



# Asthme et allergies

**Dorian HASSOUN, MD**

Assistant Hospitalo-Universitaire

EFR – CHU de Nantes

Equipe 3 : Pathologies vasculaires et pulmonaires

UE Maladies allergiques et apparentées, le 17/11/2022

L'unité de recherche de l'institut du thorax, Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291

Nantes, France

# Liens d'intérêt

**Je déclare les liens d'intérêt suivants en lien avec la thématique de l'asthme :**

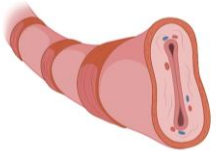
Au cours des 5 dernières années, financements pour participation à des congrès et manifestations scientifiques de la part des laboratoires AstraZeneca, Novartis Pharma SAS, GSK et SANOFI.

# L'asthme

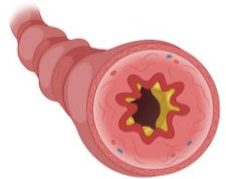
## Maladie respiratoire chronique des voies aériennes



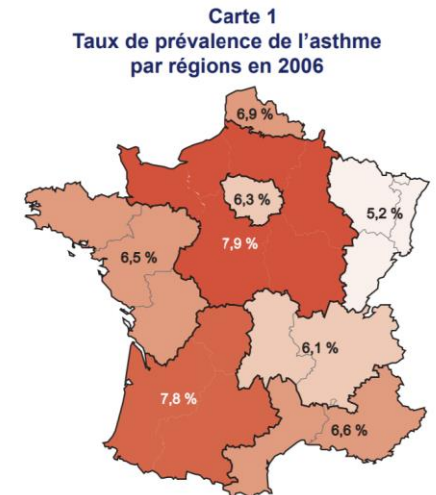
- Symptômes respiratoires **variables** dans le temps et en intensité



- Une limitation **variable** des débits aériens

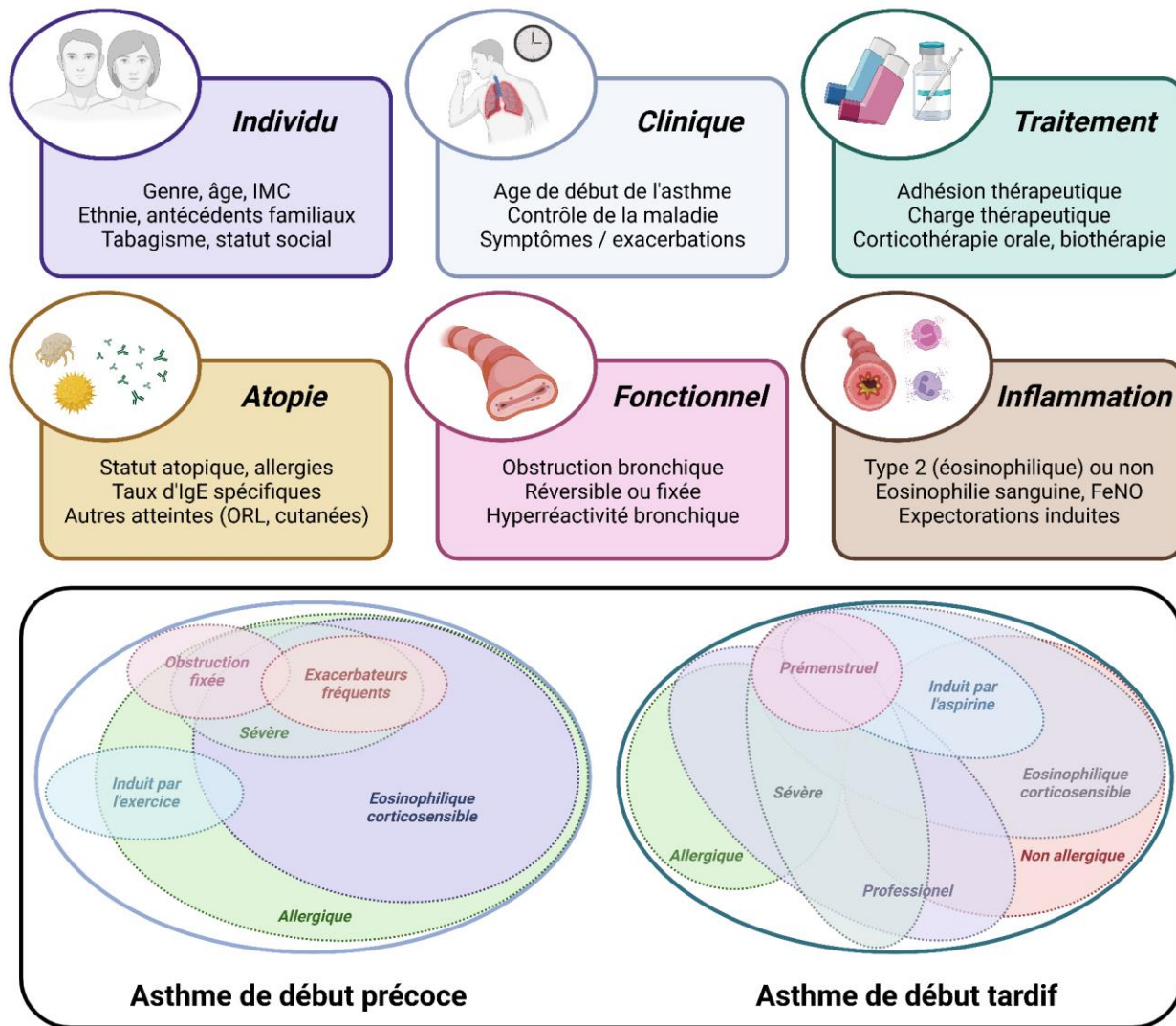


- Une **inflammation bronchique** chronique



Source : Irdes. Données : Enquête ESPS 2006.

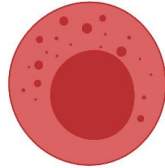
# Les phénotypes d'asthme



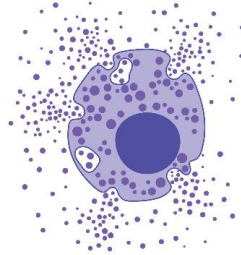
- Multiples phénotypes cliniques d'asthme
- Le phénotype allergique +++
  - Fréquent chez l'enfant (60%) (*ERS The European Lung - White Book*)
  - Recherche d'allergies recommandée chez l'enfant et l'adulte (SP2A et SPLF)
- Phénotype allergique accessible à une prise en charge spécifique
  - Eviction allergène
  - Immunothérapie spécifique

# Les acteurs de la physiopathologie de l'asthme

Inflammation bronchique

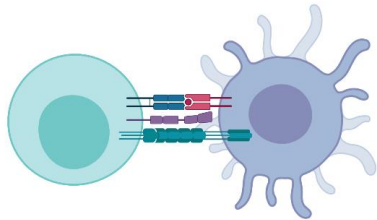


ILC-2



Mastocytes

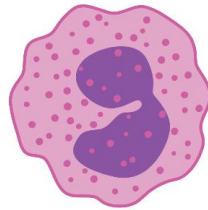
Remodelage bronchique



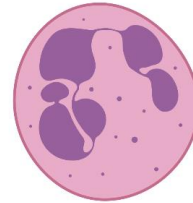
Immunité innée

Dysfonction épithéliale

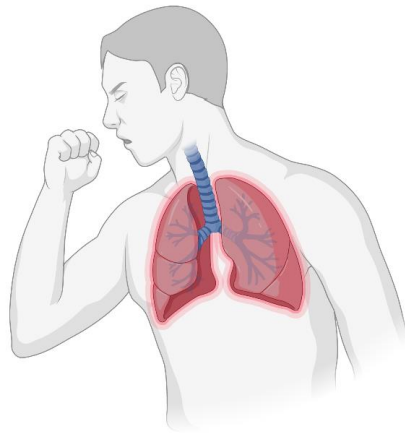
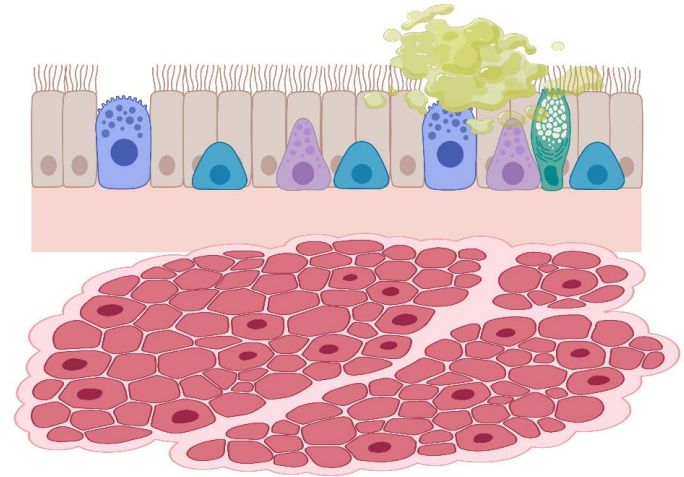
Immunité adaptative



Polynucléaires éosinophiles



Polynucléaires Neutrophiles

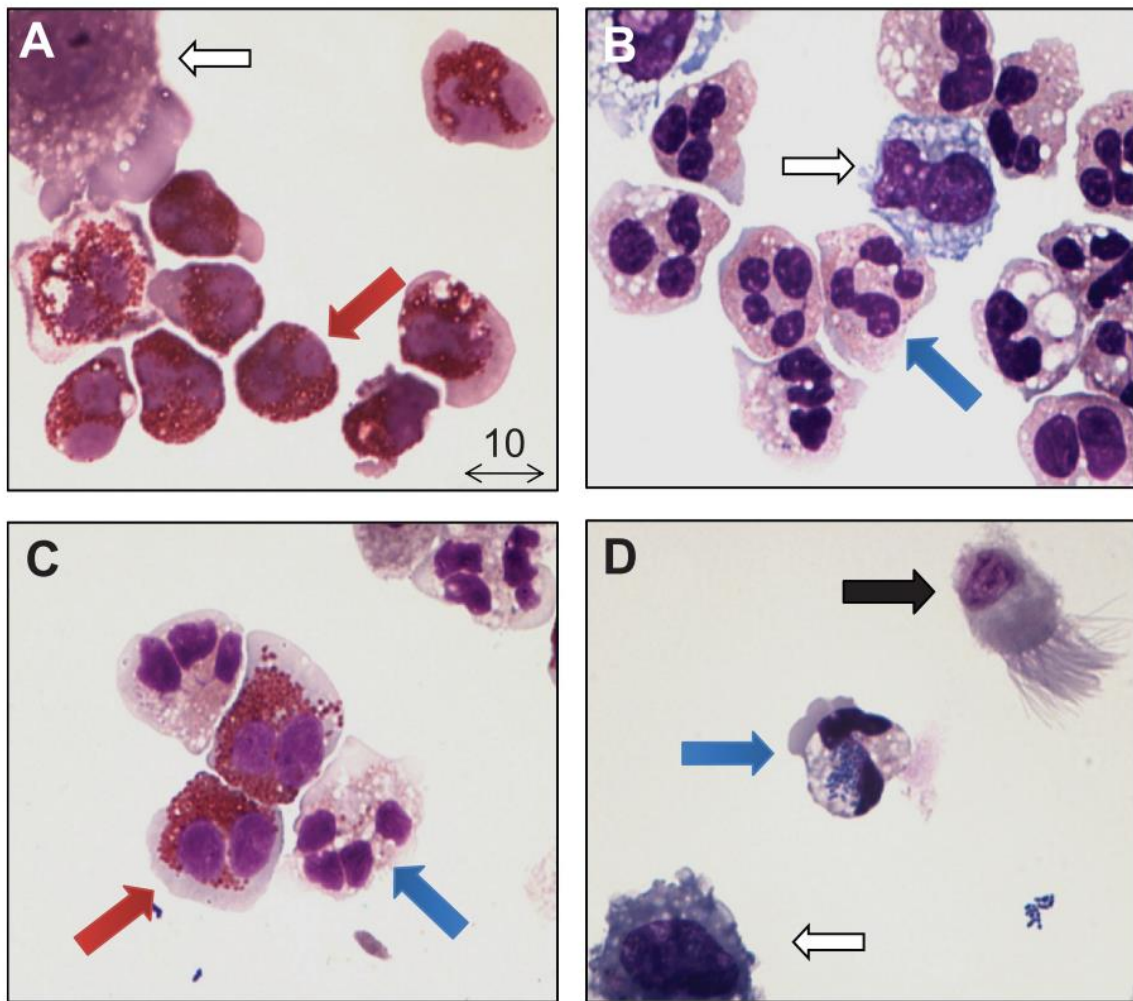


Hyperréactivité bronchique

Hypertrophie/Hyperplasie musculaire lisse bronchique

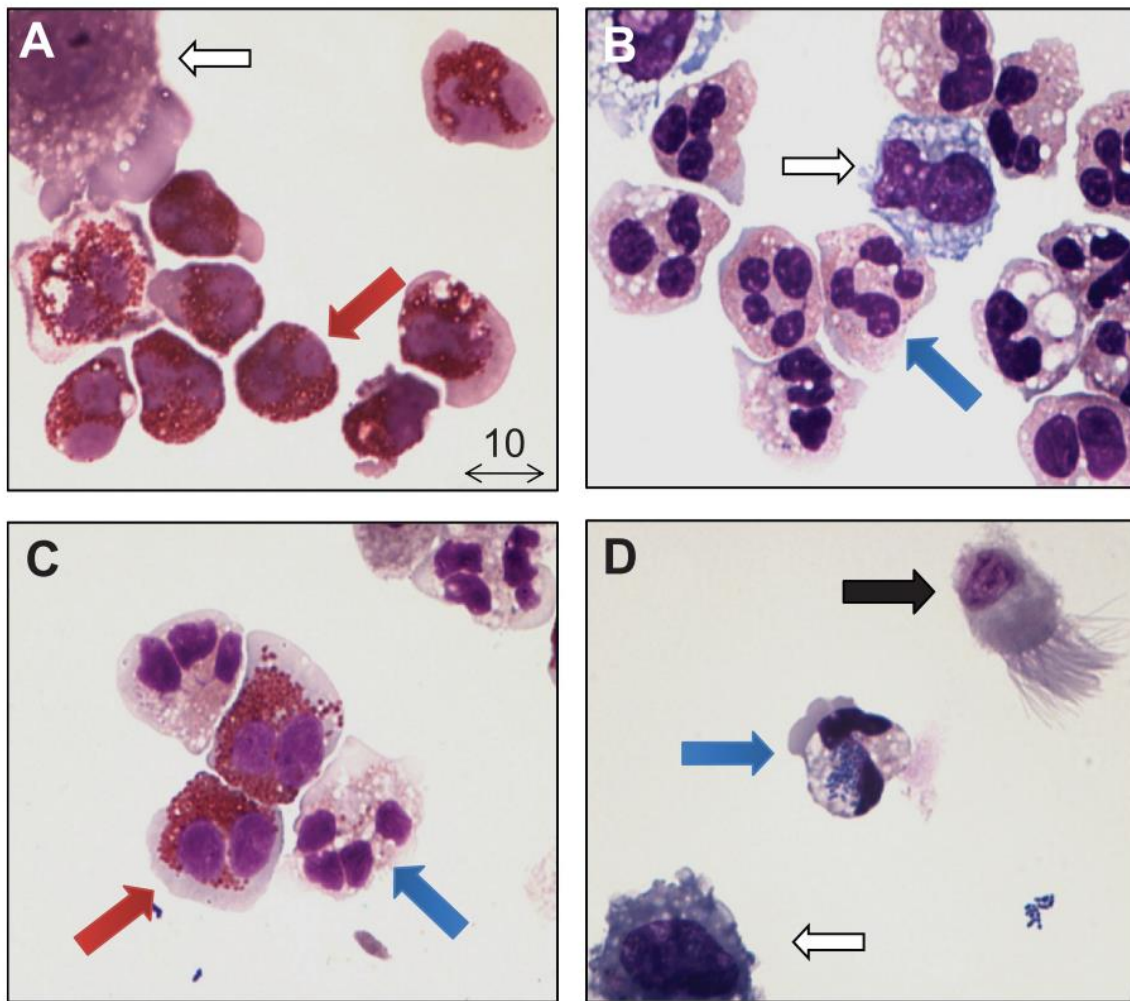


# L'inflammation bronchique dans l'asthme



- L'inflammation bronchique est **VARIABLE** d'un patient à l'autre
  - Eosinophiles
  - Neutrophiles
  - Mixtes
  - Paucigranulocytaire
- Stable vs Exacerbation
- Complexe à évaluer +++
  - Gold standard : expectoration induite

# L'inflammation bronchique dans l'asthme



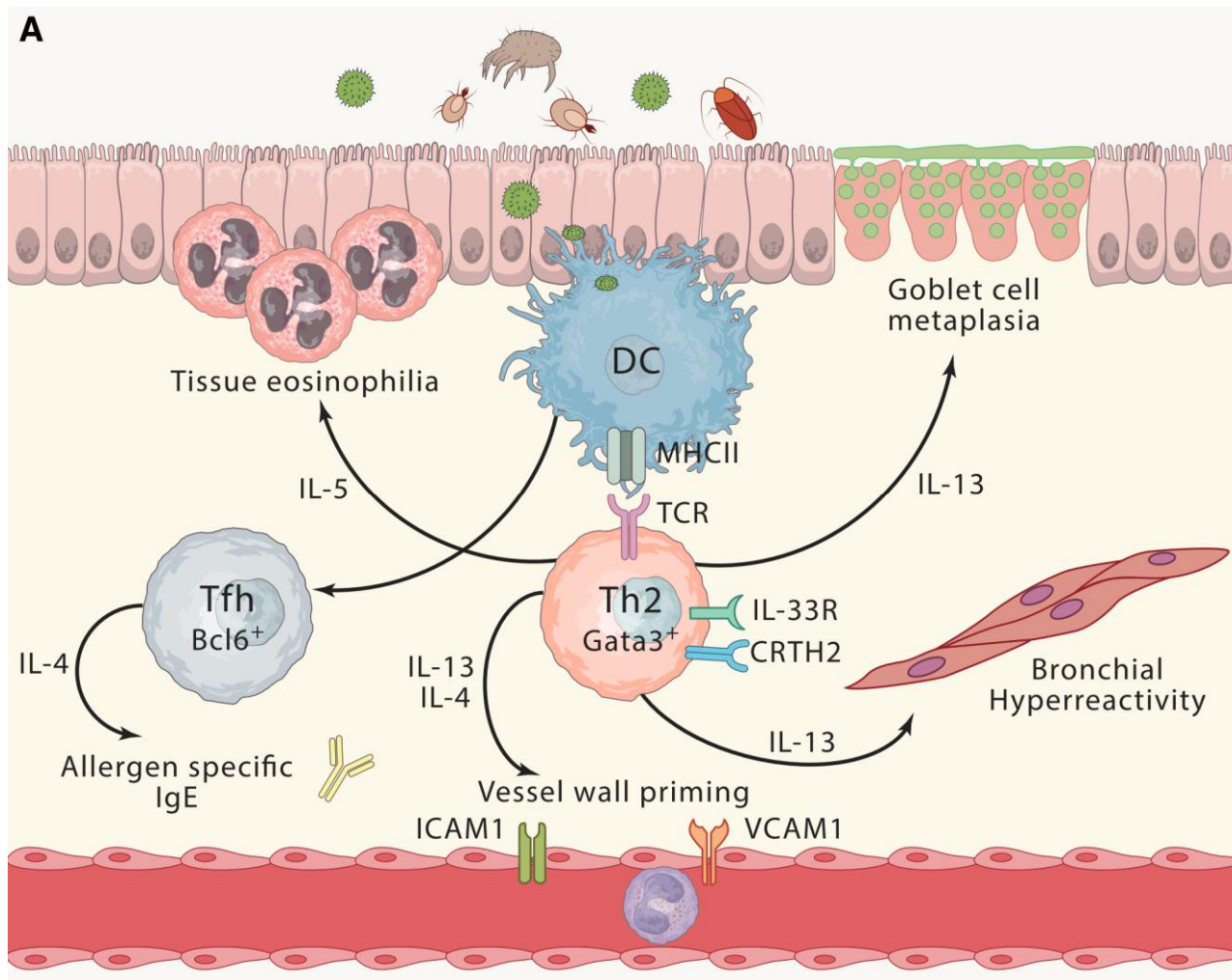
- L'inflammation bronchique est **VARIABLE** d'un patient à l'autre
  - **Eosinophiles**
  - Neutrophiles
  - Mixtes
  - Paucigranulocytaire
- Stable vs Exacerbation
- Complexe à évaluer +++
  - Gold standard : expectoration induite

# L'endotype éosinophilique : l'immunité de type 2

- Asthme éosinophilique = endotype fréquent **MAIS** non exclusif
  - Environ 45 à 50% des patients asthmatiques adultes
- Multiples phénotypes cliniques associés
  - **Allergique**
  - Associé à la polypose nasosinusienne
  - Exacerbé par AINS etc.
- Infiltration éosinophilique associée à
  - Altération de la qualité de vie (Price, Rigazio et al. 2015)
  - Fréquence des exacerbations (Denlinger, Phillips et al. 2017)
  - Altération de la fonction respiratoire (Woodruff, Khashayar et al. 2001)

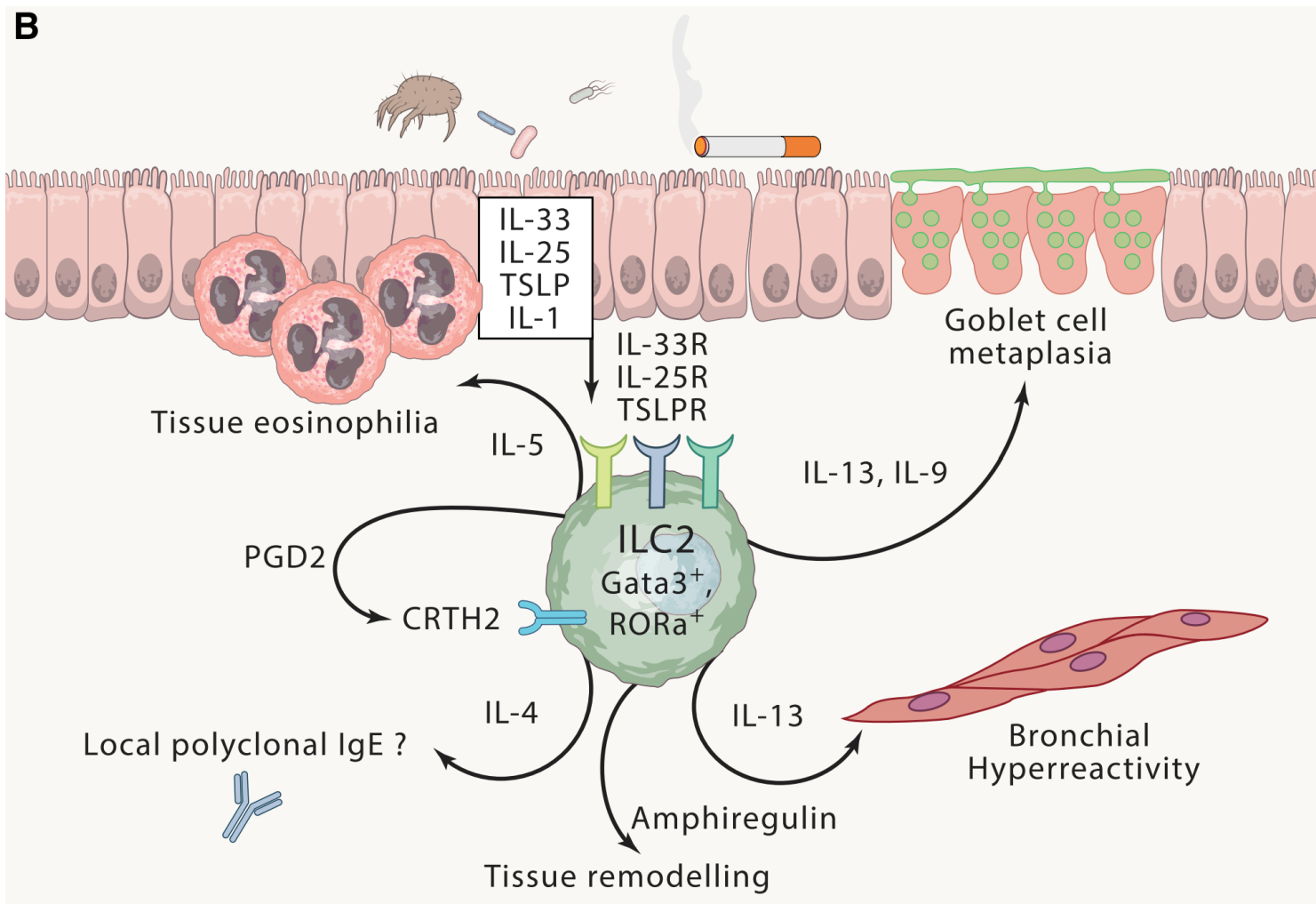


# Voie de l'immunité adaptative



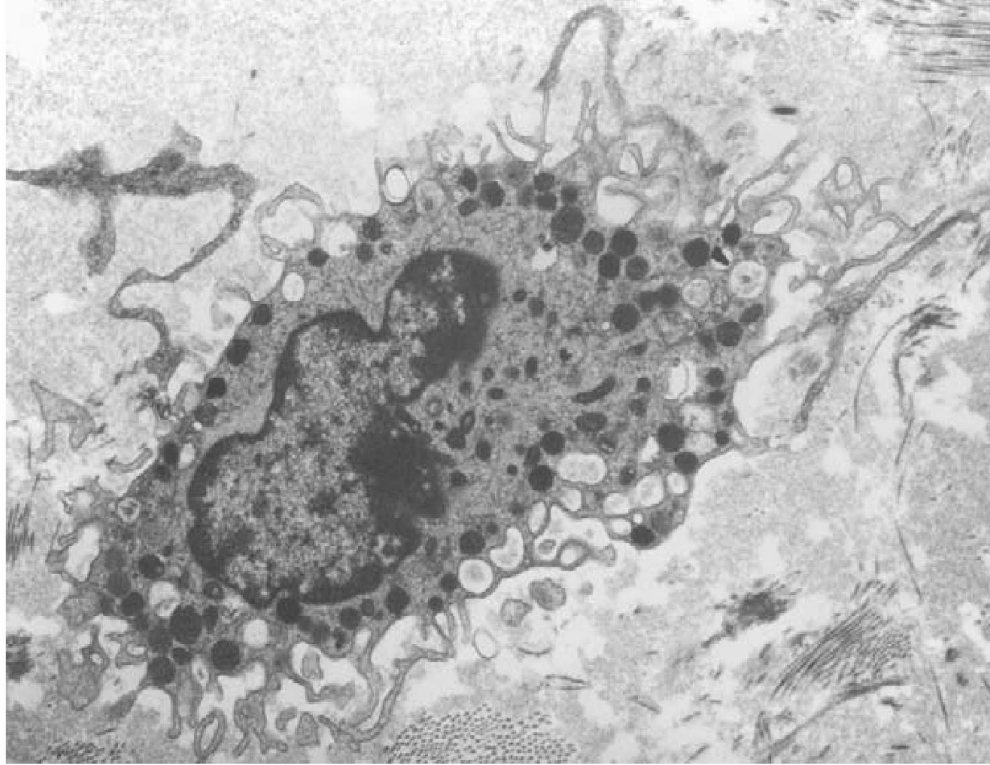
- Rôle crucial de la cellule dendritique
  - Présentation antigénique
  - Polarisation de la réponse LT
- Chef d'orchestre : lymphocyte Th2
  - Facteur de transcription clé : GATA3
  - Cytokines de type 2 :
    - **IL-4** -> Activation LB, switch de classe vers la production d'IgE
    - **IL-5** -> Eosinophilopoïèse, chémoattraction des éosinophiles *in situ*
    - **IL-13** -> Dysfonction épithéliale, activation de la cellule musculaire lisse

# Voie de l'immunité innée



- Découverte semi-récente
- **Innate Lymphoid Cells**
  - Progéniteur commun lymphoïde
  - Groupé fonction de leur production cytokinique + facteurs de transcription
- **ILC2** (*anc. Nuocytes, natural helper cells 2*)
  - Activation via microenvironnement
  - Production importante des cytokines de type 2

# Le mastocyte dans l'asthme

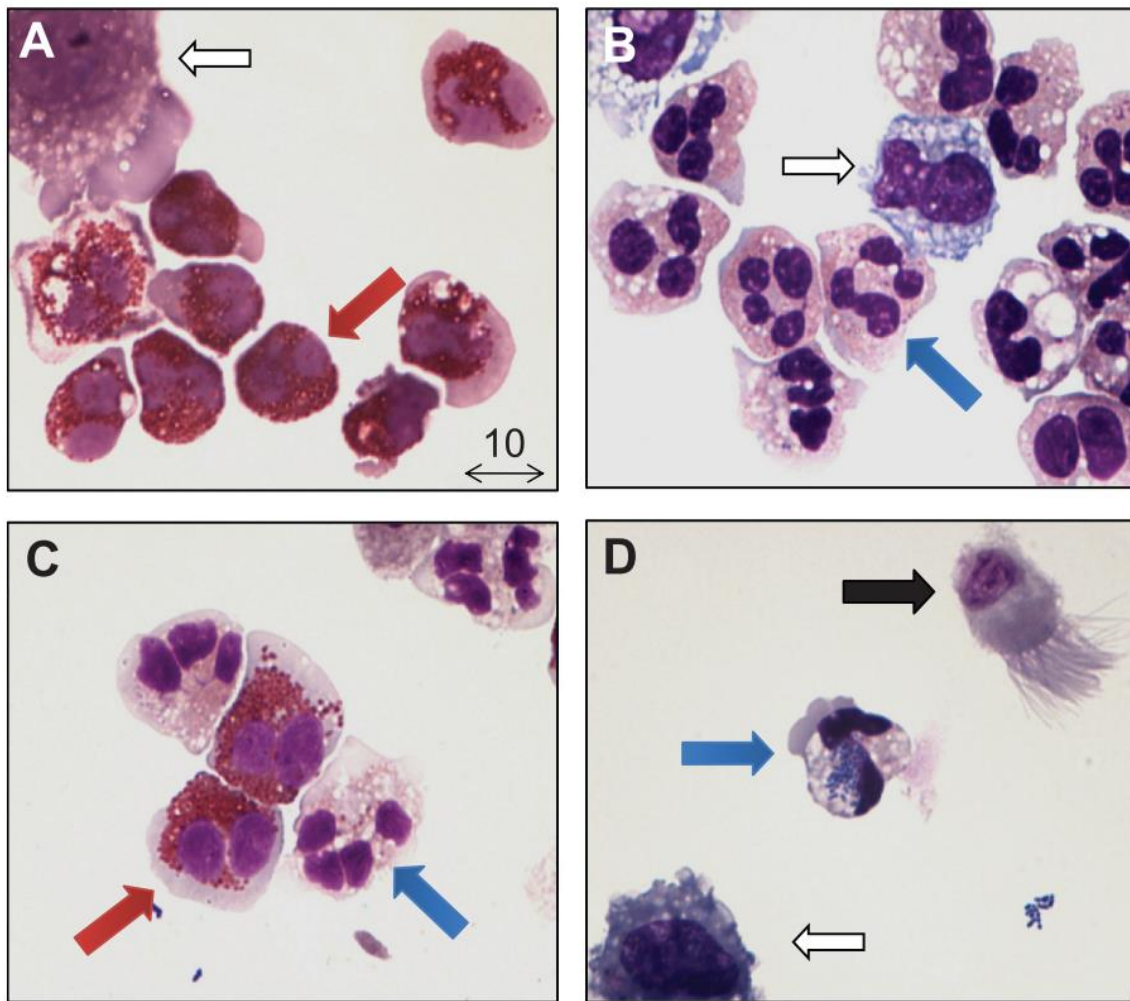


**FIG 1.** An electron micrograph of an activated mast cell in the airway mucosa of a subject with asthma. There is variable loss of granule contents (*arrowheads*) although granule membranes (*arrows*) remain intact, a process known as *piecemeal degranulation*. Magnification  $\times 6000$ . Picture courtesy of Dr Susan Wilson.

- Colocalisation avec :
  - L'épithélium bronchique
  - Les cellules glandulaires
  - Le muscle lisse bronchique
- Granules
  - Histamine, tryptase
  - Prostaglandines
- Production de cytokines, chimiokines
- Activation :
  - Cross-Link des IgE fixés à la surface
  - Stimulation de récepteurs (PRR, TLR etc.)

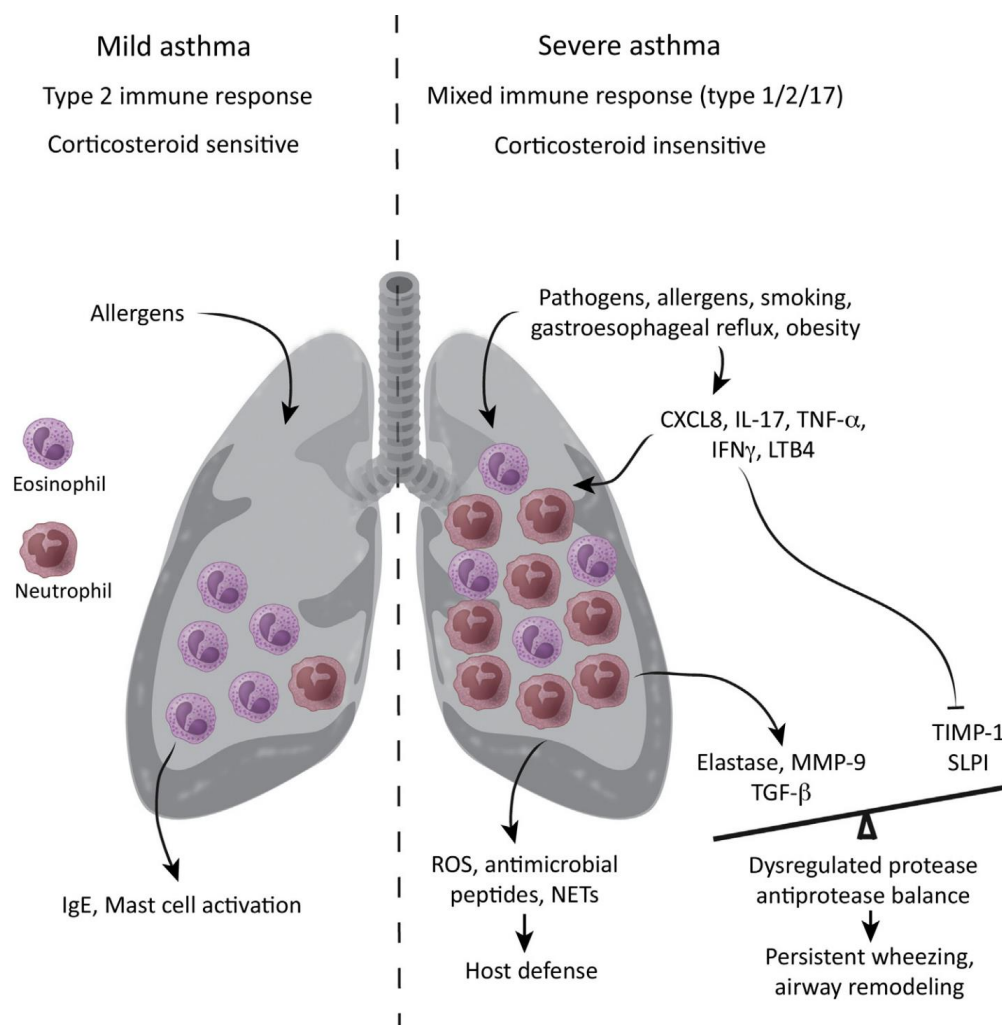


# L'inflammation bronchique dans l'asthme



- L'inflammation bronchique est **VARIABLE** d'un patient à l'autre
  - Eosinophiles
  - **Neutrophiles**
  - **Mixtes**
  - Paucigranulocytaire
- Stable vs Exacerbation
- Complexe à évaluer +++
  - Gold standard : expectoration induite

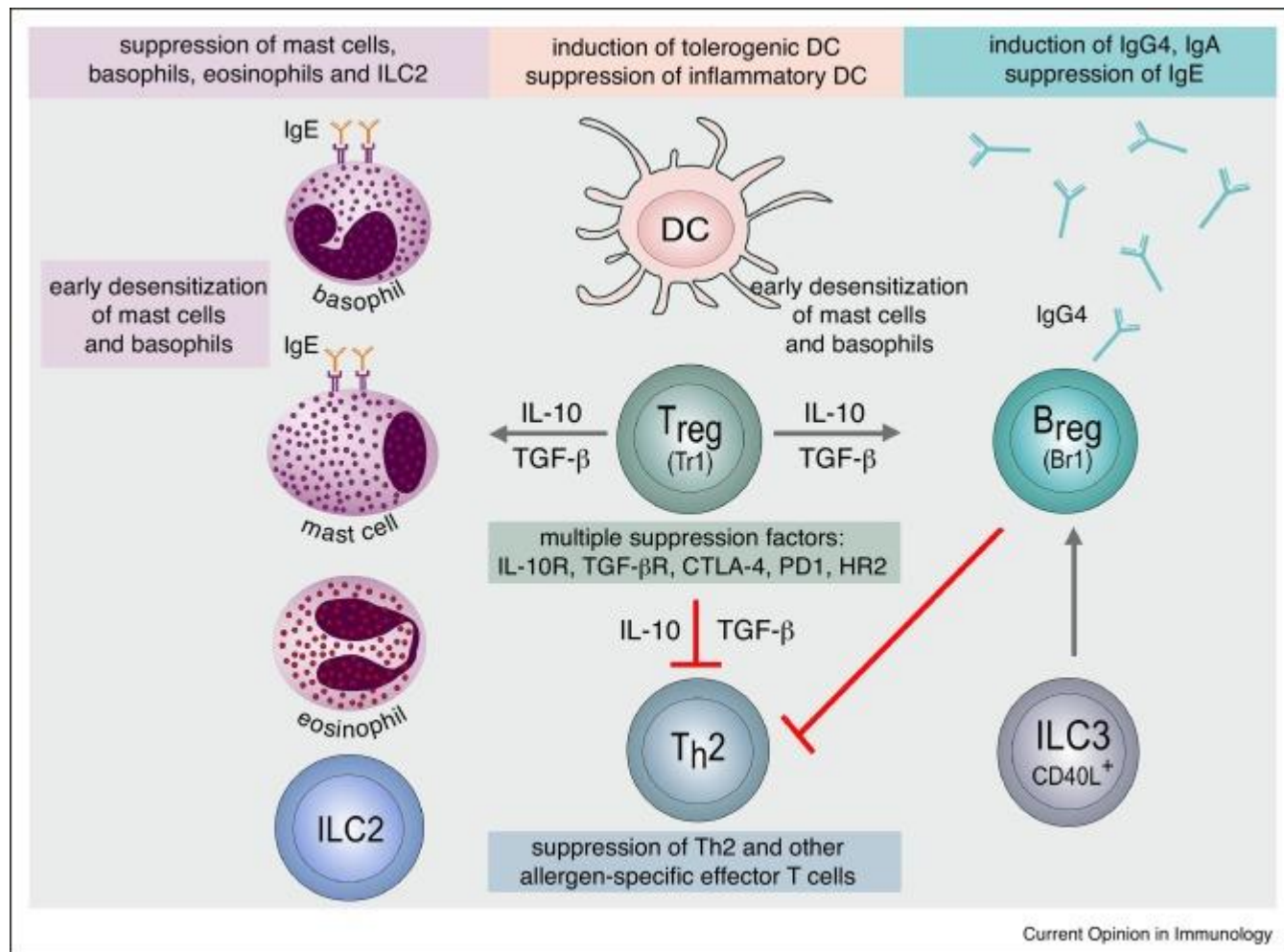
# L'inflammation neutrophilique dans l'asthme



- Association aux formes sévères d'asthme
- Induction par stimuli environnementaux
  - Infectieux +++
  - Stress Oxidatif
  - Tabac
- Activation via immunité innée et adaptative
  - Th1 et Tc1
  - Th17 et ILC3
- Rôle réel encore mal compris



# Inflammation et asthme : altération de la réponse régulatrice



- **Réduction de la tolérance immunitaire vis-à-vis des allergènes dans l'asthme allergique**
- Diminution de la quantité et de l'activité des LTreg producteurs d'IL-10 chez les asthmatiques  
(Mamessier E et al., Allergy 2008)
- Diminution de la quantité et de l'activité des LBreg producteurs d'IL-10 chez les asthmatiques  
(Wiest M. et al., Clin Exp Allergy 2019)

# Prise en charge thérapeutique de l'asthme

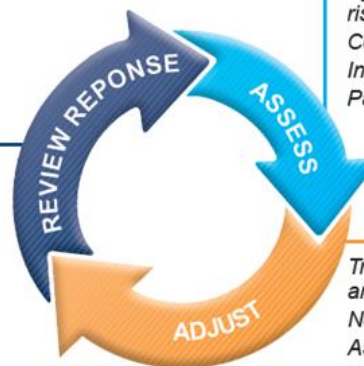
Box 3-5A

## Adults & adolescents 12+ years

### Personalized asthma management:

Assess, Adjust, Review response

Symptoms  
Exacerbations  
Side-effects  
Lung function  
Patient satisfaction



Confirmation of diagnosis if necessary  
Symptom control & modifiable risk factors (including lung function)  
Comorbidities  
Inhaler technique & adherence  
Patient preferences and goals

Treatment of modifiable risk factors and comorbidities  
Non-pharmacological strategies  
Asthma medications (adjust down or up)  
Education & skills training

### Asthma medication options:

Adjust treatment up and down for individual patient needs

**PREFERRED CONTROLLER**  
to prevent exacerbations and control symptoms

Other controller options

**PREFERRED RELIEVER**

Other reliever option

	STEP 1	STEP 2	STEP 3	STEP 4	STEP 5
<b>PREFERRED CONTROLLER</b>	As-needed low dose ICS-formoterol *	Daily low dose inhaled corticosteroid (ICS), or as-needed low dose ICS-formoterol *	Low dose ICS-LABA	Medium dose ICS-LABA	High dose ICS-LABA Refer for phenotypic assessment ± add-on therapy, e.g. tiotropium, anti-IgE, anti-IL5/5R, anti-IL4R
Other controller options	Low dose ICS taken whenever SABA is taken †	Daily leukotriene receptor antagonist (LTRA), or low dose ICS taken whenever SABA taken †	Medium dose ICS, or low dose ICS+LTRA #	High dose ICS, add-on tiotropium, or add-on LTRA #	Add low dose OCS, but consider side-effects
<b>PREFERRED RELIEVER</b>	As-needed low dose ICS-formoterol *		As-needed low dose ICS-formoterol for patients prescribed maintenance and reliever therapy ‡		
Other reliever option	As-needed short-acting β <sub>2</sub> -agonist (SABA)				

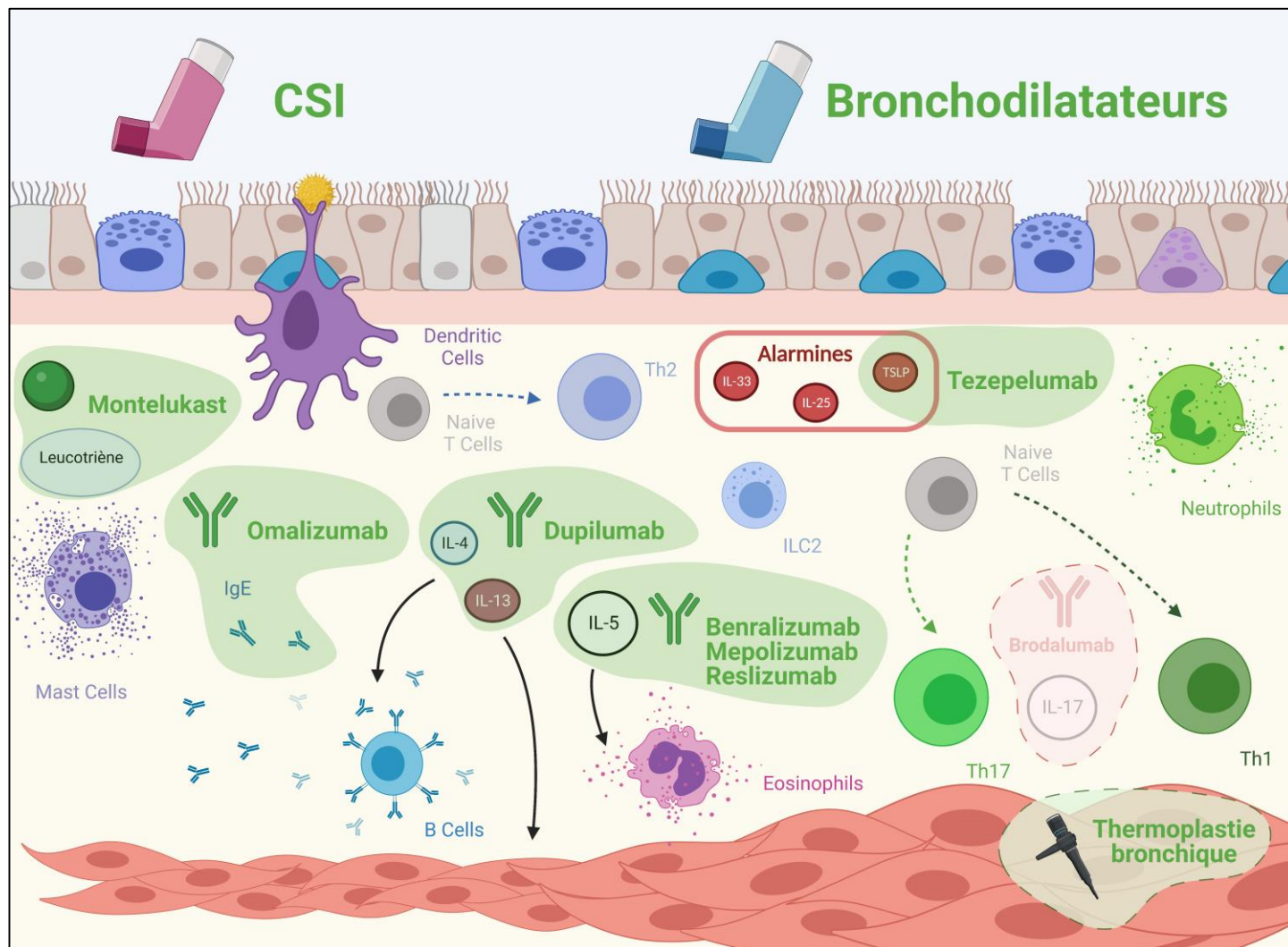
\* Data only with budesonide-formoterol (bud-form)

† Separate or combination ICS and SABA inhalers

‡ Low-dose ICS-form is the reliever only for patients prescribed bud-form or BDP-form maintenance and reliever therapy

# Consider adding HDM SLIT for sensitized patients with allergic rhinitis and FEV1 >70% predicted

# Les cibles thérapeutiques dans l'asthme



## • Cibles thérapeutiques actuelles

- Principalement centrées sur l'inflammation éosinophilique
- Peu de stratégie innovante concernant le muscle lisse bronchique et l'épithélium bronchique

## • Cas de l'immunothérapie spécifique allergénique

- Induction d'une tolérance spécifiques
- Pour l'asthme, réservé aux formes associées rhinoconjonctives allergiques aux acariens, contrôlées

*Recherche fondamentale dans l'asthme allergique*




**Autour d'un article**





WILEY

# A common IL-4 receptor variant promotes asthma severity via a T<sub>reg</sub> cell GRB2-IL-6-Notch4 circuit

Mehdi Benamar<sup>1,2</sup>  | Hani Harb<sup>1,2,3</sup> | Qian Chen<sup>1,2</sup> | Muyun Wang<sup>1,2</sup> |  
Tsz Man Fion Chan<sup>1,2</sup> | Jason Fong<sup>1,2</sup>  | Wanda Phipatanakul<sup>1,2</sup> |  
Amparito Cunningham<sup>1,2</sup> | Deniz Ertem<sup>1,2</sup> | Carter R. Petty<sup>4</sup> | Amirhosein J. Mousavi<sup>5</sup> |  
Constantinos Sioutas<sup>5</sup> | Elena Crestani<sup>1,2</sup> | Talal A. Chatila<sup>1,2</sup> 



# La voie de l'IL-4R $\alpha$

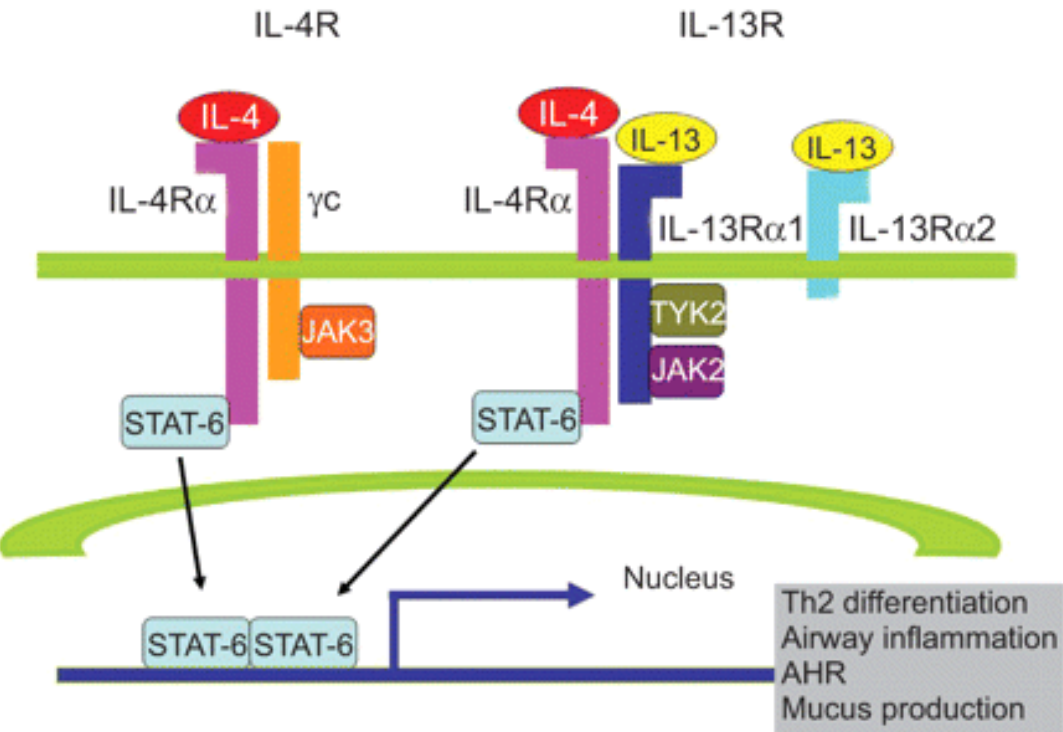
- **Voie de l'IL-4 : activation voie JAK3/STAT6**

- Promotion de la réponse Th2 => asthme T2

- **Association d'un variant de l'IL-4R $\alpha$  avec**

- L'atopie  
(Hershey GK et al., N Engl J Med 1997)
- La sévérité de l'asthme  
(Rosa Rosa L. et al., J Allergy Clin Immunol. 1999)
- Le switch Treg -> Th17 via protéine Grb2  
(Massoud AH. et al., Nat Med. 2016)

- Mécanismes sous-jacents **incomplètement connus**



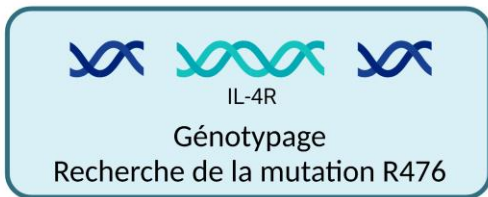
C. K. Oh et al., European Respiratory Review Mar 2010

# Problématique et objectifs de l'étude

- **Problématique de l'étude** : Rôle physiopathologique du variant IL4R<sup>R576</sup> dans l'asthme.
- **Objectif 1** : Etudier l'association entre le variant IL4R<sup>R576</sup> et l'asthme (diagnostic/sévérité) chez l'Homme.
- **Objectif 2** : Etudier l'impact du variant IL4R<sup>R576</sup> sur les populations de LTeff et LTreg chez l'Homme
- **Objectif 3** : Etudier l'impact du variant IL4R<sup>R576</sup> dans un modèle murin d'asthme (fonction respiratoire, inflammation bronchique etc.)
- **Objectif 4** : Identifier les acteurs moléculaires impliqués dans les effets du variant IL4R<sup>R576</sup> dans un modèle murin d'asthme

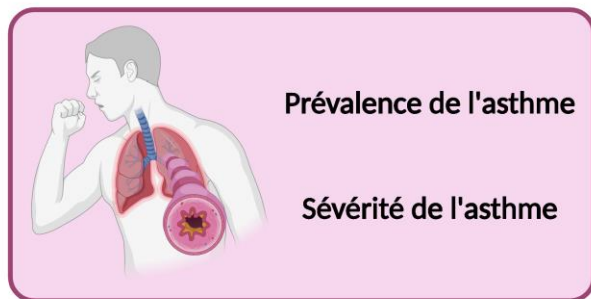
# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – présentation clinique de l'asthme

## Patient et Méthode



Cohorte d'enfants asthmatiques

Cohorte d'enfants non atopiques



	Asthmatics n=132	Controls n=52
<b>Gender</b>		
- Male	76 (57.6%)	29 (55.8%)
<b>Age (years)</b>		
- mean (s.d.)	9.2* (3.9)	7.9* (3.1)
<b>Ethnicity</b>		
- White	41 (31.1%)	21 (40.4%)
- Afro American	41 (31.1%)	15 (28.8%)
- Hispanic	43 (32.6%)	13 (25.0%)
- Unknown	7 (5.2%)	3 (5.8%)
<b>IL-4R 576 genotype</b>		
- WT (Q/Q)	42 (31.8%)	25 (48.1%)
- Het (Q/R)	57 (43.2%)	12 (23.1%)
- Mut (R/R)	33 (25.0%)	15 (28.8%)
<b>Asthma severity</b>		
- Intermittent	38 (28.8%)	0
- Mild persistent	41 (31.1%)	0
- Moderate persistent	32 (24.2%)	0
- Severe persistent	21 (15.9%)	0
<b>Food Allergies</b>	42/132 (31.8%)	0
<b>Allergic rhinitis</b>	94/125 (75.2%)	0
<b>Total IgE (kU/L)</b>	825.2 (n=80)	n.a.
<b>Eosinophils (count/mcL)</b>	334.5 (n=92)	n.a.

## Démographie

Prédominance masculine

Enfant/Adolescent

Ethnies multiples

## Données cliniques

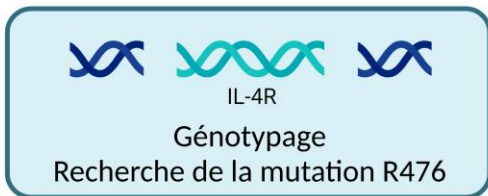
**Hétérozygotes et homozygotes fréquents +++**

Nombreux patients persistents modérés et sévères

Co-morbidités allergiques ++

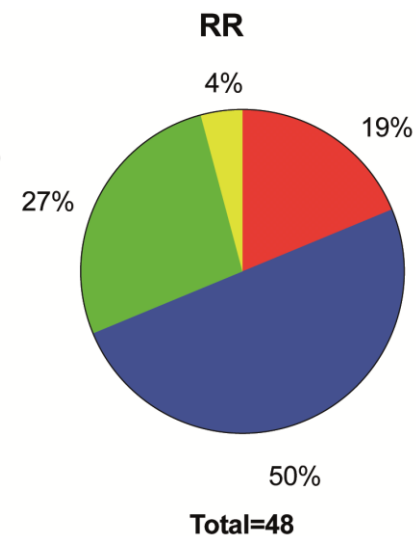
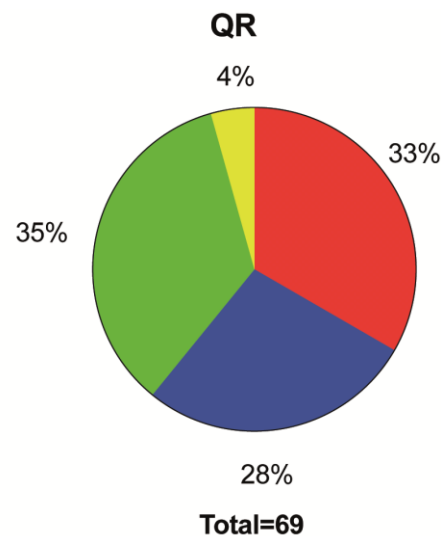
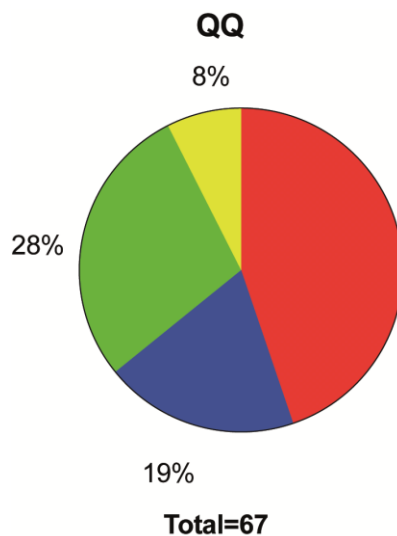
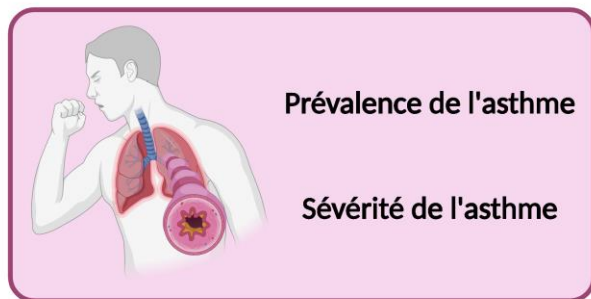
# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – présentation clinique de l'asthme

## Patient et Méthode



Cohorte  
d'enfants  
asthmatiques

Cohorte  
d'enfants non  
atopiques



White  
African American  
Hispanic  
Other/Unknown

Sujets homozygotes ou hétérozygotes R576 : **OR asthme 1.98 (1.04–3.82)**

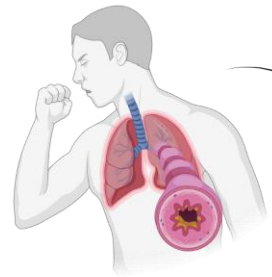
Sujets hispaniques QR ou RR : **OR asthme modéré/sévère 5.76 (1.30–25.51)**

**Augmentation du risque de survenue de l'asthme  
en présence d'un statut QR et RR**

# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – Populations LTh eff et LTreg

## Patient et Méthode

Prélèvement sanguin



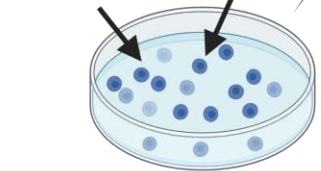
Gradient de Ficoll



Isolement des cellules mononucléées

PMA Ionomycine

GolgiPlug Monensine



Culture cellulaire

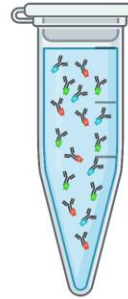
Stimulation de la production de cytokines  
Blocage de l'exocytose



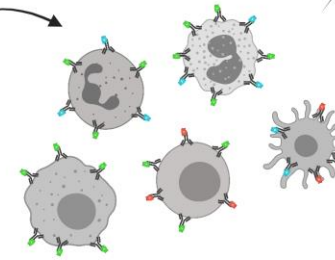
Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur production cytokinique

a) Mix of antibody coupled to fluorochrome

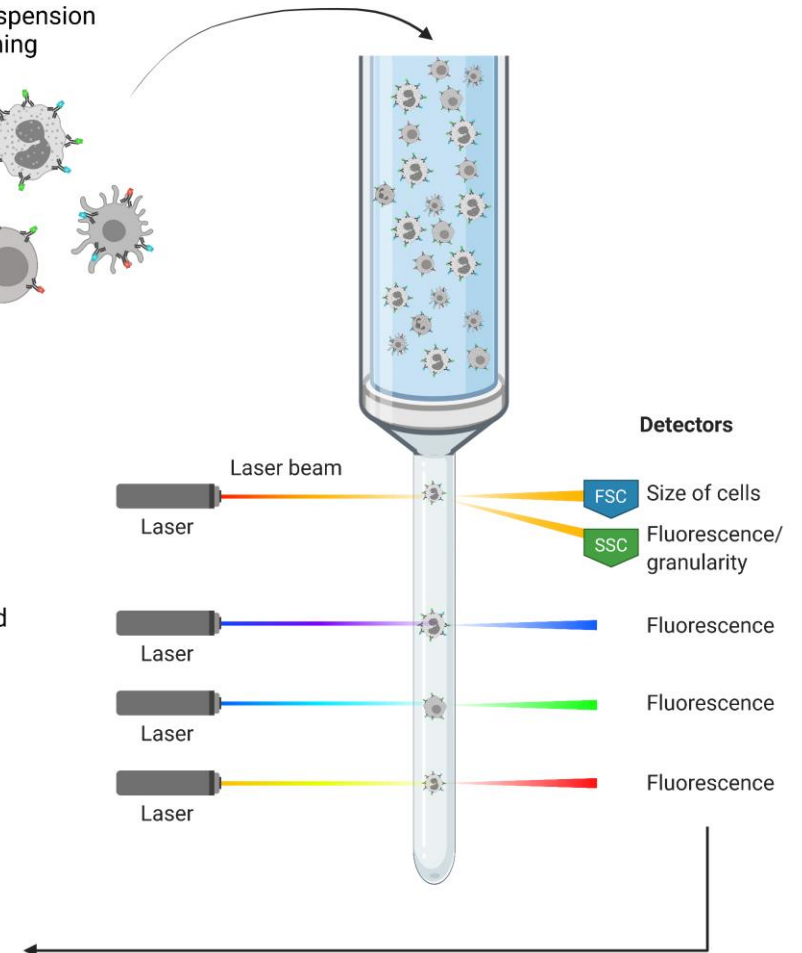
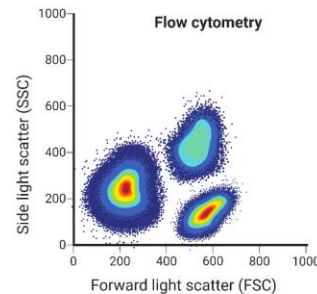


b) Cell suspension staining



c) Cells are excited one by one by different laser

d) Emissions are caught, transformed into electronic signal, and amplified

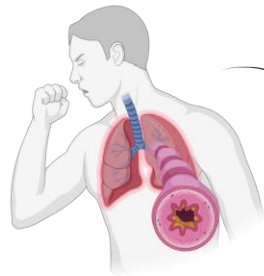




# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – Populations LTh eff et LTreg

## Patient et Méthode

Prélèvement sanguin



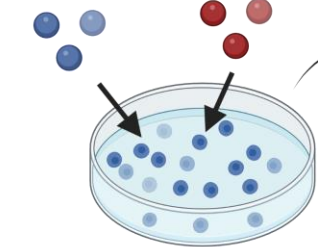
Gradient de Ficoll



Isolement des cellules mononucléées

PMA Ionomycine

GolgiPlug Monensine



Culture cellulaire

Stimulation de la production de cytokines

Blocage de l'exocytose

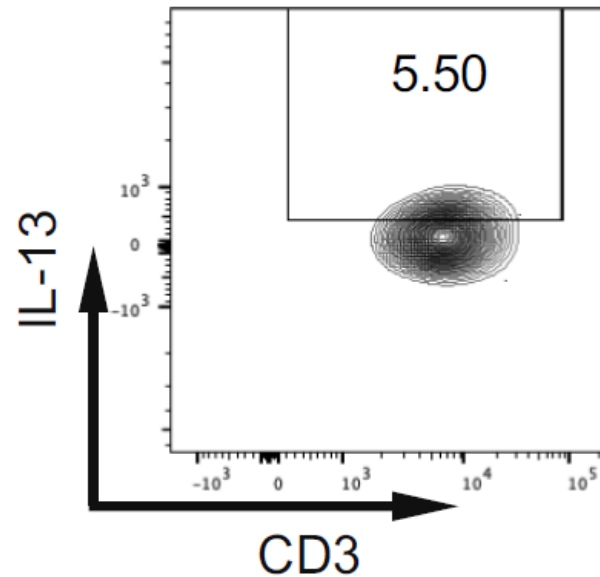


Cytométrie en flux

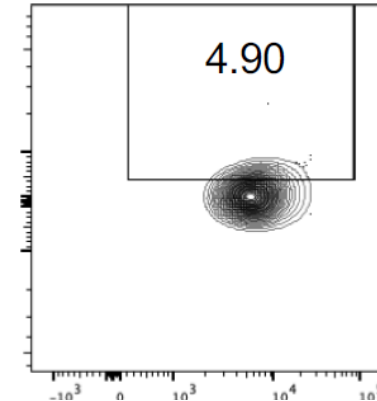
Identification cellules et de leur production cytokinique

## Production de cytokines T2 par les Lteff et LTreg

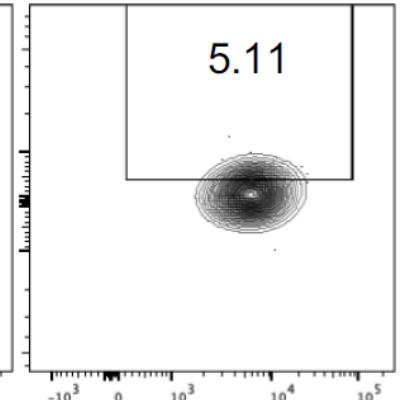
Gated on Treg cells  
Healthy control



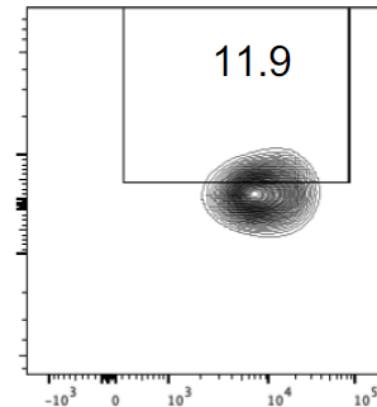
Mild Asthmatic  
IL4R<sup>Q576</sup>



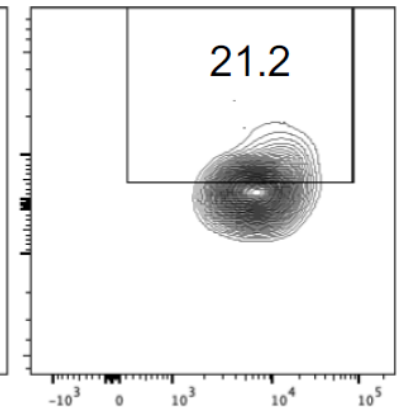
Mild Asthmatic  
IL4R<sup>R576</sup>



Moderate/severe  
Asthmatic IL4R<sup>Q576</sup>



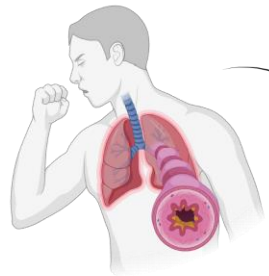
Moderate/severe  
Asthmatic IL4R<sup>R576</sup>



# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – Populations LTh eff et LTreg

## Patient et Méthode

Prélèvement sanguin



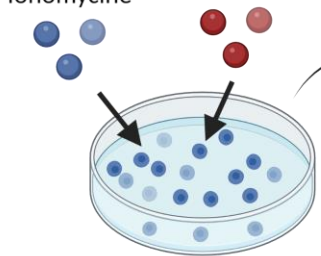
Gradient de Ficoll



Isolement des cellules mononucléées

PMA Ionomycine

GolgiPlug Monensine



Culture cellulaire

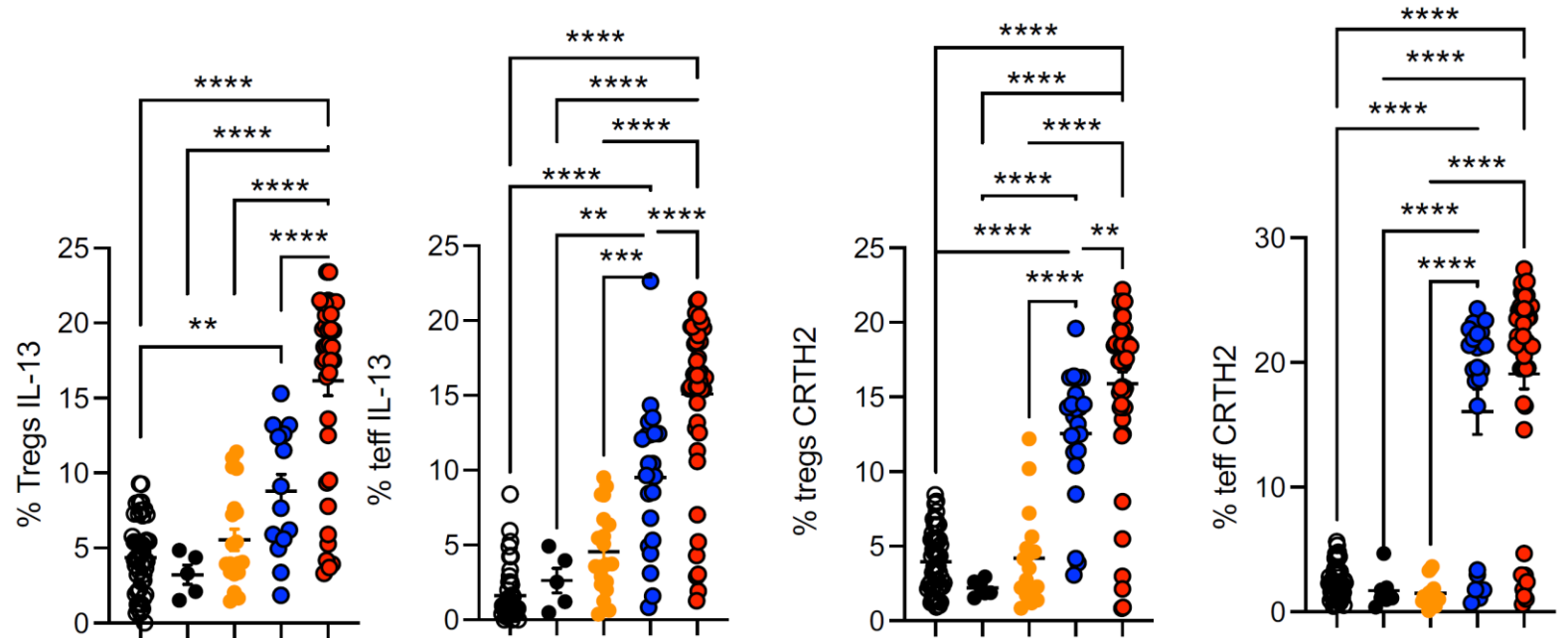


Cytométrie en flux

Stimulation de la production de cytokines  
Blocage de l'exocytose

Identification cellules et de leur production cytokinique

## Production de cytokines T2 par les Lteff et LTreg



Qu'en pensez-vous ?

# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – Populations LTh eff et LTreg

## Patient et Méthode

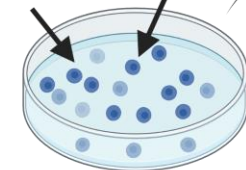
Prélèvement sanguin

Gradient de Ficoll

Isolement des cellules mononucléées

PMA Ionomycine

GolgiPlug Monensine



Culture cellulaire



Cytométrie en flux

Stimulation de la production de cytokines

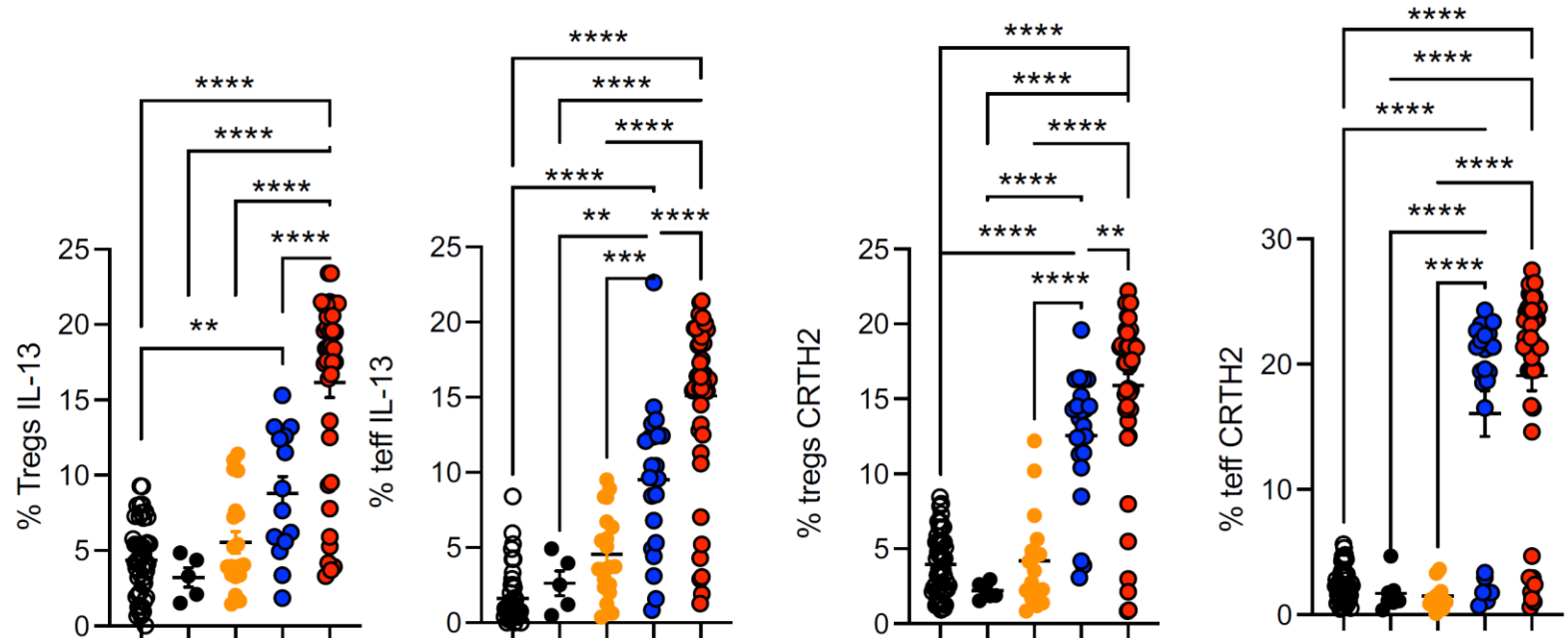
Blocage de l'exocytose

Identification cellules et de leur production cytokinique

## Production de cytokines T2 par les Lteff et LTreg

- Healthy control
- Mild Asthmatic IL4R<sup>Q576</sup>
- Mild Asthmatic IL4R<sup>R576</sup>

- Moderate/severe Asthmatic IL4R<sup>Q576</sup>
- Moderate/severe Asthmatic IL4R<sup>R576</sup>

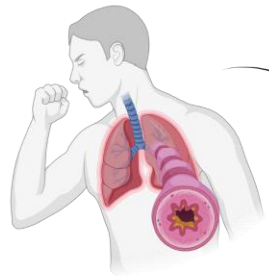


**Augmentation de la proportion de LTreg et Lteff à marqueur T2 en présence du variant R576 + asthme modéré à sévère**

# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – Populations LTh eff et LTreg

## Patient et Méthode

Prélèvement sanguin



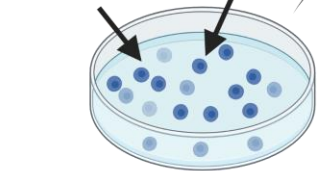
Gradient de Ficoll



Isolement des cellules mononucléées

PMA Ionomycine

GolgiPlug Monensine



Culture cellulaire



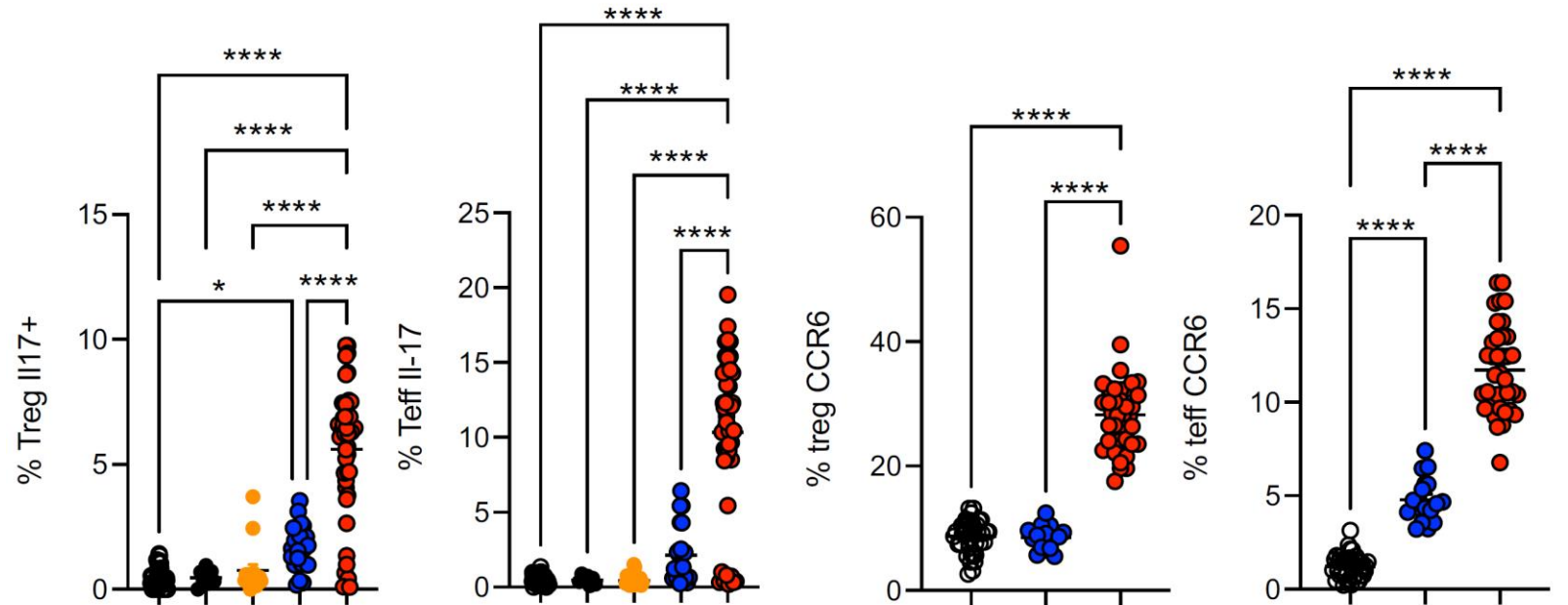
Cytométrie en flux

Stimulation de la production de cytokines

Blocage de l'exocytose

Identification cellules et de leur production cytokinique

## Production de cytokines T17 par les Lteff et LTreg

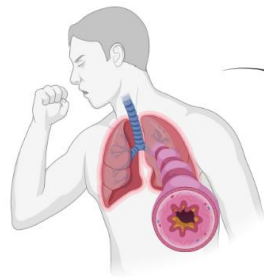


**Augmentation de la proportion de Ltreg et Lteff à marqueur T17 en présence du variant R576 + asthme modéré à sévère**

# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – Populations LTh eff et LTreg

## Patient et Méthode

Prélèvement sanguin



Gradient de Ficoll

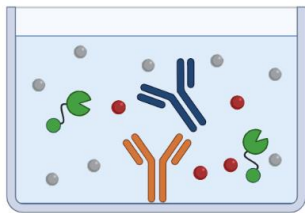


Isolement des cellules mononucléées + Plasma



Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur expression de NOTCH4

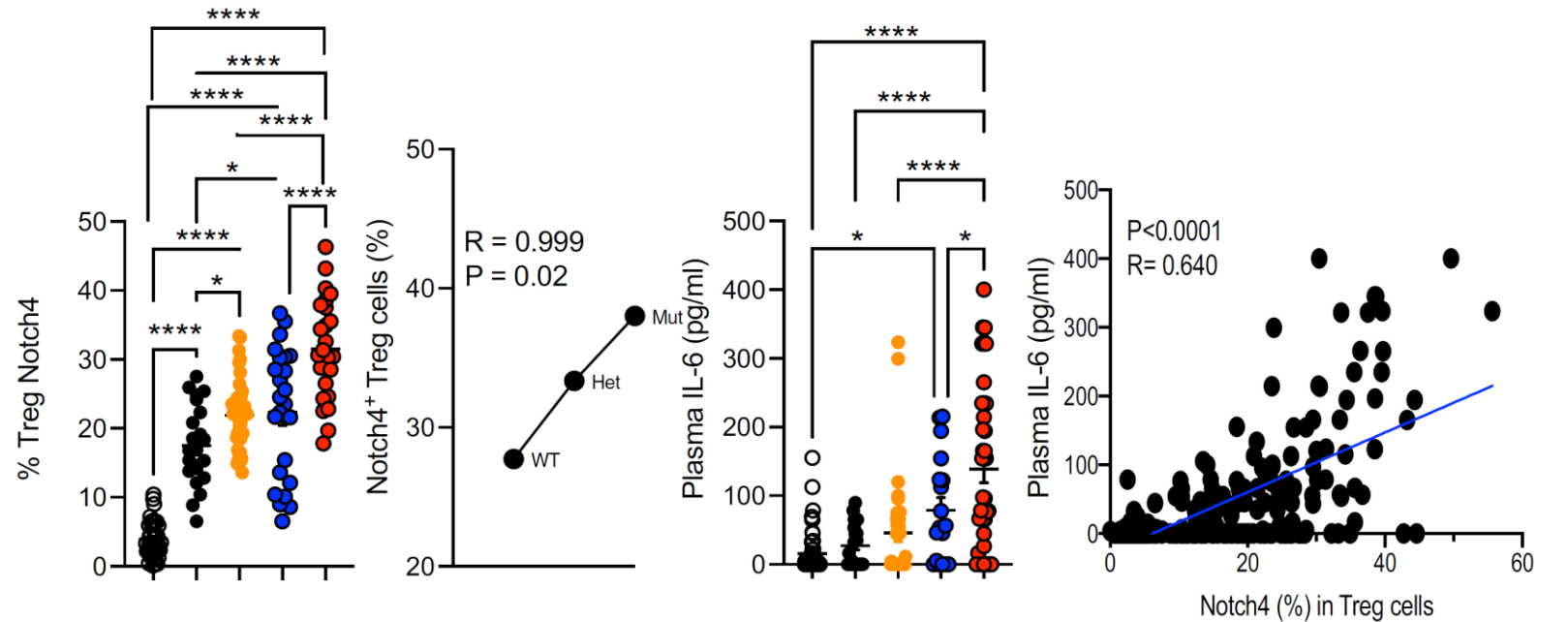


ELISA

Quantification de l'IL-6 plasmatique

## Voie IL-6 – Notch4

- Healthy control
- Mild Asthmatic IL4R<sup>Q576</sup>
- Mild Asthmatic IL4R<sup>R576</sup>
- Moderate/severe Asthmatic IL4R<sup>Q576</sup>
- Moderate/severe Asthmatic IL4R<sup>R576</sup>

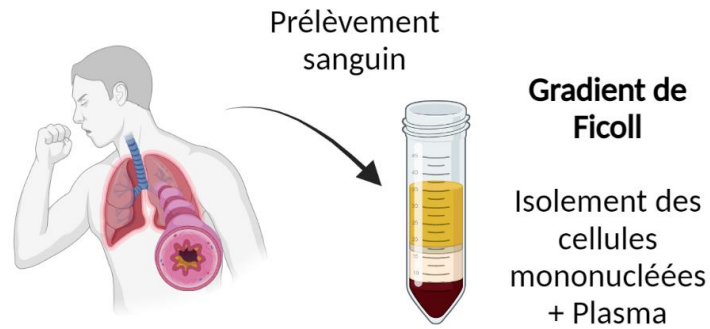


Qu'en pensez-vous ?



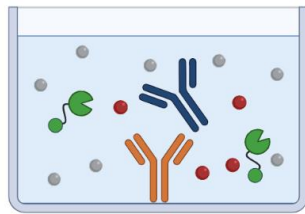
# Lien variants IL4R<sup>576</sup> – Populations LTh eff et LTreg

## Patient et Méthode



Cytométrie en flux

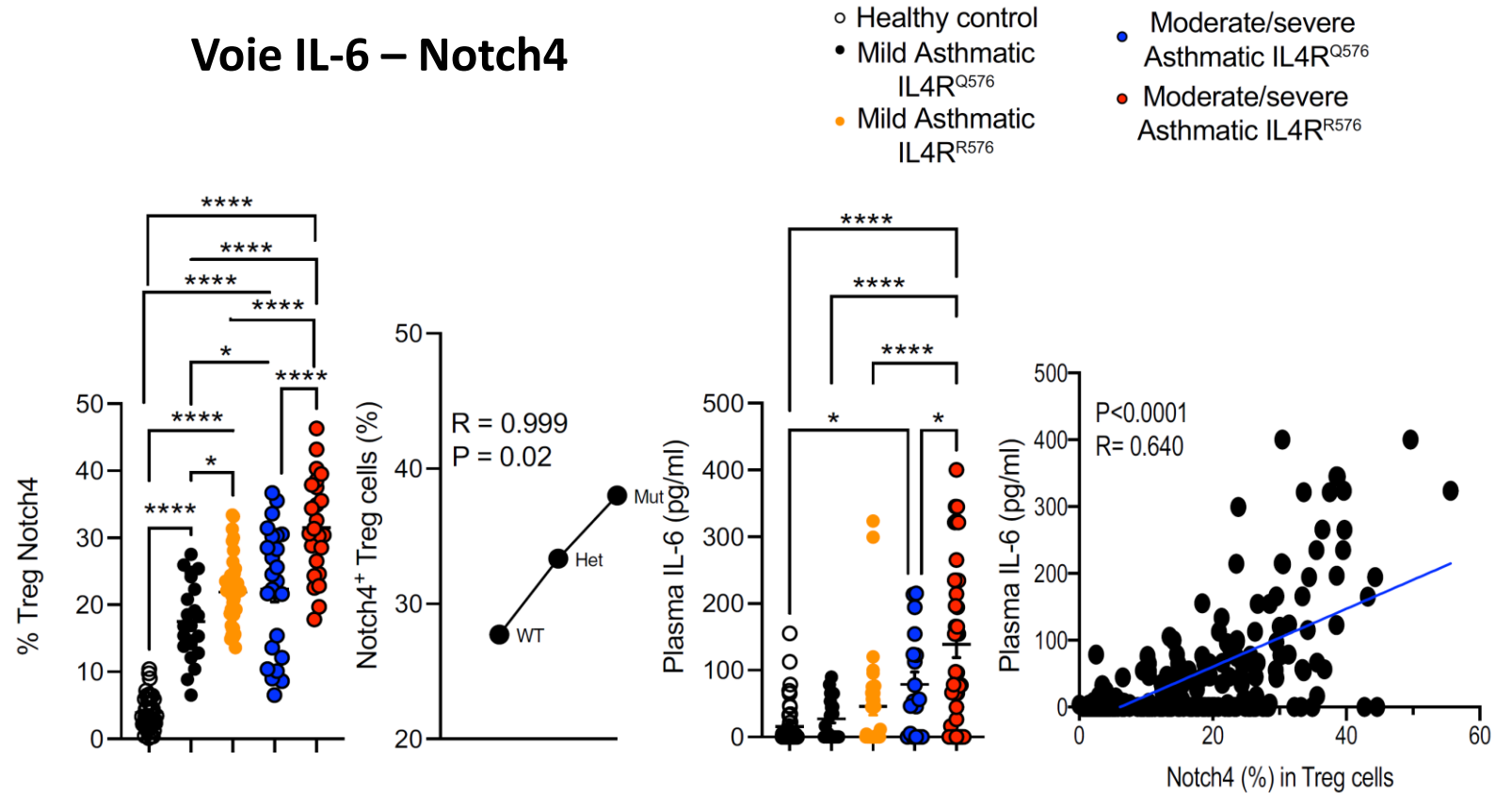
Identification cellules et de leur expression de NOTCH4



ELISA

Quantification de l'IL-6 plasmatique

## Voie IL-6 – Notch4



**Augmentation de l'expression protéique de NOTCH4 (Treg) en fonction de la sévérité et du phénotype**  
**Corrélée à l'augmentation de l'IL-6 plasmatique**

Benamar M et al. Allergy. 2022 Nov;77(11):3377-3387

Figure réalisée avec BioRender.com

# Variants IL4R<sup>576</sup> / Délétion Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>



OVA i.p.      OVA i.p.      Nébulisation OVA 1% +/- microparticules

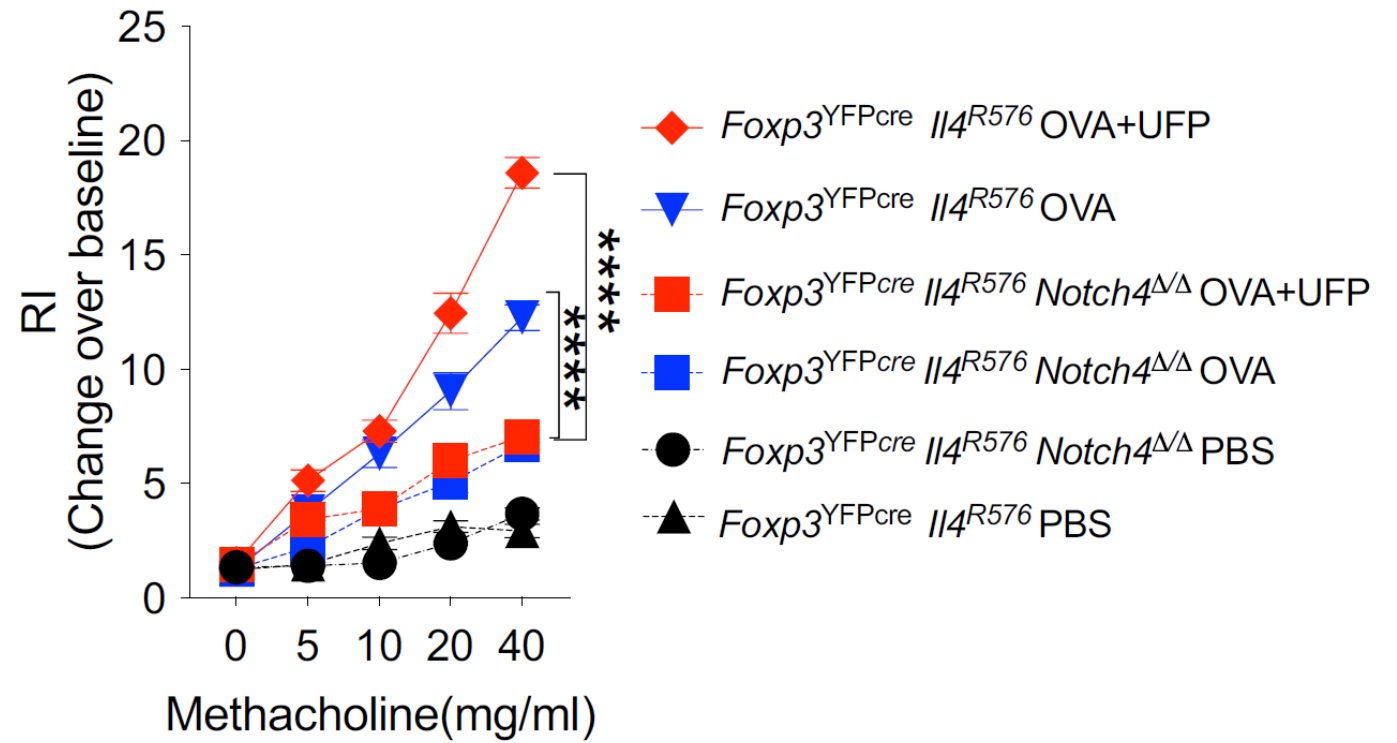
PBS i.p.      PBS i.p.



Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique

Cytométrie en flux  
 Identification cellules et de leur production

## Fonction respiratoire



# Variants IL4R<sup>576</sup> / Délétion Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>



OVA i.p.      OVA i.p.      Nébulisation OVA 1% +/- microparticules

PBS i.p.      PBS i.p.

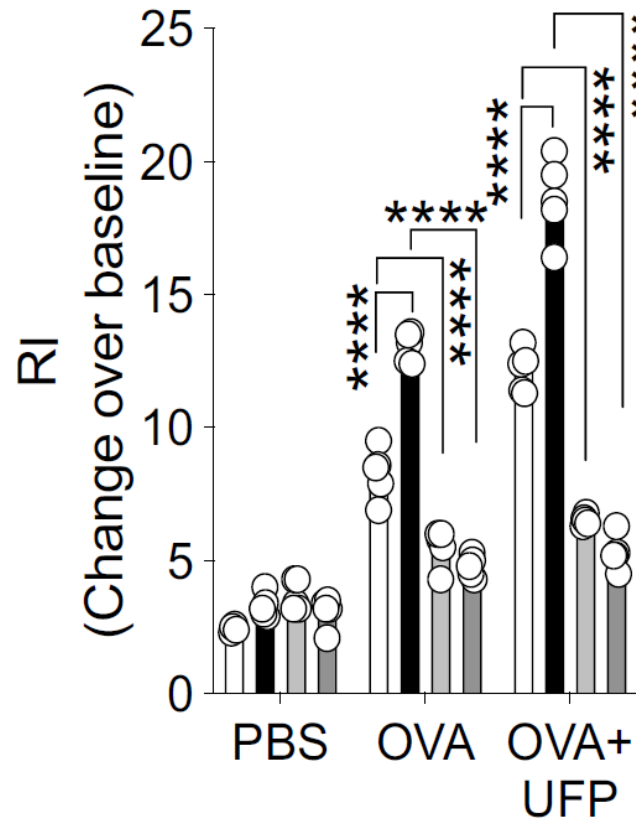


Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique



Cytométrie en flux  
 Identification cellules et de leur production

## Fonction respiratoire



- Foxp3<sup>YFPcre</sup>
- Il4ra<sup>R576</sup>Foxp3<sup>YFPcre</sup>
- Foxp3<sup>YFPcre</sup>Notch4<sup>Δ/Δ</sup>
- Il4ra<sup>R576</sup>Foxp3<sup>YFPcre</sup>Notch4<sup>Δ/Δ</sup>

Qu'en pensez-vous ?

# Variants IL4R<sup>576</sup> / Délétion Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>

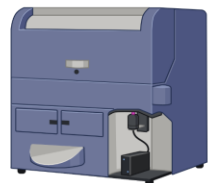


OVA i.p.      OVA i.p.      Nébulisation OVA 1% +/- microparticules

PBS i.p.      PBS i.p.

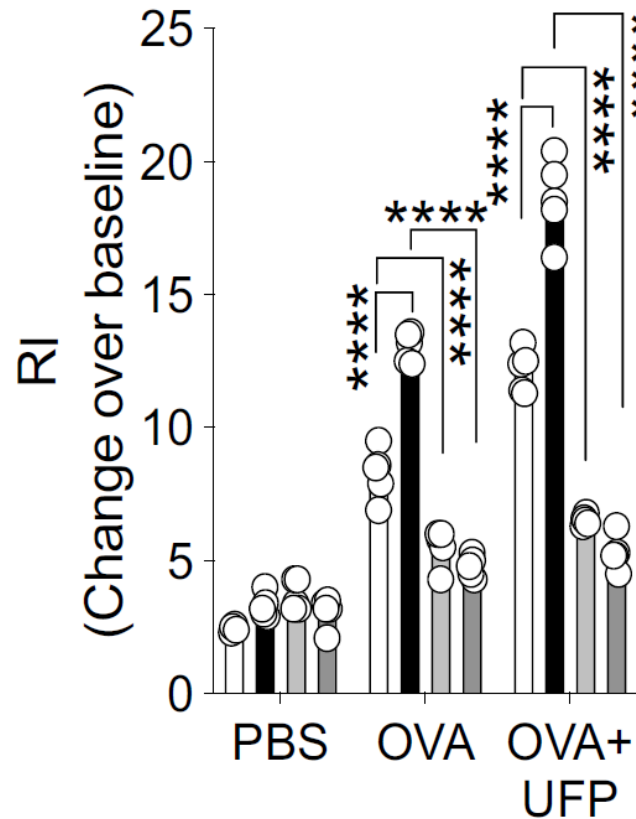


Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique



Cytométrie en flux  
 Identification cellules et de leur production

## Fonction respiratoire



- Foxp3<sup>YFPcre</sup>
- Il4ra<sup>R576</sup>Foxp3<sup>YFPcre</sup>
- ◻ Foxp3<sup>YFPcre</sup>Notch4<sup>Δ/Δ</sup>
- ◼ Il4ra<sup>R576</sup>Foxp3<sup>YFPcre</sup>Notch4<sup>Δ/Δ</sup>

**Augmentation de l'hyperréactivité bronchique dans la souche de souris présentant le variant R576**

**Effet aboli en l'absence d'expression de NOTCH4 dans les LTreg**

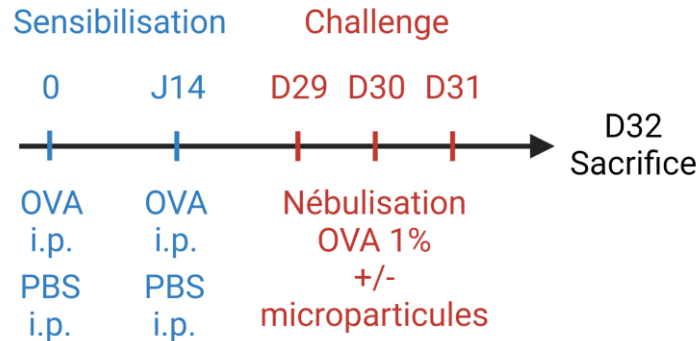
Benamar M et al. Allergy. 2022 Nov;77(11):3377-3387

Figure réalisée avec BioRender.com

# Variants IL4R<sup>576</sup> / Délétion Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>



Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique

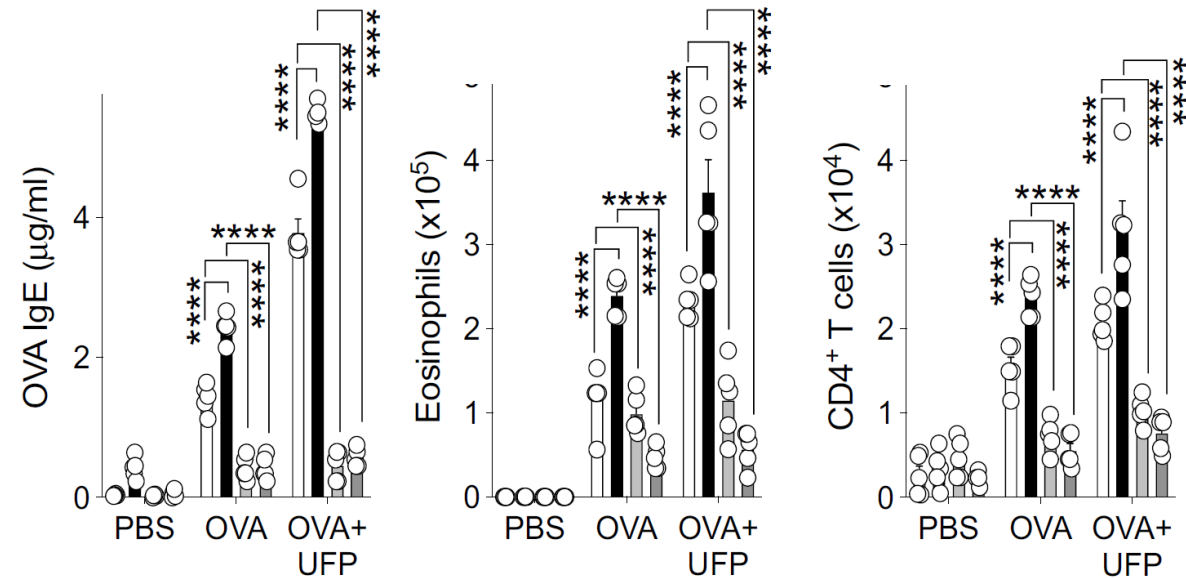


Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur production

## Réponse innée et adaptative

□ Foxp3<sup>YFPcre</sup>  
 ■ Il4ra<sup>R576</sup>Foxp3<sup>YFPcre</sup>  
 ▒ Foxp3<sup>YFPcre</sup>Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 ▓ Il4ra<sup>R576</sup>Foxp3<sup>YFPcre</sup>Notch4<sup>Δ/Δ</sup>



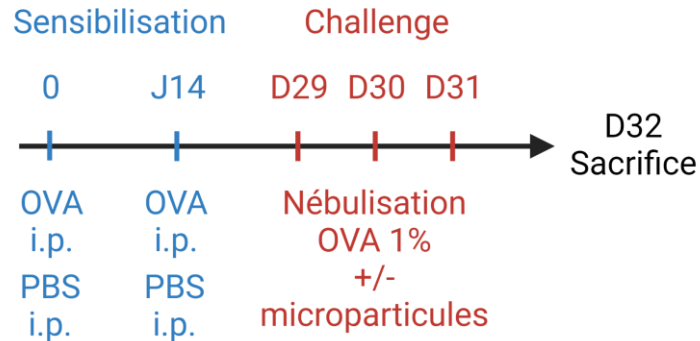
**Variant R576 : ↑ IgE spé, ↑ Eosinophiles, ↑ LTCD4<sup>+</sup>**  
**Abolie en l'absence de l'expression de NOTCH4 (Ltreg)**



# Variants IL4R<sup>576</sup> / Délétion Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>



Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique

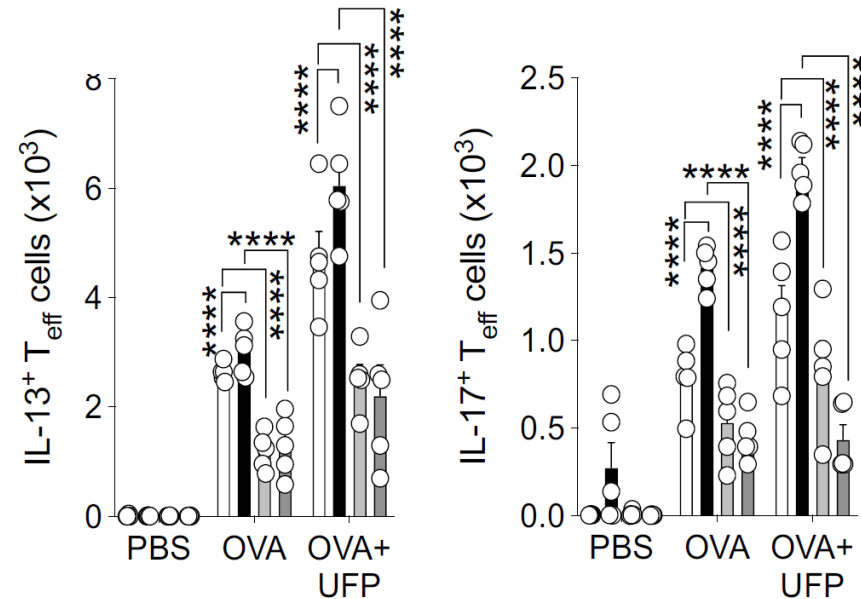


Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur production

## Production de cytokines T2 et T17 par les T<sub>eff</sub>

□ Foxp3<sup>YFPcre</sup>  
 ■ Il4ra<sup>R576</sup>Foxp3<sup>YFPcre</sup>  
 ▒ Foxp3<sup>YFPcre</sup>Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 ▓ Il4ra<sup>R576</sup>Foxp3<sup>YFPcre</sup>Notch4<sup>Δ/Δ</sup>



**Variant R576 : ↑ prod IL-13 et IL-17 T<sub>eff</sub>**  
**Abolie en l'absence de l'expression de NOTCH4 (Ltreg)**

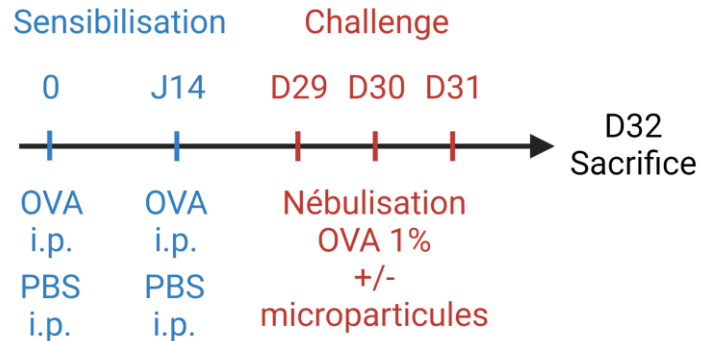
Benamar M et al. Allergy. 2022 Nov;77(11):3377-3387

Figure réalisée avec BioRender.com

# Variants IL4R<sup>576</sup> / Délétion Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPCre</sup> IL4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPCre</sup> IL4<sup>R576</sup>



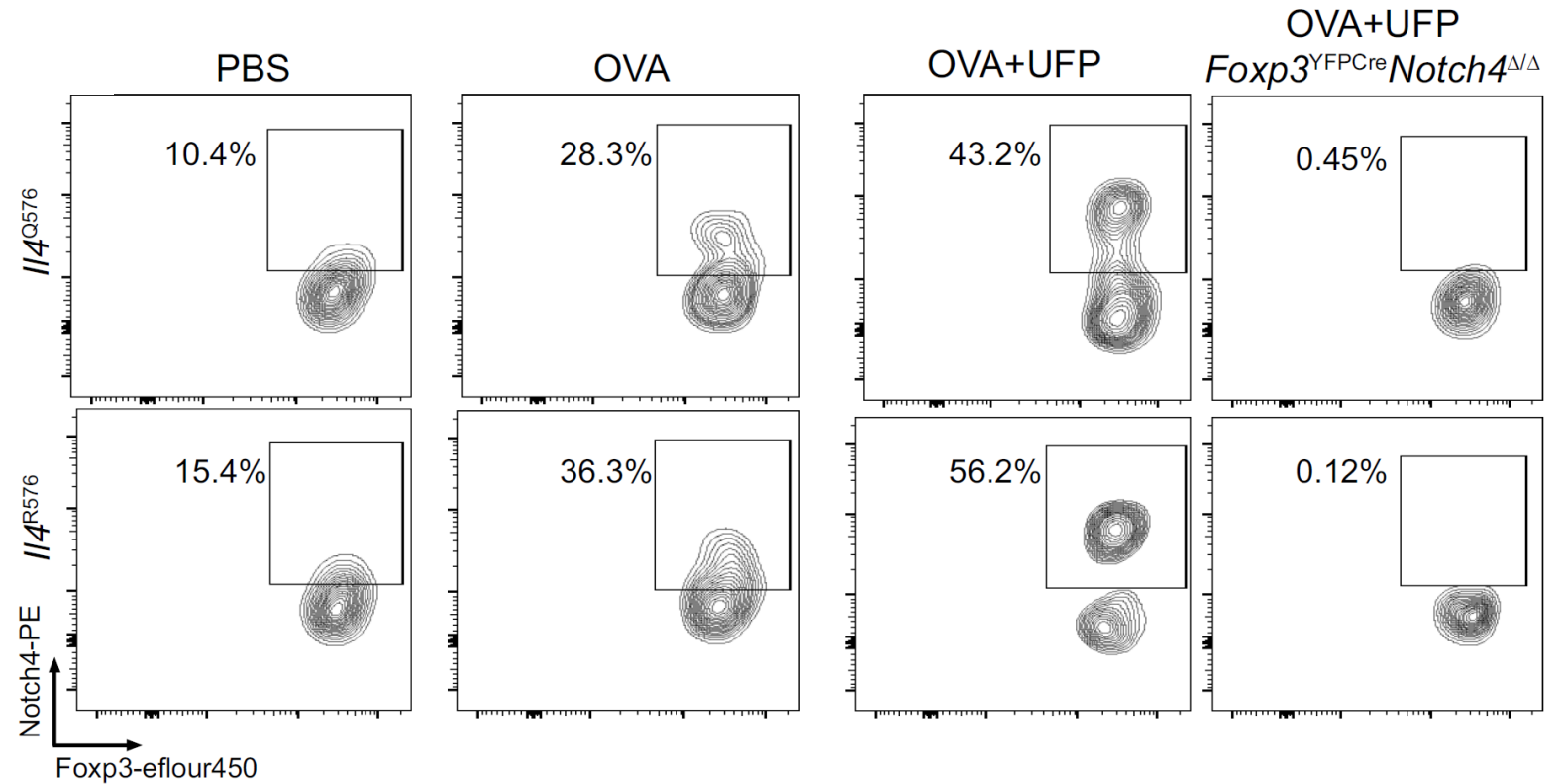
Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique



Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur production

## Production de Notch4 (Ltreg)



Qu'en pensez-vous ?

# Variants IL4R<sup>576</sup> / Délétion Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFP</sup>Cre IL4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFP</sup>Cre IL4<sup>R576</sup>



OVA i.p.      OVA i.p.      Nébulisation OVA 1% +/- microparticules

PBS i.p.      PBS i.p.



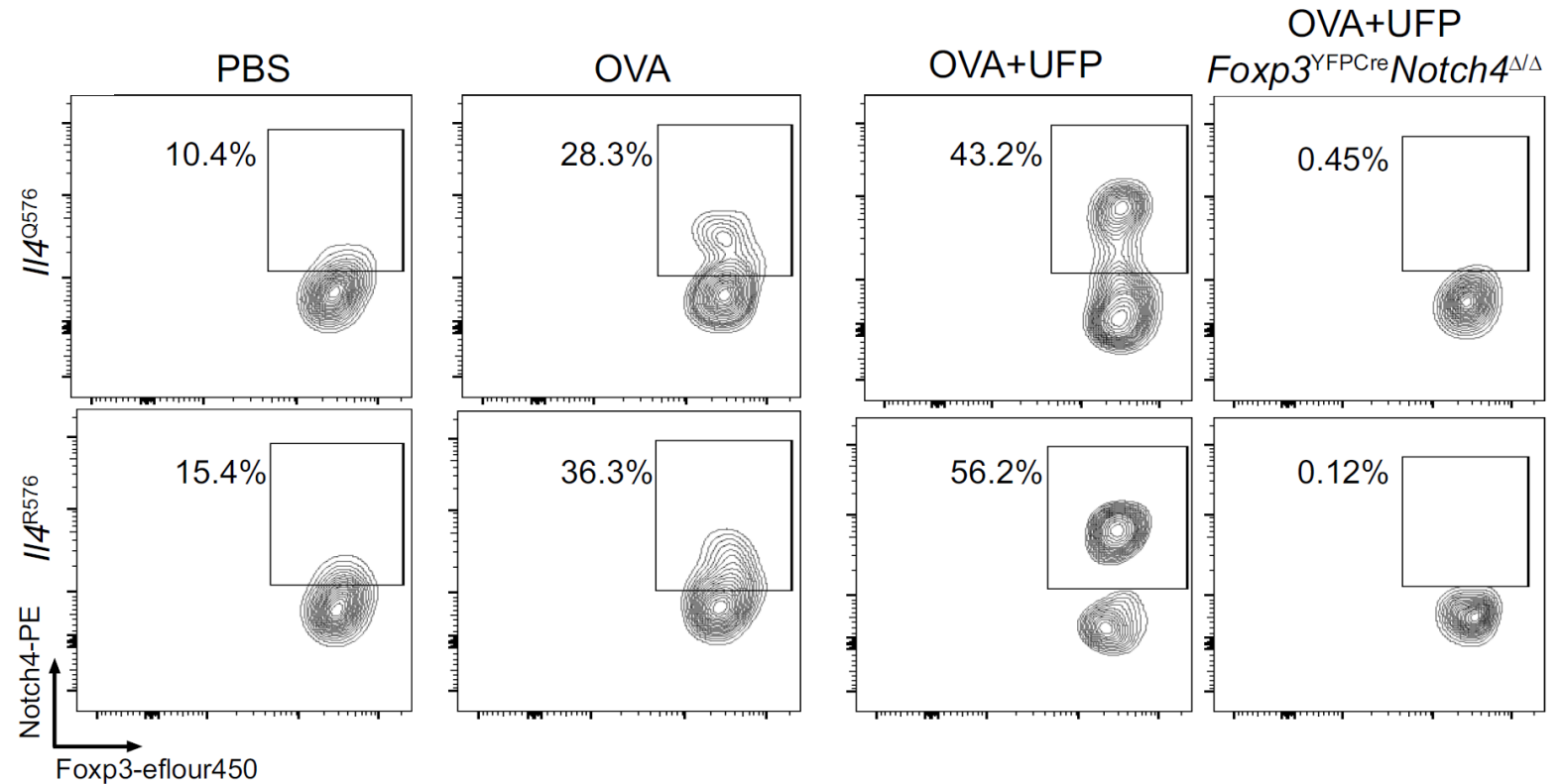
Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique



Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur production

## Production de Notch4 (Ltreg)

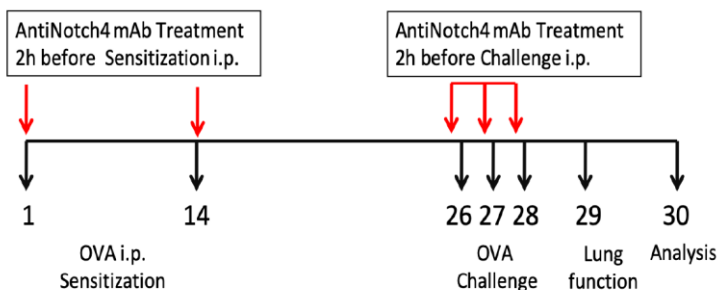


**Augmentation de l'expression de NOTCH4 dans les Ltreg induite par le modèle d'asthme. + importante avec variant R576**

# Blocage (Ac) de la voie Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPCre</sup> Il4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPCre</sup> Il4<sup>R576</sup>



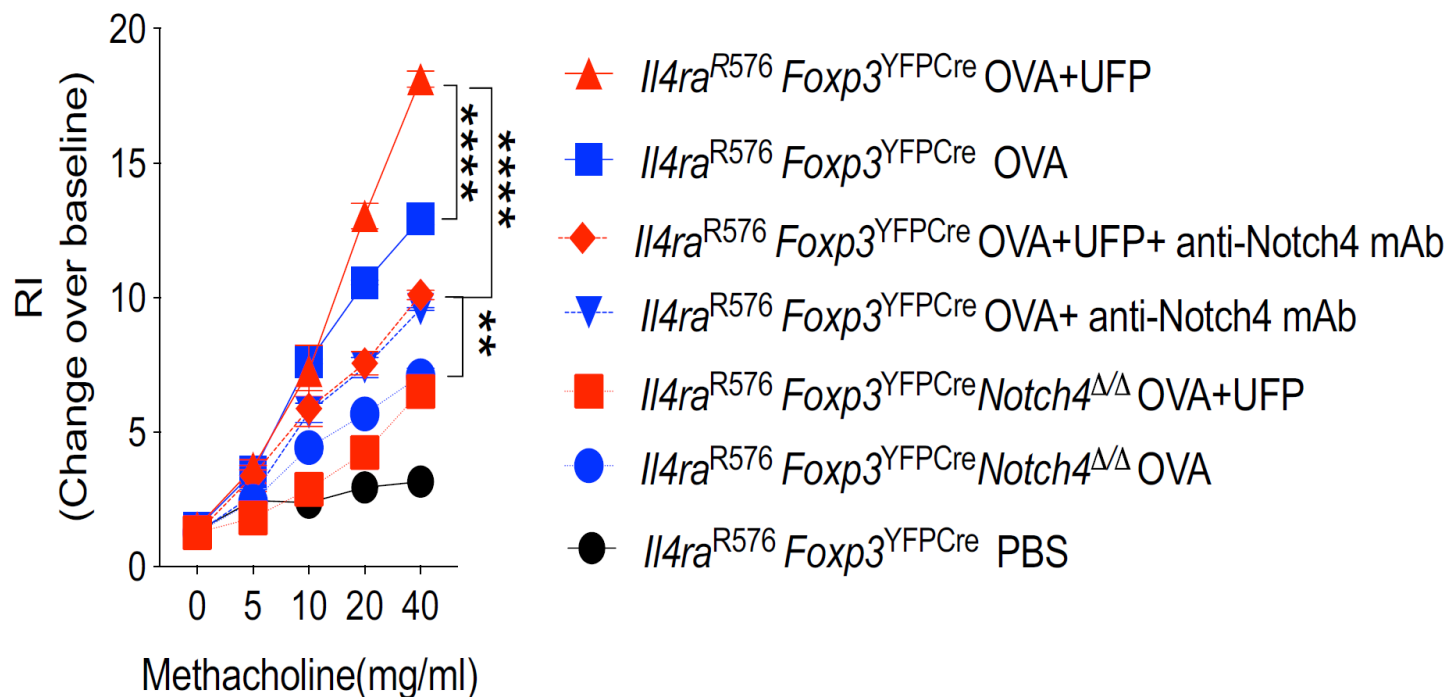
Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique



Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur production

## Fonction respiratoire



**Réduction de l'hyper-réactivité bronchique lorsque souris traitées par un anticorps anti-Notch4**

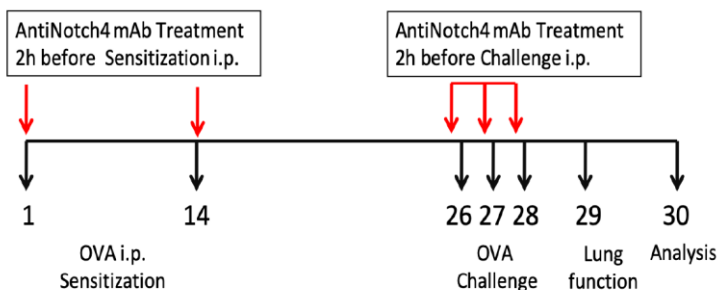
Benamar M et al. Allergy. 2022 Nov;77(11):3377-3387

Figure réalisée avec BioRender.com

# Blocage (Ac) de la voie Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>



Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique

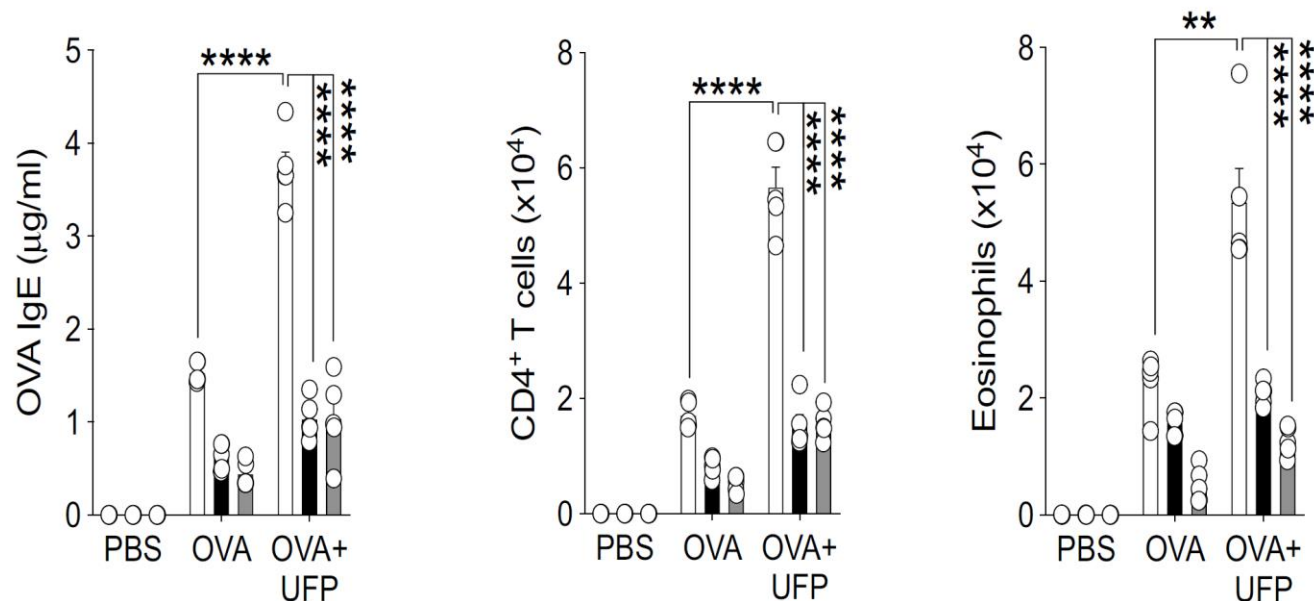


Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur production

## Réponse innée et adaptative

□ *Il4ra*<sup>R576</sup> *Foxp3*<sup>YFPcre</sup>  
 ■ *Il4ra*<sup>R576</sup> *Foxp3*<sup>YFPcre</sup> + anti-Notch4 mAb  
 ▒ *Il4ra*<sup>R576</sup> *Foxp3*<sup>YFPcre</sup> *Notch4*<sup>Δ/Δ</sup>



**Réduction de la production d'IgE spécifiques, de l'infiltrat LT CD4<sup>+</sup> et de l'infiltrat éosinophilique avec anticorps anti-Notch4**

Benamar M et al. *Allergy*. 2022 Nov;77(11):3377-3387

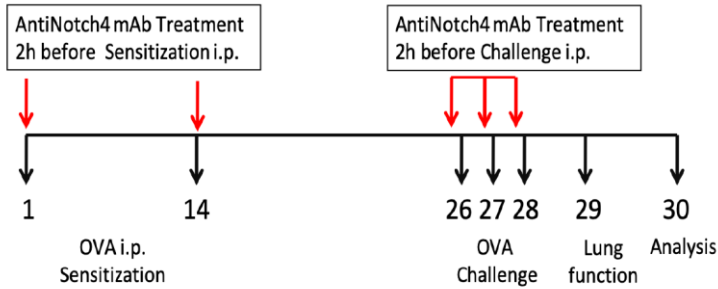
Figure réalisée avec BioRender.com



# Blocage (Ac) de la voie Notch 4 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Notch4<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>



Mesure invasive de l'hyper-réactivité bronchique

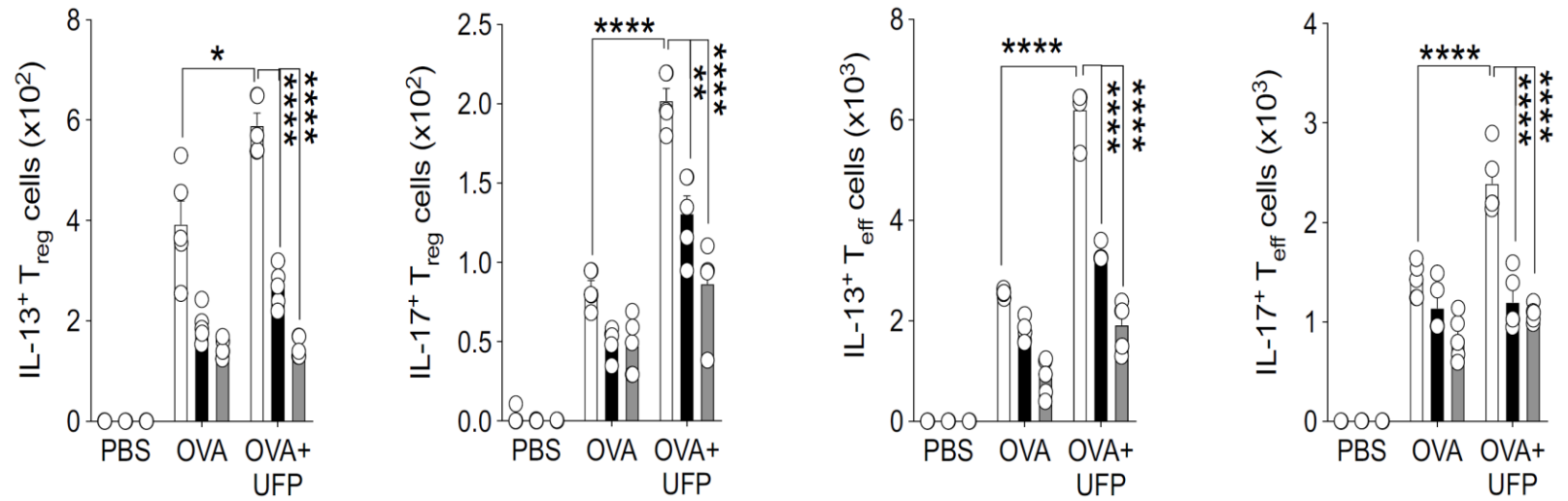


Cytométrie en flux

Identification cellules et de leur production

## Production de cytokines T2 et T17 par les Lteff et LTreg

□ *Il4ra*<sup>R576</sup> *Foxp3*<sup>YFPcre</sup>  
 ■ *Il4ra*<sup>R576</sup> *Foxp3*<sup>YFPcre</sup> + anti-Notch4 mAb  
 ▒ *Il4ra*<sup>R576</sup> *Foxp3*<sup>YFPcre</sup> *Notch4*<sup>Δ/Δ</sup>



## Réduction de la production d'IL-13 et d'IL-17 par les Lteff et les Ltreg avec anticorps anti-Notch4

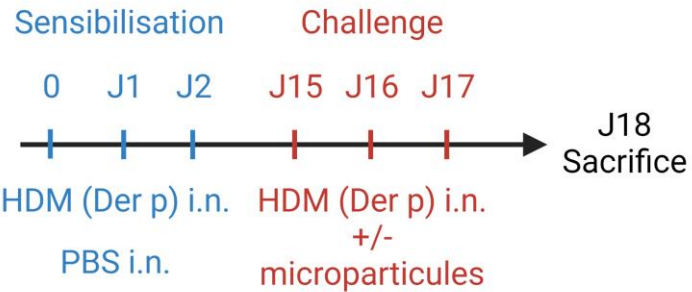
Benamar M et al. *Allergy*. 2022 Nov;77(11):3377-3387

Figure réalisée avec BioRender.com

# Voie Grb2 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFP</sup>Cre Il4<sup>R576</sup> Grb2<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFP</sup>Cre Il4<sup>R576</sup>



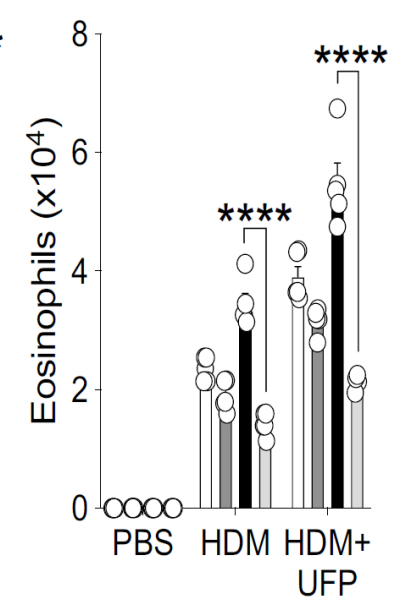
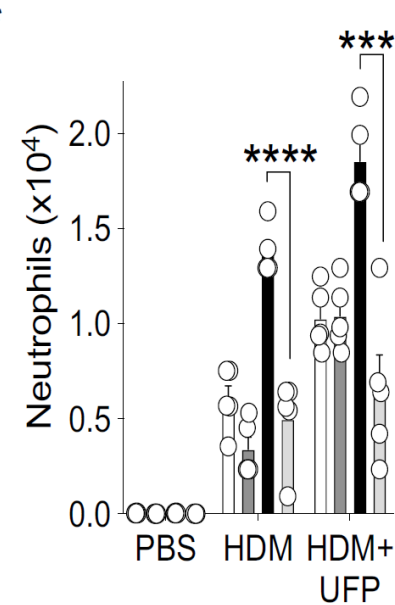
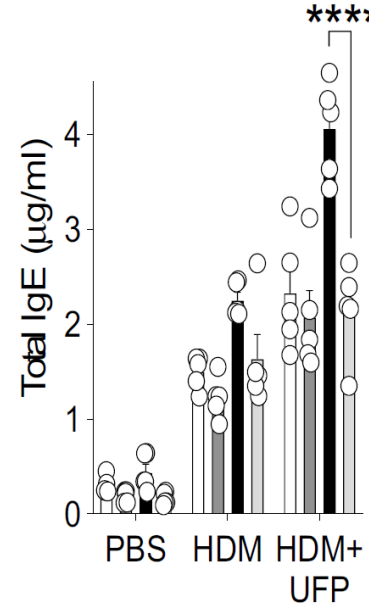
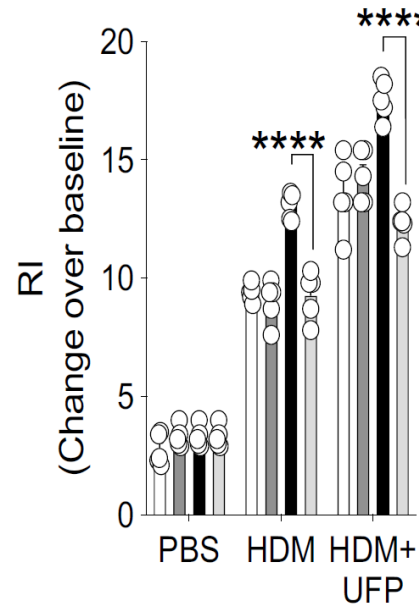
Mesure invasive de  
 l'hyper-réactivité  
 bronchique



Cytométrie en flux

Identification cellules  
 et de leur production

## Fonction respiratoire Réponse innée



□ Foxp3<sup>YFP</sup>Cre  
 ■ Foxp3<sup>YFP</sup>Cre Grb2<sup>Δ/Δ</sup>  
 ■ Il4ra<sup>R576</sup> Foxp3<sup>YFP</sup>Cre  
 □ Il4ra<sup>R576</sup> Foxp3<sup>YFP</sup>Cre Grb2<sup>Δ/Δ</sup>

Qu'en pensez-vous ?

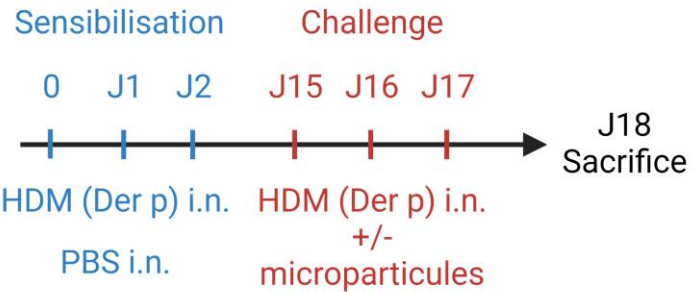
Benamar M et al. Allergy. 2022 Nov;77(11):3377-3387

Figure réalisée avec BioRender.com

# Voie Grb2 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFP</sup>Cre Il4<sup>R576</sup> Grb2<sup>Δ/Δ</sup>  
FoxP3<sup>YFP</sup>Cre Il4<sup>R576</sup>

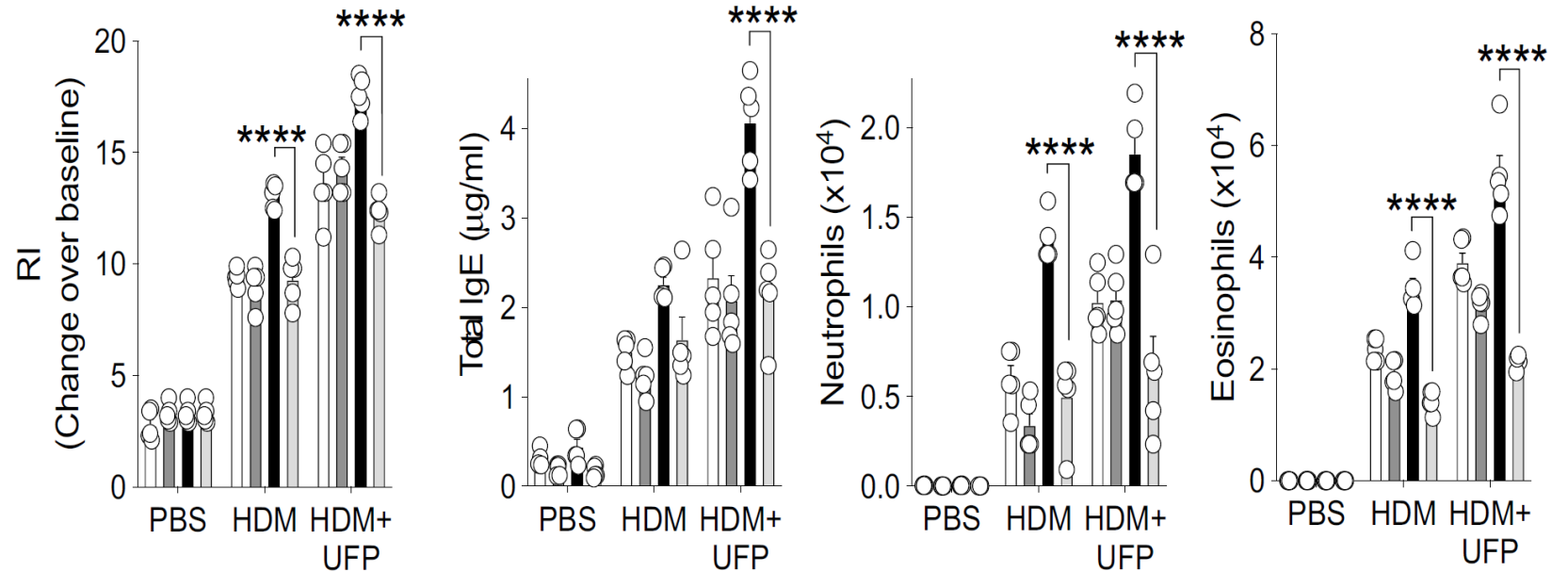


Mesure invasive de  
l'hyper-réactivité  
bronchique



Cytométrie en flux  
Identification cellules  
et de leur production

## Fonction respiratoire Réponse innée



**Absence d'impact de la délétion de Grb2 (Ltreg) IL4R sauvage  
Délétion Grb2 (Ltreg) en présence variant R576 abolit  
l'aggravation de l'HRB et marqueurs inflammatoires induits**

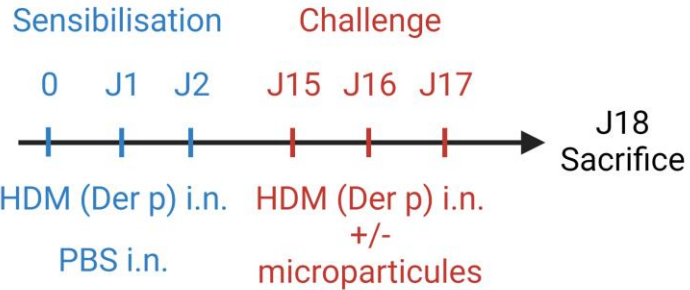
Benamar M et al. Allergy. 2022 Nov;77(11):3377-3387

Figure réalisée avec BioRender.com

# Voie Grb2 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Grb2<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>

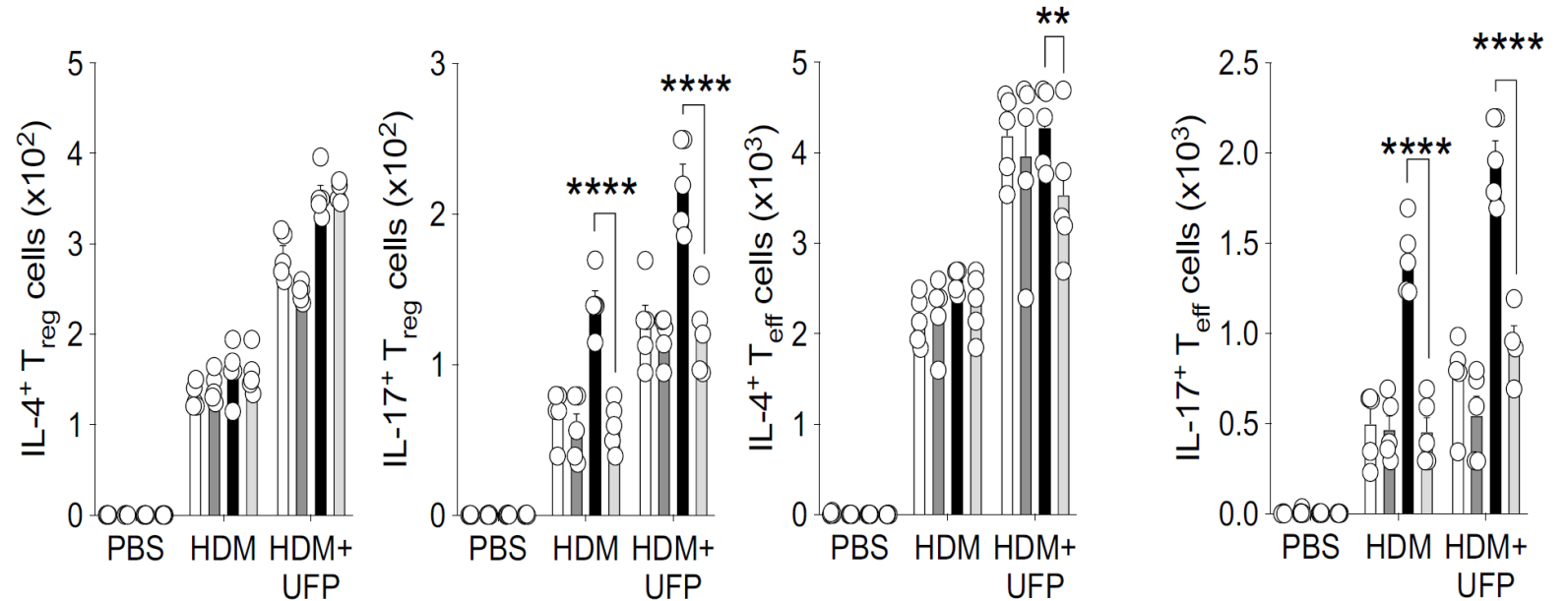


Mesure invasive de  
 l'hyper-réactivité  
 bronchique



**Cytométrie en flux**  
 Identification cellules  
 et de leur production

## Réponse adaptative



Qu'en pensez-vous ?

Benamar M et al. Allergy. 2022 Nov;77(11):3377-3387

Figure réalisée avec BioRender.com

# Voie Grb2 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup> Grb2<sup>Δ/Δ</sup>  
 FoxP3<sup>YFPcre</sup> Il4<sup>R576</sup>



Sensibilisation

Challenge

0 J1 J2 J15 J16 J17

J18  
Sacrifice

HDM (Der p) i.n. HDM (Der p) i.n.  
 PBS i.n. +/-  
 microparticules



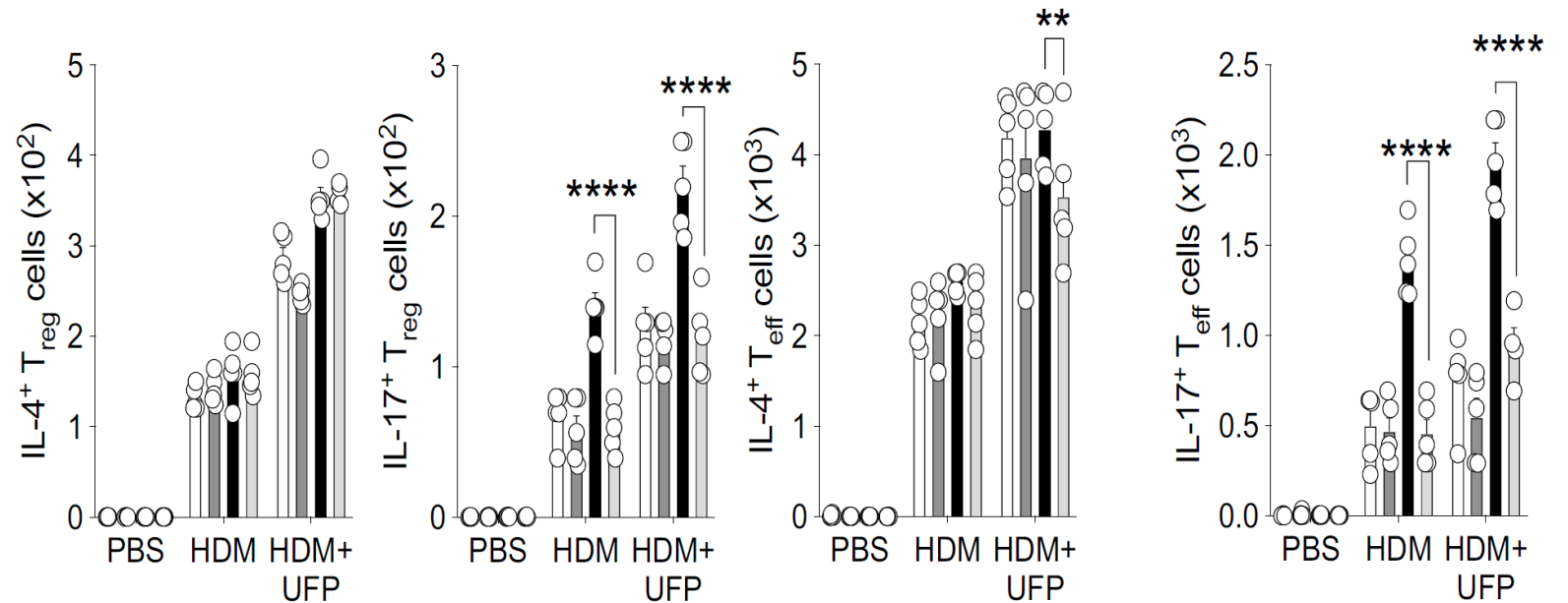
Mesure invasive de  
l'hyper-réactivité  
bronchique



Cytométrie en flux

Identification cellules  
et de leur production

## Réponse adaptative



**Délétion de Grb2 (L<sub>treg</sub>) réduit l'activation de la réponse Th17  
 mais pas celle Th2.**

Benamar M et al. Allergy. 2022 Nov;77(11):3377-3387

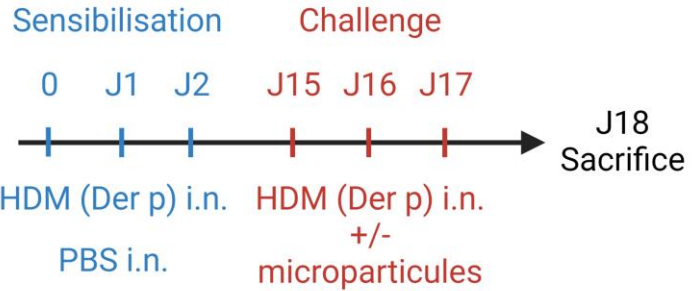
Figure réalisée avec BioRender.com



# Voie Grb2 : impact modèle murin d'asthme

## Souris et Méthode

FoxP3<sup>YFP</sup>Cre Il4<sup>R576</sup> Grb2<sup>Δ/Δ</sup>  
FoxP3<sup>YFP</sup>Cre Il4<sup>R576</sup>

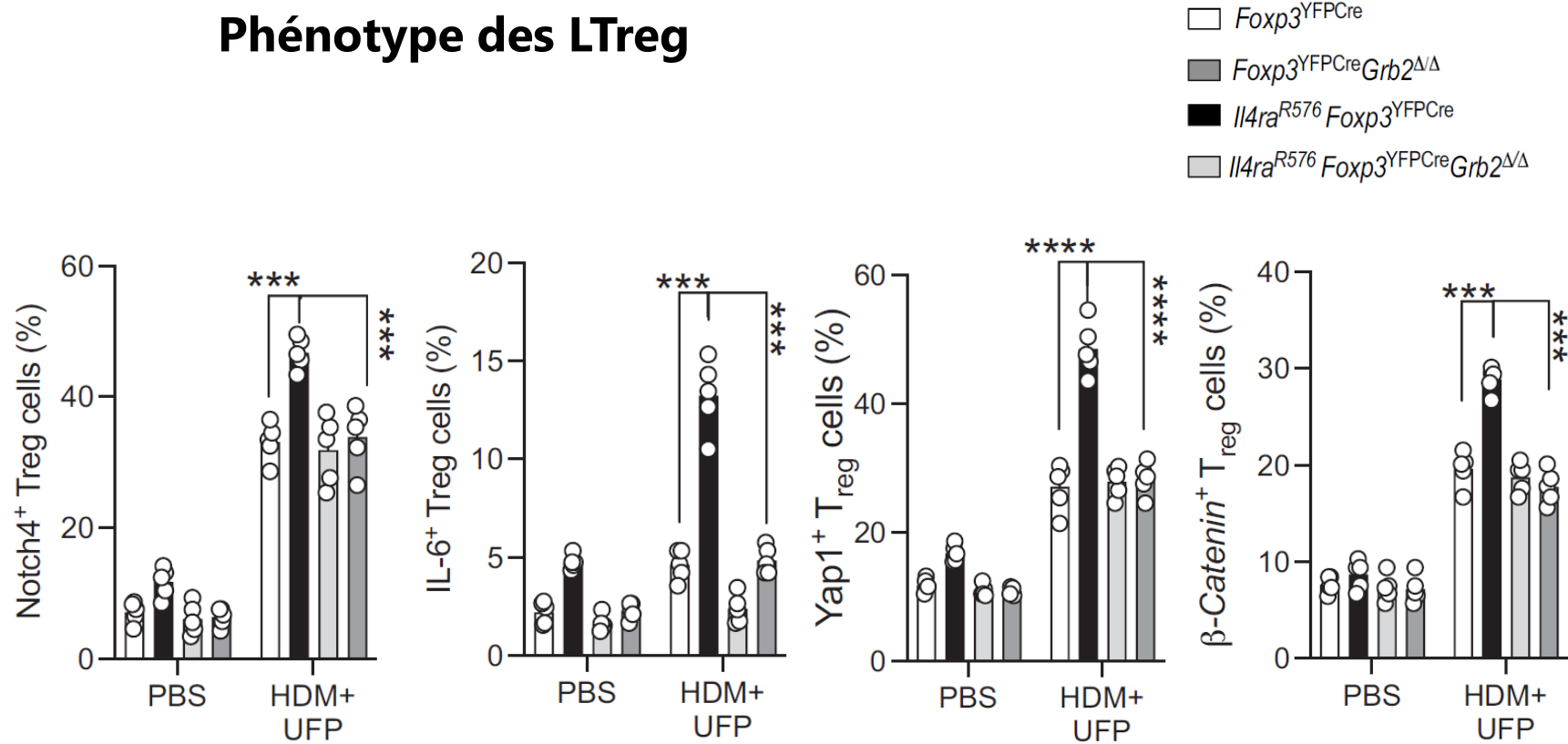


Mesure invasive de  
l'hyper-réactivité  
bronchique



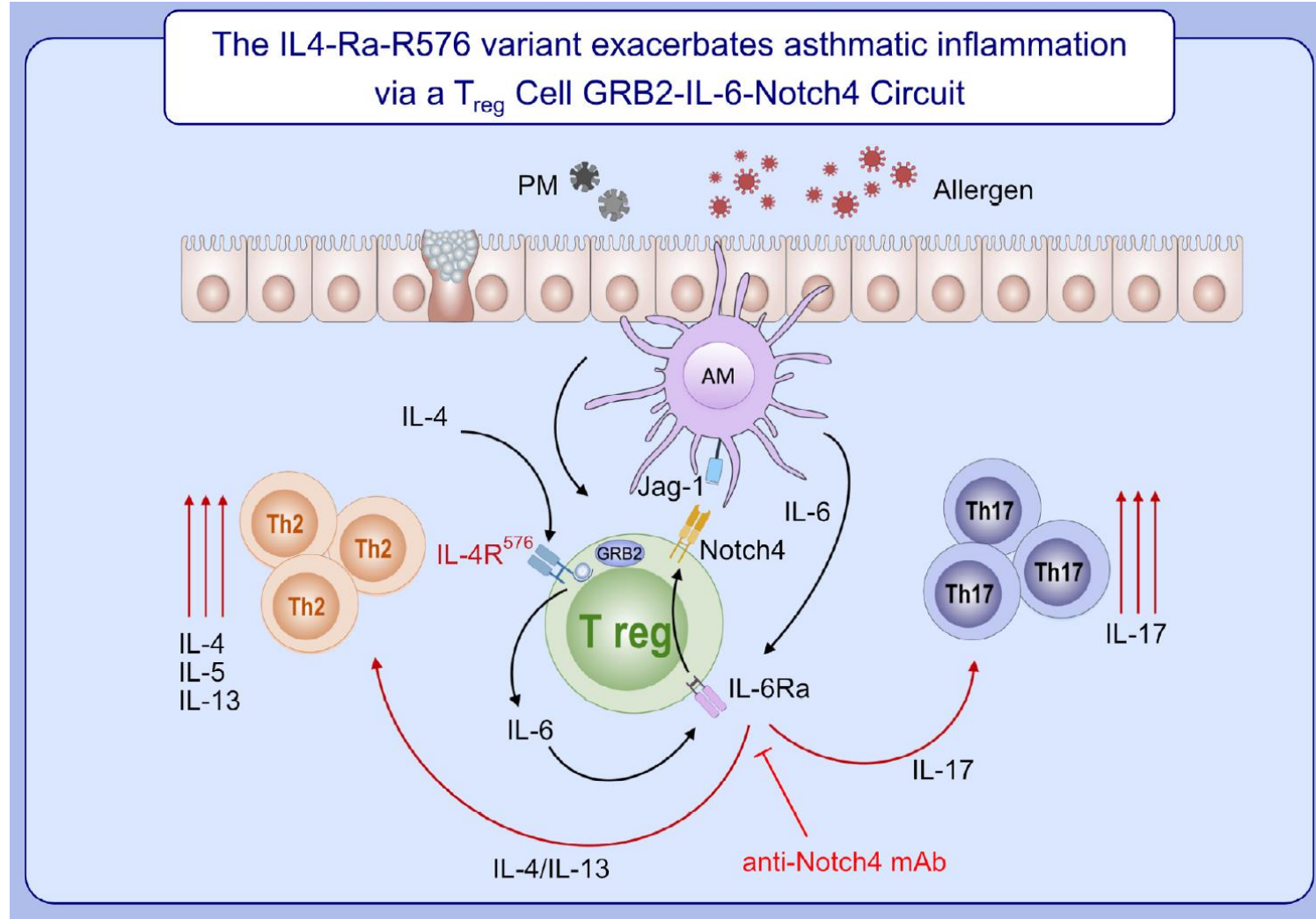
Cytométrie en flux  
Identification cellules  
et de leur production

## Phénotype des LTreg



**La délétion de Grb2 (Ltreg) réduit l'augmentation de l'expression de Notch4 au cours du modèle d'asthme ainsi que la production d'IL-6 ↓ de l'expression des médiateurs d'aval de NOTCH4 : YAP1 et β-Caténine**

# Conclusion



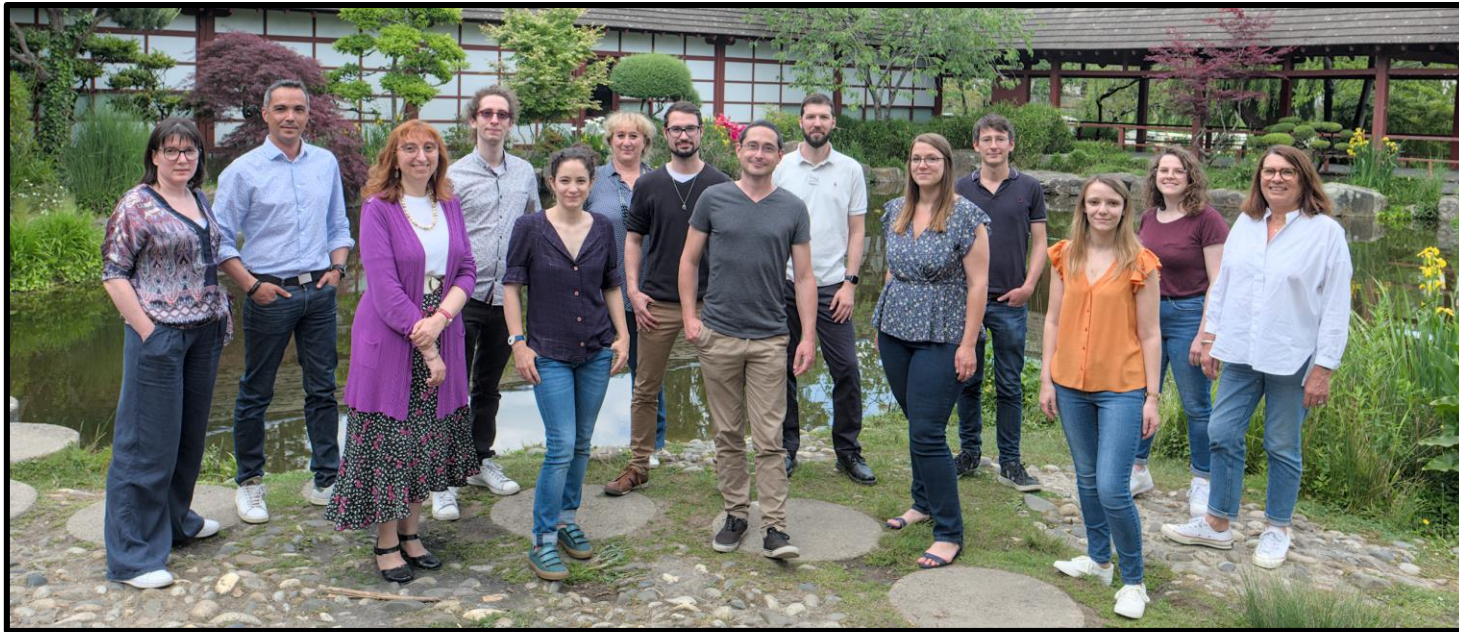
## *Conclusion*

**Que retenir de tout cela ?**

# Au total

- Les formes allergiques d'asthme sont **FREQUENTES** et accessibles à des prises en charge **SPECIFIQUES**
  - Nécessité de les rechercher **systematiquement**
- **Amélioration significative** des connaissances physiopathologiques
  - Développement de **stratégies thérapeutiques innovantes** 20 dernières années
  - Certains mécanismes pathologiques restent **mal compris**
- Multiples outils de recherche clinique et pré-clinique **disponibles**
  - Modèles animaux, cohortes clinique de grande envergure, big data etc.
- Recherche dans l'asthme et les allergies **en développement +++**





**Merci pour votre attention !**  
**Place aux questions**



**Dorian HASSOUN, MD**

[dorian.hassoun@univ-nantes.fr](mailto:dorian.hassoun@univ-nantes.fr)

L'unité de recherche de l'institut du thorax

Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291

Nantes, France

[umr1087.univ-nantes.fr](http://umr1087.univ-nantes.fr)

