipose tissue in obesity. *J. Endocrinol.* *223*, R41–R48.

553 Franciszkiewicz, K., Salou, M., Legoux, F., Zhou, Q., Cui, Y., Bessoles, S., and Lantz, O.  
554 (2016). MHC class I-related molecule, MR1, and mucosal-associated invariant T cells.  
555 *Immunol. Rev.* *272*, 120–138.

556 Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T.A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y.,  
557 Uetake, C., Kato, K., Kato, T., et al. (2013). Commensal microbe-derived butyrate induces  
558 the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* *504*, 446–450.

559 Garidou, L., Pomié, C., Klopp, P., Waget, A., Charpentier, J., Aloulou, M., Giry, A., Serino, M.,  
560 Stenman, L., Lahtinen, S., et al. (2015). The Gut Microbiota Regulates Intestinal CD4 T  
561 Cells Expressing ROR $\gamma$ t and Controls Metabolic Disease. *Cell Metab.* *22*, 100–112.

562 Goto, Y., Obata, T., Kunisawa, J., Sato, S., Ivanov, I.I., Lamichhane, A., Takeyama, N.,  
563 Kamioka, M., Sakamoto, M., Matsuki, T., et al. (2014). Innate lymphoid cells regulate  
564 intestinal epithelial cell glycosylation. *Science* *345*, 1254009.

565 Grant, R.W., and Dixit, V.D. (2015). Adipose tissue as an immunological organ. *Obesity*  
566 *23*, 512–518.

567 Hochberg, Y., and Benjamini, Y. (1990). More powerful procedures for multiple  
568 significance testing. *Stat. Med.* *9*, 811–818.

- 569 Jiao, N., Baker, S.S., Nugent, C.A., Tsompana, M., Guan, L., Wang, Y., Buck, M., Genco, R.J.,  
570 Baker, R.D., Zhu, R., et al. (2017). High-Fat Diet Increases Clostridium Clusters XIVa in  
571 Obese Rodents: A Meta-Analysis. *Gastroenterology* 152, S1012.
- 572 Karlsson, F.H., Tremaroli, V., Nookaew, I., Bergström, G., Behre, C.J., Fagerberg, B.,  
573 Nielsen, J., and Bäckhed, F. (2013). Gut metagenome in European women with normal,  
574 impaired and diabetic glucose control. *Nature* 498, 99–103.
- 575 Kjer-Nielsen, L., Patel, O., Corbett, A.J., Le Nours, J., Meehan, B., Liu, L., Bhati, M., Chen, Z.,  
576 Kostenko, L., Reantragoon, R., et al. (2012). MR1 presents microbial vitamin B  
577 metabolites to MAIT cells. *Nature* 491, 717–723.
- 578 Koay, H.-F., Gherardin, N.A., Enders, A., Loh, L., Mackay, L.K., Almeida, C.F., Russ, B.E.,  
579 Nold-Petry, C.A., Nold, M.F., Bedoui, S., et al. (2016). A three-stage intrathymic  
580 development pathway for the mucosal-associated invariant T cell lineage. *Nat. Immunol.*  
581 17, 1300–1311.
- 582 Lochner, M., Peduto, L., Cherrier, M., Sawa, S., Langa, F., Varona, R., Riethmacher, D., Si-  
583 Tahar, M., Santo, J.P.D., and Eberl, G. (2008). In vivo equilibrium of proinflammatory IL-  
584 17<sup>+</sup> and regulatory IL-10<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> RORγt<sup>+</sup> T cells. *J. Exp. Med.* 205, 1381–1393.
- 585 Luck, H., Tsai, S., Chung, J., Clemente-Casares, X., Ghazarian, M., Revelo, X.S., Lei, H., Luk,  
586 C.T., Shi, S.Y., Surendra, A., et al. (2015). Regulation of Obesity-Related Insulin Resistance  
587 with Gut Anti-inflammatory Agents. *Cell Metab.* 21, 527–542.
- 588 Lugo-Villarino, G., Maldonado-Lopez, R., Possemato, R., Penaranda, C., and Glimcher, L.H.  
589 (2003). T-bet is required for optimal production of IFN-gamma and antigen-specific T  
590 cell activation by dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 7749–7754.
- 591 Magalhaes, I., Kiaf, B., and Lehuen, A. (2015a). iNKT and MAIT Cell Alterations in  
592 Diabetes. *Front. Immunol.* 6.
- 593 Magalhaes, I., Pingris, K., Poitou, C., Bessoles, S., Venteclef, N., Kiaf, B., Beaudoin, L., Silva,  
594 J.D., Allatif, O., Rossjohn, J., et al. (2015b). Mucosal-associated invariant T cell alterations  
595 in obese and type 2 diabetic patients. *J. Clin. Invest.* 125, 1752–1762.
- 596 Magoč, T., and Salzberg, S.L. (2011). FLASH: fast length adjustment of short reads to  
597 improve genome assemblies. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 27, 2957–2963.
- 598 Markle, J.G.M., Frank, D.N., Mortin-Toth, S., Robertson, C.E., Feazel, L.M., Rolle-Kampczyk,  
599 U., Bergen, M. von, McCoy, K.D., Macpherson, A.J., and Danska, J.S. (2013). Sex Differences  
600 in the Gut Microbiome Drive Hormone-Dependent Regulation of Autoimmunity. *Science*  
601 339, 1084–1088.
- 602 Martínez, I., Perdicaro, D.J., Brown, A.W., Hammons, S., Carden, T.J., Carr, T.P., Eskridge,  
603 K.M., and Walter, J. (2013a). Diet-induced alterations of host cholesterol metabolism are  
604 likely to affect the gut microbiota composition in hamsters. *Appl. Environ. Microbiol.* 79,  
605 516–524.

606 Martínez, I., Lattimer, J.M., Hubach, K.L., Case, J.A., Yang, J., Weber, C.G., Louk, J.A., Rose,  
607 D.J., Kyureghian, G., Peterson, D.A., et al. (2013b). Gut microbiome composition is linked  
608 to whole grain-induced immunological improvements. *ISME J.* 7, 269–280.

609 Membrez, M., Blancher, F., Jaquet, M., Bibiloni, R., Cani, P.D., Burcelin, R.G., Corthesy, I.,  
610 Macé, K., and Chou, C.J. (2008). Gut microbiota modulation with norfloxacin and  
611 ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*  
612 22, 2416–2426.

613 Molofsky, A.B., Nussbaum, J.C., Liang, H.-E., Dyken, S.J.V., Cheng, L.E., Mohapatra, A.,  
614 Chawla, A., and Locksley, R.M. (2013). Innate lymphoid type 2 cells sustain visceral  
615 adipose tissue eosinophils and alternatively activated macrophages. *J. Exp. Med.* 210,  
616 535–549.

617 Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Eto, K., Yamashita, H., Ohsugi, M., Otsu, M., Hara,  
618 K., Ueki, K., Sugiura, S., et al. (2009). CD8<sup>+</sup> effector T cells contribute to macrophage  
619 recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat. Med.* 15, 914–920.

620 Pereira, S.S., and Alvarez-Leite, J.I. (2014). Low-Grade Inflammation, Obesity, and  
621 Diabetes. *Curr. Obes. Rep.* 3, 422–431.

622 Rahimpour, A., Koay, H.F., Enders, A., Clanchy, R., Eckle, S.B.G., Meehan, B., Chen, Z.,  
623 Whittle, B., Liu, L., Fairlie, D.P., et al. (2015). Identification of phenotypically and  
624 functionally heterogeneous mouse mucosal-associated invariant T cells using MR1  
625 tetramers. *J. Exp. Med.* 212, 1095–1108.

626 Reantragoon, R., Corbett, A.J., Sakala, I.G., Gherardin, N.A., Furness, J.B., Chen, Z., Eckle,  
627 S.B.G., Uldrich, A.P., Birkinshaw, R.W., Patel, O., et al. (2013). Antigen-loaded MR1  
628 tetramers define T cell receptor heterogeneity in mucosal-associated invariant T cells. *J.*  
629 *Exp. Med.* 210, 2305–2320.

630 Ridaura, V.K., Faith, J.J., Rey, F.E., Cheng, J., Duncan, A.E., Kau, A.L., Griffin, N.W., Lombard,  
631 V., Henrissat, B., Bain, J.R., et al. (2013). Gut microbiota from twins discordant for obesity  
632 modulate metabolism in mice. *Science* 341, 1241214.

633 Round, J.L., Lee, S.M., Li, J., Tran, G., Jabri, B., Chatila, T.A., and Mazmanian, S.K. (2011).  
634 The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human  
635 microbiota. *Science* 332, 974–977.

636 Samuel, B.S., Shaito, A., Motoike, T., Rey, F.E., Backhed, F., Manchester, J.K., Hammer, R.E.,  
637 Williams, S.C., Crowley, J., Yanagisawa, M., et al. (2008). Effects of the gut microbiota on  
638 host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled  
639 receptor, Gpr41. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 16767–16772.

640 Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski,  
641 R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., et al. (2009). Introducing mothur: open-  
642 source, platform-independent, community-supported software for describing and  
643 comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537–7541.



- 644 Serino, M., Luche, E., Gres, S., Baylac, A., Bergé, M., Cenac, C., Waget, A., Klopp, P., Iacovoni,  
645 J., Klopp, C., et al. (2011). Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a  
646 change in the gut microbiota. *Gut* *gutjnl-2011-301012*.
- 647 Soudais, C., Samassa, F., Sarkis, M., Le Bourhis, L., Bessoles, S., Blanot, D., Hervé, M.,  
648 Schmidt, F., Mengin-Lecreulx, D., and Lantz, O. (2015). In Vitro and In Vivo Analysis of  
649 the Gram-Negative Bacteria-Derived Riboflavin Precursor Derivatives Activating Mouse  
650 MAIT Cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *194*, 4641–4649.
- 651 Talukdar, S., Oh, D.Y., Bandyopadhyay, G., Li, D., Xu, J., McNelis, J., Lu, M., Li, P., Yan, Q.,  
652 Zhu, Y., et al. (2012). Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet  
653 through secreted elastase. *Nat. Med.* *18*, 1407–1412.
- 654 Tang, X.-Z., Jo, J., Tan, A.T., Sandalova, E., Chia, A., Tan, K.C., Lee, K.H., Gehring, A.J., De  
655 Libero, G., and Bertoletti, A. (2013). IL-7 licenses activation of human liver  
656 intrasinusoidal mucosal-associated invariant T cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *190*,  
657 3142–3152.
- 658 Tilloy, F., Treiner, E., Park, S.-H., Garcia, C., Lemonnier, F., Salle, H. de la, Bendelac, A.,  
659 Bonneville, M., and Lantz, O. (1999). An Invariant T Cell Receptor  $\alpha$  Chain Defines a  
660 Novel TAP-independent Major Histocompatibility Complex Class Ib–restricted  $\alpha/\beta$  T Cell  
661 Subpopulation in Mammals. *J. Exp. Med.* *189*, 1907–1921.
- 662 Treiner, E., Duban, L., Bahram, S., Radosavljevic, M., Wanner, V., Tilloy, F., Affaticati, P.,  
663 Gilfillan, S., and Lantz, O. (2003). Selection of evolutionarily conserved mucosal-  
664 associated invariant T cells by MR1. *Nature* *422*, 164–169.
- 665 Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., and Gordon, J.I.  
666 (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy  
667 harvest. *Nature* *444*, 1027–1131.
- 668 Turtle, C.J., Delrow, J., Joslyn, R.C., Swanson, H.M., Basom, R., Tabellini, L., Delaney, C.,  
669 Heimfeld, S., Hansen, J.A., and Riddell, S.R. (2011). Innate signals overcome acquired TCR  
670 signaling pathway regulation and govern the fate of human CD161(hi) CD8 $\alpha^+$  semi-  
671 invariant T cells. *Blood* *118*, 2752–2762.
- 672 Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., and Cole, J.R. (2007). Naive Bayesian classifier for  
673 rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl. Environ.*  
674 *Microbiol.* *73*, 5261–5267.
- 675 Wells, J.M. (2011). Immunomodulatory mechanisms of lactobacilli. *Microb. Cell Factories*  
676 *10 Suppl 1*, S17.
- 677 Wensveen, F.M., Jelenčić, V., Valentić, S., Šestan, M., Wensveen, T.T., Theurich, S., Glasner,  
678 A., Mendrila, D., Štimac, D., Wunderlich, F.T., et al. (2015). NK cells link obesity-induced  
679 adipose stress to inflammation and insulin resistance. *Nat. Immunol.* *16*, 376–385.
- 680 Winer, D.A., Winer, S., Dranse, H.J., and Lam, T.K.T. (2017). Immunologic impact of the  
681 intestine in metabolic disease. *J. Clin. Invest.* *127*, 33–42.

682 Wu, D., Molofsky, A.B., Liang, H.-E., Ricardo-Gonzalez, R.R., Jouihan, H.A., Bando, J.K.,  
683 Chawla, A., and Locksley, R.M. (2011). Eosinophils sustain adipose alternatively  
684 activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science* 332, 243–247.

685 Yamashita, A., Soga, Y., Iwamoto, Y., Yoshizawa, S., Iwata, H., Koikeguchi, S., Takashiba, S.,  
686 and Nishimura, F. (2007). Macrophage-adipocyte interaction: marked interleukin-6  
687 production by lipopolysaccharide. *Obes. Silver Spring Md* 15, 2549–2552.

688 Yoshimoto, T., Takeda, K., Tanaka, T., Ohkusu, K., Kashiwamura, S., Okamura, H., Akira, S.,  
689 and Nakanishi, K. (1998). IL-12 Up-Regulates IL-18 Receptor Expression on T Cells, Th1  
690 Cells, and B Cells: Synergism with IL-18 for IFN- $\gamma$  Production. *J. Immunol.* 161, 3400–  
691 3407.

692  
693

## 694 **Figure Legends**

### 695 **Figure 1: MAIT cell alterations during obesity.**

696 MAIT cell frequency was analyzed by flow cytometry in blood, spleen, liver, colon, ileum  
697 and epididymal adipose tissue (Epi-AT) of B6 mice fed on HFD during 12 weeks (n=6)  
698 and compared to their lean controls (ND) (n=6) (A-D). MAIT cells were identified as  
699 CD45<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>CD11b<sup>-</sup>TCR $\gamma\delta$ <sup>-</sup> and mouse-MR1 tetramers (loaded with 5-OP-RU) positive  
700 staining with low TCR $\beta$  staining. (A) Representative dot plots of MAIT cell staining and  
701 the numbers represent the frequency of MAIT cells among  $\alpha\beta$ T cells. (B) MAIT cell  
702 frequency among  $\alpha\beta$ T lymphocytes. (C) MAIT cell absolute numbers in the ileum and  
703 MAIT cell number per gram of Epi-AT tissue. (D) CD4 and CD8 MAIT cell phenotype in  
704 the ileum and Epi-AT, from ND and HFD fed mice. Data were obtained from two to three  
705 independent experiments from obese and lean mice (n=5-6 per group). (E) MAIT cell  
706 frequency kinetic analysis of B6 mice fed ND or HFD. Pooled data from two to four  
707 experiments, each with 4-6 mice per group, are represented. (F) Migration of MAIT cells  
708 into lean or obese (12 wk of ND or HFD) recipient B6 mice. Purified MAIT cells from  
709 CD45.1 V $\alpha$ 19 transgenic C $\alpha$ -/- B6 mice were transferred into CD45.2 B6 mice, which  
710 were analyzed 5 days later. Graphs represent the frequency of CD45.1 MAIT cells in the

711 ileum and Epi-AT. (G) Ki67 staining in isolated MAIT cell from ileum and Epi-AT of 12  
712 weeks HFD or ND fed mice. Pooled data from two experiments are represented. (H)  
713 Analysis by qPCR of apoptotic (*cMyc*, *Caspase9* and *Bax*) and anti-apoptotic (*Bcl-2*) gene  
714 expression by FACS-sorted MAIT cells from mice fed ND or HFD for 12 weeks; data from  
715 two to three independent experiments, n=5-6 mice per group, are represented;  
716 Statistical analysis were performed by two-tailed Mann-Whitney test, \*P<0.05 \*\* P<0.01,  
717 \*\*\* P<0.001.

718

719 **Figure 2: MAIT cell function during obesity.**

720 Comparison of MAIT cell phenotype and gene expression from the ileum and Epi-AT of  
721 mice fed ND or HFD for 12 weeks. CD44 and CD69 surface marker expression on MAIT  
722 cells was analyzed by flow cytometry. (A) Representative histograms of surface marker  
723 staining on MAIT cells from the ileum and Epi-AT. (B) CD44 mean fluorescence intensity  
724 (MFI) and % of CD69+ MAIT cells among total MAIT cells; data were obtained in three  
725 independent experiments from obese and lean mice (n=4-5 per group). (C) FACS-sorted  
726 MAIT cells from ileum and Epi-AT of obese lean mice, by qPCR, for their expression of  
727 genes coding for cytokines (*Tnf $\alpha$* , *Ifn $\gamma$* , *Il17a* and *Il22*) and cytokine/chemokine receptors  
728 (*Il18r* and *Ccr6*); data from two to three independent experiments, n=5-6 mice per  
729 group, are represented (D) Intra-cellular staining of MAIT cells, for Ror $\gamma$ t, PLZF and T-  
730 bet transcription factors. Frequency of positive MAIT cells from the ileum and Epi-AT of  
731 obese (n=4) and lean (n=4) mice are shown. (E) Analysis of the abundance of MAIT cell  
732 activating ligands using a bioassay based on the activation of purified MAIT cells by gut  
733 microbiota and fecal supernatants from the caecum of HFD-fed (n=14) mice or ND-fed  
734 (n=15) mice. (F) Flowchart illustrating feces transfer procedure and data-analysis  
735 workflow. (G) Graph showing percentage of MAIT cells among  $\alpha\beta$ T cells in B6 recipient

736 mice transferred with feces from HFD or ND fed mice. All statistical analyses were  
737 performed by two-tailed Mann Whitney test. \*P<0.05 \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001.

738

739 **Figure 3: MAIT cells induce adipose tissue dysfunction and inflammation during**  
740 **obesity.**

741 (A) Representative dot plot showing MAIT cell frequency in the Epi-AT and Ileum of  
742  $V\alpha 19^{-/-}$ ,  $V\alpha 19^{+/-}$ ,  $MR1^{-/-}$  and  $MR1^{+/-}$  mice. (B) Representative hematoxylin & eosine  
743 staining ( $n = 3$  images per mouse) of Epi-AT. Scale bars, 110  $\mu$ m. (C) Quantification of  
744 adipocyte size in Epi-AT of  $V\alpha 19^{+/-}$  and  $MR1^{-/-}$  HFD-fed mice and their littermate  
745 controls,  $n=6$  mice per group from two independent experiments. (D) Graphs showing  
746 the relative quantity of *adiponectin* and *leptin* transcripts in Epi-AT from  $V\alpha 19^{+/-}$  and  
747  $MR1^{-/-}$  mice and their littermate controls; representative data ( $n=5-6$  mice per group)  
748 are obtained from two independent experiments. (E) Graphs showing the relative  
749 quantity of *Atgl* and *Hsl* transcript, two key lipases, and the transcription factor *Ppar $\gamma$*   
750 transcript in  $V\alpha 19^{+/-}$ ,  $MR1^{-/-}$  mice and their littermate controls fed with HFD during 12  
751 weeks; representative data ( $n=5-6$  mice per group) are obtained from two independent  
752 experiments (F-G) Serum glycerol and triglyceride concentrations in  $V\alpha 19^{+/-}$  ( $n=8$ ) and  
753  $MR1^{-/-}$  ( $n=9$ ) mice and their littermate controls fed with HFD during 12 weeks, from two  
754 independent experiments. (H) Graph showing the relative quantity of pro- and anti-  
755 inflammatory cytokine transcripts in the Epi-AT of  $V\alpha 19^{+/-}$  and  $MR1^{-/-}$  mice and their  
756 littermate controls fed with HFD during 12 weeks,  $n=15$  per group from three  
757 independent experiments; representative data ( $n=5-6$  mice per group) are obtained  
758 from three independent experiments. All data are represented as mean  $\pm$  SEM. All  
759 statistical analyses were performed by two-tailed Mann Whitney test. \*P<0.05 \*\* P<0.01,  
760 \*\*\* P<0.001.

761

762 **Figure 4: MAIT cells impaired glucose metabolism during obesity.**

763 (A) ITT (up) and OGTT (down) in  $V\alpha 19^{+/-}$  (n=6) and  $V\alpha 19^{-/-}$  littermate controls (n=6) fed  
764 with HFD during 12 weeks. (B) ITT (up) and OGTT (down) in  $MR1^{-/-}$  (n=6) and  $MR1^{+/-}$   
765 littermate controls (n=6) fed with HFD during 12 weeks. For A and B data are  
766 representative of 2-4 independent experiments. (C-E) Analysis of  $V\alpha 19^{+/-}$  and  $V\alpha 19^{-/-}$   
767 littermate controls and  $MR1^{-/-}$  and  $MR1^{+/-}$  littermate controls fed HFD during 12 weeks,  
768 n=6 mice per group, data are representative of two experiments. (C) Blood glucose in fed  
769 and fasted; (D) Basal insulin and (E) Homa IR index. (F) Western blot of three individual  
770 mice (left) and quantification (right) of AKT phosphorylation (p-AKT-S473) in Epi-AT  
771 HFD-fed  $V\alpha 19^{+/-}$ ,  $MR1^{-/-}$  mice and their littermate controls after insulin administration  
772 (1 UI/kg) *in vivo* (n = 6 mice per group from two independent experiments). All data are  
773 represented as mean  $\pm$  SEM. All statistical analyses were performed by two-tailed Mann  
774 Whitney test. \*P<0.05 \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001.

775

776 **Figure 5: MAIT cells promote ileum inflammation and gut permeability during**  
777 **obesity.**

778 (A) Graphs showing the relative quantity of pro- and anti-inflammatory cytokines  
779 transcripts in the ileum of  $V\alpha 19^{+/-}$ ,  $MR1^{-/-}$  mice and their respective littermate controls  
780 fed on HFD for 12 weeks; representative data (n=5-6 mice per group) are obtained from  
781 three independent experiments. (B) Intestinal permeability measured by FITC-dextran  
782 assay in  $V\alpha 19^{+/-}$  and  $MR1^{-/-}$  mice and their littermate controls (n=9-10 mice per group,  
783 from two independent experiments) fed HFD for 12 weeks. (C) Graph showing the  
784 relative quantity of *zonulin (ZO)-1*, *claudin (Cldn)-4*, *occludin (Ocln)* and *mucin*  
785 transcripts in the ileum epithelial cells of  $V\alpha 19^{+/-}$ ,  $MR1^{-/-}$  mice and their respective

786 littermate controls fed on HFD for 12 weeks; representative data (n=4-5 mice per  
787 group) are obtained from two independent experiments. All data are represented as  
788 mean  $\pm$  SEM. All statistical analyses were performed by two-tailed Mann Whitney test.  
789 \*P<0.05 \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001.

790

791 **Figure 6: MAIT cells impact other immune cells in the ileum and Epi-AT of obese**  
792 **mice.**

793 (A) Graphs showing the frequency of Foxp3+ Treg cells, ILC2 and ILC3 among CD45+  
794 cells in the ileum lamina propria of B6 mice fed with ND or HFD, V $\alpha$ 19<sup>+/-</sup> mice and their  
795 V $\alpha$ 19<sup>-/-</sup> littermate controls after 12-16 weeks of HFD or ND feeding and MR1<sup>-/-</sup> and their  
796 MR1<sup>+/-</sup> littermate controls after 12-16 weeks of HFD or ND feeding; data from two or  
797 three independent experiments. (B) Graphs showing the frequency of Foxp3+ Treg cells,  
798 ILC2, eosinophils, CD8  $\alpha\beta$ T cells, NK cells and macrophages among CD45+ cells in the  
799 Epi-AT stroma-vascular fraction (SVF) of B6 mice fed with ND or HFD, V $\alpha$ 19<sup>+/-</sup> mice and  
800 their V $\alpha$ 19<sup>-/-</sup> littermate controls after 12 weeks of HFD or ND feeding and MR1<sup>-/-</sup> and  
801 their MR1<sup>+/-</sup> littermate controls after 12 weeks of HFD or ND feeding; data from two to  
802 four independent experiments. (C) Graphs showing the relative quantity of pro-  
803 inflammatory M1 markers (*Ccr2*, *Mcp1*, *Il1 $\beta$* , *Il6* and *Tnfa*) and anti-inflammatory M2  
804 markers (*Tgfb $\beta$ 2*, *Cd206*, *Cd163* and *Il10*) transcripts in Epi-AT macrophages from  
805 V $\alpha$ 19<sup>+/-</sup> mice (n=6 to 11) and their V $\alpha$ 19<sup>-/-</sup> littermate controls (n=6 to 10) after 12 weeks  
806 of HFD feeding and MR1<sup>-/-</sup> (n=8 to 16) and their MR1<sup>+/-</sup> littermate controls (n=8 to 16)  
807 after 12 weeks of HFD feeding; data from two to four independent experiments. All data  
808 are represented as mean  $\pm$  SEM. All statistical analyses were performed by two-tailed  
809 Mann Whitney test. \*P<0.05 \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001.

810

811 **Figure 7: MAIT cells modify microbiota that controls other immune cells and gut**  
812 **permeability during obesity.**

813 Significant difference in the (A) Actinobacteria at the phyla level, (B) in the  
814 Coriobacteriaceae family and related *Olsenella* genus and (C) in the Clostridiaceae family  
815 and related genus between the MR1<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice microbiota. For A to C panels:  
816 black box, MR1<sup>+/-</sup> mice, green box, MR1<sup>-/-</sup> mice and relative abundance (percentage of  
817 16S rRNA gene sequences) at the given taxonomy level among the MR1<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup>  
818 mice. (D) Heat map showing the significant differences in OTU clusters abundance  
819 between MR1<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice microbiota. The corresponding p-values are indicated  
820 in Figure SI 1A. (E and F) Significant differences at the (E) phyla, (F) family between the  
821 Vα19<sup>-/-</sup> and Vα19<sup>+/-</sup> mice microbiota. (G) Heat map showing the significant differences  
822 between the OTU clusters of the Vα19<sup>-/-</sup> and Vα19<sup>+/-</sup> mice microbiota. P-values are  
823 indicated in Figure SI 1B. (H) Heat map showing the significant differences in OTU  
824 clusters abundance between recipient mice T-MR1<sup>+/-</sup> that received microbiota from  
825 obese MR1<sup>+/-</sup> mice and the T-MR1<sup>-/-</sup> mice that received microbiota from obese MR1<sup>-/-</sup>.  
826 The corresponding p-values are indicated in Figure SI 1C. (I) Significant differences at  
827 the genus level between the microbiota of recipient mice T-Vα19<sup>-/-</sup> (microbiota from  
828 obese Vα19<sup>-/-</sup> mice) and the T-Vα19<sup>+/-</sup> (microbiota from obese Vα19<sup>+/-</sup>). (J) Heat map  
829 showing the significant differences between the OTU clusters of the T-Vα19<sup>-/-</sup> and T-  
830 Vα19<sup>+/-</sup> mice microbiota. P-values are indicated in Figure SI 1D. (K) Intestinal  
831 permeability measured by FITC-dextran assay in B6 recipient mice reconstituted with  
832 Vα19<sup>+/-</sup>microbiota, MR1<sup>-/-</sup> microbiota or microbiota from their littermate controls. The  
833 test was performed after 12 weeks of HFD. (L) ITT (up) and OGTT (down) in T-MR1<sup>-/-</sup>  
834 and T-MR1<sup>+/-</sup> fed with HFD during 12 weeks, for ITT n=9-11 mice per group from two  
835 independent experiments and for OGTT n=4-5 mice per group. (M) Graphs showing the

836 frequency of Foxp3<sup>+</sup> Treg cells, ILC2 and ILC3 among CD45<sup>+</sup> cells in the ileum lamina  
837 propria (N) and ILC2 in Epi-AT of B6 recipient mice reconstituted with Vα19<sup>+/-</sup>  
838 microbiota, MR1<sup>-/-</sup>microbiota or microbiota of their littermate controls. The analysis  
839 was performed after 12 weeks of HFD. Panels K to M, blue plot, T-Vα19<sup>-/-</sup>, red plot T-  
840 Vα19<sup>+/-</sup>, black plot T- MR1<sup>+/-</sup> and green plot T-MR1<sup>-/-</sup>. Data are presented as box-plots, as  
841 mean ± SEM. All statistical analyses were performed by two-tailed Mann Whitney test.  
842 \*P<0.05 \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001.

843  
844  
845  
846  
847

## STAR Methods

	SOURCE	IDENTIFIER
<b>Antibodies</b>		
PerCP-Cy5.5 Rat Anti-Mouse <b>CD45</b> (30-F11)	BD Biosciences	550994
APC/Cy7 anti-mouse <b>CD45</b> (30-F11)	Biolegend	103116
BD Horizon™ BV711 Hamster Anti-Mouse <b>TCR β Chain</b> (H57)	BD Biosciences	563135
BD Horizon™ BV421 Hamster Anti-Mouse <b>TCR β Chain</b> (H57)	BD Biosciences	562839
Brilliant Violet 605 anti-mouse <b>CD8α</b> (53-6.7)	Biolegend	100743
AlexaFluor 700 anti-mouse <b>CD8α</b> (53-6.7)	eBioscience	56-0081-82
PE-Cyanine7 anti-mouse <b>CD8α</b> (53-6.7)	eBioscience	25-0081-82
BD Horizon™ BV421 Rat Anti-Mouse <b>CD103</b> (M290)	BD Biosciences	562771
Alexa Fluor 700 anti-mouse <b>CD44</b> (IM7)	eBioscience	56-0441-82
Brilliant Violet 785 anti-mouse <b>CD45.1</b> (A20)	Biolegend	110743
APC anti-mouse <b>CD45.2</b> (104)	Biolegend	109814
Brilliant Violet 711 anti-mouse <b>Ly-6A/E (Sca-1)</b> (D7)	Biolegend	108131
Brilliant Violet 510 anti-mouse <b>NK-1.1</b> (PK136)	Biolegend	108737
Brilliant Violet 650 anti-mouse <b>CD19</b> (6D5)	Biolegend	115541
Brilliant Violet 510 anti-mouse <b>CD4</b> (GK1.5)	Biolegend	100449
Brilliant Violet 785 anti-mouse/human <b>CD11b</b> (M1/70)	Biolegend	101243
PE/Cy5 anti-mouse <b>CD127</b> (IL-7Ralpha) (A7R34)	Biolegend	135016
PerCP/Cy5.5 anti-mouse <b>CD25</b> (PC61)	Biolegend	102029



Brilliant Violet 605 anti-mouse <b>CD69</b> (HI-2F3)	Biolegend	104530
PE anti-mouse <b>CD11c</b> (N418)	Biolegend	117308
PerCP-eFluor 710 anti-souris <b>CD170</b> (Siglec-F) (IRNM44N)	eBioscience	46-1702-80
PE-Cyanine 7 anti-mouse <b>F4/80</b> (BM8)	eBioscience	25-4801-82
APC anti-mouse <b>TCR<math>\gamma\delta</math></b> (GL-3)	eBioscience	17-5711-82
PE anti-mouse <b>FOXP3</b> (FJK-16s)	eBioscience	12-5773-82
PE-eFluor 610 anti-mouse <b>ROR<math>\gamma</math>(t)</b> (B2D)	eBioscience	61-6981-80
PerCP/Cy5.5 anti-mouse <b>PLZF</b> (9E12)	Biolegend	145807
Brilliant Violet 605™ <b>anti-T-bet</b> Antibody (4B10)	Biolegend	644817
Brilliant Violet 450 anti-mouse Ki67 (SolA15)	eBioscience	48569882
anti-Akt	Cell signaling	9331S
anti-pAkt	Cell signaling	9272S
<b>Critical Commercial Assays</b>		
TRIGS	RANDOX	TR210
GLY	RANDOX	GY 105
Ultra sensitive Mouse insulin ELISA kit	Crystal Chem	90080
Lamina Propria Dissociation Kit	Miltenyi	130-097-410
<b>Experimental Models: Cell Lines</b>		
WT3-MR1 <sup>+</sup> cells	O.Lantz	N/A
<b>Experimental Models: Organisms/Strains</b>		
Mouse Tg(Rorc-EGFP)1Ebe	O.Lantz	MGI:3829387
Mouse MR1KO (delete a 1.4-kb fragment containing exons 2 and 3)	O.Lantz	MGI:1195463
Mouse Tg(Tcra-V19-J33)#Lantz	O.Lantz	MGI:5829575
<b>Oligonucleotides</b>		
Supplementary Table 1	This paper	N/A
<b>Software and Algorithms</b>		
Diva 10	BD FACSDIVA software	www.bdbiosciences.com
FlowJO X	FlowJO	www.flowjo.com
Graphpad Prism 6.0b	GraphPad Software	www.graphpad.com

848

849

850 **Mice:**

851 All the mice used in this study were on C57BL6/J (B6) background. Va19<sup>+/-</sup> transgenic mice

852 that contain a high frequency of MAIT cells (Va19Tg), MR1<sup>-/-</sup> mice lacking MAIT cells and

853 Va19<sup>+/-</sup> Ca<sup>-/-</sup> B6 mice for transfer experiments. These mice have been described elsewhere

854 (Martin et al., 2009). To better analyze MAIT cell phenotype, we backcrossed the previous

855 mouse lines with Rorc( $\gamma$ t)-GFP Tg mice (Lochner et al., 2008). We validated the different  
856 mouse lines by flow cytometry to assess the frequency of MAIT cell.

857 All mice used in the studies were males between 6-20 weeks old at the time of the  
858 experiments, and randomized before any experiment was started. All animal experiments  
859 were approved by the ethical committee CEEA34 (APAFIS # 4838 - 2015111715473538) and  
860 conducted in accordance with the guidelines stated in the International Guiding Principles for  
861 Biomedical Research Involving Animals, developed by the Council for International  
862 Organizations of Medical Sciences (CIOMS). All mice strains were bred and maintained in  
863 the mouse facility of Cochin Institute, and at the “Centre exploration fonctionnel (CEF)” at  
864 Paris University Marie Curie.

865

#### 866 **Cell preparations:**

867 The fat pad adipose tissue was isolated from the mice and digested with 5-10 mL collagenase  
868 H solution (1 mg/mL, Roche ref# 11074059001) at 37°C for 30 min with shaking (150 rpm).  
869 After digestion, adipocytes were isolated by filtering through a 100  $\mu$ m nylon mesh and  
870 centrifuged for 5 min at 300 g to pellet the stroma-vascular fraction (SVF). The supernatant  
871 was isolated for further analysis and the SVF was washed with FACS buffer (5% Fetal  
872 Bovine Serum (FBS) and 0.1% sodium azide in PBS), then immune cell were isolated based  
873 on their density and collected at the interface between 40% and 80% discontinuous Percoll  
874 gradient (GE Healthcare ref# 17-0891-01). Tissues of the intestine were extensively rinsed  
875 with HBSS without  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Mg}^{2+}$  containing 5 mM HEPES, after removal of fat tissue, feces  
876 and Payer’s patches. The samples were opened longitudinally and mildly shaken in HBSS  
877 with  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Mg}^{2+}$  containing 5 mM EDTA, 1mM DTT, 5% FBS, 5 mM HEPES, for 20 min  
878 at 37°C, then washed in HBSS without  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Mg}^{2+}$  containing 5 mM HEPES. Intestinal  
879 epithelial cells were collected and purified from wash-medium and lamina propria (LP) cells

880 were isolated using *Lamina Propria Dissociation Kit* (Miltenyi, 130-097-410) according to  
881 the manufacturer's instructions. The cell suspensions were subjected to Percoll density  
882 gradients of 40 and 80% (GE Healthcare ref# 17-0891-01), and the interface between the  
883 layers was collected and suspended in PBS containing 2% FBS and 0,1% sodium azide, to  
884 retrieve LP cells.

885

### 886 **Flow Cytometry:**

887 Cell suspensions prepared from various tissues were stained at 4 °C in PBS containing 5%  
888 FBS and 0.1% sodium azide. Surface staining was performed with the following antibodies:  
889 anti-CD45 (30-F11), anti-TCR $\beta$  (H57) and anti-CD103 (M290) and mAbs were from BD  
890 Biosciences; anti-CD45 (30F11), anti-CD8 $\alpha$  (53-6.7), anti-CD45.1 (A20), anti-CD45.2 (104),  
891 anti-CD11c (N418), anti-Sca-1 (D7), anti-NK1.1 (PK136), anti-CD19 (6D5), anti-CD4  
892 (GK1.5), anti-CD11b (M1/70), anti-CD127 (A7R34), anti-CD25 (PC61) and anti-CD69 (HI-  
893 2F3) mAbs were from Biolegend; anti-CD8 $\alpha$  (53-6.7), anti-CD44 (IM7), anti-Siglec-F  
894 (1RNM44N), anti-TCR $\gamma\delta$  (GL3), and anti-F4/80 (BM8) mAbs were from eBioscience.

895 Alpha-Galactosylceramide-CD1d tetramer was prepared by the laboratory and coupled to  
896 streptavidin-BV421 (Biolegend). Biotinylated mouse MR1 tetramers loaded with the active  
897 ligand (5-OP-RU) were used to specifically identify MAIT cells; biotinylated MR1 tetramers  
898 loaded with the non-activating ligand 6-formyl-pterin (6-FP) were used as a negative control.  
899 MR1 tetramers were coupled to streptavidin-PE (BD Bioscience). For intracellular staining,  
900 the cells were fixated and permeabilized (eBioscience) according to the manufacturer's  
901 instructions, cells were then stained with anti-Foxp3 (FJK-16s), anti-Ror( $\gamma$ )t (B2D) from  
902 eBioscience; anti-PLZF (9E12 bioL), anti-T-bet (4B10) from Biolegend for 30 min at 4 °C.  
903 Data acquisition was performed using a BD Biosciences LSRTFortessa cytometer and cell

904 sorting was performed using BD Biosciences FACSAria III, then results were analyzed using  
905 FlowJo analysis software (Tree Star).

906

#### 907 **MAIT cell transfer**

908 MAIT cells were purified from *Rorc*( $\gamma$ t)-GFP  $V\alpha 19 C\alpha^{-/-}$  CD45.1 congenic B6 mice. These  
909 mice are highly enriched on MAIT cells. Cells are isolated and purified from spleen and  
910 mesenteric lymph nodes using dynabeads™ untouched™ mouse T cells kit according to the  
911 manufacturer's instructions. After the purification, 5 millions of cells in 200  $\mu$ l PBS 2% FBS  
912 were intravenously injected into CD45.2 B6 mice (lean or obese). Five days later, mice were  
913 sacrificed and CD45.1 MAIT cells were analyzed by flow cytometry.

914

#### 915 **RT-qPCR**

916 RNA was extracted from tissues or purified cells using the RNeasy RNA Mini and Micro Kit  
917 (Qiagen RNeasy Plus micro kit ref#74034 and Qiagen RNeasy mini Kit ref#74104).  
918 Complementary DNAs were synthesized using Superscript III reverse-transcriptase kit  
919 (Invitrogen ref#18080-044). Quantitative PCR analysis was performed with SYBR Green  
920 (Roche ref#04 887 352 001) RT-qPCR was performed using a LightCycler 480 (Roche) . 18S  
921 and *HPRT* and GAPDH were used for normalization to quantify relative mRNA expression  
922 levels. Relative changes in mRNA expression were calculated using the comparative cycle  
923 method ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ). Primers are listed in Supplementary Table 1.

924

#### 925 **MAIT cells ligands in intestinal contents**

926 The WT3-MR1 cell line (mycoplasma free), provided by O.L., was used to detect the MAIT  
927 cell ligand 5-OP-RU from intestinal contents. Two hours before the experiment, WT3-MR1  
928 cells were coated onto a 96-flat-well plate at final concentration of  $0.5 \times 10^6$  per ml in

929 medium containing DMEM Glutamax 10% FBS, 1M HEPES; 100mM sodium pyruvate, 1%  
930 non –essential amino acids and 1% penicillin-streptomycin. The intestinal contents of caecum  
931 were recovered, weighed and resuspended in PBS. Fecal supernatant were centrifuged at  
932 weighed and resuspended in PBS. Fecal supernatants were centrifuged at 14,000 rpm for 5  
933 min at 4°C and were passed through a 0.22µm filter. Supernatants were tested at final  
934 concentration of 1.5 mg intestinal content per ml. Serial dilution of 5-OP-RU were used as  
935 positive control, and acetyl-6-FP was added to determine MR1-specific activation. MAIT  
936 cells from the spleen of Vα19 transgenic Cα<sup>-/-</sup> donor mice were purified by negative isolation  
937 using Dynabeads Untouched Mouse T Cells kit (Invitrogen ref# 11413D) and were co-  
938 cultured overnight with WT3-MR1 cells at final concentration of 5 x 10<sup>5</sup> MAIT cells per ml.  
939 1 d later, MAIT cells were stained with the appropriate antibodies, and activation was  
940 analyzed by flow cytometry.

941

#### 942 **Metabolic analysis**

943 7-8-week-old mice from the different mouse lines (*n* = 5–7 per experiment) were fed with a  
944 60%-fat diet (SSNIFF ref# E15742-347) or with a 10%-fat diet (ND) (SAFE, ref#A03 SP10)  
945 for 12 weeks. Glucose tolerance test: Oral glucose tolerance tests were performed after 10-12  
946 weeks of diet as follows: Overnight fasted mice were injected with glucose by gavage (2 g/kg  
947 body weight of glucose, 20 % glucose solution; G8270, Sigma). Blood glucose concentration  
948 was determined at 0, 15, 30, 60 and 120 min following the glucose load with a glucometer  
949 (Accu-Chek® Performa, Roche) on blood from the tip of the tail vein.

950 Insulin tolerance test: intraperitoneal (i.p.) insulin tolerance tests were performed after 10-12  
951 weeks of diet as follows: 6 h fasted mice were injected with insulin (0,075 U/mL in PBS 1%  
952 BSA solution; Humalog 100 UI/mL, Lispro, Lilly). Blood glucose concentration was

953 determined at 0, 10, 15, 30, 60 and 120 min following the glucose load with a glucometer  
954 (Accu-Chek® Performa, Roche) on blood from the tip of the tail vein.

955 The area under the curve (AUC, 0-120 min) was calculated for each group of mice.

956 Plasma Triglycerides and glycerol release were measured using the colorimetric diagnostic  
957 kit, according to the manufacturer's instructions (Randox Laboratories).

958 For insulin-signaling assays, mice were fasted for 6 h and then i.p. injected with 1.00 U/kg  
959 insulin. Mice were euthanized after 15 min, and liver, Epi-AT, and muscle were collected for  
960 western blot analysis.

961 Lean tissue and fat mass were measured using an Echo Medical systems' EchoMRI 100  
962 (Whole Body Composition Analyzers, EchoMRI, Houston, USA), according to the  
963 manufacturer's instructions.

964

965

#### 966 **Determination of intestinal permeability**

967 In vivo intestinal permeability was evaluated by the intestinal permeability of FITC-dextran 4  
968 kDa. Briefly, 6-h-fasted mice were injected with FITC-dextran 4 kDa by gavage (600 mg/kg  
969 body weight, 120 mg/ml; Sigma-Aldrich, St Louis, MO). After 4 hours, 120 µl of blood were  
970 collected from each mouse from the retro-orbital vein. The blood was centrifuged at 4 °C, 10  
971 000 rpm, for 5 min. Plasma was analyzed for FITC-dextran 4 kDa concentration with a  
972 fluorescence spectrophotometer (SPARK 10M, TECAN) at excitation and emission  
973 wavelengths of 485 nm and 535 nm respectively. Standard curves for calculating the FITC-  
974 dextran 4 kDa concentration in the samples were obtained by diluting FITC-dextran 4 kDa in  
975 water.

976

977 **Western blot:**

978 Samples were lysed in RIPA buffer (Sigma ref#R0278-50ML) supplemented with protease  
979 (Sigma ref#S8820-2TAB) and phosphatase (Roche ref#04 906 845 001) inhibitors and were  
980 diluted to a concentration of 20 µg of protein and heated at 98 °C for 10 min. Proteins were  
981 separated by SDS–PAGE electrophoresis and transferred to nitrocellulose membranes (Bio-  
982 Rad ref#1620168). Blocking reagent (TBS with 0.5% Tween 20 and 3% of bovine serum  
983 albumin, pH 7.4) were incubated for 1 h, and primary antibody was incubated overnight at 4  
984 °C in the blocking solution. The antibodies and their concentrations are the following: anti-  
985 phospho-AKT (Cell signaling, 9331S; 1:2,000), anti-AKT (Cell signaling, 9272S; 1:2,000).  
986 After several washes in PBS with 0.5% Tween 20, horseradish peroxidase (HRP)-labeled  
987 secondary antibodies (1:5,000) were incubated for 1 h at room temperature in the blocking  
988 solution. Membranes were incubated with ECL western-blotting substrate (Bio-Rad ref#170-  
989 5060) and imaged by myECL Imager (ThermoFisher, 62236). Blots were semi-quantified  
990 using ImageJ software.

991

992 **Neonatal transfer of microbiota:**

993 Weaned B6 males (aged 21-26 days) were gavaged with diluted fecal contents from adult 11-  
994 20 week-old males, according to previously published method (Markle et al., 2013) with  
995 slight modifications. Briefly, the fresh feces from adult donor mice were collected in a sterile  
996 tube and the contents were mixed to 50 volumes of sterile water. 250 µL of this suspension  
997 was given to each recipient mouse by oral gavage using a 24G round tip gavage  
998 needle. Recipients were rested for 24 hours, and this procedure was repeated once. Moreover,  
999 to strengthen transfer of microbiota efficacy, we gave “fecal water”, from the same donor  
1000 groups to the same recipient groups, at a frequency of 2 times per week (during 8-10 weeks).

1001

1002 **Statistical analysis**

1003 All statistical tests were performed using GraphPad Prism 6.0b (GraphPad Software, Inc., La  
1004 Jolla, CA), and all data were represented as mean  $\pm$  s.e.m. Statistical tests were assessed after  
1005 confirming that the data met appropriate assumptions (normality, homogenous variance, and  
1006 independent sampling). Gaussian distribution was tested using the Kolmogorov–Smirnov test.  
1007 Group comparisons were assessed with Mann-Whitney or Student's *t* test to compare two  
1008 groups. All statistical tests were two-tailed, and  $P < 0.05$  was defined as significant.

1009

1010 **Histology**

1011 Epi-AT and ileum samples were fixed in 3% formaldehyde solution overnight and embedded  
1012 in paraffin. Epi-AT Tissue slides were stained with hematoxylin and eosin for the evaluation  
1013 of the tissue morphology, following standardized protocols. Adipocyte size was measured by  
1014 the diameters of the adipocytes in light-microscopy images (20 $\times$ ) of Epi-AT sections ( $n = 50$   
1015 adipocytes per section, three sections per mouse, six mice per group) and analyzed using  
1016 ImageJ software.

1017 **16-S sequencing and bioinformatics analysis**

1018 Read pairs were quality filtered, adapter-trimmed, and merged using Flash1.6.2 (Magoč and  
1019 Salzberg, 2011). PCR primers were then removed and sequences with sequencing errors were  
1020 excluded (Mothur) (Schloss et al., 2009). 15000 reads were randomly selected for each  
1021 sample. Merged read pairs were demultiplexed using QIIME, and clustered into Operational  
1022 Taxonomic Units (OTUs). Chimera were removed using UCHIME (Edgar et al., 2011) and  
1023 Mothur(Schloss et al., 2009)softwares. A sequence similarity threshold of 97% was used to  
1024 assign reads to OTUs against the Greengenes database (release 13-5) (DeSantis et al., 2006)  
1025 and RDP classifier (Wang et al., 2007).



1026 Following rarefaction of all communities to even sampling depths, the abundances of all  
1027 families were computed by agglomerating the OTUs assigned to those families. For each  
1028 family, Mann-Whitney test with BH correction (Hochberg and Benjamini, 1990) were carried  
1029 out to identify the combinations (treatment) that were significantly different in terms of  
1030 abundance. The same method was used for each genus. All analyses were done using R  
1031 package (R Core Team, 2015, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).  
1032 Statistical analyses were performed using non-parametric Mann-Whitney U test. Results were  
1033 considered statistically significant when p values were lower than 0.05.  
1034

1035 **Supplementary table 1:**

1036 qPCR primers

1037

Name	Forward	Reverse
ATGL	aggtcgacatgtccccgaggagaccaagtggaa	aggtcgactcagcaaggcgggaggccaggtggat
HSL	tggecacaccattttgacctg	ttgcgggttagaagccacatag
Leptin	gagaccctgtgtcggtc	ctgcgtgtgtaaagtgcattg
Adiponectin	tgttctcttaatcctgcca	cca-acc-tgc-aca-agt-tcc-ctt
CCL2	gggectgctgttcacagt	ccagcctactcattgggat
CCL5	ccctcaccatcatcctcact	ccttcgagtgacaaacacga
CCL20	aagacagatggccgatgaag	acccagctgtgatcatttc
CCR2	atccacggcactactatcaacatc	caaggctcaccatcatcgtag
CCR6	tgggccatgctccctagaa	ggtgaggacaaagagtatgtctg
CCR9	agg-cca-aga-agt-cat-cca-agc	cct-tcg-gaa-tct-ctc-gcc-aa
CD163	ccttggaacagagacaggc	tccacacgtccagaacagtc
CD206	tgtggtgagctgaaaggtga	caggtgtgggctcaggtagt
CXCR6	tctttggactgctaggaaactcc	agagtacagacaaacaccaggt
GZMB	ggactgcaaagactggcttc	ataacattctcggggcactg
IL-1 $\beta$	cagcaggttatcatcatcc	atctcacagcagcacatcaac
IL-5	tcaggggctagacatactgaag	ccaagggaactcttcaggtaat
IL-6	agttgccttcttgggactga	tccacgattcccagagaac
IL_10	ggttgccaagccttatcgga	acctgctccactgccttget
IL-13	agaccagactcccctgtgca	tgggtcctgtagatggcattg
IL-17A	gctccagaaggccctcaga	agctttccctccgcattga

IL-18	gaaaatggagacctggaatc	tgtcaacgaagagaacttgg
IL-18R	cgtgacaagcagagatgttg	atgttgctcgtctccttctg
IL-22	caacttccagcagccataca	gttgagcacctgcttcatca
IL-23	ataatgtgccccgtatccag	ctggaggagttggctgagtc
IL-25	acagggacttgaatcgggtc	tggtaaagtgggacggagttg
IFN- $\gamma$	actggcaaaaggatggtgac	tgagctcattgaatgcttgg
Lt- $\alpha$	ccacctcttgagggtgcttg	catgtcggagaaaggcagat
TGF- $\beta$ R2	acattactctggagacggttgc	agcggcatcttccagagtga
TNF- $\alpha$	agccccagtctgtatcctt	ctccccttgcaagaactcagg
ZO-1	accgaaactgatgctgtggatag	aatggccgggcagaacttgtgta
Claudin-4	cgctactcttgccattacg	actcagcacacatgacttg
Ocludin	atgtccggccgatgctctc	ttggctgctcttgggtctgtat
Mucin2	cccagaaggactgtgtatg	tgcacacacactgctcaca
Bcl-2	gtegetaccgtcgtgacttc	cagacatgcacctaccagc
cMyc	atgccctcaaggatgaactc	cgcaacataggatggagagca
bax	ccggcgaattggagatgaact	ccagcccatgatggttctgat
Casp9	gacgctctgctgagtcgag	ggtctaggggtttaaagcctc
GAPDH	aacgacccttcattgac	tccacgacatactcagcac
HPRT	aagcttgctggtgaaaagga	ttgcgctcatcttaggcttt
18S	gtaaccggtgaacccatt	ccatccaatcggtagtagcg

1038

1039 **Supplementary table 2:**  
1040  
1041 Groups content for 16s sequencing

<b>Groups</b>	<b>Sample number</b>
V $\alpha$ 19 <sup>-/-</sup>	13
V $\alpha$ 19 <sup>+/-</sup>	12
V $\alpha$ 19 <sup>-/-</sup> microbiota transfer (T-V $\alpha$ 19 <sup>-/-</sup> )	12
V $\alpha$ 19 <sup>+/-</sup> microbiota transfer (T-V $\alpha$ 19 <sup>+/-</sup> )	11
MR1 <sup>+/-</sup>	13
MR1 <sup>-/-</sup>	12
MR1 <sup>+/-</sup> microbiota transfer (T-MR1 <sup>+/-</sup> )	10
MR1 <sup>-/-</sup> microbiota transfer (T-MR1 <sup>-/-</sup> )	11

1042

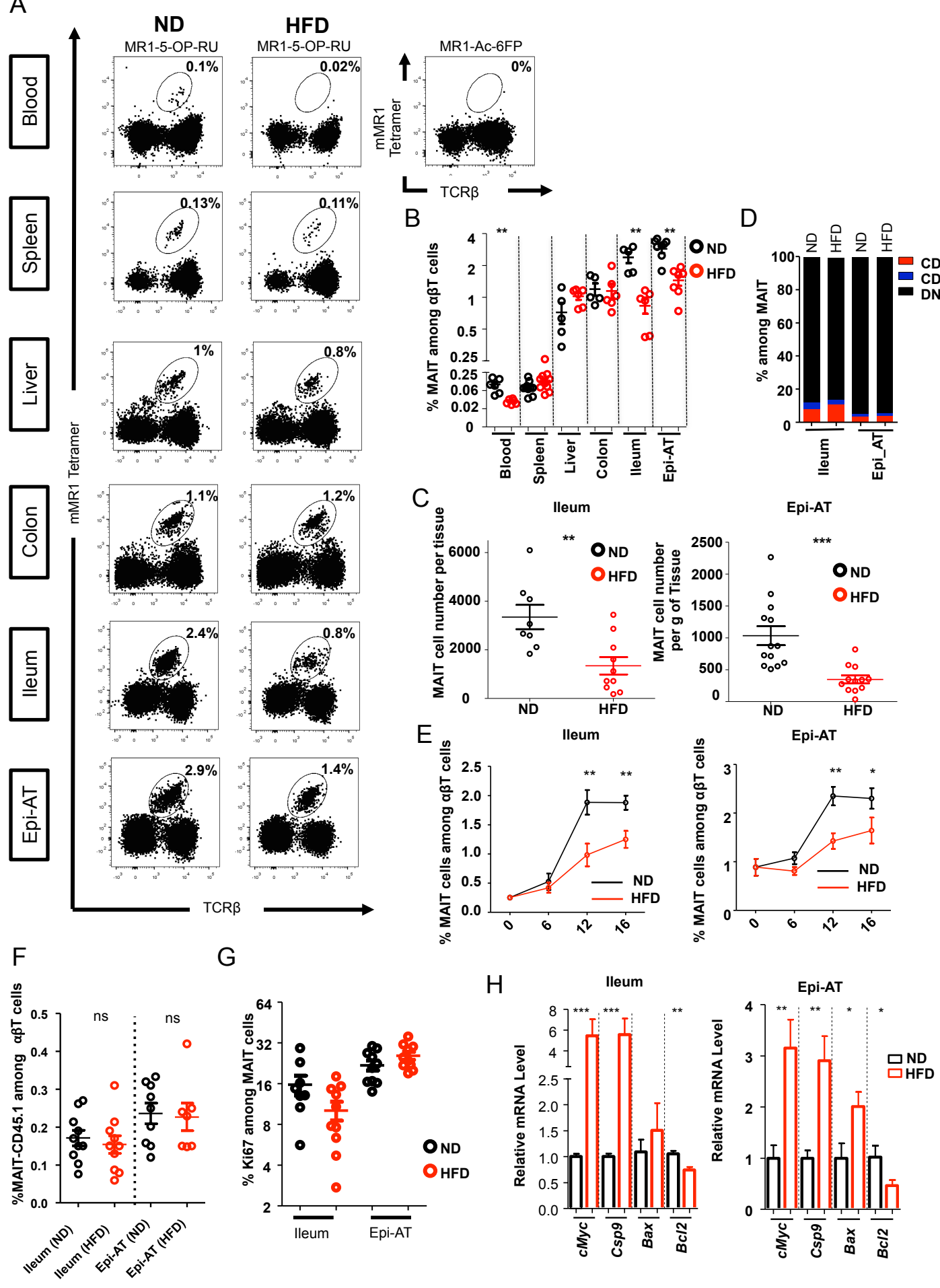


Figure 1: Impaired MAIT cell accumulation in adipose tissue and ileum of obese mice

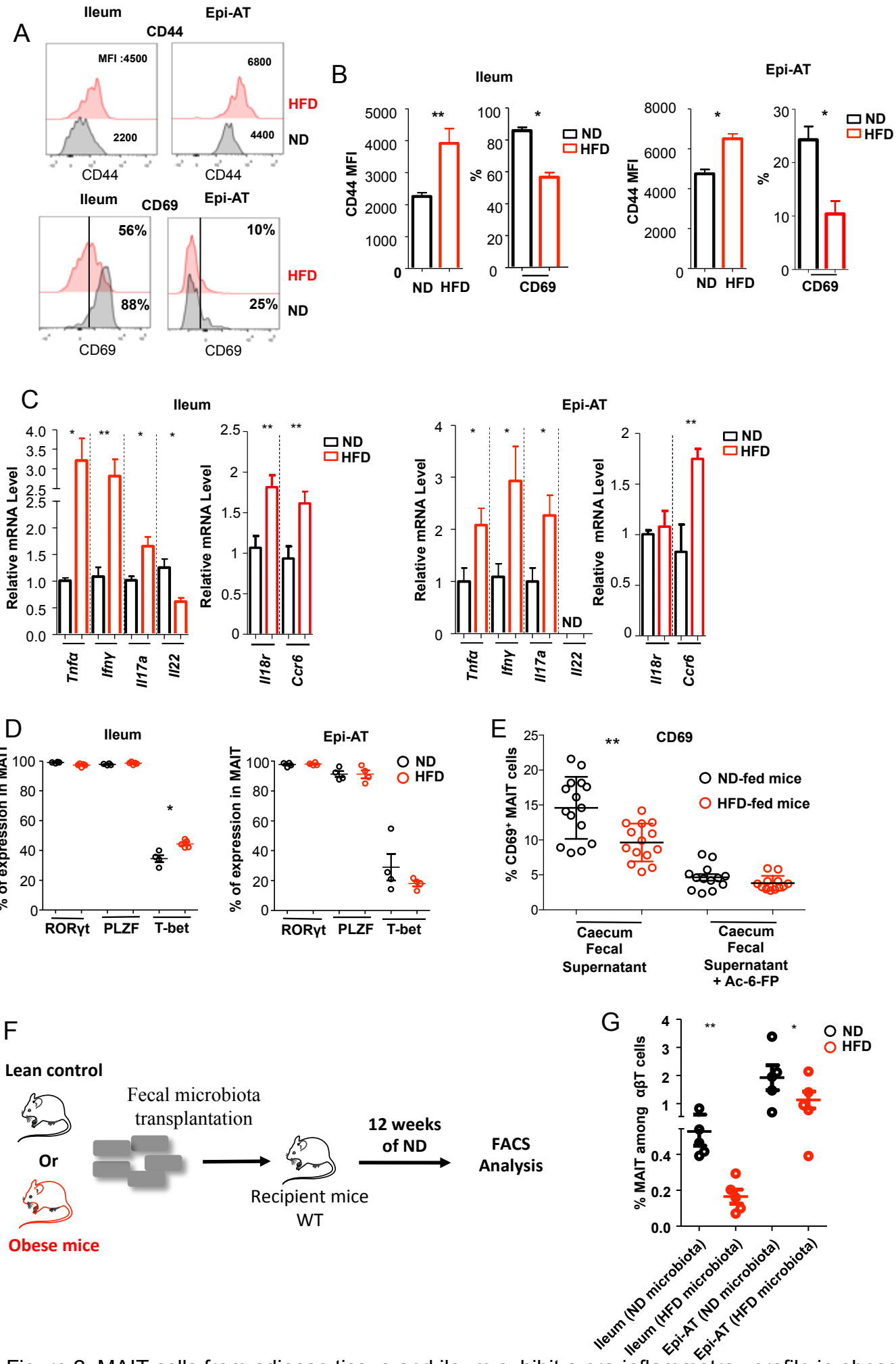


Figure 2: MAIT cells from adipose tissue and ileum exhibit a pro-inflammatory profile in obese mice

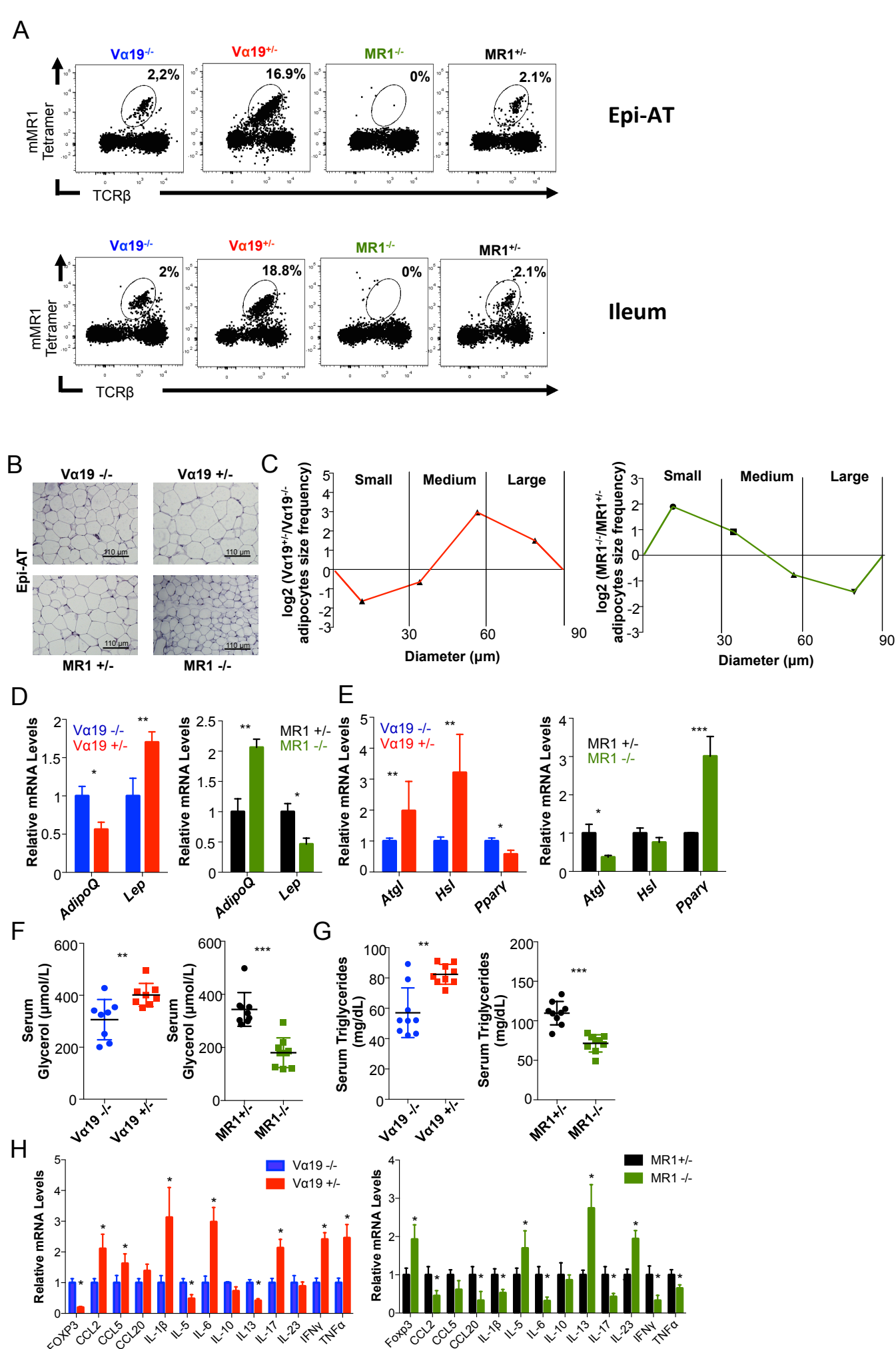


Figure 3 : MAIT cells promote lipid metabolism deregulation during obesity

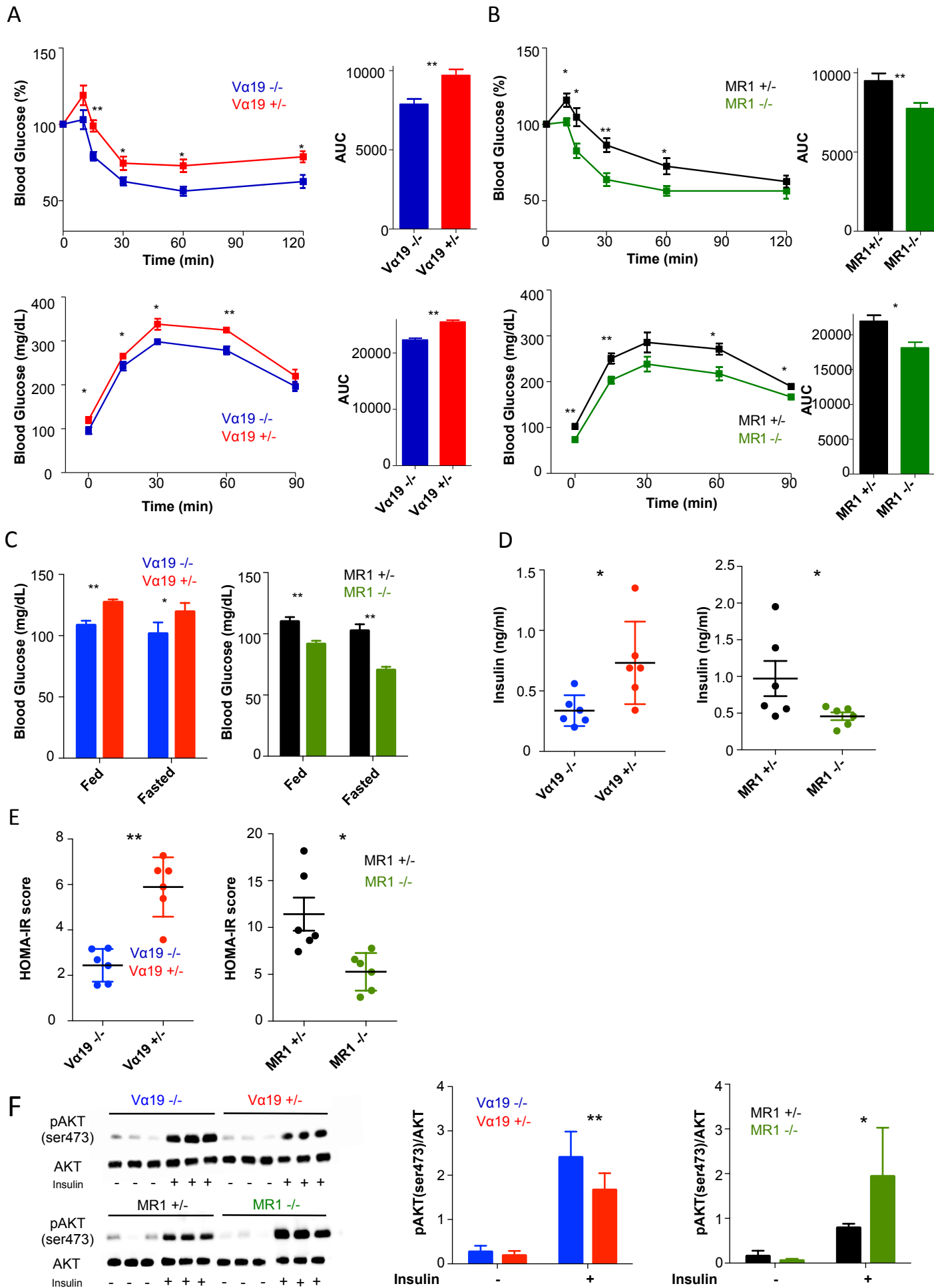


Figure 4: MAIT cells impair glucose metabolism and induce insulin resistance during obesity



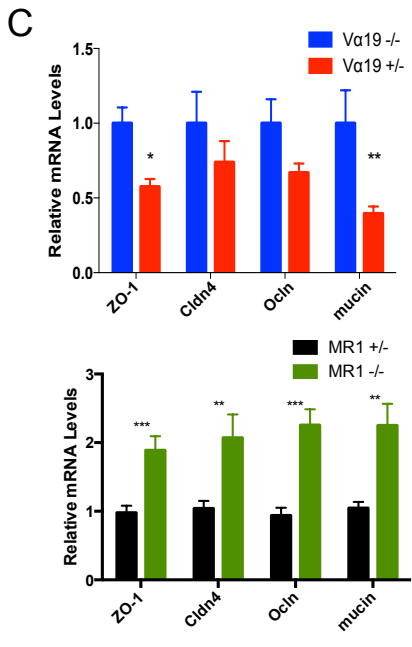
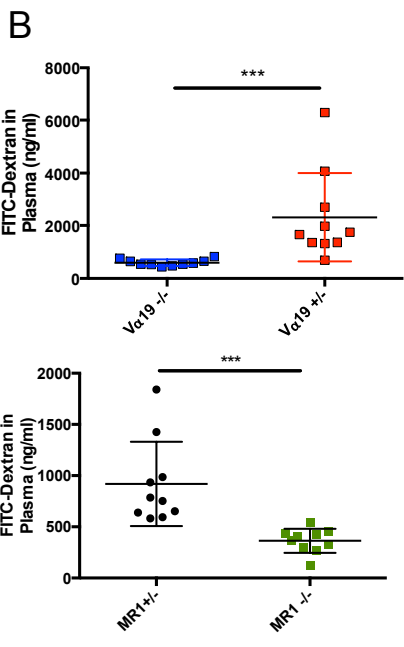
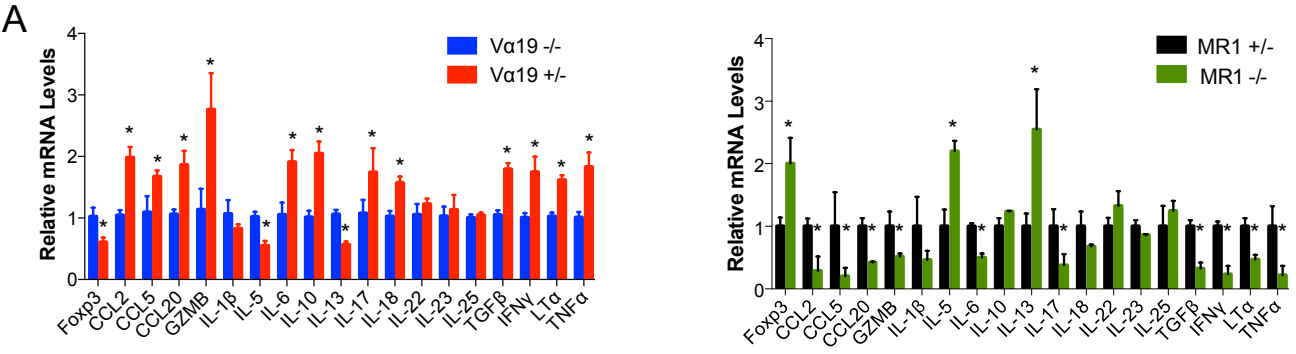


Figure 5 : MAIT cells promote ileum inflammation and gut leakage during obesity

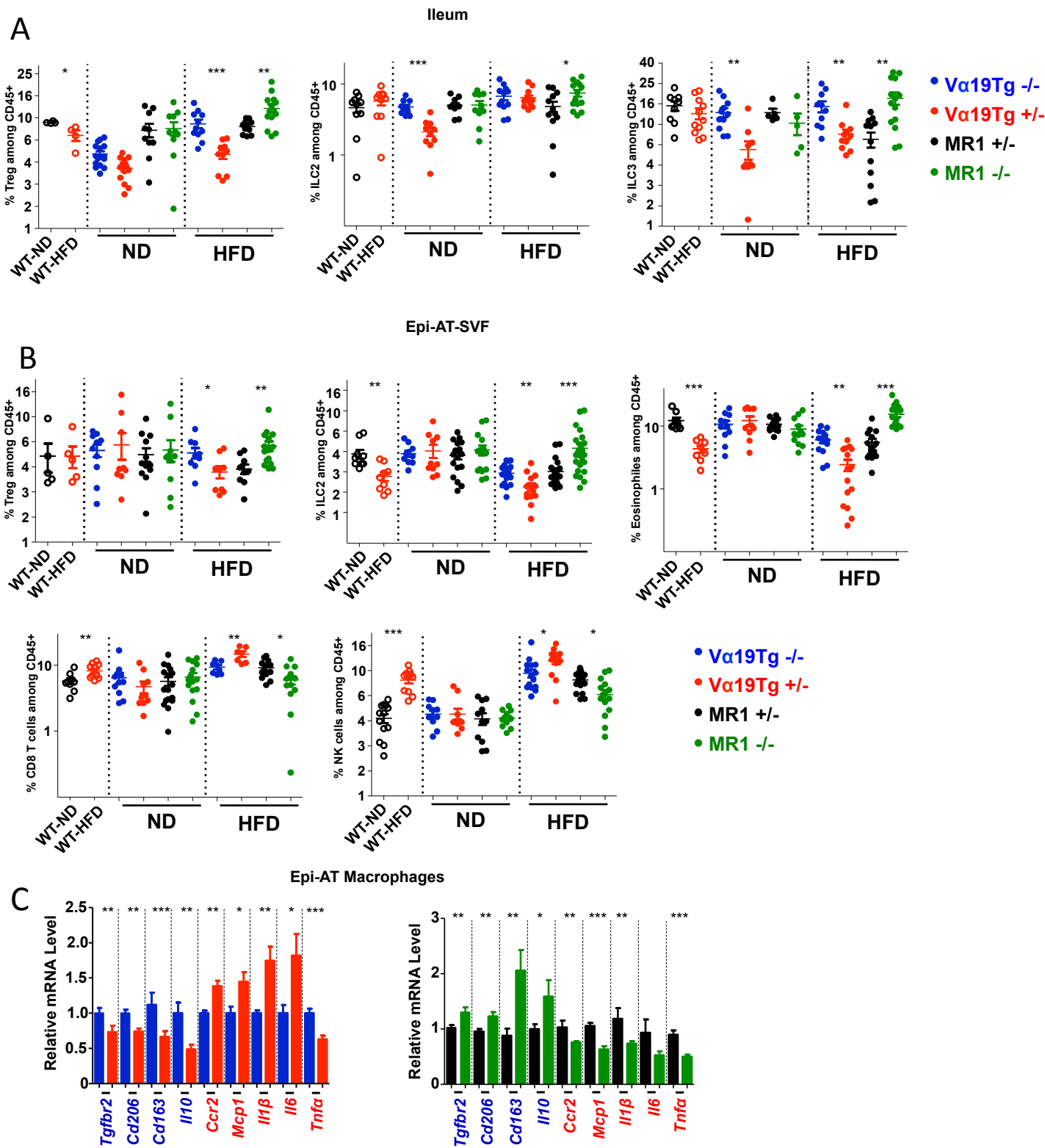


Figure 6: MAIT cells have a major impact on other immune cell populations in the ileum and adipose tissue of obese mice

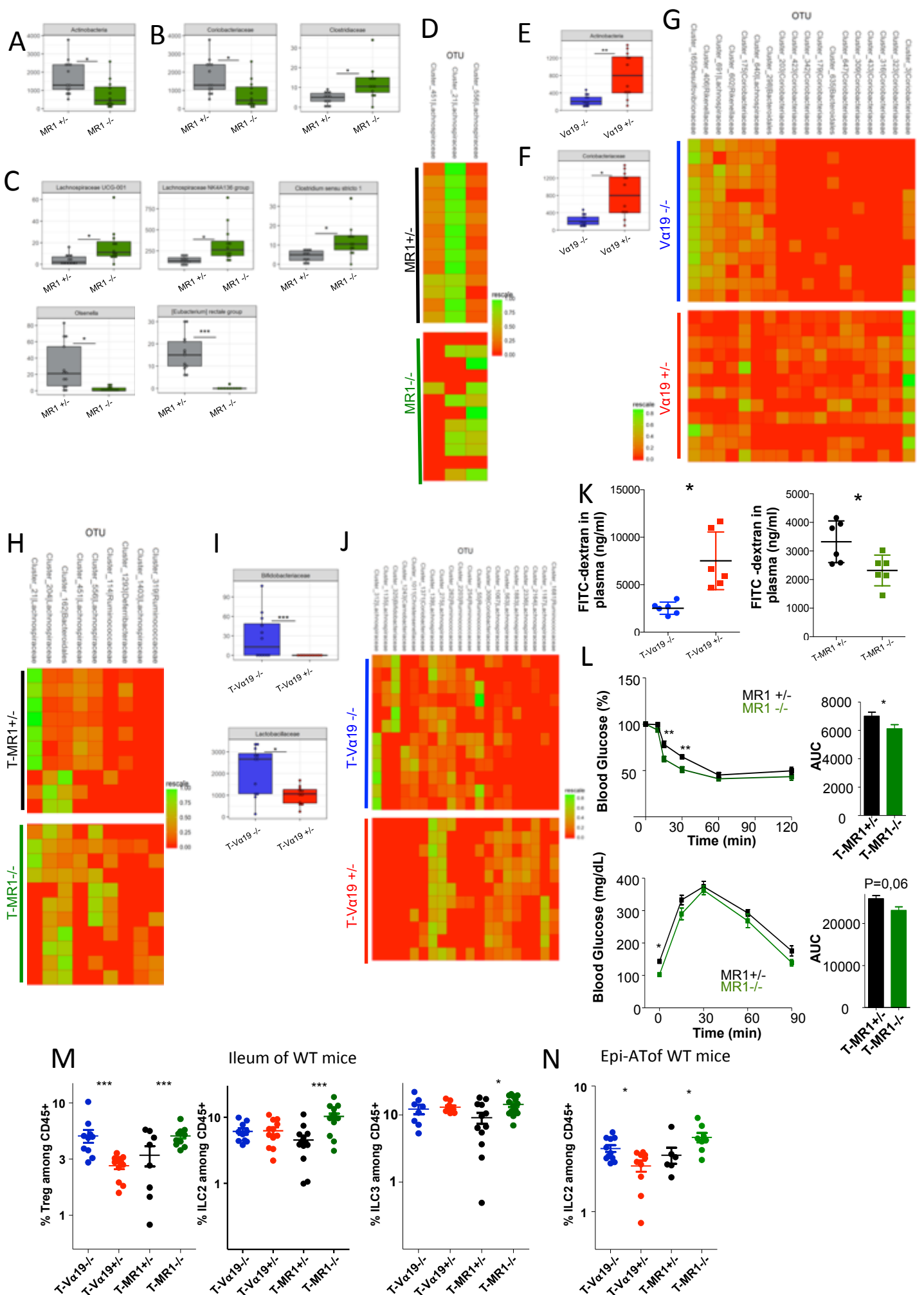
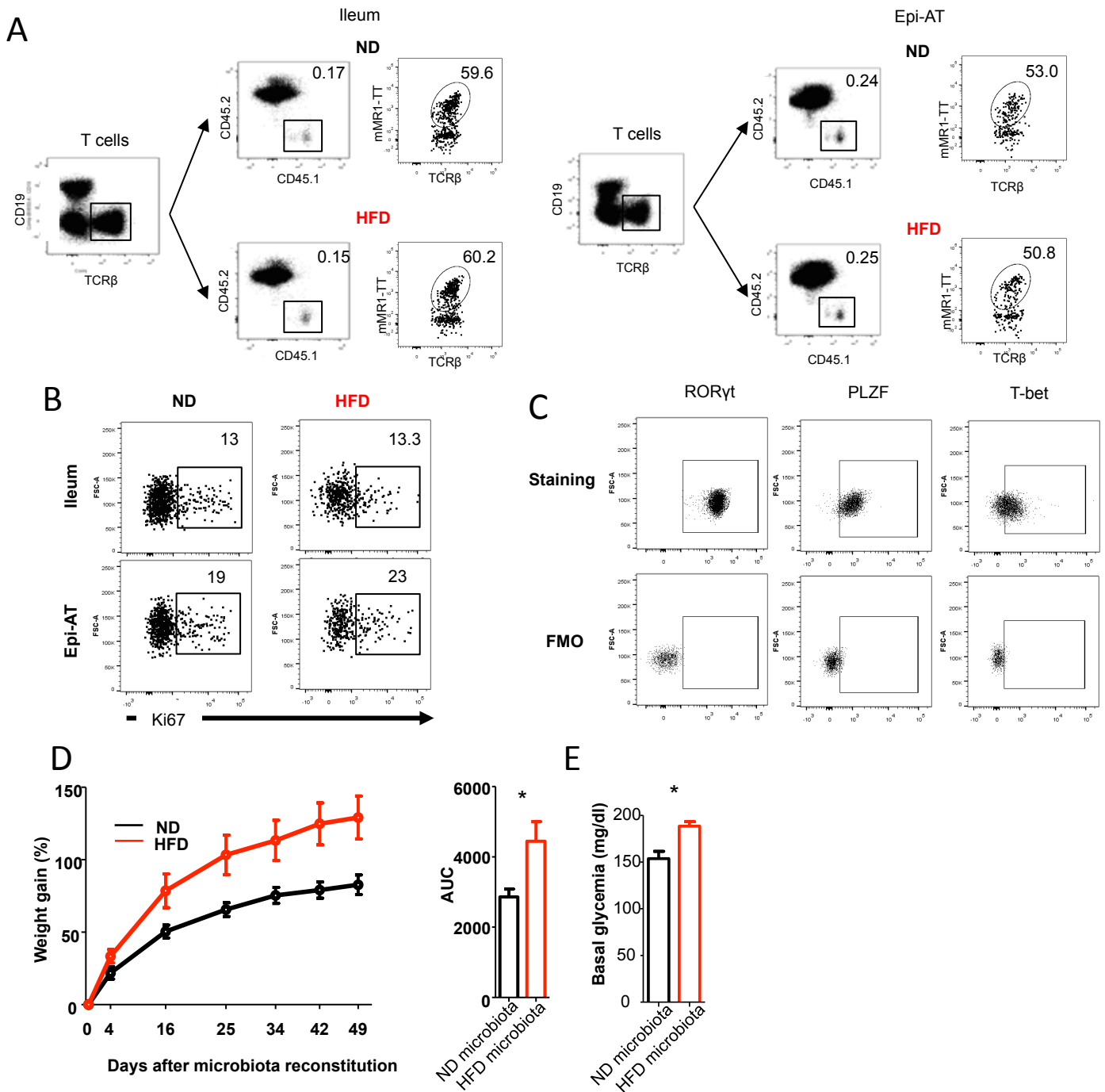
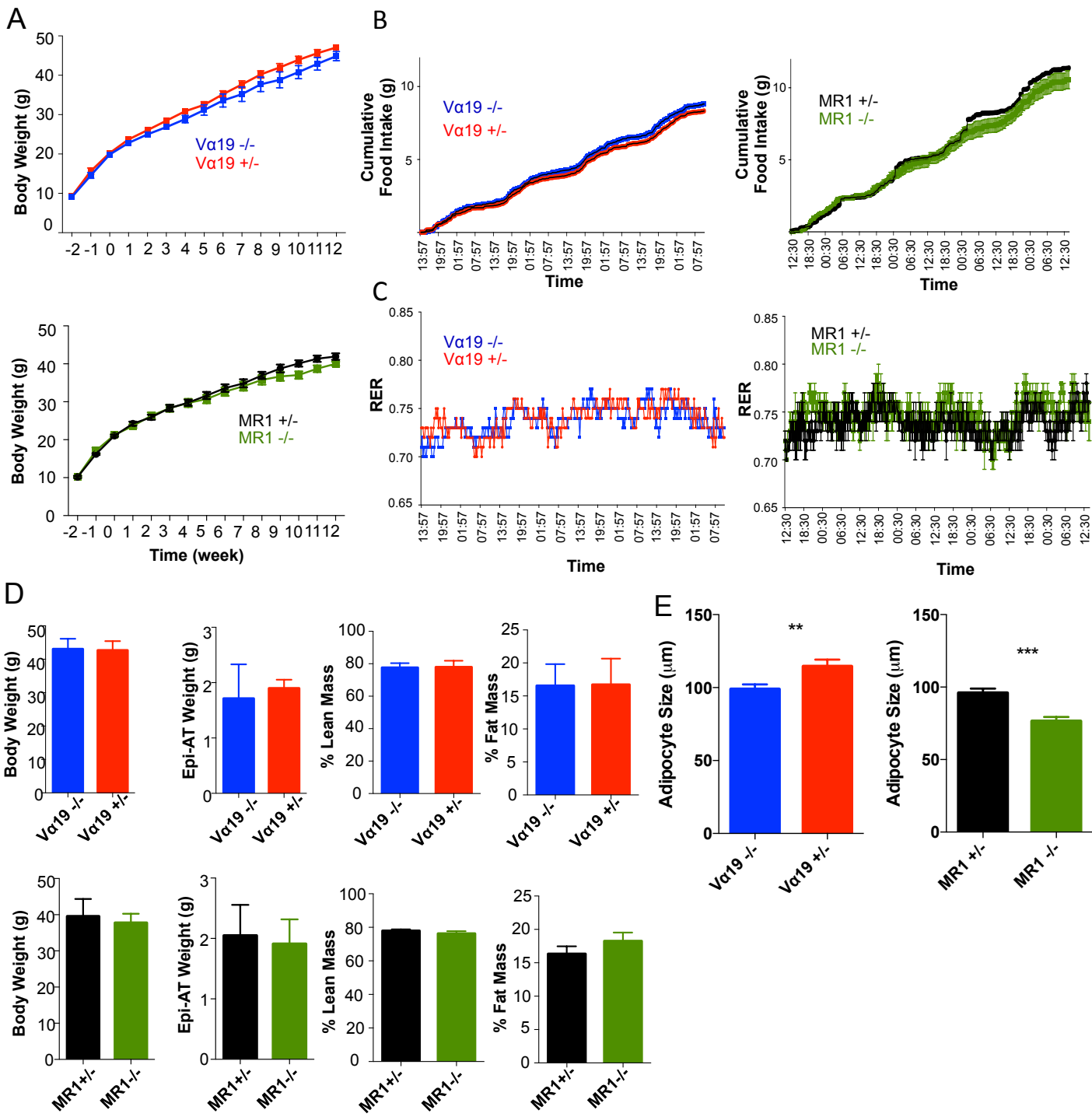


Figure 7: MAIT cells modify gut microbiota that controls other immune cells and gut permeability during obesity



**Figure S1 related to Figure 1 and Figure 2: Obesity effect on tissular MAIT cell frequency and migration**  
 (A) Migration of MAIT cells into lean or obese (12 weeks of ND or HFD) recipient B6 mice. Purified MAIT cells from CD45.1 Va19 transgenic  $\text{Ca}^{-/-}$  B6 mice were transferred into CD45.2 B6 mice, which were analyzed 5 days later. Representative dot plots of MAIT cell staining and the numbers represent the frequency of MAIT cells among  $\alpha\beta\text{T}$  cells. (B) Representative dot plot of intracellular staining of Ki67 in MAIT cells. (C) Intracellular staining of PLZF, ROR $\gamma\text{t}$  and T-bet on MAIT cells of ileum and Epi-AT of obese (12 weeks HFD) or lean mice. FMO controls are used to assess the specificity of the staining. (C) Percentage of weight gain in WT recipient mice after microbiota transfer from ND or HFD fed mice. (D) Basal glycemia of WT recipient mice after microbiota transfer from ND or HFD fed WT mice. All data are represented as mean  $\pm$  SEM. All statistical analyses were performed by two-tailed Mann Whitney test. \* $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

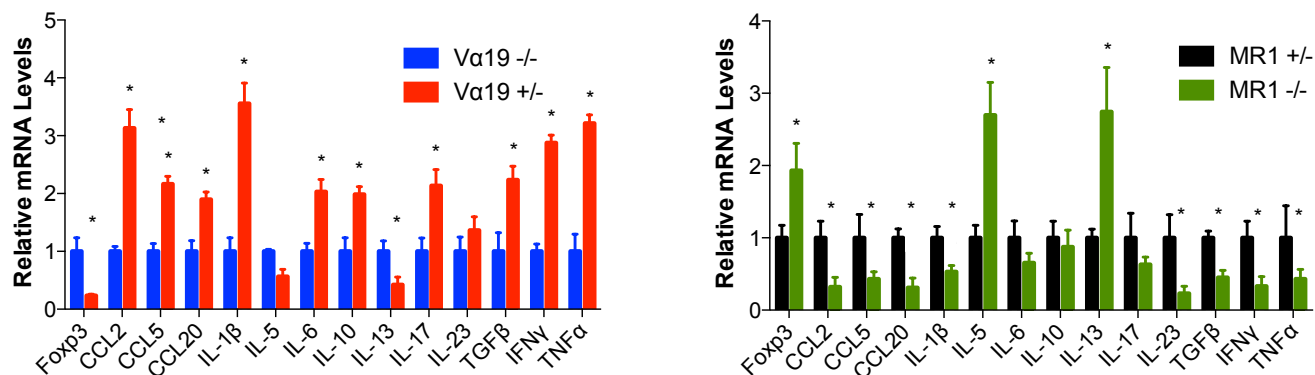


**Figure S2 related to Figure 3: MAIT cells induce adipose tissue modulation and metabolic disorder independently of food intake or mice activity**

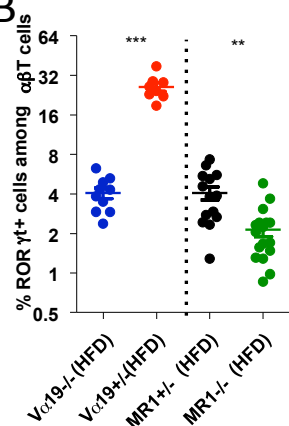
(A) Weight gain of Va19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> HFD-fed mice and their littermate controls (n=6 per group) during 12 weeks of HFD. (B) and (C) Comparison of food intake and the respiratory exchange ratio (RER) between obese Va19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> HFD-fed mice and their littermate controls (n=6-10 per group). (D) Body weight, Epi-AT weight and percentage of Lean mass and fat mass in Va19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> HFD-fed mice and their littermate controls (n=6-10 per group). (E) Mean size of adipocyte in Epi-AT of Va19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> HFD-fed mice and their littermate controls (n=6 per group). All data are represented as mean ± SEM. All statistical analyses were performed by two-tailed Mann Whitney test. \*P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001

A

## Epi-AT immune cells HFD

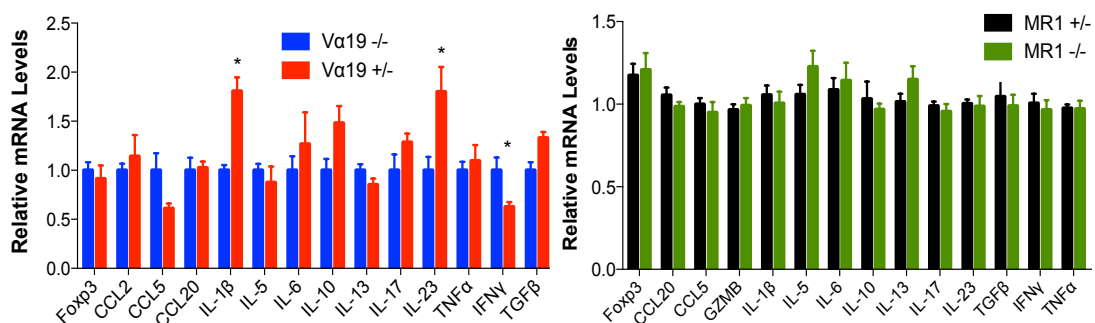


B



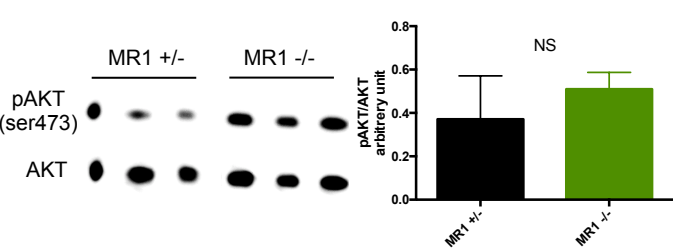
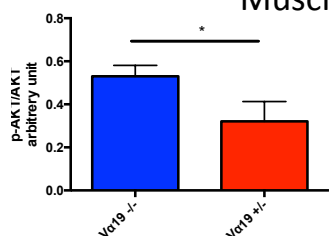
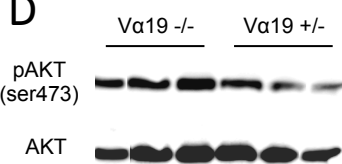
C

## Epi-AT immune cells ND



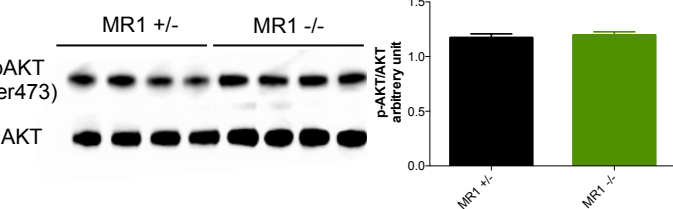
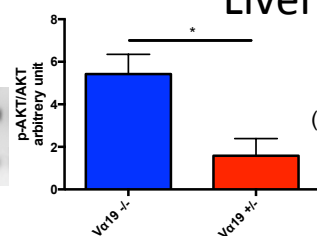
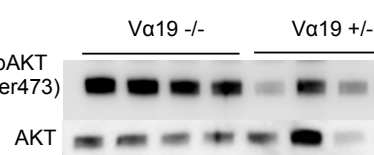
D

## Muscle



E

## Liver

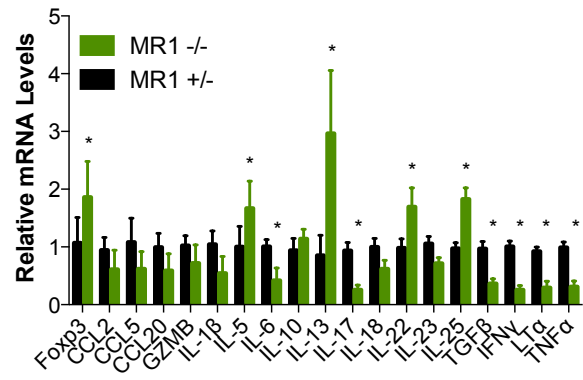
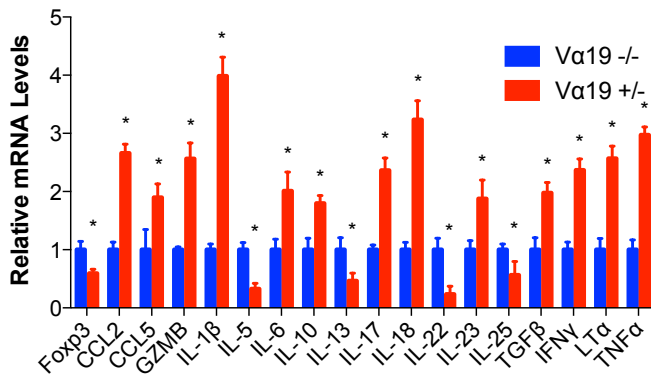


**Figure S3 related to Figure 3 and 4: MAIT cells induce Epi-AT immune system inflammation during obesity**

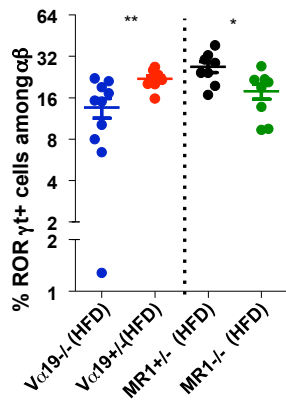
(A) Graph showing the relative quantity of pro- and anti-inflammatory cytokine transcripts in the Epi-AT SVF of *Va19*<sup>+/-</sup> and *MR1*<sup>-/-</sup> mice and their littermate controls fed with HFD ( $n=14-15$ ). (B) Frequency of ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> cell among  $\alpha\beta$ T cell (Th17) in the Epi-AT SVF of *Va19*<sup>+/-</sup> and *MR1*<sup>-/-</sup> mice and their littermate controls fed with HFD during 12 weeks ( $n=8-17$ ). (C) Graph showing the relative quantity of pro- and anti-inflammatory cytokine transcripts in the Epi-AT SVF of *Va19*<sup>+/-</sup> and *MR1*<sup>-/-</sup> mice and their littermate controls fed with ND ( $n=6$  per group). (D-E) Western blot and quantification of basal AKT phosphorylation (p-AKT-S473) HFD-fed *Va19*<sup>+/-</sup>, *MR1*<sup>-/-</sup> mice and their littermate ( $n = 3-4$  mice per group). All data are represented as mean  $\pm$  SEM. All statistical analyses were performed by two-tailed Mann Whitney test. \* $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$ .

A

## Ileum immune cells HFD

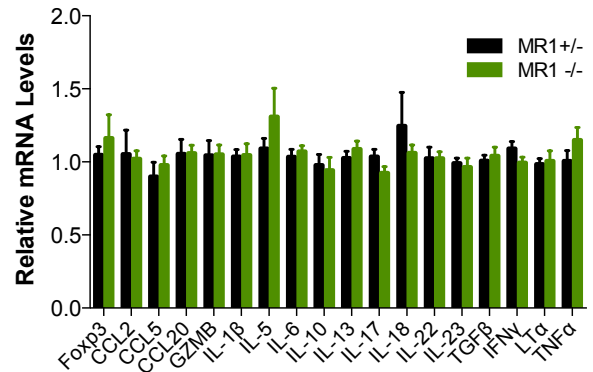
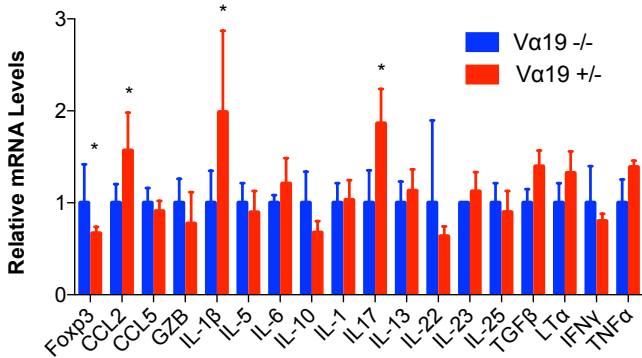


B



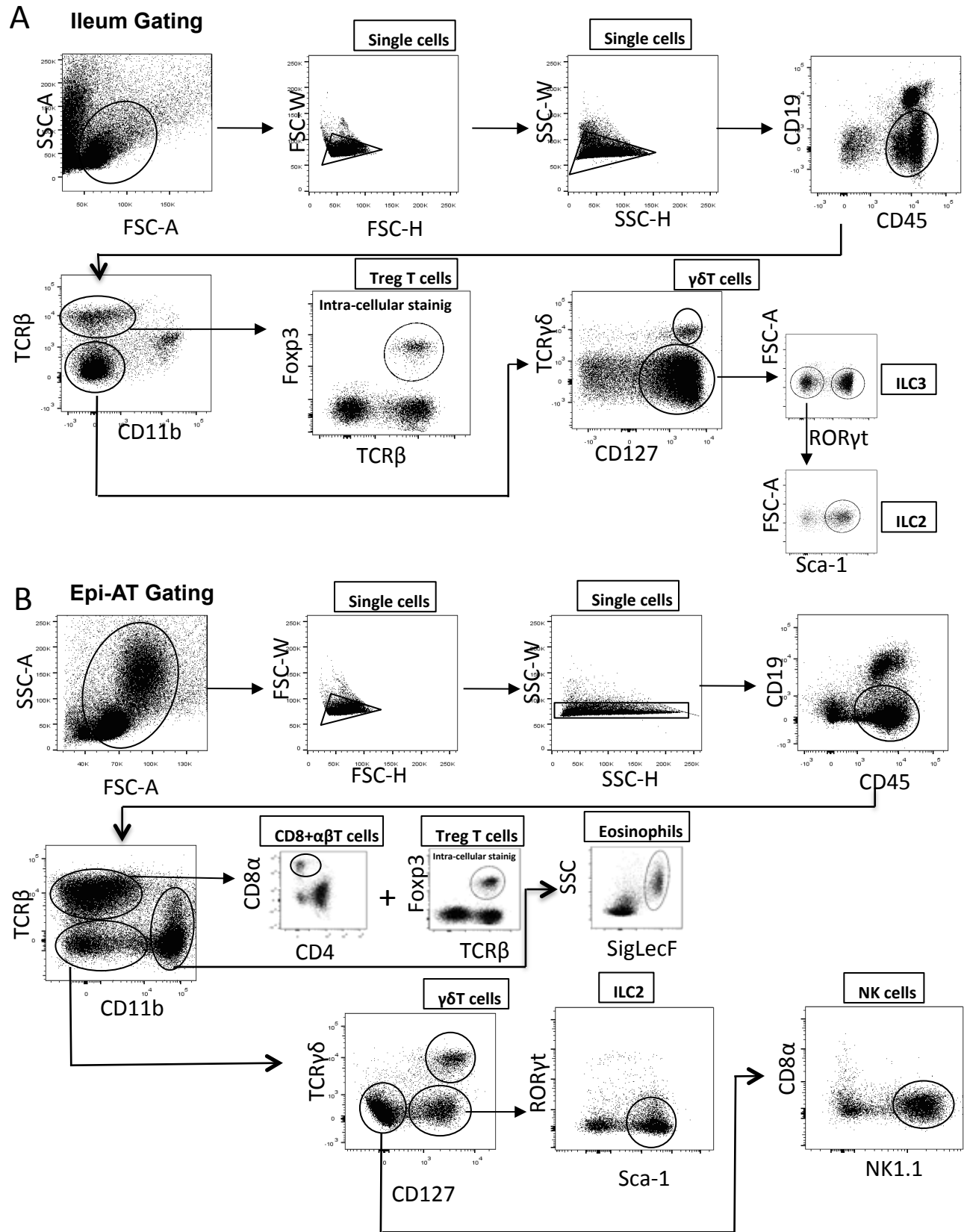
## Ileum immune cells ND

C



**Figure S4 related to Figure 5: MAIT cells induce ileal immune system inflammation during obesity**

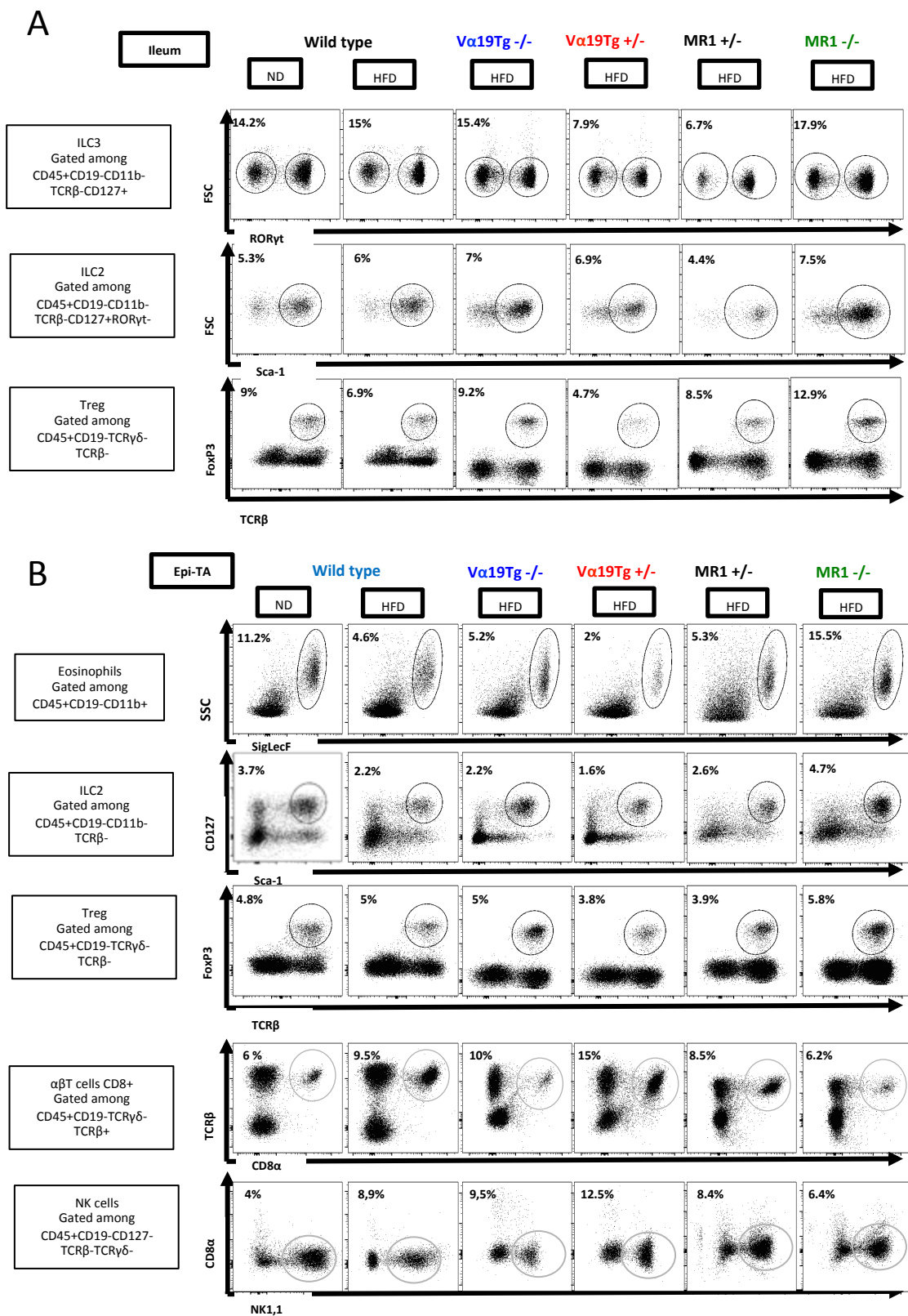
(A) Graph showing the relative quantity of pro- and anti-inflammatory cytokine transcripts in the ileal lamina propria of Va19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice and their littermate controls fed with HFD during 12 weeks (n=14-15). (B) Frequency of ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> cell among  $\alpha\beta$ T cell (Th17) in the ileum lamina propria of Va19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice and their littermate controls fed with HFD during 12 weeks (n=8-10). (C) Graph showing the relative quantity of pro- and anti-inflammatory cytokine transcripts in the ileal lamina propria of Va19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice and their littermate controls fed with ND (n=6 per group). All data are represented as mean  $\pm$  SEM. All statistical analyses were performed by two-tailed Mann Whitney test. \*P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001.



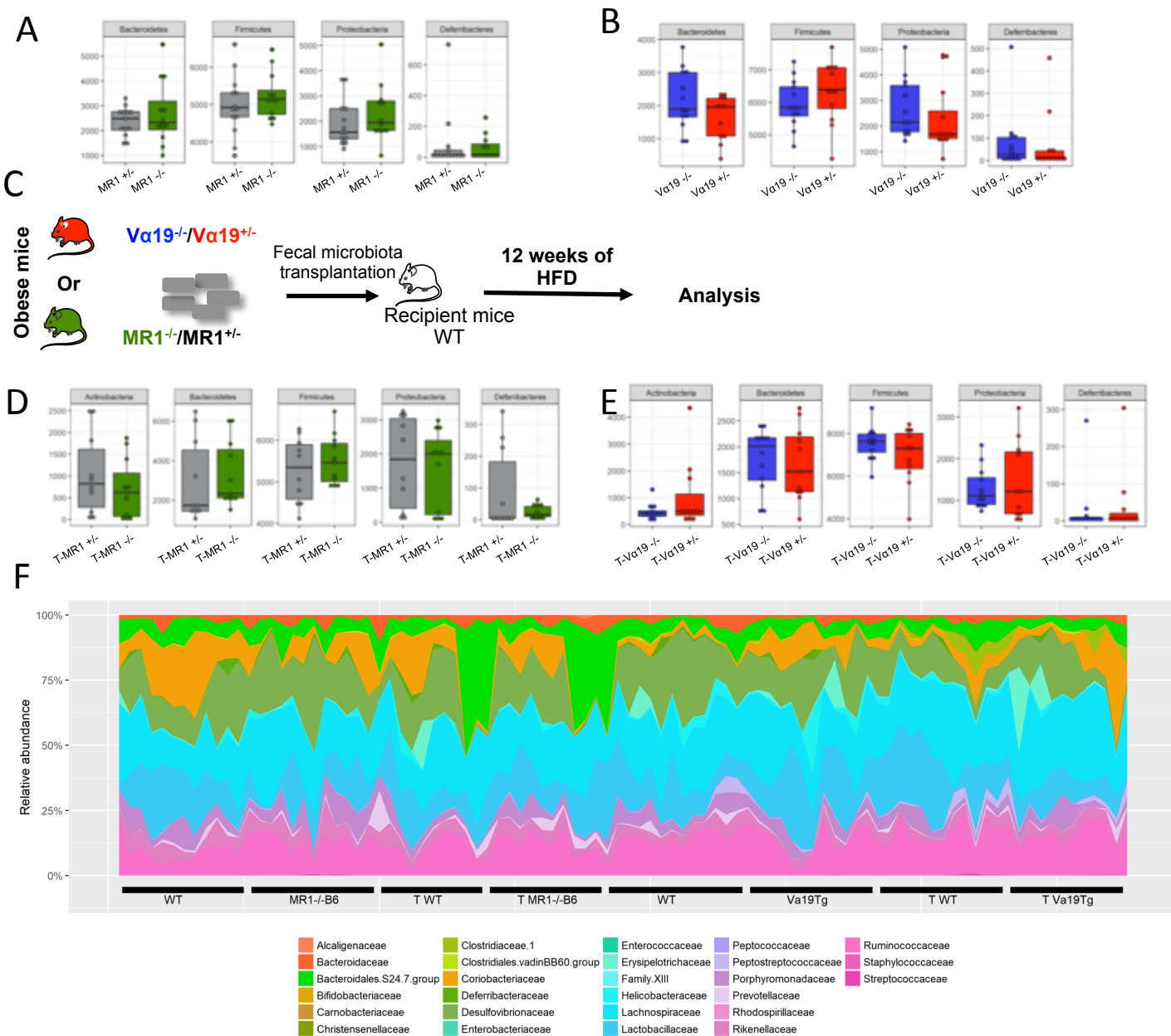
**Figure S5 related to Figure 6: MAIT cells impact other immune cells in the ileum and Epi-AT of lean control mice**

(A) Representative Gating strategy in the ileum. (B) Representative Gating strategy in Epi-AT.





**Figure S6 related to Figure 6: MAIT cells impact other immune cells in the ileum and Epi-TA of obese mice**  
 (A) Dot plots representation showing the frequency of Foxp3<sup>+</sup> Treg cells, ILC2 and ILC3 among CD45<sup>+</sup> cells in the ileum lamina propria of B6 mice fed with HFD or ND, Vα19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice and their littermate controls after 12 weeks of HFD or ND feeding. (B) Dot plots representation showing the frequency of Foxp3<sup>+</sup> Treg cells, ILC2, eosinophils, CD8 αβT cells, NK cells and macrophages among CD45<sup>+</sup> cells in the Epi-TA stroma-vascular fraction (SVF) of B6 mice fed with HFD or ND, Vα19<sup>+/-</sup> and MR1<sup>-/-</sup> mice and their littermate controls after 12 weeks of HFD or ND feeding.



**Figure S7 related to Figure 7: MAIT cells impact other immune cells in the ileum and Epi-AT of obese mice** (A) Graphs showing relative abundance of (percentage of 16S rRNA gene sequences) Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Deferribacteres among the MR1<sup>-/-</sup> and MR1<sup>+/-</sup> mice (B) Graphs showing relative abundance of (percentage of 16S rRNA gene sequences) Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Deferribacteres among the Va19<sup>-/-</sup> and Va19<sup>+/-</sup> mice (C) Flowchart illustrating feces transfer procedure and data-analysis workflow. (D) Graphs showing relative abundance of (percentage of 16S rRNA gene sequences) Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Deferribacteres among the T-MR1<sup>-/-</sup> and T-MR1<sup>+/-</sup> mice (E) Graphs showing relative abundance of (percentage of 16S rRNA gene sequences) Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Deferribacteres among the T-Va19<sup>-/-</sup> and T-Va19<sup>+/-</sup> mice. (F) Overview of the microbiota composition in term of bacteria families among all mouse groups. Data are presented as box-plots, as mean ± SEM.

A

OTUs	p value	MR1 <sup>+/-</sup> vs. MR1 <sup>-/-</sup>
Cluster_21	0.0055	
Cluster_451	0.0052	
Cluster_556	0.01	

B

OTUs	p value	Vα19 <sup>-/-</sup> vs. Vα19 <sup>+/-</sup>
Cluster_165	0.014	
Cluster_175	0.011	
Cluster_298	0.0091	
Cluster_3	0.0019	
Cluster_309	0.0042	
Cluster_179	0.0063	
Cluster_203	0.0085	
Cluster_316	0.0002	
Cluster_323	0.012	
Cluster_342	0.0069	
Cluster_406	0.0016	
Cluster_691	0.0023	
Cluster_640	0.0096	
Cluster_602	0.016	
Cluster_635	0.006	
Cluster_423	0.0077	
Cluster_433	0.0019	
Cluster_647	0.005	

C

OTUs	p value	T-MR1 <sup>+/-</sup> vs. T-MR1 <sup>-/-</sup>
Cluster_556	0.0062	
Cluster_204	0.04	
Cluster_162	0.033	
Cluster_114	0.0087	
Cluster_319	0.045	
Cluster_1403	0.02	
Cluster_1293	0.033	
Cluster_451	0.015	
Cluster_21	0.015	

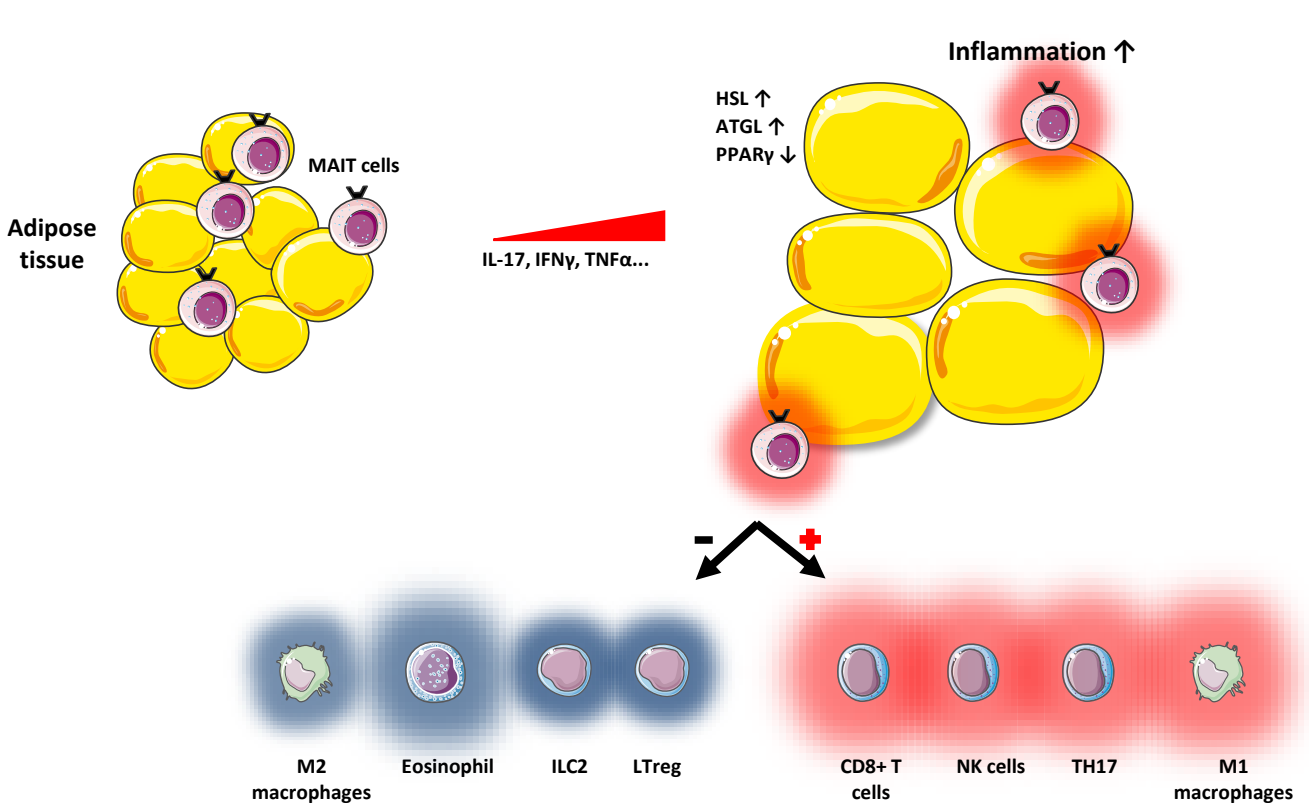
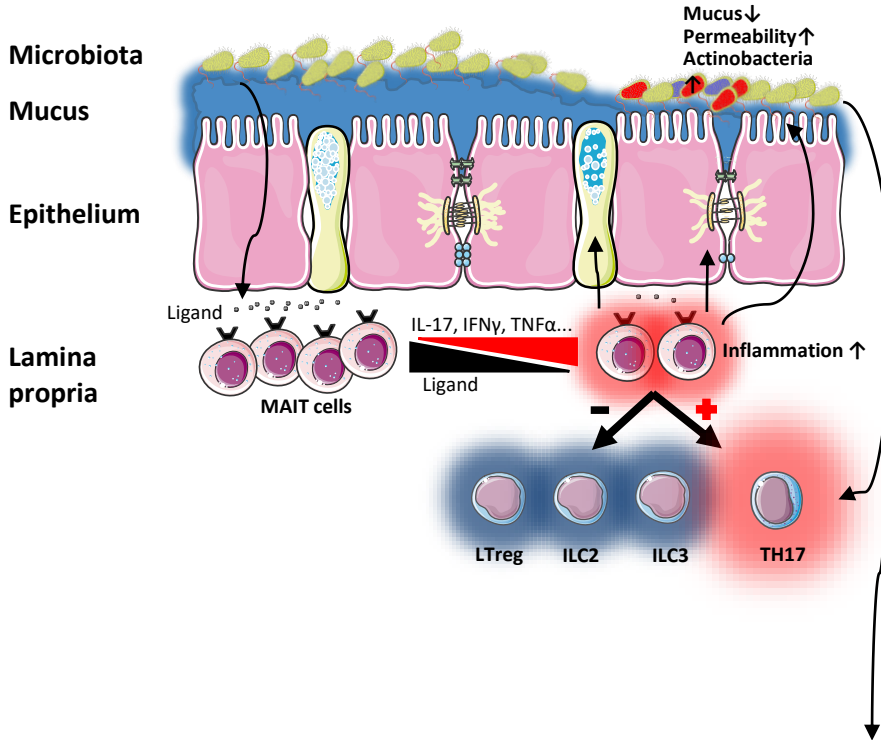
D

OTUs	p value	T-Vα19 <sup>-/-</sup> vs. T-Vα19 <sup>+/-</sup>
Cluster_1187	0.034	
Cluster_1067	0.041	
Cluster_1011	0.027	
Cluster_1135	0.045	
Cluster_55	0.0041	
Cluster_325	0.0096	
Cluster_312	0.0006	
Cluster_1243	0.021	
Cluster_1371	0.049	
Cluster_1681	0.03	
Cluster_1883	0.018	
Cluster_2336	0.041	
Cluster_2164	0.038	
Cluster_309	0.023	
Cluster_2203	0.025	
Cluster_254	0.023	
Cluster_262	0.037	
Cluster_139	0.048	
Cluster_275	0.038	
Cluster_563	0.0005	

SI 1 related to Figure 7: MAIT cells impact other immune cells in the ileum and Epi-AT of obese mice

(A)

# Obesity



## Discussion et perspectives

### ❖ Enfin un tétramère pour analyser les lymphocytes MAIT murins :

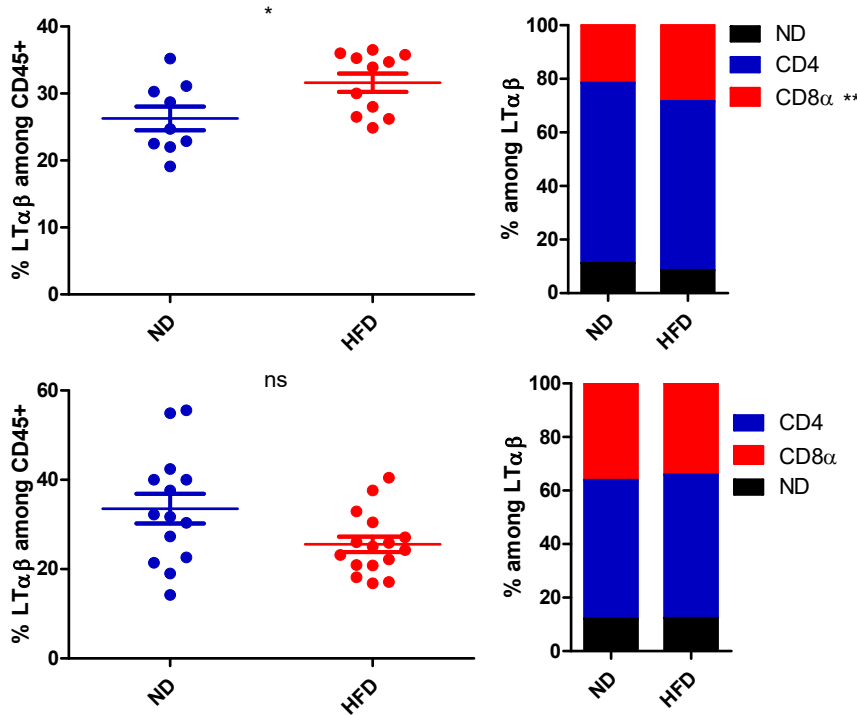
La production du tétramère MR1 murin en 2013 a facilité l'étude des MAIT dans les modèles animaux (Reantragoon et al., 2013). Ceci a permis l'initiation d'études mécanistiques autour du rôle des MAIT dans certaines maladies inflammatoires. Les MAIT, dont la fonction initialement décrite est la défense contre les infections bactériennes, sont de plus en plus soupçonnées de jouer un rôle délétère dans l'induction/exacerbation des maladies auto-immunes, du cancer et du diabète de type 2 (Carolan et al., 2015a; Harms et al., 2015; Hinks et al., 2015; Le Bourhis et al., 2010; Magalhaes et al., 2015; Zheng et al., 2017).

### ❖ L'obésité retarde l'accumulation des MAIT et altère leur fonction dans le TA et l'iléon :

Par ailleurs, l'obésité conduit à un décalage dans l'accumulation des MAIT au niveau du TA et de l'iléon. En effet, la population MAIT chez les souris obèses continue à s'accumuler au niveau de ces deux tissus au cours de l'obésité. Le nombre des MAIT augmente au niveau du TA et de l'iléon au cours de l'obésité mais la fréquence reste inchangée (plusieurs cellules immunitaires continuent à infiltrer en même temps ce qui explique la fréquence stabilisée) même à 40 semaines de régime HFD (donnée non représentée). Il semble que l'environnement inflammatoire chronique induit une sélection d'une sous-population de MAIT sensible au microenvironnement cytokinique inflammatoire et qui participe à l'inflammation. Les MAIT purifiés du TA et de l'iléon des souris obèses expriment plus d'IL-18R, de T-bet et de CCR6. Ceci explique l'augmentation du niveau de production d'IFN $\gamma$  et de l'IL-17 par les MAIT au cours de l'obésité. L'IL-18, *via* l'IL-18R, et T-bet contrôlent directement la production d'IFN $\gamma$  (Lugo-Villarino et al., 2003; Yoshimoto et al., 1998), alors que l'expression du CCR6 est étroitement liée à la réponse TH17 (Haas et al., 2009). Il est intéressant de noter que l'obésité n'a aucun effet sur le niveau d'expression d'IL-18 au niveau des cellules épithéliales (données non représentées). Ceci suppose que l'effet sur la fonction inflammatoire des MAIT, au cours de l'obésité, est plutôt dû au changement/sélection vers/d'une sous-population inflammatoire des MAIT au niveau du TA et de l'iléon.

Par ailleurs, l'obésité conduit à une infiltration des LT conventionnels (et plus particulièrement des LT-CD8) au niveau du TA (**Figure 1**). Cependant, le taux d'infiltration des LT

conventionnels ne peut expliquer, à lui seul, la diminution de la fréquence des MAIT au cours de l'obésité. En effet, la fréquence des LT passe d'environ 27% parmi les cellules immunitaires (CD45+) à l'état basal à 32%. Par contre, nous n'observons aucune différence d'infiltration des



**Figure 1 : Effet de l'obésité sur l'infiltration des LT $\alpha\beta$ .** Analyse par cytométrie en flux de la fréquence des lymphocytes T $\alpha\beta$  et leurs sous populations CD4+, CD8+ et CD4-CD8- à 12 semaines de HFD. En haut, l'analyse du TA (n=9-11) et en bas, l'analyse de la lamina propria de l'iléon (n=14-16). Un test statistique Mann Whitney a été réalisé, \* p<0.05.

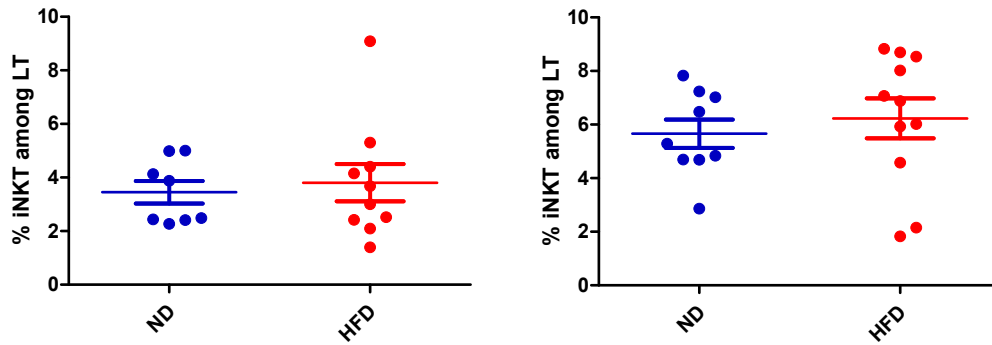
LT conventionnels au niveau de l'iléon. Ceci montre que l'effet de l'obésité sur la fréquence des MAIT implique à des mécanismes qui visent spécifiquement la population MAIT au niveau de ces deux tissus.

❖ **Quel mécanisme derrière le décalage de l'accumulation des MAIT au niveau du TA et de l'iléon ? :**

L'obésité conduit à un changement de la composition/fonction du microbiote intestinal. Parmi les fonctions modifiées, une diminution des gènes codants pour la synthèse de la vitamine B2 par la flore intestinale de l'Homme a été observés (Bjørke-Monsen et al., 2016). En collaboration avec l'équipe de P. Lesnik, un dosage de la vitamine B2 sérique montre que les souris soumises à un régime gras ont une concentration de vitamine B2 plus faible que les souris contrôles (données non représentées), bien qu'il y ait la même proportion de vitamine B2 dans l'alimentation HFD/ND. Cette modification est probablement associée à une baisse de la production du « ligand » exogène (bactérien) des MAIT. D'autre part, ce ligand des MAIT est une molécule relativement instable, ainsi des doutes subsistent concernant sa diffusion en

systémique et son rôle serait local au niveau des muqueuses. Après la naissance, l'expansion intestinale des MAIT nécessite la présence de la flore intestinale (Koay et al., 2016). Cependant, il n'est pas encore clair si cette observation est liée aux propriétés intrinsèques de la flore intestinale (e.i. production du ligand) ou bien à l'effet de la flore sur la fonction de l'intestin (e.g. stimulation de l'épithélium pour la production de facteurs endocrines ou de cytokines) ou les deux en même temps. De plus, l'enrichissement intestinal des MAIT peut être indépendant du ligand (e.i. lié à des facteurs tels que l'IL-18). En effet, chez l'Homme, et dans l'environnement « stérile » du fœtus, quelques sous-populations de MAIT sont localisées au niveau de différents tissus (Gold et al., 2013; Walker et al., 2012). Plus particulièrement, les MAIT des muqueuses intestinales et pulmonaires présentent un phénotype mémoire effecteur dont sont dépourvus les MAIT de tissus tels que le thymus, la rate et les MLN (Leeansyah et al., 2014). Il est supposé que l'IL-18 joue un rôle dans la maturation/développement des MAIT au niveau de ces tissus (e.i. foie et muqueuses fœtales). Contrairement aux autres tissus, les MAIT du foie, des muqueuses intestinale et pulmonaire expriment l'IL-18R $\alpha$  tôt au cours du développement fœtal (Leeansyah et al., 2014). Chez la souris, Il est montré que le développement thymique des MAIT nécessite l'IL-18 afin de compléter les différentes phases de maturation. La production d'IL-18, dont la source principale est l'épithélium intestinal, nécessite une colonisation par la flore bactérienne. Le lien entre l'IL-18 et les MAIT peut expliquer l'absence de cette population au niveau de l'intestin chez les souris axéniques. Cependant, cette population est présente au niveau du thymus de ces souris, mais se trouve incapable de poursuivre sa maturation, faute d'IL-18. Ces observations suggèrent à nouveau, l'existence d'un ligand endogène et de plusieurs sous-populations/état de maturation de MAIT, puisque l'apport en IL-18 recombinant chez les souris axéniques permet de produire des MAIT matures en absence de flore intestinale (Dias et al., 2017).

Dans notre étude nous avons analysé l'effet spécifique de la flore intestinale de souris obèses (en comparaison à une flore de souris contrôles) sur l'évolution tissulaires des MAIT. Un transfert adoptif de microbiote issu de souris obèses chez des souris sauvages, contrairement à une flore contrôle, conduit à une diminution spécifique de la fréquence des MAIT au niveau du TA et de la LP-iléale. L'analyse de la fréquence des iNKT montre que cette population n'est pas impactée par le changement de la composition florale, confirmant ainsi nos observations précédentes sur l'effet spécifique de l'obésité sur les MAIT et l'absence d'effet sur les iNKT (**Figure 2 et données non représentées pour les transferts de flore**), contrairement à ce qu'avaient publié L. Lynch et al, cinq ans auparavant (Lynch et al., 2012). Ainsi, nous avons observé un rôle direct du microbiote intestinal dans le devenir tissulaire des MAIT.



**Figure 2 : Effet de l'obésité sur la fréquence des iNKT.** Analyse par cytométrie en flux de l'évolution de la fréquence des lymphocytes iNKT (identifiés grâce aux tétramère CD1d- $\alpha$ GalCer à 12 semaines de HFD. A gauche, l'analyse faite sur le lamina propria (n=8-10) de l'iléon et à droite (n=9-11), l'analyse faite sur le TA.

Par la suite nous avons effectué des tests *in vitro* pour déterminer le niveau de production du ligand des MAIT. Il est admis que la culture des MAIT en présence du ligand activateur induit une augmentation de l'expression membranaire du marqueur d'activation CD69 (Corbett et al., 2014; Soudais et al., 2015). Nous avons donc purifié des extraits du microbiote intestinal issu de souris obèses et leurs contrôles. Une culture de cellules MAIT avec des extraits de microbiote de souris obèses induit moins d'expression du CD69 comparés aux extraits de microbiote de souris contrôles. Nous avons par la suite montré que cet effet est spécifiquement médié par l'interaction TCR-Ag-MR1 (inhibition par ligand un ligand inhibiteur, Ac-6-FP), ce qui signifie que le microbiote des souris obèses contient moins de ligands activateurs (ou plus de ligands inhibiteurs) de MAIT en comparaison au microbiote contrôle.

Cependant, l'analyse de la fréquence des MAIT dans un autre modèle d'obésité (i.e. Souris Ob/Ob) repose la question du rôle du ligand (i.e. son niveau de production par le microbiote intestinal) dans les effets observés sur les MAIT. En effet, l'équipe de Gordon avait montré que le microbiote intestinal des souris Ob/Ob produisait beaucoup moins de riboflavine en comparaison aux souris contrôles (Bäckhed et al., 2004; Ley et al., 2005). Toutefois, nos résultats préliminaires n'ont pas mis en évidence de différence de fréquence des MAIT au niveau du TA et de l'iléon entre les deux groupes de souris (groupe de souris Ob/Ob et leurs *littermate-contrôles*) (données non représentées), ce qui montre que d'autres paramètres, en plus de l'abondance du ligand, interviennent dans le devenir tissulaire et fonctionnel des MAIT. Des tests supplémentaires sont nécessaires pour déterminer ces effets supplémentaires que pourrait induire le microbiote intestinal sur les cellules MAIT. Étant donné que le microbiote intestinal peut agir sur les MAIT à travers trois mécanismes distincts. (1) A travers la production



du ligand, (2) à travers les molécules de co-stimulation (Chen et al., 2017) et (3) à travers l'interaction du microbiote avec l'épithélium intestinal ; une interaction à l'origine de la production de cytokines telles que l'IL-18. Ainsi, une mono-colonisation avec des bactéries, dont les gènes impliqués dans la production de la riboflavine sont invalidées, pourrait nous aider à trancher sur l'effet de la fonction du microbiote (en termes de production de la riboflavine) dans l'évolution de la fréquence tissulaire des MAIT. Cependant, et pour exclure complètement l'effet des autres paramètres immunitaires (e.i. L'IL-7, l'IL-12 et l'IL-18, produites par des cellules épithéliales et/ou des APC sous l'influence de la flore intestinale) sur la prolifération/maintien des MAIT au niveau des tissus, il faudrait limiter l'interaction de la flore utilisée avec les cellules épithéliales (utilisation de souches bactériennes non adhérentes à l'épithélium tout en maîtrisant leur production de PAMPs) (Chen and Kasper, 2014).

Par ailleurs, la migration différentielle (ou re-migration) des MAIT entre les tissus pourrait aussi expliquer les variations d'accumulation des MAIT au niveau du TA et de l'iléon. Cependant, il semble qu'une migration des MAIT d'un tissu à l'autre ne soit que peu probable. Les MAIT tissulaires sont majoritairement Ror $\gamma$ <sup>+</sup>. Par contre, l'analyse des MAIT au niveau du sang montre que cette population est très faiblement Ror $\gamma$ <sup>+</sup> (entre 5 à 10% ; données non représentées). Selon ces observations, il est peu probable que les MAIT re-circulent entre les tissus. Ceci est en concordance avec d'autres études qui suggèrent l'absence de migration inter-tissulaire des MAIT (Chen et al., 2017). De plus, parmi les marqueurs de « *homing/retention* » tissulaire (Chea et al., 2015; Suffia et al., 2005) nous avons analysé le niveau d'expression de CD103 (en cytométrie en flux) et de CXCR6 (en qPCR) par les MAIT du TA et de l'iléon. Au cours de l'obésité, les MAIT du TA augmentent fortement le niveau d'expression du CD103, alors que les MAIT de l'iléon augmentent le niveau d'expression du CXCR6 (données non représentées). Ces données suggèrent la rétention tissulaire des MAIT au cours de l'obésité. D'autre part, et malgré l'expression plus faible du CCR9 (données non représentées) et du CD69 par les MAIT intestinaux au cours de l'obésité, des transferts adoptifs de MAIT ne montrent aucun effet de l'obésité sur la migration des MAIT au niveau de l'iléon (même observation pour le TA).

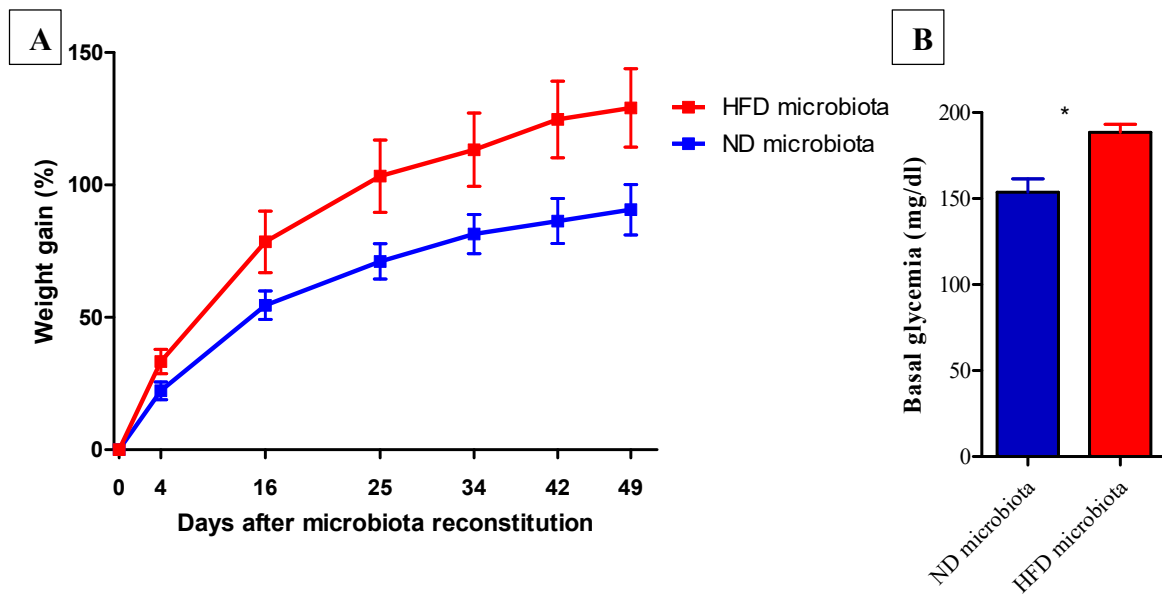
Finalement, comme proposé chez l'Homme, l'obésité induit une activation chronique des cellules MAIT qui pourrait induire une exhaustion et conduire par la suite à une apoptose (Magalhaes et al., 2015). Cette apoptose pourrait expliquer la baisse de la fréquence des MAIT dans l'iléon et le TA des souris obèses. Par conséquent, nous nous sommes intéressés à l'analyse de certains marqueurs pro- ou anti-apoptotiques. De façon intéressante nous observons que les

MAIT retenus au niveau du TA et de l'iléon expriment plus de marqueurs pro-apoptotiques (e.i. cMyc, Caspase 9 et Bax) et moins de Bcl2, une protéine connue pour son rôle anti-apoptotique. Toutes ces données montrent que l'effet de l'obésité sur les MAIT peut être dû à deux événements majeurs qui surviennent au cours de cette maladie. (1) Une baisse de la production des ligands exogènes des MAIT et (2) une augmentation de l'apoptose des MAIT à cause de l'inflammation chronique. Il serait donc intéressant d'étudier l'effet de molécules anti-inflammatoires (e.g. antagoniste de PPAR $\gamma$ ) sur la fréquence des MAIT notamment au niveau du TA. De plus, nous prévoyons de faire des analyses de la prolifération des MAIT (marquage du facteur de transcription Ki67). En effet, la prolifération serait un autre mécanisme qui pourrait intervenir dans la modification de la fréquence des MAIT au cours de l'obésité.

#### ❖ **Transfert de flore, une technique moins onéreuse et plus efficace :**

La composition du microbiote au niveau du colon (flore utilisée pour les transferts) est une résultante de l'évolution des interactions, tout au long du tractus gastro-intestinal, entre l'hôte et les différentes familles bactériennes. Le microbiome représente le résultat de la fonction d'une composition bactérienne donnée. Ce paramètre représente l'addition entre les bactéries présentes dans un milieu et de leur produits libérés dans ce même milieu. Les bactéries peuvent influencer le système immunitaire, à travers des constituants de leur structure (e.g. LPS ou PGN), par des produits libérés dans le milieu comme les SCFA, ou par une interaction directe avec l'hôte (e.g. ancrage du SFB sur les entérocytes) (Karlsson et al., 2013; Le Chatelier et al., 2013; Schnupf et al., 2015). Ainsi, la notion de la fonction du microbiote tend à remplacer les analyses « classiques », comme le séquençage de l'ARN 16S bactériens, qui détermine l'abondance microbienne indépendamment de leur état métabolique et donc de leur fonction réelle (Magnúsdóttir et al., 2015). Compte tenu de ces éléments nous étions conscients des limites de l'analyse 16S dans l'évaluation du rôle du microbiote dans notre étude. Ainsi, afin d'obtenir un élément de réponse quant au rôle du microbiote dans les fonctions délétères des MAIT dans le développement du T2D, nous avons réalisé à des transferts de flore de nos différentes lignées de souris. Il existe différentes techniques de transfert adoptif du microbiote intestinal. Nous avons choisi celle qui permet de reproduire fidèlement l'évolution du microbiote et un état physiologique le plus proche possible de celui retrouvé chez les souris conventionnelles (Calder et al., 2011). Notre technique consiste à utiliser des souris conventionnelles (au lieu des *germ-free*) comme receveuses, de façon similaire à celle décrite par Markle et al (Markle et al., 2013). Ainsi, on réduit considérablement le coût des expériences

et se rapproche plus des conditions physiologiques du rôle de la flore. De plus, nous sommes confiants de l'efficacité de nos transferts de flore grâce aux différents résultats obtenus. En effet, (1) nous reproduisons chez les souris receveuses des signatures microbiennes qui se rapprochent de celles des souris donneuses, (2) ces transferts de flore modifient le système immunitaire des souris receveuses et (3) ainsi que leur métabolisme et leur prise de poids (**Figure 3**). Le transfert d'un microbiote issu de souris obèses conduit à une prise de poids et à une glycémie basale plus importante chez les souris receveuses comparées aux souris ayant reçues une flore contrôlée.

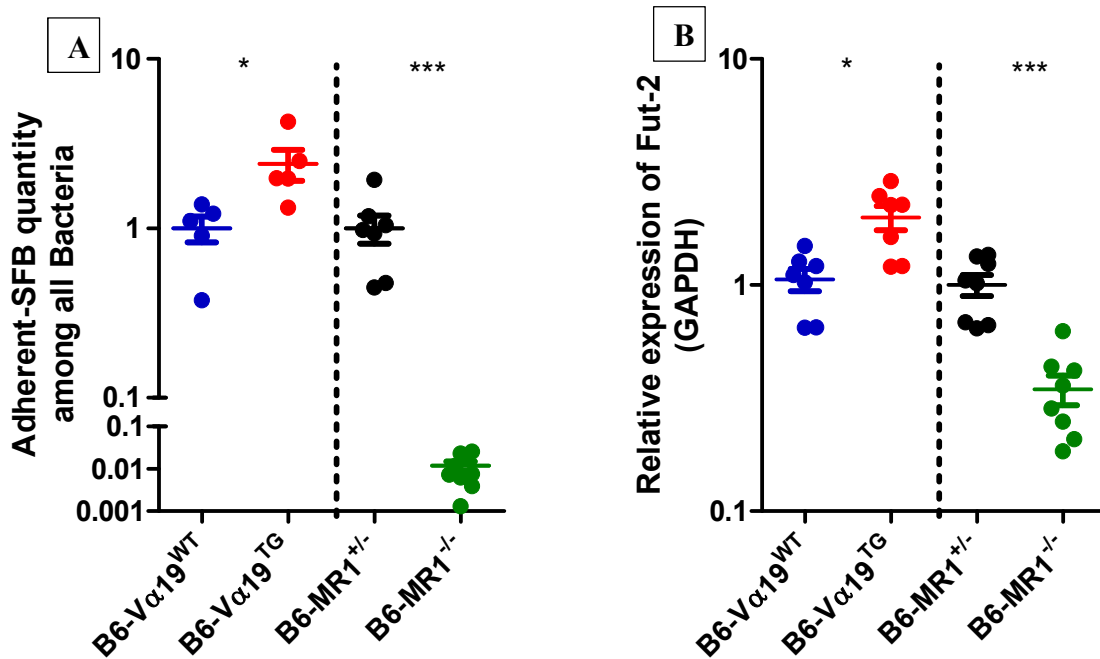


**Figure 3 : Validation de notre technique de transfert de flore.** (A) pourcentage du gain de poids en fonction du poids de départ entre les souris ayant reçues une flore de souris HFD (n=5) et des souris ayant reçues une flore contrôlée (n=5). (B) glycémie basale des souris reconstituées par une flore HFD ou une flore contrôlée. Un test statistique Mann Whitney a été réalisé, \* p<0.05.

❖ **Cross-talk entre les MAIT et le microbiote intestinal ? :**

La fonction antibactérienne des MAIT suggère l'existence d'un *cross-talk* entre les MAIT et la flore intestinale. En collaboration avec le laboratoire de N.C. Bensussan nous avons décidé d'étudier l'impact des MAIT sur le microbiote notamment sur *Segmented Filamentous Bacteria* (SFB). L'analyse de SFB adhérant à la surface de l'épithélium iléal des souris B6-MR1<sup>-/-</sup> (déficientes en MAIT) comparées aux contrôles *littermate* B6-MR1<sup>+/-</sup> montre que l'absence des MAIT a un effet négatif sur SFB. Les souris B6-MR1<sup>-/-</sup> ont moins de SFB à la surface de la

muqueuse iléale comparées à celle des B6-MR1<sup>+/-</sup>. Alors que les souris B6-V $\alpha$ 19TG présentent significativement plus de SFB adhérant aux cellules épithéliales, comparées aux souris contrôles (**Figure 4A**).



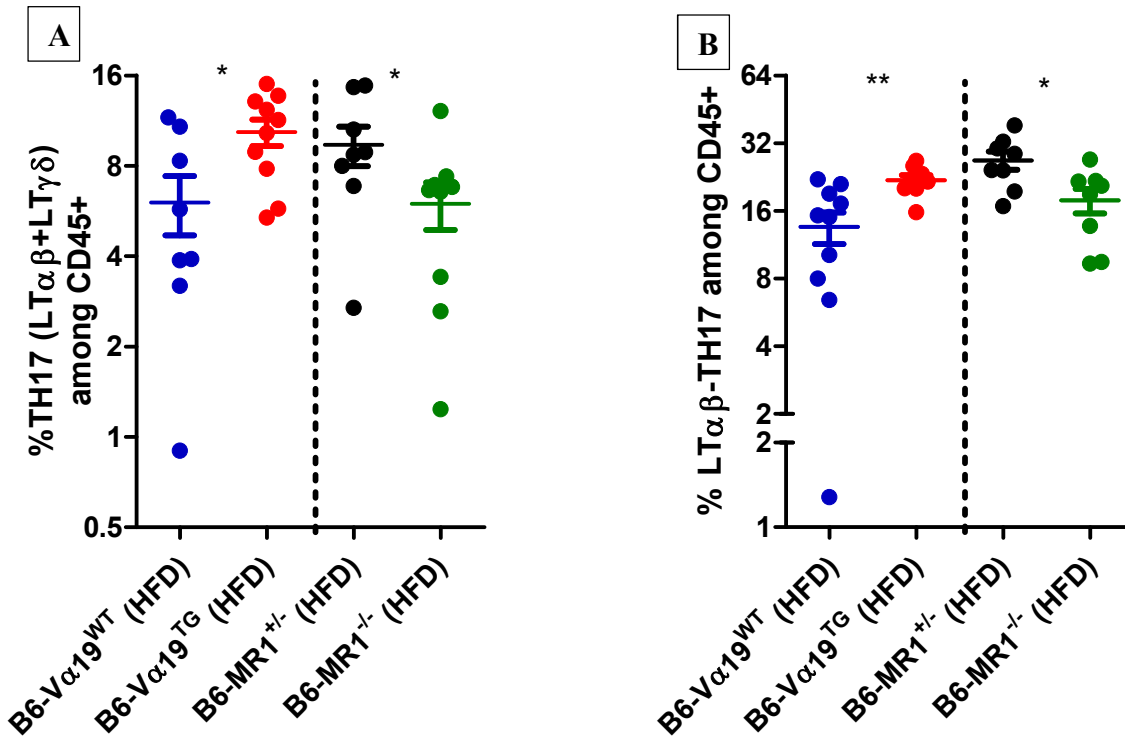
**Figure 4 : Les lymphocytes MAIT contribuent au contrôle de l'axe *Fucosyl-Transferase-2*/SFB.** (A) Dosage par qPCR de la quantité relative de SFB adhérant à la muqueuse épithéliale de l'iléon de souris B6-MR1<sup>-/-</sup> (n=7-8), B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup> (n=5) et leur contrôles littermate à l'état basal. (B) Mesure du niveau d'expression relative du gène *Fucosyl-Transferase-2* au niveau des cellules épithéliales l'iléon de souris B6-MR1<sup>-/-</sup> (n=7-8), B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup> (n=5) et leurs contrôles littermate à l'état basal. Un test statistique Mann Whitney a été réalisé, \* p<0.05, \*\* p<0.003, \*\*\* p<0.001.

SFB est impliqué dans le contrôle de l'homéostasie intestinale. Son effet est lié à la population des ILC3 productrice d'IL-22. Les ILC3 intestinales induisent la production de la *fucosyl transferase 2* (Fut-2), une enzyme responsable de la fucosylation des protéines exprimées à la surface épithéliale ; cette induction nécessite la production d'IL-23. Ce phénomène est important pour l'adhésion des SFB sur les entérocytes (Goto et al., 2014a). A l'image de SFB, l'expression de Fut-2 est diminuée dans les cellules épithéliales des souris B6-MR1<sup>-/-</sup> mais augmentée chez les souris B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup>, comparées aux groupes contrôles (**Figure 4B**). Etant donné que les MAIT ne sont pas en contact direct avec les cellules épithéliales (données non représentées), on suggère que les MAIT inhibent la prolifération/fonction des ILC3 pour induire une baisse de la production d'IL-22 intestinal. En effet, l'analyse du microenvironnement immunitaire intestinal de nos modèles murins montre que les MAIT induisent une baisse

considérable de la production d'IL-22 en parallèle d'une diminution de la fréquence des ILC3 (**Figure 6 et figure supplémentaire 5 de l'article**).

D'autre part, SFB peut être une source d'inflammation. SFB est un fort inducteur du développement de la réponse TH17 au niveau de l'iléon. On parle par conséquent de sous-population TH17 SFB-dépendante capable de reconnaître les antigènes de SFB. En absence de SFB, se développent des sous-populations TH17 intestinales SFB-indépendantes (Goto et al., 2014b). Toutefois, la relation entre les ILC3 et SFB semble être plus complexe. Les ILC3 sont importants dans le contrôle de l'inflammation intestinale (Goto et al., 2014b). Ils contrôlent le développement des TH17 intestinaux qui sont la source d'inflammation en cas de dérégulation (Hepworth et al., 2013). Les ILC3 inhibent la différenciation de TH17 par deux voies distinctes/complémentaires. D'une part, cette régulation fait appel au contrôle de la quantité de SFB (Qiu et al., 2013). La diminution de SFB intestinal réduit la différenciation SFB-dépendante en TH17. D'autre part, les ILC3 contrôlent la différenciation en TH17 *via* le CMH-II. Ainsi, les ILC3 CMH-II<sup>+</sup> régulent le développement des TH17 SFB-dépendants et SFB-indépendants qui sont une source d'inflammation (Goto et al., 2014b; Hepworth et al., 2015). En concordance avec les données de la littérature, nous observons que le changement de fréquence des ILC3 au niveau de l'iléon des souris B6-MR1<sup>-/-</sup> est inversement lié à la fréquence des TH17 (**Figure 5**). L'iléon des souris B6-MR1<sup>-/-</sup> est moins infiltré par les cellules TH17 (LTαβ-Rorγt<sup>+</sup> et LTγδ-Rorγt<sup>+</sup>). De plus, on observe que les LTαβ sont moins différenciés en TH17 au niveau de l'iléon des souris B6-MR1<sup>-/-</sup> comparés aux contrôles littermates (**Figure 5B**). Par contre nous observons l'effet inverse au niveau de l'iléon des souris V19α<sup>TG</sup> comparées aux contrôles (**Figure 5A**).

Afin de déterminer si la régulation de la réponse TH17 au niveau des souris B6-MR1<sup>-/-</sup> est due au microbiote intestinal ou à un effet direct des MAIT sur le microenvironnement immunitaire (i.e. les MAIT qui régulent les TH17 par l'intermédiaire des ILC3-CMH-II<sup>+</sup>), nous avons procédé à un transfert adoptif du microbiote intestinal vers des souris sauvages. Ce transfert nous montre que la régulation de la réponse TH17 chez les souris B6-MR1<sup>-/-</sup> (comparés aux contrôles littermate B6-MR1<sup>+/-</sup>) ne passe pas totalement par la flore intestinale car nous n'observons pas d'effet du microbiote sur l'induction du TH17 intestinal (données non présentées). Cependant, la flore intestinale était suffisante pour reproduire quelques modifications immunitaires observées chez les souris donneuses, notamment concernant l'accumulation des ILC3 au niveau de l'iléon des souris reconstituées avec la flore B6-MR1<sup>-/-</sup>.



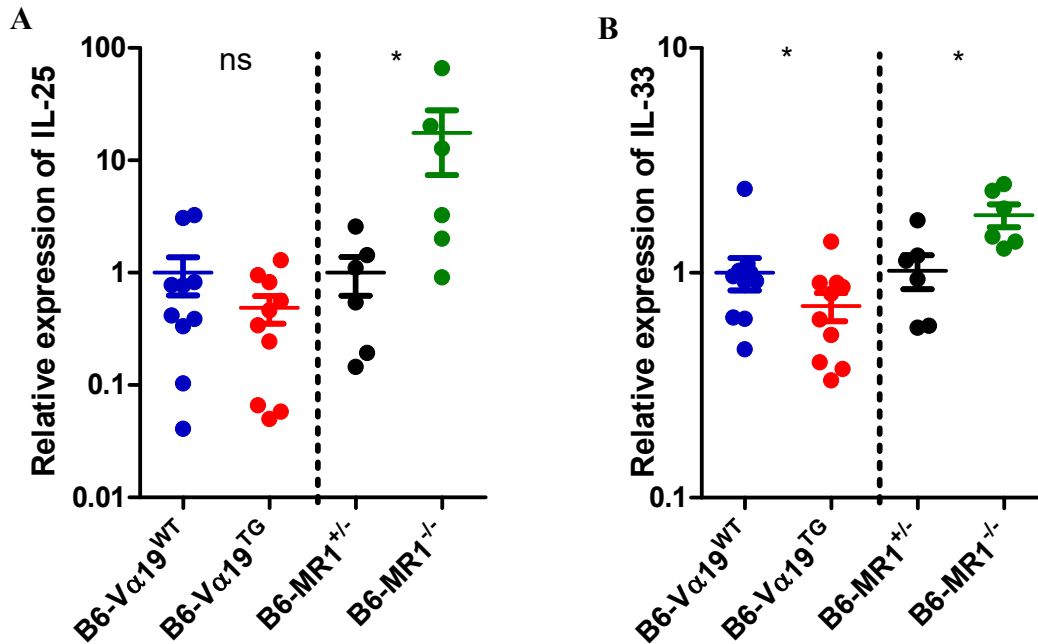
**Figure 5 : Les MAIT favorisent le développement des TH17 inflammatoires au niveau de l'iléon.** Analyse par cytométrie en flux de la fréquence de la population (A) TH17 totale ( $LT\alpha\beta$ -Roryt<sup>+</sup> +  $LT\gamma\delta$ -Roryt<sup>+</sup>) ou (B) TH17 appartenant aux  $LT\alpha\beta$  uniquement au niveau de l'iléon des souris  $B6-MR1^{-/-}$  (n=8-9),  $B6-V\alpha19^{TG}$  (n=8-10) et leur contrôles littermates à 12-16 semaines de HFD. Les fréquences sont représentées en fonction des cellules CD45<sup>+</sup>. Un test statistique Mann Whitney a été réalisé, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.003$ .

#### ❖ Une boucle microbiote-MAIT-épithélium dans la régulation des ILC en systémique ? :

Le développement et le maintien des ILC au niveau de l'intestin et en systémiques impliquent des facteurs tels que l'IL-25 et l'IL-33. Ces deux cytokines sont majoritairement produites par l'épithélium intestinal dont la fonction change selon l'état inflammatoire et la composition de la flore (Brestoff et al., 2015; Molofsky et al., 2013; von Moltke et al., 2015; Saenz et al., 2013). L'analyse de l'expression de l'IL-25 et de l'IL-33 par les cellules épithéliales de l'iléon montre que les entérocytes purifiés de l'iléon des souris  $B6-MR1^{-/-}$  expriment plus d'IL-25 et d'IL-33 comparés aux entérocytes des *littermate* contrôles (**Figure 6**). Inversement, les cellules épithéliales iléales des souris  $B6-V\alpha19^{TG}$  ont une expression significativement plus importante d'IL-33 (et une tendance vers la baisse de l'IL-25). La production plus importante d'IL-25 et

d'IL-33 (et inversement chez les B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup>) peut expliquer les niveaux d'infiltrat des ILC2 au niveau de l'iléon chez les souris B6-MR1<sup>-/-</sup> et niveau du TA.

Les ILC2 maintenues produisent plus de cytokines anti-inflammatoires (e.g. IL-5 et IL-13) seraient à l'origine du maintien des éosinophiles du TA des souris B6-MR1<sup>-/-</sup>. Ces éosinophiles,



**Figure 6 : Les lymphocytes MAIT modulent les fonctions cytokiniques de l'épithélium intestinal.** (A) Dosage par qPCR de la quantité relative d'expression de l'IL-25 (A) et de l'IL-33 (B) par les cellules épithéliales isolées de l'iléon de souris B6-MR1<sup>-/-</sup> (n=6), B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup> (n=10) et leur contrôles littermate à l'état basale. Un test statistique Mann Whitney a été réalisé, \* p<0.05, \*\* p<0.003, \*\*\* p<0.001.

sont par la suite impliqués dans le maintien des macrophages de type « M2 » à profil anti-inflammatoire (Molofsky et al., 2013; Wu et al., 2011a). Le phénomène inverse serait à l'origine des observations faites chez les souris B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup>. De façon intéressante, le transfert adoptif de la flore des souris B6-MR1<sup>-/-</sup> induit une surexpression de l'IL-25 et de l'IL-33 au niveau des entérocytes des souris receveuses (données non représentées). Cet effet serait à l'origine du maintien/développement des ILC2 au niveau de l'iléon et du TA chez les souris receveuses (les résultats concernant le transfert de flore de B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup> et leurs contrôles sont en cours de traitement). Par conséquent, on suppose qu'une partie de la régulation immunitaire induite par l'absence des MAIT (e.i. B6-MR1<sup>-/-</sup>) passe par la flore intestinale. Cependant, il est difficile de conclure quant au rôle exact des MAIT dans le contrôle du microbiote intestinal. Est-ce que les MAIT contrôlent directement la flore intestinale qui ensuite régule les autres paramètres immunitaires par l'intermédiaire, entre autres, de l'IL-25 et l'IL-33 ? Ou bien, les MAIT

contrôlent/régulent directement le microenvironnement immunitaire, induit une modification profonde de la composition du microbiote intestinal ? Nous avons observé que le transfert adoptif de la flore B6-MR1<sup>-/-</sup> régule en plus des ILC2 (via l'IL-25 et IL-33), les ILC3 et les LTreg de l'iléon. Ceci suggère qu'une grande partie de l'effet inflammatoire des MAIT (et par conséquent l'effet régulateur de leur absence) implique la flore intestinale.

En conclusion, l'inflammation intestinale due aux TH17 est liée à une flore intestinale pro-inflammatoire indépendamment de la présence ou de l'absence de SFB (Hepworth et al., 2013; Qiu et al., 2013). Par ailleurs, les MAIT peuvent inclure les lymphocytes TH17 SFB-indépendants ayant un rôle inflammatoire au niveau de l'intestin. En effet, SFB est incapable de produire de la riboflavine et donc incapable de produire le ligand des MAIT et d'être reconnue par cette population (Kawahara et al., 2011). L'absence des MAIT au niveau de l'iléon (e.i. chez les souris B6-MR1<sup>-/-</sup>) améliore significativement la fonction de l'intestin au cours de l'obésité. L'intégrité intestinale est plus importante et se traduit par une réduction de la perméabilité. Cet effet est lié à une réduction de l'inflammation, observée par la diminution du niveau d'expression des cytokines pro-inflammatoires et une augmentation du niveau d'expression des cytokines anti-inflammatoires. Au niveau cellulaire, nos données sont en accord avec l'état de l'art en termes de rôle homéostatique des ILC3. Ainsi, nous démontrons l'existence d'une corrélation négative entre les MAIT et les ILC3. Lors de l'obésité les souris B6-MR1<sup>-/-</sup> maintiennent une fréquence élevée en ILC3 au niveau de l'iléon. Chez ces souris, le rôle homéostatique des ILC3 peut être induit d'une part par le contrôle direct des TH17 (via le CMHII) ou indirectement le contrôle de la quantité du SFB (Goto et al., 2014b; Hepworth et al., 2013; Qiu et al., 2013). De plus, comme décrit précédemment, nous montrons qu'une partie du rôle homéostatique des ILC3 (et par opposition, le rôle délétère des MAIT) pourrait passer par le contrôle de la composition du microbiote. Ainsi, les souris B6-MR1<sup>-/-</sup> présentent une composition microbienne protectrice comparée aux souris B6-MR1<sup>+/-</sup>. Cependant, l'étude du modèle B6-Vα19<sup>TG</sup> (e.i. enrichie en MAIT) montre que l'effet délétère des MAIT peut être dû aux propriétés pro-inflammatoires de cette sous-population des TH17. Comparées à leurs contrôles *littermate*, les souris B6-Vα19<sup>TG</sup> ont une fonction intestinale défectueuse au cours de l'obésité. Ceci se traduit par une perméabilité augmentée due à une inflammation importante. Au niveau cellulaire, la population ILC3 est réduite au niveau de l'iléon de ces souris. Sans effet sur le taux du SFB adhérent, ni d'effet pathogène sur la composition du microbiote, il semblerait que les MAIT induisent directement l'inflammation *via* la production d'IL-17 et/ou le contrôle du développement/fonction des ILC3 chez les souris B6-Vα19<sup>TG</sup>. Les MAIT ont des propriétés physiologiques qui se rapprochent de celles des ILC3 et peuvent partager les mêmes



niches au niveau de l'iléon. La compétition entre les MAIT et les ILC3 autour des facteurs nécessaires à leur développement/maintien intestinal peut expliquer l'équilibre entre ces deux populations et donc l'équilibre précaire entre l'inflammation et l'homéostasie.

En plus de son effet sur les ILC3, la fréquence des MAIT influence plusieurs infiltrats immunitaires tels que les LTreg et ILC2 à la fois au niveau du TA et de l'iléon, ainsi que les cellules NK, LT-CD8, ILC2, éosinophiles et macrophages au niveau du TA. Les LTreg sont importants dans la tolérance immunitaire au niveau de ces deux tissus (Cipolletta et al., 2011; Deiluiis et al., 2011; Hadis et al., 2011). Au niveau du TA la fréquence de cette population (e.i. LTreg), ainsi que celle des ILC2 et des éosinophiles, est inversement corrélée aux paramètres inflammatoires et métaboliques de ce tissu (Deiluiis et al., 2011; Molofsky et al., 2013). Il est difficile de déterminer les interactions entre ces différentes sous-populations avec les MAIT. Toutefois, comme au niveau de l'intestin, nous supposons que les MAIT peuvent être en compétition, sur des niches immunitaires, avec les ILC2 du TA. De plus, au niveau du TA, les productions inflammatoires des MAIT peuvent contribuer au (1) recrutement des populations immunitaires inflammatoires (e.i. cellules NK, LT-CD8), (2) induire le profil pro-inflammatoire « M1 » chez les macrophages du TA et (3) compromettre le maintien/recrutement des populations régulatrices (e.i. LTreg, ILC2 et éosinophiles). L'analyse du niveau d'expression en surface de MR1 montre que seuls les macrophages présentent un niveau détectable de cette molécule. On suppose que l'effet des MAIT sur les autres populations immunitaires passe par l'intermédiaire des macrophages qui peuvent moduler les réponses immunitaires dont celle des LTreg (Raverdeau and Mills, 2014).

Par ailleurs, les deux études réalisées sur les MAIT de patients obèses et/ou diabétiques s'accordent sur le rôle potentiellement délétère des MAIT (via l'IL-17) au cours du développement du T2D (Carolan et al., 2015a; Magalhaes et al., 2015). Cependant, l'analyse de la fréquence des MAIT au niveau du TA des patients obèses et/ou diabétiques montre des résultats un peu différents. Si d'une part, dans notre laboratoire, nous observons que l'obésité n'a aucun effet sur la fréquence des MAIT du TA, le laboratoire du Dr O'shea montre que les MAIT de ce tissu diminuent de fréquence au cours de l'obésité. Il est difficile de donner des explications à cette différence, mais il est probable que certains paramètres comme la flore intestinale et/ou les origines ethniques soient importants dans le contrôle de la population des MAIT. En effet, des analyses de la flore bactériennes chez environ 40 donneurs montrent l'existence de ce qui est appelé « enterotype » ; à savoir des « cluster » bactériens présentant une signature bactérienne particulières et des fonctions métabolique partiellement moins différentes. Parmi les enterotypes décrit, il est intéressant de noter que l'enterotype (1) et (2)

sont caractérisés par une production importante de certaines vitamines dont la riboflavine. Il serait donc plus judicieux d'analyser la composition du microbiote intestinal en parallèle de l'étude des MAIT tissulaires ou circulants. Ceci nous permettrait d'étudier la corrélation entre le niveau de production de la riboflavine (à l'origine du ligand exogène des MAIT) et la fréquence/fonction des MAIT.

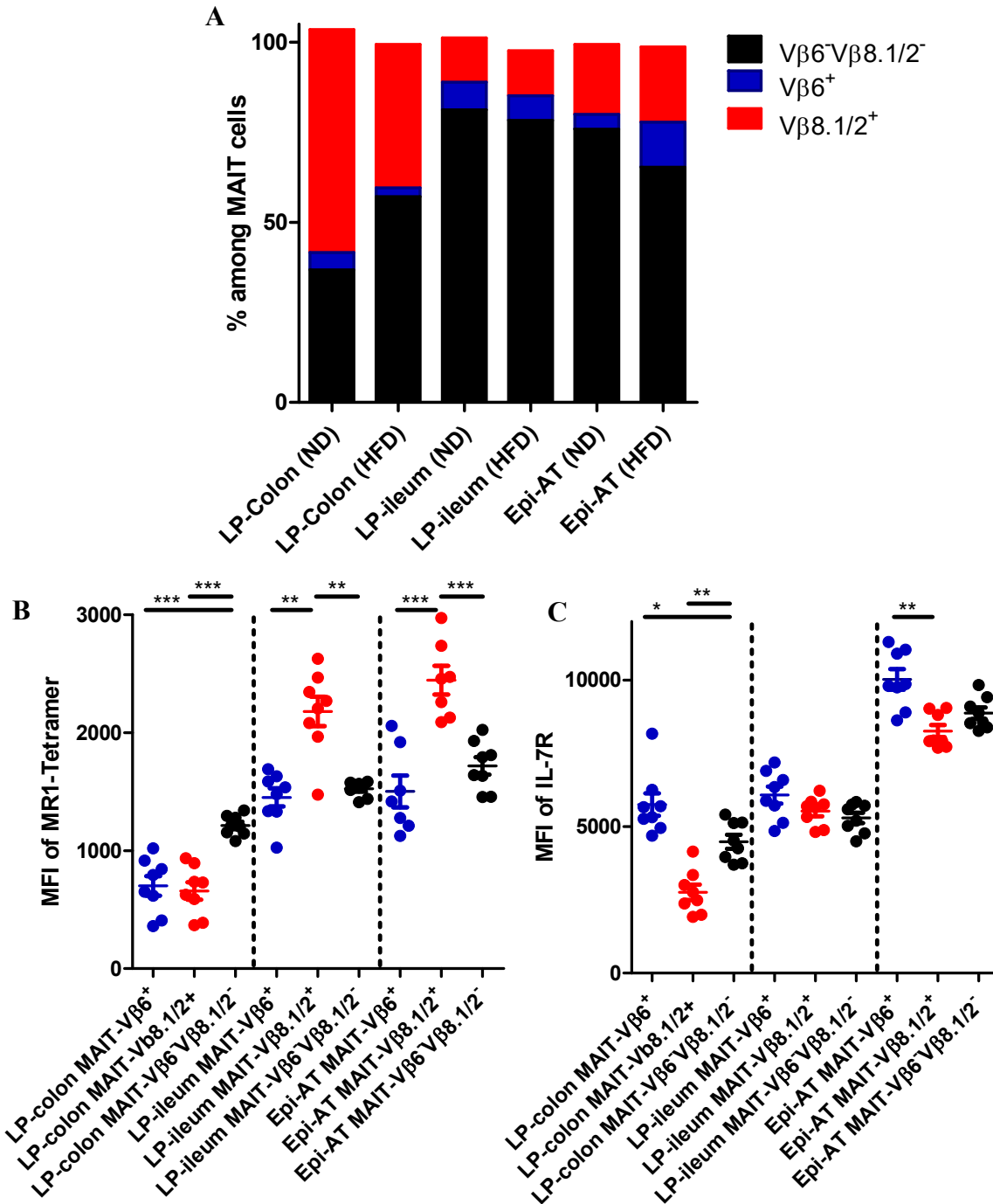
#### ❖ Y-a-t-il plusieurs sous-populations de MAIT ? :

Les données obtenues chez l'Homme suggèrent que les MAIT pourraient jouer un rôle délétère au cours de l'obésité. Le maintien d'un pool important de MAIT au niveau du TA des patients obèses et leur profil cytokinique pro-inflammatoire (majoritairement TH17) font des MAIT un élément supplémentaire parmi les facteurs immunitaires impliqués dans la « métainflammation » (Carolan et al., 2015a; Magalhaes et al., 2015).

Les MAIT, de par leur phénotype effecteur, sont au premier rang de la réponse immunitaire et déclenchent rapidement la modulation du système immunitaire tissulaire en cas d'inflammation (e.g. infection pulmonaire) (Chen et al., 2017; Meierovics and Cowley, 2016). *In vivo*, il a été montré que la fonction des MAIT était à la fois TCR-dépendante et TCR-indépendante. La réponse TCR-dépendante varie en fonction de la source antigénique et par conséquent pourrait affecter différentes sous-populations des MAIT, car les MAIT sont dotés de TCR dont l'affinité varie en fonction de leur sous-unité TCR $\beta$  qui les compose (Dias et al., 2017).

D'autre part, l'existence de plusieurs sous-populations, à propriétés physiologiques différentes, suppose que les MAIT présentent des modes d'accumulation différents selon les tissus. L'analyse partielle du répertoire TCR $\beta$  des MAIT montre que ce dernier est plus riche qu'initialement décrit. Certes, nous confirmons la prédominance du TCR $\beta_6$  TCR $\beta_{8.1/2}$  au niveau des MAIT du colon (jusqu'à 75% TCR $\beta_{8.1/2}^+$  et environ 8% TCR $\beta_6^+$ ) (Reantragoon et al., 2013). Toutefois, cette prédominance est perdue au niveau de l'iléon et du TA (les MAIT sont à 10% TCR $\beta_{8.1/2}^+$  et 10% TCR $\beta_6^+$  au niveau de l'iléon, puis à 10% TCR $\beta_{8.1/2}^+$  et 20% TCR $\beta_6^+$  au niveau du TA). Ainsi, comme cela est observé chez l'Homme, nous montrons que les MAIT chez les souris présentent un répertoire TCR $\beta$  variable selon la localisation tissulaire (**Figure 7A**). Par ailleurs, l'engagement spécifique du TCR des MAIT au complexe MR1-Ag conduit à une internalisation/recyclage du TCR (Dias et al., 2017). L'analyse du niveau d'expression du TCR à la surface des MAIT peut nous donner une idée sur l'affinité du TCR avec le complexe MR1-Ag selon les sous-populations des MAIT. Comparés aux MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$ , nous observons que le niveau d'expression du TCR (exprimé par la moyenne d'intensité de fluorescence du

marquage tétramère) est plus bas au niveau des MAIT-TCR $\beta_6^+$  et MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$  du TA et de l'iléon. Au niveau du colon, ce sont les populations MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$  et MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$  qui présentent le niveau le plus bas d'expression du TCR comparées à la population MAIT-TCR $\beta_6^+$  (il est intéressant de noter que le niveau d'expression du TCR est généralement plus bas au niveau du colon comparé au TA et à l'iléon).



**Figure 7 : Physiologie et distribution de différentes sous-populations de MAIT.** Analyse par cytométrie en flux de (A) la fréquence des sous-populations MAIT-TCR $\beta_6^+$ , MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$  et MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$  au niveau du TA, lamina propria du colon et lamina propria de l'ileum et de son évolution au cours de l'obésité. Analyse du niveau d'expression (MFI) du (B) TCR et de (C) l'IL-7R sur ces différentes sous-populations. Un test statistique Mann Whitney a été réalisé, \* p<0.05, \*\* p<0.003.

Ces observations suggèrent que les MAIT-TCR $\beta_6^+$  et MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$  ont une reconnaissance antigénique différente des MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$  et/ou que la distribution de l'Ag exogène varie selon les tissus (Figure 7B). Partant de cette hypothèse, nous avons analysé

l'effet de l'obésité sur la distribution de ces sous-populations des MAIT. L'obésité conduit à une augmentation de la proportion des MAIT-TCR $\beta_6^+$  (au dépend des MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$ ) au niveau du TA et à une diminution de la proportion des MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$  au niveau du colon. Nous n'observons, par contre, aucun changement au niveau de la proportion de ces différentes sous-populations de MAIT au niveau de l'iléon. Malheureusement, nous ne sommes pas en mesure de déterminer si ces modifications sont dues à une prolifération de la sous-population concernée par l'augmentation (e.i. MAIT-TCR $\beta_6^+$  du TA) ou bien à l'apoptose des autres sous-populations. Toutefois, nos données montrent que lors de l'obésité, les macrophages du TA augmentent l'expression en surface de MR1. L'engagement des MAIT, et plus précisément des MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$ , avec les macrophages à profil inflammatoire (e.i. profile de type M1 prédominant au cours de l'obésité) peut être le mécanisme qui conduit à la réponse inflammatoire de cette sous-population des MAIT suivi d'une apoptose. Par conséquent, on pourrait prétendre que la sous-population MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$  représente le premier intervenant dans le rôle inflammatoire des MAIT au cours de l'obésité. D'autre part, l'analyse du niveau d'expression du CD127 (e.i. IL-7R) montre que la sous-population MAIT-TCR $\beta_6^+$  présente le niveau d'expression le plus élevé comparée aux autres sous-populations (**Figure 7C**). L'IL-7 est une cytokine importante dans la prolifération et le maintien des LT (Tan et al., 2001). Le niveau d'expression élevé d'IL-7R au niveau des MAIT-TCR $\beta_6^+$  puis des MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$  leur confère un pouvoir de prolifération et/ou de survie plus important (notamment pour les MAIT-TCR $\beta_6^+$ ) et expliquer ainsi l'augmentation de la proportion de cette population au cours de l'obésité.

### **Perspectives :**

#### **❖ Pourquoi l'effet de l'obésité est différent entre le colon et l'iléon ? :**

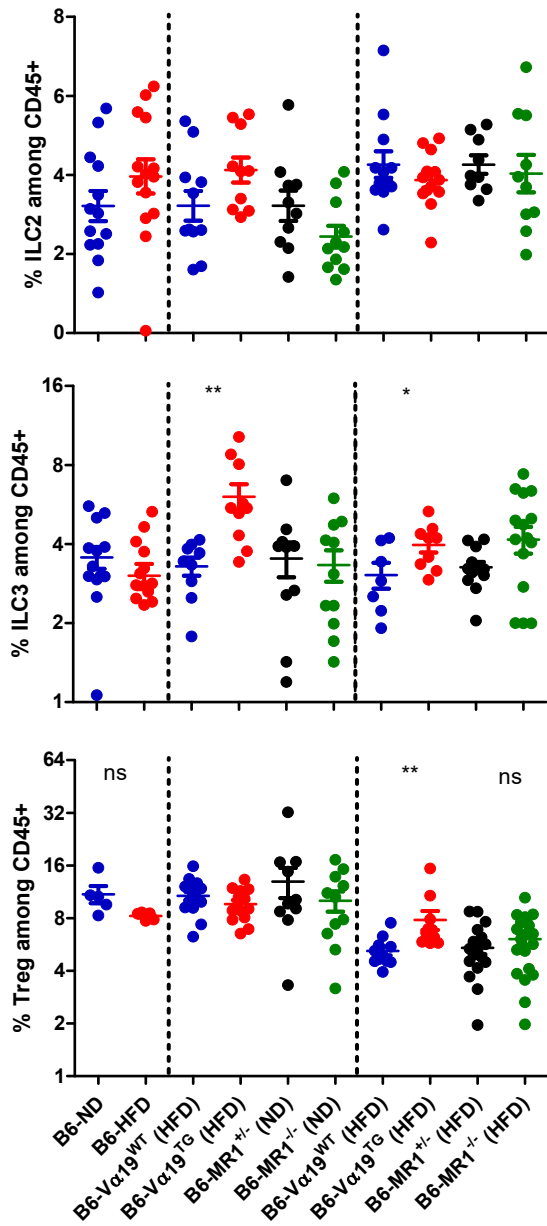
Une baisse de la quantité du ligand des MAIT pourrait expliquer, en partie, la diminution de la fréquence des MAIT entre les souris obèses et leurs contrôles. D'ailleurs, ceci pourrait expliquer l'effet différentiel du régime gras sur les MAIT de l'iléon et du colon. En plus des propriétés physiologiques différentes entre les MAIT de ces deux compartiments intestinaux, il semble que la « compartimentation » intestinale de la production du ligand des MAIT pourrait jouer un rôle dans cette différence « physiologique » entre les MAIT de l'iléon et du colon et par conséquent sur la baisse de la fréquence des MAIT au niveau de l'iléon et non au niveau du colon. Tout au long de l'intestin, le métabolisme bactérien change graduellement entre

l'estomac, l'intestin grêle, le caecum et le colon. Au niveau de l'intestin grêle (e.i. iléon) le métabolisme bactérien est orienté vers l'utilisation des carbohydrates simples (e.i. glycolyse) (Zoetendal et al., 2012). Cette glycolyse est à l'origine de produits tels que le glyoxal et le méthylglyoxal. Ces deux molécules sont impliquées dans la formation du ligand des MAIT (Corbett et al., 2014). Ainsi, à l'état basal, l'iléon serait un compartiment riche en ligand exogène des MAIT. La baisse de la production de ce ligand, au cours de l'obésité pourrait ainsi avoir un impact spécifiquement au niveau de l'iléon, en comparaison au colon.

De plus et, comme décrit précédemment, les MAIT de l'iléon expriment moins de CCR9 et de CD69 au cours de l'obésité. Un effet du CCR9 et/ou du CD69 sur la migration/maintien des MAIT au cours de l'obésité serait généralisé sur tous les compartiments intestinaux y compris le colon. Or nous n'observons pas de changement de la fréquence des MAIT au niveau du colon (et même au niveau du foie où le CCR9 est important dans la migration) entre les souris obèses et leurs contrôles.

#### ❖ Une sous-population MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$ à rôle régulateur au niveau du colon ? :

Le changement de la cinétique d'accumulation des MAIT au cours de l'obésité concerne uniquement le TA et l'iléon contrairement au colon. Cette observation confirme les particularités physiologiques des MAIT des différents tissus. Nous avons ainsi analysé l'effet de l'obésité sur le système immunitaire colique chez les souris B6-MR1<sup>-/-</sup> et B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup> (en comparaison avec leurs contrôles *littermate*). En effet, l'analyse de l'impact de la fréquence des MAIT sur l'inflammation de ce tissu peut nous donner une idée sur le rôle régulateur ou inflammatoire que pourrait jouer chaque sous-population des MAIT (e.i. MAIT-TCR $\beta_6^+$ , MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$  et MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$ ). Nous savons déjà que les MAIT du TA et de l'iléon (majoritairement MAIT-TCR $\beta_6^+$  et MAIT-TCR $\beta_6^-$ TCR $\beta_{8.1/2}^-$ ) jouent un rôle inflammatoire. Cet effet pathogène passe, entre autres, par la diminution de la fréquence des populations anti-inflammatoires contre une augmentation des populations inflammatoires. Toutefois, les analyses immunitaires au niveau du colon montrent que les MAIT de ce tissu, et donc la sous-population MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$ , pourrait jouer plutôt un rôle régulateur. En effet, lors de l'obésité le colon des souris B6-V $\alpha$ 19<sup>TG</sup> est plus riche en LTreg et en ILC3 (déjà enrichies à l'état basal) que leurs contrôles *littermate*. Nous n'observons cependant aucun effet de l'obésité sur ces sous-populations immunitaires au niveau du colon des souris B6-MR1<sup>-/-</sup>.



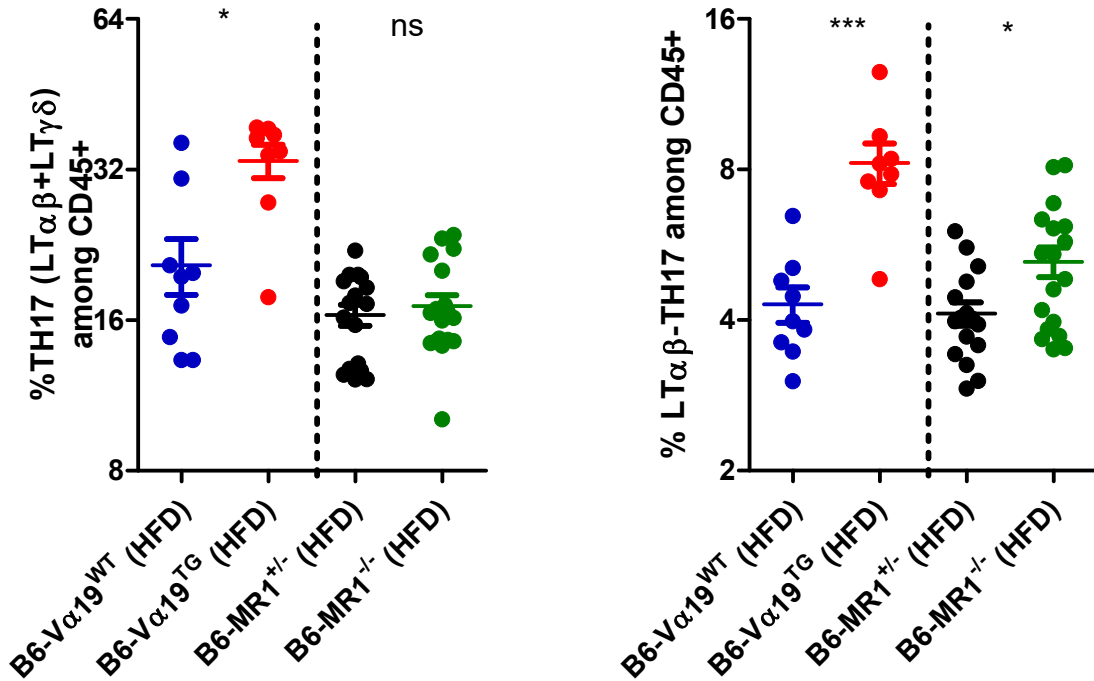
**Figure 8 : Rôle protecteur des MAIT du colon ?** Analyse par cytométrie en flux de la fréquence des cellules immunitaires (A) ILC2, (B) ILC3 et (C) LTreg au niveau de la lamina propria du colon chez les souris B6-MR1<sup>-/-</sup>, B6-Vα19<sup>TG</sup> et leurs contrôles littermate à l'état basal et en cours d'obésité. Les fréquences sont représentées en fonction des cellules CD45+ et des souris B6 sauvages sont utilisées comme références de l'effet de l'obésité sur le système immunitaire. Un test statistique Mann Whitney a été réalisé, \* p<0.05, \*\* p<0.003.

Par contre, on observe que l'environnement immunitaire colique B6-MR1<sup>-/-</sup> favorise le développement des LT $\alpha\beta$  vers un profil TH17 (comparé au *littermate* contrôles). Une observation à l'opposé de ce qu'on retrouve au niveau de l'iléon de ces même souris (**Figure 9 et 5**). Ces observations soutiennent l'hypothèse que la sous-population MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^+$ , retrouvée en grande fréquence au niveau du colon, possèdent des propriétés régulatrices anti-inflammatoires alors que les sous-populations MAIT-TCR $\beta_6^+$  et MAIT-TCR $\beta_6^-$  MAIT-TCR $\beta_{8.1/2}^-$  posséderaient plutôt des propriétés inflammatoires délétères au cours de l'obésité. Ces observations rappellent des travaux récents de L. Lynch et *al* qui montrent que les iNKT (une population dite « sœur » aux MAIT) peuvent présenter des sous-populations avec des rôles biologiques différents. Les iNKT du TA se distinguent particulièrement des iNKT du thymus et présentent des propriétés physiologiques et des fonctions régulatrices « propres » aux iNKT du TA. Il est intéressant de noter que ces iNKT perdent l'expression du facteur de transcription PLZF. Si ce phénomène est un palier à franchir dans l'acquisition des fonctions régulatrices par les LT dits « innés » (e.i. iNKT, MAIT et LT $\alpha\delta$ ) au niveau du TA, nos données qui montrent que les MAIT du TA sont majoritairement PLZF<sup>+</sup> et gèrerait sur leur rôle inflammatoire au niveau de ce tissu (Lynch et al., 2015b).

De façon intéressante, le transfert adoptif du microbiote intestinal de souris obèses, en comparaison aux contrôles, chez les souris sauvages montre que, contrairement au TA et à l'iléon, le colon présente la même fréquence de MAIT entre les deux conditions. Cette observation est une preuve supplémentaire qui confirme les différences physiologiques des MAIT du colon en comparaison aux TA et à l'iléon.

Il serait donc intéressant de purifier ces différentes sous-populations et d'analyser leurs fonctions régulatrice et/ou inflammatoire selon la localisation tissulaire et les conditions (HFD/ND).





**Figure 9 : Les TH17 inflammatoires au niveau du colon.** Analyse par cytométrie en flux de la fréquence de la population (A) TH17 totale (LTαβ-Rorγt<sup>+</sup> + LTγδ-Rorγt<sup>+</sup>) ou (B) TH17 appartenant aux LTαβ uniquement au niveau du colon des souris B6-MR1<sup>-/-</sup>, B6-Vα19<sup>TG</sup> et leur contrôles littermate en cours d'obésité. Les fréquences sont représentées en fonction du CD45. Un test statistique Mann Whitney a été réalisé, \* p<0.05, \*\* p<0.003.

## Bibliographie

- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K.M., Ganu, R., Petrosino, J., and Versalovic, J. (2014). The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Sci. Transl. Med.* *6*, 237ra65-237ra65.
- Abrahamsson, S.V., Angelini, D.F., Dubinsky, A.N., Morel, E., Oh, U., Jones, J.L., Carassiti, D., Reynolds, R., Salvetti, M., Calabresi, P.A., et al. (2013). Non-myeloablative autologous haematopoietic stem cell transplantation expands regulatory cells and depletes IL-17 producing mucosal-associated invariant T cells in multiple sclerosis. *Brain J. Neurol.* *136*, 2888–2903.
- Abreu, M.T. (2010). Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat. Rev. Immunol.* *10*, 131–144.
- Aldemir, H. (2008). Novel MHC class I-related molecule MR1 affects MHC class I expression in 293T cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *366*, 328–334.
- Allison, D.B., Fontaine, K.R., Manson, J.E., Stevens, J., and VanItallie, T.B. (1999). Annual Deaths Attributable to Obesity in the United States. *JAMA* *282*, 1530–1538.
- Al-Sadi, R.M., and Ma, T.Y. (2007). IL-1beta causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *178*, 4641–4649.
- Amar, J., Burcelin, R., Ruidavets, J.B., Cani, P.D., Fauvel, J., Alessi, M.C., Chamontin, B., and Ferrieres, J. (2008). Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.* *87*, 1219–1223.
- Anhe, F.F., Roy, D., Pilon, G., Dudonne, S., Matamoros, S., Varin, T.V., Garofalo, C., Moine, Q., Desjardins, Y., Levy, E., et al. (2015). A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice. *Gut* *64*, 872–883.
- Annibaldi, V., Ristori, G., Angelini, D.F., Serafini, B., Mechelli, R., Cannoni, S., Romano, S., Paolillo, A., Abderrahim, H., Diamantini, A., et al. (2011). CD161(high)CD8+T cells bear pathogenetic potential in multiple sclerosis. *Brain J. Neurol.* *134*, 542–554.
- Arkan, M.C., Hevener, A.L., Greten, F.R., Maeda, S., Li, Z.-W., Long, J.M., Wynshaw-Boris, A., Poli, G., Olefsky, J., and Karin, M. (2005). IKK- $\beta$  links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat. Med.* *11*, 191–198.
- Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., van der Veeke, J., deRoos, P., Liu, H., Cross, J.R., Pfeffer, K., Coffey, P.J., et al. (2013). Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature* *504*, 451–455.
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D.R., Fernandes, G.R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.-M., et al. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* *473*, 174–180.

- Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., Cheng, G., Yamasaki, S., Saito, T., Ohba, Y., et al. (2011). Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* *331*, 337–341.
- Atarashi, K., Tanoue, T., Ando, M., Kamada, N., Nagano, Y., Narushima, S., Suda, W., Imaoka, A., Setoyama, H., Nagamori, T., et al. (2015a). Th17 Cell Induction by Adhesion of Microbes to Intestinal Epithelial Cells. *Cell* *163*, 367–380.
- Atarashi, K., Tanoue, T., Ando, M., Kamada, N., Nagano, Y., Narushima, S., Suda, W., Imaoka, A., Setoyama, H., Nagamori, T., et al. (2015b). Th17 Cell Induction by Adhesion of Microbes to Intestinal Epithelial Cells. *Cell*.
- Atarashi, K., Tanoue, T., Ando, M., Kamada, N., Nagano, Y., Narushima, S., Suda, W., Imaoka, A., Setoyama, H., Nagamori, T., et al. Th17 Cell Induction by Adhesion of Microbes to Intestinal Epithelial Cells. *Cell*.
- Athanasou, N.A., and Quinn, J. (1990). Immunophenotypic differences between osteoclasts and macrophage polykaryons: immunohistological distinction and implications for osteoclast ontogeny and function. *J. Clin. Pathol.* *43*, 997–1003.
- Attie, A.D., and Scherer, P.E. (2009). Adipocyte metabolism and obesity. *J. Lipid Res.* *50 Suppl*, S395-399.
- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L.V., Koh, G.Y., Nagy, A., Semenkovich, C.F., and Gordon, J.I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *101*, 15718–15723.
- Backhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L.V., Koh, G.Y., Nagy, A., Semenkovich, C.F., and Gordon, J.I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *101*, 15718–15723.
- Baker, R.G., Hayden, M.S., and Ghosh, S. (2011). NF- $\kappa$ B, inflammation, and metabolic disease. *Cell Metab.* *13*, 11–22.
- Balmer, M.L., Slack, E., de Gottardi, A., Lawson, M.A.E., Hapfelmeier, S., Miele, L., Grieco, A., Van Vlierberghe, H., Fahrner, R., Patuto, N., et al. (2014). The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its gut commensal microbiota. *Sci. Transl. Med.* *6*, 237ra66.
- Bapat, S.P., Myoung Suh, J., Fang, S., Liu, S., Zhang, Y., Cheng, A., Zhou, C., Liang, Y., LeBlanc, M., Liddle, C., et al. (2015). Depletion of fat-resident Treg cells prevents age-associated insulin resistance. *Nature* *528*, 137–141.
- Baughn, A.D., and Malamy, M.H. (2004). The strict anaerobe *Bacteroides fragilis* grows in and benefits from nanomolar concentrations of oxygen. *Nature* *427*, 441–444.
- Bendelac, A., Lantz, O., Quimby, M.E., Yewdell, J.W., Bennink, J.R., and Brutkiewicz, R.R. (1995). CD1 recognition by mouse NK1+ T lymphocytes. *Science* *268*, 863–865.
- Bendelac, A., Rivera, M.N., Park, S.-H., and Roark, J.H. (1997). MOUSE CD1-SPECIFIC NK1 T CELLS: Development, Specificity, and Function. *Annu. Rev. Immunol.* *15*, 535–562.

- Bendelac, A., Bonneville, M., and Kearney, J.F. (2001). Autoreactivity by design: Innate B and T lymphocytes. *Nat. Rev. Immunol.* *1*, 177–186.
- Berry, D., Stecher, B., Schintlmeister, A., Reichert, J., Brugiroux, S., Wild, B., Wanek, W., Richter, A., Rauch, I., Decker, T., et al. (2013). Host-compound foraging by intestinal microbiota revealed by single-cell stable isotope probing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *110*, 4720–4725.
- Bertola, A., Ciucci, T., Rousseau, D., Bourlier, V., Duffaut, C., Bonnafous, S., Blin-Wakkach, C., Anty, R., Iannelli, A., Gugenheim, J., et al. (2012). Identification of adipose tissue dendritic cells correlated with obesity-associated insulin-resistance and inducing Th17 responses in mice and patients. *Diabetes* *61*, 2238–2247.
- Bevins, C.L., and Salzman, N.H. (2011). Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nat. Rev. Microbiol.* *9*, 356–368.
- Bhupathiraju, S.N., and Hu, F.B. (2016). Epidemiology of Obesity and Diabetes and Their Cardiovascular Complications. *Circ. Res.* *118*, 1723–1735.
- Bianchini, E., De Biasi, S., Simone, A.M., Ferraro, D., Sola, P., Cossarizza, A., and Pinti, M. (2017). Invariant natural killer T cells and mucosal-associated invariant T cells in multiple sclerosis. *Immunol. Lett.* *183*, 1–7.
- Biasucci, G., Benenati, B., Morelli, L., Bessi, E., and Boehm, G. (2008). Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *J. Nutr.* *138*, 1796S–1800S.
- Billerbeck, E., Kang, Y.-H., Walker, L., Lockstone, H., Grafmueller, S., Fleming, V., Flint, J., Willberg, C.B., Bengsch, B., Seigel, B., et al. (2010). Analysis of CD161 expression on human CD8<sup>+</sup> T cells defines a distinct functional subset with tissue-homing properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *107*, 3006–3011.
- Birchenough, G.M.H., Nyström, E.E.L., Johansson, M.E.V., and Hansson, G.C. (2016). A sentinel goblet cell guards the colonic crypt by triggering Nlrp6-dependent Muc2 secretion. *Science* *352*, 1535–1542.
- Bjarnason, I., Macpherson, A., and Hollander, D. (1995). Intestinal Permeability - an Overview. *Gastroenterology* *108*, 1566–1581.
- Bjørke-Monsen, A.-L., Ulvik, A., Nilsen, R.M., Midttun, Ø., Roth, C., Magnus, P., Stoltenberg, C., Vollset, S.E., Reichborn-Kjennerud, T., and Ueland, P.M. (2016). Impact of Pre-Pregnancy BMI on B Vitamin and Inflammatory Status in Early Pregnancy: An Observational Cohort Study. *Nutrients* *8*.
- Bogdanovic, E., Kraus, N., Patsouris, D., Diao, L., Wang, V., Abdullahi, A., and Jeschke, M.G. (2015). Endoplasmic reticulum stress in adipose tissue augments lipolysis. *J. Cell. Mol. Med.* *19*, 82–91.
- Bourhis, L.L., Dusseaux, M., Bohineust, A., Bessoles, S., Martin, E., Premel, V., Coré, M., Sleurs, D., Serriari, N.-E., Treiner, E., et al. (2013). MAIT Cells Detect and Efficiently Lyse Bacterially-Infected Epithelial Cells. *PLoS Pathog.* *9*.

- Bouskra, D., Brézillon, C., Bérard, M., Werts, C., Varona, R., Boneca, I.G., and Eberl, G. (2008). Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature* *456*, 507–510.
- Brahimi-Horn, M.C., and Pouyssegur, J. (2007). Oxygen, a source of life and stress. *FEBS Lett.* *581*, 3582–3591.
- Brahimi-Horn, M.C., Chiche, J., and Pouyssegur, J. (2007). Hypoxia and cancer. *J. Mol. Med. Berl. Ger.* *85*, 1301–1307.
- Brenchley, J.M., Price, D.A., Schacker, T.W., Asher, T.E., Silvestri, G., Rao, S., Kazzaz, Z., Bornstein, E., Lambotte, O., Altmann, D., et al. (2006). Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat. Med.* *12*, 1365–1371.
- Brestoff, J.R., Kim, B.S., Saenz, S.A., Stine, R.R., Monticelli, L.A., Sonnenberg, G.F., Thome, J.J., Farber, D.L., Lutfy, K., Seale, P., et al. (2015). Group 2 innate lymphoid cells promote beiging of white adipose tissue and limit obesity. *Nature* *519*, 242–246.
- Bruce, D., and Cantorna, M.T. (2011). Intrinsic requirement for the vitamin D receptor in the development of CD8 $\alpha$ -expressing T cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *186*, 2819–2825.
- Caesar, R., Tremaroli, V., Kovatcheva-Datchary, P., Cani, P.D., and Bäckhed, F. (2015). Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. *Cell Metab.* *22*, 658–668.
- Calder, P.C., Ahluwalia, N., Brouns, F., Buetler, T., Clement, K., Cunningham, K., Esposito, K., Jönsson, L.S., Kolb, H., Lansink, M., et al. (2011). Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br. J. Nutr.* *106 Suppl 3*, S5-78.
- Camilleri, M. (2015). Peripheral mechanisms in appetite regulation. *Gastroenterology* *148*, 1219–1233.
- Canello, R., Henegar, C., Viguerie, N., Taleb, S., Poitou, C., Rouault, C., Coupaye, M., Pelloux, V., Hugol, D., Bouillot, J.-L., et al. (2005). Reduction of Macrophage Infiltration and Chemoattractant Gene Expression Changes in White Adipose Tissue of Morbidly Obese Subjects After Surgery-Induced Weight Loss. *Diabetes* *54*, 2277–2286.
- Canello, R., Tordjman, J., Poitou, C., Guilhem, G., Bouillot, J.L., Hugol, D., Coussieu, C., Basdevant, A., Hen, A.B., Bedossa, P., et al. (2006). Increased Infiltration of Macrophages in Omental Adipose Tissue Is Associated With Marked Hepatic Lesions in Morbid Human Obesity. *Diabetes* *55*, 1554–1561.
- Cani, P.D., Amar, J., Iglesias, M.A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A.M., Fava, F., Tuohy, K.M., Chabo, C., et al. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* *56*, 1761–1772.
- Cani, P.D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A.M., Delzenne, N.M., and Burcelin, R. (2008). Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes* *57*, 1470–1481.

- Cannon, B., and Nedergaard, J. (2004). Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol. Rev.* *84*, 277–359.
- Cao, H. (2014). Adipocytokines in Obesity and Metabolic Disease. *J. Endocrinol.* *220*, T47.
- Carey, A.L., Steinberg, G.R., Macaulay, S.L., Thomas, W.G., Holmes, A.G., Ramm, G., Prelovsek, O., Hohnen-Behrens, C., Watt, M.J., James, D.E., et al. (2006). Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase. *Diabetes* *55*, 2688–2697.
- Carolan, E., Tobin, L.M., Mangan, B.A., Corrigan, M., Gaoatswe, G., Byrne, G., Geoghegan, J., Cody, D., O’Connell, J., Winter, D.C., et al. (2015a). Altered Distribution and Increased IL-17 Production by Mucosal-Associated Invariant T Cells in Adult and Childhood Obesity. *J. Immunol.* 1402945.
- Carolan, E., Tobin, L.M., Mangan, B.A., Corrigan, M., Gaoatswe, G., Byrne, G., Geoghegan, J., Cody, D., O’Connell, J., Winter, D.C., et al. (2015b). Altered Distribution and Increased IL-17 Production by Mucosal-Associated Invariant T Cells in Adult and Childhood Obesity. *J. Immunol.* *194*, 5775–5780.
- Caselli, M., Tosini, D., Gafà, R., Gasbarrini, A., and Lanza, G. (2013). Segmented filamentous bacteria-like organisms in histological slides of ileo-cecal valves in patients with ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol.* *108*, 860–861.
- Cash, H.L., Whitham, C.V., Behrendt, C.L., and Hooper, L.V. (2006). Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science* *313*, 1126–1130.
- Cavallari, J.F., Denou, E., Foley, K.P., Khan, W.I., and Schertzer, J.D. (2016). Different Th17 immunity in gut, liver, and adipose tissues during obesity: the role of diet, genetics, and microbes. *Gut Microbes* *7*, 82–89.
- Chandra, S., and Kronenberg, M. (2015). Activation and Function of iNKT and MAIT Cells. *Adv. Immunol.* *127*, 145–201.
- Chang, J.-H., Cha, H.-R., Lee, D.-S., Seo, K.Y., and Kweon, M.-N. (2010). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Inhibits the Differentiation and Migration of TH17 Cells to Protect against Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *PLoS ONE* *5*.
- Chang, Y.-J., Kim, H.Y., Albacker, L.A., Baumgarth, N., McKenzie, A.N.J., Smith, D.E., Dekruyff, R.H., and Umetsu, D.T. (2011). Innate lymphoid cells mediate influenza-induced airway hyper-reactivity independently of adaptive immunity. *Nat. Immunol.* *12*, 631–638.
- Chavey, C., Lazennec, G., Lagarrigue, S., Clapé, C., Iankova, I., Teyssier, J., Annicotte, J.-S., Schmidt, J., Matak, C., Yamamoto, H., et al. (2009). CXC ligand 5 is an adipose-tissue derived factor that links obesity to insulin resistance. *Cell Metab.* *9*, 339–349.
- Chea, S., Possot, C., Perchet, T., Petit, M., Cumano, A., and Golub, R. (2015). CXCR6 Expression Is Important for Retention and Circulation of ILC Precursors. *Mediators Inflamm.* *2015*.
- Chen, V.L., and Kasper, D.L. (2014). Interactions between the intestinal microbiota and innate lymphoid cells. *Gut Microbes* *5*, 129.

- Chen, B., Lam, K.S.L., Wang, Y., Wu, D., Lam, M.C., Shen, J., Wong, L., Hoo, R.L.C., Zhang, J., and Xu, A. (2006). Hypoxia dysregulates the production of adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 independent of reactive oxygen species in adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *341*, 549–556.
- Chen, M.F., Jan, Y.Y., Lee, T.Y., and Hung, C.F. (1987). Percutaneous transhepatic management of complicated intrahepatic ducts stones. *Chang. Yi Xue Za Zhi* *10*, 58–63.
- Chen, Y., Green, S.R., Ho, J., Li, A., Almazan, F., and Quehenberger, O. (2005). The mouse CCR2 gene is regulated by two promoters that are responsive to plasma cholesterol and peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *332*, 188–193.
- Chen, Z., Wang, H., D'Souza, C., Sun, S., Kostenko, L., Eckle, S.B.G., Meehan, B.S., Jackson, D.C., Strugnell, R.A., Cao, H., et al. (2017). Mucosal-associated invariant T-cell activation and accumulation after in vivo infection depends on microbial riboflavin synthesis and co-stimulatory signals. *Mucosal Immunol.* *10*, 58–68.
- Chiang, S.-H., Bazuine, M., Lumeng, C.N., Geletka, L.M., Mowers, J., White, N.M., Ma, J.-T., Zhou, J., Qi, N., Westcott, D., et al. (2009). The protein kinase IKKepsilon regulates energy balance in obese mice. *Cell* *138*, 961–975.
- Chu, W.-M. (2013). Tumor necrosis factor. *Cancer Lett.* *328*, 222–225.
- Chua, W.-J., Kim, S., Myers, N., Huang, S., Yu, L., Fremont, D.H., Diamond, M.S., and Hansen, T.H. (2011). Endogenous MHC-Related Protein 1 Is Transiently Expressed on the Plasma Membrane in a Conformation That Activates Mucosal-Associated Invariant T Cells. *J. Immunol.* *186*, 4744–4750.
- Chua, W.-J., Truscott, S.M., Eickhoff, C.S., Blazevic, A., Hoft, D.F., and Hansen, T.H. (2012). Polyclonal mucosa-associated invariant T cells have unique innate functions in bacterial infection. *Infect. Immun.* *80*, 3256–3267.
- Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., Wang, S., Fortier, M., Greenberg, A.S., and Obin, M.S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* *46*, 2347–2355.
- Cipolletta, D., Kolodin, D., Benoist, C., and Mathis, D. (2011). Tissue-resident T(regs): a unique population of adipose-tissue-resident Foxp3+CD4+ T cells that impacts organismal metabolism. *Semin. Immunol.* *23*, 431–437.
- Clément, K., Viguerie, N., Poitou, C., Carette, C., Pelloux, V., Curat, C.A., Sicard, A., Rome, S., Benis, A., Zucker, J.-D., et al. (2004). Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *FASEB J.* *18*, 1657–1669.
- Codarri, L., Gyölvézi, G., Tosevski, V., Hesske, L., Fontana, A., Magnenat, L., Suter, T., and Becher, B. (2011). ROR $\gamma$ t drives production of the cytokine GM-CSF in helper T cells, which is essential for the effector phase of autoimmune neuroinflammation. *Nat. Immunol.* *12*, 560–567.

- Coenen, K.R., Gruen, M.L., Lee-Young, R.S., Puglisi, M.J., Wasserman, D.H., and Hasty, A.H. (2009). Impact of macrophage toll-like receptor 4 deficiency on macrophage infiltration into adipose tissue and the artery wall in mice. *Diabetologia* 52, 318–328.
- Collins, J.M., Neville, M.J., Pinnick, K.E., Hodson, L., Ruyter, B., van Dijk, T.H., Reijngoud, D.-J., Fielding, M.D., and Frayn, K.N. (2011). De novo lipogenesis in the differentiating human adipocyte can provide all fatty acids necessary for maturation. *J. Lipid Res.* 52, 1683–1692.
- Corbett, A.J., Eckle, S.B.G., Birkinshaw, R.W., Liu, L., Patel, O., Mahony, J., Chen, Z., Reantragoon, R., Meehan, B., Cao, H., et al. (2014). T-cell activation by transitory neo-antigens derived from distinct microbial pathways. *Nature* 509, 361–365.
- Cornier, M.-A., Marshall, J.A., Hill, J.O., Maahs, D.M., and Eckel, R.H. (2011). Prevention of overweight/obesity as a strategy to optimize cardiovascular health. *Circulation* 124, 840–850.
- Cottam, D.R., Mattar, S.G., Barinas-Mitchell, E., Eid, G., Kuller, L., Kelley, D.E., and Schauer, P.R. (2004). The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss. *Obes. Surg.* 14, 589–600.
- Cousin, B., Cinti, S., Morroni, M., Raimbault, S., Ricquier, D., Pénicaud, L., and Casteilla, L. (1992). Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *J. Cell Sci.* 103 (Pt 4), 931–942.
- Cox, A.J., West, N.P., and Cripps, A.W. (2015). Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 3, 207–215.
- Cox, L.M., Yamanishi, S., Sohn, J., Alekseyenko, A.V., Leung, J.M., Cho, I., Kim, S.G., Li, H., Gao, Z., Mahana, D., et al. (2014). Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell* 158, 705–721.
- Coyne, M.J., Reinap, B., Lee, M.M., and Comstock, L.E. (2005). Human symbionts use a host-like pathway for surface fucosylation. *Science* 307, 1778–1781.
- Croxford, J.L., Miyake, S., Huang, Y.-Y., Shimamura, M., and Yamamura, T. (2006). Invariant V(alpha)19i T cells regulate autoimmune inflammation. *Nat. Immunol.* 7, 987–994.
- Cui, G., Qin, X., Wu, L., Zhang, Y., Sheng, X., Yu, Q., Sheng, H., Xi, B., Zhang, J.Z., and Zang, Y.Q. (2011). Liver X receptor (LXR) mediates negative regulation of mouse and human Th17 differentiation. *J. Clin. Invest.* 121, 658–670.
- Cullen, T.W., Schofield, W.B., Barry, N.A., Putnam, E.E., Rundell, E.A., Trent, M.S., Degan, P.H., Booth, C.J., Yu, H., and Goodman, A.L. (2015). Gut microbiota. Antimicrobial peptide resistance mediates resilience of prominent gut commensals during inflammation. *Science* 347, 170–175.
- Cummings, J., and Macfarlane, G. (1991). The Control and Consequences of Bacterial Fermentation in the Human Colon. *J. Appl. Bacteriol.* 70, 443–459.



- Curat, C.A., Miranville, A., Sengenès, C., Diehl, M., Tonus, C., Busse, R., and Bouloumié, A. (2004). From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes* 53, 1285–1292.
- Daniel, H., Moghaddas Gholami, A., Berry, D., Desmarchelier, C., Hahne, H., Loh, G., Mondot, S., Lepage, P., Rothballer, M., Walker, A., et al. (2014). High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice. *ISME J.* 8, 295–308.
- Das, R., Sant'Angelo, D.B., and Nichols, K.E. (2010). Transcriptional control of invariant NKT cell development. *Immunol. Rev.* 238, 195–215.
- Davis, C.P., and Savage, D.C. (1974). Habitat, succession, attachment, and morphology of segmented, filamentous microbes indigenous to the murine gastrointestinal tract. *Infect. Immun.* 10, 948–956.
- Davis, B.K., Wen, H., and Ting, J.P.-Y. (2011). The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. *Annu. Rev. Immunol.* 29, 707–735.
- Davis, C.P., Mulcahy, D., Takeuchi, A., and Savage, D.C. (1972). Location and description of spiral-shaped microorganisms in the normal rat cecum. *Infect. Immun.* 6, 184–192.
- Davis, J.E., Gabler, N.K., Walker-Daniels, J., and Spurlock, M.E. (2008). Tlr-4 deficiency selectively protects against obesity induced by diets high in saturated fat. *Obes. Silver Spring Md* 16, 1248–1255.
- Davoine, F., and Lacy, P. (2014). Eosinophil Cytokines, Chemokines, and Growth Factors: Emerging Roles in Immunity. *Front. Immunol.* 5.
- De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Goncalves, D., Vinera, J., Zitoun, C., Duchamp, A., Bäckhed, F., and Mithieux, G. (2014). Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell* 156, 84–96.
- Deiuliis, J., Shah, Z., Shah, N., Needleman, B., Mikami, D., Narula, V., Perry, K., Hazey, J., Kampfrath, T., Kollengode, M., et al. (2011). Visceral adipose inflammation in obesity is associated with critical alterations in tregulatory cell numbers. *PloS One* 6, e16376.
- Deng, Y., and Scherer, P.E. (2010). Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1212, E1–E19.
- Deng, T., Lyon, C.J., Bergin, S., Caligiuri, M.A., and Hsueh, W.A. (2016). Obesity, Inflammation, and Cancer. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 11, 421–449.
- Derrien, M., Vaughan, E.E., Plugge, C.M., and de Vos, W.M. (2004). *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 1469–1476.
- Després, J.-P., and Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 444, 881–887.
- Dethlefsen, L., and Relman, D.A. (2011). Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108 Suppl 1, 4554–4561.

- Dethlefsen, L., Eckburg, P.B., Bik, E.M., and Relman, D.A. (2006). Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends Ecol. Evol.* *21*, 517–523.
- Dias, J., Leeansyah, E., and Sandberg, J.K. (2017). Multiple layers of heterogeneity and subset diversity in human MAIT cell responses to distinct microorganisms and to innate cytokines. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *114*, E5434–E5443.
- Ding, S., Chi, M.M., Scull, B.P., Rigby, R., Schwerbrock, N.M.J., Magness, S., Jobin, C., and Lund, P.K. (2010). High-fat diet: bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. *PLoS One* *5*, e12191.
- Dominguez-Bello, M.G., Costello, E.K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., and Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *107*, 11971–11975.
- Donaldson, G.P., Lee, S.M., and Mazmanian, S.K. (2016). Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.* *14*, 20.
- Duffaut, C., Galitzky, J., Lafontan, M., and Bouloumié, A. (2009). Unexpected trafficking of immune cells within the adipose tissue during the onset of obesity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *384*, 482–485.
- Duncan, S.H., Louis, P., and Flint, H.J. (2007). Cultivable bacterial diversity from the human colon. *Lett. Appl. Microbiol.* *44*, 343–350.
- Duncan, S.H., Lopley, G.E., Holtrop, G., Ince, J., Johnstone, A.M., Louis, P., and Flint, H.J. (2008). Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int. J. Obes.* *32*, 1720–1724.
- Dusseaux, M., Martin, E., Serriari, N., Péguillet, I., Premel, V., Louis, D., Milder, M., Bourhis, L.L., Soudais, C., Treiner, E., et al. (2011). Human MAIT cells are xenobiotic-resistant, tissue-targeted, CD161hi IL-17-secreting T cells. *Blood* *117*, 1250–1259.
- Duvallet, E., Semerano, L., Assier, E., Falgarone, G., and Boissier, M.-C. (2011). Interleukin-23: a key cytokine in inflammatory diseases. *Ann. Med.* *43*, 503–511.
- Eberl, G., and Littman, D.R. (2004). Thymic origin of intestinal alphabeta T cells revealed by fate mapping of ROR $\gamma$ mat<sup>+</sup> cells. *Science* *305*, 248–251.
- Eberl, G., Marmon, S., Sunshine, M.-J., Rennert, P.D., Choi, Y., and Littman, D.R. (2004). An essential function for the nuclear receptor ROR $\gamma$ (t) in the generation of fetal lymphoid tissue inducer cells. *Nat. Immunol.* *5*, 64–73.
- Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S.R., Nelson, K.E., and Relman, D.A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* *308*, 1635–1638.
- Eckle, S.B.G., Birkinshaw, R.W., Kostenko, L., Corbett, A.J., McWilliam, H.E.G., Reantragoon, R., Chen, Z., Gherardin, N.A., Beddoe, T., Liu, L., et al. (2014). A molecular basis underpinning the T cell receptor heterogeneity of mucosal-associated invariant T cells. *J. Exp. Med.* *211*, 1585.

- Eckle, S.B.G., Corbett, A.J., Keller, A.N., Chen, Z., Godfrey, D.I., Liu, L., Mak, J.Y.W., Fairlie, D.P., Rossjohn, J., and McCluskey, J. (2015). Recognition of Vitamin B Precursors and Byproducts by Mucosal Associated Invariant T Cells. *J. Biol. Chem.* *290*, 30204–30211.
- Endo, Y., Asou, H.K., Matsugae, N., Hirahara, K., Shinoda, K., Tumes, D.J., Tokuyama, H., Yokote, K., and Nakayama, T. (2015). Obesity Drives Th17 Cell Differentiation by Inducing the Lipid Metabolic Kinase, ACC1. *Cell Rep.* *12*, 1042–1055.
- Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J.P., Druart, C., Bindels, L.B., Guiot, Y., Derrien, M., Muccioli, G.G., Delzenne, N.M., et al. (2013). Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *110*, 9066–9071.
- Everard, A., Geurts, L., Caesar, R., Van Hul, M., Matamoros, S., Duparc, T., Denis, R.G.P., Cochez, P., Pierard, F., Castel, J., et al. (2014). Intestinal epithelial MyD88 is a sensor switching host metabolism towards obesity according to nutritional status. *Nat. Commun.* *5*, 5648.
- Fain, J.N. (2006). Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam. Horm.* *74*, 443–477.
- Fain, J.N., Madan, A.K., Hiler, M.L., Cheema, P., and Bahouth, S.W. (2004). Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* *145*, 2273–2282.
- Fang, S., Suh, J.M., Reilly, S.M., Yu, E., Osborn, O., Lackey, D., Yoshihara, E., Perino, A., Jacinto, S., Lukashava, Y., et al. (2015). Intestinal FXR agonism promotes adipose tissue browning and reduces obesity and insulin resistance. *Nat. Med.* *21*, 159–165.
- Favier, C.F., Vaughan, E.E., De Vos, W.M., and Akkermans, A.D.L. (2002). Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl. Environ. Microbiol.* *68*, 219–226.
- Febbraio, M.A., and Pedersen, B.K. (2002). Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* *16*, 1335–1347.
- Fergusson, J.R., Fleming, V.M., and Klenerman, P. (2011). CD161-expressing human T cells. *Front. Immunol.* *2*, 36.
- Fergusson, J.R., Smith, K.E., Fleming, V.M., Rajoriya, N., Newell, E.W., Simmons, R., Marchi, E., Björkander, S., Kang, Y.-H., Swadling, L., et al. (2014). CD161 defines a transcriptional and functional phenotype across distinct human T cell lineages. *Cell Rep.* *9*, 1075–1088.
- Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R., and Rodríguez, J.M. (2013). The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol. Res.* *69*, 1–10.

- Feuerer, M., Herrero, L., Cipolletta, D., Naaz, A., Wong, J., Nayer, A., Lee, J., Goldfine, A.B., Benoist, C., Shoelson, S., et al. (2009). Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat. Med.* *15*, 930–939.
- Finkelstein, E.A., Khavjou, O.A., Thompson, H., Trogon, J.G., Pan, L., Sherry, B., and Dietz, W. (2012). Obesity and severe obesity forecasts through 2030. *Am. J. Prev. Med.* *42*, 563–570.
- Flint, H.J., Scott, K.P., Louis, P., and Duncan, S.H. (2012). The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* *9*, 577–589.
- FORSGREN, E. (1954). Antibiotic and probiotic therapy of tuberculosis.
- Forslund, K., Hildebrand, F., Nielsen, T., Falony, G., Le Chatelier, E., Sunagawa, S., Prifti, E., Vieira-Silva, S., Gudmundsdottir, V., Krogh Pedersen, H., et al. (2015). Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature* *528*, 262–266.
- Frauwirth, K.A., Riley, J.L., Harris, M.H., Parry, R.V., Rathmell, J.C., Plas, D.R., Elstrom, R.L., June, C.H., and Thompson, C.B. (2002). The CD28 signaling pathway regulates glucose metabolism. *Immunity* *16*, 769–777.
- Friedman, J.M., and Halaas, J.L. (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* *395*, 763–770.
- Fritz, J.H., Ferrero, R.L., Philpott, D.J., and Girardin, S.E. (2006). Nod-like proteins in immunity, inflammation and disease. *Nat. Immunol.* *7*, 1250–1257.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* *66*, 365–378.
- Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T.A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T., et al. (2013). Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* *504*, 446–450.
- Gallo, R.L., and Hooper, L.V. (2012). Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine. *Nat. Rev. Immunol.* *12*, 503–516.
- Garidou, L., Pomié, C., Klopp, P., Waget, A., Charpentier, J., Aloulou, M., Giry, A., Serino, M., Stenman, L., Lahtinen, S., et al. (2015). The Gut Microbiota Regulates Intestinal CD4 T Cells Expressing ROR $\gamma$ t and Controls Metabolic Disease. *Cell Metab.* *22*, 100–112.
- Gautier-Stein, A., Zitoun, C., Lalli, E., Mithieux, G., and Rajas, F. (2006). Transcriptional Regulation of the Glucose-6-phosphatase Gene by cAMP/Vasoactive Intestinal Peptide in the Intestine ROLE OF HNF4 $\alpha$ , CREM, HNF1 $\alpha$ , and C/EBP $\alpha$ . *J. Biol. Chem.* *281*, 31268–31278.
- Gherardin, N.A., Keller, A.N., Woolley, R.E., Le Nours, J., Ritchie, D.S., Neeson, P.J., Birkinshaw, R.W., Eckle, S.B.G., Waddington, J.N., Liu, L., et al. (2016). Diversity of T Cells Restricted by the MHC Class I-Related Molecule MR1 Facilitates Differential Antigen Recognition. *Immunity* *44*, 32–45.

- Ghoreschi, K., Laurence, A., Yang, X.-P., Tato, C.M., McGeachy, M.J., Konkel, J.E., Ramos, H.L., Wei, L., Davidson, T.S., Bouladoux, N., et al. (2010). Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- $\beta$  signalling. *Nature* *467*, 967–971.
- Ghoshal, S., Witta, J., Zhong, J., de Villiers, W., and Eckhardt, E. (2009). Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J. Lipid Res.* *50*, 90–97.
- Gibson, G.R., and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *J. Nutr.* *125*, 1401–1412.
- Glund, S., Deshmukh, A., Long, Y.C., Moller, T., Koistinen, H.A., Caidahl, K., Zierath, J.R., and Krook, A. (2007). Interleukin-6 directly increases glucose metabolism in resting human skeletal muscle. *Diabetes* *56*, 1630–1637.
- Godfrey, D.I., Uldrich, A.P., McCluskey, J., Rossjohn, J., and Moody, D.B. (2015). The burgeoning family of unconventional T cells. *Nat. Immunol.* *16*, 1114–1123.
- Gold, M.C., Cerri, S., Smyk-Pearson, S., Cansler, M.E., Vogt, T.M., Delepine, J., Winata, E., Swarbrick, G.M., Chua, W.-J., Yu, Y.Y.L., et al. (2010). Human Mucosal Associated Invariant T Cells Detect Bacterially Infected Cells. *PLoS Biol.* *8*.
- Gold, M.C., Eid, T., Smyk-Pearson, S., Eberling, Y., Swarbrick, G.M., Langley, S.M., Streeter, P.R., Lewinsohn, D.A., and Lewinsohn, D.M. (2013). Human thymic MR1-restricted MAIT cells are innate pathogen-reactive effectors that adapt following thymic egress. *Mucosal Immunol.* *6*, 35–44.
- Goldberg, I.J. (1996). Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J. Lipid Res.* *37*, 693–707.
- Goldszmid, R.S., Caspar, P., Rivollier, A., White, S., Dzutsev, A., Hieny, S., Kelsall, B., Trinchieri, G., and Sher, A. (2012). NK cell-derived interferon- $\gamma$  orchestrates cellular dynamics and the differentiation of monocytes into dendritic cells at the site of infection. *Immunity* *36*, 1047–1059.
- González-Muniesa, P., Martínez-González, M.-A., Hu, F.B., Després, J.-P., Matsuzawa, Y., Loos, R.J.F., Moreno, L.A., Bray, G.A., and Martínez, J.A. (2017). Obesity. *Nat. Rev. Dis. Primer* *3*, 17034.
- Goodman, A.L., McNulty, N.P., Zhao, Y., Leip, D., Mitra, R.D., Lozupone, C.A., Knight, R., and Gordon, J.I. (2009). Identifying Genetic Determinants Needed to Establish a Human Gut Symbiont in Its Habitat. *Cell Host Microbe* *6*, 279–289.
- Goris, H., de Boer, F., and van der Waaij, D. (1985). Myelopoiesis in experimentally contaminated specific-pathogen-free and germfree mice during oral administration of polymyxin. *Infect. Immun.* *50*, 437–441.
- Goto, Y., Obata, T., Kunisawa, J., Sato, S., Ivanov, I.I., Lamichhane, A., Takeyama, N., Kamioka, M., Sakamoto, M., Matsuki, T., et al. (2014a). Innate lymphoid cells regulate intestinal epithelial cell glycosylation. *Science* *345*, 1254009.

- Goto, Y., Panea, C., Nakato, G., Cebula, A., Lee, C., Diez, M.G., Laufer, T.M., Ignatowicz, L., and Ivanov, I.I. (2014b). Segmented filamentous bacteria antigens presented by intestinal dendritic cells drive mucosal Th17 cell differentiation. *Immunity* *40*, 594.
- Gozalbo-López, B., Gómez del Moral, M., Campos-Martín, Y., Setién, F., Martín, P., Bellas, C., Regueiro, J.R., and Martínez-Naves, E. (2009). The MHC-related protein 1 (MR1) is expressed by a subpopulation of CD38<sup>+</sup>, IgA<sup>+</sup> cells in the human intestinal mucosa. *Histol. Histopathol.* *24*, 1439–1449.
- Gracey, E., Qaiyum, Z., Almaghlouth, I., Lawson, D., Karki, S., Avvaru, N., Zhang, Z., Yao, Y., Ranganathan, V., Baglaenko, Y., et al. (2016). IL-7 primes IL-17 in mucosal-associated invariant T (MAIT) cells, which contribute to the Th17-axis in ankylosing spondylitis. *Ann. Rheum. Dis.* *75*, 2124–2132.
- Griffith, J.W., Sokol, C.L., and Luster, A.D. (2014). Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. *Annu. Rev. Immunol.* *32*, 659–702.
- Grimaldi, D., Le Bourhis, L., Sauneuf, B., Dechartres, A., Rousseau, C., Ouaz, F., Milder, M., Louis, D., Chiche, J.-D., Mira, J.-P., et al. (2014). Specific MAIT cell behaviour among innate-like T lymphocytes in critically ill patients with severe infections. *Intensive Care Med.* *40*, 192–201.
- Groschwitz, K.R., and Hogan, S.P. (2009). Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *J. Allergy Clin. Immunol.* *124*, 3–20.
- Grunfeld, C., and Feingold, K. (1991). The Metabolic Effects of Tumor-Necrosis-Factor and Other Cytokines. *Biotherapy* *3*, 143–158.
- Grunfeld, C., Zhao, C., Fuller, J., Pollack, A., Moser, A., Friedman, J., and Feingold, K.R. (1996). Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *J. Clin. Invest.* *97*, 2152–2157.
- Gu, S., Chen, D., Zhang, J.-N., Lv, X., Wang, K., Duan, L.-P., Nie, Y., and Wu, X.-L. (2013). Bacterial community mapping of the mouse gastrointestinal tract. *PloS One* *8*, e74957.
- Gual, P., Le Marchand-Brustel, Y., and Tanti, J.-F. (2005). Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie* *87*, 99–109.
- Guillemot, L., Paschoud, S., Pulimeno, P., Foglia, A., and Citi, S. (2008). The cytoplasmic plaque of tight junctions: A scaffolding and signalling center. *Biochim. Biophys. Acta-Biomembr.* *1778*, 601–613.
- Gur, C., Porgador, A., Elboim, M., Gazit, R., Mizrahi, S., Stern-Ginossar, N., Achdout, H., Ghadially, H., Dor, Y., Nir, T., et al. (2010). The activating receptor NKp46 is essential for the development of type 1 diabetes. *Nat. Immunol.* *11*, 121–128.
- Guri, A.J., Hontecillas, R., Ferrer, G., Casagran, O., Wankhade, U., Noble, A.M., Eizirik, D.L., Ortis, F., Cnop, M., Liu, D., et al. (2008). Loss of PPAR gamma in immune cells impairs the ability of abscisic acid to improve insulin sensitivity by suppressing monocyte chemoattractant protein-1 expression and macrophage infiltration into white adipose tissue. *J. Nutr. Biochem.* *19*, 216–228.

- Gury-BenAri, M., Thaïss, C.A., Serafini, N., Winter, D.R., Giladi, A., Lara-Astiaso, D., Levy, M., Salame, T.M., Weiner, A., David, E., et al. (2016). The Spectrum and Regulatory Landscape of Intestinal Innate Lymphoid Cells Are Shaped by the Microbiome. *Cell* *166*, 1231–1246.e13.
- Haas, J.D., González, F.H.M., Schmitz, S., Chennupati, V., Föhse, L., Kremmer, E., Förster, R., and Prinz, I. (2009). CCR6 and NK1.1 distinguish between IL-17A and IFN- $\gamma$ -producing gammadelta effector T cells. *Eur. J. Immunol.* *39*, 3488–3497.
- Haas, W., Pereira, P., and Tonegawa, S. (1993). Gamma/delta cells. *Annu. Rev. Immunol.* *11*, 637–685.
- Hadis, U., Wahl, B., Schulz, O., Hardtke-Wolenski, M., Schippers, A., Wagner, N., Mueller, W., Sparwasser, T., Foerster, R., and Pabst, O. (2011). Intestinal Tolerance Requires Gut Homing and Expansion of FoxP3(+) Regulatory T Cells in the Lamina Propria. *Immunity* *34*, 237–246.
- Haemmerle, G., Lass, A., Zimmermann, R., Gorkiewicz, G., Meyer, C., Rozman, J., Heldmaier, G., Maier, R., Theussl, C., Eder, S., et al. (2006). Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science* *312*, 734–737.
- Halberg, N., Khan, T., Trujillo, M.E., Wernstedt-Asterholm, I., Attie, A.D., Sherwani, S., Wang, Z.V., Landskroner-Eiger, S., Dineen, S., Magalang, U.J., et al. (2009). Hypoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$  Induces Fibrosis and Insulin Resistance in White Adipose Tissue. *Mol. Cell. Biol.* *29*, 4467–4483.
- Hamada, H., Hiroi, T., Nishiyama, Y., Takahashi, H., Masunaga, Y., Hachimura, S., Kaminogawa, S., Takahashi-Iwanaga, H., Iwanaga, T., Kiyono, H., et al. (2002). Identification of Multiple Isolated Lymphoid Follicles on the Antimesenteric Wall of the Mouse Small Intestine. *J. Immunol.* *168*, 57–64.
- Hardy, R.R., Li, Y.-S., and Hayakawa, K. (1996). Distinctive developmental origins and specificities of the CD5+B-cell subset. *Semin. Immunol.* *8*, 37–44.
- Harms, R.Z., Lorenzo, K.M., Corley, K.P., Cabrera, M.S., and Sarvetnick, N.E. (2015). Altered CD161 bright CD8+ mucosal associated invariant T (MAIT)-like cell dynamics and increased differentiation states among juvenile type 1 diabetics. *PLoS One* *10*, e0117335.
- Harriff, M., McMurtrey, C., Hartmann, N., Sorensen, M., Mizgerd, J.P., Hildebrand, W., Kronenberg, M., and Lewinsohn, D.M. (2017). Riboflavin Metabolism Variation Among Clinical Isolates Of *Streptococcus Pneumoniae* Results In Differential Activation Of Mait Cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* *195*.
- Hasegawa, M., Osaka, T., Tawaratsumida, K., Yamazaki, T., Tada, H., Chen, G.Y., Tsuneda, S., Núñez, G., and Inohara, N. (2010). Transitions in oral and intestinal microflora composition and innate immune receptor-dependent stimulation during mouse development. *Infect. Immun.* *78*, 639–650.
- He, B., Xu, W., Santini, P.A., Polydorides, A.D., Chiu, A., Estrella, J., Shan, M., Chadburn, A., Villanacci, V., Plebani, A., et al. (2007). Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity* *26*, 812–826.

- Hepworth, M.R., Monticelli, L.A., Fung, T.C., Ziegler, C.G.K., Grunberg, S., Sinha, R., Mantegazza, A.R., Ma, H.-L., Crawford, A., Angelosanto, J.M., et al. (2013). Innate lymphoid cells regulate CD4<sup>+</sup> T-cell responses to intestinal commensal bacteria. *Nature* 498, 113–117.
- Hepworth, M.R., Fung, T.C., Masur, S.H., Kelsen, J.R., McConnell, F.M., Dubrot, J., Withers, D.R., Hugues, S., Farrar, M.A., Reith, W., et al. (2015). Immune tolerance. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4<sup>+</sup> T cells. *Science* 348, 1031–1035.
- Hill, M.J. (1997). Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *Eur. J. Cancer Prev.* 6, S43–S45.
- Hinks, T.S.C., Zhou, X., Staples, K.J., Dimitrov, B.D., Manta, A., Petrossian, T., Lum, P.Y., Smith, C.G., Ward, J.A., Howarth, P.H., et al. (2015). Innate and adaptive T cells in asthmatic patients: Relationship to severity and disease mechanisms. *J. Allergy Clin. Immunol.* 136, 323–333.
- Hooper, L.V., and Gordon, J.I. (2001). Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 292, 1115–1118.
- Hooper, L.V., and Macpherson, A.J. (2010). Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat. Rev. Immunol.* 10, 159–169.
- Hosogai, N., Fukuhara, A., Oshima, K., Miyata, Y., Tanaka, S., Segawa, K., Furukawa, S., Tochino, Y., Komuro, R., Matsuda, M., et al. (2007). Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes* 56, 901–911.
- Hotamisligil, G.S. (2010). Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell* 140, 900–917.
- Hotamisligil, G.S., and Calay, E.S. (2013). Turning off the inflammatory, but not the metabolic, flames. *Nat. Med.*
- Hotamisligil, G.S., Shargill, N.S., and Spiegelman, B.M. (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259, 87–91.
- Hotamisligil, G.S., Peraldi, P., Budavari, A., Ellis, R., White, M.F., and Spiegelman, B.M. (1996). IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$ - and obesity-induced insulin resistance. *Science* 271, 665–668.
- Howarth, A., and Stevenson, B. (1995). Molecular Environment of Zo-1 in Epithelial and Nonepithelial Cells. *Cell Motil. Cytoskeleton* 31, 323–332.
- Huang, S., Gilfillan, S., Cella, M., Miley, M.J., Lantz, O., Lybarger, L., Fremont, D.H., and Hansen, T.H. (2005). Evidence for MR1 antigen presentation to mucosal-associated invariant T cells. *J. Biol. Chem.* 280, 21183–21193.
- Huang, S., Gilfillan, S., Kim, S., Thompson, B., Wang, X., Sant, A.J., Fremont, D.H., Lantz, O., and Hansen, T.H. (2008). MR1 uses an endocytic pathway to activate mucosal-associated invariant T cells. *J. Exp. Med.* 205, 1201–1211.



- Huang, S., Martin, E., Kim, S., Yu, L., Soudais, C., Fremont, D.H., Lantz, O., and Hansen, T.H. (2009). MR1 antigen presentation to mucosal-associated invariant T cells was highly conserved in evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *106*, 8290–8295.
- Hueber, W., Sands, B.E., Lewitzky, S., Vandemeulebroecke, M., Reinisch, W., Higgins, P.D.R., Wehkamp, J., Feagan, B.G., Yao, M.D., Karczewski, M., et al. (2012). Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn’s disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *Gut* *61*, 1693–1700.
- Human Microbiome Project Consortium (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* *486*, 207–214.
- Hwang, S.-Y., Kim, J.-Y., Kim, K.-W., Park, M.-K., Moon, Y., Kim, W.-U., and Kim, H.-Y. (2004). IL-17 induces production of IL-6 and IL-8 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via NF-kappaB- and PI3-kinase/Akt-dependent pathways. *Arthritis Res. Ther.* *6*, R120-128.
- Ichinohe, T., Pang, I.K., Kumamoto, Y., Peaper, D.R., Ho, J.H., Murray, T.S., and Iwasaki, A. (2011). Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *108*, 5354–5359.
- Ikejiri, A., Nagai, S., Goda, N., Kurebayashi, Y., Osada-Oka, M., Takubo, K., Suda, T., and Koyasu, S. (2012). Dynamic regulation of Th17 differentiation by oxygen concentrations. *Int. Immunol.* *24*, 137–146.
- Illés, Z., Shimamura, M., Newcombe, J., Oka, N., and Yamamura, T. (2004). Accumulation of V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33 invariant T cells in human autoimmune inflammatory lesions in the nervous system. *Int. Immunol.* *16*, 223–230.
- Islam, K.B.M.S., Fukiya, S., Hagio, M., Fujii, N., Ishizuka, S., Ooka, T., Ogura, Y., Hayashi, T., and Yokota, A. (2011). Bile acid is a host factor that regulates the composition of the cecal microbiota in rats. *Gastroenterology* *141*, 1773–1781.
- Ismail, A.S., Severson, K.M., Vaishnava, S., Behrendt, C.L., Yu, X., Benjamin, J.L., Ruhn, K.A., Hou, B., DeFranco, A.L., Yarovinsky, F., et al. (2011). Gammadelta intraepithelial lymphocytes are essential mediators of host-microbial homeostasis at the intestinal mucosal surface. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *108*, 8743–8748.
- Ivanov, I.I., McKenzie, B.S., Zhou, L., Tadokoro, C.E., Lepelley, A., Lafaille, J.J., Cua, D.J., and Littman, D.R. (2006). The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17<sup>+</sup> T helper cells. *Cell* *126*, 1121–1133.
- Ivanov, I.I., Atarashi, K., Manel, N., Brodie, E.L., Shima, T., Karaoz, U., Wei, D., Goldfarb, K.C., Santee, C.A., Lynch, S.V., et al. (2009). Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* *139*, 485–498.
- Iwamura, C., Bouladoux, N., Belkaid, Y., Sher, A., and Jankovic, D. (2017). Sensing of the microbiota by NOD1 in mesenchymal stromal cells regulates murine hematopoiesis. *Blood* *129*, 171–176.
- Jacobs, S.R., Herman, C.E., Maciver, N.J., Wofford, J.A., Wieman, H.L., Hammen, J.J., and Rathmell, J.C. (2008). Glucose uptake is limiting in T cell activation and requires CD28-

mediated Akt-dependent and independent pathways. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 *180*, 4476–4486.

Jäger, A., Dardalhon, V., Sobel, R.A., Bettelli, E., and Kuchroo, V.K. (2009). Th1, Th17, and Th9 effector cells induce experimental autoimmune encephalomyelitis with different pathological phenotypes. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 *183*, 7169–7177.

Janssen, S., and Depoortere, I. (2013). Nutrient sensing in the gut: new roads to therapeutics? *Trends Endocrinol. Metab. TEM* *24*, 92–100.

Janssen, P., Vanden Berghe, P., Verschuere, S., Lehmann, A., Depoortere, I., and Tack, J. (2011). Review article: the role of gastric motility in the control of food intake. *Aliment. Pharmacol. Ther.* *33*, 880–894.

Jauch-Chara, K., and Oltmanns, K.M. (2014). Obesity--a neuropsychological disease? Systematic review and neuropsychological model. *Prog. Neurobiol.* *114*, 84–101.

Javed, A., Jumean, M., Murad, M.H., Okorodudu, D., Kumar, S., Somers, V.K., Sochor, O., and Lopez-Jimenez, F. (2015). Diagnostic performance of body mass index to identify obesity as defined by body adiposity in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr. Obes.* *10*, 234–244.

Jiang, J., Wang, X., An, H., Yang, B., Cao, Z., Liu, Y., Su, J., Zhai, F., Wang, R., Zhang, G., et al. (2014). Mucosal-associated Invariant T-Cell Function Is Modulated by Programmed Death-1 Signaling in Patients with Active Tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* *190*, 329–339.

Jiao, Y., Huntington, N.D., Belz, G.T., and Seillet, C. (2016). Type 1 Innate Lymphoid Cell Biology: Lessons Learnt from Natural Killer Cells. *Front. Immunol.* *7*, 426.

Jo, J., Tan, A.T., Ussher, J.E., Sandalova, E., Tang, X.-Z., Tan-Garcia, A., To, N., Hong, M., Chia, A., Gill, U.S., et al. (2014). Toll-like receptor 8 agonist and bacteria trigger potent activation of innate immune cells in human liver. *PLoS Pathog.* *10*, e1004210.

Johansson, M.E.V., Phillipson, M., Petersson, J., Velcich, A., Holm, L., and Hansson, G.C. (2008). The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *105*, 15064–15069.

Johansson, M.E.V., Larsson, J.M.H., and Hansson, G.C. (2011). The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host–microbial interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *108*, 4659–4665.

Johnson, A.M.F., Costanzo, A., Gareau, M.G., Armando, A.M., Quehenberger, O., Jameson, J.M., and Olefsky, J.M. (2015). High fat diet causes depletion of intestinal eosinophils associated with intestinal permeability. *PloS One* *10*, e0122195.

Josefowicz, S.Z., Lu, L.-F., and Rudensky, A.Y. (2012). Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu. Rev. Immunol.* *30*, 531–564.

Jung, Y., Wen, T., Mingler, M.K., Caldwell, J.M., Wang, Y.H., Chaplin, D.D., Lee, E.H., Jang, M.H., Woo, S.Y., Seoh, J.Y., et al. (2015). IL-1 beta in eosinophil-mediated small intestinal homeostasis and IgA production. *Mucosal Immunol.* *8*, 930–942.

- Kabon, B., Nagele, A., Reddy, D., Eagon, C., Fleshman, J.W., Sessler, D.I., and Kurz, A. (2004). Obesity Decreases Perioperative Tissue Oxygenation. *Anesthesiology* 100, 274.
- Kaiserling, E. (2001). Newly-formed lymph nodes in the submucosa in chronic inflammatory bowel disease. *Lymphology* 34, 22–29.
- Kanda, H., Tateya, S., Tamori, Y., Kotani, K., Hiasa, K., Kitazawa, R., Kitazawa, S., Miyachi, H., Maeda, S., Egashira, K., et al. (2006). MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J. Clin. Invest.* 116, 1494–1505.
- Karlsson, F.H., Tremaroli, V., Nookaew, I., Bergström, G., Behre, C.J., Fagerberg, B., Nielsen, J., and Bäckhed, F. (2013). Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 498, 99–103.
- Kawasaki, N., Asada, R., Saito, A., Kanemoto, S., and Imaizumi, K. (2012). Obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes chronic inflammation in adipose tissue. *Sci. Rep.* 2, 799.
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C.-S., Reynolds, K., and He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int. J. Obes.* 2005 32, 1431–1437.
- Kern, P.A., Ranganathan, S., Li, C., Wood, L., and Ranganathan, G. (2001). Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280, E745-751.
- Kern, P.A., Di Gregorio, G.B., Lu, T., Rassouli, N., and Ranganathan, G. (2003). Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor- $\alpha$  expression. *Diabetes* 52, 1779–1785.
- Kintscher, U., Hartge, M., Hess, K., Foryst-Ludwig, A., Clemenz, M., Wabitsch, M., Fischer-Posovszky, P., Barth, T.F.E., Dragun, D., Skurk, T., et al. (2008). T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28, 1304–1310.
- Kiss, E.A., Vonarbourg, C., Kopfmann, S., Hobeika, E., Finke, D., Esser, C., and Diefenbach, A. (2011). Natural aryl hydrocarbon receptor ligands control organogenesis of intestinal lymphoid follicles. *Science* 334, 1561–1565.
- Kjer-Nielsen, L., Patel, O., Corbett, A.J., Le Nours, J., Meehan, B., Liu, L., Bhati, M., Chen, Z., Kostenko, L., Reantragoon, R., et al. (2012). MR1 presents microbial vitamin B metabolites to MAIT cells. *Nature* 491, 717–723.
- Klein Wolterink, R.G.J., Kleinjan, A., van Nimwegen, M., Bergen, I., de Bruijn, M., Levani, Y., and Hendriks, R.W. (2012). Pulmonary innate lymphoid cells are major producers of IL-5 and IL-13 in murine models of allergic asthma. *Eur. J. Immunol.* 42, 1106–1116.
- Knittle, J.L., Timmers, K., Ginsberg-Fellner, F., Brown, R.E., and Katz, D.P. (1979). The growth of adipose tissue in children and adolescents. Cross-sectional and longitudinal studies of adipose cell number and size. *J. Clin. Invest.* 63, 239–246.
- Koay, H.-F., Gherardin, N.A., Enders, A., Loh, L., Mackay, L.K., Almeida, C.F., Russ, B.E., Nold-Petry, C.A., Nold, M.F., Bedoui, S., et al. (2016). A three-stage intrathymic

- development pathway for the mucosal-associated invariant T cell lineage. *Nat. Immunol.* *17*, 1300–1311.
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., and Bäckhed, F. (2016). From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* *165*, 1332–1345.
- Kolodin, D., Panhuys, N. van, Li, C., Magnuson, A.M., Cipolletta, D., Miller, C.M., Wagers, A., Germain, R.N., Benoist, C., and Mathis, D. (2015). ANTIGEN- AND CYTOKINE-DRIVEN ACCUMULATION OF REGULATORY T CELLS IN VISCERAL ADIPOSE TISSUE OF LEAN MICE. *Cell Metab.* *21*, 543.
- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., and Kuchroo, V.K. (2009). IL-17 and Th17 Cells. *Annu. Rev. Immunol.* *27*, 485–517.
- Kovalovsky, D., Uche, O.U., Eladad, S., Hobbs, R.M., Yi, W., Alonzo, E., Chua, K., Eidson, M., Kim, H.-J., Im, J.S., et al. (2008). The BTB-zinc finger transcriptional regulator PLZF controls the development of invariant natural killer T cell effector functions. *Nat. Immunol.* *9*, 1055–1064.
- Kreslavsky, T., Savage, A.K., Hobbs, R., Gounari, F., Bronson, R., Pereira, P., Pandolfi, P.P., Bendelac, A., and von Boehmer, H. (2009). TCR-inducible PLZF transcription factor required for innate phenotype of a subset of gammadelta T cells with restricted TCR diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *106*, 12453–12458.
- Kubinak, J.L., Petersen, C., Stephens, W.Z., Soto, R., Bake, E., O’Connell, R.M., and Round, J.L. (2015). MyD88 signaling in T cells directs IgA-mediated control of the microbiota to promote health. *Cell Host Microbe* *17*, 153–163.
- Kurioka, A., Ussher, J.E., Cosgrove, C., Clough, C., Fergusson, J.R., Smith, K., Kang, Y.-H., Walker, L.J., Hansen, T.H., Willberg, C.B., et al. (2015). MAIT cells are licensed through granzyme exchange to kill bacterially sensitized targets. *Mucosal Immunol.* *8*, 429–440.
- Kurioka, A., Walker, L.J., Klenerman, P., and Willberg, C.B. (2016). MAIT cells: new guardians of the liver. *Clin. Transl. Immunol.* *5*, e98.
- Kuwahara, T., Ogura, Y., Oshima, K., Kurokawa, K., Ooka, T., Hirakawa, H., Itoh, T., Nakayama-Imaohji, H., Ichimura, M., Itoh, K., et al. (2011). The lifestyle of the segmented filamentous bacterium: a non-culturable gut-associated immunostimulating microbe inferred by whole-genome sequencing. *DNA Res. Int. J. Rapid Publ. Rep. Genes Genomes* *18*, 291–303.
- Kwon, Y.-S., Cho, Y.-N., Kim, M.-J., Jin, H.-M., Jung, H.-J., Kang, J.-H., Park, K.-J., Kim, T.-J., Kee, H.J., Kim, N., et al. (2015). Mucosal-associated invariant T cells are numerically and functionally deficient in patients with mycobacterial infection and reflect disease activity. *Tuberc. Edinb. Scotl.* *95*, 267–274.
- La Cava, A., and Matarese, G. (2004). The weight of leptin in immunity. *Nat. Rev. Immunol.* *4*, 371–379.
- La Rosa, P.S., Warner, B.B., Zhou, Y., Weinstock, G.M., Sodergren, E., Hall-Moore, C.M., Stevens, H.J., Bennett, W.E., Shaikh, N., Linneman, L.A., et al. (2014). Patterned progression

- of bacterial populations in the premature infant gut. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *111*, 12522–12527.
- de La Serre, C.B., Ellis, C.L., Lee, J., Hartman, A.L., Rutledge, J.C., and Raybould, H.E. (2010). Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.* *299*, G440–G448.
- Lafontan, M., and Langin, D. (2009). Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Prog. Lipid Res.* *48*, 275–297.
- Lafontan, M., Moro, C., Berlan, M., Crampes, F., Sengenès, C., and Galitzky, J. (2008). Control of lipolysis by natriuretic peptides and cyclic GMP. *Trends Endocrinol. Metab.* *TEM 19*, 130–137.
- Lamichhane, R., and Ussher, J.E. (2017). Expression and trafficking of MR1. *Immunology* *151*, 270–279.
- Lanier, L.L. (2013). Shades of grey--the blurring view of innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* *13*, 73–74.
- Large, V., Reynisdóttir, S., Langin, D., Fredby, K., Klannemark, M., Holm, C., and Arner, P. (1999). Decreased expression and function of adipocyte hormone-sensitive lipase in subcutaneous fat cells of obese subjects. *J. Lipid Res.* *40*, 2059–2066.
- Le Bourhis, L., Martin, E., Péguillet, I., Guihot, A., Froux, N., Coré, M., Lévy, E., Dusseaux, M., Meyssonier, V., Premel, V., et al. (2010). Antimicrobial activity of mucosal-associated invariant T cells. *Nat. Immunol.* *11*, 701–708.
- Le Bourhis, L., Mburu, Y.K., and Lantz, O. (2013). MAIT cells, surveyors of a new class of antigen: development and functions. *Curr. Opin. Immunol.* *25*, 174–180.
- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., Almeida, M., Arumugam, M., Batto, J.-M., Kennedy, S., et al. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* *500*, 541–546.
- Lecuit, M., Vandormael-Pournin, S., Lefort, J., Huerre, M., Gounon, P., Dupuy, C., Babinet, C., and Cossart, P. (2001). A transgenic model for listeriosis: role of internalin in crossing the intestinal barrier. *Science* *292*, 1722–1725.
- Lécuyer, E., Rakotobe, S., Lengliné-Garnier, H., Lebreton, C., Picard, M., Juste, C., Fritzen, R., Eberl, G., McCoy, K.D., Macpherson, A.J., et al. (2014). Segmented filamentous bacterium uses secondary and tertiary lymphoid tissues to induce gut IgA and specific T helper 17 cell responses. *Immunity* *40*, 608–620.
- Lee, J.S., Cella, M., McDonald, K.G., Garlanda, C., Kennedy, G.D., Nukaya, M., Mantovani, A., Kopan, R., Bradfield, C.A., Newberry, R.D., et al. (2011a). AHR drives the development of gut ILC22 cells and postnatal lymphoid tissues via pathways dependent on and independent of Notch. *Nat. Immunol.* *13*, 144–151.

- Lee, Y., Awasthi, A., Yosef, N., Quintana, F.J., Xiao, S., Peters, A., Wu, C., Kleinewietfeld, M., Kunder, S., Hafler, D.A., et al. (2012). Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. *Nat. Immunol.* *13*, 991–999.
- Lee, Y.K., Menezes, J.S., Umesaki, Y., and Mazmanian, S.K. (2011b). Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *108 Suppl 1*, 4615–4622.
- Leeansyah, E., Ganesh, A., Quigley, M.F., Sönnnerborg, A., Andersson, J., Hunt, P.W., Somsouk, M., Deeks, S.G., Martin, J.N., Moll, M., et al. (2013). Activation, exhaustion, and persistent decline of the antimicrobial MR1-restricted MAIT-cell population in chronic HIV-1 infection. *Blood* *121*, 1124–1135.
- Leeansyah, E., Loh, L., Nixon, D.F., and Sandberg, J.K. (2014). Acquisition of innate-like microbial reactivity in mucosal tissues during human fetal MAIT-cell development. *Nat. Commun.* *5*.
- Leonardi, C., Matheson, R., Zachariae, C., Cameron, G., Li, L., Edson-Heredia, E., Braun, D., and Banerjee, S. (2012). Anti-interleukin-17 monoclonal antibody ixekizumab in chronic plaque psoriasis. *N. Engl. J. Med.* *366*, 1190–1199.
- Lepore, M., Kalinichenko, A., Kalinichenko, A., Colone, A., Paleja, B., Singhal, A., Tschumi, A., Lee, B., Poidinger, M., Zolezzi, F., et al. (2014a). Parallel T-cell cloning and deep sequencing of human MAIT cells reveal stable oligoclonal TCR $\beta$  repertoire. *Nat. Commun.* *5*, 3866.
- Lepore, M., Kalinichenko, A., Kalinichenko, A., Colone, A., Paleja, B., Singhal, A., Tschumi, A., Lee, B., Poidinger, M., Zolezzi, F., et al. (2014b). Parallel T-cell cloning and deep sequencing of human MAIT cells reveal stable oligoclonal TCR $\beta$  repertoire. *Nat. Commun.* *5*, 3866.
- Lepore, M., Kalinichenko, A., Calogero, S., Kumar, P., Paleja, B., Schmalzer, M., Narang, V., Zolezzi, F., Poidinger, M., Mori, L., et al. (2017). Functionally diverse human T cells recognize non-microbial antigens presented by MR1. *ELife* *6*.
- Levy, M., Thaïss, C.A., Zeevi, D., Dohnalová, L., Zilberman-Schapira, G., Mahdi, J.A., David, E., Savidor, A., Korem, T., Herzig, Y., et al. (2015). Microbiota-Modulated Metabolites Shape the Intestinal Microenvironment by Regulating NLRP6 Inflammasome Signaling. *Cell* *163*, 1428–1443.
- Lewis, Z.T., Totten, S.M., Smilowitz, J.T., Popovic, M., Parker, E., Lemay, D.G., Van Tassel, M.L., Miller, M.J., Jin, Y.-S., German, J.B., et al. (2015). Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants. *Microbiome* *3*, 13.
- Ley, R.E., Bäckhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C.A., Knight, R.D., and Gordon, J.I. (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *102*, 11070–11075.
- Ley, R.E., Peterson, D.A., and Gordon, J.I. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* *124*, 837–848.

Ley, R.E., Lozupone, C.A., Hamady, M., Knight, R., and Gordon, J.I. (2008). Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.* *6*, 776–788.

Li, Y., Innocentin, S., Withers, D.R., Roberts, N.A., Gallagher, A.R., Grigorieva, E.F., Wilhelm, C., and Veldhoen, M. (2011). Exogenous stimuli maintain intraepithelial lymphocytes via aryl hydrocarbon receptor activation. *Cell* *147*, 629–640.

Lim, S.S., Vos, T., Flaxman, A.D., Danaei, G., Shibuya, K., Adair-Rohani, H., AlMazroa, M.A., Amann, M., Anderson, H.R., Andrews, K.G., et al. (2012). A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* *380*, 2224–2260.

Ling, L., Lin, Y., Zheng, W., Hong, S., Tang, X., Zhao, P., Li, M., Ni, J., Li, C., Wang, L., et al. (2016). Circulating and tumor-infiltrating mucosal associated invariant T (MAIT) cells in colorectal cancer patients. *Sci. Rep.* *6*.

Lion, J., Debuysscher, V., Wlodarczyk, A., Hodroge, A., Serriari, N.-E., Choteau, L., Ouled-haddou, H., Plistat, M., Lassoued, K., Lantz, O., et al. (2013). MR1B, a natural spliced isoform of the MHC-related 1 protein, is expressed as homodimers at the cell surface and activates MAIT cells. *Eur. J. Immunol.* *43*, 1363–1373.

Lolmède, K., Durand de Saint Front, V., Galitzky, J., Lafontan, M., and Bouloumié, A. (2003). Effects of hypoxia on the expression of proangiogenic factors in differentiated 3T3-F442A adipocytes. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. J. Int. Assoc. Study Obes.* *27*, 1187–1195.

Lorenz, R.G., Chaplin, D.D., McDonald, K.G., McDonough, J.S., and Newberry, R.D. (2003). Isolated lymphoid follicle formation is inducible and dependent upon lymphotoxin-sufficient B lymphocytes, lymphotoxin beta receptor, and TNF receptor I function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *170*, 5475–5482.

Luck, H., Tsai, S., Chung, J., Clemente-Casares, X., Ghazarian, M., Revelo, X.S., Lei, H., Luk, C.T., Shi, S.Y., Surendra, A., et al. (2015). Regulation of Obesity-Related Insulin Resistance with Gut Anti-inflammatory Agents. *Cell Metab.* *21*, 527–542.

Lugo-Villarino, G., Maldonado-Lopez, R., Possemato, R., Penaranda, C., and Glimcher, L.H. (2003). T-bet is required for optimal production of IFN-gamma and antigen-specific T cell activation by dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *100*, 7749–7754.

Lukovac, S., Belzer, C., Pellis, L., Keijser, B.J., de Vos, W.M., Montijn, R.C., and Roeselers, G. (2014). Differential modulation by *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* of host peripheral lipid metabolism and histone acetylation in mouse gut organoids. *MBio* *5*.

Lumeng, C.N., DeYoung, S.M., Bodzin, J.L., and Saltiel, A.R. (2007a). Increased Inflammatory Properties of Adipose Tissue Macrophages Recruited During Diet-Induced Obesity. *Diabetes* *56*, 16–23.

Lumeng, C.N., Bodzin, J.L., and Saltiel, A.R. (2007b). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* *117*, 175–184.

- Luo, Q., Kumar, P., Vickers, T.J., Sheikh, A., Lewis, W.G., Rasko, D.A., Sistrunk, J., and Fleckenstein, J.M. (2014). Enterotoxigenic *Escherichia coli* secretes a highly conserved mucin-degrading metalloprotease to effectively engage intestinal epithelial cells. *Infect. Immun.* *82*, 509–521.
- Lynch, L., O’Shea, D., Winter, D.C., Geoghegan, J., Doherty, D.G., and O’Farrelly, C. (2009). Invariant NKT cells and CD1d(+) cells amass in human omentum and are depleted in patients with cancer and obesity. *Eur. J. Immunol.* *39*, 1893–1901.
- Lynch, L., Nowak, M., Varghese, B., Clark, J., Hogan, A.E., Toxavidis, V., Balk, S.P., O’Shea, D., O’Farrelly, C., and Exley, M.A. (2012). Adipose Tissue Invariant NKT Cells Protect against Diet-Induced Obesity and Metabolic Disorder through Regulatory Cytokine Production. *Immunity* *37*, 574–587.
- Lynch, L., Michelet, X., Zhang, S., Brennan, P.J., Moseman, A., Lester, C., Besra, G., Vomhof-Dekrey, E.E., Tighe, M., Koay, H.-F., et al. (2015a). Regulatory iNKT cells lack expression of the transcription factor PLZF and control the homeostasis of T(reg) cells and macrophages in adipose tissue. *Nat. Immunol.* *16*, 85–95.
- Lynch, L., Michelet, X., Zhang, S., Brennan, P.J., Moseman, A., Lester, C., Besra, G., Vomhof-Dekrey, E.E., Tighe, M., Koay, H.-F., et al. (2015b). Regulatory iNKT cells lack expression of the transcription factor PLZF and control the homeostasis of Treg cells and macrophages in adipose tissue. *Nat. Immunol.* *16*, 85–95.
- MacDougald, O.A., and Mandrup, S. (2002). Adipogenesis: forces that tip the scales. *Trends Endocrinol. Metab. TEM* *13*, 5–11.
- Macia, L., Tan, J., Vieira, A.T., Leach, K., Stanley, D., Luong, S., Maruya, M., Ian McKenzie, C., Hijikata, A., Wong, C., et al. (2015). Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat. Commun.* *6*, 6734.
- Macintyre, A.N., Gerriets, V.A., Nichols, A.G., Michalek, R.D., Rudolph, M.C., Deoliveira, D., Anderson, S.M., Abel, E.D., Chen, B.J., Hale, L.P., et al. (2014). The glucose transporter Glut1 is selectively essential for CD4 T cell activation and effector function. *Cell Metab.* *20*, 61–72.
- MacIver, N.J., Michalek, R.D., and Rathmell, J.C. (2013). Metabolic regulation of T lymphocytes. *Annu. Rev. Immunol.* *31*, 259–283.
- Macpherson, A.J., Gatto, D., Sainsbury, E., Harriman, G.R., Hengartner, H., and Zinkernagel, R.M. (2000). A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science* *288*, 2222–2226.
- Magalhaes, I., Pingris, K., Poitou, C., Bessoles, S., Venteclef, N., Kiaf, B., Beaudoin, L., Silva, J.D., Allatif, O., Rossjohn, J., et al. (2015). Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients. *J. Clin. Invest.* *125*, 1752–1762.
- Magnúsdóttir, S., Ravcheev, D., de Crécy-Lagard, V., and Thiele, I. (2015). Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes. *Front. Genet.* *6*, 148.



- Magombedze, G., Reddy, P.B.J., Eda, S., and Ganusov, V.V. (2013). Cellular and population plasticity of helper CD4(+) T cell responses. *Front. Physiol.* *4*, 206.
- Mahdavi, J., Sondén, B., Hurtig, M., Olfat, F.O., Forsberg, L., Roche, N., Angstrom, J., Larsson, T., Teneberg, S., Karlsson, K.-A., et al. (2002). Helicobacter pylori SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science* *297*, 573–578.
- Malhotra, J.D., and Kaufman, R.J. (2007). Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid. Redox Signal.* *9*, 2277–2293.
- Markle, J.G.M., Frank, D.N., Mortin-Toth, S., Robertson, C.E., Feazel, L.M., Rolle-Kampczyk, U., Bergen, M. von, McCoy, K.D., Macpherson, A.J., and Danska, J.S. (2013). Sex Differences in the Gut Microbiome Drive Hormone-Dependent Regulation of Autoimmunity. *Science* *339*, 1084–1088.
- Marques, B.G., Hausman, D.B., and Martin, R.J. (1998). Association of fat cell size and paracrine growth factors in development of hyperplastic obesity. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* *275*, R1898–R1908.
- Martin, E., Treiner, E., Duban, L., Guerri, L., Laude, H., Toly, C., Premel, V., Devys, A., Moura, I.C., Tilloy, F., et al. (2009). Stepwise Development of MAIT Cells in Mouse and Human. *PLOS Biol.* *7*, e1000054.
- Martin, F., Oliver, A.M., and Kearney, J.F. (2001). Marginal Zone and B1 B Cells Unite in the Early Response against T-Independent Blood-Borne Particulate Antigens. *Immunity* *14*, 617–629.
- Martinez, J.A. (2000). Body-weight regulation: causes of obesity. *Proc. Nutr. Soc.* *59*, 337–345.
- Martínez, I., Muller, C.E., and Walter, J. (2013). Long-term temporal analysis of the human fecal microbiota revealed a stable core of dominant bacterial species. *PloS One* *8*, e69621.
- Matarese, G., Procaccini, C., De Rosa, V., Horvath, T.L., and La Cava, A. (2010). Regulatory T cells in obesity: the leptin connection. *Trends Mol. Med.* *16*, 247–256.
- Mazon, J.N., de Mello, A.H., Ferreira, G.K., and Rezin, G.T. (2017). The impact of obesity on neurodegenerative diseases. *Life Sci.* *182*, 22–28.
- Mazur-Bialy, A.I., and Pocheć, E. (2016). Riboflavin Reduces Pro-Inflammatory Activation of Adipocyte-Macrophage Co-culture. Potential Application of Vitamin B2 Enrichment for Attenuation of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome Development. *Molecules* *21*, 1724.
- Mazur-Bialy, A.I., Pocheć, E., and Plytycz, B. (2015). Immunomodulatory effect of riboflavin deficiency and enrichment - reversible pathological response versus silencing of inflammatory activation. *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.* *66*, 793–802.
- McAllister, E.J., Dhurandhar, N.V., Keith, S.W., Aronne, L.J., Barger, J., Baskin, M., Benca, R.M., Biggio, J., Boggiano, M.M., Eisenmann, J.C., et al. (2009). Ten putative contributors to the obesity epidemic. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* *49*, 868–913.

- McCormick, B.A., Colgan, S.P., Delp-Archer, C., Miller, S.I., and Madara, J.L. (1993). Salmonella typhimurium attachment to human intestinal epithelial monolayers: transcellular signalling to subepithelial neutrophils. *J. Cell Biol.* *123*, 895–907.
- McDonald, K.G., McDonough, J.S., Wang, C., Kucharzik, T., Williams, I.R., and Newberry, R.D. (2007). CC chemokine receptor 6 expression by B lymphocytes is essential for the development of isolated lymphoid follicles. *Am. J. Pathol.* *170*, 1229–1240.
- McGeachy, M.J., and Cua, D.J. (2008). Th17 cell differentiation: the long and winding road. *Immunity* *28*, 445–453.
- McGeachy, M.J., Bak-Jensen, K.S., Chen, Y., Tato, C.M., Blumenschein, W., McClanahan, T., and Cua, D.J. (2007). TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat. Immunol.* *8*, 1390–1397.
- McGillicuddy, F.C., Chiquoine, E.H., Hinkle, C.C., Kim, R.J., Shah, R., Roche, H.M., Smyth, E.M., and Reilly, M.P. (2009). Interferon gamma attenuates insulin signaling, lipid storage, and differentiation in human adipocytes via activation of the JAK/STAT pathway. *J. Biol. Chem.* *284*, 31936–31944.
- McGillicuddy, F.C., Harford, K.A., Reynolds, C.M., Oliver, E., Claessens, M., Mills, K.H.G., and Roche, H.M. (2011). Lack of interleukin-1 receptor I (IL-1RI) protects mice from high-fat diet-induced adipose tissue inflammation coincident with improved glucose homeostasis. *Diabetes* *60*, 1688–1698.
- McGuckin, M.A., Lindén, S.K., Sutton, P., and Florin, T.H. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* *9*, 265–278.
- Mebius, R.E. (2003). Organogenesis of lymphoid tissues. *Nat. Rev. Immunol.* *3*, 292–303.
- Meierovics, A.I., and Cowley, S.C. (2016). MAIT cells promote inflammatory monocyte differentiation into dendritic cells during pulmonary intracellular infection. *J. Exp. Med.* *213*, 2793–2809.
- Meijer, K., de Vries, M., Al-Lahham, S., Bruinenberg, M., Weening, D., Dijkstra, M., Kloosterhuis, N., van der Leij, R.J., van der Want, H., Kroesen, B.-J., et al. (2011). Human primary adipocytes exhibit immune cell function: adipocytes prime inflammation independent of macrophages. *PLoS One* *6*, e17154.
- Meisinger, C., Döring, A., Thorand, B., Heier, M., and Löwel, H. (2006). Body fat distribution and risk of type 2 diabetes in the general population: are there differences between men and women? The MONICA/KORA Augsburg cohort study. *Am. J. Clin. Nutr.* *84*, 483–489.
- Mevissen-Verhage, E.A., Marcelis, J.H., Vos, M.N. de, Amerongen, W.C.H., and Verhoef, J. (1987). Bifidobacterium, Bacteroides, and Clostridium spp. in fecal samples from breast-fed and bottle-fed infants with and without iron supplement. *J. Clin. Microbiol.* *25*, 285–289.
- Miley, M.J., Truscott, S.M., Yu, Y.Y.L., Gilfillan, S., Fremont, D.H., Hansen, T.H., and Lybarger, L. (2003). Biochemical features of the MHC-related protein 1 consistent with an immunological function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *170*, 6090–6098.

- Mineta, K., Yamamoto, Y., Yamazaki, Y., Tanaka, H., Tada, Y., Saito, K., Tamura, A., Igarashi, M., Endo, T., Takeuchi, K., et al. (2011). Predicted expansion of the claudin multigene family. *Febs Lett.* *585*, 606–612.
- Mithieux, G., and Gautier-Stein, A. (2014). Intestinal glucose metabolism revisited. *Diabetes Res. Clin. Pract.* *105*, 295–301.
- Miyazaki, Y., Miyake, S., Chiba, A., Lantz, O., and Yamamura, T. (2011). Mucosal-associated invariant T cells regulate Th1 response in multiple sclerosis. *Int. Immunol.* *23*, 529–535.
- Miyoshi, A., Rochat, T., Gratadoux, J.-J., Le Loir, Y., Oliveira, S.C., Langella, P., and Azevedo, V. (2003). Oxidative stress in *Lactococcus lactis*. *Genet. Mol. Res. GMR* *2*, 348–359.
- Miyoshi, H., Souza, S.C., Zhang, H.-H., Strissel, K.J., Christoffolete, M.A., Kovsan, J., Rudich, A., Kraemer, F.B., Bianco, A.C., Obin, M.S., et al. (2006). Perilipin promotes hormone-sensitive lipase-mediated adipocyte lipolysis via phosphorylation-dependent and -independent mechanisms. *J. Biol. Chem.* *281*, 15837–15844.
- Mohamed-Ali, V., Goodrick, S., Rawesh, A., Katz, D.R., Miles, J.M., Yudkin, J.S., Klein, S., and Coppack, S.W. (1997). Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- $\alpha$ , in vivo. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *82*, 4196–4200.
- Moller, D.E. (2000). Potential role of TNF- $\alpha$  in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol. Metab.* *11*, 212–217.
- Molofsky, A.B., Nussbaum, J.C., Liang, H.-E., Dyken, S.J.V., Cheng, L.E., Mohapatra, A., Chawla, A., and Locksley, R.M. (2013). Innate lymphoid type 2 cells sustain visceral adipose tissue eosinophils and alternatively activated macrophages. *J. Exp. Med.* *210*, 535–549.
- von Moltke, J., Ji, M., Liang, H.-E., and Locksley, R.M. (2015). Tuft-cell-derived IL-25 regulates an intestinal ILC2–epithelial response circuit. *Nature advance online publication*.
- Monteiro-Sepulveda, M., Touch, S., Mendes-Sá, C., André, S., Poitou, C., Allatif, O., Cotillard, A., Fohrer-Ting, H., Hubert, E.-L., Remark, R., et al. (2015). Jejunal T Cell Inflammation in Human Obesity Correlates with Decreased Enterocyte Insulin Signaling. *Cell Metab.* *22*, 113–124.
- Morotomi, M., Watanabe, T., Suegara, N., Kawai, Y., and Mutai, M. (1975). Distribution of indigenous bacteria in the digestive tract of conventional and gnotobiotic rats. *Infect. Immun.* *11*, 962–968.
- Morton, A.M., Sefik, E., Upadhyay, R., Weissleder, R., Benoist, C., and Mathis, D. (2014). Endoscopic photoconversion reveals unexpectedly broad leukocyte trafficking to and from the gut. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *111*, 6696.
- Morton, G.J., Cummings, D.E., Baskin, D.G., Barsh, G.S., and Schwartz, M.W. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* *443*, 289–295.

- Nakjang, S., Ndeh, D.A., Wipat, A., Bolam, D.N., and Hirt, R.P. (2012). A novel extracellular metallopeptidase domain shared by animal host-associated mutualistic and pathogenic microbes. *PloS One* 7, e30287.
- Nara, N., Nakayama, Y., Okamoto, S., Tamura, H., Kiyono, M., Muraoka, M., Tanaka, K., Taya, C., Shitara, H., Ishii, R., et al. (2007). Disruption of CXC Motif Chemokine Ligand-14 in Mice Ameliorates Obesity-induced Insulin Resistance. *J. Biol. Chem.* 282, 30794–30803.
- Nava, G.M., Friedrichsen, H.J., and Stappenbeck, T.S. (2011). Spatial organization of intestinal microbiota in the mouse ascending colon. *ISME J.* 5, 627–638.
- Navarro-Garcia, F., Gutierrez-Jimenez, J., Garcia-Tovar, C., Castro, L.A., Salazar-Gonzalez, H., and Cordova, V. (2010). Pic, an autotransporter protein secreted by different pathogens in the Enterobacteriaceae family, is a potent mucus secretagogue. *Infect. Immun.* 78, 4101–4109.
- NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) (2016). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19·2 million participants. *Lancet Lond. Engl.* 387, 1377–1396.
- Needham, B.D., and Trent, M.S. (2013). Fortifying the barrier: the impact of lipid A remodelling on bacterial pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 467–481.
- Neels, J.G., Badeanlou, L., Hester, K.D., and Samad, F. (2009). Keratinocyte-derived chemokine in obesity: expression, regulation, and role in adipose macrophage infiltration and glucose homeostasis. *J. Biol. Chem.* 284, 20692–20698.
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono, C., Mullany, E.C., Biryukov, S., Abbafati, C., Abera, S.F., et al. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet* 384, 766–781.
- Niessen, C.M. (2007). Tight junctions/adherens junctions: Basic structure and function. *J. Invest. Dermatol.* 127, 2525–2532.
- Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Eto, K., Yamashita, H., Ohsugi, M., Otsu, M., Hara, K., Ueki, K., Sugiura, S., et al. (2009). CD8<sup>+</sup> effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat. Med.* 15, 914–920.
- Nylander, A., and Hafler, D.A. (2012). Multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.* 122, 1180–1188.
- Odegaard, J.I., Ricardo-Gonzalez, R.R., Goforth, M.H., Morel, C.R., Subramanian, V., Mukundan, L., Eagle, A.R., Vats, D., Brombacher, F., Ferrante, A.W., et al. (2007). Macrophage-specific PPAR $\gamma$  controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature* 447, 1116–1120.
- Oh, D.Y., Walenta, E., Akiyama, T.E., Lagakos, W.S., Lackey, D., Pessentheiner, A.R., Sasik, R., Hah, N., Chi, T.J., Cox, J.M., et al. (2014). A Gpr120-selective agonist improves insulin resistance and chronic inflammation in obese mice. *Nat. Med.* 20, 942–947.

- Okamoto, N., Kanie, O., Huang, Y.-Y., Fujii, R., Watanabe, H., and Shimamura, M. (2005). Synthetic alpha-mannosyl ceramide as a potent stimulant for an NKT cell repertoire bearing the invariant Valpha19-Jalpha26 TCR alpha chain. *Chem. Biol.* *12*, 677–683.
- Oltz, E.M., Yancopoulos, G.D., Morrow, M.A., Rolink, A., Lee, G., Wong, F., Kaplan, K., Gillis, S., Melchers, F., and Alt, F.W. (1992). A novel regulatory myosin light chain gene distinguishes pre-B cell subsets and is IL-7 inducible. *EMBO J.* *11*, 2759–2767.
- Ottman, N., Smidt, H., de Vos, W.M., and Belzer, C. (2012). The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front. Cell. Infect. Microbiol.* *2*, UNSP 104.
- Pabst, O., Herbrand, H., Worbs, T., Friedrichsen, M., Yan, S., Hoffmann, M.W., Körner, H., Bernhardt, G., Pabst, R., and Förster, R. (2005). Cryptopatches and isolated lymphoid follicles: dynamic lymphoid tissues dispensable for the generation of intraepithelial lymphocytes. *Eur. J. Immunol.* *35*, 98–107.
- Pabst, O., Herbrand, H., Friedrichsen, M., Velaga, S., Dorsch, M., Bernhardt, G., Worbs, T., Macpherson, A.J., and Förster, R. (2006). Adaptation of solitary intestinal lymphoid tissue in response to microbiota and chemokine receptor CCR7 signaling. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *177*, 6824–6832.
- Pajvani, U.B., Trujillo, M.E., Combs, T.P., Iyengar, P., Jelicks, L., Roth, K.A., Kitsis, R.N., and Scherer, P.E. (2005). Fat apoptosis through targeted activation of caspase 8: a new mouse model of inducible and reversible lipodystrophy. *Nat. Med.* *11*, 797–803.
- Palm, N.W., de Zoete, M.R., Cullen, T.W., Barry, N.A., Stefanowski, J., Hao, L., Degnan, P.H., Hu, J., Peter, I., Zhang, W., et al. (2014). Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease. *Cell* *158*, 1000–1010.
- Park, J., Morley, T.S., Kim, M., Clegg, D.J., and Scherer, P.E. (2014). Obesity and cancer--mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat. Rev. Endocrinol.* *10*, 455–465.
- Parra-Cuadrado, J.F., Navarro, P., Mirones, I., Setién, F., Oteo, M., and Martínez-Naves, E. (2000). A study on the polymorphism of human MHC class I-related MR1 gene and identification of an MR1-like pseudogene. *Tissue Antigens* *56*, 170–172.
- Patel, O., Kjer-Nielsen, L., Le Nours, J., Eckle, S.B.G., Birkinshaw, R., Beddoe, T., Corbett, A.J., Liu, L., Miles, J.J., Meehan, B., et al. (2013). Recognition of vitamin B metabolites by mucosal-associated invariant T cells. *Nat. Commun.* *4*, 2142.
- Patsouris, D., Li, P.-P., Thapar, D., Chapman, J., Olefsky, J.M., and Neels, J.G. (2008). Ablation of CD11c-Positive Cells Normalizes Insulin Sensitivity in Obese Insulin Resistant Animals. *Cell Metab.* *8*, 301–309.
- Pearce, E.L., and Pearce, E.J. (2013). Metabolic pathways in immune cell activation and quiescence. *Immunity* *38*, 633–643.
- Pédron, T., Mulet, C., Dauga, C., Frangeul, L., Chervaux, C., Grompone, G., and Sansonetti, P.J. (2012). A crypt-specific core microbiota resides in the mouse colon. *MBio* *3*.

Pelaseyed, T., Bergström, J.H., Gustafsson, J.K., Ermund, A., Birchenough, G.M.H., Schütte, A., van der Post, S., Svensson, F., Rodríguez-Piñeiro, A.M., Nyström, E.E.L., et al. (2014). The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunol. Rev.* *260*, 8–20.

Penders, J., Thijs, C., Vink, C., Stelma, F.F., Snijders, B., Kummeling, I., van den Brandt, P.A., and Stobberingh, E.E. (2006). Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* *118*, 511–521.

Pendyala, S., Neff, L.M., Suárez-Fariñas, M., and Holt, P.R. (2011). Diet-induced weight loss reduces colorectal inflammation: implications for colorectal carcinogenesis. *Am. J. Clin. Nutr.* *93*, 234–242.

Peterfalvi, A., Gomori, E., Magyarlaki, T., Pal, J., Banati, M., Javorhazy, A., Szekeres-Bartho, J., Szereday, L., and Illes, Z. (2008). Invariant V alpha 7.2-J alpha 33 TCR is expressed in human kidney and brain tumors indicating infiltration by mucosal-associated invariant T (MAIT) cells. *Int. Immunol.* *20*, 1517–1525.

Peterson, L.W., and Artis, D. (2014). Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.* *14*, 141–153.

Peterson, D.A., McNulty, N.P., Guruge, J.L., and Gordon, J.I. (2007). IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell Host Microbe* *2*, 328–339.

Peterson, D.A., Planer, J.D., Guruge, J.L., Xue, L., Downey-Virgin, W., Goodman, A.L., Seedorf, H., and Gordon, J.I. (2015). Characterizing the interactions between a naturally primed immunoglobulin A and its conserved *Bacteroides thetaiotaomicron* species-specific epitope in gnotobiotic mice. *J. Biol. Chem.* *290*, 12630–12649.

Pham, T.A.N., Clare, S., Goulding, D., Arasteh, J.M., Stares, M.D., Browne, H.P., Keane, J.A., Page, A.J., Kumasaka, N., Kane, L., et al. (2014). Epithelial IL-22RA1-mediated fucosylation promotes intestinal colonization resistance to an opportunistic pathogen. *Cell Host Microbe* *16*, 504–516.

Pickard, J.M., Maurice, C.F., Kinnebrew, M.A., Abt, M.C., Schenten, D., Golovkina, T.V., Bogatyrev, S.R., Ismagilov, R.F., Pamer, E.G., Turnbaugh, P.J., et al. (2014). Rapid fucosylation of intestinal epithelium sustains host-commensal symbiosis in sickness. *Nature* *514*, 638–641.

Pischon, T., Boeing, H., Hoffmann, K., Bergmann, M., Schulze, M.B., Overvad, K., van der Schouw, Y.T., Spencer, E., Moons, K.G.M., Tjønneland, A., et al. (2008). General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. *N. Engl. J. Med.* *359*, 2105–2120.

Png, C.W., Lindén, S.K., Gilshenan, K.S., Zoetendal, E.G., McSweeney, C.S., Sly, L.I., McGuckin, M.A., and Florin, T.H.J. (2010). Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria. *Am. J. Gastroenterol.* *105*, 2420–2428.

Porcelli, S., Yockey, C.E., Brenner, M.B., and Balk, S.P. (1993). Analysis of T cell antigen receptor (TCR) expression by human peripheral blood CD4-8- alpha/beta T cells demonstrates preferential use of several V beta genes and an invariant TCR alpha chain. *J. Exp. Med.* *178*, 1–16.

- Prieditis, H., and Adamson, I.Y. (1996). Alveolar macrophage kinetics and multinucleated giant cell formation after lung injury. *J. Leukoc. Biol.* *59*, 534–538.
- Prins, J.B., and O’rahilly, S. (1997). Regulation of Adipose Cell Number in Man. *Clin. Sci.* *92*, 3–11.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., et al. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* *464*, 59–U70.
- Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J., Zhang, F., Liang, S., Zhang, W., Guan, Y., Shen, D., et al. (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* *490*, 55–60.
- Qiu, J., Guo, X., Chen, Z.-M.E., He, L., Sonnenberg, G.F., Artis, D., Fu, Y.-X., and Zhou, L. (2013). Group 3 innate lymphoid cells inhibit T-cell-mediated intestinal inflammation through aryl hydrocarbon receptor signaling and regulation of microflora. *Immunity* *39*, 386–399.
- Rahimpour, A., Koay, H.F., Enders, A., Clanchy, R., Eckle, S.B.G., Meehan, B., Chen, Z., Whittle, B., Liu, L., Fairlie, D.P., et al. (2015). Identification of phenotypically and functionally heterogeneous mouse mucosal-associated invariant T cells using MR1 tetramers. *J. Exp. Med.* *212*, 1095–1108.
- Ramakrishna, B.S. (2013). Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *J. Gastroenterol. Hepatol.* *28 Suppl 4*, 9–17.
- Ransohoff, R.M. (2007). Natalizumab for Multiple Sclerosis. *N. Engl. J. Med.* *356*, 2622–2629.
- Rausch, M.E., Weisberg, S., Vardhana, P., and Tortoriello, D.V. (2008). Obesity in C57BL/6J mice is characterized by adipose tissue hypoxia and cytotoxic T-cell infiltration. *Int. J. Obes.* *2005 32*, 451–463.
- Raverdeau, M., and Mills, K.H.G. (2014). Modulation of T cell and innate immune responses by retinoic Acid. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *192*, 2953–2958.
- Rawls, J.F., Mahowald, M.A., Ley, R.E., and Gordon, J.I. (2006). Reciprocal Gut Microbiota Transplants from Zebrafish and Mice to Germ-free Recipients Reveal Host Habitat Selection. *Cell* *127*, 423–433.
- Reantragoon, R., Kjer-Nielsen, L., Patel, O., Chen, Z., Illing, P.T., Bhati, M., Kostenko, L., Bharadwaj, M., Meehan, B., Hansen, T.H., et al. (2012). Structural insight into MR1-mediated recognition of the mucosal associated invariant T cell receptor. *J. Exp. Med.* *209*, 761–774.
- Reantragoon, R., Corbett, A.J., Sakala, I.G., Gherardin, N.A., Furness, J.B., Chen, Z., Eckle, S.B.G., Uldrich, A.P., Birkinshaw, R.W., Patel, O., et al. (2013). Antigen-loaded MR1 tetramers define T cell receptor heterogeneity in mucosal-associated invariant T cells. *J. Exp. Med.* *210*, 2305–2320.

- Rehman, A.G., Soerjomataram, I., Tyson, M., Egger, M., Zwahlen, M., Coebergh, J.W., and Buchan, I. (2010). Incident cancer burden attributable to excess body mass index in 30 European countries. *Int. J. Cancer* *126*, 692–702.
- Reynders, A., Yessaad, N., Vu Manh, T.-P., Dalod, M., Fenis, A., Aubry, C., Nikitas, G., Escalière, B., Renaud, J.C., Dussurget, O., et al. (2011). Identity, regulation and in vivo function of gut NKp46+ROR $\gamma$ t+ and NKp46+ROR $\gamma$ t- lymphoid cells. *EMBO J.* *30*, 2934–2947.
- Ridaura, V.K., Faith, J.J., Rey, F.E., Cheng, J., Duncan, A.E., Kau, A.L., Griffin, N.W., Lombard, V., Henrissat, B., Bain, J.R., et al. (2013). Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* *341*, 1241214.
- Riegert, P., Wanner, V., and Bahram, S. (1998). Genomics, isoforms, expression, and phylogeny of the MHC class I-related MR1 gene. *J. Immunol. Baltim. Md* *1950* *161*, 4066–4077.
- Rocha, V.Z., Folco, E.J., Sukhova, G., Shimizu, K., Gotsman, I., Vernon, A.H., and Libby, P. (2008). Interferon-gamma, a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: a role for adaptive immunity in obesity. *Circ. Res.* *103*, 467–476.
- Rogier, E.W., Frantz, A.L., Bruno, M.E.C., Wedlund, L., Cohen, D.A., Stromberg, A.J., and Kaetzel, C.S. (2014). Secretory antibodies in breast milk promote long-term intestinal homeostasis by regulating the gut microbiota and host gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *111*, 3074–3079.
- Rotter, V., Nagaev, I., and Smith, U. (2003). Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J. Biol. Chem.* *278*, 45777–45784.
- Round, J.L., and Mazmanian, S.K. (2009). The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* *9*, 313–323.
- Round, J.L., and Mazmanian, S.K. (2010). Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *107*, 12204–12209.
- Round, J.L., Lee, S.M., Li, J., Tran, G., Jabri, B., Chatila, T.A., and Mazmanian, S.K. (2011). The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science* *332*, 974–977.
- Saberi, M., Woods, N.-B., de Luca, C., Schenk, S., Lu, J.C., Bandyopadhyay, G., Verma, I.M., and Olefsky, J.M. (2009). Hematopoietic cell-specific deletion of toll-like receptor 4 ameliorates hepatic and adipose tissue insulin resistance in high-fat-fed mice. *Cell Metab.* *10*, 419–429.
- Saenz, S.A., Siracusa, M.C., Monticelli, L.A., Ziegler, C.G.K., Kim, B.S., Brestoff, J.R., Peterson, L.W., Wherry, E.J., Goldrath, A.W., Bhandoola, A., et al. (2013). IL-25 simultaneously elicits distinct populations of innate lymphoid cells and multipotent progenitor type 2 (MPPTy2) cells. *J. Exp. Med.* *210*, 1823–1837.



- Sala, P.C., Torrinas, R.S., Heymsfield, S.B., and Waitzberg, D.L. (2012). Type 2 Diabetes Mellitus: A Possible Surgically Reversible Intestinal Dysfunction. *Obes. Surg.* *22*, 167–176.
- Samuel, B.S., Shaito, A., Motoike, T., Rey, F.E., Backhed, F., Manchester, J.K., Hammer, R.E., Williams, S.C., Crowley, J., Yanagisawa, M., et al. (2008). Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *105*, 16767–16772.
- Sanchez-Gurmaches, J., Hung, C.-M., and Guertin, D.A. (2016). Emerging Complexities in Adipocyte Origins and Identity. *Trends Cell Biol.* *26*, 313.
- Sano, T., Huang, W., Hall, J.A., Yang, Y., Chen, A., Gavzy, S.J., Lee, J.-Y., Ziel, J.W., Miraldi, E.R., Domingos, A.I., et al. An IL-23R/IL-22 Circuit Regulates Epithelial Serum Amyloid A to Promote Local Effector Th17 Responses. *Cell*.
- Savage, D.C. (1969). Microbial interference between indigenous yeast and lactobacilli in the rodent stomach. *J. Bacteriol.* *98*, 1278–1283.
- Savage, D.C. (1977). Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract. *Annu. Rev. Microbiol.* *31*, 107–133.
- Savage, D.C., and Blumershine, R.V. (1974). Surface-surface associations in microbial communities populating epithelial habitats in the murine gastrointestinal ecosystem: scanning electron microscopy. *Infect. Immun.* *10*, 240–250.
- Savage, A.K., Constantinides, M.G., Han, J., Picard, D., Martin, E., Li, B., Lantz, O., and Bendelac, A. (2008). The transcription factor PLZF directs the effector program of the NKT cell lineage. *Immunity* *29*, 391–403.
- Sawa, S., Lochner, M., Satoh-Takayama, N., Dulauroy, S., Bérard, M., Kleinschek, M., Cua, D., Di Santo, J.P., and Eberl, G. (2011). ROR $\gamma$ <sup>+</sup> innate lymphoid cells regulate intestinal homeostasis by integrating negative signals from the symbiotic microbiota. *Nat. Immunol.* *12*, 320–326.
- Scheja, L., Heese, B., and Seedorf, K. (2011). Beneficial effects of IKK $\epsilon$ -deficiency on body weight and insulin sensitivity are lost in high fat diet-induced obesity in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *407*, 288–294.
- Schnupf, P., Gaboriau-Routhiau, V., Gros, M., Friedman, R., Moya-Nilges, M., Nigro, G., Cerf-Bensussan, N., and Sansonetti, P.J. (2015). Growth and host interaction of mouse segmented filamentous bacteria in vitro. *Nature* *520*, 99–103.
- Schwartz, A., Taras, D., Schaefer, K., Beijer, S., Bos, N.A., Donus, C., and Hardt, P.D. (2010). Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects. *Obesity* *18*, 190–195.
- Seach, N., Guerri, L., Bourhis, L.L., Mburu, Y., Cui, Y., Bessoles, S., Soudais, C., and Lantz, O. (2013). Double Positive Thymocytes Select Mucosal-Associated Invariant T Cells. *J. Immunol.* *191*, 6002–6009.
- Sell, H., Habich, C., and Eckel, J. (2012). Adaptive immunity in obesity and insulin resistance. *Nat. Rev. Endocrinol.* *8*, 709–716.

- Sellayah, D., Cagampang, F.R., and Cox, R.D. (2014). On the evolutionary origins of obesity: a new hypothesis. *Endocrinology* *155*, 1573–1588.
- Serriari, N.-E., Eoche, M., Lamotte, L., Lion, J., Fumery, M., Marcelo, P., Chatelain, D., Barre, A., Nguyen-Khac, E., Lantz, O., et al. (2014). Innate mucosal-associated invariant T (MAIT) cells are activated in inflammatory bowel diseases. *Clin. Exp. Immunol.* *176*, 266–274.
- Shan, M., Gentile, M., Yeiser, J.R., Walland, A.C., Bornstein, V.U., Chen, K., He, B., Cassis, L., Bigas, A., Cols, M., et al. (2013). Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. *Science* *342*, 447–453.
- Shang, L., Fukata, M., Thirunarayanan, N., Martin, A.P., Arnaboldi, P., Maussang, D., Berin, C., Unkeless, J.C., Mayer, L., Abreu, M.T., et al. (2008). Toll-like receptor signaling in small intestinal epithelium promotes B-cell recruitment and IgA production in lamina propria. *Gastroenterology* *135*, 529–538.
- Sharma, P.K., Wong, E.B., Napier, R.J., Bishai, W.R., Ndung'u, T., Kasprovicz, V.O., Lewinsohn, D.A., Lewinsohn, D.M., and Gold, M.C. (2015). High expression of CD26 accurately identifies human bacteria-reactive MR1-restricted MAIT cells. *Immunology* *145*, 443.
- Shi, C., and Pamer, E.G. (2011). Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* *11*, 762–774.
- Shi, F.-D., Ljunggren, H.-G., La Cava, A., and Van Kaer, L. (2011). Organ-specific features of natural killer cells. *Nat. Rev. Immunol.* *11*, 658–671.
- Shi, H., Kokoeva, M.V., Inouye, K., Tzamelis, I., Yin, H., and Flier, J.S. (2006a). TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest.* *116*, 3015–3025.
- Shi, H., Kokoeva, M.V., Inouye, K., Tzamelis, I., Yin, H., and Flier, J.S. (2006b). TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest.* *116*, 3015–3025.
- Singh, R.K., Kumar, P., and Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *C. R. Biol.* *340*, 87–108.
- Smith, P.M., Howitt, M.R., Panikov, N., Michaud, M., Gallini, C.A., Bohlooly-Y, M., Glickman, J.N., and Garrett, W.S. (2013). The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* *341*, 569–573.
- Sonnenberg, G.F., Monticelli, L.A., Alenghat, T., Fung, T.C., Hutnick, N.A., Kunisawa, J., Shibata, N., Grunberg, S., Sinha, R., Zahm, A.M., et al. (2012). Innate lymphoid cells promote anatomical containment of lymphoid-resident commensal bacteria. *Science* *336*, 1321–1325.
- Soudais, C., Samassa, F., Sarkis, M., Bourhis, L.L., Bessoles, S., Blanot, D., Hervé, M., Schmidt, F., Mengin-Lecreux, D., and Lantz, O. (2015). In Vitro and In Vivo Analysis of the Gram-Negative Bacteria-Derived Riboflavin Precursor Derivatives Activating Mouse MAIT Cells. *J. Immunol.* 1403224.

- Spahn, T.W., Herbst, H., Rennert, P.D., Lügering, N., Maaser, C., Kraft, M., Fontana, A., Weiner, H.L., Domschke, W., and Kucharzik, T. (2002). Induction of colitis in mice deficient of Peyer's patches and mesenteric lymph nodes is associated with increased disease severity and formation of colonic lymphoid patches. *Am. J. Pathol.* *161*, 2273–2282.
- Spalding, K.L., Arner, E., Westermark, P.O., Bernard, S., Buchholz, B.A., Bergmann, O., Blomqvist, L., Hoffstedt, J., Näslund, E., Britton, T., et al. (2008). Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* *453*, 783–787.
- Stevens, J., Couper, D., Pankow, J., Folsom, A.R., Duncan, B.B., Nieto, F.J., Jones, D., and Tyroler, H.A. (2001). Sensitivity and Specificity of Anthropometrics for the Prediction of Diabetes in a Biracial Cohort. *Obes. Res.* *9*, 696–705.
- Stienstra, R., van Diepen, J.A., Tack, C.J., Zaki, M.H., van de Veerdonk, F.L., Perera, D., Neale, G.A., Hooiveld, G.J., Hijmans, A., Vroegrijk, I., et al. (2011). Inflammasome is a central player in the induction of obesity and insulin resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *108*, 15324–15329.
- Stockinger, B., Veldhoen, M., and Martin, B. (2007). Th17 T cells: linking innate and adaptive immunity. *Semin. Immunol.* *19*, 353–361.
- Strowig, T., Henao-Mejia, J., Elinav, E., and Flavell, R. (2012). Inflammasomes in health and disease. *Nature* *481*, 278–286.
- Suffia, I., Reckling, S.K., Salay, G., and Belkaid, Y. (2005). A role for CD103 in the retention of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg and control of *Leishmania major* infection. *J. Immunol. Baltim. Md* *1950* *174*, 5444–5455.
- Sugawara, R., Lee, E.-J., Jang, M.S., Jeun, E.-J., Hong, C.-P., Kim, J.-H., Park, A., Yun, C.H., Hong, S.-W., Kim, Y.-M., et al. (2016). Small intestinal eosinophils regulate Th17 cells by producing IL-1 receptor antagonist. *J. Exp. Med.* *213*, 555–567.
- Sumarac-Dumanovic, M., Stevanovic, D., Ljubic, A., Jorga, J., Simic, M., Stamenkovic-Pejkovic, D., Starcevic, V., Trajkovic, V., and Micic, D. (2009). Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int. J. Obes.* *33*, 151–156.
- Sun, C.-M., Hall, J.A., Blank, R.B., Bouladoux, N., Oukka, M., Mora, J.R., and Belkaid, Y. (2007). Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 Treg cells via retinoic acid. *J. Exp. Med.* *204*, 1775–1785.
- Sun, Z., Unutmaz, D., Zou, Y.-R., Sunshine, M.J., Pierani, A., Brenner-Morton, S., Mebius, R.E., and Littman, D.R. (2000). Requirement for ROR $\gamma$  in Thymocyte Survival and Lymphoid Organ Development. *Science* *288*, 2369–2373.
- Sundrud, M.S., Koralov, S.B., Feuerer, M., Calado, D.P., Kozhaya, A.E., Rhule-Smith, A., Lefebvre, R.E., Unutmaz, D., Mazitschek, R., Waldner, H., et al. (2009). Halofuginone inhibits TH17 cell differentiation by activating the amino acid starvation response. *Science* *324*, 1334–1338.
- Sundström, P., Ahlmanner, F., Akéus, P., Sundquist, M., Alsen, S., Yrlid, U., Börjesson, L., Sjöling, Å., Gustavsson, B., Wong, S.B.J., et al. (2015). Human Mucosa-Associated Invariant

- T Cells Accumulate in Colon Adenocarcinomas but Produce Reduced Amounts of IFN- $\gamma$ . *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *195*, 3472–3481.
- Swidsinski, A., Weber, J., Loening-Baucke, V., Hale, L.P., and Lochs, H. (2005a). Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *J. Clin. Microbiol.* *43*, 3380–3389.
- Swidsinski, A., Loening-Baucke, V., Lochs, H., and Hale, L.-P. (2005b). Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J. Gastroenterol.* *11*, 1131–1140.
- Tacke, P.J., Teusink, B., Jong, M.C., Harats, D., Havekes, L.M., van Dijk, K.W., and Hofker, M.H. (2000). LDL receptor deficiency unmasks altered VLDL triglyceride metabolism in VLDL receptor transgenic and knockout mice. *J. Lipid Res.* *41*, 2055–2062.
- Tada, T., Yamamura, S., Kuwano, Y., and Abo, T. (1996). Level of myelopoiesis in the bone marrow is influenced by intestinal flora. *Cell. Immunol.* *173*, 155–161.
- Tan, J.T., Dudl, E., LeRoy, E., Murray, R., Sprent, J., Weinberg, K.I., and Surh, C.D. (2001). IL-7 is critical for homeostatic proliferation and survival of naive T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *98*, 8732–8737.
- Tanaka, Y., Imai, T., Baba, M., Ishikawa, I., Uehira, M., Nomiya, H., and Yoshie, O. (1999). Selective expression of liver and activation-regulated chemokine (LARC) in intestinal epithelium in mice and humans. *Eur. J. Immunol.* *29*, 633–642.
- Tang, X.-Z., Jo, J., Tan, A.T., Sandalova, E., Chia, A., Tan, K.C., Lee, K.H., Gehring, A.J., De Libero, G., and Bertolotti, A. (2013). IL-7 licenses activation of human liver intrasinusoidal mucosal-associated invariant T cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *190*, 3142–3152.
- Tanti, J.-F., and Jager, J. (2009). Cellular mechanisms of insulin resistance: role of stress-regulated serine kinases and insulin receptor substrates (IRS) serine phosphorylation. *Curr. Opin. Pharmacol.* *9*, 753–762.
- Tap, J., Mondot, S., Levenez, F., Pelletier, E., Caron, C., Furet, J.-P., Ugarte, E., Munoz-Tamayo, R., Paslier, D.L.E., Nalin, R., et al. (2009). Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environ. Microbiol.* *11*, 2574–2584.
- Teunissen, M.B.M., Yerezenko, N.G., Baeten, D.L.P., Chielie, S., Spuls, P.I., de Rie, M.A., Lantz, O., and Res, P.C.M. (2014). The IL-17A-producing CD8<sup>+</sup> T-cell population in psoriatic lesional skin comprises mucosa-associated invariant T cells and conventional T cells. *J. Invest. Dermatol.* *134*, 2898–2907.
- Thaler, J.P., and Cummings, D.E. (2009). Hormonal and Metabolic Mechanisms of Diabetes Remission after Gastrointestinal Surgery. *Endocrinology* *150*, 2518–2525.
- Thorburn, A.N., Macia, L., and Mackay, C.R. (2014). Diet, metabolites, and “western-lifestyle” inflammatory diseases. *Immunity* *40*, 833–842.
- Thornton, A.M., Korty, P.E., Tran, D.Q., Wohlfert, E.A., Murray, P.E., Belkaid, Y., and Shevach, E.M. (2010). Expression of Helios, an Ikaros Transcription Factor Family Member,

Differentiates Thymic-Derived from Peripherally Induced Foxp3(+) T Regulatory Cells. *J. Immunol.* *184*, 3433–3441.

Tilloy, F., Treiner, E., Park, S.-H., Garcia, C., Lemonnier, F., Salle, H. de la, Bendelac, A., Bonneville, M., and Lantz, O. (1999). An Invariant T Cell Receptor  $\alpha$  Chain Defines a Novel TAP-independent Major Histocompatibility Complex Class Ib–restricted  $\alpha/\beta$  T Cell Subpopulation in Mammals. *J. Exp. Med.* *189*, 1907–1921.

Tourniaire, F., Romier-Crouzet, B., Lee, J.H., Marcotorchino, J., Gouranton, E., Salles, J., Malezet, C., Astier, J., Darmon, P., Blouin, E., et al. (2013). Chemokine Expression in Inflamed Adipose Tissue Is Mainly Mediated by NF- $\kappa$ B. *PloS One* *8*, e66515.

Toyosaki-Maeda, T., Takano, H., Tomita, T., Tsuruta, Y., Maeda-Tanimura, M., Shimaoka, Y., Takahashi, T., Itoh, T., Suzuki, R., and Ochi, T. (2001). Differentiation of monocytes into multinucleated giant bone-resorbing cells: two-step differentiation induced by nurse-like cells and cytokines. *Arthritis Res. Ther.* *3*, 306.

Trayhurn, P., and Wood, I.S. (2004a). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br. J. Nutr.* *92*, 347–355.

Trayhurn, P., and Wood, I.S. (2004b). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br. J. Nutr.* *92*, 347–355.

Treiner, E., Duban, L., Bahram, S., Radosavljevic, M., Wanner, V., Tilloy, F., Affaticati, P., Gilfillan, S., and Lantz, O. (2003). Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature* *422*, 164–169.

Trompette, A., Gollwitzer, E.S., Yadava, K., Sichelstiel, A.K., Sprenger, N., Ngom-Bru, C., Blanchard, C., Junt, T., Nicod, L.P., Harris, N.L., et al. (2014). Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat. Med.* *20*, 159–166.

Troy, E.B., and Kasper, D.L. (2010). Beneficial effects of *Bacteroides fragilis* polysaccharides on the immune system. *Front. Biosci.-Landmark* *15*, 25–34.

Troy, S., Soty, M., Ribeiro, L., Laval, L., Migrenne, S., Fioramonti, X., Pillot, B., Fauveau, V., Aubert, R., Viollet, B., et al. (2008). Intestinal Gluconeogenesis Is a Key Factor for Early Metabolic Changes after Gastric Bypass but Not after Gastric Lap-Band in Mice. *Cell Metab.* *8*, 201–211.

Tsuji, M., Suzuki, K., Kitamura, H., Maruya, M., Kinoshita, K., Ivanov, I.I., Itoh, K., Littman, D.R., and Fagarasan, S. (2008). Requirement for lymphoid tissue-inducer cells in isolated follicle formation and T cell-independent immunoglobulin A generation in the gut. *Immunity* *29*, 261–271.

Tsukamoto, K., Deakin, J.E., Graves, J.A.M., and Hashimoto, K. (2013). Exceptionally high conservation of the MHC class I-related gene, MR1, among mammals. *Immunogenetics* *65*, 115–124.

Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., and Gordon, J.I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* *444*, 1027–1131.

Turnbaugh, P.J., Hamady, M., Yatsunencko, T., Cantarel, B.L., Duncan, A., Ley, R.E., Sogin, M.L., Jones, W.J., Roe, B.A., Affourtit, J.P., et al. (2009). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457, 480–484.

Turtle, C.J., Delrow, J., Joslyn, R.C., Swanson, H.M., Basom, R., Tabellini, L., Delaney, C., Heimfeld, S., Hansen, J.A., and Riddell, S.R. (2011a). Innate signals overcome acquired TCR signaling pathway regulation and govern the fate of human CD161(hi) CD8 $\alpha^+$  semi-invariant T cells. *Blood* 118, 2752–2762.

Turtle, C.J., Delrow, J., Joslyn, R.C., Swanson, H.M., Basom, R., Tabellini, L., Delaney, C., Heimfeld, S., Hansen, J.A., and Riddell, S.R. (2011b). Innate signals overcome acquired TCR signaling pathway regulation and govern the fate of human CD161hi CD8 $\alpha^+$  semi-invariant T cells. *Blood* 118, 2752.

Ussher, J.E., Klenerman, P., and Willberg, C.B. (2014). Mucosal-associated invariant T-cells: new players in anti-bacterial immunity. *Front. Immunol.* 5, 450.

Ussher, J.E., van Wilgenburg, B., Hannaway, R.F., Ruustal, K., Phalora, P., Kurioka, A., Hansen, T.H., Willberg, C.B., Phillips, R.E., and Klenerman, P. (2016). TLR signaling in human antigen-presenting cells regulates MR1-dependent activation of MAIT cells. *Eur. J. Immunol.* 46, 1600–1614.

Vaishnava, S., Yamamoto, M., Severson, K.M., Ruhn, K.A., Yu, X., Koren, O., Ley, R., Wakeland, E.K., and Hooper, L.V. (2011a). The antibacterial lectin RegIII $\gamma$  promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. *Science* 334, 255–258.

Vaishnava, S., Yamamoto, M., Severson, K.M., Ruhn, K.A., Yu, X., Koren, O., Ley, R., Wakeland, E.K., and Hooper, L.V. (2011b). The Antibacterial Lectin RegIII $\gamma$  Promotes the Spatial Segregation of Microbiota and Host in the Intestine. *Science* 334, 255–258.

Vandanmagsar, B., Youm, Y.-H., Ravussin, A., Galgani, J.E., Stadler, K., Mynatt, R.L., Ravussin, E., Stephens, J.M., and Dixit, V.D. (2011). The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat. Med.* 17, 179–188.

Vander Heiden, M.G., Cantley, L.C., and Thompson, C.B. (2009). Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 324, 1029–1033.

Veldhoen, M., and Brucklacher-Waldert, V. (2012). Dietary influences on intestinal immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 12, 696–708.

Veldhoen, M., Hirota, K., Westendorf, A.M., Buer, J., Dumoutier, L., Renault, J.-C., and Stockinger, B. (2008). The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins. *Nature* 453, 106–109.

Vignali, D.A.A., Collison, L.W., and Workman, C.J. (2008). How regulatory T cells work. *Nat. Rev. Immunol.* 8, 523–532.

Virtanen, K.A., Lönnroth, P., Parkkola, R., Peltoniemi, P., Asola, M., Viljanen, T., Tolvanen, T., Knuuti, J., Rönnemaa, T., Huupponen, R., et al. (2002). Glucose Uptake and Perfusion in Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue during Insulin Stimulation in Nonobese and Obese Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 3902–3910.

- Vivier, E., Raulet, D.H., Moretta, A., Caligiuri, M.A., Zitvogel, L., Lanier, L.L., Yokoyama, W.M., and Ugolini, S. (2011). Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science* 331, 44–49.
- Walker, L.J., Kang, Y.-H., Smith, M.O., Tharmalingham, H., Ramamurthy, N., Fleming, V.M., Sahgal, N., Leslie, A., Oo, Y., Geremia, A., et al. (2012). Human MAIT and CD8 $\alpha\alpha$  cells develop from a pool of type-17 precommitted CD8 $^+$  T cells. *Blood* 119, 422–433.
- Wang, R., and Green, D.R. (2012). Metabolic checkpoints in activated T cells. *Nat. Immunol.* 13, 907–915.
- Wang, Q.A., Tao, C., Gupta, R.K., and Scherer, P.E. (2013). Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat. Med.* 19, 1338–1344.
- Wang, X., Ota, N., Manzanillo, P., Kates, L., Zavala-Solorio, J., Eidenschenk, C., Zhang, J., Lesch, J., Lee, W.P., Ross, J., et al. (2014). Interleukin-22 alleviates metabolic disorders and restores mucosal immunity in diabetes. *Nature* 514, 237–241.
- Wang, Y., Li, J., Tang, L., Wang, Y., Charnigo, R., Villiers, W. de, and Eckhardt, E. (2010). T-Lymphocyte Responses to Intestinally Absorbed Antigens Can Contribute to Adipose Tissue Inflammation and Glucose Intolerance during High Fat Feeding. *PLoS ONE* 5.
- Wannamethee, S.G., and Shaper, A.G. (1999). Weight change and duration of overweight and obesity in the incidence of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 22, 1266–1272.
- Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., and Ferrante, A.W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 112, 1796–1808.
- Weisberg, S.P., Hunter, D., Huber, R., Lemieux, J., Slaymaker, S., Vaddi, K., Charo, I., Leibel, R.L., and Ferrante, A.W. (2006). CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J. Clin. Invest.* 116, 115–124.
- Wen, H., Gris, D., Lei, Y., Jha, S., Zhang, L., Huang, M.T.-H., Brickey, W.J., and Ting, J.P.-Y. (2011). Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nat. Immunol.* 12, 408–415.
- Wensveen, F.M., Jelenčić, V., Valentić, S., Šestan, M., Wensveen, T.T., Theurich, S., Glasner, A., Mendrila, D., Štimac, D., Wunderlich, F.T., et al. (2015). NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance. *Nat. Immunol.* 16, 376–385.
- Whaley-Connell, A., and Sowers, J.R. (2017). Obesity and kidney disease: from population to basic science and the search for new therapeutic targets. *Kidney Int.* 92, 313–323.
- Whitehead, J.P., Richards, A.A., Hickman, I.J., Macdonald, G.A., and Prins, J.B. (2006). Adiponectin--a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes. Metab.* 8, 264–280.
- WHO Expert Consultation (2004). Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet Lond. Engl.* 363, 157–163.
- Willing, A., Leach, O.A., Ufer, F., Attfield, K.E., Steinbach, K., Kursawe, N., Piedavent, M., and Friese, M.A. (2014). CD8 $^+$  MAIT cells infiltrate into the CNS and alterations in their

blood frequencies correlate with IL-18 serum levels in multiple sclerosis. *Eur. J. Immunol.* *44*, 3119–3128.

Winer, D.A., Winer, S., Dranse, H.J., and Lam, T.K.T. (2017). Immunologic impact of the intestine in metabolic disease. *J. Clin. Invest.* *127*, 33–42.

Winer, S., Chan, Y., Paltser, G., Truong, D., Tsui, H., Bahrami, J., Dorfman, R., Wang, Y., Zielenski, J., Mastronardi, F., et al. (2009). Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat. Med.* *15*, 921–929.

Winter, S.E., Thiennimitr, P., Winter, M.G., Butler, B.P., Huseby, D.L., Crawford, R.W., Russell, J.M., Bevins, C.L., Adams, L.G., Tsohis, R.M., et al. (2010). Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for *Salmonella*. *Nature* *467*, 426–429.

Wrzosek, L., Miquel, S., Noordine, M.-L., Bouet, S., Chevalier-Curt, M.J., Robert, V., Philippe, C., Bridonneau, C., Cherbuy, C., Robbe-Masselot, C., et al. (2013). *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *Bmc Biol.* *11*, 61.

Wu, D., Molofsky, A.B., Liang, H.-E., Ricardo-Gonzalez, R.R., Jouihan, H.A., Bando, J.K., Chawla, A., and Locksley, R.M. (2011a). Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science* *332*, 243–247.

Wu, G.D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.-Y., Keilbaugh, S.A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W.A., Knight, R., et al. (2011b). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* *334*, 105–108.

Wu, H., Ghosh, S., Perrard, X.D., Feng, L., Garcia, G.E., Perrard, J.L., Sweeney, J.F., Peterson, L.E., Chan, L., Smith, C.W., et al. (2007). T-cell accumulation and regulated on activation, normal T cell expressed and secreted upregulation in adipose tissue in obesity. *Circulation* *115*, 1029–1038.

Wu, H.-J., Ivanov, I.I., Darce, J., Hattori, K., Shima, T., Umesaki, Y., Littman, D.R., Benoist, C., and Mathis, D. (2010). Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. *Immunity* *32*, 815–827.

Wu, J., Boström, P., Sparks, L.M., Ye, L., Choi, J.H., Giang, A.-H., Khandekar, M., Nuutila, P., Schaart, G., Huang, K., et al. (2012a). Beige Adipocytes are a Distinct Type of Thermogenic Fat Cell in Mouse and Human. *Cell* *150*, 366.

Wu, L., Parekh, V.V., Gabriel, C.L., Bracy, D.P., Marks-Shulman, P.A., Tamboli, R.A., Kim, S., Mendez-Fernandez, Y.V., Besra, G.S., Lomenick, J.P., et al. (2012b). Activation of invariant natural killer T cells by lipid excess promotes tissue inflammation, insulin resistance, and hepatic steatosis in obese mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *109*, E1143.

Xu, J., and Gordon, J.I. (2003). Honor thy symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *100*, 10452–10459.

Xu, H., Barnes, G.T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C.J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J.S., Tartaglia, L.A., et al. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* *112*, 1821–1830.



- Yamaguchi, H., Hirai, M., Kurosawa, Y., and Hashimoto, K. (1997). A highly conserved major histocompatibility complex class I-related gene in mammals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *238*, 697–702.
- Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Tsuchida, A., Yokomizo, T., Kita, S., Sugiyama, T., Miyagishi, M., Hara, K., Tsunoda, M., et al. (2003). Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* *423*, 762–769.
- Yamauchi, T., Nio, Y., Maki, T., Kobayashi, M., Takazawa, T., Iwabu, M., Okada-Iwabu, M., Kawamoto, S., Kubota, N., Kubota, T., et al. (2007). Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat. Med.* *13*, 332–339.
- Yan, Y., Jiang, W., Spinetti, T., Tardivel, A., Castillo, R., Bourquin, C., Guarda, G., Tian, Z., Tschopp, J., and Zhou, R. (2013). Omega-3 fatty acids prevent inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Immunity* *38*, 1154–1163.
- Yanagibashi, T., Hosono, A., Oyama, A., Tsuda, M., Suzuki, A., Hachimura, S., Takahashi, Y., Momose, Y., Itoh, K., Hirayama, K., et al. (2013). IgA production in the large intestine is modulated by a different mechanism than in the small intestine: *Bacteroides acidifaciens* promotes IgA production in the large intestine by inducing germinal center formation and increasing the number of IgA<sup>+</sup> B cells. *Immunobiology* *218*, 645–651.
- Yang, D., Chertov, O., Bykovskaia, S.N., Chen, Q., Buffo, M.J., Shogan, J., Anderson, M., Schröder, J.M., Wang, J.M., Howard, O.M., et al. (1999). Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science* *286*, 525–528.
- Ye, J., Gao, Z., Yin, J., and He, Q. (2007). Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *293*, E1118-1128.
- Yeung, M.M.-W., Melgar, S., Baranov, V., Öberg, Å., Danielsson, Å., Hammarström, S., and Hammarström, M.-L. (2000). Characterisation of mucosal lymphoid aggregates in ulcerative colitis: immune cell phenotype and TcR- $\gamma\delta$  expression. *Gut* *47*, 215–227.
- Yoon, M.J., Lee, G.Y., Chung, J.-J., Ahn, Y.H., Hong, S.H., and Kim, J.B. (2006). Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP-activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Diabetes* *55*, 2562–2570.
- Yoshimoto, T., Takeda, K., Tanaka, T., Ohkusu, K., Kashiwamura, S., Okamura, H., Akira, S., and Nakanishi, K. (1998). IL-12 Up-Regulates IL-18 Receptor Expression on T Cells, Th1 Cells, and B Cells: Synergism with IL-18 for IFN- $\gamma$  Production. *J. Immunol.* *161*, 3400–3407.
- Yoshioka, H., Takeda, Y., Matsuda, I., Nakayama, M., Akera, T., Shimizu, T., Nambu, H., Iwasaki, K., Kaneko, K., and Mukubo, M. (1991). Use of drugs during pregnancy in Japanese women. *Bratisl. Lekárske Listy* *92*, 582–585.
- Young, M.H., U'Ren, L., Huang, S., Mallevey, T., Scott-Browne, J., Crawford, F., Lantz, O., Hansen, T.H., Kappler, J., Marrack, P., et al. (2013). MAIT Cell Recognition of MR1 on Bacterially Infected and Uninfected Cells. *PLOS ONE* *8*, e53789.

- Young, P., Arch, J.R., and Ashwell, M. (1984). Brown adipose tissue in the parametrial fat pad of the mouse. *FEBS Lett.* *167*, 10–14.
- Yu, Z.-T., Chen, C., and Newburg, D.S. (2013). Utilization of major fucosylated and sialylated human milk oligosaccharides by isolated human gut microbes. *Glycobiology* *23*, 1281–1292.
- Zabijak, L., Attencourt, C., Guignant, C., Chatelain, D., Marcelo, P., Marolleau, J.-P., and Treiner, E. (2015). Increased tumor infiltration by mucosal-associated invariant T cells correlates with poor survival in colorectal cancer patients. *Cancer Immunol. Immunother.* *64*, 1601–1608.
- Zafirova, B., Wensveen, F.M., Gulin, M., and Polić, B. (2011). Regulation of immune cell function and differentiation by the NKG2D receptor. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* *68*, 3519–3529.
- Zechner, R., Kienesberger, P.C., Haemmerle, G., Zimmermann, R., and Lass, A. (2009). Adipose triglyceride lipase and the lipolytic catabolism of cellular fat stores. *J. Lipid Res.* *50*, 3–21.
- Zeng, W., Pirzgalska, R.M., Pereira, M.M.A., Kubasova, N., Barateiro, A., Seixas, E., Lu, Y.-H., Kozlova, A., Voss, H., Martins, G.G., et al. (2015). Sympathetic neuro-adipose connections mediate leptin-driven lipolysis. *Cell* *163*, 84–94.
- Zhang, N., and Bevan, M.J. (2011). CD8(+) T cells: foot soldiers of the immune system. *Immunity* *35*, 161–168.
- Zhang, H.H., Halbleib, M., Ahmad, F., Manganiello, V.C., and Greenberg, A.S. (2002). Tumor necrosis factor- $\alpha$  stimulates lipolysis in differentiated human Adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP. *Diabetes* *51*, 2929–2935.
- Zheng, C., Zheng, L., Yoo, J.-K., Guo, H., Zhang, Y., Guo, X., Kang, B., Hu, R., Huang, J.Y., Zhang, Q., et al. (2017). Landscape of Infiltrating T Cells in Liver Cancer Revealed by Single-Cell Sequencing. *Cell* *169*, 1342–1356.e16.
- Zhou, S.-S., Li, D., Zhou, Y.-M., Sun, W.-P., and Liu, Q.-G. (2010). B-vitamin consumption and the prevalence of diabetes and obesity among the US adults: population based ecological study. *Bmc Public Health* *10*, 746.
- Zhu, J., and Paul, W.E. (2008). CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* *112*, 1557.
- Zoetendal, E.G., Raes, J., van den Bogert, B., Arumugam, M., Booijink, C.C.G.M., Troost, F.J., Bork, P., Wels, M., de Vos, W.M., and Kleerebezem, M. (2012). The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. *ISME J.* *6*, 1415–1426.
- Zúñiga, L.A., Shen, W.-J., Joyce-Shaikh, B., Pyatnova, E.A., Richards, A.G., Thom, C., Andrade, S.M., Cua, D.J., Kraemer, F.B., and Butcher, E.C. (2010). IL-17 Regulates Adipogenesis, Glucose Homeostasis, and Obesity. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *185*, 6947.



## **Annexe 1**

# **Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients**

# Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients

Isabelle Magalhaes,<sup>1,2,3</sup> Karine Pingris,<sup>1,2,3</sup> Christine Poitou,<sup>4,5,6</sup> Stéphanie Bessoles,<sup>7</sup> Nicolas Venteclef,<sup>4,5</sup> Badr Kiaf,<sup>1,2,3</sup> Lucie Beaudoin,<sup>1,2,3</sup> Jennifer Da Silva,<sup>1,2,3</sup> Omran Allatif,<sup>4,5,6</sup> Jamie Rossjohn,<sup>8,9</sup> Lars Kjer-Nielsen,<sup>10</sup> James McCluskey,<sup>10</sup> Séverine Ledoux,<sup>1,2,3,11</sup> Laurent Genser,<sup>4,5,6</sup> Adriana Torcivia,<sup>12</sup> Claire Soudais,<sup>7</sup> Olivier Lantz,<sup>7</sup> Christian Boitard,<sup>1,2,3,13</sup> Judith Aron-Wisniewsky,<sup>4,5,6</sup> Etienne Larger,<sup>1,2,3,13</sup> Karine Clément,<sup>4,5,6</sup> and Agnès Lehuen<sup>1,2,3,13</sup>

<sup>1</sup>INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France. <sup>2</sup>CNRS, UMR8104, Paris, France. <sup>3</sup>Laboratoire d'Excellence INFLAMEX, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France. <sup>4</sup>Sorbonne Universités, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France. <sup>5</sup>INSERM U1166, Institut de Cardiometabolisme et Nutrition (ICAN), Paris, France. <sup>6</sup>ICAN, Nutrition Department, Assistance Publique–Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital de la Pitié–Salpêtrière, Paris, France. <sup>7</sup>INSERM U932, Institut Curie, Paris, France. <sup>8</sup>ARC, Centre of Excellence in Advanced Molecular Imaging, Monash University, Clayton, Victoria, Australia. <sup>9</sup>Institute of Infection and Immunity, Cardiff University, Cardiff, United Kingdom. <sup>10</sup>Department of Microbiology and Immunology, Peter Doherty Institute for Infection and Immunity, University of Melbourne, Parkville, Victoria, Australia. <sup>11</sup>AP-HP, Service des Explorations Fonctionnelles, Centre de référence de prise en charge de l'obésité, Louis Mourier Hospital, Paris, France. <sup>12</sup>AP-HP, Département de Chirurgie, Pitié–Salpêtrière Hospital, Paris, France. <sup>13</sup>AP-HP, Département de Diabétologie, Cochin Hospital, Paris, France.

**Obesity and type 2 diabetes (T2D) are associated with low-grade inflammation, activation of immune cells, and alterations of the gut microbiota. Mucosal-associated invariant T (MAIT) cells, which are innate-like T cells that recognize bacterial ligands, are present in blood and enriched in mucosal and inflamed tissues. Here, we analyzed MAIT cells in the blood and adipose tissues of patients with T2D and/or severe obesity. We determined that circulating MAIT cell frequency was dramatically decreased in both patient groups, and this population was even undetectable in some obese patients. Moreover, in both patient groups, circulating MAIT cells displayed an activated phenotype that was associated with elevated Th1 and Th17 cytokine production. In obese patients, MAIT cells were more abundant in adipose tissue than in the blood and exhibited a striking IL-17 profile. Bariatric surgery in obese patients not only improved their metabolic parameters but also increased circulating MAIT cell frequency at 3 months after surgery. Similarly, cytokine production by blood MAIT cells was strongly decreased after surgery. This study reveals profound MAIT cell abnormalities in patients harboring metabolic disorders, suggesting their potential role in these pathologies.**

## Introduction

Obesity is associated with low-grade inflammation in adipose tissue (AT) and dysfunctional adipocytes producing inflammatory molecules. The accumulation in AT of immune cells such as macrophages, lymphocytes, neutrophils, and mast cells is thought to participate in obesity and obesity-induced type 2 diabetes (T2D). In contrast, innate immune semi-invariant natural killer T (iNKT) cells are enriched in AT of lean subjects compared with AT of obese patients (1). Indeed, iNKT in AT may exert immunoregulatory functions and influence insulin resistance in murine models (2, 3). Mucosal-associated invariant T (MAIT) cells are a novel subset of innate-like immune cells found in peripheral blood, intestinal mucosa, and abundantly in human liver (4–6). Like iNKT cells, MAIT cells express an invariant T cell receptor  $\alpha$  chain, the Va7.2-J $\alpha$ 33 chain in humans. MAIT cells can produce IFN- $\gamma$ , granzyme B (GrB), and IL-17 (4); are restricted by the major histocompatibility complex class I-related molecule MRI (7); and are activated by cells infected by different microorganisms (8). Vitamin B2 (riboflavin) metabolites produced by bacteria and

yeasts are required to generate MAIT cell-activating ligands (9–12). It has been recently shown that host-derived small molecules, such as methylglyoxal and glyoxal, form with the bacterial riboflavin metabolite 5-A-RU, a potent MAIT cell ligand (13). Interestingly, methylglyoxal levels are increased in diabetic patients (14).

The absence of MAIT cells in the intestinal lamina propria of germ-free mice (7) underlies the role of the gut commensal flora in MAIT cell expansion and/or survival in the periphery. The composition of the gut microbiota is altered in obesity (15, 16) and diabetes (17, 18), impacting the riboflavin pathway, among others. Two conditions that result in weight loss and improved metabolic status, i.e., diet (16) and gastric bypass (19–21), induce a shift of the gut microbiota.

Given the homing capacity of MAIT cells to the gut and their activation by bacterial products, one can speculate that changes in gut microbiota would in turn influence the MAIT cell compartment. Here, we analyzed MAIT cell frequency and cytokine production in T2D patients and in severely or morbidly obese patients before and after weight loss induced by bariatric surgery.

## Results

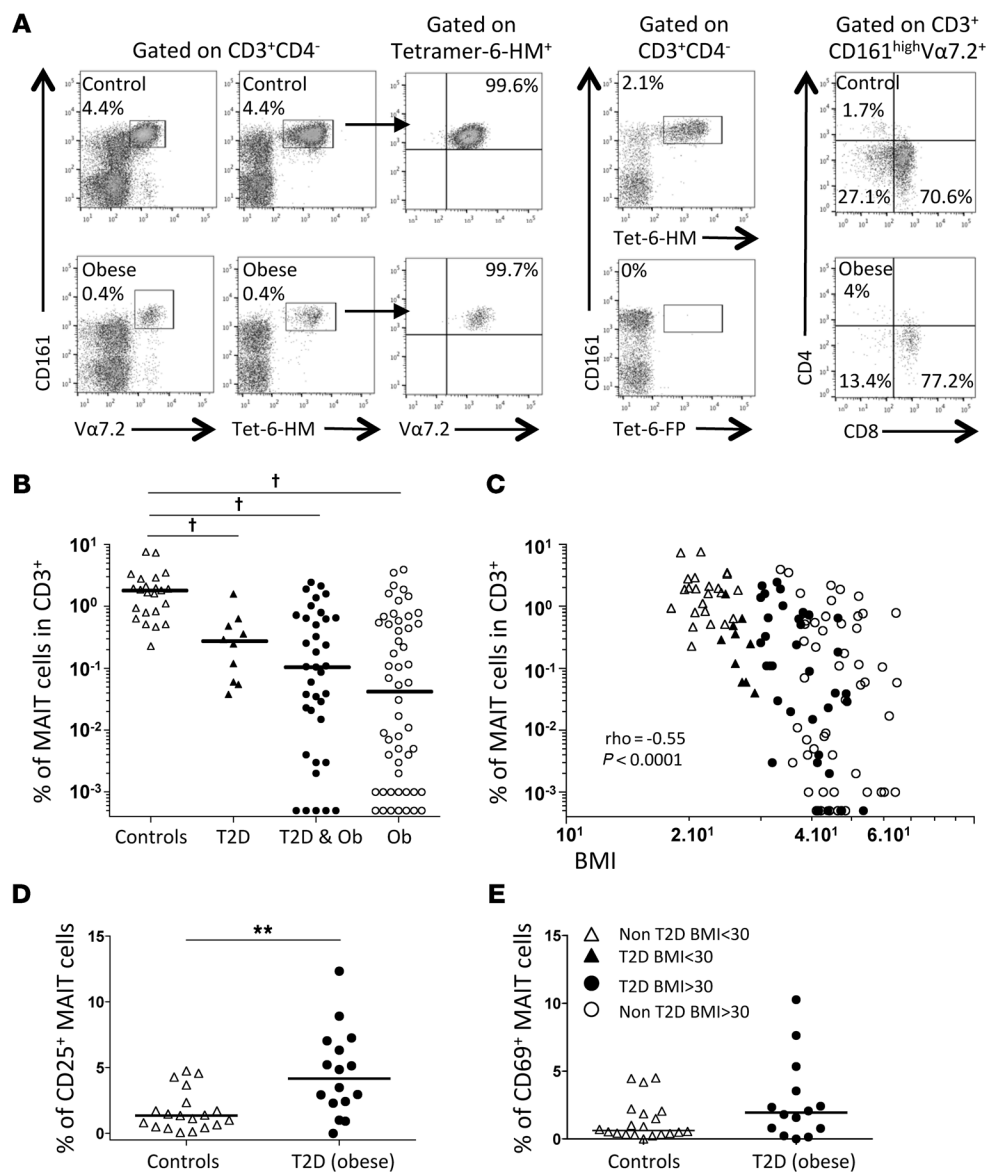
*Blood MAIT cell frequency is decreased in T2D and obesity.* MAIT cells are characterized by the high expression of CD161; thus, we identified MAIT cells as CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD161<sup>hi</sup>Va7.2<sup>+</sup> lymphocytes. The development of MRI-6-HM tetramers specifically detecting

**Authorship note:** Isabelle Magalhaes and Karine Pingris, as well as Karine Clément and Agnès Lehuen, contributed equally to this work.

**Conflict of interest:** The authors have declared that no conflict of interest exists.

**Submitted:** December 29, 2014; **Accepted:** January 15, 2015.

**Reference information:** *J Clin Invest.* 2015;125(4):1752–1762. doi:10.1172/JCI78941.



**Figure 1. Decreased frequency of circulating MAIT cells in T2D and obesity.** (A) Costaining of lean and obese adults' PBMCs with anti-Vα7.2 and anti-CD161 antibodies and with the 6-HM-loaded MR1 tetramer. All the cells binding to the MR1-6-HM tetramer were CD161<sup>hi</sup>Vα7.2<sup>+</sup>, and MAIT cells were stained only by the MR1 tetramer loaded with the 6-HM ligand, and not the 6-FP ligand. MAIT cells were either CD8<sup>+</sup> or double negative. (B) Lower frequencies of circulating MAIT cells were detected in nonobese T2D ( $n = 10$ ), obese (Ob) T2D ( $n = 37$ ), and non-T2D obese patients ( $n = 52$ ) as compared with nondiabetic, non-obese healthy controls ( $n = 23$ ). Note that in 12 obese patients, circulating MAIT cell frequency was below detection limit (<0.001%). Frequencies below 0.001% were arbitrarily displayed at 0.0005 but not included in the median and statistical calculations. † $P < 0.0001$ . Adjusting for age and sex in a linear regression model did not change the significance. (C) Correlation between BMI and MAIT cell frequency ( $n = 122$ ). (D) CD25 expression on MAIT cells in controls ( $n = 19$ ) and T2D obese patients ( $n = 16$ ). (E) CD69 expression on MAIT cells in controls ( $n = 20$ ) and T2D obese patients ( $n = 14$ ). \*\*\* $P < 0.003$ . Mann-Whitney  $U$  test and Spearman's correlation. Straight lines represent medians. BMI is shown as kg/m<sup>2</sup>.

MAIT cells (11) allowed us to confirm that CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD161<sup>hi</sup>Vα7.2<sup>+</sup> cells identified all MAIT cells in healthy individuals and obese patients. Ten individuals with high and low frequencies of MAIT cells were analyzed with MR1-6-HM tetramers (with the MR1-6-FP tetramer used as negative control). With the use of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) that were costained with MR1-6-HM tetramers and anti-Vα7.2 antibodies, our results showed that MR1-6-HM tetramers identified all CD3<sup>+</sup>CD161<sup>hi</sup>Vα7.2<sup>+</sup> cells (Figure 1A). Conversely, all CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD161<sup>hi</sup>Vα7.2<sup>+</sup> cells were stained by MR1-6-HM tetramers (data not shown). The majority of MAIT cells were either CD8<sup>+</sup> or double negative (Figure 1A). We then analyzed MAIT cell frequency in two cohorts of patients: T2D subjects, some of whom were obese (BMI ≥30 kg/m<sup>2</sup>, T2D group); and patients with severe obesity (BMI ≥35 kg/m<sup>2</sup>), candidates for bariatric surgery. These severely obese subjects included some patients with associated T2D. Healthy individuals were also part of the study. Table 1 summarizes clinical characteristics in the three groups. The range of circulating MAIT cell frequency in the healthy controls ranged from 0.2% to 7.6% of CD3<sup>+</sup> cells, with a median fre-

quency of 1.82% (Figure 1B), comparable to previous reports (22–25). Compared with controls, the frequency of circulating MAIT cells in patients was significantly lower. It was even below the detection limit (0.001% of CD3<sup>+</sup> cells) in 12 of 69 (17%) subjects with severe obesity. In patients with detectable MAIT cells, the median MAIT cell frequency was 0.27% in nonobese T2D, 0.10% in obese T2D, and 0.04% in obese non-T2D subjects ( $P < 0.0001$  compared with controls, Figure 1B). Interestingly, the frequency of circulating MAIT cells was negatively associated with subjects' BMI ( $\rho = -0.55$ ,  $P < 0.0001$ , Figure 1C) and, in severely obese patients, positively associated with serum levels of adiponectin, an insulin-sensitizing adipokine ( $n = 57$ ,  $\rho = 0.29$ ,  $P < 0.05$ , data not shown).

Since the decreased circulating MAIT cell frequency may result from activation-induced cell death, we analyzed the expression of activation markers in the T2D group. The expression of CD25 was upregulated in obese T2D patients as compared with healthy controls (median of 4.2% versus 1.3%,  $P < 0.003$ ) (Figure 1D). Of note, there was also a trend toward increased expression of CD69 in T2D patients as compared with controls (median of

**Table 1. Characteristics of healthy individuals and patients whose blood samples were analyzed**

	Controls	T2D group	Severe obese group
<i>n</i>	23	30	69
Age (yr) <sup>A</sup>	38.2 ± 2.8	62.0 ± 2.4	43.9 ± 1.7
Sex, F/M	13/10	14/16	53/14
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>A</sup>	21.9 ± 0.4	31.4 ± 0.9	46.1 ± 0.9
Fat mass (kg) <sup>A</sup>	NA	NA	58.4 ± 1.4
Obesity, <i>n</i> (%)	0	20 (67)	69 (100)
Diabetes, <i>n</i> (%)	0	30 (100)	17 (25)
HbA1C <sup>A</sup>	NA	8.1 ± 0.4	6.2 ± 0.1
Leptin (ng/ml) <sup>A</sup>	NA	NA	80.7 ± 6.2
Adiponectin (μg/ml) <sup>A</sup>	NA	NA	4.2 ± 0.3

<sup>A</sup>Mean ± SEM. NA, not applicable.

1.9% versus 0.6% of MAIT cells) (Figure 1E). Thus, the decreased frequency of MAIT cells in patients was accompanied with an activated phenotype suggesting an abnormal activation of MAIT cells in these metabolic diseases.

**Blood MAIT cells in T2D and severe obesity display a Th17 profile.** We investigated the cytokines IL-17, IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-4, IL-13, and GrB produced by MAIT cells by intracytoplasmic staining (Figure 2A and Supplemental Figure 1; supplemental material available online with this article; doi:10.1172/JCI78941DS1) upon in vitro stimulation either with PMA and ionomycin or with MAIT cell ligands. After PMA-ionomycin stimulation, MAIT cells from T2D patients showed the highest levels of IL-2, GrB, IL-17, IFN- $\gamma$ , and TNF- $\alpha$  production as compared with healthy controls and with obese patients (Figure 2B). In comparison with controls, non-obese T2D patients displayed higher frequencies of MAIT cells producing IL-2 (15.4% vs. 3.0%), GrB (5.9% vs. 0.3%), IL-17 (3.9% vs. 0.7%), and IFN- $\gamma$  (82.1% vs. 43.8%). Significantly increased production of these inflammatory cytokines was also observed in obese T2D patients. However, in obese non-T2D patients, only IL-17 production was significantly increased. In contrast, the frequencies of MAIT cells producing IL-13, IL-10, and IL-4 remained low (median <0.5%) in both controls and patients (Supplemental Figure 1). Of note, there was a negative correlation between the frequency of MAIT cells among CD3<sup>+</sup> cells and the frequency of IL-17-producing MAIT cells (Figure 2C).

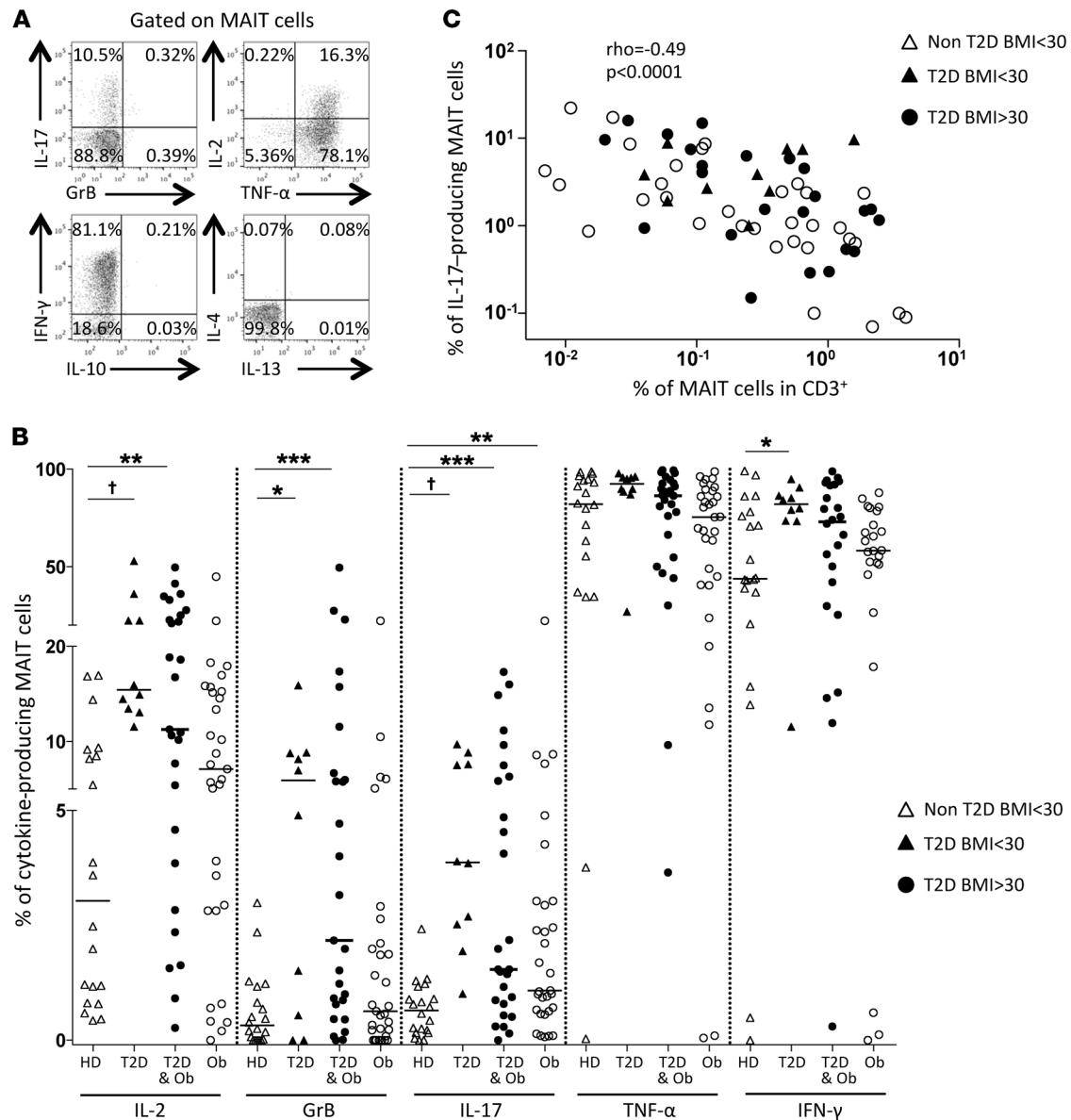
Interestingly, after specific TCR activation, MAIT cells from T2D patients compared with healthy individuals displayed a less-activated phenotype, as shown by a lower expression of CD69 and CD25 (Figure 3A). Moreover, MAIT cells from patients exhibited impaired production of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ . In contrast, the production of IL-17 was higher in patients than in controls. This response was specific for MAIT cells, since it was blocked by MR1 mAb. Together, these results revealed a strong Th17 bias of circulating MAIT cells in both T2D and obese patients (Figure 3B).

**Recruitment of MAIT cells in AT.** Because of the diminished MAIT cell frequency in metabolic disorders, we hypothesized that MAIT cells could be recruited at inflammatory sites. We analyzed MAIT cells in subcutaneous (SC) and omental (OM) AT of obese patients and healthy lean subjects (Figure 4A and Table 2). MAIT

cell frequency among CD3<sup>+</sup> cells between obese and lean OM and SC AT was not significantly different (Figure 4B). Interestingly, MAIT cell frequency in obese patients was significantly higher in the OM AT than in peripheral blood (0.59% vs. 0.06%) (Figure 4B). In most cases, except for 13 obese patients, we could not obtain paired peripheral blood and AT samples. Five patients who did not have detectable circulating MAIT cells exhibited MAIT cells in the OM AT (frequency of 1.6%). For 6 of the 8 remaining patients, MAIT cell frequency was higher in OM AT than in blood (Figure 4C). Of note, the median frequency of MAIT cells expressing CD25 in OM AT, even though not reaching statistical significance, was higher in obese patients as compared with lean subjects (20.7% vs. 9.4%, respectively, Figure 4D). To compare MAIT cells with other T cell subsets, we also analyzed iNKT cells,  $\gamma\delta$ T cells, Tregs, and conventional CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in smaller patient groups (Figure 4E and Supplemental Table 1). This analysis confirmed the decreased circulating MAIT cell frequency in obese patients versus controls; and, as described previously (2), we observed a diminished frequency of circulating iNKT cells in obese patients, whereas there was no differences in the frequency of the other T cell subsets. In OM AT from obese patients, the frequency of MAIT and CD8<sup>+</sup> T cells was significantly increased as compared with the frequency observed in the blood of obese patients, with a similar trend for iNKT cells. Conversely, CD4<sup>+</sup> cells, Tregs and  $\gamma\delta$ T cells were less frequent in OM AT than in the blood of obese patients. These data support a preferential recruitment of MAIT cells in AT of obese patients.

**Elevated production of IL-17 by MAIT cells from AT of obese patients.** As performed in PBMCs, we analyzed MAIT cell cytokine production in AT. Within OM AT, in obese versus lean samples, the frequency of MAIT cells producing GrB (2.2% vs. 0.8%,  $P = 0.04$ ) and, even more strikingly, IL-17 (26.9% vs. 7.5%,  $P = 0.009$ ) was higher, but it was lower for TNF- $\alpha$  (34.0% vs. 68.3%,  $P = 0.02$ ) (Figure 5A). Similar differences were observed in MAIT cell cytokine production between obese and lean SC AT (Figure 5B). Despite the limited number of subjects, we observed that a majority of MAIT cells produced IL-17 in the SC AT of obese patients (76% vs. 14% in lean SC AT). In both OM and SC AT, the frequency of MAIT cells producing IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-10, and IL-13 (data not shown) was not significantly different between lean and obese patients. Of note, in the OM AT of obese patients, the frequency of MAIT cells producing IL-4 was higher (5.0% vs. 0.7%) than in lean subjects (data not shown). The frequency of MAIT cells in OM AT producing IL-17 was much higher than what was observed for CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, and double-negative T cells, which included  $\gamma\delta$ T cells (Figure 5C). Together, these data suggest that MAIT cells are recruited to AT in obese patients, where they display a strong IL-17 profile.

**Influence of AT on MAIT cell phenotype.** In order to better understand the homeostasis of MAIT cells in AT, we analyzed the expression of several markers by MAIT cells after coculture of PBMCs of healthy donors with AT samples from obese patients. Interestingly, the presence of AT dampened the expression level of the survival molecule Bcl-2 in MAIT cell AT in 21 of 22 cocultures performed (Figure 6A). The comparison of Bcl-2 expression in MAIT cells from the blood and the AT of five obese patients showed a similar decrease in Bcl-2 in MAIT cells from AT (Figure 6B). These results indicate that in AT, MAIT cells might be more



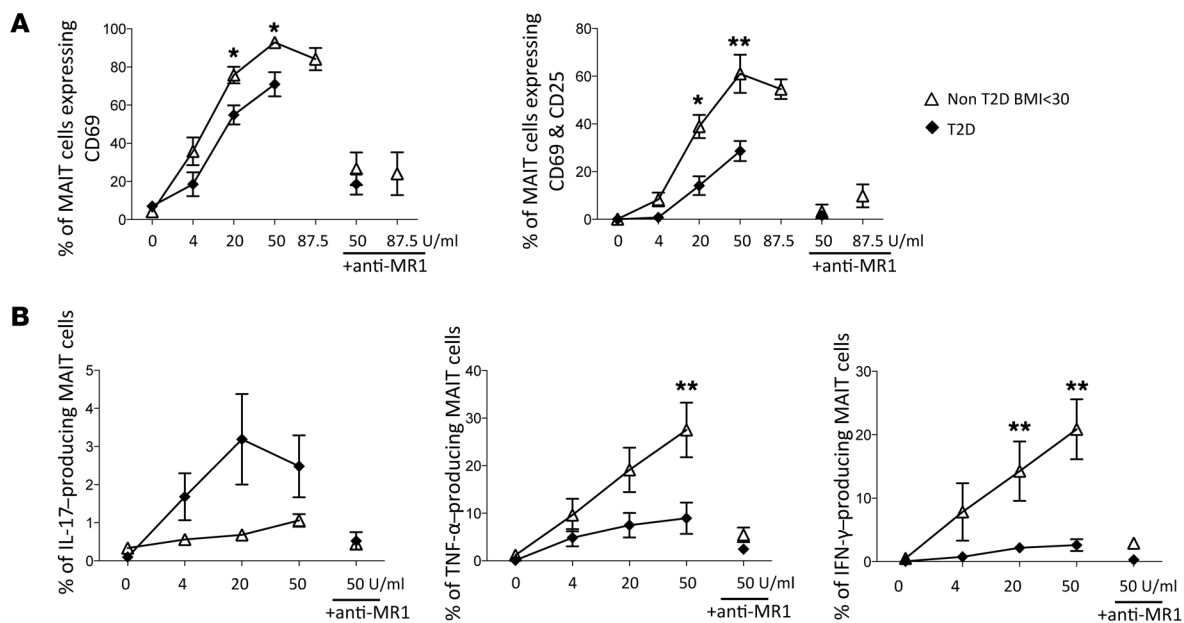
**Figure 2. Cytokine production by circulating MAIT cells in T2D and severe obesity.** (A and B) Analysis of circulating MAIT cell cytokine production by flow cytometry, after PMA-ionomycin stimulation. (A) Representative dot plot from an obese patient. (B) MAIT cell cytokine production in healthy donors (HD) ( $n = 20$ ), nonobese T2D ( $n = 10$ ), obese T2D ( $n = 27$ ), and non-T2D obese patients ( $n = 31$ ).  $*P \leq 0.04$ ,  $**P \leq 0.007$ ,  $***P = 0.005$ ,  $†P < 0.001$ . (C) Correlation between the frequency of IL-17-producing MAIT cells and MAIT cell frequency in patients ( $n = 67$ ). Mann-Whitney  $U$  test and Spearman's correlation.

susceptible to cell death. Interestingly, in the same obese patient samples, we also observed an increased frequency of proliferating MAIT cells (Ki-67 expression) in AT as compared with blood (Figure 6C). In AT MAIT cells, Bcl-2 MFI was lower in Ki-67<sup>+</sup> as compared with Ki-67<sup>-</sup> cells (Figure 6D). Together, these data showing that proliferation of MAIT cells increased and their expression of Bcl-2 decreased in, or in the presence of, AT suggest that chronic activation of the MAIT cell population takes place locally.

**Attenuation of MAIT cell abnormalities after weight loss induced by bariatric surgery.** We next analyzed MAIT cells in the peripheral blood of the obese patients who underwent bariatric surgery (up to 12 months after surgery), which as expected improved metabolic and hormonal parameters (Figure 7, A–D). In agreement with previous reports (19, 21), BMI, glycated hemoglobin (HbA1C), and serum

leptin diminished after the surgery, whereas serum adiponectin increased. Concomitantly, at 3 months after surgery, the MAIT cell frequency had already increased as compared with the initial frequency (0.66% vs. 0.06%,  $P = 0.01$ , Figure 7E). Of note, before surgery MAIT cells were below detection in 12 of 69 of the patients, while these cells were detected in all subjects after surgery. Six months after surgery, MAIT cell frequency further increased, reaching 0.9% of CD3<sup>+</sup> cells, and then remained at the same level at 12 months after surgery. However, MAIT cell frequency was still significantly lower in obese patients who underwent surgery (but remained obese) than the frequency detected in lean controls ( $P = 0.04$ ). The profile of MAIT cell cytokine production was also assessed at 3, 6, and 12 months after surgery (Figure 7F and Supplemental Figure 2). Three months after surgery, the frequency of





**Figure 3. Defective activation of T2D patients' MAIT cells after TCR triggering.** (A and B) ON stimulation with MAIT ligand at various concentrations (0–87.5 U/ml). (A) CD25 and CD69 expression on MAIT cells from controls ( $n = 5$ ) and T2D patients ( $n = 7$ ). (B) Cytokine production by MAIT cells from controls ( $n = 8$ ) and T2D patients ( $n = 8$ ). Blocking MR1 Ab was added when indicated. \* $P < 0.05$ , \*\* $P \leq 0.005$ . Mann-Whitney  $U$  test.

MAIT cells producing the cytokines IL-2, GrB, and IL-17 was still higher than in healthy controls. However, at 6 months after surgery, the frequency of MAIT cells producing GrB was comparable in patients and control individuals and was even lower for IL-2 in patients than controls. In contrast, IL-17 production remained increased as compared with controls at 6 and 12 months after surgery (1.1% and 1.5%, respectively, vs. 0.7%). There was no difference between diabetic and nondiabetic obese patients.

## Discussion

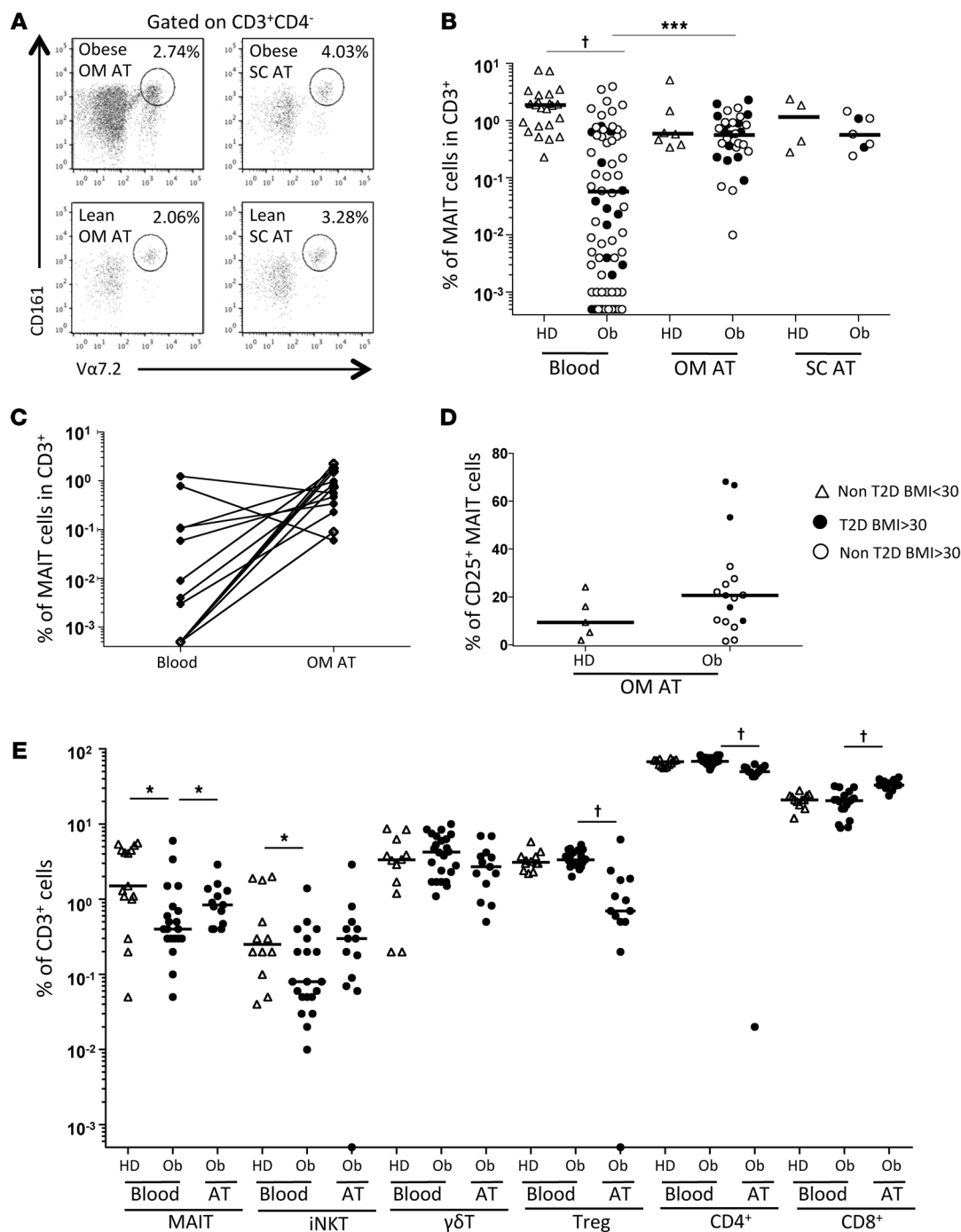
Recent advances in understanding the pathophysiology of obesity and related T2D have established the involvement of the immune system, and the present study reveals major MAIT cell alteration in T2D and obese patients. The frequency of circulating MAIT cells is decreased in T2D patients and even more dramatically in severe obesity. This diminished frequency is associated with increased production of IL-17 by circulating MAIT cells, and this Th17 shift was exacerbated in AT from obese patients. Importantly, bariatric surgery restored circulating MAIT cell frequency and dampened their functional alteration. These data highlight the potential role of MAIT cells in these metabolic diseases.

The decreased frequency of circulating MAIT cells detected as  $V\alpha 7.2^+$  and  $CD161^{hi}$  was confirmed with human MR1 tetramers. Moreover, we did not observe an increase in frequency of  $CD161^+V\alpha 7.2^+$  T cells, excluding the possibility that the decreased MAIT cell frequency was due to the downregulation of CD161 surface expression. Of note, a recent study in patients with HIV confirmed that  $CD161^+V\alpha 7.2^+$  T cells do not bind MR1 tetramers and are not MAIT cells (26). Decreased circulating MAIT cell frequency has been described in different diseases: hepatitis C, HIV, tuberculosis, inflammatory bowel diseases, and severe infections (23, 24, 27–30). However, the MAIT cell frequency observed in T2D and

obese patients was much lower than previously described, and in 12 of 69 (17%) severely obese patients, it was below our detection limit ( $<0.001\%$  of  $CD3^+$  cells).

The decrease in circulating MAIT cell frequency in T2D and obese patients was accompanied by an increase in their activation status as defined by CD25 and CD69 expression. Similar observations were reported for patients with inflammatory bowel diseases (29) and with HIV (24). Moreover, the loss of circulating MAIT cells in T2D and obese patients was also associated with high levels of IL-17 production by MAIT cells, as previously reported in inflammatory bowel diseases (29). Similarly, in patients who underwent allogeneic stem cell transplantation — and thus were prone to graft-versus-host disease resulting in an excessive inflammatory environment —  $CD161^{hi}CD8^+$  cells, most likely mainly MAIT cells, were less frequent and produced more IL-17 (31). In the present study, MAIT cells exhibited an inflammatory profile (particularly Th17) in both groups of patients, yet with differences. The pattern of MAIT cell activation could reflect a proinflammatory environment as well as modified hormonal and metabolic conditions. The fact that MAIT cell production of IL-2, GrB, and IL-17 was markedly increased in T2D patients suggests that, in T2D and severe obesity, the degree and/or mediators of inflammatory environments and possibly other metabolic mediators resulting in MAIT cell activation may differ.

The frequency of IL-17 production by MAIT cells was markedly elevated in AT as compared with the level measured in peripheral blood in severe obesity. Moreover, in AT of obese patients, there was a substantially increased frequency of MAIT cells producing IL-17 (OM: 26.9%, SC: 76.2%) as compared with conventional  $CD4^+$  T cells (OM: 0.6%, SC: 4.7%),  $CD8^+$  T cells (OM: 0.14%, SC: 0.69%), and double-negative T cells (OM: 1.9%, SC: 8.5%) (AT SC data not shown). While all T cell subsets analyzed ( $CD8^+$



**Figure 4. MAIT cells in the AT of obese patients.** (A and B) Flow cytometry analysis of MAIT cells detected in the OM and SC AT. (A) Representative dot plots. (B) MAIT cell frequency in the blood, OM, and SC AT of healthy donors ( $n = 23, 7,$  and  $4,$  respectively) and obese patients ( $n = 69, 31,$  and  $7,$  respectively).  $^{\dagger}P < 0.0001$ . (C) MAIT cell frequency in paired blood and OM AT from 13 obese patients. (D) CD25<sup>+</sup> MAIT cell expression in OM AT of control individuals and obese patients ( $n = 5$  and  $17,$  respectively). (E) Frequency of T cell subsets in blood from control individuals ( $n = 15$ ) and obese patients ( $n = 20$ ) and in OM AT from obese patients ( $n = 13$ ).  $*P < 0.04,$   $^{\dagger}P < 0.0001$ . Mann-Whitney  $U$  test.

cells, CD4<sup>+</sup> cells, Tregs, and  $\gamma\delta$ T cells) expressed a very high level of CD69 in AT (data not shown), MAIT cells seemed particularly activated toward an IL-17 profile as compared with other T cell subsets. IL-12 and IL-18 have been shown to activate MAIT cells in an MR1-independent manner (32), indicating that not only MAIT cell-specific ligands, but also inflammatory molecules can activate them. MAIT cells express high levels of IL-7R (CD127), and IL-7

can promote IL-17 production by MAIT cells and license MAIT cell activation in the liver (5). In OM AT from obese patients, IL-7 among other adipokines was oversecreted by stromal vascular cells, a heterogeneous population of stem, progenitor, and differentiated cells (33). In addition to cytokines, MAIT cells could be activated through their TCR by specific ligands generated in the presence of bacterial riboflavin metabolites and methylglyoxal.

**Table 2. Characteristics of control individuals and patients whose AT biopsy samples were analyzed**

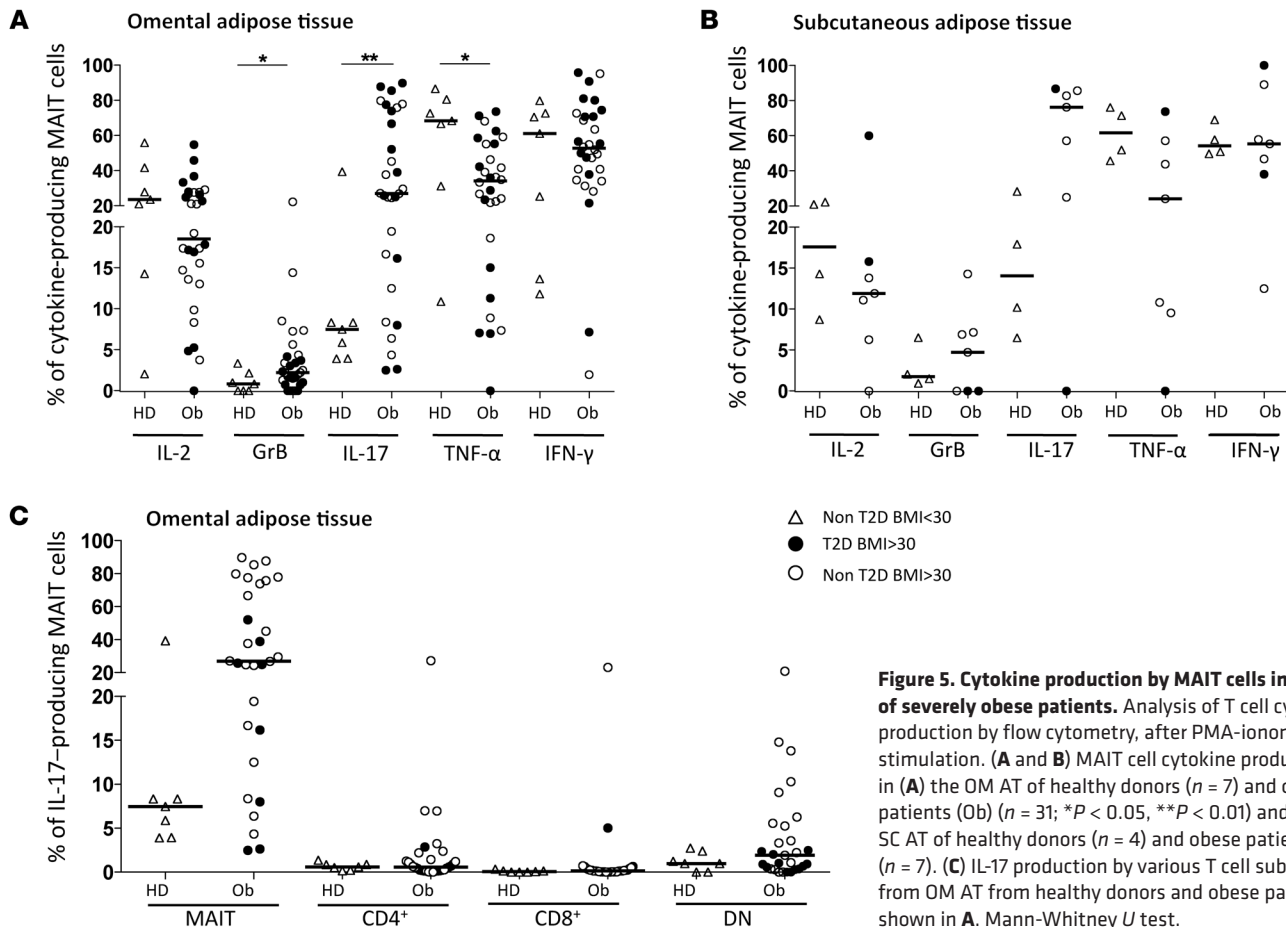
	Controls	Severely obese group
<i>n</i>	7	32
Age (yr) <sup>a</sup>	48.0 ± 5.1	47.8 ± 2.5
Sex, F/M	4/3	26/6
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	24.2 ± 1.5	46.4 ± 1.2
Obesity, <i>n</i> (%)	0	32 (100)
Diabetes, <i>n</i> (%)	0	14 (44)

Adipose tissue biopsy samples were obtained from OM depots during bariatric surgery (obese group) or elective surgery (controls). <sup>a</sup>Mean ± SEM.

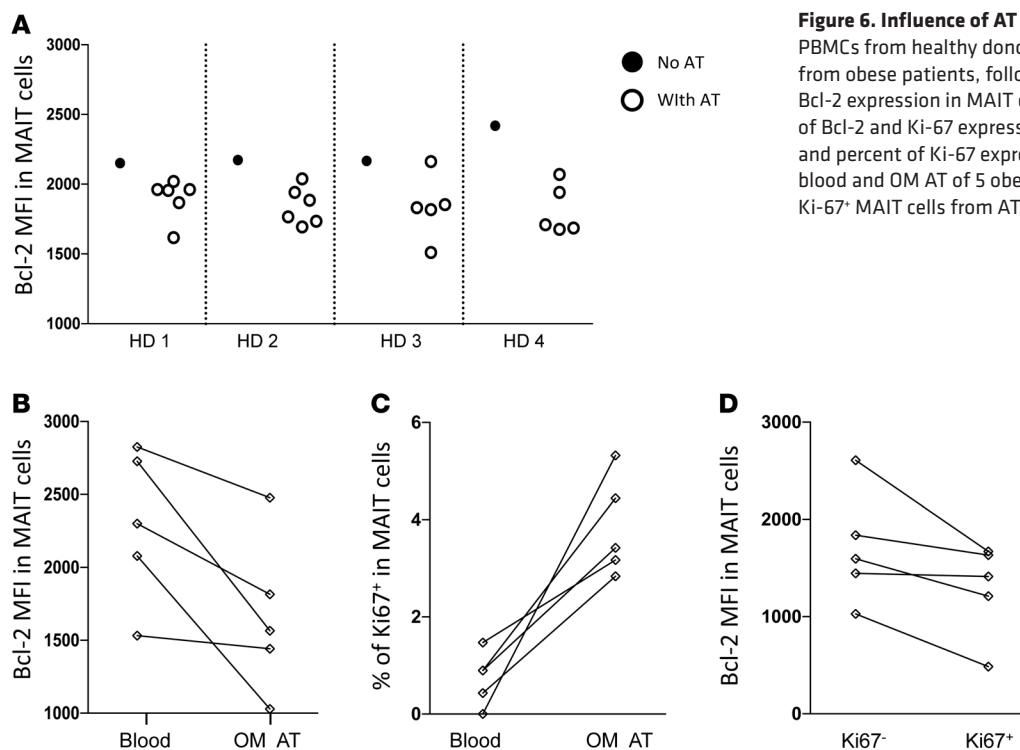
Changes in the gut microbiota composition that occur in obesity and T2D may impact gut permeability and the presence of bacterial products in AT (34), and methylglyoxal might accumulate in AT, as described in obese rats (35). Whatever the mechanism leading to the high IL-17 production by MAIT cells, this proinflammatory cytokine could influence and participate in the local inflammation of AT. IL-17 can activate JNK, which in addition phosphorylates IRS1, inducing insulin resistance (36).

In obese patients, in contrast to the low frequency of circulating MAIT cells, in AT their frequency was 10-fold higher. There was a similar trend for iNKT cells. The decreased frequency of circulating MAIT cells could reflect their increased cell death and/or

their recruitment to AT in obese patients, as previously suggested for other immune cells, such as conventional CD8<sup>+</sup> T cells (37). The impaired activation capacity of circulating MAIT cells from T2D patients in the presence of specific ligands revealed an exhausted status, which could represent a transition toward cell death. This exhaustion associated with a decline in MAIT cells was previously observed in patients with chronic HIV infection (24). The level of CCR5 and CCR6 (data not shown), which are highly expressed by MAIT cells (28), was comparable in healthy controls and patient groups, suggesting that circulating MAIT cells in obese and T2D patients have intact tissue-homing capacities. Here, MAIT cell frequency in AT remained comparable in obese and lean subjects. This can imply either that MAIT cells in AT are protected from the mechanisms responsible for their depletion observed in the peripheral blood, or that MAIT cells are also activated in AT and, although they may die, they are continuously recruited, explaining in part the lower frequencies in peripheral blood. This latter hypothesis is supported by several in vitro and ex vivo observations. In cocultures, AT from obese patients promoted MAIT cell activation in the presence of ligand as shown by their CD25 and CD69 upregulation (Supplemental Figure 3), and there was a higher frequency of Ki-67<sup>+</sup> MAIT cells from AT than from blood in five pairs of obese patient samples. In cocultures, AT from obese patients decreased MAIT cell Bcl-2 expression, and in obese patients Bcl-2 expression in MAIT cells was lower in AT than in the blood. Thus, the AT environment seems to influence in various ways the homeostasis of MAIT cells.



**Figure 5. Cytokine production by MAIT cells in the AT of severely obese patients.** Analysis of T cell cytokine production by flow cytometry, after PMA-ionomycin stimulation. (A and B) MAIT cell cytokine production in (A) the OM AT of healthy donors (*n* = 7) and obese patients (Ob) (*n* = 31; \**P* < 0.05, \*\**P* < 0.01) and (B) the SC AT of healthy donors (*n* = 4) and obese patients (*n* = 7). (C) IL-17 production by various T cell subsets from OM AT from healthy donors and obese patients shown in A. Mann-Whitney *U* test.



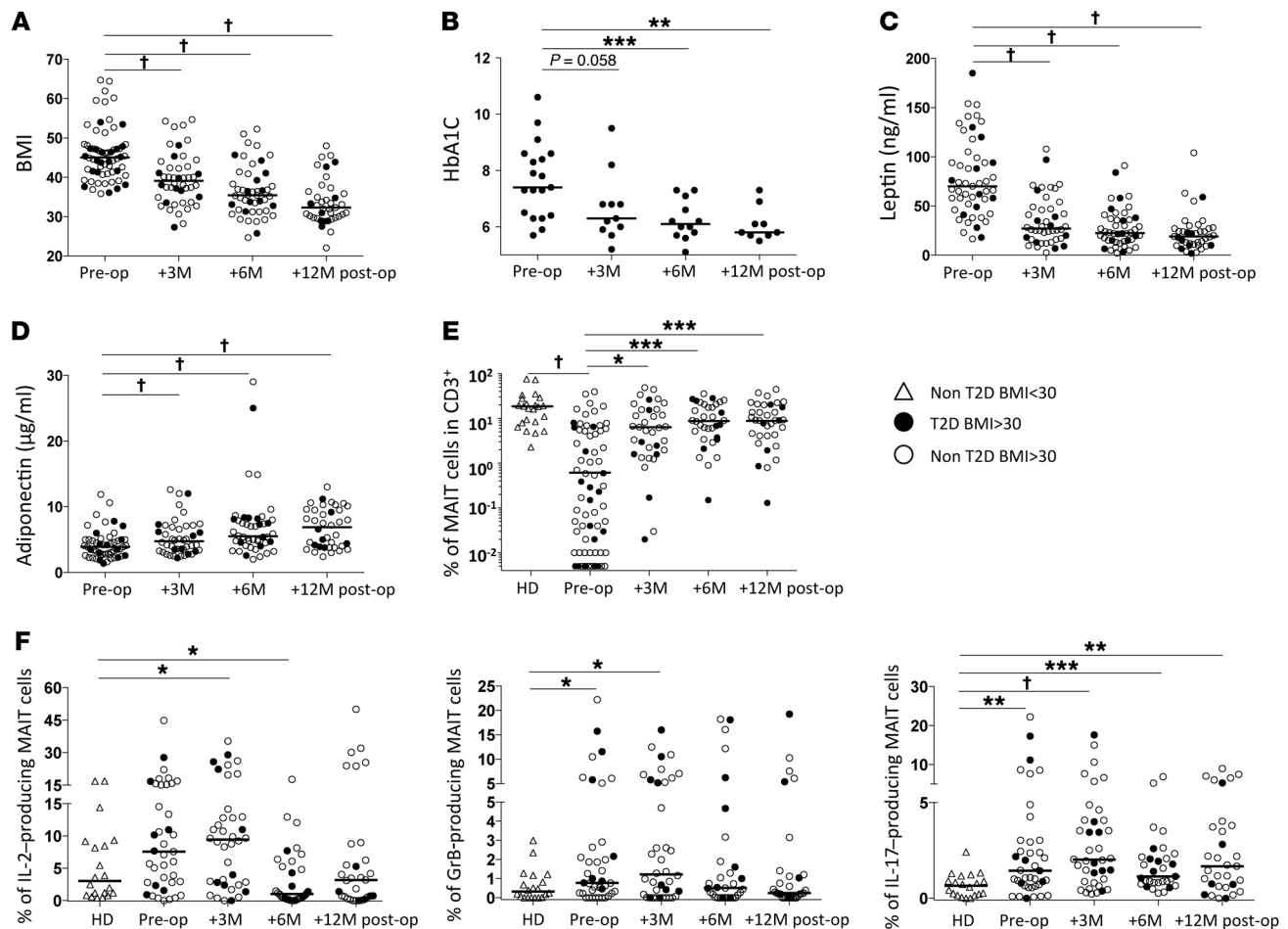
Bariatric surgery-induced weight loss and associated amelioration of patients' metabolic and inflammatory status was accompanied by a significant increase of blood MAIT cell frequency already found at 3 months after surgery. Interestingly, using a linear mixed model, we found a kinetic association between the change in MAIT cell abundance and circulating levels of adiponectin ( $P = 0.036$ ) that increased after the surgical procedure. This might suggest a possible relationship between increased MAIT cells and an improved metabolic and inflammatory status, since adiponectin is also considered to be a hormone with anti-inflammatory properties. In contrast, the association with circulating leptin that drastically diminished after surgery-induced weight loss was negative ( $P = 0.008$ , data not shown). Bariatric surgery is accompanied by changes in pro-inflammatory cytokine levels and vitamin status, as well as in carbohydrate intake, which is drastically reduced at 3 months after gastric bypass surgery, returning progressively to pre-surgery levels after 6 months (38). It is then tempting to speculate that these changes after surgery may influence the MAIT cell compartment and may in part be responsible, directly or not, for the increased frequency of MAIT cells. Whether and which changes in food intake or nutrient and related modification of gut microbiota (21) might influence MAIT cell abundance is an open question.

Taken together, our data revealed for the first time to our knowledge that T2D and obesity have a major impact on circulating and AT MAIT cell frequency and function: circulating MAIT cell frequency was profoundly decreased, and they produced more cytokines, such as IL-2, GrB, and IL-17, with exacerbated IL-17 production in AT. After bariatric surgery, MAIT cell abnormalities were markedly attenuated. The impact of the gut microbiota and the inflammatory environment on MAIT cells in patients with T2D and obese patients needs to be further explored. This article paves the way for deeper investigation of the mechanisms responsible

for the prolonged Th17 shift of MAIT cells observed after bariatric surgery and whether gut microbiota, MAIT cell-specific ligands, MR1 tissue expression, and inflammatory mediators play a role.

## Methods

**Healthy controls and patients.** Blood samples were collected from control individuals who did not report T1D or T2D and who were nonobese, i.e., had a BMI  $<30$  kg/m<sup>2</sup>. Patients from the T2D group were T2D outpatients consulting at the Hôtel-Dieu hospital in Paris with no acute event. Their mean HbA1C was 8.1%. Most received metformin (73%), and 43% also received insulin. The severe obesity cohort consisted of 69 subjects involved in a bariatric surgery program at the ICAN at Pitié-Salpêtrière hospital in Paris. Thirty-nine patients were examined at 3, 6, and 12 months after bariatric surgery. These subjects met the criteria for obesity surgery (BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup>, or  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> with at least one obesity comorbidity). Subjects were weight stable ( $\pm 3$  kg) for at least 3 months before the surgery. Seventeen (25%) of the subjects had T2D with a fasting glycemia  $>7$  mmol/l and/or the use of an antidiabetic drug ( $n = 13$ , 19%). Patients were exempt from antibiotic treatment 3 months prior to the intervention and during the follow-up. They only received an i.v. flash of antibiotics during the intervention as part of the routine surgical protocol. They benefited from a detailed bioclinical exploration as described previously (39). Briefly, body composition was determined by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA, Hologic). In a subset of subjects, paired biopsies of abdominal periumbilical SC and OM AT were obtained during the surgical procedure. Blood samples were taken after 12 hours of overnight fasting before the surgery and 3, 6, 12 months afterward. Clinical variables were measured as described elsewhere (39). We also collected AT biopsy samples from nonobese subjects who did not report T1D or T2D and underwent elective surgery (e.g., hernia and



**Figure 7. Increased frequency of circulating MAIT cells after bariatric surgery.** (A) Obese patients' BMI before (pre-op;  $n = 62$ ) and at 3, 6, and 12 months after surgery (post-op;  $n = 46, 47,$  and  $39,$  respectively).  $^{\dagger}P < 0.0001$ . (B) HbA1c levels of obese patients with T2D before surgery ( $n = 19$ ) and at 3, 6, and 12 months after surgery ( $n = 11, 12,$  and  $9,$  respectively).  $^{**}P = 0.003,$   $^{***}P = 0.0005$ . (C and D) Circulating leptin and adiponectin levels in obese patients before ( $n = 52$ ) and at 3, 6, and 12 months after surgery ( $n = 44, 46,$  and  $39,$  respectively).  $^{\dagger}P < 0.0001$ . (E) Circulating MAIT cells frequency before ( $n = 69$ ) and at 3, 6, and 12 months after surgery ( $n = 35, 34,$  and  $35,$  respectively). (Control individuals,  $n = 23$ ).  $^{*}P = 0.01,$   $^{***}P < 0.002,$   $^{\dagger}P < 0.0001$ . Circulating MAIT cell frequency was significantly lower in obese patients at each time point compared to control individuals ( $P < 0.05$ ). (F) Cytokine production after PMA-ionomycin stimulation of MAIT cells from healthy individuals ( $n = 20$ ) and obese patients before surgery ( $n = 39$ ) and 3, 6, and 12 months after surgery ( $n = 38, 33,$  and  $31,$  respectively).  $^{*}P < 0.04,$   $^{**}P < 0.004,$   $^{***}P = 0.0008,$   $^{\dagger}P < 0.0001$ . Mann-Whitney  $U$  or Wilcoxon test.

Nissen fundoplication). These were used as controls. Clinical characteristics of the patients and controls are summarized in Tables 1 and 2 and Supplemental Table 1.

**PBMC and AT preparation.** Cells of the stromal vascular fraction (SVF) were obtained by collagenase digestion of AT as previously reported (40) and were resuspended in endotoxin-free PBS supplemented with 2% FCS and 1 mM EDTA. SVF cells and freshly isolated PBMCs were stained either directly after isolation, or for detection of cytokine production after stimulation in RPMI medium supplemented with 10% fetal bovine serum (Life Technologies) with PMA and ionomycin (Sigma-Aldrich) at 25 ng/ml and 1  $\mu$ g/ml, respectively, in the presence of brefeldin A at 10  $\mu$ g/ml (Sigma-Aldrich) for 6 hours at 37°C. For stimulation with MAIT cell-specific ligand, HeLa cells and PBMCs from T2D patients were plated, at a final concentration of 10<sup>6</sup> cells/ml each, in RPMI medium supplemented with 10% fetal bovine serum in the presence of various concentrations of MAIT ligand semi-purified bacterial fraction and incubated overnight. For ligand preparation, *E. coli* were cultured to the stationary phase, washed in PBS, and resus-

pended into water at 4°C for 6 days. Supernatant was filtered through a 0.22  $\mu$ m filter and ultra-filtrated through a 3-kDa centrifugal filter unit (Amicon-Millipore). The flow-through was then lyophilized. Fractions are expressed in arbitrary units with 1 arbitrary unit being equivalent to 25  $\mu$ l of bacterial supernatant. For cytokine detection, BD GolgiPlug (BD Biosciences) was added 1 hour after the beginning of the stimulation. Anti-MR1 blocking mAb (clone 26.5, provided by Ted Hansen, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri, USA) was added in some wells. The coculture experiments on PBMCs from healthy donors with AT samples from obese patients were done in RPMI medium supplemented with 10% fetal bovine serum; the AT was removed after 24 hours, and flow cytometric analysis was performed 48 hours later. In some experiments MAIT ligand (1 U/ml) was added for a further 48 hours, followed by flow cytometric analysis.

**Flow cytometric analysis.** The following antibodies were used: anti-CD195 (2D7/CCR5), anti-IFN- $\gamma$  (4S.B3), anti-IL-17a (N49-653), anti-IL-10 (JES3-19F1), anti-TNF- $\alpha$  (6401.1111), anti-CD25 (M-A251), anti-IL-4 (8D4-8), anti-IL-2 (MQ1-17H12), anti-CD8 $\alpha$  (SK1), anti-

CD69 (FN50), anti-GrB (GB11), anti-TCR $\gamma\delta$  (B1), anti-IL-13 (JES10-5A2), and anti-Ki-67 (B56) from BD Biosciences; anti-CD69 (FN50), anti-V $\alpha$ 24J $\alpha$ 18 (6B11), anti-CD4 (OKT4), and anti-CD161 (HP-3G10) from eBioscience; anti-V $\alpha$ 7.2 (3C10), anti-CD4 (OKT4), anti-CD3 (OKT3), anti-CD161 (HP-3G10), anti-CCR6 (G034E3), and anti-Bcl-2 (clone 100) from BioLegend; anti-CD56 (N901) and anti-CD127 (R34.34) from Beckman Coulter; and anti-CD3 (BW264/56) and anti-CD56 (AF12-7H3) from Miltenyi Biotec. In some experiments biotinylated anti-V $\alpha$ 7.2 (3C10) and streptavidin Qdot 605 (Life Technologies) were used. Biotinylated human MR1 tetramers loaded with the active ligand rRL-6-CH<sub>2</sub>OH (6-HM) were used to specifically identify MAIT cells; biotinylated MR1 tetramers loaded with the non-activating ligand 6-formyl-pterin (6-FP) were used as a negative control (11). MR1 tetramers were coupled to streptavidin PE (BD Biosciences). Data acquisition was performed using a BD Biosciences LSRFortessa cytometer, and results were analyzed using FlowJo analysis software (Tree Star).

**Statistics.** Categorical variables are expressed as numbers (*n*) and percentages (%). Nonparametric tests were performed using Mann-Whitney *U* or Wilcoxon test, as appropriate. Correlation analyses were performed using Spearman's correlation. All *P* values are 2-sided, and *P* values less than 0.05 were considered to be statistically significant. Kinetic analyses were made using a linear mixed-effects model (for paired data). Analyses were performed using GraphPad software (GraphPad Prism) and R statistical software, version 3.0.1 (<http://www.r-project.org/>).

**Study approval.** The Ethics Committee (Comité de protection des personnes [CPP] Ile-de-France) approved the clinical investiga-

tions for both obese and nonobese individuals. All subjects provided written informed consent when included in the surgery program. The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration, and was registered in a public trial registry: ClinicalTrials.gov number NCT00476658.

## Acknowledgments

We thank all the patients and their physicians, the nurse and technician staff (Rohia Alili) who helped with the study. We are grateful to Yannick Simoni for discussion and Michael Gesnon for technical help. We thank Antoine Soprani, INSERM, UMRS 1138, Geoffroy Saint-Hilaire Clinic, Paris, for providing human AT for in vitro cultures. We thank the Direction of Clinical Research (CRC) for support of this clinical investigation (PHRC 02076 and PHRC microbaria), as well as the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM, no. DEQ20140329520 to A. Lehuen and DEQ20120323701 to K. Clément), the National Agency of Research (ANR Fibrota and ObeMAIT projects), the French national program "Investissements d'Avenir" with the reference ANR-10-IAHU-05, the LabEx INFLAMEX with the reference ANR-11-IDEX-0005-02, and Département Hospitalo-Universitaire (DHU) AutHors (Autoimmune and Hormonal Diseases).

Address correspondence to: Agnès Lehuen, Institut Cochin, INSERM U1016, CNRS UMR8104, 123 Boulevard Port-Royal, 75014 Paris, France. Phone: 331.76.53.55.90; Fax: 331.46.34.64.54; E-mail: [agnes.lehuen@inserm.fr](mailto:agnes.lehuen@inserm.fr).

- Lynch L, O'Shea D, Winter DC, Geoghegan J, Doherty DG, O'Farrelly C. Invariant NKT cells and CD1d(+) cells amass in human omentum and are depleted in patients with cancer and obesity. *Eur J Immunol*. 2009;39(7):1893-1901.
- Lynch L, et al. Adipose tissue invariant NKT cells protect against diet-induced obesity and metabolic disorder through regulatory cytokine production. *Immunity*. 2012;37(3):574-587.
- Schipper HS, et al. Natural killer T cells in adipose tissue prevent insulin resistance. *J Clin Invest*. 2012;122(9):3343-3354.
- Dusseaux M, et al. Human MAIT cells are xenobiotic-resistant, tissue-targeted, CD161hi IL-17-secreting T cells. *Blood*. 2011;117(4):1250-1259.
- Tang XZ, et al. IL-7 licenses activation of human liver intrasinusoidal mucosal-associated invariant T cells. *J Immunol*. 2013;190(7):3142-3152.
- Le Bourhis L, Guerri L, Dusseaux M, Martin E, Soudais C, Lantz O. Mucosal-associated invariant T cells: unconventional development and function. *Trends Immunol*. 2011;32(5):212-218.
- Treiner E, et al. Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature*. 2003;422(6928):164-169.
- Le Bourhis L, et al. Antimicrobial activity of mucosal-associated invariant T cells. *Nat Immunol*. 2010;11(8):701-708.
- Kjer-Nielsen L, et al. MR1 presents microbial vitamin B metabolites to MAIT cells. *Nature*. 2012;491(7426):717-723.
- Patel O, et al. Recognition of vitamin B metabolites by mucosal-associated invariant T cells. *Nat Commun*. 2013;4:2142.
- Reantragoon R, et al. Antigen-loaded MR1 tetramers define T cell receptor heterogeneity in mucosal-associated invariant T cells. *J Exp Med*. 2013;210(11):2305-2320.
- Birkinshaw RW, Kjer-Nielsen L, Eckle SBG, McCluskey J, Rossjohn J. MAITs, MR1 and vitamin B metabolites. *Curr Opin Immunol*. 2014;26:7-13.
- Corbett AJ, et al. T-cell activation by transitory neo-antigens derived from distinct microbial pathways. *Nature*. 2014;509(7500):361-365.
- Matafome P, Sena C, Seica R. Methylglyoxal, obesity, and diabetes. *Endocrine*. 2013;43(3):472-484.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444(7122):1022-1023.
- Cotillard A, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013;500(7464):585-588.
- Qin J, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012;490(7418):55-60.
- Karlsson FH, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013;498(7452):99-103.
- Furet JP, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*. 2010;59(12):3049-3057.
- Zhang H, et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(7):2365-2370.
- Kong LC, et al. Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. *Am J Clin Nutr*. 2013;98(1):16-24.
- Lee OJ, et al. Circulating mucosal-associated invariant T cell levels and their cytokine levels in healthy adults. *Exp Gerontol*. 2014;49:47-54.
- Grimaldi D, et al. Specific MAIT cell behaviour among innate-like T lymphocytes in critically ill patients with severe infections. *Intensive Care Med*. 2013;40(2):192-201.
- Leeansyah E, et al. Activation, exhaustion, and persistent decline of the antimicrobial MR1-restricted MAIT-cell population in chronic HIV-1 infection. *Blood*. 2013;121(7):1124-1135.
- Novak J, Dobrovoly J, Novakova L, Kozak T. The decrease in number and change in phenotype of mucosal-associated invariant T cells in the elderly and differences in males and females of reproductive age. *Scand J Immunol*. 2014; 80(4):271-275.
- Fernandez CS, et al. MAIT cells are depleted early but retain functional cytokine expression in HIV infection [published online ahead of print October 28, 2014]. doi:10.1038/icb.2014.91.
- Billerbeck E, et al. Analysis of CD161 expression on human CD8+ T cells defines a distinct functional subset with tissue-homing properties. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(7):3006-3011.
- Cosgrove C, et al. Early and nonreversible decrease of CD161+/MAIT cells in HIV infection. *Blood*. 2013;121(6):951-961.
- Serriari NE, et al. Innate mucosal-associated invariant T (MAIT) cells are activated in inflammatory bowel diseases. *Clin Exp Immunol*. 2014;176(2):266-274.

30. Wong EB, et al. Low levels of peripheral CD161<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> mucosal associated invariant T (MAIT) cells are found in HIV and HIV/TB co-infection. *PLoS One*. 2013;8(12):e83474.
31. van der Waart AB, et al. Decreased levels of circulating IL17-producing CD161<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup> T cells are associated with graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *PLoS One*. 2012;7(12):e50896.
32. Ussher JE, et al. CD161 CD8 T cells, including the MAIT cell subset, are specifically activated by IL-12<sup>+</sup>IL-18 in a TCR-independent manner. *Eur J Immunol*. 2013;44(1):195–203.
33. Maury E, Ehala-Aleksejev K, Guiot Y, Detry R, Vandenhooft A, Brichard SM. Adipokines oversecreted by omental adipose tissue in human obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293(3):E656–E665.
34. Burcelin R, et al. Metagenome and metabolism: the tissue microbiota hypothesis. *Diabetes Obes Metab*. 2013;15(suppl 3):61–70.
35. Jia X, Chang T, Wilson TW, Wu L. Methylglyoxal mediates adipocyte proliferation by increasing phosphorylation of Akt1. *PLoS One*. 2012;7(5):e36610.
36. McNelis JC, Olefsky JM. Macrophages, immunity, and metabolic disease. *Immunity*. 2014;41(1):36–48.
37. Nishimura S, et al. CD8<sup>+</sup> effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*. 2009;15(8):914–920.
38. Dalmas E, et al. Variations in circulating inflammatory factors are related to changes in calorie and carbohydrate intakes early in the course of surgery-induced weight reduction. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(2):450–458.
39. Abdenmour M, et al. Association of adipose tissue and liver fibrosis with tissue stiffness in morbid obesity: links with diabetes and BMI loss after gastric bypass. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(3):898–907.
40. Dalmas E, et al. T cell-derived IL-22 amplifies IL-1beta-driven inflammation in human adipose tissue: relevance to obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2014;63(6):1966–1977.

## **Annexe 2**

# **iNKT and MAIT Cell Alterations in Diabetes**



# iNKT and MAIT cell alterations in diabetes

Isabelle Magalhaes<sup>1,2,3</sup>, Badr Kiaf<sup>1,2,3</sup> and Agnès Lehuen<sup>1,2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France, <sup>2</sup>UMR8104, CNRS, Paris, France, <sup>3</sup>Laboratoire d'Excellence INFLAMEX, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France, <sup>4</sup>Département de Diabétologie, Hôpital Cochin, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

Type 1 diabetes (T1D) and type 2 diabetes (T2D) are multifactorial diseases with different etiologies in which chronic inflammation takes place. Defects in invariant natural killer T (iNKT) cell populations have been reported in both T1D and T2D patients, mouse models and our recent study revealed mucosal-associated invariant T (MAIT) cell defects in T2D and obese patients. Regarding iNKT cells many studies in non-obese diabetic mice demonstrated their protective role against T1D whereas their potential role in human T1D is still under debate. Studies in mouse models and patients suggest that iNKT cells present in adipose tissue (AT) could exert a regulatory role against obesity and associated metabolic disorders, such as T2D. Scarce data are yet available on MAIT cells; however, we recently described MAIT cell abnormalities in the blood and ATs from obese and T2D patients. These data show that a link between MAIT cells and metabolic disorders pave the way for further investigations on MAIT cells in T1D and T2D in humans and mouse models. Furthermore, we hypothesize that the gut microbiota alterations associated with T1D and T2D could modulate iNKT and MAIT cell frequency and functions. The potential role of iNKT and MAIT cells in the regulation of metabolic pathways and their cross-talk with microbiota represent exciting new lines of research.

**Keywords:** T1D, T2D, iNKT cells, MAIT cells, obesity, microbiota

## Introduction

According to the WHO diabetes will be in 2030 the seventh leading cause of death (1). Type 1 diabetes (T1D) is a chronic autoimmune disease characterized by the destruction of the insulin-producing pancreatic  $\beta$ -cells, resulting in insulin deficiency and hyperglycemia. Type 2 diabetes (T2D) that accounts for 90–95% of all cases of diabetes, is characterized by insulin resistance, hyperglycemia, and decreased  $\beta$ -cell function and mass. The immune system is known to play a deleterious role in T1D as evidenced already in 1965 by Gepts who described insulinitis in patients with T1D (2). More recent studies have shown that insulinitis also occurs in patients with T2D, and support the notion that inflammation may participate in the pathogenesis of T2D (3, 4).

Invariant natural killer T (iNKT) and mucosal-associated invariant T (MAIT) cells are evolutionary conserved T cell subsets. iNKT and MAIT cells express semi-invariant T cell receptor (TCR)  $\alpha$  chains: V $\alpha$ 24J $\alpha$ 18 and V $\alpha$ 7.2J $\alpha$ 33 in humans (V $\alpha$ 14J $\alpha$ 18 and V $\alpha$ 19J $\alpha$ 33 in mice), respectively (5, 6). Both display a memory phenotype, can readily produce cytokines, and thus, represent a bridge between innate and adaptive immunity. Based on mouse models, iNKT cells exert a regulatory role in T1D, while their role in T2D is still matter of debate. Regarding MAIT cells and diabetes, virtually nothing is known and the first insights regarding MAIT cells in T2D patients (7) have only recently been published.

## OPEN ACCESS

### Edited by:

S. M. Mansour Haeryfar,  
Western University, Canada

### Reviewed by:

Colin C. Anderson,  
University of Alberta, Canada  
Richard S. Blumberg,  
Brigham and Women's Hospital, USA  
Marika Falcone,  
San Raffaele Scientific Institute, Italy

### \*Correspondence:

Agnès Lehuen,  
CNRS8104, INSERM, Institut Cochin,  
Hôpital Cochin-Port-Royal, Bâtiment  
Cassini, 123, Boulevard de  
Port-Royal, Paris 75014, France  
agnes.lehuen@inserm.fr

### Specialty section:

This article was submitted to T Cell  
Biology, a section of the journal  
Frontiers in Immunology

**Received:** 22 April 2015

**Accepted:** 18 June 2015

**Published:** 02 July 2015

### Citation:

Magalhaes I, Kiaf B and Lehuen A  
(2015) iNKT and MAIT cell alterations  
in diabetes.  
Front. Immunol. 6:341.  
doi: 10.3389/fimmu.2015.00341

Genetic and environmental factors are crucial in the development of T1D and T2D with growing evidence supporting an important role of the gut microbiota. This review will focus on iNKT and MAIT cells in the context of diabetes and discuss the potential impact of altered gut microbiota on these immune cells.

## iNKT Cell Defects in Non-Obese Diabetic Mice

The implication of iNKT cells in diabetes was first demonstrated in non-obese diabetic (NOD) mice that spontaneously develop T1D. Numerical and functional iNKT cell defects in NOD mice have been identified: reduced iNKT cell frequency and IL-4 production (8, 9). When compared with 37 other inbred mouse strains, in NOD mice iNKT cell numbers are at the low end of the spectrum in different tissues (i.e., peripheral blood, spleen, and thymus) (10). In NOD mice, defects in the expression of SLAM by double positive thymocytes that are responsible for the positive selection of NKT cells (11) and by myeloid dendritic cells (DCs) (12) are sought to play a role in the reduced iNKT cell number and impaired iNKT cell IL-4 production, respectively. Several other loci modulating iNKT cells in NOD mice have been identified (13, 14). More recently, Tsaih and colleagues demonstrated that a locus in chromosome 13 inversely regulates CD1d expression on double positive thymocytes and iNKT cell frequency, with the NOD allele shown to promote high CD1d expression on thymocytes and subsequent low iNKT cell frequency (15).

Of note, NOD mice have elevated frequency and number of an iNKT cell subpopulation producing IL-17, namely, iNKT17 cells, in the thymus and periphery (16). In the pancreatic lymph nodes, iNKT17 cells represent 13% of total iNKT cells in NOD mice as compared to 2% in C57BL/6 mice (16, 17).

## Regulatory Role of iNKT Cells in T1D in Mice

The accelerated development of T1D in CD1d-deficient NOD mice (18, 19), and the prevention of T1D development in NOD mice with increased iNKT cell number (20, 21) have suggested that iNKT cells play overall a protective role in T1D. T1D protection mediated by iNKT cells after cell transfer, upon cyclophosphamide treatment, or activation by  $\alpha$ -galactosylceramide ( $\alpha$ -GalCer), was shown to rely on IL-4 and/or IL-10 production (20, 22) and inhibition of pathogenic autoimmune responses (23, 24). Repetitive stimulation with  $\alpha$ -GalCer-induced tolerogenic myeloid DCs (25) and plasmacytoid DCs that in turn converted naive BDC2.5 diabetogenic T cells into regulatory T (Treg) cells in pancreatic lymph nodes (26). Our group also demonstrated that iNKT cells could induce BDC2.5 T cell anergy in a cytokine-independent (i.e., IL-4, IL-10, IL-13, and TGF- $\beta$ ) (27) fashion, but required cell–cell contact and was independent of CD1d expression in the periphery, suggesting that molecular interactions other than CD1d/TCR are involved (28).

Environmental factors, such as viral infections, can be either deleterious or protective in T1D. Upon lymphochoriomeningitis virus infection, in pancreatic lymph nodes iNKT cells-induced tolerogenic plasmacytoid DCs, which converted naive T cells into

Treg cells that migrated to the pancreatic islets and inhibited anti-islet T cells, thereby providing protection against T1D (29). Of note, even though a single injection of  $\alpha$ -GalCer at the time of infection increased the frequency of Treg cells in pancreatic islets, and further promoted the protection against T1D, such protection was even seen in the absence of  $\alpha$ -GalCer injection in wild type mice, but not in CD1d and J $\alpha$ 18 deficient NOD mice. Thus, iNKT cells are key in the induction of Treg cells and the protection against T1D in this infectious setting. We have also analyzed the role of iNKT cells upon another viral infection that is relevant to the human disease. Coxsackievirus B4 has been proposed as an etiologic agent that could promote the development of T1D in patients as well as in the diabetes susceptible NOD mouse. Coxsackievirus B4 infection accelerated T1D in NOD mice, whereas  $\alpha$ -GalCer injection at the time of infection activated pancreatic iNKT cells that produced rapidly large amount of IFN- $\gamma$  and upregulated indoleamine 2,3-dioxygenase production by macrophages recruited in the pancreas. These suppressive macrophages inhibited pancreatic anti-islet T cells and subsequently prevented T1D development (30). These data together showed that in both viral infections, through two different mechanisms, iNKT cells exert an efficient regulatory role.

However, not all iNKT cell subsets are protective. We showed that iNKT17 cells infiltrate the pancreas of NOD mice and promote diabetes development.  $\alpha$ -GalCer treatment suppresses IL-17 (and to a lesser extent IFN- $\gamma$ ) produced by iNKT cells, which could also contribute to the protective role of  $\alpha$ -GalCer in T1D (16). Of note, the presence of IL-1 and IL-6 in inflamed pancreatic islets of NOD mice may contribute to the activation of iNKT17 cells (31).

## Putative Role of iNKT Cells in Human T1D

The first data obtained in patients with T1D showed a decreased frequency of iNKT cells as well as a defect in IL-4 production (32) but since, contradictory results from clinical studies have been published; some following reports have supported this finding (33, 34), while one report has shown increased numbers of iNKT cells (35), and others did not find differences in iNKT cell numbers (36–39).

While the frequency of iNKT17 cells might be extremely low in the peripheral blood of healthy controls and patients with T1D, iNKT17 cells could be expanded *in vitro* in the presence of IL-1 $\beta$ . These cells were only obtained from the blood of T1D patients but not from healthy controls (40), suggesting that iNKT17 cells could also be involved in T1D pathogenesis in patients.

Altogether, despite converging evidence that iNKT cells play a regulatory role in T1D using mouse models, their role in human T1D remains controversial urging more clinical studies with well defined T1D patient cohorts.

## iNKT Cells in T2D and Obesity

Type 2 diabetes is a progressive disease resulting from the insulin resistance that develops with advancing age and lifestyle factors, such as inactivity, diet, and obesity (most patients with T2D are obese or overweight), but those factors are not the only trigger. It is now recognized that T2D results from the interaction between

different genetic events and with environmental factors (41). The detection of TNF- $\alpha$  in obese rat adipose tissue (AT) provided the first evidence that tissue inflammation was correlated with insulin resistance and T2D (42). In the lean state M2 macrophages with an anti-inflammatory phenotype accumulate in AT, whereas obesity leads to the preferential accumulation in AT of proinflammatory M1 macrophages known to participate in insulin resistance development. Other immune cells infiltrate AT, and iNKT cells are particularly enriched in white AT.

In obese mice, iNKT cell frequency in white AT is decreased while weight loss reverses decreased AT iNKT cell frequency (43). Several studies have analyzed the impact of iNKT cells in metabolic control with contradictory results. The use of CD1d<sup>-/-</sup> or J $\alpha$ 18<sup>-/-</sup> mice lacking all NKT cells (iNKT and variant NKT cells) or only iNKT cells, respectively, and other factors, such as different diets, or experimental procedures have been implicated to explain the protective, the absence, or the negative impact of iNKT cells on weight gain or metabolic control (44, 45). In a recent review, Lynch argues that despite the divergent results obtained using iNKT-deficient mouse models, most experiments using transferred or activated  $\alpha$ -GalCer iNKT cells converge to support a protective role of iNKT cells in obesity and she proposes that AT iNKT cells via IL-4 and IL-10 production regulate anti-inflammatory cytokines and adipocyte function (46). The regulatory role of AT iNKT cells is supported by recent findings showing that in murine AT, iNKT cells did not express the PLZF transcription factor, characteristic of iNKT cells, but instead the transcription factor E4BP4, and via IL-10 and IL-2 expression control the homeostasis of macrophages and Treg cells, respectively (47).

In obese patients as compared to lean individuals, iNKT cell frequency is decreased in omental AT and peripheral blood (7, 48). Conversely, iNKT cell frequency in peripheral blood is restored after bariatric surgery of obese patients (43).

## MAIT Cells in T1D

Due to the lack of specific antibodies directed against the murine V $\alpha$ 19 TCR chain, limited data on murine MAIT cells are available. However, the recent development of mouse MR1-antigen loaded tetramers detecting specifically MAIT cells (49) will most likely soon shed a new light on the role of MAIT cells in different mouse disease models, such as diabetes.

To date, only scarce data on the role of MAIT/MAIT-like cells in T1D are available. The observation that the expression of V $\alpha$ 19J $\alpha$ 33 TCR as a transgene in NOD mice delays the onset of T1D (50) suggests that MAIT cells may play a protective role. In humans, MAIT cells are identified using anti-V $\alpha$ 7.2 TCR chain and anti-CD161 antibodies. A recent report analyzed that the CD161<sup>bright</sup>CD8<sup>+</sup> T cell subset in juvenile T1D patients (51), with the CD161<sup>bright</sup>CD8<sup>+</sup> T cells displaying a phenotype, IL-18R $\alpha$ <sup>+</sup>, CD127<sup>+</sup>, CD45RA<sup>-</sup>, and CCR7<sup>-</sup>, suggestive of MAIT cells. No difference in the CD161<sup>bright</sup>CD8<sup>+</sup> T cell frequency was observed in juvenile T1D patients as compared to age-matched controls. As described previously for MAIT cells (52), the frequency of CD161<sup>bright</sup>CD8<sup>+</sup> T cells increased with age in juvenile controls and new-onset T1D patients but not in juvenile

long-standing ( $\geq 1$  year) T1D patients. These results suggest that in long-standing T1D patients the circulating CD161<sup>bright</sup>CD8<sup>+</sup> T cells may be depleted. The CD27<sup>-</sup> CD161<sup>bright</sup>CD8<sup>+</sup> T cells (a subset enriched in IL-17 producing cells) were increased in patients with T1D as compared to controls. Further studies of T1D patients using anti-V $\alpha$ 7.2 TCR chain and anti-CD161 antibodies and/or with human MR1-antigen loaded tetramers specifically directed toward MAIT cells are needed in order to accurately decipher their role in T1D.

Additionally, whether MAIT cells as seen for IL-17-producing  $\gamma\delta$  T cells exit the thymus as CD27<sup>-</sup> cells (53), or acquire the CD27<sup>-</sup> phenotype in the periphery upon activation and differentiation as observed for Th17 cells (54) and the understanding of the underlying mechanisms would be of utter interest.

## MAIT Cell Defects in T2D and Obese Patients

Our group has shown that MAIT cells exhibit several defects in T2D and obese patients (7). MAIT cell frequency was dramatically reduced in patients with T2D, and particularly in obese patients. In 12/69 severe obese patients study, we could not detect circulating MAIT cells. Higher frequencies of MAIT cells producing IL-17 were detected in T2D and obese patients, as compared to lean control individuals, and this was even more pronounced in T2D patients. Furthermore, when stimulated *in vitro* with MAIT cell ligand, a higher frequency of T2D patient MAIT cells produced IL-17. We showed that MAIT cells are present in the omental and subcutaneous AT, with comparable frequencies between lean control individuals and obese patients. Interestingly, in five obese patients for whom we could not detect circulating MAIT cells, MAIT cells were present in omental AT. In AT, and particularly subcutaneous AT, a vast majority of MAIT cells from obese patients, but not from lean control individuals, produced IL-17. AT from obese patients promoted MAIT cell activation (upregulation of CD25 and CD69 expression), and as compared to circulating MAIT cells, AT MAIT cells displayed higher Ki67 expression, altogether suggesting a recruitment, and local activation of MAIT cells in the AT. Bariatric surgery of obese patients restored circulating MAIT cell frequency and decreased their production of IL-2 and granzyme B. However, up to 12 months post-surgery high frequencies of MAIT cells still displayed an augmented Th17 profile. A recent report by Carolan et al. confirms our observation on MAIT cell alteration in adult obesity, showing decreased MAIT cell frequency and increased IL-17 production (55). However, the frequency of circulating MAIT cells in obese children was increased as compared to lean children, and this increased frequency in patients was associated with hyperinsulinemia and insulin resistance. Their analysis of adult obese patients' AT confirms the increased production of IL-17 by MAIT cells and shows a decreased frequency of IL-10 producing MAIT cells.

The mechanisms underlying MAIT cells defects and increased IL-17 production in T2D and obesity remain to elucidate. For instance, whether the expression of IL-1 $\beta$  (56) and IL-6 (57) in the AT of T2D patients plays a role in MAIT cell activation and production would be of interest. Altogether, these data show alterations of the MAIT cell compartment in T2D and obese patients

and paves the way for further studies assessing the role of MAIT cells in diabetes and metabolic disorders.

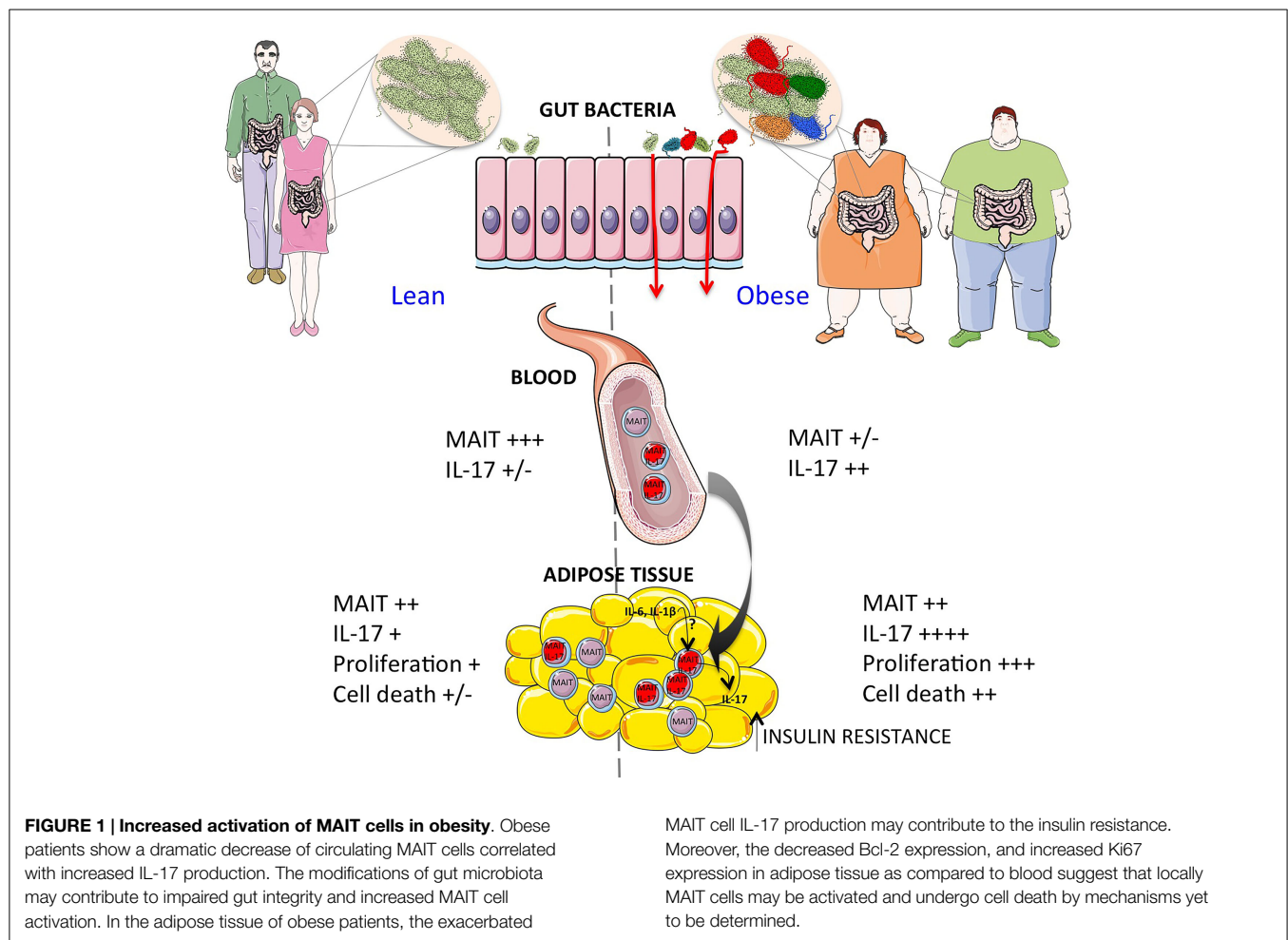
## iNKT and MAIT Cells and Impact of Microbiota in T1D and T2D

Type 1 diabetes and T2D are linked to genetic predisposition but non-genetically determined factors, such as the gut microbiota, also impact their development. We will discuss below how altered gut microbiota may impact iNKT cells and MAIT cells in T1D and T2D.

Invariant natural killer T and MAIT cells are present in human and murine AT and intestine. In mice, microbial exposure early in life impacts iNKT cell numbers (58), and in germ-free mice MAIT cells are absent in peripheral tissues (59). Altogether, these results show that commensal bacteria impact intestinal iNKT cell homeostasis, and are essential for MAIT cell expansion. The microbial lipids activating intestinal iNKT cells remain to be elucidated, but recent reports have shown that, in a CD1d-dependent fashion, some sphingolipids from the gut commensal *Bacteroides fragilis* activate (60) while other sphingolipids inhibit iNKT cells (61). MAIT cell ligands are MR1-restricted derived bacterial products of vitamin B metabolism (62). The 6-formyl pterin, a folic acid (vitamin B9) metabolite is a non-activating ligand, while ligands

derived from the riboflavin (vitamin B2) synthesis pathway, such as ribityllumazines and pyrimidines, activate MAIT cells. Pyrimidines that represent the most potent MAIT cell activating ligands are formed from the condensation of an intermediate of riboflavin synthesis (5-amino-6-D-ribitylaminouracil) with the glucose-derived methylglyoxal or glyoxal (63).

Alterations in the gut microbiota of NOD mice have been shown to be strongly associated with the development of T1D. This was supported by gut microbiota transfer experiments from T1D-protected animals into young diabetes-prone mice that upon transfer showed delayed T1D or protection from T1D (64, 65). The impact of the human intestinal microbiota on different diseases including T1D development is a field of intensive investigation and cohort studies designed to address its role on T1D are currently underway (66). Several studies analyzing the fecal bacteria composition and metagenomic support the association between changes in intestinal microbiota and risk of T1D (67, 68). Similarly, alterations of the gut microbiota composition have been reported in obese mice, obese patients, and patients with T2D (69). In turn, those alterations in microbiota may impact gut permeability in T1D, obesity, and T2D; increased bacterial translocation is thought to contribute to the establishment of AT microbiota (70). Two metagenome studies of T2D patients and healthy individuals have revealed differences in microbial



functions related to vitamin metabolism (including riboflavin) (71, 72). Interestingly, in T1D and T2D patients the production and plasma levels of methylglyoxal are elevated (73).

The gut microbiota plays a crucial role in iNKT and MAIT cell development, and iNKT and MAIT cells activating and inhibiting microbial-derived antigens have been identified. Therefore, it is tempting to speculate that in T1D and T2D alterations of the gut microbiota, and possibly also AT associated microbiota, impact iNKT and MAIT cells homeostasis in the gut and AT. We hypothesize that in diabetes and obesity MAIT cells are recruited to the gut and/or AT therefore depleting the circulating compartments, and in the AT of obese patients the exacerbated IL-17 production by MAIT cells participate to the local inflammation and insulin resistance (Figure 1).

Invariant natural killer T cells have been shown to influence the gut microbial colonization (74). It would be very interesting to assess if MAIT cells can also modulate the gut microbiota. A recent report showed that circulating MAIT cell deficiency observed in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and patients with rheumatoid arthritis (RA) was associated with circulating iNKT cell deficiency in patients with SLE but not in patients with RA (75). Furthermore, the authors showed that iNKT cell activation by  $\alpha$ -GalCer induces MAIT cell activation. In obese patients, we did not find a correlation between the decreased iNKT and MAIT cell frequency (unpublished data).

## References

- World Health Organization. *Diabetes Fact Sheet no 312* (2015). Available from: <http://www.who.int/gate2.inist.fr/mediacentre/factsheets/fs312/en/>
- Gepts W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* (1965) **14**(10):619–33. doi:10.2337/diab.14.10.619
- Donath MY, Boni-Schnetzler M, Ellingsgaard H, Ehses JA. Islet inflammation impairs the pancreatic beta-cell in type 2 diabetes. *Physiology* (2009) **24**:325–31. doi:10.1152/physiol.00032.2009
- Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* (2011) **11**(2):98–107. doi:10.1038/nri2925
- Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol* (2007) **25**:297–336. doi:10.1146/annurev.immunol.25.022106.141711
- Le Bourhis L, Guerri L, Dusseaux M, Martin E, Soudais C, Lantz O. Mucosal-associated invariant T cells: unconventional development and function. *Trends Immunol* (2011) **32**(5):212–8. doi:10.1016/j.it.2011.02.005
- Magalhaes I, Pingris K, Poitou C, Bessoles S, Ventecléf N, Kief B, et al. Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients. *J Clin Invest* (2015) **125**(4):1752–62. doi:10.1172/JCI78941
- Gombert JM, Herbelin A, Tancrede-Bohin E, Dy M, Carnaud C, Bach JF. Early quantitative and functional deficiency of NK1+ like thymocytes in the NOD mouse. *Eur J Immunol* (1996) **26**(12):2989–98. doi:10.1002/eji.1830261226
- Baxter AG, Kinder SJ, Hammond KJ, Scollay R, Godfrey DI. Association between alpha-betaTCR+CD4-CD8- T-cell deficiency and IDDM in NOD/Lt mice. *Diabetes* (1997) **46**(4):572–82. doi:10.2337/diabetes.46.4.572
- Chen YG, Tsaih SW, Serreze DV. Genetic control of murine invariant natural killer T-cell development dynamically differs dependent on the examined tissue type. *Genes Immun* (2012) **13**(2):164–74. doi:10.1038/gene.2011.68
- Jordan MA, Fletcher JM, Pellicci D, Baxter AG. Slamf1, the NKT cell control gene Nkt1. *J Immunol* (2007) **178**(3):1618–27. doi:10.4049/jimmunol.178.3.1618
- Baev DV, Caielli S, Ronchi F, Coccia M, Facciotti F, Nichols KE, et al. Impaired SLAM-SLAM homotypic interaction between invariant NKT cells and dendritic cells affects differentiation of IL-4/IL-10-secreting NKT2 cells in nonobese diabetic mice. *J Immunol* (2008) **181**(2):869–77. doi:10.4049/jimmunol.181.2.869
- Tsaih SW, Khaja S, Ciecko AE, MacKinney E, Chen YG. Genetic control of murine invariant natural killer T cells maps to multiple type 1 diabetes regions. *Genes Immun* (2013) **14**(6):380–6. doi:10.1038/gene.2013.32
- Fletcher JM, Jordan MA, Snelgrove SL, Slattery RM, Dufour FD, Kyriassoudis K, et al. Congenic analysis of the NKT cell control gene Nkt2 implicates the peroxisomal protein Pmp4. *J Immunol* (2008) **181**(5):3400–12. doi:10.4049/jimmunol.181.5.3400
- Tsaih SW, Presa M, Khaja S, Ciecko AE, Serreze DV, Chen YG. A locus on mouse chromosome 13 inversely regulates CD1d expression and the development of invariant natural killer T-cells. *Genes Immun* (2015) **16**(3):221–30. doi:10.1038/gene.2014.81
- Simoni Y, Gautron AS, Beaudoin L, Bui LC, Michel ML, Coumoul X, et al. NOD mice contain an elevated frequency of iNKT17 cells that exacerbate diabetes. *Eur J Immunol* (2011) **41**(12):3574–85. doi:10.1002/eji.201141751
- Ghazarian L, Simoni Y, Magalhaes I, Lehuen A. Invariant NKT cell development: focus on NOD mice. *Curr Opin Immunol* (2014) **27**:83–8. doi:10.1016/j.coi.2014.02.004
- Wang B, Geng YB, Wang CR. CD1-restricted NK T cells protect nonobese diabetic mice from developing diabetes. *J Exp Med* (2001) **194**(3):313–20. doi:10.1084/jem.194.3.313
- Shi FD, Flodstrom M, Balasa B, Kim SH, Van Gunst K, Strominger JL, et al. Germ line deletion of the CD1 locus exacerbates diabetes in the NOD mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* (2001) **98**(12):6777–82. doi:10.1073/pnas.121169698
- Hammond KJ, Poulton LD, Palmisano LJ, Silveira PA, Godfrey DI, Baxter AG. alpha/beta-T cell receptor (TCR)+CD4-CD8- (NKT) thymocytes prevent insulin-dependent diabetes mellitus in nonobese diabetic (NOD)/Lt mice by the influence of interleukin (IL)-4 and/or IL-10. *J Exp Med* (1998) **187**(7):1047–56. doi:10.1084/jem.187.7.1047
- Lehuen A, Lantz O, Beaudoin L, Laloux V, Carnaud C, Bendelac A, et al. Overexpression of natural killer T cells protects Valpha14- Jalpha281 transgenic nonobese diabetic mice against diabetes. *J Exp Med* (1998) **188**(10):1831–9. doi:10.1084/jem.188.10.1831
- Laloux V, Beaudoin L, Jeske D, Carnaud C, Lehuen A. NK T cell-induced protection against diabetes in V alpha 14-J alpha 281 transgenic nonobese diabetic mice is associated with a Th2 shift circumscribed regionally to the islets and functionally to islet autoantigen. *J Immunol* (2001) **166**(6):3749–56. doi:10.4049/jimmunol.166.6.3749

23. Hong S, Wilson MT, Serizawa I, Wu L, Singh N, Naidenko OV, et al. The natural killer T-cell ligand alpha-galactosylceramide prevents autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice. *Nat Med* (2001) 7(9):1052–6. doi:10.1038/nm0901-1052
24. Sharif S, Arreaza GA, Zucker P, Mi QS, Sondhi J, Naidenko OV, et al. Activation of natural killer T cells by alpha-galactosylceramide treatment prevents the onset and recurrence of autoimmune type 1 diabetes. *Nat Med* (2001) 7(9):1057–62. doi:10.1038/nm0901-1057
25. Chen YG, Choisy-Rossi CM, Holl TM, Chapman HD, Besra GS, Porcelli SA, et al. Activated NKT cells inhibit autoimmune diabetes through tolerogenic recruitment of dendritic cells to pancreatic lymph nodes. *J Immunol* (2005) 174(3):1196–204. doi:10.4049/jimmunol.174.3.1196
26. Beaudoin L, Diana J, Ghazarian L, Simoni Y, Boitard C, Lehuen A. Plasmacytoid dendritic cells license regulatory T cells, upon iNKT-cell stimulation, to prevent autoimmune diabetes. *Eur J Immunol* (2014) 44(5):1454–66. doi:10.1002/eji.201343910
27. Beaudoin L, Laloux V, Novak J, Lucas B, Lehuen A. NKT cells inhibit the onset of diabetes by impairing the development of pathogenic T cells specific for pancreatic beta cells. *Immunity* (2002) 17(6):725–36. doi:10.1016/S1074-7613(02)00473-9
28. Novak J, Beaudoin L, Griseri T, Lehuen A. Inhibition of T cell differentiation into effectors by NKT cells requires cell contacts. *J Immunol* (2005) 174(4):1954–61. doi:10.4049/jimmunol.174.4.1954
29. Diana J, Brezar V, Beaudoin L, Dalod M, Mellor A, Tafuri A, et al. Viral infection prevents diabetes by inducing regulatory T cells through NKT cell-plasmacytoid dendritic cell interplay. *J Exp Med* (2011) 208(4):729–45. doi:10.1084/jem.20101692
30. Ghazarian L, Diana J, Beaudoin L, Larsson PG, Puri RK, van Rooijen N, et al. Protection against type 1 diabetes upon Coxsackievirus B4 infection and iNKT-cell stimulation: role of suppressive macrophages. *Diabetes* (2013) 62(11):3785–96. doi:10.2337/db12-0958
31. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. Role of cytokines in the pathogenesis of autoimmune diabetes mellitus. *Rev Endocr Metab Disord* (2003) 4(3):291–9. doi:10.1023/A:1025160614313
32. Wilson SB, Kent SC, Patton KT, Orban T, Jackson RA, Exley M, et al. Extreme Th1 bias of invariant Valpha24JalphaQ T cells in type 1 diabetes. *Nature* (1998) 391(6663):177–81. doi:10.1038/34419
33. Kukreja A, Cost G, Marker J, Zhang C, Sun Z, Lin-Su K, et al. Multiple immunoregulatory defects in type-1 diabetes. *J Clin Invest* (2002) 109(1):131–40. doi:10.1172/JCI13605
34. Kis J, Engelmann P, Farkas K, Richman G, Eck S, Lolley J, et al. Reduced CD4+ subset and Th1 bias of the human iNKT cells in type 1 diabetes mellitus. *J Leukoc Biol* (2007) 81(3):654–62. doi:10.1189/jlb.1106654
35. Oikawa Y, Shimada A, Yamada S, Motohashi Y, Nakagawa Y, Irie J, et al. High frequency of valpha24(+) vbeta11(+) T-cells observed in type 1 diabetes. *Diabetes Care* (2002) 25(10):1818–23. doi:10.2337/diacare.25.10.1818
36. Lee PT, Putnam A, Benlagha K, Teyton L, Gottlieb PA, Bendelac A. Testing the NKT cell hypothesis of human IDDM pathogenesis. *J Clin Invest* (2002) 110(6):793–800. doi:10.1172/JCI0215832
37. Tsutsumi Y, Jie X, Ihara K, Nomura A, Kanemitsu S, Takada H, et al. Phenotypic and genetic analyses of T-cell-mediated immunoregulation in patients with Type 1 diabetes. *Diabet Med* (2006) 23(10):1145–50. doi:10.1111/j.1464-5491.2006.01951.x
38. Oling V, Marttila J, Knip M, Simell O, Ilonen J. Circulating CD4+CD25 high regulatory T cells and natural killer T cells in children with newly diagnosed type 1 diabetes or with diabetes-associated autoantibodies. *Ann N Y Acad Sci* (2007) 1107:363–72. doi:10.1196/annals.1381.038
39. Roman-Gonzalez A, Moreno ME, Alfaro JM, Uribe F, Latorre-Sierra G, Rugeles MT, et al. Frequency and function of circulating invariant NKT cells in autoimmune diabetes mellitus and thyroid diseases in Colombian patients. *Hum Immunol* (2009) 70(4):262–8. doi:10.1016/j.humimm.2009.01.012
40. Li S, Joseph C, Becourt C, Klubi J, Luce S, Dubois-Laforgue D, et al. Potential role of IL-17-producing iNKT cells in type 1 diabetes. *PLoS One* (2014) 9(4):e96151. doi:10.1371/journal.pone.0096151
41. Cornelis MC, Hu FB. Gene-environment interactions in the development of type 2 diabetes: recent progress and continuing challenges. *Annu Rev Nutr* (2012) 32:245–59. doi:10.1146/annurev-nutr-071811-150648
42. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* (1993) 259(5091):87–91. doi:10.1126/science.7678183
43. Lynch L, Nowak M, Varghese B, Clark J, Hogan AE, Toxavidis V, et al. Adipose tissue invariant NKT cells protect against diet-induced obesity and metabolic disorder through regulatory cytokine production. *Immunity* (2012) 37(3):574–87. doi:10.1016/j.immuni.2012.06.016
44. Wu L, Parekh VV, Gabriel CL, Bracy DP, Marks-Shulman PA, Tamboli RA, et al. Activation of invariant natural killer T cells by lipid excess promotes tissue inflammation, insulin resistance, and hepatic steatosis in obese mice. *Proc Natl Acad Sci USA* (2012) 109(19):E1143–52. doi:10.1073/pnas.1200498109
45. Mathis D. Immunological goings-on in visceral adipose tissue. *Cell Metab* (2013) 17(6):851–9. doi:10.1016/j.cmet.2013.05.008
46. Lynch L. Adipose invariant natural killer T cells. *Immunology* (2014) 142(3):337–46. doi:10.1111/imm.12269
47. Lynch L, Michelet X, Zhang S, Brennan PJ, Moseman A, Lester C, et al. Regulatory iNKT cells lack expression of the transcription factor PLZF and control the homeostasis of T(reg) cells and macrophages in adipose tissue. *Nat Immunol* (2015) 16(1):85–95. doi:10.1038/ni.3047
48. Lynch L, O'Shea D, Winter DC, Geoghegan J, Doherty DG, O'Farrelly C. Invariant NKT cells and CD1d(+) cells amass in human omentum and are depleted in patients with cancer and obesity. *Eur J Immunol* (2009) 39(7):1893–901. doi:10.1002/eji.200939349
49. Reantragoon R, Corbett AJ, Sakala IG, Gherardin NA, Furness JB, Chen Z, et al. Antigen-loaded MR1 tetramers define T cell receptor heterogeneity in mucosal-associated invariant T cells. *J Exp Med* (2013) 210(11):2305–20. doi:10.1084/jem.20130958
50. Shimamura M, Huang YY, Goji H, Endo S, Migishima R, Yokoyama M. Regulation of immunological disorders by invariant Valpha19-Jalpha33 TCR-bearing cells. *Immunobiology* (2011) 216(3):374–8. doi:10.1016/j.imbio.2010.08.003
51. Harms RZ, Lorenzo KM, Corley KP, Cabrera MS, Sarvetnick NE. Altered CD161bright CD8+ mucosal associated invariant T (MAIT)-like cell dynamics and increased differentiation states among juvenile type 1 diabetics. *PLoS One* (2015) 10(1):e0117335. doi:10.1371/journal.pone.0117335
52. Novak J, Dobrovolny J, Novakova L, Kozak T. The decrease in number and change in phenotype of mucosal-associated invariant T cells in the elderly and differences in males and females of reproductive age. *Scand J Immunol* (2014) 80(4):271–5. doi:10.1111/sji.12193
53. Ribot JC, deBarros A, Pang DJ, Neves JF, Peperzak V, Roberts SJ, et al. CD27 is a thymic determinant of the balance between interferon-gamma- and interleukin 17-producing gammadelta T cell subsets. *Nat Immunol* (2009) 10(4):427–36. doi:10.1038/ni.1717
54. Muranski P, Restifo NP. Essentials of Th17 cell commitment and plasticity. *Blood* (2013) 121(13):2402–14. doi:10.1182/blood-2012-09-378653
55. Carolan E, Tobin LM, Mangan BA, Corrigan M, Gaoatswe G, Byrne G, et al. Altered distribution and increased IL-17 production by mucosal-associated invariant T cells in adult and childhood obesity. *J Immunol* (2015) 194(12):5775–80. doi:10.4049/jimmunol.1402945
56. Dalmas E, Ventecler N, Caer C, Poitou C, Cremer I, Aron-Wisnewsky J, et al. T cell-derived IL-22 amplifies IL-1beta-driven inflammation in human adipose tissue: relevance to obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* (2014) 63(6):1966–77. doi:10.2337/db13-1511
57. Lieb DC, Brotman JJ, Hatcher MA, Aye MS, Cole BK, Haynes BA, et al. Adipose tissue 12/15 lipoxygenase pathway in human obesity and diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* (2014) 99(9):E1713–20. doi:10.1210/jc.2013-4461
58. Zeissig S, Blumberg RS. Commensal microbiota and NKT cells in the control of inflammatory diseases at mucosal surfaces. *Curr Opin Immunol* (2013) 25(6):690–6. doi:10.1016/j.coi.2013.09.012
59. Treiner E, Duban L, Bahram S, Radosavljevic M, Wanner V, Tilloy F, et al. Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature* (2003) 422(6928):164–9. doi:10.1038/nature01433
60. Wieland Brown LC, Penaranda C, Kashyap PC, Williams BB, Clardy J, Kronenberg M, et al. Production of alpha-galactosylceramide by a prominent member of the human gut microbiota. *PLoS Biol* (2013) 11(7):e1001610. doi:10.1371/journal.pbio.1001610
61. An D, Oh SF, Olszak T, Neves JF, Avci FY, Erturk-Hasdemir D, et al. Sphingolipids from a symbiotic microbe regulate homeostasis of host intestinal natural killer T cells. *Cell* (2014) 156(1–2):123–33. doi:10.1016/j.cell.2013.11.042

62. McWilliam HE, Birkinshaw RW, Villadangos JA, McCluskey J, Rossjohn J. MR1 presentation of vitamin B-based metabolite ligands. *Curr Opin Immunol* (2015) **34C**:28–34. doi:10.1016/j.coi.2014.12.004
63. Corbett AJ, Eckle SB, Birkinshaw RW, Liu L, Patel O, Mahony J, et al. T-cell activation by transitory neo-antigens derived from distinct microbial pathways. *Nature* (2014) **509**(7500):361–5. doi:10.1038/nature13160
64. Peng J, Narasimhan S, Marchesi JR, Benson A, Wong FS, Wen L. Long term effect of gut microbiota transfer on diabetes development. *J Autoimmun* (2014) **53**:85–94. doi:10.1016/j.jaut.2014.03.005
65. Markle JG, Frank DN, Mortin-Toth S, Robertson CE, Feazel LM, Rolle-Kampczyk U, et al. Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science* (2013) **339**(6123):1084–8. doi:10.1126/science.1233521
66. Dunne JL, Triplett EW, Gevers D, Xavier R, Insel R, Danska J, et al. The intestinal microbiome in type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol* (2014) **177**(1):30–7. doi:10.1111/cei.12321
67. McLean MH, Dieguez D Jr, Miller LM, Young HA. Does the microbiota play a role in the pathogenesis of autoimmune diseases? *Gut* (2015) **64**(2):332–41. doi:10.1136/gutjnl-2014-308514
68. Kostic AD, Gevers D, Siljander H, Vatanen T, Hyotylainen T, Hamalainen AM, et al. The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. *Cell Host Microbe* (2015) **17**(2):260–73. doi:10.1016/j.chom.2015.01.001
69. Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut* (2014) **63**(9):1513–21. doi:10.1136/gutjnl-2014-306928
70. Burcelin R, Serino M, Chabo C, Garidou L, Pomie C, Courtney M, et al. Metagenome and metabolism: the tissue microbiota hypothesis. *Diabetes Obes Metab* (2013) **15**(Suppl 3):61–70. doi:10.1111/dom.12157
71. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* (2012) **490**(7418):55–60. doi:10.1038/nature11450
72. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergstrom G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* (2013) **498**(7452):99–103. doi:10.1038/nature12198
73. Fleming T, Cuny J, Nawroth G, Djuric Z, Humpert PM, Zeier M, et al. Is diabetes an acquired disorder of reactive glucose metabolites and their intermediates? *Diabetologia* (2012) **55**(4):1151–5. doi:10.1007/s00125-012-2452-1
74. Nieuwenhuis EE, Matsumoto T, Lindenberg D, Willemsen R, Kaser A, Simons-Oosterhuis Y, et al. Cd1d-dependent regulation of bacterial colonization in the intestine of mice. *J Clin Invest* (2009) **119**(5):1241–50. doi:10.1172/JCI36509
75. Cho YN, Kee SJ, Kim TJ, Jin HM, Kim MJ, Jung HJ, et al. Mucosal-associated invariant T cell deficiency in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* (2014) **193**(8):3891–901. doi:10.4049/jimmunol.1302701

**Conflict of Interest Statement:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as potential conflict of interest.

Copyright © 2015 Magalhaes, Kiaf and Lehuen. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.