

Immunopathologie de l'asthme sévère

Immunopathology of severe asthma

A. Magnan ^{*}, E. Mamessier, K. Botturi, D. Ghosh, D. Vervloet

EA 3287, université de la Méditerranée, Marseille, France

Reçu le 18 janvier 2006 ; accepté le 22 janvier 2006

Disponible sur internet le 13 mars 2006

Emilie Mamessier est soutenue par la SFAIC, Karine Botturi est soutenue par UCB Pharma

Résumé

L'asthme sévère représente une entité hétérogène dont l'immunopathologie est mal connue du fait de la difficulté d'obtenir du matériel in situ chez ces patients. Il existe deux types d'asthmes sévères en fonction de la présence ou non d'éosinophiles. Les asthmes sévères avec éosinophilie de début précoce ont une physiopathologie proche de celle des asthmes moins sévères, avec une infiltration Th2. Ils sont plus à même de développer des exacerbations. De début tardif, ces asthmes sont plus proches des syndromes hyperéosinophiliques. Les asthmes sévères sans éosinophilie sont le plus souvent le siège d'une infiltration à neutrophiles. Ce sont ceux qui répondent le moins aux corticoïdes. L'expectoration induite permet un suivi longitudinal non invasif de l'inflammation bronchique dans l'asthme sévère, permettant d'obtenir une comparaison de l'activation cellulaire pendant les exacerbations et en dehors. L'étude ISEA (Induced Sputum in Exacerbations of Asthma) a ainsi permis de montrer qu'au cours des exacerbations, on observe une activation simultanée des lymphocytes Th1 et Th2 et un déficit accentué en lymphocytes T régulateurs. Ce type d'approche est essentiel, dans le but d'identifier des cibles thérapeutiques pertinentes, et aussi éventuellement de détecter des marqueurs précoces prédictifs des exacerbations.

© 2006 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Severe asthma represents a heterogeneous entity for which the immunopathology is poorly understood, in part because of the difficulty of obtaining material in situ material from patients. There are two types of severe asthma, depending on the presence or absence of eosinophils. The pathophysiology of severe asthma of early onset with eosinophilia is similar to that of less severe asthma, with infiltration of Th2 lymphocytes; such cases are more likely to have exacerbations. When the onset occurs later, asthma is much more like the hypereosinophilic syndromes. Severe asthma without eosinophilia is more often accompanied by neutrophil infiltration; this type of asthma responds poorly to corticoids. Induced sputum can be used for non-invasive longitudinal follow-up of bronchial inflammation in severe asthma, allowing evaluation of cellular activation during and between exacerbations. The ISEA study (Induced Sputum in Exacerbations of Asthma) revealed that simultaneous activation of Th1 and Th2 lymphocytes and a greater deficiency of T regulatory lymphocytes occur during the course of exacerbations. This type of approach is indispensable for the identification of relevant therapeutic targets, and ultimately for the identification of early markers that are predictive of exacerbations.

© 2006 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Asthme sévère ; Lymphocyte T ; Expectoration induite

Keywords: Severe asthma; Induced sputum; T lymphocytes

^{*} Auteur correspondant. Service de pneumoallergologie, hôpital Sainte-Marguerite, 270, boulevard de Sainte-Marguerite, 13009 Marseille, France.
Adresse e-mail : antoine.magnan@mail.ap-hm.fr (A. Magnan).

1. Introduction

Au cours des dernières décennies ont été accomplis des progrès énormes concernant la prise en charge de l'asthme, mais aussi la compréhension de ses mécanismes. C'est ainsi qu'en réalisant des prélèvements bronchiques chez des sujets asthmatiques et en les comparant à des sujets contrôles, on a pu établir que les lymphocytes T activés étaient essentiels à la survenue de l'asthme, et notamment les lymphocytes Th2, sécréteurs d'IL-4 et d'IL-13, responsables de la synthèse des IgE par les plasmocytes, et d'IL-5, responsable de l'activation des éosinophiles [1].

L'essentiel de ces études a été réalisé chez des asthmatiques peu sévères. En effet, la réalisation de fibroscopies, de biopsies bronchiques et de lavages bronchoalvéolaires ne peut s'adresser qu'à des patients capables de supporter ces examens et donc dans la plupart des cas à des malades légers à modérés ou du moins parfaitement contrôlés. Pourtant, si des progrès sont nécessaires pour comprendre en détails la physiopathologie immunologique de l'asthme, c'est dans le but d'identifier des cibles thérapeutiques éventuelles. Or, c'est bien dans l'asthme sévère que l'identification de telles cibles est nécessaire.

La classification du GINA définit l'asthme sévère comme un asthme dont les symptômes sont quotidiens, avec des réveils nocturnes fréquents, et/ou une fonction respiratoire altérée avec un VEMS inférieur à 60 % de la valeur théorique [2]. Cependant, la prise en compte de la charge thérapeutique dans la classification implique que le groupe des asthmatiques sé-

vères présente une hétérogénéité importante (Fig. 1). En effet, on y retrouve les patients qui remplissent les critères sans traitements mais qui seront efficacement contrôlés par des traitements inhalés, et des patients qui restent handicapés au quotidien malgré une corticothérapie par voie générale. Les patients qui nécessitent des efforts de recherche fondamentale sont bien entendus ces derniers. En effet, ces asthmatiques ont souvent, parfois en permanence, recours aux corticoïdes par voie générale. Ceux-ci, même lorsqu'ils sont efficaces, sont pourvoyeurs d'effets secondaires importants et invalidants, justifiant en eux-mêmes la recherche de nouveaux traitements. Ce groupe d'asthmatiques sévères est mal défini dans la littérature. Il recouvre plus ou moins les « Severe refractory asthma » (SRA) des anglo-saxons, que l'on peut traduire par asthmes sévères réfractaires. En effet, cette entité à son tour est assez hétérogène, incluant les fréquents « exacerbateurs », les patients porteurs d'une altération importante et irréversible de leur fonction respiratoire, et les asthmes « corticorésistants » [3].

2. Immunopathologie de l'asthme sévère

Peu d'études se sont intéressées à la physiopathologie de l'asthme sévère proprement dit, en raison d'une plus grande difficulté d'accès aux tissus [4]. Si certaines publications ont pu montrer une relation entre l'activation Th2 in situ et la sévérité [5], c'est essentiellement la nature de l'infiltrat inflammatoire bronchique qui a pu être étudiée, avec la distinction de deux types d'inflammation différents selon la prédominance

	Charge thérapeutique actuelle			
	Stade 1 Pas de traitement continu	Stade 2 < 500 DPB	Stade 3 200 - 1000 DPB + β_2 -LDA	Stade 4 > 1000 DPB + β_2 -LDA + autre
Caractéristiques cliniques	Palier de sévérité			
Stade 1	Intermittent	Persistant léger	Persistant modéré	Persistant sévère
Symptômes < 1 fois par semaine				
Symptômes nocturnes $\leq$ 2 fois par mois				
Fonction pulmonaire normale entre les épisodes				
Stade 2	Persistant léger	Persistant modéré	Persistant sévère	Persistant sévère
Symptômes > 1 fois par semaine				
Symptômes nocturnes < 1 fois par semaine				
Fonction pulmonaire normale entre les épisodes				
Stade 3	Persistant modéré	Persistant sévère	Persistant sévère	Persistant sévère
Symptômes quotidiens				
Symptômes nocturnes $\geq$ 1 fois par semaine				
VEMS 60-80% théorique				
Stade 4	Persistant sévère	Persistant sévère	Persistant sévère	Persistant sévère
Symptômes quotidiens				
Symptômes nocturnes fréquents				
VEMS < 60% théorique				

Fig. 1. Classification de l'asthme selon la référence [2]. L'asthme sévère recouvre des groupes hétérogènes de patients.

d'éosinophiles ou de neutrophiles [6]. Cette distinction est propre à l'asthme sévère et a été mise en évidence par l'étude de prélèvements obtenus de façon invasive (LBA et biopsies bronchiques) ou par expectoration induite [7].

Les asthmes sévères à éosinophiles représentent environ les deux tiers. Ce sont ceux où l'on retrouve une activation Th2, la présence de mastocytes producteurs de tryptase, et une production importante de TGF- β [8]. Ces asthmes seraient associés à un mauvais contrôle, à un VEMS plus bas et à une probabilité plus élevée d'exacerbation que les asthmes sans éosinophiles. Ils seraient associés plus souvent à un début de l'asthme plus tardif. Les asthmes à début précoce avec éosinophiles sont associés à un infiltrat Th2 et à la présence de mastocytes, tandis que les asthmes avec éosinophiles mais à début tardif ne sont pas associés à d'autres cellules inflammatoires [9]. De façon importante, ces asthmes à éosinophiles se distinguent par le fait qu'ils peuvent être identifiés via la mesure du NO exhalé [10], et sont corticostéroïdes sensibles à forte dose [11].

Les asthmes sévères sans éosinophiles sont des asthmes associés à une infiltration importante par les neutrophiles [6]. Ces asthmes semblent être les plus sévères, et sont traités par de fortes doses de corticostéroïdes. Ceux-ci pourraient être la cause de l'absence d'éosinophiles. Inversement les asthmes neutrophiliques répondent peu aux corticostéroïdes. Ces asthmes sont toutefois associés à un épaississement moins important de la membrane basale mais à une augmentation de MMP-9, une métalloprotéase impliquée dans le remodelage [11].

Enfin, des asthmes sévères dépourvus d'inflammation ont été rapportés [5]. L'inflammation de ces asthmes pourrait être trop distale pour être accessible. Ces patients pourraient relever d'une pathologie proche de la bronchiolite oblitérante, distincte de l'asthme.

Pour Sally Wenzel [12], on peut distinguer quatre types pathologiques d'asthme sévères :

- les asthmes à début précoce avec éosinophilie qui sont des asthmes « Th2 » classiques répondant mal aux corticostéroïdes ;
- les asthmes avec éosinophilie mais à début tardif, qui pourraient inclure des syndromes hyperéosinophiliques ;
- les asthmes sans éosinophile et de début précoce qui pourraient représenter des asthmes pour lesquels l'inflammation mais pas la maladie répondent aux corticostéroïdes ;
- des asthmes sans éosinophiles à début tardif qui pourraient représenter une maladie différente, mal connue.

3. Activation des lymphocytes T dans l'asthme sévère

Peu d'études se sont spécifiquement intéressées à l'activation des lymphocytes T dans l'asthme sévère. Dans les études de biopsies, on retrouve un infiltrat lymphocytaire comparable à celui retrouvé dans les asthmes moins sévères [5]. En revanche, la production de cytokines a peu été étudiée. Humbert et al. ont montré une élévation plus importante de l'expression de l'IL-5 chez les asthmatiques sévères par rapport aux patients moins sévères, classés en fonction du score de Aas, mais cette différence n'était pas retrouvée pour l'IL-4.

Dans l'asthme léger à modéré, au-delà du classique paradigme Th2, il a clairement été montré maintenant l'existence

d'une activation Th1 associée [13,14]. Celle-ci est au moins en partie due à l'activation d'une population de lymphocytes T CD8+, corrélée dans le sang à la sévérité de l'asthme.

Récemment, l'importance des lymphocytes T régulateurs (Treg) a été mise en évidence dans les maladies allergiques de l'atopie [15]. Ces lymphocytes recouvrent de petites populations productrices de cytokines immunosuppressives telles que l'IL-10 et le TGF- β . Elles sont responsables de l'induction de tolérance et leur activation est déficiente chez le sujet allergique. Au cours de l'immunothérapie spécifique, ces Treg recouvrent leur activité normale. Aucune donnée spécifique à l'asthme n'est actuellement publiée. A fortiori l'importance de ces cellules est inconnue dans l'asthme sévère. Pourtant, si un déficit d'activation des Treg existe chez l'allergique par rapport au volontaire sain, il est probable que ce déficit soit plus important encore chez l'asthmatique.

Par ailleurs, il faut souligner que la grande majorité des études portant sur l'activation lymphocytaire T dans l'asthme comparent des malades à des volontaires sains, sans tenir compte des fluctuations de cette maladie chronique, entre périodes de contrôle et exacerbations. Pourtant, il est probable que lors des exacerbations, l'activation des lymphocytes T soit différente de celle observée lors des périodes de contrôle. De plus, il est probable que le déficit de lymphocytes Treg, s'il est augmenté dans l'asthme, soit maximal lors des exacerbations. Cette hypothèse ne peut être testée qu'à condition de réaliser une étude longitudinale de l'activation des lymphocytes T.

Les prélèvements invasifs sont les mieux validés pour l'étude des lymphocytes T dans l'asthme. Cependant, ces prélèvements ne peuvent pas être réalisés de façon répétée chez un même sujet, et donc ne peuvent pas être mis à profit pour comparer les exacerbations aux périodes de contrôle. Dans l'expectoration induite, les lymphocytes T sont rares, mais grâce à la cytométrie en flux, cette population peut être étudiée de façon précise, y compris au niveau de sa production de cytokines [16] (Fig. 2). Ces avantages de l'expectoration induite ont été mis à profit dans l'étude ISEA.

4. Étude ISEA

L'étude ISEA (Induced Sputum in Exacerbations of Asthma) a été construite dans le but [1] d'évaluer l'intérêt d'un suivi des asthmatiques sévères par expectoration induite et [2] d'étudier de façon longitudinale l'activation lymphocytaire T chez les asthmatiques sévères, dans le sang et l'expectoration induite. La première question n'est pas résolue pour le moment, l'étude étant encore en cours pour cette partie clinique. En revanche, des données préliminaires concernant l'activation des lymphocytes T lors des exacerbations sont maintenant disponibles.

Seize exacerbations ont été étudiées chez 16 patients porteurs d'un asthme sévère. L'asthme sévère est défini dans cette étude par la présence de symptômes quotidiens malgré la prise d'un traitement continu par corticostéroïdes inhalés à forte dose et β_2 -agonistes de longue durée d'action. De plus, les patients avaient tous présenté au moins deux exacerbations l'année précédente, ayant nécessité une cure de corticostéroïdes par voie générale.

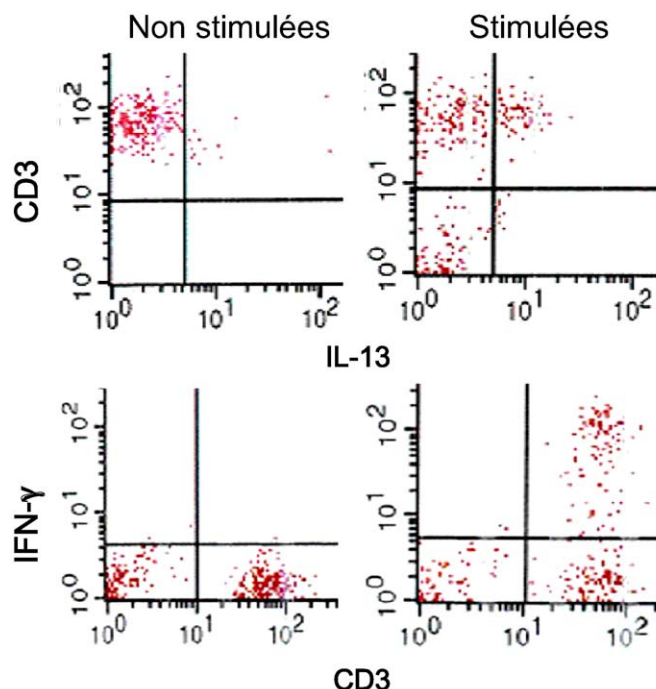


Fig. 2. Production de cytokines mise en évidence au niveau unicellulaire dans l'expectoration induite par cytométrie de flux.

rale. Les patients étaient suivis chaque mois avec une prise de sang et une expectoration induite. Les résultats obtenus dans le sang étaient comparés à ceux de 14 volontaires sains.

Par rapport aux volontaires sains, les lymphocytes T des asthmatiques sévères en dehors d'une exacerbation produisent plus d'IL-13, d'IL-4 et d'IL-5, et moins d'IFN- γ , en accord avec le paradigme Th2. De plus, il existe chez ces patients un déficit net de lymphocytes CD4+CD25+ régulateurs. Au cours des exacerbations, on observe dans le sang et dans l'expectoration induite une augmentation de la production de cytokines Th1 et Th2, dès avant l'exacerbation, maximale lors de l'exacerbation et réversible sous corticoïdes. Concernant les lymphocytes T régulateurs ils diminuent de façon significative pendant les exacerbations, qu'il s'agisse de la population CD4+CD25+ ou de la population de lymphocytes T producteurs d'IL-10.

5. Conclusion

L'asthme sévère est celui pour lequel des efforts de prise en charge sont les plus nécessaires, qu'il s'agisse des structures d'éducation et de suivi, ou qu'il s'agisse de la mise au point de nouveaux traitements. Ces derniers ne pourront voir le jour que si la physiopathologie de la maladie est parfaitement connue. En particulier les traitements ciblés sur des molécules immunologiques ne seront efficaces que si ce ciblage ne laisse pas la place à des molécules redondantes, tout aussi délétères.

De plus, l'amélioration de l'asthme sévère passe par un traitement efficace des exacerbations, éventuellement préventif. C'est dire l'importance des études proposant un suivi longitudinal de l'inflammation dans l'asthme sévère, pour faire la part précise de ce qui revient ou non au déclenchement des exacerbations et éventuellement définir des facteurs prédictifs de ces épisodes.

Références

- [1] Humbert M, Menz G, Ying S, Corrigan CJ, Robinson DS, Durham SR, et al. The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences. *Immunol Today* 1999;20: 528–33.
- [2] Global Strategy for asthma management and prevention. NIH publication No 02-3659 issued January 1995 (updated 2002). www.ginasthma.org.
- [3] Miller MK, Johnson C, Miller DP, Deniz Y, Bleecker ER, Wenzel SE, et al. TENOR Study Group. Severity assessment in asthma: an evolving concept. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:990–5.
- [4] Wenzel S. Mechanisms of severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2003;33: 1622–8.
- [5] Humbert M, Corrigan CJ, Kimmitt P, Till SJ, Kay AB, Durham SR. Relationship between IL-4 and IL-5 mRNA expression and disease severity in atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:704–8.
- [6] Wenzel SE, Schwartz LB, Langmack EL, Halliday JL, Trudeau JB, Gibbs RL, et al. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1001–8.
- [7] Green RH, Brightling CE, Woltmann G, Parker D, Wardlaw AJ, Pavord ID. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax* 2002;57:875–9.
- [8] Balzar S, Chu HW, Silkoff P, Cundall M, Trudeau JB, Strand M, et al. Increased TGF- β 2 in severe asthma with eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:110–7.
- [9] Miranda C, Busacker A, Balzar S, Trudeau J, Wenzel SE. Distinguishing severe asthma phenotypes: role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:101–8.
- [10] Silkoff PE, Lent AM, Busacker AA, Katial RK, Balzar S, Strand M, et al. Exhaled nitric oxide identifies the persistent eosinophilic phenotype in severe refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1249–55.
- [11] Ten Brinke A, Zwinderman AH, Sterk PJ, Rabe KF, Bel EH. Refractory" eosinophilic airway inflammation in severe asthma: effect of parenteral corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:601–5.
- [12] Wenzel S. Severe asthma in adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:149–60.
- [13] Wenzel SE, Balzar S, Cundall M, Chu HW. Subepithelial basement membrane immunoreactivity for matrix metalloproteinase 9: association with asthma severity, neutrophilic inflammation, and wound repair. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1345–52.
- [14] Magnan AO, Mely LG, Camilla CA, Badier MM, Montero-Julian FA, Guillot CM, et al. Assessment of the Th1/Th2 paradigm in whole blood in atopy and asthma. Increased IFN- γ -producing CD8(+) T cells in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1790–6.
- [15] Boniface S, Koscher V, Mamessier E, El Biaze M, Dupuy P, Lorec AM, et al. Assessment of T lymphocyte cytokine production in induced sputum from asthmatics: a flow cytometry study. *Clin Exp Allergy* 2003;33: 1238–43.
- [16] Magnan A, Humbert M. Is deficient tolerance the true paradigm for atopic diseases? *Clin Exp Allergy* 2005;35:1507–10.