



Le rôle clé de l'épithélium dans les affections inflammatoires chroniques des voies respiratoires supérieures

Valérie Hox^{1,2}, Sophie Gohy^{1,3}, Cloé Hupin¹, Maha Zohra Ladjemi⁴, Charles Pilette^{1,3}

1. Pneumologie, oto-rhino-laryngologie et dermatologie, UCLouvain, Bruxelles

2. Oto-rhino-laryngologie, Clin. univ. St-Luc, UCLouvain, Bruxelles

3. Pneumologie, Clin. univ. St-Luc, UCLouvain, Bruxelles

4. Institut Cochin, INSERM U1016, CNRS UMR8104, Paris; 6 Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris

L'épithélium respiratoire des voies aériennes supérieures fonctionne comme une défense de première ligne contre les agents pathogènes, allergènes et irritants inhalés. Il forme une barrière physique grâce aux molécules de liaison apicales et au mécanisme de clairance mucociliaire afin d'éviter une activation excessive du système immunitaire en réponse à ces agents inhalés. L'épithélium forme également une barrière chimique et immunologique, bien équipée pour protéger les voies respiratoires contre les agresseurs extérieurs, avant que le système immunitaire adaptatif ne doive intervenir. Dans des conditions normales, cet épithélium est capable de se rétablir rapidement et efficacement en cas de lésions, mais en présence d'une pathologie chronique des voies respiratoires supérieures, ce mécanisme peut être perturbé, ce qui implique de multiples répercussions. Cet article traite des principales caractéristiques de l'épithélium des voies respiratoires supérieures et des anomalies possibles qui ont été décrites dans le cadre de maladies inflammatoires chroniques. L'étude des fonctions épithéliales et de leur éventuel dérèglement chez les patients souffrant de problèmes chroniques des voies respiratoires supérieures peut nous aider à développer de nouveaux traitements ciblés pour les fonctions épithéliales.

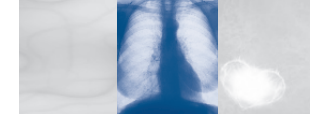
Introduction

Les affections chroniques des voies respiratoires supérieures (ACVRS) sont une cause fréquente de troubles respiratoires et ont un impact considérable sur la qualité de vie. La rhinite allergique (RA) et la rhinosinusite chronique (RSC) avec (RSCaPN) et sans polypes nasaux (RSCsPN) sont les formes de présentation les plus courantes, avec une prévalence dans le monde occidental d'environ 25 et 10% respectivement (1, 2).



Valérie Hox

La RA est provoquée chez des personnes atopiques par une inflammation médiée par les IgE en réponse à un allergène inhalé. Les patients se présentent à la consultation avec une obstruction nasale, un écoulement nasal, des éternuements et des démangeaisons (1). La muqueuse est caractérisée par une infiltration d'éosinophiles, de mastocytes et à la fois de lymphocytes T auxiliaires (*Th pour T-helper*) et de lymphocytes innés (ILC pour *innate lymphoid cell*)



PNEUMOLOGIE

Figure 1:

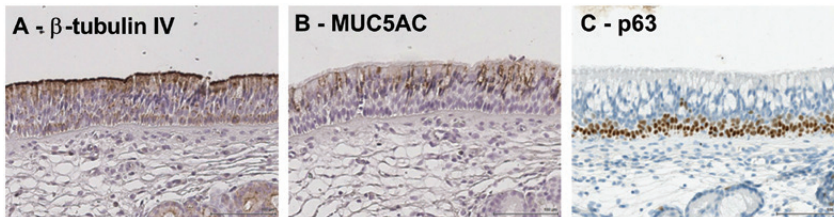
Type de cellules de l'épithélium nasosinusien respiratoire humain normal.

(A) Immunocoloration représentative de la bêta-tubuline IV montrant les cils vibratiles des cellules ciliées.

(B) Immunocoloration représentative de MUC5AC pour les cellules caliciformes.

(C) Immunocoloration représentative de p63 pour les cellules basales.

Échelle: ligne 100µm.



Il a été démontré ex vivo que des patients atteints de RA et de RSCaPN présentaient une barrière épithéliale déficiente (6). Dans les cultures de cellules épithéliales nasales (CEN), on a observé une diminution de l'expression des protéines de jonctions serrées avec une perméabilité épithéliale accrue après exposition à l'allergène des acariens (7). Il se peut que cette perméabilité épithéliale accrue dans les voies respiratoires supérieures contribue à une stimulation continue du système immunitaire, entraînant en aval les réponses inflammatoires connues.

Régénération épithéliale

Après une atteinte de l'épithélium sain, les cellules basales prolifèrent par métaplasie squameuse, puis se différencient en cellules ciliées et en cellules caliciformes pour former un épithélium fonctionnel. L'épithélium subit ainsi une transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) dans laquelle les cellules épithéliales acquièrent un phénotype mésenchymateux. Dans les cas de RSC et de RA, ce processus semble perturbé et on constate une métaplasie squameuse et une TEM persistantes de l'épithélium nasosinusien (8), ainsi qu'un ralentissement de la cicatrisation dans les cultures de CEN de patients atteints de RSC (9). Cela laisse penser que l'épithélium nasosinusien malade n'est pas en mesure de parvenir à une différenciation terminale adéquate.

Des études sur la spécification des lignées cellulaires en cas d'ACVRS ont donné des résultats contradictoires. Des études récentes ont montré que ce sont essentiellement les ACVRS étroitement liées à une inflammation T2 qui présentent une hyperplasie des cellules caliciformes (10). Une hyperplasie des cellules basales a également été décrite dans des biopsies

de type 2. Bref, on constate une inflammation de type 2 (T2). En cas de propagation de l'inflammation aux sinus paranasaux, les patients atteints de RSC présentent également des troubles de l'odorat et/ou des céphalées. Sur le plan clinique, la RSCaPN et la RSCsPN sont très similaires, mais il existe des différences physiopathologiques: la plupart des patients atteints de RSCaPN présentent une polarisation T2, alors que la RSCsPN est plutôt une maladie non-T2 (3) (Tableau 1). Reste à savoir si ces phénotypes reflètent des maladies différentes. Dans les directives les plus récentes, une RSC bilatérale est classée en fonction du sous-type inflammatoire plutôt que de la présence d'une polypose (2).

L'épithélium nasosinusien normal est un épithélium muqueux pseudostratifié et cilié, composé de trois grands types de cellules (Figure 1). Les cellules ciliées représentent 50 à 90% des cellules épithéliales des voies respiratoires (CEVR). Les cellules caliciformes sécrétrices de mucus (5 à 30%) et les cellules basales (6 à 30%) constituent les cellules souches de toutes les CEVR (4).

L'épithélium nasal forme une barrière physique, mais joue également un rôle

actif dans la défense contre les agresseurs inhalés, en produisant diverses protéines de défense. Il est suggéré que les maladies inflammatoires des voies respiratoires peuvent être le résultat d'une altération de la fonction épithéliale. Actuellement, les biothérapies connaissent un succès croissant et le nombre de cibles thérapeutiques, y compris les facteurs épithéliaux, augmente rapidement. Dans cet article de synthèse, nous insistons sur les différentes fonctions de l'épithélium des voies respiratoires dans le cadre de l'apparition et de la persistance des ACVRS, et nous les intégrons dans le contexte des nouvelles biothérapies.

Dérèglement épithélial dans l'épithélium malade

Barrière physique

Éléments de liaison apicaux

L'intégrité de l'épithélium est maintenue par les jonctions serrées (*tight junctions*), les jonctions adhérentes (*adherent junctions*), les (hémi)desmosomes et les jonctions communicantes (*gap junctions*). Les bactéries, les virus et les allergènes peuvent perturber cette barrière épithéliale (5).

de patients atteints de RSCaPN (11). L'une de ces études a démontré directement que les cellules basales des patients atteints de RSCaPN présentent une régulation positive des gènes associés à une inflammation T2 et suivent une voie de différenciation anormale (11). Ces résultats reflètent une mémoire T2 intrinsèque des cellules basales après exposition in vivo à l'inflammation T2. Ces cellules pourraient ainsi contribuer au maintien de l'ACVRS.

Barrière chimique/immunologique: sécrétion de mucus et production de molécules de défense

La couche de mucus contient plusieurs protéines qui jouent un rôle dans l'inflammation, la chimiotaxie, la défense antimicrobienne et la guérison.

Les **mucines** déterminent la viscosité de la couche de mucus. L'importance de cette viscosité s'illustre par le fait que les patients

une expression de PLUNC plus faible qu'en cas de polypes nasaux non éosinophiles et que l'expression génique était inhibée de manière sélective par l'IL-4 et l'IL-13 (12).

Les protéines S-100 sont une famille de protéines ayant une action antimicrobienne et pro-inflammatoire. Dans la RA, les taux de S100A7 dans les sécrétions nasales sont réduits, tandis qu'en cas de RSC avec et sans PN, tant les taux de S100A7 que de S100A8/S100A9 sont diminués (12).

Tableau 1:
Profil des cellules immunitaires identifiées dans les différentes affections des voies respiratoires supérieures.

	RA	RSCsPN	RSCaPN
Cellules effectrices	Éosinophiles Basophiles Lymphocytes	Neutrophiles Lymphocytes Macrophages	Éosinophiles Lymphocytes Mastocytes
Lymphocytes	Th2	Th1 - Th17 - Th22	Th2 + ILC2

RA: rhinite allergique; RSCsPN: rhinosinusite chronique sans polypes nasaux; RSCaPN: rhinosinusite chronique avec polypes nasaux; Th: lymphocytes T auxiliaires (T-helper); ILC: cellules lymphoïdes innées (innate lymphoid cells).

Clairance mucociliaire

La clairance mucociliaire est le résultat d'une collaboration entre les glandes sous-muqueuses, les cellules caliciformes et les cellules ciliées qui sont responsables du mouvement coordonné du film liquide vers le pharynx. Les patients atteints de dyskinésie ciliaire primaire qui présentent un défaut dans leur ciliogenèse souffrent généralement d'une RSC sévère, ce qui souligne l'importance d'assurer une clairance mucociliaire fonctionnelle dans la prévention des ACVRS. Il a été décrit que la fonction mucociliaire est altérée dans les RSCsPN et les RSCaPN, et que les CEN cultivées à partir de cellules basales de polypes nasaux présentent une architecture ciliaire anormale avec une fréquence d'ondulation réduite (12).

atteints de mucoviscidose, chez qui un canal CFTR défectueux entraîne une augmentation de la viscosité de la couche de mucus, présentent souvent une RSCaPN sévère et réfractaire.

Les lysozymes et les lactoferrines sont les **protéines antimicrobiennes** les plus courantes dans la lumière des voies respiratoires. Il a été suggéré qu'une production altérée était responsable de l'augmentation de la colonisation par le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) observée en cas de RSC, mais une étude par biopsie a précisément révélé une augmentation de la production chez les patients atteints de RSC (13). Un deuxième groupe de protéines antimicrobiennes produites par l'épithélium est constitué des protéines PLUNC (*palate, lung and nasal epithelium clone*). Il a été démontré que la RSCaPN éosinophile présentait

L'inhibiteur de la protéase des leucocytes sécréteurs (SLPI pour *Secretory Leukocyte Protease Inhibitor*) et l'élafine inhibent l'activité indésirable des protéases extracellulaires pendant l'inflammation, mais d'autres fonctions telles que les activités antimicrobiennes et immunorégulatrices ont également été décrites. Les patients atteints de RA présentent, dans les sécrétions nasales, une concentration de SLPI inférieure à celle des témoins en bonne santé (14), tandis qu'on a observé une augmentation du taux de SLPI après une provocation allergénique. En revanche, il semble y avoir une régulation positive de SLPI chez les patients atteints de RSC avec des biofilms bactériens (13).

Les **eicosanoïdes**, dont les leucotriènes (LT), les prostaglandines (PG) et les lipoxines,



PNEUMOLOGIE

sont produits par les CEVR. Les patients dont le métabolisme de l'acide arachidonique est perturbé souffrent d'affections respiratoires exacerbées par les AINS (AREA) et présentent un taux supérieur de LT pro-inflammatoire ainsi que des niveaux réduits de PGE2 anti-inflammatoire (15). L'association entre AREA et RSCaPN réfractaire est bien connue.

Les cytokines T1 et T2, ainsi que les cytokines régulatrices (IL-10 et le facteur de croissance transformant bêta, TGF- β), sont également produites par les CEVR. La RA et la RSCaPN présentent généralement une polarisation T2 avec expression d'IL-4 et d'IL-5, tandis que la RSCsPN est souvent plus orientée T1, avec des niveaux élevés de TNF- α , IFN- γ et IL-6 (3). Dans des cultures de CEN primaires, il a été démontré que le surnageant de cellules Th1 et Th2 activées réduisait la fonction de barrière de l'épithélium, laquelle pouvait être restaurée par des anti-TNF- α et anti-IL-4R- α , respectivement (7).

L'IL-18 et l'IL-1- β sont des cytokines pro-inflammatoires produites au niveau de l'épithélium qui font l'objet d'une régulation positive chez les patients atteints de RA saisonnière. Dans le cas de la RA chronique, cependant, il s'est avéré que seule l'IL-18 est accrue, ce qui suggère un rôle clé potentiel dans le maintien de l'inflammation chronique (16). Le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF) est un facteur de croissance pour les macrophages et les granulocytes, y compris les éosinophiles. Il agit également comme une cytokine produite par les CEVR. Dans la rhinite éosinophile, les taux de GM-CSF dans le nez se sont avérés élevés par rapport à ceux des témoins (17).

Impliqué dans la régulation immunitaire, la fibrose tissulaire et la différenciation

de l'épithélium, le TGF- β semble également être lié à la présence de polypes nasaux; les personnes en bonne santé présentaient des valeurs de TGF- β inférieures à celles des patients atteints de RSCaPN, mais supérieures à celles des sujets souffrant de RSCsPN (12).

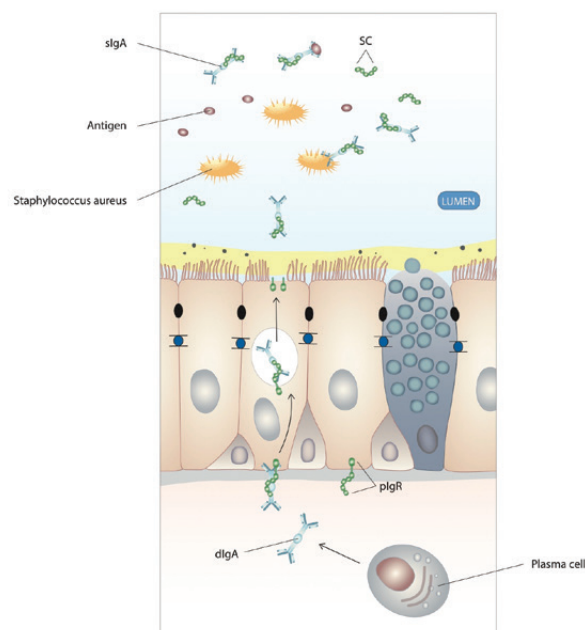
La lymphopoïétine stromale thymique (TSLP), l'IL-25 et l'IL-33 sont des alarmines sécrétées par les CEVR et induisent une réponse T2 avec un recrutement des éosinophiles. Parmi ces molécules, la TSLP est celle qui connaît la plus forte hausse en cas de RA et de RSCaPN (12, 18). Elle jouerait un rôle primordial dans la phase de sensibilisation de la RA. Libérée par les cellules nécrotiques lors de lésions tissulaires causées par des allergènes, des virus

et la pollution, l'IL-33 est présente en plus grande quantité en cas de RSCaPN et est corrélée avec les taux d'éosinophiles (12). Une étude coréenne a également établi une corrélation avec le nombre de neutrophiles et les marqueurs Th1 et Th17 chez des patients asiatiques atteints de RSCaPN (19). Le taux d'IL-25 est aussi accru dans la RA et la RSCaPN. Il a déjà été impliqué comme biomarqueur pour prédire la réponse aux stéroïdes dans la RSCaPN (20).

Enfin, les CEVR excrètent également des chimiokines qui attirent les cellules effectrices. Ces chimiokines suivent globalement le schéma des cytokines. La CXCL8, qui attire les neutrophiles, est principalement produite en cas de RSCsPN, tandis que les

Figure 2:

Transport des IgA dans l'épithélium nasal normal. De l'IgA est sécrétée par les plasmocytes locaux et se lie au récepteur des immunoglobulines polymériques (plgR) exprimé sur le pôle basolatéral des cellules épithéliales. Le complexe IgA dimérique/plgR est transcytosé à travers la cellule épithéliale jusqu'au pôle apical. Ici, un clivage protéolytique libère des dimères d'IgA qui sont liés à la plus grande partie du domaine extracellulaire du plgR, appelée composant sécrétoire (CS), pour former des sIgA.



éotaxines, qui attirent les éosinophiles, sont plus nombreuses en cas de RA et de RSCaPN (3).

Immunité innée de l'épithélium nasosinusien

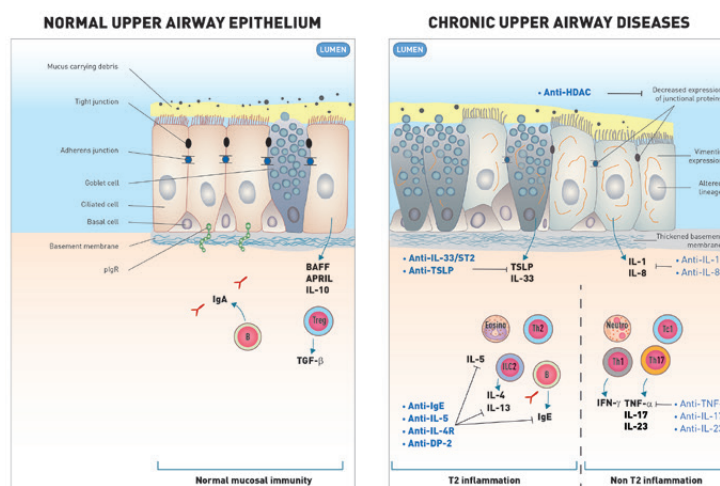
Récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires

Les récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR pour *pattern-recognition receptors*) sont des capteurs épithéliaux qui peuvent identifier deux classes de molécules: les motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP pour *pathogene associated molecular pattern*) et les motifs moléculaires associés aux dégâts cellulaires (DAMP pour *damage associated molecular pattern*). Les agents pathogènes inhalés qui échappent à la clairance de la muqueuse sont reconnus via leurs PAMP par des PRR tels que les récepteurs de type Toll (TLR pour *Toll-like receptor*), qui déclenchent une induction de la transcription des protéines antimicrobiennes et pro-inflammatoires. Les niveaux d'expression de base des TLR sont similaires entre les sujets atopiques et les témoins en dehors de la saison pollinique, mais la provocation pollinique chez les patients atteints de RA a bel et bien montré une augmentation des taux de protéines TLR 2, 3 et 4 (21), ainsi qu'une diminution des TLR 1 et 6 (22). Les études qui ont examiné l'expression des TLR dans la RSC (6) ont livré des résultats contradictoires, de sorte que, pour l'instant, aucune conclusion ne peut être tirée.

En plus des TLR, d'autres PRR sont activés par des DAMP non infectieux, comme les protéines S100, l'acide urique et l'ADN/ARN extranucléaire. La stimulation DAMP en cas de RSCaPN a conduit à une surexpression de l'IL-33, tandis qu'une régulation négative de l'expression de TLR 9 a été détectée in vitro,

Figure 3:

Épithélium nasal sain comparé à un épithélium en cas d'inflammation chronique des voies respiratoires supérieures. Ce schéma montre à la fois les acteurs potentiels susceptibles d'être responsables du dysfonctionnement et du remodelage de l'épithélium dans les affections chroniques des voies respiratoires et les nouvelles thérapies associées.



M/DC: macrophage et cellule dendritique; B: lymphocyte B; Neutro: neutrophile; Eosino: éosinophile; Tc1: lymphocyte T cytotoxique de type 1; Treg: lymphocyte T régulateur; Th1/2/17: lymphocytes T auxiliaires de type 1/2/17; IL2: cellule lymphoïde innée de type 2; IL: interleukine; pIgR: récepteur des immunoglobulines polymériques; Ig: immunoglobuline; TSLP: lymphopoïétine stromale thymique; TGF-β: facteur de croissance transformant bêta; TNF-α: facteur de nécrose tumorale alpha; APRIL: ligand induisant la prolifération; BAFF: facteur d'activation des lymphocytes B; HDAC: histone désacétylase; DP-2: prostanoïde D 2; INF-γ: interféron-γ; R: récepteur

ce qui pourrait contribuer à une sensibilité accrue à l'infection (23).

Transport transépithélial d'immunoglobuline

L'immunoglobuline A (IgA) est l'Ig la plus courante dans les sécrétions muqueuses et joue un rôle important dans la défense des voies respiratoires. Il est apparu que les facteurs épithéliaux qui activent la commutation de classe de l'IgA dans les lymphocytes B, tels que le facteur d'activation des lymphocytes B (BAFF pour *B-cell activating factor*) sont présents en plus grande quantité après une provocation allergénique chez les patients souffrant de RA ou d'asthme (24), ainsi que chez les sujets atteints de RSCaPN. Le récepteur des immunoglobulines polymériques (pIgR pour *polymeric immuno-*

globulin receptor) est exprimé par les CEVR. Après s'être lié aux IgA, le complexe IgA/pIgR est transcitotisé au travers des cellules épithéliales jusqu'au pôle apical où sont libérés des dimères d'IgA qui sont liés au composant sécrétoire du pIgR afin de former des IgA sécrétoires (sIgA) (Figure 2). Les sIgA capturent les antigènes inhalés sur des agents pathogènes et les empêchent ainsi d'adhérer à l'épithélium, ce qui favorise leur élimination (24). En cas de RSCaPN et de RA, l'expression du pIgR au niveau de l'épithélium est réduite (25).

Le rôle essentiel des IgE dans la RA est bien connu. Les CEVR sont probablement capables de transporter activement les IgE via le récepteur de faible affinité CD23 (FcεRII) et il a été suggéré que la transcytose épithéliale



des IgE médiée par le CD23 pourrait jouer un rôle important dans l'apparition et la persistance de l'inflammation allergique respiratoire (26).

L'épithélium comme cible thérapeutique dans les ACVRS

Effets des traitements standard sur l'épithélium des voies respiratoires supérieures

L'épithélium des voies respiratoires est une cible potentielle importante pour les thérapies d'inhalation locale telles que les corticostéroïdes intranasaux (CSIN), qui sont la pierre angulaire du traitement de la RA et de la RSC. En cas de RSCaPN, les CEVR expriment bien le récepteur des glucocorticoïdes, mais la sensibilité aux CSIN semble déficiente. Tant pour la RA que pour la RSCaPN, l'administration de CSIN tend à améliorer les fonctions épithéliales et à réduire l'inflammation éosinophile de type T2 (27). Il a été démontré *in vitro* que les CSIN peuvent restaurer l'intégrité de la barrière épithéliale dans des cultures de CEN de patients atteints de RA sensibles aux acariens (28) (Figure 3).

En cas d'ACVRS sévère, il existe des indications pour un traitement avec des stéroïdes systémiques. Deux études par biopsie ont montré que les corticostéroïdes systémiques influencent la morphologie de l'épithélium et réduisent l'hyperplasie des cellules basales.

Biothérapies anti-T2 et non-T2

Environ 20% des patients souffrant d'une ACVRS ne répondent pas à un traitement médical et/ou chirurgical adéquat, et sont candidats aux nouvelles biothérapies ciblées (2). Après les résultats prometteurs obtenus chez des patients asthmatiques, des

traitements tels que l'omalizumab (anticorps monoclonal [mAL] contre les IgE), le mepolizumab/reslizumab (mAL contre l'IL-5), le benralizumab (mAL contre l'IL-5R) et le dupilumab (anti-IL-4R α -AL), ont été testés dans des maladies éosinophiles des voies respiratoires supérieures, comme la RA et la RSCaPN (29), avec des résultats favorables dans des études de phase III (Figure 3). Concernant ces anticorps, il a été démontré *in vitro* que le dupilumab corrige le dysfonctionnement de la barrière épithéliale causé par une inflammation T2 (7) et régule les facteurs de transcription pro-inflammatoires dans les cellules basales nasales (11). Il convient toutefois d'examiner si une régulation épithéliale directe pourrait être à la base des effets thérapeutiques de ces biothérapies en cas de RSCaPN, en particulier au niveau de l'expression des alarmines épithéliales qui activent la cascade inflammatoire T2.

Les thérapies ciblées les plus récentes actuellement en cours de développement pour l'asthme sont les inhibiteurs anti-TSLP-AL, anti-IL-33/ST2-AL et de PGD2. L'inhibition de l'histone désacétylase semble également être une approche très prometteuse pour restaurer l'intégrité de la barrière épithéliale (30), mais son efficacité clinique chez les patients atteints d'une ACVRS n'a pas encore été prouvée. En revanche, les interventions visant à réduire l'inflammation médiée par T1 ou Th17, telles que les anti-TNF- α , anti-IL-17, anti-IL-23, anti-IL-1 et anti-CXCL8/IL-8-AL, n'ont pas tenu leurs promesses, car soit elles n'étaient pas efficaces sur le plan clinique, soit elles s'accompagnaient de trop d'effets secondaires (29) (Figure 3).

Dans le cadre de ces nouvelles biothérapies prometteuses mais coûteuses, des recherches approfondies ont déjà été menées sur les phénotypes et/ou endotypes

possibles des ACVRS, afin d'identifier des sujets susceptibles de répondre au traitement. Par exemple, des biomarqueurs épithéliaux tels que l'oxyde d'azote (NO) expiré, la périostine sérique ou d'autres molécules (p. ex. la DPP4, les médiateurs de mastocytes, etc.) pourraient aider à prédire la réponse aux médicaments biologiques. Pour l'instant, cependant, il n'existe aucun biomarqueur adéquat répondant à ces exigences chez les patients atteints d'ACVRS.

Les thérapies ciblées visant à restaurer l'intégrité de l'épithélium pourraient constituer une stratégie thérapeutique complémentaire pour les patients atteints de RA ou de RSC dès le début de la pathologie. Étant donné les effets plus importants des stratégies anti-IL4R- α par rapport aux stratégies anti-IL-5 en cas de RSCaPN, on peut supposer que la désactivation des facteurs en amont (au niveau épithélial) pourrait être plus prometteuse pour lutter contre cette maladie.

Conclusion

L'épithélium des voies respiratoires supérieures joue un rôle clé dans la physiopathologie des ACVRS. Cet article décrit les fonctions épithéliales aberrantes susceptibles de contribuer au développement et/ou au maintien de la RA ou de la RSC. Les travaux de recherche doivent se concentrer sur de nouvelles thérapies visant à restaurer cette homéostasie épithéliale.