

Best of Allergologie & immunologie 2018

- **Module Immunologie**

Dr Louis BOISSIERE
Maxime POYER

Tuteurs :

Dr Assia EL JAAFARI
Dr Lorna GARNIER
Dr Sébastien VIEL

Pentraxin 3 : Nouvelle Molécule dans la régulation de l'inflammation allergique pulmonaire

Rationnel:

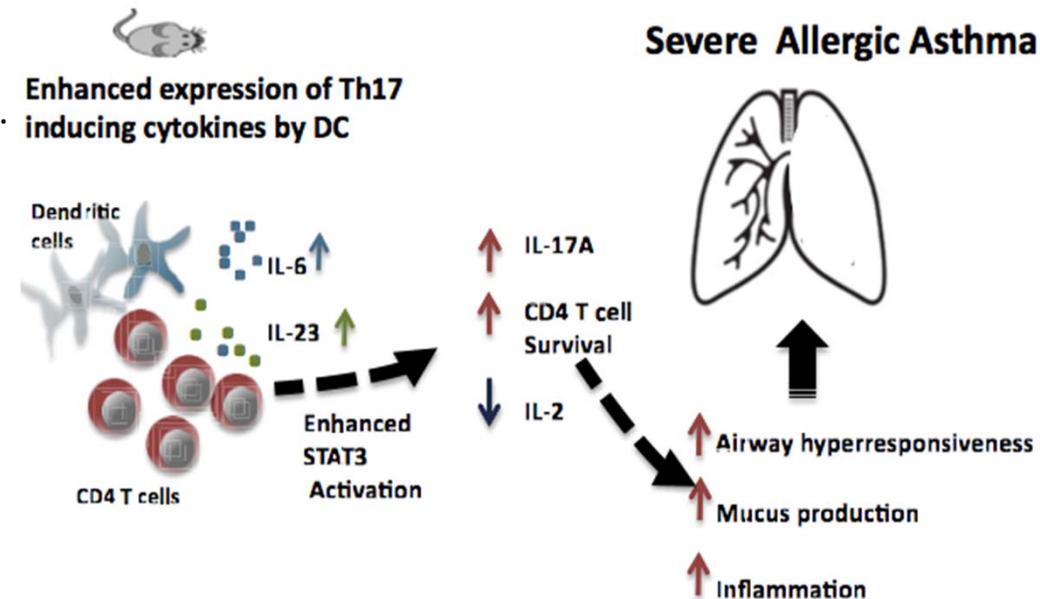
L'asthme: pathologie orchestrée par le système immunitaire adaptatif. De nombreuses études démontrent l'importance du système immunitaire inné dans la physiopathologie de la maladie. Notamment la reconnaissance par les cellules dendritiques (CDs) des **Pattern Recognition Receptors (PRRs)** qui peuvent être solubles tels que le **Pentraxin 3 (PTX3)**.

Objectif:

- Etudier la contribution de PTX3 grâce à un modèle murin de maladie asthmatique médiée par l'OVA (Ovalbumine) sur des souris KO pour PTX3.

Résultats:

- Le déficit en PTX3 entraîne une:
- Augmentation de l'afflux de cellules inflammatoires, de l'hyperréactivité bronchique, et de la production de mucus.
- Augmentation de la survie des TCD4 pulmonaires via:
 - ↑ la production d'**IL-6** et **23** par les CDs → phénotype Th17 (IL-17A).
 - ↓ l'apoptose par amplification de Bcl2 et diminution de l'IL-2.



→ PTX3: rôle clé dans la régulation des TCD4 et la production d'IL-17A souvent associée à une cortico-résistance chez les sujets asthmatiques sévères.

Vers une nouvelle stratégie de désensibilisation des réactions anaphylactiques?

Rationnel:

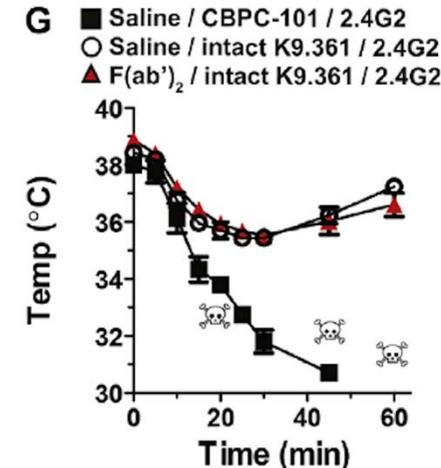
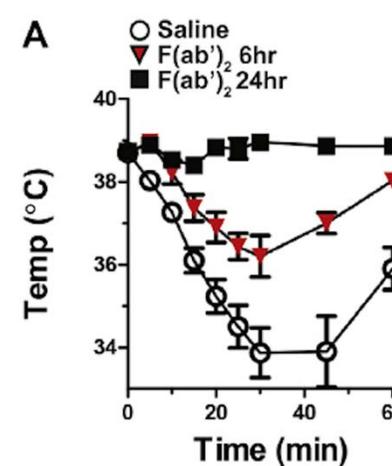
L'anaphylaxie est une réaction le plus souvent IgE médiée. Mais il existe des réactions d'anaphylaxies de type IgG. Les récepteurs de ces IgGs, les FcγRs, sont de deux types: **activateurs** comme le **FcγRIII** et **inhibiteurs** tels que le **FcγRIIB**.

Objectif:

- Etudier les effets de **K9.361 (Ac activateur de FcγRIIB de souris)** dans l'anaphylaxie IgG médiée chez la souris, à l'aide du 2.4G2 (Ac activateur de FcγRIII/ FcγRIIB).

Résultats:

- De façon contre-intuitive, le blocage de FcγRIIB par K9.361 induit une réaction anaphylactique modérée.
- L'injection de K9.361 intact réduit l'expression des FcγRIII et prévient l'anaphylaxie IgG induite par 2.4G2.
- Un pré-traitement par le fragment F(ab')₂ de K9.361 prévient l'anaphylaxie induite par sa forme intacte sans impacter l'inhibition de la réaction IgG induite.



=> Le traitement séquentiel par F(ab')₂ suivi par l'Ac anti-FcγRIIB prévient les réactions anaphylactiques IgG médiées chez la souris, sans induire de réaction anaphylactique.

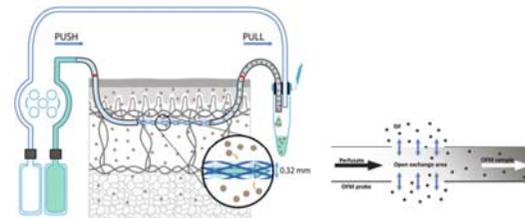
B-defensin 2 : Nouveau biomarqueur dans le psoriasis

Rationnel:

Rôle aggravant du phénotype Th17 et de ces cytokines, l'IL-17 et 22, dans le psoriasis. Le taux d'**IL-17A** étant corrélé à sa **sévérité**, certaines thérapeutiques cherchent à inhiber cette cytokine. C'est le cas du **Secukinumab (Ac anti IL-17A)**.

Objectif:

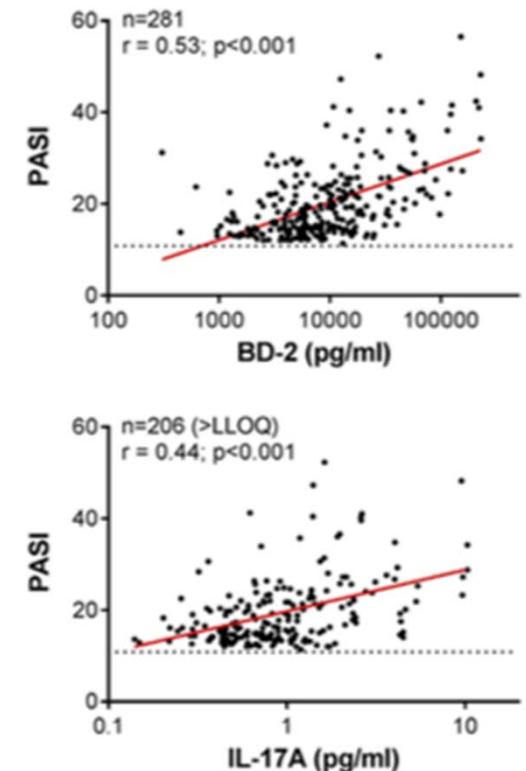
- Identifier un biomarqueur reflétant l'activité de l'IL-17A au travers du serum de patients atteints de psoriasis mais aussi via un test de perfusion cutanée le dISF (Dermal Interstitial Fluid)



Résultats:

- Screening protéomique de 170 protéines avant et après blocage de l'IL-17A.
- La BD-2 (B-defensin 2) est la protéine ayant subi le plus important delta après traitement.
- Le taux de BD-2 dans le sérum est corrélé au score de PASI. ($r = 0.53$ vs $r = 0.44$), et au niveau d'IL17A

=> La BD-2 est un biomarqueur fiable et facilement mesurable reflétant l'activité de l'IL-17A.



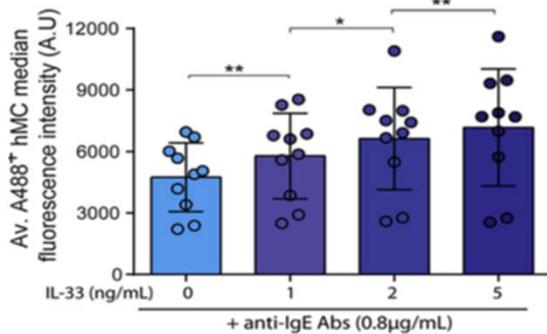
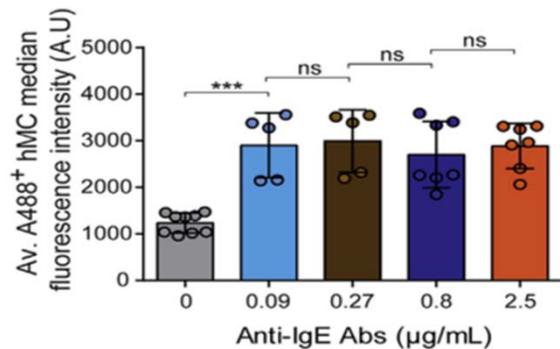
IL-33: Emergence de phénotypes mastocytaires.

Rationnel:

Les réactions d'hypersensibilité sont très hétérogènes d'une personne à l'autre en regard d'un même stimulus. Certaines études évoquent un phénomène de **variabilité mastocytaire**. Contribuant à la **maturation** et à la **dégranulation** du mastocyte, l'**IL-33** est sécrétée par les cellules épithéliales dans les réactions IgE médiées, et favorise les sécrétions de cytokines de type Th2.

Objectif:

- Etudier l'hétérogénéité mastocytaire et l'effet de l'IL-33 sur leur dégranulation.



Résultats:

- Les mastocytes réagissent de manière hétérogène à un même stimulus malgré une augmentation proportionnelle du Ca⁺⁺ intracellulaire. Phénotype de fort et faible répondeurs.
- La dégranulation mastocytaire induite par les IgE répond à un mécanisme « on/off ».
- L'IL-33 augmente le nombre de mastocytes activés et abaisse le seuil de leur activation => ↑ intensité de la dégranulation et la production de chémokine.

=> Il existe une grande hétérogénéité dans la dégranulation mastocytaire et l'IL-33 induit l'émergence d'un phénotype « fort répondeur » aux réactions IgE médiée.

Pollution et Dermatite atopique : L'hyper-innervation cutanée aggrave le prurit

Rationnel:

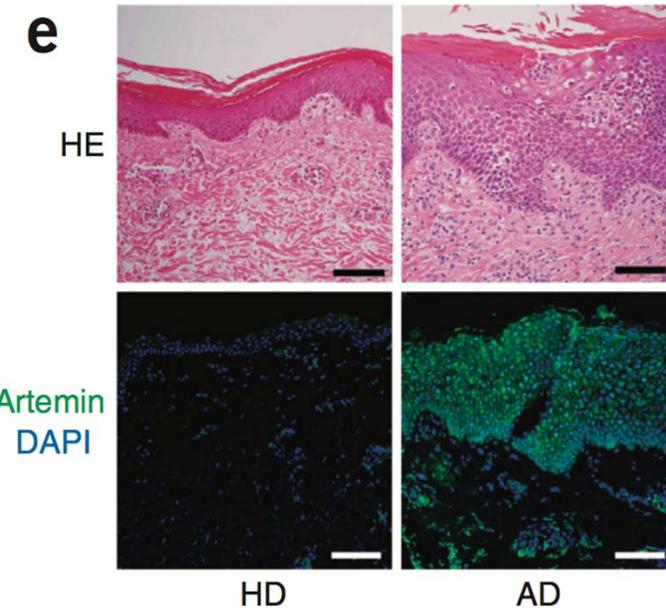
L'augmentation **rapide** et **récente** de la **prévalence** de la dermatite atopique (DA) suggère une importante contribution des **facteurs environnementaux**. Les particules fines tels que les hydrocarbures polycycliques aromatiques exercent un effet biologique au travers de leur récepteur: **l'AhR (Aryl hydrocarbon Receptor)**.

Objectif:

- Comprendre le lien entre DA et pollution de l'air via l'activation de l'AhR.

Résultats:

- Les souris AhR-CA expriment des AhR constitutivement activés et présentent un phénotype DA-like .
- L'activation d'AhR au niveau des kératinocytes induit l'expression d'**Artemin (ARTN)** , facteur neurotrophique causant l'allodnesis (prurit déclenché par un stimulus normalement non prurigineux)
- L'axe AhR-Artemin est sur-activé chez les patients souffrants de DA



→ Les polluants de l'air induisent la production d'Artemin via l'activation d'AhR , responsable d'une augmentation de l'innervation cutanée et d'une plus grande sensibilité au prurit.

Takanori Hidaka et al. « The aryl hydrocarbon receptor AhR links atopic dermatitis and air pollution via induction of the neurotrophic factor artemin » Nature immunology vol 18 january 2017

IL-17 jouerait un rôle dans les asthmes sévères et les exacerbations

Objectifs :

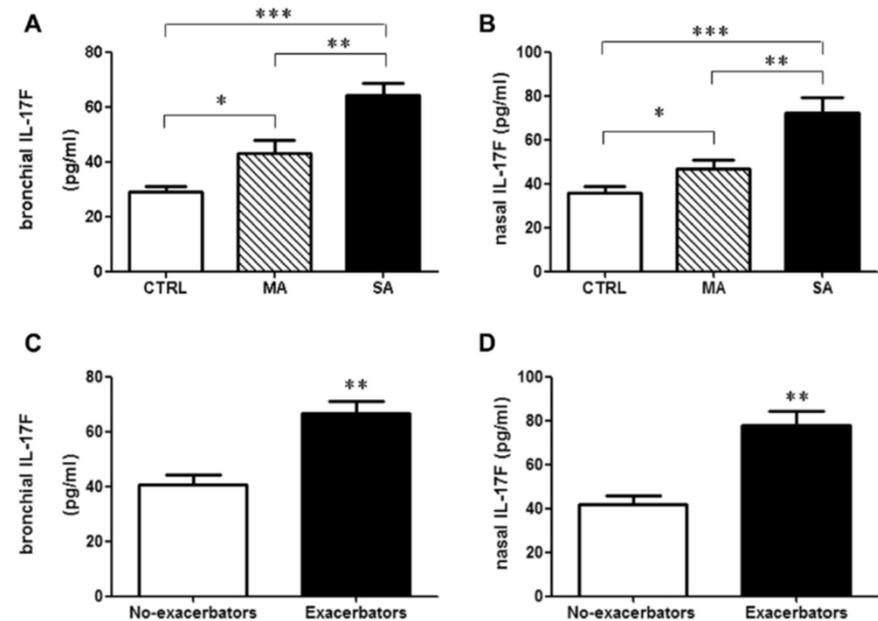
- **Comparer**, chez des asthmatiques, les expressions de cytokines de la famille IL-17 selon la **gravité** de l'asthme
- Rechercher un lien entre **présence de cytokines de la famille IL-17** dans la muqueuse respiratoire (nasale et bronchique) et **exacerbations d'asthme**

Design :

- 64 patients asthmatiques (33 SAs* et 31 MAs* / dont 24 FEs*) versus 14 patients contrôle

Résultats :

- Dans la muqueuse respiratoire
 - Taux de neutrophiles et de **cellules IL-17A/F⁺** et **IL-21⁺** augmentés chez les asthmatiques sévères et modérés.
- **Corrélation entre nombre de cellules IL-17F⁺ / neutrophiles, taux d'exacerbations et VEMS**
- IL-17F pourrait être un biomarqueur d'un phénotype d'asthmatiques exacerbateurs fréquents.



→ Les cytokines de la famille IL-17 (IL-17F) étaient plus présentes dans les muqueuses respiratoires des patients asthmatiques neutrophiliques et exacerbateurs, suggérant un rôle pathogène spécifique

Fabio L. M. Ricciardolo et al. « Identification of IL-17F/frequent exacerbator endotype in asthma » JACI august 2017

*Sas : Asthme sévère / Mas : Asthme modéré / Fes : exacerbateurs fréquents

L'utilisation de l'avidine comme un marqueur direct de dégranulation des basophiles

Objectifs :

- Evaluation de l'avidine comme **marqueur de dégranulation** dans le **test d'activation des basophiles**

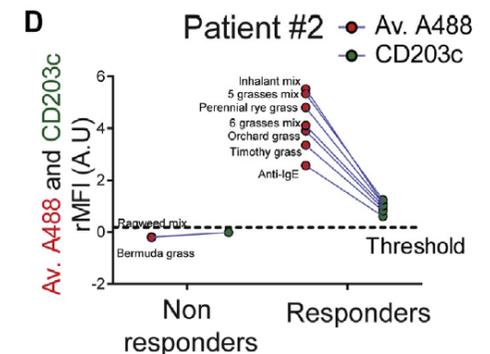
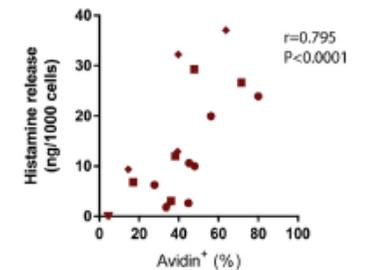
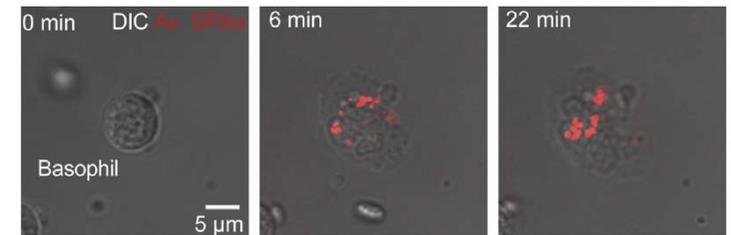
Design :

- L'avidine se fixe sur les protéoglycanes chargés négativement, présents dans les granules mastocytaires
- Comparaison de ce marqueur avec les 2 marqueurs utilisés en pratique (CD63 et CD203c), en cytométrie de flux, chez 11 patients allergiques

Résultats :

- Validation de la **spécificité** du marquage par l'Avidine
- Bonne corrélation du marquage par l'Avidine avec le relargage d'histamine
- **Résultats qualitatifs similaires** entre les 3 marqueurs d'activation des basophiles (patients allergiques)
- Δ rMFI (moyenne de fluorescence) plus important pour l'Avidine par rapport au CD203c : meilleure sensibilité ?

→ **L'utilisation de l'avidine comme marqueur direct de dégranulation des basophiles semble être une alternative fiable et plus sensible que les tests actuels**



La liaison CD40-CD40L joue un rôle essentiel dans la réponse macrophagique aux infections, et peut-être corrigée par l'INF- γ

Les patients déficitaires en CD40L ont une susceptibilité accrue aux infections à germes intracellulaire et fongique.

Quel impact a ce déficit sur la réponse macrophagique ?

Objectifs :

- Analyse *in vitro* de l'**activité macrophagique** de patients déficitaires en CD40L
- Déterminer l'effet d'un **traitement par IFN- γ et sCD40L** sur l'activité macrophagique *in vitro* de ces mêmes patients

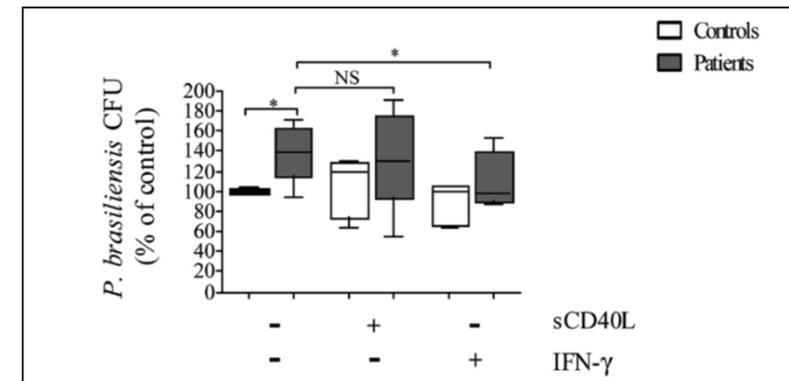
Design :

- Inclusion de 6 patients avec déficit en CD40L et de 6 cas témoins

Résultats :

- **Activité fongicide** et **burst oxydatif** des macrophages défaillants
- Pas de contrôle de la **prolifération intracellulaire** des mycobactéries
- Diminution de la **production de cytokines pro-inflammatoires** et **dérégulation du transcriptome** des macrophages

Corrigés par IFN- γ et partiellement par sCD40L



→ Le déficit en CD40L altère le développement et les fonctions macrophagiques

→ L'IFN- γ pourrait être une option thérapeutique intéressante chez ces patients

La Galectine-1 bloque l'activation mastocytaire, permettant une réponse prolongée aux immunothérapies spécifiques intestinales

L'activation mastocytaire entraîne une dysfonction des LTreg interférant donc avec les immunothérapies allergéniques (ITA - SIT).

La **Galectine-1 bloque la dégranulation des mastocytes** en se fixant au complexe IgE/FcεRI.

Objectifs :

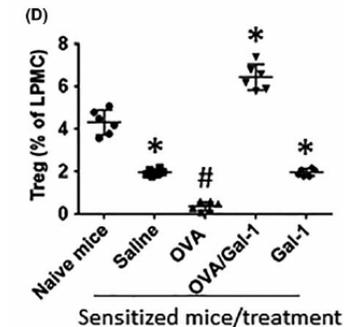
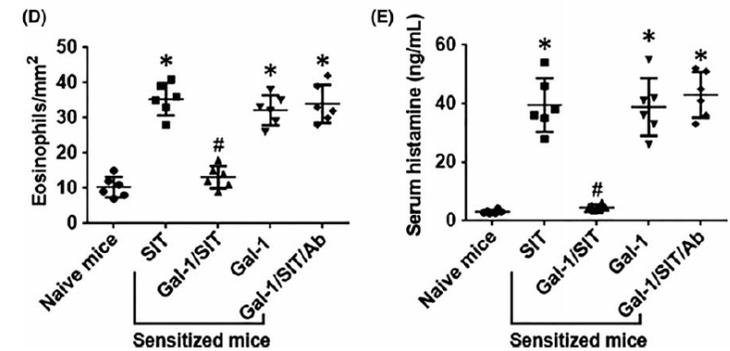
- Déterminer l'impact de l'adjonction de Galectine-1 à l'ITA sur les réactions allergiques intestinales murines
- Etudier cet impact sur le long terme (12 mois après la fin de l'ITA)

Design :

- Modèles murins sensibilisés à l'ovalbumine (OVA)
- Administration de Gal-1, puis d'OVA, puis d'une ITA

Résultats :

- Gal-1 inhibe la réponse allergique intestinale et l'activation mastocytaire
- L'adjonction de Gal-1 à l'ovalbumine induit une **prolifération de Treg intestinaux**
- L'association Gal-1/ITA inhibe la réponse allergique intestinale par rapport à l'ITS seule, jusqu'à 12 mois



→ L'adjonction de Gal-1 à l'ITS pourrait améliorer la réponse à l'ITS dans les allergies alimentaires

Rôle indispensable des cytokines proTh2 dans l'induction et le maintien d'une sensibilisation allergique alimentaire

Cytokines pro-Th2 = **IL-25, IL-33 et TSLP** – jouent un rôle dans l'apparition d'allergies alimentaires et leur persistance.

Objectifs :

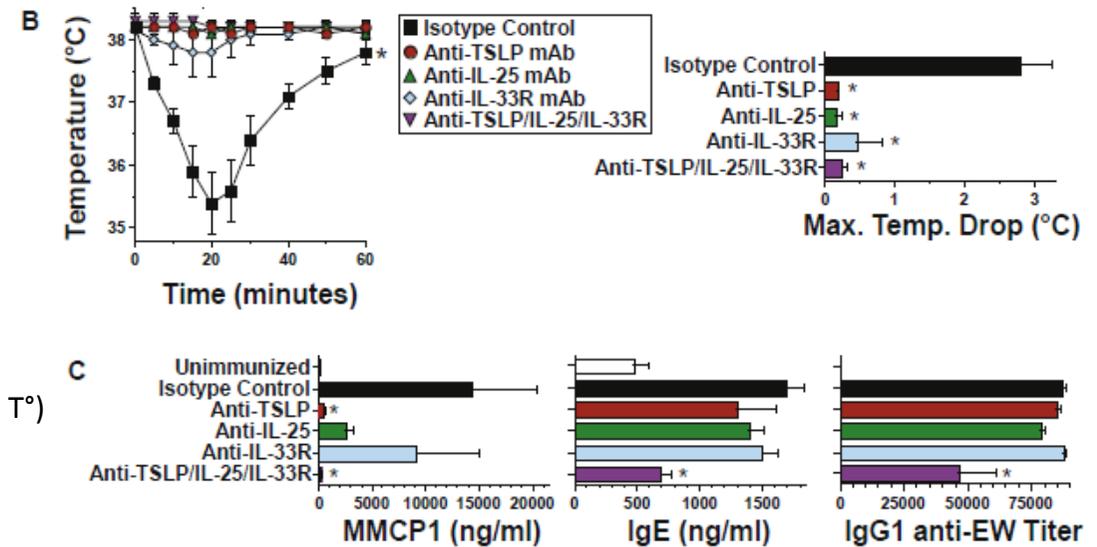
- Déterminer l'action d'Ac anti IL-25 / IL-33 / TSLP sur l'apparition d'une allergie alimentaire et sa persistance

Design :

- Modèles murins que l'on sensibilise au blanc d'œuf
- En parallèle injection d'Ac anti IL-25 / IL-33 / TSLP seuls ou en mélange pendant ou après la sensibilisation
- Etude de marqueurs reflète de l'allergie murine : choc anaphylactique (baisse de T°) IgG1, IgE, taux d'IL-4, IL-13, taux de PNEo, Th2, MMCP1

Résultats :

- Le blocage d'une seule cytokine pro-Th2 empêche le sensibilisation
- Le blocage d'une seule cytokine pro-Th2 n'empêche pas la réponse allergique chez l'individu sensibilisé
- MAIS le blocage des 3 cytokines pro-Th2 entraîne une disparition de la réponse allergique



- **Rôles indispensable des 3 cytokines proTh2 :**
- **Pour induire une sensibilisation : Nécessité des 3 cytokines pro-Th2**
- **Pour maintenir une réponse allergique si sensibilisation : Une seule des 3 cytokines est nécessaire**
- **Seul un traitement ciblant ces 3 cytokines pourrait donc supprimer une allergie alimentaire**