

Effets de PCSK9 sur l'allergie

Victoria Lorant

▶ **To cite this version:**

Victoria Lorant. Effets de PCSK9 sur l'allergie. Biologie cellulaire. Nantes Université, 2023. Français. ⟨NNT : 2023NANU1029⟩. ⟨tel-04426253⟩

HAL Id: tel-04426253

https://theses.hal.science/tel-04426253v1

Submitted on 30 Jan 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

COLLEGE ED BIOLOGIE DOCTORAL SANTE PAYS DE LA LOIRE

Nantes Université

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605
Biologie-Santé
Spécialité : BS – Biologie Cellulaire, Biologie du Développement

Par
Victoria LORANT

Effets de PCSK9 sur l'allergie

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 24 Novembre 2023
Unité de recherche : Institut du Thorax, UMR INSERM 1087 / CNRS UMR 6291

Composition du Jury :

Président :	Gilles LAMBERT	Professeur, UMR 1188, Université de la Réunion
Rapporteurs :	Vassilia THEODOROU	Professeure, École d'ingénieurs de Purpan, INRAE Toulouse
	Gilles LAMBERT	Professeur, UMR 1188, Université de la Réunion
Examinateurs :	Joana VITTE	Maître de conférences et praticien hospitalier, Université de Reims
	Wieneke DIJK	Chargée de recherche, INRAE UR 1268 BIA-ALL, Nantes université
Dir. de thèse :	Cédric LE MAY	Directeur de recherche, INSERM UMR 1087/CNRS UMR 6291, Nantes université
Co-dir. de thèse :	Grégory BOUCHAUD	Directeur de recherche, INRAE UR 1268 BIA-ALL, Nantes université

Table des matières

REMERCIEMENTS V
LISTE DES PRESENTATIONS ET DES PUBLICATIONS XV
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX XVII
LISTE DES ABREVIATIONS XIX
RESUME FRANÇAIS XXII
ABSTRACT XXIII
PARTIE I : INTRODUCTION 1
CHAPITRE 1 : PCSK9, UN REGULATEUR DU METABOLISME DU CHOLESTEROL 1

I- LA PROPROTEINE CONVERTASE SUBTILISINE KEXINE DE TYPE 9 1
1- Découverte *1*
2- L'hypercholestérolémie familiale *4*
a. Prévalence et étiologie 4
b. Méthodes de diagnostic 4
c. Causes génétiques 6
d. Principales thérapies de l'hypercholestérolémie familiale 8
3- PCSK9 : Structure génétique et protéique *10*
4- Mode d'action de PCSK9 sur le métabolisme lipidique *12*
a. Mise en évidence du rôle de PCSK9 sur le LDLR 12
b. La PCSK9 circulante module l'expression du LDLR 13
c. PCSK9 influence l'expression du LDLR par une voie intracellulaire 13
5- Au-delà du LDLR, PCSK9 aurait d'autres cibles potentielles *14*
a. Récepteurs composés d'un domaine EGF-A 14
b. Récepteurs non composés d'un domaine EGF-A 15
i. CD36 15
ii. CD81 16
iii. BACE1, APP et APLP2 16
iv. ENaC 17
v. CMHI 18
vi. TLR 18
6- Les traitements anti-PCSK9 ..... *20*
a. Stratégies thérapeutiques séquestrant PCSK9 20
i. Les anticorps anti-PCSK9 20
ii. Les vaccins anti-PCSK9 23
iii. Les protéines et peptides synthétiques 24
b. Thérapies inhibant l'expression de PCSK9 26
i. Les oligonucléotides anti-sens 26
ii. Les siRNA 27
iii. Utilisation de la méthode CRISPR/Cas9 27

II- FONCTIONS EXTRA-HEPATIQUES DE PCSK9 29
1- Système nerveux central *29*
a. La neurogénèse 29
b. La maladie d'Alzheimer 30
c. Les troubles neurocognitifs 32
2- Paroi artérielle *33*
a. Effet de PCSK9 sur les composants de la paroi artérielle 34
i. Les cellules musculaires lisses 34
ii. Les cellules endothéliales 34
b. Effet de PCSK9 dans des pathologies de la paroi artérielle 35
i. L'athérosclérose 35
ii. L'accident vasculaire cérébral 37
3- Le cœur *39*
a. Effet de PCSK9 au cours de l'ischémie cardiaque 40

b. Effet de la délétion totale et spécifique de PCSK9 sur le muscle cardiaque 41
4- Intestin *42*
a. Effet de PCSK9 dans l'absorption des lipides 42
b. Effet de PCSK9 dans l'homéostasie des lipoprotéines riches en triglycérides 43
c. Effet de PCSK9 dans l'élimination trans-intestinale du cholestérol 44
5- Reins *45*
a. Rôle de PCSK9 sur la pression artérielle 45
b. Effet de PCSK9 dans le syndrome néphrotique 45
c. Impact de PCSK9 dans la maladie rénale chronique 46
6- Pancréas *48*
III- IMPLICATION DE PCSK9 DANS LA REGULATION DE L'IMMUNITE 50
1- Pathologies inflammatoires *50*
a. L'athérosclérose 50
i. PCSK9 modulerait l'inflammation au niveau des plaques d'athérome 50
ii. PCSK9 modulerait le profil inflammatoire des cellules immunitaires 51
b. L'hypercholestérolémie familiale 56
c. Maladies inflammatoires de la peau 56
i. Le psoriasis 56
ii. Le lupus érythémateux systémique 57
d. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin 58
e. La polyarthrite rhumatoïde 58
2- Pathologies infectieuses *60*
a. Infections bactériennes 60
b. Infections virales 60
i. Le virus de l'hépatite C 60
ii. Le VIH 61
iii. Le SARS-CoV-2 62
iv. Le virus de la Dengue 62
3- PCSK9 module l'inflammation par la voie TLR4/NF-κB *63*
4- PCSK9 est impliquée dans les pathologies cancéreuses *64*
a. Généralités sur le cancer 64
b. Implication du métabolisme du cholestérol dans le développement tumoral 64
c. Description du rôle de PCSK9 dans différentes tumeurs 65
i. Le carcinome hépatocellulaire 65
ii. La tumeur mammaire 66
iii. Le cancer pulmonaire 67
iv. Le mélanome 67
v. Le cancer colorectal 68
d. L'inhibition de PCSK9 comme stratégie anti-tumorale 68
i. Effets de l'inhibition de PCSK9 combinée à la thérapie par anticorps anti-PD1 68
ii. Effets de l'inhibition de PCSK9 combinée à la thérapie par anti-CD137 69
e. PCSK9 pourrait moduler l'activation des LT intra-tumoraux 69

CHAPITRE 2 : L'ALLERGIE EST UNE PATHOLOGIE INFLAMMATOIRE CHRONIQUE 71

I- L'ALLERGIE 71
1- L'allergie est une maladie mondiale *71*
a. Données de prévalence générales 71
b. Méthodes et outils de diagnostic 72
i. Les tests cutanés 72
ii. Les mesures sanguines 73
iii. Test d'activation du basophile 73
iv. Mesure de la fonction respiratoire 74
v. Test de provocation oral aux aliments 74
2- Mécanisme physiopathologique de l'allergie *74*
a. La sensibilisation 75
b. Le déclenchement 76
3- L'allergie est une maladie multifactorielle *77*
a. L'allergie est une maladie génétique 77
i. Les mutations génétiques 78
ii. Les mutations épigénétiques 79
b. Trois barrières influencent le développement de l'allergie 80
i. La barrière épithéliale 80

ii. Le système immunitaire associé aux barrières ... 82
c. L'environnement a une influence sur les barrières ... 86
i. L'environnement aérien ... 87
ii. L'environnement alimentaire ... 88
4- Les modèles animaux d'allergie ... 89
II- L'ALLERGIE ALIMENTAIRE ... 91
1- La prévalence de l'allergie alimentaire ... 92
a. Mesure de la prévalence selon la zone géographique ... 92
b. Mesure de la prévalence selon l'allergène alimentaire ... 93
c. Mesure de la prévalence selon la zone géographique et l'allergène ... 93
2- Les conséquences de l'allergie alimentaire ... 94
a. Les symptômes de l'allergie alimentaire ... 94
b. L'allergie alimentaire impacte la qualité de vie ... 95
3- Pathophysiologie de l'allergie alimentaire ... 96
a. La barrière intestinale ... 96
b. La tolérance orale ... 97
c. La sensibilisation ... 99
d. Le déclenchement ... 100
4- Les traitements de l'allergie alimentaire ... 100
a. L'éviction ... 101
b. La désensibilisation ... 102
i. La voie sublinguale ... 102
ii. La voie orale ... 103
iii. La voie épicutanée ... 103
c. Les modulateurs de la flore intestinale ... 104
i. Les probiotiques ... 104
ii. Les prébiotiques ... 104
iii. La transplantation de microbiote fécal ... 105

PARTIE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION ... 106

I – OBJECTIFS DE LA THESE ... 106
II- MATERIELS ET METHODES ... 108
1- Modèle animal ... 108
a. Les modèles d'étude ... 108
b. Modèle d'allergie alimentaire à la gliadine de blé ... 108
c. Modèle d'asthme allergique à l'acarien ... 109
i. Protocole d'asthme allergique chez la souris BALB/c ... 109
ii. Protocole d'asthme allergique chez la souris C57Bl6/J ... 109
d. Modèle de marche atopique ... 110
e. Inhibition de la forme circulante de PCSK9 ... 110
2- Analyses fonctionnelles des symptômes de l'allergie alimentaire ... 111
a. Évaluation du temps de transit intestinal ... 111
b. Mesure de l'œdème auriculaire ... 111
3- Analyses fonctionnelles respiratoires ... 111
a. La pléthysmographie ... 111
b. La technique des oscillations forcées ... 112
4- Cytométrie en flux ... 112
5- Modèles cellulaires ... 113
a. Les cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse (BMDC) ... 113
i. Production de cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse ... 113
ii. Mesure de l'état de maturité des BMDC ... 114
b. Les lymphocytes T ... 114
i. Isolement des lymphocytes T $CD4^+$ ... 114
ii. Analyse fonctionnelle de la prolifération ... 115
c. Évaluation de la sécrétion de la β-hexosaminidase par les RBL ... 115
III- RESULTATS ... 117
1- L'absence et l'inhibition de PCSK9 protègent de l'allergie alimentaire ... 117
a. Avant-propos ... 117
b. Résumé de notre article ... 117
c. L'inhibition de PCSK9 par l'evolocumab a des effets modestes sur l'allergie alimentaire ... 153

2- L'inhibition de PCSK9 améliore l'altération des paramètres respiratoires induits par l'asthme allergique *154*
a. Avant-propos 154
b. La déficience en PCSK9 protège les souris de la survenue de l'asthme allergique 156
c. L'evolocumab confère une protection face à l'asthme allergique 158
d. L'alirocumab améliore les fonctions respiratoires modifiées au cours de l'asthme allergique 160
3- L'inhibition de PCSK9 présente un effet antiallergique au cours de la marche atopique 162
a. Avant-propos 162
b. L'inhibition de PCSK9 améliore les fonctions aériennes profondes altérées par la marche atopique 164
IV- DISCUSSION ET PERSPECTIVES 167
V- CONCLUSION 183
ANNEXE 1 185
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 186

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein de l'Institut du Thorax dirigé par le Dr Richard Redon que je remercie pour m'avoir accueillie dans son unité.

Aux membres du jury

Je remercie le Professeur Joana Gilles Lambert d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Merci également au professeur Vassilia Theodorou et aux Docteurs Wieneke Dijk et Joana Vitte qui ont bien voulu évaluer mon travail en intégrant mon jury de thèse. Merci à vous pour le temps que vous y avez consacré.

Aux membres de mon comité de thèse

Je tiens à remercier tout particulièrement les Dr Wieneke Dijk et Luc Colas pour leurs précieux conseils et leurs échanges constructifs lors des comités de thèse. Un grand merci pour votre disponibilité et votre regard bienveillant.

A mes directeurs de thèse

Cédric, merci de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur un projet si intéressant. C'est sans conditionnel que je t'écris ces quelques mots. J'ai apprécié travailler avec toi dès mon premier jour de stage en M1. Tu m'as énormément appris et tu as toujours su te rendre disponible. Merci pour ta confiance, ton investissement et ton dévouement. J'ai un profond respect pour le chercheur et l'homme passionné que tu es. En toute confidence, je n'ai toujours pas compris dans quel sens tu voulais que je dispose les tubes de sacrifice, ni, si tu préférais un graph en format XY ou grouped.

Greg, tu as toujours été à l'écoute et su être disponible lorsque j'en avais besoin. Tu m'as également appris à me faire confiance. Un grand merci pour ta bonne humeur inégalable, tes mots réconfortants et ta patience. Au-delà du cadre professionnel, tu as essayé de m'apprendre à couper les diago. Même si je ne maitrise pas encore ce point, cela ne nous a pas empêché de ramener la coupe lors du tournoi de St Mars du Désert !

Chers directeurs de thèse, je n'aurai qu'un seul regret, ne pas avoir eu l'occasion de faire une triplette avec vous !

Aux directeurs de l'équipe IV

Je tiens également à remercier les professeurs Bertrand Cariou et David Jacobi pour m'avoir accueillie dans leur équipe. Bertrand, un grand merci pour ta bienveillance, ton investissement, tes remarques critiques et constructives qui ont permis d'approfondir ce projet. Je retiens qu'il faut toujours regarder la carte d'un restaurant avant de s'assoir, surtout à Milan.

A mes co-doctorants

Sam, je trouve toujours beaucoup de choses à te dire mais écrire ces mots n'a curieusement pas été évident. Je crois ne jamais avoir rencontré une personne avec autant de bienveillance et d'humilité ! Merci pour ton regard bienveillant surtout lorsque tu venais prendre un café. Encore félicitation pour ta soutenance qui a été brillantissime, tu as placé la barre très haute.

Thibaud, même si tu n'as jamais voulu voir ma voiture, tu as toujours répondu présent quand j'en avais besoin ! Merci pour tes précieux conseils, ton aide, ta

gentillesse et ton amitié. Tu as toutes les qualités d'un grand chercheur ! Bon courage pour cette dernière année et pour cette cure de désintoxication de tacos.
Vous l'aurez tous les deux compris, cette thèse n'aurait pas été la même sans vous ! Vous avez toujours eu le mot pour me faire rire, même quand je n'avais pas le droit à cause d'une légère fissure de la lèvre. Un grand merci pour votre bonne humeur. Merci à vous d'avoir rempli le PW avec toutes vos bêtises. Merci de m'avoir fait découvrir un mets d'exception et le fameux T effect. A ce propos, j'espère un jour pouvoir assister à votre congrès de fins gourmets et surtout pas à votre procès. Une chose est sûre, vous allez sincèrement me manquer !

A mon bras droit

Marie-Aude, que dire, plusieurs mercis ne seraient pas suffisants. Tu as été un pilier, une épaule, une maman, toujours avec les mots justes et réconfortants. Avec toi, j'ai appris à dédramatiser, d'ailleurs, un grand merci au flexi pour nous en avoir fait voir de toutes les couleurs. J'ai toujours pu compter sur toi, avec ta bonne humeur, peu importe la manip, le jour ou l'heure et surtout le nombre incalculable de souris !

A mes deux formateurs

Damien, merci de m'avoir tant appris et transmis les rênes d'un projet si passionnant. Un grand merci à Martin pour m'avoir donné les bases de l'allergologie.

Aux membres de l'équipe IV

Audrey, j'admire ta force de caractère, ton courage et ton expertise en manipulation et bien-être animal. C'était un vrai plaisir de travailler avec toi. Merci pour ton aide et ta bienveillance.

Clément, c'était un bonheur de faire ta rencontre pendant cette dernière année.

Amandine, merci pour ton écoute, ta douceur et ta gentillesse. Tu as été d'un vrai soutien pendant ces six années ! J'ai pris plaisir à travailler avec toi dès la L3, puis pouvoir continuer nos discussions scientifiques sur nos différents projets et bien plus.

Lise, tu as toujours été bienveillante et à l'écoute. Encore merci d'avoir sauvé mon déménagement !

Karim, tu as été mon encadrant pour un stage de L3, merci de m'avoir permis de rencontrer une équipe soudée et motivée.

Claire, encore félicitation pour ton poste de PU-PH et merci pour ta gentillesse.

Un grand merci à Murielle pour avoir pris en charge les génotypages.

Xavier, merci pour ton regard critique et tes commentaires pertinents sur notre projet. Merci pour avoir répondu à toutes mes questions en ta qualité de directeur de l'école doctorale, mais surtout un grand merci pour ta disponibilité et ton humour décalé.

Simon, je n'ai pas eu l'occasion de travailler avec toi mais j'ai pu te côtoyer notamment lorsqu'il y avait des petites douceurs dans notre pièce ou que tu avais besoin de thé. Merci de m'avoir toujours donné le sourire.

Antoine, grâce à toi, je vais vivre l'expérience de post-doc ! Merci pour ta disponibilité, tes conseils et ta bonne humeur.

Chloé et Mathilde, j'ai toujours pu compter sur vous et si j'en suis là aujourd'hui, c'est aussi grâce à vous. Nos petits rendez-vous gastronomes ou pauses commérages avec Valéna vont me manquer !

Mika, un grand merci pour les dosages de l'histamine et surtout ta disponibilité.

Un grand merci à Charlène pour m'avoir formée à la culture cellulaire.

Zoé et Lucie, félicitations pour votre entrée dans cette aventure du doctorat. Je suis sûre que vous réussirez avec brio !

Amélie, c'était un plaisir de travailler avec toi et je suis ravie que tu aies intégré l'équipe à la suite de ton alternance.

Un grand merci à l'ensemble de l'équipe IV pour tous ces bons moments passés à vos côtés.

Aux membres de l'Institut du Thorax

Maud, merci d'avoir accepté d'être ma marraine scientifique ! Tu as tenu ce rôle à la perfection, et tu as toujours su te rendre disponible et à l'écoute.

Un grand merci à Corinne pour m'avoir ouvert les portes du labo en 2010 pour un stage de 3e. Tu as été d'un vrai soutien au cours de ces différentes années.

Merci à Romain et Pascal de nous avoir permis de réaliser une étude sur l'asthme avec des souris provenant de votre élevage.

Valéna, j'admire la scientifique et la femme brillante, souriante et pleine de vie que tu es. Merci de m'avoir accompagnée pendant ces années et surtout pendant ma soutenance. Merci d'avoir tenu le rôle de PhD planner ! Je n'ai aucun doute sur ta réussite.

Merci à l'ensemble des membres de l'Institut du Thorax pour leur bienveillance.

Aux membres de l'équipe BIA

Je remercie chaleureusement toute l'équipe Allergie de l'INRAe pour votre bienveillance. Un mot en particulier à Barbara. Merci pour ton dynamisme, ta joie de vivre et ton aide précieuse.

Aux membres des plateformes

Un grand merci aux différentes plateformes avec qui j'ai eu la chance de travailler. Merci à la plateforme d'unité thérapeutique expérimentale, en particulier, Julien. Un grand merci à la plateforme Cytocell, notamment Nicolas, Lucile et Cécile pour avoir pris le temps de me former à cet outils complexe et pour leurs conseils. Enfin, merci à la plateforme MicroPicell.

A ma famille

Maman, dès le plus jeune âge, tu m'as dit : « il faut travailler à l'école pour avoir le choix ». J'ai appliqué ce conseil, avec plus ou moins de réussite parfois, mais je peux t'assurer que j'ai trouvé ma voie. Depuis toujours, même quand nous avons coupé les HUVEC (partiellement), tu as été la première à me soutenir. Ce travail, je te le dois. Tu m'as tellement appris et transmis de belles valeurs. A travers les difficultés, tu m'as toujours dit qu'il fallait apprendre de ces échecs, de ces erreurs et ne jamais abandonner. La thèse est un parcourt du combattant et grâce à toi, j'ai pu atteindre l'arrivée. J'ai toujours pu ressentir la fierté et l'amour que tu ressens pour Constance et moi, cela m'a donné la force d'avancer. Sache que je suis respectueuse et reconnaissante de tout ce que tu m'as transmis. J'ai un profond respect pour la femme forte, la mère aimante et généreuse que tu es. Maman, merci pour tout, je t'aime.

Constance, nous ne sommes pas nées sous le signe des gémeaux, et pourtant nous sommes bien des sœurs jumelles. Nous avons bien sûr nos points communs et nos différences, mais cela nous permet d'être deux femmes à part entière. La première fois que je t'ai présenté mon projet, tu m'as dit : « Je n'ai pas compris ce qu'est PCSK9 »… Par la suite, tu n'as jamais refusé de m'aider lorsque je préparais mes présentations ou des tubes de sacrifices. D'ailleurs, ton regard est resté gravé à jamais quand tu as compris qu'on y mettait de « vrais organes ». Merci de m'avoir soutenue et fait rire pendant ces différentes années. Mon Lapin, merci pour tout, je t'aime.

Alex, je profite de ces quelques lignes pour te dire toute la reconnaissance et tout l'amour que j'ai pour toi. Ma chère marraine, petite, tu me surnommais « mon pot de colle ». En effet, j'avais toujours besoin d'être auprès de toi et encore maintenant. J'ai toujours pu compter sur toi, avec ta douceur, ton écoute et tes mots réconfortants. Merci de faire partie de ma vie, merci de m'accompagner à tous les moments importants et aux prochains.

Un petit mot pour mon Papy. A toi qui demandais toujours qui de Constance ou moi travaille avec ces petites souris, sache que je suis reconnaissante de toutes les valeurs que tu m'as transmises avec Mamie. Il y a quelques semaines, je pensais encore pouvoir te prendre dans mes bras et te dire : « Papy, je vais y arriver, je vais être docteur ». Tu as rejoint Mamie et de là où vous êtes, je sais que votre lumière m'accompagnera.

A mes amis

Camille et Anna, vous n'imaginez pas à quel point votre soutien a été important et ce, dès la licence. Nous avons pu partager nos doutes, nos joies, mais surtout cette dernière ligne droite : la rédaction du manuscrit et la soutenance. Je suis sûre que vous obtiendrez toutes les félicitations du jury !

A ma team fessée, merci à tous de m'avoir accompagnée dès le début de cette aventure qui se veut être aussi sportive que le bad. Vous allez tous me manquer et je compte sur vous pour maintenir l'équipe !

Sophie, j'ai trouvé une véritable partenaire sur le terrain mais surtout une confidente. On dit qu'il est impossible de réussir une thèse tout seul. Pour cela, j'ai pu compter sur toi à chaque étape. Je ne sais pas si tu t'en rends compte mais si j'en suis là aujourd'hui, c'est en grande partie grâce à toi, merci pour tout !

Cynthia, mon amie de toujours. Tu m'as soutenue, consolée, épaulée et accompagnée. Je ne saurai comment te remercier de m'avoir permis d'être la marraine de ma petite bouille d'amour, Noélie. Cynthia et Noélie, même si nous n'avons pas de lien de sang, vous êtes ma famille.

Benji, Guigui, Youyou, Elo et Sylvain, merci d'avoir toujours répondu présent lorsque j'en avais besoin. Votre amitié est un refuge et un repère. Youyou, ça a toujours été un plaisir de discuter de nos projets respectifs. Merci de m'avoir accompagnée pendant cette thèse et de m'aider à préparer ma nouvelle vie à Ottawa.

Sans oublier …

Je tiens à remercier Nespresso pour leur café d'exception, partenaire officiel de ces trois années de thèse. Sans oublier, la raclette, le chocolat, la Machine à crêpes, le Bo Bun mais surtout, un grand merci au chef de l'As du Tacos pour ce tacos sans gluten réalisé lors d'un contrôle sanitaire. Mention spéciale pour l'œuf dur et la banane qui m'accompagnaient chaque midi ou presque.

Merci à la machine à café qui a été la cause de quelques post-it sur le PW. Au PW, je n'avais qu'à me tourner légèrement vers la droite pour rigoler un peu. Samuel, tu as été le roi du PW avec pas moins de 5 post-it sur 12, belle performance !

Merci au vortex d’avoir été un compagnon indispensable de manip ! Merci à la hotte de la pièce 112 pour cette douce musique.

Un grand merci à Cosmepar pour les tests cosmétiques qui ont su amuser mes bien estimés collègues. Merci à Mérieux pour un test consommateur qui me vaut encore de belles moqueries. Mais cela valait le coût, deux heures de détente à Calicéo !

Jeanne Mas, merci pour votre chanson en rouge et noir qui m’a longuement accompagnée lors de la mesure du temps de transit intestinal.

Liste des présentations et des publications

<u>Liste des posters et présentations orales</u> :

EAS (European Atherosclerosis Society), Milan, Italie, Mai 2022
E-Poster : **Effects of PCSK9 on food allergy**

NSFA (Nouvelle Société Francophone d'Athérosclérose), Biarritz, France, Juin 2022.
Prix de la communication orale
Présentation orale : **Effets protecteurs d'une déficience ou d'une inhibition de PCSK9 sur l'allergie alimentaire**

Folles souris nantaises, Nantes, France, Décembre 2022
Présentation orale : **Effets protecteurs d'une déficience ou d'une inhibition de PCSK9 sur l'allergie**

Journées scientifiques de l'école doctorale, Nantes, Avril 2023
Poster : **Effets de PCSK9 dans l'allergie**

CFA (Congrès francophone d'allergologie), Paris, France, Avril 2023
Présentation orale : **Effets d'une déficience ou d'une inhibition de PCSK9 sur l'allergie alimentaire**

Séminaire d'unité, Nantes, France, Mai 2023
Présentation orale : **Protective effects of PCSK9 deficiency or inhibition on allergic diseases**

NSFA (Nouvelle Société Francophone d'Athérosclérose), Biarritz, France, Juin 2023
Présentation orale : **Effets protecteurs d'une déficience ou d'une inhibition de PCSK9 sur l'allergie alimentaire**

IUIS (International Union of Immunological Societies), Le Cap, Afrique du Sud, Novembre 2023
Présentation orale : **Protective effects of PCSK9 deficiency or inhibition on food allergy**

Liste des publications :

Lorant V, Klein L, Garçon D, Sotin T, Frey S, Cheminant M.A, Ayer A, Croyal M, Flet L, Colas L, Cariou B, Bouchaud G, Le May C. PCSK9 inhibition protects mice from food allergy. Article soumis dans Translational Research.

Frey S, Ayer A, Sotin T, **Lorant V**, Cariou B, Blanchard C, Le May C. Single-Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy Model in Mice. J Vis Exp. 2023 Feb 10;(192). doi: 10.3791/64610. PMID: 36847386.

Frey S, Ayer A, Sotin T, **Lorant V**, Louis Gaubert C, Arnaud L, Crossouard S, Croyal M, Prieur X, Hadjadj S, Cariou B, Blanchard C, Le May C. Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) improves lipid and glucose homeostasis in Ob/Ob mice. Obesity. 2023 Oct 24. doi: 10.1002/oby.23916. PMID : 37875256.

Liste des figures et des tableaux

FIGURE 1 : DESCRIPTION DE LA STRUCTURE PROTEIQUE DE NARC-1 EN 2003 2
FIGURE 2 : MECANISME D'ACTION DU LDLR ET EFFETS DES MUTATIONS 8
FIGURE 3 : ARBRE DECISIONNEL DANS LE TRAITEMENT DE L'HF SELON LES RECOMMANDATIONS DE L'EAS EN 2019 9
FIGURE 4 : DESCRIPTION DE LA STRUCTURE PROTEIQUE ET DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONELLES DE PCSK9, INSPIREE DE ABIFADEL ET AL., 2014 12
FIGURE 5 : PCSK9 EST UN INHIBITEUR NATUREL DU LDLR QUI LE CONDUIT A LA DEGRADATION LYSOSOMALE PAR UNE VOIE EXTRACELLULAIRE OU INTRACELLULAIRE. 14
FIGURE 6 : AU-DELA DU LDLR, PCSK9 AURAIT D'AUTRES CIBLES, ADAPTE DE Y. GUO ET AL., 2021. 19
FIGURE 7 : MODE D'ACTION DES STRATEGIES THERAPEUTIQUES ANTI-PCSK9 28
FIGURE 8 : FONCTIONS IDENTIFIEES DE PCSK9 AU SEIN DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL 33
FIGURE 9 : ROLE DE PCSK9 AU NIVEAU DU VAISSEAU 39
FIGURE 10 : FONCTIONS DE PCSK9 AU NIVEAU CARDIAQUE 41
FIGURE 11 : IMPLICATION DE PCSK9 DANS L'HOMEOSTASIE INTESTINALE DES LIPIDES 44
FIGURE 12 : IMPACT DE PCSK9 SUR LES FONCTIONS ET PATHOLOGIES RENALES 47
FIGURE 13 : LA DELETION DE PCSK9 POURRAIT ETRE ASSOCIEE AU DEVELOPPEMENT DU DIABETE 49
FIGURE 14 : L'INHIBITION DE PCSK9 CONFERE UN PROFIL ANTI-INFLAMMATOIRE SUR DIFFERENTES CELLULES IMMUNITAIRES 55
FIGURE 15 : IMPLICATION DE PCSK9 DANS DIFFERENTES PATHOLOGIES INFLAMMATOIRES 59
FIGURE 16 : ROLE DE PCSK9 SUR LE DEVELOPPEMENT ET LA SEVERITE DE PATHOLOGIES CANCEREUSES 68
FIGURE 17 : LA PREVALENCE MONDIALE DES DIFFERENTES ALLERGIES 72
FIGURE 18 : LE MECANISME DE L'ALLERGIE. 77
FIGURE 19 : STRUCTURE DE LA BARRIERE EPITHELIALE. 86
FIGURE 20 : LE DEVELOPPEMENT DE L'ALLERGIE REPOSE SUR TROIS BARRIERES INTERCONNECTEES, ADAPTEE DE BALLEGAARD & BØGH, 2023. 89
FIGURE 21 : PREVALENCE DE L'ALLERGIE ALIMENTAIRE SELON LA ZONE GEOGRAPHIQUE ET L'ALLERGENE ALIMENTAIRE. 94
FIGURE 22 : MECANISME DE LA TOLERANCE ORALE AU NIVEAU DE LA BARRIERE INTESTINALE 99
FIGURE 23 : DESCRIPTION DU PROTOCOLE D'ALLERGIE ALIMENTAIRE 109
FIGURE 24 : DESCRIPTION DU PROTOCOLE D'ASTHME ALLERGIQUE INDUIT CHEZ LA SOURIS BALB/C 109
FIGURE 25 : DESCRIPTION DU PROTOCOLE D'ASTHME ALLERGIQUE CHEZ LA SOURIS C57BL6/J 110
FIGURE 26 : LE PROTOCOLE DE MARCHE ATOPIQUE SE COMPOSE D'UNE ALLERGIE ALIMENTAIRE SUIVIE D'UN ASTHME ALLERGIQUE 110
FIGURE 27 : STRATEGIE UTILISEE POUR DISCRIMINER LES CELLULES DENDRITIQUES IMMATURES ET MATURES 114
FIGURE 28: L'EVOLOCUMAB NE SEMBLE PAS MODIFIER LA CHOLESTEROLEMIE DES ANIMAUX. 153
FIGURE 29 : L'EVOLOCUMAB A DES EFFETS PROTECTEURS PARTIELS SUR L'ALLERGIE ALIMENTAIRE 154

FIGURE 30: LA DEFICIENCE EN PCSK9 EST RESPONSABLE D'UNE DIMINUTION DE LA CHOLESTEROLEMIE 156
FIGURE 31: LA DEFICIENCE EN PCSK9 AMELIORE L'ALTERATION DES PARAMETRES RESPIRATOIRES INDUITS PAR L'ASTHME ALLERGIQUE. 157
FIGURE 32: EFFET DE L'EVOLOCUMAB SUR LES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES EN CHOLESTEROL & PCSK9. 158
FIGURE 33: LA PENH EST MODIFIEE PAR L'ASTHME ALLERGIQUE. 159
FIGURE 34: L'EVOLOCUMAB EMPECHE L'ALTERATION DE LA FONCTION VENTILATOIRE PROFONDE INDUITE PAR L'ASTHME. 159
FIGURE 35 : EFFET DE L'ALIROCUMAB SUR LES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES EN CHOLESTEROL & PCSK9. 160
FIGURE 36: LA PENH EST AUGMENTEE PAR L'ASTHME. 160
FIGURE 37 : L'ALIROCUMAB AMELIORE LES FONCTIONS RESPIRATOIRES PROFONDES ALTEREES PAR L'ASTHME. 161
FIGURE 38 : EFFETS DE L'INHIBITION DE PCSK9 SUR LES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES EN CHOLESTEROL & PCSK9 AU COURS DE LA MARCHE ATOPIQUE 164
FIGURE 39 : LA VALEUR DU TEMPS DE PAUSE AMELIOREE AUGMENTE AU COURS DE LA MARCHE ATOPIQUE. . 164
FIGURE 40 : L'INHIBITION DE PCSK9 EMPECHE L'ALTERATION DE LA FONCTION AERIENNE PROFONDE INDUITE PAR LA MARCHE ATOPIQUE 165
FIGURE 41 : RESUME DE NOS RESULTATS. 166
FIGURE 42: PCSK9 NE MODULE PAS LE PHENOTYPE OU LA PROLIFERATION DES LB 174
FIGURE 43: RESUME DES MECANISMES D'ACTIONS POTENTIELS DE PCSK9. 180

TABLEAU I : CRITERES DE DIAGNOSTIC DU DUTCH LIPID CLINIC NETWORK 6
TABLEAU II : RESUME DES THERAPIES ANTI-PCSK9 29

Liste des abréviations

aa : Acide aminé

alum : hydroxyde d'aluminium

APLP : Amyloid precursor-like protein

apoB : Apolipoprotéine B

ApoER : Récepteur de l'apolipoprotéine E

APP : Amyloid precursor protein

AVC : Accident vasculaire cerebral

BACE : β-site APP-cleaving enzyme

BCL : B-cell lymphoma

BLIMP1 : B lymphocyte-induced maturation protein 1

BMDC : Bone marrow derived dendritic cell

CCR : C-C chemokine receptor

CD : Cluster de différenciation

CE : Cellule endothéliale

CHC : Carcinome hépatocellulaire

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CML : Cellule musculaire lisse

CRISPR : Clustered regularly interspaced short palindromic repeat

CRP : Protéine C réactive

DC : Cellule dendritique

Der p : *Dermatophagoides pteronyssinus*

EAACI : Académie européenne de l'allergie et de l'immunologie

EAS : Société européenne de l'athérosclérose

EGF-A : Epidermal growth factor A

EME : European medicines evaluation

FCεR : Récepteur Fc epsilon

FDA : Food and drug administration

FoxP3 : Forkhead box protein P3

GALT : Gut associated lymphoid tissue

GLM : Ganglion lymphatique mésentérique

H : Récepteur de l'histamine

HDL : High density lipoprotein

HF : Hypercholestérolémie familiale

HLA : Human leukocyte antigen

HMG CoA-R : 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase

IDO : Indoléamine-2,3-diogénase

INF : Interféron

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

ILC : Cellules lymphoïdes innées

LB : Lymphocyte B

LDL-c : Low density lipoprotein cholesterol

LDL-ox : LDL oxydée

LDLR : Récepteur au LDL-c

LOX-1 : Lectin-like ox-LDL receptor 1

Lp(a) : Lipoprotéine a

LPP : Lipémie postprandiale

LPS : Lipopolysaccharide

LRP : LDLR-related protein

LT : Lymphocyte T

MCP : Monocyte chemoattractant protein

MCV : Maladie cardiovaculaire

MICI : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin

NARC-1 : Neural apoptosis-regulated convertase 1

NF-κB : Nuclear factor-κB

NPC1L1 : Niemann-Pick C1 like 1

NSF : Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor

OAS : Oligonucléotide anti-sens

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PBS : Phosphate buffered saline

PCNA : Proliferating cell nuclear antigen

PCSK9 : Proprotéine convertase subtilisine kexine de type 9

PD1 : Programmed cell death 1

PenH : Temps de pause améliorée

RBL : Rate basophilic leukemia cell

RE : Réticulum endoplasmique

ROS : Espèce réactive de l'oxygène

SNAP : Soluble N-ethylmaleimide attachment protein

SNARE : N-ethylmamaleimide-sensitive factor attachment protein receptor

SOCS1 : Suppressor of cytokine signaling protein 1

TCR : T-cell receptor

TGF : Transforming growth factor

Th : Lymphocyte T helper

TICE : Excrétion transintestinale du cholestérol

TLR : Toll-like receptor

TNF : Tumor necrosis factor

TPO : Test de provocation orale

Treg : Lymphocyte T régulateur

TRL : Lipoprotéine riche en triglycérides

TSLP : Lymphopoïétine stromale thymique

VCAM : Vascular cell adhesion proteine

VEMS : Volume expiratoire maximal par seconde

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VLDL : Very low density lipoprotein

VLDLR : Récepteur du VLDL

Résumé français

L'allergie est une pathologie inflammatoire chronique classée en quatrième position en termes de morbidité. Il a été estimé que 50% de la population pourrait être atteinte d'une allergie d'ici 25 ans. L'allergie se développe selon deux phases : la sensibilisation et le déclenchement. La sensibilisation est une étape asymptomatique. Au cours de cette étape, les médiateurs anti-inflammatoires seront inhibés, laissant place à l'installation d'une inflammation spécifique de l'allergène. Lors d'un futur contact avec celui-ci, une réponse inflammatoire exacerbée se mettra en place et mènera à la survenue des symptômes. Plusieurs stratégies thérapeutiques sont proposées mais ne sont pas toujours suffisamment efficaces pour tous les sujets. Les enjeux actuels visent à mieux comprendre les mécanismes de l'allergie afin d'identifier des biomarqueurs et développer de nouvelles approches thérapeutiques.

Nous avons étudié l'effet de PCSK9, un régulateur du récepteur au LDL-c (LDLR), récemment décrit comme un modulateur de la réaction immunitaire. Nos travaux ont démontré que la déficience et/ou l'inhibition pharmacologique de PCSK9 confère une protection face à la survenue des symptômes induits par l'allergie alimentaire. PCSK9 exercerait son action pro-allergiques au cours du déclenchement. Enfin, cet effet ne serait pas dépendant du LDLR. Les mécanismes d'action restent à être pleinement caractérisés mais impliqueraient un effet sur la maturation des cellules dendritiques, la prolifération des lymphocytes Th2 et Th17 et la dégranulation des basophiles /mastocytes. Ainsi, nos découvertes ouvrent la perspective de tester l'impact bénéfique des inhibiteurs de PCSK9 chez le patient allergique.

Mots clés : PCSK9, LDLR, anticorps monoclonaux, allergie, basophiles

Abstract

Allergy, an immune complex disorder, is classified as the fourth chronic pathology. It was estimated that fifty percent of the general population will suffer from allergy in 2050. This pathology occurs in two steps: the sensitization and the elicitation. The sensitization is an asymptomatic phase. During this step, the immune system inhibits anti-inflammatory mediators and induces an allergen-specific immune response. With another contact with the same allergen, an exacerbate allergen-specific immune response occurs leading to symptoms appearance. Currently, it is recommended to limit the contact with the allergen. Immunotherapy allows the occurrence of immune tolerance but is not develop for every allergen. It is important to better understand allergy mechanisms to identify new biomarkers and propose new therapeutic approaches.

In this context, we studied the effect of PCSK9, a natural regulator of the LDL receptor (LDLR). Recently, PCSK9 was supposed to modulated immune reaction. We show that PCSK9 deficiency and/or inhibition is protective against allergy symptoms appearance. PCSK9 could exercise a proallergic role during the elicitation. This effect was supposed to be independent of the LDLR. The mechanisms of action remain to be fully characterized but involved an effect on the maturation of dendritic cells, the proliferation of Th2 and Th17 cells, and the degranulation of basophils/mast cells. Thus, our findings open the prospect of testing beneficial impact of PCSK9 inhibitors in allergic patients.

Keywords : PCSK9, LDLR, monoclonal antibodies, allergy, basophil

Partie I : Introduction

Chapitre 1 : PCSK9, un régulateur du métabolisme du cholestérol

I- La Proprotéine Convertase Subtilisine Kexine de type 9

1- Découverte

En 2003, la proprotéine convertase subtilisine kexine de type 9, PCSK9, a été identifiée grâce au partenariat entre une équipe canadienne dirigée par Nabil Seidah et une équipe française dirigée par Catherine Boileau. L'équipe canadienne est spécialisée dans l'étude des proprotéines convertases. L'équipe française quant à elle, s'intéresse à la génétique des patients atteints d'hypercholestérolémie familiale (**cf chapitre 1, I 2**).

A l'origine, Nabil Seidah et ses collègues ont identifié une nouvelle convertase par clonage au sein d'une culture primaire de neurones (1). L'expression de celle-ci se trouvait augmentée lorsque l'apoptose de ces neurones était induite par une privation de sérum (1). C'est pour cette raison que cette convertase a été initialement nommée neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1). Les premières informations obtenues sur NARC-1 ont été son expression (foie, testicules et rein) et sa localisation chromosomique. En effet, elle se localiserait au niveau du chromosome 1, proche du locus 1p34.1p32 (1). L'analyse complémentaire du Dr. Seidah en 2003 a permis de préciser les connaissances sur cette nouvelle convertase.

Selon cette étude, NARC-1 se compose d'un peptide signal, d'un pro-segment, d'un domaine catalytique, d'un domaine P et d'un domaine C terminal (**figure 1**) (1). Le

domaine P contient un site de N-glycosylation (1). Le domaine catalytique de NARC-1 est composé d'une triade caractérisée par une asparagine en position 186, une histidine en position 226 et une serine à la position 386 (1). De plus, son site actif est composé de trois acides aminés (aa) (aspartate en position 186, X pouvant être n'importe quel aa, sérine en position 188). Selon cette étude, le domaine catalytique partagerait 91% et 92% d'identité avec le domaine issu de souris et de rat (1).

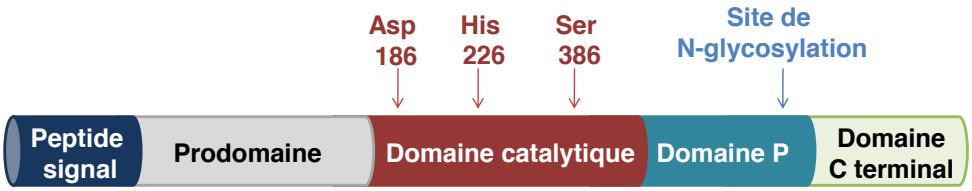


Figure 1 : Description de la structure protéique de NARC-1 en 2003

NARC-1 est d'abord synthétisée comme un zymogène de 72 kDa, la pro-NARC-1 (1). Puis, elle serait clivée par un processus autocatalytique au niveau de son prodomaine qui resterait associé à cette protéine de 65 kDa et qui serait ensuite sécrétée (1). Par la suite, d'autres études se sont intéressées à la structure protéique de NARC-1 (cf **partie I 3**).

Cette étude pionnière a ensuite apporté des précisions quant à l'expression de NARC-1 au cours du développement embryonnaire et de la période post-partum. Au cours de l'embryogenèse, l'expression de cette convertase aurait été détectée au niveau du foie, de la peau, du cortex rénal, de l'intestin grêle et du cervelet (1). Elle aurait une expression transitoire au niveau du télencéphale et atteindrait un pic au 12^{e} jour de l'embryogenèse (1). Selon les auteurs, la colocalisation de NARC-1 avec l'albumine ferait du foie son site d'expression majeur. Après la naissance, NARC-1 serait exprimée au niveau du cervelet et du pédoncule olfactif. De plus, son expression au niveau du cortex rénal disparaitrait vers le 12^{e} jour de vie pour apparaitre au niveau de la médullaire rénale (1). Les auteurs ont également vérifié

l'expression de cette protéine dans 21 lignées cellulaires humaines. Ils auraient mis en évidence une expression importante de celle-ci dans des cellules neuronales, hépatiques, coliques, pancréatiques et les cellules de Schwann (1). Elle aurait été détectée de façon moins importante dans des cellules rénales, des cellules hypophysaires, des adipocytes, des cellules de la médullosurrénale, des fibroblastes et des cellules ovariennes (1). Chez le rat, une expression de NARC-1 aurait été déterminée au niveau du foie, de l'iléum, du jéjunum, du rein, des poumons, de la rate et du thymus (1).

Les auteurs se sont également intéressés aux rôles possibles de NARC-1. Après une hépatectomie partielle effectuée *in vivo*, une surexpression de NARC-1 aurait été détectée au niveau hépatique. Selon cette étude, cette protéine serait impliquée dans la prolifération hépatique (1). Ensuite, l'effet d'une surexpression de NARC-1 dans une culture primaire de progéniteurs neuronaux a été vérifié. Cela aurait eu pour conséquence d'augmenter le nombre de neurones en situation post-mitotique et de diminuer le nombre de cellules indifférenciées. Selon les auteurs, NARC-1 favoriserait la neurogénèse (1).

Dans le même temps, une équipe française travaillant sur les causes génétiques de l'hypercholestérolémie familiale (HF) venait d'identifier un troisième locus associé à cette pathologie qui se situait en position 1p34.1p32 (Abifadel et al., 2003). Les auteurs ont pu remarquer que ce locus contenait le gène codant pour NARC-1, précédemment décrit par Nabil Seidah (1). Le gène de NARC-1 est composé de 12 exons et code pour une protéine de 692 aa (2). Au sein d'une première famille atteinte d'HF, la substitution d'une thymine en adénine au niveau de l'exon 2 entraîne la conversion d'une sérine en arginine à la position 127 (S127R) (2). Dans une seconde famille, une substitution d'une thymine en cytosine a été identifiée en

position 890 qui remplace la phénylalanine 216 en leucine (F216L) (2). Cette publication parue 2003 est la première démonstration que le gène NARC-1, ensuite nommé PCSK9, est la troisième cause génétique de l'HF (2).

2- L'hypercholestérolémie familiale

a. Prévalence et étiologie

L'hypercholestérolémie familiale est une pathologie héréditaire à transmission autosomique dominante qui toucherait entre 14 et 34 millions de personnes dans le monde (5). Cette maladie peut se trouver à l'état homozygote ou hétérozygote. La forme hétérozygote a une prévalence de 1:313 alors que la forme homozygote semble être plus rare (5,6). prévalence serait comprise entre 1:160 000 et 1:300 000 (5,6). Selon la zone géographique, la prévalence de cette pathologie est susceptible d'évoluer. Selon une méta-analyse, la prévalence de l'HF serait de 0,19% en Asie, de 0,32% en Europe et en Amérique du Nord et de 0,58% en Russie (5).

b. Méthodes de diagnostic

Le diagnostic de l'HF reste difficile pour le praticien en raison de signes cliniques silencieux voire asymptomatiques (7). On estime que 90% des sujets atteints d'une HF ne seraient pas diagnostiqués (7). Comme son nom l'indique, cette pathologie se caractérise par une élévation importante de la cholestérolémie, notamment la concentration de Low Density Lipoprotein (LDL-cholestérol ou LDL-c) (8). A l'état hétérozygote, les concentrations plasmatiques de LDL-c sont généralement entre 1,9 et 6 g/L (9). Le phénotype serait plus sévère à l'état homozygote où la concentration de LDL-c serait entre 3 et 12 g/L (9). Non traitée ou non diagnostiquée, l'HF conduit au développement prématuré de l'athérosclérose et de maladies cardiovasculaires (MCV) (8). Les MCV regroupent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins tels que : l'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral

(AVC) et les artériopathies périphériques. Les MCV représentent la première cause de mortalité au monde selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Selon les estimations, une HF non traitée augmenterait de 10 à 20 fois le risque de développer une MCV (8). Les patients porteurs d'une HF à l'état homozygote développeraient une MCV de façon précoce, vers l'âge de 20 ans (10).

Avant de réaliser le diagnostic de l'HF, il est recommandé de mesurer plusieurs fois les paramètres lipidiques qui peuvent évoluer selon l'alimentation ou des pathologies (l'hypothyroïdie ou l'insuffisance rénale) (10). Les praticiens peuvent également noter l'apparition de lésions cutanées jaunâtres appelées xanthomes. Cependant, cette caractéristique ne se présente pas chez tous les patients (10). Afin de diagnostiquer au mieux une HF, trois programmes ont été développés. Il s'agit du programme US MedPed (Make Early Diagnosis To Prevent Early Death), du programme Simon Broome et des critères du Dutch Lipid Clinic (10).

Le système MedPed se base sur l'âge et la cholestérolémie totale du sujet mais ne prend pas en considération les signes cliniques tels que les xanthomes ou les mutations génétiques (10). Le programme de diagnostic Simon Broome inclut différents paramètres tels que : la cholestérolémie totale et la concentration de LDL-c, la présence ou non de xanthomes, les mutations dans les gènes cibles de l'HF et les antécédents familiaux d'hypercholestérolémie et/ou de MCV (11). Selon ce programme, une analyse génétique est suffisante pour le diagnostic de l'HF. En revanche, le programme du Dutch Lipid Clinic Network demande une mesure supplémentaire telle qu'une cholestérolémie élevée (10). Ce programme établit des scores en fonction de différents critères listés dans le **tableau I**. Un sujet avec un score inférieur à 3 n'est pas considéré comme atteint d'HF. Cependant, si le score du

patient se trouve entre 3 et 5, l'HF est possible. Un score entre 6 et 8 indique une HF probable et un score supérieur à 8 confirme le diagnostic d'une HF (11).

Tableau I : Critères de diagnostic du Dutch Lipid Clinic Network

Catégorie	Critères	Score
Antécédents familiaux	Parent de premier degré avec une maladie coronarienne ou vasculaire prématurée (avant 55 ans chez l'homme et avant 60 ans chez la femme)	1
	Parent de premier degré avec une concentration de LDL-c élevée	1
	Parent de premier degré avec un xanthome ou un arcus cornéen	2
	Un enfant avec une concentration de LDL-c élevée	2
Antécédents personnels	Présence d'une maladie coronarienne prématurée (avant 55 ans chez l'homme et avant 60 ans chez la femme)	2
	Présence d'une maladie vasculaire cérébrale ou périphérique prématurée (avant 55 ans chez l'homme et avant 60 ans chez la femme)	1
Examen clinique	Présence de xanthomes	6
	Développement d'un arcus cornéen avant l'âge de 45 ans	4
	LDL-c supérieur à 8,5 mmol/L	8
	LDL-c compris entre 6,5 et 8,4 mmol/L	5
	LDL-c compris entre 5 et 6,4 mmol/L	3
	LDL-c compris entre 4 et 4,9 mmol/L	1
	Présence d'une mutation fonctionnelle dans un gène relatif à l'HF	8

c. Causes génétiques

Comme décrit ci-dessus, l'HF peut se manifester à l'état hétérozygote (un seul allèle affecté) ou homozygote. Le patient atteint d'une forme homozygote reçoit un allèle muté dans un gène de chacun de ces parents. Il existe également une forme d'HF hétérozygote composite qui se manifeste par deux mutations différentes dans le même gène ou alors par une mutation dans deux gènes (10). La concentration de LDL-c est majoritairement régulée par sa production et son catabolisme au niveau hépatique. Les causes génétiques de l'HF qui ont été décrites se rapportent à l'élimination de cette particule (8).

La première cause de l'HF implique les mutations dans le gène du récepteur au LDL-c (LDLR) qui concerneraient 80 à 85% des sujets (12). En 2020, plus de 2600

variants ont été décrits et peuvent affecter l'activité du récepteur (13). Cette équipe a classifié les conséquences de ces mutations (13) :

- Classe 1 : pas de synthèse protéique
- Classe 2 : rétention partielle ou complète dans le réticulum endoplasmique (RE)
- Classe 3 : défaut de liaison à l'apolipoprotéine B (apoB)
- Classe 4 : défaut de l'endocytose
- Classe 5 : réduction de la capacité de recyclage à la membrane

A l'état non pathologique, le LDL-c se fixe au LDLR exprimé à la surface des cellules (**Figure 2**). Le complexe est ensuite internalisé par endocytose, fusionne avec des endosomes tardifs (14). L'acidification de la vésicule favorise un changement de conformation du LDLR qui se dissocie du LDL-c. Le LDLR ainsi libéré est recyclé et retourne à la membrane plasmique (14). Ce récepteur permet l'élimination du LDL-c plasmatique, un mauvais fonctionnement de celui-ci ou une expression altérée peut être associée à une concentration en LDL-c importante (13).

Le second gène impliqué dans l'HF code pour l'apo B. Il a été estimé que la prévalence des patients touchés par une mutation dans ce gène serait de 5% à 10% (3). L'apoB est une protéine structurale qui assure l'intégrité des particules de LDL-c et de very low density liproprotein (VLDL-c) (**Figure 2**). De plus, cette protéine est essentielle pour faciliter la liaison entre le LDL-c et son récepteur (Anderson et al., 1977; Rader et al., 2003). Plusieurs mutations ont été identifiées telles que la R3500Q, la R3531C et la R3500W (17). Les mutations décrites pour le gène codant pour l'apoB affectent :

- sa conformation et son affinité pour le LDLR (18)
- son site de fixation au LDLR (19)

De ce fait, ces mutations empêcheraient la reconnaissance de la particule de LDL-c avec son récepteur et s'accumulerait dans la circulation sanguine (16).

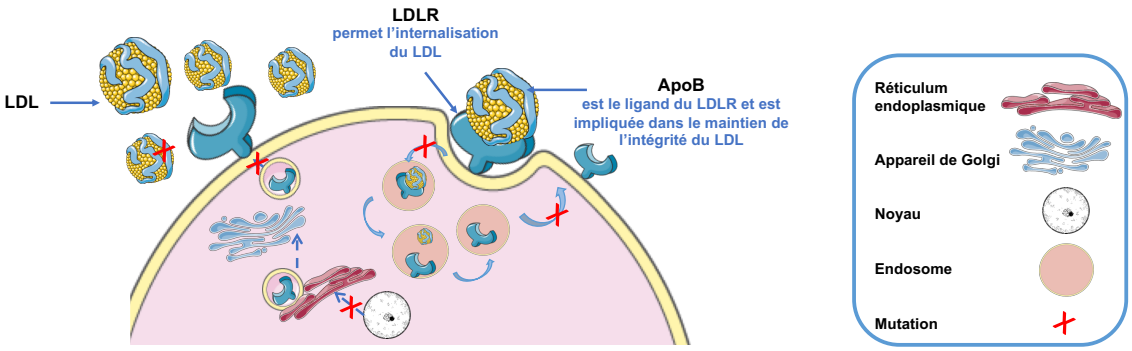


Figure 2 : Mécanisme d'action du LDLR et effets des mutations

Comme décrit précédemment (**cf chapitre 1, I 1**), le troisième gène impliqué dans l'HF a été identifié en 2003 par Marianne Abifadel. Ce gène code pour PCSK9 et la prévalence de ces mutations serait estimée de 1 à 2% (20). Les mutations gain de fonction ont été classées selon leur effet fonctionnel et leur activité (21,22). Celles-ci peuvent affecter la maturation, le transport depuis le RE, la stabilité ou l'affinité de PCSK9 pour le LDLR (21). Il a été démontré que les mutations gain de fonction associées au gène codant pour PCSK9 réduisent l'expression du LDLR à la surface des hépatocytes. En 2004, les mutations de son gène ont été associées à une dégradation plus importante du LDLR, ce mécanisme sera décrit dans la **partie I 4** (23). Les mutations dans le gène codant pour PCSK9 vont donc réduire le nombre de récepteur présent à la surface des cellules et conduire à une hypercholestérolémie (24).

d. Principales thérapies de l'hypercholestérolémie familiale

Selon les recommandations de la société européenne de l'athérosclérose (EAS), la mise en place d'une stratégie thérapeutique dépend de la concentration plasmatique de LDL-c de l'individu et de son risque cardiovasculaire (25). En dehors des patients à très haut risque cardiovasculaire, la première recommandation est de pratiquer une activité physique régulière et un rééquilibrage alimentaire (25). Cependant, un

traitement médicamenteux est considéré si l'objectif listé dans la **figure 3** n'est pas atteint.

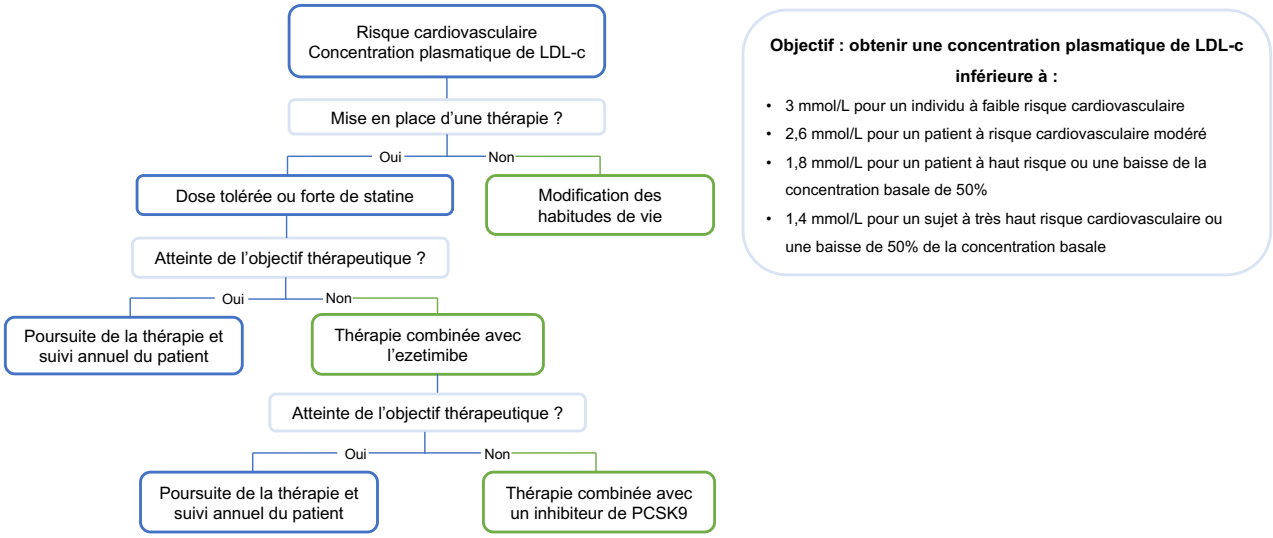


Figure 3 : Arbre décisionnel dans le traitement de l'HF selon les recommandations de l'EAS, 2019

Selon les recommandations de l'EAS (**Figure 3**), un traitement par statine est appliqué en premier recours. Les statines inhibent l'HMG CoA-R (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase) une enzyme clef de la synthèse endogène de cholestérol (26). De plus, les statines favorisent, via le facteur de transcription SREBP2, l'expression du LDLR et permettent ainsi la clairance du LDL-c (12). Les statines induisent une diminution moyenne de la concentration plasmatique de LDL-c de 30% à 40% (27). Elles réduisent également l'apparition d'évènements cardiovasculaires et la mortalité associée à ces pathologies (27). Malheureusement, les statines seraient inefficaces pour 30% des patients et à fortes doses, elles induiraient des effets secondaires (28). De plus, elles sont inefficaces chez les patients atteints d'une HF à l'état homozygote dont le LDLR est totalement inactif ou non exprimé (25). En cas d'intolérance à une statine, une autre statine peut être prescrite ou un autre dosage peut être donné (29). Lorsque la thérapie par statine ne permet pas d'atteindre les objectifs listés dans la **figure 3**, une autre stratégie est mise en place.

Pour cela, il est recommandé de combiner la dose maximale tolérée de la statine à l'ezetimibe (29). L'ezetimibe inhibe le transporteur Niemann-Pick C1 like 1 (NPC1L1) (30,31). NPC1L1 est exprimé de façon abondante au niveau de la bordure en brosse des entérocytes (32) et assure l'internalisation entérocytaire du cholestérol présent dans la lumière intestinale (32). En inhibant NPC1L1, l'ezetimibe réduit l'absorption intestinale du cholestérol et favorise son élimination fécale (32). L'ezetimibe, en monothérapie, réduit la cholestérolémie de 15% à 20% (33). L'étude IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes : Vytorin Efficacy International Trial) a pu mettre en évidence la combinaison de l'ezetimibe avec une thérapie par statine apporterait un effet additif en permettant une réduction de la cholestérolémie de 20% supplémentaire (34). Cette thérapie combinée améliore le risque de survenue d'une MCV de 6 à 7% (34).

Lorsque l'effet de cette thérapie combinée est insuffisant, la troisième ligne de traitement est mise en place. Celle-ci se compose de la combinaison entre la plus forte dose de statine tolérée et d'un inhibiteur de PCSK9. Différentes stratégies anti-PCSK9 ont été développées et seront détaillées dans la partie 6 (**cf chapitre 1, I 6**).

Point résumé – Hypercholestérolémie familiale

- 14 à 34 millions d'individus en seraient porteurs dans le monde
- Elle est sous-diagnostiquée
- Elle augmente considérablement le risque de maladie cardiovasculaire
- L'HF implique des mutations dans les gènes codant pour le LDLR, l'apoB et PCSK9
- Plusieurs stratégies thérapeutiques sont envisagées seules ou de manière combinée
- Elles dépendent de la cholestérolémie du patient et du risque cardiovasculaire

3- PCSK9 : Structure génétique et protéique

Chez l'Homme, il a été rapporté que le gène codant pour PCSK9 est localisé au niveau du bras court du chromosome 1 en position 1p32.2 et mesure 22 kilobases (1). Il est composé de 11 introns et de 12 exons codant pour un zymogène de 72

kDa composé de 692 aa. La forme précurseur est constituée de quatre domaines (**Figure 4**) : le peptide signal (résidus 1-30), le prodomaine (aa 31-152), le domaine catalytique (résidus 153-451) ainsi que le domaine C-terminal riche en cystéines et histidines (aa 452-692). Le domaine C-terminal comporte trois modules répétés M1 (aa 457 à aa 528), M2 (534 à 601) et M3 (608 à 692) (36). Une fois synthétisé, le peptide signal permet au précurseur de PCSK9 de rejoindre le RE. Dans cet organelle, le zymogène perdrait son peptide signal (37), subirait ensuite un autoclivage au niveau de la glutamine 152 (1,23). Le prodomaine ainsi clivé se logerait dans la poche catalytique de PCSK9 de manière non covalente et bloquerait de façon définitive l'activité catalytique de PCSK9 (**Figure 4**) (1,23). A ce jour, le seul et unique substrat identifié est PCSK9 elle-même. Cette étape permet le cheminement de la forme mature de PCSK9 vers l'appareil de Golgi (23,39). Le domaine C terminal de PCSK9 est important pour sa sécrétion, son ablation partielle entre les modules 1 et 3 empêcherait ainsi sa sécrétion (40). Au sein de l'appareil de Golgi, PCSK9 subit différentes modifications post-traductionnelles qui conduiront à sa sécrétion dans le plasma (23,39). Ces modifications impliquent une phosphorylation des sérines à la position 47, 666, 668 et 688, une N-glycosylation à la position 533 ou une sulfatation à la position 38 (41).

In vitro, il a été observé que plusieurs types cellulaires seraient susceptibles de sécréter cette protéine (42–44). Cependant, *in vivo*, le foie est le seul organe responsable de la forme circulante de PCSK9. En effet, les souris présentant une délétion hépatique de PCSK9 se caractérisent par une absence de forme circulante de PCSK9 (132).

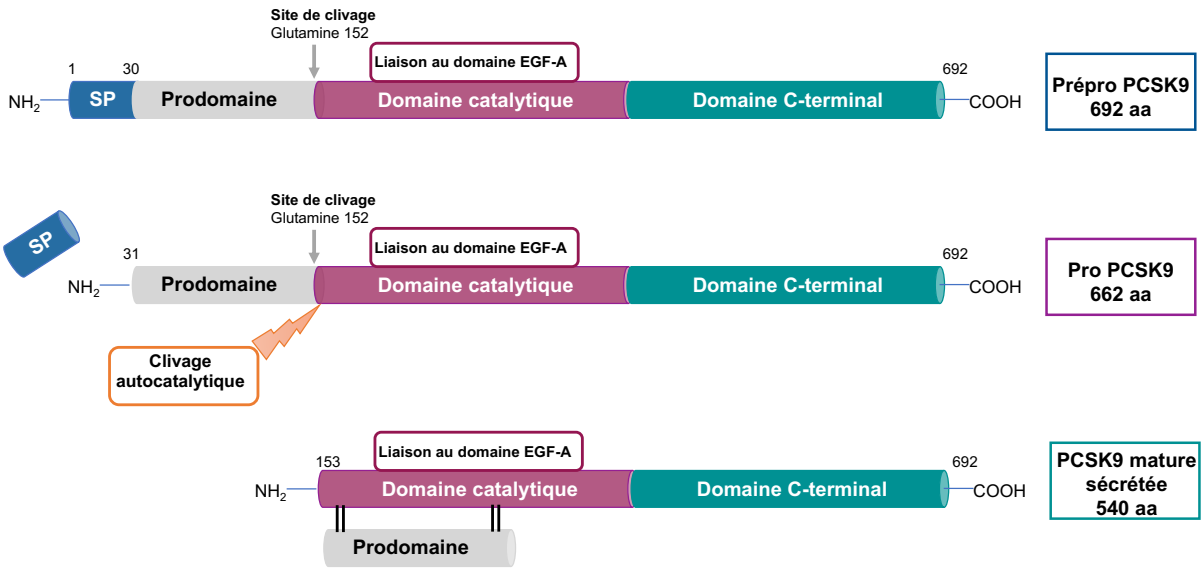


Figure 4 : Description de la structure protéique et des modifications post-traductionelles de PCSK9, inspirée de Abifadel et al., 2014

4- Mode d'action de PCSK9 sur le métabolisme lipidique

a. Mise en évidence du rôle de PCSK9 sur le LDLR

Au début des années 2000, si des mutations gain de fonction du gène de PCSK9 sont associées à une hypercholestérolémie (2) son mode d'action reste mal défini. En 2004, Maxwell et Breslow ont permis d'identifier l'une de ses fonctions majeures. En effet, alors que la surexpression adénovirale de PCSK9 chez la souris sauvage induit une forte augmentation de la cholestérolémie, cette surexpression est sans effet chez des souris déficientes en LDLR, souris *Ldlr*$^{-/-}$ (50). Les analyses complémentaires ont démontré que PCSK9 inhibe l'expression protéique du LDLR indépendamment de son activité catalytique (50). Cette suggestion a été supportée par le développement de souris déficientes en PCSK9, souris *Pcsk9*$^{-/-}$, qui sont hypocholestérolémiques et présentent une augmentation marquée de la quantité hépatique de LDLR (45).

En 2006, Thomas Lagace a pu mettre en évidence que l'apport de PCSK9 exogène dans le milieu de culture de cellules hépatiques, HepG2, réduit le nombre de LDLR à

leur surface (46). Par co-immunoprécipitation, il a pu démontrer que PCSK9 et le LDLR seraient directement associés (46). Il a ensuite réalisé une expérience de parabiose, celle-ci a pour principe de mettre en partage la circulation sanguine d'une souris sauvage et d'une souris surexprimant la forme humaine de PCSK9. Les auteurs ont ainsi pu constater que les souris sauvages présentaient bien une élévation de la forme sanguine et humaine de PCSK9, développaient une hypercholestérolémie et une réduction massive de l'expression protéique du LDLR hépatique. Cette expérience suggère alors que PCSK9 circule dans le sang à l'instar d'une hormone et qu'elle affecterait l'expression protéique du LDLR.

b. La PCSK9 circulante module l'expression du LDLR

Après sa sécrétion dans le plasma, il a été démontré que PCSK9 se fixe sur le LDLR (47,48). Cette interaction se ferait entre le domaine catalytique de PCSK9 et le domaine Epidermal Growth Factor A (EGF-A) du LDLR (47). Cette interaction entraîne l'endocytose du complexe dans la voie endosomale (**cf Figure 5**). La fusion de la vésicule d'endocytose avec des endosomes tardifs au pH acide changerait la conformation de PCSK9 et augmenterait son affinité pour le LDLR (47). Cela aurait pour conséquence d'envoyer le complexe à la dégradation lysosomale et empêcherait ainsi le recyclage du LDLR à la membrane plasmique comme décrit sur la **figure 5** (24).

c. PCSK9 influence l'expression du LDLR par une voie intracellulaire

Bien que la mutation S127R affecte la sécrétion de PCSK9, les sujets présentent une hypercholestérolémie, il s'agit donc d'une mutation gain de fonction (2,49). Cela suggère alors l'existence d'une voie de dégradation intracellulaire du LDLR (**Figure 5**). Il a été supposé que la PCSK9 localisée au niveau du RE et de l'appareil de Golgi pourrait se fixer au LDLR et le diriger vers la dégradation lysosomale (50).

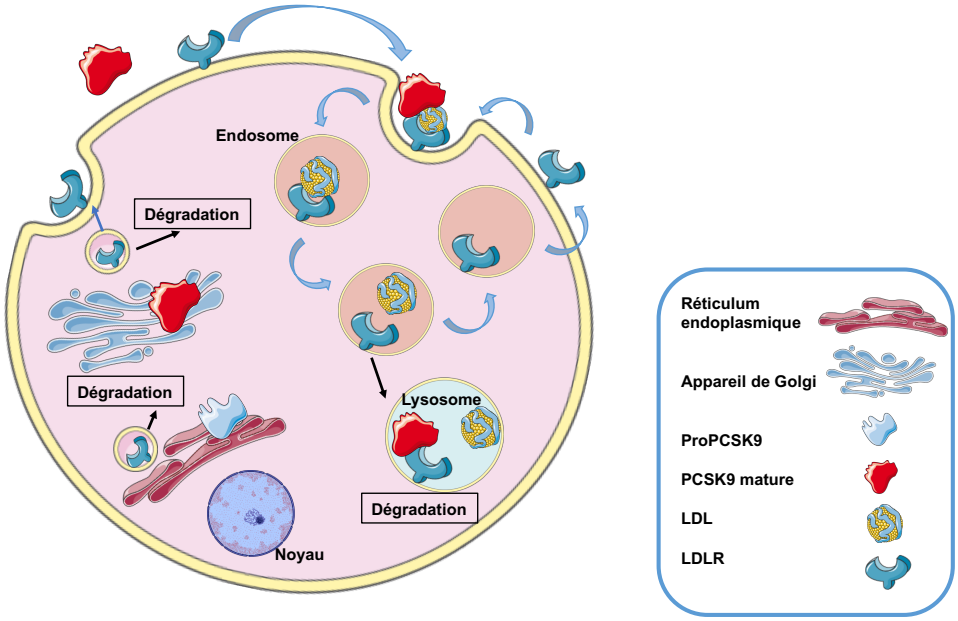


Figure 5 : PCSK9 est un inhibiteur naturel du LDLR qui le conduit à la dégradation lysosomale par une voie extracellulaire ou intracellulaire.

5- Au-delà du LDLR, PCSK9 aurait d'autres cibles potentielles

a. Récepteurs composés d'un domaine EGF-A

La famille des LDLR se compose de récepteurs transmembranaires impliqués dans le métabolisme lipidique (51). Ils partagent des propriétés structurelles et fonctionnelles communes et peuvent interagir avec différents ligands. Dans les années 1970, Brown et Goldstein ont identifié le premier membre de cette famille, le LDLR (52). Il a été démontré que cette famille comprend d'autres récepteurs tels que le récepteur du VLDL (VLDLR), de récepteur de l'apolipoprotéine E (ApoER2) et les LDLR-related protein (LRP) 1 à 10 (53).

Le domaine EGF-A appartenant au VLDLR et à l'ApoER2 partagerait 59% et 46% d'identité respectivement avec celui LDLR. Le domaine EGF-A de LRP1 quant à lui aurait 40% d'identité avec celui du LDLR. En 2008, il a été montré *in vitro* que PCSK9 cible et affecte l'expression membranaire du VLDLR et l'ApoER2 (54). Cet effet serait indépendant de son rôle sur le LDLR (54). Chez la souris, il a été démontré que PCSK9 régule l'expression adipocytaire du VLDLR. L'accumulation du

VLDLR à la surface du tissu adipeux a été retrouvée chez la souris *Pcsk9*$^{-/-}$ (55,56). PCSK9 induit également la dégradation de LRP1 (57). En effet, l'expression de ce récepteur serait augmentée chez les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ (58).

b. Récepteurs non composés d'un domaine EGF-A

i. CD36

Le cluster de différenciation 36 (CD36) est exprimé au niveau de plusieurs tissus (cœur, foie, intestin, tissu adipeux) et cellules (plaquettes et macrophages) (59) et est impliqué dans de nombreuses fonctions du métabolisme lipidique. CD36 permettrait l'absorption hépatique des acides gras, le stockage hépatique des triglycérides et leur relarguage par le foie (59). De plus, il serait impliqué dans la production et la sécrétion des chylomicrons au cours de la lipémie post-prandiale (LPP) (60).

En 2013, il a été démontré que l'exposition de Caco-2 (lignée entérocytaire) avec de la PCSK9 exogène sauvage ou gain de fonction augmenterait l'expression protéique de CD36 (61). Selon les auteurs, PCSK9 augmenterait l'internalisation du cholestérol au niveau de l'intestin (**chapitre 1, II 4**). Il a ensuite été suggéré que PCSK9 induirait la dégradation de ce récepteur par la voie lysosomale et protéasomale. Cette étude démontrerait que l'apport de PCSK9 exogène dans deux modèles d'adipocytes (cellules 3T3-L1 et adipocytes murins primaires) induirait une réduction de l'expression du LDLR et de CD36. Il a également été démontré que l'expression hépatique et adipocytaire de CD36 était augmentée chez la souris *Pcsk9*$^{-/-}$ (62). Cette étude aurait également mis en évidence que l'injection de PCSK9 humaine recombinante chez la souris C57Bl/6 réduirait l'expression hépatique de CD36 (62). Selon cette étude, il semblerait que la PCSK9 circulante conduise CD36 à la dégradation lysosomale (**Figure 6**).

ii. CD81

L'étude de Labonté et al. suggère que CD81, une protéine transmembranaire, serait une autre cible de PCSK9. CD81 est exprimée au niveau du foie et serait une voie d'entrée du virus de l'hépatite C tout comme le LDLR (63). En 2009, il a été suggéré que PCSK9 réduirait l'expression membranaire de CD81 *in vitro*. L'expression hépatique de CD81 serait augmentée dans la souris *Pcsk9*$^{-/-}$ et dans le double modèle *Pcsk9*$^{-/-}$ *Ldlr*$^{-/-}$. Ces mesures suggèrent que PCSK9 diminuerait l'expression de CD81 indépendamment du LDLR (63). Cependant, les travaux de Ramanathan publiés en 2016 présentent des résultats contraires. Selon cette étude, l'apport de PCSK9 sauvage ou gain de fonction exogène dans une lignée hépatique humaine ne modifierait pas l'expression membranaire de CD81. De plus, l'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-PCSK9, qui va inhiber la PCSK9 exogène, n'a pas eu d'effet sur l'expression de CD81 (64). Selon cette étude, l'expression hépatique de CD81 serait comparable entre des souris sauvages et *Pcsk9*$^{-/-}$ (64). Actuellement, il est difficile d'établir avec certitude que CD81 soit une cible de PCSK9.

iii. BACE1, APP et APLP2

En 2008, une équipe s'intéressait à l'impact de PCSK9 sur une enzyme impliquée dans la maladie d'Alzheimer, la β-site amyloid precursor protein (APP)-cleaving enzyme 1 (BACE1). BACE1 favoriserait l'accumulation de plaques séniles et serait impliquée dans le développement de cette pathologie (**cf chapitre 1, II 1**) (65). Cette étude mettait en évidence que la surexpression de PCSK9 *in vitro*, diminuerait l'expression de BACE1 (66). A l'inverse, son inhibition par siRNA augmenterait l'expression de cette protéine. En complément, l'expression de BACE1 serait augmentée dans le cortex des souris *Pcsk9*$^{-/-}$ (66). Cette étude suggérait donc que la délétion ou l'inhibition pharmacologique de PCSK9 augmenterait l'expression de

BACE1 et pourrait favoriser le développement de la maladie d'Alzheimer. Deux ans plus tard, une seconde étude a apporté des résultats inverses en montrant que l'expression de BACE1 dans le cortex de souris *Pcsk9*$^{-/-}$ ne serait pas modifiée et que la surexpression de la forme humaine de PCSK9 chez la souris ne modifie l'expression protéique de BACE1 (67). Plus tardivement, des recherches suggèrent que l'APP, une protéine clivée par BACE1 serait un ligand de PCSK9 (68). Par des expériences de co-immunoprécipitation, cette étude suggère que l'APP et l'amyloid precursor-like protein 2 (APLP2) interagiraient avec PCSK9 (68).

Ces articles ont eu le mérite de mettre en évidence des points de vigilance dans un contexte où plusieurs entreprises pharmaceutiques avaient engagé le développement d'inhibiteurs de PCSK9 (**chapitre 1, I 6**). Les données actuelles semblent suggérer que l'utilisation des anticorps monoclonaux anti-PCSK9 n'entraîne pas de surrisque de développer la maladie d'Alzheimer ou d'autres pathologies neurodégénératives (69–71).

iv. ENaC

ENaC est un récepteur membranaire impliqué dans l'homéostasie du sodium (72). Il est exprimé au niveau de la membrane apicale de l'épithélium et assurerait l'absorption du sodium (72). Des mutations de ce transporteur sont associées à de l'hypertension (73,74). En 2012, Sharotri et ses collègues ont démontré que PCSK9 est susceptible d'interagir avec ENaC et de moduler son expression protéique à la surface des cellules (**Figure 6**). L'apport de PCSK9 exogène réduirait le courant sodique (75). Ces travaux ont ouvert la question d'un potentiel rôle de PCSK9 dans l'hypertension artérielle. Pour aller plus loin, notre équipe a testé l'impact d'une déficience de PCSK9 chez la souris sur la pression artérielle (76). Nos données démontrent qu'à l'état basal, la déficience en PCSK9 ne module pas la pression

artérielle chez la souris (76). De même, en utilisant deux modèles murins d'hypertension artérielle (sensibles et insensibles au sel), nous avons montré que la déficience en PCSK9 n'affecte pas significativement la pression artérielle. Chez l'Homme, il semblerait que les variants associés à une perte de fonction pour PCSK9 et que l'utilisation d'inhibiteurs de PCSK9 n'aient pas d'effet sur la pression artérielle ou l'hypertension (77,78).

v. CMHI

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe 1 est une glycoprotéine exprimée à la surface de cellules nucléés et des plaquettes (79). Il s'agit d'un système de reconnaissance qui permet la mise en place d'une réaction immunitaire lors d'une infection. Il se compose d'une poche qui peut contenir un peptide antigénique. Ce peptide est reconnu par des lymphocytes T (LT) de type CD8 (79). Ces lymphocytes protègent l'organisme des infections virales et bactériennes mais sont également importants dans la lutte anti-tumorale. C'est dans ce contexte que l'interaction entre PCSK9 et le CMHI a été décrite. En 2020, la délétion de PCSK9 effectuée dans différentes lignées tumorales (mélanome et cancer du sein) augmente l'expression du CMHI (80). De plus, l'incubation des cellules avec de la PCSK9 endogène diminue l'expression du CMHI à leur surface. Selon cette étude, PCSK9 se fixe au CMHI par son module M2 et le conduit à la dégradation lysosomale (**Figure 6**) (80).

vi. TLR

Les Toll-like receptor (TLR) sont des récepteurs transmembranaires impliqués dans la reconnaissance des composés bactériens qui permet, entre autres, l'activation de la voie de signalisation d'un facteur de transcription, le nuclear factor (NF)-κB (81). Récemment, il a été établi que l'inhibition de PCSK9 chez la souris *ApoE*$^{-/-}$ réduirait

l'expression aortique du TLR4 et de NF-κB (82). Cette étude a mis également en évidence que l'expression du TLR4 et de NF-κB au niveau des macrophages est affectée par l'inhibition de PCSK9 *in vivo* (82). Les auteurs rapportent que les modules M1 à M3 présenteraient une homologie structurale avec la résistine, une adipokine qui serait un ligand du TLR4 (82). Compte tenu de son homologie structurale avec la résistine, il a été supposé que PCSK9 pourrait se fixer au TLR4 (82).

En conclusion, plusieurs études indépendantes suggèrent qu'au-delà du LDLR PCSK9 serait capable d'interagir avec plusieurs récepteurs et transporteurs. Nombre de ces études ont été réalisé *in vitro* avec des concentrations élevées de protéines recombinantes de PCSK9 et/ou des conditions de surexpression. La pertinence physiologique reste pour certain des candidats à être établie mais cela suggère qu'au-delà de son rôle dans le métabolisme lipidique, cette protéine pourrait exercer d'autres fonctions inconnues à ce jour.

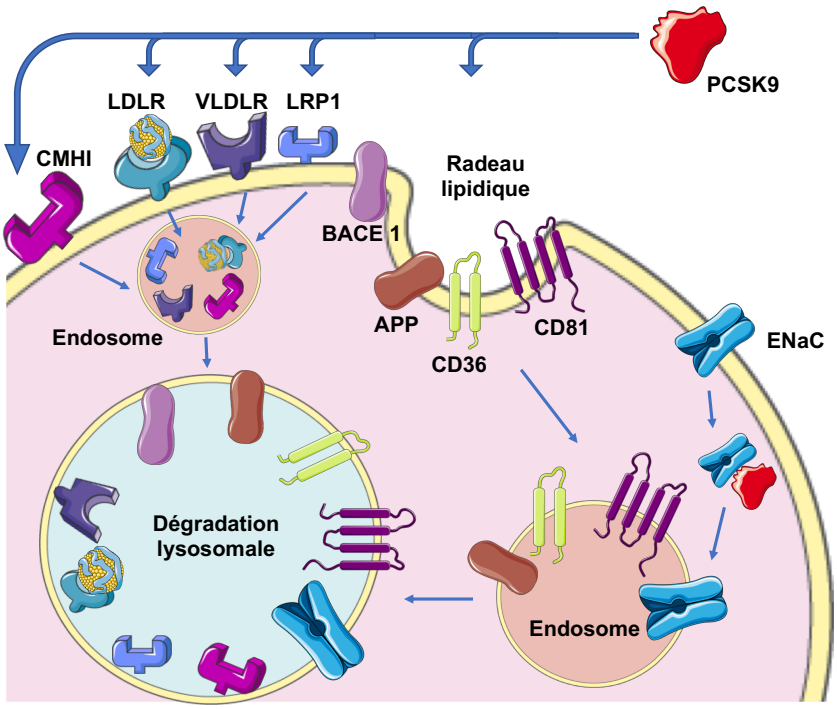


Figure 6 : Au-delà du LDLR, PCSK9 aurait d'autres cibles, adapté de Y. Guo et al., 2021.

6- Les traitements anti-PCSK9

PCSK9 exerce un rôle important dans la régulation du métabolisme lipidique (**cf chapitre 1, I 4**). De façon intéressante, il a été démontré que sa perte de fonction était associée à la diminution du risque cardiovasculaire chez l'Homme (83). De plus, des patients avec une faible concentration circulante de PCSK9 ont été identifiés dans le monde et ces sujets sont fertiles et ne présentent pas de pathologies apparentes (83–85). Sur ces éléments, PCSK9 est devenue une cible thérapeutique de choix et plusieurs entreprises pharmaceutiques ont lancé des programmes de recherche visant à développer des inhibiteurs de PCSK9. Dès 2015, les premières thérapies anti-PCSK9 ont été approuvées par la Food and Drug Administration (FDA) et sont devenus la troisième ligne thérapeutique dans le contexte de l'HF.

a. Stratégies thérapeutiques séquestrant PCSK9

i. Les anticorps anti-PCSK9

PCSK9 est une cible idéale pour la thérapie par anticorps puisque celle-ci est secrétée dans le sang. Quatre anticorps monoclonaux anti-PCSK9 ont été développés : l'alirocumab (Sanofi), l'evolocumab (Amgen), le bococizumab (Pfizer) et le tafolecimab (Innovent Biologics). Ces anticorps vont se fixer spécifiquement au domaine catalytique de la PCSK9 circulante (**Figure 7**), la séquestrer dans le sang et empêcher son interaction avec le LDLR exprimé à la surface des cellules (86). De ce fait, le LDLR n'est pas dégradé, pourra être recyclé à la membrane entrainant une augmentation de la clairance du LDL-c et une réduction de la concentration en LDL-c.

L'étude SPIRE (Evaluation of Bococizumab in Reducing the Occurrence of Major Cardiovascular Events in High Risk Subjects) a mis en évidence que le bococizumab réduit la concentration en LDL-c de moitié (87). Cependant, cet effet n'était pas

durable et n'apportait aucun bénéfice sur la survenue des MCV (87,88). Cela s'expliquait par le développement d'anticorps dirigés contre le bococizumab (88). Il s'agissait d'un anticorps humanisé comprenant 3% d'une séquence murine qui a été reconnue par le système immunitaire du patient (**cf tableau II**). Pfizer a donc abandonné le développement de ce médicament (89).

L'alirocumab et l'evolocumab sont des anticorps entièrement humanisés qui ont reçu l'approbation de la FDA (Food and Drug Administration) et l'EME (European Medicines Evaluation) en 2015. Plusieurs études cliniques ont pu démontrer l'efficacité de ces deux anticorps dans la réduction de la concentration de LDL-c, dans la diminution de la survenue d'évènements cardiovasculaires majeurs, de plus, ils présentent peu d'effets secondaires.

L'étude ODYSSEY est une étude internationale, multicentrique et randomisée en double aveugle. Cette étude menée sur 18 924 patients ayant une valeur de LDL-c supérieure à 0,7 g /L, a pu démontrer les effets bénéfiques à long termes de l'alirocumab. Cette thérapie réduit la concentration de LDL-c de 52% à 61% ainsi que les évènements cardiovasculaires de 15% (70). Cette étude a mis en évidence que l'alirocumab réduit la concentration de LDL-c chez des patients traités aux statines ou à l'ezetimibe, effet maintenu pendant les 78 semaines de l'étude (70). Cette thérapie a également démontré son efficacité chez l'individu porteur de mutation gain de fonction pour PCSK9 (90).

Le programme PROFICIO a regroupé différentes études de phase III qui ont évalué l'efficacité et la sureté de l'evolocumab à long terme (91–95). L'étude DESCARTES a mis en évidence que l'injection mensuelle de 420 mg d'evolocumab réduirait la concentration de LDL-c de 50% à 60% (96). Cette étude a été effectuée pendant 52 semaines chez des patients traités uniquement par régime alimentaire, par statine

seule à faible ou forte dose et chez des patients traités par statines à forte dose combiné à l'ezetimibe (96). Les études RUTHERFORD-2 et TESLA ont mis en évidence l'efficacité de l'evolocumab chez des patients atteints d'HF à l'état hétérozygote et homozygote respectivement (97,98). L'étude de phase 3 FOURIER réalisée sur 27 564 patients à haut risque cardiovasculaire indique que l'evolocumab induit une baisse supplémentaire de la concentration de LDL-c de 59% chez des patients traités par statine (71). Cette thérapie apporterait une réduction supplémentaire de la survenue des évènements cardiovasculaires de 15% (71).

Le tafolecimab est un anticorps entièrement humanisé développé récemment. Son utilisation dans un essai de phase III démontre une réduction de la concentration plasmatique de LDL-c de 70% dans une population chinoise atteinte d'HF à très haut risque cardiovasculaire (99). Cette étude effectuée sur 12 semaines semble démontrer l'efficacité et la sécurité de cet anticorps, il serait intéressant de mesurer ces effets sur la survenue des évènements cardiovasculaires dans une étude à long terme.

D'après plusieurs études, les anticorps anti-PCSK9 ont été décrits comme une thérapie efficace qui réduit la cholestérolémie et la survenue d'évènements cardiovasculaires seule ou combiné aux statines (**cf tableau II**). De plus, ils sont bien tolérés chez les patients qui ont peu d'effets indésirables. Cependant, ils présentent l'inconvénient de nécessiter des injections sous cutanées toutes les deux ou quatre semaines. De plus, le coût de cette thérapie est élevé et serait estimé à 5 800 dollars par an (100). L'étape suivante serait de pouvoir s'affranchir de ces injections par l'utilisation d'un vaccin afin d'accroitre la période d'efficacité thérapeutique, de réduire les coûts et de renforcer la compliance des patients (101).

ii. Les vaccins anti-PCSK9

La vaccination se caractérise par l'administration d'un élément antigénique qui sera reconnu par le système immunitaire du receveur et le stimuler. Le système immunitaire va développer une réponse immunitaire avec l'activation de lymphocytes B spécifiques de l'antigène. Les LB vont produire des anticorps spécifiques de l'antigène. La vaccination permet d'obtenir une immunité spécifique et durable avec la production d'anticorps spécifiques.

Récemment, ce principe a été mis en place dans la stratégie thérapeutique anti-PCSK9. Cette approche permettrait la production d'anticorps spécifiques de la séquence N-terminale de PCSK9 (102). Comme décrit précédemment (**cf chapitre 1, I 3**), cette séquence contiendrait le domaine de liaison au domaine EGF-A présent sur le LDLR. De plus, cette séquence est relativement conservée entre l'Homme et la souris, ce qui a favorisé les études précliniques sur modèle murin.

En 2021, les effets de la thérapie anti-PCSK9 par vaccination ont été vérifiés chez la souris C57Bl/6. Les auteurs ont constaté la formation d'anticorps anti-PCSK9 (102). Selon cette étude, la cholestérolémie totale des animaux était réduite de 20 à 38% et celle du LDL-c de 36 à 57% (102). Cette étude a également vérifié les effets bénéfiques de cette thérapie dans un modèle murin développant de l'athérosclérose sous alimentation pro-athérogénique. La vaccination anti-PCSK9 dans ce modèle réduit ainsi la taille des lésions d'athérome de 24% (102).

Cette approche a ensuite été testée chez le macaque (**cf tableau II**) et la vaccination anti-PCSK9 permettrait la production d'anticorps anti-PCSK9 et la diminution de la fixation de PCSK9 sur le LDLR de 33% (103). Cependant, malgré une tendance, la cholestérolémie totale et la concentration plasmatique de LDL-c ne sont pas réduites significativement chez les singes (103). Récemment, une autre équipe a mis au point

une seconde thérapie anti-PCSK9 par vaccination et a mesuré ses effets chez le macaque (104). Cette vaccination anti-PCSK9 réduit les concentrations circulantes de PCSK9, stimule l'expression hépatique du LDLR et diminue les concentrations plasmatiques de LDL-c de 25 à 30% (**cf tableau II**) (104).

Les premiers résultats de thérapie par vaccination semblent être encourageants chez la souris et le macaque sans induire d'effets indésirables notables. La preuve de l'efficacité et la sureté de cette thérapie chez l'Homme reste à être apportée.

iii. Les protéines et peptides synthétiques

D'autres stratégies ont été développées afin d'empêcher/réduire l'interaction de PCSK9 avec le LDLR. Elle repose sur l'utilisation de protéines ou de peptides qui vont mimer la structure ciblée telle que le domaine EGF-A par exemple. Dans notre contexte, l'utilisation de ces peptides ou protéines vont créer une interaction compétitive et limiter l'interaction entre PCSK9 et le LDLR. On peut citer trois outils conçus dans la thérapie anti-PCSK9 : les adnectines, les peptides synthétiques et les peptides macrocycliques (**Figure 7**).

iii.1 Les adnectines

Les adnectines sont des petites protéines de 12 kDa qui présentent une forte affinité pour PCSK9 (105). En 2014, une équipe a mesuré les effets d'une adnectine notée BMS-962476 sur plusieurs modèles. L'adnectine augmente l'expression du LDLR à la surface d'une lignée hépatique humaine, les cellules HepG2 (105). Chez le macaque, l'injection l'adnectine réduit la cholestérolémie de 35% sur une période d'au moins deux semaines (**cf tableau II**) (105). Cette stratégie thérapeutique serait moins onéreuse et plus facile à produire que les anticorps. Elle pourrait alors devenir une alternative aux anticorps monoclonaux mais son efficacité et sa sécurité restent également à être démontrées chez l'Homme.

iii.2 Les peptides mimétiques

Ces peptides se composent d'une séquence peptique qui mime la structure du domaine EGF-A. Par principe, ils sont reconnus par PCSK9 et limitent son interaction avec le LDLR (**Figure 7**). En 2014, différents analogues du domaine EGF-A ont été testés *in vitro* dans une culture de cellules hépatiques HuH7 et les résultats obtenus confirment que les analogues induisent une augmentation du nombre de LDLR à la surface des cellules (106). Une seconde étude a caractérisé l'effet de Pep2-8, un autre peptide inhibiteur (107). *In vitro*, l'apport de Pep2-8 augmenterait l'expression du LDLR à la surface des HepG2 (107). L'efficacité d'un autre inhibiteur de PCSK9 a été démontrée *in vitro*, puis son administration orale chez la souris humanisée, *ApoE*3Leiden.Cetp*, réduit la concentration plasmatique de cholestérol (108,109). Cette approche anti-PCSK9 par voie orale éviterait les injections sous-cutanées répétées mais il serait nécessaire de mesurer son efficacité chez l'Homme.

iii.3 Peptides macrocycliques

Les peptides macrocycliques sont constitués d'une partie cyclique qui est spécifique d'une cible et leur faible poids moléculaire rend possible l'administration par voie orale (110). Très récemment, un peptide macrocyclique a été mis au point, il cible efficacement PCSK9 et inhibe son interaction avec le LDLR (111). Ce premier peptide a été optimisé pour limiter son oxydation aboutissant au MK-0616. Chez l'Homme, l'administration par voie orale du MK-0616 a permis de diminuer la concentration plasmatique de LDL-c d'environ 58% (112). L'efficacité de cet outil thérapeutique a été vérifiée à plus grande échelle au cours d'une étude regroupant 375 participants (113). Ce traitement réduirait la concentration de LDL-c de 40% à 60% environ (**cf tableau II**) (113). Elle apporterait un bénéfice à la thérapie par statine ou ezetimibe en diminuant la cholestérolémie des patients traités de 12% à

18% et de 20% à 25% respectivement (113). Cette thérapie apporte donc des effets prometteurs dans la thérapie anti-PCSK9 puisque celle-ci permet de réduire la concentration de LDL-c et semble être bien tolérée chez les patients (113).

b. Thérapies inhibant l'expression de PCSK9

i. Les oligonucléotides anti-sens

Cette nouvelle classe thérapeutique reconnait spécifiquement un ARN messager cible et inhibe la production de la protéine correspondante (114). La fixation de l'oligonucléotise anti-sens (OAS) sur sa cible va former un hétéroduplexe ARN-ADN qui sera reconnu par une ribonucléase qui va catalyser la dégradation de l'ARNm cible (**Figure 7**) (114).

Un oligonucléotide (ISIS 394814) spécifique de l'ARNm de PCSK9 a été testé en 2007 chez la souris. Après 6 semaines de traitement, cet OAS réduit l'expression transcriptionnelle de PCSK9 de 92% et augmente l'expression du LDLR (115). Cette stratégie réduit la cholestérolémie totale des animaux de 52% et la concentration de LDL-c de 32% (115). En 2010, l'utilisation d'un nouvel oligonucléotide, noté SPC4061, présenté comme étant plus stable, plus affin et spécifique de PCSK9 a été testé. 24 heures après l'injection intraveineuse de SPC4061 chez la souris, l'expression transcriptionnelle de PCSK9 est réduite de 60% et l'expression hépatique du LDLR était doublée voire triplée pendant 8 jours (116). Cependant, les effets de l'OAS ne persistent pas au-delà de 16 jours (116). Chez le macaque, il a été démontré que l'injection de SPC4061 réduit l'expression transcriptionnelle de PCSK9 et la concentration de PCSK9 circulante de l'ordre de 85%, diminue la concentration de LDL-c de 50% (**Tableau II**) (117). Cette stratégie thérapeutique a été abandonnée en 2013 suite au retrait du mipomersen (OAS validé dans la thérapie de l'HF homozygote) à cause de forts effets secondaires (118,119).

En 2021, une nouvelle classe d'OAS développée pour la voie orale a été mesurée dans le contexte de la thérapie anti-PCSK9 (120). Selon cette étude, l'OAS réduirait la concentration plasmatique de PCSK9 et de LDL-c de 80% et 67 % respectivement chez la souris (120). L'injection de cet OAS chez le patient hypercholestérolémique réduirait la concentration de LDL-c de 68% (**Tableau II**) (120). L'administration de ce traitement par voie orale réduit la concentration circulante de PCSK9 et de LDL-c de 50% chez le chien (120).

ii. Les siRNA

Cette stratégie se base sur l'injection d'un siRNA qui va interférer avec la production d'une protéine (**Figure 7**). Pour cela, un complexe sera formé sur l'ARNm ciblé qui sera reconnu par une endoribonucléase (121,122). L'inclisiran est un siRNA dirigé contre PCSK9 développé par Novartis. Il permet une réduction de 70% de la concentration plasmatique de PCSK9 chez l'Homme et une réduction de la concentration de LDL-c de 40% (**tableau II**) (123). L'inclisiran renforce également la thérapie par statines chez des patients à fort risque cardiovasculaire en induisant une baisse complémentaire de la concentration de LDL-c d'environ 50% (123).

En conclusion, l'inclisiran a des effets hypocholestérolémiants comparables aux anticorps monoclonaux et présente l'avantage d'exercer des effets plus durables (6 mois après une seule injection). Suite à l'étude ORION, son utilisation a été approuvée chez les patients atteints d'une dyslipidémie ou d'une HF à l'état hétérozygote (124).

iii. Utilisation de la méthode CRISPR/Cas9

La technologie Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR) associée à la Cas 9 est un procédé qui permet la suppression ou la modification d'un gène. Cette technique se base sur l'induction d'un clivage double brin de l'ADN dans

une région d'intérêt et va détourner le processus de réparation à l'aide d'un modèle exogène (**Figure 7**) (125).

En 2015, l'effet de l'édition génomique de PCSK9 a été mesuré chez la souris. Il en résultait une diminution significative de la concentration circulante de PCSK9 et du cholestérol total (de 35 à 40%) (126). En 2021, ce principe a été étudié chez le macaque où une réduction de la concentration plasmatique de PCSK9 de 81% et de 65% pour le LDL-c ont été constatées (**Tableau II**) (127). La seconde étude chez le macaque montre une réduction de la PCSK9 circulante et du LDL-c de 39% et 19% respectivement (128). En 2023, il a été estimé que cette approche apporte un bénéfice à long terme chez le singe (**Tableau II**) (129). Plus de 470 jours après l'injection, cette thérapie réduit la concentration plasmatique de PCSK9 de plus de 80% et la concentration de LDL-c d'environ 70% (129). Les essais cliniques ont débuté en 2022 et sont toujours en cours. En conclusion, cette approche démontre des effets réducteurs dans la cholestérolémie dans différents modèles mais son efficacité reste à être démontrée chez l'Homme.

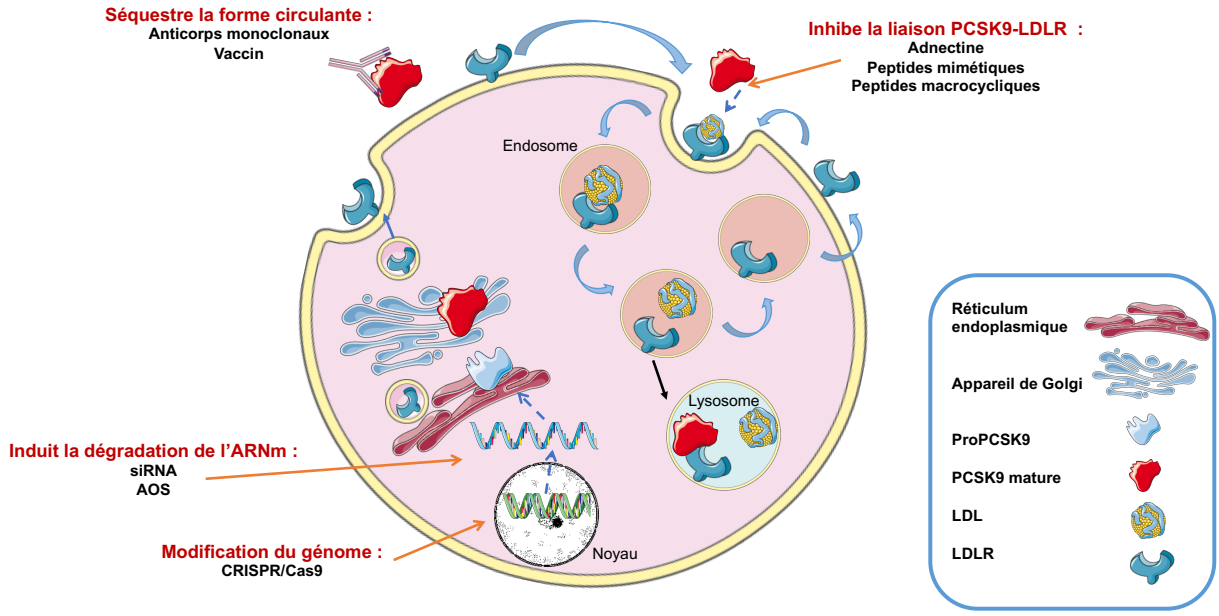


Figure 7 : Mode d'action des stratégies thérapeutiques anti-PCSK9

Tableau II : Résumé des thérapies anti-PCSK9

		↙ LDL-c	Modèle / sujet	Commentaires	Références
Stratégies séquestrantes	Bococizumab	50%	Phase III	Immunité contre le traitement	Ridker et al., 2017
	Tafolecimab	70%	Patients à haut risque cardiovasculaire	Etude de 12 semaines	Qi et al., 2023
	Alirocumab Evolocumab	60%	Individus HF Sujets haut risque cardiovasculaire	Injection sous-cutanée (15 jours / mensuelle) Bénéfices ajoutés aux statines et à l'ezetimibe	Robinson et al., 2015 Sabatine et al., 2017
	Vaccin	36 – 57% (souris) 25 – 30 % (singe)	Souris et macaque	Injection sous-cutanée annuelle Peu onéreuse	Momtazi-Borojeni et al., 2021 Fowler et al., 2023
	Adnectines	35%	Souris et macaque	Peu onéreuse	Mitchell et al., 2014
	Peptides mimétiques		HuH7 / HepG2 Souris	Forte affinité	Schroeder et al., 2014 Zhang et al., 2014
	Peptides macrocycliques	40 – 60%	Phase I et II	Voie orale Bénéfices supplémentaires aux statines et à l'ezetimibe	Johns et al., 2023 Ballantyne et al., 2023
Stratégies inhibant l'expression	OAS	50% (souris, chien et singe) 68% (Homme)	Souris, chien, macaque et Homme	Voie orale Abandonné pendant 10 ans	Graham et al., 2007 Gupta et al., 2010 Lindholm et al., 2012 Gennemark et al., 2021
	siRNA (Inclisiran)	40%	Patients à haut risque cardiovasculaire	Injection sous-cutanée deux fois par an Bénéfice ajouté aux statines	Fitzgerald et al., 2017
	Edition de génome	35-40% (souris) 65-70% (singe)	Souris et singe	Etude clinique en cours	Ding et al., 2015 Musunuru et al., 2021 Lee et al., 2023

Abandonné
Etude pré-clinique
Etude clinique
Mis sur le marché

II- Fonctions extra-hépatiques de PCSK9

Au-delà de son expression hépatique majoritaire, PCSK9 est également exprimée de façon importante au niveau de l'intestin grêle, du colon, du rein et du cerveau (1,130,131). En 2008, la comparaison entre la déficience totale et hépatique en PCSK9 *in vivo* semble indiquer que le foie serait responsable d'une diminution de la cholestérolémie d'environ 60% (132). Si on se base sur cette étude, l'action extra-hépatique de PCSK9 ne serait pas donc négligeable. Au-delà de son effet régulateur dans le métabolisme du cholestérol, différentes études ont suggéré que PCSK9 serait susceptible d'exercer d'autres fonctions.

1- Système nerveux central

a. La neurogénèse

L'expression de PCSK9 au niveau du système nerveux central a été décrite pour la première fois en 2003 (**cf chapitre 1, I 1**) (1). Au cours du développement embryonnaire, l'expression de cette protéine a été déterminée dans des régions cérébrales associées à une neurogénèse active (1). De plus, il a été établi que

l'expression de PCSK9 serait induite au cours de la différenciation de cellules pluripotentes en neurones ou astrocytes *in vitro* (**Figure 8**) (1,133). Chez le zebrafish, une expression de PCSK9 a été détectée dans des zones caractérisées par une neurogénèse active (133). La sous-expression de PCSK9 dans ce modèle induirait une dégénérescence du système nerveux central et serait létale (**Figure 8**) (133). En revanche, les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ ne présentent pas de malformation de leur système nerveux central (45). De plus, il semblerait que PCSK9 soit associée à une malformation du tube neural, le spina bidifa. En effet, sa concentration plasmatique était réduite chez les rates et les femmes portant un fœtus atteint de spina bifida (134,135). Ces différentes données permettent de supposer que PCSK9 serait un biomarqueur de malformation neurale.

b. La maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer représente la plus grande cause de démence chez la personne âgée de plus de 60 ans (136). Elle est marquée par des lésions cérébrales induites par l'accumulation de peptides β amyloïdes (65). Comme décrit dans la **partie I 5**, BACE1 est une enzyme qui clive le précurseur de ces peptides (65). En plus de ces plaques, l'apoptose des neurones peut se mettre en place (137). Dans le début des années 2000, des études ont associé l'hypercholestérolémie avec la survenue de cette pathologie (138,139). En 2011, il a été démontré que l'utilisation de thérapie hypocholestérolémiante pourrait réduire le risque de survenue de la maladie d'Alzheimer (140). Dans ce contexte, quelques études ont vérifié l'effet possible de PCSK9.

Comme nous l'avons décrit dans la **partie I 5**, l'implication de PCSK9 dans la régulation de l'expression de BACE1 est controversée chez la souris (66,67). Il a été supposé plus tardivement *in vitro* que l'hypercholestérolémie induite par une

mutation gain de fonction de PCSK9 pourrait induire l'accumulation de lipides dans les neurones et favoriser le développement de l'apoptose neurale (141). Il serait alors intéressant de vérifier la relevance physiologique de cette observation *in vivo* ou chez le sujet atteint d'une mutation gain de fonction de PCSK9. En revanche, à notre connaissance, aucune étude n'a pu établir une association entre ces variants et la survenue de la maladie d'Alzheimer.

Plus récemment, il a été démontré que l'inhibition de PCSK9 atténuerait l'agrégation des peptides β amyloïdes *in vivo* et préviendrait la perte du volume dendritique associée à cette pathologie (142). De façon physiologique, la clairance des peptides β amyloïdes se fait à travers la barrière hémato-encéphalique. Celle-ci est médiée par différents récepteurs tels que l'ApoER2, le VLDLR, CD36 ou encore LRP1 (143,144). Une étude semble indiquer que l'accumulation des peptides β amyloïdes ne serait pas liée à leur surproduction mais à un défaut de clairance (145). La délétion de LRP1 chez la souris conduirait à l'accumulation des peptides β amyloïdes et à des défauts mémoriels (146). De façon intéressante, LRP1 et les récepteurs décrits ci-dessus ont été présentés comme des cibles potentielles de PCSK9 (**cf chapitre 1, I 5**).

L'expression endogène de PCSK9 a été induite dans une lignée de cellules endothéliales neurales murines, les cellules bEnd.3 par transfection virale (147). Selon leurs estimations, l'expression de PCSK9 réduirait l'expression de LRP1 et serait associée à une diminution du transport des peptides β amyloïdes de 42% (147). Cet effet serait inhibé dans une lignée bEnd.3 *LRP1*$^{-/-}$. Les auteurs ont ensuite vérifié leur théorie *in vivo* en utilisant des souris 5xFAD (modèle de référence dans l'étude de la maladie d'Alzheimer) exprimant l'APP humaine et prédisposées à l'accumulation des peptides β amyloïdes. Leur étude montre trois éléments

importants : 1) l'injection d'alirocumab réduit l'accumulation des peptides β amyloïdes chez les souris 5xFAD; 2) la délétion de LRP1 chez les souris 5xFAD (souris 5xFAD *LRP1*$^{-/-}$) est associée à une accumulation des peptides β amyloïdes ; 3) l'alirocumab n'est plus efficace pour réduire l'accumulation des peptides chez les souris 5xFAD *LRP1*$^{-/-}$ (**Figure 8**) (147). Chez l'Homme, différentes études suggèrent que les polymorphismes de PCSK9 et ses variants pertes de fonction ne sont pas associés à la survenue de la maladie d'Alzheimer (148–152). Néanmoins, une étude précise que des variants génétiques de PCSK9 permettant à une réduction de la concentration de LDL-c seraient associés à la réduction du risque de démence (153). De plus, une surexpression de PCSK9 au niveau du cortex frontal, centre de la mémoire, a pu être déterminée dans des cerveaux de patients atteints d'un Alzheimer tardif (154). La concentration de PCSK9 au niveau du liquide céphalorachidien serait augmentée chez les patients atteints d'Alzheimer (155). En revanche, notre équipe ne semble pas montrer de différence (156).

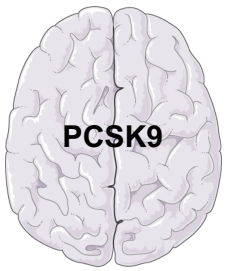
c. Les troubles neurocognitifs

La survenue de troubles neurocognitifs (perte de mémoire, confusion ou oublis) aurait été associée à l'utilisation de thérapies réduisant la cholestérolémie, notamment les statines (157). Les effets à long terme des anticorps monoclonaux anti-PCSK9 ne semblent pas révéler d'apparition de troubles neurocognitifs (70,71). La présence de variants perte de fonction pour PCSK9 n'est pas associée à l'augmentation d'incidence de troubles neurocognitifs (**Figure 8**) (158–160). En utilisant une approche génétique, une autre étude a montré un risque accru de dépression lors d'un traitement par statines et inhibiteurs de PCSK9 (161). De même, un variant perte de fonction, noté rs1159147 serait associé à la survenue de troubles dépressifs (**Figure 8**) (162). Dernièrement, une méta-analyse semble indiquer que

l'utilisation d'anticorps anti-PCSK9 ne favoriserait pas la survenue de troubles neurocognitifs (69).

Neurogenèse

- Son expression serait induite au cours de la différenciation neuronale ou astrocytaire
- Sa délétion chez le zébrafish induit la dégénérescence du système nerveux central
- Les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ ne présenteraient pas de malformation du système nerveux central
- Elle serait associée à une malformation de la crête neurale chez le rat et l'Homme



Troubles neurocognitifs

- Son inhibition à long terme ne semble pas favoriser l'apparition de troubles neurocognitifs
- Son inhibition ou sa perte de fonction pourraient être associées à la survenue de troubles dépressifs

La maladie d'Alzheimer

- Son inhibition, *in vivo*, réduirait l'accumulation des peptides β amyloïdes
- Cet effet pourrait être dépendant de LRP1

Figure 8 : Fonctions identifiées de PCSK9 au sein du système nerveux central

2- Paroi artérielle

Il est clairement établi que l'hypercholestérolémie est un facteur de risque majeur dans le développement de l'athérosclérose. Cette pathologie se caractérise par le dépôt de plaques lipidiques au niveau de la paroi artérielle. Le vaisseau sanguin comprend principalement de cellules endothéliales (CE) et de cellules musculaires lisses (CML). A l'état physiologique, les CE sécrètent des molécules vasodilatatrices et vasoconstrictrices. L'hypercholestérolémie va induire une dysfonction des cellules endothéliales où un déséquilibre entre la sécrétion de molécules vasodilatatrices et de facteurs contractiles va favoriser la progression de la plaque (163). Les CML passeront d'un profil contractile à un profil associé à la synthèse accrue de collagène. Elles auront également un état de prolifération et une migration augmenté (164).

a. Effet de PCSK9 sur les composants de la paroi artérielle

i. Les cellules musculaires lisses

Plusieurs études ont décrit une expression basale et inductible sous stimuli (forces de cisaillement, insuline, résistine ou lipopolysaccharide (LPS)) de PCSK9 dans des cultures primaires de CML humaines (165–167). Il a été suggéré que la sécrétion de PCSK9 par les CML régule l'expression du LDLR à la membrane des macrophages (168). Quatre ans plus tard, cette même équipe a démontré que la délétion de PCSK9 dans une culture primaire de CML diminue leur capacité de prolifération et de migration (58). La répression d'expression de PCSK9 *in vitro* induit une baisse d'expression de deux molécules impliquées dans la physiopathologie de l'athérosclérose : Lectin-like ox-LDL receptor 1 (LOX-1) et vascular cell adhesion proteine 1 (VCAM-1) (169). LOX-1 est impliqué dans l'internalisation des particules de LDL oxydées (LDL-ox). VCAM-1 est une molécule d'adhésion qui favorise, via sa capacité à lier les monocytes et lymphocytes, la phase inflammatoire de l'athérosclérose. Récemment, il a été montré que la surexpression de la forme humaine de PCSK9 dans des CML de rat diminue l'expression de la transgeline, un marqueur du phénotype contractile (**Figure 9**) (170).

ii. Les cellules endothéliales

Les données sur l'expression et la fonction de PCSK9 sur les cellules endothéliales sont rares et souvent contradictoires. Une expression basale de PCSK9 aurait été détectée dans des CE primaires humaines et serait induite par un traitement au LPS (165–167) alors que son expression n'est pas détectée dans des cellules HUVEC (cellules endothéliales humaines provenant de veine ombilicale) (58). Actuellement, deux études auraient mesuré le rôle probable de PCSK9 sur la fonction endothéliale. La première met en évidence que l'evolocumab améliorerait la fonction endothéliale

chez le sujet atteint d'HF et traité pendant un an (171) alors qu'une exposition plus courte de 10 semaines à l'alirocumab sur des patients atteints de d'hypercholestérolémie et à fort risque cardiovasculaire est sans effet (172). En outre, les effets de PCSK9 sur la fonction endothéliale ne sont pas caractérisés entièrement (**Figure 9**). Des études complémentaires seraient nécessaires afin d'envisager au mieux l'effet possible de PCSK9 sur ce type cellulaire.

b. Effet de PCSK9 dans des pathologies de la paroi artérielle

i. L'athérosclérose

i.1 Généralités

L'athérosclérose est une MCV touchant les artères de moyen et gros calibres. Elle se caractérise par l'apparition de plaques d'athérome induites majoritairement par l'accumulation de lipides, le recrutement de cellules inflammatoires et des dépôts calcifiés. Les graves complications de l'athérosclérose sont liées à la rupture des plaques, susceptibles de former un thrombus et de bloquer la circulation sanguine et provoquer une ischémie.

i.2 Effet de PCSK9 dans le développement des plaques d'athérome

L'effet de PCSK9 a été testé dans plusieurs modèles murins prédisposés au développement de l'athérosclérose. La surexpression de PCSK9 dans un modèle de souris C57BL6/J sous régime western diet est suffisante pour induire un développement d'athérosclérose sur la crosse aortique (173). De façon similaire, la déficience en PCSK9 chez des souris *ApoE*$^{-/-}$ entraîne une baisse de la cholestérolémie et une réduction de la plaque d'athérosclérose alors que la surexpression de PCSK9 aggrave le phénotype lipidique et accroit les lésions atherosclérotiques (173). En 2017, une technique associant la surexpression hépatique de PCSK9 et la ligature partielle de la carotide a été décrite et permet

d'obtenir un développement très rapide (3 semaines) des plaques athéromateuses (174). Une autre étude indépendante a démontré dans un modèle de souris humanisée, la souris *ApoE*3Leiden.Cetp*, que l'inhibition pharmacologique de la forme plasmatique de PCSK9 est suffisante pour réprimer le développement de l'athérosclérose, améliorer la morphologie de la plaque et renforcer les effets hypolipémiants des statines (175). Enfin, une étude utilisant des modèles de souris plus originaux, présentant une double ou triple déficience respectivement pour le Ldlr, ApoBec1 et/ou Pcsk9 (souris *Ldlr*$^{-/-}$*Apobec1*$^{-/-}$ et souris *Ldlr*$^{-/-}$*Apobec1*$^{-/-}$*Pcsk9*$^{-/-}$), suggère que PCSK9 pourrait affecter le développement de la plaque d'athérosclérose indépendamment de son action sur le LDLR en altérant la sécrétion d'ApoB et le fonctionnement endothélial (176).

Chez l'Homme, l'étude PLIC (Presence and progression of Lesions In Carotid arteries) suggère une corrélation positive entre la concentration plasmatique de PCSK9 et l'épaisseur de l'intima et de la média (177). PCSK9 a pu être détectée *ex vivo* dans des lysats de plaques d'athérome humains (58,178). En 2018, une étude menée chez l'Homme met en évidence que l'evolocumab réduit le volume et le nombre de plaques coronariennes mais ne modifierait pas leur composition (179). L'augmentation de la concentration plasmatique de lipoprotéine a (Lp(a)) est un facteur de risque important dans l'aggravation des plaques d'athérome (180,181). D'ailleurs, la concentration plasmatique de PCSK9 et de la Lp(a) est considérée comme un biomarqueur de calcification des plaques (182). Il semblerait que la PCSK9 exogène module la sécrétion de Lp(a) dans une culture primaire d'hépatocyte (183). La perte de fonction pour PCSK9 réduit la concentration plasmatique de Lp(a) chez l'Homme et s'associe à une diminution du risque cardiovasculaire (184). Plusieurs études mettent en avant que l'inhibition de PCSK9

diminue les concentrations de LP(a) (179,185–187) et ce, indépendamment de la taille de l'apolipoprotéine a (185).

En conclusion, ces différentes études démontrent l'implication de PCSK9 dans le processus d'athérosclérose (**Figure 9**).

i.3 Effet de PCSK9 dans l'agrégation plaquettaire

Les particules de LDL-ox favorisent la formation et l'activité des plaquettes et participent à la formation du thrombus (188). L'activation des plaquettes peut se détecter par la surexpression de marqueurs d'activations tels que la forme soluble de la P-Selectine (189). Mais également par l'expression d'un marqueur prothrombotique et vasoconstricteur, le 11-déhydro-thromboxane B2 (189).

Des concentrations plasmatiques élevés de PCSK9 ont été significativement corrélées avec le 11-déhydro-thromboxane B2 (190) mais aussi avec la réactivité plaquettaire (191). Ces données ont été confirmées en 2020 où il a été précisé qu'une forte concentration en PCSK9 était corrélée au recrutement et à l'agrégation plaquettaire. De plus, elle est associée à une plus forte expression de la P-Selectine (192). La thérapie par anticorps monoclonal chez le sujet hypercholestérolémique diminuerait l'agrégation plaquettaire et l'expression de marqueurs d'activation plaquettaire (188). En conclusion, PCSK9 serait associée à l'agrégation et à l'activation plaquettaire (**Figure 9**).

ii. L'accident vasculaire cérébral

Selon l'OMS, l'accident vasculaire cérébral représente la deuxième cause de mortalité mondiale (193). *In vivo*, dans un modèle d'AVC ischémique chez la souris, l'occlusion transitoire d'une artère cérébrale induit une augmentation de l'expression de PCSK9 et une réduction de celle du LDLR au niveau du gyrus denté (194). En revanche, la déficience totale en PCSK9 n'affecte ni le volume de lésion (194–196),

ni le comportement de l'animal après l'induction de l'AVC ischémique transitoire (194). Dans une seconde étude, il a été montré que l'ischémie cérébrale chez la souris est associée à une augmentation d'expression de PCSK9 au niveau du cortex et de l'hippocampe (197). La répression d'expression de PCSK9 par une approche shRNA diminue les dommages tissulaires en réduisant l'apoptose par un mécanisme dépendant d'ApoER2 (197). En 2022, il a été confirmé que l'expression de PCSK9 se trouvait augmentée dans le tissu cérébral après un AVC ischémique chez le rat (198). L'inhibition de PCSK9 par injection intrapéritonéale de Pep 2-8 immédiatement après l'AVC réduit le volume des lésions, le pourcentage de cellules apoptotiques et améliore les fonctions neurologiques de l'animal (198) (**Figure 9**).

Chez l'Homme, le variant E670G associé à une augmentation de la concentration plasmatique de LDL-c, a été identifié comme prédictif de la survenue de l'athérosclérose au niveau des gros vaisseaux cérébraux (199) et du risque de survenue d'AVC (200–202). Trois autres variants provenant de la population chinoise sont également associés à la survenue d'un AVC ischémique (203). En 2018, une mutation faux-sens, rs11591147, associée à une perte de fonction pour PCSK9 présente un effet protecteur face à la survenue de l'AVC ischémique (159). En revanche, d'autres études ne semblent pas retrouver d'association entre des polymorphismes associés à une perte de fonction et l'AVC ischémique (204–206). De même, aucun variant de PCSK9 d'une cohorte taiwanaise et chinoise n'est associé à cette pathologie (207,208). Plusieurs études interventionnelles ou méta-analyses indépendantes soulignent que l'usage d'inhibiteurs de PCSK9 est associé à une réduction significative des AVC (69,209–211).

En conclusion, plusieurs études suggèrent que PCSK9 est associé à la survenue de l'AVC. Des études précliniques et cliniques suggèrent que l'inhibition de PCSK9 pourrait améliorer le risque de la survenue d'un AVC ischémique (**Figure 9**).

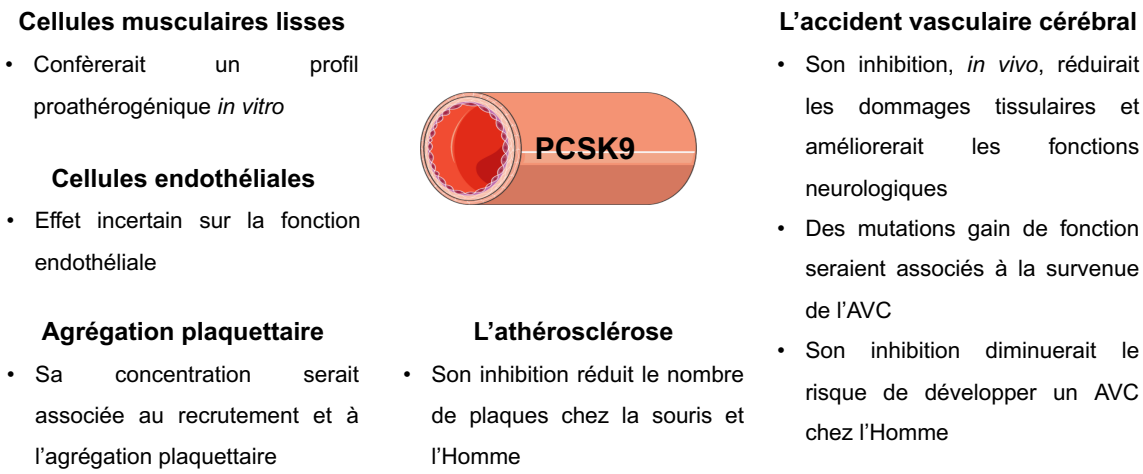


Figure 9 : Rôle de PCSK9 au niveau du vaisseau

3- Le cœur

Le rôle de PCSK9 au niveau du cœur n'a été étudié que récemment. Les cardiomyocytes internalisent de façon plus importante les particules de LDL-ox que les particules de LDL-c (212). Par ailleurs, l'expression de LOX-1 est plus importante par rapport à celle du LDLR (213). L'incubation des particules de LDL-ox avec des cardiomyocytes diminue leur vitesse de relaxation et de contraction (214).

Schlüter et al. ont été les premiers à mesurer une expression basale de PCSK9 dans les cardiomyocytes ventriculaires de rat et démontrer que cette expression est modulable par les LDL-ox (213). En outre, la supplémentation de ces cellules avec de la PCSK9 recombinante diminue la vitesse de contraction et de relaxation des cardiomyocytes. De plus, la vitesse de relaxation et de contraction des cardiomyocytes de souris *Pcsk9*$^{-/-}$ est augmentée par rapport à des cardiomyocytes sauvages (**Figure 10**) (214). Enfin, l'administration d'alirocumab diminue la pression ventriculaire de cœurs isolés de rats (214).

a. Effet de PCSK9 au cours de l'ischémie cardiaque

Suite à un infarctus du myocarde, le cœur se retrouve en hypoxie. La reperfusion de cet organe se met en place afin que celui-ci puisse retrouver sa fonction. Cependant, cela entraine des conséquences tissulaires avec la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), une dysfonction mitochondriale ainsi que l'apoptose des cardiomyocytes (215,216).

L'effet de PCSK9 a récemment été étudié au cours de ce processus (**Figure 10**). L'exposition de cardiomyocytes, *in vitro*, à une ischémie augmente l'expression de PCSK9 qui est corrélée à la production de ROS (130). L'expression de PCSK9 est également augmentée une semaine après l'induction d'une ischémie cardiaque par ligature de l'artère coronaire chez la souris et le rat mais cela n'aurait aucun effet sur l'expression du LDLR (130,217,218). En 2018, il a été démontré que la déficience de PCSK9 ou son inhibition *in vivo* améliore la fonction cardiaque et réduit la taille de l'infarctus (130). Chez le rat, l'inhibition de PCSK9 avant l'induction de l'ischémie améliorerait la fonction du ventricule gauche. L'inhibition de PCSK9 dans ce modèle limite la production de ROS induits par la dysfonction mitochondriale et diminue l'apoptose des cardiomyocytes (217). Récemment, la ligature de l'artère coronaire chez la souris *Pcsk9*$^{-/-}$ démontre une nette amélioration histologique du tissu cardiaque avec une diminution de la fibrose et de l'infiltration des cellules inflammatoires et d'un point de vue fonctionnel une amélioration significative de la fonction ventriculaire aurait été constatée (218). Chez l'Homme, il semblerait que la concentration circulante de PCSK9 ne soit pas associée à la sévérité, ni au nombre d'hospitalisation liée à un infarctus du myocarde (219).

b. Effet de la délétion totale et spécifique de PCSK9 sur le muscle cardiaque

En 2021, une équipe a comparé l'effet d'une délétion totale ou hépatique de PCSK9 sur le métabolisme et la fonction cardiaque. La délétion totale de PCSK9 chez la souris induirait des signes d'hypertrophie cardiaque liée à l'augmentation de l'épaisseur du ventricule gauche (220). Ces souris seraient également atteintes d'une dysfonction mitochondriale cardiaque et d'une altération de la résistance à l'effort. Ces mesures ont également été réalisées dans un double modèle *Pcsk9*$^{-/-}$ *Ldlr*$^{-/-}$ qui ne présente pas de différence avec les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ suggérant que le LDLR n'interviendrait pas dans le phénotype (220). Les souris présentant une délétion uniquement hépatique pour PCSK9 ne présentent pas de difficulté à l'effort indiquant que les effets observés ne sont pas dus à la forme circulante de PCSK9 (220). Récemment, une lignée de souris présentant une délétion spécifique de PCSK9 dans les cardiomyocytes (CM-*Pcsk9*$^{-/-}$) a été réalisée (221). Les souris CM-*Pcsk9*$^{-/-}$ développent une fibrose cardiaque, une hypertrophie, une dilatation du ventricule gauche et une réduction de l'espérance de vie de ces souris (**Figure 10**). Les auteurs suggèrent que la délétion cardio-spécifique de PCSK9 pourrait induire une sous-régulation de gènes impliqués dans la contraction cardiaque et dans le métabolisme mitochondrial (221).

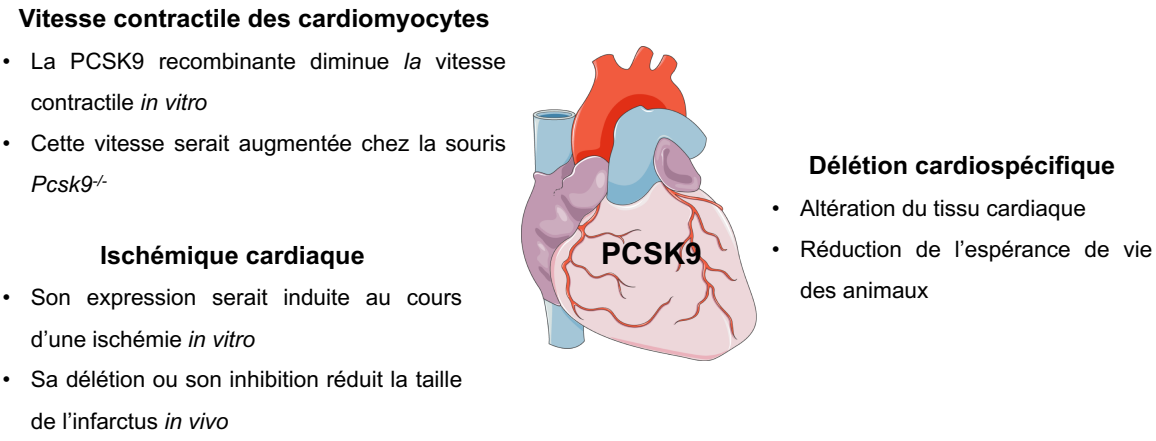


Figure 10 : Fonctions de PCSK9 au niveau cardiaque

4- Intestin

L'intestin joue un rôle clef dans le métabolisme énergétique. Il est impliqué dans la digestion des aliments et assure le passage des nutriments vers la circulation sanguine. De ce fait, cet organe contribue à l'absorption des lipides alimentaires et est impliqué dans la régulation de la cholestérolémie et des lipoprotéines (222,223). L'intestin est le second organe majoritaire d'expression de PCSK9 (131,132). PCSK9 est faiblement exprimée au niveau de l'estomac, mais son expression est plus importante au niveau du duodénum, de l'iléon et du colon. PCSK9 est exprimée par les entérocytes et les cellules à mucus (131,224). Comme évoqué précédemment, la comparaison phénotypique des souris présentant une déficience totale ou hépatique de PCSK9 (132) a souligné l'importance métabolique des tissus extra-hépatiques dans les actions de PCSK9.

a. Effet de PCSK9 dans l'absorption des lipides

En 2013, l'effet possible de PCSK9 sur l'absorption des lipides alimentaires et sur la sécrétion des lipoprotéines (chylomicron, VLDL et LDL) a été mesuré *in vitro* (**Figure 11**) (61,131). Les auteurs ont utilisé une lignée d'adénocarcinome colorectal humain, les cellules Caco-2. La première donnée essentielle est que la variation d'expression de PCSK9 dans les Caco2 est associée à une amplitude inverse de sécrétion basolatérale d'ApoB (61,131). Bien que le mécanisme d'action n'ait pas clairement été identifié, la répression ou surexpression de PCSK9 dans ces cellules sont respectivement associées à une réduction ou une induction de l'expression entérocytaire des transporteurs NPC1L1, CD36 et SRBI (61). Ces données montrent qu'*in vitro*, PCSK9 est capable de moduler l'absorption des lipides alimentaires et l'excrétion intestinale des lipoprotéines (61). En revanche, notre équipe a mis en évidence que l'absorption intestinale de cholestérol n'était pas différente entre les

souris sauvages et *Pcsk9*$^{-/-}$ (225). Chez l'Homme, l'inhibition de PCSK9 par evolocumab ne semble pas modifier l'absorption intestinale de cholestérol (226,227).

b. Effet de PCSK9 dans l'homéostasie des lipoprotéines riches en triglycérides

L'intestin joue un rôle clef dans la production de lipoprotéines riches en triglycérides (TRL) (228). L'apport de PCSK9 exogène augmenterait la production et la sécrétion des TRL par les Caco-2 (229). Cela serait permis par une augmentation de l'activité de la triglyceride transfer protein, enzyme impliquée dans la biosynthèse des TRL. De plus, ces données ont été confirmées dans un modèle murin exprimant la forme humaine de PCSK9 (229).

La lipémie post-prandiale (LPP) se manifeste par une augmentation plasmatique des TRL notamment les chylomicrons après un repas (230). Notre équipe a mis en évidence que les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ présentent une très forte réduction de la LPP (131). Cet effet ne semble pas s'expliquer par une modification de l'absorption intestinale des lipides ou du temps de transit des animaux (131). En revanche, cela pourrait s'expliquer par une modification de la sécrétion intestinale des chylomicrons et leur clairance hépatique (131). Le développement de souris ayant une délétion intestinale de PCSK9 (souris *i-Pcsk9*$^{-/-}$) a été réalisé par notre équipe afin d'explorer l'importance de la forme intestinale intracellulaire de PCSK9 par rapport à la forme sanguine d'origine hépatique (231). Si la LPP n'est pas différente entre les souris sauvages *et i-Pcsk9*$^{-/-}$, l'inhibition de la forme circulante de PCSK9 par des anticorps monoclonaux mime les effets de la déficience totale suggérant que c'est la forme circulante de PCSK9 qui influence majoritairement la LPP (**Figure 11**) (231).

Il semblerait que la LPP soit diminuée chez les patients porteurs de mutations perte de fonction pour PCSK9 (232). Cependant, l'injection d'evolocumab chez des hommes avec un bilan lipémique normal n'aurait pas d'effet au cours de la LPP

(233). Les études effectuées chez l'Homme ne permettent pas d'établir avec exactitude si PCSK9 affecte la LPP.

c. Effet de PCSK9 dans l'élimination trans-intestinale du cholestérol

L'excrétion transintestinale du cholestérol (TICE) est la seconde voie d'élimination du cholestérol plasmatique. Celui-ci permet l'élimination directe du cholestérol plasmatique dans la lumière intestinale. Cette voie majoritaire chez la souris contribuerait à l'état basal à plus de 30% de l'élimination du cholestérol plasmatique (234). Le TICE est augmenté i*n vitro* de +103% dans des explants duodénaux de souris *Pcsk9*$^{-/-}$ par rapport à des explants de souris *Pcsk9*$^{+/+}$ et de +62% *in vivo* chez les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ par rapport à des souris *Pcsk9*$^{+/+}$ (225). Les résultats obtenus par cette étude démontrent que la PCSK9 circulante régule le TICE d'une manière dépendante du LDLR (**Figure 11**) (225).

Absorption des lipides

- Son expression *in vitro* semble moduler l'expression de transporteurs intestinaux de cholestérol
- Chez la souris et l'Homme, il semblerait que PCSK9 ne module pas l'absorption intestinale de cholestérol

Le TICE

- PCSK9 régule le TICE d'une manière dépendante du LDLR



Homéostasie des TLR

- L'apport de PCSK9 exogène *in vitro* augmenterait la production et la sécrétion des TLR
- La lipémie postprandiale des souris *Pcsk9*$^{-/-}$ est réduite
- Les études menées chez l'Homme ne permettent pas d'établir le rôle de PCSK9 au cours de la LPP
- Les mesures effectuées *in vivo* ne semblent pas confirmer ces observations

Figure 11 : Implication de PCSK9 dans l'homéostasie intestinale des lipides

En conclusion, PCSK9 est impliquée dans le métabolisme des lipoprotéines au niveau intestinal. S'il ne semble pas jouer un rôle important dans l'absorption entérocytaire des lipides alimentaires, son rôle dans la sécrétion d'apoB, l'empaquetage et la sécrétion des TRL et dans le TICE semble important dans l'homéostasie lipidique. Plus récemment, une étude aurait démontré que PCSK9

pourrait moduler l'état inflammatoire d'une pathologie intestinale et sera détaillée dans la partie III (**chapitre 1, III 1**).

5- Reins

Au moment de sa découverte, il a rapidement été démontré que PCSK9 était exprimée au niveau du rein (**chapitre 1, I 1**). En 2003, il a été supposé que cette protéine aurait un rôle dans le développement de cet organe (1). Plus tardivement, différentes études se sont intéressées au rôle potentiel de PCSK9 sur la fonction rénale ou des pathologies associées à cet organe.

a. Rôle de PCSK9 sur la pression artérielle

Comme indiqué précédemment (**chapitre 1, I 5**), il a été suggéré que PCSK9 favorise la dégradation du transporteur ENaC mais cette étude n'a pas exploré les conséquences physiologiques ou physiopathologiques telles que l'hypertension artérielle (75). En 2015, notre équipe a évalué l'effet de PCSK9 dans ce contexte. Il semblerait que l'excrétion rénale de différents électrolytes (sodium, potassium, chlore) ne soit pas différente entre les souris sauvages et *Pcsk9*$^{-/-}$ (76). A l'état basal ou dans des modèles murins d'hypertension, la déficience en PCSK9 ne semble pas altérer la pression systolique et diastolique (76) (**Figure 12**). Comme précisé précédemment (**chapitre 1, I 4**), il semblerait que l'utilisation d'inhibiteurs de PCSK9 n'a pas d'effet sur la pression artérielle ou l'hypertension (**Figure 12**) (77,78).

b. Effet de PCSK9 dans le syndrome néphrotique

Le syndrome néphrotique se caractérise par un dysfonctionnement de la filtration glomérulaire favorisant la fuite urinaire des protéines et la baisse de la protéinémie. L'hypoprotéinémie, en stimulant la production hépatique de VLDL et en réduisant la

clairance plasmatique des lipoprotéines, favorise la survenue de l'hypercholestérolémie (235).

L'effet de PCSK9 dans l'hypercholestérolémie associée au syndrome néphrotique a été étudié en 2016. L'induction de ce syndrome chez la souris C57Bl/6J est associée à une concentration circulante de PCSK9 plus élevée (**Figure 12**) (236). Par ailleurs, cette pathologie a été induite chez la souris *Pcsk9*$^{-/-}$ et dans un modèle présentant une délétion hépatique pour PCSK9 (236). Comparé aux souris sauvages atteintes de ce syndrome, il semblerait que la délétion totale et hépatique de PCSK9 réduisent la cholestérolémie dans ce contexte (236). Selon cette étude, la concentration circulante de PCSK9 serait réduite chez les patients en l'état de rémission (**Figure 12**) (236). Une étude démontre que la concentration plasmatique de PCSK9 est plus élevée chez les sujets atteints d'une forte protéinuerie (237). On peut également évoquer une étude de cas parue en 2017. Il s'agit d'une patiente atteinte du syndrome néphrotique, hospitalisée pour une protéinurie dégradée malgré le suivi d'une thérapie de référence (238). Cette patiente a reçu plusieurs injections d'evolocumab qui auraient amélioré son bilan lipidique et rénal (238). Cette étude de cas suggère alors que l'inhibition de PCSK9 pourrait être bénéfique dans le traitement de ce syndrome chez l'Homme (**Figure 12**) (238).

c. Impact de PCSK9 dans la maladie rénale chronique

La maladie rénale chronique est une pathologie qui affecte le fonctionnement des reins en réduisant leur capacité à filtrer le sang de ses déchets métaboliques. Le risque de développer une hypercholestérolémie et une athérosclérose est ainsi accru chez les sujets atteints par cette pathologie (239).

L'induction d'une insuffisance rénale chronique chez le rat provoque une augmentation de l'expression hépatique et plasmatique de PCSK9, et une

hypercholestérolémie (240). L'une des complications associées est le développement d'une fibrose rénale (241). Chez la souris, la vaccination anti-PCSK9 semble réduire la fibrose rénale et corriger les fonctions rénales (**Figure 12**) (242). En 2021, il a été démontré que la concentration circulante de PCSK9 était quasiment doublée chez les patients atteints de la maladie rénale chronique (**Figure 12**) (243). Une étude menée sur 594 patients semble indiquer l'existence d'une association négative entre les niveaux circulants de PCSK9 et le taux de filtration glomérulaire (170) alors qu'une étude menée par notre groupe ne semble pas trouver d'association (244).

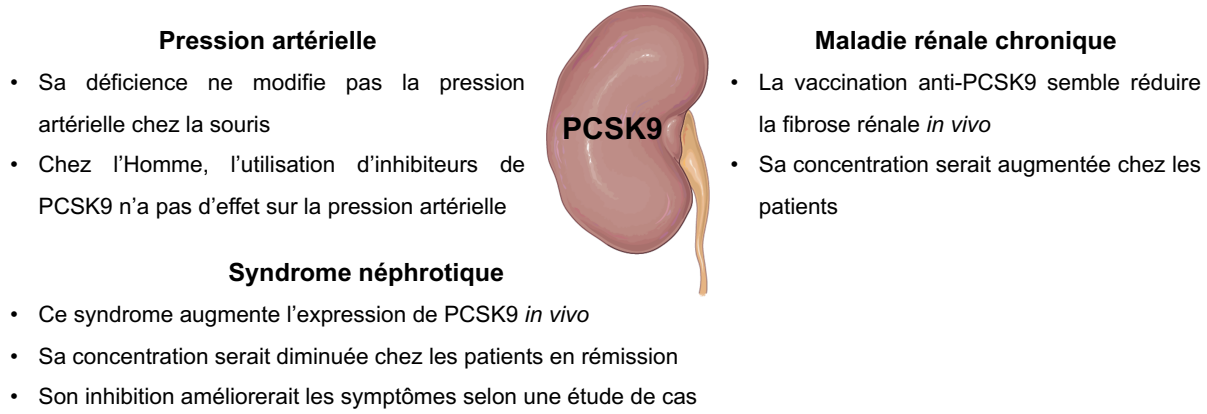


Figure 12 : Impact de PCSK9 sur les fonctions et pathologies rénales

En conclusion, il semblerait que PCSK9 n'a pas d'effet dans la régulation de la pression artérielle. En revanche, elle serait impliquée dans le développement de l'hypercholestérolémie qui survient suite à un syndrome néphrotique ou à une insuffisance rénale chronique. Actuellement, il semblerait qu'aucune étude n'ait pu aborder l'impact direct de PCSK9 au cours du syndrome néphrotique et non de ces conséquences. En revanche, on peut supposer que l'inhibition de PCSK9 améliorerait la fonction rénale au cours du développement de la fibrose rénale et de la maladie rénale chronique chez l'animal.

6- Pancréas

Le pancréas est un organe exocrine et endocrine qui sécrète des enzymes nécessaires à la digestion des aliments et sécrète différentes hormones telles que l'insuline ou le glucagon. Initialement, l'expression de PCSK9 a d'abord été mise en évidence dans des lignées de cellules β immortalisées de rats et de souris (**Figure 13**) (1,132). A l'instar de ce que l'on observe dans le foie, la présence de PCSK9 affecte le niveau d'expression du LDLR dans les îlots de Langerhans (245). La localisation d'expression précise de PCSK9 au sein de l'îlot de Langerhans reste un sujet de débat (**Figure 13**). Notre équipe a montré chez l'Homme, que PCSK9 serait exprimée dans les cellules δ mais pas dans les cellules α, ni les cellules β (245). Une seconde étude montre une localisation au niveau des cellules β de pancréas humain (246) et une troisième retrouve l'expression de PCSK9 colocalisée avec la somatostatine qui est produite dans les cellules δ (247).

Le diabète est une pathologie chronique caractérisée par une hyperglycémie, un défaut de production / sécrétion d'insuline ou encore par une insulinorésistance. Il semblerait que la surexpression du LDLR au niveau des cellules β soit cytotoxique et conduirait à leur dysfonctionnement (248).

L'étude de Cédric Langhi a établi que la réponse à un test de tolérance au glucose est similaire entre les souris sauvages et *Pcsk9*$^{-/-}$ en condition basale ou lors d'un diabète induit par streptozotocine (**Figure 13**) (245). A l'opposé, les travaux de Mbikay démontrent que les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ développent les caractéristiques d'un diabète à l'état basal ou induit par un régime riche en sucre (hyperglycémie, diminution de la concentration plasmatique et pancréatique en insuline et atteinte tissulaire du pancréas) (**Figure 13**) (249,250). Il a été suggéré que les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ présentent un défaut de la sécrétion de l'insuline (251). Cet effet serait dépendant du

LDLR car les souris *Ldlr*$^{-/-}$ *Pcsk9*$^{-/-}$ ne développent pas les caractéristiques d'un diabète (251). La surexpression pancréatique du LDLR induite par la déficience en PCSK9 conduirait à l'accumulation de cholestérol au sein des cellules β et donc à leur dysfonctionnement (249–252). Il semblerait que ni la délétion hépatique, ni la délétion spécifique de PCSK9 dans les cellules β *in vivo* induisent un diabète (251,253). Il n'est actuellement pas possible de conclure sur si l'effet de PCSK9 dans la régulation de la glycémie est lié à sa forme intracellulaire ou circulante (**Figure 13**).

Bien que la concentration plasmatique de PCSK9 ne soit pas associée au développement du diabète (44,254), plusieurs études suggèrent que des variants associés à une perte de fonction sont corrélés à une insulinorésistance ou à l'augmentation de la glycémie à jeun (**Figure 13**) (39,255,256). Cependant, une étude précise que deux variants perte de fonction, A443T et C679X, ne seraient pas associés au développement du diabète (257). De plus, l'utilisation d'inhibiteurs de PCSK9 ne présente pas de contre-indication chez le patient diabétique (**Figure 13**) (258,259).

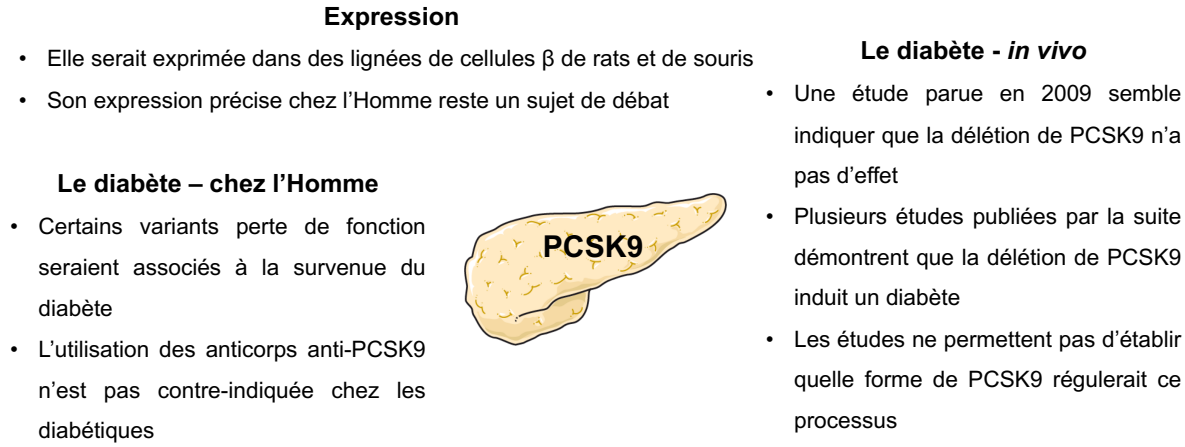


Figure 13 : La délétion de PCSK9 pourrait être associée au développement du diabète

En conclusion, il semblerait que l'augmentation de l'expression du LDLR induite par la délétion de PCSK9 participe à la dysfonction de la cellule β et donc à la survenue d'un diabète.

III- Implication de PCSK9 dans la régulation de l'immunité

En 2008, une nouvelle fonction extra-hépatique de PCSK9 a été suggérée. Selon les travaux de Feingold et ses collègues, l'administration de différentes molécules inflammatoires stimulerait l'expression hépatique de PCSK9 chez la souris (260). Les auteurs sont alors les premiers à poser l'hypothèse que l'inflammation pourrait induire l'expression de PCSK9 (260). Par la suite, plusieurs études se sont intéressées au possible effet de PCSK9 au sein du système immunitaire et de la réponse inflammatoire induite par certaines pathologies.

1- Pathologies inflammatoires

a. L'athérosclérose

i. PCSK9 modulerait l'inflammation au niveau des plaques d'athérome

Le processus inflammatoire est impliqué dans la pathophysiologie de l'athérosclérose (261). Dans un contexte d'hypercholestérolémie, les monocytes circulants sont recrutés au sein des plaques d'athérome et se différencient en macrophages (262). Ces macrophages produisent et sécrètent de l'interleukine (IL)-1 et du tumor necrosis factor (TNF)-α (262). Celles-ci participent alors à l'inflammation vasculaire et locale au sein des plaques. Elles favorisent le recrutement d'autres cellules immunitaires telles que les lymphocytes T, les cellules dendritiques (DC), les monocytes ou les macrophages (262).

En 2016, une équipe a mesuré l'effet possible de PCSK9 sur l'inflammation des plaques d'athérome. Pour ce faire, les auteurs ont transféré des cellules de la moelle

osseuse d'une souris exprimant la forme humaine de PCSK9 à une souris *ApoE*$^{-/-}$ (263). La forme humaine de PCSK9 a été détectée dans les plaques d'athérome des souris receveuses (263). Selon les auteurs, l'accumulation locale de PCSK9 dans ces plaques augmenterait le nombre de monocytes présents au sein de ces plaques (263). Les auteurs ont ensuite récolté les macrophages péritonéaux des animaux et les ont mis en culture avec du LPS afin d'induire un phénotype pro-inflammatoire noté M1 (263). Les macrophages provenant de souris *ApoE*$^{-/-}$ exprimant la forme humaine de PCSK9 expriment plus de TNF-α et d'IL-1 et moins d'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire (263). La même expérience sur des souris *Pcsk9*$^{-/-}$ révèle que la déficience en PCSK9 réduit l'expression de TNF-α et d'IL-1 de 44% et 50% respectivement (263).

ii. PCSK9 modulerait le profil inflammatoire des cellules immunitaires

Dans le contexte de l'athérosclérose, différentes études ont mesuré le rôle possible de PCSK9 directement sur les cellules immunitaires impliquées dans cette pathologie.

i.1 Les monocytes

Les monocytes se distinguent en trois populations. Les monocytes classiques ont pour principale fonction la phagocytose. Les intermédiaires ont une fonction dans l'inflammation et la phagocytose. Enfin, les non classiques sont impliqués dans la réponse inflammatoire (264). Les monocytes sont recrutés au sein des plaques d'athérome via le récepteur à chimiokine CCR2 (C-C chemokine receptor type 2). Il aurait pour ligand, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1, une cytokine qui permet le recrutement des monocytes dans la paroi artérielle et qui est produite par les macrophages et les CML.

L'expression monocytaire de CCR2 est trois fois plus élevée chez des patients FH par rapport aux témoins sains appariés et est associée au contenu intracellulaire des monocytes en lipides (265). La mise en place d'un traitement à base d'inhibiteurs de PCSK9 réduit le contenu intracellulaire en lipides et baisse de 60% l'expression de CCR2 de monocytes isolés chez ces patients (265). L'impact de l'inhibition de PCSK9 sur l'expression monocytaire de CCR2 chez l'Homme a été confirmé plus récemment (266). Ainsi, il semble que l'inhibition de PCSK9 pourrait réduire le profil inflammatoire des monocytes (**Figure 14**). Dans une étude, incluant 69 patients atteints d'une maladie coronarienne stable, une analyse du lien entre les concentrations circulantes de PCSK9 et les différentes classes de monocytes a été réalisée (267). Les concentrations plasmatiques en PCSK9 sont négativement corrélées aux nombres de monocytes non classiques et positivement associées aux monocytes classiques (267).

i.2 Les macrophages

Il existerait deux types de macrophages : les M1 dits pro-inflammatoires et les M2 qui seraient associés à une réponse anti-inflammatoire. Les macrophages M1 sécrètent des cytokines proinflammatoires : l'IL-1β, l'IL-6 et le TNFα. Les M2 produisent de l'IL-10 et du TGF-β. Au sein des plaques d'athérome, on retrouve un nombre plus important de macrophages de type M1 et une expression importante d'IL-1β, d'IL-6 et de TNFα (268).

L'apport de LDL-ox augmente *in vitro* l'expression de PCSK9 et la production et la sécrétion d'IL-1α, d'IL-6 et de TNF-α par des macrophages humains de type THP-1 (268). La répression d'expression par siRNA de PCSK9 diminue la production et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires dans ce modèle (**Figure 14**) (268). De même, l'expression du TNF-α, de l'IL-6 et de l'IL-1β est également diminuée dans

des macrophages murins RAW 264.7 où l'expression de PCSK9 a été réprimée par siRNA (269). Plus récemment, l'effet de PCSK9 sur la polarisation des macrophages a été observé dans un modèle d'infarctus du myocarde chez la souris (270). Les auteurs suggèrent que PCSK9 pourrait agir sur leur polarisation en agissant via un axe TLR4/MyD88/NF-κB (270). En 2018, une équipe s'est intéressée au rôle de PCSK9 dans l'état inflammatoire de ces cellules en utilisant un modèle de macrophages dérivés de cellules sanguines (271). L'apport de PCSK9 recombinante augmente l'expression d'IL-1β, d'IL-6 et de TNF-α et stimule également l'expression de MCP-1 et de CXCL2, deux chimiokines favorisant le recrutement des monocytes (271). Ces effets sont reproduits via une co-culture avec des cellules hépatiques de type HepG2 suggérant l'importance fonctionnelle de la forme circulante d'origine hépatique. En revanche, cet effet est partiellement perdu dans des macrophages déficients pour le LDLR (271). Cette dépendance vis à vis du LDLR a été récemment remise en question. En effet, la surexpression hépatique de PCSK9 chez la souris *Ldlr*$^{-/-}$ augmente l'expression d'IL-1β, de TNF-α et de MCP1 dans une culture de macrophages péritonéaux issus de ces souris (272). Une étude récemment publiée propose une alternative intéressante (273). Les VLDL favorisent la différenciation des cellules mononucléaires vers un phénotype anti-inflammatoire (273). PCSK9, par sa capacité à inhiber l'expression du récepteur au VLDL-R, inverse l'action anti-inflammatoire des VLDL, favorisant ainsi un phénotype pro-inflammatoire (**Figure 14**) (273).

i.3 Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont des cellules dites présentatrices de l'antigène qui expriment une molécule du CMH. De ce fait, elles sont impliquées dans l'activation, la polarisation et l'expansion des LT. La maturation des DC se caractérise par une

forte expression de molécules de costimulation telles que le CD86, le CD80, le CD83 et HLA-DR. Elles sont susceptibles de produire et sécréter différentes cytokines telles que le TNF-α, l'IL-1β, l'IL-6 dans un contexte inflammatoire. Elles peuvent également sécréter de l'IL-10 ou du TGF-β dans un contexte anti-inflammatoire. Les DC sont présentes au sein de la plaque athéromateuse et participent au maintien de l'inflammation locale par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (274).

In vitro, il a été démontré que l'apport de LDL-ox augmenterait l'expression de molécules de costimulation décrites précédemment (275). Dans ce contexte, l'expression de PCSK9 est augmentée de manière dose dépendante par les LDL-ox (275). L'inhibition de PCSK9 par siRNA *in vitro* réduit l'expression des molécules de costimulation citées précédemment et la sécrétion de cytokines proinflammatoires (**Figure 14**) (275). Le mécanisme d'action reste à être pleinement caractérisé mais les auteurs de cette étude pointent l'implication de deux régulateurs potentiels : SOCS1 (suppressor of cytokine signaling protein 1) et BLIMP1 (B lymphocyte-induced maturation protein 1) (275).

i.4 Les lymphocytes

Les Th17 sont notamment présents dans les lésions athérosclérotiques des souris et patients atteints d'hyperlipémie (276–278). Comme indiqué précédemment (**chapitre 1, II 2b**), la délétion de PCSK9 dans le modèle *Ldlr*$^{-/-}$*Apobec1*$^{-/-}$ empêche l'inflammation de type Th17 (278). Une étude plus récente confirme ce résultat et le fait que PCSK9 ait un effet profond sur l'expansion des cellules productrices d'IL-17 (279). Bien que son implication fonctionnelle n'ait pas été pleinement démontrée, les auteurs de ce travail suggère que Rorc, un facteur de transcription, pourrait être impliqué dans l'effet de PCSK9 sur la polarisation vers le profil Th17 (**Figure 14**) (279).

En 2018, une équipe a mesuré les effets d'une surexpression hépatique de PCSK9 dans un modèle de souris au profil immunitaire humanisé (280). Cette étude met en évidence que la concentration circulante de LT humains est augmentée par la surexpression de PCSK9 (280). Les LT de type effecteur mémoire sont augmentés dans le compartiment sanguin, pulmonaire et splénique alors que la proportion de lymphocytes T régulateurs (Treg) est réduite dans le sang et la rate des animaux (280).

Une analyse de corrélation entre les niveaux sanguins de PCSK9 et le nombre de cellules immunitaires a été réalisée dans une cohorte de patients avec une maladie coronarienne stable et montre une corrélation positive entre PCSK9 et le nombre de lymphocytes (281). Comme décrit précédemment (**cf chapitre 1, III 3a**) l'inhibition pharmacologique de PCSK9 n'a pas d'effet sur le pourcentage de LT circulants et les différentes sous classes de lymphocytes $CD4^+$ (266). Cependant, elle favorise l'expression d'un marqueur d'activation des Treg (**Figure 14**) (266). En conclusion, PCSK9 pourrait promouvoir l'expansion et la différenciation des LT vers un profil inflammatoire. Son inhibition pourrait diriger leur polarisation vers un profil anti-inflammatoire.

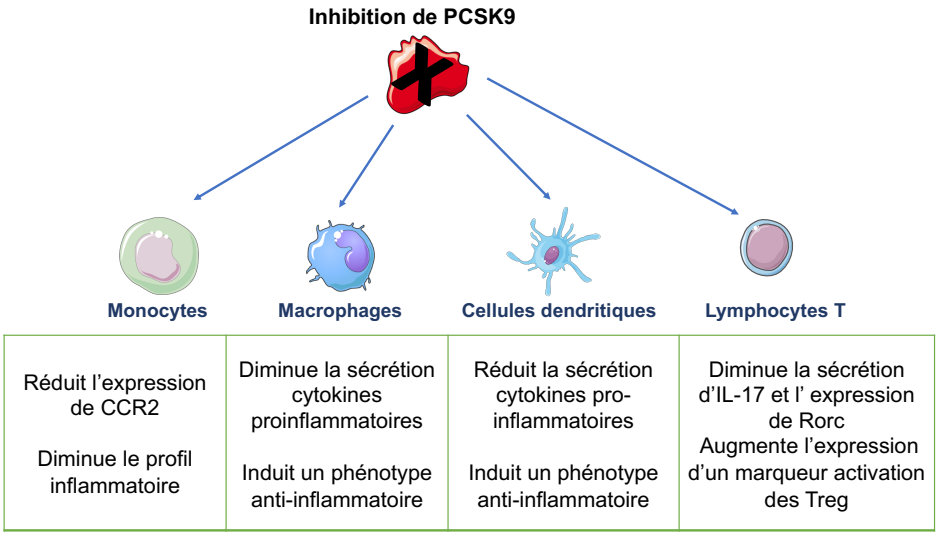


Figure 14 : L'inhibition de PCSK9 confère un profil anti-inflammatoire sur différentes cellules immunitaires

b. L'hypercholestérolémie familiale

L'HF implique une inflammation systémique de bas grade caractérisée par une forte concentration plasmatique de TNF-α (261). En 2022, l'effet de l'inhibition pharmacologique de PCSK9 sur cette inflammation a été vérifié dans une cohorte de sujets atteints d'HF traités pendant 8 semaines (266). Les principaux résultats mettent en évidence que l'alirocumab induit de profondes modifications telles que: 1) une réduction de l'activation plaquettaire ; 2) une diminution de l'expression de CD11b (marqueur d'activation des neutrophiles, éosinophiles & monocytes) ; 3) une baisse de l'expression des récepteurs aux chimiokines au niveau monocytaire (CX_3CR1 et CCR2), 4) une expression atténuée des récepteurs CX_3CR1 et CX_3CR6 au niveau des LT ; 5) une augmentation de l'activation des Treg (CD69) (266). Ces modifications s'accompagnent de changement des concentrations des modulateurs inflammatoires solubles avec une baisse significative de l'IL-8/CXCL8, de l'éotaxine-2/CCCL24, de l'IFNγ, de CXCL16 et une augmentation des concentrations plasmatiques de l'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire (266).

c. Maladies inflammatoires de la peau

i. Le psoriasis

Le psoriasis est une maladie inflammatoire systémique qui se caractérise par l'apparition de plaques rouges au niveau de la peau (282). Elle est fréquemment associée à des troubles métaboliques, notamment un taux élevé de lipoprotéines de faible densité (282).

L'expression de PCSK9 au sein des plaques cutanées des patients atteints de psoriasis est très fortement augmentée par rapport à la couche cutanée de patients sains (283). Sur la base de cette observation, Luan et ses collègues ont testé l'impact fonctionnel de PCSK9 sur un modèle murin de psoriasis induit

pharmacologiquement par application d'imiquimod (283). Leurs travaux montrent que la répression siRNA dépendante de PCSK9 entraîne une diminution de la réaction inflammatoire induite par l'imiquimod et inhibe l'hyperprolifération des kératinocytes (**Figure 15**) (283). De plus, la répression de PCSK9 modifie significativement le cycle cellulaire et induit l'apoptose des kératinocytes humains (283). La même équipe a très récemment démontré que l'inhibition de PCSK9 interrompt également le dialogue entre les kératinocytes et les macrophages et prévient ainsi les dommages cutanés induits par les UV B (284).

De manière cohérente, la concentration circulante de PCSK9 est augmentée chez le sujet atteint de psoriasis (285,286) et diminuerait lorsque les patients sont traités avec une thérapie de référence (286). Enfin, 13 variants de PCSK9 ont été récemment associés à cette pathologie dont le variant rs662145 C > T (associé à une diminution de la cholestérolémie) qui serait le plus prévalent (287).

ii. Le lupus érythémateux systémique

Le lupus érythémateux systémique est une maladie auto-immune qui cible le tissu conjonctif. Il a été suggéré que les patients atteints de cette pathologie seraient sujets au développement précoce de l'athérosclérose (288). La concentration plasmatique de PCSK9 est plus forte chez les patients atteints d'un lupus érythémateux systémique et serait réduit à l'aide d'une thérapie de référence (288). Dans le contexte de cette pathologie, il existe une corrélation positive entre la concentration circulante de PCSK9 et la protéine C réactive (CRP) (288). Selon les auteurs, cela pourrait suggérer que PCSK9 serait associée à l'état inflammatoire du lupus érythémateux systémique. En revanche, deux études parues en 2020 semblent avoir des résultats opposés (**Figure 15**). La première ne semble associer la concentration plasmatique de PCSK9 avec la survenue de cette pathologie chez

l'Homme (289) alors que la seconde démontre une diminution de la concentration circulante chez le patient (290).

d. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) rassemblent un ensemble de pathologies inflammatoires localisées au niveau du colon (291). Ces pathologies comprennent la colite ulcérative, la recto-colite hémorragique ou encore la maladie de Crohn. La physiopathologie des MICI implique une infiltration de cellules inflammatoires tels que les LT de type Th17 et des neutrophiles et des concentrations élevées en IL-1, l'IL-6 et la CRP (292). Comme nous l'avons décrit précédemment (**cf chapitre 1, II**), PCSK9 est associée à la concentration de ces cytokines proinflammatoires.

La colite chronique peut être induite chez le rat par une administration intra-rectale d'acide 2,4,6-trinito benzène sulfonique (293). En 2020, il aurait été démontré que l'expression colique de PCSK9 serait plus importante dans ce modèle (293). L'inhibition de PCSK9 dans ce modèle semble limiter la perte de poids de l'animal, améliore le score histologique du tissu colique et diminue l'activité de la myélopéroxidase (293). L'inhibition de PCSK9 réduit également l'expression colique du TNF-α, de l'IL-1, de l'IL-6 et de MCP-1 (293). (**Figure 15**). Les concentrations plasmatiques de PCSK9 sont augmentées chez les patients atteints de coliques ulcératives et présentant des concentrations élevées en CRP (**Figure 15**) (294).

e. La polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde est une pathologie inflammatoire systémique qui affecte les articulations et notamment, la membrane synoviale qui tapisse l'intérieur de la capsule articulaire (295). Les lymphocytes T de type Th1, sont particulièrement abondants au niveau des articulations (295). La sécrétion de l'interféron (IFN)-γ par

les Th1 permet le recrutement de macrophages qui sécrètent une cytokine proinflammatoire majoritairement impliquée dans cette pathologie, le TNFα (296). Ainsi, l'immunothérapie par anti-TNFα serait actuellement le traitement de référence de la polyarthrite rhumatoïde mais environ 30% des patients y seraient résistants (296).

En 2021, Frostegård et ses collègues se sont intéressés à l'effet possible de PCSK9 dans le contexte inflammatoire de cette pathologie et ont tout d'abord démontré que les patients en rémission après un an de traitement anti-TNFα présentaient des concentrations plasmatiques de PCSK9 plus basses que les patients non en rémission (297). Leur analyse mécanistique souligne que PCSK9 favorise la sécrétion de TNFα et d'IL1β par les macrophages et de MCP1 par les synoviocytes (297). *In vitro*, il semblerait donc que PCSK9 participe à la sécrétion de cytokines proinflammatoires impliquées dans la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde (**Figure 15**).

En 2016, une première étude menée chez l'Homme semble associer PCSK9 à la survenue de MCV dans une population de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde mais paradoxalement la concentration plasmatique de PCSK9 apparait moins importante chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (298).

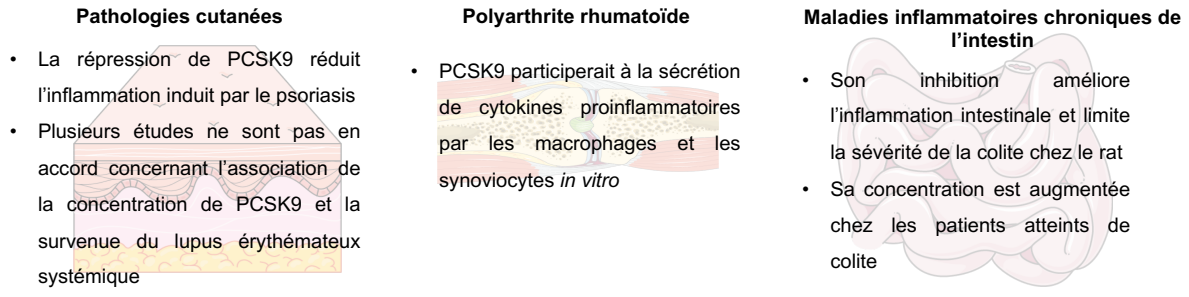


Figure 15 : Implication de PCSK9 dans différentes pathologies inflammatoires

2- Pathologies infectieuses

a. Infections bactériennes

Le choc septique est une complication sévère d'une infection bactérienne, caractérisée par une inflammation exacerbée, une chute drastique de la pression artérielle et la dysfonction de plusieurs organes. L'étude de Keith Walley démontre que la délétion et l'inhibition de PCSK9 chez la souris améliore les conséquences (chute de la température et de la pression artérielle, inflammation, dysfonction multi-organe et mortalité) d'un choc septique induit par LPS ou par libération du contenu fécal (299,300). Chez l'Homme, la perte de fonction pour PCSK9 améliore les complications de cette pathologie alors que les sujets porteurs de mutations gain de fonction présentent un phénotype aggravé (300,301). Suite à une infection bactérienne ou au cours d'un choc septique, la concentration circulante en PCSK9 se trouve augmentée et associée à une réduction de la clairance du LPS (302,303). En effet, les LPS peuvent s'intégrer aux particules de LDL-c et sont éliminés de l'organisme par leur fixation au LDLR hépatique (304,305). En conclusion, PCSK9 pourrait moduler la sévérité du choc septique par l'expression hépatique du LDLR (300).

b. Infections virales

i. Le virus de l'hépatite C

Le virus de l'hépatite C affecte environ 3% de la population mondiale (306,307). Ce virus a un tropisme particulier pour les hépatocytes (306,307) et y serait internalisé associé à des lipoprotéines via le LDLR et CD81 (308). Ce virus stimule l'expression hépatique du LDLR par des voies transcriptionnelles (via une activation de SREBPs) et post-traductionnelles (en réduisant l'expression de PCSK9) (308). L'apport de PCSK9 sauvage ou gain de fonction ou sa surexpression dans une culture de Huh7

est également capable de réduire la réplication du virus de l'hépatite C (308–310). En revanche, l'inhibition de PCSK9 *in vitro* ne semble pas moduler l'expression de CD81, ni l'infection virale (64). La concentration plasmatique de PCSK9 serait diminuée chez des sujets infectés par le génotype 3 de ce virus (311) mais augmentée chez les patients qui répondent à la thérapie antivirale (309).

ii. Le VIH

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) cible et affecte les LT de type $CD4^+$. En absence de traitement, les patients développent une défaillance généralisée du système immunitaire. Cette infection virale serait également associée à une modification de la lipidémie telle qu'une concentration plasmatique du LDL-c et des triglycérides augmentée (312,313). Il a été estimé que les MVC seraient la première cause de morbidité et mortalité chez les sujets atteints du VIH (314,315). Si on prend en compte ces évidences, il se pourrait que PCSK9 soit impliquée dans les complications métaboliques liées au VIH.

La concentration plasmatique de PCSK9 serait élevée chez les patients porteurs du VIH (316,317). Deux marqueurs d'activation endothéliale, la P-selectine et la thrombomoduline, seraient induits chez les patients séropositifs (316,317). La concentration plasmatique d'IL-6 serait étalement plus importante chez ces patients. Par ailleurs, ces marqueurs d'activation endothéliale et l'IL-6 seraient corrélés à la concentration plasmatique PCSK9 (316,317). En revanche, l'evolocumab n'aurait pas d'effet sur la concentration d'IL-6 ou du TNF-α chez des patients atteints de VIH (318). Cependant, elle réduirait la concentration plasmatique en LDL-c et améliorerait la fonction coronarienne chez ces patients (318).

iii. Le SARS-CoV-2

Dans sa forme la plus sévère, l'infection par le coronavirus SARS-CoV-2 ou Covid-19 peut induire un syndrome de détresse respiratoire aigu et une inflammation systémique (319). La concentration plasmatique d'IL-6 élevée serait associée à un pronostique plus sévère (320). Très récemment, une étude a pu mesurer les effets d'une inhibition de PCSK9 par evolocumab chez le sujet atteint du Covid-19 (321). L'inhibition de PCSK9 réduirait la concentration plasmatique d'IL-6 chez les patients et permettrait la réduction du temps sous intubation (321). Elle diminuerait la durée de l'hospitalisation des patients et de la mortalité associée cette pathologie (321).

iv. Le virus de la Dengue

Chaque année, 390 millions de personnes seraient infectées par le virus de la Dengue (322). Les sites de réplication de ce virus seraient le foie, la rate et les ganglions lymphatiques (323,324). L'infection serait souvent asymptomatique mais dans certains cas, elle mènerait à la dysfonction de certains organes et à une hémorragie interne (325).

En 2020, il a été démontré que l'infection du virus de la Dengue dans les cellules Huh7 augmenterait l'expression de PCSK9 (326). Selon cette étude, l'apport de PCSK9 dans différents types cellulaires humains (les cellules Huh7, une culture primaire de monocytes et des monocytes dérivés de moelle osseuse) favoriserait l'infection virale (326). L'inhibition de PCSK9 diminuerait l'infection virale *in vitro* (326). La concentration de PCSK9 augmenterait avec le grade de la pathologie chez l'Homme et serait associée à la concentration de virus dans le sang des patients (326). Une concentration plasmatique de PCSK9 augmentée serait associée à un risque plus important chez le patient infecté par ce virus (326).

3- PCSK9 module l'inflammation par la voie TLR4/NF-κB

NF-κB est un facteur de transcription qui régule plusieurs processus biologiques tels que l'inflammation, l'apoptose et la prolifération cellulaire (327). L'activation de NF-κB permet l'activation de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires tels que le TNF-α, l'IL-6 ou l'IL-1β. Au cours de processus inflammatoires tels que l'athérosclérose, l'inhibiteur de ce facteur de transcription, IκB-α, est phosphorylé et dégradé. Cela libère NF-κB et permet sa translocation au niveau du noyau et l'activation de ses gènes cibles (268).

La répression d'expression de PCSK9 dans les macrophages THP-1 empêche la dégradation de IκB-α et réduit la translocation nucléaire de NF-κB (268). Alors que l'apport de PCSK9 recombinante active la voie NF-κB dans ces mêmes cellules (271). Ceci a été renforcé par une étude indépendante qui montre que la supplémentation de PCSK9 dans une culture de macrophages augmente la forme phosphorylée de IκB-α et l'expression de la sous-unité P65 de NF-κB (269). Au-delà de NF-κB, la répression de PCSK9 dans une culture de macrophages réduit l'expression du TLR4 (328). La même année, il a été montré que PCSK9 participe à la production d'une glycoprotéine associée à des récepteurs de cytokines par la stimulation de la voie TLR4/NF-κB (329). L'ajout d'un inhibiteur du TLR4 sur une culture de macrophages RAW246.7 en présence de PCSK9 recombinante empêcherait leur différenciation vers la voie inflammatoire (218). L'inhibition de PCSK9 sur des cellules endothéliales réduit également l'activation de NF-κB (266). La répression de PCSK9 chez la souris *ApoE*$^{-/-}$ diminue l'expression aortique du TLR4 et de NF-κB (82). Cet effet sur TLR4 a également été observé dans un modèle de colite inflammatoire (293). L'expression des acteurs de la voie TLR4/NFκB est diminuée après une ischémie cardiaque chez la souris *Pcsk9*$^{-/-}$ (218). En 2022, il a

été suggéré qu'un traitement pour le syndrome polykistique de l'ovaire aurait des effets bénéfique sur l'atteinte du tissu cardiaque en inhibant la voie PCSK9/NF-κB (330).

4- PCSK9 est impliquée dans les pathologies cancéreuses

a. Généralités sur le cancer

Le développement d'une tumeur dépend de différents facteurs. Le mécanisme d'apoptose peut être inhibé au sein de ces cellules via une réduction de l'expression de facteurs pro-apoptotiques et/ou la surexpression de facteurs pro-apoptotiques. Le microenvironnement tumoral serait également impliqué dans le processus tumoral et empêcherait le développement d'une réponse immunitaire spécifique. Cette réponse est principalement médiée par l'activité des lymphocytes $CD8^+$ qui serait inhibée par les cellules tumorales. Les lymphocytes $CD8^+$ expriment PD1 (programmed cell death 1) qui fixe le PD-L1 produit par des cellules tumorales (331). La liaison entre PD1 et son ligand inhibe l'activité des LT et permet à la tumeur de se développer. Une immunothérapie sous anticorps anti-PD1 empêche l'inhibition des LT par les cellules tumorales et permet l'activation des LT présents dans le microenvironnement tumoral donc le développement d'une réponse immunitaire spécifique de la tumeur (331).

b. Implication du métabolisme du cholestérol dans le développement tumoral

Plusieurs études suggèrent que les cellules cancéreuses accumulent de façon massive du cholestérol du fait d'une internalisation accrue de cholestérol exogène (332–334). De plus, la synthèse endogène de cholestérol est augmentée au sein des cellules cancéreuses (332–334). Le métabolisme du cholestérol régulerait l'activation, l'expansion, la fonction (335–337) et la différenciation d'une population de LT $CD8^+$ particulièrement active dans la réponse anti-tumorale (338). Une baisse

de la cholestérolémie pourrait renforcer les effets d'une immunothérapie par transfert adoptif de LT (338). A l'inverse, un métabolisme du cholestérol particulièrement actif participerait au développement tumoral.

c. Description du rôle de PCSK9 dans différentes tumeurs

i. Le carcinome hépatocellulaire

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente 90% des cancers hépatiques et la troisième cause de mortalité par cancer (339,340), c'est une tumeur agressive souvent associée au développement de métastases (341). Parmi différents facteurs de risque, l'infection au virus de l'hépatite C est la plus fréquente (342). En dépit des thérapies actuelles, la récurrence du CHC est importante et de nouvelles thérapies sont requises (341).

La répression d'expression de PCSK9 par shRNA est associée à une baisse de prolifération des cellules HepG2 du fait une activité apoptotique plus importante (343). A l'inverse, la surexpression de PCSK9 dans des cellules HCCLM3 stimule leur prolifération et diminue leur apoptose (343). PCSK9 agirait en modifiant le ratio d'expression de la molécule anti-apoptotique, Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) et des molécules pro-apoptotiques BAX, caspase 3 & 9 (**Figure 16**) (343). Cependant, une étude parue l'année suivante apporte des résultats différents. Une expression réduite de PCSK9 dans les cellules HepG2 favorise leur prolifération et sa surexpression dans un modèle cellulaire d'hépatocarcinome réduit l'expression du marqueur de prolifération : proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Dans ce modèle, l'expression de marqueurs anti-apoptotiques est réduite (344).

Ces deux études ont ensuite vérifié leurs observations *in vivo* en injectant les cellules tumorales afin d'induire un CHC. La surexpression de PCSK9 dans une lignée d'hépatocarcinome injectée à la souris augmente le volume et le poids de la tumeur

par réduction de l'apoptose (343). Cependant, l'expression de PCSK9 dans une autre lignée réduit le volume de la tumeur lors d'une administration *in vivo* (344). La sous-expression de PCSK9 dans les HepG2 augmente le volume de la tumeur chez la souris (344). Ces deux études obtiennent donc des résultats opposés cela ne permet pas de conclure quant à l'effet bénéfique ou non de PCSK9 dans le CHC (**Figure 16**).

Les mesures effectuées chez le patient démontrent que l'expression de PCSK9 n'est pas corrélée au grade de la tumeur (345). Chez des patients infectés au virus de l'hépatite C, la concentration circulante de PCSK9 est réduite chez les patients atteints d'un CHC (346). Selon les travaux de Zhang et ses collègues, l'expression intra-tumorale de PCSK9 est positivement corrélée à la taille de la tumeur (343). De plus, la durée entre la résection de la tumeur et la récidive de celle-ci est associée à l'expression intra-tumorale de PCSK9 (343). Cependant, ces données sont contredites par une autre étude qui observe que la faible expression tumorale de PCSK9 est associée à une survie diminuée et s'associe également à une réduction de la durée avant la récidive de la tumeur (344).

ii. La tumeur mammaire

Un lien entre PCSK9 et le cancer du sein a été également établi. La pseurotine A, est un métabolite capable d'inhiber la prolifération de lignées tumorales mammaires humaines. *In vivo*, l'injection de pseurotine A diminue l'expression hépatique de PCSK9 dans un modèle atteint d'une tumeur mammaire (347). En 2019, l'utilisation d'une thérapie anti-PCSK9 donnée seule ou en combinaison avec une chimiothérapie inhibe le développement d'une tumeur mammaire pour deux souris sur cinq et augmente la survie des animaux (348) (**Figure 16**). Certains variants de PCSK9 associés à une augmentation de la concentration de LDL-c augmentent le

risque de développer un cancer du sein chez la femme (**Figure 16**) alors que les variants « perte de fonction » inversent cette tendance (349).

iii. Le cancer pulmonaire

L'apport d'un siRNA anti-PCSK9 atténue la prolifération des cellules A459, modèle d'étude des tumeurs pulmonaires (350). L'apoptose de ces cellules est induite par l'inhibition de PCSK9 *in vitro* via l'augmentation d'expression de la caspase 3 (**Figure 16**) (350).

Cependant, les études décrites chez l'Homme associeraient cette protéine à la sévérité de ces cancers. Bonaventura et ses collègues montrent que la concentration plasmatique de PCSK9 est positivement associée avec la sévérité de la tumeur pulmonaire (**Figure 16**) (351). Plus récemment, une forte expression intra-tumorale de PCSK9 chez l'Homme est associée à une faible infiltration intra-tumorale de lymphocytes $CD8^+$ et à une moins bonne réponse à la thérapie anti-PD1 (352).

iv. Le mélanome

La variation d'expression de PCSK9 dans une lignée de mélanocytes murins a permis de mettre à jour une implication fonctionnelle. Ainsi, l'expression de la forme sauvage augmente la migration de ces cellules et favorise la formation de colonies (**Figure 16**). Ce phénomène est exacerbé par l'expression de la forme gain de fonction et atténué par l'expression de sa perte de fonction. L'apport exogène de ces différentes formes de PCSK9 ne semble pas affecter la prolifération de ces cellules suggérant une action intra-cellulaire (353). L'injection splénique d'une lignée de mélanocyte murin, B16F1, chez la souris favorise le développement de métastases hépatiques chez la souris sauvage (354). La déficience en PCSK9 a un rôle protecteur puisque le développement de métastases hépatiques est réduit de moitié chez les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ (**Figure 16**) (355). Une stratégie thérapeutique par

vaccination anti-PCSK9 n'a malheureusement montré aucun effet significatif sur le volume tumoral ou sur la survie des animaux (**Figure 16**) (356).

v. Le cancer colorectal

Plusieurs études ont démontré que l'expression de PCSK9 est augmentée dans les biopsies issues de cancer colorectal de patient (**Figure 16**) (357,358). La répression de son expression *in vitro* inhiberait la viabilité et la formation de colonies, et elle favoriserait l'apoptose des cellules cancéreuses (**Figure 16**) (357,358). L'injection de ces cellules *in vivo* réduit le volume et la taille de la tumeur (358). Il a également été précisé que la thérapie anti-PCSK9 peut présenter un effet anti-tumoral dans la lutte contre le cancer colorectal (359) et sera détaillé dans la partie suivante.

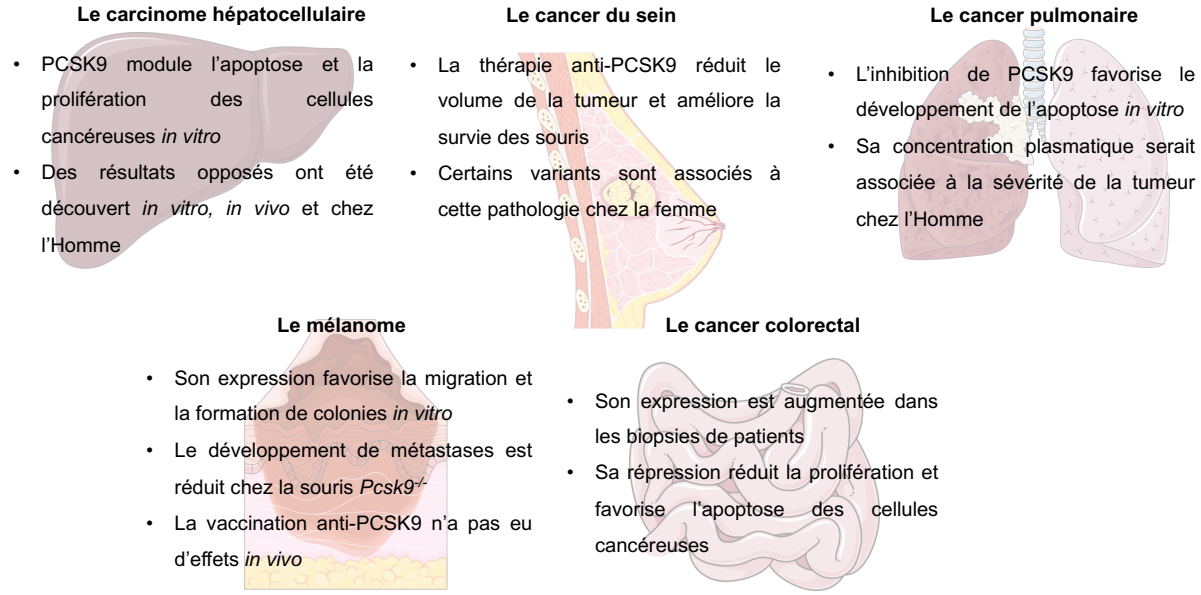


Figure 16 : Rôle de PCSK9 sur le développement et la sévérité de pathologies cancéreuses

d. L'inhibition de PCSK9 comme stratégie anti-tumorale

i. Effets de l'inhibition de PCSK9 combinée à la thérapie par anticorps anti-PD1

Plusieurs stratégies d'inhibition de PCSK9 ont été utilisées pour tester l'effet anti-tumoral d'un co-traitement anti-PCSK9 avec les thérapies anti-PD1existantes. La répression d'expression de PCSK9 par CRISPR Cas9 dans 4 lignées cancéreuses murines (B16F10 : mélanome, AT1 : pulmonaire, MC38 et CT26 : colorectal) réduit le

volume tumoral et améliore la survie de l'animal par une voie indépendante du LDLR (80). Comparé à la thérapie anti-PD1 seule, l'inhibition intra-tumorale de PCSK9 par CRISPR Cas 9 réduit de manière importante le volume tumoral et améliore la survie des animaux (80). En combinaison, l'inhibition de PCSK9 permet de renforcer l'effet anti-tumoral des anti-PD1 et de nettement améliorer la survie des souris (80). L'inhibition de PCSK9 permet en outre de réduire le volume de tumeurs résistantes à la thérapie anti-PD1 et de prolonger la survie des animaux (80). Une étude plus récente indique que l'inhibition de PCSK9 par anticorps anti-PCSK9 réduit le volume d'une tumeur colorectale *in vivo* (359). En comparaison avec la thérapie anti-PD1 seule, l'inhibition de PCSK9 permettrait une réduction plus importante du volume tumoral (359). L'utilisation de nanoparticules tétraédriques contenant un siRNA anti-PCSK9 et un oligonucléotide de liaison à PD-L1 réduit le volume de tumeurs colorectales chez la souris (360).

ii. Effets de l'inhibition de PCSK9 combinée à la thérapie par anti-CD137

Le CD137, une molécule de co-stimulation exprimée à la surface des LT, est impliquée dans l'activation et la prolifération tumorale (361). L'administration d'agoniste anti-CD137 permet l'activation de LT intra-tumoraux. La co-administration d'inhibiteurs de PCSK9 avec des agonistes anti-CD137 renforcent les effets anti-tumoraux des anti-CD137 et réduit plus fortement le volume d'une tumeur pulmonaire *in vivo* et améliore significativement la survie des animaux (352).

e. PCSK9 pourrait moduler l'activation des LT intra-tumoraux

Comme décrit précédemment, les stratégies thérapeutiques par anti-PD1 ou anti-CD137 visent à activer les LT $CD8^+$ intratumoraux qui sont inhibés par le microenvironnement tumoral. Une étude publiée en 2021 semble préciser qu'*in vitro*, la fonction cytotoxique de $CD8^+$ isolés de rate de souris *Pcsk9*$^{-/-}$ est augmentée après

une stimulation par des anticorps anti-CD3 et anti-CD38 (362). La fonction cytotoxique de ces LT est réduite par la PCSK9 recombinante via une réduction de l'expression du T cell receptor (TCR) (362). Cet effet a été exploré *in vivo* afin de comprendre par quel mécanisme, l'inhibition de PCSK9 potentialise les thérapies anti-PD1 et anti-CD137 (**cf chapitre 1, III 2f**).

L'étude menée par Liu et ses collègues étaye la théorie selon laquelle PCSK9 aurait un effet sur les $CD8^+$. En effet, l'inhibition de PCSK9 augmente l'infiltration de LT $CD8^+$ au sein de la tumeur (80). L'expression du CMH-I à la surface des $CD8^+$ est augmentée lorsque PCSK9 est inhibée (80). PCSK9 agirait en favorisant la dégradation lysosomale du CMH-I ainsi son inhibition renforce l'expression membranaire du CMH-I permettant l'activation des LT intra-tumoraux et la défense immunitaire contre la tumeur. Ceci a été confirmé par une équipe indépendante l'année suivante (362) qui observe que l'inhibition de PCSK9 augmente l'expression intra-tumorale du CMH-I et du TCR (362). *In vivo*, l'expression intra-tumorale de cytokines sécrétées par les $CD8^+$ (l'IFN-γ et le granzyme B) est augmentée par l'apport d'un siRNA anti-PCSK9 (360). La production de l'IFN-γ et du granzyme B au sein du microenvironnement tumoral est augmentée par l'inhibition de PCSK9 via une activation des LT intratumoraux et une répression des LT régulateurs (359). Si on se base sur ces études, l'inhibition de PCSK9 est susceptible de moduler le microenvironnement tumoral et de favoriser l'activation de LT intra-tumoraux. Cela pourrait inhiber la progression tumorale et améliorer la survie des animaux. A notre connaissance, la thérapie anti-PCSK9 n'a pas encore été utilisée chez l'Homme en tant que thérapie anti-tumorale.

Chapitre 2 : L'allergie est une pathologie inflammatoire chronique

I- L'allergie

Le mot allergie a été inventé en 1906 par Clemens von Pirquet (363). Il s'agit d'une maladie inflammatoire chronique considérée comme une cause majeure du dysfonctionnement immunitaire. Cette pathologie se caractérise par la mise en place d'une réponse immunitaire exacerbée face à une molécule qui n'est pas censée être reconnue par le système immunitaire. L'allergie résulte d'une perte de l'homéostasie entre trois barrières : la barrière épithéliale, le système immunitaire et le microbiote. Elle comprend différentes formes telles que la rhinite allergique, l'asthme allergique, la dermatite atopique, l'allergie alimentaire ou d'eczéma. Elle se manifeste soit de manière locale ou systémique et impacte différents organes tels que les poumons, le système digestif ou la peau (364).

1- L'allergie est une maladie mondiale

a. Données de prévalence générales

La prévalence des allergies a significativement augmenté ses dernières décennies et est estimée à 20% (365). La prévalence mondiale de la rhinite allergique est d'environ 18% chez l'adulte (**Figure 17**) (366). Si on se base sur ces chiffres, on remarque que la prévalence cette pathologie a augmenté ces dix dernières années puisqu'elle n'affectait que 9% de la population en 2009 (367). L'asthme concernerait 400 millions de personnes dans le monde (**Figure 17**) (368). L'asthme allergique représenterait 50% des asthmes de l'adulte et 80% des cas chez l'enfant (369). Plus de 171 millions de personnes souffrent d'une dermatite atopique dans le monde, de ce fait, elle impacte 8% de la population mondiale (**Figure 17**) (370–372). La

prévalence de l'eczéma a été estimée entre 2% et 20% selon le pays ou la population étudiée (373). L'allergie alimentaire affecte 10% de la population mondiale (**Figure 17**) (371,372). Face à la prévalence croissante de l'allergie, il a été estimé qu'une personne sur deux pourrait en être atteinte d'ici 2050 (374).

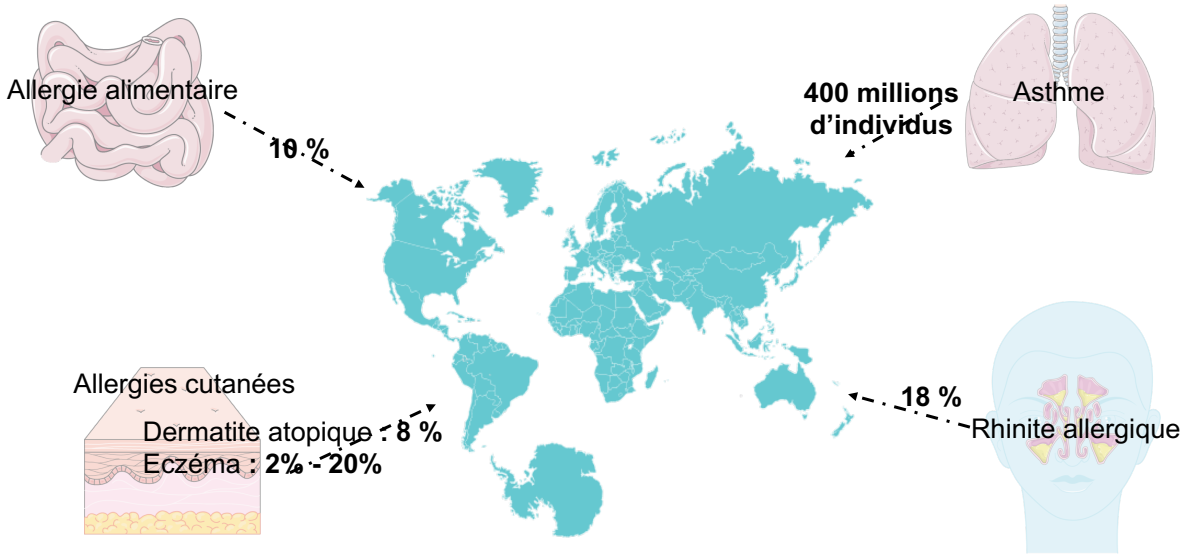


Figure 17 : La prévalence mondiale des différentes allergies

b. Méthodes et outils de diagnostic

L'un des enjeux du diagnostic est de définir l'allergène responsable des symptômes du patient afin d'adapter la prise en charge. L'allergologue ou le médecin constate la nature et la fréquence des symptômes. Couplé à un bilan allergologique contenant différentes mesures précisées ci-dessous, cela pourra renseigner sur la nature exacte de l'allergie.

i. Les tests cutanés

i.1 Le prick-test

Le prick-test est effectué en première intention dans le diagnostic d'une allergie (375). Il se base sur l'apparition d'une faible réaction allergique, induite de manière contrôlée au niveau de la peau. Le praticien dépose une goutte contenant un allergène qui sera introduite au niveau de l'épiderme par un piqueur. Le praticien

observe l'apparition d'une rougeur, d'un gonflement ou d'une démangeaison dans les 15 minutes suivant le test (376).

i.2 Cas des allergies cutanées

Un prick-test est contre-indiqué pour l'allergie cutanée qui peut se diagnostiquer par un score global de gravité qui se base sur l'étendue des lésions, sur l'intensité de l'érythème, de l'œdème ou des démangeaisons (377). Une allergie de contact peut être diagnostiquée par des patch-tests qui sont composés de pastilles qui contiennent un allergène. Une réaction allergique peut se constater dans les 48 heures suivant l'application du patch.

Ces tests renseignent le praticien sur la nature de la sensibilisation à un ou plusieurs allergènes. Cependant, il est nécessaire de les coupler à d'autres outils.

ii. Les mesures sanguines

Ces dosages reposent sur la mesure d'IgE plasmatiques spécifiques de l'allergène suspecté (376). Les praticiens effectuent le ratio IgG4/IgE afin de vérifier l'état de tolérance ou de sensibilisation du patient (376).

Cependant, la concentration plasmatique d'IgE spécifiques peut rester inférieure à une valeur seuil alors que le patient présente bel et bien un terrain allergique (378). Par exemple, il a été estimé qu'une grande proportion d'enfants sensibilisés aux arachides ont un prick-test négatif ou une valeur d'IgE spécifiques inférieure à une valeur seuil (378). Pour pallier à cette difficulté, d'autres tests ont été mis au point.

iii. Test d'activation du basophile

Le test d'activation des basophiles détermine avec précision l'allergène auquel le patient est ou a été allergique (379). Il se base sur le contact entre les basophiles du patient avec différentes doses de l'allergène suspecté. En cas d'allergie, les basophiles exprimeront des marqueurs d'activation tels que CD63 et CD203c à leur

surface (380). Dans le cas de l'allergie aux arachides, ce test permet de distinguer la ou les noix auxquels le patient est allergique (379).

iv. Mesure de la fonction respiratoire

La spirométrie est un examen de référence dans le diagnostic de l'asthme. Elle mesure le volume expiratoire maximal par seconde (VEMS), définit comme étant le volume d'air expiré à la première seconde d'une expiration forcée. La diminution de se volume reflète le niveau d'obstruction bronchique (381). Le test de provocation bronchique permet de compléter le diagnostic en cas de VEMS normal. Des doses croissantes d'un bronchoconstricteur (histamine ou métacholine) sont inhalées par le patient et le VEMS est mesuré (381). Ce test devient positif lorsque le VEMS diminue d'au moins 20% de la valeur initiale.

v. Test de provocation oral aux aliments

Au cours d'un test de provocation oral (TPO) aux aliments, effectué en milieu hospitalier, des doses croissantes d'allergène sont ingérées par le patient et l'apparition des symptômes est notée. L'aliment est testé sous forme de consommation habituelle ou sous la forme qui aurait pu déclencher la réaction (382). Le TPO permet de déterminer le risque encouru en cas d'ingestion accidentelle de l'aliment (382).

2- Mécanisme physiopathologique de l'allergie

L'allergie se met en place lors d'une rupture du mécanisme de tolérance. Ce mécanisme met en jeu principalement les Treg et sera taillé dans la partie **II 3**. Cet état de tolérance peut être affecté par différents éléments tels que l'environnement, la génétique ou les barrières qui seront présentés ultérieurement (**cf chapitre 2, I 3**) et induire une allergie. Cette pathologie se déroule en deux phases. Lors d'un premier contact, une première phase asymptomatique appelée la sensibilisation se

met en place. Cette étape permet la préparation de la seconde phase, le déclenchement.

a. La sensibilisation

Un premier contact avec un allergène est susceptible de perturber l'intégrité de la barrière épithéliale. En réponse à cette agression, les barrières sécrètent des cytokines proinflammatoires, appelées des alarmines (l'IL-33, l'IL-25 et la lymphopoïétine stromale thymique (TSLP)) (383–385). Ces alarmines activent des DC qui sécrètent du TNF-α, cela conduit donc à une inflammation (386) (**Figure 18**). De plus, il existe des DC présentes au sein des barrières qui étendent leurs dendrites afin de capter directement l'allergène de l'environnement. Les DC digèrent l'allergène et l'associent à une molécule de CMH-II. Dans cet environnement, les DC expriment CCR7, qui leur permet de migrer au sein de ganglions lymphatiques et de présenter le peptide aux LT $CD4^+$ naïfs (386).

L'activation des LT naïfs repose sur trois signaux. Le premier étant l'interaction entre le TCR et la molécule de CMH associée à l'antigène. Le second, repose sur l'interaction entre deux molécules, CD28 exprimée par le LT et B7 exprimée par les DC. Ce signal est nécessaire à la prolifération des LT. Le dernier signal se base sur la sécrétion de cytokines par les DC et vont orienter la différenciation des LT. Par exemple, la sécrétion de cytokines proinflammatoires favorise la polarisation des LT naïfs vers le profil Th2 ou Th17. Alors que la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires permet leur différenciation vers le profil Treg.

Au sein de cet environnement pro-inflammatoire, les DC orienteront la polarisation des LT $CD4^+$ naïfs vers la réponse Th2 et/ou Th17. Les lymphocytes Th2 sont le véritable chef d'orchestre de la sensibilisation. Une fois activés, les Th2 sécrètent de l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13, cytokines essentielles à la différenciation des LB en

plasmocytes sécréteurs d'IgE (386–388) (**Figure 18**). Ces IgE sont spécifiques de l'allergène et vont se fixer à leur récepteur FCεRI exprimé à la surface des mastocytes et des basophiles (389). De plus, il a été démontré que l'IL-4 et l'IL-13 induisent l'expression du récepteur FCεRI à la surface des mastocytes (390,391). La fixation des IgE sur les basophiles et les mastocytes empêche l'apoptose de ces cellules et augmente leur survie (391). De plus, elle permet leur activation afin qu'ils puissent agir lors d'un nouveau contact avec l'allergène (391).

b. Le déclenchement

La réexposition de l'individu sensibilisé avec le même allergène créé un complexe immun entre le peptide allergénique et les IgE spécifiques fixés à leur récepteur sur les basophiles et mastocytes (392,393). Ce processus conduit à la dégranulation de ces cellules et à la libération de différents médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, les leucotriènes, les prostaglandines, des tryptases et des protéases (392,393) (**Figure 18**). Au niveau du site d'inflammation, d'autres cellules seront recrutées telles que les Th2, les Th17 ou les éosinophiles via l'IL-5. L'IL-4 et l'IL-13 permettent le recrutement de macrophages de type M2. De plus, la sécrétion d'IL-17 par les Th17 permet le recrutement des neutrophiles (394). L'activation des Th17 participe à l'entretien de l'inflammation de façon chronique. Tous ces médiateurs peuvent mener à une vasodilatation, une contraction des muscles lisses et à une production accrue de mucus (392). Par exemple, il a été démontré que l'IL-17 et l'IL-6 participent à une hypersécrétion de mucus (395,396). De plus, l'IL-17 favorise la prolifération des CML ce qui participe à l'hypertrophie du muscle lisse (397). Toutes ces conséquences peuvent se localiser au sein du tractus gastro-intestinal, des poumons ou de la peau et expliquer les symptômes divers de l'allergie (364). Dans le cas de l'allergie, l'inflammation serait entretenue à cause de l'exposition à l'allergène

présent dans l'environnement.

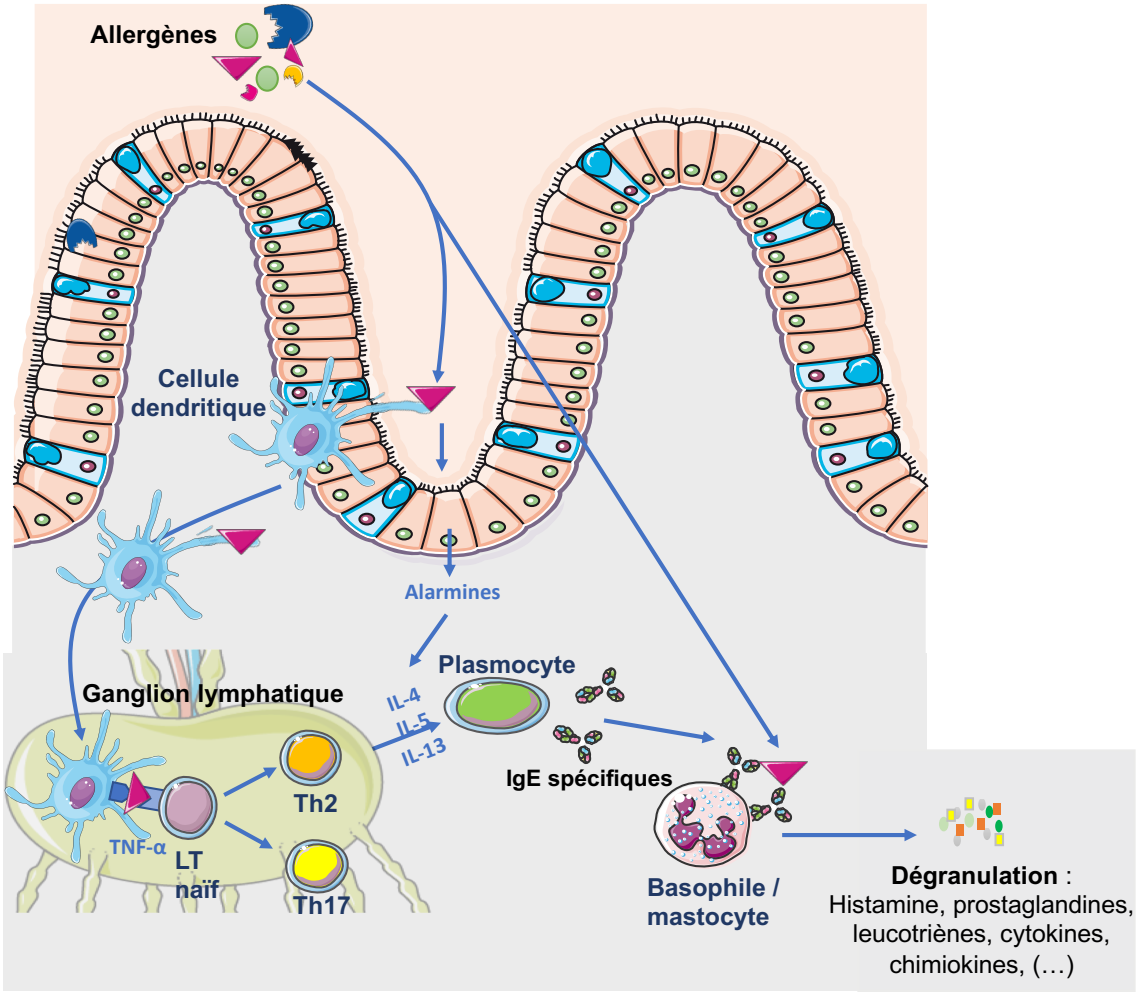


Figure 18 : Le mécanisme de l'allergie. Elle intervient en deux phases : la sensibilisation et le déclenchement. Au cours de la sensibilisation, on retrouve une réponse Th2 et la production d'IgE spécifiques. Le déclenchement mène à la dégranulation des basophiles et mastocytes.

3- L'allergie est une maladie multifactorielle

a. L'allergie est une maladie génétique

Les recherches en génétique et épigénétique ont permis d'identifier des mutations dans des gènes codant pour des acteurs impliqués dans l'allergie. Les études génétiques s'intéressent aux variations génétiques d'un individu et à leur relation avec une pathologie. Les études épigénétiques prennent en considération des modifications de l'ADN qui ne modifient pas la séquence nucléotidique. Celles-ci comprennent la méthylation de l'ADN, des modifications post-traductinnelles des histones et des ARN non codants (398). L'allergie est alors considérée comme une

pathologie héréditaire (399). Il a été estimé que le risque de développer une allergie à la cacahouète serait 7 fois plus élevé si l'un des parents ou frères et sœurs est atteint de cette pathologie (400). Par ailleurs, la prévalence de l'allergie à la cacahouète est plus importante chez les jumeaux monozygotes que chez les dizygotes (401).

i. Les mutations génétiques

Différentes études génétiques ont permis d'identifier des mutations dans les gènes codant pour la filaggrine, la Forkhead Box Protein P3 (FoxP3) et pour le locus HLA (Human Leukocyte Antigen) (402). La dysfonctionnalité de ces protéines modifie l'une des trois barrières et favorise le développement une allergie.

La filaggrine est une protéine impliquée dans l'intégrité de la barrière épithéliale, sa déficience contribue à la dysfonctionnalité de cette barrière et à la sensibilisation à différents allergènes (403). Les mutations notées R501X et 2282del4 sont associées à une perte d'expression totale de cette protéine et à différents types d'allergie (404). En 2006, plusieurs variants perte de fonction pour cette protéine ont été associés au développement de l'allergie cutanée (405), de l'asthme (406) et de l'allergie alimentaire (407). Les mutations de la filaggrine impactent 20% à 50% des patients atteints de dermatite atopique mais ne seraient pas suffisantes pour induire une allergie car des facteurs environnementaux seraient nécessaires (404).

Le développement des allergies est également induit par des mutations dans des gènes codant pour plusieurs acteurs du système immunitaire. Des mutations dans le gène codant pour le HLA (autrement appelé le CMH) ont pu être associées au développement de l'allergie cutanée et alimentaire (408,409). Ces mutations renforceraient l'interaction entre le CMH et l'allergène (408). Des mutations dans des gènes codant pour des cytokines proinflammatoires ou leur récepteur ont été

décrites. On retrouve des mutations dans le gène codant pour la TSLP, l'IL-33, le récepteur de l'IL-17, l'IL-4 et son récepteur (410–414). Ces mutations pourraient induire la dysfonctionnalité de ces acteurs ou au contraire renforcer leur activité.

ii. Les mutations épigénétiques

Plusieurs études ont démontré que des modifications épigénétiques telles que des méthylations de l'ADN sont associées à l'allergie. La transcription d'un gène est réprimée lorsqu'il se trouve méthylé. Les gènes concernés par ces mutations épigénétiques se rapprocheraient de la composante immunitaire. En 2014, une hypométhylation du promoteur du gène codant pour la TSLP a été découverte chez des patients atteints de dermatite atopique (415). Il a été démontré que la méthylation du gène codant pour la FoxP3 serait diminuée chez les patients désensibilisés à l'arachide (416). Des modifications épigénétiques dans les gènes codant pour le récepteur de l'IL-1 et de l'IL-5, de l'IL-4 et de CCL8 ont été découvertes (417–419) et sont associées à l'allergie. En 2018, des modifications épigénétiques ont été découvertes dans certains gènes associés à la fonction des lymphocytes $CD4^+$ (420). L'analyse de la méthylation de l'ADN du génome entier aurait permis l'identification de 34 régions associées à la sensibilisation par des allergènes aéroportés (421). Cette étude aurait également identifié 38 régions associées à la sensibilisation par des allergènes alimentaires (421).

Ainsi, la plupart des gènes codant pour des facteurs immunitaires impliqués dans l'allergie sont sujets à des modifications épigénétiques. De manière intéressante, ces modifications peuvent être induites par des facteurs environnementaux.

b. Trois barrières influencent le développement de l'allergie

Il existe trois barrières interconnectées : l'épithélium, le système immunitaire et le microbiote. La dysfonction de l'une pourrait engendrer des dommages sur une autre et induire une allergie.

i. La barrière épithéliale

i.1 Généralités

L'épithélium constitue une barrière physique à l'interface entre l'organisme et l'environnement, et se localise au niveau de la peau, des intestins ou des poumons. L'épithélium se compose de cellules épithéliales associées entre elles par des jonctions intercellulaires. Du pole apical au pôle basal de la cellule, on retrouve : la jonction serrée, la jonction adhérente, les jonctions communicantes, les desmosomes et les hémidesmosomes (**Figure 19**). Grâce à cette intégrité physique, l'épithélium est imperméable aux pathogènes, aux toxines et aux allergènes (422). Elle assure une barrière physique, microbiologique et immunologique. Dans un contexte pathologique, on observe une augmentation de la perméabilité de l'épithélium avec une altération de l'expression des protéines de jonctions ou de leur organisation par des facteurs tels que l'environnement, la génétique ou l'épigénétique. La perméabilité de la barrière épithéliale permet le développement d'une inflammation et est associée à l'allergie (423–425).

i.2 L'atteinte de l'épithélium permet le développement de l'allergie

La peau est la barrière épithéliale la plus exposée à notre environnement et une atteinte de sa perméabilité (lésions cutanées) est associée au développement de la dermatite atopique (426). Comme décrit précédemment, la filaggrine est impliquée dans l'imperméabilité de la barrière cutanée. Ses mutations « perte de fonction » augmentent la perméabilité de la barrière cutanée et prédisposent les sujets au développement de l'allergie cutanée (405). Cela démontre alors la nécessité du

maintien de cette barrière afin de limiter la survenue des pathologies allergiques. De plus, cette perméabilité est induite par une modification de l'expression des jonctions serrées notamment. Dans ce contexte, il a été décrit que l'expression des protéines composant ces jonctions est réduite au niveau de l'épiderme des patients (427). Cela s'associe à l'apparition d'un infiltrat de type Th2 (428). Une perte de l'homéostasie cutanée permet également le développement d'une allergie alimentaire ou respiratoire. Par exemple, la sensibilisation cutanée à de l'huile d'arachide induit une allergie respiratoire chez la souris (429). Il a été démontré que l'application d'un savon contenant de la gliadine de blé altère la barrière cutanée chez l'Homme et le premier contact avec cet allergène par voie orale est suffisant pour induire une réaction anaphylactique (430).

L'épithélium intestinal et pulmonaire subit également des agressions par l'environnement et/ou des facteurs génétiques. Par exemple, l'apport de protéases contenues dans les déchets fécaux d'acarien à une culture de cellules pulmonaires, clivent les protéines composant les jonctions serrées et adhérentes (431). *In vitro*, l'apport d'un pesticide retrouvé dans notre alimentation réduit l'expression de protéines de jonctions serrées et adhérentes (432). De même, l'exposition de biopsies de colon sain humain à un extrait d'acarien augmente la perméabilité du tissu intestinal (433). Au niveau de l'épithélium bronchique, l'expression d'une protéine composant les hémidesmosomes est diminuée dans un modèle murin sensibilisé à l'acarien (434). La méthylation du gène codant pour cette protéine serait modifiée. *In vivo*, l'exposition orale à l'acarien réduit l'expression de protéines de jonction et s'associe à une réponse de type Th2 (435). Une diminution du nombre de desmosomes est détectée au niveau de l'épithélium bronchique de patients asthmatiques (436). De plus, les jonctions serrées de la barrière pulmonaire sont

dégradées chez les patients asthmatiques (437). Selon les auteurs, la perte d'expression de protéine constituant cette jonction est associée à un infiltrat inflammatoire de type Th2.

En réponse à ces agressions, les barrières épithéliales libèrent des alarmines, capables d'activer une réponse Th2 (383,438). L'activation de cette inflammation pourrait renforcer en retour des lésions au niveau de l'épithélium (383–385).

ii. Le système immunitaire associé aux barrières

Les barrières épithéliales sont protégées par un système immunitaire proximal (**Figure 19**). On peut retrouver le tissu lymphoïde associé aux bronches, au tube digestif (GALT) et à la peau. Ce système immunitaire est nécessaire pour défendre la barrière en cas d'agression. Ce système immunitaire associé au tissu est composé d'un système lymphatique et de ganglions lymphatiques tels que les ganglions médiastinaux ou mésentériques. Par ailleurs, la réponse allergique est initiée au sein de ses ganglions. Plusieurs types de cellules immunitaires composent cette barrière immunitaire : des lymphocytes T et des cellules présentatrices de l'antigène telles que des DC. Cette barrière est également riche en IgA (439). La déficience en IgA est associée à une hyperréactivité du tissu bronchique (440). Chez la souris asthmatique, la concentration d'IgA salivaire et plasmatique est augmentée suite à une immunothérapie (441). La présence des IgA est également associée à une protection face à l'allergie alimentaire (442). Le maintien de l'homéostasie de ces différents facteurs est important et une perturbation de celle-ci est associée à l'allergie.

iii. Le microbiote

iii.1 Généralités

En 1989, David Strachan associa l'hypothèse de l'hygiène au développement de l'allergie (443). Il proposa que réduire l'exposition aux microbes et aux infections dans l'enfance pourrait diminuer la maturation du système immunitaire et par conséquent, augmenter la prévalence des pathologies allergiques (443). En effet, une faible exposition microbienne dans l'enfance altère le développement du microbiote et favorise la survenue de l'allergie (444).

Le microbiote est en interaction permanente avec le système immunitaires et les barrières épithéliales (**Figure 19**). Il réside au niveau de la peau, des poumons et de l'intestin. Il regroupe de nombreux microorganismes (bactéries, virus, champignons, protozoaires et archées) qui vivent en symbiose avec l'organisme (445). Certains micro-organismes sont pathogéniques, d'autres dits commensales sans fournir de bénéfice à l'hôte. La plupart des microorganismes vivent en symbiose et des bénéfices mutuels sont apportés (445). Un déséquilibre dans la relation entre l'hôte et son microbiote est appelée une dysbiose et peut être associée à des pathologies inflammatoires telles que les MICI, l'obésité ou l'allergie (446). En effet, l'augmentation de la perméabilité des barrières favorise l'entrée des bactéries dans l'organisme. Ces bactéries sont alors reconnues par le système immunitaire et déclenchent une réponse inflammatoire (422). Par exemple, une dysbiose peut induire l'activation de DC capables de promouvoir la polarisation des Th17 (447). Les bactéries de notre microbiote produisent des métabolites qui peuvent faciliter la maturation de différents acteurs du système immunitaire, notamment ceux impliqués dans la voie anti-inflammatoire ou tolérogène (448). Par exemple, les acides gras à

chaine courte produits par notre microbiote favorisent le développement des Treg (422,449,450).

iii.2 La dysbiose intestinale

En 1997, une allergie à l'ovalbumine a été mimée dans un modèle murin sans pathogènes, dit germ-free (451). L'absence de pathogènes augmente la réponse allergique caractérisée par une réponse Th2 et d'une production d'IgE et d'IL-4 plus importante (451). Le GALT est peu développé chez les souris germ-free et associé au développement de l'allergie (451,452). L'apport de *Bacteroides fragilis* dans ce modèle favorise le développement du GALT et limite la survenue de l'allergie (453). Les souris germ-free présentent une réponse inflammatoire plus importante que des souris conventionnelles au cours d'une sensibilisation allergique (454). L'absence de pathogènes favorise la chute de la température, un des symptômes associé à l'allergie (454). Le transfert d'un microbiote provenant d'un donneur allergique dans une souris saine mime les caractéristiques de l'allergie alimentaire (455,456). Les animaux receveurs présentent une chute de la température plus importante, la concentration plasmatique de MCP-1 et des IgE est augmentée (455,456). Dans un modèle exempt de pathogènes, la colonisation par des *Clostridia* augmente le nombre de Treg au niveau du colon (457). Chez le rat, la colonisation du microbiote à la naissance par *E. coli* empêche la survenue de la tolérance orale (458).

La colonisation du microbiote de l'enfant avec des bactéries pathogéniques telles que *C. difficile* ou *S. aureus* est associée au développement de l'allergie alimentaire (459). Un microbiote peu diversifié est associé à la sensibilisation à un ou plusieurs allergènes alimentaires (460). Cette même étude semble mettre en évidence qu'une faible abondance de *Ruminococaceae* s'associe à la sensibilisation allergique (460). En 2016, l'analyse du microbiote intestinal d'enfants dont l'allergie aurait été résolue

révèle un enrichissement en *Firmicutes* (461). Le microbiote intestinal d'enfants allergiques à l'arachide est peu divers et la colonisation du microbiote par des *Bacteroides* est plus importante (462). En 2020, une étude confirme que le microbiote intestinal de sujets allergiques est moins abondant et varié que le microbiote de sujets non allergiques (463).

Les microbiotes seraient interconnectés. Par exemple, une dysbiose du microbiote intestinal est susceptible d'avoir un impact dans l'asthme et la dermatite atopique. Il a été démontré que le microbiote intestinal d'enfants atteints de dermatite atopique serait peu abondant et divers (464). Chez ces patients, l'abondance intestinale des *Clostridia*, de *C. difficile*, d'*E. coli* et de *S. aureus* est modifiée. En 2018, il a été mis en évidence que l'abondance d'une bactérie appartenant au phylum des *Bacteroides* est augmentée au sein du microbiote intestinal de patients asthmatiques (465). De plus, l'abondance d'*A. muciniphila* est diminuée dans les fèces d'enfants asthmatiques (466). En 2020, une équipe a mis en évidence que la composition du microbiote intestinal de patients asthmatiques est différente de celle de sujets sains (467).

iii.3 La dysbiose pulmonaire

L'infection intranasale d'une bactérie appartenant au phylum des protéobactères augmente l'inflammation de type Th2 et Th17 dans un modèle d'asthme à l'ovalbumine (468). En 2017, l'infection d'une bactérie appartenant à ce même phylum exacerbe la réponse inflammatoire dans un modèle d'asthme allergique à l'acarien (469). En effet, l'infection de cette bactérie augmente l'inflammation du tissu pulmonaire chez la souris asthmatique (469). Une dysbiose du microbiote pulmonaire a été détectée chez le patient asthmatique, souvent caractérisée par un

enrichissement de protéobactères (467,470,471). Cette dysbiose se manifeste également par une abondance plus faible de *Bacteroides* et *Firmicutes* (470).

iii.4 La dysbiose cutanée

Il existe un microbiote cutané dont la dysbiose s'associe à la dermatite atopique (472). Chez l'allergique, la dysbiose cutanée se caractérise par une colonisation importante de *S. aureus* et une faible diversité de *Protéobactères*, notamment de *Gammaprotéobactères* (473–475). L'abondance de cette bactérie au sein du microbiote cutané est associée à la sévérité de l'allergie cutanée (475). La colonisation de cette bactérie au niveau du microbiote cutané est associée à une augmentation de la concentration plasmatique des IgE spécifiques à l'œuf et aux arachides (476). Selon les auteurs, la modification du microbiote cutané relative à une abondance plus importante de *S. aureus* s'associe au développement de l'allergie alimentaire, indépendamment d'une allergie cutanée.

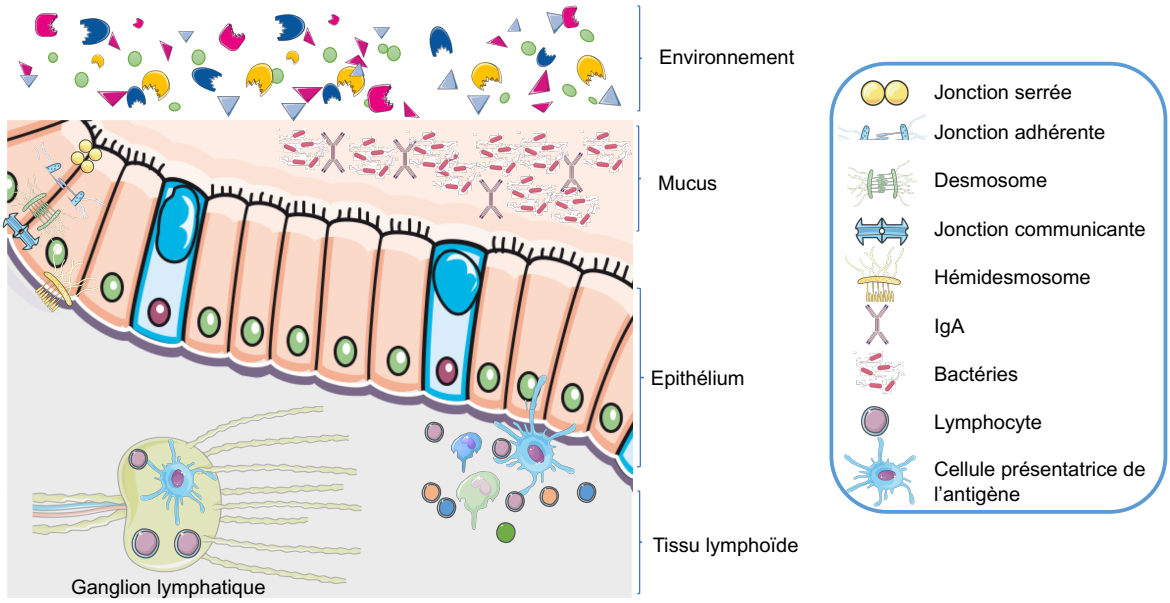


Figure 19 : Structure de la barrière épithéliale. Cette barrière se compose d'un épithélium, d'un système immunitaire et d'un microbiote.

c. *L'environnement a une influence sur les barrières*

L'environnement au cours de la période prénatale et dans les premières années de vie serait un facteur de risque majeur dans le développement des allergies (**Figure**

20). L'exposition au tabac, à la pollution de l'air et à certains aliments, de manière unique ou combinée à une prédisposition génétique, pourrait augmenter le risque de déclencher une allergie.

i. L'environnement aérien

i.1 L'exposition à un air pollué et au tabac

Différentes études ont pu mettre en relation l'environnement aérien avec le développement de l'allergie. Kohli et al démontrent que l'exposition à la cigarette et à un air ambiant pollué au cours de la période prénatale augmente le risque d'allergie et est associé à des modifications épigénétiques des gènes codant pour FoxP3 (477). Une étude supplémentaire précise que l'exposition au tabac induit des modifications épigénétiques dans des gènes codant pour les protéines de jonction de l'épithélium bronchique et dans le gène codant pour la TSLP (478). La comparaison du génome entier entre des fumeurs et des non-fumeurs a soulevé des différences de méthylation dans les gènes codant pour l'IL-6 et l'IL-13 (479). L'exposition aux particules de charbon noir et aux sulfates favorise également la survenue l'asthme et s'associe à des modifications épigénétiques (480). Les auteurs précisent que ces modifications impactent les gènes codant pour l'IL-10, le CMH-II, la sous-unité γ du récepteur Fc epsilon et des chimiokines impliquées dans le recrutement des éosinophiles (480). En plus d'être associé à l'asthme, l'exposition au tabac peut favoriser la survenue d'une allergie cutanée (478).

i.2 L'exposition à un environnement agricole

L'environnement agricole aurait une influence bénéfique sur la survenue de l'allergie. Les enfants vivant dans cet environnement sont moins sensibilisés et moins susceptibles de développer une allergie (481). Une étude européenne a identifié que l'environnement agricole est associé à une hyperméthylation dans le gène codant

pour l'IL-13 (482). Par ailleurs, cet environnement a une influence sur le microbiote. Il semblerait que l'exposition précoce à cet environnement favorise le développement d'un microbiote intestinal plus diversifié (483–485). L'environnement agricole expose les individus aux animaux de la ferme. Ainsi, l'exposition à de nombreux animaux au cours de la première année de vie s'associe à un microbiote plus diversifié et empêche le développement de l'allergie (445,483,485). Par ailleurs, l'exposition au microbiote vaginal de la mère lorsque l'enfant nait par voie basse influence le microbiote intestinal de l'enfant et lutterait contre l'allergie (445).

ii. L'environnement alimentaire

Notre régime alimentaire a été modifié au cours de ces dernières années et pourrait être à l'origine de l'augmentation de la prévalence de l'allergie alimentaire. La nutrition est un facteur environnemental qui influence le développement de l'allergie. Par exemple, la supplémentation en vitamine D dans l'enfance est associée au développement de l'allergie alimentaire et respiratoire (486). La consommation d'acides gras saturés de type ω-6 est associée au développement de l'allergie alimentaire et à des modifications épigénétiques dans promoteur du gène codant pour le TNF-α (398,487). L'alimentation de type occidentale, basée sur la consommation de protéines d'origine animale, de lipides saturés et de sucres non complexes, induit une dysbiose intestinale et serait corrélée à la survenue de l'allergie alimentaire (488). De plus, la consommation de probiotiques ou d'antibiotiques influencent la composition et la diversité du microbiote. Chez la souris, la consommation d'antibiotiques dans la période néonatale augmente la sévérité de l'allergie à l'arachide mais est restaurée par l'apport de probiotiques (457). La consommation d'antibiotiques pendant la grossesse module la composition du microbiote intestinal de l'enfant qui est plus à risque de développer une allergie

(484). De plus, la consommation d'antibiotiques dans l'enfance altére la composition du microbiote intestinal et est corrélée au risque de développer une allergie au lait de vache (484).

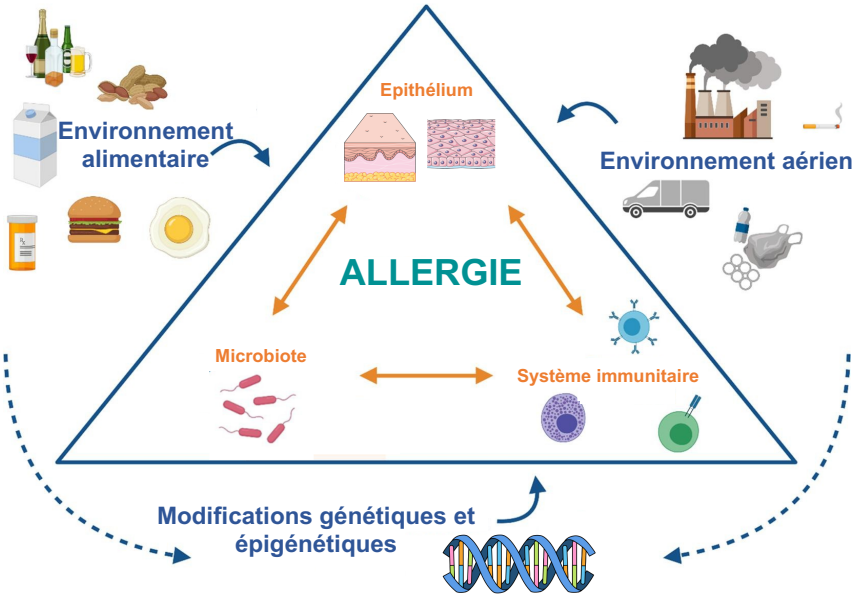


Figure 20 : Le développement de l'allergie repose sur trois barrières interconnectées, adaptée de Ballegaard & Bøgh, 2023. Ces barrières sont influencées par des facteurs génétiques et/ou environnementaux.

4- Les modèles animaux d'allergie

Les modèles animaux sont essentiels à la compréhension des mécanismes de l'allergie, notamment la réponse immunitaire. Aujourd'hui, ces modèles restent indispensables à la compréhension de mécanismes plus complexes. On distingue les modèles d'allergie entre :

- ceux qui visent à mesurer un effet sur la réponse immunitaire (réponse Th2, production d'IgE ou activation des basophiles ou mastocytes)
- ceux qui s'intéressent à mimer les effets cliniques tels qu'une inflammation locale au niveau pulmonaire, intestinal ou cutané, l'apparition des symptômes voire d'un choc anaphylactique

Plusieurs paramètres sont à prendre en compte dans la sensibilisation tels que la voie d'administration, le nombre et la fréquence de l'administration, la dose et la

nature de l'allergène, l'utilisation ou non d'un adjuvant. Il faut également déterminer la fréquence et la voie d'administration ainsi que la nature de l'allergène concernant le challenge (489). Suite à l'induction d'une allergie, plusieurs paramètres peuvent être mesurés :

- l'apparition de symptômes (modulation du temps de transit intestinal, modification de la respiration, comportement ou mobilité)
- la survenue d'une anaphylaxie (hypothermie, mesure de l'histamine et de MCP-1)
- réponse immunitaire (dosage des IgE, production des cytokines de type Th2, activation des lymphocytes de type Th2)

Les principaux allergènes alimentaires utilisés sont le blé, la cacahouète ou le lait. L'ovalbumine est un allergène souvent utilisé dans l'étude de l'allergie respiratoire chez la souris alors qu'il s'agit d'un allergène alimentaire chez l'Homme. Il est toutefois possible d'utiliser cet allergène afin de mimer une allergie alimentaire à l'œuf chez la souris. Il est également possible d'induire un asthme allergique chez la souris par une exposition à des extraits d'acariens. Quelques études ont également utilisé des extraits de champignons, de latex, de cafard ou d'ambroisie (490). Concernant l'allergie alimentaire, plusieurs adjuvants sont utilisés tels que la toxine du choléra, le LPS ou l'hydroxyde d'aluminium (alum). Les sulfates d'aluminium et de potassium sont utilisés dans la sensibilisation respiratoire (490). Leur utilisation est nécessaire afin d'induire une réaction allergique car l'allergène utilisé à lui seul, ne serait pas un danger de signal suffisant pour le système immunitaire de l'animal. Ces adjuvants possèdent des épitopes reconnus par le système immunitaire du modèle animal et permettent l'initiation d'une réponse allergique.

Une sensibilisation par voie intrapéritonéale est suffisante pour l'installation d'une allergie au blé *in vivo*, cependant, il serait nécessaire d'utiliser la voie orale afin d'induire une allergie à la cacahuète ou au lait de vache (491,492). L'exposition

cutanée à la cacahouète serait également suffisante pour induire une allergie alimentaire chez la souris (493). Notre équipe a mis en évidence que la sensibilisation à l'acarien par voie nasale ou cutanée peut induire un asthme plus sévère (494).

Le choix du modèle animal est également une décision importante. Les animaux domestiques tels que les chiens, les chats ou les chevaux développent spontanément une allergie. Cependant, leur inclusion reste difficile éthiquement. La souris est le modèle le plus utilisé dans l'allergie bien qu'il existe quelques différences avec l'Homme. Selon la souche utilisée, la réponse allergique ou les paramètres mesurés varient. Par exemple, la réponse allergique à l'ovalbumine est différente entre les souris BALB/c et les C57Bl6. Seules les BALB/c présentent une diarrhée (495). En 2011, il a été suggéré que les splénocytes issus de souris BALB/c sécrètent plus abondamment des cytokines de type Th2 que ceux issus de souris C3H (496). Les souris BALB/c présentent une concentration plus importante d'IgE spécifiques par rapport à d'autres souches faisant de cette lignée un modèle de choix (491). Le rat Brown Norway peut être une alternative dans l'étude de l'allergie car il présente une forte concentration d'IgE (491). Il est également possible d'utiliser des modèles animaux génétiquement modifiés tels que les souris IL-4RaF069 qui présentent une mutation inactivatrice dans le gène codant pour un inhibiteur du récepteur de l'IL-4. Les souris *CNS1*$^{-/-}$ et *WAS*$^{-/-}$ présentant une mutation dans un gène codant pour la voie Treg peuvent aussi être utilisées comme modèle d'allergie (489).

II- L'allergie alimentaire

L'Institut National de l'Allergie et des Maladies Infectieuses définit l'allergie alimentaire comme « une réaction immunitaire indésirable qui se produit de manière

répétée lors de l'exposition à un aliment donné, se distinguant des autres réactions indésirables à l'aliment, telles que l'intolérance alimentaire, les réactions pharmacologiques et les réactions médiées par une toxine » (375).

1- La prévalence de l'allergie alimentaire

L'allergie alimentaire est une maladie de plus en plus commune. Actuellement, 10% de la population mondiale est impactée par cette pathologie qui serait plus fréquente chez l'enfant que l'adulte (371,372,375). La prévalence de l'allergie alimentaire est différente selon la zone géographique, le régime alimentaire consommé, de l'âge et de l'ethnie de la population étudiée. Certaines études se concentrent sur une méthode de diagnostic en particulier, or il a été rapporté que la prévalence déterminée par une auto-déclaration est supérieure celle qui a été confirmée par un TPO (497,498). Par exemple, la prévalence de l'allergie alimentaire mesurée par une auto-déclaration serait de 19% alors que ce chiffre passe à 10,8% selon une méthode standardisée (499).

a. Mesure de la prévalence selon la zone géographique

Une méta-analyse regroupant 42 études européennes précise que la prévalence de l'allergie alimentaire serait de 6% en Europe (**Figure 21**) (498). La prévalence de l'allergie alimentaire de la population française serait de 4,2% (**Figure 21**) (498). Mais plus récemment, une étude française a mesuré la prévalence de l'allergie alimentaire en incluant 18 329 enfants dès leur naissance qui ont été suivi jusqu'à l'âge de 5 ans. Selon les auteurs, la prévalence de l'allergie alimentaire des enfants français serait de 5,94% (500). Aux États-Unis, l'allergie alimentaire affecterait un adulte sur 10 et 1 enfant sur 12 (**Figure 21**) (371,372).

b. Mesure de la prévalence selon l'allergène alimentaire

Selon l'académie européenne de l'allergie et de l'immunologie (EAACI), plus de 120 aliments ont été décrits comme étant des allergènes mais les plus fréquents seraient le lait, les œufs, les arachides, les fruits secs, les fruits à noyau et certains légumes (501). Les allergies aux poissons et fruits de mer sont certes, moins fréquentes mais provoquent des symptômes plus importants (501). Le travail de Moonesinghe et ses collègues se base sur 61 études et estime la prévalence de l'allergie aux poissons entre 0% et 7% et celle aux coquillages entre 0% et 10,3% (502). En 2013, il a été précisé que les allergènes principalement responsables d'une allergie chez l'enfant sont le lait et les œufs, alors que l'arachide prédomine chez l'adulte (503). D'une manière générale, les œufs, le lait, les arachides, le soja, le blé, les coquillages et les poissons sont des allergènes responsables de l'allergie chez l'adulte (375,504).

c. Mesure de la prévalence selon la zone géographique et l'allergène

Plusieurs études démontrent que la nature de l'allergène varie également selon la zone géographique (**Figure 21**). Selon une méta-analyse, l'allergie à la noisette prédomine en Europe alors que l'allergie aux arachides est plus importantes aux États-Unis (505). En Asie, l'allergie aux poissons est plus importante chez l'adulte alors que celle aux arachides prédomine en Australie, en Europe et aux États-Unis (506). Chez l'enfant, l'allergie aux œufs est prédominante en Asie et en Australie (506). Les enfants européens et américains sont plus sujets à une allergie au lait de vache (503). Les enfants français sont plus susceptibles de déclencher une allergie au lait, aux œufs, aux arachides, au kiwi et à l'ananas (500).

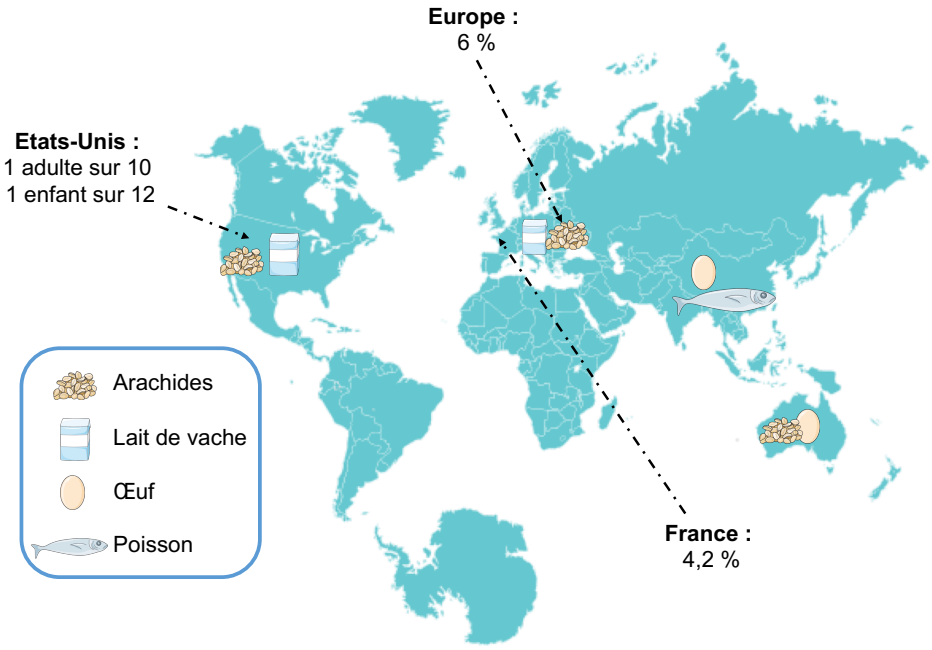


Figure 21 : Prévalence de l'allergie alimentaire selon la zone géographique et l'allergène alimentaire.

2- Les conséquences de l'allergie alimentaire

a. Les symptômes de l'allergie alimentaire

Les symptômes peuvent se manifester quelques minutes à quelques heures après la consommation d'un aliment pour lequel l'individu est allergique, cependant leur sévérité n'est pas dépendante de la dose consommée (507). Ces symptômes impliquent le système gastro-intestinal, pulmonaire, cardiovasculaire et cutané (364). Chez l'enfant, cette pathologie se manifeste de façon fréquente par des éruptions cutanées et des vomissements (508). Et dans de rares cas, par des troubles respiratoires ou cardiovasculaires (508).

Chez l'adulte, cette pathologie se caractérise par des troubles digestifs (douleurs abdominales, vomissements, diarrhée, constipation, reflux gastro œsophagiens) et un œdème de Quincke (démangeaisons et gonflement des lèvres et de la gorge). Le patient risque de s'étouffer si cet œdème atteint le larynx (508). L'allergie alimentaire se manifeste de manière sévère et systémique. Il s'agit d'une anaphylaxie qui concerne 5% des allergiques et peut conduire au décès du patient (499).

L'anaphylaxie se caractérise par un urticaire généralisé, des troubles respiratoires et digestifs, par une chute de la tension artérielle. A un stade sévère, l'anaphylaxie peut conduire à un arrêt cardiaque ou respiratoire. De façon remarquable, la plupart des allergies alimentaires (lait, œufs et blé) développées dans les premières années de vie se résolvent spontanément dans l'enfance ou pendant l'adolescence (509). En revanche, l'allergie aux arachides, aux fruits de mer et aux poissons pourraient être plus persistantes (509). Les conséquences de l'allergie alimentaire et le risque encouru pour le patient impactent considérablement leur qualité de vie (510,511).

b. L'allergie alimentaire impacte la qualité de vie

Plusieurs études démontrent que l'allergie alimentaire impacte négativement la qualité de vie du patient et de sa famille. L' exposition accidentelle à l'allergène reste la principale crainte de l'allergique et de son entourage (512,513). La qualité de vie des enfants allergiques à l'arachide dont le risque d'anaphylaxie est important a été mesurée par des questionnaires (514). Les réponses ont été comparées à celles de familles dont l'un des enfants est atteint de diabète de type 1 qui doivent faire attention à leur alimentation sucrée. Selon cette étude, la qualité de vie des enfants allergiques est significativement altérée par rapport aux diabétiques (514). La peur d'une consommation accidentelle est bien plus élevée chez l'allergique que la peur de l'hypoglycémie chez le diabétique. 85% des allergiques portent une forte attention à leur alimentation alors que la moitié des diabétiques vérifient leur alimentation sucrée (514). Par ailleurs, la plupart des allergiques ont rapporté être sujets à du harcèlement, de l'anxiété, une dépression et du stress post-traumatique (515,516).

La préparation des repas ainsi que la consommation à l'extérieur (école, restaurant, cercle familial ou amical) sont de fortes sources d'anxiété (517,518). Par exemple, 20% des réactions allergiques liées à un aliment ont lieu à l'école et 7 réactions

allergiques graves sur 10 ont lieu lorsque les personnes mangent à l'extérieur (501). L'allergie influence alors les activités familiales ou sociales (517,518). Par exemple, le suivi d'un régime alimentaire spécifique peut limiter la participation de l'enfant à des activités sociales ou scolaires (517). L'allergie aurait un impact sur les interactions sociales, l'assiduité scolaire et l'assiduité au travail (519).

Une étude américaine a estimé que l'allergie alimentaire induit des coûts annuels de 24,8 milliards de dollars (520). Ses dépenses concernent les hospitalisations, les visites médicales, les soins dispensés par un spécialiste et les interventions en urgence (520). Ces coûts comprennent également l'achat d'aliments sans allergène ou de médicaments. La diminution de la productivité et de l'efficacité de l'individu ainsi que la perte du temps de travail ou d'école participent à ces coûts (501).

Point résumé – Les conséquences de l'allergie alimentaire

- Elle se manifeste par des troubles gastro-intestinaux, cutanés et/ou respiratoires
- L'anaphylaxie est une manifestation sévère de l'allergie qui peut conduire au décès du patient
- Il s'agit d'une forte source d'anxiété pour les malades et leurs proches
- Elle affecte la vie sociale, scolaire et professionnelle
- Elle induit de fortes dépenses

3- Pathophysiologie de l'allergie alimentaire

L'allergie alimentaire est une réaction anormale du système immunitaire induite des allergènes alimentaires. Comme décrit précédemment, elle intervient lors d'une perte de l'homéostasie de la barrière intestinale.

a. La barrière intestinale

L'intestin est un organe immunitaire à part entière qui contient le plus grand nombre de cellules immunitaires. Comme nous l'avons précisé précédemment, l'intestin est séparé de la lumière intestinale par une couche de cellules épithéliales, les entérocytes, qui forment une véritable barrière. Ces cellules sécrètent des facteurs

(mucines, IgA, peptides antimicobiens) qui contribuent au bon fonctionnement de barrière (422,521). Le système immunitaire intestinal se compose de sites effecteurs tels que le GALT, les plaques de Peyer et les ganglions lymphatiques mésentériques (GLM). Ce système immunitaire distingue les pathogènes, les bactéries commensales et les antigènes inoffensifs. Or, l'exposition à des allergènes alimentaires perturbe un état de non-réponse, appelée la tolérance.

b. La tolérance orale

La tolérance orale est un mécanisme physiologique caractérisé par une non-réponse du système immunitaire face à l'ingestion d'antigènes alimentaires. Les protéines et peptides alimentaires sont transportés depuis la lumière du tube digestif vers la muqueuse intestinale à travers les entérocytes. Les petits peptides sont capables de traverser l'épithélium intestinal par voie paracellulaire à travers les jonctions serrées (522). Les plus gros peptides et les protéines alimentaires traversent par la voie transcellulaire via les entérocytes (522). Au niveau du GALT, les antigènes sont pris en charge par des cellules présentatrices d'antigènes (523). Il y a deux types de DC impliquées dans la prise en charge de ces antigènes, celles qui expriment CXC3R1 et celles qui expriment CD103 (**Figure 22**).

Suite à l'absorption des peptides, les DC $DC103^{+}$ $CXC3R1^{-}$ migrent au sein des GLM grâce à l'expression de CCR7 (524,525). L'expression de ce récepteur est importante dans ce processus. En effet, la déficience de CCR7 empêche la survenue de la tolérance orale *in vivo* (525). Ces DC sont capables de sécréter du Transforming Growth Factor (TGF)-β et de l'acide rétinoïque (524). Il a été décrit que ces cellules expriment une enzyme impliquée dans le métabolisme du tryptophane, l'indoléamine-2,3-diogénase (IDO) (526). La sécrétion de ces facteurs et l'expression de cette enzyme permet aux DC $CD103^{+}$ d'induire la polarisation des LT naïfs en

Treg (**Figure 22**) (524). Par ailleurs, l'inhibition de IDO favorise la polarisation des LT en Th1 et Th17 (526). Au sein des GLM, il a été suggéré que les DC $CD103^+$ sont susceptibles d'induire l'expression de CCR9 et α4β7 au niveau des Treg (527). L'expression de ces récepteurs permet aux Treg de migrer au niveau de la barrière intestinale (527). Par ailleurs, la déficience en CCR9 et α4β7 prévient la migration intestinale des Treg et empêche le processus de tolérance (528). Il a été démontré que la déplétion des LT $CD25^+$ (autrement appelés Treg) perturbe la tolérance chez la souris (529). Le transfert adoptif des LT $CD25^+$ restaure ce mécanisme *in vivo* (529). Comme nous l'avons décrit précédemment (**cf chapitre 2, I 3**), des mutations dans le gène codant pour FoxP3 sont associées au développement de l'allergie (530). Les travaux de Prince et ses collègues précisent que les enfants allergiques présentent un pourcentage diminué de Treg comparé à des enfants en bonne santé (531). Au sein de la barrière, les Treg exercent des fonctions immunosuppressives par la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10 (532,533). Les Treg et l'IL-10 sont susceptibles d'inhiber l'activation et l'expansion des Th2 et des mastocytes (532,533). Les LB participent également à ce processus via une sous-population de LB dits régulateurs capables de sécréter de l'IL-10 (534). Au cours de ce processus, la sécrétion d'IL-10 et de TGF-β induit la différenciation des LB en plasmocytes sécréteurs d'IgA et d'IgG4.

La tolérance est donc un processus qui empêche l'installation d'une réponse immunitaire de type Th2. Un échec dans le maintien de cet équilibre pourrait conduire à une réponse inflammatoire face à un aliment inoffensif. Une déficience de ces Treg pourrait être à l'origine d'une rupture de la tolérance et du développement de l'allergie.

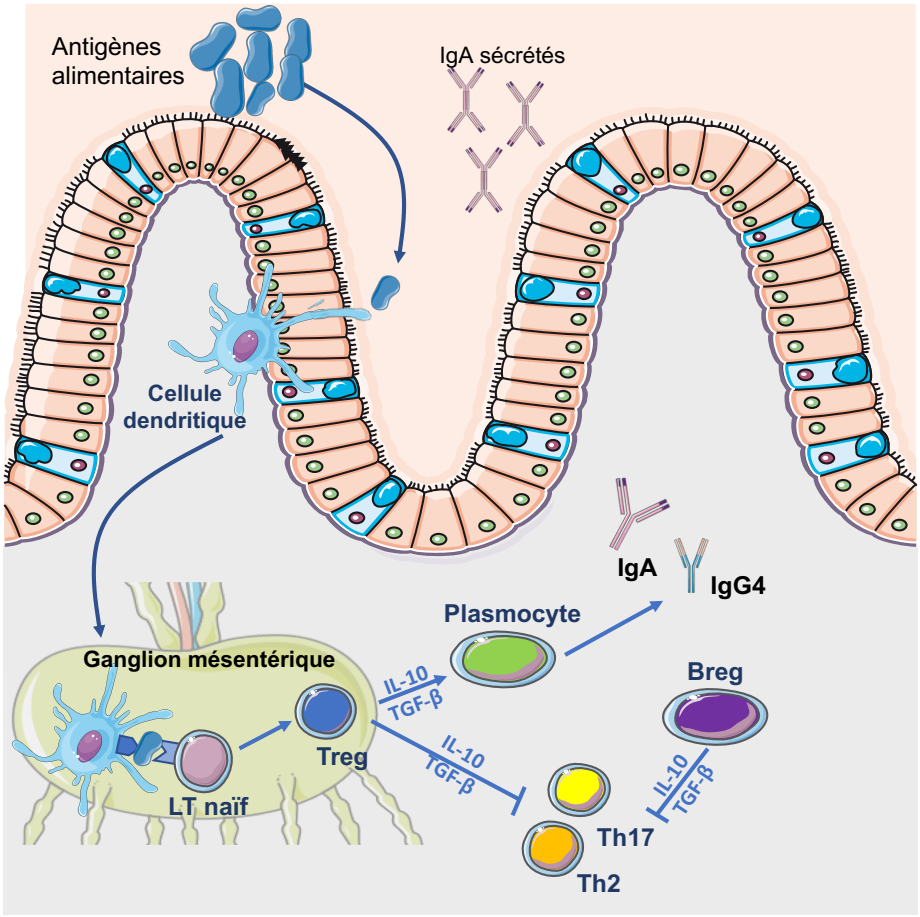


Figure 22 : Mécanisme de la tolérance orale au niveau de la barrière intestinale

c. La sensibilisation

Comme cela a été décrit précédemment (**Chapitre 2, I 2**), les alarmines sont sécrétées par la barrière en réponse à une agression par l'allergène (383–385). L'IL-33 inhibe l'activation des Treg et lutter contre le mécanisme de tolérance (535–537). Cette cytokine induit également l'expression d'une molécule de costimulation sur les DC, OX40L (538,539). L'expression de cette molécule oriente la différenciation des LT naïfs en Th2 (538,539). Ces alarmines activent aussi des cellules lymphoïdes innées (ILC) de type 2 (386). Les ILC-2 participent à la réponse Th2 en sécrétant de l'IL-4, de l'IL-5 et de l'IL-13. Dans la physiopathologie de l'allergie alimentaire, les DC présentes dans cet environnement migrent dans les GLM et activent la réponse Th2 (**cf chapitre 2, I 2**). L'IL-4 et l'IL-13 inhibent la production de Treg et participent à la lutte contre la tolérance (535–537). La sécrétion de ces cytokines est essentielle à la

production des IgE spécifiques de l'allergène (**cf chapitre 2, I 2**). La fixation de ces IgE à leur récepteur exprimé à la surface des basophiles et des mastocytes prépare ces cellules lors d'une réexposition ultérieure (389).

d. Le déclenchement

La réexposition de l'individu allergique avec le même allergène est susceptible de créer un complexe immun entre le peptide allergénique et les IgE spécifiques fixés à leur récepteur sur les basophiles et mastocytes (392,393). Ce processus déclenche le mécanisme de dégranulation au niveau des basophiles et des mastocytes. Comme décrit précédemment, d'autres médiateurs inflammatoires participent à l'exacerbation de cette réponse et à l'apparition des différents symptômes (392,393). Au sein de cet environnement inflammatoire, tous ces médiateurs mènent à une vasodilatation, une contraction des muscles lisses et à une production accrue de mucus (392).

4- Les traitements de l'allergie alimentaire

Actuellement, il n'existe pas de traitement curatif dans le contexte de l'allergie alimentaire. Afin de limiter le développement et les symptômes de cette pathologie, plusieurs recommandations et stratégies thérapeutiques peuvent être suivies. Par exemple, il est recommandé d'introduire les aliments à risque dans les 4 à 6 premiers mois de vie de l'enfant (540,541). Une fois l'aliment introduit dans l'alimentation de l'enfant, il est nécessaire de maintenir une consommation régulière (540,541). Ces recommandations se basent sur les travaux de Roduit qui a suggéré qu'une bonne diversité alimentaire dès le plus jeune âge préviendrait le développement de l'allergie alimentaire (542). La diversité alimentaire introduite dans le plus jeune âge s'accompagnerait d'une expression plasmatique importante de FoxP3 qui renforcerait le mécanisme de la tolérance orale (**cf chapitre 2, II 3**) (542).

Le suivi de ces recommandations n'est parfois pas suffisant pour empêcher la survenue d'une allergie alimentaire. Lorsque l'individu est sujet à une allergie alimentaire, plusieurs stratégies thérapeutiques sont proposées.

a. L'éviction

L'éviction consiste à éliminer l'aliment incriminé de son bol alimentaire (501). Pour cela, le patient doit suivre un régime alimentaire strict et porter attention à la liste des ingrédients. Pour faciliter cette stratégie, la législation a demandé à ce que la présence d'allergènes connus soit clairement indiquée par un étiquetage spécifique (501). L'efficacité de l'éviction relève du bon suivi du patient et / ou de ses proches. Bien que cette stratégie limite le nombre de réaction allergique, il peut être difficile de la respecter selon l'allergène. Malgré le développement de plusieurs régimes spécifiques tels que le régime sans blé, il est parfois difficile de trouver des aliments ne contenant pas l'allergène pour lequel le patient est allergique. Cette stratégie peut être contraignante pour les allergies aux œufs et à l'arachide. En effet, on peut lire sur de nombreuses étiquettes « traces éventuelles d'arachides ». Les travaux de Sova et ses collègues précisent que cette stratégie peut induire des déficiences nutritionnelles voire des malnutritions qui peuvent limiter la croissance de l'enfant surtout s'il est atteint d'une allergie alimentaire multiple (543). En 2016, il a été rapporté que la moitié des enfants allergiques ont été sujet à une exposition accidentelle 5 ans après le diagnostic (544). Ce chiffre passe à 75% 10 ans après le diagnostic de l'allergie alimentaire (544). En cas d'exposition accidentelle, il est possible de traiter les symptômes par une injection d'épinéphrine ou par un traitement à base d'antihistaminiques ou de corticostéroïdes (364,545). Ces thérapies peuvent être utilisées de manière seule ou combinée (546). L'administration de corticostéroïdes est efficace au cours de crises sévères telles que l'œdème de

Quincke ou un choc anaphylactique, en association avec de l'adrénaline. Prise à temps, l'épinéphrine, un analogue de l'adrénaline, limite la survenue d'un œdème, d'une bronchoconstriction ou d'une hypotension en cas de choc analphylactique. Face au nombre de réactions allergiques qui ont lieu à l'école, l'EEACI a demandé à ce que ces établissements possèdent des auto-injecteurs d'adrénaline (501).

Face à ces contraintes, d'autres stratégies thérapeutiques ont été développées ou seraient en cours de validation. Ces approches reposent sur une immunothérapie, l'utilisation de probiotiques ou tout récemment par la transplantation de microbiote fécal (547–549).

b. La désensibilisation

La désensibilisation est une stratégie thérapeutique qui vise à moduler le système immunitaire du patient. Le but de cette immunothérapie est de diminuer le seuil de sensibilisation pour l'allergène dont il est allergique. Elle repose sur l'administration de faibles doses d'allergène de manière croissante. Cette administration se fait quotidiennement et sur plusieurs années. La désensibilisation permet d'empêcher la survenue d'une réaction allergique en cas d'ingestion accidentelle (550). Cette thérapie s'administre par différentes voies précisées ci-dessous.

i. La voie sublinguale

La première démonstration de la désensibilisation à un allergène alimentaire a été effectuée en 2005 par une administration sublinguale (551). Cette étude a inclu 23 patients allergiques à la noisette. Le seuil de tolérance des individus désensibilisés a été significativement augmenté en comparaison au groupe placebo. Plus de la moitié des patients traités ont toléré l'administration d'une dose importante de noisette alors que plus de 90% des patients du groupe placebo ne l'a pas toléré (551). La concentration plasmatique des IgG4 et de l'IL-10 était augmentée dans le groupe

traité (551). En 2007, un rapport de cas établit l'efficacité de cette stratégie chez un patient avec des antécédents d'épisodes anaphylactiques au kiwi. Suite à cette thérapie, la concentration d'IgE était diminuée alors que celle des IgG4 était augmentée. De plus, les résultats d'un TPO sont revenus négatifs (552). Ce principe a également été vérifié chez le patient allergique à la pêche (553). Un TPO a mis en évidence que le seuil de tolérance à cet allergène a été triplé après la désensibilisation (553). Cette thérapie serait efficace pour 70% des patients allergiques à l'arachide (554).

ii. La voie orale

L'immunothérapie par voie orale est efficace pour plusieurs allergies alimentaires. Suite à cette thérapie, la concentration plasmatique des IgG4 se trouvait augmentée chez des enfants allergiques au lait de vache dont le seuil de tolérance a été augmenté (555). Burks et ses collègues démontrent l'efficacité de la désensibilisation orale à l'œuf. Après 10 de traitement, 55% des enfants ont été considérés comme désensibilisés. Ce chiffre augmente à 75% après 22 mois de traitement (556). Après 117 semaines de traitement, 35% des patients allergiques à la cacahouète ont été désensibilisés. La concentration des IgE plasmatiques spécifiques étaient diminué et la réponse du test d'activation du basophile était diminuée (557). Une immunothérapie orale au blé effectuée pendant un an a permis la désensibilisation de la moitié des patients (558).

iii. La voie épicutanée

L'immunothérapie par voie épicutanée consiste en l'application de l'allergène par un patch. Après 3 mois de traitement, la dose seuil de réactivité a été significativement augmentée chez l'enfant allergique au lait de vache (559). Ce principe a permis la désensibilisation de 67% de patients allergiques à l'arachide (547).

L'immunothérapie montre une bonne efficacité pour plusieurs allergènes alimentaires mais n'a pas encore été développée pour tous les allergènes alimentaires. Elle permet de prévenir l'apparition de symptômes en cas d'ingestion accidentelle. Il est possible de combiner l'immunothérapie avec des modulateurs de la flore intestinale.

c. Les modulateurs de la flore intestinale

i. Les probiotiques

Les probiotiques sont définis comme « un mélange de plusieurs micro-organismes vivants qui, ingérés par un hôte, améliorent sa santé en agissant sur les propriétés de la flore microbienne » (560). Ils interviennent dans la lutte contre l'installation de bactéries pathogéniques et participent au maintien de l'intégrité de la barrière intestinale. De ce fait, leur consommation permettrait de diminuer la sensibilisation allergique (561).

L'apport de probiotiques réduit la réponse allergique à l'ovalbumine *in vivo* appliqué au cours de l'allergie ou dans la période de gestation ou d'allaitement (562,563). La supplémentation de butyrate renforce les effets d'une immunothérapie orale dans un modèle d'allergie au lait de vache (564).

Chez l'enfant allergique à la cacahouète ou au lait de vache, la consommation de probiotiques contenant la bactérie *L. rhamnosus* GG réduit la concentration plasmatique d'IgE spécifiques et augmente celle des IgG4 (565,566). La consommation de ce probiotique diminue la réponse du prick test, l'incidence des symptômes gastro-intestinaux et donc augmente le seuil de réactivité (565,566).

ii. Les prébiotiques

Les prébiotiques sont définis comme étant « des ingrédients alimentaires non digestibles qui exercent un effet bénéfique sur l'hôte en stimulant de façon sélective

la croissance et / ou l'activité d'une ou de plusieurs espèces bactériennes déjà établies dans le colon, et ainsi améliorent la santé de l'hôte » (560,567). L'apport de prébiotiques chez la souris gestante ou dans la période de lactation empêche le développement d'une allergie au blé du souriceau (568). Après un protocole d'allergie au blé, la concentration plasmatique d'IgE spécifiques du blé et de l'histamine n'a pas été augmentée chez les petits issus de mères traitées par prébiotiques. De plus, ces animaux étaient protégés de la chute drastique de la température induite par l'allergie (568).

iii. La transplantation de microbiote fécal

Récemment, une stratégie thérapeutique par transfert de microbiote fécal a été évoquée dans le contexte de l'allergie alimentaire. Cette bactériothérapie se base sur le transfert du microbiote d'un donneur sain à un receveur atteint d'une pathologie liée à une dysbiose intestinale. Le but de cette approche est de restaurer la composition, la diversité et l'abondance microbienne. En 2020, il a été mis en évidence que le transfert d'un microbiote provenant d'un donneur sain prévient le développement de l'allergie alimentaire *in vivo* (549).

Point résumé – Les traitements de l'allergie alimentaire

- Il n'existe pas de traitement curatif
- Il est indispensable de mettre en place une stratégie d'éviction
- En cas d'exposition accidentelle, il est possible de limiter la sévérité des symptômes par des corticoïdes ou des antihistaminiques
- En cas de réaction allergique grave, l'injection d'adrénaline est nécessaire
- Il est possible d'augmenter le seuil de tolérance par une stratégie de désensibilisation
- Les modulateurs de la flore peuvent être combinés à ces stratégies

Partie 2 : Résultats et discussion

I – Objectifs de la thèse

Selon l'OMS, l'allergie est considérée comme la quatrième pathologie chronique mondiale (374,569). Sa prévalence n'a cessé d'augmenter ces dernières décennies. Il a été estimé qu'une personne sur deux sera atteinte d'une allergie en 2050 (374). Plusieurs recommandations et stratégies de prévention ont été mises en place afin de limiter la survenue des réactions allergiques (501) (**cf chapitre 2, II 4**). Actuellement, il n'existe aucun traitement curatif de l'allergie. Seules des stratégies de prévention ou certains traitements médicamenteux permettent de limiter les symptômes de cette pathologie. Malgré une stratégie d'éviction, il subsiste toujours un risque d'exposition accidentelle et elle peut être difficile selon l'allergène. Le développement des stylos auto-injecteurs d'adrénaline a permis d'améliorer les conséquences d'une crise grave. Cependant, leur accès ne se fait que sur ordonnance et nécessite malheureusement, la survenue d'une première crise (501). De plus, les stratégies de désensibilisations augmentent le seuil de réactivité face à l'allergène mais ne sont pas toutes mises au point pour chaque allergène. L'étude de biomarqueurs prédictifs ou de cibles thérapeutiques permettrait de proposer de nouvelles approches thérapeutiques efficaces individuelles ou combinées.

Il y a une quinzaine d'années, les recherches portant sur PCSK9, un régulateur du métabolisme du cholestérol, ont mis en évidence son rôle au cours de plusieurs processus inflammatoires (**cf chapitre 1, III**). Elle participerait à la différenciation proinflammatoire de plusieurs cellules immunitaires et à la sécrétion de cytokines proinflammatoires (268,275). Il a été suggéré que son inhibition orienterait la différenciation de cellules immunitaires vers un profil tolérogène (268,275). Plusieurs

études ont démontré que sa délétion ou que son inhibition améliorerait les symptômes et/ou l'inflammation de plusieurs pathologies inflammatoires (**chapitre 1, III**).

PCSK9 peut alors être considérée comme un modulateur du système immunitaire, une des trois barrières associées à l'allergie. Basé sur ces différents éléments, nous avons émis l'hypothèse que la déficience et/ou l'inhibition de PCSK9 pourraient conférer une protection face à l'allergie. Plusieurs objectifs ont découlé de cette hypothèse :

- Mesurer l'impact de la déficience et de l'inhibition de PCSK9 au cours de l'allergie alimentaire chez la souris
- Mesurer l'effet de la déficience et de l'inhibition de PCSK9 au cours de l'asthme allergique ou atopique chez la souris
- Déterminer quid de la forme circulante ou de la forme intracellulaire de PCSK9 aurait un rôle dans l'allergie
- Approfondir les connaissances quant à la fonction immunitaire de PCSK9
- Comprendre le mécanisme d'action potentiel de PCSK9 dans le contexte de l'allergie

Dans ce but, nous avons réalisé un modèle d'allergie alimentaire au blé en utilisant plusieurs souches murines. Un protocole d'asthme allergique à l'acarien et un modèle mimant la marche atopique ont été effectués. L'étude de modèles cellulaires nous a permis d'approcher le mécanisme d'action potentiel de PCSK9 dans le contexte allergique.

II- Matériels et méthodes

1- Modèle animal

a. Les modèles d'étude

Une allergie à la gliadine de blé a été induite sur des souris mâles et femelles sauvages BALB/c et C57Bl6/J provenant de Charles River. Ce modèle d'allergie a également été effectué sur des animaux de fond C57Bl6/J déficients totalement pour PCSK9 (*Pcsk9*$^{-/-}$) ou uniquement au niveau de l'intestin (i-*Pcsk9*$^{-/-}$). Des souris déficientes pour le LDLR (*Ldlr*$^{-/-}$) de fond C57Bl6/J ont également été soumises à ce protocole. Un protocole d'asthme allergique à l'acarien a été établi sur des femelles de fond BALB/c, C57Bl6/J et *Pcsk9*$^{-/-}$. Enfin, un modèle de marche atopique composé d'une allergie au blé puis à l'acarien a été effectué sur des femelles BALB/c.

b. Modèle d'allergie alimentaire à la gliadine de blé

Les souris ont été nourries par un régime sans gluten (Régime 210, SAFE, Augy, France) dès le sevrage. L'allergie alimentaire a été induite à l'âge de 5 semaines par des sensibilisations à de la gliadine désamidée (570). Les souris ont été sensibilisées trois fois à 10 jours d'intervalle par une administration intrapéritonéale de gliadine de blé (10 µg) avec 100 µl d'alum et 100 µl de PBS (phosphate buffered saline) (**Figure 23**). Cette étape, effectuée une semaine après la dernière sensibilisation, a été complétée d'une phase de déclenchement par un gavage intra-gastrique avec 20 mg de gliadine solubilisée dans de l'eau de boisson. Au cours de cette première provocation orale, une mesure du temps de transit intestinal a été réalisée. Un second déclenchement a été effectué la semaine suivante où l'épaisseur des oreilles a été mesurée (**Figure 23**). Les souris du groupe contrôle ont

été sensibilisées par une injection intrapéritonéale de PBS et le déclenchement a été induit avec de l'eau de boisson.

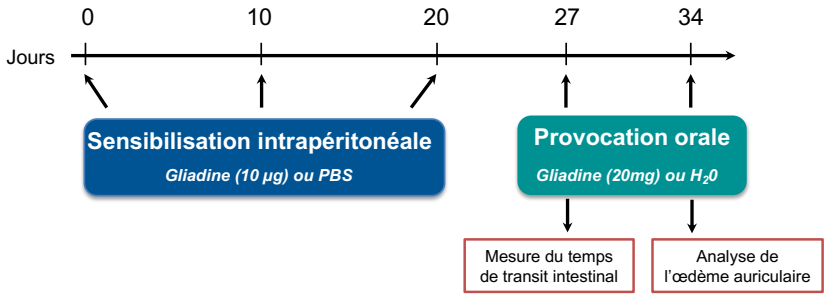


Figure 23 : Description du protocole d'allergie alimentaire

c. *Modèle d'asthme allergique à l'acarien*

i. Protocole d'asthme allergique chez la souris BALB/c

L'allergie respiratoire a été établie chez la souris BALB/c par quatre sensibilisations percutanées avec un extrait d'acarien *Dermatophagoides pteronyssinus* (*Der P*, 25 mg/mL) à une semaine d'intervalle (**Figure 24**). La semaine suivante, un déclenchement intranasal a été induit avec une solution contenant 6,25 mg/mL de *Der P* et une mesure de la respiration proximale par pléthysmographie a été réalisée le lendemain. La semaine suivante, une seconde provocation a été induite. Le lendemain, une analyse des paramètres respiratoires profonds a été effectuée par la technique des oscillations forcées (**Figure 24**).

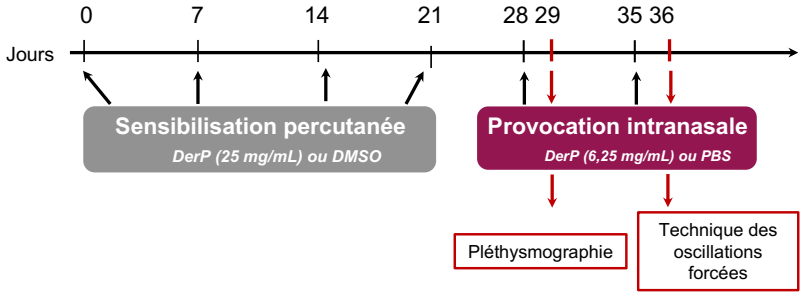


Figure 24 : Description du protocole d'asthme allergique induit chez la souris BALB/c

ii. Protocole d'asthme allergique chez la souris C57Bl6/J

Afin d'induire un asthme allergique chez les souris C57Bl6/J, 3 provocations consécutives aux jours 28 à 30, et aux jours 35 à 37 ont été effectuées (**Figure 25**).

L'analyse des paramètres respiratoires par pléthysmographie et par la technique des oscillations forcées ont été effectués aux jours 31 et 38 respectivement (**Figure 25**).

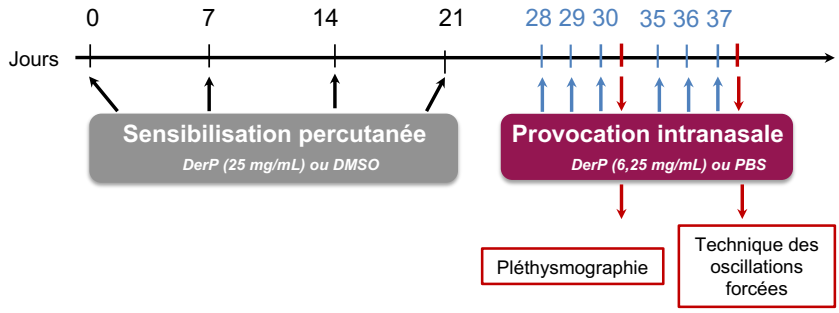


Figure 25 : Description du protocole d'asthme allergique chez la souris C57Bl6/J

d. Modèle de marche atopique

Au moment du sevrage, les souris ont été soumises à une alimentation sans gluten. A l'âge de 5 semaines, le protocole d'allergie alimentaire a débuté comme décrit précédemment (**Matériels et méthodes, 1 b**) et une allergie respiratoire a été induite une semaine après la dernière provocation orale (**Matériels et méthodes, 1 c**) (**Figure 26**).

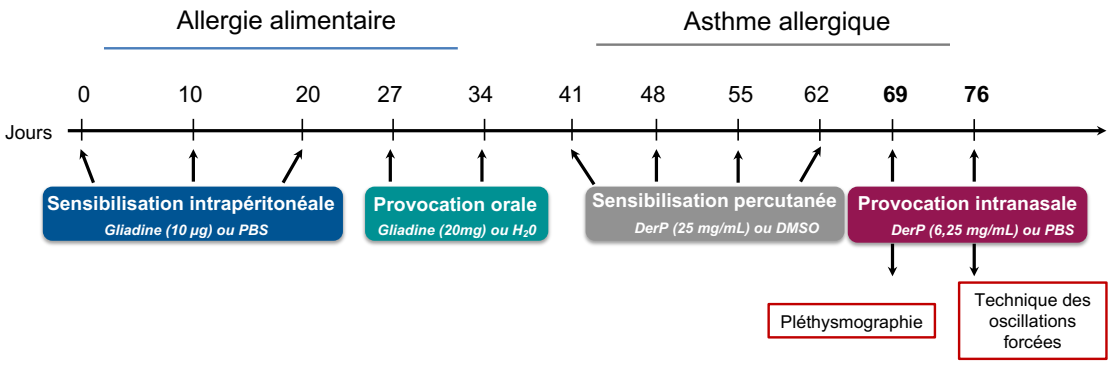


Figure 26 : Le protocole de marche atopique se compose d'une allergie alimentaire suivie d'un asthme allergique

e. Inhibition de la forme circulante de PCSK9

Des souris BALB/c, *Ldlr*$^{+/+}$ et *Ldlr*$^{-/-}$ ont reçu des injections sous-cutanées d'alirocumab (Sanofi, 50 mg/kg) tous les 10 jours dès l'âge de 4 semaines. Des souris C57Bl6/J ont également reçu des injections d'alirocumab 3 jours avant le début du protocole d'allergie alimentaire, puis aux jours 7, 17, 23 et 31. Les souris

non traitées par l'alirocumab ont reçu des injections sous-cutanées de NaCL 0,9%. Des souris BALB/c ont reçu une injection intraveineuse d'evolocumab (Amgen, 50 mg/kg) tous les 10 jours dès l'âge de quatre semaines. Les souris non traitées par l'evolocumab ont reçu des injections intraveineuses de NaCL 0,9%.

2- Analyses fonctionnelles des symptômes de l'allergie alimentaire

a. Évaluation du temps de transit intestinal

Au cours de la première provocation, la solution de gavage a été supplémentée avec du rouge carmin (150 mg/mL). Après le gavage de l'animal, le temps d'apparition de la première fèces rouge a été noté. Le temps de transit intestinal a été identifié comme étant la période entre le gavage et l'apparition de la première fèces rouge.

b. Mesure de l'œdème auriculaire

Au cours de la seconde élicitation, l'épaisseur de chaque oreille a été mesurée avant et une heure après le gavage à l'aide d'un micromètre digital (Mitutoyo, America Corporation, Aurora, IL) (571). L'œdème auriculaire a été déterminé comme étant la différence entre les valeurs obtenues.

3- Analyses fonctionnelles respiratoires

a. La pléthysmographie

La pléthysmographie est un outil qui mesure la fonction respiratoire de souris vigiles (572). Chaque animal a été placé dans une chambre de pléthysmographie où des doses croissantes de métacholine (0, 5, 10, 20 et 40 mg/mL) ont été nébulisées. Les mouvements respiratoires ont été évalués par des changements de pression déterminés par des capteurs. L'inspiration conduit à une augmentation de la pression, inversement pour l'expiration. Le pléthysmographe mesure le flux respiratoire de l'animal et détermine un index appelé la penH (572). La penH se traduit par le temps de pause améliorée et reflète la fonction respiratoire de l'animal,

notamment la réactivité des voies aériennes proximales (572). L'élévation de la valeur de cet indice est corrélée avec l'asthme.

b. La technique des oscillations forcées

La technique des oscillations forcées permet la mesure des fonctions respiratoires au niveau des voies aériennes profondes (573). Après anesthésie par un mélange de kétamine et de xylazine, l'animal a été trachéotomisé et relié à un respirateur. Du curare a été administré par voie sous-cutanée afin d'inhiber toute respiration volontaire. Des doses croissantes de métacholine (0, 5, 10, 15 et 20 mg/mL) ont été nébulisées via la sonde trachéale. Puis, la résistance, l'élastance et la compliance pulmonaire ont été déterminées. La résistance pulmonaire représente la résistance de l'écoulement de l'air dans les voies aériennes. Elle reflète le niveau de constriction des poumons. L'élastance dénote la résistance à l'augmentation du volume pulmonaire. Elle se rapporte l'élasticité du poumon et serait l'inverse de la compliance. Cette dernière représente la capacité du poumon à modifier son volume suite à un changement de pression. Elle reflète la capacité du poumon à se distendre (574).

4- Cytométrie en flux

Une heure après le second gavage de l'animal avec de la gliadine de blé ou de l'eau, celui-ci a été anesthésié et sacrifié par ponction intracardiaque pour des analyses sur le sérum. La rate et les GLM ont été prélevés, puis broyés mécaniquement. La suspension cellulaire obtenue a été filtrée sur un tamis de 40 µm. Une lyse des globules rouges a ensuite été effectuée par ajout d'un tampon de lyse (RBC lysis buffer, Thermo Fisher Scientific) pendant 7 minutes pour les suspensions cellulaires provenant de la rate. Après un lavage, une centrifugation (1500 rpm, 5 minutes) a été effectuée. Puis, les cellules ont été suspendues dans une solution de phophate-

buffered saline (PBS) contenant 5% de sérum de veau fœtal (SVF) et 1% EDTA. Les cellules ont été stimulées pendant 5 heures avec 50 ng/mL de phorbol-12-myristate-13-acetate, 1 µg/mL de ionomycine et 10 µg/mL de bréfeldine A. A la fin de cette stimulation, les cellules ont été centrifugées et lavées afin d'effectuer le marquage extracellulaire composé des anticorps (BD Biosciences) listés dans l'**annexe 1**. Ce marquage a été effectué avec du CD16/32 afin d'éviter toute fixation aspécifique des anticorps précédents. Les cellules ont été incubées 30 minutes à 4°C à l'obscurité, puis, elles ont été fixées et perméabilisées par le kit Cytofix/Cytoperm (BD Biosciences) pendant 20 minutes à 4°C. Le marquage intracellulaire a ensuite été effectué pendant 45 minutes à 4°C dans une solution perméabilisante PERM Wash (BD Biosciences) avec les anticorps listés dans l'**annexe 1**. Après un lavage, les cellules ont été analysées sur un Fortessa (BD Biosciences) et les données ont été établies sur le logiciel Flow Jo v10 (FlowJo LLC, Ashland, OR, USA).

5- Modèles cellulaires

a. Les cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse (BMDC)

i. Production de cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse

Les fémurs et les tibias provenant de souris *Pcsk9*$^{+/+}$ et *Pcsk9*$^{-/-}$ ont été prélevés, puis désinfectés. La moelle osseuse a été flushée après avoir retiré les extrémités des os. Les érythrocytes ont été lysés par l'utilisation d'un tampon de lyse (RBC lysis buffer, Thermo Fisher Scientific) pendant 7 minutes, puis les cellules ont été lavées avec une solution de PBS contenant 10% de SVF inactivé et 1% d'EDTA (575). Les cellules ont ensuite été déposées en plaque 12 puits à 0,5 x10^6 cellules /mL dans un volume final de 1 mL de RPMI (Gibco) supplémenté avec : 10% de SVF, 100 U/mL de pénicilline, 100 µg/mL de streptomycine, 1 mM d'aa non indispensables, 50 µM 2-mercaptoethanol et 20 ng/mL de granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

(GM-CSF) recombinante. Au moment de la mise en plaque des progéniteurs, puis aux jours 3 et 6, de la PCSK9 recombinante gain de fonction (PCSK9r D374Y, Circulex) à 600 ng/mL et de l'alirocumab à 50 µg/mL ont été déposés dans les puits.

ii. Mesure de l'état de maturité des BMDC

Les cellules ont été stimulées au 7^{e} jour par l'apport de gliadine désamidée (10 µg/mL), puis, ont été incubées pendant 24 heures à 37°C. Au 8^{e} jour, une analyse par cytométrie de flux a été réalisée par un marquage extracellulaire en présence de CD16/32 et avec un marqueur de viabilité dans le but d'éliminer les cellules mortes (fixable viability stain dye, BD Biosciences). Le marquage extracellulaire a été réalisé avec les anticorps listés dans l'**annexe 1** pendant 30 minutes à l'obscurité à 4°C. Les DC immatures (CD11c^{+} CMHII^{med}) et matures (CD11c^{+} MCHII^{high}) ont été analysés sur un Symphony (BD Biosciences) (575,576). Une analyse des données a été réalisée sur Flow Jo v10. Après élimination des doublets, l'analyse des populations s'est faite comme décrit sur la **figure 27** ci-dessous.

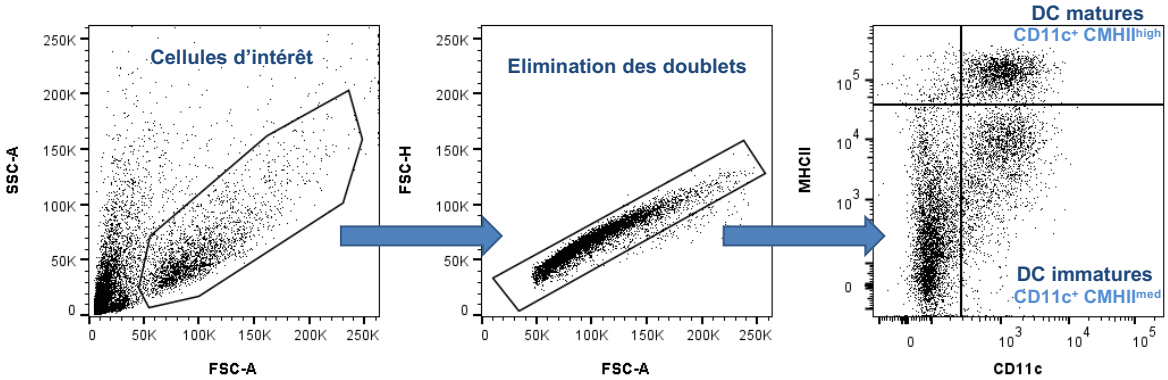


Figure 27 : Stratégie utilisée pour discriminer les cellules dendritiques immatures et matures

b. Les lymphocytes T

i. Isolement des lymphocytes T CD4^{+}

La rate provenant de souris *Pcsk9*$^{+/+}$ et *Pcsk9*$^{-/-}$ a été prélevée, puis les splénocytes ont été récoltés après broyage mécanique. Les lymphocytes T CD4^{+} ont été isolés et purifiés par un tri négatif selon les instructions du kit d'isolation EasySep (Stemcell

Technologies). Les LT $CD4^+$ nouvellement isolés ont été mis en culture à une concentration de 1 $x10^6$ cellules /mL dans un volume final de 1 mL de RPMI contenant 10% de SVF inactivé, 100 U/mL de pénicilline, 100 µg/mL de streptomycine et 20 ng/mL d'IL-2 recombinante (BD Biosciences). La PCSK9r D374Y (600 ng/mL) et l'alirocumab (50 µg/mL) ont été ajoutés dans les puits lors de la mise en plaque des cellules.

ii. Analyse fonctionnelle de la prolifération

Toutes les 12 heures depuis la mise en plaque jusqu'au 3e jour, du MTT à 5 mg/mL ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma-Aldrich) a été ajouté dans les puits. Puis, les cellules ont été incubées pendant 3 heures à 37°C. Après centrifugation, le culot a été repris dans du DMSO, puis, la suspension a été placée dans une plaque 96 puits et déposée sur un agitateur de plaque pendant 15 minutes. Enfin, l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 540 nm.

c. Évaluation de la sécrétion de la β-hexosaminidase par les RBL

Des RBL (rate basophilic leukemia cells, 2H3, ATCC) ont été placés à 0,1 $x10^6$ cellules dans une plaque 96 puits et incubés à 37°C pendant 24 heures. Le milieu a été aspiré puis, le sérum de souris sauvages allergiques dilué à 1:100 a été déposé dans les puits. Les cellules ont été incubées la nuit à 37°C. Suite à un lavage au PBS, les cellules ont été mises à 37°C pendant une heure avec du Tyrode 1X contenant la PCSK9r D374Y (600 ng/mL) ou l'alirocumab (50 µg/mL). Les cellules ont ensuite été stimulées avec de la gliadine à 10 ng/mL pendant 40 minutes. Les puits contrôles ont été stimulés avec du Tyrode 2X. Les surnageants ont ensuite été transférés dans une nouvelle plaque 96 puits et 50 µL du substrat de la β-hexosaminidase (1 mM *p*-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosamide dans du citrate 0,05 M, pH 4,5, Sigma Adrich) et incubés à 37°C pendant 90 minutes. La quantité totale

de β-hexosaminidase a été déterminée en lysant les RBL avec 1% de Triton X-100 et incubés avec le substrat comme décrit précédemment. La réaction a été arrêtée en ajoutant un tampon glycine (pH 10,7) et la densité optique (DO) a été lue au spectrophotomètre à 405 nm. Le pourcentage de sécrétion de β-hexosaminidase a été déterminé selon la formule suivante : % de dégranulation = (DO de l'échantillon – DO contrôle) / (DO 1% Triton – DO contrôle) x 100.

III- Résultats

1- L'absence et l'inhibition de PCSK9 protègent de l'allergie alimentaire

a. Avant-propos

L'allergie alimentaire est une pathologie inflammatoire chronique dont la prévalence ne cesse d'augmenter et qui impacte de façon considérable la qualité de vie des patients (**cf chapitre 2, II 2**). Les stratégies thérapeutiques actuelles ne peuvent éviter ou soulager de manière permanente les symptômes de cette pathologie (**chapitre 2, II 4**). Il a été estimé que l'allergie deviendra une des pathologies majeures d'ici une vingtaine d'année (374). Il est crucial de comprendre les mécanismes moléculaires avec plus de précision afin de pouvoir déterminer des cibles thérapeutiques.

Dans ce sens, plusieurs études suggèrent une association entre l'allergie et le métabolisme lipidique. Ce dernier favoriserait la polarisation des LT vers la voie Th17 (577). Manti et ses collègues auraient établi une corrélation entre la concentration plasmatique d'IgE et la cholestérolémie (578). Dans ce contexte, nous avons étudié l'effet d'un régulateur du métabolisme du cholestérol, PCSK9. Au-delà de son rôle lipidique, cette protéine serait impliquée dans la réponse inflammatoire (**cf chapitre 1, III**).

b. Résumé de notre article

Afin de vérifier notre hypothèse, nous avons utilisé un modèle d'allergie alimentaire à la gliadine de blé désamidée (**Matériels et méthodes, 1b**). Chez la souris, l'allergie à la gliadine de blé se manifeste par une réponse Th2, une perturbation de l'homéostasie de la barrière intestinale et par un épaississement des oreilles (570). Sous ce protocole, nous avons observé que le temps de transit intestinal des souris *Pcsk9*$^{-/-}$ et des souris BALB/c traitées avec l'alirocumab n'est pas modifié. Ces souris

n'ont pas développé d'œdème auriculaire avec l'allergie. Enfin, nous avons remarqué que la réponse inflammatoire de type Th2, Th17 et que la production d'IgE n'a pas été induite chez les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ et des souris BALB/c traitées avec l'alirocumab. De plus, l'apparition des symptômes de l'allergie alimentaire n'a pas été atténuée par la délétion intestinale de PCSK9. Cela suggère que la forme intestinale de cette protéine n'a pas d'effet dans l'allergie. L'inhibition de la forme circulante de PCSK9 ayant les mêmes effets que son absence totale, nous pouvons alors suggérer que la PCSK9 circulante pourrait intervenir dans le processus allergique. Nos travaux démontrent que l'inhibition de PCSK9 conserve des effets antiallergiques chez la souris *Ldlr*$^{-/-}$. PCSK9 modulerait l'allergie d'une manière indépendante du LDLR. L'inhibition de cette protéine conserverait des effets protecteurs uniquement au moment du déclenchement, étape modulée principalement par les basophiles et les mastocytes. *In vitro*, il semblerait que l'apport de PCSK9 exogène soit susceptible de favoriser la maturation des BMDC, la prolifération des LT et la dégranulation des basophiles.

PCSK9 inhibition protects mice from food allergy

Victoria Lorant[1], Martin Klein*[2], Damien Garçon*[1], Thibaud Sotin[1], Samuel Frey[1], Marie-Aude Cheminant[1], Audrey Ayer[1], Mikaël Croyal[1, 3], Laurent Flet[4], Luc Colas[5,6], Bertrand Cariou[1], Grégory Bouchaud[#,7] and Cédric Le May[#,1]

[1] Nantes Université, CHU Nantes, CNRS, INSERM, l'institut du thorax, 44000 Nantes, France.

[2] Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec, Laval University, Quebec, Canada.

[3] CRNH-Ouest Mass Spectrometry Core Facility, Nantes, France.

[4] Department of Pharmacy, CHU Nantes, Nantes Université, Nantes, France.

[5] Nantes Université, CHU Nantes, INSERM, Center for Research in Transplantation and Translational Immunology, UMR 1064, F-44000, Nantes, France.

[6] CHU Nantes, Nantes Université, plateforme transversale d'allergologie et d'immunologie clinique, clinique dermatologique, Nantes, France.

[7] INRAE, UR1268, BIA, Nantes, France.

* Authors contributed equally.

[#] Co-senior authors

[&] Corresponding authors: Cédric Le May, cedric.lemay@univ-nantes.fr. L'institut du thorax, UMR1087, IRS-UN, 8 quai Moncousu, BP70721, 44007, Nantes Cedex 1, France ; Grégory Bouchaud, gregory.bouchaud@inrae.fr. INRAE, BIA, Rue de la Géraudière, 44000 Nantes, France.

Conflict-of-interest statement: The authors have declared that no conflict of interest exists.

Abstract

The Proprotein Convertase Subtilisin Kexin of type 9 (PCSK9) has been identified in 2003 as the third gene involved in familial hypercholesterolemia. PCSK9 binds to the membrane low-density lipoprotein receptor (LDLR) and promotes its cellular internalization and lysosomal degradation. Beyond this canonical role, PCSK9 was recently described to be involved in several immune responses. However, to date, the contribution of PCSK9 in food allergy remains unknown. Here, we showed that *Pcsk9* deficiency or pharmacological inhibition of circulating PCSK9 with a specific monoclonal antibody (m-Ab) protected mice against symptoms of gliadin-induced-food allergy, such as increased intestinal transit time and ear oedema. Furthermore, specific PCSK9 inhibition during the elicitation steps of allergic process was sufficient to ensure anti-allergic effects in mice. Interestingly, the protective effect of PCSK9 inhibition against food allergy symptoms was independent of the LDLR as PCSK9 inhibitors remained effective in *Ldlr* deficient mice. *In vitro*, we showed that recombinant gain of function PCSK9 (PCSK9 D374Y) increased the percentage of mature bone marrow derived dendritic cells (BMDCs), promoted naïve T cell proliferation and potentiated the gliadin induced basophils degranulation. Altogether, our data demonstrate that PCSK9 inhibition is protective against gliadin induced food allergy in a LDLR-independent manner.

Keywords: Basophil degranulation, Food allergy, Gliadin, LDL-receptor, PCSK9.

Introduction

Prevalence of food allergies (FA) significantly increased worldwide over the last thirty years. Currently, 5% to 8% of children and 1% to 2% of adults are concerned by this disease[1,2]. In patients, symptoms may include abdominal pain, vomiting, diarrhea, itchy skin, and/or vascular collapsus[3]. Allergic diseases are classified as the 4th pathology in terms of morbidity by the World Health Organization [4] since they impact patients' quality of life and represent a significant economic burden[5]. However, current therapeutic options remain limited. Therefore, a better understanding of the key immunological mechanisms involved in this process is required to develop new therapeutic strategies. FA is characterized by sensitization mechanism and symptoms elicitation occurrence. Th2 lymphocytes play a key role in sensitization leading to allergen specific immunoglobulin (Ig) E production by B cells[6]. Cross-linking of the allergen-specific-IgE and the Fcε receptors is necessary to activate mast cells/basophils and release pro-inflammatory type 2 molecules such as histamine, interleukin IL-4, IL-5, IL-13 and arachidonic acid derivatives[7]. Recently, it was suggested that blood lipids levels are associated with allergic pathology. In a non-obese pediatric population with atopic predisposition, a positive correlation was found between serum IgE and cholesterol plasma levels[8]. Serum IL-10 concentration is lower in children with dyslipidemia and atopic predisposition than in children with dyslipidemia only[8]. In addition, lipid metabolism was associated with IL-10 synthesis downregulation[9]. In opposite, sterol metabolism and generation of cholesterol precursors are able to promote Th17 cells polarization and IL-6, IL-1, IL-4 and IL-17 release[10].

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) has been identified in 2003 as the third gene involved in familial hypercholesterolemia[11], a genetic disease

associated with high plasma low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) level and premature cardiovascular diseases[12]. PCSK9 is expressed in many organs[13] but the liver appears to be the sole organ contributing to circulating PCSK9 levels[14]. PCSK9 is a central regulator of cholesterol homeostasis by binding to the extracellular domain of the LDL receptor (LDLR) and thereby promoting its intracellular internalization and lysosomal degradation[15]. In the atherosclerotic plaque, PCSK9 promotes the recruitment of immune cells and confers a pro-inflammatory profile to macrophages, monocytes and smooth muscle cells[16-19]. Other studies determined the effect of PCSK9 on Th17 cells and dendritic cells (DC) maturation and activation in atherosclerotic plaque[20,21].

Beyond its canonical role, numerous studies reported that PCSK9 could participate in several inflammatory disorders. PCSK9 full deficiency and inhibition confer protection against septic shock response and cytokine cascade[21-25]. PCSK9 inhibition showed protective effects in DSS-induced-colitis rat model[26]. More importantly, it was recently demonstrated that PCSK9 depletion attenuates tumor growth, improves mice survival and increases immune effector cells intra-tumoral infiltration[27].

Considering the involvement of PCSK9 on immune polarization and the beneficial effect of its inhibition on several inflammatory diseases, we aim to explore the functional impact of PCSK9 deficiency or inhibition on an establish mouse model of wheat-gliadin induced FA.

Results

Total, but not intestine-specific, *Pcsk9* deficiency protects mice against deamidated gliadin-induced FA symptoms and inflammation.

We first explored the impact of full PCSK9 deficiency on FA symptoms (**Fig.1A**). As expected, *Pcsk9*$^{-/-}$ mice had a reduced plasma cholesterol level (0.86 ± 0.08 g/L vs 1.20 ± 0.15 in *Pcsk9*$^{+/+}$mice, $P<0.05$) (**Fig.1B**) and an absence of circulating PCSK9 (**Fig.1C**). Previous studies showed that inflammation and allergy can alter plasma PCSK9 and cholesterol levels respectively[31,32]. In our set-up, we observed that plasma cholesterol levels were not affected by FA in *Pcsk9*$^{+/+}$ mice (**Fig.1B**), despite a significant rise in plasma PCSK9 level (**Fig.1C**). Hypocholesterolemia was less marked in *Pcsk9*$^{-/-}$ mice under FA conditions (**Fig.1B**). We compared the development of FA symptoms in *Pcsk9*$^{+/+}$ *and Pcsk9*$^{-/-}$ mice (**Fig.1A**). Allergic *Pcsk9*$^{+/+}$ mice display an increased transit time compared to control *Pcsk9*$^{+/+}$ mice (156 ± 11 vs 270 ± 14 min, $P<0.0001$) (**Fig.1D**). No difference was detected between control and allergic *Pcsk9*$^{-/-}$ mice (**Fig.1D**). Consistently, we also observed a significant increase of ear thickness in allergic *Pcsk9*$^{+/+}$ mice (**Fig.1E**), while allergic *Pcsk9*$^{-/-}$ mice did not develop ear oedema (**Fig.1E**). Together, these data indicate that full *Pcsk9* deficiency protects mice against food allergic symptoms development.

To determine the cellular mechanisms involved in the anti-allergic effect of PCSK9 deficiency, we measured immune cell populations from MLNs and spleen by flow cytometry. While MLN Th2 and Th17 lymphocytes number were increased by FA in *Pcsk9*$^{+/+}$ mice, we did not observe a similar induction in allergic *Pcsk9*$^{-/-}$ mice (**Fig.1F and G).** Th2 and Th17 cells from spleen are not modified by FA or PCSK9 deficiency (**S1A ans B**). IgE^{+} B cells number from MLNs were not increased with FA (**Fig.1H**). By contrast, splenic IgE^{+} B cells number was significantly increased in allergic

Pcsk9$^{+/+}$ but not in allergic *Pcsk9*$^{-/-}$ mice (**Fig.1I**). Finally, we observed a non-significant trend for a plasma IgG1 increase in *Pcsk9*$^{+/+}$ FA mice (**Fig.1J**). Altogether, these results confirm that *Pcsk9* deficiency attenuates the allergic phenotype of FA mice.

As PCSK9 is highly expressed in the small intestine[14,33], we verified whether intestinal PCSK9 could be involved in the regulation of FA. The same experimental protocol was reproduced in intestine-specific PCSK9 knock-out (i-*Pcsk9*$^{-/-}$) mice[28] (**Fig.S2A)**. Both the intestinal transit time and the ear oedema were similarly increased in i-*Pcsk9*$^{+/+}$ and i-*Pcsk9*$^{-/-}$ mice following FA (**Fig.S2B-E).** Altogether, these data demonstrate that full *Pcsk9* deficiency protective action does not involve intestinal PCSK9.

Pharmacological inhibition of circulating PCSK9 by m-Ab reduces food allergy symptoms.

To determine the importance of circulating PCSK9 on FA regulation, we blocked its activity using a human PCSK9 m-Ab (**Fig.2A**). Due to the blockade of PCSK9 activity toward LDLR, plasma cholesterol levels were decreased by 40 % following PCSK9 m-Ab treatment (**Fig.2B**). Plasma total PCSK9 levels were increased due to PCSK9 m-Ab induced plasma sequestration (**Fig.2C**). Upon allergic conditions, vehicle-treated BALB/c mice demonstrated a significantly increased intestinal transit time (**Fig.2D**) and increased ear thickness (**Fig.2E**) compared to control mice. The treatment with PCSK9 m-Ab prevented the development of allergic symptoms (**Fig.2D and E**). We measured a significant rise of Th2 and Th17 cells in MLNs of vehicle-treated allergic mice but not in PCSK9 m-Ab treated mice (**Fig.2F and G**). In MLNs, FA strongly increased strongly IgE^{+} cells number in vehicle treated

mice compared to non-allergic mice (**Fig. 2H**). Under PCSK9 m-Ab treatment, allergy did not induce a significant increase of the MLNs IgE^+ cells number. In the spleen, we did observe similar patterns (**Fig.S3A-C**).

Taken together, these data indicate that pharmacological inhibition of circulating PCSK9 mimics the same anti-allergic phenotype than those observed in full PCSK9 deficient mice.

Inhibition of PCSK9 controls food allergy by attenuating the elicitation process.

To further determine the phase of the FA process in which PCSK9 inhibition efficiently attenuates the allergic response, we administered PCSK9 m-Ab either only during the sensitization phase (day -3, 7 and 17) or only during the elicitation phase (day 23 and 31) or throughout the entire protocol (**Fig.3A**).

PCSK9 inhibition during sensitization steps did not prevent transit time induction (**Fig.3B**) or ear oedema (**Fig.3C-E**). By contrast, mice treated with PCSK9 m-Ab during the elicitation phase reproduced the protective effect of PCSK9 inhibition during the entire experimental period (**Fig.3B-E**).

Together, these data suggest that pharmacological inhibition of PCSK9 mostly impacts the elicitation phase and the associated effector cells.

PCSK9 acts on allergy elicitation process through a LDLR independent pathway

The canonical pathway of PCSK9 action involves the downregulation of the LDLR expression at the cell surface. We aimed to establish whether PCSK9 regulates allergic process induced by FA through a LDLR-dependent pathway. We compared the effect of vehicle and PCSK9 m-Ab treatment on a full *Ldlr* deficiency

(*Ldlr*$^{-/-}$ mice) and control *Ldlr*$^{+/+}$ littermates (**Fig.4A**). The *Ldlr*$^{-/-}$ mice present an alteration of plasma cholesterol clearance and cholesterol synthesis control leading to hypercholesterolemia[34]. We did confirm that *Ldlr*$^{-/-}$ mice displayed hypercholesterolemia and that PCSK9 m-Ab were unable to reduce their hypercholesterolemia as previously reported[28] (**Fig.4B**). As shown in **Fig.4C-G**, PCSK9 inhibition efficiently prevented the development of allergic symptoms in both *Ldlr*$^{+/+}$ and *Ldlr*$^{-/-}$ mice. These results demonstrate that PCSK9 inhibition tunes down DG-FA in an LDLR-independent manner.

PCSK9 affects dendritic cells maturation, CD4^{+} cells viability and basophils degranulation during food allergy.

To further characterize the mechanism of action of PCSK9 on FA-mediated immune reaction, we measured the effect of PCSK9 on different target cells types involved in allergic reactions. First, we tested the effect of PCSK9 deficiency on dendritic cell maturation (**Fig.5A**). We showed that *Pcsk9* deficiency does not significantly affect the population of immature or mature dendritic cells (**Fig.5B**). We next tested the functional impact of recombinant PCSK9 treatment on dendritic cells. We did notice that PCSK9 D374Y supplementation in culture media strongly increases mature DC population (**Fig.5C**). Thus, circulating but not intracellular PCSK9 impacts dendritic cells maturation.

In a second step, we measured spleen CD4^{+} T cell viability from *Pcsk9*$^{+/+}$ and *Pcsk9*$^{-/-}$ mice. We did observe a lower viability in CD4^{+} cells from *Pcsk9*$^{-/-}$ mice compared to those from *Pcsk9*$^{+/+}$ mice (**Fig.5D**). Conversely, treatment with recombinant PCSK9 D374Y significantly increased cell viability of CD4^{+} cells (**Fig.5E**).

Finally, we tested the effect of PCSK9 on basophil degranulation. Rat Basophilic Leukemia *(R*BL) cells were treated with PCSK9 D374Y or PCSK9 m-Ab one hour before gliadin challenge. While PCSK9 m-Ab supplementation significantly reduced β-hexosaminidase release, the addition of recombinant PCSK9 D374Y in culture media strongly promoted gliadin-induced degranulation (**Fig.5F**).

Taking together, our experiments *in vitro* showed that PCSK9 modulates allergy by increasing dendritic cells maturation, $CD4^+$ T cell viability and basophil degranulation.

Discussion

FA is a chronic inflammatory disease due to the persistence of type 2 inflammation at mucosal sites in response to an allergen. The present study is part of the drive to better identify the extrahepatic actions of PCSK9 and in particular its role in immunity. We explored for the first time the action of PCSK9 in FA process and symptoms.

Here, we used deamidated wheat gliadin as food allergen in a well characterized model reproducing the human pathology both by eliciting similar immune reactions[29] and épitopes[35]. Wheat is a major component of the human diet, particularly in Western countries. Among food allergies, wheat allergy is predominant with an estimated prevalence of 0.8% and 0.1% based on oral challenge experiments in American adults and European populations respectively[2,36].

We first demonstrated that PCSK9 full deficiency is protective against gliadin-induced FA symptoms occurrence. PCSK9 is predominantly expressed in the liver, kidney and intestine[33]. As food anaphylaxis is mainly characterized by gut symptoms, we explored about the functional role of the intestinal intracellular PCSK9 in

immediate allergic reactions. We took advantage of a mouse model generated by our team[28] which presents a tissue-specific deletion of PCSK9 in the intestinal mucosa. Our data show that these i-*Pcsk9*$^{-/-}$ mice remain hypersensitive to allergic symptoms, ruling out the possibility of a major functional role for the intestinal form of PCSK9. Using parabiosis experiments in mice, Lagace *et al.* demonstrated that PCSK9 is secreted into the bloodstream and can act at a distance from its site of production/secretion[38]. We next attempted to decipher the importance of this circulating PCSK9 in FA through its pharmacological inhibition[39]. Our findings clearly indicate that inhibition of circulating PCSK9 confers the same protection as total PCSK9 deficiency.

Although other targets have been identified[40], the majority of PCSK9 effects on cholesterol metabolism are mediated through its action on the LDLR pathway. In our study, we have nevertheless observed that circulating PCSK9 inhibition in full *Ldl-r*$^{-/-}$ mice maintained the same protection as that observed in wild-type mice. If PCSK9 affects certain immune responses via an LDLR-dependent pathway[22,19], the reverse has also been previously described in the literature. Katsuki S. *et al.* reported that the development of vein graft lesions is facilitated by PCSK9 through mechanisms unrelated to the degradation of LDLR or blood cholesterol levels[32]. More precisely, circulating form of PCSK9 in *Ldl-r*$^{-/-}$ mice led to pro-inflammatory macrophage activation leading to immune responses, proliferation and migration[32]. While the mechanisms of action remain relatively unclear, transcriptomic analysis identified NF-κB, lectin-like oxidized LDL receptor 1 (LOX-1) and syndecan-4 (SDC4) as potential pathways of PCSK9 pro-inflammatory role[32]. Along the same line, hyperlipidemic mice due to a double knockout in LDLR and the editing enzyme APOBEC1 feature an increase in Th17 cells and IL-17 secretion in an PCSK9-dependent manner[17].

How PCSK9 deficiency or inhibition affects FA remains unclear and needs to be further explored. Our *in vivo* data show that several key elements of the allergic reaction cascade are modified by the absence/inhibition of PCSK9. The strong rise in Th2, Th17 and IgE^+ B cells induced by FA was not observed in *Pcsk9*$^{-/-}$ and PCSK9 m-Ab treated mice. We did confirm these findings *in vitro* by showing that recombinant PCSK9 D374Y 1) promotes the maturation of DC, which may facilitate the initiation of the allergic reaction by modifying the program of naive T lymphocytes in our model; 2) increases $CD4^+$ cells proliferation and 3) strongly induces basophils degranulation.

Given the role of PCSK9 in regulating cholesterol metabolism, a relevant question might be whether PCSK9 absence/inhibition exerts an anti-allergic action via modulation of plasma cholesterol concentrations. Our data do not seem to support this hypothesis. We did observe that the pharmacological inhibition of PCSK9 reduces FA symptoms in normocholesterolemic BALB/c mice (**Fig. 3**) but also in hypercholesterolemic *Ldl-r*$^{-/-}$ mice (**Fig. 4**). Nevertheless, further data will be needed to determine whether plasma PCSK9 concentrations affect FA by modulating the intracellular and/or membrane cholesterol content of immune cells. Another intriguing point to be explored concerns the loss of regulation of plasma cholesterol concentration in response to PCSK9 in the context of allergy. While the absence/inhibition of PCSK9 was associated with a significant reduction in cholesterol levels under standard conditions (**Fig. 1B & Fig. 2B**), this was no longer the case in allergic situations.

Interestingly, our study shows that PCSK9 inhibition is mostly active during the elicitation phase. More data are required to precisely affirm at which step PCSK9 absence/inhibition exerts an antiallergic effect but it is tempting to speculate that its

action on basophils/mast cells degranulation is probably a crucial point. This finding raises the question of the therapeutic value of using PCSK9 inhibitors in allergic crises and to our knowledge, there are no such dedicated studies in the literature. Similarly, there are currently no data showing a potential link between PCSK9 genetic variants and allergy susceptibility.

Thus, our research prospects will focus on understanding the mechanisms of action of PCSK9 on mast cell degranulation induced by wheat gliadin. If we have clearly ruled out the involvement of the LDLR pathway, future studies will be needed to determine which receptors/transporters/membrane proteins can contribute to the attenuation of allergic reaction by PCSK9 absence/inhibition. Indeed, beyond LDLR, PCSK9 has been described as able to interact with other membrane proteins such as the very low-density lipoprotein (VLDLR)[40], the apolipoprotein E receptor 2 (ApoER2)[40], the LDLR related protein 1 (LRP1)[40], CD36[40], CD81[40], the β-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1)[40], the amyloid-like protein 2 (APLP2)[40], the amyloid precursor protein (APP)[40] , the Na^+ channel (ENaC)[40], and (SCD4)[32,36]. Recently, Liu X. and colleagues found that PCSK9 inhibition can boost the response of tumors to immune checkpoint therapy, through an original mechanism[27]. Indeed, PCSK9 inhibition increases the expression of major histocompatibility protein class I (MHC I) proteins on the surface of tumor cells, promoting a robust intra-tumoral infiltration of cytotoxic T cells[27]. Several studies also highlighted the effect of PCSK9 on the Toll-like receptor 4 (TLR4)/NF-κB pathway[26,41]. The expression of TLR4 is increased by PCSK9 through the activation of NF-κB pathway, thus, promoting inflammatory cascade[42,43]. Interestingly, TLR4 was associated with food sensitization in mice[44].

Potential limitations of our study include the fact that our sensitization and allergic reactions in mice were induced by an artificial process, as no spontaneous model of allergic mice is available. Furthermore, only gliadin-induced FA was tested in the present study. It might be of interest to test the effect of PCSK9 on other mouse models of allergic diseases such ovalbumin-induced asthma or cow milk or peanut FA. Next, we did not compare or attempt to combine the anti-allergic effect of PCSK9 inhibitors with anti-IgE immunotherapy[45]. Finally, most of the mouse models used in the present study were bred on a C57Bl6/J genetic background and it is well admitted that is a poor and resistant model of FA in reason of their pro-Th1 immune profile[46]. Reassuringly, most of our findings, including the antiallergic impact of PCSK9 inhibition, was also confirmed on BALB/c mice.

Conclusion

Taken together, our results highlight the clinical and immunological importance of circulating PCSK9 in food anaphylaxis. Both PCSK9 full deficiency and pharmacological inhibition of circulating PCSK9 by mAbs are protective against the onset of FA symptoms. Our data show that PCSK9 acts mainly during the elicitation phase via an LDLR-independent mechanism, at least by attenuating degranulation of basophils and mast cells.

Methods

Animals models. C57Bl6/J, BALB/c (from Charles River laboratories), *Pcsk9*$^{-/-}$ and intestinal-specific *Pcsk9* deficient (i-*Pcsk9*$^{-/-}$) [28] and *Ldlr*-deficient (*Ldl-r*$^{-/-}$) mice were housed in a 12-hour day/night cycle and had unlimited access to water and gluten-free food.

Gliadin deamidation. 10mg of native gliadins were dissolved in 1mL of 0,1N hydrochloric acid at 90°C for 1h. The reaction was stopped by neutralizing with 0,1N NaOH. The solution was dialyzed for 5 days against distilled water (changed twice every day) and lyophilized as described previously[29].

Allergy induction protocol. Five-week-old mice were sensitized at day 0, 10 and 20 by intraperitoneal injection of 10 µg deamidated gliadins with aluminium hydroxide (DG/Alum)[29]. At day 27 and day 34, mice were orally challenged with 20 mg of DG in water to induce the allergic reaction. Negative control mice were sensitized with PBS and challenged with water.

Pharmacological inhibition of PCSK9. Monoclonal anti-PCSK9 antibody (m-Ab, Alirocumab, Sanofi-Aventis, France) was diluted in saline solution and subcutaneously administrated to 4-week-old BALB/c mice (50 mg/kg BW every ten days).

Intestinal transit time measurement. Intestinal transit time was evaluated at day 27 by measuring the time period between an oral gavage with a solution containing DG (20mg) and red carmin (150 mg/mL) and the appearance of the first red fecal pellet.

Measurement and histological visualization of ear thickness. During second challenge, ears thickness was determined with a digital micrometer (Mitutoyo, America Corporation, Aurora, IL) before and one hour 20mg DG gavage[30]. Ears were then harvested, fixed in 4% paraformaldehyde, embedded in paraffin, cut and stained with hematoxylin eosin. 5 µm sections were scanned using the NanoZoomer slide scanner (Hamamatsu Photonics, Japan) and the dermis thickness was quantified using NDP view 2 software (Hamamatsu Photonics K.K., Shizuoka, Japan).

Isolation of cells and flow cytometry. Mesenteric lymph nodes (MLNs) and spleen were collected and homogenized in in RPMI-1640 medium (Gibco, Thermo Fisher Scientific). 1.10^6 cells were transferred to a 96-well round-bottom plate and stimulated for 5 h with 50 ng/mL of phorbol-12-myristate-13-acetate and 1 µg/mL of ionomycin (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) with brefeldin A (10 µg/mL, BD Biosciences, Le Pont de Claix, France). Cells were stained with surface markers (CD3-APCH7, CD4-PEPCy7, CD8-PerCP5.5, CD25-BV510, CD9-APC, CD19-PerCP5.5, IgE-BV510, IgD-PE) in the presence of Fc blocker mouse CD16/32 antibody (BD Biosciences). For intracellular staining, the cells were fixed and permeabilized using a Cytofix/Cytoperm kit (BD Biosciences, Le Pont de Claix, France) and stained with FoxP3-APC, IL10-PE, RORγT-BV421, Gata3-BV421, INFγ-PE and IL4-APC. Cells were analyzed on a Fortessa cytometer (BD Biosciences, Le Pont de Claix, France). Data were acquired using Diva software and analyzed with FlowJo v10 (FlowJo LLC, Ashland, OR, USA).

Plasma cholesterol parameters. Plasma cholesterol level was measured using commercially enzymatic kit (Sobioda, Montbonnot, France) according to manufacturer's instruction.

PCSK9 protein levels quantification. Plasma PCSK9 level was determined by ELISA with R&D Duoset PCSK9 mouse kit (Bio-Techne SAS, Noyal Châtillon sur Seiche, France).

Plasma IgG1 quantification. Plasma IgG1 level was quantified by ELISA with IgG1 mouse uncoated ELISA kit (Thermo Fisher Scientific, MA, USA).

Generation of mouse bone marrow derived DCs (BMDCs). Femur and tibia of 7-10 weeks *Pcsk9*$^{+/+}$ and *Pcsk9*$^{-/-}$ mice were collected and disinfected with ethanol absolute. Extremities of bones were cut and bone marrow cells were flushed with

PBS supplemented with 10 % of heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) and 1 % EDTA. Erythrocytes were lysed using RBC lysis buffer (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) and washed in PBS supplemented with 10 % of FBS and 1 % EDTA. The cells were cultured at 0,5 x 10^6 cells/mL into 12-well plate in a final volume of 1 mL in RPMI-1640 medium (Gibco, Thermo Fisher Scientific) supplemented with 10 % of FBS, 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin, 1 mM minimal essential medium non-essential amino acids, 50 µM 2-mercaptoethanol (Gibco) and 20 ng/ml recombinant mouse granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) (premium grade, Miltenyi Biotech, Germany). At the 3rd day of culture, 0,5 mL of fresh medium supplemented with GM-CSF was added. Cells were harvested on day 6, washed with complete medium and used as BMDCs. Recombinant gain-of-function PCSK9 (PCSK9 D374Y, Circulex, CliniSciences, France) at 600 ng/mL and alirocumab at 50 µg/mL were added to the medium of *Pcsk9*$^{+/+}$ BMDCs at days 0 and 6.

Flow cytometry analysis of BDMCs. At day 7, BMDCs were stimulated with 10 µg/mL of DG for 24 h at 37°C. Cells were labeled with fixable viability stain dye (BD biosciences, Le Pont de Claix, France) for exclusion of dead cells. Monoclonal antibodies to mouse F4/80 (Alexa Fluor 647), CD11b (BB-700), CD11c (BUV-395), MHC-II (PE-Cy7), CD40 (BV-421), CD80 (BUV-737), CD86 (PE), CD8 (APC-H7), were all from BD Biosciences. Dendritic cell maturation was analyzed by flow cytometry by quantifying precursor (MHCII^{med} & CD11c^{+}) and mature DC (MHCII^{high} & CD11c^{+}) populations which were analyzed with Symphony (BD biosciences) and were analyzed using Flow Jo v10.

T cell purification and proliferation assay. Single cell suspensions were prepared from spleen of *Pcsk9*$^{+/+}$ and *Pcsk9*$^{-/-}$ mice. CD4^{+} T-cells were purified by negative selection using the EasySep CD4^{+} T-cell isolation kit (Stemcell Technologies, Saint-Egrève, France).

CD4^{+} T cells were incubated with mouse recombinant IL-2 at 20 ng/mL (BD biosciences, Le Pont de Claix, France) and MTT ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma-Aldrich M5655) was added to each well at a final concentration of 5 mg/mL, and cells were further incubated at 37°C for 3 h. Dimethyl sulfoxide was added to each well after removing the medium. After shaking the plates for 15 min, the absorbance was measured at 540 nm using a spectrophotometer (Varioskan, Thermo Fisher Scientific, MA, USA). PCSK9 D374Y and alirocumab were added to the medium of *Pcsk9*$^{+/+}$ CD4^{+} T cells at day 0 as described above.

***In vitro* basophil degranulation assay.** Rat basophilic leukemia cells (RBL-2H3 cells, ATCC) were placed at 0,1 x 10^6 cells/mL into 96-well plate and cultured for 24 h. Cells were washed with PBS, sera samples were added at 1:100 and the cells were cultured overnight. After one wash with PBS, cells were cultured with recombinant PCSK9 D374Y at 600 ng/mL or alirocumab (50 □g/mL) diluted in Tyrode 1X during one hour. Then, cells were challenged with DG at 10 ng/mL for 40 min. The control group was challenged with Tyrode 2X. The supernatants were transferred to 96-well plate and 50 µL of substrate (1 mM *p*-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide in citrate 0,05 M, pH 4,5, Sigma Aldrich) was added to the wells. The plate was incubated for 1h30 at 37°C. To determine the total amount of released β-hexosaminidase, the cells were lysed with 1% Triton X-100 (Thermo Fisher Scientific) and incubated with substrate using the same procedure as for the

determination of the activity in the supernatants. Glycine buffer (pH 10,7) was added to stop the reaction and the optical density (OD) was measured at 405 nm by using a reader (Varioskan, Thermo Fisher Scientific). The results were expressed as percentage of the total β-hexosaminidase content of the cells determined by cell lysis with 1 % Triton X-100 and calculated by using the formula: % degranulation = (OD sample – OD control) / (OD 1% Triton – OD control) x100.

Study approval. The protocol was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of Pays de Loire (CEEA-23421).

Statistical analysis. Data were analyzed using GraphPad Prism (La Jolla, CA, USA). Normality and equality of variance were checked by normality test and F-test, respectively. Values were expressed as the mean ± standard error of the mean (SEM) and compared using Mann-Whitney *U* test, one-way ANOVA with Kruskal-Wallis multiple comparison test or two-way ANOVA multiple comparison test. A *p*-value of less than 0.05 was considered as statistically significant.

Author contributions

VL, MK and DG designed and performed all experiments and acquired and analyzed the data. TS, SF, MAC, AA and MC contributed to data acquisition and analysis. LC contributed to experimental design, data analysis, and critique of the manuscript. LF provided critical reagents. *VL, MK, DG, BC, GB and CLM* conceived the study and wrote the manuscript with input from coauthors.

Acknowledgment

We thank members of the UTE-IRS-UN animal facility and acklowledge the core facilities Therassay, Micropicell and Cytocell.

Sources of funding

This study was supported by funding from Amgen Research Protocol Competitive Grant Program (Deciphering the role of PCSK9 in food allergy and asthma), from the Institut de Recherche en Santé Respiratoire des Pays de la Loire, from the Agence Nationale de la Recherche (ANR-16-RHUS-0007: French national project CHOPIN) and from the Fondation pour la Recherche Médicale (INSTINCTIVE research program: EQU201903007846). VL is a recipient of a scholarship from the foundation GENAVIE. The authors have no competing financial interests.

Nonstandard abbreviations used:

APLP2: amyloid-like protein 2

APP: amyloid precursor protein

ApoER2: apolipoprotein E receptor 2

BACE1: β-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1

BMDC: bone marrow-derived dendritic cell

DC: dendritic cell

DG: deamidated gliadin

EnaC: Na^+ channel

FA: food allergy

FBS : fetal bovin serum

GM-CSF : granulocyte macrophage colony stimulating factor

Ig : immunoglobulin

IL : interleukin

LDL-c: low-density lipoprotein cholesterol

LDLR: LDL receptor

LOX : oxidized LDL receptor

LRP: LDLR-related protein

MHC I : major histocompatibility protein class I

MLN: mesenteric lymph node

PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

RBL : rate basophilic leukemia

SDC : syndecan

TLR: Toll like receptor

VLDLR: very low-density lipoprotein receptor

References

1. Moneret-Vautrin DA. [Allergic diseases. A very strong increase]. Rev Prat. 2007;57(12):1294-1296.

2. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, et al. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. Allergy. 2014;69(8):992-1007. doi:10.1111/all.12423

3. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. J Allergy Clin Immunol. 2018;141(1):41-58. doi:10.1016/j.jaci.2017.11.003

4. Georas SN, Guo J, De Fanis U, Casolaro V. T-helper cell type-2 regulation in allergic disease. Respir Eur J. 2005;26(6):1119-1137. doi:10.1183/09031936.05.00006005

5. Pawankar R, Canonica GW, Holgate ST, Lockey RF, Blaiss M. The WAO White Book on Allergy (Update. 2013).; 2013.

6. Boyman O, Kaegi C, Akdis M, et al. EAACI IG Biologicals task force paper on the use of biologic agents in allergic disorders. Allergy. 2015;70(7):727-754. doi:10.1111/all.12616

7. Gould HJ, Sutton BJ. IgE in allergy and asthma today. Nat Rev Immunol. 2008;8(3):205-217. doi:10.1038/nri2273

8. Manti S, Leonardi S, Panasiti I, Arrigo T, Salpietro C, Cuppari C. Serum IL-10, IL-17 and IL-23 levels as “bioumoral bridges” between dyslipidemia and atopy. Cytokine. 2017;99:43-49. doi:10.1016/j.cyto.2017.07.002

9. Yang W. Study of the relationship between IL-10 polymorphism and serum lipoprotein levels in Han Chinese individuals. GMR Genet Mol Res Orig FUNPEC-RP. 2016;1(15). 2023. 31, Accessed January https://www.geneticsmr.com/articles/6519

10. Hu X, Wang Y, Hao LY, et al. Sterol metabolism controls TH17 differentiation by generating endogenous RORγ agonists. Nat Chem Biol. 2015;11(2):141-147. doi:10.1038/nchembio.1714

11. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal hypercholesterolemia. dominant Genet. Nat 2003;34(2):154-156. doi:10.1038/ng1161550

12. Hopkins PN, Toth PP, Ballantyne CM, Rader DJ, National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. Familial hypercholesterolemias: prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. J Clin Lipidol. 2011;5(3 Suppl):S9-17. doi:10.1016/j.jacl.2011.03.452

13. Cariou B, Si-Tayeb K, Le May C. Role of PCSK9 beyond liver involvement. 2015;26(3):155-161.

14. Zaid A, Roubtsova A, Essalmani R, Chamberland A. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse. Hepatology. 2008;48(2):646-654.

15. Seidah NG. PCSK9 | Circulation Research. 2014;114(6):1022-1036.

16. Ferri N, Marchianò S, Tibolla G, et al. PCSK9 knock-out mice are protected from neointimal formation in response to perivascular carotid collar placement. Atherosclerosis. 2016;253:214-224. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.910

17. Bernelot Moens SJ, Neele AE, Kroon J, et al. PCSK9 monoclonal antibodies reverse the pro-inflammatory profile of monocytes in familial hypercholesterolaemia. Eur Heart J. 2017;38(20):1584-1593. doi:10.1093/eurheartj/ehx002

18. Barcena ML, Estepa M, Marx L, Breiter A, Haritonow N, Stawowy P. The impact of the PCSK-9/VLDL-Receptor axis on inflammatory cell polarization. Cytokine. 2023;161:156077. doi:10.1016/j.cyto.2022.156077
19. Giunzioni I, Tavori H, Covarrubias R, et al. Local effects of human PCSK9 on the atherosclerotic lesion. J Pathol. 2016;238(1):52-62. doi:10.1002/path.4630
20. Kim YU, Kee P, Danila D, Teng BB. A Critical Role of PCSK9 in Mediating IL-17-Producing T Cell Responses in Hyperlipidemia - PubMed.https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/31921471/. Published 2019. Accessed January 31, 2023.
21. Liu A, Frostegård J. PCSK9 plays a novel immunological role in oxidized LDL-induced dendritic cell maturation and activation of T cells from human blood and atherosclerotic plaque. J Intern Med. Published online April 4, 2018. doi:10.1111/joim.12758
22. Walley KR, Thain KR, Russell JA, et al. PCSK9 is a critical regulator of the innate immune response and septic shock outcome. Sci Transl Med. 2014;6(258):258ra143. doi:10.1126/scitranslmed.3008782
23. Dwivedi DJ, Grin PM, Khan M, et al. Differential Expression of PCSK9 Modulates Infection, Inflammation, and Coagulation in a Murine Model of Sepsis. Shock. 2016;46(6):672. doi:10.1097/SHK.0000000000000682
24. Tang Z, Jiang L, Peng J, et al. PCSK9 siRNA suppresses the inflammatory response induced by oxLDL through inhibition of NF-κB activation in THP-1-derived macrophages. Int J Mol Med. 2012;30(4):931-938. doi:10.3892/ijmm.2012.1072
25. Ricci C, Ruscica M, Camera M, et al. PCSK9 induces a pro-inflammatory response in macrophages. Sci Rep. 2018;8:2267. doi:10.1038/s41598-018-20425-x
26. Lei L, Li X, Yuan YJ, et al. Inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 attenuates 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis via repressing toll-593like receptor 4/nuclear factor-kappa B. Kaohsiung J Med Sci. 2020;36(9):705-711. doi:10.1002/kjm2.12225
27. Liu X, Bao X, Hu M, et al. Inhibition of PCSK9 potentiates immune checkpoint therapy for cancer. Nature. 2020;588(7839):693-698. doi:10.1038/s41586-020- 2911-7
28. Garçon D, Moreau F, Ayer A, et al. Circulating Rather Than Intestinal PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9) Regulates Postprandial Lipemia in Mice -2020:2084-2094.

29. Castan L, Villemin C, Claude M, et al. Acid-Hydrolyzed Gliadins Worsen Food Allergies through Early Sensitization. Mol Nutr Food Res. 2018;62(17):1800159. doi:10.1002/mnfr.201800159

30. Bouchaud G, Gehrke S, Krieg C, et al. Epidermal IL-15Rα acts as an endogenous antagonist of psoriasiform inflammation in mouse and man. J Exp Med. 2013;210(10):2105-2117. doi:10.1084/jem.20130291

31. Feingold KR, Moser AH, Shigenaga JK, Patzek SM, Grunfeld C. Inflammation Stimulates the Expression of PCSK9. Biochem Biophys Res Commun. 2008;374(2):341-344. doi:10.1016/j.bbrc.2008.07.023

32. Dourado LPA, Noviello M de LM, Alvarenga DM, et al. Experimental food allergy leads to adipose tissue inflammation, systemic metabolic alterations and weight in mice loss Cell Immunol. 2011;270(2):198-206. doi:10.1016/j.cellimm.2011.05.008

33. Le May C, Kourimate S, Langhi C, et al. Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 Null Mice Are Protected From Postprandial Triglyceridemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009;29(5):684-690. doi:10.1161/ATVBAHA.108.181586

34. Ishibashi S, Brown MS, Goldstein JL, Gerard RD, Hammer RE, Herz J. Hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor knockout mice and its reversal by adenovirus-mediated gene delivery. J Clin Invest. 1993;92(2):883-893.

35. Denery-Papini S, Bodinier M, Pineau F, et al. Immunoglobulin-E-binding epitopes of wheat allergens in patients with food allergy to wheat and in mice experimentally sensitized to wheat proteins. Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol. 2011;41(10):1478-1492. doi:10.1111/j.1365-2222.2011.03808.x

36. Gupta RS, Warren CM, Smith BM, et al. Prevalence and Severity of Food Allergies Among US Adults. JAMA Netw Open. 2019;2(1):e185630. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.5630

37. Catassi C, Pierani P, Natalini G, Gabrielli O, Coppa GV, Giorgi PL. Clinical application of a simple HPLC method for the sugar intestinal permeability test. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1991;12(2):209-212. doi:10.1097/00005176- 199102000-00012

38. Lagace TA, Curtis DE, Garuti R, et al. Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and inlivers of parabiotic mice. J Clin Invest. 2006;116(11):2995-3005. doi:10.1172/JCI29383

39. Robinson J, Farnier M, Krempf M, et al. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events - N Engl J Med.2015:1489-1499.
40. Guo Y, Yan B, Gui Y, et al. Physiology and role of PCSK9 in vascular disease: Potential impact of localized PCSK9 in vascular wall. J Cell Physiol. 2021;236(4):2333-2351. doi:10.1002/jcp.30025
41. Tang ZH, Peng J, Ren Z, et al. New role of PCSK9 in atherosclerotic inflammation promotion involving the TLR4/NF-κB pathway. Atherosclerosis. 2017;262:113-122. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2017.04.023
42. Chen F, Castranova V, Shi X, Demers LM. New insights into the role of nuclear factor-kappaB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. Clin Chem. 1999;45(1):7-17.
43. Momtazi-Borojeni AA, Sabouri-Rad S, Gotto AM, et al. PCSK9 and inflammation: a review of experimental and clinical evidence. 2019;5(4):237-245.
44. Berin MC, Zheng Y, Domaradzki M, Li XM, Sampson HA. Role of TLR4 in allergic sensitization to food proteins in mice - Berin - 2006 - Allergy.2006:64-71.
45. Burton OT, Noval-Rivas M, Zhou JS, et al. Inhibition of Immunoglobulin E signals during allergen ingestion leads to reversal of established food allergy and induction of regulatory cells. T Immunity. 2014;41(1):141-151. doi:10.1016/j.immuni.2014.05.017
46. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. J Immunol Baltim Md 1950. 2000;164(12):6166-6173. doi:10.4049/jimmunol.164.12.6166

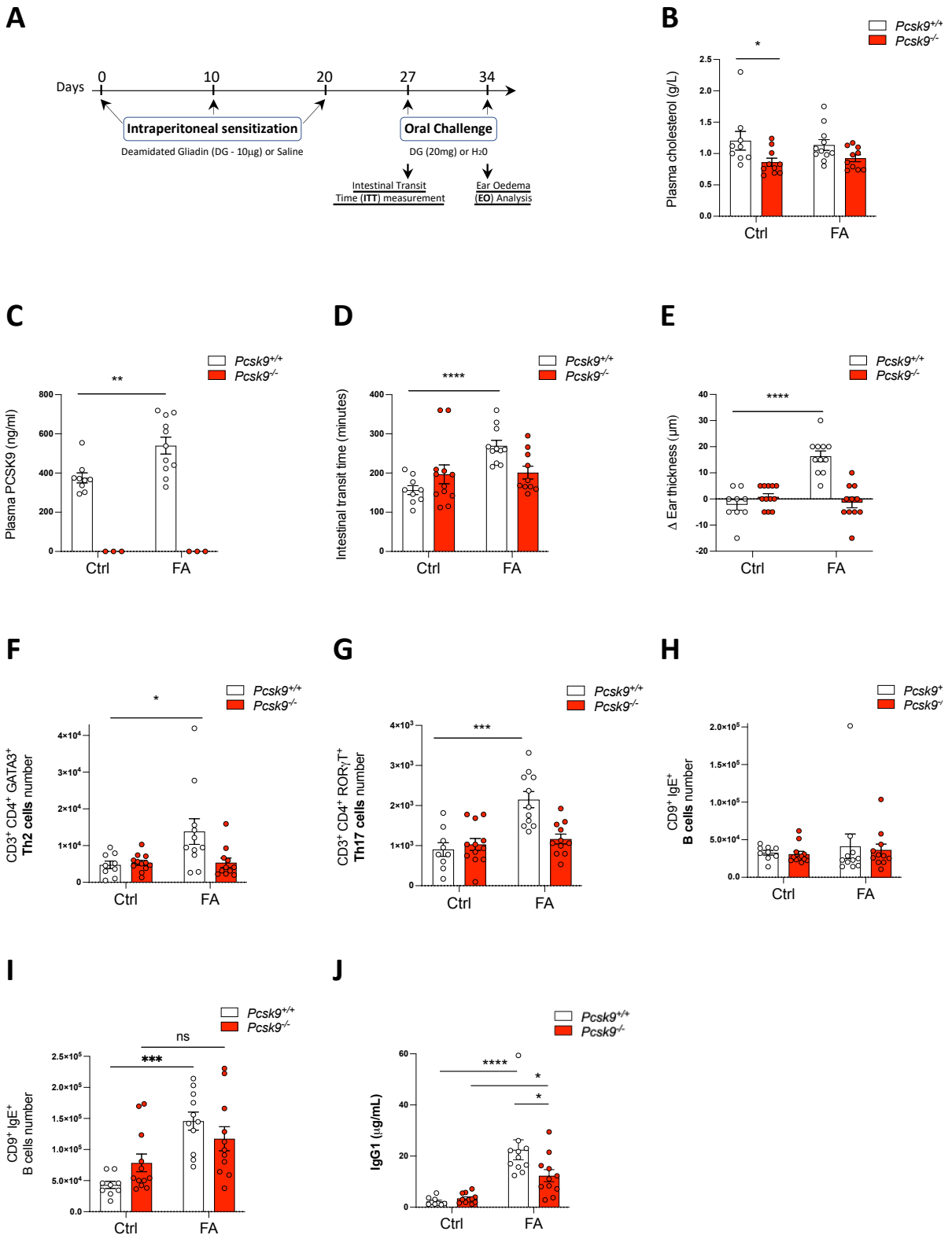


Figure 1. Total PCSK9 deficiency protects mice against deamidated gliadin-induced food allergy. (A) Schematic representation of the food allergy protocol: Five weeks old *Pcsk9*$^{+/+}$ and *Pcsk9*$^{-/-}$ mice were sensitized at day 0, 10 & 20 with

either PBS (Ctrl group) or deamidated gliadins (DG: 50 µg in 200 µL (PBS + alum); Food allergy -FA- Group). One week after the last sensitization, mice were orally challenged with either water (Ctrl) or DG (20 mg in 200 µL of water; FA group). (B) Intestinal transit time measured at day 27 after the first challenge. (C) At day 34, after the second challenge, we assessed the gliadin induced ear oedema. We measured (D) the plasma cholesterol and (E) the plasma PCSK9 levels. Th2 (F) and Th17 lymphocytes (G) and IgE^+ B cells (H) numbers from mesenteric lymph nodes were quantified by flow cytometry. (I) The number of splenic IgE^+ B cells was measured by flow cytometry from

Pcsk9$^{+/+}$ and *Pcsk9*$^{-/-}$ mice. (J) Plasma IgG1 concentrations were measured by ELISA from plasma harvested 1h after the second elicitation. Data are represented as the mean ± SEM. P-value was determined using Mann-Whitney *U* test; **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 and *****P* < 0.0001. n=9-12 mice per group.

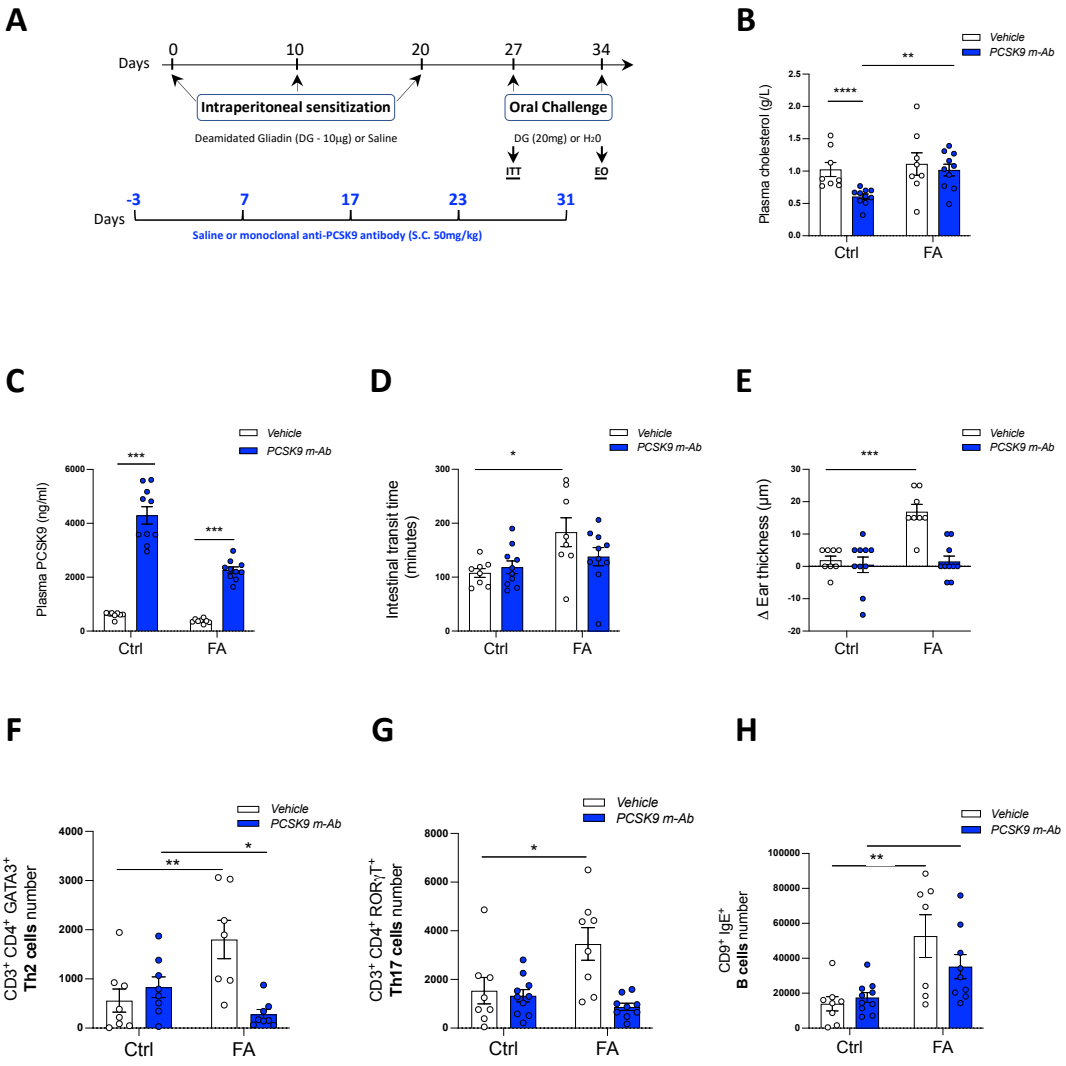


Figure 2. Pharmacological inhibition of circulating PCSK9 significantly reduces gliadin induced food allergic symptoms.

(A) Schematic representation of the food allergy protocol: Four-weeks-old BALB/c mice received every ten days a subcutaneous injection of saline solution or monoclonal anti-PCSK9 antibody (alirocumab, 50 mg/kg). Four days after antibodies/saline injection, mice were either sensitized every ten days with intraperitoneal injection of gliadin (DG: 50 µg in 200 µL (PBS + alum); FA group) or saline solution (Ctrl group). Elicitation was induced at days 27 & 34 by oral gavage of gliadin (20 mg in 200 µL of water; FA group). Control mice received an oral gavage of water. Plasma (B) cholesterol and (C) PCSK9 levels were measured at day 34. (D)

Intestinal transit time was measured at days 27 following the first elicitation and (E) the ear thickness at day 34 after the second challenge. Th2 (F) and Th17 lymphocytes (G) and IgE^{+} B cells (H) numbers from mesenteric lymph nodes were quantified by flow cytometry. Data are means ± SEM and statistical significance was determined using non-parametric Mann-Whitney *U* test; ns indicates not significant, **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 and *****P* < 0.0001. n=8-10 mice per group.

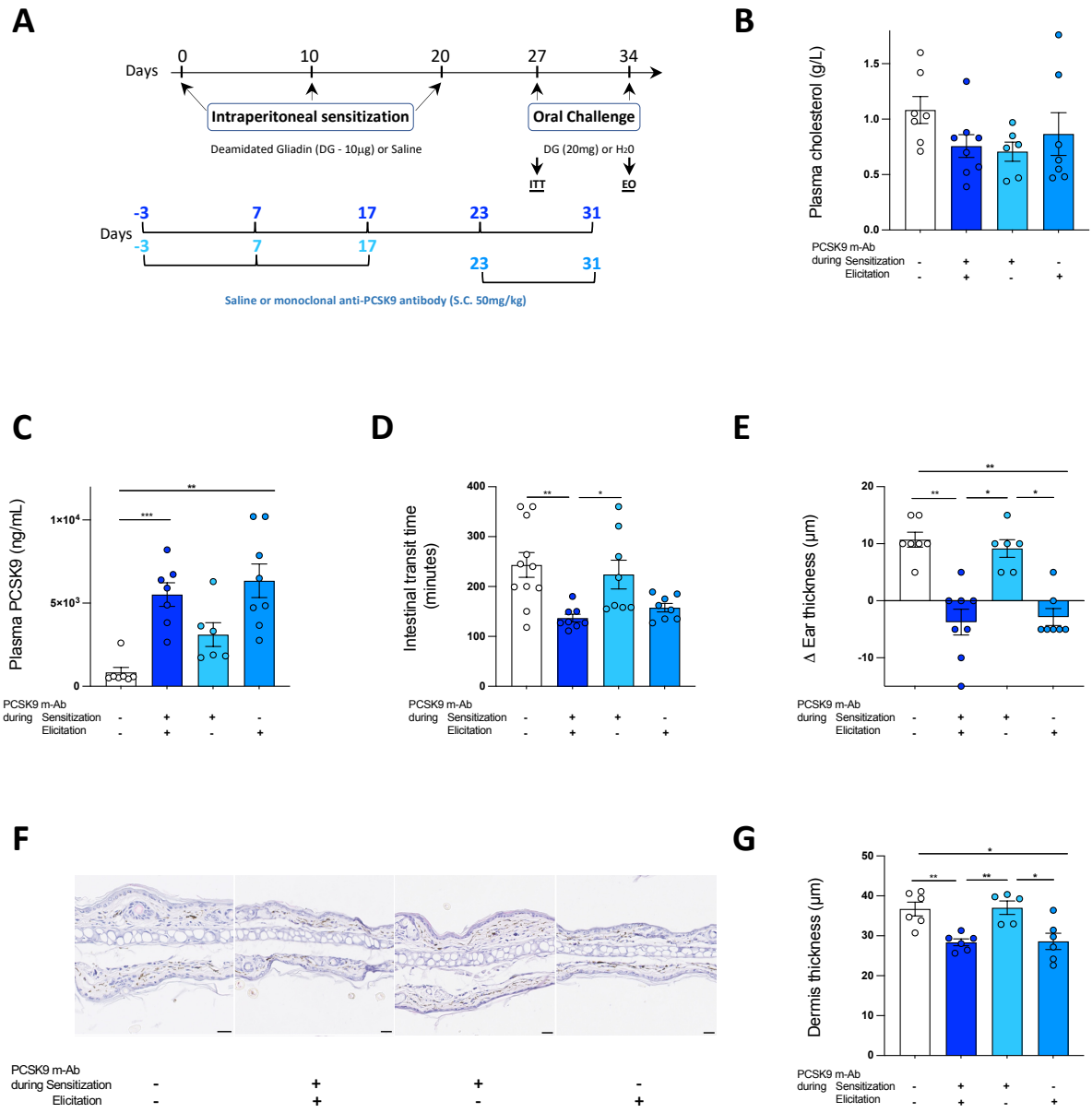


Figure 3. Pharmacological inhibition of PCSK9 during elicitation is sufficient to inhibit food allergy. (A) Schematic representation of the experiment: PCSK9 m-Ab was administrated either during the sensitization steps, the elicitation steps or all along the allergic protocol. (B) Plasma cholesterol and (C) PCSK9 levels measured at day 34. (D) Intestinal transit time and (E) ear thickness measured respectively after the first and second challenge. (F) Representative hematoxylin-eosin-stained ear section harvested 1 hour after the second challenge. Bars, 10 µm. (F) Dermis thickness measurement. Data are means ± SEM and were analyzed using one-way ANOVA; **P* < 0.05, ***P* < 0.01 and *** *P* < 0.001. n=8-11 mice per group.

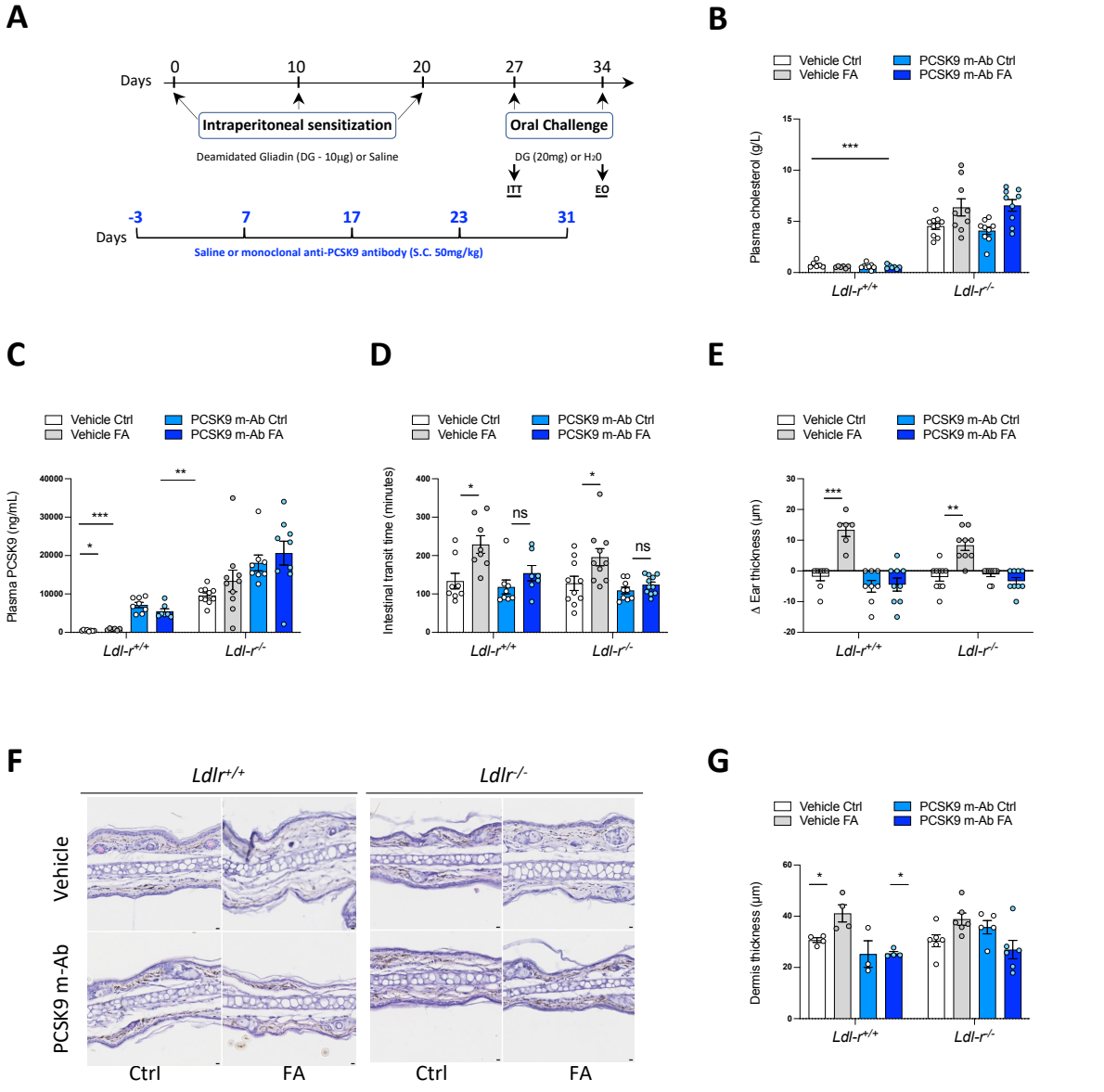


Figure 4. PCSK9 inhibition prevents allergy development in *Ldlr*$^{-/-}$ mice. (A) Schematic representation of the experiment: Ctrl and FA *Ldlr*$^{+/+}$ and *Ldlr*$^{-/-}$ 4-weeks-old *Ldlr*$^{+/+}$ and *Ldlr*$^{-/-}$ mice were treated with saline solution or PCSK9 m-Ab at day -7, 3, 13, 23 and 33. B) Intestinal transit time and (C) ear thickness measured respectively after the first and second challenge. (D) Plasma cholesterol and (E) PCSK9 levels measured at day 34. (F) Representative hematoxylin-eosin-stained ear section harvested 1 hour after the second challenge. Data are means ± SEM (n= 6 - 10 animals per group). P-values are determined using Mann-Whitney *U* test; ns indicated not significant, **P* < 0.05, ***P* < 0.01 and *** *P* < 0.001.

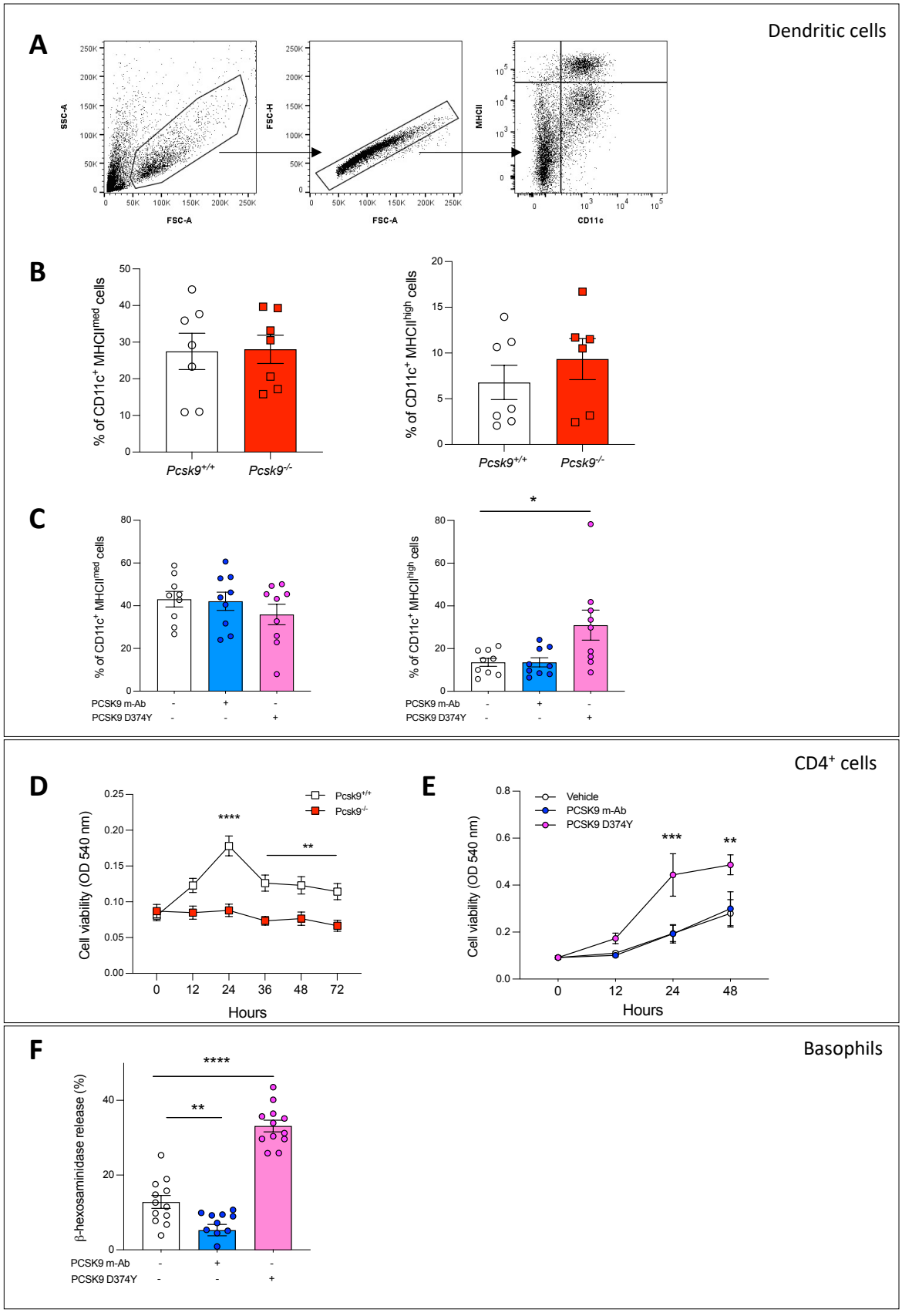
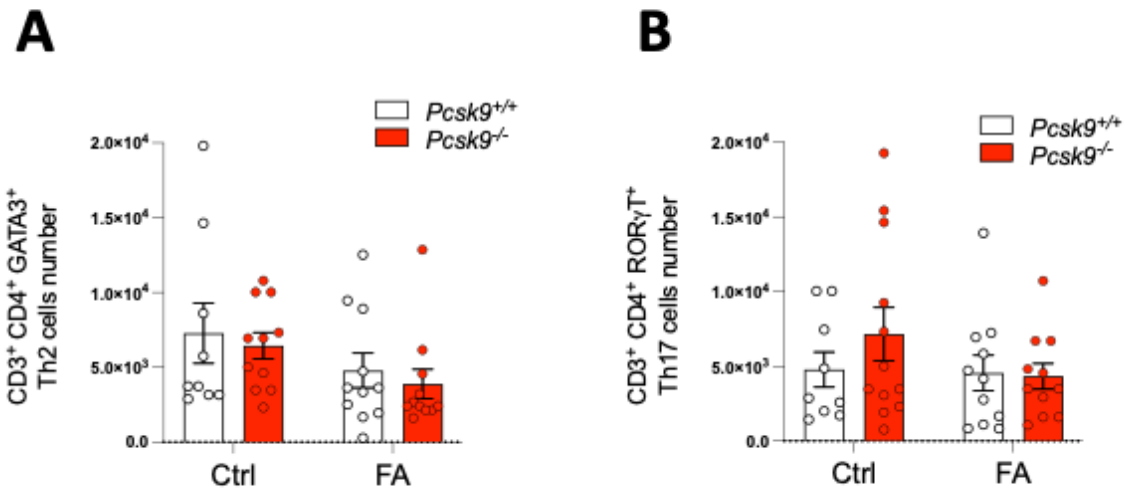

A
Dendritic cells
SSC-A
FSC-A
FSC-H
FSC-A
MHCII
CD11c
B
% of CD11c+ MHCIImed cells
Pcsk9+/+
Pcsk9-/-
% of CD11c+ MHCIIhigh cells
Pcsk9+/+
Pcsk9-/-
C
% of CD11c+ MHCIImed cells
PCSK9 m-Ab
PCSK9 D374Y
% of CD11c+ MHCIIhigh cells
*
PCSK9 m-Ab
PCSK9 D374Y
CD4+ cells
D
Cell viability (OD 540 nm)
Pcsk9+/+
Pcsk9-/-
****
**
Hours
E
Cell viability (OD 540 nm)
Vehicle
PCSK9 m-Ab
PCSK9 D374Y
***
**
Hours
F
Basophils
β-hexosaminidase release (%)
****
**
PCSK9 m-Ab
PCSK9 D374Y

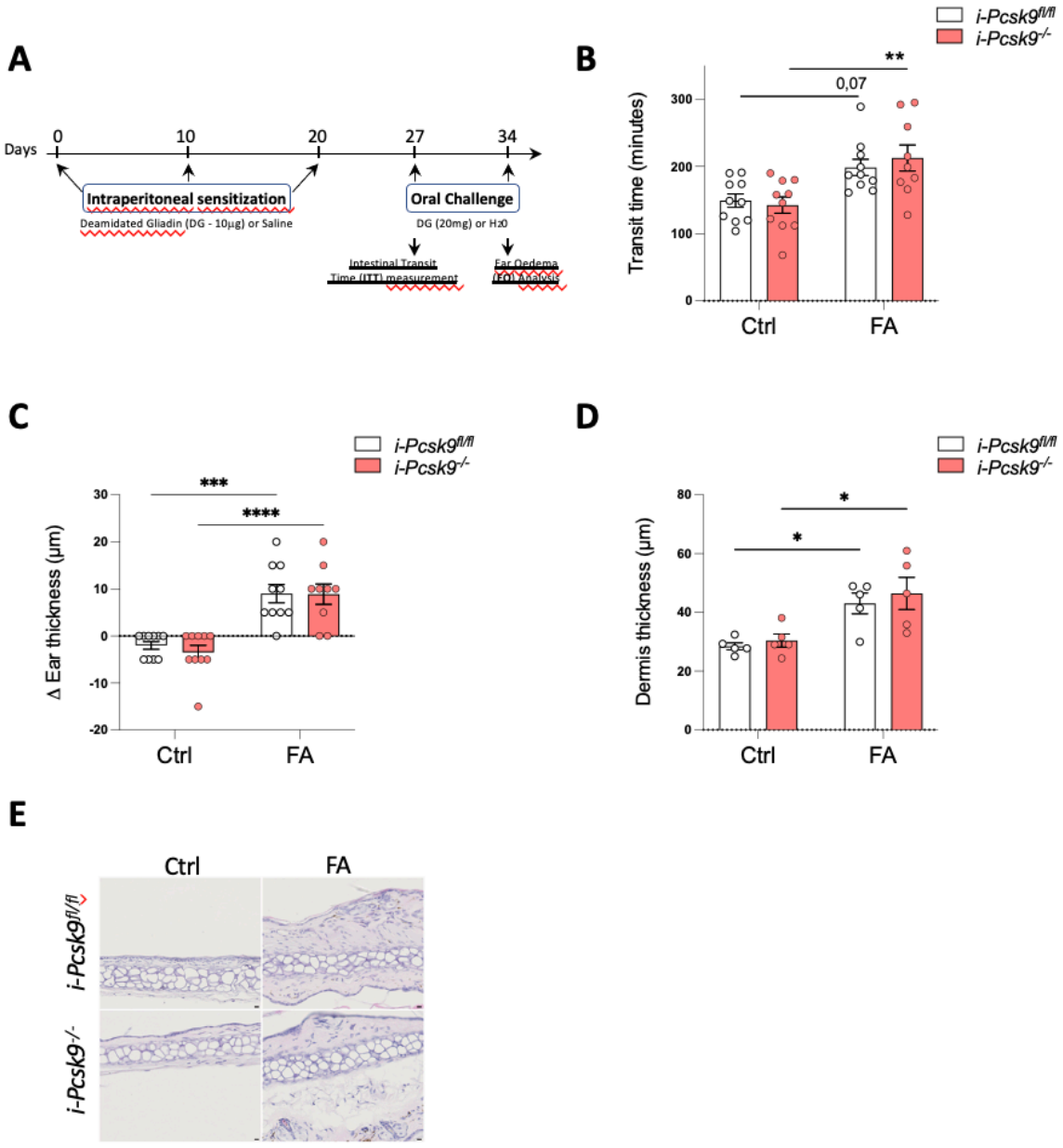
Figure 5. PCSK9 affects immune cells *in vitro*. (A) Schematic representation of the gating strategy (B) CD11c^{+} MHCII^{med} and CD11c^{+} MHCII^{high} cells percentage determined by flow cytometry from *Pcsk9*$^{+/+}$ and *Pcsk9*$^{-/-}$ BMDCs. (C) BMDCs isolated from *Pcsk9*$^{+/+}$ mice were cultured with recombinant D374Y PCSK9 or PCSK9 m-Ab for 8 days, CD11c^{+} MHCII^{med} and CD11c^{+} MHCII^{high} cells percentage was determined by flow cytometry on day 8. (D) Viability of *Pcsk9*$^{+/+}$ and *Pcsk9*$^{-/-}$ CD4^{+} T cells cultured for 72h. (E) Viability of *Pcsk9*$^{+/+}$ CD4^{+} T cells cultured in presence with alirocumab or recombinant PCSK9 D374Y. (F) Basophil (RBL) degranulation was tested by quantifying the β-hexosaminidase percentage release following vehicle, PCSK9 m-Ab or recombinant D374Y PCSK9 treatment. Data are means ± SEM. Mann-Whitney *U* test and two-way ANOVA tests were used; **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 and *****P* < 0.0001. n=5-12 mice per group.

Supplemental Figures

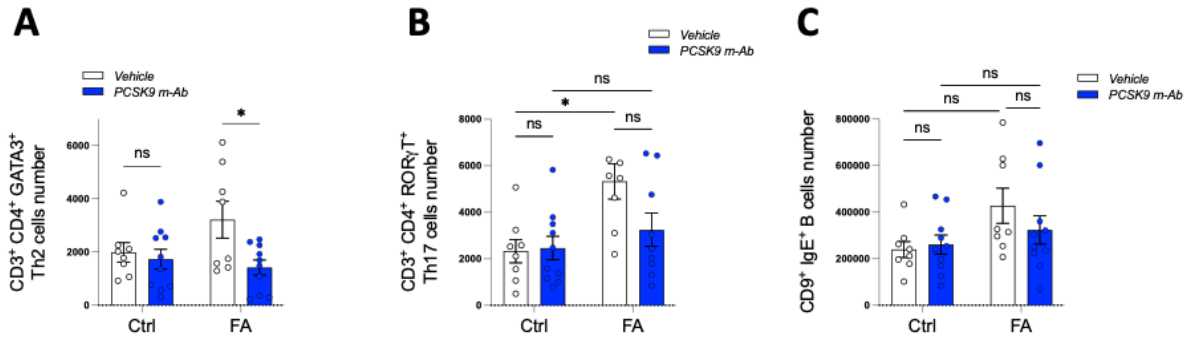


Supplemental 1. Effect of food allergy on Th2 and Th17 cell numbers in the spleen of *Psck9*$^{+/+}$ & *Pcsk9*$^{-/-}$ mice. (A) Th2 and (B) Th17 cells harvested from the spleen of Ctrl and FA *Pcsk9*$^{+/+}$ and *Pcsk9*$^{-/-}$ mice were quantified by flow cytometry.

Data are means ± SEM. P-values are determined using Mann-Whitney *U* test; ns, not significant, **P* < 0.05, ***P* < 0.01 and *****P* < 0.0001.
n=9-12 mice per group.



Supplemental 2. Mice with intestinal Pcsk9 deficiency are not protected against Deletion of PCSK9 in the intestine has no beneficial effect on food allergy. (A) Schematic representation of the experiment. (B) Transit time measurement. (C) Ears thickness and D) dermis thickness evaluation. E) H&E staining of ears of i-*Pcsk9*$^{+/+}$ mice at the left and i-*Pcsk9*$^{-/-}$ mice on the right. Bars, 10 µm. Data are represented as the mean ± SEM. (n = 9 – 10 animals per group). P-values are determined using Mann-Whitney *U* test **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 and *****P* < 0.0001.



Supplemental 3. Effect of pharmacological inhibition of PCSK9 on splenic immune cells isolated from control and food allergic mice. The number of (A) Th2, (B) Th17 and (C) IgE^+ B cells was measured in spleen of Ctrl and FA BALB/c mice treated or not with alirocumab. Data are means ± SEM. P-values are determined using Mann-Whitney *U* test; ns indicated not significant, **P* < 0.05, ***P* < 0.01 and *****P* < 0.0001. n=8-10 mice per group.

c. *L'inhibition de PCSK9 par l'evolocumab a des effets modestes sur l'allergie alimentaire*

L'inhibition de PCSK9 par evolocumab a été effectuée tout au long du protocole d'allergie alimentaire chez la BALB/c. De manière surprenante, la cholestérolémie des animaux traités par l'evolocumab n'a pas été diminuée par rapport à la situation contrôle (**Figure 28 A**). Nous avons observé une augmentation significative de la concentration plasmatique de PCSK9 (**Figure 28 B**). Cela pourrait confirmer la séquestration de la PCSK9 circulante par les anticorps. Enfin, nous avons constaté que l'allergie diminue la cholestérolémie des souris non traitées à l'evolocumab mais ne module pas la concentration de PCSK9 (**Figure 28**).

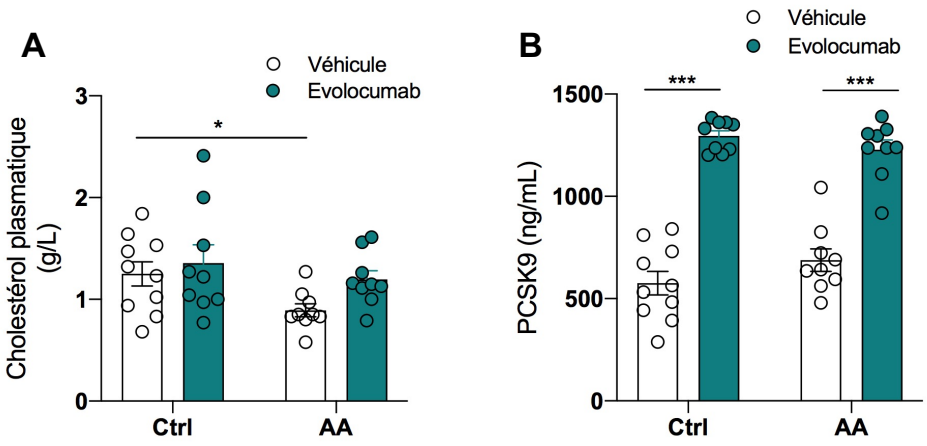


*Figure 28: L'évolocumab ne semble pas modifier la cholestérolémie des animaux. A) Cholestérolémie et B) concentration plasmatique de PCSK9. * p<0,05 et *** p<0,001, selon un test de Mann & Whitney. n = 10 souris par groupe. Ctrl : contrôle et AA : allergie alimentaire.*

De façon inattendue, le temps de transit des souris BALB/c non traitées n'a pas été augmenté avec l'allergie mais nous avons constaté qu'il serait plus élevé que celui des souris allergiques traitées à l'evolocumab (**Figure 29 A**). Nous avons remarqué que les souris allergiques non traitées ont développé un œdème auriculaire contrairement aux souris traitées par evolocumab (**Figure 29 B-D**).

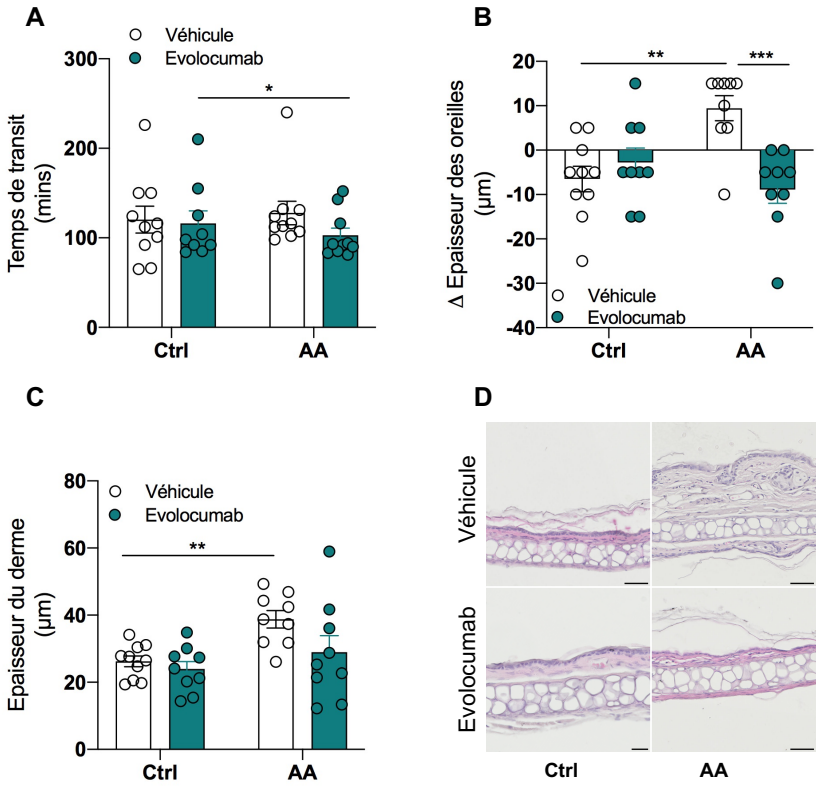


*Figure 29 : L'evolocumab a des effets protecteurs partiels sur l'allergie alimentaire. A) Mesure du temps de transit intestinal, B) Différence de l'épaisseur des oreilles, C) Épaisseur du derme auriculaire et D) coupe histologique de l'oreille, barre : 10 µm. * p<0,05 ;**p<0,01 et *** p<0,001, selon un test de Mann & Whitney. n = 10 souris par groupe. Ctrl : contrôle et AA : allergie alimentaire.*

Point résumé – Résultats de notre étude sur l'allergie alimentaire

- L'absence totale d'expression et l'inhibition pharmacologique de PCSK9 confèrent une protection face à l'apparition des symptômes de l'allergie alimentaire
- La forme circulante de PCSK9 joue un rôle dans cette pathologie
- PCSK9 interviendrait principalement au cours du déclenchement
- Le mécanisme d'action potentiel de PCSK9 est indépendant du LDLR
- La PCSK9 recombinante favorise la maturation des DC, la prolifération des LT et la dégranulation des basophiles *in vitro*

2- L'inhibition de PCSK9 améliore l'altération des paramètres respiratoires induits par l'asthme allergique

a. Avant-propos

L'asthme se définit comme une pathologie inflammatoire chronique des voies respiratoires. Cette pathologie concerne 400 millions de personnes dans le monde (368) et est responsable d'environ 250 000 décès chaque année (369). L'asthme

peut être induit par l'exposition à des allergènes aéroportés tels que les poils de chat, l'acarien, le pollen ou les moisissures (**chapitre 2, I 3**). Parmi ces allergènes, l'acarien serait responsable de 85% des cas d'asthme allergique (579). Lorsque le sujet est exposé à l'allergène aéroporté, la crise d'asthme se déclenche. Les molécules proinflammatoires libérées par les mastocytes et les basophiles induisent la contraction des cellules musculaires lisses bronchiques. Cela comprime les bronches et rend la respiration difficile (580). Les patients sont sujets à une dyspnée, une toux, une oppression de la cage thoracique et des sifflements. Ces symptômes sont plus ou moins sévères selon les patients (581). L'asthme a un fort impact sur la qualité de vie des patients. Le moindre effort ou activité quotidienne telle qu'une marche prolongée ou la montée des marches peut devenir difficile. Le sommeil des patients peut être perturbé à cause de crises nocturnes. L'asthme s'associe à un absentéisme scolaire ou à des arrêts de travail fréquents ainsi qu'à des troubles dépressifs (582,583).

La prise en charge de l'asthme débute par l'identification de l'allergène auquel le patient serait sensible afin de minimiser l'exposition à ce déclencheur (369). Lorsque l'asthme allergique est considéré comme sévère, la mise en place d'un traitement de fond se met en place. Il se compose d'antihistaminiques, corticoïdes inhalés et/ou de bronchodilatateurs. Ce traitement doit être suivi à long terme et être pris de manière quotidienne. En revanche, une mauvaise observance des patients a pu être constatée, ce qui rend cette stratégie inefficace. Il est toutefois possible de la coupler à une désensibilisation (584). Les désensibilisations à l'acarien et au pollen ont démontré leur efficacité, cependant, elles resteraient inefficaces pour l'allergie aux poils d'animaux (585,586). Malgré les progrès dans la prise en charge de l'asthme

allergique, sa prévalence n'a cessé d'augmenter et il est donc crucial d'étudier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Nous avons vérifié si la délétion ou l'inhibition de PCSK9 pourrait améliorer l'altération de la fonction respiratoire induite par l'asthme allergique. Pour ce faire, des souris C57Bl6/J, *Pcsk9*$^{-/-}$ et BALB/c ont été soumises à un protocole d'asthme allergique à l'acarien (noté HH – House dust mite / House dust mite), comme détaillé dans le matériels et méthodes **partie 1b**. Les fonctions respiratoires ont été évaluées par pléthysmographie et par la technique des oscillations forcées (**Matériels et méthodes, 3**). Avec l'asthme, la valeur de la penH, de la résistance et de l'élastance pulmonaire augmentent alors que celle de la compliance diminue. Ces différents paramètres s'observent pour les plus fortes doses de métacholine (573,587).

b. La déficience en PCSK9 protège les souris de la survenue de l'asthme allergique

Un modèle d'allergie à l'acarien a été mis en place chez la souris *Pcsk9*$^{+/+}$ et *Pcsk9*$^{-/-}$. En accord avec les travaux de Rashid et ses collègues, nous avons observé une hypocholestérolémie et aucune concentration circulante de PCSK9 chez la souris *Pcsk9*$^{-/-}$ en situation basale ou allergique (**Figure 30**) (45).

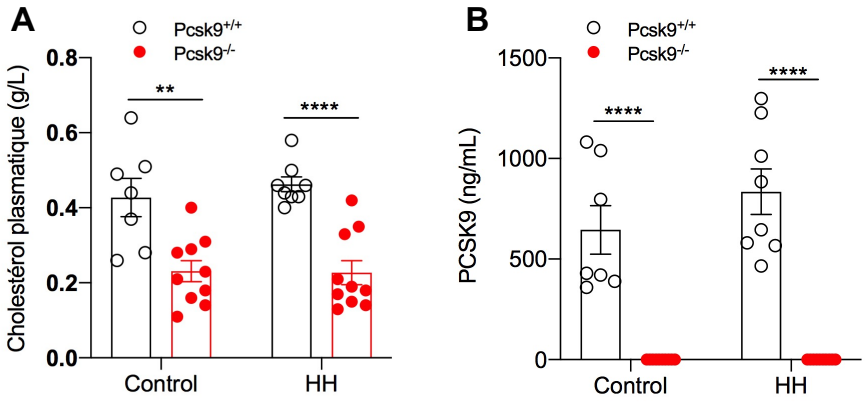


*Figure 30: La déficience en PCSK9 est responsable d'une diminution de la cholestérolémie A) Cholestérolémie et B) concentration plasmatique de PCSK9. ** p<0,01 et **** p<0,0001, selon un test de Mann & Whitney. n = 7 - 10 souris par groupe.*

Il peut être difficile d'induire un asthme allergique chez la souris C57Bl6/J en raison de leur immunité pro-Th1 (588). Nous avons donc utilisé un protocole d'allergie

respiratoire sévère composé de six provocations intranasales (**cf Figure 24**). En comparaison à la situation contrôle, la résistance et l'élastance pulmonaire des souris *Pcsk9*$^{+/+}$ allergiques ont significativement augmenté (1,29 cmH_2O.s/mL vs 4,27 cmH_2O.s/mL, *p* <0,0001, et 38,72 cmH_2O/mL vs 109,78 cmH_2O/mL, *p* <0,0001, respectivement) (**Figure 31 A & B**). Nous avons observé que la compliance des souris *Pcsk9*$^{+/+}$ HH a diminué par rapport aux souris *Pcsk9*$^{+/+}$ contrôles (**Figure 31 C).** Ces paramètres sont en accord avec l'installation d'un asthme allergique chez la souris *Pcsk9*$^{+/+}$. Nous n'avons pas constaté de différence dans les valeurs de la résistance, de l'élastance ou de la compliance entre les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ HH et contrôles. Cela suggère que la déficience en PCSK9 protégerait les souris de l'altération de la fonction respiratoire profonde induite par l'asthme allergique.

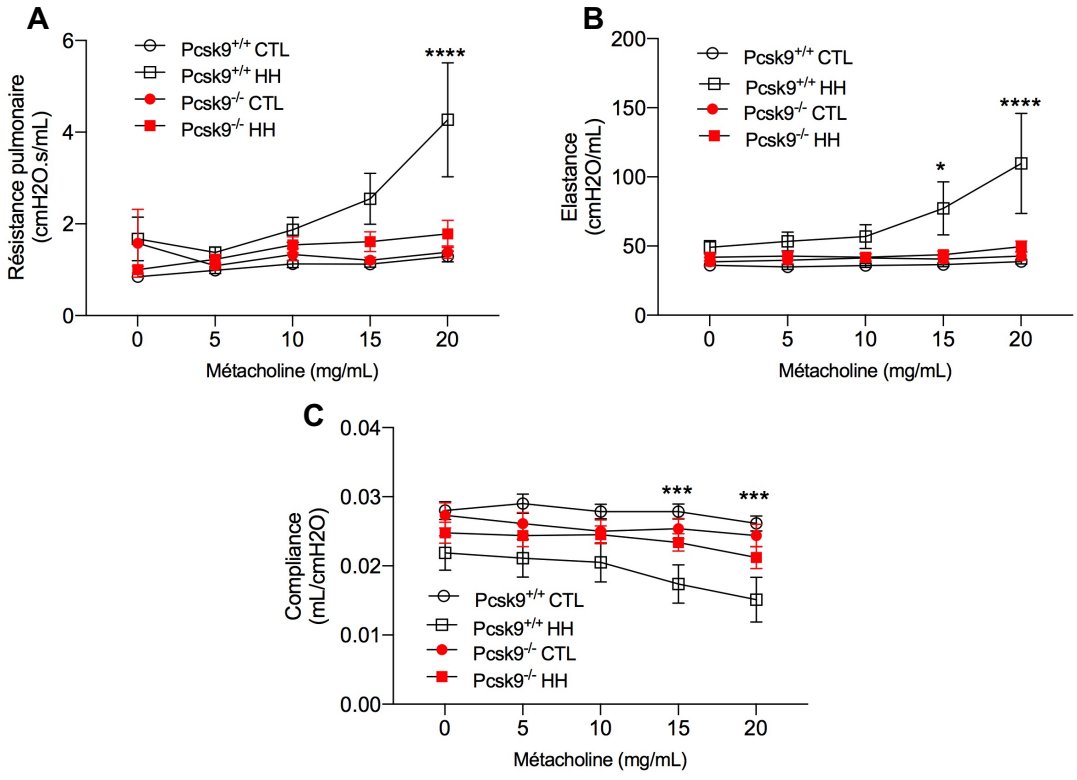


*Figure 31: La déficience en PCSK9 améliore l'altération des paramètres respiratoires induits par l'asthme allergique. Mesure de la A) résistance, B) élastance et C) compliance pulmonaire par la technique des oscillations forcées. * p<0,05 ; ***p<0,001 et **** p<0,0001, selon un test ANOVA à deux facteurs. n = 7 - 10 souris par groupe.*

c. *L'evolocumab confère une protection face à l'asthme allergique*

Nous avons mesuré l'effet d'une inhibition de PCSK9 par evolocumab chez la BALB/c au cours d'un protocole d'asthme allergique (**Matériels et méthodes, 1 c**). Bien que nous n'ayons pu attester l'effet de l'evolocumab sur la cholestérolémie, nous avons observé que la concentration de PCSK9 a augmenté dans cette condition (**Figure 32**). Nous avons constaté que l'asthme allergique induit une baisse de la concentration plasmatique en cholestérol (**Figure 32 A**) et une augmentation de la concentration en PCSK9 (**Figure 32 B**).

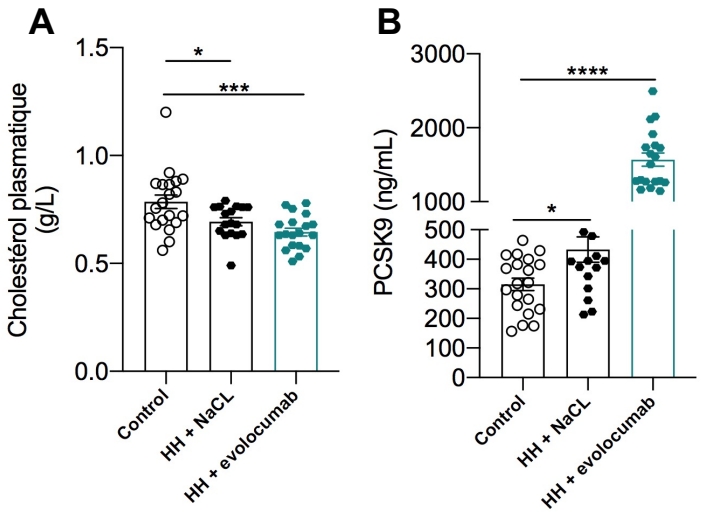


*Figure 32: Effet de l'evolocumab sur les concentrations plasmatiques en cholestérol & PCSK9. Concentration plasmatique de A) cholestérol et B) PCSK9. * p<0,05 ; ***p<0,001 et **** p<0,0001, selon un test de Mann & Whitney. n = 13 - 20 souris par groupe.*

La penH a été déterminée par pléthysmographie le lendemain du premier challenge intranasal (**Matériels et méthode, 3a**). Nous avons pu observer que la penH augmente avec l'asthme que les souris soient traitées ou non par l'evolocumab (**Figure 33**).

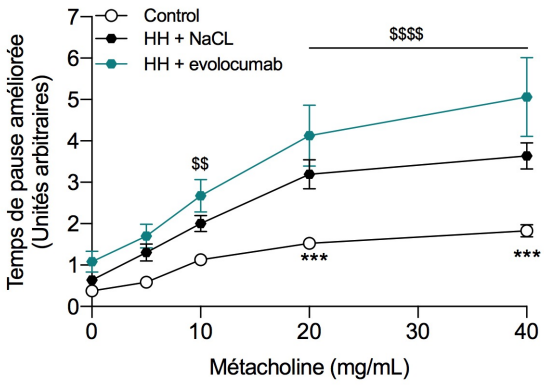


*Figure 33: La penH est modifiée par l'asthme allergique. Mesure de la penH par pléthysmographie. ***p<0,001 entre le groupe contrôle et le groupe HH non traité. $$p<0,01 et $$$$p<0,0001 entre le groupe contrôle et HH traité à l'evolocumab. Selon un ANOVA à deux facteurs. n = 13 - 20 souris par groupe.*

La semaine suivante, la résistance, l'élastance et la compliance ont été mesurées par la technique des oscillations forcées. Nous observons une résistance et élastance augmentées, ainsi qu'une compliance diminuée chez les souris HH non traitées (**Figure 34**). En comparaison à la situation contrôle, ces trois paramètres ne sont pas modifiés chez les souris asthmatiques traitées par evolocumab (**Figure 34**). Ces données suggèrent que l'evolocumab prévient la détérioration des fonctions aériennes profondes induites par l'asthme allergique.

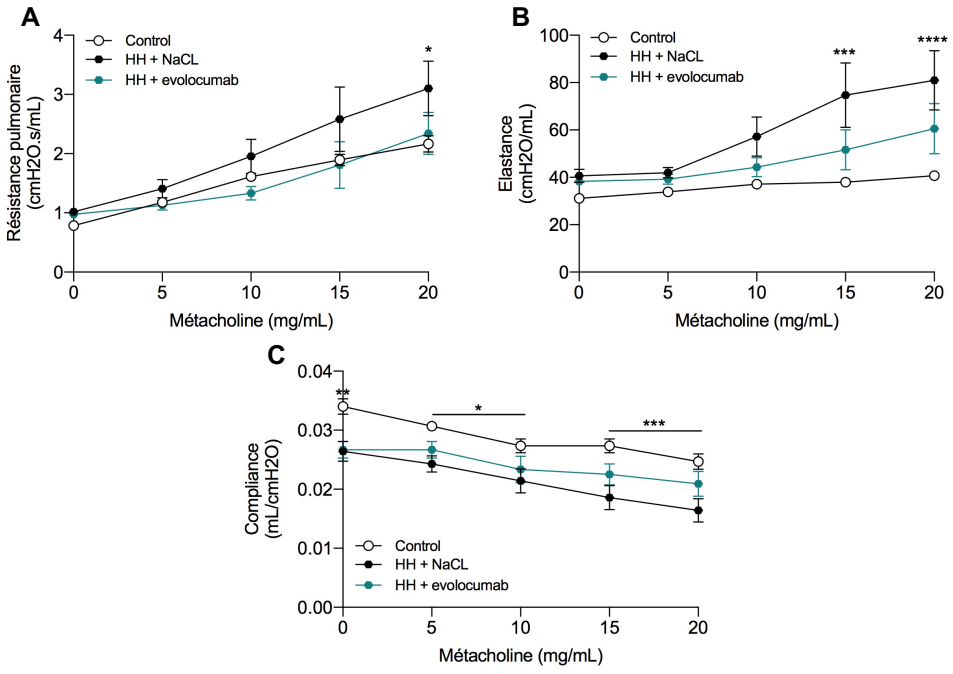


*Figure 34: L'evolocumab empêche l'altération de la fonction ventilatoire profonde induite par l'asthme. Mesure de la A) résistance, B) élastance et C) compliance pulmonaire par la technique des oscillations forcées. * p<0,05 et ***p<0,001, selon un test ANOVA à deux facteurs. n = 13 - 20 souris par groupe.*

d. L'alirocumab améliore les fonctions respiratoires modifiées au cours de l'asthme allergique

Nous avons également vérifié l'effet de l'inhibition PCSK9 par alirocumab au cours de l'asthme allergique induit chez la BALB/c. Nous avons constaté que les souris traitées par alirocumab ont une réduction de la cholestérolémie (**Figure 35 A**) et une concentration plasmatique de PCSK9 augmentée (**Figure 35 B**). De la même manière, nous avons observé que l'allergie module ces deux paramètres (**Figure 35**).

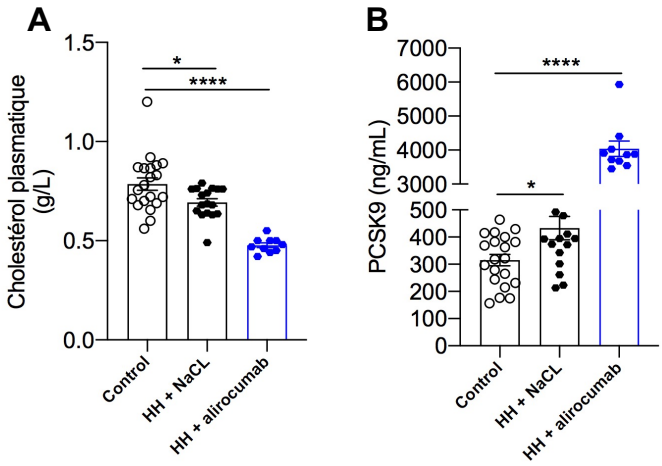


*Figure 35 : Effet de l'alirocumab sur les concentrations plasmatiques en cholestérol & PCSK9. Concentration plasmatique de A) cholestérol et B) PCSK9. * p<0,05 et ****p<0,0001, selon un test de Mann & Whitney. n = 10 - 20 souris par groupe.*

La valeur de la penH a été augmentée avec l'asthme en condition basale ou en situation traitée (**Figure 36**).

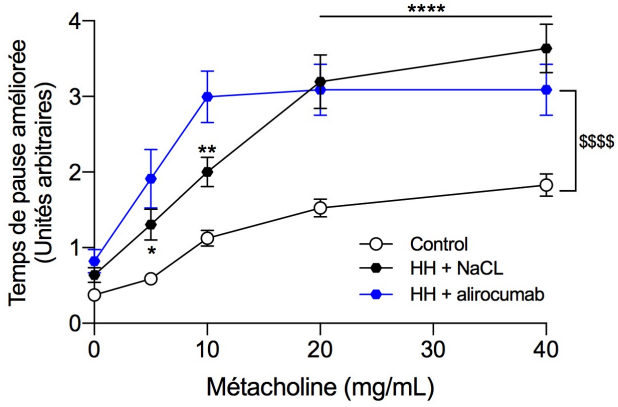


*Figure 36: La penH est augmentée par l'asthme. Mesure de la penH par pléthysmographie. *p<0,05 ; **p<0,01 et ****p<0,0001 entre le groupe contrôle et le groupe HH non traité. $$$$p<0,0001 entre le groupe contrôle et HH traité à l'alirocumab. Selon un ANOVA à deux facteurs. n = 10 - 20 souris par groupe.*

Les souris HH non traitées à l'alirocumab ont présenté une résistance et élastance augmentées ainsi qu'une compliance diminuée par rapport aux souris contrôles (**Figure 37**). En revanche, les valeurs de ces trois paramètres ne sont pas différentes entre les souris contrôles et asthmatiques traitées à l'alirocumab (**Figure 37**). Ces résultats suggèrent que l'alirocumab protège les souris de la modification des fonctions aériennes terminales induite par l'asthme allergique.

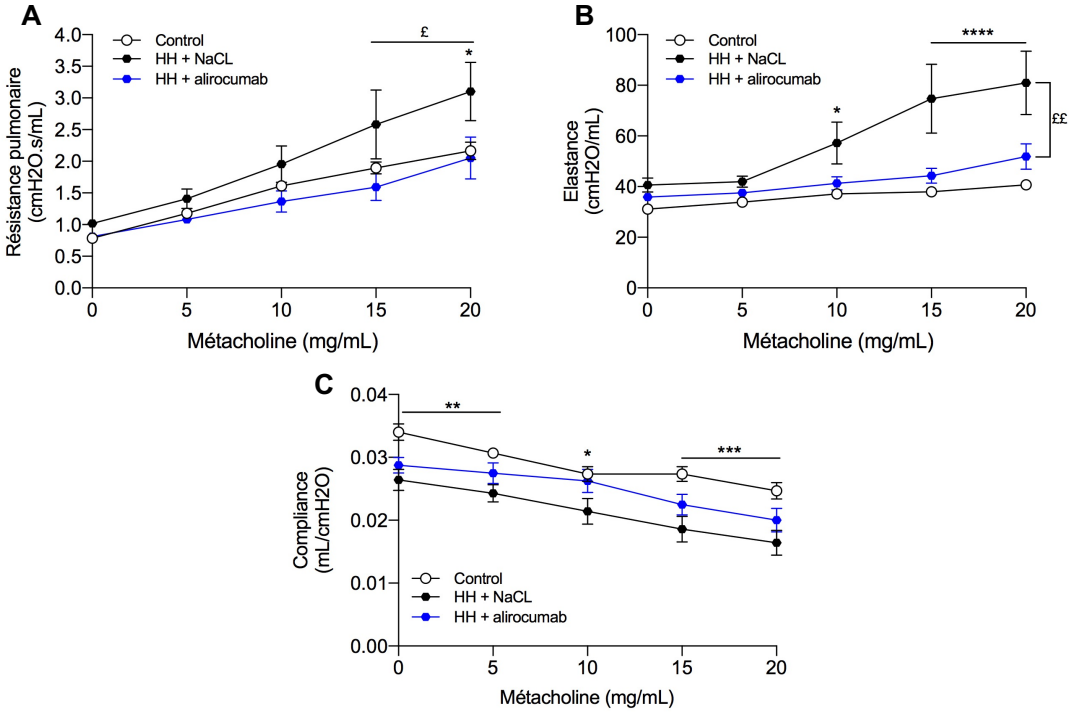


*Figure 37 : L'alirocumab améliore les fonctions respiratoires profondes altérées par l'asthme. Mesure de la A) résistance, B) élastance et C) compliance pulmonaire par la technique des oscillations forcées. * p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001 et ****p<0,0001 entre les groupes contrôles et HH non traités. £p<0,05 et ££p<0,01 entre les groupes HH traités ou non. Selon un test ANOVA à deux facteurs. n = 10 - 20 souris par groupe.*

Point résumé – Résultats de notre étude sur l'asthme allergique

- L'absence totale d'expression de PCSK9 prévient l'altération des fonctions respiratoires profondes induite par l'asthme allergique
- L'alirocumab et l'evolocumab n'ont pas d'effet bénéfique sur l'altération de la ventilation proximale
- L'inhibition de PCSK9 confère une protection face à la modification des fonctions respiratoires profondes

3- L'inhibition de PCSK9 présente un effet antiallergique au cours de la marche atopique

a. Avant-propos

L'atopie se définit comme étant la prédisposition personnelle ou familiale à la sensibilisation et à la production d'IgE en réponse à des déclencheurs environnementaux (589). La marche atopique est un concept qui se caractérise par la progression de la dermatite atopique ou de l'allergie alimentaire apparues dans l'enfance vers le développement d'un asthme allergique à l'adolescence (590). Spergel a été le premier à établir une corrélation entre la sensibilisation cutanée et le développement d'un asthme allergique chez la souris. Il a ainsi défini la marche atopique comme étant « l'histoire naturelle des manifestations allergiques, caractérisée par une séquence typique de progression des maladies atopiques ; dermatite atopique puis asthme au cours de la vie » (590).

20% des enfants sujets à une dermatite atopique modérée développent un asthme allergique (591). Lorsque la dermatite atopique est sévère, ce chiffre passe à 60% (591). Les enfants atteints d'eczéma atopique ont trois fois plus de risque de développer une allergie respiratoire par rapport aux enfants non atopiques (592). Cela suggère que la dermatite atopique est le point d'entrée de la marche atopique. Or, une association significative entre l'allergie à l'œuf et la présence d'allergie respiratoire à l'âge de 4 ans a été souligné en 2000 (593). De plus, 31% des enfants sensibilisés à un allergène alimentaire à 6 et 12 mois développent un asthme une dizaine d'années plus tard (594,595). Les enfants porteurs d'une dermatite atopique et de plusieurs sensibilisations alimentaires ont plus de risque de développer un asthme (596). Ainsi, la dermatite atopique et/ou l'allergie alimentaire seraient le point d'entrée d'un asthme plus tardif et leur traitement dans l'enfance ne peut empêcher

ce processus. Par exemple, l'utilisation d'antihistaminiques ou de probiotiques n'évitent et ne retardent pas le développement d'un asthme atopique chez l'enfant atteint de dermatite atopique (597–599). Une stratégie de désensibilisation à l'acarien par immunothérapie orale n'a pas eu d'effet préventif sur le développement de pathologies atopiques (600). Ainsi, les stratégies de prévention ou thérapeutique n'empêchent pas la survenue d'un asthme. De plus, *in vivo,* l'allergie alimentaire aggrave l'asthme allergique (601). En effet, les fonctions ventilatoires et le tissu pulmonaire sont altérés d'une façon plus importante au cours de la marche atopique (601). Cette caractéristique se retrouve chez l'Homme. L'allergie alimentaire est associée à une augmentation du nombre d'hospitalisation lié à une crise d'asthme. De plus, l'allergie au lait de vache et à l'arachide s'associe à une élévation de l'utilisation de corticoïdes dans le traitement de l'asthme. Il semble alors que l'asthme induit au cours du processus de marche atopique soit plus sévère (602).

Face à l'échec des stratégies de prévention et à la sévérité de l'asthme au cours de la marche atopique, il est nécessaire d'étudier ce mécanisme afin d'établir de nouvelles cibles thérapeutiques. Dans ce but, nous avons complété notre étude par une mesure de l'inhibition de PCSK9 lors du processus de marche atopique. Le modèle mis en place dans notre laboratoire prend en compte une double allergie. En effet, les souris ont d'abord été soumises à un protocole d'allergie à la gliadine de blé, suivi de l'induction d'un asthme allergique à l'acarien au cours duquel les fonctions respiratoires ont été mesurées comme décrit précédemment (**Matériels et méthodes, 3**).

b. L'inhibition de PCSK9 améliore les fonctions aériennes profondes altérées par la marche atopique

Dans ce modèle, nous avons observé que l'evolocumab n'affecte pas la cholestérolémie des animaux mais augmente la concentration plasmatique de PCSK9 (**Figure 38**). La marche atopique, notée FA + HH, a diminué la cholestérolémie mais n'a pas modifié la concentration plasmatique de PCSK9 (**Figure 38**).

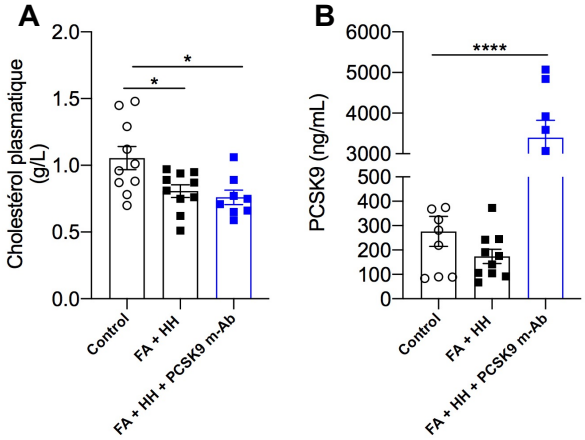


*Figure 38 : Effets de l'inhibition de PCSK9 sur les concentrations plasmatiques en cholestérol & PCSK9 au cours de la marche atopique. A) Cholestérolémie et B) concentration plasmatique de PCSK9. * p<0,05 et ****p<0,0001, selon un test de Mann & Whitney. n = 8 - 10 souris par groupe.*

La valeur du temps de pause améliorée est augmentée au cours de la marche atopique indépendamment de l'inhibition de PCSK9 (PCSK9-mAb) (**Figure 39**).

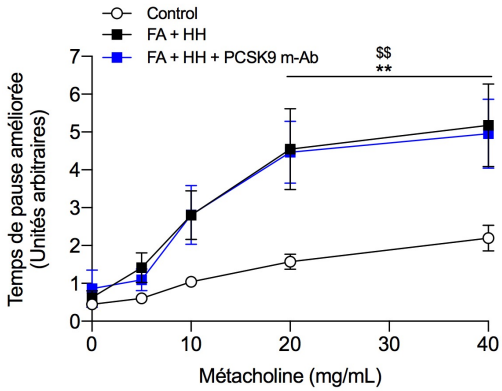


*Figure 39 : La valeur du temps de pause améliorée augmente au cours de la marche atopique. Mesure de la penH par pléthysmographie. $$ et **p<0,01 selon un ANOVA à deux facteurs. * entre le groupe contrôle et le groupe HH non traité. $ entre le groupe contrôle et HH traité avec l'anticorps anti-PCSK9. n = 8 - 10 souris par groupe.*

A la dernière dose de métacholine, la résistance pulmonaire des souris non traitées a significativement augmenté en comparaison aux souris qui ont reçu l'evolocumab (2,91 $cmH_2O.s/mL$ vs 1,95 $cmH_2O.s/mL$, *p* <0,01) (**Figure 40 A**). A cette même dose, l'élastance pulmonaire des souris non traitées est plus élevée en comparaison au groupe contrôle et asthmatique traité (**Figure 40 B**). La compliance a augmenté uniquement pour le groupe atteint de marche atopique non traité (**Figure 40 C**). L'inhibition de PCSK9 est susceptible d'empêcher l'altération de la fonction respiratoire aggravée par la marche atopique.

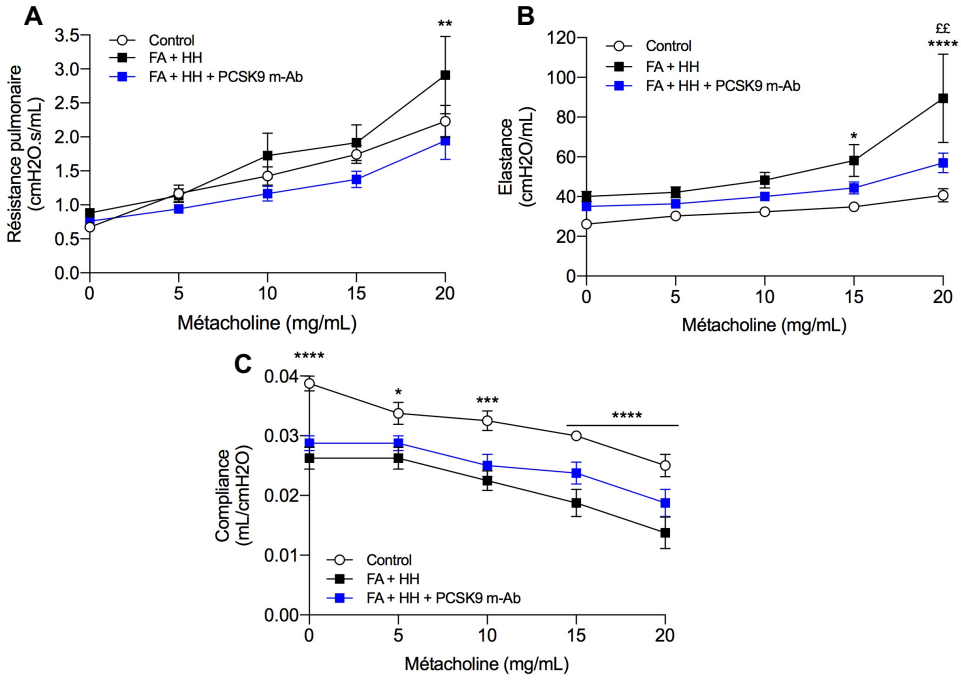


*Figure 40 : L'inhibition de PCSK9 empêche l'altération de la fonction aérienne profonde induite par la marche atopique. Mesure de la A) résistance, B) élastance et C) compliance pulmonaire par la technique des oscillations forcées. * p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001 et ****p<0,0001 entre les groupes contrôles et HH + FA non traités. ££p<0,01 entre les groupes HH + FA traités ou non. Selon un test ANOVA à deux facteurs. n = 8 - 10 souris par groupe.*

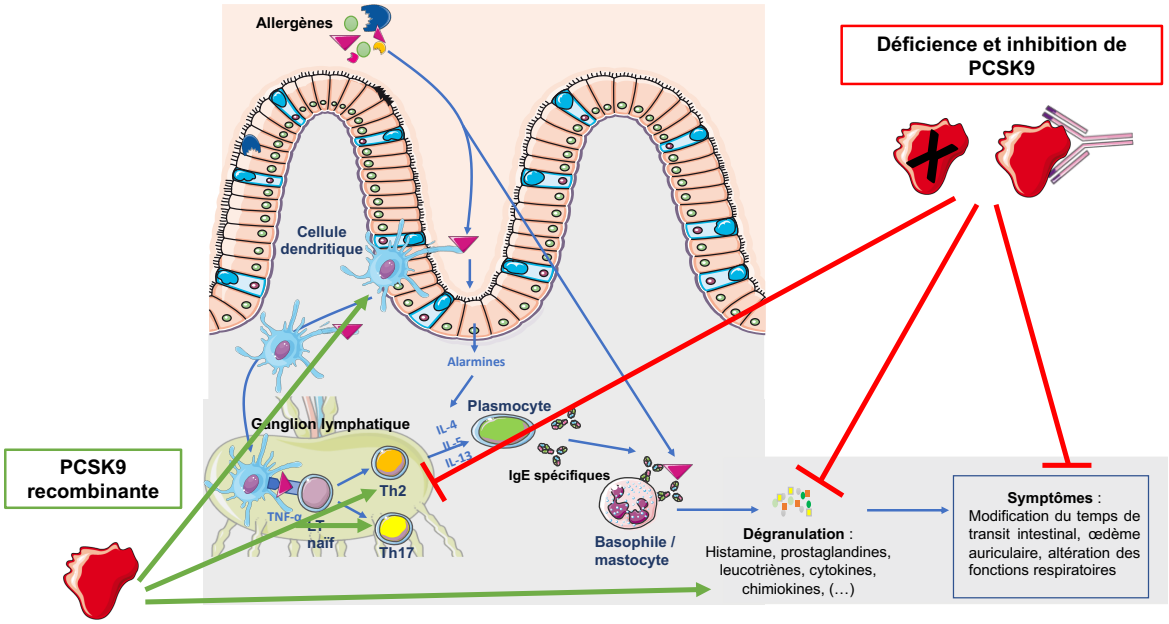


Figure 41 : Résumé de nos résultats.

IV- Discussion et perspectives

Au cours de notre étude, nous avons choisi de travailler sur un composant du gluten, la gliadine. Cela nous permet d'approcher l'alimentation de l'Homme puisque ce composé est amplement utilisé par l'industrie agroalimentaire (603). Il a été décrit que les formes désamidées du gluten sont incriminées dans l'allergie alimentaire et sont associées à une réaction sévère (604,605). Notre groupe a mis au point un modèle d'allergie à la gliadine désamidée chez la souris que nous avons repris au cours de cette étude (570). Celle-ci a été complétée d'un modèle d'asthme allergique à l'acarien qui est bien mis en place dans notre équipe (606). Ce modèle permet de mimer la situation chez l'Homme puisque la plupart des sujets atteints d'un asthme allergique sont plus facilement sensibilisés par voie cutanée que par voie nasale (607). De plus, l'acarien est l'allergène respiratoire le plus fréquent chez l'asthmatique (579). Le dernier modèle utilisé dans notre projet a été un modèle de marche atopique. Celui-ci mime ce processus car il prend en considération deux modèles complets d'allergie. Une fois de plus, nous nous approchons de la réalité puisque 50% des patients avec un asthme allergique ont eu une autre allergie dans leur enfance (608).

La souris de fond C57Bl6/J n'est pas le modèle le plus utilisé dans les études d'allergies (**cf chapitre 2, I 4**). De par leur immunité pro-Th1, les symptômes de l'allergie induits dans ce modèle sont plus modérés (495,588). La souris BALB/c est le modèle de référence dans l'étude de l'allergie puisque celle-ci présente un profil immunitaire pro-Th2 (588). Nous avons donc utilisé cette souche afin d'évaluer l'effet d'une inhibition de PCSK9 au cours de l'allergie. En revanche, les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ et *Ldlr*$^{-/-}$ sont disponibles uniquement sous fond C57Bl6/J. C'est pour cela que nous avons utilisé ces souches dans notre étude. Nous avons pu démontrer que les souris

C57Bl6/J et BALB/c développent les caractéristiques de l'allergie alimentaire et respiratoire. Nous avons retrouvé une augmentation du temps de transit intestinal, un œdème auriculaire, une altération des voies aériennes profondes et une inflammation de type Th2 et Th17. Nous avons utilisé un modèle robuste d'allergie alimentaire et respiratoire.

La modulation de la cholestérolémie peut être considérée comme un marqueur de l'allergie. Par exemple, l'injection d'histamine ou d'un composé permettant sa synthèse endogène réduit la cholestérolémie chez le rat (609). De plus, l'allergie alimentaire s'associe à une diminution de la cholestérolémie chez la souris (610). En 2016, Yamada et ses collègues précisent l'impact du récepteur 2 de l'histamine (H2) sur les paramètres lipidiques (611). Les souris *H2*$^{-/-}$ ont présentés une augmentation de leur cholestérolémie, de la concentration plasmatique de VLDL-c, de LDL-c, de HDL-c et de triglycérides (611). En 2022, il a été démontré que l'injection histamine ou d'un agoniste du récepteur H1 ou H2 chez le rat réduit la concentration plasmatique de cholestérol total et de LDL-c (612). Au cours de notre étude, nous n'avons pas obtenu un effet de l'allergie sur la cholestérolémie de façon systématique. Par exemple, la cholestérolémie des souris allergiques à la gliadine est restée inchangée sauf pour les souris BALB/c non traitées à l'evolocumab. Nous avons pu mettre en évidence que l'allergie respiratoire réduit la cholestérolémie chez la BALB/c mais pas chez la souris C57Bl6/J.

D'autres évidences étudiées chez l'Homme, suggèrent un lien entre l'allergie et le métabolisme du cholestérol. Il a été mentionné que les lipides pourraient être considérés comme des éléments prédictifs de l'allergie (613). La concentration plasmatique d'IgE et la cholestérolémie totale sont positivement corrélées chez l'enfant porteur d'une prédisposition atopique (578). De même, les niveaux circulants

d'IL-10 sont diminués chez les enfants présentant une dyslipidémie et une prédisposition atopique comparé à des enfants atteints de dyslipidémie (578). Les symptômes de la rhinite allergique seraient plus importants chez les individus atteint de dyslipidémie et leur concentration plasmatique en IgE et IL-17 est augmentée (614). Au-delà des études sur l'allergie, il a été démontré que le métabolisme lipidique est associé au système immunitaire. Ce métabolisme serait associé à l'induction du profil Th2 et Th17 (577). Il favorise la sécrétion de cytokines proinflammatoires telles que l'IL-6, l'IL-1, l'IL-4 et l'IL-17 (577). Le métabolisme lipidique est connu pour induire une sous-régulation de la synthèse d'IL-10 (615). Les possibles interactions entre l'allergie et la dyslipidémie nous ont alors mené à vérifier le rôle de PCSK9, une protéine impliquée dans le métabolisme du cholestérol et dans le processus inflammatoire. Il a été décrit que PCSK9 est impliquée dans la sécrétion de cytokines proinflammatoires par les macrophages (268), les DC (275) et les LT (279). Cette protéine participe à l'induction du profil proinflammatoire de ces mêmes cellules (272,275,279). Cela suggère que la présence de PCSK9 favorise la mise en place d'une réaction inflammatoire, qui est l'une des composantes majeures de l'allergie.

Afin de vérifier l'impact de PCSK9 dans l'allergie, nous avons utilisé des souris *Pcsk9*$^{-/-}$, et nous avons inhibé sa forme circulante avec des anticorps monoclonaux anti-PCSK9 dans un modèle sauvage (C57Bl6/J et BALB/c). Sous régime classique, la déficience et l'inhibition de PCSK9 réduisent la cholestérolémie des animaux (45). Dans notre étude, les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ et les souris traitées par alirocumab développent une baisse de la cholestérolémie en condition basale. Cependant, cet effet se trouve inhibé par l'allergie alimentaire où la cholestérolémie des animaux retrouve une valeur comparable à la situation contrôle. En revanche, dans notre

modèle d'asthme allergique, les souris *Pcsk9*$^{-/-}$ conservent leur hypocholestérolémie. On peut se demander si les effets observés dans notre étude sont dus à la PCSK9 elle-même ou à la modulation de la cholestérolémie. Dans notre étude, nous avons utilisé un modèle normocholestérolémique (BALB/c et C57BL6/J) et un modèle d'hypercholestérolémie (souris *Ldlr*$^{-/-}$). Ces deux souches développent les symptômes de l'allergie alimentaire de façon similaire. En effet, l'hypercholestérolémie n'a pas induit d'effets additifs sur la gravité des symptômes. De plus, nous avons obtenu des effets similaires en condition d'asthme allergique en utilisant un modèle hypocholestérolémique traité par anticorps anti-PCSK9. Indépendamment de la cholestérolémie, nous avons obtenu des effets similaires sur l'amélioration des symptômes de l'allergie alimentaire et respiratoire. Les effets observés ne seraient donc pas dus à la modulation de la cholestérolémie mais seraient liés à un effet de la PCSK9 elle-même.

De façon remarquable, nous avons mis en évidence que la déficience et l'inhibition de PCSK9 protègent les souris du développement des symptômes de l'allergie alimentaire et respiratoire. En effet, les animaux *Pcsk9*$^{-/-}$ et traités par anticorps anti-PCSK9 ne développent pas de modification de leur temps de transit intestinal, d'œdème auriculaire ou d'altération des voies aériennes profondes. Cependant, nous n'obtenons pas d'effet bénéfique sur la fonction aérienne proximale. Cette contradiction peut s'expliquer par la technique utilisée. En effet, nous avons mesuré la fonction respiratoire supérieure par pléthysmographie qui peut être influencée par différents paramètres (587). La technique des oscillations forcées n'est pas modulée par des paramètres extérieurs ou par l'animal lui-même et apporte des résultats plus fiables et plus précis que la pléthysmographie (573). Il aurait été intéressant de compléter notre étude par une analyse histologique du poumon qui aurait permis de

dénoter les dommages tissulaires et l'état inflammatoire du tissu induits par l'asthme allergique. L'allergie respiratoire se caractérise également par une hyperréactivité du tissu bronchique (580). Cela peut se mesurer *ex vivo* sur le tissu bronchique par des tests de provocation avec différentes doses de molécules bronchoconstrictrices telles que la métacholine.

PCSK9 s'exprime de façon importante dans le foie, les reins et l'intestin (1,131). L'allergie alimentaire se manifeste par des troubles intestinaux, nous nous sommes interrogés quant au rôle de la forme intestinale de PCSK9. Nous avons donc utilisé un modèle développé par notre équipe en 2020, qui présente une délétion spécifique de PCSK9 dans l'intestin (231). Nous avons pu mettre en évidence que la délétion intestinale de cette protéine ne protège pas les souris du développement des symptômes de l'allergie alimentaire. En outre, la forme intestinale de PCSK9 n'a pas d'effet dans le processus allergique. En revanche, l'inhibition de sa forme circulante par un anticorps anti-PCSK9 présente un effet antiallergique. Cela met en évidence le rôle de la forme circulante au cours du processus allergique.

Comme cela a pu être détaillé en introduction (**cf chapitre 1, I 4**), le rôle canonique de PCSK9 est d'induire la dégradation lysosomale du LDLR (24). L'allergie module également l'expression de ce récepteur. Par exemple, la délétion du récepteur H1 ou H2 chez la souris est associée à une diminution de l'expression hépatique du LDLR (611). Nous avons ainsi émis l'hypothèse que le mécanisme d'action de PCSK9 sur l'allergie pourrait être dépendant du LDLR. Nos résultats démontrent que les effets antiallergiques de l'alirocumab sont conservés chez la souris *Ldlr*$^{-/-}$. Cela indique que l'effet de PCSK9 dans l'allergie est indépendant du LDLR. Il serait intéressant de le confirmer dans un modèle d'asthme allergique.

De façon remarquable, des études ont évoqué l'impact du VLDLR et de LRP1, des récepteurs présentant une homologie forte avec le LDLR (**Chapitre 1, I 5**), au cours de l'allergie respiratoire. Les travaux de Fredriksson et ses collègues mettent en évidence que la délétion du VLDLR chez la souris asthmatique augmente l'inflammation pulmonaire avec une infiltration des LT et des éosinophiles (616). Dans ce modèle, la concentration plasmatique en IgE, IL-4, IL-5 et IL-13 était plus élevée. Plus récemment, le rôle de LRP1 a été soulevé dans l'asthme allergique avec l'observation faite que l'expression de ce récepteur diminue dans les DC issues de patients asthmatiques (617). Sa délétion spécifique dans les cellules $CD11c^+$ aggrave le phénotype de l'asthme allergique en augmentant notamment la production de cytokines de type Th2. De plus, ces souris présentent une inflammation pulmonaire de type éosinophilique plus importante (617). Ces études démontrent que l'absence du VLDLR ou de LRP1 chez la souris aggrave le phénotype associé à un asthme allergique. PCSK9 est associée à la dégradation de ces deux récepteurs (**cf chapitre 1, I 5**). Nos données suggèrent donc que PCSK9 a un effet au cours de l'asthme allergique. Il serait intéressant de vérifier si le mécanisme d'action potentiel de PCSK9 dans l'allergie serait lié à l'un de ces récepteurs. Nous pourrions vérifier la sévérité des symptômes induits par une allergie alimentaire ou respiratoire chez la souris *Vldlr*$^{-/-}$ ou *CD11c*$^+$ *LRP1*$^{-/-}$ traitées à l'alirocumab.

Au-delà de son rôle dans le métabolisme du cholestérol, il a été suggéré que PCSK9 impacte la réaction inflammatoire par un mécanisme indépendant du LDLR (**cf chapitre 1, I 5**). La délétion de PCSK9 altère le nombre de lymphocytes Th17 et la sécrétion d'IL-17 indépendamment du LDLR (279). Plus récemment, Katsuki et al. a pu mettre en évidence que la forme circulante de PCSK9 participe à l'activation de

macrophages pro-inflammatoires par une voie non dépendante du récepteur au LDL (272). Plusieurs cibles possibles de PCSK9 ont été évoquées, notamment la voie NF-κB, LOX-1 et le syndecan-4 (272). Nous avons pu démontrer que la déficience et que l'inhibition de PCSK9 affectent le nombre de lymphocytes Th17 *in vivo*. De plus, le nombre de lymphocytes Th2 et plasmocytes sécréteurs d'IgE sont impactés par la déficience et l'inhibition de cette protéine. On peut penser que PCSK9 module l'allergie en affectant 1) les DC (maturation, capacité de présentation de l'antigène, migration) ; 2) les LT (prolifération, polarisation, apoptose) et 3) le phénotype et la prolifération des LB.

Nos résultats révèlent que la PCSK9 exogène favorise la maturation des DC *in vitro*. Cependant, Liu et Frostegård ont démontré que la forme intracellulaire de PCSK9 module le phénotype et la fonction de ces cellules (275). Dans leur modèle, l'apport de PCSK9 exogène n'a pas contrebalancé les résultats obtenus par l'inhibition de PCSK9 par siRNA (275). Ces différences pourraient s'expliquer par le modèle utilisé. Nous avons manipulé des DC provenant de la moelle osseuse de souris alors que les auteurs ont différencié des cellules du sang périphérique humain. Il serait alors intéressant de réitérer notre expérience en utilisant un autre modèle cellulaire et de vérifier notre approche sur des cellules humaines. Nous pourrions mesurer le profil proinflammatoire ou tolérogène de notre modèle en mesurant l'expression et la sécrétion de cytokines. Il serait possible réaliser une co-culture avec des LT naïfs et mesurer leur polarisation par une analyse de leur phénotype (Th2, Th17, Treg, par exemple). Enfin, il serait intéressant de mesurer la capacité migratoire des DC. Par exemple, l'étude de Bernelot Moens et al. effectuée sur des monocytes, démontre que l'inhibition de PCSK9 réduit leur migration (265). Plus récemment, l'étude de Katsuki et al. indique que PCSK9 serait impliquée dans la migration des

macrophages (272). Le syndecan 4 a été évoqué comme une cible potentielle de PCSK9 par laquelle cette protéine modulerait la migration des macrophages (272). Dans le contexte de l'asthme, le syndecan-4 est exprimé sur les DC et est impliqué dans leur migration (618).

Nos résultats mettent en avant que PCSK9 influence la prolifération des LT. Ce résultat rejoint les constatations de Proto et al., qui met en évidence que la surexpression hépatique de PCSK9 participe à l'expansion des LT *in vivo* (280). En revanche, des mesures supplémentaires sont nécessaires afin de vérifier l'effet de PCSK9 sur la polarisation des LT, leur capacité de migration ou encore leur apoptose. Quelques données ont déjà été exploitées dans la littérature. Nous savons qu'une déficience en PCSK9 module la polarisation des Th17 (279). L'apport d'un siRNA anti-PCSK9 dans plusieurs lignées cellulaires induit un processus d'apoptose, mais il resterait à le démontré dans les LT (350,619,620).

Nous avons bénéficié de l'expertise de l'équipe du Dr. Sophie Brouard (UMR 1064 – CR2TI – Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie Translationnelle – Nantes) qui s'intéresse aux lymphocytes B. Leurs travaux ont mis en évidence que PCSK9 n'exerce aucun effet sur la prolifération ou le phénotype de ces cellules (**Figure 42**).

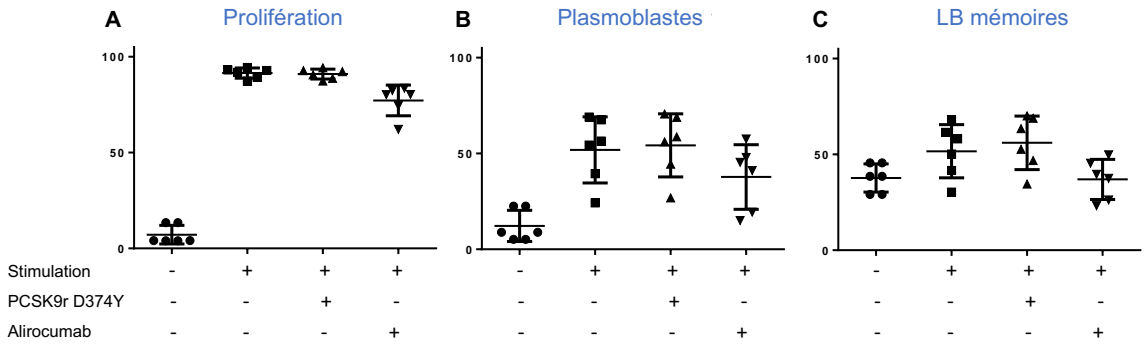


Figure 42: PCSK9 ne module pas le phénotype ou la prolifération des LB. Mesure de la A) prolifération des LB. Mesure du pourcentage de B) plasmoblastes et C) de LB mémoires. n = 6 par groupe.

Dans la littérature, il existe peu d'informations sur un lien éventuel entre PCSK9 et ces cellules. Néanmoins, deux études associent la dyslipidémie avec une augmentation des IgE plasmatiques (578,614). Cependant, les niveaux circulants de PCSK9 n'ont pas été mesurés dans ces études. Plus récemment, l'alirocumab n'a montré aucun effet sur les niveaux sanguins d'IgG, d'IgM et d'IgE après 8 semaines de traitement (266). A notre connaissance, aucune association n'a été vérifiée entre les variants de PCSK9 et les concentrations d'immunoglobulines. Or, l'allergie est une pathologie caractérisée par une élévation de la concentration en IgE. De façon intéressante, l'infection par des parasites tels que le parasite de la Malaria induit une réponse immunitaire de type Th2 et est considérée comme une pathologie à forte concentration d'IgE. Il s'avère que la prévalence de patients sujets à une infection sévère au parasite de la malaria est importante chez les individus porteurs d'une mutation gain de fonction pour PCSK9 (621). De plus, la mortalité associée à cette pathologie diminue chez les patients porteurs d'une mutation perte de fonction pour PCSK9 (622). PCSK9 serait donc associée à la sévérité d'une pathologie à IgE.

Les effets potentiels de PCSK9 sur les DC et les LT ne sont peut-être pas suffisants pour expliquer le bénéfice obtenu sur la survenue des symptômes de l'allergie. En effet, l'inhibition de PCSK9 réalisée uniquement au cours de la sensibilisation ne prévient pas le développement des symptômes de l'allergie alimentaire. Cependant, elle présente des effets antiallergiques lorsqu'elle s'effectue au moment du déclenchement. Lors de cette phase, les basophiles et mastocytes libèrent des molécules pro-inflammatoires qui vont induire les symptômes de l'allergie (**cf chapitre 2, I 3**). Ces résultats nous ont alors mené à vérifier l'effet de PCSK9 au cours de la dégranulation. Nous avons travaillé sur les RBL de type 2H3, un modèle de basophiles provenant du rat qui a été modifié pour exprimer le FcεR1 murin. Il

aurait été intéressant de compléter notre travail avec des mastocytes dérivés de la moelle osseuse ou dérivés de progéniteurs péritonéaux. Cependant, cela nécessite le sacrifice d'un trop grand nombre d'animaux pour obtenir un nombre suffisant de cellules. Nos résultats indiquent que la PCSK9 recombinante augmente la dégranulation des RBL et son inhibition présente l'effet inverse. Ce résultat serait en mesure d'expliquer nos observations effectuées *in vivo* mais soulève d'autres questions : de quelle manière PCSK9 influence-t-elle la dégranulation ? PCSK9 module-t-elle l'activation des basophiles ? Influence-t-elle leur migration ? Induit-elle leur apoptose ? Module-t-elle l'expression ou la dégradation du FcεR1 ?

Comme évoqué en amont, différentes études ont démontré que PCSK9 participe à la prolifération (280) et la migration (265,272) de plusieurs cellules immunitaires. De plus, elle influence l'apoptose de différentes lignées cellulaires (350,619,620). La fluvastatine induit l'apoptose de mastocytes murins et humains (623) et diminue la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (624). De façon intéressante, l'utilisation de statines chez l'Homme s'associe à l'amélioration des paramètres respiratoires et à la diminution des hospitalisations liées à l'asthme (625,626). L'activation des mastocytes se mesure *in vivo* par un test d'anaphylaxie passive. Il se base sur l'injection d'un allergène dans l'oreille de la souris sensibilisée au préalable (627). Cela est suivi d'une injection intraveineuse de bleu Evans. Ce colorant cible le contenu de dégranulation des mastocytes. Si l'injection de l'allergène induit la dégranulation des mastocytes, l'oreille de l'animal se colorera en bleu. Nous pourrions effectuer cette mesure chez la souris *Pcsk9*$^{+/+}$ et *Pcsk9*$^{-/-}$, mais également dans un modèle traité par alirocumab. Cette expérience nous apporterait des informations supplémentaires sur l'effet de PCSK9 dans l'activation et la dégranulation des mastocytes directement dans un modèle intégré. De façon

complémentaire, nous pourrions réaliser un test d'activation des basophiles. Pour ce faire, nous utiliserions du sérum de souris *Pcsk9*$^{+/+}$ et *Pcsk9*$^{-/-}$, mais également dans un modèle traité par alirocumab. Il serait également possible d'ajouter du sérum de souris sauvage supplémenté en alirocumab ou PCSK9 recombinante.

Si nous évoquons le rôle potentiel de PCSK9 sur trois cellules impliquées dans la physiopathologie de l'allergie, nous n'apportons pas de preuve sur le mécanisme d'action moléculaire de cette protéine au cours de l'allergie. Il serait alors nécessaire de vérifier la fonction de cette protéine sur les autres aspects évoqués dans la discussion (différenciation, migration, mort cellulaire, etc). Il serait également indispensable d'étudier les mécanismes moléculaires plus finement. Plusieurs possibilités ont été évoquées dans la littérature. Par exemple, PCSK9 est associée à l'expression de SOCS1, une protéine qui va conduire les DC à un profil tolérogène (275). PCSK9 est également associée à l'expression de Rorc, facteur de transcription permettant la différenciation des Th17 (279). Cette protéine s'associe aussi à l'expression de CD69, un marqueur d'activation des Treg (266). Toutes ces études ont pu mettre en évidence son association avec l'expression de ces différents facteurs mais n'ont pas démontré de quelle manière PCSK9 exercerait cet effet. Une fonction bien caractérisée de cette protéine est l'internalisation / la dégradation lysosomale de récepteurs. Cependant, nous ne savons pas si PCSK9 est capable de se fixer à ces récepteurs ou si elle pourrait moduler leur expression par une autre voie. Les mêmes interrogations peuvent se poser concernant l'expression de CCR2. En effet, l'inhibition de PCSK9 s'associe à une diminution de l'expression de ce récepteur aux chimiokines exprimé par les monocytes (265). Dans le contexte de l'allergie, il serait alors intéressant de mesurer l'expression de CCR9, récepteur aux chimiokines qui permet la migration intestinale des cellules immunitaires (628).

L'inhibition de PCSK9 pourrait aussi moduler l'expression du FcεRI sur les basophiles et les mastocytes ou l'expression des récepteurs à l'histamine.

En dehors de cette fonction, différentes études associent PCSK9 à des voies de signalisation, notamment la voie TLR4/NF-κB (**cf chapitre 1, III 3**). L'effet de PCSK9 dans la maturation des DC et/ou dans la prolifération des LT est-il lié à cette voie ?

Nos données démontrent que PCSK9 agit majoritairement au cours de la dégranulation mais le mode d'action reste inexploré. La signalisation des récepteurs FcεRI implique la phosphorylation de résidus tyrosine par des tyrosine kinases (629). Des études évoquent une association entre PCSK9 et la phosphorylation de certains acteurs de voies de signalisation. Par exemple, elle module la phosphorylation de IκBα, un acteur de la voie de signalisation NF-κB (293). Notre groupe a montré que la modulation de PCSK9 *in vitro* affecte la phosphorylation d'un acteur de la voie NODAL, une voie de l'embryogenèse (630). PCSK9 active également la voie de signalisation phosphatidylinositol 3 kinase / protein kinase B (PI3K/AKT) au cours du processus métastatique (357). Cette voie de signalisation participe à la survie des cellules tumorale, leur prolifération et migration (631). Enfin, PCSK9 module la phosphorylation de ERK1/2 dans la voie KRAS/MEK/ERK (358).

La dégranulation des mastocytes et des basophiles nécessite la translocation des granules vers la membrane plasmique et leur fusion (632). Il existe plusieurs médiateurs à ce mécanisme tels que des protéines solubles vont alors former un complexe appelé SNARE (N-ethylmamaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) qui sont présents sur les membranes à fusionner. Ce mécanisme comprend également une synaptotagmine. Les SNARE se composent de protéines telles que la syntaxine, la NSF (soluble N-ethylmaleimide sensitive factor) et la SNAP (soluble N-ethylmaleimide attachment protein) qui vont se lier à des protéines VAMP

(vesicle-associated membrane proteins) présentes sur la membrane vésiculaire (633). De façon intéressante, une étude démontre une association entre PCSK9 et VAMP2 et une protéine SNAP (247). Cependant, cette étude associe cet effet au LDLR dans le type cellulaire étudié (247).

Le système immunitaire, les barrières épithéliales et le microbiote sont les trois composantes de l'allergie. Lors de notre étude, nous nous sommes intéressés à l'effet de PCSK9 sur l'aspect immunitaire. Cependant, nous n'avons pas vérifié son rôle au sein des barrières épithéliales et du microbiote. Bien que PCSK9 soit exprimée au niveau de la peau et qu'elle soit impliquée dans des pathologies inflammatoires cutanées (**Chapitre 1, III 1**), à notre connaissance, cette protéine n'aurait pas d'effet sur l'intégrité de la barrière épithéliale. Il semblerait qu'aucune étude n'a vérifié le rôle de PCSK9 sur l'expression des protéines de jonctions entre les cellules épithéliales.

Nous pouvons également nous demander si PCSK9 est susceptible d'induire une dysbiose intestinale qui serait à l'origine d'une allergie alimentaire. Il a été démontré que différentes molécules et extraits végétaux (la berbérine, la naringine, la quercétine et le xiannaokang) améliorent la composition du microbiote et réduisent l'expression de PCSK9 (634-638). Il semblerait alors qu'un microbiote sain soit associé à une réduction de l'expression de cette PCSK9. On pourrait alors envisager qu'au cours d'une allergie, une dysbiose puisse s'installer et de ce fait, augmenter l'expression de PCSK9 et qu'elle puisse avoir des conséquences sur le système immunitaire. En outre, la question de l'effet direct de PCSK9 sur le microbiote demeure.

Le LPS, composant des bactéries gram négatives, induit l'expression de PCSK9 (260). Comme nous l'avons évoqué précédemment, PCSK9 module la voie

TLR4/NF-κB, récepteur reconnaissant le LPS. Plusieurs études associent le TLR4 à l'allergie. Par exemple, la déficience en TLR4 chez la souris augmente la réponse IgE et est associée à une sécrétion augmentée des cytokines de type Th2 (639). En revanche, les travaux publiés par Berin et al, ne retrouvent pas ces caractéristiques chez des souris *TLR4*$^{-/-}$ (640). En 2009, il a été décrit que le TLR4 était le récepteur principal qui va reconnaitre l'acarien et induire l'inflammation allergique (641). En effet, l'exposition à l'acarien augmente l'expression du TLR4 au niveau des cellules épithéliales (642). Cependant, il a été démontré que l'utilisation d'un probiotique à base de Lactobacillus Casei réduisait les symptômes de l'allergie alimentaire à la crevette en augmentant l'expression du TLR4 et la voie de signalisation NF-κB (643).

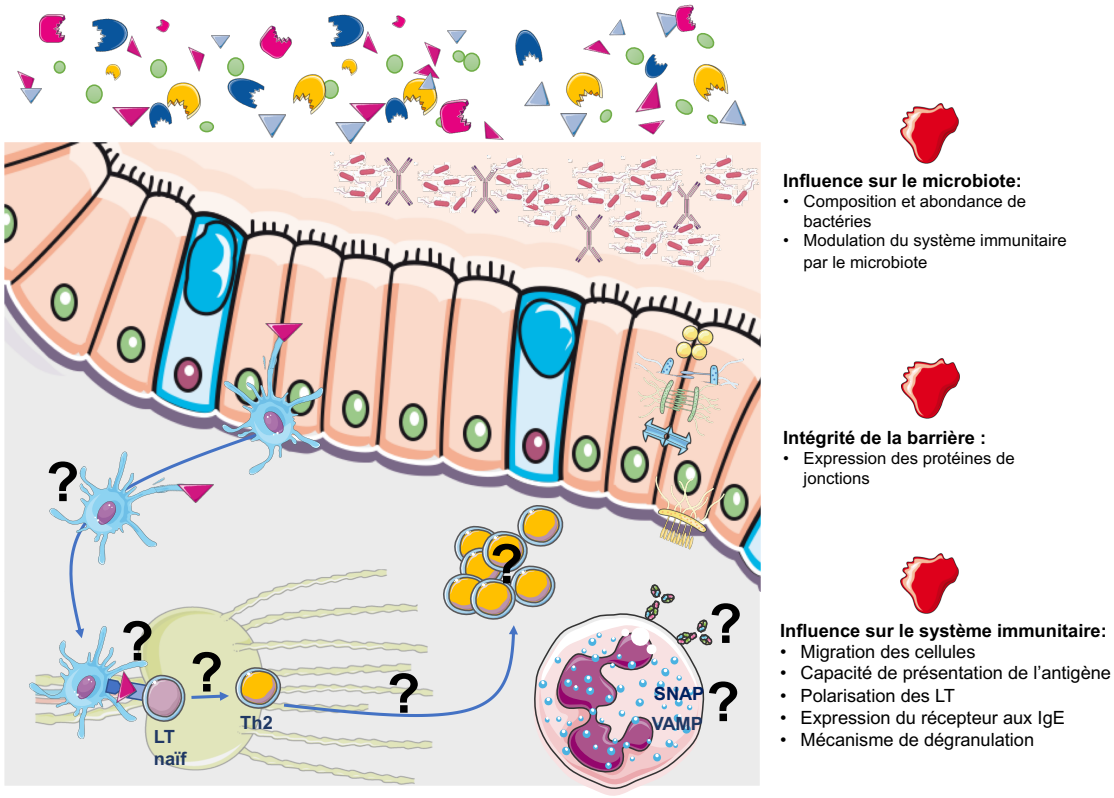


Figure 43: Résumé des mécanismes d'actions potentiels de PCSK9.

Tous les résultats obtenus au cours cette étude sont issus d'expérimentations effectuées chez la souris ou sur des cellules issues de modèles murins. Bien que la physiologie du rongeur approche celle de l'Homme, il est nécessaire de compléter

nos données par des mesures sur des modèles cellulaires humains ou directement chez l'Homme. Nous pourrions envisager la réalisation d'un test d'activation du basophile avec du sérum de patients allergiques supplémenté en alirocumab ou en PCSK9 recombinante. Nous envisageons également de réaliser plusieurs mesures chez l'Homme, notamment via un protocole d'étude chez le patient atteint d'une allergie alimentaire modérée avec le service d'allergologie du CHU de Nantes. Nous prévoyons d'analyser une thérapie par alirocumab en amont ou en aval d'un test de provocation orale à l'allergène. Cela nous permettra de déterminer si cette thérapie est efficace chez le patient et si elle peut s'utiliser de manière préventive ou curative. L'étude de l'efficacité de l'alirocumab pourrait également être effectuée au cours d'un test de provocation bronchique chez le patient asthmatique. Une crème contenant un siRNA dirigé contre PCSK9 a été testée chez la souris atteinte de psoriasis et démontre des effets bénéfiques (283). Cette thérapie pourrait s'envisager dans le traitement de la dermatite atopique. Il serait d'abord intéressant le vérifier *in vivo* avant de le tester chez le patient. Étant donné que la thérapie anti-PCSK9 peut apporter des effets additifs sur une thérapie de référence, il serait envisageable de la combiner à une thérapie antiallergique ou à une stratégie de désensibilisation. Un point discutable de notre étude est que nous n'avons pas comparé notre traitement à une thérapie antiallergique de référence comme des corticoïdes. Cette comparaison pourra alors s'effectuer lors de l'étude clinique que nous souhaitons mettre en place.

A notre connaissance, aucune étude n'a vérifié si la prévalence de l'allergie est augmentée chez les individus porteurs de mutation gain de fonction pour PCSK9 ou à l'inverse, diminuée chez les sujets ayant une mutation perte de fonction. Nous pourrions bénéficier des cohortes de patients atteints de ces mutations (HYPOCHOL et REFERCHOL) que le Pr. Bertrand Cariou a mis en place. Nous pourrions mettre

en place un questionnaire afin de mesurer la prévalence de l'allergie dans ces cohortes. Il serait également intéressant de vérifier la prévalence de l'allergie chez des patients traités par alirocumab ou evolocumab. Dans le cas où des patients déclarent en être atteints, il serait envisageable de mesurer si la thérapie anti-PCSK9 prévient la fréquence et la gravité des symptômes ainsi que les arrêts de travail ou les hospitalisations associés à cette pathologie. A notre connaissance, aucune étude de phase III menée sur l'alirocumab ou l'evolocumab n'a évoqué la survenue de l'allergie comme effet indésirable. Il est néanmoins nécessaire de mentionner un rapport de cas faisant état d'un patient qui a développé des éruptions cutanées proches d'une dermatite atopique après injection d'évolocumab (644). Selon ce rapport de cas, ce patient présentait un prick test positif pour trois allergènes aéroportés ainsi qu'une augmentation des niveaux sanguins d'IgE (644).

V- Conclusion

L'allergie est la quatrième maladie mondiale dont la prévalence ne va cesser d'augmenter et impactera une personne sur deux dans 25 ans. Elle a un fort impact sur la qualité de vie des patients. Bien que les moyens de prévention et les thérapies proposées améliorent les symptômes et réduisent la fréquence des crises, des recherches sont encore nécessaires du fait de la résistance de certains patients à ces stratégies thérapeutiques. Dans ce but, nous avons vérifié l'effet de l'absence et de l'inhibition de PCSK9 dans l'allergie alimentaire et respiratoire chez la souris.

Nous avons pu mettre en évidence que son absence d'expression ou que son inhibition par une thérapie à base d'anticorps monoclonaux améliore les symptômes de l'allergie alimentaire et respiratoire chez la souris. Cela fait donc de PCSK9 une cible thérapeutique intéressante dans le traitement de l'allergie. L'avantage de notre étude est qu'elle se base sur un outil pharmacologique déjà disponible sur le marché, qui démontre une forte efficacité dans le contexte de l'hypercholestérolémie et peu d'effets secondaires.

Il est alors crucial de vérifier son efficacité chez le patient allergique mais également d'élargir nos recherches sur la compréhension du mécanisme d'action de PCSK9 dans le contexte de cette pathologie. Notre étude démontre que la PCSK9 circulante influence l'allergie d'une façon indépendante du LDLR. Il est nécessaire de comprendre par quelle cible PCSK9 impacte l'allergie. Bien que cette protéine présente un effet sur les lymphocytes T et les cellules dendritiques, nous n'avons pas caractérisé l'impact de PCSK9 sur les autres fonctions de ces cellules, ni étudié son mécanisme d'action. Nous pensons que l'effet majeur de PCSK9 au cours de l'allergie impacte le mastocyte ou le basophile. A notre connaissance, notre étude est la première qui démontre un effet de PCSK9 au cours de la dégranulation de ces

cellules. En revanche, il est nécessaire de vérifier le mécanisme d'action de PCSK9 dans cette fonction. Dans ce but, quelques hypothèses ont été émises et doivent être mesurées.

En conclusion, ce travail a permis d'ouvrir un nouvel axe de recherche dans la prévention ou le traitement de l'allergie mais également de caractériser une nouvelle fonction extra-hépatique de PCSK9. En outre, la forme circulante de PCSK9 influence l'allergie alimentaire et respiratoire d'une façon indépendante de son rôle sur le récepteur au LDL-c.

Annexe 1

Tableau III : Tableau des mix utilisés pour l'analyse en cytométrie de flux

	Mix Th1 et Th2	Mix Th17 et Treg	Mix LB	Mix DC
Mix extracellulaire	CD3-APC-H7 CD4-Pe-Cy7 CD8-PerCP5.5	CD3-APC-H7 CD4-Pe-Cy7 CD8-PerCP5.5 CD25-BV510	CD9-APC CD19-PerCP5.5 IgE-BV510 IgD-FITC	F4/80-AF 647 CD11b-BB700 CD11c-BUV395 CMHII-Pe-Cy7 CD40-BV421 CD80-BUV737 CD86-Pe CD8-APC-H7
Mix intracellulaire	Gata3-BV421 T-bet-BV605 INFγ-Pe IL4-APC	FoxP3-APC IL-10-Pe RORγT-BV421 IL-17-BV650	IL-10-Pe	

Références bibliographiques

1. Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, Marcinkiewicz J, Jasmin SB, Stifani S, et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. Proc Natl Acad Sci USA. 4 févr 2003;100(3):928-33.

2. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. Nat Genet. juin 2003;34(2):154-6.

3. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. Eur Heart J [Internet]. 1 déc 2013 [cité 23 févr 2023];34(45):3478-90. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3844152/

4. Sturm A, Knowles J, Gidding S, Ahmad Z, Ahmed C, Ballantyne C, et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia: JACC Scientific Expert Panel. Journal of the American College of Cardiology [Internet]. 8 juill 2018 [cité 22 févr 2023];72(6). Disponible sur: http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30071997/

5. Beheshti SO, Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Worldwide Prevalence of Familial Hypercholesterolemia: Meta-Analyses of 11 Million Subjects. J Am Coll Cardiol. 26 mai 2020;75(20):2553-66.

6. Vallejo-Vaz AJ, Ray KK. Epidemiology of familial hypercholesterolaemia: Community and clinical. Atherosclerosis. oct 2018;277:289-97.

7. Myers KD, Knowles JW, Staszak D, Shapiro MD, Howard W, Yadava M, et al. Precision screening for familial hypercholesterolaemia: a machine learning study applied to electronic health encounter data. The Lancet Digital Health [Internet]. 1 déc 2019 [cité 8 août 2023];1(8):e393-402. Disponible sur: https://www.thelancet.com/journals/landig/article/PIIS2589-7500(19)30150-5/fulltext

8. Hopkins PN, Toth PP, Ballantyne CM, Rader DJ, National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. Familial hypercholesterolemias: prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. J Clin Lipidol. juin 2011;5(3 Suppl):S9-17.

9. McGowan MP, Hosseini Dehkordi SH, Moriarty PM, Duell PB. Diagnosis and Treatment of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. J Am Heart Assoc [Internet]. 16 déc 2019 [cité 23 févr 2023];8(24):e013225. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6951065/

10. Singh S, Kullo IJ, Pardi DS, Loftus EV. Epidemiology, risk factors and management of cardiovascular diseases in IBD. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. janv 2015;12(1):26-35.

11. Al-Rasadi K, Al-Waili K, Al-Sabti HA, Al-Hinai A, Al-Hashmi K, Al-Zakwani I, et al. Criteria for Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia: A Comprehensive Analysis of the Different Guidelines, Appraising their Suitability in the Omani Arab Population. Oman Med J [Internet]. mars 2014 [cité 8 août 2023];29(2):85-91. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3976735/

12. Benito-Vicente A, Uribe KB, Jebari S, Galicia-Garcia U, Ostolaza H, Martin C. Familial Hypercholesterolemia: The Most Frequent Cholesterol Metabolism Disorder Caused Disease. International Journal of Molecular Sciences [Internet]. nov 2018 [cité 9 août 2023];19(11):3426. Disponible sur: https://www.mdpi.com/1422-0067/19/11/3426

13. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Uribe KB, Jebari S, Larrea-Sebal A, Alonso-Estrada R, et al. Mutation type classification and pathogenicity assignment of sixteen missense variants located in the EGF-precursor homology domain of the LDLR. Sci Rep [Internet]. 3 févr 2020 [cité 9 août 2023];10(1):1727. Disponible sur: http://www.nature.com/articles/s41598-020-58734-9

14. Anderson RG, Brown MS, Goldstein JL. Role of the coated endocytic vesicle in the uptake of receptor-bound low density lipoprotein in human fibroblasts. Cell. mars 1977;10(3):351-64.

15. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. J Clin Invest [Internet]. 15 juin 2003 [cité 23 févr 2023];111(12):1795-803. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC161432/

16. Alves AC, Etxebarria A, Soutar AK, Martin C, Bourbon M. Novel functional APOB mutations outside LDL-binding region causing familial hypercholesterolaemia. Human Molecular Genetics [Internet]. 1 avr 2014 [cité 9 août 2023];23(7):1817-28. Disponible sur: https://doi.org/10.1093/hmg/ddt573

17. Henderson BG, Wenham PR, Ashby JP, Blundell G. Detecting familial defective apolipoprotein B-100: three molecular scanning methods compared. Clin Chem. sept 1997;43(9):1630-4.

18. Chatterton JE, Schlapfer P, Bütler E, Gutierrez MM, Puppione DL, Pullinger CR, et al. Identification of apolipoprotein B100 polymorphisms that affect low-density lipoprotein metabolism: description of a new approach involving monoclonal antibodies and dynamic light scattering. Biochemistry. 25 juill 1995;34(29):9571-80.

19. Alves AC, Benito-Vicente A, Medeiros AM, Reeves K, Martin C, Bourbon M. Further evidence of novel APOB mutations as a cause of familial hypercholesterolaemia. Atherosclerosis. oct 2018;277:448-56.

20. Dron JS, Hegele RA. Complexity of mechanisms among human proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 variants. Curr Opin Lipidol. avr 2017;28(2):161-9.

21. Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. Trends Biochem Sci [Internet]. févr 2007 [cité 2 avr 2020];32(2):71-7. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2711871/

22. Uribe KB, Chemello K, Larrea-Sebal A, Benito-Vicente A, Galicia-Garcia U, Bourane S, et al. A Systematic Approach to Assess the Activity and Classification of PCSK9 Variants. Int J Mol Sci [Internet]. 18 déc 2021 [cité 27 sept 2023];22(24):13602. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8706470/

23. Benjannet S, Rhainds D, Essalmani R, Mayne J, Wickham L, Jin W, et al. NARC-1/PCSK9 and its natural mutants: zymogen cleavage and effects on the low density lipoprotein (LDL) receptor and LDL cholesterol. J Biol Chem. 19 nov 2004;279(47):48865-75.

24. Lagace TA. PCSK9 and LDLR degradation: regulatory mechanisms in circulation and in cells. Curr Opin Lipidol. oct 2014;25(5):387-93.

25. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). European Heart Journal [Internet]. 1 janv 2020 [cité 9 août 2023];41(1):111-88. Disponible sur: https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455

26. Bansal AB, Cassagnol M. HMG-CoA Reductase Inhibitors. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cité 23 févr 2023]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542212/

27. Wadhera RK, Steen DL, Khan I, Giugliano RP, Foody JM. A review of low-density lipoprotein cholesterol, treatment strategies, and its impact on cardiovascular disease morbidity and mortality. Journal of Clinical Lipidology [Internet]. 1 mai 2016 [cité 9 août 2023];10(3):472-89. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1933287415004493

28. Enas EA, Kuruvila A, Khanna P, Pitchumoni CS, Mohan V. Benefits & risks of statin therapy for primary prevention of cardiovascular disease in Asian Indians – A population with the highest risk of premature coronary artery disease & diabetes. Indian J Med Res [Internet]. oct 2013 [cité 23 févr 2023];138(4):461-91. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3868060/

29. Harada-Shiba M, Arai H, Ohmura H, Okazaki H, Sugiyama D, Tada H, et al. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Adult Familial Hypercholesterolemia 2022. J Atheroscler Thromb [Internet]. 1 mai 2023 [cité 9 août 2023];30(5):558-86. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10164595/

30. Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay JI, Blonde L, Bloomgarden ZT, Bush MA, et al. CONSENSUS STATEMENT BY THE AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS AND AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY ON THE COMPREHENSIVE TYPE 2 DIABETES MANAGEMENT ALGORITHM - 2019 EXECUTIVE SUMMARY. Endocr Pract. janv 2019;25(1):69-100.

31. Sugizaki T, Watanabe M, Horai Y, Kaneko-Iwasaki N, Arita E, Miyazaki T, et al. The Niemann-Pick C1 like 1 (NPC1L1) inhibitor ezetimibe improves metabolic disease via decreased liver X receptor (LXR) activity in liver of obese male mice. Endocrinology. août 2014;155(8):2810-9.

32. Hu M, Yang F, Huang Y, You X, Liu D, Sun S, et al. Structural insights into the mechanism of human NPC1L1-mediated cholesterol uptake. Sci Adv [Internet]. 16 juill 2021 [cité 9 août 2023];7(29):eabg3188. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8284890/

33. Bays HE, Moore PB, Drehobl MA, Rosenblatt S, Toth PD, Dujovne CA, et al. Effectiveness and tolerability of ezetimibe in patients with primary hypercholesterolemia: pooled analysis of two phase II studies. Clin Ther. août 2001;23(8):1209-30.

34. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. N Engl J Med. 18 juin 2015;372(25):2387-97.

35. Abifadel M, Elbitar S, El Khoury P, Ghaleb Y, Chémaly M, Moussalli ML, et al. Living the PCSK9 Adventure: from the Identification of a New Gene in Familial Hypercholesterolemia Towards a Potential New Class of Anticholesterol Drugs. Curr Atheroscler Rep [Internet]. 1 sept 2014 [cité 14 avr 2023];16(9):1-23. Disponible sur: http://link.springer.com/article/10.1007/s11883-014-0439-8

36. Cunningham D, Danley DE, Geoghegan KF, Griffor MC, Hawkins JL, Subashi TA, et al. Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia. Nat Struct Mol Biol. mai 2007;14(5):413-9.

37. Piper DE, Jackson S, Liu Q, Romanow WG, Shetterly S, Thibault ST, et al. The Crystal Structure of PCSK9: A Regulator of Plasma LDL-Cholesterol. Structure [Internet]. 16 mai 2007 [cité 28 mai 2020];15(5):545-52. Disponible sur: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969212607001463

38. Seidah NG. PCSK9 | Circulation Research. 2014 [cité 31 janv 2023];114(6):1022-36. Disponible sur: https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCRESAHA.114.301621

39. Luna Saavedra YG, Zhang J, Seidah NG. PCSK9 Prosegment Chimera as Novel Inhibitors of LDLR Degradation. PLoS One [Internet]. 12 août 2013 [cité 23 févr 2023];8(8):e72113. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3741231/

40. Luna Saavedra YG, Day R, Seidah NG. The M2 Module of the Cys-His-rich Domain (CHRD) of PCSK9 Protein Is Needed for the Extracellular Low-density Lipoprotein Receptor (LDLR) Degradation Pathway. J Biol Chem [Internet]. 21 déc 2012 [cité 10 août 2023];287(52):43492-501. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3527936/

41. Xia X dan, Peng Z sheng, Gu H mei, Wang M, Wang G qing, Zhang D wei. Regulation of PCSK9 Expression and Function: Mechanisms and Therapeutic Implications. Front Cardiovasc Med [Internet]. 15 oct 2021 [cité 10 août 2023];8:764038. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8589637/

42. Ferri N, Tibolla G, Pirillo A, Cipollone F, Mezzetti A, Pacia S, et al. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) secreted by cultured smooth muscle cells reduces macrophages LDLR levels. Atherosclerosis [Internet]. 1 févr 2012 [cité 9 mars 2023];220(2):381-6. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915011010975

43. Perrot N, Valerio V, Moschetta D, Boekholdt SM, Dina C, Chen HY, et al. Genetic and In Vitro Inhibition of PCSK9 and Calcific Aortic Valve Stenosis. JACC: Basic to Translational Science [Internet]. juill 2020 [cité 10 août 2023];5(7):649-61. Disponible sur: https://www.jacc.org/doi/10.1016/j.jacbts.2020.05.004

44. Ramin-Mangata S, Wargny M, Pichelin M, Le May C, Thédrez A, Blanchard V, et al. Circulating PCSK9 levels are not associated with the conversion to type 2 diabetes. Atherosclerosis [Internet]. 2020 [cité 7 mars 2023];49-56. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/31835041/

45. Rashid S, Curtis DE, Garuti R, Anderson NN, Bashmakov Y, Ho YK, et al. Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking Pcsk9. Proceedings of the National Academy of Sciences [Internet]. 12 avr 2005 [cité 5 juin 2019];102(15):5374-9. Disponible sur: http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0501652102

46. Lagace TA, Curtis DE, Garuti R, McNutt MC, Park SW, Prather HB, et al. Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and inlivers of parabiotic mice. J Clin Invest [Internet]. 1 nov 2006

[cité 28 mai 2020];116(11):2995-3005. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1626117/

47. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R, Zhao Z, McDonald M, Horton JD, et al. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. J Biol Chem. 22 juin 2007;282(25):18602-12.

48. Lagace T, Curtis DE, Garuti R, McNutt M, Park S. Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice. - PubMed - NCBI [Internet]. 2006 [cité 15 juin 2019]. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17080197

49. Homer VM, Marais AD, Charlton F, Laurie AD, Hurndell N, Scott R, et al. Identification and characterization of two non-secreted PCSK9 mutants associated with familial hypercholesterolemia in cohorts from New Zealand and South Africa. Atherosclerosis [Internet]. 1 févr 2008 [cité 26 sept 2023];196(2):659-66. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915007004601

50. Maxwell KN, Fisher EA, Breslow JL. Overexpression of PCSK9 accelerates the degradation of the LDLR in a post-endoplasmic reticulum compartment. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 8 févr 2005 [cité 26 sept 2023];102(6):2069-74. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC546019/

51. Go GW, Mani A. Low-density lipoprotein receptor (LDLR) family orchestrates cholesterol homeostasis. Yale J Biol Med. mars 2012;85(1):19-28.

52. Goldstein JL, Brown MS. Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts. Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. J Biol Chem. 25 août 1974;249(16):5153-62.

53. Anderson RG, Goldstein JL, Brown MS. Localization of low density lipoprotein receptors on plasma membrane of normal human fibroblasts and their absence in cells from a familial hypercholesterolemia homozygote. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. juill 1976 [cité 23 févr 2023];73(7):2434-8. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC430596/

54. Poirier S, Mayer G, Poupon V, McPherson PS, Desjardins R, Ly K, et al. Dissection of the endogenous cellular pathways of PCSK9-induced low density lipoprotein receptor degradation: evidence for an intracellular route. J Biol Chem. 16 oct 2009;284(42):28856-64.

55. Roubtsova A, Munkonda MN, Awan Z, Marcinkiewicz J, Chamberland A, Lazure C, et al. Circulating proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) regulates VLDLR protein and triglyceride accumulation in visceral adipose tissue. Arterioscler Thromb Vasc Biol. avr 2011;31(4):785-91.

56. Roubtsova A, Chamberland A, Marcinkiewicz J, Essalmani R, Fazel A, Bergeron JJ, et al. PCSK9 deficiency unmasks a sex- and tissue-specific subcellular distribution of the LDL and VLDL receptors in mice. J Lipid Res. nov 2015;56(11):2133-42.

57. Canuel M, Sun X, Asselin MC, Paramithiotis E, Prat A, Seidah NG. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Can Mediate Degradation of the Low Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 1 (LRP-1). PLoS One [Internet]. 13 mai 2013 [cité 22 févr 2023];8(5):e64145. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3652815/

58. Ferri N, Marchianò S, Tibolla G, Baetta R, Dhyani A, Ruscica M, et al. PCSK9 knock-out mice are protected from neointimal formation in response to perivascular carotid collar placement. Atherosclerosis [Internet]. 1 oct 2016 [cité 8 mars 2023];253:214-24. Disponible sur: https://www.atherosclerosis-journal.com/article/S0021-9150(16)31210-2/fulltext

59. Silverstein RL, Febbraio M. CD36, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior. Sci Signal. 26 mai 2009;2(72):re3.

60. Hsieh J, Longuet C, Maida A, Bahrami J, Xu E, Baker CL, et al. Glucagon-like peptide-2 increases intestinal lipid absorption and chylomicron production via CD36. Gastroenterology. sept 2009;137(3):997-1005, 1005.e1-4.

61. Levy E, Ouadda ABD, Spahis S, Sane AT, Garofalo C, Grenier É, et al. PCSK9 plays a significant role in cholesterol homeostasis and lipid transport in intestinal epithelial cells. Atherosclerosis [Internet]. 1 avr 2013 [cité 3 mars 2023];227(2):297-306. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915013000592

62. Demers A, Samami S, Lauzier B, Des Rosiers C, Ngo Sock ET, Ong H, et al. PCSK9 Induces CD36 Degradation and Affects Long-Chain Fatty Acid Uptake and Triglyceride Metabolism in Adipocytes and in Mouse Liver. Arterioscler Thromb Vasc Biol. déc 2015;35(12):2517-25.

63. Labonté P, Begley S, Guévin C, Asselin MC, Nassoury N, Mayer G, et al. PCSK9 impedes hepatitis C virus infection in vitro and modulates liver CD81 expression. Hepatology. juill 2009;50(1):17-24.

64. Ramanathan A, Gusarova V, Stahl N, Gurnett-Bander A, Kyratsous C. Alirocumab, a Therapeutic Human Antibody to PCSK9, Does Not Affect CD81 Levels or Hepatitis C Virus Entry and Replication into Hepatocytes. PLOS ONE [Internet]. 2016 [cité 23 févr 2023]; Disponible sur: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0154498

65. Hutton M, Pérez-Tur J, Hardy J. Genetics of Alzheimer's disease. Essays Biochem. 1998;33:117-31.

66. Jonas MC, Costantini C, Puglielli L. PCSK9 is required for the disposal of non-acetylated intermediates of the nascent membrane protein BACE1. EMBO Rep [Internet]. sept 2008 [cité 6 mai 2020];9(9):916-22. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2529349/

67. Liu M, Wu G, Baysarowich J, Kavana M, Addona GH, Bierilo KK, et al. PCSK9 is not involved in the degradation of LDL receptors and BACE1 in the adult mouse brain. J Lipid Res [Internet]. 1 sept 2010 [cité 23 févr 2023];51(9):2611-8. Disponible sur: https://europepmc.org/articles/PMC2918444

68. DeVay RM, Shelton DL, Liang H. Characterization of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) trafficking reveals a novel lysosomal targeting mechanism via amyloid precursor-like protein 2 (APLP2). J Biol Chem. 12 avr 2013;288(15):10805-18.

69. Guedeney P, Giustino G, Sorrentino S, Claessen BE, Camaj A, Kalkman DN, et al. Efficacy and safety of alirocumab and evolocumab: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. European Heart Journal [Internet]. 14 févr 2022 [cité 28 mars 2023];43(7):e17-25. Disponible sur: https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz430

70. Robinson J, Farnier M, Krempf M, Bergeron J, Luc G, Averna M, et al. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events - N Engl J Med. 2015 [cité 21 févr 2023];1489-99. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/25773378/

71. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech A, Honarpour N, Wiviott S, Murphy S, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease | NEJM. 2017 [cité 22 févr 2023];1713-22. Disponible sur: https://www-nejm-org.proxy.insermbiblio.inist.fr/doi/10.1056/NEJMoa1615664?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200www.ncbi.nlm.nih.gov

72. Snyder PM. Minireview: regulation of epithelial Na+ channel trafficking. Endocrinology. déc 2005;146(12):5079-85.

73. Knight KK, Olson DR, Zhou R, Snyder PM. Liddle's syndrome mutations increase Na+ transport through dual effects on epithelial Na+ channel surface expression and proteolytic cleavage. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 21 févr 2006 [cité 22 févr 2023];103(8):2805-8. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1413842/

74. Lifton RP. Molecular genetics of human blood pressure variation. Science. 3 mai 1996;272(5262):676-80.

75. Sharotri V, Collier DM, Olson DR, Zhou R, Snyder PM. Regulation of Epithelial Sodium Channel Trafficking by Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9). J Biol Chem [Internet]. 6 janv 2012 [cité 6 mai 2020];287(23):19266-74. Disponible sur: http://www.jbc.org/content/287/23/19266

76. Berger JM, Vaillant N, Le May C, Calderon C, Brégeon J, Prieur X, et al. PCSK9-deficiency does not alter blood pressure and sodium balance in mouse models of hypertension. Atherosclerosis [Internet]. 1 mars 2015 [cité 2 mars 2023];239(1):252-9. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915015000465

77. Schmidt AF, Carter JPL, Pearce LS, Wilkins JT, Overington JP, Hingorani AD, et al. PCSK9 monoclonal antibodies for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 20 oct 2020 [cité 27 sept 2023];2020(10):CD011748. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8094613/

78. Schremmer J, Busch L, Baasen S, Heinen Y, Sansone R, Heiss C, et al. Chronic PCSK9 inhibitor therapy leads to sustained improvements in endothelial function, arterial stiffness, and microvascular function. Microvasc Res. juill 2023;148:104513.

79. Hewitt EW. The MHC class I antigen presentation pathway: strategies for viral immune evasion. Immunology. oct 2003;110(2):163-9.

80. Liu X, Bao X, Hu M, Chang H, Jiao M, Cheng J, et al. Inhibition of PCSK9 potentiates immune checkpoint therapy for cancer. Nature. déc 2020;588(7839):693-8.

81. Delneste Y, Beauvillain C, Jeannin P. [Innate immunity: structure and function of TLRs]. Med Sci (Paris). janv 2007;23(1):67-73.

82. Tang ZH, Peng J, Ren Z, Yang J, Li TT, Li TH, et al. New role of PCSK9 in atherosclerotic inflammation promotion involving the TLR4/NF-κB pathway. Atherosclerosis [Internet]. 1 juill 2017 [cité 31 janv 2023];262:113-22. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915017301879

83. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. N Engl J Med. 23 mars 2006;354(12):1264-72.

84. Chernogubova E, Strawbridge R, Mahdessian H, Mälarstig A, Krapivner S, Gigante B, et al. Common and Low-Frequency Genetic Variants in the PCSK9 Locus Influence Circulating PCSK9 Levels. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology [Internet]. juin 2012 [cité 27 sept 2023];32(6):1526-34. Disponible sur: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/atvbaha.111.240549

85. Lakoski SG, Lagace TA, Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Genetic and Metabolic Determinants of Plasma PCSK9 Levels. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. juill 2009 [cité 27 sept 2023];94(7):2537-43. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2708952/

86. Chan JCY, Piper DE, Cao Q, Liu D, King C, Wang W, et al. A proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 neutralizing antibody reduces serum cholesterol in mice and nonhuman primates. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 16 juin 2009 [cité 22 févr 2023];106(24):9820-5. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2682542/

87. Ridker PM, Revkin J, Amarenco P, Brunell R, Curto M, Civeira F, et al. Cardiovascular Efficacy and Safety of Bococizumab in High-Risk Patients. N Engl J Med. 20 avr 2017;376(16):1527-39.

88. Ridker PM, Tardif JC, Amarenco P, Duggan W, Glynn RJ, Jukema JW, et al. Lipid-Reduction Variability and Antidrug-Antibody Formation with Bococizumab. N Engl J Med [Internet]. 20 avr 2017 [cité 12 août 2023];376(16):1517-26. Disponible sur: http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1614062

89. Adams B. Biotech. 2016 [cité 12 août 2023]. Pfizer dumps PCSK9 inhibitor bococizumab after finding « no value » in drug. Disponible sur: https://www.fiercebiotech.com/biotech/pfizer-dumps-pcsk9i-inhibitor-bococizumab-after-finding-no-value-med

90. Hopkins PN, Defesche J, Fouchier SW, Bruckert E, Luc G, Cariou B, et al. Characterization of Autosomal Dominant Hypercholesterolemia Caused by PCSK9 Gain of Function Mutations and Its Specific Treatment With Alirocumab, a PCSK9 Monoclonal Antibody. Circ Cardiovasc Genet [Internet]. déc 2015 [cité 27 sept 2023];8(6):823-31. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5098466/

91. Dias C, Shaywitz A, Wasserman S, Smith B, Gao B, Stolman D, et al. Effects of AMG 145 on low-density lipoprotein cholesterol levels: results from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending-dose phase 1 studies in healthy volunteers and hypercholesterolemic subjects on statins - J Am Coll Cardiol. 2012 [cité 21 févr 2023];1888-98. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/23083772/

92. Giugliano RP, Desai NR, Kohli P, Rogers WJ, Somaratne R, Huang F, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in combination with a statin in patients with hypercholesterolaemia (LAPLACE-TIMI 57): a randomised, placebo-controlled, dose-ranging, phase 2 study. Lancet [Internet]. 8 déc 2012 [cité 21 févr 2023];380(9858):2007-17. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4347805/

93. Koren MJ, Scott R, Kim JB, Knusel B, Liu T, Lei L, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as monotherapy in patients with

hypercholesterolaemia (MENDEL): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. Lancet. 8 déc 2012;380(9858):1995-2006.

94. Raal F, Scott R, Somaratne R, Bridges I, Li G, Wasserman SM, et al. Low-density lipoprotein cholesterol-lowering effects of AMG 145, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: the Reduction of LDL-C with PCSK9 Inhibition in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Disorder (RUTHERFORD) randomized trial. Circulation. 13 nov 2012;126(20):2408-17.

95. Sullivan D, Olsson AG, Scott R, Kim JB, Xue A, Gebski V, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low-density lipoprotein cholesterol levels in statin-intolerant patients: the GAUSS randomized trial. JAMA. 19 déc 2012;308(23):2497-506.

96. Blom DJ, Hala T, Bolognese M, Lillestol MJ, Toth PD, Burgess L, et al. A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia. N Engl J Med. 8 mai 2014;370(19):1809-19.

97. Raal FJ, Honarpour N, Blom DJ, Hovingh GK, Xu F, Scott R, et al. Inhibition of PCSK9 with evolocumab in homozygous familial hypercholesterolaemia (TESLA Part B): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 24 janv 2015;385(9965):341-50.

98. Raal FJ, Stein EA, Dufour R, Turner T, Civeira F, Burgess L, et al. PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolaemia (RUTHERFORD-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 24 janv 2015;385(9965):331-40.

99. Qi L, Liu D, Qu Y, Chen B, Meng H, Zhu L, et al. Tafolecimab in Chinese Patients With Hypercholesterolemia (CREDIT-4): A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. JACC Asia. août 2023;3(4):636-45.

100. Pokhrel B, Yuet WC, Levine SN. PCSK9 Inhibitors. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cité 27 févr 2023]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448100/

101. Nishikido T, Ray KK. Non-antibody Approaches to Proprotein Convertase Subtilisin Kexin 9 Inhibition: siRNA, Antisense Oligonucleotides, Adnectins, Vaccination, and New Attempts at Small-Molecule Inhibitors Based on New Discoveries. Front Cardiovasc Med [Internet]. 29 janv 2019 [cité 22 févr 2023];5:199. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6361748/

102. Momtazi-Borojeni AA, Jaafari MR, Afshar M, Banach M, Sahebkar A. PCSK9 immunization using nanoliposomes: preventive efficacy against hypercholesterolemia and atherosclerosis. Arch Med Sci [Internet]. 18 mars 2021 [cité 22 févr 2023];17(5):1365-77. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8425258/

103. Momtazi-Borojeni AA, Jaafari MR, Banach M, Gorabi AM, Sahraei H, Sahebkar A. Pre-Clinical Evaluation of the Nanoliposomal antiPCSK9 Vaccine in Healthy Non-Human Primates. Vaccines [Internet]. juill 2021 [cité 22 févr 2023];9(7). Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8309966/

104. Fowler A, Van Rompay KKA, Sampson M, Leo J, Watanabe JK, Usachenko JL, et al. A Virus-like particle-based bivalent PCSK9 vaccine lowers LDL-cholesterol levels in Non-Human Primates. bioRxiv [Internet]. 15 mai 2023 [cité 14 août 2023];2023.05.15.540560. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10245564/

105. Mitchell T, Chao G, Sitkoff D, Lo F, Monshizadegan H, Meyers D, et al. Pharmacologic Profile of the Adnectin BMS-962476, a Small Protein Biologic Alternative to PCSK9 Antibodies for Low-Density Lipoprotein Lowering. J Pharmacol Exp Ther [Internet]. 1 août 2014 [cité 22 févr 2023];350(2):412-24. Disponible sur: https://jpet.aspetjournals.org/content/350/2/412

106. Schroeder CI, Swedberg JE, Withka JM, Rosengren KJ, Akcan M, Clayton DJ, et al. Design and Synthesis of Truncated EGF-A Peptides that Restore LDL-R Recycling in the Presence of PCSK9 In Vitro. Chemistry & Biology [Internet]. 20 févr 2014 [cité 22 févr 2023];21(2):284-94. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552113004560

107. Zhang Y, Eigenbrot C, Zhou L, Shia S, Li W, Quan C, et al. Identification of a Small Peptide That Inhibits PCSK9 Protein Binding to the Low Density Lipoprotein Receptor. J Biol Chem [Internet]. 10 janv 2014 [cité 22 févr 2023];289(2):942-55. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3887217/

108. Evison BJ, Palmer JT, Lambert G, Treutlein H, Zeng J, Nativel B, et al. A small molecule inhibitor of PCSK9 that antagonizes LDL receptor binding via interaction with a cryptic PCSK9 binding groove. Bioorganic & Medicinal Chemistry [Internet]. 15 mars 2020 [cité 27 sept 2023];28(6):115344. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089620301346

109. Suchowerska AK, Stokman G, Palmer JT, Coghlan PA, Pieterman EJ, Keijzer N, et al. A Novel, Orally Bioavailable, Small-Molecule Inhibitor of PCSK9 With Significant Cholesterol-Lowering Properties In Vivo. J Lipid Res [Internet]. 6 oct 2022 [cité 27 sept 2023];63(11):100293. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9646673/

110. Bechtler C, Lamers C. Macrocyclization strategies for cyclic peptides and peptidomimetics. RSC Medicinal Chemistry [Internet]. 2021 [cité 14 août 2023];12(8):1325-51. Disponible sur: https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/md/d1md00083g

111. Tucker TJ, Embrey MW, Alleyne C, Amin RP, Bass A, Bhatt B, et al. A Series of Novel, Highly Potent, and Orally Bioavailable Next-Generation Tricyclic Peptide PCSK9 Inhibitors. J Med Chem [Internet]. 25 nov 2021 [cité 14 août 2023];64(22):16770-800. Disponible sur: https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01599

112. Johns DG, Campeau LC, Banka P, Bautmans A, Bueters T, Bianchi E, et al. Orally Bioavailable Macrocyclic Peptide That Inhibits Binding of PCSK9 to the Low Density Lipoprotein Receptor. Circulation [Internet]. 11 juill 2023 [cité 14 août 2023];148(2):144-58. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10325562/

113. Ballantyne CM, Banka P, Mendez G, Garcia R, Rosenstock J, Rodgers A, et al. Phase 2b Randomized Trial of the Oral PCSK9 Inhibitor MK-0616. J Am Coll Cardiol. 25 avr 2023;81(16):1553-64.

114. Bennett CF, Swayze EE. RNA targeting therapeutics: molecular mechanisms of antisense oligonucleotides as a therapeutic platform. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2010;50:259-93.

115. Graham MJ, Lemonidis KM, Whipple CP, Subramaniam A, Monia BP, Crooke ST, et al. Antisense inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces serum LDL in hyperlipidemic mice. J Lipid Res. avr 2007;48(4):763-7.

116. Gupta N, Fisker N, Asselin MC, Lindholm M, Rosenbohm C, Ørum H, et al. A Locked Nucleic Acid Antisense Oligonucleotide (LNA) Silences PCSK9 and Enhances LDLR Expression In Vitro and In Vivo. PLoS One [Internet]. 17 mai 2010 [cité 22 févr 2023];5(5):e10682. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2871785/

117. Lindholm MW, Elmén J, Fisker N, Hansen HF, Persson R, Møller MR, et al. PCSK9 LNA Antisense Oligonucleotides Induce Sustained Reduction of LDL Cholesterol in Nonhuman Primates. Mol Ther [Internet]. févr 2012 [cité 14 août 2023];20(2):376-81. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3277239/

118. Chambergo-Michilot D, Alur A, Kulkarni S, Agarwala A. Mipomersen in Familial Hypercholesterolemia: An Update on Health-Related Quality of Life and Patient-Reported Outcomes. Vasc Health Risk Manag [Internet]. 21 févr 2022 [cité 14 août 2023];18:73-80. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8880726/

119. Pollack A. F.D.A. Approves Genetic Drug to Treat Rare Disease - The New York Times [Internet]. 2013 [cité 14 août 2023]. Disponible sur: https://www.nytimes.com/2013/01/30/business/fda-approves-genetic-drug-to-treat-rare-disease.html

120. Gennemark P, Walter K, Clemmensen N, Rekić D, Nilsson CAM, Knöchel J, et al. An oral antisense oligonucleotide for PCSK9 inhibition. Science Translational Medicine [Internet]. 12 mai 2021 [cité 14 août 2023];13(593):eabe9117. Disponible sur: https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.abe9117

121. German C, Shapiro M. Small Interfering RNA Therapeutic Inclisiran: A New Approach to Targeting PCSK9. BioDrugs : clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy [Internet]. févr 2020 [cité 22 févr 2023];34(1). Disponible sur: http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31782112/

122. Nair JK, Willoughby JLS, Chan A, Charisse K, Alam MR, Wang Q, et al. Multivalent N-acetylgalactosamine-conjugated siRNA localizes in hepatocytes and elicits robust RNAi-mediated gene silencing. J Am Chem Soc. 10 déc 2014;136(49):16958-61.

123. Fitzgerald K, White S, Borodovsky A, Bettencourt BR, Strahs A, Clausen V, et al. A Highly Durable RNAi Therapeutic Inhibitor of PCSK9. N Engl J Med. 5 janv 2017;376(1):41-51.

124. Wang N, Tall AR. A new approach to PCSK9 therapeutics. Circ Res [Internet]. 31 mars 2017 [cité 14 mars 2023];120(7):1063-5. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5848492/

125. Ran FA, Hsu PD, Wright J, Agarwala V, Scott DA, Zhang F. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. Nat Protoc [Internet]. nov 2013 [cité 23 févr 2023];8(11):2281-308. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3969860/

126. Ding Q, Strong A, Patel KM, Ng SL, Gosis BS, Regan SN, et al. Permanent Alteration of PCSK9 With In Vivo CRISPR-Cas9 Genome Editing. Circ Res [Internet]. 15 août 2014 [cité 22 févr 2023];115(5):488-92. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4134749/

127. Musunuru K, Chadwick AC, Mizoguchi T, Garcia SP, DeNizio JE, Reiss CW, et al. In vivo CRISPR base editing of PCSK9 durably lowers cholesterol in primates. Nature. mai 2021;593(7859):429-34.

128. Rothgangl T, Dennis MK, Lin PJC, Oka R, Witzigmann D, Villiger L, et al. In vivo adenine base editing of PCSK9 in macaques reduces LDL cholesterol levels. Nat Biotechnol [Internet]. 2021 [cité 22 févr 2023];39(8):949-57. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8352781/

129. Lee RG, Mazzola AM, Braun MC, Platt C, Vafai SB, Kathiresan S, et al. Efficacy and Safety of an Investigational Single-Course CRISPR Base-Editing Therapy Targeting PCSK9 in Nonhuman Primate and Mouse Models. Circulation. 17 janv 2023;147(3):242-53.

130. Ding Z, Wang X, Liu S, Shahanawaz J, Theus S, Fan Y, et al. PCSK9 expression in the ischaemic heart and its relationship to infarct size, cardiac function, and development of autophagy. Cardiovascular Research [Internet]. 1 nov 2018 [cité 10 mars 2023];114(13):1738-51. Disponible sur: https://doi.org/10.1093/cvr/cvy128

131. Le May C, Kourimate S, Langhi C, Chétiveaux M, Jarry A, Comera C, et al. Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 Null Mice Are Protected From Postprandial Triglyceridemia. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology [Internet]. mai 2009 [cité 31 janv 2023];29(5):684-90. Disponible sur: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/atvbaha.108.181586

132. Zaid A, Roubtsova A, Essalmani R, Chamberland A. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse. Hepatology [Internet]. 1 août 2008 [cité 15 juin 2019];48(2):646-54. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18666258

133. Poirier S, Prat A, Marcinkiewicz E, Paquin J, Chitramuthu BP, Baranowski D, et al. Implication of the proprotein convertase NARC-1/PCSK9 in the development of the nervous system. Journal of Neurochemistry [Internet]. 2006 [cité 28 févr 2023];98(3):838-50. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1471-4159.2006.03928.x

134. An D, Wei X, Li H, Gu H, Huang T, Zhao G, et al. Identification of PCSK9 as a novel serum biomarker for the prenatal diagnosis of neural tube defects using iTRAQ quantitative proteomics. Sci Rep [Internet]. 22 déc 2015 [cité 27 sept 2023];5:17559. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4686913/

135. Erol SA, Tanacan A, Firat Oguz E, Anuk AT, Goncu Ayhan S, Neselioglu S, et al. A comparison of the maternal levels of serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in pregnant women with the complication of fetal open neural tube defects. Congenital Anomalies [Internet]. 2021 [cité 27 sept 2023];61(5):169-76. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/cga.12432

136. Cole SL, Vassar R. The Alzheimer's disease β-secretase enzyme, BACE1. Molecular Neurodegeneration [Internet]. 15 nov 2007 [cité 28 févr 2023];2(1):22. Disponible sur: https://doi.org/10.1186/1750-1326-2-22

137. Akhter R, Sanphui P, Das H, Saha P, Biswas SC. The regulation of p53 up-regulated modulator of apoptosis by JNK/c-Jun pathway in β-amyloid-induced neuron death. J Neurochem. sept 2015;134(6):1091-103.

138. Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP, Hänninen T, Hallikainen M, Alhainen K, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele, elevated midlife total cholesterol level, and high midlife systolic blood pressure are independent risk factors for late-life Alzheimer disease. Ann Intern Med. 6 août 2002;137(3):149-55.

139. Solomon A, Kåreholt I, Ngandu T, Winblad B, Nissinen A, Tuomilehto J, et al. Serum cholesterol changes after midlife and late-life cognition: twenty-one-year follow-up study. Neurology. 6 mars 2007;68(10):751-6.

140. Longenberger J, Shah ZA. Simvastatin and other HMG-CoA reductase inhibitors on brain cholesterol levels in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res. juin 2011;8(4):434-42.

141. Zhao XS, Wu Q, Peng J, Pan LH, Ren Z, Liu HT, et al. Hyperlipidemia-induced apoptosis of hippocampal neurons in apoE(−/−) mice may be associated with increased PCSK9 expression. Mol Med Rep [Internet]. févr 2017 [cité 1 mars 2023];15(2):712-8. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5364825/

142. Apaijai N, Moisescu DM, Palee S, McSweeney CM, Saiyasit N, Maneechote C, et al. Pretreatment With PCSK9 Inhibitor Protects the Brain Against Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury Through a Reduction of Neuronal Inflammation and Amyloid Beta Aggregation. J Am Heart Assoc [Internet]. 13 janv 2019 [cité 1 mars 2023];8(2):e010838. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6497363/

143. Adorni MP, Ruscica M, Ferri N, Bernini F, Zimetti F. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9, Brain Cholesterol Homeostasis and Potential Implication for Alzheimer's Disease. Front Aging Neurosci [Internet]. 2019 [cité 1 mars 2023]; Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6538876/

144. Holtzman DM, Herz J, Bu G. Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease. Cold Spring Harb Perspect Med. mars 2012;2(3):a006312.

145. Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, Munsell L, Kasten T, Morris JC, et al. Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. Science. 24 déc 2010;330(6012):1774.

146. Storck SE, Meister S, Nahrath J, Meißner JN, Schubert N, Di Spiezio A, et al. Endothelial LRP1 transports amyloid-β1–42 across the blood-brain barrier. J Clin Invest [Internet]. 2016 [cité 1 mars 2023];126(1):123-36. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4701557/

147. Mazura AD, Ohler A, Storck SE, Kurtyka M, Scharfenberg F, Weggen S, et al. PCSK9 acts as a key regulator of Aβ clearance across the blood–brain barrier. Cell Mol Life Sci [Internet]. 2022 [cité 14 mars 2023];79(4):212. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8960591/

148. Benn M, Nordestgaard BG, Frikke-Schmidt R, Tybjærg-Hansen A. Low LDL cholesterol, PCSK9 and HMGCR genetic variation, and risk of Alzheimer's disease and Parkinson's disease: Mendelian randomisation study. BMJ [Internet]. 24 avr 2017 [cité 1 mars 2023];357:j1648. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5421439/

149. Mefford MT, Rosenson RS, Cushman M, Farkouh ME, McClure LA, Wadley VG, et al. PCSK9 variants, LDL-cholesterol, and neurocognitive impairment: The REasons for Geographic And Racial Differences in Stroke (REGARDS) study. Circulation [Internet]. 20 mars 2018 [cité 1 mars 2023];137(12):1260-9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5860959/

150. Paquette M, Saavedra YGL, Poirier J, Théroux L, Dea D, Baass A, et al. Loss-of-Function PCSK9 Mutations Are Not Associated With Alzheimer Disease. J Geriatr Psychiatry Neurol. mars 2018;31(2):90-6.

151. Reynolds C, Hong MG, Eriksson U, Blennow K, Wiklund F, Johansson B, et al. Analysis of lipid pathway genes indicates association of sequence variation near SREBF1/TOM1L2/ATPAF2 with dementia risk. Hum Mol Genet [Internet]. 2010 [cité 1 mars 2023];2068-78. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2860895/

152. Shibata N, Ohnuma T, Higashi S, Higashi M, Usui C, Ohkubo T, et al. No genetic association between PCSK9 polymorphisms and Alzheimer's disease and plasma cholesterol level in Japanese patients. Psychiatr Genet. déc 2005;15(4):239.

153. Small AM, Huffman JE, Klarin D, Lynch JA, Assimes T, DuVall S, et al. PCSK9 loss of function is protective against extra-coronary atherosclerotic cardiovascular disease in a large multi-ethnic cohort. PLoS One [Internet]. 9 nov 2020 [cité 28 mars 2023];15(11):e0239752. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7652310/

154. Picard C, Poirier A, Bélanger S, Labonté A, Auld D, Poirier J. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) in Alzheimer's disease: A genetic and proteomic multi-cohort study. PLoS One [Internet]. 22 août 2019 [cité 1 mars 2023];14(8):e0220254. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6705826/

155. Zimetti F, Caffarra P, Ronda N, Favari E, Adorni MP, Zanotti I, et al. Increased PCSK9 Cerebrospinal Fluid Concentrations in Alzheimer's Disease. J Alzheimers Dis. 2017;55(1):315-20.

156. Courtemanche H, Bigot E, Pichelin M, Guyomarch B, Boutoleau-Bretonnière C, Le May C, et al. PCSK9 Concentrations in Cerebrospinal Fluid Are Not Specifically Increased in Alzheimer's Disease. Journal of Alzheimer's Disease [Internet]. 1 janv 2018 [cité 27 sept 2023];62(4):1519-25. Disponible sur: https://content.iospress.com/articles/journal-of-alzheimers-disease/jad170993

157. Gauthier J, Massicotte A. Statins and their effect on cognition. Can Pharm J [Internet]. 2015 [cité 28 mars 2023];3(148):150-5. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC4483758/

158. Postmus I, Trompet S, de Craen A, Buckley B, Ford I, Stott D, et al. PCSK9 SNP rs11591147 is associated with low cholesterol levels but not with cognitive performance or noncardiovascular clinical events in an elderly population. J Lipid Res [Internet]. 2013 [cité 28 mars 2023];54(2):561-6. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC3588880/

159. Rao AS, Lindholm D, Rivas MA, Knowles JW, Montgomery SB, Ingelsson E. Large-Scale Phenome-Wide Association Study of PCSK9 Variants Demonstrates Protection Against Ischemic Stroke. Circ Genom Precis Med [Internet]. juill 2018 [cité 28 mars 2023];11(7):e002162. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6050027/

160. Verbeek R, Boekholdt SM, Luben R, Stroes ES, Khaw KT, Hovingh GK. Effect of Long-Term Low Lipoproteins on Neurocognitive Function. J Am Coll Cardiol [Internet]. 2018 [cité 28 mars 2023];10(72):1176-7. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/30165991/

161. Alghamdi J, Matou-Nasri S, Alghamdi F, Alghamdi S, Alfadhel M, Padmanabhan S. Risk of Neuropsychiatric Adverse Effects of Lipid-Lowering Drugs: A Mendelian Randomization Study. Int J Neuropsychopharmacol [Internet]. 7 juill 2018 [cité 28 mars 2023];21(12):1067-75. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6276028/

162. Nelson CP, Lai FY, Nath M, Ye S, Webb TR, Schunkert H, et al. Genetic Assessment of Potential Long-Term On-Target Side Effects of PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9) Inhibitors. Circ Genom Precis Med. janv 2019;12(1):e002196.

163. Ugovšek S, Šebeštjen M. Non-Lipid Effects of PCSK9 Monoclonal Antibodies on Vessel Wall. J Clin Med [Internet]. 23 juin 2022 [cité 9 mars 2023];11(13):3625. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9267174/

164. Doran AC, Meller N, McNamara CA. The Role of Smooth Muscle Cells in the Initiation and Early Progression of Atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol [Internet]. mai 2008 [cité 8 mars 2023];28(5):812-9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2734458/

165. Costet P, Cariou B, Lambert G, Lalanne F, Lardeux B, Jarnoux AL, et al. Hepatic PCSK9 expression is regulated by nutritional status via insulin and sterol regulatory element-binding protein 1c. J Biol Chem [Internet]. 2006 [cité 8 mars 2023];6211-8. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/16407292/

166. Ding Z, Liu S, Wang X, Deng X, Fan Y, Sun C, et al. Hemodynamic Shear Stress via ROS Modulates PCSK9 Expression in Human Vascular Endothelial and Smooth Muscle Cells and Along the Mouse Aorta. Antioxid Redox Signal [Internet]. 20 mars 2015 [cité 8 mars 2023];22(9):760-71. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4361218/

167. Melone M, Wilsie L, Palyha O, Strack A, Rashid S. Discovery of a new role of human resistin in hepatocyte low-density lipoprotein receptor suppression mediated in part by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. J Am Coll Cardiol. 8 mai 2012;59(19):1697-705.

168. Ferri N, Tibolla G, Pirillo A, Cipollone F, Mezzetti A, Pacia S, et al. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) secreted by cultured smooth muscle cells reduces macrophages LDLR levels. Atherosclerosis. févr 2012;220(2):381-6.

169. Ding Z, Liu S, Wang X, Deng X, Fan Y, Shahanawaz J, et al. Cross-talk between LOX-1 and PCSK9 in vascular tissues. Cardiovascular Research [Internet]. 1 sept 2015 [cité 8 mars 2023];107(4):556-67. Disponible sur: https://doi.org/10.1093/cvr/cvv178

170. Lupo MG, Marchianò S, Adorni MP, Zimetti F, Ruscica M, Greco MF, et al. PCSK9 Induces Rat Smooth Muscle Cell Proliferation and Counteracts the Pleiotropic Effects of Simvastatin. Int J Mol Sci [Internet]. 16 avr 2021 [cité 9 mars 2023];22(8):4114. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8073479/

171. Di Minno A, Gentile M, Iannuzzo G, Calcaterra I, Tripaldella M, Porro B, et al. Endothelial function improvement in patients with familial hypercholesterolemia receiving PCSK-9 inhibitors on top of maximally tolerated lipid lowering therapy. Thromb Res. oct 2020;194:229-36.

172. Metzner T, Leitner DR, Dimsity G, Gunzer F, Opriessnig P, Mellitzer K, et al. Short-Term Treatment with Alirocumab, Flow-Dependent Dilatation of the Brachial Artery and Use of Magnetic Resonance Diffusion Tensor Imaging to Evaluate Vascular Structure: An Exploratory Pilot Study. Biomedicines [Internet]. 11 janv 2022 [cité 9 mars 2023];10(1):152. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8773704/

173. Denis M, Marcinkiewicz J, Zaid A, Gauthier D, Poirier S, Lazure C, et al. Gene Inactivation of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Reduces Atherosclerosis in Mice. Circulation [Internet]. 21 févr 2012 [cité 9 mars 2023];125(7):894-901. Disponible sur: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.057406

174. Kumar S, Kang DW, Rezvan A, Jo H. Accelerated atherosclerosis development in C57Bl6 mice by overexpressing AAV-mediated PCSK9 and partial carotid ligation. Lab Invest. août 2017;97(8):935-45.

175. Kühnast S, van der Hoorn JWA, Pieterman EJ, van den Hoek AM, Sasiela WJ, Gusarova V, et al. Alirocumab inhibits atherosclerosis, improves the plaque morphology, and enhances the effects of a statin. J Lipid Res. oct 2014;55(10):2103-12.

176. Sun H, Krauss RM, Chang JT, Teng BB. PCSK9 deficiency reduces atherosclerosis, apolipoprotein B secretion, and endothelial dysfunction. J Lipid Res [Internet]. févr 2018 [cité 8 mars 2023];59(2):207-23. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5794417/

177. Lee CJ, Lee YH, Park SW, Kim KJ, Park S, Youn JC, et al. Association of serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 with carotid intima media thickness in hypertensive subjects. Metabolism. juin 2013;62(6):845-50.

178. Li J, Liang X, Wang Y, Xu Z, Li G. Investigation of highly expressed PCSK9 in atherosclerotic plaques and ox-LDL-induced endothelial cell apoptosis. Mol Med Rep [Internet]. août 2017 [cité 9 mars 2023];16(2):1817-25. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5561783/

179. Nicholls SJ, Puri R, Anderson T, Ballantyne CM, Cho L, Kastelein JJP, et al. Effect of Evolocumab on Coronary Plaque Composition. Journal of the American College of Cardiology [Internet]. 23 oct 2018 [cité 8 mars 2023];72(17):2012-21. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109718370761

180. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. Circulation. 5 sept 2000;102(10):1082-5.

181. Kamstrup PR, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Extreme lipoprotein(a) levels and risk of myocardial infarction in the general population: the Copenhagen City Heart Study. Circulation. 15 janv 2008;117(2):176-84.

182. Alonso R, Mata P, Muñiz O, Fuentes-Jimenez F, Díaz JL, Zambón D, et al. PCSK9 and lipoprotein (a) levels are two predictors of coronary artery calcification in asymptomatic patients with familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis [Internet]. 1 nov 2016 [cité 15 mars 2023];254:249-53. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915016313065

183. Villard EF, Thedrez A, Blankenstein J, Croyal M, Tran TTT, Poirier B, et al. PCSK9 Modulates the Secretion But Not the Cellular Uptake of Lipoprotein(a) Ex Vivo. JACC Basic Transl Sci. 31 oct 2016;1(6):419-27.

184. Langsted A, Nordestgaard BG, Benn M, Tybjærg-Hansen A, Kamstrup PR. PCSK9 R46L Loss-of-Function Mutation Reduces Lipoprotein(a), LDL Cholesterol, and Risk of Aortic Valve Stenosis. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism [Internet]. 1 sept 2016 [cité 15 mars 2023];101(9):3281-7. Disponible sur: https://doi.org/10.1210/jc.2016-1206

185. Blanchard V, Chemello K, Hollstein T, Hong-Fong CC, Schumann F, Grenkowitz T, et al. The size of apolipoprotein (a) is an independent determinant of the reduction in lipoprotein (a) induced by PCSK9 inhibitors. Cardiovascular Research. 1 juin 2022;118(9):2103-11.

186. Choi SW, Kim J, Jang GW, Lee YS, Park JS, Lee JM, et al. Acute Effect of Evolocumab on Lipoprotein(a) Level and Inflammation in Patients with Coronary Artery Disease. J Cardiovasc Dev Dis [Internet]. 27 mars 2022 [cité 15 mars 2023];9(4):101. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9028952/

187. Lambert G, Thedrez A, Croyal M, Ramin-Mangata S, Couret D, Diotel N, et al. The complexity of lipoprotein (a) lowering by PCSK9 monoclonal antibodies. Clin Sci (Lond). 1 févr 2017;131(4):261-8.

188. Barale C, Bonomo K, Frascaroli C, Morotti A, Guerrasio A, Cavalot F, et al. Platelet function and activation markers in primary hypercholesterolemia treated with anti-PCSK9 monoclonal antibody: A 12-month follow-up. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases [Internet]. 10 févr 2020 [cité 8 mars 2023];30(2):282-91. Disponible sur: https://www.nmcd-journal.com/article/S0939-4753(19)30351-5/fulltext

189. Pawelczyk M, Kaczorowska B, Baj Z. The impact of hyperglycemia and hyperlipidemia on plasma P-selectin and platelet markers after ischemic stroke. Arch Med Sci [Internet]. août 2017 [cité 9 mars 2023];13(5):1049-56. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5575219/

190. Pastori D, Nocella C, Farcomeni A, Bartimoccia S, Santulli M, Vasaturo F, et al. Relationship of PCSK9 and Urinary Thromboxane Excretion to Cardiovascular Events in Patients With Atrial Fibrillation. J Am Coll Cardiol. 19 sept 2017;70(12):1455-62.

191. Navarese EP, Kolodziejczak M, Winter MP, Alimohammadi A, Lang IM, Buffon A, et al. Association of PCSK9 with platelet reactivity in patients with acute coronary syndrome treated with prasugrel or ticagrelor: The PCSK9-REACT study. International Journal of Cardiology [Internet]. 15 janv 2017 [cité 8 mars 2023];227:644-9. Disponible sur: https://www.internationaljournalofcardiology.com/article/S0167-5273(16)33272-7/fulltext

192. Cammisotto V, Pastori D, Nocella C, Bartimoccia S, Castellani V, Marchese C, et al. PCSK9 Regulates Nox2-Mediated Platelet Activation via CD36 Receptor in Patients with Atrial Fibrillation. Antioxidants (Basel) [Internet]. 2 avr 2020 [cité 8 mars 2023];9(4):296. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7222182/

193. GBD 2019 Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Lancet [Internet]. 2020 [cité 27 mars 2023];396(10258):1204-22. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC7567026/

194. Rousselet E, Marcinkiewicz J, Kriz J, Zhou A, Hatten ME, Prat A, et al. PCSK9 reduces the protein levels of the LDL receptor in mouse brain during development and after ischemic stroke. J Lipid Res [Internet]. juill 2011 [cité 28 mars 2023];52(7):1383-91. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3111744/

195. Nativel B, Ramin-Mangata S, Couret D, Planesse C, Roche M, Gallo A, et al. PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9) Inhibition in Hyperglycemic Mice Increases the Risk of Hemorrhagic Transformation of Ischemic Stroke. Stroke. sept 2021;52(9):e545-7.

196. Tran-Dinh A, Levoye A, Lambert G, Louedec L, Journé C, Meilhac O, et al. Low levels of low-density lipoprotein-C associated with proprotein convertase subtilisin kexin 9 inhibition do not increase the risk of hemorrhagic transformation. Stroke. oct 2014;45(10):3086-8.

197. Wang L, Wang Z, Shi J, Jiang Q, Wang H, Li X, et al. Inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 attenuates neuronal apoptosis following focal cerebral ischemia via apolipoprotein E receptor 2 downregulation in hyperlipidemic mice. Int J Mol Med [Internet]. oct 2018 [cité 1 mars 2023];42(4):2098-106. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6108876/

198. Pu S, Jia C, Li Z, Zang Y. Protective Mechanism of Proprotein Convertase Subtilisin-Like Kexin Type 9 Inhibitor on Rats with Middle Cerebral Artery Occlusion-Induced Cerebral Ischemic Infarction. Comput Intell Neurosci [Internet]. 26 mars 2022 [cité 27 mars 2023];2022:4964262. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8976600/

199. Abboud S, Karhunen PJ, Lütjohann D, Goebeler S, Luoto T, Friedrichs S, et al. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Gene Is a Risk Factor of Large-Vessel Atherosclerosis Stroke. PLoS One

[Internet]. 17 oct 2007 [cité 28 mars 2023];2(10):e1043. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2002510/

200. Aung LHH, Yin RX, Miao L, Hu XJ, Yan TT, Cao XL, et al. The proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 gene E670G polymorphism and serum lipid levels in the Guangxi Bai Ku Yao and Han populations. Lipids Health Dis [Internet]. 13 janv 2011 [cité 28 mars 2023];10:5. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3035481/

201. Slimani A, Harira Y, Trabelsi I, Jomaa W, Maatouk F, Hamda KB, et al. Effect of E670G Polymorphism in PCSK9 Gene on the Risk and Severity of Coronary Heart Disease and Ischemic Stroke in a Tunisian Cohort. J Mol Neurosci. juin 2014;53(2):150-7.

202. Au A, Griffiths LR, Cheng KK, Kooi CW, Irene L, Wei LK. The Influence of OLR1 and PCSK9 Gene Polymorphisms on Ischemic Stroke: Evidence from a Meta-Analysis. Scientific Reports [Internet]. 2015 [cité 28 mars 2023];5. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4678327/

203. Han D, Ma J, Zhang X, Cai J, Li J, Tuerxun T, et al. Correlation of PCSK9 Gene Polymorphism with Cerebral Ischemic Stroke in Xinjiang Han and Uygur Populations. Med Sci Monit [Internet]. 30 sept 2014 [cité 28 mars 2023];20:1758-67. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4189717/

204. Kent ST, Rosenson RS, Avery CL, Chen YDI, Correa A, Cummings SR, et al. PCSK9 Loss-of-Function Variants, Low-Density Lipoprotein Cholesterol, and Risk of Coronary Heart Disease and Stroke: Data from Nine Studies of African Americans and Whites. Circ Cardiovasc Genet [Internet]. août 2017 [cité 28 mars 2023];10(4):e001632. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5729040/

205. Zhao TY, Li Z, Lei S, Huang L, Yang L. Associations for BCO2, PCSK9, and TR1B1 Polymorphism and Lifestyle Factors with Ischemic Stroke: A Nested Case-Control Study. Yonsei Med J [Internet]. 2019 [cité 28 mars 2023];7(60):659-66. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC6597471/

206. Hopewell JC, Malik R, Valdés-Márquez E, Worrall BB, Collins R. Differential effects of PCSK9 variants on risk of coronary disease and ischaemic stroke. Eur Heart J [Internet]. 1 févr 2018 [cité 28 mars 2023];39(5):354-9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5837489/

207. Chen W, Wang Y, Meng X, Pan Y, Wang M, Li H, et al. Association of PCSK9 levels and genetic polymorphisms with stroke recurrence and functional outcome after acute ischemic stroke. Ann Transl Med [Internet]. juill 2022 [cité 27 mars 2023];10(13):729. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9358512/

208. Tung H, Lin HJ, Chen PL, Lu TJ, Jhan PP, Chen JP, et al. Characterization of familial hypercholesterolemia in Taiwanese ischemic stroke patients. Aging (Albany NY) [Internet]. 27 juill 2021 [cité 28 mars 2023];13(15):19339-51. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8386562/

209. Cordero A, Rodríguez-Mañero M, Fácila L, Fernández-Olmo MR, Gómez-Martínez MJ, Valle A, et al. Prevention of myocardial infarction and stroke with PCSK9 inhibitors treatment: a metanalysis of recent randomized clinical trials. J Diabetes Metab Disord [Internet]. 1 juin 2020 [cité 28 mars 2023];19(2):759-65. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7843775/

210. Giugliano RP, Pedersen TR, Saver JL, Sever PS, Keech AC, Bohula EA, et al. Stroke Prevention With the PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin-Kexin Type 9) Inhibitor Evolocumab Added to Statin in High-Risk Patients With Stable Atherosclerosis. Stroke. mai 2020;51(5):1546-54.

211. Qin J, Liu L, Su XD, Wang BB, Fu BS, Cui JZ, et al. The effect of PCSK9 inhibitors on brain stroke prevention: A systematic review and meta-analysis. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases [Internet]. 22 juill 2021 [cité 27 mars 2023];31(8):2234-43. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939475321001484

212. Reboulleau A, Robert V, Vedie B, Doublet A, Grynberg A, Paul JL, et al. Involvement of cholesterol efflux pathway in the control of cardiomyocytes cholesterol homeostasis. J Mol Cell Cardiol. août 2012;53(2):196-205.

213. Schlüter KD, Wolf A, Weber M, Schreckenberg R, Schulz R. Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) affects load-free cell shortening of cardiomyocytes in a proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9)-dependent way. Basic Res Cardiol [Internet]. 2017 [cité 10 mars 2023];112(6):63. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5599470/

214. Wolf A, Kutsche HS, Schreckenberg R, Weber M, Li L, Rohrbach S, et al. Autocrine effects of PCSK9 on cardiomyocytes. Basic Res Cardiol [Internet]. 2020 [cité 10 mars 2023];115(6):65. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7652747/

215. Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. Free Radic Biol Med. mars 2018;117:76-89.

216. Tompkins AJ, Burwell LS, Digerness SB, Zaragoza C, Holman WL, Brookes PS. Mitochondrial dysfunction in cardiac ischemia-reperfusion injury: ROS from complex I, without inhibition. Biochim Biophys Acta. févr 2006;1762(2):223-31.

217. Palee S, McSweeney CM, Maneechote C, Moisescu DM, Jaiwongkam T, Kerdphoo S, et al. PCSK9 inhibitor improves cardiac function and reduces infarct size in rats with ischaemia/reperfusion injury: Benefits beyond lipid-lowering effects. J Cell Mol Med [Internet]. nov 2019 [cité 14 mars 2023];23(11):7310-9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6815840/

218. Wang F, Li M, Zhang A, Li H, Jiang C, Guo J. PCSK9 Modulates Macrophage Polarization-Mediated Ventricular Remodeling after Myocardial Infarction. J Immunol Res [Internet]. 4 juill 2022 [cité 3 avr 2023];2022:7685796. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9273409/

219. Zeller M, Lambert G, Farnier M, Maza M, Nativel B, Rochette L, et al. PCSK9 levels do not predict severity and recurrence of cardiovascular events in patients with acute myocardial infarction. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases [Internet]. 10 mars 2021 [cité 27 sept 2023];31(3):880-5. Disponible sur: https://www.nmcd-journal.com/article/S0939-4753(20)30486-5/fulltext

220. Da Dalt L, Castiglioni L, Baragetti A, Audano M, Svecla M, Bonacina F, et al. PCSK9 deficiency rewires heart metabolism and drives heart failure with preserved ejection fraction. Eur Heart J [Internet]. 12 juill 2021 [cité 14 mars 2023];42(32):3078-90. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8380058/

221. Laudette M, Lindbom M, Arif M, Cinato M, Ruiz M, Doran S, et al. Cardiomyocyte-specific PCSK9 deficiency compromises mitochondrial bioenergetics and heart function. Cardiovasc Res. 6 mars 2023;cvad041.

222. Dietschy JM. Regulation of cholesterol metabolism in man and in other species. Klin Wochenschr [Internet]. 1 avr 1984 [cité 3 mars 2023];62(8):338-45. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/BF01716251

223. Green PH, Riley JW. Lipid absorption and intestinal lipoprotein formation. Aust N Z J Med. févr 1981;11(1):84-90.

224. Leblond F, Seidah NG, Précourt LP, Delvin E, Dominguez M, Levy E. Regulation of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in intestinal epithelial cells. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology [Internet]. avr 2009 [cité 3 mars 2023];296(4):G805-15. Disponible sur: http://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpgi.90424.2008

225. Le May Cédric, Berger Jean Mathieu, Lespine Anne, Pillot Bruno, Prieur Xavier, Letessier Eric, et al. Transintestinal Cholesterol Excretion Is an Active Metabolic Process Modulated by PCSK9 and Statin Involving ABCB1. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology [Internet]. 1 juill 2013 [cité 6 mai 2020];33(7):1484-93. Disponible sur: https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/ATVBAHA.112.300263

226. Peach M, Xu R, Fitzpatrick D, Hamilton L, Somaratne R, Scott R, et al. Effect of evolocumab on cholesterol synthesis and absorption. J Lipid Res [Internet]. déc 2016 [cité 29 sept 2023];57(12):2217-24. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5321223/

227. Watts GF, Chan DC, Dent R, Somaratne R, Wasserman SM, Scott R, et al. Factorial Effects of Evolocumab and Atorvastatin on Lipoprotein Metabolism. Circulation. 24 janv 2017;135(4):338-51.

228. Shojaee-Moradie F, Ma Y, Lou S, Hovorka R, Umpleby AM. Prandial Hypertriglyceridemia in Metabolic Syndrome Is Due to an Overproduction of Both Chylomicron and VLDL Triacylglycerol. Diabetes [Internet]. déc 2013 [cité 6 mars 2023];62(12):4063-9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3837057/

229. Rashid S, Tavori H, Brown PE, Linton MF, He J, Giunzioni I, et al. PCSK9 Promotes Intestinal Overproduction of Triglyceride-Rich Apolipoprotein-B Lipoproteins Through Both LDL-Receptor Dependent

and Independent Mechanisms. Circulation [Internet]. 29 juill 2014 [cité 6 mars 2023];130(5):431-41. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4115295/

230. Mansbach CM, Gorelick F. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. oct 2007;293(4):G645-650.

231. Garçon D, Moreau F, Ayer A, Dijk W, Prieur X, Arnaud L, et al. Circulating Rather Than Intestinal PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9) Regulates Postprandial Lipemia in Mice - PubMed. 2020 [cité 31 janv 2023];2084-94. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/32673528/

232. Ooi TC, Krysa JA, Chaker S, Abujrad H, Mayne J, Henry K, et al. The Effect of PCSK9 Loss-of-Function Variants on the Postprandial Lipid and ApoB-Lipoprotein Response. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism [Internet]. 1 sept 2017 [cité 3 mars 2023];102(9):3452-60. Disponible sur: https://doi.org/10.1210/jc.2017-00684

233. Chan DC, Watts GF, Somaratne R, Wasserman SM, Scott R, Barrett PHR. Comparative Effects of PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9) and Statins on Postprandial Triglyceride-Rich Lipoprotein Metabolism. Arterioscler Thromb Vasc Biol [Internet]. juill 2018 [cité 3 mars 2023];38(7):1644-55. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6039422/

234. van der Veen JN, van Dijk TH, Vrins CLJ, van Meer H, Havinga R, Bijsterveld K, et al. Activation of the liver X receptor stimulates trans-intestinal excretion of plasma cholesterol. J Biol Chem [Internet]. 1 juill 2009 [cité 6 mars 2023];284(29):19211-9. Disponible sur: https://europepmc.org/articles/PMC2740545

235. Vega GL, Toto RD, Grundy SM. Metabolism of low density lipoproteins in nephrotic dyslipidemia: comparison of hypercholesterolemia alone and combined hyperlipidemia. Kidney Int. févr 1995;47(2):579-86.

236. Haas ME, Levenson AE, Sun X, Liao WH, Rutkowski JM, de Ferranti SD, et al. The Role of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 in Nephrotic Syndrome-Associated Hypercholesterolemia. Circulation [Internet]. 5 juill 2016 [cité 2 mars 2023];134(1):61-72. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5345853/

237. Kwakernaak AJ, Lambert G, Slagman MCJ, Waanders F, Laverman GD, Petrides F, et al. Proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 is elevated in proteinuric subjects: relationship with lipoprotein response to antiproteinuric treatment. Atherosclerosis. févr 2013;226(2):459-65.

238. Awanami Y, Fukuda M, Nonaka Y, Takashima T, Matsumoto K, Yamasaki M, et al. Successful treatment of a patient with refractory nephrotic syndrome with PCSK9 inhibitors: a case report. BMC Nephrol [Internet]. 6 juill 2017 [cité 2 mars 2023];18:221. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5501341/

239. Culleton BF, Larson MG, Wilson PW, Evans JC, Parfrey PS, Levy D. Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. Kidney Int. déc 1999;56(6):2214-9.

240. Sucajtys-Szulc E, Szolkiewicz M, Swierczynski J, Rutkowski B. Up-regulation of liver Pcsk9 gene expression as a possible cause of hypercholesterolemia in experimental chronic renal failure. Mol Cell Biochem [Internet]. 2016 [cité 2 mars 2023];411:281-7. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4737787/

241. Kang HM, Ahn SH, Choi P, Ko YA, Han SH, Chinga F, et al. Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells plays a key role in kidney fibrosis development. Nat Med [Internet]. janv 2015 [cité 2 mars 2023];21(1):37-46. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4444078/

242. Wu D, Zhou Y, Pan Y, Li C, Wang Y, Chen F, et al. Vaccine Against PCSK9 Improved Renal Fibrosis by Regulating Fatty Acid β-Oxidation. J Am Heart Assoc [Internet]. 24 déc 2019 [cité 2 mars 2023];9(1):e014358. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6988173/

243. Dounousi E, Tellis C, Pavlakou P, Duni A, Liakopoulos V, Mark PB, et al. Association between PCSK9 Levels and Markers of Inflammation, Oxidative Stress, and Endothelial Dysfunction in a Population of Nondialysis Chronic Kidney Disease Patients. Oxid Med Cell Longev [Internet]. 20 juill 2021 [cité 15 mars 2023];2021:6677012. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8318757/

244. Morena M, Le May C, Chenine L, Arnaud L, Dupuy AM, Pichelin M, et al. Plasma PCSK9 concentrations during the course of nondiabetic chronic kidney disease: Relationship with glomerular filtration rate and lipid metabolism. J Clin Lipidol. 2017;11(1):87-93.

245. Langhi C, Le May C, Gmyr V, Vandewalle B, Kerr-Conte J, Krempf M, et al. PCSK9 is expressed in pancreatic δ-cells and does not alter insulin secretion. Biochemical and Biophysical Research Communications [Internet]. 25 déc 2009 [cité 25 mai 2020];390(4):1288-93. Disponible sur: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X09021299

246. Ramin-Mangata S, Thedrez A, Nativel B, Diotel N, Blanchard V, Wargny M, et al. Effects of proprotein convertase subtilisin kexin type 9 modulation in human pancreatic beta cells function. Atherosclerosis [Internet]. 1 juin 2021 [cité 10 août 2023];326:47-55. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915021001842

247. Marku A, Da Dalt L, Galli A, Dule N, Corsetto P, Rizzo AM, et al. Pancreatic PCSK9 controls the organization of the β-cell secretory pathway via LDLR-cholesterol axis. Metabolism. nov 2022;136:155291.

248. Ruscica M, Ferri N, Banach M, Sirtori CR, Corsini A. Side effects of statins: from pathophysiology and epidemiology to diagnostic and therapeutic implications. Cardiovasc Res. 18 janv 2023;118(17):3288-304.

249. Mbikay M, Sirois F, Mayne J, Wang GS, Chen A, Dewpura T, et al. PCSK9-deficient mice exhibit impaired glucose tolerance and pancreatic islet abnormalities. FEBS Letters [Internet]. 19 févr 2010 [cité 6 mai 2020];584(4):701-6. Disponible sur: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014579309010643

250. Mbikay M, Sirois F, Gyamera-Acheampong C, Wang GS, Rippstein P, Chen A, et al. Variable effects of gender and Western diet on lipid and glucose homeostasis in aged PCSK9-deficient C57BL/6 mice. Journal of Diabetes [Internet]. 2015 [cité 6 mars 2023];7(1):74-84. Disponible sur: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1753-0407.12139

251. Da Dalt L, Ruscica M, Bonacina F, Balzarotti G, Dhyani A, Di Cairano E, et al. PCSK9 deficiency reduces insulin secretion and promotes glucose intolerance: the role of the low-density lipoprotein receptor. Eur Heart J [Internet]. 21 janv 2019 [cité 25 mai 2020];40(4):357-68. Disponible sur: https://academic-oup-com.proxy.insermbiblio.inist.fr/eurheartj/article/40/4/357/5047864

252. Hao M, Head WS, Gunawardana SC, Hasty AH, Piston DW. Direct effect of cholesterol on insulin secretion: a novel mechanism for pancreatic beta-cell dysfunction. Diabetes. sept 2007;56(9):2328-38.

253. Peyot ML, Roubtsova A, Lussier R, Chamberland A, Essalmani R, Murthy Madiraju SR, et al. Substantial PCSK9 inactivation in β-cells does not modify glucose homeostasis or insulin secretion in mice. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids [Internet]. 1 août 2021 [cité 7 mars 2023];1866(8):158968. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388198121000962

254. Brouwers MCGJ, Troutt JS, van Greevenbroek MMJ, Ferreira I, Feskens EJ, van der Kallen CJH, et al. Plasma proprotein convertase subtilisin kexin type 9 is not altered in subjects with impaired glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus, but its relationship with non-HDL cholesterol and apolipoprotein B may be modified by type 2 diabetes mellitus: The CODAM study. Atherosclerosis [Internet]. 1 juill 2011 [cité 7 mars 2023];217(1):263-7. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002191501100284X

255. Awan Z, Delvin EE, Levy E, Genest J, Davignon J, Seidah NG, et al. Regional Distribution and Metabolic Effect of PCSK9 insLEU and R46L Gene Mutations and apoE Genotype. Canadian Journal of Cardiology [Internet]. 1 août 2013 [cité 7 mars 2023];29(8):927-33. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0828282X1300144X

256. Schmidt AF, Swerdlow DI, Holmes MV, Patel RS, Fairhurst-Hunter Z, Lyall DM, et al. PCSK9 genetic variants and risk of type 2 diabetes: a mendelian randomisation study. Lancet Diabetes Endocrinol [Internet]. févr 2017 [cité 7 mars 2023];5(2):97-105. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5266795/

257. Chikowore T, Sahibdeen V, Hendry LM, Norris SA, Goedecke JH, Micklesfield LK, et al. C679X loss-of-function PCSK9 variant is associated with lower fasting glucose in black South African adolescents: Birth to Twenty Plus Cohort. J Clin Transl Endocrinol [Internet]. 28 févr 2019 [cité 7 mars 2023];16:100186. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6407309/

258. Iqbal Z, Dhage S, Mohamad JB, Abdel-Razik A, Donn R, Malik R, et al. Efficacy and safety of PCSK9 monoclonal antibodies. Expert Opin Drug Saf. déc 2019;18(12):1191-201.

259. Ji C, Bai J, Zhou J, Zou Y, Yu M. Adverse event profiles of PCSK9 inhibitors alirocumab and evolocumab: Data mining of the FDA adverse event reporting system. Br J Clin Pharmacol. déc 2022;88(12):5317-25.

260. Feingold KR, Moser AH, Shigenaga JK, Patzek SM, Grunfeld C. Inflammation Stimulates the Expression of PCSK9. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 19 sept 2008 [cité 15 mai 2019];374(2):341-4. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2571081/

261. Narverud I, Ueland T, Nenseter MS, Retterstøl K, Telle-Hansen VH, Halvorsen B, et al. Children with familial hypercholesterolemia are characterized by an inflammatory imbalance between the tumor necrosis factor α system and interleukin-10. Atherosclerosis. janv 2011;214(1):163-8.

262. Swirski FK, Libby P, Aikawa E, Alcaide P, Luscinskas FW, Weissleder R, et al. Ly-6Chi monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata. J Clin Invest [Internet]. 2 janv 2007 [cité 30 août 2023];117(1):195-205. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1716211/

263. Giunzioni I, Tavori H, Covarrubias R, Major AS, Ding L, Zhang Y, et al. Local effects of human PCSK9 on the atherosclerotic lesion. J Pathol. janv 2016;238(1):52-62.

264. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. Blood. 21 oct 2010;116(16):e74-80.

265. Bernelot Moens SJ, Neele AE, Kroon J, van der Valk FM, Van den Bossche J, Hoeksema MA, et al. PCSK9 monoclonal antibodies reverse the pro-inflammatory profile of monocytes in familial hypercholesterolaemia. European Heart Journal [Internet]. 21 mai 2017 [cité 3 avr 2023];38(20):1584-93. Disponible sur: https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx002

266. Marques P, Domingo E, Rubio A, Martinez-Hervás S, Ascaso JF, Piqueras L, et al. Beneficial effects of PCSK9 inhibition with alirocumab in familial hypercholesterolemia involve modulation of new immune players. Biomed Pharmacother. janv 2022;145:112460.

267. Krychtiuk KA, Lenz M, Hohensinner P, Distelmaier K, Schrutka L, Kastl SP, et al. Circulating levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) are associated with monocyte subsets in patients with stable coronary artery disease. Journal of Clinical Lipidology [Internet]. 1 mai 2021 [cité 3 avr 2023];15(3):512-21. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1933287421000349

268. Tang Z, Jiang L, Peng J, Ren Z, Wei D, Wu C, et al. PCSK9 siRNA suppresses the inflammatory response induced by oxLDL through inhibition of NF-κB activation in THP-1-derived macrophages. International Journal of Molecular Medicine [Internet]. 1 oct 2012 [cité 3 avr 2023];30(4):931-8. Disponible sur: https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijmm.2012.1072

269. Yang CL, Zeng YD, Hu ZX, Liang H. PCSK9 promotes the secretion of pro-inflammatory cytokines by macrophages to aggravate H/R-induced cardiomyocyte injury via activating NF-κB signalling. Gen Physiol Biophys. mars 2020;39(2):123-34.

270. Wang F, Li M, Zhang A, Li H, Jiang C, Guo J. PCSK9 Modulates Macrophage Polarization-Mediated Ventricular Remodeling after Myocardial Infarction. J Immunol Res [Internet]. 4 juill 2022 [cité 3 avr 2023];2022:7685796. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9273409/

271. Ricci C, Ruscica M, Camera M, Rossetti L, Macchi C, Colciago A, et al. PCSK9 induces a pro-inflammatory response in macrophages. Sci Rep [Internet]. 2 févr 2018 [cité 3 avr 2023];8:2267. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5797178/

272. Katsuki S, K Jha P, Lupieri A, Nakano T, Passos LSA, Rogers MA, et al. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9 (PCSK9) Promotes Macrophage Activation via LDL Receptor-Independent Mechanisms. Circ Res. 11 nov 2022;131(11):873-89.

273. Barcena ML, Estepa M, Marx L, Breiter A, Haritonow N, Stawowy P. The impact of the PCSK-9/VLDL-Receptor axis on inflammatory cell polarization. Cytokine [Internet]. 1 janv 2023 [cité 3 avr 2023];161:156077. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043466622002861

274. Bobryshev YV, Watanabe T. Ultrastructural evidence for association of vascular dendritic cells with T-lymphocytes and with B-cells in human atherosclerosis. J Submicrosc Cytol Pathol. avr 1997;29(2):209-21.

275. Liu A, Frostegård J. PCSK9 plays a novel immunological role in oxidized LDL-induced dendritic cell maturation and activation of T cells from human blood and atherosclerotic plaque. J Intern Med. 4 avr 2018;

276. Eid RE, Rao DA, Zhou J, Lo S fu L, Ranjbaran H, Gallo A, et al. Interleukin-17 and Interferon-γ are Produced Concomitantly by Human Coronary Artery-Infiltrating T Cells and Act Synergistically on Vascular Smooth Muscle Cells. Circulation [Internet]. 17 mars 2009 [cité 3 avr 2023];119(10):1424-32. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2898514/

277. Erbel C, Chen L, Bea F, Wangler S, Celik S, Lasitschka F, et al. Inhibition of IL-17A attenuates atherosclerotic lesion development in apoE-deficient mice. J Immunol. 15 déc 2009;183(12):8167-75.

278. Lim H, Kim YU, Sun H, Lee JH, Reynolds JM, Hanabuchi S, et al. Proatherogenic conditions promote autoimmune T helper 17 cell responses in vivo. Immunity [Internet]. 16 janv 2014 [cité 3 avr 2023];40(1):153-65. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3955722/

279. Kim YU, Kee P, Danila D, Teng BB. A Critical Role of PCSK9 in Mediating IL-17-Producing T Cell Responses in Hyperlipidemia. Immune Netw [Internet]. 4 déc 2019 [cité 3 avr 2023];19(6):e41. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6943168/

280. Proto JD, Doran AC, Subramanian M, Wang H, Zhang M, Sozen E, et al. Hypercholesterolemia induces T cell expansion in humanized immune mice. J Clin Invest [Internet]. 1 juin 2018 [cité 6 mai 2020];128(6):2370-5. Disponible sur: https://www.jci.org/articles/view/97785

281. Li S, Guo YL, Xu RX, Zhang Y, Zhu CG, Sun J, et al. Association of plasma PCSK9 levels with white blood cell count and its subsets in patients with stable coronary artery disease. Atherosclerosis [Internet]. 1 juin 2014 [cité 3 avr 2023];234(2):441-5. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915014001981

282. Wójcik-Maciejewicz A, Sawińska E, Reich A. Risk of cardiovascular diseases in psoriasis – the current state of knowledge. Przegl Dermatol [Internet]. 2019 [cité 17 mars 2023];106(5):495-506. Disponible sur: https://www.termedia.pl/Risk-of-cardiovascular-diseases-in-psoriasis-the-current-state-of-knowledge,56,38681,0,1.html

283. Luan C, Chen X, Zhu Y, Osland JM, Gerber SD, Dodds M, et al. Potentiation of Psoriasis-Like Inflammation by PCSK9. J Invest Dermatol. avr 2019;139(4):859-67.

284. Luan C, He Y, Liu W, Rong Y, Gao J, Xu K, et al. PCSK9 inhibition interrupts the cross-talk between keratinocytes and macrophages and prevents UVB-induced skin damage. J Biol Chem. juill 2023;299(7):104895.

285. Garshick MS, Baumer Y, Dey AK, Grattan R, Ng Q, Teague HL, et al. Characterization of PCSK9 in the Blood and Skin of Psoriasis. J Invest Dermatol [Internet]. févr 2021 [cité 17 mars 2023];141(2):308-15. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8493651/

286. Krahel JA, Baran A, Kamiński TW, Maciaszek M, Flisiak I. Methotrexate Decreases the Level of PCSK9—A Novel Indicator of the Risk of Proatherogenic Lipid Profile in Psoriasis. The Preliminary Data. J Clin Med [Internet]. 26 mars 2020 [cité 17 mars 2023];9(4):910. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7230388/

287. Merleev A, Ji-Xu A, Toussi A, Tsoi LC, Le ST, Luxardi G, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 is a psoriasis-susceptibility locus that is negatively related to IL36G. JCI Insight [Internet]. 2022 [cité 20 mars 2023];7(16):e141193. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9462487/

288. Fang C, Luo T, Lin L. Elevation of serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) concentrations and its possible atherogenic role in patients with systemic lupus erythematosus. Ann Transl Med [Internet]. déc 2018 [cité 17 mars 2023];6(23):452. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6312819/

289. Liu A, Rahman M, Hafström I, Ajeganova S, Frostegård J. Proprotein convertase subtilisin kexin 9 is associated with disease activity and is implicated in immune activation in systemic lupus erythematosus. Lupus. juill 2020;29(8):825-35.

290. Sánchez-Pérez H, Quevedo-Abeledo JC, Tejera-Segura B, de Armas-Rillo L, Rúa-Figueroa I, González-Gay MA, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 is related to disease activity and damage in patients with systemic erythematosus lupus. Ther Adv Musculoskelet Dis [Internet]. 28 nov 2020 [cité 20 mars 2023];12:1759720X20975904. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7705780/

291. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. J Crohns Colitis. 1 juin 2017;11(6):649-70.

292. Noutsias M, Pankuweit S, Maisch B. Biomarkers in inflammatory and noninflammatory cardiomyopathy. Herz. déc 2009;34(8):614-23.

293. Lei L, Li X, Yuan YJ, Chen ZL, He JH, Wu JH, et al. Inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 attenuates 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis via repressing toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B. The Kaohsiung Journal of Medical Sciences [Internet]. 2020 [cité 20 mars 2023];36(9):705-11. Disponible sur: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/kjm2.12225

294. Marinelli C, Zingone F, Lupo MG, Marin R, D'Incà R, Gubbiotti A, et al. Serum Levels of PCSK9 Are Increased in Patients With Active Ulcerative Colitis Representing a Potential Biomarker of Disease Activity. J Clin Gastroenterol [Internet]. oct 2022 [cité 20 mars 2023];56(9):787-93. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9988229/

295. van Laarhoven AIM, Kraaimaat FW, Wilder-Smith OH, van Riel PLCM, van de Kerkhof PCM, Evers AWM. Sensitivity to itch and pain in patients with psoriasis and rheumatoid arthritis. Experimental Dermatology [Internet]. 2013 [cité 30 août 2023];22(8):530-4. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/exd.12189

296. Wijbrandts CA, Tak PP. Prediction of Response to Targeted Treatment in Rheumatoid Arthritis. Mayo Clin Proc. juill 2017;92(7):1129-43.

297. Frostegård J, Ahmed S, Hafström I, Ajeganova S, Rahman M. Low levels of PCSK9 are associated with remission in patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF-α: potential underlying mechanisms. Arthritis Res Ther [Internet]. 2021 [cité 21 mars 2023];23:32. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7814540/

298. Ferraz-Amaro I, López-Mejías R, Ubilla B, Genre F, Tejera-Segura B, de Vera-González AM, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2016;34(6):1013-9.

299. Dwivedi DJ, Grin PM, Khan M, Prat A, Zhou J, Fox-Robichaud AE, et al. Differential Expression of PCSK9 Modulates Infection, Inflammation, and Coagulation in a Murine Model of Sepsis. Shock [Internet]. déc 2016 [cité 2 mars 2023];46(6):672. Disponible sur: https://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/2016/12000/Differential_Expression_of_PCSK9_Modulates.11.aspx

300. Walley KR, Thain KR, Russell JA, Reilly MP, Meyer NJ, Ferguson JF, et al. PCSK9 is a critical regulator of the innate immune response and septic shock outcome. Sci Transl Med [Internet]. 15 oct 2014 [cité 15 mai 2019];6(258):258ra143. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4342147/

301. Genga KR, Lo C, Cirstea MS, Leitao Filho FS, Walley KR, Russell JA, et al. Impact of PCSK9 loss-of-function genotype on 1-year mortality and recurrent infection in sepsis survivors. EBioMedicine [Internet]. 23 nov 2018 [cité 17 mars 2023];38:257-64. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6306489/

302. Boyd JH, Fjell CD, Russell JA, Sirounis D, Cirstea MS, Walley KR. Increased Plasma PCSK9 Levels Are Associated with Reduced Endotoxin Clearance and the Development of Acute Organ Failures during Sepsis. J Innate Immun [Internet]. mars 2016 [cité 16 mars 2023];8(2):211-20. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6738828/

303. Rannikko J, Jacome Sanz D, Ortutay Z, Seiskari T, Aittoniemi J, Huttunen R, et al. Reduced plasma PCSK9 response in patients with bacteraemia is associated with mortality. Journal of Internal Medicine [Internet]. 2019 [cité 17 mars 2023];286(5):553-61. Disponible sur: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/joim.12946

304. Hailman E, Albers JJ, Wolfbauer G, Tu AY, Wright SD. Neutralization and transfer of lipopolysaccharide by phospholipid transfer protein. J Biol Chem. 24 mai 1996;271(21):12172-8.

305. Levels JHM, Marquart JA, Abraham PR, van den Ende AE, Molhuizen HOF, van Deventer SJH, et al. Lipopolysaccharide Is Transferred from High-Density to Low-Density Lipoproteins by Lipopolysaccharide-Binding Protein and Phospholipid Transfer Protein. Infect Immun [Internet]. avr 2005 [cité 16 mars 2023];73(4):2321-6. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1087464/

306. Chisari F. Unscrambling hepatitis C virus-host interactions. Nature [Internet]. 2005 [cité 15 mars 2023];930-2. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/16107831/

307. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. Hepatology. avr 2013;57(4):1333-42.

308. Syed GH, Tang H, Khan M, Hassanein T, Liu J, Siddiqui A. Hepatitis C Virus Stimulates Low-Density Lipoprotein Receptor Expression To Facilitate Viral Propagation. J Virol [Internet]. mars 2014 [cité 15 mars 2023];88(5):2519-29. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3958050/

309. Hyrina A, Olmstead AD, Steven P, Krajden M, Tam E, Jean F. Treatment-Induced Viral Cure of Hepatitis C Virus-Infected Patients Involves a Dynamic Interplay among three Important Molecular Players in Lipid Homeostasis: Circulating microRNA (miR)-24, miR-223, and Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9. EBioMedicine [Internet]. 24 août 2017 [cité 17 mars 2023];23:68-78. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5605363/

310. Li Z, Liu Q. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibits hepatitis C virus replication through interacting with NS5A. J Gen Virol. janv 2018;99(1):44-61.

311. Bridge SH, Sheridan DA, Felmlee DJ, Crossey MME, Fenwick FI, Lanyon CV, et al. PCSK9, apolipoprotein E and lipoviral particles in chronic hepatitis C genotype 3: Evidence for genotype-specific regulation of lipoprotein metabolism. Journal of Hepatology [Internet]. 1 avr 2015 [cité 17 mars 2023];62(4):763-70. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168827814008605

312. Feingold KR, Krauss RM, Pang M, Doerrler W, Jensen P, Grunfeld C. The hypertriglyceridemia of acquired immunodeficiency syndrome is associated with an increased prevalence of low density lipoprotein subclass pattern B. J Clin Endocrinol Metab. juin 1993;76(6):1423-7.

313. Sosner P, Wangermez M, Chagneau-Derrode C, Le Moal G, Silvain C. Atherosclerosis risk in HIV-infected patients: the influence of hepatitis C virus co-infection. Atherosclerosis. mai 2012;222(1):274-7.

314. Lang S, Mary-Krause M, Cotte L, Gilquin J, Partisani M, Simon A, et al. Increased risk of myocardial infarction in HIV-infected patients in France, relative to the general population. AIDS. 15 mai 2010;24(8):1228-30.

315. Tseng ZH, Secemsky EA, Dowdy D, Vittinghoff E, Moyers B, Wong JK, et al. Sudden Cardiac Death in Patients with Human Immunodeficiency Virus Infection. J Am Coll Cardiol [Internet]. 22 mai 2012 [cité 17 mars 2023];59(21):1891-6. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3356565/

316. Kohli P, Ganz P, Ma Y, Scherzer R, Hur S, Weigel B, et al. HIV and Hepatitis C–Coinfected Patients Have Lower Low-Density Lipoprotein Cholesterol Despite Higher Proprotein Convertase Subtilisin Kexin 9 (PCSK9): An Apparent “PCSK9–Lipid Paradox”. J Am Heart Assoc [Internet]. 29 avr 2016 [cité 17 mars 2023];5(5):e002683. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4889164/

317. Leucker TM, Weiss RG, Schär M, Bonanno G, Mathews L, Jones SR, et al. Coronary Endothelial Dysfunction Is Associated With Elevated Serum PCSK9 Levels in People With HIV Independent of Low-Density Lipoprotein Cholesterol. J Am Heart Assoc [Internet]. 25 sept 2018 [cité 17 mars 2023];7(19):e009996. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6404863/

318. Leucker TM, Gerstenblith G, Schär M, Brown TT, Jones SR, Afework Y, et al. Evolocumab, a PCSK9-Monoclonal Antibody, Rapidly Reverses Coronary Artery Endothelial Dysfunction in People Living With HIV and People With Dyslipidemia. J Am Heart Assoc [Internet]. 17 juill 2020 [cité 17 mars 2023];9(14):e016263. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7660736/

319. Xie Y, Wang Z, Liao H, Marley G, Wu D, Tang W. Epidemiologic, clinical, and laboratory findings of the COVID-19 in the current pandemic: systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis [Internet]. 2020

[cité 17 mars 2023];640. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC7457225/

320. Sabaka P, Koščálová A, Straka I, Hodosy J, Lipták R, Kmotorková B, et al. Role of interleukin 6 as a predictive factor for a severe course of Covid-19: retrospective data analysis of patients from a long-term care facility during Covid-19 outbreak. BMC Infect Dis [Internet]. 29 mars 2021 [cité 17 mars 2023];21:308. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8006112/

321. Navarese EP, Podhajski P, Gurbel PA, Grzelakowska K, Ruscio E, Tantry U, et al. PCSK9 Inhibition During the Inflammatory Stage of SARS-CoV-2 Infection. J Am Coll Cardiol [Internet]. 24 janv 2023 [cité 17 mars 2023];81(3):224-34. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9842071/

322. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. Nature [Internet]. 25 avr 2013 [cité 27 févr 2023];496(7446):504-7. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3651993/

323. Balsitis SJ, Coloma J, Castro G, Alava A, Flores D, McKerrow JH, et al. Tropism of dengue virus in mice and humans defined by viral nonstructural protein 3-specific immunostaining. Am J Trop Med Hyg. mars 2009;80(3):416-24.

324. Nisalak A, Halstead SB, Singharaj P, Udomsakdi S, Nye SW, Vinijchaikul K. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. 3. Virologic studies of fatal disease. Yale J Biol Med [Internet]. avr 1970 [cité 17 mars 2023];42(5):293-310. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2591707/

325. Wilder-Smith A, Ooi EE, Horstick O, Wills B. Dengue. Lancet. 26 janv 2019;393(10169):350-63.

326. Gan ES, Tan HC, Le DHT, Huynh TT, Wills B, Seidah NG, et al. Dengue virus induces PCSK9 expression to alter antiviral responses and disease outcomes. J Clin Invest [Internet]. 2020 [cité 27 févr 2023];130(10):5223-34. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7524462/

327. Gordon JW, Shaw JA, Kirshenbaum LA. Multiple facets of NF-κB in the heart: to be or not to NF-κB. Circ Res. 29 avr 2011;108(9):1122-32.

328. Badimon L, Luquero A, Crespo J, Peña E, Borrell-Pages M. PCSK9 and LRP5 in macrophage lipid internalization and inflammation. Cardiovascular Research [Internet]. 1 août 2021 [cité 3 avr 2023];117(9):2054-68. Disponible sur: https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa254

329. Scalise V, Sanguinetti C, Neri T, Cianchetti S, Lai M, Carnicelli V, et al. PCSK9 Induces Tissue Factor Expression by Activation of TLR4/NFkB Signaling. Int J Mol Sci [Internet]. 23 nov 2021 [cité 3 avr 2023];22(23):12640. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8657476/

330. Olaniyi KS, Areloegbe SE. Suppression of PCSK9/NF-kB-dependent pathways by acetate ameliorates cardiac inflammation in a rat model of polycystic ovarian syndrome. Life Sciences [Internet]. 1 juill 2022 [cité 3 avr 2023];300:120560. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320522002600

331. Farkona S, Diamandis EP, Blasutig IM. Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? BMC Medicine [Internet]. 5 mai 2016 [cité 21 mars 2023];14(1):73. Disponible sur: https://doi.org/10.1186/s12916-016-0623-5

332. Antalis CJ, Uchida A, Buhman KK, Siddiqui RA. Migration of MDA-MB-231 breast cancer cells depends on the availability of exogenous lipids and cholesterol esterification. Clin Exp Metastasis. déc 2011;28(8):733-41.

333. Clayman RV, Gonzalez R, Elliott AY, Gleason DE, Dempsey ME. Cholesterol accumulation in heterotransplanted renal cell cancer. J Urol. mars 1983;129(3):621-4.

334. Menendez J, Lupu R. Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis. Nat Rev Cancer [Internet]. 2007 [cité 21 mars 2023];10(7):763-77. Disponible sur: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17882277/

335. Kidani Y, Elsaesser H, Hock MB, Vergnes L, Williams KJ, Argus JP, et al. The sterol regulatory element binding proteins are essential for the metabolic programming of effector T cells and adaptive immunity.

Immunol [Internet]. 2013 [cité 3 avr 2023];14(5):489-99. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC3652626/

336. Wang F, Benck-Garcia K, Zorzin C, Schamel W, Davis M. Inhibition of T cell receptor signaling by cholesterol sulfate, a naturally occurring derivative of membrane cholesterol. Immunol [Internet]. 2016 [cité 3 avr 2023];17(7):844-50. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC4916016/

337. Yang W, Bai Y, Xiong Y, Zhang J, Chen S, Zheng X, et al. Potentiating the antitumour response of CD8+ T cells by modulating cholesterol metabolism. Nature [Internet]. 31 mars 2016 [cité 5 avr 2020];531(7596):651-5. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4851431/

338. Ma X, Bi E, Huang C, Lu Y, Xue G, Guo X, et al. Cholesterol negatively regulates IL-9–producing CD8+ T cell differentiation and antitumor activity. J Exp Med [Internet]. 4 juin 2018 [cité 3 avr 2023];215(6):1555-69. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5987919/

339. Marinus A. European organisation for research and treatment of cancer. Qual Assur J [Internet]. déc 2002 [cité 23 mars 2023];6(4):251-7. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/qaj.188

340. Torre LA, Islami F, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer in Women: Burden and Trends. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. avr 2017;26(4):444-57.

341. Zhai B, Sun XY. Mechanisms of resistance to sorafenib and the corresponding strategies in hepatocellular carcinoma. World J Hepatol [Internet]. 27 juill 2013 [cité 23 mars 2023];5(7):345-52. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3724962/

342. Le Grazie M, Biagini MR, Tarocchi M, Polvani S, Galli A. Chemotherapy for hepatocellular carcinoma: The present and the future. World J Hepatol [Internet]. 2017 [cité 23 mars 2023];21(9):907-20. Disponible sur: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28824742/

343. Zhang SZ, Zhu XD, Feng LH, Li XL, Liu XF, Sun HC, et al. PCSK9 promotes tumor growth by inhibiting tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma. Exp Hematol Oncol [Internet]. 31 mars 2021 [cité 23 mars 2023];10:25. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8011384/

344. He M, Hu J, Fang T, Tang W, Lv B, Yang B, et al. Protein convertase subtilisin/Kexin type 9 inhibits hepatocellular carcinoma growth by interacting with GSTP1 and suppressing the JNK signaling pathway. Cancer Biol Med [Internet]. 15 janv 2022 [cité 23 mars 2023];19(1):90-103. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8763006/

345. Bhat M, Skill N, Marcus V, Deschenes M, Tan X, Bouteaud J, et al. Decreased PCSK9 expression in human hepatocellular carcinoma. BMC Gastroenterol [Internet]. 16 déc 2015 [cité 23 mars 2023];15:176. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4682218/

346. Fasolato S, Pigozzo S, Pontisso P, Angeli P, Ruscica M, Savarino E, et al. PCSK9 Levels Are Raised in Chronic HCV Patients with Hepatocellular Carcinoma. J Clin Med [Internet]. 28 sept 2020 [cité 23 mars 2023];9(10):3134. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7600304/

347. Abdelwahed KS, Siddique AB, Mohyeldin MM, Qusa MH, Goda AA, Singh SS, et al. Pseurotin A as a Novel Suppressor of Hormone Dependent Breast Cancer Progression and Recurrence by Inhibiting PCSK9 Secretion and Interaction with LDL Receptor. Pharmacol Res [Internet]. août 2020 [cité 23 mars 2023];158:104847. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8045554/

348. Momtazi-Borojeni AA, Nik ME, Jaafari MR, Banach M, Sahebkar A. Effects of immunization against PCSK9 in an experimental model of breast cancer. Arch Med Sci [Internet]. mai 2019 [cité 21 mars 2023];15(3):570-9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6524183/

349. Nowak C, Ärnlöv J. A Mendelian randomization study of the effects of blood lipids on breast cancer risk. Nat Commun [Internet]. 27 sept 2018 [cité 21 mars 2023];9:3957. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6160471/

350. Xu X, Cui Y, Cao L, Zhang Y, Yin Y, Hu X. PCSK9 regulates apoptosis in human lung adenocarcinoma A549 cells via endoplasmic reticulum stress and mitochondrial signaling pathways. Exp Ther Med [Internet]. mai 2017 [cité 21 mars 2023];13(5):1993-9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5443240/

351. Bonaventura A, Grossi F, Montecucco F. PCSK9 is a promising prognostic marker in patients with advanced NSCLC. Cancer Immunol Immunother. mars 2020;69(3):491-2.

352. Gao X, Yi L, Jiang C, Li S, Wang X, Yang B, et al. PCSK9 regulates the efficacy of immune checkpoint therapy in lung cancer. Front Immunol. 2023;14:1142428.

353. Gu Y, Lin X, Dong Y, Wood G, Seidah NG, Werstuck G, et al. PCSK9 facilitates melanoma pathogenesis via a network regulating tumor immunity. J exp Clin Cancer Res [Internet]. 2023 [cité 3 avr 2023];42(2). Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC9806914/

354. Barberá-Guillem E, Alonso-Varona A, Vidal-Vanaclocha F. Selective implantation and growth in rats and mice of experimental liver metastasis in acinar zone one. Cancer Res. 15 juill 1989;49(14):4003-10.

355. Sun X, Essalmani R, Day R, Khatib AM, Seidah NG, Prat A. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Deficiency Reduces Melanoma Metastasis in Liver. Neoplasia [Internet]. déc 2012 [cité 23 mars 2023];14(12):1122-31. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3540939/

356. Momtazi-Borojeni AA, Nik ME, Jaafari MR, Banach M, Sahebkar A. Effects of immunisation against PCSK9 in mice bearing melanoma. Arch Med Sci [Internet]. 31 déc 2019 [cité 3 avr 2023];16(1):189-99. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6963136/

357. Wang L, Li S, Luo H, Lu Q, Yu S. PCSK9 promotes the progression and metastasis of colon cancer cells through regulation of EMT and PI3K/AKT signaling in tumor cells and phenotypic polarization of macrophages. J Exp Clin Cancer Res [Internet]. 14 oct 2022 [cité 4 août 2023];41:303. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9563506/

358. Wong CC, Wu JL, Ji F, Kang W, Bian X, Chen H, et al. The cholesterol uptake regulator PCSK9 promotes and is a therapeutic target in APC/KRAS-mutant colorectal cancer. Nat Commun [Internet]. 8 juill 2022 [cité 31 janv 2023];13(1):3971. Disponible sur: https://www.nature.com/articles/s41467-022-31663-z

359. Wang R, Liu H, He P, An D, Guo X, Zhang X, et al. Inhibition of PCSK9 enhances the antitumor effect of PD-1 inhibitor in colorectal cancer by promoting the infiltration of CD8+ T cells and the exclusion of Treg cells. Front Immunol [Internet]. 8 août 2022 [cité 3 avr 2023];13:947756. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9393481/

360. Guo W, Gao H, Li H, Ge S, Zhang F, Wang L, et al. Self-Assembly of a Multifunction DNA Tetrahedron for Effective Delivery of Aptamer PL1 and Pcsk9 siRNA Potentiate Immune Checkpoint Therapy for Colorectal Cancer. ACS Appl Mater Interfaces [Internet]. 20 juill 2022 [cité 3 avr 2023];14(28):31634-44. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9305706/

361. Thum E, Shao Z, Schwarz H. CD137, implications in immunity and potential for therapy. FBL [Internet]. 1 janv 2009 [cité 1 sept 2023];14(11):4173-88. Disponible sur: https://www.imrpress.com/journal/FBL/14/11/10.2741/3521

362. Yuan J, Cai T, Zheng X, Ren Y, Qi J, Lu X, et al. Potentiating CD8+ T cell antitumor activity by inhibiting PCSK9 to promote LDLR-mediated TCR recycling and signaling. Protein Cell [Internet]. avr 2021 [cité 3 avr 2023];12(4):240-60. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8018994/

363. Huber B. [100 years of allergy: Clemens von Pirquet - his idea of allergy and its immanent concept of disease]. Wien Klin Wochenschr. oct 2006;118(19-20):573-9.

364. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. Journal of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. janv 2018 [cité 12 sept 2019];141(1):41-58. Disponible sur: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674917317943

365. Dierick BJH, van der Molen T, Flokstra-de Blok BMJ, Muraro A, Postma MJ, Kocks JWH, et al. Burden and socioeconomics of asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis and food allergy. Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research [Internet]. 2 sept 2020 [cité 5 sept 2023];20(5):437-53. Disponible sur: https://doi.org/10.1080/14737167.2020.1819793

366. Savouré M, Bousquet J, Jaakkola JJK, Jaakkola MS, Jacquemin B, Nadif R. Worldwide prevalence of rhinitis in adults: A review of definitions and temporal evolution. Clin Transl Allergy [Internet]. 11 mars 2022 [cité 5 sept 2023];12(3):e12130. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8967272/

367. Pawankar R, Bunnag C, Chen Y, Fukuda T, Kim YY, Le LTT, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma update (ARIA 2008)--western and Asian-Pacific perspective. Asian Pac J Allergy Immunol [Internet]. 2009 [cité 17 mai 2023];27(4):237-43. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/20232579/

368. Vos T, Abajobir AA, Abate KH, Abbafati C, Abbas KM, Abd-Allah F, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. The Lancet [Internet]. 16 sept 2017 [cité 3 août 2023];390(10100):1211-59. Disponible sur: https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)32154-2/fulltext

369. Boinet T, Leroy-David C. L'asthme chez l'adulte. Actual Pharm [Internet]. févr 2021 [cité 3 août 2023];60(603):13-7. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7898985/

370. Dong W lan, An J, Yu M, Yin P, Xu T ling, Liu B, et al. The prevalence and year lived with disability of atopic dermatitis in China: Findings from the global burden of disease study 2019. World Allergy Organ J [Internet]. 9 nov 2021 [cité 22 mai 2023];14(11):100604. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8591460/

371. Kattan J, Wang J. Allergen Component Testing for Food Allergy: Ready for Prime Time? Curr Allergy Asthma Rep [Internet]. 2013 [cité 18 avr 2023];13(1):58-63. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC4276333/

372. Tsoi LC, Rodriguez E, Stölzl D, Wehkamp U, Sun J, Gerdes S, et al. Progression of acute-to-chronic atopic dermatitis is associated with quantitative rather than qualitative changes in cytokine responses. J Allergy Clin Immunol [Internet]. 2020 [cité 18 avr 2023];145(5):1406-15. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC7214216/

373. Fu T, Keiser E, Linos E, Rotatori RM, Sainani K, Lingala B, et al. Eczema and Sensitization to Common Allergens in the United States: A Multiethnic, Population-Based Study. Pediatric Dermatology [Internet]. 2014 [cité 5 sept 2023];31(1):21-6. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pde.12237

374. Singh AB, Kumar P. Climate change and allergic diseases: An overview. Front Allergy [Internet]. 13 oct 2022 [cité 5 sept 2023];3:964987. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9606573/

375. Chafen JJS, Newberry SJ, Riedl MA, Bravata DM, Maglione M, Suttorp MJ, et al. Diagnosing and managing common food allergies: a systematic review. JAMA. 12 mai 2010;303(18):1848-56.

376. Foong RX, Santos AF. Biomarkers of diagnosis and resolution of food allergy. Pediatr Allergy Immunol. févr 2021;32(2):223-33.

377. Verstege A, Mehl A, Rolinck-Werninghaus C, Staden U, Nocon M, Beyer K, et al. The predictive value of the skin prick test weal size for the outcome of oral food challenges. Clin Exp Allergy. sept 2005;35(9):1220-6.

378. Roberts G, Lack G. Food allergy–getting more out of your skin prick tests. Clinical & Experimental Allergy [Internet]. 2000 [cité 4 mai 2023];30(11):1495-8. Disponible sur: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2222.2000.00960.x

379. Santos AF, Douiri A, Bécares N, Wu SY, Stephens A, Radulovic S, et al. Basophil activation test discriminates between allergy and tolerance in peanut-sensitized children. J Allergy Clin Immunol [Internet]. sept 2014 [cité 4 mai 2023];134(3):645-52. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4164910/

380. Hemmings O, Kwok M, McKendry R, Santos AF. Basophil Activation Test: Old and New Applications in Allergy. Curr Allergy Asthma Rep. 15 nov 2018;18(12):77.

381. Plantier L, Beydon N, Chambellan A, Degano B, Delclaux C, Dewitte JD, et al. Recommandations pour le test de provocation bronchique à la méthacholine en pratique clinique, à partir de l'âge scolaire. Revue des Maladies Respiratoires [Internet]. sept 2018 [cité 5 sept 2023];35(7):759-75. Disponible sur: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S076184251830189X

382. Deschildre A. Test de provocation orale : indications. Revue Française d'Allergologie [Internet]. 1 mai 2021 [cité 5 sept 2023];61(4):213-5. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877032021000646

383. Licona-Limón P, Kim LK, Palm NW, Flavell RA. TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. Nat Immunol. juin 2013;14(6):536-42.

384. Drake LY, Kita H. IL-33: Biological Properties, Functions and Roles in Airway Disease. Immunol Rev [Internet]. juill 2017 [cité 7 sept 2023];278(1):173-84. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5492954/

385. Mitchell PD, Salter BM, Oliveria JP, El-Gammal A, Tworek D, Smith SG, et al. IL-33 and Its Receptor ST2 after Inhaled Allergen Challenge in Allergic Asthmatics. Int Arch Allergy Immunol. 2018;176(2):133-42.

386. Hammad H, Lambrecht BN. Barrier Epithelial Cells and the Control of Type 2 Immunity. Immunity [Internet]. 2015 [cité 21 avr 2023];43(1):29-40. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/26200011/

387. Crotty S. T Follicular Helper Cell Biology: A Decade of Discovery and Diseases. Immunity. 21 mai 2019;50(5):1132-48.

388. Gowthaman U, Sikder S, Lee D, Fisher C. T follicular helper cells in IgE-mediated pathologies. Curr Opin Immunol. févr 2022;74:133-9.

389. Gould HJ, Sutton BJ. IgE in allergy and asthma today. Nat Rev Immunol. mars 2008;8(3):205-17.

390. Bradding P, Arthur G. Mast cells in asthma--state of the art. Clin Exp Allergy. févr 2016;46(2):194-263.

391. Bax HJ, Keeble AH, Gould HJ. Cytokinergic IgE Action in Mast Cell Activation. Front Immunol. 2012;3:229.

392. Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. Nat Med. 4 mai 2012;18(5):693-704.

393. Johnston LK, Chien KB, Bryce PJ. The immunology of food allergy. J Immunol. 15 mars 2014;192(6):2529-34.

394. Boyman O, Kaegi C, Akdis M, Bavbek S, Bossios A, Chatzipetrou A, et al. EAACI IG Biologicals task force paper on the use of biologic agents in allergic disorders. Allergy [Internet]. 2015 [cité 16 juin 2019];70(7):727-54. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/all.12616

395. Mammen MJ, Ali J, Aurora A, Sharma UC, Aalinkeel R, Mahajan SD, et al. IL-17 Is a Key Regulator of Mucin-Galectin-3 Interactions in Asthma. Int J Cell Biol. 2021;2021:9997625.

396. Rincon M, Irvin CG. Role of IL-6 in asthma and other inflammatory pulmonary diseases. Int J Biol Sci. 2012;8(9):1281-90.

397. Margelidon-Cozzolino V, Tsicopoulos A, Chenivesse C, de Nadai P. Role of Th17 Cytokines in Airway Remodeling in Asthma and Therapy Perspectives. Front Allergy. 2022;3:806391.

398. Hermsdorff HH, Mansego ML, Campión J, Milagro FI, Zulet MA, Martínez JA. TNF-alpha promoter methylation in peripheral white blood cells: relationship with circulating TNFα, truncal fat and n-6 PUFA intake in young women. Cytokine. oct 2013;64(1):265-71.

399. Ober C, Yao TC. The Genetics of Asthma and Allergic Disease: A 21st Century Perspective. Immunol Rev [Internet]. 2011 [cité 18 avr 2023];242(1):10-30. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC3151648/

400. Lack G. Update on risk factors for food allergy. J Allergy Clin Immunol. mai 2012;129(5):1187-97.

401. Kivistö J, Clarke A, Dery A, De Schryver S, Shand G, Huhtala H, et al. Genetic and environmental susceptibility to food allergy in a registry of twins. J Allergy Clin Immunol Pract [Internet]. 2019 [cité 5 mai 2023];7(8):2916-8. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/31129075/

402. Demirdag Y, Bahna S. The role of genetics in food allergy. Expert Rev Clin Immunol. avr 2022;18(4):401-11.

403. Cabanillas B, Novak N. Atopic dermatitis and filaggrin. Curr Opin Immunol. oct 2016;42:1-8.

404. Eigenmann PA, Hauser C, Brüggen MC. Anomalies de la barrière cutanée dans la dermatite atopique : une piste pour de nouveaux traitements ? Rev Med Suisse [Internet]. 14 déc 2011 [cité 5 sept 2023];321(45):2453-6. Disponible sur: https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2011/revue-medicale-suisse-321/anomalies-de-la-barriere-cutanee-dans-la-dermatite-atopique-une-piste-pour-de-nouveaux-traitements

405. Palmer CNA, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. Nat Genet. avr 2006;38(4):441-6.

406. Rodríguez E, Baurecht H, Herberich E, Wagenpfeil S, Brown SJ, Cordell HJ, et al. Meta-analysis of filaggrin polymorphisms in eczema and asthma: Robust risk factors in atopic disease. Journal of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. 1 juin 2009 [cité 5 sept 2023];123(6):1361-1370.e7. Disponible sur: https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(09)00524-7/fulltext

407. Kalb B, Marenholz I, Jeanrenaud ACSN, Meixner L, Arnau-Soler A, Rosillo-Salazar OD, et al. Filaggrin loss-of-function mutations are associated with persistence of egg and milk allergy. Journal of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. 1 nov 2022 [cité 20 avr 2023];150(5):1125-34. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674922007655

408. Kostara M, Chondrou V, Sgourou A, Douros K, Tsabouri S. HLA Polymorphisms and Food Allergy Predisposition. J Pediatr Genet [Internet]. juin 2020 [cité 5 sept 2023];9(2):77-86. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7183399/

409. Paternoster L, Standl M, Chen CM, Ramasamy A, Bønnelykke K, Duijts L, et al. META-ANALYSIS OF GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES IDENTIFIES THREE NEW RISK LOCI FOR ATOPIC DERMATITIS. Nat Genet [Internet]. 25 déc 2011 [cité 5 sept 2023];44(2):187-92. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3272375/

410. Agache I, Akdis C, Jutel M, Virchow JC. Untangling asthma phenotypes and endotypes. Allergy. juill 2012;67(7):835-46.

411. Beghé B, Barton S, Rorke S, Peng Q, Sayers I, Gaunt T, et al. Polymorphisms in the interleukin-4 and interleukin-4 receptor alpha chain genes confer susceptibility to asthma and atopy in a Caucasian population. Clin Exp Allergy. août 2003;33(8):1111-7.

412. Bønnelykke K, Sleiman P, Nielsen K, Kreiner-Møller E, Mercader JM, Belgrave D, et al. A genome-wide association study identifies CDHR3 as a susceptibility locus for early childhood asthma with severe exacerbations. Nat Genet. janv 2014;46(1):51-5.

413. Jiang F, Yan A. IL-4 rs2243250 polymorphism associated with susceptibility to allergic rhinitis: a meta-analysis. Bioscience Reports [Internet]. 4 avr 2021 [cité 17 mai 2023];41(4). Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8065178/

414. Waage J, Standl M, Curtin JA, Jessen LE, Thorsen J, Tian C, et al. Genome-wide association and HLA fine-mapping studies identify risk loci and genetic pathways underlying allergic rhinitis. Nat Genet [Internet]. août 2018 [cité 17 mai 2023];50(8):1072-80. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7068780/

415. Luo Y, Zhou B, Zhao M, Tang J, Lu Q. Promoter demethylation contributes to TSLP overexpression in skin lesions of patients with atopic dermatitis. Clin Exp Dermatol. janv 2014;39(1):48-53.

416. Syed A, Garcia MA, Lyu SC, Bucayu R, Kohli A, Ishida S, et al. Peanut oral immunotherapy results in increased antigen-induced regulatory T-cell function and hypomethylation of forkhead box protein 3 (FOXP3). J Allergy Clin Immunol. févr 2014;133(2):500-10.

417. Hong X, Ladd-Acosta C, Hao K, Sherwood B, Ji H, Keet CA, et al. Epigenome-wide association study links site-specific DNA methylation changes with cow's milk allergy. J Allergy Clin Immunol [Internet]. sept 2016 [cité 15 mai 2023];138(3):908-911.e9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5392112/

418. Peng C, Van Meel ER, Cardenas A, Rifas-Shiman SL, Sonawane AR, Glass KR, et al. Epigenome-wide association study reveals methylation pathways associated with childhood allergic sensitization.

Epigenetics [Internet]. 28 mars 2019 [cité 20 avr 2023];14(5):445-66. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6557548/

419. Song Y, Liu C, Hui Y, Srivastava K, Zhou Z, Chen J, et al. Maternal allergy increases susceptibility to offspring allergy in association with Th2 biased epigenetic alterations in a mouse model of peanut allergy. J Allergy Clin Immunol [Internet]. déc 2014 [cité 18 avr 2023];134(6):1339-1345.e7. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4261001/

420. Martino D, Neeland M, Dang T, Cobb J, Ellis J, Barnett A, et al. Epigenetic dysregulation of naive CD4+ T-cell activation genes in childhood food allergy. Nat Commun [Internet]. 17 août 2018 [cité 24 avr 2023];9:3308. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6098117/

421. Acevedo N, Scala G, Merid SK, Frumento P, Bruhn S, Andersson A, et al. DNA Methylation Levels in Mononuclear Leukocytes from the Mother and Her Child Are Associated with IgE Sensitization to Allergens in Early Life. Int J Mol Sci [Internet]. 14 janv 2021 [cité 20 avr 2023];22(2):801. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7830007/

422. Wells JM, Brummer RJ, Derrien M, MacDonald TT, Troost F, Cani PD, et al. Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 1 mars 2017;312(3):G171-93.

423. Hackett TL, Shaheen F, Johnson A, Wadsworth S, Pechkovsky DV, Jacoby DB, et al. Characterization of side population cells from human airway epithelium. Stem Cells. oct 2008;26(10):2576-85.

424. Feng Y, Huang Y, Wang Y, Wang P, Song H, Wang F. Antibiotics induced intestinal tight junction barrier dysfunction is associated with microbiota dysbiosis, activated NLRP3 inflammasome and autophagy. PLOS ONE [Internet]. 18 juin 2019 [cité 7 sept 2023];14(6):e0218384. Disponible sur: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0218384

425. Passeron T, Zouboulis CC, Tan J, Andersen ML, Katta R, Lyu X, et al. Adult skin acute stress responses to short-term environmental and internal aggression from exposome factors. J Eur Acad Dermatol Venereol. oct 2021;35(10):1963-75.

426. Yokouchi M, Kubo A. Maintenance of tight junction barrier integrity in cell turnover and skin diseases. Exp Dermatol. août 2018;27(8):876-83.

427. De Benedetto A, Rafaels NM, McGirt LY, Ivanov AI, Georas SN, Cheadle C, et al. Tight junction defects in patients with atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. mars 2011;127(3):773-786.e1-7.

428. David Boothe W, Tarbox JA, Tarbox MB. Atopic Dermatitis: Pathophysiology. Adv Exp Med Biol. 2017;1027:21-37.

429. Benor S, Shani N, Etkin S, Bondar E, Kivity S, Langier S. Epicutaneous Exposure to Peanut Oil Induces Systemic and Pulmonary Allergic Reaction in Mice. Int Arch Allergy Immunol. 2019;179(3):187-91.

430. Chinuki Y, Morita E. Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis sensitized with hydrolyzed wheat protein in soap. Allergol Int. déc 2012;61(4):529-37.

431. Wan H, Winton HL, Soeller C, Taylor GW, Gruenert DC, Thompson PJ, et al. The transmembrane protein occludin of epithelial tight junctions is a functional target for serine peptidases from faecal pellets of Dermatophagoides pteronyssinus. Clin Exp Allergy. févr 2001;31(2):279-94.

432. Tarmure S, Alexescu TG, Orasan O, Negrean V, Sitar-Taut AV, Coste SC, et al. Influence of pesticides on respiratory pathology - a literature review. Ann Agric Environ Med. 19 juin 2020;27(2):194-200.

433. Tulic MK, Vivinus-Nébot M, Rekima A, Rabelo Medeiros S, Bonnart C, Shi H, et al. Presence of commensal house dust mite allergen in human gastrointestinal tract: a potential contributor to intestinal barrier dysfunction. Gut. mai 2016;65(5):757-66.

434. Wu M, Yang Y, Yuan L, Yang M, Wang L, Du X, et al. DNA methylation down-regulates integrin β4 expression in asthmatic airway epithelial cells. Clin Exp Allergy. oct 2020;50(10):1127-39.

435. Benedé S, Pérez-Rodríguez L, Martínez-Blanco M, Molina E, López-Fandiño R. Oral Exposure to House Dust Mite Activates Intestinal Innate Immunity. Foods. 9 mars 2021;10(3):561.

436. Shahana S, Björnsson E, Lúdvíksdóttir D, Janson C, Nettelbladt O, Venge P, et al. Ultrastructure of bronchial biopsies from patients with allergic and non-allergic asthma. In: Respiratory Medicine [Internet]. Elsevier; 2005 [cité 7 sept 2023]. p. 429-43. Disponible sur: https://abdn.pure.elsevier.com/en/publications/ultrastructure-of-bronchial-biopsies-from-patients-with-allergic-

437. Wawrzyniak P, Wawrzyniak M, Wanke K, Sokolowska M, Bendelja K, Rückert B, et al. Regulation of bronchial epithelial barrier integrity by type 2 cytokines and histone deacetylases in asthmatic patients. J Allergy Clin Immunol. janv 2017;139(1):93-103.

438. Nevo S, Kadouri N, Abramson J. Tuft cells: From the mucosa to the thymus. Immunol Lett. juin 2019;210:1-9.

439. Dollé L, Tran HQ, Etienne-Mesmin L, Chassaing B. Policing of gut microbiota by the adaptive immune system. BMC Medicine [Internet]. 12 févr 2016 [cité 8 sept 2023];14(1):27. Disponible sur: https://doi.org/10.1186/s12916-016-0573-y

440. Papadopoulou A, Mermiri D, Taousani S, Triga M, Nicolaidou P, Priftis KN. Bronchial hyper-responsiveness in selective IgA deficiency. Pediatr Allergy Immunol. sept 2005;16(6):495-500.

441. Liu YH, Tsai JJ. Production of salivary immunoglobulin A and suppression of Dermatophagoides pteronyssinus-induced airway inflammation by local nasal immunotherapy. Int Arch Allergy Immunol. oct 2005;138(2):161-8.

442. Järvinen KM, Martin H, Oyoshi MK. Immunomodulatory effects of breast milk on food allergy. Ann Allergy Asthma Immunol. août 2019;123(2):133-43.

443. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. BMJ [Internet]. 18 nov 1989 [cité 18 avr 2023];299(6710):1259-60. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1838109/

444. Wold AE. The hygiene hypotheslis revised: is the rising frequency of allergy due to changes in the intestinal flora? Allergy [Internet]. 1998 [cité 2 mai 2023];53(46):20-5. Disponible sur: https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.insermbiblio.inist.fr/doi/10.1111/j.1398-9995.1998.tb04953.x

445. Huang YJ, Marsland BJ, Bunyavanich S, O'Mahony L, Leung DYM, Muraro A, et al. The microbiome in allergic disease: Current understanding and future opportunities—2017 PRACTALL document of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. J Allergy Clin Immunol [Internet]. avr 2017 [cité 3 mai 2023];139(4):1099-110. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5899886/

446. Ling Z, Li Z, Liu X, Cheng Y, Luo Y, Tong X, et al. Altered Fecal Microbiota Composition Associated with Food Allergy in Infants. Appl Environ Microbiol [Internet]. 2014 [cité 24 avr 2023];80(8):2546-54. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC3993190/

447. Omenetti S, Pizarro TT. The Treg/Th17 Axis: A Dynamic Balance Regulated by the Gut Microbiome. Front Immunol. 2015;6:639.

448. Beaumont M, Paës C, Mussard E, Knudsen C, Cauquil L, Aymard P, et al. Gut microbiota derived metabolites contribute to intestinal barrier maturation at the suckling-to-weaning transition. Gut Microbes. 2 sept 2020;11(5):1268-86.

449. Kemter AM, Nagler CR. Influences on allergic mechanisms through gut, lung, and skin microbiome exposures. J Clin Invest [Internet]. 2019 [cité 8 sept 2023];129(4):1483-92. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6436857/

450. van den Elsen LWJ, Garssen J, Burcelin R, Verhasselt V. Shaping the Gut Microbiota by Breastfeeding: The Gateway to Allergy Prevention? Front Pediatr. 2019;7:47.

451. Sudo N, Sawamura S, Tanaka K, Aiba Y, Kubo C, Koga Y. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. J Immunol. 15 août 1997;159(4):1739-45.

452. Furrie E, Turner MW, Strobel S. Failure of SCID mice to generate an oral tolerogen after a feed of ovalbumin: a role for a functioning gut-associated lymphoid system. Immunology [Internet]. 1994 [cité 2 mai

2023];83(4):562-7. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC1415066/

453. Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. Cell. 15 juill 2005;122(1):107-18.

454. Rodriguez B, Prioult G, Bibiloni R, Nicolis I, Mercenier A, Butel MJ, et al. Germ-free status and altered caecal subdominant microbiota are associated with a high susceptibility to cow's milk allergy in mice. FEMS Microbiology Ecology [Internet]. 2011 [cité 4 mai 2023];76(1):133-44. Disponible sur: https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.insermbiblio.inist.fr/doi/10.1111/j.1574-6941.2010.01035.x

455. Nance CL, Deniskin R, Diaz VC, Paul M, Anvari S, Anagnostou A. The Role of the Microbiome in Food Allergy: A Review. Children (Basel). 26 mai 2020;7(6):50.

456. Noval-Rivas M, Burton OT, Wise P, Zhang Y qian, Hobson S, Garcia Lloret M, et al. A microbiota signature associated with experimental food allergy promotes allergic sensitization and anaphylaxis. J Allergy Clin Immunol [Internet]. 2013 [cité 2 mai 2023];131(1):201-12. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/23201093/

457. Stefka AT, Feehley T, Tripathi P, Qiu J, McCoy K, Mazmanian SK, et al. Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 9 sept 2014 [cité 21 avr 2023];111(36):13145-50. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4246970/

458. Secher T, Payros D, Brehin C, Boury M, Watrin C, Gillet M, et al. Oral tolerance failure upon neonatal gut colonization with Escherichia coli producing the genotoxin colibactin. Infect Immun. juin 2015;83(6):2420-9.

459. Tsabouri S, Priftis K, Chaliasos N, Siamopoulou A. Modulation of gut microbiota downregulates the development of food allergy in infancy. Allergol Immunopathol [Internet]. 2014 [cité 3 mai 2023];42(1):69-77. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/23827644/

460. Azad MB, Konya T, Guttman DS, Field CJ, Sears MR, HayGlass KT, et al. Infant gut microbiota and food sensitization: associations in the first year of life. Clin Exp Allergy [Internet]. 2015 [cité 24 avr 2023];45(3):632-43. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/25599982/

461. Bunyavanich S, Shen N, Grishin A, Wood R, Burks W, Dawson P, et al. Early-life gut microbiome composition and milk allergy resolution. J Allergy Clin Immunol. oct 2016;138(4):1122-30.

462. Hua X, Goedert JJ, Pu A, Yu G, Shi J. Allergy associations with the adult fecal microbiota: Analysis of the American Gut Project. EBioMedicine. janv 2016;3:172-9.

463. Lee KH, Song Y, Wu W, Yu K, Zhang G. The gut microbiota, environmental factors, and links to the development of food allergy. Clinical and Molecular Allergy [Internet]. 2020 [cité 18 avr 2023];18(5). Disponible sur: https://clinicalmolecularallergy.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12948-020-00120-x

464. Lee MJ, Kang MJ, Lee SY, Lee E, Kim K, Won S, et al. Perturbations of gut microbiome genes in infants with atopic dermatitis according to feeding type. J Allergy Clin Immunol. avr 2018;141(4):1310-9.

465. Begley L, Madapoosi S, Opron K, Ndum O, Baptist A, Rysso K, et al. Gut microbiota relationships to lung function and adult asthma phenotype: a pilot study. BMJ Open Respiratory Research [Internet]. 1 sept 2018 [cité 8 sept 2023];5(1):e000324. Disponible sur: https://bmjopenrespres.bmj.com/content/5/1/e000324

466. Demirci M, Tokman HB, Uysal HK, Demiryas S, Karakullukcu A, Saribas S, et al. Reduced Akkermansia muciniphila and Faecalibacterium prausnitzii levels in the gut microbiota of children with allergic asthma. Allergol Immunopathol (Madr). 2019;47(4):365-71.

467. Barcik W, Boutin RCT, Sokolowska M, Finlay BB. The Role of Lung and Gut Microbiota in the Pathology of Asthma. Immunity [Internet]. 18 févr 2020 [cité 8 sept 2023];52(2):241-55. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7128389/

468. Essilfie AT, Simpson JL, Dunkley ML, Morgan LC, Oliver BG, Gibson PG, et al. Combined Haemophilus influenzae respiratory infection and allergic airways disease drives chronic infection and features of neutrophilic asthma. Thorax [Internet]. 1 juill 2012 [cité 8 sept 2023];67(7):588-99. Disponible sur: https://thorax.bmj.com/content/67/7/588

469. Alnahas S, Hagner S, Raifer H, Kilic A, Gasteiger G, Mutters R, et al. IL-17 and TNF-α Are Key Mediators of Moraxella catarrhalis Triggered Exacerbation of Allergic Airway Inflammation. Front Immunol [Internet]. 14 nov 2017 [cité 8 sept 2023];8:1562. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5694487/

470. Durack J, Lynch SV, Nariya S, Bhakta NR, Beigelman A, Castro M, et al. Features of the bronchial bacterial microbiome associated with atopy, asthma and responsiveness to inhaled corticosteroid treatment. J Allergy Clin Immunol [Internet]. juill 2017 [cité 8 sept 2023];140(1):63-75. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5502827/

471. Wesemann DR, Nagler CR. The Microbiome, Timing, and Barrier Function in the Context of Allergic Disease. Immunity. 19 avr 2016;44(4):728-38.

472. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. Nat Rev Microbiol. avr 2011;9(4):244-53.

473. Hanski I, von Hertzen L, Fyhrquist N, Koskinen K, Torppa K, Laatikainen T, et al. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 22 mai 2012 [cité 8 sept 2023];109(21):8334-9. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3361383/

474. Meylan P, Lang C, Mermoud S, Johannsen A, Norrenberg S, Hohl D, et al. Skin Colonization by Staphylococcus aureus Precedes the Clinical Diagnosis of Atopic Dermatitis in Infancy. J Invest Dermatol. déc 2017;137(12):2497-504.

475. Totté JEE, van der Feltz WT, Hennekam M, van Belkum A, van Zuuren EJ, Pasmans SGMA. Prevalence and odds of Staphylococcus aureus carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. Br J Dermatol. oct 2016;175(4):687-95.

476. Tsilochristou O, du Toit G, Sayre PH, Roberts G, Lawson K, Sever ML, et al. Association of Staphylococcus aureus colonization with food allergy occurs independently of eczema severity. J Allergy Clin Immunol. août 2019;144(2):494-503.

477. Kohli A, Garcia MA, Miller RL, Maher C, Humblet O, Hammond SK, et al. Secondhand smoke in combination with ambient air pollution exposure is associated with increasedx CpG methylation and decreased expression of IFN-γ in T effector cells and Foxp3 in T regulatory cells in children. Clin Epigenetics [Internet]. 25 sept 2012 [cité 24 avr 2023];4(1):17. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3483214/

478. Wang IJ, Chen SL, Lu TP, Chuang EY, Chen PC. Prenatal smoke exposure, DNA methylation, and childhood atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. mai 2013;43(5):535-43.

479. Besingi W, Johansson A. Smoke-related DNA methylation changes in the etiology of human disease. Hum Mol Genet. 1 mai 2014;23(9):2290-7.

480. Sofer T, Baccarelli A, Cantone L, Coull B, Maity A, Lin X, et al. Exposure to airborne particulate matter is associated with methylation pattern in the asthma pathway. Epigenomics [Internet]. avr 2013 [cité 24 avr 2023];5(2):147-54. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3767408/

481. Alfvén T, Braun-Fahrländer C, Brunekreef B, von Mutius E, Riedler J, Scheynius A, et al. Allergic diseases and atopic sensitization in children related to farming and anthroposophic lifestyle--the PARSIFAL study. Allergy. avr 2006;61(4):414-21.

482. Michel S, Busato F, Genuneit J, Pekkanen J, Dalphin JC, Riedler J, et al. Farm exposure and time trends in early childhood may influence DNA methylation in genes related to asthma and allergy. Allergy. mars 2013;68(3):355-64.

483. Fujimura KE, Johnson CC, Ownby DR, Cox MJ, Brodie EL, Havstad SL, et al. Man's best friend? The effect of pet ownership on house dust microbial communities. J Allergy Clin Immunol. août 2010;126(2):410-2, 412.e1-3.

484. Metsälä J, Lundqvist A, Virta LJ, Kaila M, Gissler M, Virtanen SM. Mother's and offspring's use of antibiotics and infant allergy to cow's milk. Epidemiology. mars 2013;24(2):303-9.

485. Ownby DR, Johnson CC, Peterson EL. Exposure to dogs and cats in the first year of life and risk of allergic sensitization at 6 to 7 years of age. JAMA. 28 août 2002;288(8):963-72.

486. Milner JD, Stein DM, McCarter R, Moon RY. Early infant multivitamin supplementation is associated with increased risk for food allergy and asthma. Pediatrics. juill 2004;114(1):27-32.

487. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. J Allergy Clin Immunol. juin 2005;115(6):1109-17; quiz 1118.

488. Morrison D, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. Gut Microbes [Internet]. 2016 [cité 3 mai 2023];7(3):189-200. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC4939913/

489. Schülke S, Albrecht M. Mouse Models for Food Allergies: Where Do We Stand? Cells. 6 juin 2019;8(6):546.

490. Aun MV, Bonamichi-Santos R, Arantes-Costa FM, Kalil J, Giavina-Bianchi P. Animal models of asthma: utility and limitations. J Asthma Allergy. 2017;10:293-301.

491. Bøgh KL, van Bilsen J, Głogowski R, López-Expósito I, Bouchaud G, Blanchard C, et al. Current challenges facing the assessment of the allergenic capacity of food allergens in animal models. Clinical and Translational Allergy [Internet]. 2016 [cité 16 sept 2023];6(1):21. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1186/s13601-016-0110-2

492. Denery-Papini S, Bodinier M, Pineau F, Triballeau S, Tranquet O, Adel-Patient K, et al. Immunoglobulin-E-binding epitopes of wheat allergens in patients with food allergy to wheat and in mice experimentally sensitized to wheat proteins. Clin Exp Allergy. oct 2011;41(10):1478-92.

493. Fox AT, Sasieni P, Du Toit G, Syed H, Lack G. Household peanut consumption as a risk factor for the development of peanut allergy. Journal of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. févr 2009 [cité 16 sept 2023];123(2):417-23. Disponible sur: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674908024317

494. Dijoux E, Klein M, Misme-Aucouturier B, Cheminant MA, de Carvalho M, Collin L, et al. Allergic Sensitization Driving Immune Phenotyping and Disease Severity in a Mouse Model of Asthma. Allergy Asthma Immunol Res [Internet]. 3 janv 2023 [cité 16 sept 2023];15(2):246-61. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10079520/

495. Brandt EB, Strait RT, Hershko D, Wang Q, Muntel EE, Scribner TA, et al. Mast cells are required for experimental oral allergen-induced diarrhea. J Clin Invest. déc 2003;112(11):1666-77.

496. Smit JJ, Willemsen K, Hassing I, Fiechter D, Storm G, Van Bloois L, et al. Contribution of Classic and Alternative Effector Pathways in Peanut-Induced Anaphylactic Responses. Zimmer J, éditeur. PLoS ONE [Internet]. 14 déc 2011 [cité 16 sept 2023];6(12):e28917. Disponible sur: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0028917

497. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, Health and Medicine Division, Food and Nutrition Board, Committee on Food Allergies: Global Burden, Causes, Treatment, Prevention, and Public Policy. Finding a Path to Safety in Food Allergy: Assessment of the Global Burden, Causes, Prevention, Management, and Public Policy [Internet]. Oria MP, Stallings VA, éditeurs. Washington (DC): National Academies Press (US); 2016 [cité 19 avr 2023]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK435943/

498. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A, et al. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. Allergy. août 2014;69(8):992-1007.

499. Gupta RS, Warren CM, Smith BM, Jiang J, Blumenstock JA, Davis MM, et al. Prevalence and Severity of Food Allergies Among US Adults. JAMA Netw Open [Internet]. 4 janv 2019 [cité 5 mai 2023];2(1):e185630. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6324316/

500. Tamazouzt S, Adel-Patient K, Deschildre A, Roduit C, Charles MA, de Lauzon-Guillain B, et al. Prevalence of Food Allergy in France up to 5.5 Years of Age: Results from the ELFE Cohort. Nutrients [Internet]. 2 sept 2022 [cité 25 mai 2023];14(17):3624. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9459788/

501. European academy of allergy and clinical immunology. Déclaration publique relative aux allergies alimentaires et à l'anaphylaxie. 2015.

502. Moonesinghe H, Mackenzie H, Venter C, Kilburn S, Turner P, Weir K, et al. Prevalence of fish and shellfish allergy: A systematic review. Ann Allergy Asthma Immunol [Internet]. 2016 [cité 19 avr 2023];117(3):264-72. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/27613460/

503. Panesar SS, Javad S, de Silva D, Nwaru BI, Hickstein L, Muraro A, et al. The epidemiology of anaphylaxis in Europe: a systematic review. Allergy. nov 2013;68(11):1353-61.

504. Seth D, Poowutikul P, Pansare M, Kamat D. Food Allergy: A Review. Pediatr Ann. 1 janv 2020;49(1):e50-8.

505. McWilliam V, Koplin J, Lodge C, Tang M, Dharmage S, Allen K. The Prevalence of Tree Nut Allergy: A Systematic Review. Curr Allergy Asthma Rep. sept 2015;15(9):54.

506. Prescott SL, Pawankar R, Allen KJ, Campbell DE, Sinn JK, Fiocchi A, et al. A global survey of changing patterns of food allergy burden in children. World Allergy Organ J. 4 déc 2013;6(1):21.

507. Szépfalusi Z, Spiesz K, Huttegger I. [Diagnostics and management of food allergies in childhood and adolescence]. Wien Med Wochenschr. sept 2015;165(17-18):354-60.

508. Samady W, Trainor J, Smith B, Gupta R. Food-induced anaphylaxis in infants and children. Ann Allergy Asthma Immunol [Internet]. 2018 [cité 5 mai 2023];121(3):360-5. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/29860051/

509. Savage J, Sicherer S, Wood R. The Natural History of Food Allergy. J Allergy Clin Immunol Pract. 2016;4(2):196-203; quiz 204.

510. Sicherer SH, Wood R, Vickery B, Jones SM, Liu A, Fleischer D, et al. The natural history of egg allergy in an observational cohort - PubMed. J Allergy Clin Immunol [Internet]. 2014 [cité 20 avr 2023];133(2):492-9. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/24636473/

511. Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleischer DM, et al. The natural history of milk allergy in an observational cohort. J Allergy Clin Immunol. mars 2013;131(3):805-12.

512. Ginsburg GS, Schlossberg MC. Family-based treatment of childhood anxiety disorders. International Review of Psychiatry. 2002;14:143-54.

513. Sicherer SH, Noone SA, Muñoz-Furlong A. The impact of childhood food allergy on quality of life. Ann Allergy Asthma Immunol. déc 2001;87(6):461-4.

514. Avery NJ, King RM, Knight S, Hourihane JO. Assessment of quality of life in children with peanut allergy. Pediatric Allergy and Immunology [Internet]. 2003 [cité 5 mai 2023];14(5):378-82. Disponible sur: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1399-3038.2003.00072.x

515. Feng C, Kim JH. Beyond Avoidance: the Psychosocial Impact of Food Allergies. Clin Rev Allergy Immunol. août 2019;57(1):74-82.

516. Springston EE, Smith B, Shulruff J, Pongracic J, Holl J, Gupta RS. Variations in quality of life among caregivers of food allergic children. Ann Allergy Asthma Immunol. oct 2010;105(4):287-94.

517. Bollinger ME, Dahlquist LM, Mudd K, Sonntag C, Dillinger L, McKenna K. The impact of food allergy on the daily activities of children and their families. Ann Allergy Asthma Immunol [Internet]. 2006 [cité 19 avr 2023];96(3):415-21. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/16597075/

518. Walkner M, Warren C, Gupta RS. Quality of Life in Food Allergy Patients and Their Families. Pediatr Clin North Am. déc 2015;62(6):1453-61.

519. Shaker MS, Schwartz J, Ferguson M. An update on the impact of food allergy on anxiety and quality of life. Curr Opin Pediatr. août 2017;29(4):497-502.

520. Gupta RS, Holdford D, Bilaver L, Dyer A, Holl JL, Meltzer D. The economic impact of childhood food allergy in the United States. JAMA Pediatr [Internet]. 2013 [cité 19 avr 2023];167(11):1026-31. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/24042236/

521. Berin MC, Sampson HA. Mucosal Immunology of Food Allergy. Curr Biol [Internet]. 6 mai 2013 [cité 10 mai 2023];23(9):R389-400. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3667506/

522. Ménard S, Cerf-Bensussan N, Heyman M. Multiple facets of intestinal permeability and epithelial handling of dietary antigens. Mucosal Immunol. mai 2010;3(3):247-59.

523. Niess JH, Brand S, Gu X, Landsman L, Jung S, McCormick BA, et al. CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. Science. 14 janv 2005;307(5707):254-8.

524. Shiokawa A, Kotaki R, Takano T, Nakajima-Adachi H, Hachimura S. Mesenteric lymph node CD11b-CD103+ PD-L1High dendritic cells highly induce regulatory T cells. Immunology. sept 2017;152(1):52-64.

525. Worbs T, Bode U, Yan S, Hoffmann M, Hintzen G, Bernhardt G, et al. Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells. J Exp Med [Internet]. 2006 [cité 21 avr 2023];203(3):519-27. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC2118247/

526. Matteoli G, Mazzini E, Iliev I, Mileti E, Fallarino F, Puccetti P, et al. Gut CD103+ dendritic cells express indoleamine 2,3-dioxygenase which influences T regulatory/T effector cell balance and oral tolerance induction. Gut [Internet]. 2010 [cité 21 avr 2023];59(5):595-604. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/20427394/

527. Jaensson E, Uronen-Hansson H, Pabst O, Eksteen B, Tian J, Coombes J, et al. Small intestinal CD103+ dendritic cells display unique functional properties that are conserved between mice and humans. J Exp Med [Internet]. 2008 [cité 21 avr 2023];205(9):2139-49. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC2526207/

528. Cassani B, Villablanca E, Quintana F, Love P, Lacy-Hulbert A, Blaner W, et al. Gut-tropic T Cells that Express Integrin α4β7 and CCR9 are Required for Induction of Oral Immune Tolerance in Mice. Gastroenterology [Internet]. 2011 [cité 21 avr 2023];141(6):2109-18. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC3222333/

529. Dubois B, Chapat L, Goubier A, Papiernik M, Nicolas JF, Kaiserlian D. Innate CD4+CD25+ regulatory T cells are required for oral tolerance and inhibition of CD8+ T cells mediating skin inflammation. Blood [Internet]. 2003 [cité 21 avr 2023];102(9):3295-301. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/12855551/

530. Torgerson TR, Linane A, Moes N, Anover S, Mateo V, Rieux-Laucat F, et al. Severe food allergy as a variant of IPEX syndrome caused by a deletion in a noncoding region of the FOXP3 gene. Gastroenterology. mai 2007;132(5):1705-17.

531. Prince BT, Devonshire AL, Erickson KA, Bergerson J, Fuleihan D, Szychlinski C, et al. Regulatory T-cell populations in children are affected by age and food allergy diagnosis. J Allergy Clin Immunol. oct 2017;140(4):1194-1196.e16.

532. Kim J, Kim BE, Lee J, Han Y, Jun HY, Kim H, et al. Epidermal thymic stromal lymphopoietin predicts the development of atopic dermatitis during infancy. J Allergy Clin Immunol. avr 2016;137(4):1282-1285.e4.

533. Tanoue T, Atarashi K, Honda K. Development and maintenance of intestinal regulatory T cells. Nat Rev Immunol [Internet]. mai 2016 [cité 18 avr 2023];16(5):295-309. Disponible sur: https://www.nature.com/articles/nri.2016.36

534. van de Veen W, Stanic B, Wirz O, Jansen K, Globinska A, Akdis M. Role of regulatory B cells in immune tolerance to allergens and beyond. J Allergy Clin Immunol [Internet]. 2016 [cité 2 mai 2023];138(3):654-65. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/27596706/

535. Chen CC, Kobayashi T, Iijima K, Hsu FC, Kita H. IL-33 dysregulates regulatory T cells and impairs established immunologic tolerance in the lungs. Journal of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. 1 nov 2017 [cité 2 mai 2023];140(5):1351-1363.e7. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674917302282

536. Muehling LM, Lawrence MG, Woodfolk JA. Pathogenic CD4+ T cells in patients with asthma. Journal of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. 1 déc 2017 [cité 2 mai 2023];140(6):1523-40. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674917304220

537. Noval Rivas M, Burton OT, Oettgen HC, Chatila T. IL-4 production by group 2 innate lymphoid cells promotes food allergy by blocking regulatory T-cell function. J Allergy Clin Immunol. sept 2016;138(3):801-811.e9.

538. Blázquez AB, Berin MC. Gastrointestinal dendritic cells promote Th2 skewing via OX40L. J Immunol. 1 avr 2008;180(7):4441-50.

539. Chu D, Llop-Guevara A, Walker T, Flader K, Goncharova S, Boudreau J, et al. IL-33, but not thymic stromal lymphopoietin or IL-25, is central to mite and peanut allergic sensitization. J Allergy Clin Immunol [Internet]. 2013 [cité 21 avr 2023];131(1):187-200. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/23006545/

540. Filep S, Chapman M. Doses of Specific Allergens in Early Introduction Foods for Prevention of Food Allergy. J Allergy Clin Immunol Pract [Internet]. 2022 [cité 18 avr 2023];10(1):150-8. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/33711495/

541. Skjerven HO, Lie A, Vettukattil R, Rehbinder EM, LeBlanc M, Asarnoj A, et al. Early food intervention and skin emollients to prevent food allergy in young children (PreventADALL): a factorial, multicentre, cluster-randomised trial. Lancet. 25 juin 2022;399(10344):2398-411.

542. Roduit C, Frei R, Depner M, Schaub B, Loss G, Genuneit J, et al. Increased food diversity in the first year of life is inversely associated with allergic diseases. J Allergy Clin Immunol. avr 2014;133(4):1056-64.

543. Sova C, Feuling MB, Baumler M, Gleason L, Tam JS, Zafra H, et al. Systematic Review of Nutrient Intake and Growth in Children with Multiple IgE-Mediated Food Allergies. Nutrition in Clinical Practice [Internet]. 2013 [cité 15 mai 2023];28(6):669-75. Disponible sur: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1177/0884533613505870

544. Luyt D, Ball H, Kirk K, Stiefel G. Diagnosis and management of food allergy in children. Paediatrics and Chils Health [Internet]. 2016 [cité 10 mai 2023];26(7):287-91. Disponible sur: https://www.semanticscholar.org/paper/Diagnosis-and-management-of-food-allergy-in-Luyt-Ball/7793401c32c848a477c6537dbf12f03565f7f9a7

545. Davis CM, Kelso JM. Food Allergy Management. Immunol Allergy Clin North Am. févr 2018;38(1):53-64.

546. Rodrigo GJ, Neffen H. Efficacy of fluticasone furoate nasal spray vs. placebo for the treatment of ocular and nasal symptoms of allergic rhinitis: a systematic review. 2011 [cité 17 mai 2023];41(2):160-70. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/21121980/

547. Jones SM, Burks AW, Dupont C. State of the art on food allergen immunotherapy: oral, sublingual, and epicutaneous. J Allergy Clin Immunol. févr 2014;133(2):318-23.

548. Licari A, Manti S, Marseglia A, Brambilla I, Votto M, Castagnoli R, et al. Food Allergies: Current and Future Treatments. Medicina (Kaunas) [Internet]. 1 mai 2019 [cité 19 avr 2023];55(5):120. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6571952/

549. Albuhairi S, Rachid R. Novel Therapies for Treatment of Food Allergy. Immunol Allergy Clin North Am [Internet]. 2020 [cité 19 avr 2023];40(1):175-86. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/31761117/

550. Yu W, Freeland DMH, Nadeau KC. Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. Nat Rev Immunol. déc 2016;16(12):751-65.

551. Enrique E, Pineda F, Malek T, Bartra J, Basagaña M, Tella R, et al. Sublingual immunotherapy for hazelnut food allergy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study with a standardized hazelnut extract. J Allergy Clin Immunol. nov 2005;116(5):1073-9.

552. Kerzl R, Simonowa A, Ring J, Ollert M, Mempel M. Life-threatening anaphylaxis to kiwi fruit: Protective sublingual allergen immunotherapy effect persists even after discontinuation. Journal of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. 1 févr 2007 [cité 17 mai 2023];119(2):507-8. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674906021233

553. Fernández-Rivas M, Garrido Fernández S, Nadal JA, Díaz de Durana MDA, García BE, González-Mancebo E, et al. Randomized double-blind, placebo-controlled trial of sublingual immunotherapy with a Pru p 3 quantified peach extract. Allergy. juin 2009;64(6):876-83.

554. Fleischer DM, Burks AW, Vickery BP, Scurlock AM, Wood RA, Jones SM, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. J Allergy Clin Immunol [Internet]. janv 2013 [cité 15 mai 2023];131(1):119-127.e7. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3550002/

555. Skripak JM, Nash SD, Rowley H, Brereton NH, Oh S, Hamilton RG, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. J Allergy Clin Immunol. déc 2008;122(6):1154-60.

556. Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW, et al. Oral Immunotherapy for Treatment of Egg Allergy in Children. N Engl J Med [Internet]. 19 juill 2012 [cité 15 mai 2023];367(3):233-43. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3424505/

557. Chinthrajah RS, Purington N, Andorf S, Long A, O'Laughlin KL, Lyu SC, et al. Sustained Outcomes in a Large Double-blind, Placebo-controlled, Randomized Phase 2 Study of Peanut Immunotherapy. Lancet [Internet]. 19 oct 2019 [cité 15 mai 2023];394(10207):1437-49. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6903389/

558. Nowak-Węgrzyn A, Wood RA, Nadeau KC, Pongracic JA, Henning AK, Lindblad RW, et al. Multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of vital wheat gluten oral immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. févr 2019;143(2):651-661.e9.

559. Dupont C, Kalach N, Soulaines P, Legoué-Morillon S, Piloquet H, Benhamou PH. Cow's milk epicutaneous immunotherapy in children: A pilot trial of safety, acceptability, and impact on allergic reactivity. Journal of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. 1 mai 2010 [cité 17 mai 2023];125(5):1165-7. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674910003921

560. Gibson G, Hutkins R, Sanders ME, Prescott S, Reimer R, Salminen S, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nat Rev Gastroentrol Hepatol [Internet]. 2017 [cité 10 mai 2023];14(8):491-502. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/28611480/

561. Awasthi S, Wilken R, Patel F, German JB, Mills DA, Lebrilla CB, et al. Dietary supplementation with Bifidobacterium longum subsp. infantis (B. infantis) in healthy breastfed infants: study protocol for a randomised controlled trial. Trials. 22 juill 2016;17(1):340.

562. Saliganti V, Kapila R, Sharma R, Kapila S. Feeding probiotic Lactobacillus rhamnosus (MTCC 5897) fermented milk to suckling mothers alleviates ovalbumin-induced allergic sensitisation in mice offspring. Br J Nutr. 28 oct 2015;114(8):1168-79.

563. Velez EMM, Maldonado Galdeano C, Carmuega E, Weill R, Bibas Bonet ME, Perdigón G. Probiotic fermented milk consumption modulates the allergic process induced by ovoalbumin in mice. Br J Nutr. 28 août 2015;114(4):566-76.

564. Vonk M, Blokhuis B, Diks M, Wagenaar L, Smit J, Pieters R, et al. Butyrate Enhances Desensitization Induced by Oral Immunotherapy in Cow's Milk Allergic Mice. Mediators Inflamm [Internet]. 2019 [cité 10 mai 2023]; Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC6360042/

565. Berni Canani R, Paparo L, Nocerino R, Di Scala C, Della Gatta G, Maddalena Y, et al. Gut Microbiome as Target for Innovative Strategies Against Food Allergy. Front Immunol [Internet]. 15 févr 2019 [cité 23 juill 2019];10. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6384262/

566. Tang MLK, Ponsonby AL, Orsini F, Tey D, Robinson M, Su EL, et al. Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: A randomized trial. J Allergy Clin Immunol. mars 2015;135(3):737-744.e8.

567. Roberfroid M. Prebiotics: the concept revisited. J Nutr [Internet]. 2007 [cité 10 mai 2023];137(3 Suppl 2):830S-837S. Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/17311983/

568. Bouchaud G, Castan L, Chesné J, Braza F, Aubert P, Neunlist M, et al. Maternal exposure to GOS/inulin mixture prevents food allergies and promotes tolerance in offspring in mice. Allergy. janv 2016;71(1):68-76.

569. Papadopoulos NG, Agache I, Bavbek S, Bilo BM, Braido F, Cardona V, et al. Research needs in allergy: an EAACI position paper, in collaboration with EFA. Clin Transl Allergy [Internet]. 2 nov 2012 [cité 18 sept 2023];2:21. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3539924/

570. Castan L, Villemin C, Claude M, Aubert P, Durand T, Neunlist M, et al. Acid-Hydrolyzed Gliadins Worsen Food Allergies through Early Sensitization. Mol Nutr Food Res [Internet]. sept 2018 [cité 14 mai 2019];62(17):1800159. Disponible sur: http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.201800159

571. Bouchaud G, Gehrke S, Krieg C, Kolios A, Hafner J, Navarini AA, et al. Epidermal IL-15Rα acts as an endogenous antagonist of psoriasiform inflammation in mouse and man. J Exp Med [Internet]. 23 sept 2013 [cité 31 janv 2023];210(10):2105-17. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3782049/

572. Frazer DG, Reynolds JS, Jackson MC. Determining when enhanced pause (Penh) is sensitive to changes in specific airway resistance. J Toxicol Environ Health A. 2011;74(5):287-95.

573. Berndt A, Leme AS, Williams LK, Smith RV, Savage HS, Stearns TM, et al. Comparison of unrestrained plethysmography and forced oscillation for identifying genetic variability of airway responsiveness in inbred mice. Physiol Genomics [Internet]. janv 2011 [cité 1 août 2023];43(1):1-11. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3026348/

574. Shalaby KH, Gold LG, Schuessler TF, Martin JG, Robichaud A. Combined forced oscillation and forced expiration measurements in mice for the assessment of airway hyperresponsiveness. Respir Res [Internet]. 2010 [cité 18 sept 2023];11(1):82. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2904286/

575. Sichien D, Lambrecht BN, Guilliams M, Scott CL. Development of conventional dendritic cells: from common bone marrow progenitors to multiple subsets in peripheral tissues. Mucosal Immunol. juill 2017;10(4):831-44.

576. Dong MB, Rahman MJ, Tarbell KV. Flow cytometric gating for spleen monocyte and DC subsets: differences in autoimmune NOD mice and with acute inflammation. J Immunol Methods. mai 2016;432:4-12.

577. Hu X, Wang Y, Hao LY, Liu X, Lesch CA, Sanchez BM, et al. Sterol metabolism controls TH17 differentiation by generating endogenous RORγ agonists. Nat Chem Biol [Internet]. févr 2015 [cité 31 janv 2023];11(2):141-7. Disponible sur: https://www.nature.com/articles/nchembio.1714

578. Manti S, Leonardi S, Panasiti I, Arrigo T, Salpietro C, Cuppari C. Serum IL-10, IL-17 and IL-23 levels as « bioumoral bridges » between dyslipidemia and atopy. Cytokine. 2017;99:43-9.

579. Gregory LG, Lloyd CM. Orchestrating house dust mite-associated allergy in the lung. Trends Immunol [Internet]. sept 2011 [cité 3 août 2023];32(9):402-11. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3381841/

580. Yamauchi K, Ogasawara M. The Role of Histamine in the Pathophysiology of Asthma and the Clinical Efficacy of Antihistamines in Asthma Therapy. Int J Mol Sci [Internet]. 8 avr 2019 [cité 3 août 2023];20(7):1733. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6480561/

581. Hassoun D, Moui A, Colas L, Blanc FX, Magnan A. Actualités physiopathologiques et thérapeutiques dans l'asthme sévère. La Revue de Médecine Interne [Internet]. 1 août 2019 [cité 3 août 2023];40(8):508-16. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0248866319304412

582. Gerald JK, Moreno FA. Asthma and Depression: It's Complicated. J Allergy Clin Immunol Pract. 2016;4(1):74-5.

583. Zielinski TA, Brown ES, Nejtek VA, Khan DA, Moore JJ, Rush AJ. Depression in Asthma: Prevalence and Clinical Implications. Prim Care Companion J Clin Psychiatry [Internet]. oct 2000 [cité 3 août 2023];2(5):153-8. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC181132/

584. Incorvaia C, Mauro M, Leo G, Ridolo E. Adherence to Sublingual Immunotherapy. Curr Allergy Asthma Rep [Internet]. 13 janv 2016 [cité 3 août 2023];16(2):12. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/s11882-015-0586-1

585. Tsabouri S, Mavroudi A, Feketea G, Guibas GV. Subcutaneous and Sublingual Immunotherapy in Allergic Asthma in Children. Front Pediatr [Internet]. 21 avr 2017 [cité 3 août 2023];5:82. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5399038/

586. Zhang J, Chen J, Newton GK, Perrior TR, Robinson C. Allergen Delivery Inhibitors: A Rationale for Targeting Sentinel Innate Immune Signaling of Group 1 House Dust Mite Allergens through Structure-Based Protease Inhibitor Design. Mol Pharmacol [Internet]. sept 2018 [cité 3 août 2023];94(3):1007-30. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6064784/

587. Quindry JC, Ballmann CG, Epstein EE, Selsby JT. Plethysmography measurements of respiratory function in conscious unrestrained mice. J Physiol Sci [Internet]. mars 2016 [cité 1 août 2023];66(2):157-64. Disponible sur: https://jps.biomedcentral.com/articles/10.1007/s12576-015-0408-1

588. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. J Immunol. 15 juin 2000;164(12):6166-73.

589. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. J Allergy Clin Immunol. mai 2004;113(5):832-6.

590. Spergel JM, Mizoguchi E, Brewer JP, Martin TR, Bhan AK, Geha RS. Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice. J Clin Invest [Internet]. 15 avr 1998 [cité 1 avr 2020];101(8):1614-22. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC508742/

591. Spergel JM. From atopic dermatitis to asthma: the atopic march. Ann Allergy Asthma Immunol. août 2010;105(2):99-106; quiz 107-9, 117.

592. von Kobyletzki L, Bornehag C, Hasselgren M, Larsson M, Lindström cB, Svensson A. Eczema in early childhood is strongly associated with the development of asthma and rhinitis in a prospective cohort. BMC Dermatol [Internet]. 27 juill 2012 [cité 3 avr 2020];12:11-11. Disponible sur: https://europepmc.org/article/med/22839963

593. Tariq S, Matthews S, Hakim E, Arshad S. Egg allergy in infancy predicts respiratory allergic disease by 4 years of age - Tariq - 2000 - Pediatric Allergy and Immunology - Wiley Online Library [Internet]. 2000 [cité 1 avr 2020]. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1399-3038.2000.00077.x

594. Alduraywish SA, Lodge CJ, Campbell B, Allen KJ, Erbas B, Lowe AJ, et al. The march from early life food sensitization to allergic disease: a systematic review and meta-analyses of birth cohort studies. Allergy. janv 2016;71(1):77-89.

595. van der Hulst AE, Klip H, Brand PLP. Risk of developing asthma in young children with atopic eczema: a systematic review. J Allergy Clin Immunol. sept 2007;120(3):565-9.

596. Amat F, Saint-Pierre P, Bourrat E, Nemni A, Couderc R, Boutmy-Deslandes E, et al. Early-Onset Atopic Dermatitis in Children: Which Are the Phenotypes at Risk of Asthma? Results from the ORCA Cohort. PLoS One [Internet]. 24 juin 2015 [cité 4 août 2023];10(6):e0131369. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4479437/

597. Warner JO, ETAC Study Group. Early Treatment of the Atopic Child. A double-blinded, randomized, placebo-controlled trial of cetirizine in preventing the onset of asthma in children with atopic dermatitis: 18 months' treatment and 18 months' posttreatment follow-up. J Allergy Clin Immunol. déc 2001;108(6):929-37.

598. Simons FER, Early Prevention of Asthma in Atopic Children (EPAAC) Study Group. Safety of levocetirizine treatment in young atopic children: An 18-month study. Pediatr Allergy Immunol. sept 2007;18(6):535-42.

599. Simpson M, Dotterud C, Storrø O, Johnsen R, Øien T. Perinatal probiotic supplementation in the prevention of allergy related disease: 6 year follow up of a randomised controlled trial. BMC dermatology [Internet]. 2015 [cité 10 mai 2023]; Disponible sur: https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/26232126/

600. Zolkipli Z, Roberts G, Cornelius V, Clayton B, Pearson S, Michaelis L, et al. Randomized controlled trial of primary prevention of atopy using house dust mite allergen oral immunotherapy in early childhood. J Allergy Clin Immunol. déc 2015;136(6):1541-1547.e11.

601. Castan L, Cheminant MA, Colas L, Brouard S, Magnan A, Bouchaud G. Food allergen-sensitized CCR9+ lymphocytes enhance airways allergic inflammation in mice. Allergy [Internet]. 2018 [cité 19 sept 2023];73(7):1505-14. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/all.13386

602. Simpson AB, Yousef E, Hossain J. Association between peanut allergy and asthma morbidity. J Pediatr. mai 2010;156(5):777-81, 781.e1.

603. Day L, Augustin MA, Batey IL, Wrigley CW. Wheat-gluten uses and industry needs. Trends in Food Science & Technology [Internet]. 1 févr 2006 [cité 1 août 2023];17(2):82-90. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224405002487

604. Denery-Papini S, Bodinier M, Larré C, Brossard C, Pineau F, Triballeau S, et al. Allergy to deamidated gluten in patients tolerant to wheat: specific epitopes linked to deamidation. Allergy. août 2012;67(8):1023-32.

605. Gourbeyre P, Denery-Papini S, Larré C, Gaudin JC, Brossard C, Bodinier M. Wheat gliadins modified by deamidation are more efficient than native gliadins in inducing a Th2 response in Balb/c mice experimentally sensitized to wheat allergens. Mol Nutr Food Res. févr 2012;56(2):336-44.

606. Klein M, Colas L, Cheminant MA, Brosseau C, Sauzeau V, Magnan A, et al. Der p 2.1 Peptide Abrogates House Dust Mites-Induced Asthma Features in Mice and Humanized Mice by Inhibiting DC-Mediated T Cell Polarization. Front Immunol [Internet]. 18 nov 2020 [cité 1 août 2023];11:565431. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7708318/

607. Bantz SK, Zhu Z, Zheng T. The Atopic March: Progression from Atopic Dermatitis to Allergic Rhinitis and Asthma. J Clin Cell Immunol [Internet]. avr 2014 [cité 3 août 2023];5(2):202. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4240310/

608. Wenzel S. Severe asthma: from characteristics to phenotypes to endotypes. Clin Exp Allergy. mai 2012;42(5):650-8.

609. Liao W, Rudling M, Angelin B. Novel effects of histamine on lipoprotein metabolism: suppression of hepatic low density lipoprotein receptor expression and reduction of plasma high density lipoprotein cholesterol in the rat. Endocrinology. mai 1997;138(5):1863-70.

610. Dourado LPA, Noviello M de LM, Alvarenga DM, Menezes Z, Perez DA, Batista NV, et al. Experimental food allergy leads to adipose tissue inflammation, systemic metabolic alterations and weight loss in mice. Cellular Immunology [Internet]. 1 janv 2011 [cité 31 janv 2023];270(2):198-206. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008874911001183

611. Yamada S, Tanimoto A, Sasaguri Y. Critical in vivo roles of histamine and histamine receptor signaling in animal models of metabolic syndrome. Pathol Int. déc 2016;66(12):661-71.

612. Nikfar A, Rasouli M. Hypolipemic effects of histamine is due to inhibition of VLDL secretion from the liver: involvement of both H1 and H2-receptors. Arch Physiol Biochem. déc 2022;128(6):1566-70.

613. Potaczek D. Links between allergy and cardiovascular or hemostatic system. Int J Cardiol [Internet]. 23 nov 2013 [cité 5 avr 2020];170(3):278-85. Disponible sur: https://europepmc.org/article/med/24315352

614. Sheha DS, El-Korashi LA, AbdAllah AM, El-Begermy MM, Elmahdi AR. Dyslipidemia among allergic rhinitis patients: Frequency and risk factors. World Allergy Organ J. mars 2021;14(3):100523.

615. Yang W. Study of the relationship between IL-10 polymorphism and serum lipoprotein levels in Han Chinese individuals. GMR | Genetics and Molecular Research | The Original by FUNPEC-RP [Internet]. 15 sept 2016 [cité 31 janv 2023];1(15). Disponible sur: https://www.geneticsmr.com/articles/6519

616. Fredriksson K, Mishra A, Lam JK, Mushaben EM, Cuento RA, Meyer KS, et al. The very low density lipoprotein receptor attenuates house dust mite-induced airway inflammation by suppressing dendritic cell-mediated adaptive immune responses. J Immunol. 15 mai 2014;192(10):4497-509.

617. Mishra A, Yao X, Saxena A, Gordon EM, Kaler M, Cuento RA, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 1 attenuates house dust mite-induced eosinophilic airway inflammation by suppressing dendritic cell-mediated adaptive immune responses - PubMed. 2018 [cité 31 janv 2023];1066-79. Disponible sur: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29274414/

618. Polte T, Petzold S, Bertrand J, Schütze N, Hinz D, Simon JC, et al. Critical role for syndecan-4 in dendritic cell migration during development of allergic airway inflammation. Nat Commun [Internet]. 13 juill 2015 [cité 31 janv 2023];6(1):7554. Disponible sur: https://www.nature.com/articles/ncomms8554

619. Liu LS, Bai XQ, Gao Y, Wu Q, Ren Z, Li Q, et al. PCSK9 Promotes oxLDL-Induced PC12 Cell Apoptosis Through the Bcl-2/Bax-Caspase 9/3 Signaling Pathway. Journal of Alzheimer's Disease [Internet]. 1 janv 2017 [cité 31 janv 2023];57(3):723-34. Disponible sur: https://content.iospress.com/articles/journal-of-alzheimers-disease/jad161136

620. Piao MX, Bai JW, Zhang PF, Zhang YZ. PCSK9 regulates apoptosis in human neuroglioma u251 cells via mitochondrial signaling pathways. Int J Clin Exp Pathol. 2015;8(3):2787-94.

621. Arama C, Diarra I, Kouriba B, Sirois F, Fedoryak O, Thera MA, et al. Malaria severity: Possible influence of the E670G PCSK9 polymorphism: A preliminary case-control study in Malian children. PLoS One. 2018;13(2):e0192850.

622. Fedoryak O, Arama C, Diarra I, Kouriba B, Chrétien M, Mbikay M. Association of the rs562556 PCSK9 Gene Polymorphism with Reduced Mortality in Severe Malaria among Malian Children. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2020;2020:9340480.

623. Paez PA, Kolawole M, Taruselli MT, Ajith S, Dailey JM, Kee SA, et al. Fluvastatin Induces Apoptosis in Primary and Transformed Mast Cells. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics [Internet]. juill 2020 [cité 31 janv 2023];374(1):104. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7306917/

624. Kolawole EM, McLeod JJA, Ndaw V, Abebayehu D, Barnstein BO, Faber T, et al. Fluvastatin Suppresses Mast Cell and Basophil IgE Responses: Genotype-Dependent Effects. J Immunol. 15 févr 2016;196(4):1461-70.

625. Sunata K, Kabata H, Kuno T, Takagi H, So M, Masaki K, et al. The effect of statins for asthma. A systematic review and meta-analysis. J Asthma. avr 2022;59(4):801-10.

626. Wang JY, Yao TC, Tsai YT, Wu AC, Tsai HJ. Increased Dose and Duration of Statin Use Is Associated with Decreased Asthma-Related Emergency Department Visits and Hospitalizations. J Allergy Clin Immunol Pract. 2018;6(5):1588-1595.e1.

627. Evans H, Killoran KE, Mitre E. Measuring Local Anaphylaxis in Mice. J Vis Exp [Internet]. 14 oct 2014 [cité 1 août 2023];(92):52005. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4541468/

628. Papadakis KA, Prehn J, Moreno ST, Cheng L, Kouroumalis EA, Deem R, et al. CCR9-positive lymphocytes and thymus-expressed chemokine distinguish small bowel from colonic Crohn's disease. Gastroenterology. août 2001;121(2):246-54.

629. Cambier JC. New nomenclature for the Reth motif (or ARH1/TAM/ARAM/YXXL). Immunol Today. févr 1995;16(2):110.

630. Roudaut M, Idriss S, Caillaud A, Girardeau A, Rimbert A, Champon B, et al. PCSK9 regulates the NODAL signaling pathway and cellular proliferation in hiPSCs. Stem Cell Reports. 14 déc 2021;16(12):2958-72.

631. Noorolyai S, Shajari N, Baghbani E, Sadreddini S, Baradaran B. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer. Gene. 25 mai 2019;698:120-8.

632. Nishida K, Yamasaki S, Ito Y, Kabu K, Hattori K, Tezuka T, et al. FcεRI-mediated mast cell degranulation requires calcium-independent microtubule-dependent translocation of granules to the plasma membrane. J Cell Biol [Internet]. 4 juill 2005 [cité 7 août 2023];170(1):115-26. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2171390/

633. Südhof TC, Rothman JE. Membrane fusion: grappling with SNARE and SM proteins. Science. 23 janv 2009;323(5913):474-7.

634. Cameron J, Ranheim T, Kulseth MA, Leren TP, Berge KE. Berberine decreases PCSK9 expression in HepG2 cells. Atherosclerosis. déc 2008;201(2):266-73.

635. Cao S, Xu P, Yan J, Liu H, Liu L, Cheng L, et al. Berberrubine and its analog, hydroxypropyl-berberrubine, regulate LDLR and PCSK9 expression via the ERK signal pathway to exert cholesterol-lowering effects in human hepatoma HepG2 cells. J Cell Biochem. févr 2019;120(2):1340-9.

636. Jia Q, Cao H, Shen D, Li S, Yan L, Chen C, et al. Quercetin protects against atherosclerosis by regulating the expression of PCSK9, CD36, PPARγ, LXRα and ABCA1. Int J Mol Med [Internet]. sept 2019 [cité 7 août 2023];44(3):893-902. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6658003/

637. Wang F, Zhao C, Tian G, Wei X, Ma Z, Cui J, et al. Naringin Alleviates Atherosclerosis in ApoE-/- Mice by Regulating Cholesterol Metabolism Involved in Gut Microbiota Remodeling. J Agric Food Chem. 11 nov 2020;68(45):12651-60.

638. Yang R, Yin D, Yang D, Liu X, Zhou Q, Pan Y, et al. Xinnaokang improves cecal microbiota and lipid metabolism to target atherosclerosis. Lett Appl Microbiol. déc 2021;73(6):779-92.

639. Bashir MEH, Louie S, Shi HN, Nagler-Anderson C. Toll-like receptor 4 signaling by intestinal microbes influences susceptibility to food allergy. J Immunol. 1 juin 2004;172(11):6978-87.

640. Berin MC, Zheng Y, Domaradzki M, Li XM, Sampson HA. Role of TLR4 in allergic sensitization to food proteins in mice. Allergy. janv 2006;61(1):64-71.

641. Hammad H, Chieppa M, Perros F, Willart MA, Germain RN, Lambrecht BN. House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. Nat Med. avr 2009;15(4):410-6.

642. Ryu JH, Yoo JY, Kim MJ, Hwang SG, Ahn KC, Ryu JC, et al. Distinct TLR-mediated pathways regulate house dust mite-induced allergic disease in the upper and lower airways. J Allergy Clin Immunol. févr 2013;131(2):549-61.

643. Fu G, Zhao K, Chen H, Wang Y, Nie L, Wei H, et al. Effect of 3 lactobacilli on immunoregulation and intestinal microbiota in a β-lactoglobulin-induced allergic mouse model. J Dairy Sci. mars 2019;102(3):1943-58.

644. Kanda N, Okajima F. Atopic Dermatitis-Like Rash During Evolocumab Treatment of Familial Hypercholesterolemia. J Nippon Med Sch. 2019;86(3):187-90.

COLLEGE ED BIOLOGIE DOCTORAL SANTE PAYS DE LA LOIRE

Nantes Université

Titre : Effets de PCSK9 sur l'allergie

Mots clés : PCSK9, LDLR, anticorps monoclonaux, allergie, basophiles

Résumé : L'allergie est une pathologie inflammatoire chronique classée en quatrième position en termes de morbidité. Il a été estimé que 50% de la population pourrait être atteinte d'une allergie d'ici 25 ans. L'allergie se développe selon deux phases : la sensibilisation et le déclenchement. La sensibilisation est une étape asymptomatique. Au cours de cette étape, les médiateurs anti-inflammatoires seront inhibés, laissant place à l'installation d'une inflammation spécifique de l'allergène. Lors d'un futur contact avec celui-ci, une réponse inflammatoire exacerbée se mettra en place et mènera à la survenue des symptômes. Plusieurs stratégies thérapeutiques sont proposées mais ne sont pas toujours suffisamment efficaces pour tous les sujets. Les enjeux actuels visent à mieux comprendre les mécanismes de l'allergie afin d'identifier des biomarqueurs et développer de nouvelles approches thérapeutiques.

Nous avons étudié l'effet de PCSK9, un régulateur du récepteur au LDL-c (LDLR), récemment décrit comme un modulateur de la réaction immunitaire. Nos travaux ont démontré que la déficience et/ou l'inhibition pharmacologique de PCSK9 confère une protection face à la survenue des symptômes induits par l'allergie alimentaire. PCSK9 exercerait son action pro-allergiques au cours du déclenchement. Enfin, cet effet ne serait pas dépendant du LDLR. Les mécanismes d'action restent à être pleinement caractérisés mais impliqueraient un effet sur la maturation des cellules dendritiques, la prolifération des lymphocytes Th2 et Th17 et la dégranulation des basophiles /mastocytes. Ainsi, nos découvertes ouvrent la perspective de tester l'impact bénéfique des inhibiteurs de PCSK9 chez le patient allergique.

Title : Effects of PCSK9 on allergy

Keywords : PCSK9, LDLR, monoclonal antibodies, allergy, basophils

Abstract : Allergy, an immune complex disorder, is classified as the fourth chronic pathology. It was estimated that fifty percent of the general population will suffer from allergy in 2050. This pathology occurs in two steps: the sensitization and the elicitation. The sensitization is an asymptomatic phase. During this step, the immune system inhibits anti-inflammatory mediators and induces an allergen-specific immune response. With another contact with the same allergen, an exacerbate allergen-specific immune response occurs leading to symptoms appearance. Currently, it is recommended to limit the contact with the allergen. Immunotherapy allows the occurrence of immune tolerance but is not develop for every allergen. It is important to better understand allergy mechanisms to identify new biomarkers and propose new therapeutic approaches.

In this context, we studied the effect of PCSK9, a natural regulator of the LDL receptor (LDLR). Recently, PCSK9 was supposed to modulated immune reaction. We show that PCSK9 deficiency and/or inhibition is protective against allergy symptoms appearance. PCSK9 could exercise a proallergic role during the elicitation. This effect was supposed to be independent of the LDLR. The mechanisms of action remain to be fully characterized but involved an effect on the maturation of dendritic cells, the proliferation of Th2 and Th17 cells, and the degranulation of basophils/mast cells. Thus, our findings open the prospect of testing beneficial impact of PCSK9 inhibitors in allergic patients.