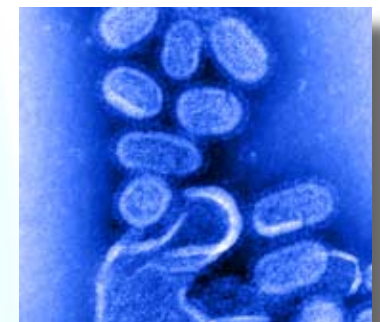


Modèles d'étude du lien entre la réponse immunitaire muqueuse des poumons et des voies respiratoires et l'issue de la maladie

Contexte

Les humains sont en contact constant avec des millions de microbes, y compris des agents pathogènes infectieux et non infectieux. Le premier site d'exposition, mais aussi notre première ligne de défense, est souvent le système immunitaire muqueux des poumons – un site d'interactions agents pathogènes hôte particulièrement important, bien que peu étudié. Des statistiques de l'Organisation mondiale de la santé révèlent que des infections bactériennes et virales aiguës des voies respiratoires inférieures sont responsables du décès de plus de quatre millions de personnes par année et affectent des millions d'autres personnes. Des maladies comme les pneumonies d'origine nosocomiale ou communautaire, l'influenza, ainsi que l'émergence de nouveaux agents infectieux (p. ex. SRAS et grippe aviaire) et d'agents pathogènes résistants aux médicaments font ressortir l'importance de comprendre les réactions immunitaires et inflammatoires dans les poumons. Même si la réponse immunitaire occupe un rôle essentiel lorsqu'il s'agit de protéger l'hôte contre les agents infectieux, elle n'en est pas moins une arme à double tranchant et, dans certains cas, ces mêmes réactions immunitaires ou inflammatoires peuvent en fait être une cause de morbidité, voire de décès. Les maladies auto immunes, les allergies et l'asthme sont des exemples d'effets indésirables de l'inflammation.

En 2004, l'Institut des maladies infectieuses et immunitaires des Instituts de recherche en santé du Canada (IMII-IRSC), en partenariat avec l'Institut de la santé circulatoire et respiratoire des IRSC, RCE AllerGen Inc. et la Fondation canadienne de la fibrose kystique (FCFK), a émis un appel de demandes intitulé « Modèles d'étude du lien entre la réponse immunitaire muqueuse des poumons et des voies respiratoires et l'issue de la maladie ». Le présent document décrit certaines des conclusions et découvertes de la recherche correspondantes aux cinq objectifs de départ du projet.



AllerGen


CIHR IRSC
Canadian Institutes of Health Research / Instituts de recherche en santé du Canada

Institute of Infection and Immunity / Institut des maladies infectieuses et immunitaires

Institute of Circulatory and Respiratory Health / Institut de la santé circulatoire et respiratoire



Canadian Cystic Fibrosis Foundation
Fondation canadienne de la fibrose kystique

ISBN: MR21-140/2009F
978-1-100-91429-9

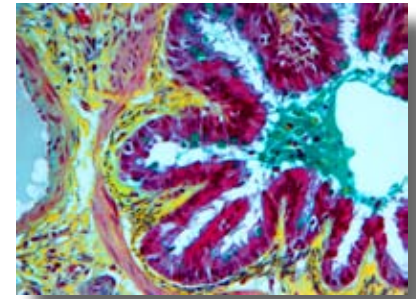
Objectif no 1 : Promouvoir des activités de recherche de qualité qui contribueront à l'avancement des connaissances dans le domaine des réponses immunitaires muqueuses des poumons et des voies respiratoires supérieures.

En 2006, l'IMII et ses partenaires ont investi 4,46 millions de dollars sur 3 ans pour appuyer 9 projets de recherche prometteurs touchant une variété de sujets et mettant à contribution plus de 24 chercheurs de partout au pays. Le tableau qui suit présente une liste des chercheurs principaux subventionnés et des titres des projets:

Chercheur principal	Établissement	Titre du projet
BAI, Tony R; KNIGHT, Darryl A; VAN EEDEN, Stephanus	Université de la Colombie-Britannique, Hôpital St. Paul	Environmental impact on the epithelial immune barrier in asthma
DAY, Robert; CADIEUX, Alain; SEIDAH, Nabil G; TALBOT, Pierre J	Université de Sherbrooke	The implication of PCs in mucosal immune responses in the lung and respiratory tract. Le rôle des proprotéines convertases dans la réponse immunitaire muqueuse des poumons et des voies respiratoires.
DURONIO, Vincent; KHALIL, Nasreen; LEVINGS, Megan K	Université de la Colombie-Britannique	The mechanistic basis of post-lung transplantation bronchiolitis obliterans and therapeutic approaches
DUSZYK, Marek; FOLEY, Edan IRVIN, Randall T; VEDERAS, John C	Université de l'Alberta	Models of bacterial lung infection in Cystic Fibrosis: Therapy with Antimicrobial Peptides
LAVOIE, Jean-Pierre	Université de Montréal	Study of the pathogenesis and reversibility of airway damage and repair (remodeling) during chronic mucosal immune responses to environmental allergens
MCNAGNY, Kelly M; KUBES, Paul; MODY, Christopher H	Université de la Colombie-Britannique	Role of mast cells and eosinophils in allergic inflammation and fibrosis in the lung
PARKS, Robin J	Institut de recherche en santé de l'Université d'Ottawa	The Innate Immune Response to Human Adenovirus
SAD, Subash	Université d'Ottawa	Mechanisms of induction and maintenance of T cell memory in the lungs
XING, Zhou; GAULDIE, Jack; JORDANA, Manel; STAMPFLI, Martin R	Université McMaster	Regulation of lung mucosal immune responses by heterologous exposure to multiple infectious and allergic agents

Objectif no 2 : Établir de nouveaux modèles de recherche expérimentale qui permettront d'examiner en profondeur les réponses immunitaires muqueuses.

À l'Université de Montréal, le **Dr Jean-Pierre Lavoie** et son équipe utilisent une maladie survenant de façon naturelle chez les chevaux pour étudier les atteintes de la fonction respiratoire associées à l'asthme persistant. Les réponses immunitaires non contrôlées observées chez les asthmatiques face aux antigènes environnementaux mènent éventuellement à l'inflammation, puis à des changements au niveau des voies respiratoires et du parenchyme pulmonaire. À long terme, ces effets entraînent une détérioration de la fonction pulmonaire, qui peut, en partie, résulter d'un remodelage et d'une augmentation de la masse en muscles lisses des voies aériennes (MLVA). On soupçonne que ces changements ne soient pas complètement réversibles, même après que l'allergène a disparu ou que l'inflammation est contrôlée par inhalation de corticostéroïdes. Le modèle équin a permis à l'équipe d'étudier la réversibilité du remodelage des voies aériennes et de mettre ces changements en corrélation avec la fonction pulmonaire, l'inflammation et l'expression génique. Il a ainsi pu être démontré que l'absence de toute exposition à des antigènes pendant une durée de trois mois n'entraînait aucune diminution de la masse des MLVA¹. Il reste à déterminer si l'inhalation de corticostéroïdes inversera l'effet, et c'est là le sujet d'études en cours. Plus de 140 gènes d'expression différentielle ont été identifiés dans le tissu pulmonaire de chevaux asthmatiques², et il reste à espérer que d'autres études sur ces gènes mèneront à l'identification de nouveaux biomarqueurs en tant que cibles thérapeutiques.



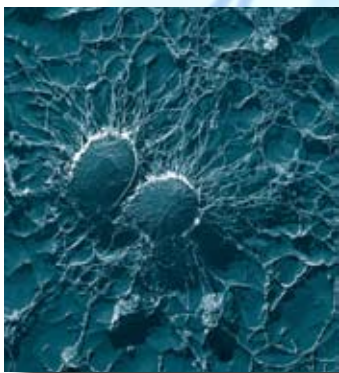
Voies aériennes distales d'un cheval



Évaluation endoscopique des voies aériennes équines



Virus de l'influenza

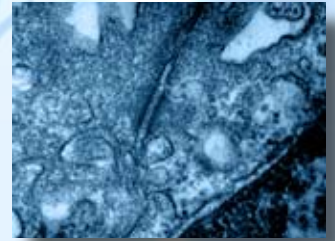


Staphylocoque

L'utilisation de modèles animaux a contribué à notre compréhension des réponses immunitaires muqueuses de l'hôte aux agents environnementaux tels que les microbes et les pneumallergènes. Cependant, une majorité d'études ont mis l'accent sur la pathogenèse d'agents individuels présentés isolément, alors que, en réalité, les humains sont constamment et simultanément exposés à une grande variété d'antigènes environnementaux. Le **Dr Zhou Xing** et son équipe, à l'Université McMaster, ont mis au point un modèle murin pour les études sur des expositions complexes à des virus (influenza), bactéries (*staphylocoque doré*) et pneumallergènes (acariens détriticoles). Les résultats de ces études ont révélé que lorsqu'une infection par le virus de la grippe est suivie d'une infection bactérienne, comme c'est souvent le cas dans la vraie vie, la réponse immunitaire des cellules tueuses naturelles (NK) est significativement réduite³. Dans le cadre d'autres expériences où des souris étaient d'abord infectées par un virus de l'influenza, puis exposées à une dose subclinique de bactéries Gram négatif, ces dernières souris ont été plus gravement malades que les souris auxquelles l'un ou l'autre de ces agents infectieux avait été inoculé. Ces résultats indiquent qu'une infection grippale préalable compromet la réponse immunitaire de l'hôte à d'autres assauts subséquents. Fait intéressant, dans le modèle pneumallergène, il a été montré que l'exposition à des allergènes au cours d'une infection grippale entraîne une réaction allergique marquée, mais que cette réaction est réduite si l'exposition a lieu aux derniers stades d'une infection grippale. Ces études jettent un peu de lumière sur les interactions complexes entre une multitude d'expositions et de réactions de l'hôte aux antigènes⁴.

Objectif no 3 : Établir de nouveaux marqueurs de la fonction pulmonaire qui tiendront compte du système immunitaire

L'asthme chronique entraîne éventuellement une détérioration de la fonction pulmonaire, et peut être exacerbé par une exposition simultanée à des polluants et à des virus présents dans l'atmosphère. Le **Dr Tony Bai** et son équipe, à l'Université de la Colombie Britannique, étudient des cellules épithéliales cultivées provenant de voies respiratoires de sujets asthmatiques et non asthmatiques afin d'explorer les différences sur le plan de la cinétique du processus de régénération après exposition à des virus et/ou à des matières particulaires inhalables (PM10) et ont montré que la restauration (induite par la cytokine IL 13) des cellules épithéliales endommagées des sujets asthmatiques est beaucoup plus lente que celle des cellules des sujets non asthmatiques⁵. D'autres cytokines participent également au maintien de l'intégrité de la barrière immunitaire, et des études montrent qu'un dérèglement au



Cellules épithéliales des voies aériennes



niveau de la libération de ces cytokines et de l'expression des récepteurs de cellules de sujets asthmatiques entraîne une augmentation de l'inflammation, une persistance des cellules immunitaires et une altération des processus de restauration et de remodelage⁶. D'autres études sur les biomarqueurs basocellulaires ont révélé que les changements affectant l'épithélium des voies aériennes surviennent tôt au cours du processus morbide, en lésant l'épithélium qui, dès lors, ne peut plus remplir adéquatement sa fonction de barrière immunitaire⁷.

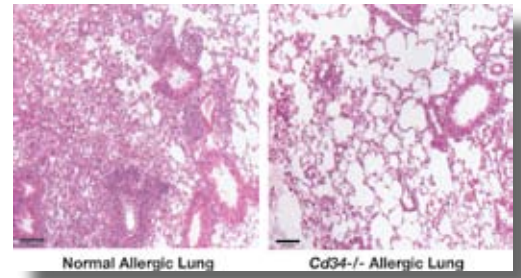
Le **Dr Vincent Duronio** et son équipe, à l'Université de la Colombie Britannique, étudient actuellement les raisons des échecs de greffes du poumon. Bien que la greffe reste souvent la seule solution face à de nombreuses maladies pulmonaires, les greffes de poumons peuvent éventuellement échouer en raison d'une augmentation anormale du tissu conjonctif (fibrose) dans les voies aériennes. Désignée sous le nom de bronchiolite oblitérante post-transplantation pulmonaire (BO PTP), cette séquelle de la transplantation est observée chez près de 90 % des greffés pulmonaires, et jusqu'à neuf années après la transplantation. L'équipe du Dr Duronio a élaboré avec succès un nouveau système de modèle de souris pour l'étude de la BO PTP, un outil qui n'existait pas dans l'Ouest canadien avant la subvention de ces recherches. En utilisant ce système, l'équipe a pu démontrer qu'en bloquant le processus d'apoptose (mort cellulaire) par des vecteurs viraux, il était possible de prévenir la fibrose dans les voies aériennes. Ces résultats correspondent à une nouvelle approche en matière de prévention des rejets de greffes du poumon. D'autres études sur un peptide capable de bloquer l'action d'une cytokine profibrotique puissante brevetée antérieurement par le groupe montrent que la prévention de la fibrose chez les transplantés pulmonaires est possible à long terme, et laisse entendre qu'une autre approche thérapeutique à la prévention de l'échec et du rejet des greffes du poumon est possible.



Modèle murin de BO : transplantation hétérotopique de trachée

Objectif no 4 : Étudier la pathogenèse de l'inflammation causée par les allergènes et les agents infectieux dans les poumons et les voies respiratoires supérieures

L'allergie, l'asthme et la pneumopathie d'hypersensibilité sont des maladies pulmonaires inflammatoires qui affectent un Canadien sur quatre à différents degrés. Ces maladies, bien que rarement mortelles, influent considérablement sur la qualité de vie et la productivité. Le **Dr Kelly McNagny** et son équipe, à l'Université de la Colombie Britannique, étudient le rôle de deux types importants de cellules, les mastocytes et les éosinophiles, dans l'inflammation, les lésions tissulaires et l'évolution de la maladie. Grâce au marquage fluorescent, l'équipe a pu suivre la génération et la migration de mastocytes et d'éosinophiles dans les poumons de souris vivantes. Les résultats de leurs observations ont révélé qu'il y a encore beaucoup à découvrir sur les capteurs d'infection par des agents pathogènes dans les poumons, car aucun des principaux facteurs immunitaires innés connus n'est efficace dans un modèle murin d'inflammation pulmonaire induite par le zymosan⁸. D'autres recherches devront donc être menées pour donner suite à ces observations intrigantes. Le groupe a pu identifier un biomarqueur, le CD34. Ce biomarqueur, exprimé par les mastocytes et les éosinophiles, est un déterminant de l'inflammation allergique⁹. Le CD34 pourrait s'avérer être une bonne cible thérapeutique puisque l'inactivation des gènes associés confère une résistance aux souris.



Certains agents pathogènes, comme *Mycobacterium tuberculosis*, parviennent à échapper aux systèmes immunitaires innés et acquis et vont causer une infection chronique chez l'hôte. Le poumon, tout particulièrement, semble offrir à *Mycobacterium tuberculosis* un site protégé où cette bactérie peut croître en



Mycobacterium tuberculosis

dépît de la présence d'une réponse immunitaire systémique efficace. Un grand nombre d'infections bactériennes peuvent être évitées par la vaccination. Dans une majorité de cas, le vaccin agit en

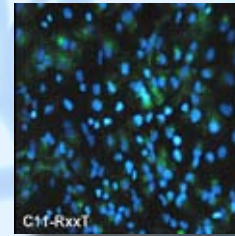
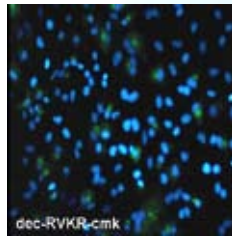
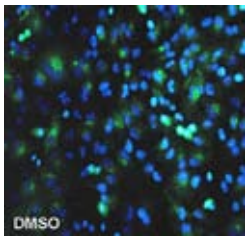


produisant un grand nombre de cellules T mémoire ayant une spécificité pour la bactérie en cause. Ces cellules T sont alors capables d'éradiquer l'infection et d'assurer la protection future de l'hôte. Cela dit, dans le cas de *Mycobacterium tuberculosis*, le **Dr Subash Sad** et son équipe, au Conseil de recherche national de l'Université d'Ottawa, ont montré qu'aucune quantité de cellules T spécifiques de mycobactéries, quelle qu'elle soit ne peut éradiquer la bactérie des poumons, même

si ces cellules ne présentent apparemment aucune anomalie fonctionnelle¹⁰. Il semble que cela s'explique par le fait que la bactérie est logée dans les phagosomes intracellulaires et par la lenteur de son taux de doublement. Il en résulte que très peu d'antigènes sont disponibles pour l'activation des cellules T. Ce fait laisse entendre qu'une approche différente sera nécessaire, autrement dit, une approche utilisant le système immunitaire inné sans s'appuyer sur l'activation des cellules T¹¹. Cette approche pourrait soulever certains problèmes chez les patients présentant une fonction immunitaire innée altérée, comme les enfants en très bas âge, les personnes très âgées, les femmes enceintes ou les personnes malades. Une autre constatation dans le cadre de ces études indique que les infections par *Mycobacterium tuberculosis* entraînent une érosion des cellules T mémoire existantes, laissant l'hôte vulnérable à d'autres agents pathogènes virulents¹². L'interféron gamma s'est avéré être le facteur médiateur dans cette érosion des cellules T, et il est donc possible que la régulation de l'expression de l'interféron gamma puisse aider à contrôler les effets néfastes de l'inflammation causés par *Mycobacterium tuberculosis* et peut-être même, d'autres agents.

Objectif no 5 : Définir de nouvelles cibles de prévention et de traitement des affections pulmonaires d'origine immunitaire

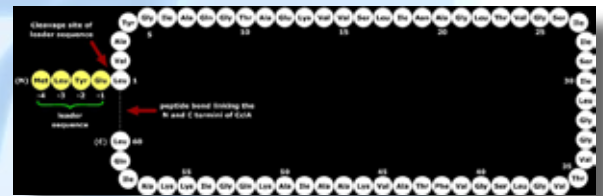
Le projet de recherche mené à l'Université de Sherbrooke par le **Dr Robert Day** et son équipe portait sur le potentiel des enzymes appelées proprotéines convertases (PC), en tant que cibles thérapeutiques contre les infections pulmonaires et les réactions allergiques. Le groupe a étudié un modèle de coronavirus murin ainsi qu'un modèle de sensibilisation aux allergènes des voies respiratoires. Dans les deux cas, le groupe a pu observer que les PC jouaient un rôle crucial dans la progression de la maladie, et que les inhibiteurs de ces PC étaient des agents thérapeutiques efficaces.



L'utilisation des inhibiteurs de proprotéines convertases C11-RxxT et dec-RVKR-cmk permet de freiner significativement la propagation intercellulaire du coronavirus OC43 par rapport au DMSO (témoin), comme le révèle une réduction du nombre de cellules vertes (présence du virus).



En utilisant un modèle de drosophile pour explorer l'immunité innée, le **Dr Marek Duszyk** et son groupe, à l'Université de l'Alberta, ont étudié les applications possibles des peptides antimicrobiens dans le traitement des infections pulmonaires chez les patients souffrant de fibrose kystique. Le groupe a ainsi identifié un peptide antimicrobien, appelé « carnocycline A », capable de former des canaux ioniques sélectifs de l'ion chlorure dans les membranes lipidiques. Il s'agit d'une importante découverte, puisque les cellules épithéliales des patients atteints de fibrose kystique contiennent un canal à ion Cl⁻ (CFTR) dysfonctionnel ou n'en contiennent pas. La carnocycline A pourrait donc fournir un mécanisme de rechange pour la sécrétion de chlorure et ainsi contribuer à atténuer l'inflammation chronique chez les patients souffrant de fibrose kystique. Certains peptides antibiotiques produits par des bactéries, même si elles sont très efficaces contre les organismes Gram négatif, n'ont aucun effet sur les bactéries Gram négatif, telles que *Pseudomonas aeruginosa* (PA), un agent pathogène couramment associé à la fibrose kystique. L'équipe se concentre actuellement sur une approche de type « cheval de Troie », en attachant le peptide à un ion normal transporté dans l'espoir qu'il pourra traverser la paroi cellulaire bactérienne. Pour terminer, mentionnons que l'équipe du Dr Duszyk explore les mécanismes qui sous-tendent les interactions entre les pili de PA et les cellules épithéliales bronchiales humaines, afin de mieux cerner le rôle de PA dans la clairance mucociliaire.



Carnocyclin A

Les équipes de recherche décrites dans ce document continuent d'étudier les liens entre la réponse immunitaire muqueuse des poumons et l'issue de la maladie, et plusieurs parmi ces équipes ont reçu un financement additionnel des IRSC pour leurs recherches dans ce domaine, dont le **Dr Zhou Xing** et son équipe, à l'Université McMaster, qui ont reçu une subvention d'équipe des IRSC en immunité innée muqueuse. Cette initiative de financement a en outre mené à la formation de la **Dre Margaret Kelly**, hématopathe clinicienne, et à son passage à la recherche fondamentale. Dre Kelly (membre de l'équipe du Dr McNagny) a réintégré son poste à titre de membre du corps enseignant de la faculté de pathologie et de médecine de laboratoire de l'Université de Calgary, et elle se spécialise à présent en pathologie pulmonaire et se penche sur de nouvelles méthodes de dépistage du cancer du poumon.

Références

1. Leclère M, Martin JG, Lavoie JP. Effect of allergen challenge and withdrawal on chronic smooth muscle remodeling in an equine model of asthma. American Thoracic Society (ATS), 2008, Toronto, ON, CA.
2. Lefebvre-Lavoie J, Lussier JG, Lavoie JP. Lefebvre-Lavoie J, Lussier JG, and Lavoie JP. Profiling of differentially expressed genes in lungs of heaves-affected horses using suppression subtractive hybridization. American Thoracic Society (ATS), 2008, Toronto, ON, CA.
3. Small CL, C. Kaushic, A. Ashkar and Z. Xing. Respiratory flu infection weakens host defense against staphylococcal superinfection by impairing NK cell activation and function. 2008 (manuscript in preparation)
4. Al-Garawi A.A, R. Fattouh, T.D Walker, E.B Jamula, F. Botelho, S. Goncharova, J. Reed, M.R Stampfli, P.M O'Byrne, A.J Coyle and M. Jordana. Acute, but not resolved, influenza A infection enhances susceptibility to house dust mite induced allergic disease. J. Immunol. in press, 2009
5. Allahverdian, Harada, Singhera, Knight and Dorscheid. Secretion of IL-13 by Airway Epithelial Cells Enhances Epithelial Repair via HB-EGF. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. Vol. 38, pp. 153-160, 2008
6. Hackett, Warner, Bai, Knight et al. Induction of epithelial-mesenchymal-transition in airway epithelial cells from asthmatic patients by TGF β 1 Manuscript submitted to American Journal of Respiratory and Critical care Medicine
7. Singhera, Allahverdian, Knight, Hegele, Van Eeden, Bai and Dorscheid. Bronchial Immune Barrier and Epithelial Repair Alters in Response to RSV and Particulate Air Pollution (PM10). Proceedings of the American Thoracic Society April 2007; Volume 175: A475.
8. Kelly, M., McNagny, K., Williams, D., van Rooijen, N., Maxwell, L., Gwozd, C., Mody, C., Kubes, P. The Lung Responds to Zymosan in a Unique Manner Independent of Toll-Like Receptors, Complement, and Dectin-1. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2008 Vol. 38, p.227-38
9. Blanchet, M.R., Maltby, S., Haddon, J., Merkens, H., Zbytnuik, L., McNagny, K. CD34 facilitates the development of allergic asthma. Blood. 2007 Vol. 110, N. 6 p. 2005-2012
10. Sad S. (2007). Antigen-processing and presentation. In: Vaccine adjuvants and delivery systems, Manmohan Singh (Editor), John Wiley and Sons, pp. 33-52.
11. Russell M.S, Iskandar M, Mykytczuk O.L, Nash J.H, Krishnan L, Sad S.(2007). A reduced antigen load in vivo, rather than weak inflammation, causes a substantial delay in CD8+ T cell priming against mycobacterium bovis (Bacillus Calmette-Guerin).J. Immunol. 2007 Jul 1;179(1):211-20.
12. Dudani R., Murali-Krishna K., Krishnan L. and Sad S. (2008). IFN- γ induces the erosion of preexisting CD8 T cell memory during infection with a heterologous intracellular bacterium. J. Immunol. Aug 1;181(3): 1700-1709.

Les opinions et les points de vue exprimés dans ce document sont ceux des chercheurs financés et non ceux des Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC), de l'Institut des maladies infectieuses et immunitaires des IRSC (IMII-IRSC) ou des autres partenaires de financement.