



**HAL**  
open science

# Etude des voies IL-23/IL-17/IL-22 et réponse anti-microbienne dans l'hidradénite suppurée

Claire Hotz

► **To cite this version:**

Claire Hotz. Etude des voies IL-23/IL-17/IL-22 et réponse anti-microbienne dans l'hidradénite suppurée. Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Est, 2015. Français. NNT : 2015PESC0036 . tel-04721620

**HAL Id: tel-04721620**

**<https://theses.hal.science/tel-04721620v1>**

Submitted on 4 Oct 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.

*UNIVERSITE PARIS-EST*

*Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé*

ANNEE 2015

**THESE**

N°

**DOCTORAT EN IMMUNOLOGIE**

PAR

CLAIRE HOTZ

NEE LE 15/12/1981 à Toulouse

---

**PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 20 mars 2015**

**Étude des voies IL-17/IL-22 et réponse anti-microbienne dans  
l'hidradénite suppurée**

**JURY :**

PRESIDENT DE THESE :	Monsieur le Professeur Pierre WOLKENSTEIN
DIRECTEURS DE THESE :	Monsieur le Professeur Yves LEVY Madame le Professeur Sophie HÜE
RAPPORTEURS :	Madame le Professeur Sophie CAILLAT-ZUCMAN Monsieur le Professeur Denis JULLIEN
EXAMINATEURS :	Monsieur le Docteur Lionel APETOH

*A Margot*

## Remerciements

Je remercie la Pr Sophie HÛE pour son soutien. Sa rigueur, ses conseils et ses encouragements ont été essentiels à la réalisation de ce projet.

Je souhaite remercier le Pr Yves Lévy de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, guidée et initiée à la recherche scientifique.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance au Pr Pierre Wolkenstein pour son aide si précieuse.

Je remercie les Prs Sophie Caillat-Zucman et Denis Jullien d'avoir accepté d'être rapporteur.

Je remercie Mr Lionel Apetoh d'avoir accepté d'être examinateur.

Je remercie le Pr Chosidow de m'avoir soutenue.

Un grand merci à toute l'équipe 16: sans vous tous ce projet n'aurait pu avoir lieu. Merci pour votre aide, vos conseils et pour m'avoir appris à manipuler ! Je remercie sincèrement Aurélie G, Mathieu, Céline, Inna, Laure, Adeline, Aurélie W, Christine, Véronique, Clarisse, Julie, Vedran, Ayrin, Michele, Aubin, Ahmad, Mehdi, Nicolas, Thomas, Emile, Corinne, Pascaline, Cécile, Hakim, Jean-Daniel, Nabila, Gabriella.

Merci Aurélie pour ton enthousiasme et ton soutien.

Merci Michele pour ton expérience sur les kératinocytes.

Merci au Pr Revuz et au docteur Florence Poli pour leur enseignement clinique.

Merci à Nicolas Ortonne et Nadine Martin pour la partie immunohistochimie de ce travail.

Merci à Romain Bosc pour son aide dans l'obtention des prélèvements cutanés.

A mes parents, mon frère, ma famille et mes amis.

Merci Paul d'être auprès de moi.

# Table des matières

<b>Table des figures et des tableaux</b>	<b>7</b>
<b>Abréviations</b>	<b>9</b>
<b>Introduction</b>	<b>12</b>
<b>I- Réponse antimicrobienne cutanée</b>	<b>13</b>
1- Le SALT : les cellules effectrices de la réponse immunitaire cutanée	13
1-1 Anatomie cutanée	13
1-2 Le concept de SALT	15
2 Les kératinocytes	16
2-1 Rôle de sentinelle immune	16
2-2 Les kératinocytes peuvent initier l'inflammation cutanée	17
3- Les peptides anti-microbiens (PAM)	19
3-1 Site d'expression	20
3-2 Mécanismes d'action	22
3-3 Régulation de l'expression des PAM	23
3-4 PAM et maladies	26
4- Les cellules dendritiques cutanées	27
4-1 Les cellules de Langerhans de l'épiderme	27
4-2 Les cellules dendritiques dermiques	28
5- Les lymphocytes	30
5.1 Les lymphocytes T résidents cutanés	30
5.2- Le recrutement des cellules T in situ	31
5.2.1 Interaction CCL27/CCR10	31
5.2.2 CCL20/CCR6	33
6- Les lymphocytes Th17	35
6-1 Différenciation des Th17	35
a-chez la souris	36
b-chez l'homme	40
6-2 Facteurs de transcription des Th17	41
6-3 Rôle des Th17	42
6-4 Balance Treg/Th17	43
6-5 Plasticité des Th17	44
7- Les interleukines 17	45
7-1-Structure et récepteur	45
7-2 Signalisation de l'IL-17	45
7-3 Rôles des IL-17A et F	46
8- Les lymphocytes Th22: une population T CD4 distincte avec des facteurs de migration cutanée ?	47
9- L'interleukine 22	50
9-1 Structure de l'IL-22 et de son récepteur	50
9-2 Signalisation IL-22	52
9-3 Rôle de l'IL-22	52
9-4 Sources cellulaires de l'IL-22	53
9-5 Effets de l'IL-22	54

10- Les innate lymphoid cells (ILC)	56
11- Axe IL23/IL17/IL22 dans les pathologies inflammatoires cutanées	60
11.1-Psoriasis	60
11.2-Dermatite atopique	62
11.3 Traitement thérapeutique modulant la voie IL-23/IL-17/22	63
12- Le microbiote cutané	64
<b>II- L'hidradénite suppurée</b>	<b>69</b>
1- Définition	69
2- Prévalence	70
3- Facteurs associés	70
4- Description clinique	71
4-1 Lésions typiques précoces	71
4-2- Lésions tardives	71
4-3 Absence de signes généraux	71
4-4 Topographie	72
4-5- Hétérogénéité clinique : existence de plusieurs phénotypes	72
5- Evolution	73
6- Scores	74
7- Complications	75
8- Maladies associées	76
8-1 Maladies folliculaires	76
8-2 Maladie de Crohn	76
8-3 Manifestations articulaires	77
8-4 Pyoderma gangrenosum	78
9- Physiopathologie	78
9-1 Maladie folliculaire	78
9-2 Etiologie infectieuse	80
9-3 Facteurs hormonaux	81
9-4 Susceptibilité génétique	81
9-5 Inflammation et immunité	83
9-6 Hypothèse uniciste de la voie Notch	84
10- Traitement	85
10-1 Les antibiotiques restent ce jour le traitement de 1ère intention dans les poussées aiguës et les phases chroniques d'HS.	86
10-2 Biothérapies	86
10-3 Autres	88
10-4 Traitement chirurgical	88
10-5 Traitement par laser et Photothérapie dynamique (PDT)	89

## **Hypothèse et Objectifs** **90**

## **Résultats** **92**

### **I- Création d'une cohorte** **92**

### **II- Article** **94**

a- Résumé en français de l'article	94
b- Article	98
<b>Discussion</b>	<b>134</b>
<b>I-Un défaut de production de PAM à l'origine d'un cercle vicieux dans l'hidradénite suppurée.</b>	<b>134</b>
<b>II- Description de nouvelles mutations de la <math>\gamma</math>-sécrétase : implication de la voie NOTCH dans la physiopathologie de l'hidradénite suppurée ? Introduction du concept de syndrome de Verneuil</b>	<b>142</b>
1- <u>Facteurs génétiques dans l'HS</u>	143
2- <u>Notch : lien entre la génétique et les données immunologiques</u>	144
<b>III- Etude du rôle des cellules dendritiques cutanées dans l'HS : implication dans le défaut des cellules T CD4+IL-17+ ?</b>	<b>150</b>
<b>IV - Rôle des facteurs environnementaux</b>	<b>159</b>
<b>Conclusion</b>	<b>162</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>164</b>
<b>Résumé</b>	<b>190</b>

## Table des figures et des tableaux

*Figure 1 : les cellules du SALT*

*Figure 2 : les PAM et leur site d'expression*

*Figure 3 : rôle des IL-17/22 dans la synthèse de PAM*

*Figure 4 : rôles de chémokines CCL27 et CCL20 et de leurs récepteurs dans la réponse immunitaire cutanée*

*Figure 5 : Th17 pathogéniques*

*Figure 6 : différenciation des Th17*

*Figure 7 : plasticité des Th17*

*Figure 8 : Rôles des IL-17*

*Figure 9 : voie de l'IL-22/IL-22R*

*Figure 10 : réponse Th17/Th22 dans la défense microbienne cutanée*

*Figure 11 : les ILC*

*Figure 12 : rôle de l'IL-24 dans la réponse immunitaire cutanée*

*Figure 13 : physiopathologie du psoriasis*

*Figure 14 : le microbiote cutané*

*Figure 15 : Follicule pilo-sébacéo-apocrine*

*Figure 16 : Atteinte secondaire des glandes sébacées*

*Figure 17 : mutations de la gamma-sécrétase*

*Figure 18 : hypothèse uniciste de la voie Notch*

*Figure 19 : cercle vicieux dans l'HS*

*Figure 20 : syndrome Verneuil*

*Figure 21 : Clivage de Notch par la  $\gamma$ -sécrétase*

*Figure 22 : Déviation de la  $\gamma$ -sécrétase dans la trisomie 21*

*Figure 23 : Pourcentage de la production d'IFN- $\gamma$ , IL-17, IL-22 au sein des cellules TCD4+ dans le sang des patients HS mutés et non mutés pour la  $\gamma$ -sécrétase*

*Figure 24 : Expression du gène codant pour la Bêta-défensine 2 chez les cellules ORS de patients HS (n=3) après stimulation par le ligand de NOTCH DLL4.*

*Figure 25 : Isolation des cellules dendritiques (DC) cutanées : gating stratégie*

*Figure 26 : schéma expérimental de l'étude des DC et LC*

*Figure 27 : exemples représentatifs des marquages IFN- $\gamma$ , IL-17A et IL-22 au sein des T CD4+ après co-cultures avec des LC, DC 14- et DC 14+ de patients HS et de témoins sains.*

*Tableau 1 : les principaux PAM*

*Tableau 2 : score de Hurley*

*Tableau 3 : pourcentage des DC parmi le nombre total de cellules épidermiques ou dermiques*

## Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique  
(syndrome) APECED : polyendocrinopathie auto-immune de type 1  
AhR : Aryl hydrocarbon receptor  
AR : acide rétinoïque  
ARN : Acide ribonucléique  
ARNt : Acides ribonucléiques de transfert  
ASC : Apoptosis-associated speck-like protein

CCM : Candidose cutanéomuqueuse chronique familiale  
CLA : Cutaneous lymphocyte-associated antigen  
CMHII : Complexe majeur d'histocompatibilité  
CpG : Cytosine-phosphate Guanine  
CPP : Comité de protection des personnes  
CTACK : Cutaneous T cell attracting chemokine

DC : Dendritic cells (cellules dendritiques)  
DC-ASGPR : DC-asialoglycoprotein receptor  
DCi : interstitial DC  
pDC : plasmacytoid DC  
mDC : myeloid DC  
DLL1 : Delta-like 1  
DLQI : Dermatology life quality index

EGF : Epidermal Growth Factor  
(critères) ESSG : european seronegative spondylarthropathy group  
EVA : Echelle visuelle analogique

FICZ 6-formylindolo [3,2-b] carbazole

GALT : Gut-Associated Lymphoid  
GM-CSF : Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor  
GSI : Gamma Secretase Inhibitor

HBD : human beta defensin  
HES1 : Hairy and Enhancer of Split  
HEY1 : Hairy and Enhancer of Split Related  
HPV : Human papillomavirus  
HS : Hidradénite suppurée  
HSS : Hidradenitis suppurativa score  
HSV : Herpes simplex virus

IFN : Interférons  
Ig : Immunoglobuline  
IHC : Immunohistochimie  
IL : Interleukine  
IL-22BP : IL-22 binding protein  
IL-xR : IL-x receptor  
ILC : Innate Lymphoid Cells

IMC : Indice de masse corporelle

JAK : Janus kinase or just another kinase

KO : knock-out

LES : Lupus systémique

LCs : Langerhans Cells (cellules de Langerhans)

LC1 : Latent Class (classe latente)

LPS : Lipopolysaccharide

MC : Maladie de Crohn

MDP : muramyl dipeptide

NICD : NOTCH Intracellular Domain

NLR : Nod-Like Receptor

OR : Odd Ratio

ORS : Outer Root Sheath

PAM : peptides anti-microbiens

Pam2CSK4 : Palmitoyl-2-cysteine-serine-lysine

PAMPs : Pathogen-Associated Molecular Patterns

PAPA : Pyogenic sterile Arthritis, Pyoderma gangrenosum, Acne

PAPASH : Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum, acne, and hidradenitis suppurativa

PASH : Pyoderma gangrenosum, acne, and suppurative hidradenitis

PGA : Physicians Global Assessment

PNN : Polynucléaires neutrophiles

PRRs : Pattern Recognition Receptors

RANTES : Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted

ROR : Retinoic acid-related orphan receptor

RT-PCR : Reverse transcription polymerase chain reaction

SALT : Skin-associated lymphoid tissues

(syndrome) SAPHO : synovite, acné, pustulose palmo-plantaire, hyperostose et ostéite

siRNA : ARN interférents

SIS : Skin Immune System

SOCS1 : Suppressor of cytokine signalling 1

STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription

TCR : T-Cell Receptor

TCDD : 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine

lymphocytes T<sub>cm</sub> : T Centraux Mémoires

lymphocytes T<sub>em</sub> : T Effecteurs Mémoires

T<sub>fh</sub> : T follicular helper

TGF : Transforming Growth Factor

T<sub>h</sub> : T helper

Treg : Regulatory T cell

Trm : lymphocytes T Résidents Mémoires  
TNF : Tumour Necrosis Factor  
TLR : Toll-Like-Receptor

UV : Ultraviolets  
VZV : Varicella Zoster Virus

## Introduction

La première barrière contre les pathogènes est l'épithélium cutané et les muqueuses digestives et respiratoires. La peau est une des interfaces les plus importantes avec le milieu extérieur et constitue une barrière physique, biochimique et immunologique d'une surface de  $2\text{m}^2$  (1) pour 5 Kg de poids. C'est un organe complexe dont le fonctionnement a 2 finalités i) assurer une communication entre notre organisme et le milieu environnant, ii) protéger notre organisme des agressions extérieures. La peau est en effet en contact permanent avec des bactéries, virus, champignons et parasites, susceptibles d'être pathogènes. Une flore commensale constituée d'un écosystème microbien complexe est présente à la surface cutanée. La peau est également un organe sensoriel majeur contenant de nombreux récepteurs répondant à divers stimuli (contact, douleur, modifications de température). La densité de ces récepteurs, variable en fonction de la région, peut aller jusqu'à  $2500$  récepteurs/ $\text{cm}^2$  sur la pulpe des doigts. La peau doit de plus assurer une hydratation adéquate, et permettre la synthèse de vitamines et d'hormones. Défendre cette interface, afin de maintenir l'homéostasie avec la flore commensale, et prévenir l'invasion de pathogènes, est un vrai challenge. Il existe ainsi un système de surveillance immunitaire cutané performant, permettant d'engendrer des réponses immunitaires adéquates vis à vis des traumatismes, infections, toxines, tout en maintenant une homéostasie, afin de prévenir les allergies et l'auto-immunité. Le maintien de l'intégrité de la peau repose sur une régulation étroite de la communication entre les kératinocytes et les cellules immunitaires. En situation pathologique, des réponses inflammatoires variées peuvent être observées aboutissant à des entités cliniques différentes. Elles sont la résultante d'un dialogue entre l'épiderme, le derme et les cellules inflammatoires actives, et reposent sur une balance de signaux pro et anti-inflammatoires. Durant cette thèse, j'ai étudié la réponse immunitaire au cours de la maladie de Verneuil, une dermatose chronique inflammatoire de physiopathologie inconnue.

## I- Réponse antimicrobienne cutanée

### 1- Les cellules effectrices de la réponse immunitaire cutanée

#### 1-1 Anatomie cutanée

La peau est constituée de 3 couches : i) l'épiderme, partie superficielle ; ii) le derme, partie interne plus épaisse ; iii) l'hypoderme partit profonde graisseuse.

L'épiderme mesure suivant les zones de l'organisme de à 1 à 4 millimètres. C'est un épithélium stratifié pavimenteux orthokératosique en constant renouvellement. Les kératinocytes représentent 80% des cellules de l'épiderme. Les kératinocytes peuvent être divisés en quatre couches (de la profondeur à la superficie) : 1) la couche basale où ils ont un maximum d'activité proliférative, 2) la couche spineuse, 3) la couche granuleuse, 4) la couche cornée. Le kératinocyte migre à travers l'épiderme depuis les couches basales jusqu'aux cellules cornées en 3 semaines en moyenne pour une peau normale. Au cours de leur migration, les kératinocytes perdent leur fonction proliférative et se différencient en cornéocytes, cellules anucléées aplaties soudées par des jonctions serrées avec un ciment extra cellulaire constitué principalement de lipides (céramides, acide gras libres, tryglicérides, cholestérol). La couche cornée assure la fonction primordiale de barrière cutanée, fonction renforcée par l'existence à sa surface d'un film hydrolipidique constitué d'un mélange de sueur et de sébum qui rend la peau pratiquement imperméable à l'eau, tout en laissant passer des petites molécules. Les kératinocytes basaux adhèrent à la matrice extra cellulaire via les hémi-desmosomes et les kératinocytes sont accrochés entre eux par les desmosomes. Au niveau de la couche cornée ces desmosomes se transforment en cornéodesmosomes. La différenciation épidermique est un processus de maturation continue et orientée des kératinocytes avec des changements morphologiques et biochimiques (apparition de filaments, de granules basophiles puis disparition du noyau), aboutissant à la formation de la

couche cornée protectrice superficielle, constamment renouvelée. L'épiderme est également constitué de mélanocytes, cellules de langerhans, lymphocytes T et cellules de Merkel (cellules neuroépithéliales).

Le derme, séparé de l'épiderme par la membrane basale, est constitué de fibroblastes et de nombreuses cellules immunitaires (cellules dendritiques dermiques, innate lymphoid cells, lymphocytes T, B, NK, mastocytes et macrophages) au sein d'une matrice extra-cellulaire constituée de fibres de collagènes, réticulines, élastines et d'une substance fondamentale (mucopolysaccharides). Au sein du derme se trouvent de nombreux vaisseaux sanguins. Deux couches peuvent être identifiées : supérieure ou papillaire et inférieure ou réticulaire.

Les annexes sont constituées des phanères (ongles et poils) et des glandes (sudoripares eccrines, sudoripares apocrines et sébacées). Les follicules pileux sont des structures complexes, principalement constitués de kératinocytes en continuité avec l'épiderme, et pénétrant en profondeur dans le derme. Les poils contribuent à la thermorégulation, l'activité sensorielle, la protection physique, la dispersion de sébum et phéromones. Les follicules pilo-sébacés comportent i) le poil et ses gaines, ii) le muscle arrecteur du poil, iii) la glande sébacée. L'isthme d'un follicule pileux est la zone où s'abouchent les glandes sébacées. Le bulge, zone particulièrement importante où sont situées les cellules souches du poil est un renflement situé juste sous l'insertion du muscle arrecteur. La région sus-isthmique comprend la tige pileuse émergente de la surface cutanée, et l'infundibulum, cavité en communication avec la surface cutanée. La région sous-isthmique comprend la racine du poil entouré de ses gaines externe et interne. La paroi de l'infundibulum se prolonge dans la région sous-isthmique par la gaine épithéliale externe. A son extrémité profonde, l'invagination épidermique se renfle et forme le bulbe pileux. Celui-ci est constitué de cellules matricielles médianes qui prolifèrent tout en progressant vers la surface de la peau, donnant ainsi les kératinocytes de la racine du poil dans la région sous-isthmique puis ceux de la tige pileuse

dans la région sus-isthmique. La gaine épithéliale interne résulte de la multiplication et de la différenciation des cellules matricielles latérales. Les cellules souches épithéliales du bulge servent de véritable « réservoir » de cellules épithéliales. Ces cellules peuvent migrer hors du follicule et régénérer l'épiderme endommagé.

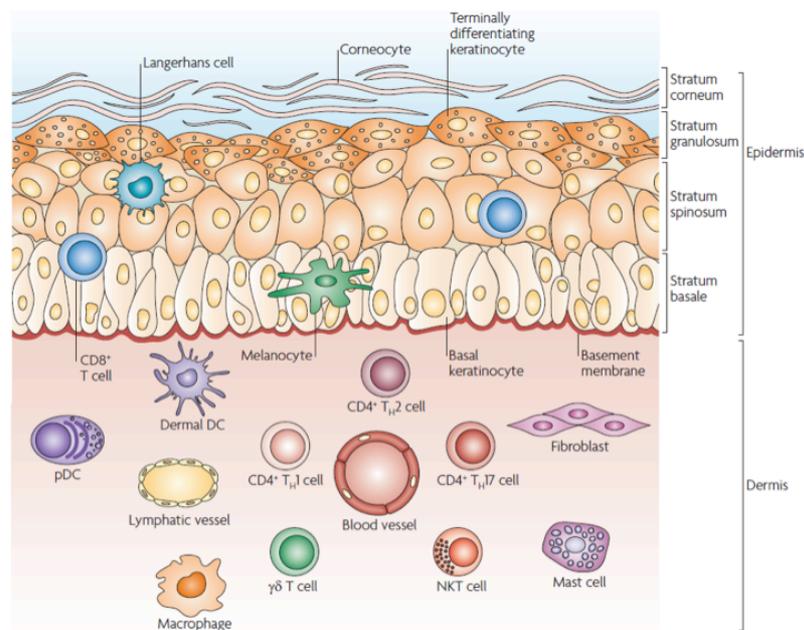


Figure 1 : les cellules du SALT, adapté de Nestle et al. (2)

## **1-2 Le concept de Skin-Associated Lymphoid Tissue : SALT**

En 1983, Streilein évoque le concept de « SALT » Skin-Associated Lymphoid Tissue, en référence au GALT Gut-Associated Lymphoid Tissue, pour décrire le trafic continu des cellules immunes entre la peau, les ganglions lymphatiques drainant et le sang périphérique. En 1986, Bos et Kapsenberg étendent ce concept à celui de SIS « skin immune system » en incluant l'ensemble des cellules cutanées. Plus récemment, Nestle et al. en 2009 ont proposé

le concept de « sentinelle cutanée » avec notamment les rôles majeurs des kératinocytes, cellules en 1ère ligne dans la défense cutanée, des cellules dendritiques cutanées et des lymphocytes mémoires résidents dont le rôle va être développé dans cette introduction (2).

## **2 Les kératinocytes**

### **2-1 Rôle de sentinelle immune**

Les kératinocytes peuvent être considérés comme la 1ère ligne de défense contre les pathogènes. Ils peuvent détecter et discriminer les agents microbiens commensaux et inoffensifs des pathogènes. Les kératinocytes peuvent répondre rapidement aux signaux de danger par plusieurs mécanismes. Ces cellules possèdent des récepteurs de l'immunité innée, les PRRs « Pattern Recognition Receptors » (3), capables de reconnaître des motifs moléculaires conservés présents sur les pathogènes PAMPs « Pathogen-Associated Molecular Patterns ». Les kératinocytes expriment différents TLR (Toll-Like-Receptor) localisés soit à la surface membranaire (TLR-1, TLR-2, TLR-4, TLR-5 et TLR-6), soit au niveau de leurs endosomes (TLR-3 et 9). Le signal induit par les TLR entraîne l'activation du facteur de transcription NfκB puis la transcription de nombreux gènes de l'inflammation (4).

Les kératinocytes expriment également des récepteurs NLR Nod-Like Receptor (récepteurs contenant des motifs riches en leucine) pouvant reconnaître des PAMPs mais aussi des motifs moléculaires liés à des signaux de danger exogène (irritants, toxiques). Les signaux médiés par ces récepteurs entraînent l'activation de la voie de l'inflammasome, un large complexe multiprotéique formé par un récepteur NLR, une protéine adaptatrice ASC (apoptosis-associated speck-like protein) contenant un domaine de recrutement des caspases, et la pro-caspase 1. L'assemblage de l'inflammasome induit l'activation de la caspase 1 qui clive la pro-interleukine-1 $\beta$  (pro-IL-1 $\beta$ ) et la pro-IL-18, formant ainsi les formes actives de ces 2 cytokines inflammatoires. Il a récemment été démontré que les radiations ultraviolets (UV)

activaient la voie de l'inflammasome dans les kératinocytes chez l'homme. De plus, des allergènes appliqués sur la peau induisent l'activation des cytokines IL-1 $\beta$  et IL-18 via la voie de l'inflammasome et entraîne ainsi un eczéma de contact. La sécrétion de ces cytokines inflammatoires engendre l'activation des cellules épithéliales voisines, l'activation des cellules T CD4+, cellules dendritiques et la sécrétion des cytokines IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 et TNF- $\alpha$  amplifiant ainsi le signal inflammatoire.

Les kératinocytes de la couche granuleuse produisent les peptides anti-microbiens (PAM) (S100A7 ou psoriasine, S100A8 ou calgranuline A, S100A9 ou calgranuline B, lipocaline,  $\beta$ -défensines, cathelicidines ou CAMP/LL37) « antibiotiques naturels » contre les pathogènes. La production de PAM par les kératinocytes est constitutionnelle mais est augmentée en cas de situation pathologique (infection/inflammation/lésion cutanée) notamment par l'action des cytokines IL-17 et IL-22. Leur rôle primordial dans la réponse anti-microbienne cutanée est développé dans un paragraphe ci-dessous. Au cours de leur différenciation orientée, les kératinocytes de la couche granuleuse perdent leur noyau et acquièrent des protéines membranaires afin de devenir des cornéocytes. Cette enveloppe lipidique, à l'image de la barrière intestinale, pourrait également retenir les PAM à la surface cutanée. Ainsi, cette enveloppe est une véritable barrière physique riche en lipides, empêchant les pertes hydriques et la pénétration des agents microbiens.

## **2-2 Les kératinocytes peuvent initier l'inflammation cutanée**

En plus des PAM, les kératinocytes sécrètent également de nombreuses cytokines, incluant IL-1, IL-6, IL-10, IL-18 et le tumour necrosis factor (TNF- $\alpha$ ). La production d'IL-1 par les kératinocytes est particulièrement intéressante. L'IL-1 a des effets biologiques larges. L'IL-1 permet notamment l'activation des cellules T<sub>H</sub> et des cellules dendritiques, et promeut également la maturation des lymphocytes B et leur expansion clonale. Dans la peau saine, les

kératinocytes synthétisent constitutionnellement les précurseurs pro-IL-1 $\alpha$  et pro-IL-1 $\beta$  mais leurs formes actives ne sont pas sécrétées. Après une exposition à des stimuli (irradiation UV par exemple), les cytokines IL-1 $\beta$  et IL-18 actives sont produites via l'inflammasome et sécrétées par les kératinocytes.

Les kératinocytes transmettent des signaux inflammatoires aux cellules immunes cutanées via la production de cytokines et chémokines. De nombreuses cascades de signaux inflammatoires sont activées dans l'épiderme des patients atteints de dermatoses inflammatoires, suggérant un rôle clé des voies intrinsèques des kératinocytes dans la régulation de l'homéostasie et de l'inflammation cutanée. Par exemple, la voie TNF- $\alpha$  est primordiale dans l'inflammation cutanée. L'efficacité des anticorps anti-TNF- $\alpha$  dans le traitement du psoriasis confirme ce rôle. Cependant, les mécanismes précis cellulaires et moléculaires contrôlant l'inflammation cutanée restent incompris. Une récente étude a montré que l'inflammation cutanée chez les souris knockout *Ikkb* spécifiquement dans les cellules épithéliales, était médiée par l'activation du récepteur TNFR1 dans les kératinocytes. L'activation du TNFR1 induisait une augmentation de l'expression de l'IL-24. L'IL-24, via une action autocrine et paracrine, activait la sous-unité  $\alpha$ 1 du récepteur IL-22, et induisait ainsi l'augmentation de la production de cytokines et chémokines inflammatoires dans les kératinocytes via l'activation de la voie STAT3. De façon intéressante, l'absence d'IL-22 (cytokine agissant également sur l'IL-22RA1 et activant STAT3) ne permet pas de prévenir le développement de lésions cutanées inflammatoires dans ces souris *Ikkb*-knockout, ce qui suggère que l'IL-22 et l'IL-24 peuvent avoir des rôles distincts dans l'inflammation cutanée (5).

De plus, des études récentes chez plusieurs modèles de souris ont montré que la mort des kératinocytes pouvait engendrer une inflammation cutanée. Le facteur commun à ces modèles murins était que la mort des cellules épithéliales et l'inflammation induite dépendaient en

partie du TNF- $\alpha$  via le récepteur TNFR1. Ces résultats suggèrent qu'une dysrégulation de la voie du TNFR1 dans les kératinocytes induit une inflammation cutanée. Or, plusieurs bactéries et virus expriment des protéines inhibitrices de la voie du TNFR1. L'interaction entre ces microorganismes et les kératinocytes pourrait induire une inflammation cutanée de façon similaire à l'inflammation observée dans les modèles murins où la voie TNFR1 est génétiquement inhibée.

Les kératinocytes activés sécrètent également de nombreuses chémokines (CXCL9, CXCL10, CXCL11, CCL20 et CCL27), permettant le recrutement de nombreux leucocytes nécessaires à une réponse inflammatoire adaptée: neutrophiles, macrophages et lymphocytes T. Le rôle des kératinocytes dans la réponse inflammatoire est débattu : ces cellules sont-elles capables d'initier une réponse inflammatoire, ou répondent-elles à une stimulation cytokinique ? Les kératinocytes sont des cellules présentatrices d'antigènes non professionnelles puisqu'ils expriment le CMHII mais pas les facteurs de co-stimulation. Ainsi les kératinocytes ne peuvent pas induire une différenciation des cellules T naïves, mais peuvent par contre déclencher une réponse immunitaire en présentant l'antigène à des cellules T mémoires.

### **3- Les peptides anti-microbiens (PAM)**

Les PAM ont un rôle essentiel dans la réponse anti-microbienne et la protection cutanée. Ces antibiotiques naturels, effecteurs de l'immunité innée conservés au cours de l'évolution, sont retrouvés dans le règne animal et végétal (6). Les PAM des mammifères sont des protéines dont le rôle est de rapidement tuer ou inactiver les microorganismes. Les cellules épithéliales de la peau, du système digestif et de l'appareil respiratoire sont capables de produire un riche arsenal de PAM, différent en fonction du site, reflétant la complexité du challenge de ces tissus à lutter contre l'invasion des pathogènes. En effet, chaque interface produit des PAM caractéristiques et adaptés à leur environnement. Plus de 1200 PAM ont été identifiés à ce

jour. Différentes familles de PAM ont été décrites : les défensines, cathelicidines, lectines de type C, ribonucléases et les protéines S100. Les principales familles de PAM produit dans la peau sont décrites dans le tableau 1. Les PAM clés de la peau sont les cathelicidines (7), les  $\beta$ -défensines et les protéines S100 (8). L'unique gène de la famille cathelicidine (CAMP) code pour un précurseur CAP18 ou CAMP (9). Cette protéine peut être clivée à divers sites générant ainsi divers PAM, dont le peptide LL37. Le précurseur CAP18 et les peptides matures sont exprimés abondamment dans les mastocytes de la peau normale, et à un taux plus faible dans les kératinocytes et les glandes sébacées (10)(11). Une inflammation cutanée induit non seulement une forte augmentation de l'expression de précurseur CAP18, et donc de LL37 par les kératinocytes, mais également le recrutement de neutrophiles, producteurs de LL37 (12)(13). Contrairement à la famille cathelicidine, 90 gènes codant pour des  $\beta$ -défensines ont été identifiés chez l'homme et chez la souris.

### **3-1 Site d'expression**

Les cellules épithéliales sont la source majeure de PAM. Cependant, d'autres cellules immunitaires (mastocytes, neutrophiles) peuvent également produire des PAM au cours de situations inflammatoires. Dans la peau, les kératinocytes sont la principale source de PAM. En particulier, les kératinocytes des follicules pileux produisent constitutionnellement les PAM cathelicidines et  $\beta$ -défensines, à un taux plus important que les kératinocytes de l'épiderme. De plus, les cellules des glandes sébacées et apocrines, peuvent produire des PAM (cf figure 2). hBD-1 est exprimée de façon constitutionnelle par les kératinocytes mais ne possède qu'une faible activité antibiotique par rapport aux autres défensines (14). Récemment, il a été montré que la forme réduite d'hBD-1 pouvait devenir un puissant peptide anti-microbien. Cette réaction de réduction est catalysée par l'enzyme thioredoxine, exprimée dans l'épiderme (15). Ceci suggère que toute régulation de cette réaction est primordiale pour

la protection innée conférée par hBD-1. Les niveaux d'expression de hBD-2, hBD-3, et des cathelicidines dans les kératinocytes sont bas au stade basal, mais rapidement augmentés lors des infections, inflammation et dans les phases de cicatrisation (16)(17). Le complexe hétérodimérique S100A8/S100A9 (calprotectine) est produit dans les kératinocytes lors des infections bactériennes à Gram négatif. La reconnaissance du motif moléculaire flagelline par les TLR5 est critique pour la régulation de la calprotectine (18). La psoriasine (PS100A7) est accumulée dans l'épiderme et dans les glandes sébacées puis secrétée à la surface cutanée. La dermicidine est un PAM exprimée constitutionnellement sous forme d'un précurseur protéique dans les glandes sébacées eccrines puis secrétée sous forme active après un clivage protéolytique (19). Les PAM produits par les PNN et mastocytes, cellules positionnées près des vaisseaux sanguins, luttent contre les pathogènes après leur inoculation cutanée.

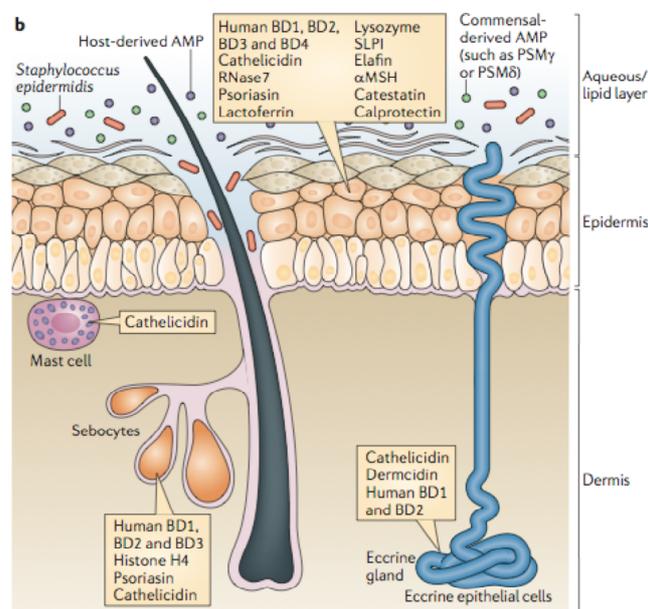


Figure 2 : les PAM et leur site d'expression, adapté de Grice et al(1)

### **3-2 Mécanismes d'action**

Les PAM protègent les interfaces du milieu extérieur par différents mécanismes : i) mort des microorganismes, ii) chimiotactisme de cellules immunitaires, iii) modulation de la réponse aux TLR, iv) limitation du contact des bactéries avec les cellules épithéliales.

La plupart des PAM cible la structure des membranes des microorganismes, entraînant ainsi une rupture membranaire et leur mort. D'autres PAM procèdent par attaque enzymatique. Les cathelicidines et les  $\beta$ -défensines sont des peptides chargés positivement constitués de 10 à 50 acides aminés caractérisés par une structure hydrophobe ou amphipathique, leur permettant d'interagir avec les membranes microbiennes chargées négativement, puis de créer un pore membranaire (20), entraînant alors une rupture de l'intégrité membranaire et la lyse des microorganismes cibles (21). Le mode d'attaque de la psoriasine et RNase7 n'est pas établi mais diffère des cathelicidines et des  $\beta$ -défensines. Ainsi, les différentes familles des PAM ont des mécanismes d'action variés. Ceci aide à limiter le développement de résistances des microorganismes vis à vis d'eux. De nombreuses bactéries ont développé des résistances vis à vis d'antibiotiques, alors que les PAM, antibiotiques naturels, ont conservés leur efficacité au cours de l'évolution.

Les cathelicidines, des  $\beta$ -défensines et des protéines S100 possèdent également une activité chimiotactique en se liant à des récepteurs de chémokines. En effet, ces PAM peuvent recruter les leucocytes par des mécanismes directs ou indirects, modifiant ainsi la réponse inflammatoire. Les cellules recrutées diffèrent en fonction du groupe des PAM. Les  $\alpha$ -défensines induisent la migration sélective des lymphocytes naïfs T CD4+CD45RA+ et des cellules TCD8+, tandis que les  $\beta$ -défensines induisent la migration des lymphocytes T mémoires CD4+CD45RO+ et des cellules dendritiques immatures (22). Le pouvoir chémoattractant des défensines est inhibé par des anticorps dirigés contre CCR6. HBD3 et

HBD4 ont un chémoattractisme pour les monocytes/macrophages, HBD2 pour les mastocytes. LL37 permet de recruter les neutrophiles, monocytes, cellules T et les mastocytes. En plus de cette action directe, LL37 peut induire la migration des kératinocytes en activant le récepteur EGF (epidermal growth factor) (23).

Les PAM peuvent également interagir avec les TLR, et moduler ainsi leur réponse. La réponse inflammatoire peut ainsi être inhibée, ou au contraire stimulée. Les cathelicidines interagissent directement avec les TLR. Il a été montré que LL37 se lie avec l'ADN du soi (self-DNA). Ce complexe se lie alors au TLR9, qui une fois activé, augmente la production d'IFN de type 1 (24). Lors d'une infection, les PAM peuvent dans le même temps tuer les microorganismes et neutraliser une réponse inflammatoire excessive. Ainsi, une expression inappropriée de PAM peut contribuer à une dérégulation de la réponse inflammatoire et au développement de pathologies auto-immunes. Dans le psoriasis, un excès de production de LL37 permet la reconnaissance des acides nucléiques du soi par les cellules dendritiques plasmacytoïdes et les kératinocytes ce qui aboutit à une production excessive d'IFN- $\alpha$  et l'activation de la réponse immunitaire adaptative.

L'expression de la protéine PS100A7 (psoriasine) est augmentée dans des dermatoses inflammatoires (notamment le psoriasis). En plus de ses fonctions immunomodulatrices (production de cytokines et chémokines), PS100A7 induit l'expression des protéines des jonctions serrées (claudines et occludines), et des protéines E-cadhérine et  $\beta$ -caténine, renforçant les liaisons intercellulaires et la barrière cutanée (25).

### **3-3 Régulation de l'expression des PAM**

In vivo, les PAM protègent les muqueuses des pathogènes, contrôlent le microbiote et limite le contact des microorganismes avec l'épithélium, maintenant ainsi l'homéostasie. La production constitutionnelle des PAM, médiateurs de l'immunité innée, est un moyen de

défense contre l'invasion des pathogènes conservé au cours de l'évolution. Au cours d'infection ou inflammation cutanée, la production locale de PAM par les kératinocytes peut être stimulée par les cytokines inflammatoires IL-17 et IL-22, produites notamment par les cellules Th17/Th22 (figure 3) (26)(27)(2). La production et la sécrétion des PAM sont étroitement régulées par les microorganismes et lors des lésions épithéliales. Certains PAM sont sécrétés par les kératinocytes après reconnaissance de motifs moléculaires bactériens par les PRR présents sur les kératinocytes. Il a été notamment montré que la production d'HBD2 par les kératinocytes pouvait être induite par la flagelline, motif moléculaire conservé du *pseudomonas aeruginosa*, reconnu par TLR5. Des expériences sur des souris germ-free ont révélés que la sécrétion de certains PAM intestinaux sont indépendants du microbiote, tandis que la sécrétion d'autres PAM requière des signaux bactériens (ANG4, REG3y) (28)(29)(30). Une des fonctions majeures des PAM est de répondre rapidement après une lésion cutanée, rupture de la barrière cutanée physique, afin d'établir une protection temporaire contre les infections. La réparation cutanée et la production de PAM sont étroitement liées. Après une lésion épithéliale, l'expression d'HBD3 par les kératinocytes est stimulée par l'activation du récepteur EGFR (31). D'autre part, après infection ou lésion épithéliale, la vitamine D3 25-OH est hydroxylée par le cytochrome p450 en 1,25-OH vitamine D3, sous l'influence de TNF ou interférons de type 1, et après activation des TLR2. 1,25-OH vitamine D3 induit l'expression de CAMP, précurseur de LL-37 (32)(33). LL-37 contribue à la réparation tissulaire en favorisant la ré-épithélialisation et la néovascularisation. Ces données suggèrent que le régime alimentaire et l'exposition solaire (générateurs de vitamine D) pourraient influencer l'expression de PAM.

Un autre axe de régulation est le contrôle du stockage de ces protéines. En effet, les cellules hôtes doivent se protéger des effets toxiques potentiels des PAM sur leurs membranes. De nombreux PAM sont donc stockés dans des granules et/ou sous formes de précurseurs. Par

exemple, les cathelicidines sont produites sous forme de précurseurs CAMP. Les pro-peptides sont alors clivés par l'enzyme protéase 3 dans les neutrophiles (34) et les kallikréines dans les kératinocytes (35).

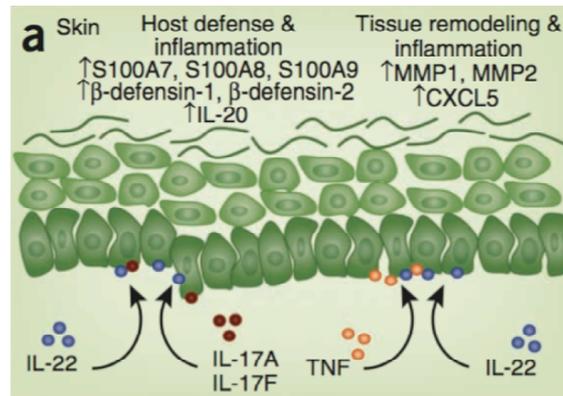


Figure 3 : rôle des IL-17/22 dans la synthèse de PAM, adapté de Sonnenberg et al (36)

Famille	Protéines représentatives	Mécanisme d'action	Sites d'expression	Cellules productrices	Organismes cibles
β-defensines	BD1, BD2, BD3	Intéraction membranaire	Intestion, peau, poumon	Entérocytes, kératinocytes, Cellules épithéliales de l'appareil respiratoire	Bactéries Gram +, Gram-, champignons, virus, protozoaires
Cathelicidines	LL37	Intéraction membranaire	Intestion, peau, poumon, tractus urinaire poumons,	Neutrophiles, mastocytes, cellules épithéliales	Bactéries Gram +, Gram-champignons, virus
Psoriasine (S100A7)	NA	Inconnu	peau	Kératinocytes	<i>Escherichia Coli</i>
RNase	RNase 7, ANG4	Inconnu	Peau, intestin	Cellules épithéliales	Bactéries Gram +, Gram-
Protéines ciblant les peptidoglycanes	PGLYRP1-4	Reconnaissance des peptidoglycanes des microorganismes	Peau, intestin, foie, glandes mammaires	Cellules épithéliales	Bactéries Gram +, Gram-

Tableau 1 : les principaux PAM

### **3-4 PAM et maladies**

Compte tenu des fonctions cruciales des PAM dans le maintien de l'homéostasie des surfaces épithéliales, une dérégulation de la production et des fonctions des PAM peuvent être associés à des pathologies. Une production anormale de PAM a été décrite dans plusieurs dermatoses comme la dermatite atopique, la rosacée et le psoriasis. Chez les individus sains, les cathelicidines et  $\beta$ -défensines sont constitutionnellement exprimés à un faible taux dans la peau saine, mais leur production est rapidement augmentée en cas d'inflammation ou de lésion cutanée. Il a été démontré que *Staphylococcus aureus* induisait l'augmentation de l'expression de PAM (37)(38). Chez les patients atteints de dermatite atopique, la production de PAM est insuffisante (39)(40). Cette inhibition de l'expression des PAM pourrait être secondaire à la production excessive des cytokines IL-4 et IL-13, produites par les lymphocytes Th2, qui induisent l'expression de SOCS1 (Suppressor of cytokine signalling 1) et SOCS3 via l'activation de STAT6. Cliniquement, ce défaut de PAM est corrélé à l'augmentation de la susceptibilité d'infections chez les patients atopiques. A l'inverse, chez les patients atteints de psoriasis ou de rosacée, on observe une réaction cutanée inflammatoire inappropriée, mais une absence de susceptibilité aux infections. Une augmentation de l'expression de cathelicidines a été montrée. Cette augmentation n'est pas inhérente aux gènes de ces PAM, mais liées aux systèmes de régulation de leur transcription ou de leur clivage (41). Dans la rosacée, l'expression anormale des TLR2 ou les polymorphismes des récepteurs à la vitamine D retrouvés, pourraient induire une production anormale de PAM (41). Dans le psoriasis, la production accrue d'IL-22 et d'IL-17, secondaire à l'infiltration cutanée des lymphocytes Th17/Th22, engendre une augmentation de la production de PAM (26)(27)(2). Une dérégulation de l'expression des PAM est également associée à des infections virales molluscums contagiosums, condylomes acuminés et verrues (42), mais également à des maladies auto-immunes (lupus cutané) (43).

Ainsi, l'étude des PAM et la compréhension de leur physiologie (production, régulation, mécanismes d'action) permettent d'envisager de nouvelles armes thérapeutiques.

#### **4- Les cellules dendritiques cutanées**

Les cellules dendritiques (DC) cutanées sont classées selon leur localisation anatomique: les cellules de Langerhans sont situées dans l'épiderme, principalement dans les couches supra-basales, tandis que les DC dermiques sont situées sous la jonction dermo-épidermique.

##### **4-1 Les cellules de Langerhans de l'épiderme**

Les cellules de Langerhans (LCs) sont localisées dans l'épiderme. Puissantes cellules dendritiques, elles sont caractérisées par l'expression du CD1a chez l'homme et de la langerine (CD207) chez la souris et par la présence dans leur cytoplasme de granules de Birbeck. Les LCs humaines induisent la différenciation préférentielle des cellules Th2 et Th22 (44). Les LCs présentent une activité de cross-présentation importante aux lymphocytes T CD8<sup>+</sup> et permettent d'initier une réponse allogénique dépendante de l'IL-15. Seneschal et al, ont montré en 2012, qu'en l'absence de stimulation antigénique, les LCs induisaient la prolifération de cellules Treg (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>FoxP3<sup>+</sup>) mémoires résidentes dans des co-cultures de LCs cutanées (HLADR<sup>+</sup> CD207<sup>+</sup>) et de lymphocytes T cutanés (CD45RO<sup>+</sup>CLA<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CD62L<sup>-</sup>) isolés du même donneur sain (45). Par contre, en présence de *candida albicans*, les LCs induisent et activent la prolifération des cellules T effectrices mémoires et limitent l'activation des Treg. Ainsi les LCs jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie cutanée.

Chez la souris, les cellules de Langerhans dérivent de précurseurs myéloïdes et de monocytes durant l'embryogénèse. Elles expriment les marqueurs CD11c CD207 et le CMHII dès la naissance. Ces cellules prolifèrent entre J2 et J7, puis les LC différenciées ont une

prolifération lente in situ, permettant de maintenir un nombre suffisant de cellules in situ durant l'âge adulte, sans intervention nécessaire de la moelle osseuse. Ce mode de renouvellement contraste avec les autres cellules dendritiques qui requièrent constamment des précurseurs issus de la moelle osseuse. Le maintien des LC serait permis par l'IL-34 produit constitutionnellement par les kératinocytes. Ce système indépendant de la moelle osseuse pourrait être une adaptation de l'épiderme, pauvre en vaisseaux sanguins et séparé du derme vascularisé par une membrane basale (46). Les follicules pileux sont impliqués dans l'accès des monocytes et cellules de langerhans dans l'épiderme. Nagao et al, ont montré dans un modèle de souris chimériques déplétées de leurs cellules de Langerhans, que les follicules pileux sécrétaient les chémokines nécessaires au recrutement des précurseurs sanguins des cellules de Langerhans, tout en étant une porte d'accès à l'épiderme (47). En effet, les kératinocytes des follicules pileux régulent le recrutement épidermique des cellules de Langerhans et de leurs précurseurs dans les situations inflammatoires en exprimant soit les chémokines CCL2, CCL20, permettant le recrutement des LCs, ou au contraire CCL8, inhibant le recrutement des LCs. Ainsi, les follicules pileux produisent des chémokines et des PAM qui permettent de contrôler l'infiltrat périfolliculaire (48).

#### **4-2 Les cellules dendritiques dermiques**

Plusieurs marqueurs permettent d'identifier les cellules dendritiques (DC) cutanées. Le choix de ces marqueurs pour leur caractérisation phénotypique varie en fonction des investigateurs et rend ainsi difficile la comparaison des études. CD11c permet d'identifier les cellules myéloïdes et n'est donc pas spécifique des DC dermiques. BDCA-1 (CD1-c) et BDCA-3 (CD141) permettent de distinguer 2 sous types de DC CD11c+. Les marqueurs CD14 et CD1a permettent également de distinguer 2 types de DC dermiques. CD14 caractérise un sous type minoritaire de DC dermique dans la peau saine. Les DC dermiques CD14+ peuvent exprimer

BDCA-1 et BDCA-3. Les DC CD1a<sup>+</sup> expriment également BDCA-1. Cependant, CD1a est également un marqueur des LC et n'est ainsi pas spécifique des DC dermiques (49). Les DC dermiques CD14<sup>+</sup> ne sont pas de puissantes cellules présentatrices d'antigène par rapport aux autres DC. L'expression de CD141 par les DC CD14<sup>+</sup> (ou thrombomoduline) caractérise une sous-population produisant de l'IL-10. Différentes dermatoses inflammatoires sont caractérisées par un infiltrat cutané de cellules dendritiques spécifiques contribuant au processus inflammatoire.

Les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDCs) sont caractérisées par la capacité à sécréter de l'IFN de type I, en réponse à une infection virale, via l'activation de leurs TLR7 et TLR9 par des acides nucléiques viraux. Les pDCs sont habituellement absentes de la peau normale mais sont recrutées en cas d'inflammation (50)(24). Les pDCs contribuent au stade précoce de réponses inflammatoires et à la réépithélialisation, notamment en produisant de l'IL-6 et en promouvant la production d'IL-17 et d'IL-22 par les lymphocytes T.

Le rôle dynamique des macrophages et des monocytes dans la peau n'a pas clairement été établi. Les macrophages cutanés sont préférentiellement localisés dans le derme mais peuvent migrer vers les ganglions lymphatiques afférents en situation inflammatoire. En plus des macrophages résidents, les monocytes circulent du sang vers la peau en suppléance des DC cutanées. Selon leurs fonctions, les monocytes et macrophages sont divisés en 3 groupes : i) les macrophages M1 pro-inflammatoires, impliqués dans les phases inflammatoires aiguës et chroniques ii) les macrophages M2 régulateurs, iii) et les macrophages impliqués dans la réparation tissulaire. Les macrophages M2 synthétisent de l'IL-10 et du TGF- $\beta$  et ont un rôle essentiel dans la résolution de l'inflammation. Un autre mécanisme proposé serait la capacité à produire des variants du VEGF par les macrophages M2. Ceux-ci favoriseraient la lymphangiogénèse et accéléreraient ainsi la clairance des pathogènes cutanés (51).

## **5- Les lymphocytes**

### **5.1 Les lymphocytes T résidents cutanés**

Le concept classique de surveillance immunologique cutanée implique la circulation des cellules immunes entre la peau et le sang. Cependant, des données obtenues à l'aide du modèle de xénotransplant de peau inflammatoire humaine ont modifiées ce concept. En effet, des cellules T résidentes en peau non inflammatoire sont nécessaires et suffisantes pour induire une pathologie inflammatoire en l'absence de lymphocytes T circulants (52)(53). Lors d'une infection cutanée, les cellules dendritiques cutanées captent l'antigène puis migrent dans les ganglions lymphatiques drainants afin de présenter l'antigène aux cellules T naïfs. Des lymphocytes T centraux mémoires (Tcm), ainsi que des lymphocytes T effecteurs mémoires (Tem) caractérisés par l'expression des facteurs CLA et CCR10, spécifiques de l'antigène sont ainsi générés. Les Tem migrent dans la peau puis deviennent des lymphocytes T résidents mémoires (Trm). Lors d'une réinfection, les cellules dendritiques présentent l'antigène directement aux Trm cutanés permettant une réponse rapide. En parallèle, une nouvelle génération de Tem est générée après présentation de l'antigène par les cellules dendritiques (4)(54). Le nombre de lymphocytes T résidents a été évalué à  $2 \cdot 10^{10}$  sur l'ensemble du revêtement cutané « sain », soit 2 fois plus que le nombre de cellules T circulantes (55). La majorité de ces cellules Trm ont été décrites  $CLA^+CD45RO^+CCR4^+$ .

Dans un modèle d'infection à *herpes simplex virus* (HSV) a été montré la supériorité des lymphocytes T  $CD8^+CD103^+$  à conférer une protection vis à vis de ce virus par rapport aux lymphocytes T  $CD4^+$  du sang (56). Après la résolution de l'infection HSV, la peau contient 2 types de cellules T mémoires : les lymphocytes T  $CD4^+$  mémoires circulantes (entre les ganglions et le derme), et les lymphocytes T  $CD8^+$  résidentes mémoires de l'épiderme (57). Ainsi des différences de topographie et de capacité migratoire ont été décrites entre les

cellules T CD4<sup>+</sup> mémoires (dermiques/sanguines) et les cellules T CD8<sup>+</sup> mémoires (épidermiques), en sus de leur différence fonctionnelle.

Le lymphome T cutané est un modèle de pathologie permettant d'étudier le rôle des lymphocytes circulants et périphériques. Le traitement par anticorps anti CD52 (alemtuzumab) induit la déplétion des lymphocytes T mémoires centraux et périphériques cutanés. Cependant une sous-population de lymphocytes T résidentes n'est pas touchée par ce traitement. Or, les patients traités par cet anticorps anti-CD52 ont une protection efficace contre les infections bactériennes et virales, ce qui suggère que la protection immunitaire conférée par les lymphocytes résidents est suffisante (58). Récemment une population de cellules T régulatrices résidente a également été décrite (59).

## **5.2- Le recrutement des cellules T in situ**

Outre les PAM, deux chémokines jouent un rôle important pour la migration des lymphocytes T vers la peau.

### **5.2.1 Interaction CCL27/CCR10**

L'infiltration de lymphocytes T dans la peau joue un rôle clé dans l'initiation et le maintien d'une réponse inflammatoire cutanée. L'antigène CLA (cutaneous lymphocyte-associated antigen) définit une population de lymphocytes T mémoires migrant préférentiellement dans la peau saine (60) et inflammée (61). Plus de 80 à 90% des lymphocytes T retrouvés dans les lésions cutanées présentent cet antigène CLA. Cependant, les cellules T CLA<sup>+</sup> représentent seulement 10 à 15% du pool des cellules T circulantes et n'excèdent pas 5% des lymphocytes contenus dans des sites inflammatoires non cutanés (62). Le récepteur CLA<sup>+</sup> permet la liaison aux E-sélectines exprimées par les vaisseaux sanguins cutanés

Les chémokines ou chimiokines, régulent le trafic des leucocytes vers les tissus périphériques (chémotactisme) (63) et ont un rôle dans l'angiogénèse, l'hématopoïèse, l'apoptose. Cette superfamille, composée d'une cinquantaine de protéines, est répartie en 4 groupes (C, CC, CXC, CX2C) en fonction du nombre et de l'intervalle entre les 1 à 4 résidus cystéine en position amino-terminale. Elles interagissent avec des récepteurs membranaires couplés à des protéines G. L'activité chémotactique des chémokines est liée à la création d'un gradient chimique induisant la migration des leucocytes cibles de la région la moins concentrée à la plus concentrée.

En 1999 a été identifiée (64) la chémokine CCL27 ou CTACK (cutaneous T cell attracting chemokine), permettant la migration préférentielle des lymphocytes T CLA+, via l'interaction avec son récepteur CCR10 (anciennement dénommé GPR-2). CCL27 est exclusivement produite par les kératinocytes. Dans la peau de sujets sains, en immunohistochimie, l'expression de CCL27 a été majoritairement observée dans le cytoplasme des kératinocytes de la couche basale, tandis que dans des lésions inflammatoires (dermatite atopique et psoriasis), le marquage CCL27 a également été observé dans les couches supra-basales de l'épiderme ainsi qu'au sein du derme papillaire (65). CCR10 est essentiellement exprimé sur les lymphocytes T CD4+ (expression négligeable au sein des T CD8+). L'expression de CCR10 est de plus restreinte aux cellules T CLA+. Des cellules non hématopoïétiques (fibroblastes, cellules endothéliales du derme) peuvent néanmoins exprimer ce récepteur. Plus de 90% des cellules T infiltrant la peau des dermatoses inflammatoires (psoriasis, dermatite atopique) expriment CCR10.

CCL27 est constitutivement présent à l'état basal dans les kératinocytes de la couche basale, et son expression peut être augmentée en cas d'inflammation cutanée. In vitro, l'expression des transcrits CCL27 est augmentée après stimulation des kératinocytes par le TNF $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  chez l'homme et chez la souris (65). La synthèse de CCL27 est induite par le TNF $\alpha$  via la

voie NFkB, p38, ERK et JNK (66)(67), et par l'IL-1 $\beta$  via p38, et NFkB (68). Au contraire, l'IL-17 diminue la production de CCL27 via la cyclooxygénase (COX)2 (69).

Le niveau d'expression de CCL27 dans les peaux inflammatoires est actuellement controversé. En effet, des études récentes ont montré une diminution de l'expression de CCL27 dans la peau de patients atteints de psoriasis (68) et une absence d'augmentation dans la peau de patients atteints de dermatite atopique ou eczéma de contact (68), contrairement aux résultats décrits par Homey et al en 2002 (65). Karakawa et al, ont montré in vitro que l'INF- $\gamma$  supprimait l'induction de CCL27 induite par le TNF $\alpha$ , via les voies JAK, STAT1 et STAT3 et la phosphorylation de EGFR et ERK (67). L'INF- $\gamma$  seule (sans stimulation préalable par TNF $\alpha$ ) ne permet pas la diminution de l'expression de CCL27. Une expression diffuse de CCL27 dans la peau péri-lésionnelle de psoriasis, mais restreinte aux kératinocytes basaux dans les lésions a également été observée. Ainsi, ce groupe émet l'hypothèse d'une régulation négative de l'expression de CCL27 (initialement induite par le TNF $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$ ) par l'IFN- $\gamma$  et l'IL-17, cytokines produites par les lymphocytes Th1 et Th17 infiltrant les lésions inflammatoires tardives de psoriasis.

### **5.2.2 Interaction CCL20/CCR6**

La chémokine CCL20 ou MIP-3 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein-3 $\alpha$ ) ou LARC (liver and activation-regulated chemokine) a été découverte en 1997. Son expression était initialement décrite dans le foie (70)(71). La chémokine CCL20 est le seul ligand du récepteur CCR6 (72). CCL20 n'est pas capable d'induire une réponse biologique via un autre récepteur. La stricte affinité de CCL20 pour CCR6 est assez inhabituelle. En effet de nombreuses chémokines, de structure homologue, peuvent se lier à plusieurs récepteurs différents. Cette exception pourrait être due à la présence d'un motif DCCL en position NH<sub>2</sub>-terminale de CCL20 (73). En situation inflammatoire, le TNF stimule la production de CCL20 par les

kératinocytes. Cette chémokine permet d'attirer les cellules dendritiques CD11c+ ainsi que les cellules CCR6+ (CD4+ ou CD8+) productrices d'IL-17 dans le derme (49).

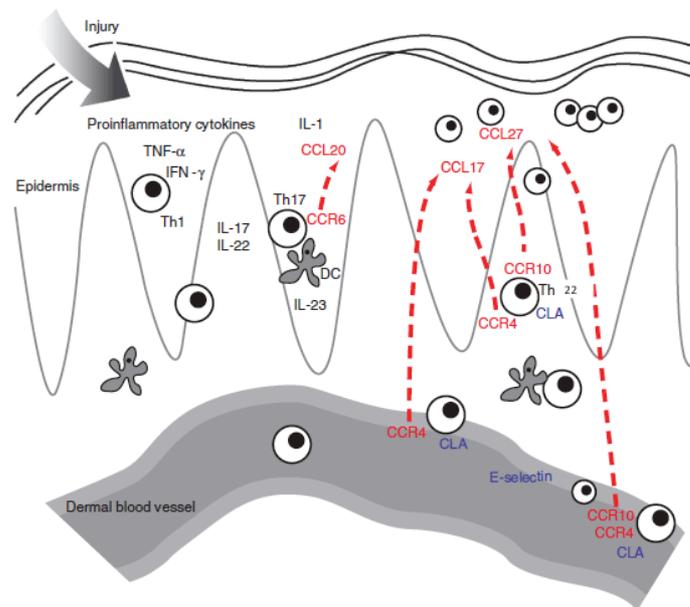


Figure 4 : rôles de chémokines CCL27 et CCL20 et de leurs récepteurs dans la réponse immunitaire cutanée, adapté de Lonsdorf et al (74)

Outre les lymphocytes T $\gamma\delta$  qui représentent 2 à 9% des cellules T dermiques et entre 1 à 10% des cellules T épidermiques, de nombreux lymphocytes T conventionnels CD4+ (Th1, Th2, Th17, Th22) et T CD8+ (Tc17, Tc22) peuvent résider dans la peau et être augmentés dans des pathologies inflammatoires (4). Les lymphocytes produisant de l'IL-17 et de l'IL-22 présentent un rôle primordial dans la réponse immunitaire antimicrobienne cutanée. En effet, ces 2 cytokines IL-17 (A et F) et IL-22 sont des cytokines clé dans le maintien de l'homéostasie de l'épithélium.

## **6- Les lymphocytes Th17**

Les cellules Th17 ont été identifiées comme une sous-population des lymphocytes T helpers (Th) produisant de l'IL-17, distincte des sous-populations Th1 et Th2 en 2006 (75)(76). Elles sont caractérisées par l'expression des facteurs de transcription ROR $\gamma$ T ROR $\alpha$ , STAT3, IRF4, AhR et des récepteurs CCR4+CCR6+ (77). Elles produisent les cytokines IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-21, GM-CSF, TNF et IL-6. Les Th17 sont impliquées dans de nombreuses pathologies inflammatoires et auto-immunes, et ont un rôle primordial dans la défense de l'organisme contre les pathogènes extracellulaires, notamment fongiques et bactériennes (78). La compréhension de la biologie des Th17 s'est nettement complexifiée. En effet, différentes expériences ont mis en évidence qu'en fonction du contexte inflammatoire les cellules Th17 peuvent être pathologiques ou non. In vivo, des études ont montré que des cytokines inflammatoires produites par les Th17 pouvaient avoir des effets bénéfiques en fonction du contexte. L'IL-22, cytokine impliquée dans l'inflammation dermique au cours du psoriasis, protège des colites inflammatoires en promouvant la barrière épithéliale digestive (79). Le rôle pathogénique des Th17 ne dépend donc pas seulement de l'IL-17A mais aussi de l'environnement cytokinique et du tissu siège de l'inflammation.

### **6-1 Différenciation des Th17**

Les cellules Th17 ROR $\gamma$ t+ peuvent être divisées en 2 groupes : 1) les cellules Th17 non pathogènes ou protectives, exprimant à la fois l'IL-10 et l'IL-17, 2) et les cellules Th17 pathogènes ou inflammatoires, exprimant les cytokines IL-17, IL-22, IFN $\gamma$  and GM-CSF (80). L'activité finale des Th17 est déterminée par la balance entre les fonctions protectives et inflammatoires. Les cellules Th17 activées par TGF $\beta$  et IL-6 promeuvent la défense et l'intégrité des barrières muqueuses et réduisent les réponses immunopathogéniques, tandis

que les cellules Th17 activées par l'IL-23 promeuvent l'inflammation tissulaire durant les infections, la formation de granulomes et l'auto-immunité.

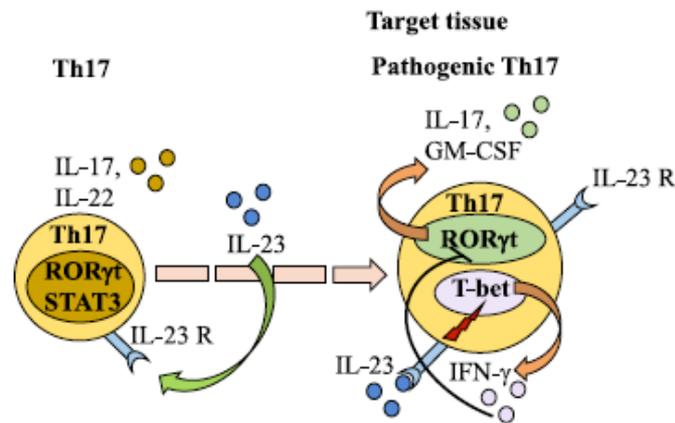


Figure 5 : Th17 pathogéniques, adapté de Raphael et al (81)

#### a- Chez la souris

- Cytokines initiatrices du développement des Th17

En 2006, il a été montré, in vitro et in vivo, que le TGF-β et l'IL-6 permettaient la différenciation de cellules T naïves en Th17 (82)(83)(75). TGF-β et l'IL-6 induisent indépendamment l'expression du facteur de transcription RORγT (retinoic acid-related orphan receptor), facteur de transcription indispensable dans la différenciation des Th17 (84). Des souris greffées avec de la moelle osseuse de souris RORγT<sup>-/-</sup> présentent un déficit en Th17 (85). Des souris dont le récepteur au TGF-β est déficient, ne génèrent pas de Th17 et ne peuvent pas développer une encéphalomyélite auto-immune expérimentale, modèle animal d'étude des maladies auto-immunes (EAE), caractérisé par une réponse immunitaire Th17 après stimulation par un antigène de la myéline. Les souris IL6<sup>-/-</sup> présentent un défaut de

Th17 et leur réponse immunitaire est dominée par les Tregs. Les souris IL-6 KO ne peuvent également développer de EAE.

L'IL-6, en activant STAT3 et en inhibant l'expression de FoxP3, permet d'augmenter l'expression de RoR $\gamma$ T et d'initier ainsi la transcription d'IL-17 (78)(86). Les cellules T naïves expriment de façon constitutionnelle le récepteur à l'IL-6 composé de l'IL-6R $\alpha$  et de la sous-unité gp130. La stimulation du TCR et l'exposition à l'IL-6 diminue l'expression de la sous-unité IL-6R $\alpha$ , et donc la réponse médiée par l'IL-6. Au contraire, le TGF- $\beta$  induit l'expression de l'IL-6R $\alpha$  et est ainsi nécessaire au maintien de la réponse des cellules T à l'IL-6. L'engagement de l'IL-6R et l'activation de la gp130 permettent l'activation de STAT3, qui est nécessaire, mais non suffisante, à l'induction de RoR $\gamma$ T. L'induction complète du facteur de transcription n'est possible qu'en présence de TGF- $\beta$ . Le TGF- $\beta$  promeut l'expression de RoR $\gamma$ T mais réprime ses fonctions. Ce n'est qu'en présence d'IL-6 que la répression de RoR $\gamma$ T est levée : RoR $\gamma$ T initie alors le programme transcriptionnel des Th17 (87).

Le TGF- $\beta$  seul, induit l'expression du facteur de transcription RoR $\gamma$ T, mais est incapable d'initier la différenciation des Th17. En effet, TGF- $\beta$  induit également le facteur de transcription FoxP3 essentiel pour la différenciation et la fonction des cellules Treg. En se liant à RoR $\gamma$ T, FoxP3 inhibe l'expression d'IL-17 induite par RoR $\gamma$ T. De plus, des concentrations élevées de TGF- $\beta$  inhibent l'expression de l'IL-23R. Cependant, la délétion du gène codant pour le TGF- $\beta$  conduit à une production excessive d'IFN- $\gamma$  et IL-4, cytokines qui inhibent le développement et l'expansion des Th17. Ainsi, le TGF- $\beta$  peut agir soit comme un facteur d'induction direct des Th17 soit indirectement en supprimant des voies cellulaires alternatives.

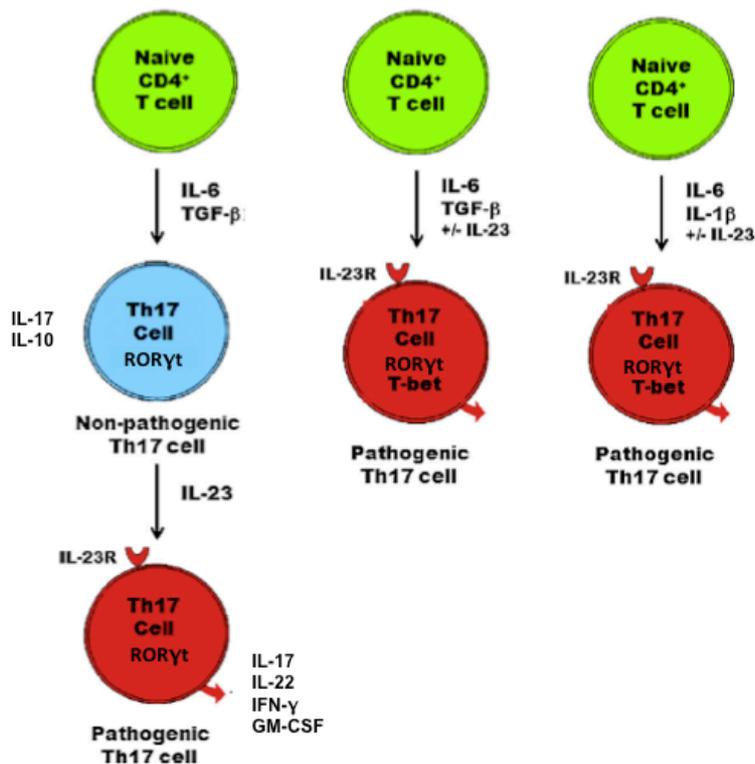


Figure 6 : différenciation des Th17, modifié à partir de Kumar et al (88)

D'autres facteurs peuvent moduler la différenciation des Th17. En cas de déplétion des Tregs, les souris IL6<sup>-/-</sup> peuvent, après stimulation antigénique, développer un phénotype EAE, mimant une réponse Th17. Ainsi a été identifié le rôle de l'IL-21 qui permet la différenciation des Th17 en présence de TGF- $\beta$ , et en l'absence d'IL-6, constituant une voie alternative dans l'induction des Th17 (89).

L'IL-21 appartient à la famille des IL-2. L'IL-21 peut être produite par les cellules T activées (Tfh, Th2 et Th17) et les cellules NKT (90)(91)(89). L'IL-6 est un puissant inducteur d'IL-21. De plus, l'expression d'IL-21 est dépendante de STAT3 mais pas de ROR $\gamma$ T. L'IL-21, en association avec le TGF- $\beta$ , permet d'induire la différenciation des Th17. Ainsi, l'IL-21 produite par les Th17, amplifie la réponse Th17 par une boucle positive (92). Les associations TGF- $\beta$  et IL-6, et TGF- $\beta$  et IL-21, induisent l'expression de ROR $\gamma$ T, facteur de transcription

nécessaire et suffisant à l'expression de l'IL-23R. L'IL-21, sécrétée par les Th17, aide au maintien et à l'amplification du pool des précurseurs des Th17 lorsque la production d'IL-6 est restreinte, c'est à dire en l'absence de contexte inflammatoire (93)(94).

L'IL-1 $\beta$  a également un rôle crucial durant les stades précoces de différenciation des Th17. Les souris IL-1R1  $-/-$  sont incapables de développer des Th17 spécifiques d'antigènes et ne peuvent développer de phénotype EAE. L'expression de l'IL-1R1 par les Th17 est induite par l'IL-6. La signalisation induite par ce récepteur promeut la transcription du facteur de transcription interferon-regulatory factor 4 (IRF4) qui renforce l'expression de ROR $\gamma$ t. Des études suggèrent que l'IL-6 agit directement sur la différenciation des Th17 tandis que l'IL-1 $\beta$  permet l'expansion des Th17 lorsqu'elles sont en compétition avec d'autres cellules T.

- **Les cytokines qui stabilisent et permettent la différenciation des Th17**

Le TGF- $\beta$  et l'IL-6 permettent la différenciation de Th17 non pathogènes. L'exposition à l'IL-23 est essentielle pour la maturation des cellules Th17 inflammatoires.

L'IL-23 appartient à la famille de l'IL-12. C'est un hétérodimère composé de la sous-unité IL-23p19 et de la sous-unité IL-12p40, commune avec l'IL-12. L'IL-23 est essentiellement synthétisée par les cellules immunitaires innées, i.e cellules dendritiques et macrophages. L'IL-23R est exprimé par les lymphocytes T mémoires et activés. Les souris n'exprimant pas la sous-unité p19 (IL-23p19 $^{-/-}$ ) ne développent pas d'EAE ou de maladies inflammatoires chroniques du tube digestif et ne comprennent que très peu de cellules T CD4 $^{+}$  IL-17 $^{+}$  (95).

L'IL-23 promeut la pathogénicité des cellules Th17 matures par plusieurs mécanismes : i) le maintien de l'expression des gènes de la signature des Th17 (ROR $\gamma$ T et IL-17), ii) l'induction des gènes effecteurs (IL-22), iii) l'inhibition des facteurs répresseurs (IL-2, IL-27 et IL-12), iv) et l'amplification de son propre signal par l'augmentation de l'expression de l'IL-23R.

L'expression de l'IL-23R est nécessaire pour la co-expression par les Th17 du GM-CSF, les souris déficientes en GM-CSF ne développent d'EAE et les Th17 déficientes en GM-CSF ne peuvent pas transférer l'EAE à des souris naïves. L'IL-23 permet également l'expression par les Th17 de l'IFN- $\gamma$ .

Pour devenir des Th17 inflammatoires, les Th17 doivent surmonter les effets inhibiteurs de cytokines inhibitrices comme IL-27 et IL-2. Ainsi les Th17 IL23R<sup>+</sup> sont hautement résistantes à la suppression médiée par IL-27 et IL-2. Par ailleurs les Th17 pathogéniques expriment des niveaux bas d'AhR, de c-Maf et d'IL-17 comparés aux Th17 non pathogéniques. AhR et c-Maf permettent l'expression IL-10 par les Th17 différenciés avec de l'IL-6 et du TGF- $\beta$ .

L'ensemble des données à l'heure actuelle suggère que le TGF $\beta$ , l'IL-6 and l'IL-1 $\beta$  sont essentiels pour initier le développement des Th17, tandis que l'IL-23 est une cytokine clé dans la différenciation et les fonctions inflammatoires des cellules Th17 pathogéniques.

### **b- Chez l'homme**

Bien que la différenciation des Th17 chez l'homme ne soit pas encore totalement élucidée, les mécanismes semblent être similaires à ceux de la souris (86). Une combinaison de TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , et IL-6, IL-21 ou IL-23, permet d'induire la différenciation des cellules T CD4<sup>+</sup> naïves en Th17. L'expression de ROR $\gamma$ t chez l'homme est essentielle pour la différenciation en Th17. L'inhibition pharmacologique de ROR $\gamma$ t par la digoxine et ses dérivés, en se liant spécifiquement à ROR $\gamma$ t, inhibe la différenciation des Th17 chez l'homme (et chez la souris) (96).

En fonction de la stimulation induite par différents microorganismes, via l'activation des TLR ou des dectines par les PAMPs de ces agents microbiens, les cellules dendritiques sécrètent

l'IL-12p70, l'IL-23 ou l'IL-27. Lorsqu'une de ces cytokines devient prédominante, le signal induit détermine alors l'orientation Th1 ou Th17 de la réponse immunitaire. L'IL-27 (hétérodimère p28 et EBi3) inhibe la différenciation des Th17 via l'activation de STAT1. L'IL-12 (hétérodimère IL-12p40 et IL-12p35) promeut la différenciation des Th1. Leur sécrétion d'IFN- $\gamma$  inhibe également la génération des Th17. La stimulation de TLR4 par le LPS induit la synthèse des sous-unités p19, p35 et p40, soit la production de l'IL-12p70 et d'IL-23. La stimulation de TLR2 par les peptidoglycanes induit la production d'IL-23, mais pas de la sous-unité p35. Au contraire, la stimulation de TLR2 par Pam<sub>3</sub>CysSerLys<sub>4</sub> ne permet pas d'induire de l'IL-23 (97).

### **6-2 Facteurs de transcription des Th17**

STAT 3 et ROR $\gamma$ T sont les facteurs de transcription indispensables pour la différenciation des Th17. Cependant, plusieurs autres facteurs de transcription jouent un rôle important: IRF4, BATF, FoxP3, T-bet, ETS-1, E-FABP, SOCSs (98).

IRF-4 (Interferon regulatory factor 4) promeut la différenciation des Th17 via l'IL-21. IRF4 est un facteur de transcription exprimé par de nombreuses cellules hématopoïétiques actrices dans la réponse immunitaire. IRF4 promeut la différenciation des cellules T CD4<sup>+</sup> naïves en Th2, Th9, Th17 ou Tfh et est requis pour la fonction des cellules effectrices Treg. De plus, IRF4 est essentiel pour le maintien de la différenciation des cellules T CD8<sup>+</sup>, la formation des T CD8<sup>+</sup> mémoires, et dans la différenciation des cellules T cD8<sup>+</sup> naïves en cellules TCD8<sup>+</sup> productrices d'IL-9 (Tc9) et IL-17 (Tc17).

BATF agit comme promoteur de la différenciation des Th17. BATF est un puissant inhibiteur de l'expression des gènes médiée par AP-1 via la phosphorylation de BATF. BATF est hautement exprimé dans les cellules T et B après l'activation de NF- $\kappa$ B en réponse à des infections virales ou à la stimulation par l'IL-6. Bien que l'expression de BATF soit

augmentée dans plusieurs lignages de Th, un défaut d'expression de BATF ne permet pas la production d'IL-17 dans les cellules T CD4<sup>+</sup> et T CD8<sup>+</sup>, in vivo et in vitro.

FoxP3, Tbet et ETS-1 empêchent la différenciation des Th17.

### **6-3 Rôle des Th17**

A l'état basal, les cellules Th17 confèrent une défense contre les pathogènes. Les souris IL-17 KO et IL-17R KO possèdent une susceptibilité accrue aux infections bactériennes, parasitaires, virales et fongiques.

Sur le plan clinique, l'importance du rôle de l'IL-17 dans la défense antimicrobienne a été confirmée par la découverte que les patients ayant des mutations dans le gène STAT3, responsable du syndrome de Job, présentent une susceptibilité aux infections cutanées *par Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* et un déficit en lymphocytes Th17 spécifiques dans le sang périphérique (99). De même, la candidose cutanéomuqueuse chronique familiale (CCM) incluant un ensemble de maladies rares, possède une réponse immunitaire sélectivement altérée contre *candida albicans*. Il a été démontré que la susceptibilité de ces patients à *candida albicans* était secondaire à des anomalies de la voie IL-17, et notamment par la production d'anticorps anti-interleukine-17 chez les patients atteints du syndrome APECED, ou polyendocrinopathie auto-immune de type 1, syndrome inclus dans les CCM (100)(101)(102)(103).

Chez l'homme le groupe de Sallusto a montré que les lymphocytes Th17 spécifiques de *Candida albicans* produisent de l'IL-17 et de l'IFN- $\gamma$ , mais pas d'IL-10, tandis que les Th17 spécifiques de *Staphylococcus aureus* produisent de l'IL-17 et peuvent sécréter de l'IL-10. L'IL-1 $\beta$  est essentiel pour la réponse Th17 spécifique de *Candida albicans*.

Durant une exposition prolongée à l'IL-1 et l'IL-23, les cellules Th17 recrutent des cellules myéloïdes inflammatoires à l'origine d'une importante inflammation locale. Des expériences

sur des souris IL-17-, IL-22-, IL23A-or IL-23RA KO ont démontré le rôle majeur de ces cytokines dans les modèles EAE et de pathologies inflammatoires digestives, articulaires ou psoriasis. L'IL-17 et l'IL-22 jouent également un rôle majeur dans la physiopathologie de nombreuses pathologies inflammatoires humaines, telles la polyarthrite rhumatoïde (104), la maladie de Crohn (105), le lupus systémique (106), le syndrome de Gougerot Sjögren (107) ou le psoriasis (108).

#### **6-4 Balance Treg/Th17**

La balance Treg/Th17 est essentielle pour maintenir l'homéostasie au sein des muqueuses. Fait intéressant, la différenciation des cellules T CD4+ en Tregs ou Th17 comporte des similitudes. En effet, le TGF- $\beta$  induit l'expression du facteur de transcription FoxP3 requis pour l'induction et la maintenance des Treg (109). Cependant, en présence de TGF- $\beta$  et d'IL-6 ou IL-21, le programme de développement des Tregs est abrogé et les cellules T naïves se différencient en Th17. L'IL-6 joue un rôle clé dans la balance Treg/Th17. Les souris IL-6 KO ont un défaut majeur de Th17 mais une augmentation du nombre de Tregs périphériques (83). De plus, il a été montré que l'IL-2, facteur de croissance des Tregs, inhibe la génération des Th17 (110). Les souris IL-2-/- ont une diminution de la fréquence des Tregs mais une augmentation de la fréquence des Th17 (110). Donc, en fonction du microenvironnement, les lymphocytes T naïfs se différencient en cellules Th17, si le milieu est riche en cytokines pro-inflammatoires, ou en cellules Treg, si le milieu est pauvre en IL-6 et IL-1 $\beta$ .

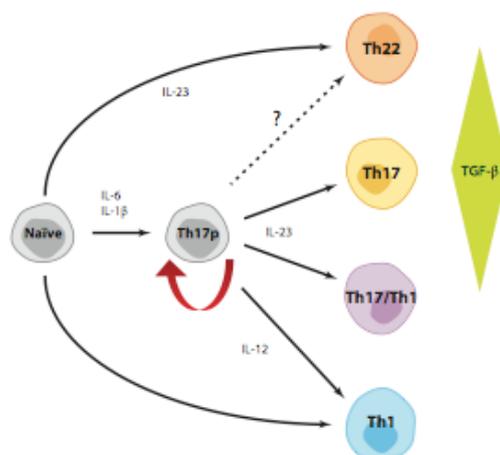
L'acide rétinoïque, métabolite dérivé de la vitamine A, oriente la différenciation des cellules T naïves vers les Tregs en abrogeant la différenciation vers les Th17 (111). L'acide rétinoïque (AR) augmente la signalisation du TGF- $\beta$  tout en inhibant celle de l'IL-6, en diminuant l'expression de l'IL-6R $\alpha$  induite par le TGF- $\beta$ . En présence d'IL-6 et de TGF- $\beta$ , l'AR empêche l'augmentation de l'expression de l'IL-23R, engendrant alors une diminution du

pool des Th17. L'AR ne peut induire seule les Tregs, mais doit coopérer avec le TGF- $\beta$ . L'AR se lie avec son récepteur nucléaire RAR $\alpha$ , augmentant l'activité du promoteur de FoxP3 (112).

### **6-5 Plasticité des Th17**

La plasticité des Th17 fait référence à leur capacité à acquérir des fonctions divergentes tout en maintenant le programme fondamental des Th17 défini par l'expression du facteur de transcription RoR $\gamma$ T et de l'IL-17. De récentes publications ont montré que les Th17 possédaient un haut degré de plasticité leur permettant d'exprimer alternativement des facteurs de transcription et des cytokines spécifiques d'un lignage. Une telle hétérogénéité fonctionnelle permet aux cellules Th17 une grande capacité d'adaptation dans leur migration vers divers sites anatomiques, leur fonction de défense vis à vis des pathogènes, leurs rôles dans le maintien de l'intégrité des barrières et dans la cicatrisation (113)(114).

Au niveau cutané, le rôle des kératinocytes dans le maintien du phénotype des Th17 a été mis en évidence. In vitro, il a été montré que des co-cultures de kératinocytes stimulés par du TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$  avec des cellules T CD4<sup>+</sup> ou T CD8<sup>+</sup> stimulés par des anticorps anti-CD3/CD28 induisaient un phénotype T IL-17<sup>+</sup> CCR6<sup>+</sup> RoR $\gamma$ T<sup>+</sup> au sein des lymphocytes (115).



*Figure 7 : plasticité des Th17, adapté de Weaver et al (116)*

## **7- Les interleukines 17**

### **7-1-Structure et récepteur**

Les cytokines de la famille de l'IL-17 incluent 6 membres : l'IL-17A (appelée IL-17), l'IL-17B, l'IL-17C, l'IL-17D, l'IL-17E (IL-25) et l'IL-17F (117). Les deux plus connus sont l'IL-17A et l'IL-17F, partageant 50% d'homologie entre elles. Ces deux cytokines peuvent exister sous forme d'homodimère IL-17A et IL-17F, ou sous forme d'hétérodimère IL-17A-IL-17F. Seule l'IL-17E n'est pas produite par les Th17, mais par les Th2 (118). L'IL-17A et l'IL-17F sont également produites par les cellules T $\gamma\delta$ , les cellules NK et NKT, les neutrophiles, les mastocytes et les éosinophiles (119)(120). L'IL-17A et IL-17F sont donc à la fois produites par des cellules de l'immunité innée et adaptative.

La famille des récepteurs IL-17 inclue l'IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD et l'IL-17RE. L'IL-17RA et l'IL-17RC sont des récepteurs pour l'IL-17A et l'IL-17F. L'IL-17RB (IL-17RH1 ou EVI27) est le récepteur pour l'IL-17E (IL-25) et peut lier l'IL-17B avec une moindre affinité. Le signal médié par l'IL-17RB promeut une réponse Th2. Les récepteurs IL-17R comportent un domaine transmembranaire et un grand domaine intracellulaire C terminal. L'IL-17RA a une meilleure affinité pour l'IL-17A que pour l'IL-17F. L'IL-17RA est fortement exprimé par les cellules hématopoïétiques, et, à un niveau plus faible, par les ostéoblastes, fibroblastes, les cellules endothéliales et les cellules épithéliales. Il semble que pour transmettre un signal, ces récepteurs doivent s'associer en hétérodimères. Chez l'homme, l'IL-17RA peut former un hétérodimère avec l'IL-17RC, pouvant lier l'IL-17A et l'IL-17F (121). L'IL-17RC est fortement exprimé par les cellules non hématopoïétiques.

### **7-2 Signalisation de l'IL-17**

L'IL-17 active plusieurs voies de signalisation dont les voies NF- $\kappa$ B, MAPKs et C/EBPs, et permet ainsi d'induire la production de peptides anti-microbiens, chémokines et cytokines

pro-inflammatoires et de métalloprotéinases. L'IL-17 peut également stabiliser les ARNm des gènes induits par le TNF- $\alpha$ . La molécule cytosolique adaptatrice Act1 est considérée comme la médiatrice principale de la voie de signalisation de l'IL-17. In fine, l'IL-17 couplée à son récepteur induit l'activation de NF- $\kappa$ B, facteur de transcription primordial à l'expression des gènes impliqués dans l'initiation des réponses immunes innées et adaptatives. L'activation de NF- $\kappa$ B par l'IL-17 est relativement faible comparée à l'activation médiée par le TNF $\alpha$  ou l'IL-1. Cependant l'IL-17 possède en plus un effet stabilisateur sur de nombreux ARNm codant pour des protéines inflammatoires induits par NF- $\kappa$ B et le TNF $\alpha$ , normalement de courte demi-vie. Ce mécanisme de régulation post-transcriptionnel est à l'origine de l'effet synergique pro-inflammatoire existant entre l'IL-17 et le TNF $\alpha$ . En effet IL-17-A seul a de modestes effets d'activation. Cependant, il fonctionne en coopérant avec d'autres molécules pro-inflammatoires comme le TNF- $\alpha$  mais aussi IFN- $\gamma$ , IL-22, lymphotoxine, IL-1B et le LPS. Les bases moléculaires de cette synergie ne sont pas à l'heure actuelle totalement comprises mais impliquent probablement des mécanismes multiples. Par exemple, dans le tissu synovial, IL-17 augmente l'expression du TNFR2 et ainsi augmente la réponse au TNF.

### **7-3 Rôles des IL-17A et F**

L'IL-17A et l'IL-17F sont des cytokines dites pro-inflammatoires. Elles agissent sur de nombreuses cellules immunitaires en induisant la production de nombreuses cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, GM-CSF, G-CSF), de chémokines (CXCL1, CXCL8, CXCL10) et de métalloprotéinases (122)(123). L'IL-17A et l'IL-17F sont notamment des cytokines clés pour le recrutement, l'activation et la migration des neutrophiles (124). L'IL-17 a également été rapportée comme facteur contribuant à la formation des centres germinatifs des follicules lymphoïdes (125).

Les souris KO pour l'IL-17RA présentent des infections sévères à *Klebsiella* (126) et *Candida* (127). Certaines bactéries (comme *Pseudomonas aeruginosa*) et certains champignons (*Aspergillus fumigatus*) induisent la production d'IL-17. Mais c'est la forte infiltration de polynucléaires induite par l'IL-17 qui permet la clairance de ces pathogènes. Dans ce cadre, l'inflammation médiée par l'IL-17 peut engendrer des pathologies inflammatoires et auto-immunes. Au cours d'infection ou inflammation cutanée, la production locale de PAM par les kératinocytes peut être stimulée par les cytokines inflammatoires IL-17 et IL-22, produites notamment par les cellules Th17/Th22 (figure 8) (27)(2).

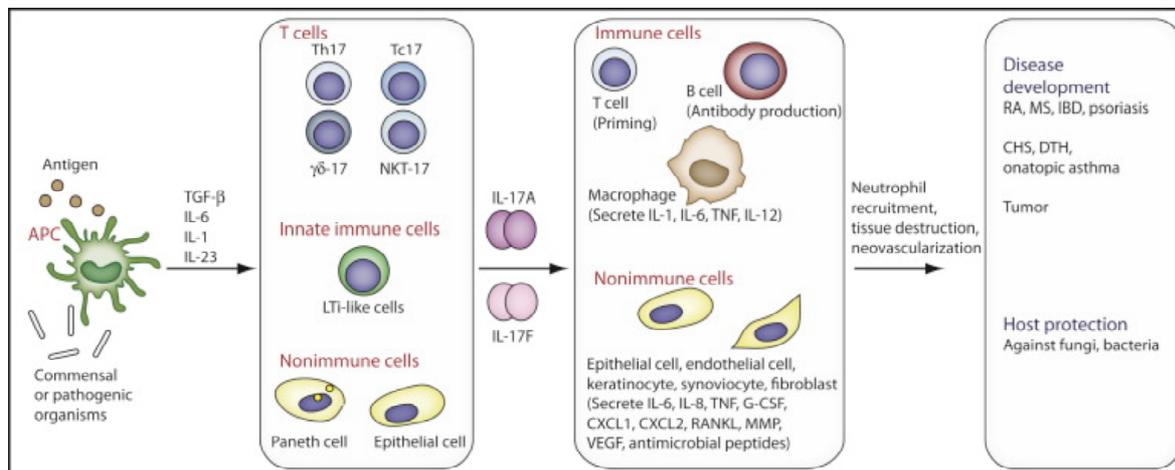


Figure 8 : Rôles des IL-17

## **8- Les lymphocytes Th22: une population T CD4 distincte avec des facteurs de migration cutanée ?**

En 2009, une nouvelle population de lymphocytes T CD4+ mémoires, nommée Th22, caractérisées par l'expression des facteurs de « homing » CCR4, CCR6 et CCR10 a été décrite par trois équipes différentes (128)(129)(130). Ces cellules produisent de l'IL-22 et de l'IL-13 mais pas d'IL-17 et IFN- $\gamma$ , les distinguant des lymphocytes Th17, Th2 et Th1. Les

facteurs de transcription RORC et AhR sont impliqués dans la régulation de la production d'IL-17 et IL-22 dans les cellules T CD4+. Des ARN interférents (siRNA) spécifiques de RORC induisent l'inhibition de la production d'IL-17 mais pas de l'IL-22, suggérant que RORC n'est pas indispensable à la synthèse d'IL-22 par les lymphocytes T. Au contraire, des ARN interférents spécifiques d'AhR engendrent une diminution de la production d'IL-22 mais pas d'IL-17. Le TGF- $\beta$ , facteur clé dans la différenciation des Th17, inhibe la production d'IL-22 par ces cellules (131).

Dans les conditions de polarisation des Th17 ou non, des agonistes d'AhR (FICZ) augmentent la sécrétion d'IL-22 dans des cultures de cellules T CD4+ naïves (128). La génération des cellules IL-22+ IL17- ne requerrait pas le TGF- $\beta$ , cytokine essentielle dans la différenciation des Th17. Les Th22 n'expriment pas d'IL-23R et ne produisent pas de CCL20 contrairement aux Th17. In vitro, les cellules T CD4+ naïves se différencient en Th22 sous l'influence des cytokines TNF- $\alpha$  et IL-6 (130). Fujita et al (PNAS 2009) ont montré que les cellules dendritiques cutanées dermiques (HLADR+CD11c+BDCA-1+) et les cellules de Langerhans (HLADR+CD207+) pouvaient induire in vitro la production d'IL-22 dans des cellules T CD4+ et T CD8+ mémoires et des cellules T CD4+ naïves (44). Les cellules de Langerhans étaient plus puissantes dans l'induction de Th22.

L'expression de CCR4 et CCR10 suggèrent la migration préférentielle de ces cellules vers la peau. En effet, les interactions entre CCL17, exprimé par les veinules cutanées, et CCR4, et entre CCL27, exprimé par les kératinocytes, et CCR10, permettent le recrutement des cellules T dans la peau. Les fréquences des Th22 dans le sang de témoins sains, patients atteints de psoriasis ou de dermatite atopique, ont été évaluées respectivement à 1,1%, 3% et 4,7%. Dans le derme et l'épiderme de patients atteints de psoriasis, la fréquence des Th22 a été reportée respectivement à 5,9% et 12% (130).

Cependant, l'existence d'une population Th22 distincte est aujourd'hui controversée. Les cellules T CD4<sup>+</sup> IL-22<sup>+</sup> sont considéré par certains auteurs comme un sous-type des Th17 (132).

AhR est exprimé dans les cellules Th17, Th22 et Treg. En l'absence de ligand, AhR est présent dans le cytoplasme des cellules, lié à plusieurs protéines chaperonnes (HSP90, AIP, p23). L'ensemble forme un complexe inactif. Lorsque qu'un ligand d'AhR se lie, le complexe migre dans le noyau. AhR change alors de conformation et se dimérise avec ARNT. Le nouveau complexe (AhR-ARNT) peut ainsi se lier sur des séquences DRE du génome et permettre la transcription des gènes cibles (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 et AhRR (répresseur d'AhR). AhR jouerait un rôle majeur dans la production d'IL-22. De nombreux ligands exogènes d'AhR ont été décrits, notamment des xénobiotiques (TCDD ou 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine). Les métabolites du tryptophane (notamment FICZ ou 6-formylindolo [3,2-b] carbazole) sont potentiellement des ligands endogènes d'AhR (133). AhR permet la production d'IL-22 dans les cellules Th17 et Th22. Les mécanismes moléculaires ne sont pas connus. Il a été montré que ROR $\gamma$ T facilitait la liaison d'AhR avec le promoteur de l'IL-22 dans des cellules de thymome EL-4 infectées par des rétrovirus exprimant AhR et ROR $\gamma$ T. L'expression d'AhR dans l'organisme est ubiquitaire. Cependant, AhR n'est pas exprimé dans les lymphocytes Th1, Th2 et cellules T naïves. Par ailleurs, AhR est hautement exprimé à la fois dans les Tregs et dans les Th17 (134). Le ligand 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induit l'expression de FoxP3, tandis que le ligand 6-formylindolocarbazole promeut la différenciation des Th17 (134)(135).

Dans la peau, AhR joue un rôle critique dans l'homéostasie et la barrière cutané. AhR est exprimé dans les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules T $\gamma$  $\delta$  murines (DECTs). AhR promeut la différenciation kératinocytaire et donc le maintien de la barrière cutanée. AhR jouerait également un rôle dans la fonction de tolérance des cellules de

Langerhans en induisant la sécrétion d'IL-10 et IDO par ces cellules. Enfin, AhR, favoriserait la cicatrisation cutanée en induisant la production de TGF- $\beta$  par les fibroblastes.

## **9- L'interleukine 22**

### **9-1 Structure de l'IL-22 et de son récepteur**

L'IL-22, cytokine découverte en 2000, est un membre de la famille des cytokines de type IL-10 (136). La forme biologiquement active de l'IL-22 semble être un monomère. Cependant, lors de fortes concentrations d'IL-22, il a été observé des formes dimériques, voire tétramériques (137)(138).

Comme toutes les membres de la famille de l'IL-10, L'IL-22 agit sur les cellules cibles via un récepteur transmembranaire (ici l'IL-22R) composé de deux sous-unités IL-10R2 (A001245) et IL-22R1 (139)(140). L'IL-22 a une très forte affinité pour la partie extracellulaire de l'IL-22R1, mais peu d'affinité pour la partie extracellulaire de l'IL-10R2. C'est le complexe IL-22-IL-22R1 qui présente une forte affinité pour l'IL-10R2. Ainsi, l'IL-22 se fixe d'abord sur la chaîne IL-22R1, puis c'est le complexe IL-22-IL-22R1 qui se lie avec la 2ème sous-unité du récepteur IL-10R2, permettant alors la propagation du signal. Ces 2 sous-unités du récepteur à l'IL-22 peuvent être utilisées par d'autres cytokines. L'IL-22R1 est une sous-unité commune aux récepteurs des interleukines IL-20 et IL-24, membres de la famille de l'IL-10. L'IL-10R2 est une sous-unité commune aux récepteurs des cytokines IL-10, IL-26, IL-28 et IL-29 (141). La sous-unité IL-10R2 est exprimée de façon ubiquitaire chez l'homme, contrairement à l'IL-22R1. C'est donc l'IL-22R1 qui détermine les cellules cibles de l'IL-22. En effet, l'IL-22R1 n'est exprimé qu'à la surface des cellules des organes constituant les barrières entre l'organisme et le milieu extérieur : cellules épithéliales du système respiratoire, digestif et cutané, mais également par des cellules du rein, foie et pancréas. Les monocytes,

macrophages, cellules T et B, cellules NK, cellules dendritiques n'expriment pas l'IL-22R1 (142)(143).

Dans la peau, les kératinocytes sont les principales cellules cibles de l'IL-22. Les fibroblastes expriment faiblement l'IL-22R1. Les mélanocytes, cellules endothéliales dermiques et adipocytes n'expriment pas l'IL-22R1 (144). L'IFN- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$  sont capables d'augmenter l'expression de l'IL-22R1 sur les kératinocytes et les fibroblastes, suggérant leur capacité à amplifier l'action de l'IL-22 dans un contexte inflammatoire (144).

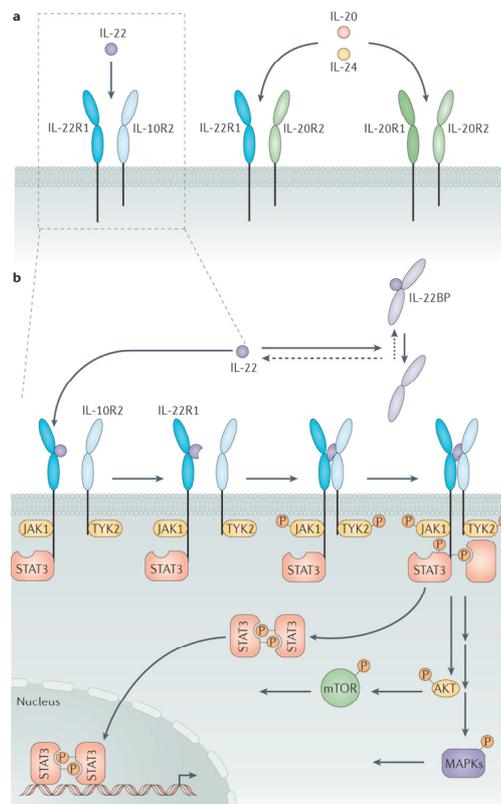


Figure 9 : voie de l'IL-22/IL-22R, adapté de Sabat et al

Un récepteur soluble de l'IL-22, l'IL-22BP, codé par un gène différent, existe également et est un antagoniste soluble. L'affinité entre l'IL-22 et l'IL-22BP est de 20 à 1000 plus

importante que celle entre l'IL-22 et l'IL-22R1 (145). L'IL-22BP est exprimé par les cellules dendritiques immatures. L'expression d'IL-22BP est retrouvée dans les tissus sains : organes lymphoïdes, système digestif, poumons, peau, seins. Durant la phase inflammatoire aigue, habituellement associée à une augmentation de la production d'IL-22, l'expression tissulaire d'IL-22BP diminue (146). Ceci est similaire à la biologie des cellules dendritiques : en l'absence d'inflammation, les cellules dendritiques immatures résident dans les tissus. Lors d'une inflammation, les cellules dendritiques sont activées et quittent les tissus (147).

### **9-2 Signalisation IL-22**

Comme les autres cytokines de la famille de l'IL-10, la transmission du signal émis par l'IL-22, implique la voie des facteurs de transcription JAK1-STAT3. La formation du complexe IL-22-IL-22R1-IL10R2 induit la phosphorylation et l'activation de ces tyrosines kinases, qui à leur tour phosphorylent les résidus tyrosines du domaine cytoplasmique de l'IL-22R1. STAT3 se lie alors à l'IL-22R1 phosphorylé, et JAK1 activé phosphoryle le complexe IL-22R1-STAT3. La phosphorylation de STAT3 au niveau du résidu Tyr705 constitue l'événement clé. La modification de conformation de STAT3 induite permet la dimérisation STAT3-STAT3, la translocation vers le noyau puis l'activation des gènes cibles (148). De faibles activations de STAT1 et STAT5 ont été reportées (142). L'activation des voies des MAPK et PI3K-AKT a également été observée après stimulation de l'IL-22 (149).

### **9-3 Rôle de l'IL-22**

L'IL-22 est une cytokine particulière, car elle ne régule pas directement les fonctions des cellules immunitaires. En effet, ses cellules cibles sont les cellules non hématopoïétiques des épithéliums cutanés, digestifs et respiratoires, ainsi que les cellules du pancréas, du foie, du rein et des articulations.

Dans la peau, les kératinocytes sont les principales cellules cibles de l'IL-22. Les fibroblastes expriment de faibles taux d'IL-22R1. Les mélanocytes, cellules endothéliales et les adipocytes n'expriment ni ne répondent à l'IL-22. L'IFN- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$  sont capables d'augmenter l'expression d'IL-22R1 sur les kératinocytes et les fibroblastes, ce qui suggère que ces cytokines peuvent amplifier l'action de l'IL-22 durant une inflammation.

L'IL-22 est critique dans la limitation de la réplication et de la dissémination bactérienne, notamment grâce à l'induction de l'expression de peptides anti-microbiens par les cellules épithéliales. Deux études ont montré notamment le rôle essentiel de l'IL-22 dans la défense contre les bactéries extra-cellulaires *Klebsiella pneumoniae* dans les poumons (150) et *Citrobacter rodentium* dans l'intestin (151). De plus, il a été démontré que des souris déficientes en IL-22 ou IL-23, mourraient très précocement après l'infection par ces deux pathogènes (150). Les effets induits par l'IL-22 sont amplifiés par d'autres cytokines tel l'IL-17 ou le TNF- $\alpha$ . L'IL-22 protège également ses cellules cibles de dommage, inhibent leur différenciation et/ou augmentent leur prolifération (147).

L'IL-22 permet également d'induire un contrôle positif amplifiant ses actions. En sus de son rôle dans les défenses anti-bactériennes, l'IL-22 peut induire une inflammation pathologique. Il a été rapporté que l'injection d'IL-22 chez des souris était suffisante pour induire une inflammation locale et systémique (152)(80).

#### **9-4 Sources cellulaires de l'IL-22**

Au cours des pathologies humaines, les sources cellulaires exactes d'IL-22 ne sont pas encore clairement établies, probablement dépendantes du contexte pathologique. Les cellules T et les cellules lymphoïdes innées (ILC, innate lymphoid cells) sont considérées comme les cellules principales productrices d'IL-22 chez l'homme.

Les lymphocytes Th17, source majeure d'IL-17, peuvent également synthétiser de l'IL-22. Ces 2 cytokines ayant un effet synergique, leurs actions sont ainsi amplifiées. Les ILC, cellules NK et ILC du groupe 3, peuvent produire de l'IL-22. Dans des modèles de souris infectées par *Citrobacter rodentium*, les ILC du groupe 3 sont les principales sources d'IL-22 au stade aigu, tandis que les Th22 sont les principales sources d'IL-22 au stade chronique (151)(153). Chez l'homme, l'IL-22 n'est pas produite par les monocytes, macrophages, cellules dendritiques et cellules non hématopoïétiques (143)(154).

### **9-5 Effets de l'IL-22**

L'IL-22 régule l'expression de nombreux gènes dans les cellules épithéliales de la peau, du tube digestif et de l'appareil respiratoire. Cinq grandes fonctions peuvent être régulées par l'IL-22 :

- 1) augmentation des réponses immunitaires innées,
- 2) inhibition de la différenciation cellulaire ou augmentation de la prolifération,
- 3) production de chémokines spécifiques,
- 4) promotion de la migration cellulaire,
- 5) induction de molécules amplifiant la réponse médiée par l'IL-22.

Ainsi, au niveau des kératinocytes, l'IL-22 régule plusieurs fonctions distinctes:

- i- augmentation de la production des PAM :  $\beta$ -défensine 2 et 3, protéines S100A7, S100A8 et S100A9, lipocaline 2.
- ii- inhibition de la différenciation des kératinocytes, pré-requis pour la formation des cornéocytes de la couche cornée et de la desquamation physiologique. L'IL-22 diminue l'expression de protéines cruciales pour la différenciation des kératinocytes : kératine 1, kératine 10, profilaggrine, involucrine, kallikréine 7, protéine 1B. L'IL-22

induit donc un acanthosis et une hyperkératose. L'IL-17 et l'IFN-g peuvent également induire la production de PAM, mais par contre sont incapables d'interférer avec la différenciation kératinocytaire.

- iii- production des métalloprotéinases MMP1 et 3, ce qui permet d'augmenter la capacité migratoire des cellules épithéliales lors des phénomènes de réparation tissulaire.
- iv- production de chémokines permettant le recrutement des polynucléaires neutrophiles (CXCL1, CXCL2, CXCL5 et CXCL8). Par contre l'expression de CCL22, chémokine qui attire les lymphocytes Th2 et Th17 est diminuée.
- v- augmentation de l'expression de STAT3 et IL-20, permettant d'amplifier les actions de l'IL-22 via un contrôle positif

L'étude de l'IL-22 doit prendre en compte le micro-environnement. En fonction du contexte cytokinique, l'IL-22 peut avoir des rôles paradoxaux. En effet, l'IL-22 est à la fois capable de promouvoir l'inflammation, mais également de prévenir la destruction tissulaire (145). Par exemple, l'IL-22 est capable d'induire une inflammation des voies aériennes après administration de bléomycine chez la souris, mais en l'absence d'IL-17A, l'IL-22 permet le maintien de l'homéostasie des voies aériennes et induit la réparation tissulaire de l'épithélium (125).

L'IL-22 agit de façon synergique avec plusieurs cytokines l'IL-17A, l'IL-17F, l'IFN- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$ . L'IL-22, IL-17A et IL-17F ont un rôle essentiel et synergique dans l'induction de l'expression des peptides antimicrobiens.

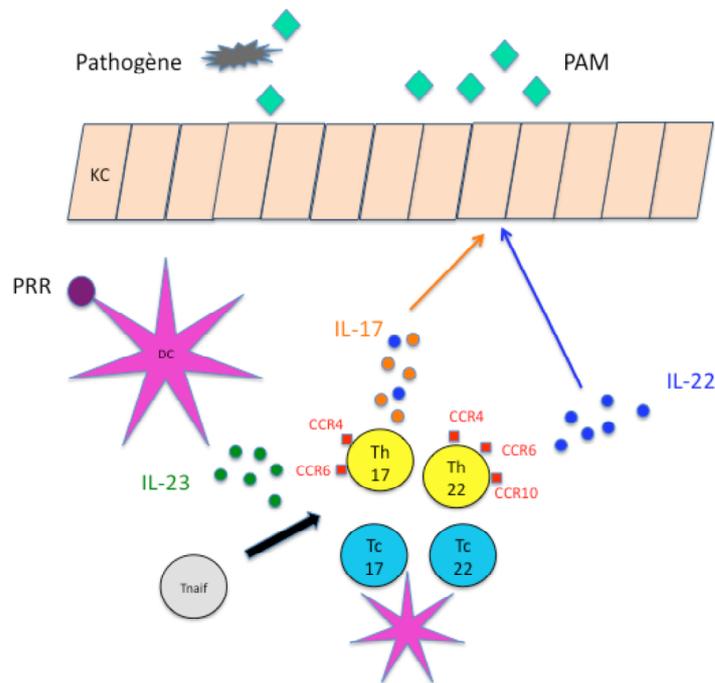


Figure 10: réponse Th17/Th22 dans la défense microbienne cutanée

Les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> Tc17 et Tc22, caractérisés par l'expression des facteurs de transcription RoR $\gamma$ T et AhR, et par la production respective des cytokines IL-17/IL-22 et IL-22 seule, à l'image des Th17 et Th22, ont été décrits (36). Ces cellules sont moins caractérisées dans la littérature. Cependant, leur étude dans la physiopathologie de dermatoses inflammatoires, telle le psoriasis, est intéressante, puisque l'infiltration des T CD8<sup>+</sup> dans l'épithélium cutané est importante.

### **10- Les innate lymphoid cells (ILC)**

Les ILC, cellules récemment décrites, ont un rôle primordial dans la réponse immunitaire innée. Elles sont localisées dans les tissus, surtout au niveau des épithéliums. Elles sont définies par 3 caractéristiques : 1) une morphologie lymphoïde, 2) une absence de réarrangements de gènes codant pour un récepteur TCR, 3) une absence des marqueurs phénotypiques des cellules myéloïdes et dendritiques (156). Les ILCs sont ainsi définis par

une absence de marqueurs phénotypiques (lin-) : absence des marqueurs T (CD3- TCR-), des marqueurs B (CD19-), des cellules myéloïdes et dendritiques plasmacytoïdes (CD1a, CD11c, CD123, DBCA2), des marqueurs des monocytes et macrophages (CD14), des mastocytes (FceR1) et des cellules souches (CD34).

Les ILC sont impliquées dans les réponses immunitaires contre les microorganismes, dans la formation des tissus lymphoïdes et le remodelage tissulaire. Plusieurs populations distinctes d'ILC ont été identifiées, avec initialement des nomenclatures différentes pour une même population.

En 2013, Spits et al ont proposé une classification des ILC basée sur leurs caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles (157). Plusieurs groupes ont ainsi été individualisés : i) groupe 1 ILCs, comprenant les cellules ILC productrices d'IFN- $\gamma$  et incapables de produire les cytokines associées aux Th2 et Th17. Les ILC1 ne sont pas encore bien définis (158). Il a été distingué les ILC1 CD127- et les ILC127+. Les cellules NK (CD127-) sont inclus dans ce groupe 1 (157), ou considéré comme une entité à part (158); ii) groupe 2 ILCs, cellules caractérisées par leur capacité à produire les cytokines de type 2 (notamment IL-5 et IL-13) et dont le développement et fonctions dépendent des facteurs de transcription GATA3 et ROR $\alpha$  ; iii) groupe 3 ILCs, incluant toutes les cellules ILCs produisant de l'IL-17 et/ou IL-22, et dont le développement et fonctions requièrent les facteurs de transcription RoR $\gamma$ t, Notch et TCF-1 chez la souris, et reste à confirmer chez l'homme (158). Le développement des cellules du groupe 3 dépend également de l'IL-7Ra. Ces cellules répondent à la stimulation des cytokines IL-23 et IL-1 $\beta$  (159)(160).

Trois membres de ce groupe 3 ont été identifiés selon leurs différences phénotypiques: 1) les LTi; 2) les NCR<sup>+</sup> ILC3 ; 3) et les NCR<sup>-</sup> ILC3.

Les LTi, sont cruciales pour la formation des organes lymphoïdes secondaires durant l'embryogénèse. Leur rôle dans l'immunité innée a été suggéré après la description de leur

capacité à produire de l'IL-17A et IL-22 après stimulation. Les L<sub>Ti</sub> chez l'homme n'expriment pas le marqueur CD4<sup>+</sup> contrairement aux L<sub>Ti</sub> chez la souris.

Les NCR<sup>+</sup> ILC3 diffèrent des L<sub>Ti</sub>, par l'expression entre autre de NKp46 (NCR1), NKp44 (NCR2), CD161, ICOS et CD56 dans 50% des cas (NKp46 chez la souris, NKp44 et NKp46 chez l'homme). Ces cellules produisent de l'IL-22 mais pas d'IL-17A. Elles ont été également dénommées sous le terme de cellules NK22, NCR22, NKR-L<sub>Ti</sub> et ILC22s.

Les NCR<sup>-</sup> ILC3 n'expriment pas NKp46 (161). Ces cellules sont capables de produire de l'IL-17A, IL-22 et de l'IFN- $\gamma$ . Leur déplétion dans des souris RAG2<sup>-/-</sup> infectées par *Helicobacter hepaticus* a permis une amélioration de la colite chez ces souris, témoignant de leur potentiel rôle pathogène (162).

Le groupe 3 est hétérogène et comprend des cellules capables de produire de l'IL17/et ou IL-22, et les cellules capables de produire de l'IL-17, IL-22 et IFN- $\gamma$ . Il n'est pas encore établi si les L<sub>Ti</sub>, NCR<sup>+</sup> ILC3 et NCR<sup>-</sup> ILC3 sont des entités distinctes. En effet, il a été montré, in vitro chez l'homme, que les cellules NCR<sup>-</sup> ILC3, stimulées par de l'IL-23 et IL-1 $\beta$ , pouvaient se différencier en NCR<sup>+</sup> ILC3, et stimulées par l'IL-12 en ILC1. De même, les NCR<sup>+</sup> ILC3 peuvent se différencier en ILC1 après stimulation par l'IL-12. Les cellules surexpriment alors Tbet au détriment de RoR $\gamma$ t. Il existerait, à l'image des lymphocytes T conventionnels, une certaine plasticité de ces cellules en fonction du microenvironnement dans lequel elles se trouvent.

Chez un individu sain, de 0,01% à 0,1% des lymphocytes circulants ont un phénotype ILC CD127<sup>+</sup>. La majorité de ces cellules sont des ILC du group 2. Les NCR<sup>+</sup> ILC3 et les CD127<sup>-</sup> ILC1 sont absents (158). Aucun transcrite des cytokines n'est retrouvé dans les ILC périphériques, témoignant de leur inactivité. Dans la peau saine, les ILC du groupe 2 et les NCR<sup>-</sup> ILC3 sont les types d'ILC majoritaires (163)(164). Dans le thymus, amygdales, moelle osseuse et tube digestif, les NCR<sup>+</sup> ILC3 sont le sous-groupe d'ILC prédominant.

Dans la peau humaine saine, les cellules CD45<sup>+</sup> Lin<sup>-</sup> CD127<sup>+</sup> représentent 1,3% des lymphocytes dermiques CD45<sup>+</sup>. Les NCR<sup>+</sup> ILC3 ne sont quasiment pas retrouvés dans la peau et dans le sang. Au contraire, 25% des cellules CD45<sup>+</sup> Lin<sup>-</sup> CD127<sup>+</sup>, expriment CRTH2, marqueur des ILC2. Les ILC1, ILC2 et NCR<sup>-</sup> ILC3 exprimaient le marqueur de « homing » cutané CLA (respectivement 26,4% ; 16,7% et 58,1% des cellules CD3-Lin-CD127<sup>+</sup>), suggérant ainsi que les populations dermiques ILC peuvent dériver des ILCs sanguines ayant migré dans la peau (164).

Dans des peaux inflammatoires de patients atteints de dermatite atopique, il a été retrouvé une augmentation significative du pourcentage d'ILC2 comparés à des peaux saines (>2% vs <1%) (165). De plus, l'interaction entre E-cadherine et les ILC-2 inhibent la production d'IL-5 et d'IL13. La dermatite atopique se caractérise par une baisse d'expression de l'E-cadherine. Ainsi, les ILC-2 pourraient contribuer à la production accrue de cytokines de type 2 par l'absence de signal inhibiteur donné par l'E-cadherine, suggérant ainsi le rôle potentiel des ILC2 dans la physiopathologie de la maladie.

Chez la souris, il a été montré que les ILC3 jouaient un rôle important dans la cicatrisation en interagissant avec les fibroblastes via la sécrétion d'IL-22. Le psoriasis est une dermatose inflammatoire médiée entre autre par l'IL-17 et l'IL-22. Dans un modèle de souris de psoriasis (souris exposée à l'imiquimod, agoniste du TLR7), les cytokines IL-17 et IL-22 étaient produites par les cellules T et les ILC3 (166). L'augmentation de la fréquence des NCR<sup>+</sup> ILC3 a été reportée dans les peaux (163)(164), et le sang de patients atteints de psoriasis (167), suggérant un rôle des ILC3 dans la physiopathologie du psoriasis .

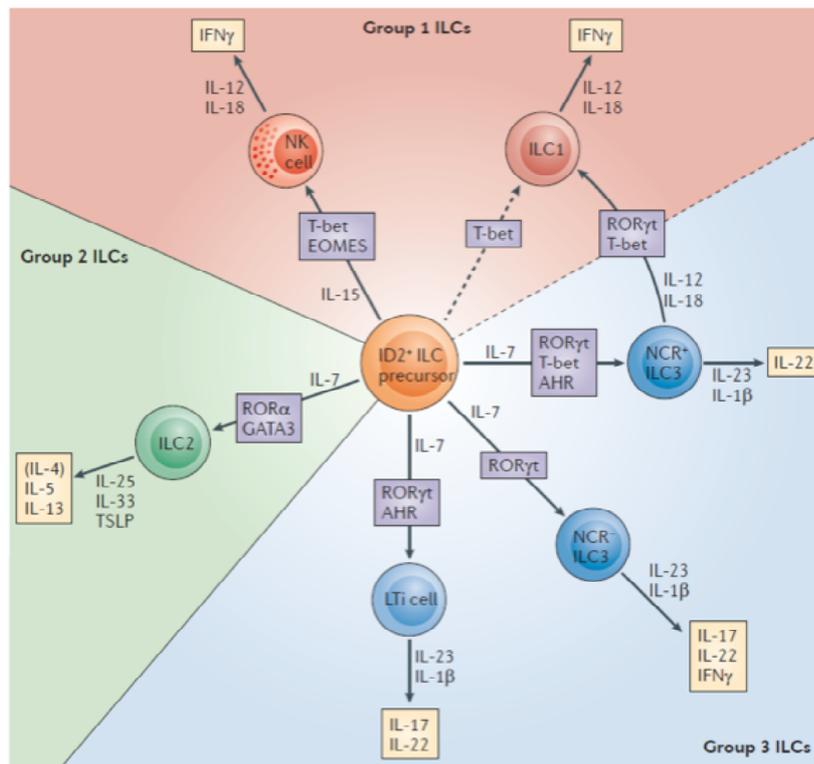


Figure 11 : les ILC, adapté de Spits et al (157)

## **11- Axe IL23/IL17/IL22 dans les pathologies inflammatoires cutanées**

### **11.1-Psoriasis**

Le psoriasis est une dermatose inflammatoire médiée par les lymphocytes T et les cellules dendritiques. Les cellules dendritiques sécrètent de l'IL-23 et IL-12. Les Th17, Th1 et Th22 sont alors activés et produisent les cytokines inflammatoires IL-17, IL-22, IFN- $\gamma$  et TNF- $\alpha$ .

En 2007, Ouyang W et al ont montré le rôle primordial de l'IL-22 dans la physiopathologie du psoriasis (80)(168). L'IL-22 induit une inflammation dermique via l'activation de STAT3 in vivo. Des études thérapeutiques sur des anticorps ciblant l'IL-23, l'IL-17 ou le TNF- $\alpha$  ont confirmé le rôle clé de ces cytokines dans la physiopathologie du psoriasis (49). Des modèles de souris transgéniques avec une hyper-expression d'IL-22, ainsi que des souris traités par des injections d'IL-23 intradermique, ont un phénotype cutané de psoriasis (169). L'IL-23

intradermique promeut l'acanthosis, le recrutement de neutrophiles ainsi que l'infiltration des cellules T productrices d'IL-17 et IL-22. A l'inverse, l'inhibition d'IL-23 entraîne une diminution cutanée d'IL-17 et IL-22. Chez les souris déficientes en IL-23, l'inflammation cutanée médiée par l'IL-23, est diminuée (162).

Plusieurs études ont montré une augmentation de l'expression des transcrits IL-22 dans des biopsies cutanées, ainsi que l'augmentation du taux plasmatique d'IL-22 chez les patients atteints de psoriasis. Une corrélation a été établie entre le taux plasmatique d'IL-22 et la sévérité de la maladie (170)(171)(172). De plus, l'IL-17 et l'IL-22 induisent une sécrétion inappropriée des PAM et de chémokines par les kératinocytes, entraînant le recrutement et l'activation de nombreuses cellules inflammatoires (neutrophiles, macrophages et mastocytes). Il n'y a pas d'augmentation de la fréquence des infections microbiennes chez les patients atteints de psoriasis, malgré une anomalie de la barrière cutanée, probablement en lien avec la sécrétion majeure de PAM. Plus récemment l'IL-19, l'IL-24 et l'IL-20 ont été impliquées dans la physiopathologie de la maladie (173). L'IL-24, IL-22 et IL-20 sont des cytokines membres de la famille de l'IL-10 dont le récepteur est l'IL-22R1. Récemment, un modèle de souris de phénotype psoriasique, présentant une inhibition spécifique de NF- $\kappa$ B dans les kératinocytes a été décrit. Kumari et al, ont montré dans ce modèle de souris, que le TNF- $\alpha$ , via le récepteur TNFR1, induisait une augmentation de l'expression de l'IL-24 par les kératinocytes (5). Ce signal médié par le TNF- $\alpha$ /TNFR1 était nécessaire et suffisant pour induire une inflammation cutanée. Dans les stades précoces de psoriasis, l'expression de l'IL-20 et IL-22 n'était pas augmentée contrairement à l'expression d'IL-24. Cette étude suggère le rôle clé du kératinocyte et de l'IL-24 dans l'initiation de la réponse inflammatoire. Chez l'homme, il a été rapporté une diminution de l'expression de l'IL-19, IL-20, IL-22 et IL-24 dans l'épiderme après traitement par anti-TNF- $\alpha$ . Le kératinocyte serait ainsi une cible directe de la biothérapie (174). Cibler l'IL-22R1 dans le psoriasis paraîtrait plus prometteur que de

cibler spécifiquement l'IL-22. En effet, en ciblant l'IL-22R1, les actions médiées par l'IL-22, l'IL-20 et l'IL-24 seraient bloquées.

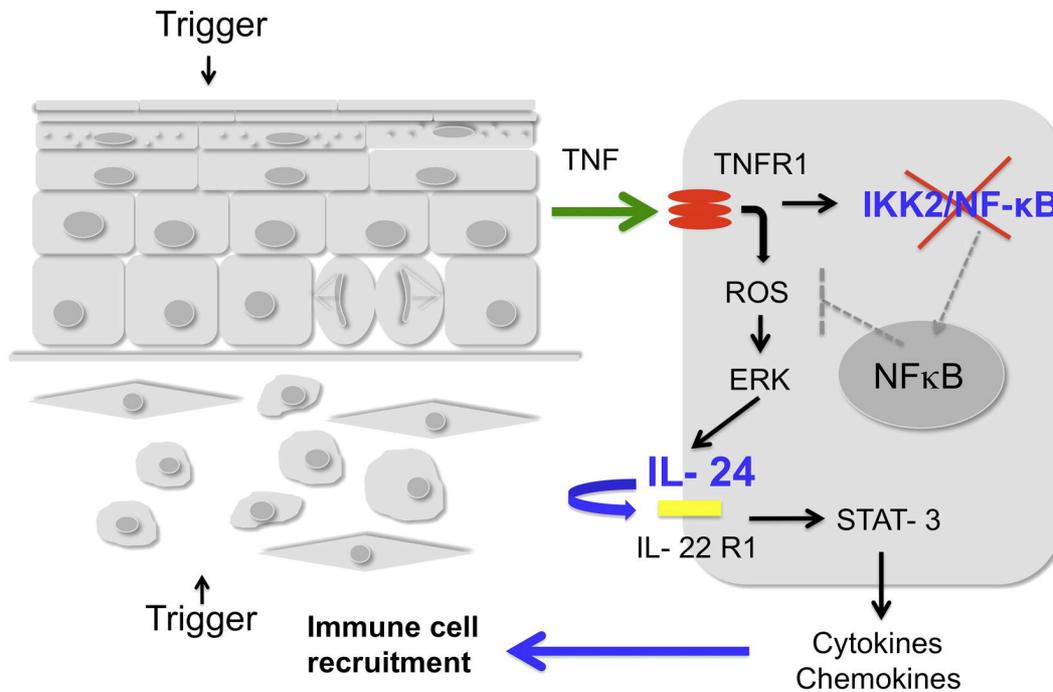


Figure 12 : rôle de l'IL-24 dans la réponse immunitaire cutanée, adapté de Kumari et al (5)

### 11.2-Dermatite atopique

La dermatite atopique (DA) est une dermatose chronique médiée par la réponse immunitaire. Elle correspond au développement d'une réponse immunitaire inflammatoire Th2 survenant sur un terrain génétique prédisposé, qui s'accompagne d'anomalies de la barrière cutanée. De nombreux patients possèdent des taux élevés d'IgE sanguins, et une augmentation de l'expression des transcrits IL-13, IL-4 et IL-5 est retrouvée dans les lésions de DA. Au contraire, l'expression des transcrits IL-23 et IL-17 est diminuée dans les lésions de DA suggérant que les lymphocytes Th17 n'ont pas de rôle dans la physiopathologie de la maladie.

Les anomalies de la barrière cutanée ainsi que le défaut de Th17 et d'IL-17 (possiblement médié par les cytokines Th2) sont l'origine de la colonisation chronique à *staphylococcus aureus* des patients DA (peaux lésionnelles et non lésionnelles). Chez les patients atteints de psoriasis, l'augmentation de l'expression de l'IL-17 et des PAM empêche la prolifération microbienne cutanée.

Contrairement aux lymphocytes Th17 dans la DA, les cellules T IL-22+ (Th22 et Tc22) ont été retrouvées in situ dans la DA. Il a récemment été suggéré un rôle des Th22/Tc22 dans la physiopathologie de la DA.

Les LCs DA ont la capacité de présenter des antigènes lipidiques via le CD1a, induisant ainsi le développement de cellules cutanées Th22 résidentes. L'association des Th2 et Th22 induirait une réponse cytokinique spécifique à l'origine de la DA. Alors que la DA était décrite comme une pathologie Th2, l'hyperplasie épidermique et l'acantholyse retrouvée histologiquement pourraient être expliquées par la présence d'IL-22.

### **11.3 Traitement thérapeutique modulant la voie IL-23/IL-17/22**

Sur le plan thérapeutique, les traitements modulant la voie IL-23/IL-17/IL-22 dans les pathologies inflammatoires sont en plein développement. Des anticorps ciblant l'IL-17A, l'IL-17RA, l'IL-17A/IL-17F, l'IL-17A/TNF- $\alpha$  (anticorps bi spécifique), l'IL-12p40 et l'IL-23p19 sont en cours d'études cliniques (de phase I, II et III). L'utilisation du secukinumab, anticorps monoclonal humain anti IL-17A, fait l'objet d'essais thérapeutiques randomisés en phase III, notamment dans la polyarthrite rhumatoïde (175), la maladie de Crohn (176) et le psoriasis (177). Le Brodalumab, anticorps anti IL-17RA, est également en phase III (178). L'utilisation d'ustekinumab, anticorps monoclonal humain anti IL-12/23 p40, dans les psoriasis sévères et réfractaires (179)(180), et dans la maladie de Crohn (181), a montré des

effets bénéfiques. Toutes ces biothérapies ont montré une amélioration significative clinique de plus de 75% dans 70 à 80% des patients dans le psoriasis.

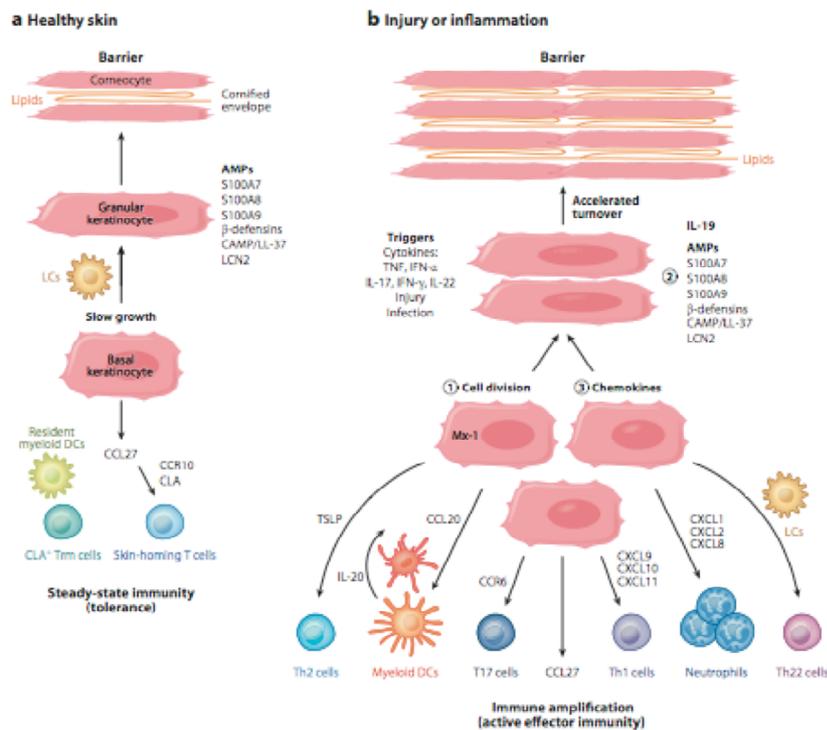


Figure 13 : physiopathologie du psoriasis, adapté de Lowes et al (49)

## 12- Le microbiote cutané

Le microbiote cutané est la réponse des communautés microbiennes cutanées, individuelle ou collective, aux conditions écologiques de la peau (température, pH, humidité, exposition aux UV, teneur en protéines,...). Les agents microbiens (bactéries, champignons, virus) et parasites peuvent modifier ou entretenir ces conditions. Ce concept regroupe les notions d'interactions fonctionnelles entre les micro-organismes et avec la peau. Le microbiote commensal protège la peau des infections en entrant en compétition avec les pathogènes, et contribue à l'homéostasie en influençant la réponse immunitaire locale (182). Les interactions entre les

cellules épithéliales, les cellules immunes et les microorganismes permettent entre autre la sécrétion de peptides antimicrobiens permettant le contrôle de la colonisation microbienne cutanée.

Les bactéries cutanées commensales principales sont les *Staphylococcus* spp. et *Proteobacteria*. *Malassezia* spp. représente le champignon commensal principal, *Demodes folliculorum* et *Demodex brevis* les parasites principaux. Ces parasites vivent près ou dans les follicules pileux (1).

Les annexes cutanées, glandes apocrines et eccrines, glandes sébacées et follicules pileux, ont leur propre microbiote (183). Les glandes eccrines sécrètent de l'eau et des électrolytes à la surface cutanée, ce qui permet la thermorégulation ainsi que l'acidification de la peau, empêchant la colonisation microbienne. Les glandes sébacées, connectées au follicule pileux, secrète le sébum, protégeant et lubrifiant la peau et le follicule pileux en formant un bouclier antibactérien. Les glandes sébacées sont anoxiques et permettent ainsi la croissance de *Propionibacterium acnes*, bactérie cutanée commensale. Le séquençage du génome de cette bactérie a permis de découvrir de nombreux gènes codant pour des lipases dégradant les lipides du sébum. *Propionibacterium acnes* hydrolyse les triglycérides du sébum, relarguant ainsi des acides gras. La colonisation de la glande sébacée par cette bactérie serait alors facilitée par son adhérence aux acides gras (184). Les acides gras contribuent également à l'acidification du pH cutanée. Or de nombreux pathogènes, comme *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*, sont inhibés par un pH acide. Cette inhibition favoriserait alors la croissance d'autres pathogènes comme les staphylocoques coagulase négative et les corynebactéries. L'occlusion cutanée engendre une augmentation du pH, ce qui favorise alors la croissance des *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*.

La surface cutanée varie en fonction de la topographie. Ainsi, les régions axillaires et inguinales sont partiellement occluses, plus humides et chaudes, ce qui favorise la croissance

de certains de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* et bacilles Gram négatif. La densité variable des glandes sébacées en fonction de la topographie, influence également le microbiote. Le visage, le dos et le thorax sont des régions riches en glandes sébacées, facilitant la croissance des microorganismes lipophiliques (*Propionibacterium* spp et *Malassezia* spp). Les facteurs de l'hôte (âge, sexe, pathologies (diabète), inflammation chronique, susceptibilités génétiques (filaggrine) influencent le microbiote (185). In utero, la peau du fœtus est stérile. La colonisation cutanée débute immédiatement après la naissance (186). Enfin, les facteurs environnementaux (choix des ports d'habits, prises d'antibiotiques, cosmétiques, savons, émoullients utilisés, climat) peuvent moduler le microbiote.

Les approches génomiques ont révélé une grande diversité des microorganismes bactériens constituant le microbiote. La méthode d'analyse métagénomique consistait en l'amplification de gènes de petite sous-unité d'ARN (acide ribonucléique) ribosomal procaryote (16SrRNA), existant chez toutes les bactéries mais non chez les eucaryotes, à partir de prélèvements cutanés (187). Le microbiome désigne l'ensemble des génomes des microorganismes vivant sur la peau. Les bactéries cutanées appartiennent à quatre embranchements (phyla) : Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes et Proteobacteria. Ces mêmes embranchements sont retrouvés à des proportions différentes dans les microbiotes des muqueuses buccales et intestinales. Ainsi les bactéries de l'embranchement Actinobacteria prédominent sur la peau, tandis que Firmicutes et Bacteroidetes sont plus abondants dans le système digestif. Ces approches génomiques ont confirmé les variations topographiques, temporelles et interpersonnelles. *Staphylococcus* et *Corynebacterium* spp. sont les agents microbiens les plus abondants au niveau des régions « humides » (régions axillaires, inguinales, périnéales, plantes, creux poplités).

La dermatite séborrhéique et l'acné sont associées respectivement à *Malassezia* spp. et *Propionibacterium acnes*. *Malassezia* spp. est majoritairement retrouvé dans les cultures

cutanées des lésions de dermatite séborrhéique. Le mécanisme supposé implique des gènes de ce champignon codant pour des lipases. Ces enzymes permettent le relargage d'acides gras et de métabolites. Leur pénétration dans le derme favorise une inflammation et leur prolifération. Cependant, *Malassezia* spp. est retrouvé sur des peaux d'individus sains, et n'est donc pas suffisant au développement de cette dermatose. *Propionibacterium acnes* secrète des lipases, protéases et hyaluronidases qui endommagent les tissus adjacents aux follicules pilo-sébacés. Ces lésions induisent la production de cytokines inflammatoires et de chémokines. De même, *Propionibacterium acnes* est retrouvé sur des peaux saines.

Il a récemment été démontré le rôle primordial de la colonisation cutanée bactérienne dans la réponse immunitaire T et la protection immunitaire contre le parasite *Leishmania Major*. En effet, les animaux germ-free ne développent pas de réponse immunitaire T contre *L. Major*. Or la colonisation de la peau par la bactérie commensale *Staphylococcus epidermis* suffit à restaurer cette réponse immunitaire T, régulant les réponses IL-1 dépendantes (188). A l'inverse, le microbiote peut également contribuer aux pathologies inflammatoires. *Staphylococcus aureus* est plus fréquemment retrouvé sur la peau des patients atteints de dermatite atopique par rapports à des sujets sains. Une étude récente chez la souris, a montré les toxines relarguées par *S. aureus* induisaient une dégranulation des mastocytes cutanés, qui à leur tour promouvait une réponse Th2, réponse impliquée dans la physiopathologie de la dermatite atopique (189). Les lésions de dermatite atopique sont caractérisées par un faible taux d'expression de peptides antimicrobiens, ce qui peut contribuer à un cercle vicieux dans cette pathologie.

Enfin, le microbiote peut jouer un rôle dans la cicatrisation cutanée. Après une lésion cutanée, les cellules nécrotiques libèrent de l'ARN endogène qui, en se liant aux TLR3 exprimés par les kératinocytes, induit de l'inflammation. Celle-ci est nécessaire lors du phénomène de cicatrisation. Cependant, une inflammation excessive peut ralentir le processus voire être

nocif. Afin de contrebalancer l'inflammation médiée par les TLR3, l'acide lipotéichoïque libéré par *Staphylococcus epidermidis*, se lie aux TLR2. Le signal médié induit l'expression de TRAF1 qui inhibe alors la production d'IL-6 et TNF dépendante du TLR3, limitant ainsi l'inflammation et le recrutement de leucocytes. De plus, l'activation des TLR2 par *Staphylococcus epidermidis* induit la production de PAM actifs contre *Streptococcus pyogenes* du groupe A.

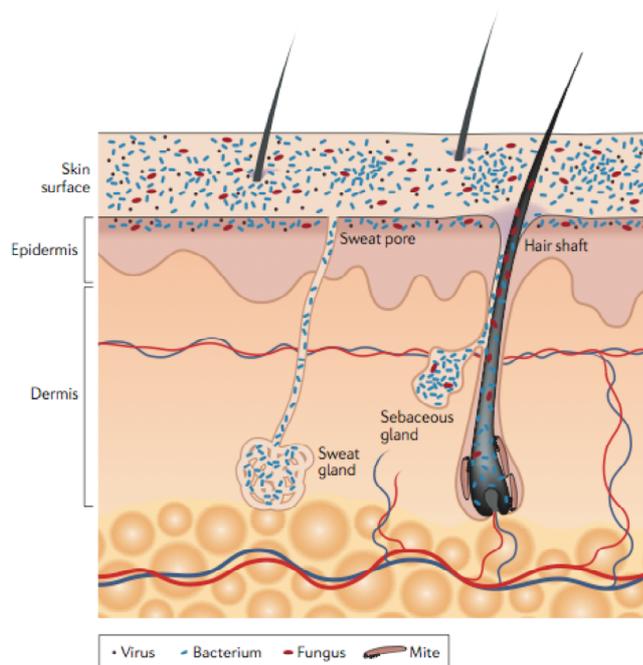


Figure 14 : le microbiote cutané, adapté de Grice et al (1)

## II- L'hidradénite suppurée

### 1- Définition

L'hidradénite suppurée (HS) ou maladie de Verneuil est une dermatose inflammatoire chronique ou récidivante se manifestant par des lésions inflammatoires douloureuses et profondes des régions axillaires, mammaires, inguinales et périnéo-fessière (190)(191). L'HS a été décrite pour la 1<sup>ère</sup> fois en 1839 Alfred Velpeau (191). En 1954, le chirurgien français Aristide Verneuil suggéra une atteinte des glandes apocrines dans l'HS et lui donna son nom (192).

Une définition consensuelle de l'HS a été adoptée lors du congrès organisé par la fondation Hidradenitis Suppurativa en 2009 à San Francisco (193).

Les critères diagnostiques de cette maladie associent :

- 1- la présence de lésions typiques c'est-à-dire des nodules profonds douloureux, des nodules fistulisés abcédés, des trajets fistuleux, des cicatrices fibreuses en pont et des comédons ouverts
- 2- une localisation typique (régions axillaires, mammaires, inguinales, périnéo-fessière)
- 3- des lésions chroniques et récurrentes

Ces 3 critères doivent être présents pour établir le diagnostic. L'âge moyen de début de l'HS est 22,1 ans et la durée moyenne d'activité de la maladie est de 18,8 ans (194). Le sexe ratio est de 1 homme pour 3,3 femmes (195).

L'HS est définie uniquement par ses manifestations cliniques et sa chronicité. Aucun examen complémentaire n'est utile au diagnostic. Il s'écoule en moyenne 8 ans entre les premières manifestations et celui-ci. Ce retard diagnostique peut s'expliquer par la prévalence plus élevée des formes peu sévères, donc de diagnostic plus difficile, et de l'absence de connaissance de cette maladie par la communauté médicale.

Toute lésion nodulaire, tout abcès situé dans les régions axillaires, inguinales, périnéale ou mammaires, doit faire évoquer le diagnostic de maladie de Verneuil.

## **2- Prévalence**

La prévalence rapportée de l'HS varie de 0,00033% à 4% selon les études (196). Une prévalence de 1% dans la population française générale et de (197) 2,10 % dans une étude danoise ont été reportées. Une incidence de 6/100000 habitants a été décrite dans une étude réalisée dans une région du Minnesota (198).

## **3- Facteurs associés**

Dans 2 études cas-témoins françaises, portant sur 67 patients (200 témoins) et 302 patients (906 témoins), le tabagisme et le surpoids étaient significativement associés à l'HS en analyse multivariée (respectivement  $OR=12,55$  [8,58-18,38] et  $OR=1,12$  [1,08-1,15] pour chaque point de l'indice de masse corporelle (IMC), dans l'étude sur 302 patients ( $p<0,05$ )) (197). Le tabagisme actif était significativement plus fréquent chez les patients HS (>70%) (197). Aucune relation temporelle et aucun effet-dose n'ont été mis en évidence entre le tabagisme et l'HS.

Dans une série de 302 patients HS, le surpoids (et non le tabagisme) était associé à la sévérité de la maladie, cotée par le score de Sartorius (195). Un effet-dose a été retrouvé dans l'association entre l'IMC et la sévérité de l'HS (l'augmentation de 1 U de l'IMC était associée à une augmentation de 0,84 U de la moyenne du score de Sartorius), permettant de suggérer le surpoids comme un facteur de risque (195). Dans une étude rétrospective sur 249 patients obèses ayant subi une chirurgie bariatrique, 18,1% avaient présenté des manifestations cliniques d'HS. La perte de poids de plus de 15% était significativement associée à une

amélioration clinique (199). L'association entre HS et syndrome métabolique a été récemment reportée (200).

#### **4- Description clinique**

##### **4-1 Lésions typiques précoces**

Les lésions précoces sont des nodules douloureux isolés, pouvant persister plusieurs semaines, avec des épisodes récurrents d'inflammation. Ces lésions ne sont pas caractéristiques et sont fréquemment considérées comme des abcès ou kystes épidermiques inflammés, d'où le retard diagnostique. Cette lésion peut évoluer vers un abcès avec un écoulement purulent spontané ou après incision (201).

##### **4-2- Lésions tardives**

La répétition de poussées inflammatoires entraîne la formation de cicatrices hypertrophiques et fibreuses en pont, de trajets fistuleux avec écoulement d'un liquide séro-purulent, et de comédons ouverts. Des lésions non typiques peuvent être présentes :

- papules et folliculites
- lésions à type pyoderma gangrenosum
- comédons multiples, en dehors des zones d'HS
- cicatrices arrondies déprimées des fesses
- cicatrices arrondies à l'emporte-pièce
- bourgeons charnus
- kystes épidermiques
- kystes sébacés
- macrokyste >3cm
- cicatrice vermoulue

##### **4-3 Absence de signes généraux**

Il n'y a ni adénopathie ni fièvre associées (190). Malgré des portes d'entrées, les infections à pyogènes sont rarissimes.

#### **4-4 Topographie**

Les localisations sont typiques, et constituent un des critères diagnostiques (193): régions axillaires, inguinales, périnéales et péri-anale, fessières, inter et sous mammaires. Ces régions sont riches en glandes apocrines, et sont classiquement des sites microbiens. D'autres régions peuvent être atteintes : zones rétro et pré-auriculaires, nuque et dos, tronc, membres (202)(203).

#### **4-5- Hétérogénéité clinique : existence de plusieurs phénotypes**

La présentation clinique de l'HS est extrêmement variée de par ses localisations, ses différentes lésions, son évolution et sa sévérité (201). En 2006, Poli et al, suggéraient une différence de présentation de la maladie et de sévérité de la maladie selon le sexe, avec notamment une localisation antérieure plus fréquente chez la femme et des localisations atypiques et glutéales plus fréquentes chez les hommes (195)(203). D'autres topographies préférentielles selon le sexe ont par la suite été distinguées. Les hommes présentaient une atteinte plus fréquente des plis axillaires, des fesses et de la région périnéale par rapport aux femmes (respectivement 79% vs 67%, 40% vs 23%, 51% vs 33%,  $p < 0,05$ ). Au contraire, les femmes présentaient une atteinte plus fréquente des régions mammaires et inguinales (22% vs 1%, 93% vs 77%,  $p < 0,001$ ) (204)(195). Des atteintes de topographie atypique (dos, torse, auriculaire) et la présence d'un sinus pilonidal étaient plus fréquemment décrites chez les hommes (195).

Une étude transversale récente sur 618 patients HS suggère l'existence de 3 phénotypes distincts de la maladie selon une analyse des classes latentes (205):

- un premier phénotype typique « axillo-mammaire » (« latent classe » 1 ou LC1). Ce phénotype est caractérisé par des atteintes préférentielles mammaires, axillaires et des lésions de type nodule et cicatrices en ponts. Ce phénotype était constitué principalement de femmes

avec un indice de masse corporelle élevé. Cette classe représentait 48% de la population étudiée et constitue la forme « typique » d'HS.

- un deuxième phénotype « folliculaire » (LC2): Les patients de cette classe avaient des atteintes axillaires, mammaires, rétro-auriculaires, thoracique, du dos, des membres, mais présentaient surtout des probabilités plus élevées que les 2 autres classes d'avoir des lésions folliculaires (kystes épidermiques, comédons, sinus pilonidal). Des antécédents d'acné sévère étaient souvent retrouvés. Par rapport à la classe LC1, cette forme folliculaire était plus fréquente chez les hommes fumeurs et se caractérisait par une forte sévérité selon les scores de Sartorius et de Hurley. Le début de la maladie était plus précoce et la durée de la maladie plus importante. Cette classe représentait 26% de la population étudiée.

- un troisième phénotype « glutéal » (LC3). L'atteinte est de localisation fessière. Des lésions à type de papules et folliculites accompagnent le tableau clinique. Par rapport à la classe LC1, ces patients étaient plus souvent fumeurs, avaient un indice de masse corporelle plus bas et une maladie moins sévère. Cette classe représentait 26% de la population étudiée.

Une des limites de cette étude est le choix des variables ayant permis la construction du modèle, et notamment le regroupement des variables axillaires et/ou mammaires. Néanmoins, cette étude souligne l'existence de plusieurs phénotypes d'HS pouvant être le reflet de processus physiopathologiques différents dans le développement de la maladie.

## **5- Evolution**

L'âge moyen de début de l'HS est 22,1 ans et la durée moyenne d'activité de la maladie est de 18,8 ans (194). Les cas prépubères sont exceptionnels. Le début de la maladie chez les patients ayant des antécédents familiaux de HS est par contre plus précoce. La maladie tend à être moins active chez les femmes après 50 ans et en complète rémission après la ménopause.

De même, la maladie peut être en rémission quasi-complète lors des grossesses. Au contraire, chez les hommes, la maladie peut rester active jusqu'à un âge avancé (197).

## **6- Scores**

Des scores ont été définis permettant de coter la sévérité de la maladie.

La classification de Hurley (206) cote la sévérité de la maladie en 3 groupes :

<b>Grade I</b>	<b>Grade II</b>	<b>Grade III</b>
Abcès unique ou multiples sans fistule, ni processus cicatriciel fibreux.	Abcès récidivants avec formation de fistules et de cicatrices hypertrophiques. Lésions unique ou multiples séparées les unes des autres.	Atteinte diffuse, ou fistules interconnectées et abcès sur toute l'étendue de la zone atteinte.



*Tableau 2 : score de Hurley*

Ce sont des niveaux de sévérité et non d'évolutivité, il n'y a pas fréquemment de passage d'une forme bénigne vers une forme sévère. Dans une étude française portant sur 302 patients HS, 68,2% des patients étaient classés dans le stade modéré I, 27,6% dans le stade intermédiaire II et 3,9% dans le stade sévère III (195). Ce score, facile d'utilisation, est statique, et ne peut donc pas servir de critère d'efficacité dans les études thérapeutiques. Il est plus utile dans la prise de décision chirurgicale que dans le suivi de traitements médicaux.

D'autres scores permettent de coter la sévérité et l'évolutivité de la maladie : le score de Sartorius modifié (207), le « Physicians Global Assessment » (PGA), ou le « hidradenitis suppurativa score » (HSS)(208). Le « dermatology life quality index » ou DLQI est un questionnaire permettant d'évaluer l'impact de la dermatose sur les ressentis et les activités quotidiennes (209). La cotation de l'importance de l'écoulement et de la douleur des lésions HS via une échelle visuelle analogique (EVA) ou numérique est reproductible et ainsi utile dans le suivi des patients HS.

## **7- Complications**

Des cancers épidermoïdes s'observent après une évolution prolongée (10 à 20 ans) notamment dans les localisations fessières et périnéales chez l'homme. Le diagnostic est souvent tardif et le pronostic mauvais avec une mortalité supérieure à 70% (210). L'HPV (papillomavirus humain) a été suggéré comme étant un facteur contributif à la survenue de carcinome sur des lésions périnéales, péri-anales et fessières d'HS (211).

La prévalence a été ainsi estimée à 4,6% dans une étude rétrospective française (212) portant sur 217 patients HS. L'âge moyen de diagnostic était de 53 ans et le délai moyen entre le diagnostic de HS et celui de carcinome était de 25,3 ans (7-40 ans). L'inflammation chronique et récurrente due aux poussées de HS peut entraîner l'apparition d'un lymphœdème, facteurs favorisant d'érysipèles (213). La qualité de vie des patients HS est très perturbée due à l'inconfort, les écoulements malodorants séro-purulents, la douleur.

Le retentissement socio-professionnel et psychologique est majeur (214) (215).

Parmi les affections dermatologiques, la qualité de vie chez les patients HS est une des plus altérée (216).

## **8- Maladies associées**

### **8-1 Maladies folliculaires**

L'HS peut être associée à d'autres maladies folliculaires : folliculites, sinus pilonidial (très fréquent), folliculite disséquante du cuir chevelu (très rare) et de manière controversée l'acné vulgaire et *acne conglobata*. Une triade et/ou tétrade d'occlusion folliculaire ont ainsi été décrites dans la littérature (217)(218). Cependant, l'acné vulgaire ou *conglobata* est peu fréquemment associée à l'HS (187). Le terme « acné inversa » a été utilisé pour désigner l'HS suite à la suspicion d'association de l'HS avec l'acné, ces 2 entités ayant en commun une occlusion folliculaire dans leur physiopathologie. Cependant, il y a une absence d'hyperséborrhée dans l'HS, contrairement à l'acné (219). De plus, les glandes sébacées dans la peau des patients HS seraient diminuées (220). La fréquence de l'acné dans la maladie de Verneuil est très probablement surestimée. En effet, certaines lésions d'HS du visage et du dos peuvent être prises à tort pour une acné sévère. La coexistence d'un sinus pilonidial est fréquente (40%) (221).

### **8-2 Maladie de Crohn**

La maladie de Crohn (MC) est à la fois un diagnostic différentiel et une maladie associée. Le diagnostic peut être cliniquement difficile dans certains cas, notamment en cas d'atteinte anogénitale. En effet, des fistules et tractus sinueux peuvent être présents dans ces 2 entités. Histologiquement, des lésions granulomateuses peuvent être retrouvées dans ces 2 maladies. Plusieurs cas d'association d'HS et de MC ont été reportés dans la littérature (207)(223)(224)(225). Une étude pilote portant sur 102 patients atteints de MC, a montré que 17% des patients avaient souffert au moins une fois de nodules douloureux des régions axillaires et/ou inguinales (226). Il y a en effet plusieurs similarités entre ces 2 maladies : 1) maladies chroniques évoluant par poussées, des épithéliums digestifs et cutanés, 2) il existe

une prédisposition génétique, 3) le tabagisme est un facteur associé de HS et MC, 4) les anti TNF- $\alpha$  peuvent être efficaces chez certains patients. Une relation a été établie entre le gène CARD 15 ou NOD2 (16q12) et la MC (227). Les mutations associées à la MC sont localisées dans des domaines de répétition riches en leucine et entraînent une altération de l'activation de NF-kB. La perte d'une réponse normale de l'immunité innée à la flore commensale entraînerait une activation compensatrice de l'immunité adaptative et une inflammation excessive. (228). Cependant, une étude portant sur 10 patients HS n'a pas retrouvé d'association entre CARD15 (ou NOD2) et HS (229). L'utilisation et l'efficacité des anti-TNF $\alpha$  dans l'HS ont été découverts grâce à cette association (230)(231). Dans une étude de cohorte rétrospective de 1093 patients atteints de maladie inflammatoire du tube digestif, la prévalence de l'HS (sur auto-questionnaire) a été évaluée à 23% (232).

### **8-3 Manifestations articulaires**

Des manifestations rhumatologiques peuvent être associées à l'HS (221)(233)(234)(235)(236). Un lien avec le groupe des spondylarthropathies [spondylarthrite ankylosante, syndrome SAPHO (synovite, acné, pustulose palmo-plantaire, hyperostose et ostéite] a été suggéré devant l'atteinte axiale et des sacro-iliaques, l'atteinte des enthèses possible, l'efficacité des traitements anti-inflammatoires, certains aspects radiologiques, et l'association suspectée avec la maladie de Crohn. L'âge moyen de survenue des manifestations rhumatologiques est de 35 à 40 ans, avec une prédominance masculine. Dans la majorité des cas, l'atteinte rhumatologique débute progressivement après le début des lésions d'HS. Les manifestations articulaires semblent être rythmées par les poussées de la maladie dermatologique. Dans une étude prospective observationnelle multicentrique publiée en 2014, la prévalence des spondylarthropathies a été estimée à 3,7% dans une cohorte de 640 patients HS (selon les critères ESSG) (237), alors que dans la population générale française, la

prévalence des spondylarthropathie a été évaluée à 0,3%. 81% des patients présentaient des enthésopathies, 9% une atteinte axiale, 25% une atteinte périphérique. Dans cette cohorte 4 patients répondaient aux critères de SAPHO. 44% des patients avaient un HS de grade de Hurley 3 et 39% une HS Hurley 2. L'HLA-B27 était positif dans 43% des cas. L'hypothèse d'une association de ces 2 entités est renforcée par la description de mécanismes inflammatoires communs, médiés par les voies IL-23/IL-17, TNF- $\alpha$ .

#### **8-4 Pyoderma gangrenosum**

De rares cas de pyoderma gangrenosum associés à l'HS ont été rapportés (238)(239). Deux nouveaux syndromes PASH et PAPASH, associant respectivement pyoderma gangrenosum, acné et HS, et pyoderma gangrenosum, acné, HS et arthrite, ont récemment été proposé, en extension au PAPA syndrome, syndrome auto-inflammatoire héréditaire caractérisé par l'association d'arthrite pyogénique, acné et pyoderma gangrenosum (240)(241)(242). Des mutations des gènes PSTPIP1/CD2BP1, induisant une production anormale d'IL-1 $\beta$  via l'inflammasome ont été décrites dans le PAPA syndrome. Des études génétiques sont en cours dans le PASH et le PAPASH. Des mutations du gène codant pour la nicastrine ont récemment été reportées dans le PASH syndrome (243).

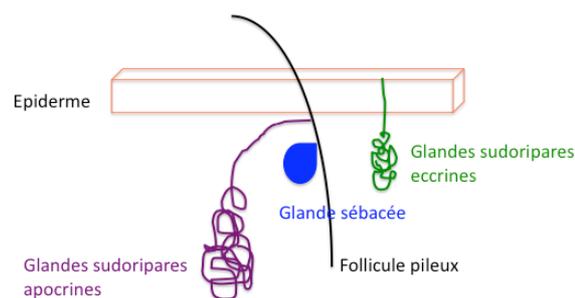
### **9- Physiopathologie**

La physiopathologie de l'HS est encore inconnue. Plusieurs facteurs étiologiques sont suspectés.

#### **9-1 Maladie folliculaire** (*figure 10*)

Un des critères diagnostiques de l'HS est la topographie caractéristique des lésions dans les régions riches en glandes apocrines (régions axillaires, inguinales, périnéale, mammaires)

(193). De plus, certaines associations avec des maladies folliculaires suggèrent une anomalie du follicule pilo-sébacéo-apocrine. Initialement, l'HS avait été décrite comme une affection primitive des glandes apocrines, mais des études histologiques ont montré une occlusion folliculaire précoce dans la genèse de la maladie (244). L'inflammation et l'atteinte des glandes apocrines et/ou sébacées seraient des événements secondaires (245). L'examen histologique des lésions précoces d'HS révèle une hyperkératose folliculaire avec formation d'un bouchon et dilatation du follicule pileux. Une périfolliculite, inconstante, peut être présente avec un infiltrat inflammatoire comportant des neutrophiles, lymphocytes et histiocytes. Un aspect d'inflammation aiguë de la glande et de son canal est rare (246)(247). La rupture du follicule entraînerait la dissémination de kératine et de bactéries dans le derme. Les biopsies des lésions chroniques montrent des fistules avec suppuration et formations d'abcès. Un infiltrat inflammatoire chronique contenant des histiocytes et des cellules géantes est trouvé dans le tissu conjonctif adjacent. Les glandes apocrines sont généralement absentes des zones atteintes et peuvent apparaître normales dans le tissu sain adjacent. Ainsi, l'atteinte des glandes sudoripares serait une conséquence du processus inflammatoire des structures profondes (204).



*Figure 15 : Follicule pilo-sébacéo-apocrine*

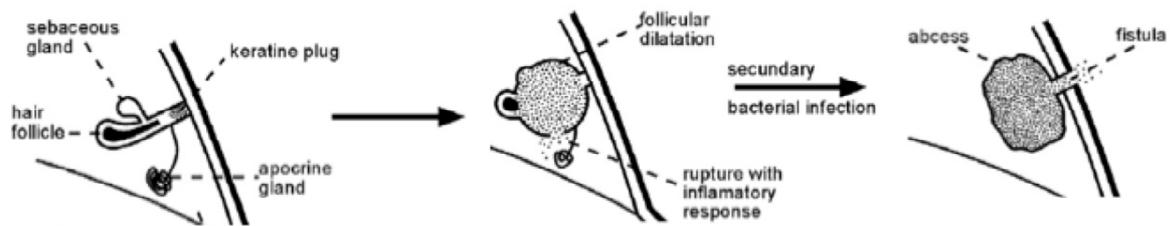


Figure 16 : Atteinte secondaire des glandes sébacées, adapté de Berna-Serna et al (248)

## 9-2 Etiologie infectieuse

La nette amélioration des lésions aiguës chez certains patients HS après l'introduction d'une antibiothérapie large (clindamycine et rifampicine ou amoxicilline et acide clavulanique) suggère un rôle, primaire ou secondaire, de la flore microbienne. Cependant, l'HS ne serait pas causée par un germe unique. En effet, la flore microbienne des suppurations chroniques et récidivantes est polymicrobienne. De nombreux germes de la flore résidente cutanée sont retrouvés dans les lésions d'HS (249). Plusieurs études ont montré la prédominance de staphylocoques coagulase-négative et anaérobies de la flore commensale dans des prélèvements de lésions profondes d'HS (aspiration de pus profond ou vaporisation des lésions au laser CO<sub>2</sub> afin d'éviter toute contamination) (250)(251). La présence de *staphylococcus aureus*, hors contamination, est controversée. La flore polymicrobienne cutanée chez les patients HS est ainsi très différente de la colonisation par *propionibacterium acnes* au cours de l'acné. Dans une étude microbiologique prospective récente sur 102 lésions de 82 patients HS, les cultures bactériennes longues ont retrouvé du *Staphylococcus lugdunensis* de façon prédominante dans 58% des nodules et abcès, et une flore polymicrobienne (anaérobies, *Streptococci groupe Milleri* et actinomycètes) dans 24% des abcès et 87% des lésions suppuratives chroniques. L'étude métagénomique sur 6

prélèvements n'a pas mis en évidence la présence de bactéries non retrouvées en culture (252).

### **9-3 Facteurs hormonaux**

Le surpoids est un facteur associé de la maladie de Verneuil (197). De plus, les femmes sont plus fréquemment atteintes (sexe ratio 1 :3) avec des poussées parfois pré-menstruelles (194). Les lésions débutent lors de la puberté et une amélioration de la maladie peut être notée lors des grossesses et à la ménopause chez les femmes. Ces données cliniques peuvent suggérer une participation hormonale dans l'HS. Cependant, l'absence de signes d'hyperandrogénisme chez les patientes HS, les taux plasmatiques normaux d'androgènes (253), et l'efficacité très modérée des traitements anti-androgéniques (hormis à posologies très élevées) (254), ne corroborent pas les données cliniques et l'hypothèse d'un hyperandrogénisme. Un rôle indirect des œstrogènes influençant les réponses inflammatoires ainsi qu'un hyperandrogénisme périphérique ont été évoqués (204).

### **9-4 Susceptibilité génétique**

30 à 40% des patients atteints de maladie de Verneuil ont des antécédents de maladie de Verneuil (255)(256). En 2006, le locus sur le chromosome 1 (1p21.1-1q25.3), contenant environ 886 gènes (dont seulement 395 connus) a été identifié (257) dans une famille HS chinoise de 4 générations. En 2010, des mutations du gène codant pour la  $\gamma$ -sécrétase ont été identifiées dans 6 familles Han atteintes d'HS (258). La  $\gamma$ -sécrétase est une protéine trans-membranaire composée de 4 sous-unités hydrophobes: une sous-unité catalytique préséniline (codée par le gène *PSENI* ou *PSEN2*), et 3 sous-unités co-facteur la préséniline-enhancer 2 (codée par le gène *PSENE2*), la nicastrine (codée par le gène *NCSTN*) et l'antérieur pharynx defective (codée par le gène *APH1A* ou *APH1B*) (259). Le gène *NCSTN* est localisé sur le

chromosome 1q22-q23(260), ce qui correspond bien au locus décrit (257). La  $\gamma$ -sécrétase permet le clivage de plusieurs protéines membranaires de type I, incluant les précurseurs d'amyloïde retrouvés dans la maladie d'Alzheimer et Notch (261)(262). Ce complexe protéique reconnaît près de 60 substrats différents.

La préséniline est la sous-unité protéolytique. Les trois autres sont des cofacteurs. La préséniline enhancer-2 est quant à elle nécessaire à l'endoprotéolyse et l'activation de la préséniline. La nicastrine joue un rôle dans l'assemblage du complexe, la maturation et la stabilisation.

Cette glycoprotéine de 130kDa transmembranaire possède un large domaine extracellulaire qui aurait un rôle crucial dans la reconnaissance du substrat. Des mutations de l'ectodomaine de la nicastrine, comportant les N-glycosylation, entraînent une perte de la reconnaissance du substrat et donc du clivage (263). A ce jour, 17 mutations ont été reportées dans le gène *NCSTN*, 3 dans le gène *PSENEN* et une dans le gène *PSENI* (264,265) dans des populations chinoises et caucasiennes (cas familiaux et sporadiques). Les modèles murins ont montré que l'absence d'expression de la  $\gamma$ -sécrétase induisait une atrophie du follicule, la formation de kystes épidermiques, l'absence des glandes sébacées et une hyperplasie épidermique (266–268)

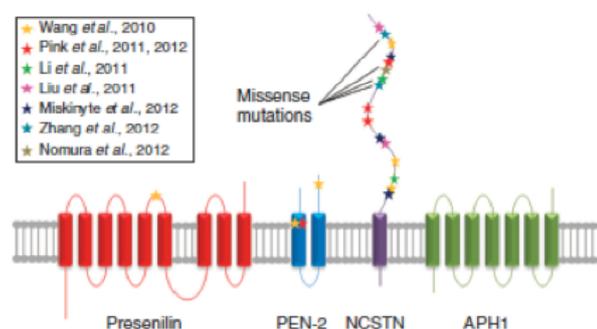


Figure 17 : mutations de la gamma-sécrétase, adapté de Pink et al (259)

## **9-5 Inflammation et immunité**

L'efficacité de certains antibiotiques, à visée anti-infectieuse mais également anti-inflammatoire, et de traitements immunosuppresseurs comme les anti-TNF $\alpha$  suggère une anomalie de réponse du système immunitaire à la flore microbienne cutanée. Plusieurs anomalies des réponses immunes innées et adaptatives, parfois contradictoires, ont été rapportées dans la littérature.

In situ, une augmentation de l'expression des TLR2 (en RT-PCR et en immunohistochimie (IHC) par les macrophages et cellules dendritiques infiltrant les lésions cutanées de 9 patients HS, par rapport à 7 témoins sains a été mise en évidence (269), contrastant avec les résultats d'une autre étude en IHC montrant une diminution de l'expression in situ des TLR2, 3, 4, 7, 9 (266). Une augmentation de l'expression cutanée de peptides anti-microbiens (PAM) (human  $\beta$ -defensin-2 et psoriasine), nécessaires à la réponse anti-microbienne cutanée, a été rapportée en immunohistochimie et RT-PCR chez 6 patients HS par rapport à 6 témoins (270). Cependant, dans trois autres études, une diminution de l'expression de PAM in situ, en RT-PCR et IHC a été montrée chez les patients HS par rapport aux témoins sains (266)(271)(272). 24 heures après la mise en culture de biopsies cutanées de patients HS (n=6), des taux plus élevés de TNF- $\alpha$ , d'IL-1 $\beta$  et d'IL-10 dans les surnageants, par rapport à des témoins sains (n=7) et des patients atteints de psoriasis, ont été rapportés (273). Cependant, une diminution de la capacité de sécrétion de TNF- $\alpha$  et d'IL-6 par les monocytes sanguins de 53 patients HS, par rapport à 6 témoins, après stimulation par l'endotoxine lipopolysaccharide (LPS) a été montrée dans une étude (274). Une augmentation de l'expression d'IL-17 en qRT-PCR et une infiltration par des Th17 en immunofluorescence ont été rapportées dans la peau de patients HS (n=10) (270). Enfin, une diminution des transcrits IL-22 dans la peau des patients HS a été décrite (272). Ainsi, malgré des résultats discordants, ces études récentes suggèrent une anomalie des réponses immunitaires chez les patients HS.

## **9-6 Hypothèse uniciste de la voie Notch**

La découverte des mutations des gènes de la  $\gamma$ -sécrétase et les données immunologiques publiées ont conduit à développer un nouveau modèle physiopathologique (figure 13). Les récepteurs NOTCH sont des substrats de la  $\gamma$ -sécrétase. La voie NOTCH compte 4 récepteurs : NOTCH 1-4. Tous sont reconnus par 5 ligands : Delta-like 1, 3 et 4 (DLL1, 3 et 4) et Jagged (1 et 2). Ces ligands se fixent sur la protéine et modifient ainsi sa conformation. Elle peut alors être clivée par la protéine ADAM, de la famille des métalloprotéases, qui va couper la partie extracellulaire. Puis la partie intracellulaire est alors clivée par la  $\gamma$ -sécrétase. Cette dernière, aussi appelée NICD (NOTCH Intracellular Domain) est transloquée dans le noyau, élimine les corépresseurs puis s'assemble au complexe RBPJ en recrutant des cofacteurs. Ceci va permettre la transcription des gènes cibles de NOTCH qui gouvernent de vastes fonctions cellulaires (tel HES1 (Hairy and Enhancer of Split) et HEY1 (Hairy and Enhancer of Split Related) (275,276). Notch joue un rôle essentiel dans l'embryogenèse et le développement de l'organisme. Au sein des cellules de l'immunité, Notch est essentiel le développement des lymphocytes T et B. Ils régulent également l'activation des lymphocytes T, la différenciation des cellules T CD4+ (notamment des Th22) mais aussi des cellules de l'immunité innée comme les Innate Lymphoid Cells (ILCs). Cette protéine intervient donc aussi bien dans l'immunité innée que dans l'immunité acquise (276,277). De même, le développement postnatal du follicule pileux requiert un signal NOTCH intact dans le bulge et dans les cellules de la gaine externe du follicule pileux (ORS ou Outer Root Sheath). Dans le bulge, NOTCH contrôle le passage des cellules souches ou de leur progéniteurs en cellules différenciées (268,278). Il a ainsi été supputé le rôle de NOTCH dans la physiopathologie dans l'HS, sans preuve scientifique à ce jour.

L'hypothèse actuelle est qu'une altération du signal pourrait avoir 3 conséquences majeures (279):

- i) une hyperkératose du follicule pileux, une formation de kystes épidermiques, et une différenciation altérée des glandes apocrines
- ii) une diminution de la différenciation des T CD4+ en Th22
- iii) une absence de régulation de la réponse inflammatoire médiée par les cellules dendritiques entraînant une infiltration de cellules T inflammatoires (notamment Th17) et de polynucléaires neutrophiles (280).

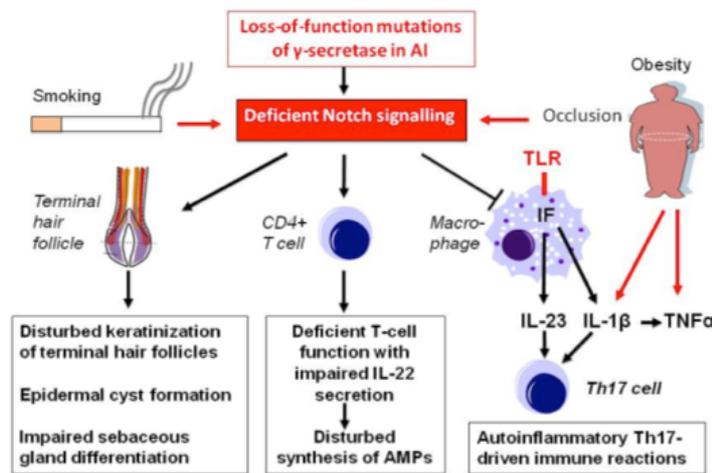


Figure 18 : hypothèse uniciste de la voie Notch, adapté de Melnik et al, (281)

## 10- Traitement

A ce jour, il n'existe pas de traitements médicamenteux permettant une guérison définitive de l'HS. Néanmoins, la combinaison simultanée ou successive de traitements médicaux et chirurgicaux, améliore la majorité des patients. Il existe très peu d'études de fort niveau de preuve permettant de guider les choix thérapeutiques. La perte de poids, et l'arrêt du tabac sont à conseiller.

## **10-1 Les antibiotiques restent ce jour le traitement de 1ère intention dans les poussées aiguës et les phases chroniques d’HS.**

Des traitements antibiotiques en courte cure peuvent améliorer les poussées aiguës d’HS. Un traitement par cyclines au long cours à visée anti-inflammatoire peut retarder ou supprimer les récurrences (221). Son efficacité n’est cependant pas prouvée. Aucune différence significative n’a été mise en évidence entre un traitement par tétracycline et par clindamycine topique dans une étude contrôlée en double aveugle portant sur 46 patients (282).

Une étude observationnelle française menée sur 116 patients HS, et une étude rétrospective danoise portant sur 34 patients HS sévères, traités par la combinaison rifampicine (600 mg/jour) et clindamycine (600 mg/jour) pendant 10 semaines, ont montré une amélioration clinique (réduction de 50% du score de Sartorius) et de la qualité de vie des patients HS sévères (283)(284). Cette bithérapie est à ce jour controversée compte tenu de l’effet inducteur de la rifampicine sur la clindamycine et le risque de résistance induite (285). Cependant elle reste recommandée dans les guidelines européennes sur l’HS parues 2015 (286)(287)(201). Une étude rétrospective française portant sur 28 patients HS a évalué l’efficacité de la triple antibiothérapie par rifampicine, moxifloxacine et metronidazole (288). 16 patients ont eu une rémission dite complète et 12 patients une réponse partielle. Cette triple antibiothérapie à très large spectre n’a pas fait la preuve de sa supériorité par rapport à la bi-antibiothérapie par rifampicine et clindamycine. Les effets indésirables graves potentiels sont à prendre en compte.

## **10-2 Biothérapies**

De nombreux cas cliniques, petites études rétrospectives ou prospectives sur l’efficacité des traitements anti TNF- $\alpha$  dans l’HS ont été rapportés. Quatre études contrôlées randomisées ont été publiées. L’essai contrôlé randomisé monocentrique en double aveugle en cross over

Infliximab (IFX) versus placebo sur 33 patients HS (score HSSI modéré à sévère) sur 52 semaines n'a pas montré de différence significative entre les 2 groupes sur le critère de jugement principal (amélioration du score HS Severity Index (HSSI) de plus de 50% à la 8<sup>ème</sup> semaine), après 3 perfusions d'infliximab (5mg/Kg) ou de placebo. Par contre, une différence significative a été mise en évidence dans certains critères de jugement secondaires dans le groupe des patients traités par infliximab suggérant une efficacité chez certains patients (289).

L'étude contrôlée randomisée en double aveugle monocentrique etanercept versus placebo, menée sur 20 patients durant 12 semaines n'a pas mis en évidence de différence significative sur le critère principal de jugement ni sur les critères secondaires (290). Deux études multicentriques randomisées contrôlées en double aveugle adalimumab versus placebo ont été rapportées. Dans la 1ère étude sur 21 patients (80mg s/c à S0 puis 40 mg en S/C hebdomadaires jusqu'à S12), une diminution significative du score de Sartorius après 6 semaines de traitement, a été mise en évidence dans le groupe adalimumab, mais non après 12 semaines de traitement, date de jugement du critère principal. (291). Il n'y avait pas de différence sur les critères secondaires. Dans la 2ème étude sur 154 patients randomisés en 3 groupes (groupe 1 placebo, le groupe 2 : 80 mg S0 puis 40 mg toutes les 2 semaines, et le groupe 3 : 160 mg S0, 80mg S2 puis 40 mg/s), une amélioration significative du score PGA à S16 a été mise en évidence dans le groupe 3 par rapport au groupe placebo (292). Ainsi, les données de la littérature et les expériences rapportées ne permettent pas de conclure sur l'efficacité des anti TNF- $\alpha$  dans l'HS. Dans une étude de cohorte nationale multicentrique rétrospective en cours, sur 60 HS ayant reçus un ou plusieurs anti-TNF- $\alpha$ . Parmi les données recueillies, seul le stade Hurley 2 était associé à une rémission complète, et l'absence de localisation glutéale était associée à une rémission partielle. Pour les formes les plus sévères Hurley 3, les réponses au traitement n'étaient que partielles avec un échappement à court terme (Sbidian et al, communication orale, JDP 2014).

L'efficacité de l'ustekinumab (anti IL-12p40) a été rapportée de façon anecdotique (293)(294).

### **10-3 Autres**

L'acide rétinoïque joue un rôle important de contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaires. Du fait de ses propriétés anti-kératinisantes, l'AR est utilisé dans plusieurs affections dermatologiques tels l'acné, le psoriasis et les ichtyoses. Son mode d'action implique son transport vers le noyau par une protéine cytoplasmique, puis sa liaison à un récepteur nucléaire de la famille des récepteurs des stéroïdes; il agit alors sur la transcription de gènes cibles. Récemment, il a été rapporté une efficacité de l'acitrétine et de l'alitrétinoïne (deux rétinoïdes synthétiques) dans le traitement de l'HS (295)(296)(297).

Une certaine efficacité du zinc (298), traitements anti-androgéniques à forte posologies (254), ciclosporine (299)(300) a été reportée dans des case-reports ou petites séries prospectives et rétrospectives. Par contre, l'absence d'efficacité de l'isotrétinoïne orale a été publiée (301)(302)(303). L'isotrétinoïne permet la diminution de la taille des glandes sébacées ainsi que leur sécrétion. Or, il y a dans la physiopathologie de l'acné une augmentation de la sécrétion des glandes sébacées, d'où l'efficacité majeure de ce traitement dans cette affection. L'absence d'efficacité de l'isotrétinoïne dans l'HS peut s'expliquer par le fait qu'il n'y a pas d'augmentation de sécrétion de sébum dans l'HS.

### **10-4 Traitement chirurgical**

Plusieurs options existent: i) l'incision et le drainage des abcès douloureux, geste ambulatoire simple permettant un soulagement rapide mais transitoire ; ii) l'exérèse-suture de lésions isolées et des trajets fistuleux; iii) l'excision chirurgicale large emportant toutes les lésions

jusqu'au plan aponévrotique. La chirurgie reste un moyen efficace et durable et doit être considéré après échec/ au décours des traitements médicamenteux.

#### **10-5 Traitement par laser et Photothérapie dynamique (PDT)**

Dans une étude contrôlée randomisée laser NdYag (neodymium :yttrium-aluminium) versus antibiothérapie topique chez des patients de grade de Hurley II et III, une réduction significative de la sévérité de la maladie a été rapportée chez les patients traités par laser (304). Sa supériorité par rapport au traitement chirurgical « classique » est débattue (305). Une amélioration après traitement par PDT a été reporté (306).

Dans l'HS, un déficit en IL-22 a été décrit (272). L'idée d'une délivrance locale d'IL-22 a été suggérée afin de tenter d'augmenter les défenses antimicrobiennes et de prévenir l'inflammatoire chronique destructrice (147).

*Le traitement de l'HS est difficile et controversé. Il existe très peu de données d'études randomisées contrôlées permettant de guider les décisions thérapeutiques. Des études seraient nécessaires afin de comparer ces différents traitements. La compréhension de la physiopathologie de l'HS permettra d'envisager de nouveaux traitements.*

## Hypothèse et objectifs

L'exposition constante de la peau à des agents microbiens, flore commensale incluse, requiert un dialogue constant entre les cellules épithéliales et les cellules immunes afin de maintenir l'homéostasie. Les kératinocytes interagissent avec les cellules de Langerhans en réponse à la pénétration d'agents microbiens. Les kératinocytes expriment les récepteurs PRR (pattern recognition receptor) et les NLR (NOD-like receptor) qui reconnaissent respectivement les PAMPs (pathogen-associated molecular pattern) et les DAMPs (damage-associated molecular pattern), ligands exprimés par les agents microbiens en situation infectieuse ou en situation de danger épidermique. En fonction des signaux de danger, les kératinocytes et les LCs produisent des cytokines et chémokines permettant d'initier et de coordonner l'activation et le recrutement de cellules immunitaires et de promouvoir la différenciation des T CD4<sup>+</sup> naïves en Th17/Th22.

Les kératinocytes produisent en effet de l'IL-1 $\beta$  et de l'IL-6 permettant notamment d'amplifier la production d'IL-23 par les LCs et cellules dendritiques dermiques résidentes et de promouvoir leur migration vers les ganglions afférents où ces cellules induisent une différenciation des T CD4<sup>+</sup> naïves en Th17/Th22. Ces cellules induites en réponse à des antigènes présentés par les DC et LC cutanées, expriment les récepteurs de « homing » cutanés leur permettant de migrer vers le site inflammatoire cutané. Les lymphocytes Th17 et Th22 expriment ainsi CCR6+CCR4+CCR10<sup>+</sup> et CLA<sup>+</sup>, leur permettant de migrer selon les gradients de leurs ligands CCL20, CCL22 et CCL27 vers la peau.

In situ, les cytokines sécrétées par les Th17/Th22 (IL-17/IL-22/TNF $\alpha$ ) agissent sur les kératinocytes via les récepteurs exprimés à leur surface. Ces cytokines possèdent des actions synergiques et uniques sur les Kc, qui en réponse produisent de nombreuses cytokines (IL-32, IL-36), chémokines (CCL20, CCL27) et peptides anti-microbiens (PAM). Ces PAM sont bactéricides, mais peuvent également amplifier la réponse inflammatoire par leur activité

chémotactique. L'IL-17 et IL-22 contribuent également directement (IL-22) ou indirectement (IL-17, IL-20, IL-24) à la réparation tissulaire en induisant la prolifération kératinocytaire.

Une altération de cette voie IL-17/IL-22/PAM peut ainsi conduire à une rupture de l'homéostasie cutanée et induire une réponse pathologique.

La réponse paradoxale de traitements antibiotiques et d'immunosuppresseur plaide en faveur d'une réponse immunitaire anormale à la flore commensale cutanée, à l'image de la maladie de Crohn qui est une réponse immunitaire anormale à la flore commensale digestive.

Le rôle majeur des Th17 et des Th22 dans la réponse vis-à-vis de la flore nous a fait émettre l'hypothèse qu'une anomalie de cette voie IL-22/IL-17/PAM pourrait être impliquée dans la physiopathologie de l'HS.

L'objectif général de ce projet est d'explorer les mécanismes de défenses antimicrobiennes de l'axe IL-17/IL-22 dans l'hydrosadénite suppurée, avec 4 objectifs spécifiques :

- 1- Caractériser l'infiltrat inflammatoire des lésions cutanées de HS
- 2- Etudier la caractérisation phénotypique et fonctionnelle des cellules productrices IL-17/IL-22 en réponse à des stimulations spécifiques
- 3- Etudier la réponse des kératinocytes à des stimuli microbiens
- 4- Etudier les interactions entre les kératinocytes et les cellules T

## Résultats

Au cours de ce travail, une cohorte de patients a été constituée, ce qui nous a permis de travailler sur l'hypothèse d'une anomalie de la voie IL-22/IL-17/PAM dans la physiopathologie de l'HS.

### I- Création d'une cohorte

Au moins 300 patients souffrant d'hydradénite suppurée sont suivis dans le service de dermatologie de l'hôpital Henri-Mondor. Les patients sont inclus après un consentement éclairé écrit, par un questionnaire et un examen clinique standardisés, avec cotation de la sévérité de la maladie. Des données anamnestiques (antécédents médicaux, histoire de la maladie, tabagisme, maladies associées), cliniques (âge, poids, taille, signes cliniques typiques et atypiques, EVA de l'importance de l'écoulement de la douleur) ont été recueillies. Je suis le seul médecin incluant les patients, permettant ainsi une reproductibilité dans la cotation. 36 patients HS, ayant donné leur accord pour une participation à une recherche sur la maladie de Verneuil, ont été convoqués au CIC pour inclusion, tandis que 46 patients ont été inclus lors de leur consultation spécialisée dans le service de dermatologie de l'hôpital Henri-Mondor. Fin janvier 2015, 82 patients ont été inclus. 75 ml de sang ont été prélevés et sont conservés à la plateforme, en vue de l'analyse phénotypique, fonctionnelle et transcriptomique et 15 ml de sang sont conservés à la DNAtèque. Une large cohorte de patients est ainsi en cours de création. L'accord du CCP Ile-de-France a été obtenu. De plus, une collaboration avec les chirurgiens plasticiens permet l'obtention de prélèvements cutanés de patients HS et de témoins sains (plastie).

Les patients ont été inclus lors de leur 1<sup>ère</sup> consultation ou dans le cadre de leur suivi. A ce jour, 82 patients atteints d'hydradénite suppurée ont été inclus: 62 femmes et 20 hommes

(sexe ratio : 3,1). L'âge moyen à l'inclusion était de 34,4 ans. 14 patients ont été cotés grade Hurley I, 42 : grade Hurley II et 26 : grade Hurley III. 60% des patients avaient un tabagisme actif. L'indice de masse corporelle moyen était de 27,1 Kg/m<sup>2</sup>. Un patient avait une maladie de Crohn concomitante à l'HS, et un autre patient une spondylarthrite ankylosante. Rétrospectivement, 53/82 patients avaient un phénotype classique « axillo-mammaire » LC1 (soit 64,6%), 18/82 un phénotype folliculaire LC2 (22%) et 11/82 (13,4%) un phénotype « glutéal » LC3. 30/82 patients HS inclus avaient au moins un antécédent familial d'HS (soit 33%). 4 familles ont été incluses (1 père et ses 2 filles, 1 mère et ses 2 filles, 2 soeurs, 2 frères).

Dans l'étude immunologique phénotypique et fonctionnelle, l'âge moyen des 18 patients HS inclus, issus de la cohorte, était de 32,4 ans, 14/18 étaient des femmes (77,8%) et 10/18 (55,6%) fumeurs. L'IMC moyen était de 27,6 Kg/m<sup>2</sup>. 7/18 (38,9%) patients avaient des antécédents familiaux d'HS. 4 présentaient un grade de Hurley I, 6 un grade de hurley II et 8 un grade de Hurley III. Les patients de l'étude in situ ne différaient pas des patients de l'étude phénotypique.

Dans notre cohorte de 300 patients HS, aucun patient ne présentait également un psoriasis associé, dermatose inflammatoire caractérisée entre autre par une augmentation de l'expression d'IL-22. Cette constatation a renforcé notre hypothèse d'une dérégulation de la voie IL-17/IL-22/PAM dans l'HS.

## **II- Article soumis**

### **a- Résumé de l'article en français**

**Un défaut intrinsèque des kératinocytes à l'origine de l'inflammation dans l'hidradénite suppurée.**

#### **Introduction**

La maladie de Verneuil ou Hidradénite suppurée (HS) est une dermatose inflammatoire chronique et récidivante se manifestant par des lésions inflammatoires douloureuses et profondes dont la physiopathologie reste mal connue. Devant l'efficacité des antibiotiques et des immunosuppresseurs, une réponse immunitaire inappropriée à la flore microbienne cutanée est un mécanisme physiopathologique potentiel dans l'hidradénite suppurée (HS). Les lymphocytes Th17 et Th22 produisent de l'IL-17 et IL-22, cytokines jouent un rôle majeur dans la défense antibactérienne cutanée. Ces cellules sont caractérisées par l'expression du facteur de transcription ROR $\gamma$ t et des récepteurs CCR6, CCR4 et CCR10, ce qui permet leur migration préférentielle vers la peau via la sécrétion de CCL27, chémokine synthétisée par les kératinocytes (Kc). Les Kc produisent de plus des peptides anti-microbiens (PAM) après la stimulation des récepteurs TLR (Toll-like receptor), ou par l'IL-22/IL-17. Les PAM assurent l'élimination des bactéries et la résolution de l'inflammation, mais sont également des chémoattractants des TCD4+. Notre hypothèse était qu'un défaut de la voie IL-17/22/PAM soit à l'origine de HS.

#### **Matériel et méthodes**

La production de cytokines et l'expression de facteurs de transcription ont été étudiées en qRT-PCR, immunohistochimie, cytométrie de flux et technique luminex dans le sang et la

peau de patients HS (n= 9 à 18) et de témoins (TS) (n= 9 à 12). La migration cutanée a été étudiée par système transwell. L'expression des PAM produits par les KC en réponse à des stimulations bactériennes a été étudiée par qRT-PCR. Deux types de KC ont été utilisés, soit isolés à partir de la peau ou soit à partir de la gaine externe des cheveux. De plus, des KC isolés soit de patients HS, soit de témoins sains ont été mis en culture avec des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> allogéniques issus d'un même donneur de sang en présence de billes revêtues avec un anti-CD3 et CD-28. A J5, différentes cytokines ont été dosées dans les surnageants de culture par technologie Luminex.

## Résultats

1-L'infiltrat cutané inflammatoire dans l'HS était caractérisé par une augmentation des transcrits de l'IFN- $\gamma$  par rapport aux TS (0,4 vs 0,1 unités (UA);  $p < 0,05$ ). Malgré l'augmentation significative de l'expression des transcrits IL-17 chez les patients HS par rapport aux TS, l'étude en immunohistochimie a révélé que les cellules marquées IL-17<sup>+</sup> étaient des polynucléaires et des mastocytes. Par contre, il n'y avait pas de différence dans l'expression des transcrits IL-22 dans la peau des patients HS et TS.

2-Dans le sang des patients HS, une augmentation de la fréquence des cellules T CD4<sup>+</sup> IL-17<sup>+</sup> et TCD4<sup>+</sup> IL-22<sup>+</sup> a été observée par rapport aux TS (2,1% et 1,3% vs 1,2% et 0,5% ;  $p < 0,05$ ). Ces cellules étaient capables de sécréter de l'IL-17 et IL-22 en réponse à des produits microbiens.

3-Devant la dichotomie entre le sang et la peau, nous avons émis l'hypothèse d'une anomalie de migration des lymphocytes Th17 dans la peau. Les Th17 des patients HS exprimaient les facteurs de « homing » CCR4, CCR6 et CCR10 de manière similaire à ceux des témoins. L'étude par transwell n'a pas montré de défaut de migration des lymphocytes TCD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> des patients HS en réponse à CCL27 et CCL20.

4-Dans la peau des patients HS, a été mis en évidence une diminution (i) des transcrits CCL27 par rapport aux peaux issus de témoins sains (0,2 vs 0,8 UA ;  $p<0,05$ ) (ii) des transcrits de PAM (PS100A7 et LL-37) par rapport à des peaux inflammatoires (5 vs 235 UA ;  $p<0,05$ ).

5- Les conséquences du déficit relatif en IL-22 nous a conduit à étudier l'expression des PAM. Les kératinocytes cutanés des témoins en réponse à des stimulations par Pam2CSK4 et MDP augmentent la production d'hBD2 et de PS100A7 et PS100A8, contrairement aux kératinocytes des patients HS. Ce phénotype particulier des kératinocytes HS est également retrouvé à partir de kératinocytes isolés de la gaine externe des cheveux.

6-Les interactions entre les kératinocytes de patients HS et de témoins avec des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> issus du même donneur ont été étudiées. Nous avons montré une diminution significative des concentrations d'IL-17, IL-22 et CCL20 dans les surnageants de co-culture des kératinocytes de patients HS avec des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> par rapport à des co-cultures de témoins avec ces mêmes cellules T CD4<sup>+</sup>.

## **Discussion**

Dans cette étude, nous avons montré que les kératinocytes isolés à partir des prélèvements cutanés lésionnels de patients HS présentaient un défaut de production de PAM après une stimulation par des produits microbiens (Pam2CSK4 et MDP) par rapport à des kératinocytes de témoins sains. Une diminution de l'expression des transcrits de PAM et de CCL27 a été observée sur des prélèvements de peaux totales HS par rapport à des témoins sains. De plus, les kératinocytes isolés à partir de la gaine externe des cheveux de patients HS ne permettaient pas de soutenir un phénotype Th17.

Ainsi nos résultats suggèrent un cercle vicieux responsable de la perpétuation de l'inflammation chronique dans l'HS. En effet, le défaut de PAM par les kératinocytes est probablement à l'origine d'une surcharge microbienne. Au niveau du follicule pileux cette

flore induirait une inflammation qui recrute des lymphocytes T exprimant CCR6+. Cependant, in situ les kératinocytes HS ne permettent pas de maintenir la production d'IL-17 et IL-22 par les lymphocytes T cutanés. Ce défaut IL-17 et IL-22 contribuerait au défaut de production de PAM par les kératinocytes. Malgré des fréquences augmentées des cellules T productrices d'IL-17 et IL-22 dans le sang, ces lymphocytes T ne sont pas suffisamment recrutés dans la peau, probablement par manque de chimiotactisme secondaire au défaut de PAM et d'expression de CCL27.

### **Conclusion**

Un défaut de production des PAM et de chémokines par les kératinocytes serait à l'origine d'un cercle vicieux inflammatoire dans l'HS.

## **b- Article**

### **Defective keratinocyte function involved in inflammation in hidradenitis suppurativa**

Claire Hotz<sup>1,2</sup>, Michele Boniotto<sup>1,2</sup>, Aurelie Guguin<sup>3</sup>, Mathieu Surenaud<sup>1,2</sup>, Nicolas Ortonne<sup>4,5,6</sup>, Romain Bosc<sup>5,6,7</sup>, Florence Poli<sup>5,8</sup>, Veronique Godot<sup>1,2,6</sup>, Pierre Wolkenstein<sup>5,6,8</sup>, Yves Lévy<sup>1,2,5,6,9\*</sup>, Sophie Hüe<sup>1,2,5,6,10</sup>

<sup>1</sup> INSERM U955, Team 16, Créteil, F-94010, France

<sup>2</sup> Vaccine Research Institute (VRI), Université Paris Est Créteil, Faculté de Médecine, 94010, Créteil, France

<sup>3</sup> Plateforme de Cytométrie en flux, IMRB, UFR de Médecine, Créteil, France

<sup>4</sup> Pathology Department, Groupe Hospitalier Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France

<sup>5</sup> Assistance publique – Hôpitaux de Paris (AP-HP)-Hôpital Henri Mondor-Université Paris-Est Créteil Val-de-Marne (UPEC)

<sup>6</sup> Université Paris Est Créteil, Faculté de Médecine, 94010, Créteil, France

<sup>7</sup> Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery Department, Henri Mondor Hospital

<sup>8</sup> Dermatology Department, Groupe Hospitalier Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France

<sup>9</sup> Service d'Immunologie Clinique, Groupe Hospitalier Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France

<sup>10</sup> Service d'Immunologie Biologique, Groupe Hospitalier Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France

#### **\*Corresponding author:**

Pr Yves Lévy, CHU Henri Mondor, 94010 Créteil, France. Phone : +33 1 49 81 44 42 , fax : +33 1 49 81 24 69, e-mail : [yves.levy@hmn.aphp.fr](mailto:yves.levy@hmn.aphp.fr)

Pr Sophie Hüe, CHU Henri Mondor, 94010 Créteil, France. Phone : +33 1 49 81 22 98 , fax : +33 1 49 81 28 97, e-mail : [sophie.hue@hmn.aphp.fr](mailto:sophie.hue@hmn.aphp.fr)

This project was supported by Fondation pour la Recherche Médicale (FRM) (Projet

Roxanne) (to CH and MB) and by a grant from the French Society for Dermatology (SFD).

## **Abstract**

Hidradenitis suppurativa (HS) is a chronic, inflammatory, debilitating, follicular disease of the skin. Medical treatments, antibiotics and immunosuppressive agents, point to a deregulated immune response to microflora. We investigated the hypothesis of a dysregulation of the T helper-17/22-cells/antimicrobial peptides (Th17/Th22/AMPs) axis at the periphery, in skin lesions and using an in vitro keratinocyte–T-cell culture system.

Among 18 HS patients, we found reduced number of infiltrating CD4<sup>+</sup> T cells secreting interleukin-17 (IL-17) and/or IL-22 in HS skin lesions but increased number of functional CD4<sup>+</sup> T cells secreting IL-17 or IL-22 in HS patient blood. This discrepancy was not explained by phenotypic or functional defect in activity of chemokine receptors (C-C chemokine-receptor-type-4 [CCR4], CCR6 and CCR10) for skin migration. C-C chemokine ligand 27 and AMPs expression was reduced in skin of HS patients. Moreover, keratinocytes isolated from HS skin were defective in AMPs production in responding to microbial products. As well, keratinocytes isolated from HS skin failed to skew CD4<sup>+</sup> T cells toward the Th17 phenotype. In HS, defective HS keratinocyte function leads to a vicious circle by perpetuating inflammation in skin lesion sites.

## **Key words**

Hidradenitis suppurativa, IL-17 and/or IL-22 secreting T cells, antimicrobial peptides, keratinocytes, chemokines, outer root sheath cells, Pathogen recognition receptor

## **Abbreviation used**

HS, Hidradenitis suppurativa; Th17/22, IL-17 and/or IL-22 secreting T cells; AMPs, antimicrobial peptides; KC, keratinocytes; ORS, outer root sheath cells; CCR4, C-C

chemokine-receptor-type-4; TLR, toll-like receptor; IFN- $\gamma$  , interferon- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor- $\alpha$ ; IL, interleukin; PBMC, peripheral blood monocyte; HD, healthy donor; ID, inflammatory disorder; hBD, human  $\beta$ -defensin

### **Key messages**

- KC isolated from HS skin displayed a defect in AMPs production in response to microbial products
- ORS derived keratinocytes failed to skew CD4<sup>+</sup> T cells toward Th17 phenotype in coculture experiments.
- Based on these results, we surmised a primary defect in keratinocytes biology in the physiopathology of HS.

## **Introduction**

Hidradenitis suppurativa (HS) is a chronic, inflammatory, recurrent, debilitating, follicular disease of the skin that usually presents after puberty. It features painful, deep-seated, inflamed lesions most commonly in the axillary, inguinal and anogenital regions (1). The estimated prevalence is 1% to 4% (2)(3). Because HS is a painful and distressing disorder and is associated with strong feelings of shame, it reduces patients' quality of life substantially (4). Therapeutic options are limited. Antibiotics for cutaneous bacterial persistence in affected skin are successful for some patients (5)(6). However, the use of immunosuppressive agents has pointed to a role of the immune system (7)(8).

The pathogenesis of HS is still poorly understood and is probably multifactorial. In a small number of cases, the disease has been linked to chromosome 1p21.1-1q25.3 and mutations of the  $\gamma$ -secretase complex (9)(10)(11). Smoking, obesity and hormonal influences may be pathogenic factors (12). Globally, HS is considered to result from inappropriate immune responses to commensal bacterial skin flora (13).

The constant exposure of the skin to the external environment, including resident commensal microbiota, requires a constant dialog between the epithelium and immune cells to maintain homeostasis. Keratinocytes (KCs), the epithelial constituents of the epidermis, have considerable immunological and inflammatory functions, acting together with Langerhans cells as first-line sentinels that respond to environmental/microbial agents penetrating the superficial epidermis (14)(15). Keratinocytes can produce and release a great variety of antimicrobial peptides, thereby building an effective chemical shield against microbes. Activation of keratinocytes, via toll-like receptors (TLR) or UV light, for example, enhances the production of antimicrobial peptides (AMPs) and can induce the production and secretion

of other mediators, including proinflammatory peptides and various cytokines (16). AMPs are direct antimicrobial compounds (through bacterial-membrane permeabilization) on skin and mucosal surfaces and also function as opsonins, chemokines and modulators of host-cell cytokine production (17). Cytokine and chemokine signalling leads to the local recruitment of macrophages and neutrophils and further increases the anti-microbial protein response. High levels of AMPs facilitate microbial clearance through their localized concentration, opsonisation and further signalling (18)(19). Finally, negative feedback regulation by some AMPs can limit inflammation.

Although some components of AMPs are constitutively expressed, their production by epithelial cells can be regulated by cytokines of the innate and adaptive immune systems. In particular, the effector cytokines interleukin 17 (IL-17) and IL-22, which are produced by T helper 17 cells, are emerging as crucial regulators of AMPs production (20)(14). Th17 cells are characterized by their capacity to produce IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-26 and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and to express the transcriptional factor retinoic acid receptor-related orphan receptor  $\gamma$  (ROR $\gamma$ t) and C-C chemokine receptor type 6 (CCR6) (21). Besides their role in anti-bacterial and anti-mycotic defences, Th17 cells play a key role in regulating inflammation by recruiting neutrophils at inflammatory sites (22). IL-22 regulates innate immune responses and controls homeostasis at mucosal sites by targeting non-hematopoietic cells such as epithelial cells in mucosal tissues and keratinocytes (23)(24). IL-22 production is confined to Th17 cells; however, recent studies identified a new population of lymphoid cells producing IL-22 (Th22) characterized by the expression of CCR6, CCR4 and CCR10 (25)(26). Production of C-C chemokine ligand 27 (CCL27), the CCR10 ligand, by keratinocytes leads to Th22 homing into the skin (27)(28). Finally, IL-22, IL-17A and IL-17F

act synergistically on the production of AMPs such as human  $\beta$ -defensin 2 (hBD2), hBD3 and psoriasin (S100A7) by human keratinocytes (29).

In this study, we investigated a possible imbalance in the Th17/IL-22 axis in HS, which might lead to a dysregulated AMPs pathway and perpetual inflammation at sites of infection in skin lesions.

## Results

### Patient characteristics

The mean age of the 18 patients with HS was 32.4 years (range 20-38; 14 were women (77.8%) and 10 (55.6%) were smokers. The mean body mass index (BMI) was 27.6 Kg m<sup>-2</sup>. Seven (38.9%) had a family history of HS. Four (22.2%) had Hurley stage I disease, 6 (33.4%) Hurley stage II disease, and 8 (44.4%) Hurley stage III disease (Table 1). Patients who participated in the molecular analyses did not differ from the whole group (Table 2).

### Characterization of T-cell infiltrates in HS skin

We analyzed inflammatory infiltrates in lesional skin biopsies from HS patients (n=9) and skin samples from healthy controls (n=13). On qRT-PCR, the expression of interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-10 and IL-17 was greater in HS lesions than healthy skin samples, with no difference in IL-22 expression (Fig. 1A). Immunohistochemistry analysis confirmed these findings (Fig. 1B). Semiquantitative analysis involved classifying the CD4/CD3, CD8/CD3 and FoxP3/CD3 ratio was performed in the dermis (data not shown). T-cell infiltration in HS skin biopsies mainly represented CD4<sup>+</sup> T cells. The number of Foxp3<sup>+</sup> T cells was greater in HS lesions than healthy skin samples. However, IL-17<sup>+</sup> cells were prominently polymorphonuclear cells and mast cells, which point to a relative deficiency of IL-17-producing T cells (Fig. 1B).

To confirm these results, we analyzed T-cell populations by flow cytometry. On FACS analysis of T lymphocytes after mitogenic stimulation of cells from lesional and non-lesional healthy skin of 3 HS patients (Fig. 1C), the frequency of IFN- $\gamma$ -producing CD4<sup>+</sup> T cells was higher in lesional than non-lesional skin, with no difference in frequency of IL-17- and IL-22-producing CD4<sup>+</sup> T cells (Fig. 1D).

Altogether, these results suggest that HS skin lesions are characterized by a reduced number of infiltrating CD4<sup>+</sup> T cells secreting interleukin-17 (IL-17) and/or IL-22.

### **Numbers of CD4<sup>+</sup> T cells secreting IL-17 or IL-22 are increased in HS patient blood**

To investigate the cytokine profile of circulating T lymphocytes, we performed multiparametric cytometry analysis of stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from HS patients (n=18) and healthy donors (n=13) (Fig. S1). Median frequency of CD4<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IL-17F<sup>+</sup>, and CD4<sup>+</sup>IL-22<sup>+</sup> T cells was higher in HS than healthy control PBMCs (median, (IQR): 2.1 (1.3-3.5%) vs 1.2 (0.5-1.8%); 0.5 (0.3-0.8%) vs 0.2 (0.1-0.3%) and 1.3 (0.7-1.9%) vs 0.5 (0.3-1.1%), respectively; all P<0.05), with no difference in frequency of CD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> T cells (Fig. 2A). The frequency of peripheral T regulatory cells (Tregs), defined as CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>FoxP3<sup>+</sup> lymphocytes (Fig. S2), did not differ between HS and healthy donor PBMCs (Fig. 2B).

We further measured cytokine production in PBMCs after *in vitro* stimulation with the microbial products staphylococcus enterotoxin B (SEB) as a positive control, heat-killed *Candida albicans* (CA) and *Staphylococcus aureus* (SA), known to induce an IL-17/IL-22 immune response, and flagellin (FLA). *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* express flagellin and are found in HS lesional skin. Production of IFN- $\gamma$ , IL-17 and IL-22 but not IL-10 in supernatant was higher from HS than healthy donor PBMCs with SEB stimulation, (all P<0.05) (Fig. 2C). On stimulation of PBMCs with CA, SA or FLA, levels of IFN- $\gamma$ , IL-17 and IL-22 were consistently higher, although not always significantly, from HS than healthy control PBMCs (Fig. 2C). Levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-10 production did not differ between the 2 groups (data not shown). Therefore, HS patient PBMCs can produce IL-17 and IL-22 in response to microbial products.

### **Normal expression of functional chemokine receptor patterns for skin migration in HS**

We hypothesized that migration of CD4<sup>+</sup> T cells producing IL-17 and IL-22 to lesional skin of HS patients might be defective. We analyzed the expression of chemokine receptors CCR4

(the receptor for CCL17 and CCL22), CCR6 (the receptor of CCL20) and CCR10 (the receptor for CCL27) involved in skin homing in peripheral CD4<sup>+</sup> T cells. The CCR4<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR10<sup>-</sup> pattern defines Th17 cell subsets and the CCR4<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR10<sup>+</sup> pattern Th22 cell subsets (26)(30). The pattern of T-cell expression of chemokine receptors did not differ between HS patients and controls (Fig. 3A). Next, we focused on cytokine production by CCR4<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR10<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> and CCR4<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR10<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells. Production of IL-17 or IL-22 in the different subsets was not defective. As well, frequency of IL-17-secreting cells was higher in CCR4<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR10<sup>-</sup> T-cell subsets and that of IL-22-secreting cells was higher in CCR4<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR10<sup>+</sup> T-cell subsets in HS than control skin, without reaching significance (Fig. 3B-C).

Next, we investigated the chemotaxis capacity of T cells from HS patients in response to chemokines. Cell migration towards CCL20, CCL27 and CXCL12, was monitored by Transwell assay. We used CCL20 as a CCR6 ligand, CCL27 as a CCR10 ligand and CXCL12 as a positive control. The chemotactic index (proportion of migrated CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> cells in the lower chamber among CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> cells in the top well) did not differ between HS patients and controls (Fig. 3D). Therefore, HS patients showed normal expression of chemokine receptor patterns for skin homing and these chemokine receptors were functional.

### **Expression of CCL27 and AMPs is reduced in HS patient skin in the chronic phase of disease**

To understand why Th17 and Th22 cells are not recruited to HS skin lesions, we investigated the cutaneous mRNA expression of CCL20 and CCL27 chemokines and AMPs. In addition to functioning as direct antimicrobial compounds, AMPs can function as chemokines. CCL20 expression was significantly higher in HS skin and skin lesions from patients with

inflammatory disease (ID) than healthy controls (0.39 and 0.23 vs 0.03 arbitrary units [AU];  $P < 0.05$ ) (Fig. 4A). In contrast, CCL27 expression was significantly lower in HS lesions than healthy skin and ID lesions (0.26 vs 0.76 and 1.48 AU;  $P < 0.05$ ). Moreover, psoriasin (S100A7) and LL37 mRNA levels were significantly lower in HS than ID skin lesions (3.75 and 1.13 AU for HS vs 234.38 and 13.00 AU for inflammatory skin, respectively;  $P < 0.05$ ) (Fig. 2B).

### **Keratinocytes isolated from HS skin are defective in AMP production in response to microbial products**

To decipher the role of keratinocytes in the defective AMP and CCL27 production observed in HS, long-term-cultured keratinocytes from skin biopsies from 5 healthy individuals and 3 HS patients were amplified and stimulated for 6 hours with selected agonists targeting Toll-like receptor 2 (TLR2; Pam2CSK4) (Fig. 5A), TLR2/TLR6 (muramyl dipeptide; MDP) (Fig. 5B) and Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 (NOD-2) pathways. On qRT-PCR, CCL27 mRNA was not expressed in non-stimulated keratinocytes and stimulation with PRR agonists failed to enhance CCL27mRNA in keratinocytes from healthy donors (data not shown). Epidermal CCL27 is strongly dependent on keratinocytes differentiation (31) and proliferative keratinocytes were used to perform these experiments.

As previously described, human- $\beta$ -defensin-1 (hBD-1) was constitutively expressed by keratinocytes from healthy controls and HS patients, with no difference in mRNA expression between groups under stimulation ( $1.36 \pm 0.19$  vs  $1.39 \pm 0.44$  AU;  $P = \text{NS}$  under Pam2CSK4 conditions and  $1.13 \pm 0.11$  vs  $0.88 \pm 0.15$  AU under MDP conditions;  $P = \text{NS}$ ). hBD-3 expression was increased under Pam2CSK4 and MDP conditions in healthy controls (fold of induction vs no stimulation  $1.74 \pm 0.77$ ) but not HS patients. Finally, Pam2CSK4 and MDP increased hBD-2 gene expression up to 17- and 120-fold, respectively, in keratinocytes from healthy donors, whereas these responses were deficient in HS ( $P < 0.05$  for both conditions).

Similarly, the expression of S100A7 (psoriasin) was increased 4- and 6-fold under Pam2CSK4 and MDP conditions, respectively, in healthy controls, with no changes in keratinocytes from HS patients ( $P < 0.05$  for both comparisons). Therefore, keratinocytes from HS show defective AMP production in response to microbial stimulation.

### **Keratinocytes from HS patients do not skew $CD4^+$ T cells toward $CD4^+IL-17^+/IL-22^+$ T-cell phenotype**

Interactions between keratinocytes and T cells are important to maintain immune homeostasis in the skin. Because we observed keratinocytes defect in AMPs production, we investigated if the cross-talk between HS keratinocytes and T cells was also altered. For this purpose, we have optimized a protocol to isolate keratinocytes from outer root sheath cells (ORS) of the hair follicle. We cocultured primary ORS derived keratinocytes and T cells to investigate their interactions. ORS derived keratinocytes from HS patients ( $n=4$ ) or healthy donors ( $n=5$ ) were cultured with allogenic anti-CD3/anti-CD28 bead-activated  $CD4^+$  T cells for 5 days (Fig. 6A). Same batch of allogenic  $CD4^+$  T cells was used for all co-culture experiment. The production of IL-17, IL-22 and CCL20 was lower with co-culture of HS than healthy donor keratinocytes (all  $P < 0.05$ ) (Fig. 6B). Of note, IFN- $\gamma$ , IL-10, and CCL17 production did not differ between cocultures. Therefore, HS keratinocytes did not skew  $CD4^+$  T cells to a Th17 phenotype.

## Discussion

We investigated whether regulation of the Th17/Th22/AMPs axis might be defective in HS and lead to perpetual inflammation at sites of infection in skin lesions. We found reduced Th17/Th22-cell frequency and AMPs expression in lesional skin of HS patients that was associated with severe functional defect in keratinocytes. Strikingly, these defects were observed in patients with chronic disease and local inflammation. This inflammatory status was also associated with high response of peripheral Th17/Th22 cells to different microbial products. These results confirm previous data showing Th22 deficiency in HS skin lesions and extend this functional deficiency to Th17 cells. The protective role of Th17/Th22 cells with extracellular bacteria or fungal infection has been reported in different experimental models and in human pathology (32)(33)(34). The induction of Th17 cells in the lamina propria has been shown to provide protection against *Citrobacter* infection by regulating REGIII $\gamma$  production (35) suggesting that others cellular sources of IL-17 is not sufficient to induce this protection. In line with these results, we believe that neutrophils and mastocytes that produce IL-17 are not sufficient to control infection observed in HS patients.

Moreover, we show that this discrepancy between blood and skin T cell cytokine profiles is limited to Th17/Th22 cells because IFN- $\gamma$  responses to microbial products were not affected in blood and skin. Defective key Th17/Th22 cells may play a unique role in mucosal immune defence and, potentially, homeostasis in HS physiopathology. Thus, the balance between the Th1 and Th17/Th22 response to microbial products in HS skin is tipped in favour of inflammatory responses and a lack of anti-inflammatory and bacterial defences. This profile was not explained by a lack of migratory capacities of these cells expressing skin-homing CCR4<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR10<sup>+</sup> functional receptors.

Recently, innate lymphoid cells (ILCs) have emerged as key players in the pathogenesis of multiple inflammatory skin disorders. ILC-3 and LT<sub>i</sub> (lymphoid tissue inducer) population has been described as IL-17 and IL-22 producing cells. We investigated ILC populations isolated from skin biopsies from HS patients and healthy controls. We observed that the frequency of ILC-3 and LT<sub>i</sub> cells varied among HS patients (data not shown). That of ILC-3 and LT<sub>i</sub> was higher but not significantly in HS than healthy control skin. In contrast to a potential role for skin ILC3s in the pathogenesis of psoriasis, these results suggested that ILC-3 are not involved in the HS pathogenesis.

This local defect in the Th17/Th22/AMP axis may also help illuminate the role played by the cross-talk between specific T-cell subsets and keratinocytes in HS disease. Several studies have shown that Th17/Th22-derived cytokines contribute to enhancing the repair of the injured epidermis by inducing the proliferation of keratinocytes (36). In addition, Th17/Th22 cells signal back to keratinocytes to affect their barrier function and induce production of various cytokines, chemokines and AMPs (29). Our results may significantly contribute to understanding the results from previous studies showing impaired induction of AMPs expression in the skin of HS patients (37)(38)(39). However, one level of complexity is represented by the several cellular sources of AMPs described in the skin, including keratinocytes, mast cells, neutrophils, sebocytes and eccrine epithelial cells (19). Therefore, to better decipher the precise role of keratinocytes, we cultured keratinocytes from HS patients and controls. Upregulated hBD-2, S100A7 and LL37 levels by stimulated keratinocytes were lower or absent from HS patients than healthy donors. This production remained low despite presence of skin inflammation.

In healthy individuals, cathelicidins and  $\beta$ -defensins are typically expressed at low levels in non-inflamed skin, but their expression is rapidly increased with injury, inflammation or infection with *S. aureus*, for example (19). Common human skin disorders such as atopic dermatitis, rosacea and psoriasis have been linked only in part to the abnormal production of AMPs (40). Nevertheless, these defects seem to be due to abnormalities in the specific systems that regulate both transcription and post-translational processing and whether this is the direct or indirect cause of the pathology is unclear. In HS patients, because of the reduced ability of KCs to produce AMPs, these cells are particularly vulnerable in the pathophysiologic process. This process seems particularly important in hair follicles (HFs), which in addition to being the primary body structures involved in HS, are the main portals for skin entry of bacteria. Moreover, defective AMPs production in atopic dermatitis has been linked to a higher propensity for *S. aureus* colonization, known to play important roles in the exacerbation of local infections. Our results suggest that a combined local defect in AMPs and key effectors in anti-inflammatory and defense responses might favor a dysbiosis of skin-resident microbes contributing to perpetual skin inflammation in HS lesions (41)(42).

Another specific feature in HS patients is the decreased expression at local sites of CCL27, a chemokine exclusively produced by keratinocytes to attract CCR10-expressing T lymphocytes to the skin. The regulation of CCL27 expression is complex and regulated during skin development and keratinocytes differentiation. This relative defect contrasts with local chronic inflammation because this chemokine is finely regulated by TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  (43)(44). However, the induction of CCL27 by TNF- $\alpha$  could be suppressed by IFN- $\gamma$  via a pathway depending on Janus kinase (45). Thus, the bias toward increased expression of IFN- $\gamma$  in lesions may also contribute to lowered CCL27 responses in HS skin lesions.

Finally, we investigated direct interactions between ORS derived keratinocytes isolated from HS and healthy donors in coculture experiments with T cells from one healthy donor. To even the heterogeneity between T-cell donors, we used cells from the same blood donor. In a recent study, such a coculture system allowed for showing that keratinocytes skewed the normal CD4<sup>+</sup> T-cell population toward a IL-17<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>RORγt<sup>+</sup> phenotype (46). Here, as compared with keratinocytes from healthy donors, keratinocytes from HS patients could not drive CD4<sup>+</sup> T cells toward a Th17 phenotype, which points to the functional defect of these cells in HS disease. Further experiments are needed to explore the molecular mechanism behind this defect. Notch signaling enhances IL-22 production by CD4<sup>+</sup> T cells by a mechanism involving AhR stimulation. In addition, forced expression of the Notch target gene Hes1 greatly enhanced the IL-22–mediated transcription dependent on signal transducer and activator of transcription-3 (STAT-3) in human intestinal epithelial cells, thus inducing the expression of genes encoding antimicrobial peptides (47). Because genetic studies have highlighted the role of mutations in genes from the Notch pathway in some HS patients (10)(11), deficiency in Notch signalling may be involved in the defect we observed in keratinocytes from HS. Our preliminary results from exome and blood transcriptomic analyses of a large cohort of HS patients identified this pathway, beyond the already published pattern of mutation, in a larger number of patients (personal data).

In conclusion, using a unique approach investigating both the blood and skin of patients and keratinocyte–T-cell interactions, we provide new insights in understanding HS, a unique but not rare disease with medical and strong social consequences. An intrinsic defect of AMPs production by HS keratinocytes, exacerbated by dysregulated inflammatory cytokines (IL-17, IL-22), may be due to a vicious circle that enhances chronic inflammation in HS skin. The

defective AMPs production allows for overgrowth of bacteria leading to inflammation. As well, HS keratinocytes failed to skew CD4<sup>+</sup> T cells towards a Th17 phenotype, thus contributing to the defective AMPs production observed during the chronic state. Genetics, smoking and obesity play a role in HS. AMPs expression could be influenced by dietary vitamin D or vitamin D generated by exposure of the skin to sunlight (48). Therefore, the nutritional environment may be a source of important signals controlling AMPs expression. Future work is needed to unravel the complex regulatory networks that control AMPs expression for developing new therapeutic strategies to enhance endogenous AMPs production in HS.

## **Methods**

### **Blood and tissue samples**

Blood samples were collected from 18 HS patients at the dermatology department of Henri Mondor Hospital. Whole blood was collected from 18 healthy donors at the Regional Blood Transfusion Centre, Creteil, France. Skin samples were collected from HS patients who underwent surgery to unroof lesions and from healthy patients after abdominoplasty or mammoplasty. In addition, skin samples were collected from 2 patients with psoriasis, 1 patient with erythroderma and 1 patient with rash caused by virus for samples of “inflammatory disease”. Skin tissue samples were snap-frozen in liquid nitrogen immediately after excision and stored at -80°C.

### **Cell staining and flow cytometry of cytokine production**

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were separated by a Ficoll-Hypaque gradient from whole blood, following standard protocols. Characterization of skin T cells was as described (49). Biopsies taken from macroscopically visible lesions (lesional) and at about 5 cm from the lesion (non-lesional) were digested for 1 hr at 37° C in 55 mg/ml Liberase TL (Roche Diagnostics, Meylan, France) in the presence of 5 mg/ml DNase I (Stemcells Technologies, Grenoble, France). After physical disruption, obtained by passing the undigested tissues several times over a 20-ml syringe, the cell suspension was sieved through a 40-µm cell strainer. Isolated cells were collected by centrifugation for 10 min at 1400 rpm and resuspended in RPMI (Invitrogen) with 10% fetal calf serum (FCS). For extracellular and intracellular staining, tissue samples were incubated with the antibodies Alexa Fluor700-conjugated anti-CD3, PacificBlue- or phycoerythrin (PE)-CF594-conjugated anti-CD4, APC-H7-conjugated anti-CD8, PE-Cy7-conjugated anti-interferon-γ (anti-IFN-γ), PerCP-Cy5.5-conjugated anti-CD127 monoclonal antibody, PE-Cy7-conjugated anti-CD25, Alexa

Fluor647-conjugated anti-CCR4, PE-Cy7-conjugated anti-CCR6 (all BD Biosciences, Paris, France); FITC-conjugated anti-FoxP3, Alexa Fluor647-conjugated anti-IL-17F, PE- or PerCP-eFluor 710-conjugated anti-IL-22, FITC-conjugated anti-IL-17A (all eBioscience, Paris, France); or PE-conjugated anti-CCR10 (R&D Systems, Minneapolis, MN) as previously described (50).

For intracellular cytokine staining, cells were stimulated for 5 hr with phorbol myristate acetate (PMA) (100 ng/ml) and ionomycin (1 µg/ml) with brefeldin A (10 µg/ml). Flow cytometry involved use of the BD LSRII Flow Cytometer (BD Biosciences) and data were analyzed by use of FlowJo (Tree Star, San Carlos, CA).

### **Cytokine secretion after microbial stimulation by multiplex technologies**

PBMCs at  $5 \times 10^5$  were cultivated in serum-free medium (AIM-V) and stimulated for 2 days with 100 ng/ml staphylococcal enterotoxin B (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO),  $10^6$  cells/ml heat-killed *Candida albicans* (InvivoGen, San Diego, CA),  $10^6$  cells/ml heat-killed *Staphylococcus aureus* (Invivogen) or 100 ng/ml flagellin purified from *Salmonella typhimurium* (Invitrogen, Carlsbad, CA). Cytokines (IL-22, IL-17A, IFN-γ, IL-6, IL-1β and IL-10) were measured in supernatant by use of IL-22 ELISA (Quantikine; R&D Systems) or luminex assay (Milliplex; Millipore).

### **Keratinocyte culture and stimulation**

Skin specimens were rinsed for 1 hr in phosphate buffered saline (PBS) containing 20 µg/ml gentamicin and 0.5 ng/ml amphotericin B (Invitrogen, Carlsbad, CA)), then cut into narrow strips and treated with PBS containing 0.5% dispase II and 5 µg/ml gentamicin (Invitrogen) for 16 hr at 4 °C to separate epidermis from dermis. The epidermis was placed in Tryple Express Reagent (Invitrogen) and incubated at 37 °C for 45 min with gentle agitation. After the addition of Defined Trypsin Inhibitor (Invitrogen), the solution was vigorously pipetted

and the cell suspension was passed through a 70- $\mu$ m cell strainer. Keratinocytes were collected by centrifugation for 10 min at 950 rpm, resuspended in Defined Keratinocyte-SFM Medium (Invitrogen), counted and seeded at  $4 \times 10^4$  live cells/cm<sup>2</sup>. Complete medium was changed every other day and cells were split at about 70% confluency to avoid cell death and differentiation.

Passage 2 to 5 keratinocytes were seeded in 48-well plates, grown to 100% confluency and stimulated for 6 hr with 10  $\mu$ g/ml muramyl dipeptide (MDP) (InvivoGen, San Diego, CA) or Pam2CSK4 at 50 ng/ml (InvivoGen, San Diego, CA).

ORS cells were isolated following the protocol described by Aasen and Belmonte (51) with minor modifications. Briefly, hairs in anagen growth phase were plucked from occipital and temporal region of each donor by forceps and stored in Defined Keratinocyte-SFM (DKSFM) Medium (Invitrogen, Carlsbad, CA) containing 5  $\mu$ /ml Gentamicin (Invitrogen) until processing. The root portion ( $\approx$  5mm), containing hair follicle and the bulge region, was cut and incubated in 1U/ml Dispase (Stemcell Technologies, Grenoble, France) for 5 minutes at room temperature. Each root was placed in a 18-mm well, coated with Matrigel (BD Bioscience, Le Pont de Claix, France), with 150  $\mu$ l DMEM + 15% FBS (Invitrogen) and incubated at 37  $^{\circ}$ C under 5% CO<sub>2</sub>. For the first 4/5 days medium was renewed each day. When outgrowth of typical epithelial keratinocytes was observed, the medium have been switched to complete DKSFM (Invitrogen). Cells have been further expanded in DKSFM. Passage (P) 2 to P4 cells have been used for experiments.

$2 \times 10^4$  keratinocytes were stimulated with TNF- $\alpha$  (30 ng/ml) for 18 hours. Then, KC cultures were extensively washed with PBS before setting up co-cultures in order to minimize carryover of growth factors.  $1 \times 10^5$  T-cells were stimulated with  $2 \times 10^4$  anti-CD3/CD28 mAb coated microbeads (DynaL Biotech). Medium was refreshed at day 3 of co-culture. For determination of cytokine or chemokine concentration by Luminex, culture supernatants were

taken at day 5 and the concentrations of IL-17, IL-22, CCL20, IFN- $\gamma$ , IL-10 and CXCL17 (Millipore, Billerica, MA, USA) were determined, according to manufacturer's instructions.

### **RNA extraction and quantitative RT–PCR (qPCR)**

Total mRNA from cells and biopsies was extracted with use of the Qiagen RNeasy Mini-kit (Qiagen, Courtabouef, France). cDNA was synthesized by using the affinityScript qPCR cDNA synthesis kit (Agilent Technologies, Courtabouef, France) and real-time PCR of cDNA samples involved custom-made primer sets with the Brilliant II SYBR green QPCR master mix (Agilent Technologies). The primer sequences are in Supplementary Table 1. Expression of the gene S14 or OAZ-1 was used as a reference and the relative quantity of the transcripts was calculated with the  $\Delta\Delta C_t$  method.

### **Immunohistochemistry**

Paraffin-embedded tissue samples 3 mm thick were placed on Superfrost-plus slides (CML, Angers, France) and incubated with the antibodies goat anti-human IL-17 antibody (R&D Systems; 1:100 dilution), mouse anti-human FoxP3 (Abcam), rat anti-human CD3 (AbD Serotec) (both 1:50), mouse anti-human CD4 (Novocastra) (1:400) or mouse anti-human CD8 (Dako) (1:200), then biotinylated secondary antibody and alkaline phosphatase–conjugated avidin with the Vectastain ABC–AP kit (Vector, Burlingame). Sections were developed in naphthol-fast red (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) and counterstained with hematoxylin. Controls were sections of healthy skin from mammoplasty.

The density of dermal T-cell lymphocytic infiltrates was classified as +, scattered lymphocytes; ++, clusters of lymphocytes; and +++, dense and diffuse infiltration, according to CD3 staining. Epidermal and dermal lymphocytic infiltrates were analyzed separately. In the epidermis, the number of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup>, and IL-17<sup>+</sup> cells was counted in the

total epidermal length. In the dermis, semiquantitative analysis involved classifying the CD4/CD3, CD8/CD3 and FoxP3/CD3 ratios as 1 (0–25%), 2 (25–50%), 3 (50–75%), and 4 (75–100%).

### **Chemotaxis assays**

CD3<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> cells were isolated by use of a MoFlo Legacy cell sorter (Beckman Coulter, Marseille, France). Chemotactic responses of CD3<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> T cells were investigated in 24-well Transwell plates (Costar, Fisher Bioblock, France) with 5- $\mu$ m-pore-size polycarbonate filters. Cells at  $1 \times 10^4$  were added to the top chamber in RPMI 1640 + 10% FBS, and 600  $\mu$ l of the same medium containing 100 ng/mL CXCL12, 200 ng/mL CCL20 or 500 ng/mL CCL27 was added to the lower chamber for 2.5 hr at 37 °C, then cells from the bottom chambers were harvested and mixed with the Flow-Count Fluorospheres (Beckman Coulter) to determine absolute number by use of the FC500 (Beckman Coulter) flow cytometer. Results are expressed as percentage of migrated CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> cells (in the lower chamber) to CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> cells added to the top well.

### **Statistics**

Comparisons between HS and healthy donors groups involved the Mann–Whitney U test. Data were analyzed with GraphPad Prism Version 5.0a (GraphPad Software, La Jolla, California, USA). Statistical significance was defined as  $p < 0.05$ .

### **Figures**

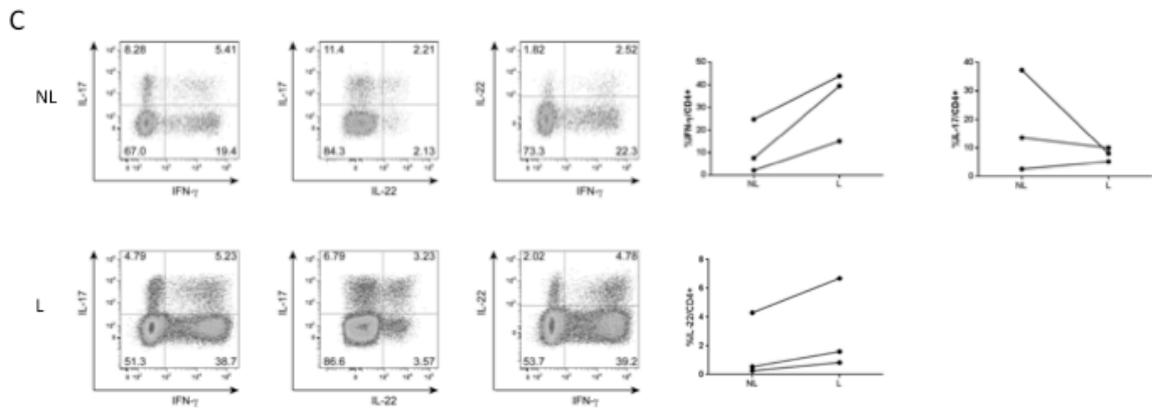
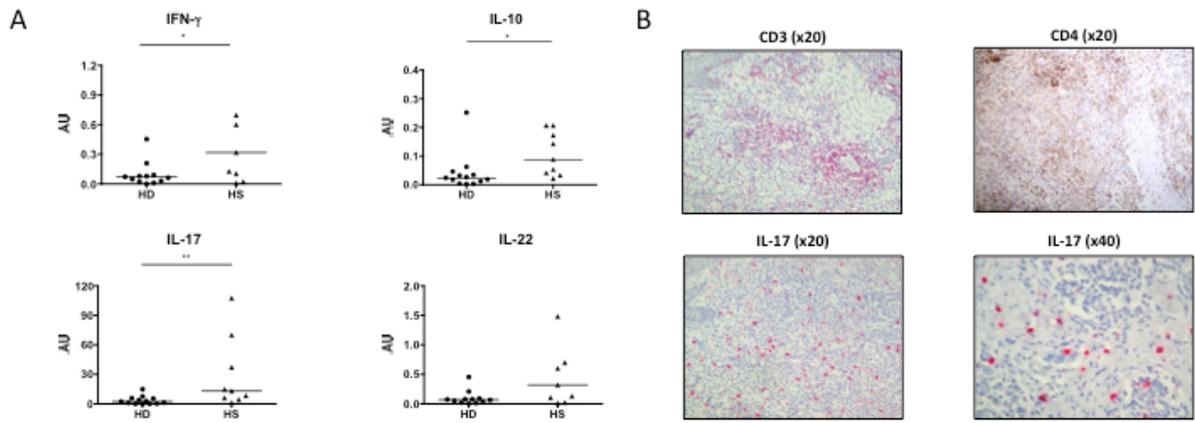


Figure 1

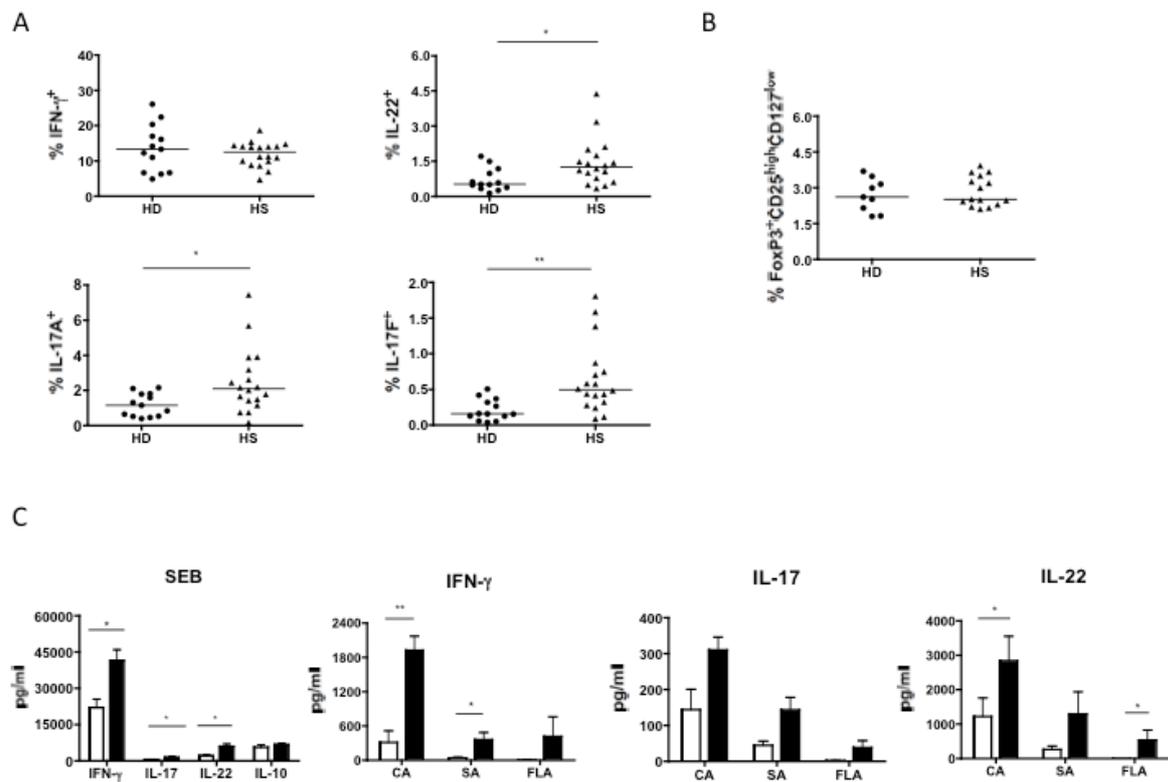


Figure 2

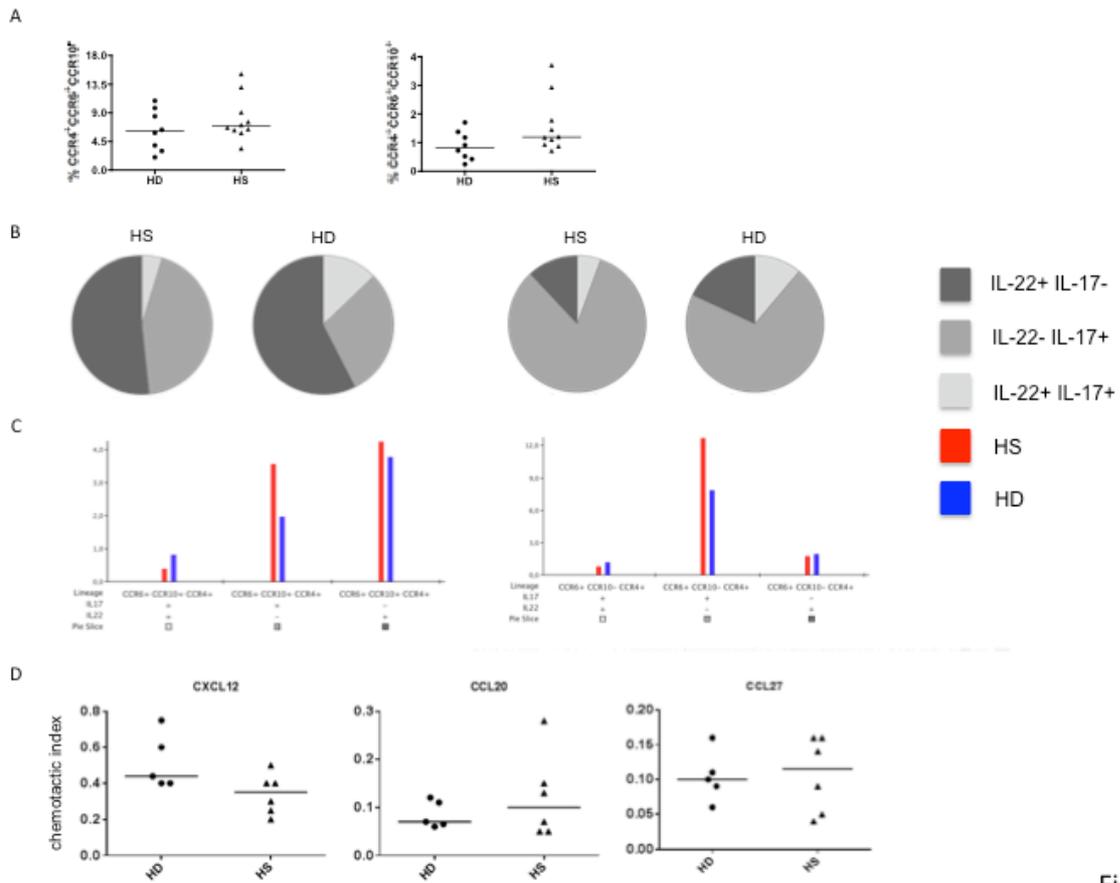


Figure 3

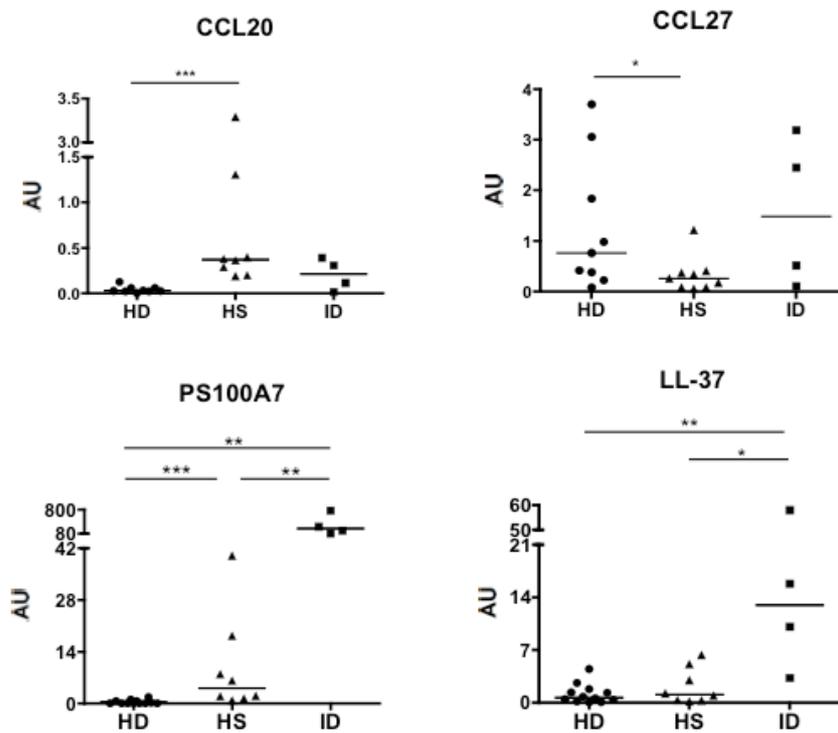


Figure 4

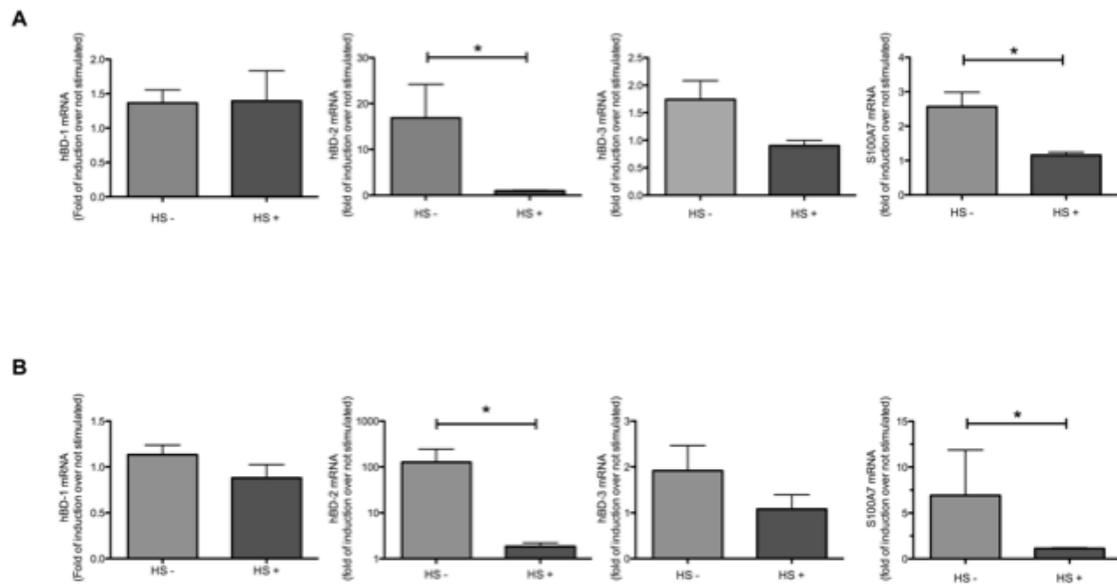


Figure 5

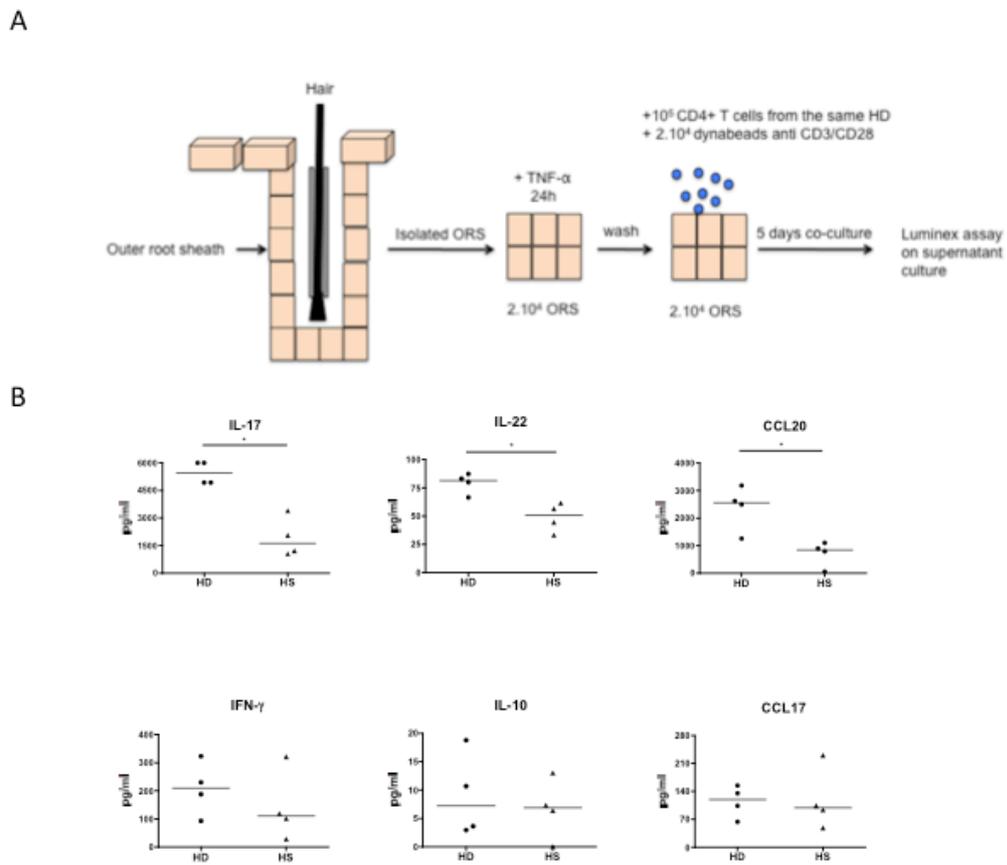


Figure 6

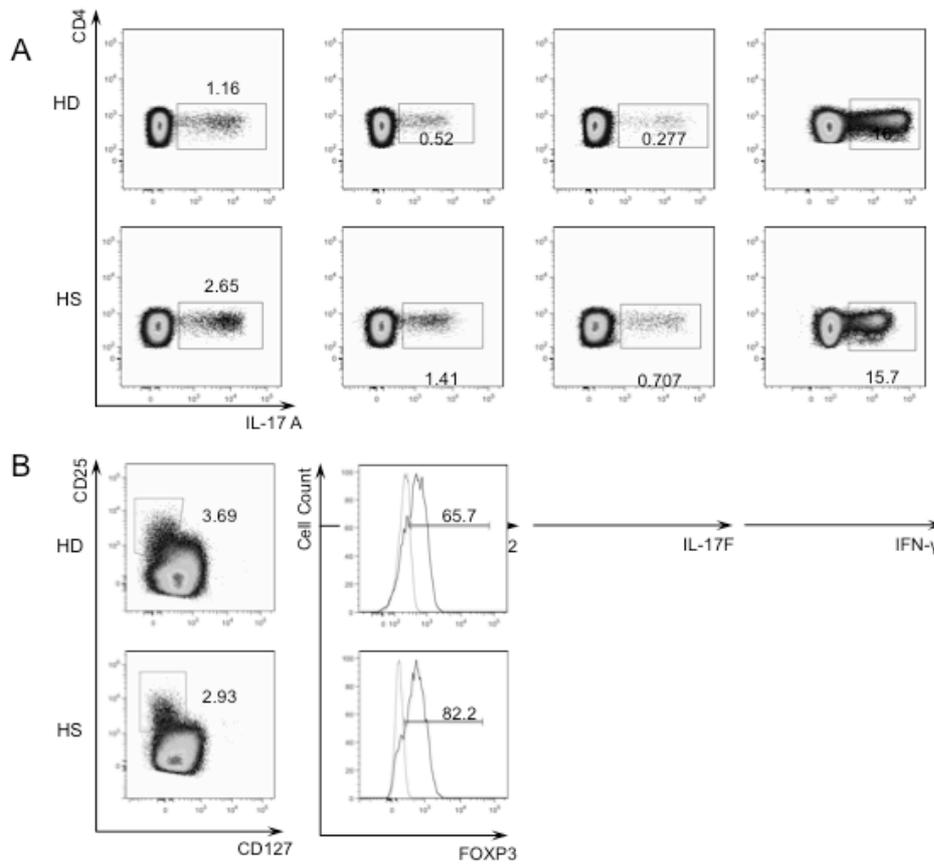


Figure S 1

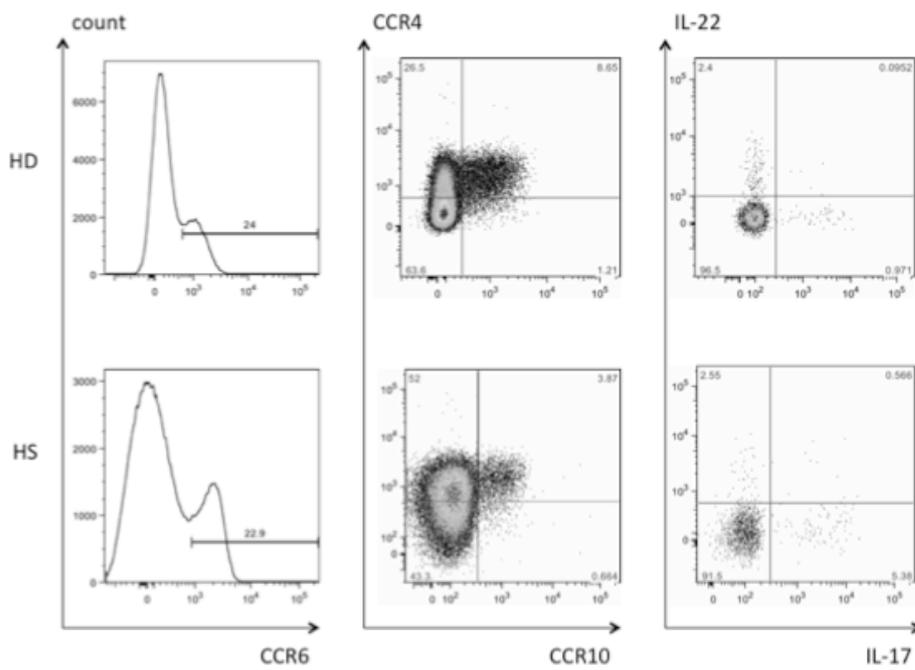


Figure S 2

## Figure legends

### **Figure 1: Expression of cytokines and transcription factors in skin of patients with hidradenitis suppurativa (HS).**

qRT-PCR analysis of mRNA expression of interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukin (IL)-10, -17 and -22 in the skin of HS patients (n=9) and healthy donors (HDs) (n=13). Each point represents one patient; horizontal lines are medians (A). Representative picture of immunohistochemical analysis of CD3, CD4 and IL-17 staining in skin biopsies from HS patients (B). Representative intracellular staining for  $\gamma$  IFN- $\gamma$ , IL-17A and IL-22 in CD4<sup>+</sup> T cells in lesional and non-lesional skin in one HS patient (C). Frequency of IL-17A<sup>+</sup>, IL-22<sup>+</sup> and IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> cells among CD4<sup>+</sup> T cells in non-lesional and lesional HS skin (n=3) (D). \* P<0.05 and \*\* P<0.005 and (Mann Whitney test). AU, arbitrary unit

### **Figure 2: Increased IL-17 and IL-22 production and secretion with stimulation in blood of HS patients.**

Frequency of IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>, IL-22<sup>+</sup>, IL-17A<sup>+</sup> and IL-17F<sup>+</sup> among CD4<sup>+</sup> T cells in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from HS patients (n=18) and HDs (n=13) (A). Frequency of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>FoxP3<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup> T regulatory cells in PBMCs from HS patients (n=15) and HDs (n=10) (B). Each point represents one patient, horizontal lines are medians. Secretion of IFN- $\gamma$ , IL-17, IL-22 and IL-10 by PBMCs from HS patients (n=13, black bar) and HDs (n=8, white bar) after enterotoxin B staphylococcal (SEB), *Candida albicans* (CA), *Staphylococcus aureus* (SA) or flagelline (FLA) stimulation (C). Data are mean $\pm$ SD for at least 8 patients per group. \* P<0.05 and \*\* P<0.005 (Mann Whitney test).

**Figure 3: Skin-homing CCR6<sup>+</sup>CCR10<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells show increased frequency of IL-17– or IL-22–secreting cells in HS patients.**

Expression of CCR4 and CCR6 and/or CCR10 on gated CD4<sup>+</sup> T cells in HS patients (n=8) and HDs (n=10) (A). Boolean gating analysis showing each possible combination of production of IL-22 and IL-17 by CD4<sup>+</sup> T-cell subsets sorted by expression of CCR6 and CCR10 (B). Proportion of IL-22 and IL-17 among CD4<sup>+</sup> T-cell subsets sorted by expression of CCR6 and CCR10 (C). Transwell assay of migration of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> toward CXCL12, CCL20 and CCL27 chemokines in HS patients (n=6) and HDs (n=5). Results are expressed as a chemotactic index (D). Each point represents one patient, horizontal lines are medians.

**Figure 4: Decreased CCL27 and AMPs mRNA expression in skin of HS patients.**

qRT-PCR analysis of mRNA expression of chemokines (CCL20 and CCL27) (A) and expression of AMPs (S100A7 and LL-37) (B) in skin from HDs (n=9), HS patients (n=8) and patients with inflammatory disease (ID) (n=4). \* P<0.05, \*\* P<0.005 and \*\*\* P<0.0005 (Mann Whitney test). Each point represents one patient, horizontal lines are medians.

**Figure 5: Deficient production of the host defense peptides *hBD-2* and *S100A7* in response to Toll-like receptor 2 (TLR-2) and Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein (NOD-2) stimulation in keratinocytes isolated from skin of HS patients.**

qRT-PCR analysis of fold change in mRNA expression of *hBD-1*, *2*, *3* and *S100A7* after 6-hr stimulation with TLR-2 (A) and NOD-2 (B) in keratinocytes from HDs (n=5) and HS patients (n=3). Data are mean±SD. \* p<0.05 (Mann Whitney test).

**Figure 6: Decrease in Th17/Th22 production of chemokine and cytokines on co-culture with outer root sheath (ORS) derived keratinocytes from HS patients.**

Anti-CD3/CD28 microbead-activated CD4<sup>+</sup> T cells were cultured with tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )–pre-stimulated ORS. Luminex assay of cytokine and chemokine concentrations in supernatants collected at day 5. Blood CD4<sup>+</sup> T cells were isolated from the same healthy donor (A). Secretion of cytokines (IL-17, IL-22, IFN- $\gamma$ , IL-10) and chemokines (CCL20, CCL17) in supernatants of CD4<sup>+</sup> T cells and ORS derived keratinocytes from HD co-cultures (n=4) compared to supernatants of CD4<sup>+</sup> T cells and ORS derived keratinocytes from HS co-cultures (n=3). (B). \* P<0.05 (Mann Whitney test). Each point represents one patient, horizontal lines are medians.

**Supplementary Figure 1**

Representative intracellular IFN- $\gamma$ , IL-17A, IL-17F and IL-22 staining in CD4<sup>+</sup> T cells (A). Representative gating strategy for T regulatory cells (Tregs) (B).

**Supplementary Figure 2**

Representative gating strategy for Boolean analysis.

## Tables

Table 1: Hidradenitis suppurativa patients (blood)

Patient	Sex	Age (y)	Smoking	BMI (Kg m <sup>-2</sup> )	Family history	Hurley stage
1	F	38	no	38	no	III
2	M	42	yes	20.3	no	III
3	M	30	no	35.8	yes	III
4	F	43	yes	26.7	no	I
5	F	32	no	33.5	yes	I
6	F	14	no	26	no	III
7	F	47	yes	24.8	no	III
8	F	43	yes	35.4	no	III
9	F	21	yes	24.8	no	I
10	F	47	no	24.6	no	I
11	F	27	yes	26	no	II
12	F	22	no	23.8	yes	III
13	M	50	yes	25.4	yes	II
14	F	23	no	20	yes	II
15	F	19	yes	34	no	II
16	F	44	yes	24.5	yes	II
17	M	22	yes	26	no	III
18	F	20	no	27.5	yes	II

F, female ; M, male ; y, years

Table 2: Hidradenitis suppurativa and inflammatory disease patients (skin)

Patient	Sex	Age (y)	Skin sample region	Hurley score
HS1	F	48	Inguinal	III
HS2	M	25	Axillary	II
HS3	F	20	Axillary	II
HS4	F	31	Anogenital	III
HS5	M	40	Neck	III
HS6	F	46	Anogenital	II
HS7	F	26	Axillary	II
HS8	F	36	Inguinal	II
HS9	F	29	Anogenital	II

Patient	Sex	Age (y)	Skin sample region	Disease
ID1	M	22	Abdominal	Psoriasis
ID2	F	35	Back	Erythroderma
ID3	M	76	Thigh	Erythroderma
ID4	F	46	Chest	Psoriasis

F, female ; M, male ; y, year

Supplementary table 1

Primer	FW	RV
IFN- $\gamma$	CTGTTACTGCCAGGACCCAT	TCCGCTACATCTGAATGACCTG
IL-17	TGGAATCTCCACCGCAATGAGGAC	AGCGTTGATGCAGCCCAAGTGG
IL-22	AGTTCTGAACAGCTGCACCCACTTC	GGGCATCACCTCCTCCAGGTAA
IL-10	AGTCTGAGAACAGCTGCACCCACTTC	GGGCATCACCTCCTCCAGGTAA
CD3	GGTACTGGCTACCCTTCTCTCGCA	CTTGTAATGTCTGAGAGCAGTGTCCAC
RoR $\gamma$ t	GTCCCGAGATGCTGTCAAGT	GACCACTGGTTCCTGTTGCT
Foxp3	TCCACAACATGCGACCCCTTTCA	ACAGCCCCCTTCTCGCTCTCCA
Tbet	CCAACAATGTGACCAGATG	ATCTCCCCAAGGAATTGAC
CCL20	CTAAATTTATTGTGGGCTTCA	TCCTTTGTGTGAAAGATGATAG
CCL27	CTACAGCAGCATTCTAC	AGTAGCTTGTCTGAGAGT
PS100A7	CTTAGTGCTGTGACAAA	ATCTTCTTATCCTCATTCTTGT
LL37	ATCAGTTGTGATAAGGATAACAA	TGCCAATCTTCTTTAGATT

**Study approval**

This study was approved by the ethics committee of Henri Mondor Hospital in agreement with the Declaration of Helsinki, and written informed consent was received from participants before inclusion in the study.

**Acknowledgments**

We thank the study volunteers for their willingness to participate in this research project. We are grateful to Nadine Martin in the pathology department, Henri Mondor Hospital, for technical assistance with immunohistochemistry, Aurélie Wiedemann from the immunomonitoring platform, VRI, for technical assistance with flow cytometry and the technicians from the immunology laboratory, Henri Mondor hospital with chemotaxis assay.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## References

1. Jemec GBE. Clinical practice. Hidradenitis suppurativa. *N. Engl. J. Med.* 2012 Jan 12;366(2):158–64.
2. Revuz JE, Canoui-Poitaine F, Wolkenstein P, Viallette C, Gabison G, Pouget F, et al. Prevalence and factors associated with hidradenitis suppurativa: results from two case-control studies. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2008 Oct;59(4):596–601.
3. Vinding GR, Miller IM, Zarchi K, Ibler KS, Ellervik C, Jemec GBE. The prevalence of inverse recurrent suppuration: a population-based study of possible hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol.* 2014 Apr;170(4):884–9.
4. Wolkenstein P, Loundou A, Barrau K, Auquier P, Revuz J. Quality of life impairment in hidradenitis suppurativa: a study of 61 cases. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2007 Apr;56(4):621–3.
5. Gener G, Canoui-Poitaine F, Revuz JE, Faye O, Poli F, Gabison G, et al. Combination therapy with clindamycin and rifampicin for hidradenitis suppurativa: a series of 116 consecutive patients. *Dermatology (Basel).* 2009;219(2):148–54.
6. Van der Zee HH, Boer J, Prens EP, Jemec GBE. The effect of combined treatment with oral clindamycin and oral rifampicin in patients with hidradenitis suppurativa. *Dermatology (Basel).* 2009;219(2):143–7.
7. Kimball AB, Kerdel F, Adams D, Mrowietz U, Gelfand JM, Gniadecki R, et al. Adalimumab for the treatment of moderate to severe Hidradenitis suppurativa: a parallel randomized trial. *Ann. Intern. Med.* 2012 Dec 18;157(12):846–55.
8. Grant A, Gonzalez T, Montgomery MO, Cardenas V, Kerdel FA. Infliximab therapy for patients with moderate to severe hidradenitis suppurativa: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2010 Feb;62(2):205–17.
9. Gao M, Wang P-G, Cui Y, Yang S, Zhang Y-H, Lin D, et al. Inversa Acne (Hidradenitis Suppurativa): A Case Report and Identification of the Locus at Chromosome 1p21.1–1q25.3. *Journal of Investigative Dermatology.* 2006;126(6):1302–6.
10. Wang B, Yang W, Wen W, Sun J, Su B, Liu B, et al.  $\gamma$ -Secretase Gene Mutations in Familial Acne Inversa. *Science.* 2010 Nov 19;330(6007):1065–1065.
11. Pink AE, Simpson MA, Brice GW, Smith CH, Desai N, Mortimer PS, et al. PSENEN and NCSTN mutations in familial hidradenitis suppurativa (Acne Inversa). *J. Invest. Dermatol.* 2011 Jul;131(7):1568–70.
12. Canoui-Poitaine F, Revuz JE, Wolkenstein P, Viallette C, Gabison G, Pouget F, et al. Clinical characteristics of a series of 302 French patients with hidradenitis suppurativa, with an analysis of factors associated with disease severity. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2009 Jul;61(1):51–7.
13. Melnik BC, Plewig G. Impaired Notch-MKP-1 signalling in hidradenitis suppurativa: an approach to pathogenesis by evidence from translational biology. *Exp. Dermatol.* 2013 Mar;22(3):172–7.
14. Nestle FO, Di Meglio P, Qin J-Z, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2009 Oct;9(10):679–91.

15. Di Meglio P, Perera GK, Nestle FO. The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity*. 2011 Dec 23;35(6):857–69.
16. Feldmeyer L, Werner S, French LE, Beer H-D. Interleukin-1, inflammasomes and the skin. *Eur. J. Cell Biol.* 2010 Sep;89(9):638–44.
17. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schröder JM. A peptide antibiotic from human skin. *Nature*. 1997 Jun 26;387(6636):861.
18. Kagan BL, Selsted ME, Ganz T, Lehrer RI. Antimicrobial defensin peptides form voltage-dependent ion-permeable channels in planar lipid bilayer membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1990 Jan;87(1):210–4.
19. Nakatsuji T, Gallo RL. Antimicrobial Peptides: Old Molecules with New Ideas. *Journal of Investigative Dermatology*. 2012;132:887–95.
20. Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu. Rev. Immunol.* 2007;25:821–52.
21. Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, Jarrossay D, Gattorno M, Lanzavecchia A, et al. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat. Immunol.* 2007 Jun;8(6):639–46.
22. Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH. Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003 Apr;14(2):155–74.
23. Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D. Border patrol: regulation of immunity, inflammation and tissue homeostasis at barrier surfaces by IL-22. *Nat. Immunol.* 2011 May;12(5):383–90.
24. Wolk K, Witte E, Wallace E, Döcke W-D, Kunz S, Asadullah K, et al. IL-22 regulates the expression of genes responsible for antimicrobial defense, cellular differentiation, and mobility in keratinocytes: a potential role in psoriasis. *Eur. J. Immunol.* 2006 May;36(5):1309–23.
25. Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells. *Nat. Immunol.* 2009 Aug;10(8):864–71.
26. Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat. Immunol.* 2009 Aug;10(8):857–63.
27. Morales J, Homey B, Vicari AP, Hudak S, Oldham E, Hedrick J, et al. CTACK, a skin-associated chemokine that preferentially attracts skin-homing memory T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999 Dec 7;96(25):14470–5.
28. Homey B, Alenius H, Müller A, Soto H, Bowman EP, Yuan W, et al. CCL27-CCR10 interactions regulate T cell-mediated skin inflammation. *Nat. Med.* 2002 Feb;8(2):157–65.
29. Liang SC, Tan X-Y, Luxenberg DP, Karim R, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M, et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *J. Exp. Med.* 2006 Oct 2;203(10):2271–9.

30. Sallusto F, Zielinski CE, Lanzavecchia A. Human Th17 subsets. *Eur. J. Immunol.* 2012 Sep;42(9):2215–20.
31. Mildner M, Prior M, Gschwandtner M, Schuster C, Tschachler E, Elbe-Bürger A. Epidermal CCL27 expression is regulated during skin development and keratinocyte differentiation. *J. Invest. Dermatol.* 2014 Mar;134(3):855–8.
32. Weaver CT, Elson CO, Fouser LA, Kolls JK. The Th17 pathway and inflammatory diseases of the intestines, lungs, and skin. *Annu Rev Pathol.* 2013 Jan 24;8:477–512.
33. Milner JD, Brenchley JM, Laurence A, Freeman AF, Hill BJ, Elias KM, et al. Impaired T(H)17 cell differentiation in subjects with autosomal dominant hyper-IgE syndrome. *Nature.* 2008 Apr 10;452(7188):773–6.
34. Puel A, Picard C, Cypowyj S, Lilic D, Abel L, Casanova J-L. Inborn errors of mucocutaneous immunity to *Candida albicans* in humans: a role for IL-17 cytokines? *Curr. Opin. Immunol.* 2010 Aug;22(4):467–74.
35. Ivanov II, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T, Karaoz U, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell.* 2009 Oct 30;139(3):485–98.
36. Sabat R, Ouyang W, Wolk K. Therapeutic opportunities of the IL-22-IL-22R1 system. *Nat Rev Drug Discov.* 2014 Jan;13(1):21–38.
37. Wolk K, Warszawska K, Hoeflich C, Witte E, Schneider-Burrus S, Witte K, et al. Deficiency of IL-22 contributes to a chronic inflammatory disease: pathogenetic mechanisms in acne inversa. *J. Immunol.* 2011 Jan 15;186(2):1228–39.
38. Dréno B, Khammari A, Brocard A, Moysé D, Blouin E, Guillet G, et al. Hidradenitis suppurativa: the role of deficient cutaneous innate immunity. *Arch Dermatol.* 2012 Feb;148(2):182–6.
39. Hofmann SC, Saborowski V, Lange S, Kern WV, Bruckner-Tuderman L, Rieg S. Expression of innate defense antimicrobial peptides in hidradenitis suppurativa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2012 Jun;66(6):966–74.
40. Yamasaki K, Kanada K, Macleod DT, Borkowski AW, Morizane S, Nakatsuji T, et al. TLR2 expression is increased in rosacea and stimulates enhanced serine protease production by keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 2011 Mar;131(3):688–97.
41. Lapins J, Jarstrand C, Emtestam L. Coagulase-negative staphylococci are the most common bacteria found in cultures from the deep portions of hidradenitis suppurativa lesions, as obtained by carbon dioxide laser surgery. *Br. J. Dermatol.* 1999 Jan;140(1):90–5.
42. Sartorius K, Killasli H, Oprica C, Sullivan A, Lapins J. Bacteriology of hidradenitis suppurativa exacerbations and deep tissue cultures obtained during carbon dioxide laser treatment. *Br. J. Dermatol.* 2012 Apr;166(4):879–83.
43. Vestergaard C, Johansen C, Christensen U, Just H, Hohwy T, Deleuran M. TARC augments TNF-alpha-induced CTACK production in keratinocytes. *Exp. Dermatol.* 2004 Sep;13(9):551–7.
44. Riis JL, Johansen C, Vestergaard C, Otkjaer K, Kragballe K, Iversen L. CCL27 expression is regulated by both p38 MAPK and IKK $\beta$  signalling pathways. *Cytokine.* 2011 Dec;56(3):699–707.

45. Karakawa M, Komine M, Hanakawa Y, Tsuda H, Sayama K, Tamaki K, et al. CCL27 is downregulated by interferon gamma via epidermal growth factor receptor in normal human epidermal keratinocytes. *J. Cell. Physiol.* 2014 Dec;229(12):1935–45.
46. Peters JH, Tjabringa GS, Fasse E, De Oliveira VL, Schalkwijk J, Koenen HJPM, et al. Co-culture of healthy human keratinocytes and T-cells promotes keratinocyte chemokine production and ROR $\gamma$ t-positive IL-17 producing T-cell populations. *J. Dermatol. Sci.* 2013 Jan;69(1):44–53.
47. Murano T, Okamoto R, Ito G, Nakata T, Hibiya S, Shimizu H, et al. Hes1 promotes the IL-22-mediated antimicrobial response by enhancing STAT3-dependent transcription in human intestinal epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014 Jan 17;443(3):840–6.
48. Hong SP, Kim MJ, Jung M-Y, Jeon H, Goo J, Ahn SK, et al. Biopositive effects of low-dose UVB on epidermis: coordinate upregulation of antimicrobial peptides and permeability barrier reinforcement. *J. Invest. Dermatol.* 2008 Dec;128(12):2880–7.
49. Campanelli AP, Roselino AM, Cavassani KA, Pereira MSF, Mortara RA, Brodskyn CI, et al. CD4+CD25+ T cells in skin lesions of patients with cutaneous leishmaniasis exhibit phenotypic and functional characteristics of natural regulatory T cells. *J. Infect. Dis.* 2006 May 1;193(9):1313–22.
50. Kök A, Hocqueloux L, Hocini H, Carrière M, Lefrou L, Guguin A, et al. Early initiation of combined antiretroviral therapy preserves immune function in the gut of HIV-infected patients. *Mucosal Immunol.* 2014 Jul 2;
51. Aasen T, Izpisua Belmonte JC. Isolation and cultivation of human keratinocytes from skin or plucked hair for the generation of induced pluripotent stem cells. *Nat Protoc.* 2010 Feb;5(2):371–82.

## Discussion

### **I- Un défaut de production de PAM à l'origine d'un cercle vicieux dans l'hidradénite suppurée.**

Dans cette étude, nous avons montré que les kératinocytes isolés à partir des prélèvements cutanés lésionnels de patients HS présentaient un défaut de production de PAM après une stimulation par des produits microbiens (Pam2CSK4 et MDP) par rapport à des kératinocytes de témoins sains. Une diminution de l'expression des transcrits de PAM et de CCL27 a été observée sur des prélèvements de peaux totales HS par rapport à des témoins sains. De plus, les kératinocytes isolés à partir de la gaine externe des cheveux de patients HS ne permettaient pas d'induire un phénotype Th17. L'étude in situ a révélé que l'inflammation cutanée au stade chronique était secondaire à la production massive d'IFN- $\gamma$ . Ainsi nos résultats suggèrent un cercle vicieux responsable de la perpétuation de l'inflammation chronique dans l'HS. En effet, le défaut de PAM permet la croissance d'une flore microbienne polymorphe responsable d'une inflammation. Les lymphocytes T exprimant CCR6<sup>+</sup> sont capables de migrer dans la peau inflammée mais les kératinocytes HS ne n'induisent pas la production d'IL-17 et IL-22 par les lymphocytes T cutanés résidents et recrutés. L'absence de stimulation des kératinocytes par ces 2 cytokines contribuerait au défaut de production de PAM. Malgré des fréquences augmentées des cellules T productrices d'IL-17 et IL-22 dans le sang, ces lymphocytes T ne sont pas suffisamment recrutés dans la peau, probablement par manque de chémotactisme secondaire au défaut de PAM et d'expression de CCL27.

Dans un premier temps, nous avons caractérisé l'infiltrat inflammatoire des lésions cutanées des patients HS. Nous avons observé que cette inflammation au stade chronique d'hidradénite

suppurée était secondaire à la production massive d'IFN- $\gamma$ . Bien qu'il y ait eu une augmentation significative de l'expression des transcrits de l'IL-17, l'étude en immunohistochimie a révélé que les cellules marquées IL-17<sup>+</sup> étaient des polynucléaires et des mastocytes. Le défaut relatif cutané d'IL-22 chez les patients HS avait déjà été reporté dans la littérature (272). Ce résultat est surprenant dans un contexte de dermatose inflammatoire. L'IL-22 est primordiale dans la limitation de la dissémination bactérienne. En effet, l'IL-22 est essentielle dans une réponse antimicrobienne cutanée en promouvant i) la synthèse de PAM, de concert avec l'IL-17, ii) la production de chémokines permettant le recrutement des polynucléaires neutrophiles (CXCL1, CXCL2, CXCL5 et CXCL8). Les cytokines produites par les lymphocytes Th17/Th22 permettent la réparation tissulaire cutanée en induisant la prolifération kératinocytaire. La mise au point de techniques d'isolation de lymphocytes T cutanés nous a permis d'étudier en ICS la production d'IFN- $\gamma$ , IL-17 et IL-22 au sein des cellules T CD4<sup>+</sup>, cellules T majoritaires dans l'infiltrat inflammatoire cutané HS. Nous avons ainsi confirmé les données en qRT-PCR: dans les peaux lésionnels d'HS, l'INF- $\gamma$  est la cytokine majoritaire qui induit l'inflammation.

Grâce aux techniques d'ICS et de luminex, nous avons par contre observé une augmentation de la production d'IL-17 et IL-22 au sein des T CD4<sup>+</sup> du sang. De même, les PBMC des patients HS sont bien capables de répondre à des stimulations microbiennes variées, en sécrétant de l'IFN- $\gamma$ , IL-17 et IL-22. L'absence d'augmentation de la production d'IFN- $\gamma$  d'une part en cytométrie de flux et l'augmentation de la sécrétion d'IFN- $\gamma$  d'autre part en luminex, s'explique par le fait que d'un côté l'analyse a porté sur les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et de l'autre sur la totalité des PBMC. L'IFN- $\gamma$  a ainsi pu être sécrété non seulement par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> mais également par les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> et les cellules NK. L'absence de cellules Th17/Th22 dans l'infiltrat cutané et l'augmentation de la fréquence des cellules T CD4<sup>+</sup> sécrétant de l'IL-17 et de l'IL-22 nous ont fait poser comme hypothèse une

anomalie de migration (« homing ») des cellules Th17 périphériques dans la peau. L'analyse en cytométrie de flux n'a pas montré de défaut d'expression des facteurs de « homing » CCR4, CCR6 et CCR10 au sein des cellules T CD4<sup>+</sup> chez les patients HS par rapport à des TS. De même, ces différents facteurs, sont bien exprimés au sein des cellules CD4<sup>+</sup> productrices d'IL-17 ou IL-22. L'étude fonctionnelle des cellules T CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>, c'est à dire potentiellement les cellules Th17 et Th22, par système transwell a permis de confirmer que ces récepteurs étaient bien fonctionnels, c'est à dire capables d'induire une migration de ces cellules selon le gradient de chémokines de synthèse CCL20 et CCL27.

Afin de comprendre cette dichotomie entre le sang et la peau, nous avons alors étudiés les facteurs chémoattractants synthétisés dans la peau. Un des résultats majeurs de notre étude est la diminution significative de l'expression des transcrit CCL27 dans la peau des patients HS par rapport aux TS, contrairement aux transcrits de CCL20. CCL27 est exclusivement sécrétée par les kératinocytes et permet d'attirer les lymphocytes T CCR10<sup>+</sup> dans la peau. Il a été reporté que le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  permettaient d'induire la production de CCL27 (66)(68)(69). Récemment, Karakawa et al ont montré que l'induction de CCL27 par le TNF- $\alpha$  était inhibée par l'IFN- $\gamma$  (67). L'augmentation de l'IFN- $\gamma$  dans les lésions cutanée des HS pourrait expliquer en partie la diminution significative de CCL27.

Les PAM sont les premiers agents pour contrôler la flore commensale que ce soit au niveau cutané ou intestinal. Les données de la littérature sur la production de PAM sont contradictoires et les conséquences de ce défaut relatif d'IL-22 nous a conduit à les étudier. Nous avons retrouvé un défaut de PAM dans les peaux d'HS par rapport à d'autres pathologies inflammatoires cutanées. Les cellules épithéliales sont la source majeure de PAM. Cependant, d'autres cellules immunitaires (mastocytes, neutrophiles) et les cellules des glandes sébacées et apocrines peuvent également produire des PAM au cours de situations

inflammatoires. Dans la peau, les kératinocytes sont la principale source de PAM. En particulier, les kératinocytes des follicules pileux produisent constitutionnellement les PAM cathelicidines et  $\beta$ -défensines, à un taux plus important que les kératinocytes de l'épiderme. L'obtention de lignées kératinocytaires à partir de prélèvements cutanés nous a permis d'étudier spécifiquement la production de PAM par les kératinocytes stimulés d'HS et de témoins. Les kératinocytes cutanés des témoins ont répondu à des stimulations par Pam2CSK4 et MDP en augmentant la production d'hBD2 et de PS100A7 et PS100A8, contrairement aux kératinocytes des patients HS. Compte tenu des fonctions cruciales des PAM dans le maintien de l'homéostasie des surfaces épithéliales, une dérégulation de la production et des fonctions des PAM peuvent être associés à des pathologies. Une production anormale de PAM a été décrite dans plusieurs dermatoses comme la dermatite atopique, la rosacée et le psoriasis. Chez les patients atteints de dermatite atopique, la production de PAM est insuffisante (40)(39). Cette inhibition de l'expression des PAM pourrait être secondaire à la production excessive des cytokines IL-4 et IL-13, produites par les lymphocytes Th2, qui induisent l'expression de SOCS1 (Suppressor of cytokine signalling 1) et SOCS3 via l'activation de STAT6. Cliniquement, ce défaut de PAM est corrélé à l'augmentation de la susceptibilité d'infections chez les patients atopiques. A l'inverse, les patients atteints de psoriasis ou de rosacée sont caractérisés par une réaction cutanée inflammatoire inappropriée, mais une absence de susceptibilité aux infections. Une augmentation de l'expression de cathelicidines a été montrée. Cette augmentation n'est pas inhérente aux gènes de ces PAM, mais liées aux systèmes de régulation de leur transcription ou de leur clivage (41). Dans la rosacée, l'expression anormale des TLR2 ou les polymorphismes des récepteurs à la vitamine D retrouvés, pourraient induire une production anormale de PAM. Dans le psoriasis, la production accrue d'IL-22 et d'IL-17, secondaire à l'infiltration cutanée des lymphocytes Th17/Th22, engendre une augmentation de la production de PAM. Le défaut de production

des PAM par les kératinocytes pourrait aboutir à la prolifération microbienne chronique observée chez les patients HS et modifier le microbiote cutané. De plus, les PAM sont des chémoattractants. Les défauts concomittants de PAM et de CCL27 dans la peau des patients HS ne permettraient pas le recrutement cutané suffisant des cellules T CCR10+. Inversement, la diminution d'expression cutanée d'IL-22 peut exacerber le défaut de production de PAM par les kératinocytes HS.

Nous avons ensuite étudié l'interaction entre les kératinocytes de patients HS et de témoins avec des lymphocytes T CD4+ issus du même donneur. Peters et al (2013) ont montré, chez des témoins, que la production des chémokines CCL2, CCL20 et CXCL10 était augmentée dans les surnageants de co-cultures des kératinocytes et T CD4+, et que les kératinocytes, en présence de cofacteurs, induisaient un phénotype IL-17+ CCR6+ ROR $\gamma$ T+ au sein des lymphocytes T CD4+ (115). Or, nous avons montré une diminution significative des concentrations d'IL-17, IL-22 et CCL20 dans les surnageants de co-culture des kératinocytes de patients HS avec des T CD4+ par rapport à des co-cultures de témoins avec les mêmes cellules T CD4+. Ces résultats suggèrent donc que les kératinocytes ne peuvent pas soutenir la production d'IL-17 et d'IL-22 par les lymphocytes T CD4+. L'inflammation cutanée dans l'HS est médiée par l'IFN- $\gamma$ .

L'étude de l'IL-22 et de CCL27 en immunohistochimie n'a pu à ce jour être prise en compte. En effet, les marquages IL-22 et CCL27 obtenus, malgré plusieurs tentatives avec des anticorps différents, des tampons, des dilutions et des temps d'incubation variables, n'étaient pas satisfaisant compte tenu du manque de spécificité. De même, le dosage de CCL27 en ELISA dans les surnageants des co-cultures kératinocytes et lymphocytes CD4+ n'était pas interprétable. Enfin, l'expression de CCL27 par les kératinocytes de patients HS et de témoins sains stimulés par différents PAMPs n'était pas détectée en qRT-PCR.

Ainsi, l'ensemble de ce travail suggère l'existence d'un cercle vicieux dans l'hydradénite

suppuré. Le défaut de production de PAM par les kératinocytes aboutit à une prolifération microbienne. Cette « surcharge » microbienne induit une inflammation dans des zones riches en glandes apocrines. Les kératinocytes ne peuvent induire la production d'IL-17 et IL-22 par les lymphocytes mémoires résidents ou recrutés au site de l'inflammation. La faible production d'IL-17 et d'IL-22 exacerbe le défaut de production de PAM. De plus, le défaut de PAM et de CCL27 ne permet pas le recrutement adapté et suffisant de cellules T CD4+IL17+ et T CD4+IL22+ fonctionnelles, dont la fréquence est augmentée en périphérie. Le défaut de PAM serait à l'origine de la pérennisation de l'inflammation chronique dans l'HS. La figure 14 schématise ce cercle vicieux.

### **Résultats complémentaires**

Des données complémentaires obtenues très récemment au laboratoire viennent renforcer notre hypothèse sur le cercle vicieux et le défaut de production de PAM. Ainsi, le transcriptome sur peaux totales HS comparé à des peaux saines a retrouvé une signature IFN de type 1.

Par ailleurs, nous avons mis au point l'isolement des kératinocytes à partir de la gaine externe des cheveux. Les kératinocytes isolés à partir de la gaine externe des cheveux des patients HS et des témoins, nous a permis de comparer i) les réponses des kératinocytes en dehors du contexte inflammatoire des lésions cutanées, ii) les réponses de kératinocytes isolés d'une structure comparable (et non prélèvements axillaire versus abdominal par exemple), iii) les réponses des kératinocytes issus du follicule pileux, structure atteinte lors de l'HS. De plus, le développement de cette technique difficile et longue a néanmoins permis l'obtention d'un plus grand nombre de lignées kératinocytaires, puisque les prélèvements sont plus faciles d'accès. Les kératinocytes de la gaine externe de cheveux issus de patients HS présentaient un défaut de production de PAM après stimulation microbienne, similaire à celui observé à partir

de kératinocytes isolés de la peau. Ces résultats sont donc en faveur d'un défaut intrinsèque des kératinocytes des patients HS.

D'autre part, des données que nous venons d'obtenir et qui restent à confirmer, montreraient qu'à l'état basal, les kératinocytes de la gaine externe des cheveux issus des patients HS produiraient plus de RANTES (ou CCL5) et IP-10, deux chemokines impliqués dans le recrutement de lymphocytes T. Fait intéressant, la chemokine IP-10 ou CXCL10 est une chemokine IFN dépendante. En effet, la production d'IP-10 par les cellules T CD4+, CD8+ et NK est dépendante de l'IFN- $\gamma$ . D'autres cellules peuvent produire IP-10 sous l'influence de l'IFN- $\gamma$ : kératinocytes, cellules endothéliales, fibroblastes, pré-adipocytes. D'autre part, IP-10 oriente vers une réponse Th1. La présence d'IP-10 signe une réponse Th1/IFN- $\gamma$  et est impliquée dans de nombreuses pathologies auto-immunes (lupus systémique, polyarthrite rhumatoïde, diabète de type 1, syndrome de Gougerot Sjögren). Dans les tissus, le recrutement de lymphocytes Th1 est responsable d'une augmentation du taux d'IFN- $\gamma$  et de TNF- $\alpha$ , cytokines qui stimulent la production d'IP-10, créant ainsi une boucle d'amplification inflammatoire pouvant être à l'origine d'un processus auto-inflammatoire (320).

CCL5 (ou RANTES) est produite par les cellules T, plaquettes, macrophages, éosinophiles, cellules épithéliales et endothéliales. Elle permet le recrutement de nombreuses cellules inflammatoires : cellules T, cellules dendritiques, cellules NK, mastocytes, basophiles et éosinophiles. La grande variété des cellules sécrétant cette chémokine implique son rôle dans de nombreuses voies physiologiques. CCL5 peut se lier à de nombreux récepteurs dont CCR1, CCR3 et CCR5. CCL5 permet également d'orienter une réponse Th1 (321).

Ces résultats suggèrent qu'à un stade infra-clinique la réponse inflammatoire s'oriente vers une réponse Th1 i) les pDCs sont activés dans la peau HS et produisent des IFN de type 1 et des cytokines IL-6 et TNF- $\alpha$ , ii) les kératinocytes HS produisent de l'IP-10 et CCL5. Le défaut intrinsèque de production de PAM par les kératinocytes ne permet pas une clairance

des agents microbiens et contribue au maintien de l'inflammation.

Ainsi, l'ensemble de ce travail suggère l'existence d'un cercle vicieux dans l'hydradénite suppuré. Les kératinocytes des patients HS produisent deux chémokines, IP-10 et CCL5 qui recrutent des lymphocytes T dans des zones riches en glandes apocrines au stade infra-clinique. De plus, le défaut de production de PAM par les kératinocytes aboutit à une prolifération microbienne. Cette « surcharge » microbienne exacerbe l'inflammation dans des zones riches en glandes apocrines où les lymphocytes T ont été recrutés. Les kératinocytes ne peuvent induire la production d'IL-17 et IL-22 par les lymphocytes mémoires résidents ou recrutés. La faible production d'IL-17 et d'IL-22 exacerbe le défaut de production de PAM. De plus, le défaut de PAM et de CCL27 ne permet pas le recrutement adapté et suffisant de cellules T CD4+IL17+ et T CD4+IL22+ fonctionnelles, dont la fréquence est augmentée en périphérie. Le défaut intrinsèque des kératinocytes serait ainsi à l'origine de la pérennisation de l'inflammation chronique médiée par IFN- $\gamma$  dans l'HS. La figure 19 schématise ce cercle vicieux.

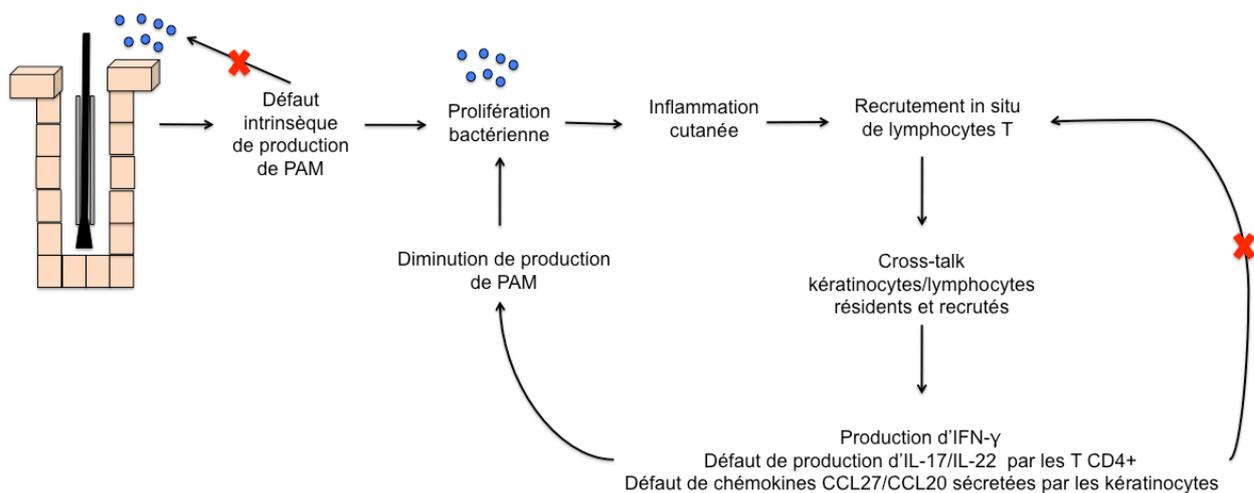


Figure 19 : cercle vicieux dans l'HS

## II- Description de nouvelles mutations de la $\gamma$ -sécrétase : implication de la voie NOTCH dans la physiopathologie de l'hidradénite suppurée ? Introduction du concept de syndrome de Verneuil

Il existe une grande hétérogénéité clinique dans l'HS. Une étude transversale récente sur 618 patients HS suggère l'existence de 3 phénotypes distincts de la maladie selon une analyse des classes latentes (LC1, LC2, LC3) (205). De plus, l'HS peut être associée à d'autres maladies inflammatoires (maladie de Crohn, spondylarthropathies, PASH et PAPASH syndrome, maladies folliculaires). Cette hétérogénéité clinique et les diverses associations décrites, plaident en faveur d'un « syndrome » de Verneuil et souligne l'existence de plusieurs phénotypes d'HS pouvant être le reflet de processus physiopathologiques différents dans le développement de la maladie.

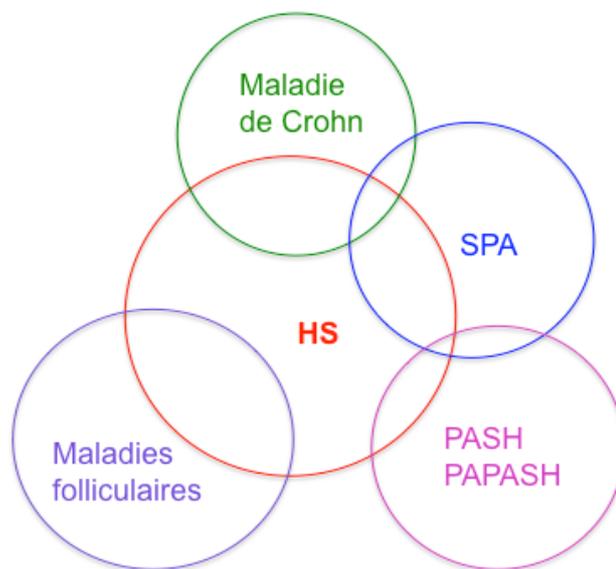


Figure 20 : syndrome Verneuil

## 1- Facteurs génétiques dans l'HS

En 2013, Ingram et al, ont appliqué la classification de F. Canoui Poitrine aux cas de patients HS publiés ayant une mutation d'une des sous-unités de la  $\gamma$ -sécrétase (322). Les cas, sporadiques ou familiaux, étaient originaires de Chine, Japon, France, Angleterre. Tous les patients ayant une mutation des gènes de la nicastrine ou de PSENEN ou PSEN1 ont été classés rétrospectivement en phénotype folliculaire LC2. Dans une cohorte de 20 patients britanniques séquencés, aucun patient ne présentait une mutation d'une des sous-unité de la  $\gamma$ -sécrétase. 17/20 patients avaient un phénotype LC1 « classique » et 3 un phénotype atypique (323). Ces articles soulèvent l'existence d'une corrélation potentielle entre phénotype et génotype.

Grâce à une collaboration avec Jean-Laurent Casanova (Rockefeller University, New York), l'exome sur sang total a été réalisé sur notre cohorte de 82 patients HS. 72 prélèvements étaient disponibles pour cette étude génétique. Des mutations ou de rares polymorphismes des gènes codant pour une des sous unités de la  $\gamma$ -sécrétase étaient présentes chez 10/72 patients HS : mutations de la nicastrine : 8/10, mutation de l'APH1B : 2/10. Ces variants, majoritairement caractérisés par l'apparition prématurée d'un codon stop, entraînent une réduction de 50% de l'expression des gènes NCSTN ou APH1B. Ces mutations sont retrouvées dans moins de 0,01% dans la population générale. Dans notre cohorte, la prévalence des mutations de la  $\gamma$ -sécrétase peut ainsi être estimée à 14%. Parmi les 10 patients mutés, il y avait 7 femmes et 3 hommes. L'âge moyen était de 35,2 ans. L'IMC était de 24,3 Kg/m<sup>2</sup>. 6/10 patients étaient fumeur. 5/10 patients présentaient des antécédents familiaux. Dans notre cohorte de 82 patients, 3 familles ont été incluses. Une des familles composée du père et de ses deux filles présentait une mutation de l'exon 8 de la nicastrine. Une femme d'une 2<sup>ème</sup> famille présentait une mutation de la nicastrine alors que ni sa sœur, et sa mère,

incluses dans la cohorte, ne présentaient de mutation. Rétrospectivement, les patients ont été classés selon les phénotypes décrits par Canoui-Poitrine : 4/10 présentaient un phénotype LC2 (dont la famille) et 6/10 présentaient un phénotype LC3. Il est intéressant de noter qu'aucun patient muté pour la  $\gamma$ -sécrétase, publié ou rapporté dans notre étude, ne présentait un phénotype classique LC1. Cependant tous les patients publiés classés LC2 ne présentaient pas de mutation de la  $\gamma$ -sécrétase. Les phénotypes ont cependant été attribués de façon rétrospective.

## 2- Notch : lien entre la génétique et les données immunologiques

La découverte des mutations des gènes de la  $\gamma$ -sécrétase et les données immunologiques publiées ont conduit à développer un nouveau modèle physiopathologique uniciste impliquant la voie NOTCH (281). Cette voie permet de faire le lien entre les mutations de la  $\gamma$ -sécrétase, les résultats immunologiques et les lésions « folliculaires ».

L'augmentation de l'expression de Hes1, gène cible de NOTCH, induit la transcription d'IL-22 dans les cellules épithéliales intestinales chez l'homme, et permet ainsi l'augmentation de la production de PAM (315).

De plus, le développement postnatal du follicule pileux requiert un signal NOTCH intact dans le buldge et dans les cellules de la gaine externe du follicule pileux (ORS ou Outer Root Sheath). Dans le buldge, NOTCH contrôle le passage des cellules souches ou de leur progéniteurs en cellules différenciées (268,278).

Les souris déficientes en  $\gamma$ -sécrétase ont un phénotype similaire à celui des souris déficientes en NOTCH 1 ou 2. Ces souris présentent une atrophie folliculaire, des kystes épidermiques, une hyperplasie épidermique et une absence de glandes sébacées.

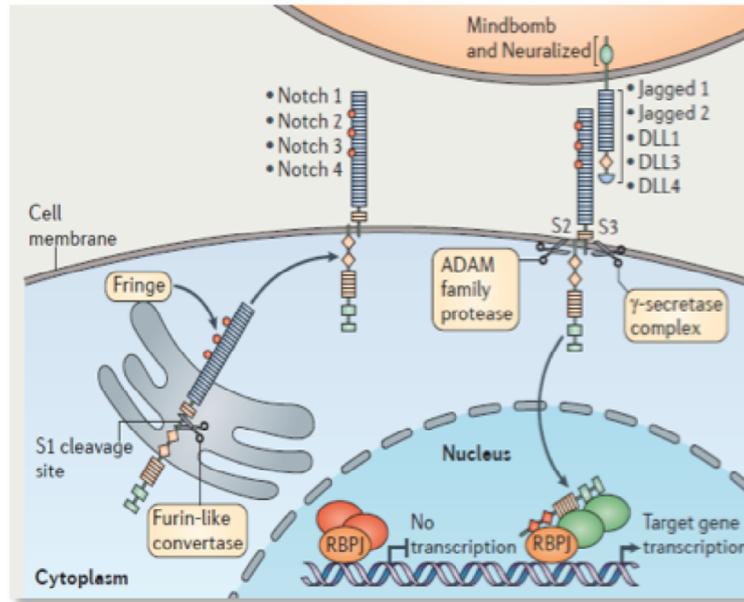


Figure 21 : Clivage de Notch par la  $\gamma$ -sécrétase, adapté de Radtke et al

Dix HS chez des patients trisomique 21 ont été reportées dans la littérature. La trisomie 21 affecte un nouveau-né sur 1000 naissances. La  $\gamma$ -sécrétase permet le clivage de la protéine APP, protéine précurseur de l'amyloïde. Plusieurs peptides sont alors sécrétés, dont le peptide  $\beta$ -amyloïde impliqué dans la formation de plaques amyloïdes cérébrales dans la maladie d'Alzheimer. Les patients trisomiques 21 peuvent développer une maladie d'Alzheimer dès la 4<sup>ème</sup> décade. Le gène codant pour l'APP est localisé sur le chromosome 21, et son expression pourrait être augmentée dans la trisomie 21. Il a été montré que l'APP et le récepteur NOTCH sont des substrats de la  $\gamma$ -sécrétase rentrant en compétition (324). Blok et al ont émis l'hypothèse que, chez les patients trisomiques 21, les taux élevés d'APP détournent la  $\gamma$ -sécrétase du clivage de NOTCH (figure 17) (325). Un défaut de la voie de signalisation NOTCH pourrait ainsi entraîner une HS.

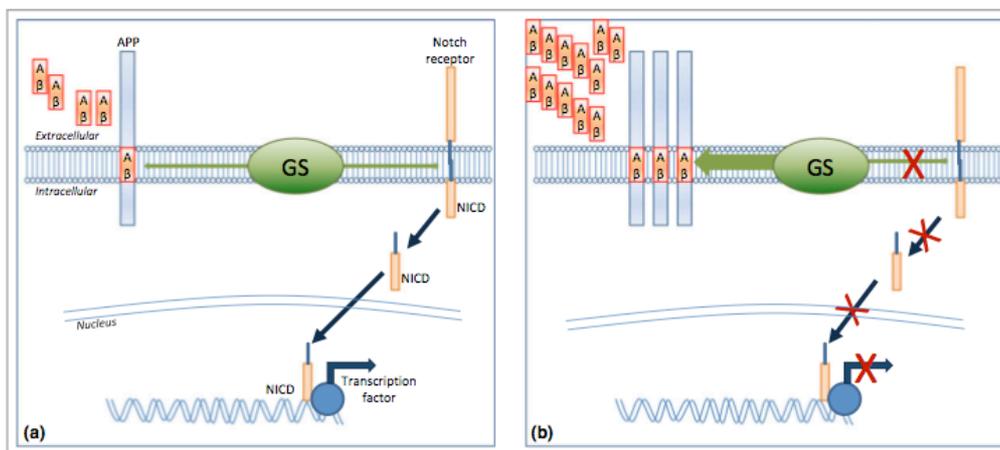


Figure 22 : Déviation de la  $\gamma$ -sécrétase dans la trisomie 21, adapté de Blok et al(325)

Enfin, des effets indésirables cutanés (éruption cutanée aspécifique, augmentation du risque de cancers cutanés, modifications de la couleur des cheveux/poils) ont été rapportés dans l'essai randomisé contrôlé en double aveugle dans la maladie d'Alzheimer semagacestat, inhibiteur de la  $\gamma$ -sécrétase, versus placebo, dans le bras semagacestat (326). Cet essai de phase 3 a été arrêté précocement compte tenu d'effets indésirables graves (infections, cancers cutanés). La maladie d'Alzheimer est caractérisée par la présence de plaques  $\beta$  amyloïdes cérébrales, résultants du clivage de précurseur amyloïde par les  $\beta$  et  $\gamma$ -sécrétases. Il n'a pas été décrit de lésions évocatrices d'HS, mais les modifications de la coloration des cheveux/poils est en faveur d'un rôle de la  $\gamma$ -sécrétase au niveau du follicule pileux.

Les patients HS ayant une mutation de la voie  $\gamma$ -sécrétase/NOTCH ne comportent pas d'autres anomalies graves immunologiques ou tissulaires. Or la voie NOTCH est impliquée dans le développement et la différenciation des cellules cérébrales, pulmonaires, cardiaques, vasculaires, intestinales, osseuses et sanguines. Le fait que les mutations de cette voie n'aient

une expression que cutanée peut s'interpréter par une sensibilité accrue des kératinocytes à l'insuffisance de NOTCH, et par l'absence de voies compensatrices dans la peau

Il a ainsi été supputé le rôle de NOTCH dans la physiopathologie dans l'HS, sans preuve scientifique à ce jour. L'altération du signal pourrait avoir pour conséquences: i) une hyperkératose du follicule pileux, formation de kystes épidermiques, différenciation altérée des glandes apocrines, ii) une diminution de la différenciation des T CD4+ en Th22 (280). En effet, les molécules Notch ont été impliquées dans l'activation de ligands endogènes d'AhR qui favorisent la différenciation en Th22 (327).

Pour déterminer si un signal Notch était impliqué dans la synthèse d'IL-22 par les lymphocytes, nous avons regardé la fréquence des cellules T qui produisent IL-22 et IL-17 dans le sang de patients HS présentant ou non une mutation de la  $\gamma$ -sécrétase. Sur les 18 patients inclus dans l'étude phénotypique, 11 patients étaient classés rétrospectivement LC1, 6 classes LC2 et 1 classé LC3. 1/11 patients LC1 présentait une mutation de la protéine APP ; 4/6 patients LC2 présentaient une mutation de la  $\gamma$ -sécrétase et 2/6 une mutation de NOTCH ; le patient LC3 présentait une mutation de la  $\gamma$ -sécrétase. Les effectifs des patients HS non mutés (n=14) et mutés pour la  $\gamma$ -sécrétase (n=10) ont été augmentés dans l'étude phénotypique. Nous avons observé une diminution significative des fréquences des cellules IL-17+ et IL-22+ au sein des CD4+ chez les patients HS mutés pour la  $\gamma$ -sécrétase par rapport aux patients HS non mutés pour la  $\gamma$ -sécrétase (figure. Par contre la fréquence des cellules IFN- $\gamma$  au sein des T CD4+ était inchangée. Or, nous avons montré que, chez les patients HS, sans recherche préalable de mutation de la  $\gamma$ -sécrétase, les fréquences des cellules T CD4+IL-17+ et T CD4+IL-22+ étaient significativement augmentées dans le sang, par rapport à des témoins sains.

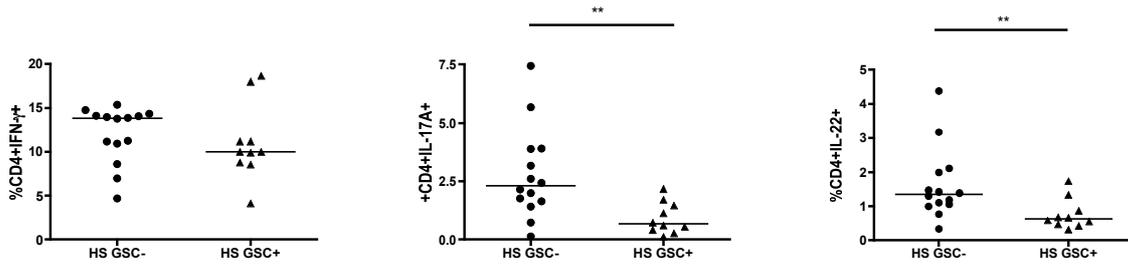


Figure 23 : Pourcentage de la production d'IFN- $\gamma$ , IL-17, IL-22 au sein des cellules TCD4+ dans le sang des patients HS mutés et non mutés pour la  $\gamma$ -sécrétase

Ces résultats suggèrent qu'au sein du « syndrome » maladie de Verneuil, les processus physiologiques peuvent différer. Ainsi différentes voies physiopathologiques peuvent être impliquées et aboutir à un défaut de production de PAM et un défaut cutané de lymphocytes T producteurs d'IL-17/IL-22. Des études in situ seraient nécessaires chez les patients HS présentant une mutation de la  $\gamma$ -sécrétase. La diminution des cellules T productrices d'IL-17/IL-22 dans le sang laisse présumer une diminution de ces cellules dans la peau ou au contraire un recrutement tissulaire plus important.

Nous avons mis en évidence un défaut de production de PAM par les kératinocytes des patients HS. Nous avons émis l'hypothèse que la voie NOTCH pourrait être impliquée dans la production de PAM et qu'un signal NOTCH pourrait rétablir la synthèse de PAMs chez les patients HS.

Le Dr Michele Boniotta a testé cette hypothèse. Les cellules ORS de 3 patients HS ont été traitées pendant 18 heures avec ou sans ligand purifié de NOTCH Delta Like. Ce ligand est fusionné avec la région Fc d'un anticorps IgG. L'IgG a donc servi de contrôle à DLL4. Pour inhiber la voie de signalisation NOTCH, la Gamma Secretase Inhibitor (GSI) a été utilisée à

une concentration d'1  $\mu$ M. Le contrôle de ce composé est le DMSO. Après 18h de traitement, les cellules ont été stimulées avec 100 ng/mL de PAM2CSK4 pendant 6h (A, B) ou par 10  $\mu$ g/mL de MDP pendant 6h (C, D). L'expression de l'ARNm des gènes étudiés a été mesurée par PCR quantitative et normalisée par rapport au gène de référence *OAZ1*. En présence de PAM2CSK4, les cellules ORS traitées avec le ligand de NOTCH expriment 3 fois plus d'ARNm de Bêta-défensine 2 par rapport aux cellules traitées avec l'IgG ( $p= 0.0425$ ) (Figure 18). En présence de MDP, le signal NOTCH triple également la production d'ARNm de Bêta-défensine 2 ( $p= 0.0408$ ). Par ailleurs, en présence de l'inhibiteur de la  $\gamma$ -sécrétase, on observe une diminution de la production d'ARNm de Bêta-défensine 2 avec PAM2CSK4 ou MDP. Cette différence est significative pour la stimulation avec PAM2CSK4 ( $p= 0.0187$ ).

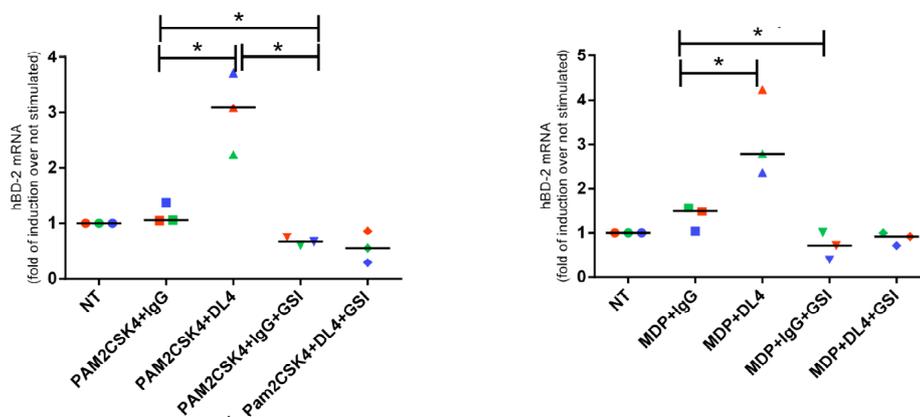


Figure 24 : Expression du gène codant pour la Bêta-défensine 2 chez les cellules ORS de patients HS ( $n=3$ ) après stimulation par le ligand de NOTCH DLL4. L'expression relative a été mesurée par rapport à l'expression des gènes d'intérêts pour des échantillons non traités. Les médianes sont représentées.

Ces résultats suggèrent donc que NOTCH est impliqué dans l'expression de Bêta-défensine 2 par les kératinocytes chez les patients HS. Augmenter le signal NOTCH pourrait limiter le déficit de production de PAM et constituer ainsi un nouvel axe thérapeutique. Ces données sont à confirmer.

L'ensemble de ces données suggère l'existence de phénotypes distincts, avec des voies physiopathologiques différentes, aboutissant possiblement à une conséquence commune : un défaut de PAM. Le concept de « syndrome » de Verneuil peut ainsi se discuter. La compréhension de ces différentes voies pourrait aboutir à des traitements spécifiques.

Les antibiotiques restent en effet les traitements les plus efficaces à ce jour dans les formes classiques d'HS avec des nodules inflammatoires et des écoulements purulents. Au contraire, les traitements par rétinoïdes (acitrétine, alitrétinoïne) semblent améliorer préférentiellement les patients de phénotype folliculaire LC2.

### **III- Etude du rôle des cellules dendritiques cutanées dans l'HS : implication dans le défaut des cellules T CD4+IL-17+ ?**

L'homéostasie cutanée est assurée par un équilibre dynamique entre la réponse inflammatoire et la réponse régulatrice vis à vis de la flore, dans lequel les cellules dendritiques jouent un rôle majeur. Outre les kératinocytes, les DC ont un rôle essentiel dans la différenciation des cellules T naïves. Différents sous-types de DC ont été identifiés et jouent à la fois des rôles communs et spécifiques dans la réponse immunitaires. Dans la peau, les DC présentes sont les cellules de Langerhans (LCs) (CD1a<sup>hi</sup>CD14<sup>-</sup>HLA-DR<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>CD207<sup>+</sup>) dans l'épiderme, et les cellules dermiques interstitielles (DCi) dans le derme (avec 2 sous-types ; HLA-DR<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>DCi et les HLA-DR<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>DCi) (328). Dans la peau inflammée, sont retrouvées de plus les DC plasmacytoides (50). La

différentiation des cellules T naïves en Th17 ne nécessitent pas les mêmes signaux délivrés par la DC en fonction de son origine tissulaire. Les sécrétions d'IL-6 et IL-1 $\beta$  par les DC de la peau sont nécessaires pour la différenciation des Th17. En revanche, la sécrétion d'IL-1 $\beta$  par les DC isolées de la rate est suffisante pour cette différenciation (4).

70% des DC dermiques expriment le récepteur DC-asialoglycoprotein receptor (DC-ASGPR), récepteur « scavenger » comportant un motif semblable à celui présent sur le récepteur tyrosine (329). La fonction biologique de DC-ASGPR n'est pas clairement établie. Cependant, une étude récente a montré que les DC, via l'activation de DC-ASGPR, permettent la génération de cellules T régulatrices, sécrétrices d'IL-10 (330). De plus, il a été montré récemment, que les DCi, et de façon plus importante les LCs, induisaient la génération de cellules productrices d'IL-22 seule, sans IL-17 (294). Ex vivo, les LCs induisent la différenciation préférentielle des Th2 et Th22 (44). Seneschal et al, ont montré en 2012, qu'en l'absence de stimulation antigénique, les LCs induisaient la prolifération de cellules Treg (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>FoxP3<sup>+</sup>) mémoires résidentes dans des co-cultures de LCs cutanées (HLADR<sup>+</sup> CD207<sup>+</sup>) et de lymphocytes T cutanés (CD45RO<sup>+</sup>CLA<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CD62L<sup>-</sup>) isolés du même donneur sain (45). Par contre, en présence de *candida albicans*, les LCs induisent et activent la prolifération des cellules T effectrices mémoires et limitent l'activation des Treg. L'analyse des DCi et LCs de patients HS et de témoins sains semble donc une piste intéressante pour expliquer l'absence de cellules Th17 et Th22 et la présence de Treg dans les lésions des patients HS.

Un protocole d'extraction des cellules dendritiques à partir de prélèvements cutanés frais a été mis au point dans le laboratoire. Après dégraissage et découpage en filets de 1 à 2 mm d'épaisseur, les morceaux de peau sont incubés dans de la dispase (1mg/ml) à 4°C la nuit. L'épiderme est alors détaché du derme. Les explants cutanés sont alors mis en culture avec du

GM-CSF dans du milieu R10 pendant 10 jours à 37°C. A J10, les surnageants de culture sont récupérés. Les cellules ayant migrées à partir des prélèvements cutanés sont alors marquées avant d'être triées.

Le panel utilisé a été le suivant : CD14-peCy7, Langerin-PE, CD11c-PeCy5, HLADR APC-H7.

La figure 25 est un exemple représentatif du tri des cellules cutanées récupérées dans le surnageant de culture de morceaux cutanés de lésions HS. L'isolement des DC cutanées (DCi et LC) a été réalisé chez un patient HS (en peau lésionnelle) et deux témoins sains (plasties abdominales).

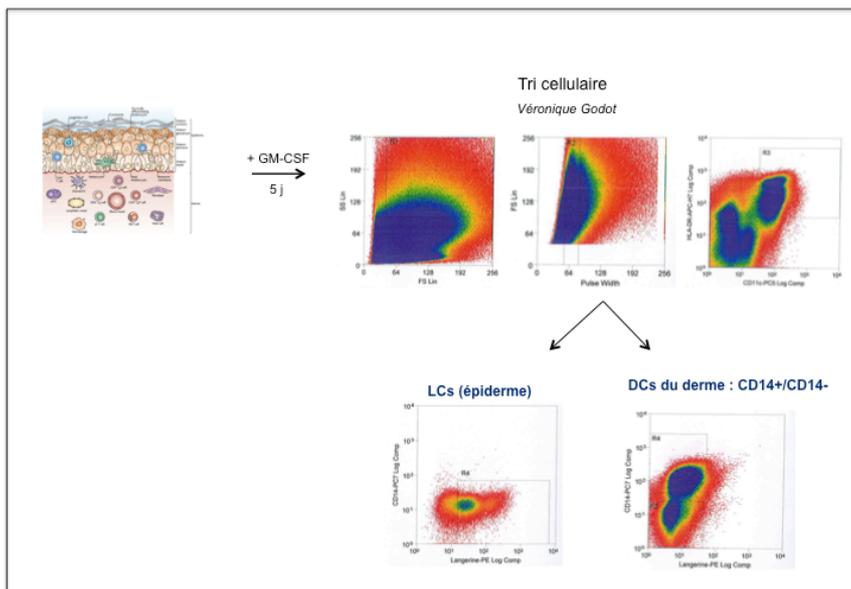


Figure 25 : Isolation des cellules dendritiques (DC) cutanées : gating stratégie

Trois types de cellules dendritiques ont ainsi été triées : i) les cellules de Langerhans (CD11c+ HLADR+ Langerine+), ii) les DC dermiques CD14+ (CD11c+ HLADR+ CD14+), iii) les DC dermiques CD14- (CD11c+ HLADR+ CD14-). Les fréquences des DC totales (CD11c+ HLADR+) de l'épiderme et du derme, des LCs, des DC dermiques CD14+ et

CD14- sont reportées dans le tableau 3 pour les 3 patients. Les fréquences correspondent aux pourcentages des DC sélectionnées sur la base de différents marqueurs, parmi le nombre total de cellules de l'épiderme ou du derme.

	Témoin sain 1	Témoin sain 2	HS
DC totales de l'épiderme : CD11c <sup>+</sup> HLADR <sup>+</sup>	3,42%	6,47%	1,73%
DC totales du derme : CD11c <sup>+</sup> HLADR <sup>+</sup>	3,67%	5,98%	4,41%
LC : CD11c <sup>+</sup> HLADR <sup>+</sup> Langerine <sup>+</sup>	2,33%	5,96%	1,28%
DC dermiques CD14 <sup>+</sup> : CD11c <sup>+</sup> HLADR <sup>+</sup> CD14 <sup>+</sup>	0,55%	0,40%	2,72%
DC dermiques CD14 <sup>-</sup> : CD11c <sup>+</sup> HLADR <sup>+</sup> CD14 <sup>-</sup>	1,78%	5,17%	1,28%

*Tableau 3 : pourcentage des DC parmi le nombre total de cellules épidermiques ou dermiques*

Les fréquences des DC totales de l'épiderme et des LCs sont diminuées chez le patient HS par rapport aux 2 témoins sains. Au contraire, la fréquence des DC dermiques CD14<sup>+</sup> est augmentée chez le patient HS par rapport aux témoins sains. Or les DC dermiques CD14<sup>+</sup> migrent moins facilement de l'explant en culture que les DC dermiques CD14<sup>-</sup>. L'augmentation du pourcentage de DC dermiques CD14<sup>+</sup> chez le patient HS pourrait s'expliquer par une augmentation réelle du nombre de ces cellules dans le derme ou une meilleure émigration de l'explant. L'isolation des DC dermiques et LC nous a permis de réaliser des co-cultures allogéniques entre les DC provenant de témoins sain ou de patient HS ( $10^4$  LC ou  $10^4$  DC CD14<sup>-</sup> ou  $2 \cdot 10^3$  DC CD14<sup>+</sup>) et  $10^5$  cellules T CD4<sup>+</sup> marquées au Cell Trace violet (UV) de donneurs sains de l'EFS, afin d'étudier la différenciation en Th17/Th22 induite par les DC (figure 20). Après 5 jours de co-cultures, les productions d'IL-17, IL-22 et IFN- $\gamma$  au sein des cellules T CD4<sup>+</sup> ayant proliférées (UV-) étaient étudiées en ICS par le panel CD3 AF 700, vivid amcyan, CD4 PCF 594, cell traceur UV PB, IFN- $\gamma$  PE-Cy7, IL-17

FITC et IL-22 PE. Des cellules T CD4+ stimulées par des billes anti-CD3/CD28 servaient de témoin positif. L'étude en ICS a été réalisée chez un patient HS et deux témoins sains.

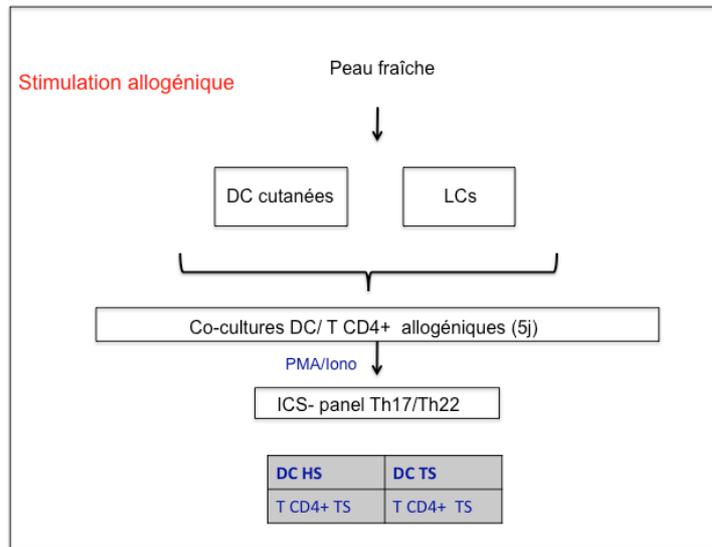
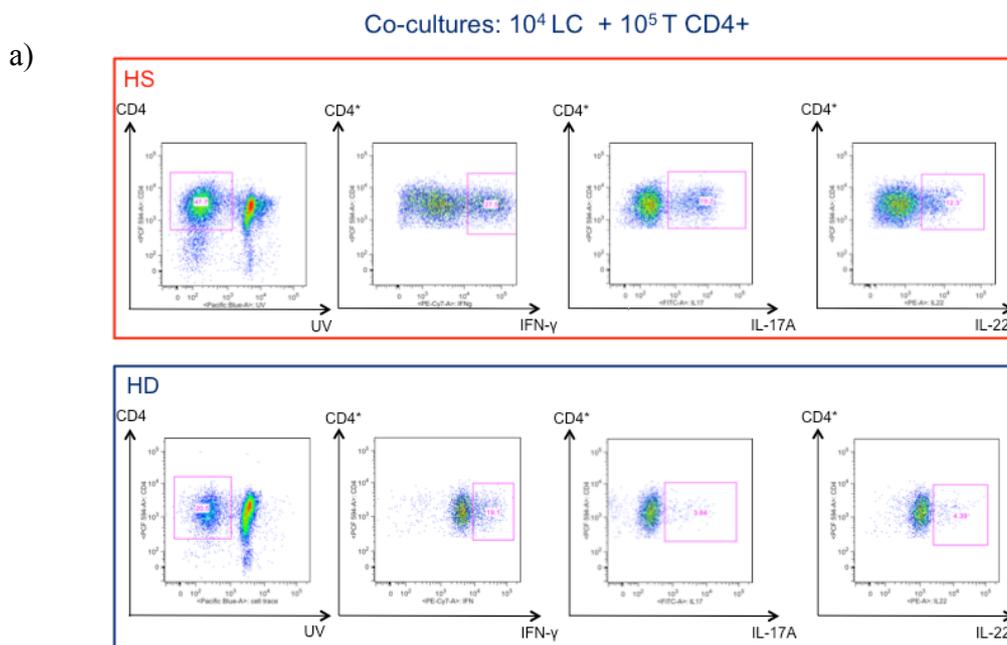
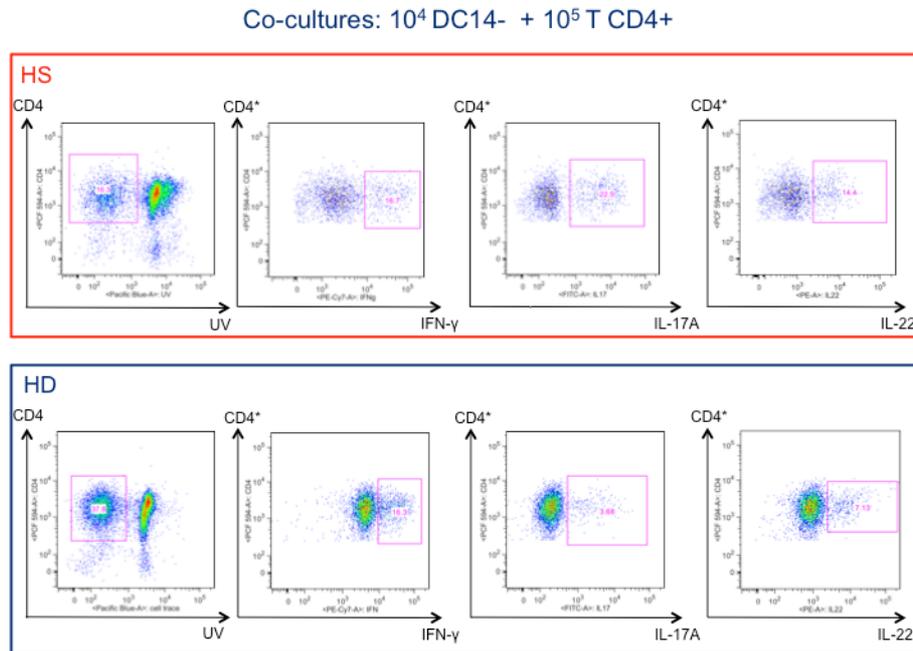


Figure 26 : schéma expérimental de l'étude des DC et LC

Les fréquences des cellules T CD4+ UV- productrices d'IFN- $\gamma$ , IL-17 et IL-22 après 5 jours co-cultures avec  $10^4$  LC ou  $10^4$  DC CD14- ou  $2.10^3$  DC CD14<sup>-</sup> isolées de prélèvements cutanés d'un patient HS et d'un témoin sain sont représentées sur la figure 27. (Respectivement a, b, c).



b)



c)

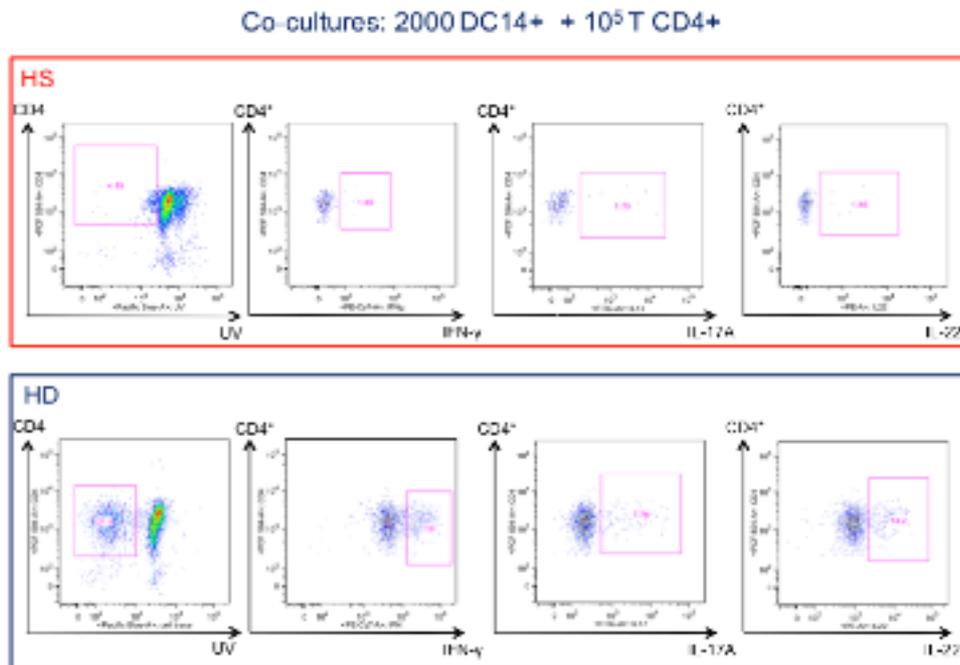


Figure 27 : Marquages IFN- $\gamma$ , IL-17A et IL-22 au sein des T CD4+ après co-cultures avec des LC, DC 14- et DC 14+ du patient HS et d'un témoin sain.

Les productions d'IFN- $\gamma$ , IL-17 et IL-22 au sein des cellules T CD4<sup>+</sup> ayant proliférées après 5 jours de co-culture avec 10<sup>4</sup> LC HS étaient augmentées par rapport aux co-cultures avec 10<sup>4</sup> LC isolées d'un témoin sain (respectivement, IFN- $\gamma$  : 27,5% vs 19,1% ; IL-17 : 19,2% vs 3,8% ; IL-22 : 12,3% vs 4,4%). La prolifération des T CD4<sup>+</sup> induite par les LC HS (47,7%) était supérieure par rapport à celle induite par les LC TS (20,5%).

De même, les productions d'IL-17 et IL-22 au sein des cellules T CD4<sup>+</sup> ayant proliférées après 5 jours de co-culture avec 10<sup>4</sup> DC CD14<sup>-</sup> HS étaient augmentées par rapport aux co-cultures avec 10<sup>4</sup> DC CD14<sup>-</sup> isolées d'un témoin sain (respectivement, IL-17 : 22,5% vs 3,7% ; IL-22 : 14,4% vs 7,1%). Par contre la production d'IFN- $\gamma$  au sein des T CD14<sup>+</sup> était inchangée.

Au contraire, les DC CD14<sup>+</sup> HS n'induisaient pas de prolifération des cellules T CD4<sup>+</sup> par rapport au DC CD14<sup>+</sup> TS (4,2 vs 21,8%). Les productions d'IFN- $\gamma$ , IL-17 et IL-22 au sein des cellules T CD4<sup>+</sup> ayant proliférées après 5 jours de co-culture avec 2.10<sup>3</sup> DC CD14<sup>+</sup> HS étaient diminuées par rapport aux co-cultures avec 2.10<sup>3</sup> DC CD14<sup>+</sup> isolées d'un témoin sain (respectivement, IFN- $\gamma$  : 1,5% vs 19% ; IL-17 : 1,8% vs 7,8% ; IL-22 : 1,5% vs 14,2%).

Cette expérience n'a été réalisée que chez un patient HS et deux témoins sains. Les effectifs seront bien sûr à augmenter. Les cellules T CD4<sup>+</sup> proviennent de plus d'un donneur de l'EFS différents pour les DC du sujet HS et des témoins sains. Les DC CD14<sup>+</sup>, cellules dont le pourcentage serait augmenté dans la peau des HS, n'ont pas été capables d'induire une prolifération des T CD4<sup>+</sup>, ni une production d'IL-17 et d'IL-22. Au contraire, les LC et DC CD14<sup>-</sup>, dont la fréquence dans la peau des patients HS serait diminuée, ont été capables d'induire une production d'IL-17 et IL-22. Ces résultats devront être confirmés.

Le transcriptome des peaux totales des patients HS comparé aux peaux totales saines a retrouvé une signature IFN de type I. Les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDCs) sont une population rare de cellules circulantes spécialisées dans la production massive d'IFN de type I (IFN- $\alpha/\beta$ ) et cytokines inflammatoires (IL-6 et TNF- $\alpha$ ) en réponse à acides nucléiques étrangers influençant ainsi la réponse cellulaire T.

Elles représentent 0,5% des cellules mononuclées du sang périphérique et ont également été observées dans les zones T des organes lymphoïdes, le thymus, les amygdales, la rate, la moelle osseuse (331)(332)(333) ainsi que dans certains tissus périphériques : le poumon (334) et le foie (335). Les pDC sont caractérisées par les marqueurs suivants : linéage<sup>neg</sup> CD4<sup>+</sup> CD11c<sup>-</sup> CD123<sup>high</sup> BDCA-2<sup>+</sup> BDCA-4<sup>+</sup> et HLA-DR<sup>high</sup> (336). À la différence des mDC qui expriment principalement les TLR1, -2, -3, -4, -5, -6, -8 et -10, les pDCs expriment les récepteurs endosomaux TLR7 et -9. Le récepteur TLR7 lie les ARN simple brin (ssRNA). Le récepteur TLR9 reconnaît les motifs Cytosine-phosphate Guanine (CpG) des ADN viraux et bactériens (337). Alors que les mDC sont davantage orientés vers la reconnaissance bactérienne, les pDC jouent un rôle important dans la réponse immune vis à vis des virus à ARN et à ADN (338).

Les interférons de type 1 produits par les pDCs permettent l'inhibition de la réplication virale, mais contribuent également à l'induction et à l'expansion d'une réponse anti-virale immune en activant les cellules T mémoires, cellules B, et les lymphocytes NK. Les pDCs orientent vers une réponse Th1 avec la sécrétion d'IFN- $\gamma$ .

A l'état basal, les pDCs ne sont pas présents dans la peau (339)(340). Cependant, les pDCs ont été retrouvées dans la peau lors d'infections cutanées à VZV (varicella zoster virus), HSV (herpes simplex virus) et HPV (papillomavirus). Lorsque ces virus infectent les pDC, leurs acides nucléiques sont reconnus par les TLR7/9 et entraînent une production massive d'IFN de type I. Des taux importants de pDCs ont été retrouvées dans la peau de patients atteints de

psoriasis (339). Leur activation chronique permettait une production accrue d'IFN de type I, à l'origine d'une activation et expansion de cellules T (341). Il a récemment été montré que l'activation des pDCs dans la peau de patients psoriasiques était médiée par le peptide antimicrobien LL-37. En effet, LL-37 peut se lier avec l'ADN du soi (self-DNA). Ce complexe se lie alors au TLR9, qui une fois activé, augmente la production d'IFN- $\gamma$  de type 1, stimulant alors la maturation des lymphocytes Th17 (24). LL37 n'est habituellement pas exprimé dans la peau saine. Par contre, dans le psoriasis, LL37 est produite à des taux élevés, pouvant expliquer l'activation des pDCs dans cette dermatose inflammatoire. Lors de la cicatrisation cutanée, les pDCs sont retrouvées dans les peaux lésées, et produisent des quantités importantes d'IFN de type 1 via l'activation des TLR7/9 par les acides nucléiques des cellules lésées. De plus, en cas de lésion cutanée, LL-37 est synthétisée de façon transitoire par les kératinocytes, permettant la synthèse d'IFN de type 1 de façon redondante. Cette fonction de LL-37 semble être unique : la  $\beta$ -défensine 2 n'est pas capable d'induire la production d'IFN de type 1.

Lors d'une infection, les PAM peuvent ainsi, dans le même temps, tuer les microorganismes et neutraliser une réponse inflammatoire excessive. Ainsi, une expression inappropriée de PAM peut contribuer à une dérégulation de la réponse inflammatoire et au développement de pathologies auto-immunes, en modifiant notamment la réponse à l'ADN du soi. En fonction de l'environnement, les pDCs peuvent avoir des propriétés de tolérance ou au contraire immunogènes. Récemment a été montré que les pDCs activés par des séquences CpG promouvaient la différenciation en cellules Th17 anti-tumorales (342).

La production importante d'IFN- $\alpha$  par les pDCs en réponse à des acides nucléiques du soi a été impliquée dans plusieurs pathologies auto-immunes telles le lupus systémique (LES) et le syndrome de Gougerot Sjögren. Une signature IFN a été retrouvée dans le sang et les tissus des patients atteints de ces pathologies. Une augmentation de l'infiltration cutanée et rénale de

pDCs a été retrouvé chez les patients LES. La production d'IL-6 et d'IFN- $\alpha$  par les pDCs promeut la survie et la différenciation des lymphocytes B auto-réactifs. Dans le LES, les anticorps anti-nucléaires produits abondamment et déposés dans les tissus sont à l'origine de l'inflammation. Les acides nucléiques des complexes immuns produits se lient aux récepteurs Fc $\gamma$ -RIIa et induisent ainsi la production d'IFN- $\alpha$  via l'engagement des TLR7/9 des endosomes.

L'étude des pDC semble être intéressante au regard de la signature IFN de type 1 retrouvée dans la peau des patients HS. Les pDCs pourraient ainsi jouer un rôle primordial dans le stade infra-clinique de l'HS avec une synthèse massive d'IFN de type 1 à l'origine d'une inflammation cutanée de type Th1 IFN- $\gamma$ .

Cependant, dans notre étude in situ, nous avons montré une diminution significative des transcrits LL-37 et des cellules Th17 dans la peau des patients HS par rapport aux peaux inflammatoires. Les lésions HS sont caractérisées par une inflammation récurrente ou chronique avec parfois une absence de cicatrisation. Dans le LES, l'hydroxychloroquine augmente le pH intra-cytoplasmique et empêche ainsi la maturation et l'acidification des endosomes et inhibent les pDCs et la production d'IFN- $\alpha$ . Si l'implication des pDCs dans l'HS se confirmait, un traitement précoce dans l'HS, au stade infra-clinique, pourrait réduire la production d'IFN de type 1 et l'initiation de l'inflammation cutanée.

## **V - Rôle des facteurs environnementaux**

Dans de nombreuses pathologies auto-inflammatoires, le facteur environnemental joue un rôle prépondérant dans le déclenchement de la pathologie chez des sujets prédisposés génétiquement. Plusieurs facteurs environnementaux sont associés à l'HS, tel le tabac et l'obésité. L'expression de PAM peut être influencée par les taux de vitamine D provenant de

l'alimentation ou de l'exposition solaire (316). Il a été montré que la forme active de vitamine D3 (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) induisait l'expression de CCR10 par les lymphocytes T, leur permettant alors de migrer vers la peau (343). De plus, quelques cas de patients HS améliorés par des UVB/UVA ont été reportés.

AhR est une voie d'étude intéressante, faisant un lien entre la perturbation de la balance régulation/inflammation et l'environnement. AhR est une protéine cytosolique qui nécessite la fixation d'un ligand pour devenir facteur de transcription et induire l'expression de gènes cibles. Après la fixation d'un ligand, AhR change de conformation puis passe du cytosol vers le noyau, où il se dimérise avec ARNT. C'est le complexe AhR et ARNT qui agit sur des gènes cibles afin de permettre la transcription puis la traduction de protéines. AhR jouerait un rôle majeur dans la production d'IL-22 (344)(345)(135)(134). De nombreux ligands d'AhR ont été décrits et notamment des xénobiotiques (TCDD ou 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine), des hormones et certains polluants contenus dans la cigarette. Or, le tabac et l'obésité sont des facteurs associés de poussées de maladie de Verneuil (197). On sait également qu'il y a plus de femmes atteintes que d'hommes, que la maladie débute à la puberté et peut s'améliorer lors des grossesses et à la ménopause, suggérant un facteur hormonal dans la physiopathologie de la maladie de Verneuil.

AhR est exprimé à la fois par les lymphocytes producteurs d'IL-22 et IL-17, mais également par les Treg. En fonction de l'environnement cytokinique, hormonal et des xénobiotiques, la différenciation des lymphocytes T naïfs se fait en faveur des lymphocytes Th17 ou des Treg, ce qui joue sur la balance inflammation/régulation (346).

On peut émettre l'hypothèse que les ligands d'AhR pourraient aggraver ou accélérer le cercle vicieux décrit dans l'HS. Ainsi, des co-cultures entre lymphocytes T et kératinocytes HS ou de témoins sains, en présence ou non de ligands d'AhR, pourraient être réalisées. Les études de la production de cytokines et chémokines en luminex dans les surnageants de co-culture,

de l'expression de PAM par les kératinocytes en qRT-PCR, ainsi que le phénotype T induit en ICS, permettraient d'analyser un rôle de l'environnement dans la balance inflammation versus régulation.

Ces données suggèrent que l'environnement pourrait influencer l'expression de PAM et la balance inflammation/régulation et ouvrir la voie à d'autres axes thérapeutiques potentiels. Dans ce but, les études d'AhR et de NOTCH, et des composés pouvant moduler leurs voies sont importantes. Ainsi, des traitements ciblés pourraient être développés.

## Conclusion

L'hydrosadénite suppurée est une maladie fréquente, de physiopathologie encore mal comprise, et de traitement difficile.

La collaboration entre l'équipe 16 de l'unité INSERM U955 avec les services de dermatologie, d'histologie et de chirurgie plastique de l'hôpital Henri-Mondor, permet la création d'une large cohorte de patients HS ainsi que la collecte de prélèvements sanguins et cutanés permettant l'étude phénotypique et fonctionnelle. De nouvelles techniques ont été mises au point au sein du laboratoire.

L'ensemble de ce travail suggère l'existence d'un cercle vicieux dans l'hydradénite suppurée. Le défaut intrinsèque de production de PAM par les kératinocytes aboutit à une prolifération microbienne. Cette « surcharge » microbienne induit une inflammation dans des zones riches en glandes apocrines. Les kératinocytes ne peuvent induire la production d'IL-17 et IL-22 par les lymphocytes mémoires résidents ou recrutés au site de l'inflammation. La faible production d'IL-17 et d'IL-22 exacerbe le défaut de production de PAM. De plus, le défaut de PAM et de CCL27 ne permet pas le recrutement adapté et suffisant de cellules T CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> et T CD4<sup>+</sup>IL-22<sup>+</sup> fonctionnelles, dont la fréquence est augmentée en périphérie. Le défaut de PAM par les kératinocytes serait à l'origine de la pérennisation de l'inflammation chronique dans l'HS.

Ces données ont donc non seulement confirmé notre hypothèse initiale, mais nous ont également fait poser de nouvelles hypothèses scientifiques conciliant nos travaux avec les connaissances cliniques, épidémiologiques et génétiques publiées dans la littérature. Des études transcriptomiques et génétiques sont en cours pour confirmer l'implication de la voie IL-17/IL-22/PAM.

Ce projet allie plusieurs aspects scientifiques afin de mieux comprendre la physiopathologie de l'HS dans son ensemble. Une meilleure compréhension de la physiopathologie de cette maladie permettrait d'envisager de nouvelles voies thérapeutiques.

## Bibliographie

1. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* 2011 Apr;9(4):244–53.
2. Nestle FO, Di Meglio P, Qin J-Z, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2009 Oct;9(10):679–91.
3. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* 2010 Mar 19;140(6):805–20.
4. Di Meglio P, Perera GK, Nestle FO. The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity.* 2011 Dec 23;35(6):857–69.
5. Kumari S, Bonnet MC, Ulvmar MH, Wolk K, Karagianni N, Witte E, et al. Tumor necrosis factor receptor signaling in keratinocytes triggers interleukin-24-dependent psoriasis-like skin inflammation in mice. *Immunity.* 2013 Nov 14;39(5):899–911.
6. Zasloff M. Antimicrobial peptides in health and disease. *N. Engl. J. Med.* 2002 Oct 10;347(15):1199–200.
7. Gallo RL, Ono M, Povsic T, Page C, Eriksson E, Klagsbrun M, et al. Syndecans, cell surface heparan sulfate proteoglycans, are induced by a proline-rich antimicrobial peptide from wounds. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1994 Nov 8;91(23):11035–9.
8. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schröder JM. A peptide antibiotic from human skin. *Nature.* 1997 Jun 26;387(6636):861.
9. Larrick JW, Lee J, Ma S, Li X, Francke U, Wright SC, et al. Structural, functional analysis and localization of the human CAP18 gene. *FEBS Lett.* 1996 Nov 25;398(1):74–80.
10. Di Nardo A, Vitiello A, Gallo RL. Cutting edge: mast cell antimicrobial activity is mediated by expression of cathelicidin antimicrobial peptide. *J. Immunol.* 2003 Mar 1;170(5):2274–8.
11. Murakami M, Ohtake T, Dorschner RA, Schitteck B, Garbe C, Gallo RL. Cathelicidin anti-microbial peptide expression in sweat, an innate defense system for the skin. *J. Invest. Dermatol.* 2002 Nov;119(5):1090–5.
12. Frohm M, Agerberth B, Ahangari G, Ståhle-Bäckdahl M, Lidén S, Wigzell H, et al. The expression of the gene coding for the antibacterial peptide LL-37 is induced in human keratinocytes during inflammatory disorders. *J. Biol. Chem.* 1997 Jun 13;272(24):15258–63.
13. Dorschner RA, Pestonjamas VK, Tamakuwala S, Ohtake T, Rudisill J, Nizet V, et al. Cutaneous injury induces the release of cathelicidin anti-microbial peptides active against group A Streptococcus. *J. Invest. Dermatol.* 2001 Jul;117(1):91–7.

14. Zaalouk TK, Bajaj-Elliott M, George JT, McDonald V. Differential regulation of beta-defensin gene expression during *Cryptosporidium parvum* infection. *Infect. Immun.* 2004 May;72(5):2772–9.
15. Schroeder BO, Stange EF, Wehkamp J. Waking the wimp: redox-modulation activates human beta-defensin 1. *Gut Microbes.* 2011 Aug;2(4):262–6.
16. Froy O. Regulation of mammalian defensin expression by Toll-like receptor-dependent and independent signalling pathways. *Cell. Microbiol.* 2005 Oct;7(10):1387–97.
17. Gallo RL, Murakami M, Ohtake T, Zaiou M. Biology and clinical relevance of naturally occurring antimicrobial peptides. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002 Dec;110(6):823–31.
18. Abtin A, Eckhart L, Gläser R, Gmeiner R, Mildner M, Tschachler E. The antimicrobial heterodimer S100A8/S100A9 (calprotectin) is upregulated by bacterial flagellin in human epidermal keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 2010 Oct;130(10):2423–30.
19. Schitteck B, Hipfel R, Sauer B, Bauer J, Kalbacher H, Stevanovic S, et al. Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands. *Nat. Immunol.* 2001 Dec;2(12):1133–7.
20. Nakatsuji T, Gallo RL. Antimicrobial Peptides: Old Molecules with New Ideas. *Journal of Investigative Dermatology.* 2012;132:887–95.
21. Kagan BL, Selsted ME, Ganz T, Lehrer RI. Antimicrobial defensin peptides form voltage-dependent ion-permeable channels in planar lipid bilayer membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1990 Jan;87(1):210–4.
22. Yang Z, Tao T, Raftery MJ, Youssef P, Di Girolamo N, Geczy CL. Proinflammatory properties of the human S100 protein S100A12. *J. Leukoc. Biol.* 2001 Jun;69(6):986–94.
23. Tokumaru S, Sayama K, Shirakata Y, Komatsuzawa H, Ouhara K, Hanakawa Y, et al. Induction of keratinocyte migration via transactivation of the epidermal growth factor receptor by the antimicrobial peptide LL-37. *J. Immunol.* 2005 Oct 1;175(7):4662–8.
24. Lande R, Gregorio J, Facchinetti V, Chatterjee B, Wang Y-H, Homey B, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature.* 2007 Oct 4;449(7162):564–9.
25. Hattori F, Kiatsurayanon C, Okumura K, Ogawa H, Ikeda S, Okamoto K, et al. The antimicrobial protein S100A7/psoriasin enhances the expression of keratinocyte differentiation markers and strengthens the skin's tight junction barrier. *Br. J. Dermatol.* 2014 Oct;171(4):742–53.
26. Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu. Rev. Immunol.* 2007;25:821–52.
27. Liang SC, Tan X-Y, Luxenberg DP, Karim R, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M, et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively

- enhance expression of antimicrobial peptides. *J. Exp. Med.* 2006 Oct 2;203(10):2271–9.
28. Cash HL, Whitham CV, Behrendt CL, Hooper LV. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science.* 2006 Aug 25;313(5790):1126–30.
  29. Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1998 Dec;62(4):1157–70.
  30. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science.* 2001 May 11;292(5519):1115–8.
  31. Sørensen OE, Thapa DR, Roupé KM, Valore EV, Sjöbring U, Roberts AA, et al. Injury-induced innate immune response in human skin mediated by transactivation of the epidermal growth factor receptor. *J. Clin. Invest.* 2006 Jul;116(7):1878–85.
  32. Schaubert J, Dorschner RA, Coda AB, Büchau AS, Liu PT, Kiken D, et al. Injury enhances TLR2 function and antimicrobial peptide expression through a vitamin D-dependent mechanism. *J. Clin. Invest.* 2007 Mar;117(3):803–11.
  33. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science.* 2006 Mar 24;311(5768):1770–3.
  34. Sørensen O, Arnljots K, Cowland JB, Bainton DF, Borregaard N. The human antibacterial cathelicidin, hCAP-18, is synthesized in myelocytes and metamyelocytes and localized to specific granules in neutrophils. *Blood.* 1997 Oct 1;90(7):2796–803.
  35. Yamasaki K, Schaubert J, Coda A, Lin H, Dorschner RA, Schechter NM, et al. Kallikrein-mediated proteolysis regulates the antimicrobial effects of cathelicidins in skin. *FASEB J.* 2006 Oct;20(12):2068–80.
  36. Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D. Border patrol: regulation of immunity, inflammation and tissue homeostasis at barrier surfaces by IL-22. *Nat. Immunol.* 2011 May;12(5):383–90.
  37. Zanger P, Holzer J, Schleucher R, Scherbaum H, Schitteck B, Gabrysch S. Severity of *Staphylococcus aureus* infection of the skin is associated with inducibility of human beta-defensin 3 but not human beta-defensin 2. *Infect. Immun.* 2010 Jul;78(7):3112–7.
  38. Zanger P, Holzer J, Schleucher R, Steffen H, Schitteck B, Gabrysch S. Constitutive expression of the antimicrobial peptide RNase 7 is associated with *Staphylococcus aureus* infection of the skin. *J. Infect. Dis.* 2009 Dec 15;200(12):1907–15.
  39. De Jongh GJ, Zeeuwen PLJM, Kucharekova M, Pfundt R, Van der Valk PG, Blokx W, et al. High expression levels of keratinocyte antimicrobial proteins in psoriasis compared with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 2005 Dec;125(6):1163–73.

40. Ong PY, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N. Engl. J. Med.* 2002 Oct 10;347(15):1151–60.
41. Yamasaki K, Kanada K, Macleod DT, Borkowski AW, Morizane S, Nakatsuji T, et al. TLR2 expression is increased in rosacea and stimulates enhanced serine protease production by keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 2011 Mar;131(3):688–97.
42. Conner K, Nern K, Rudisill J, O’Grady T, Gallo RL. The antimicrobial peptide LL-37 is expressed by keratinocytes in condyloma acuminatum and verruca vulgaris. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2002 Sep;47(3):347–50.
43. Kreuter A, Jaouhar M, Skrygan M, Tigges C, Stücker M, Altmeyer P, et al. Expression of antimicrobial peptides in different subtypes of cutaneous lupus erythematosus. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2011 Jul;65(1):125–33.
44. Fujita H, Nograles KE, Kikuchi T, Gonzalez J, Carucci JA, Krueger JG. Human Langerhans cells induce distinct IL-22-producing CD4<sup>+</sup> T cells lacking IL-17 production. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009 Dec 22;106(51):21795–800.
45. Seneschal J, Clark RA, Gehad A, Baecher-Allan CM, Kupper TS. Human epidermal Langerhans cells maintain immune homeostasis in skin by activating skin resident regulatory T cells. *Immunity.* 2012 May 25;36(5):873–84.
46. Malissen B, Grégoire C, Malissen M, Roncagalli R. Integrative biology of T cell activation. *Nat. Immunol.* 2014 Sep;15(9):790–7.
47. Nagao K, Kobayashi T, Moro K, Ohyama M, Adachi T, Kitashima DY, et al. Stress-induced production of chemokines by hair follicles regulates the trafficking of dendritic cells in skin. *Nat. Immunol.* 2012 Aug;13(8):744–52.
48. Gallo RL, Hooper LV. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine. *Nat. Rev. Immunol.* 2012 Jul;12(7):503–16.
49. Lowes MA, Suárez-Fariñas M, Krueger JG. Immunology of psoriasis. *Annu. Rev. Immunol.* 2014;32:227–55.
50. Gregorio J, Meller S, Conrad C, Di Nardo A, Homey B, Lauerma A, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense skin injury and promote wound healing through type I interferons. *J. Exp. Med.* 2010 Dec 20;207(13):2921–30.
51. Kataru RP, Jung K, Jang C, Yang H, Schwendener RA, Baik JE, et al. Critical role of CD11b<sup>+</sup> macrophages and VEGF in inflammatory lymphangiogenesis, antigen clearance, and inflammation resolution. *Blood.* 2009 May 28;113(22):5650–9.
52. Boyman O, Hefti HP, Conrad C, Nickoloff BJ, Suter M, Nestle FO. Spontaneous development of psoriasis in a new animal model shows an essential role for resident T cells and tumor necrosis factor-alpha. *J. Exp. Med.* 2004 Mar 1;199(5):731–6.
53. Boyman O, Conrad C, Tonel G, Gilliet M, Nestle FO. The pathogenic role of tissue-resident immune cells in psoriasis. *Trends Immunol.* 2007 Feb;28(2):51–7.

54. Sheridan BS, Lefrançois L. Regional and mucosal memory T cells. *Nat. Immunol.* 2011 Jun;12(6):485–91.
55. Clark RA, Chong B, Mirchandani N, Brinster NK, Yamanaka K-I, Dowgiert RK, et al. The vast majority of CLA<sup>+</sup> T cells are resident in normal skin. *J. Immunol.* 2006 Apr 1;176(7):4431–9.
56. Gebhardt T, Wakim LM, Eidsmo L, Reading PC, Heath WR, Carbone FR. Memory T cells in nonlymphoid tissue that provide enhanced local immunity during infection with herpes simplex virus. *Nat. Immunol.* 2009 May;10(5):524–30.
57. Gebhardt T, Whitney PG, Zaid A, Mackay LK, Brooks AG, Heath WR, et al. Different patterns of peripheral migration by memory CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells. *Nature.* 2011 Sep 8;477(7363):216–9.
58. Clark RA, Watanabe R, Teague JE, Schlapbach C, Tawa MC, Adams N, et al. Skin effector memory T cells do not recirculate and provide immune protection in alemtuzumab-treated CTCL patients. *Sci Transl Med.* 2012 Jan 18;4(117):117ra7.
59. Rosenblum MD, Gratz IK, Paw JS, Lee K, Marshak-Rothstein A, Abbas AK. Response to self antigen imprints regulatory memory in tissues. *Nature.* 2011 Dec 22;480(7378):538–42.
60. Bos JD, De Boer OJ, Tibosch E, Das PK, Pals ST. Skin-homing T lymphocytes: detection of cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) by HECA-452 in normal human skin. *Arch. Dermatol. Res.* 1993;285(4):179–83.
61. Santamaria LF, Perez Soler MT, Hauser C, Blaser K. Allergen specificity and endothelial transmigration of T cells in allergic contact dermatitis and atopic dermatitis are associated with the cutaneous lymphocyte antigen. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1995 Jun;107(1-3):359–62.
62. Picker LJ, Terstappen LW, Rott LS, Streeter PR, Stein H, Butcher EC. Differential expression of homing-associated adhesion molecules by T cell subsets in man. *J. Immunol.* 1990 Nov 15;145(10):3247–55.
63. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity.* 2000 Feb;12(2):121–7.
64. Morales J, Homey B, Vicari AP, Hudak S, Oldham E, Hedrick J, et al. CTACK, a skin-associated chemokine that preferentially attracts skin-homing memory T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999 Dec 7;96(25):14470–5.
65. Homey B, Alenius H, Müller A, Soto H, Bowman EP, Yuan W, et al. CCL27-CCR10 interactions regulate T cell-mediated skin inflammation. *Nat. Med.* 2002 Feb;8(2):157–65.
66. Vestergaard C, Johansen C, Christensen U, Just H, Hohwy T, Deleuran M. TARC augments TNF-alpha-induced CTACK production in keratinocytes. *Exp. Dermatol.* 2004 Sep;13(9):551–7.

67. Karakawa M, Komine M, Hanakawa Y, Tsuda H, Sayama K, Tamaki K, et al. CCL27 is downregulated by interferon gamma via epidermal growth factor receptor in normal human epidermal keratinocytes. *J. Cell. Physiol.* 2014 Dec;229(12):1935–45.
68. Riis JL, Johansen C, Vestergaard C, Otkjaer K, Kragballe K, Iversen L. CCL27 expression is regulated by both p38 MAPK and IKK $\beta$  signalling pathways. *Cytokine.* 2011 Dec;56(3):699–707.
69. Kanda N, Koike S, Watanabe S. IL-17 suppresses TNF-alpha-induced CCL27 production through induction of COX-2 in human keratinocytes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005 Nov;116(5):1144–50.
70. Baba M, Imai T, Nishimura M, Kakizaki M, Takagi S, Hieshima K, et al. Identification of CCR6, the specific receptor for a novel lymphocyte-directed CC chemokine LARC. *J. Biol. Chem.* 1997 Jun 6;272(23):14893–8.
71. Hieshima K, Imai T, Opdenakker G, Van Damme J, Kusuda J, Tei H, et al. Molecular cloning of a novel human CC chemokine liver and activation-regulated chemokine (LARC) expressed in liver. Chemotactic activity for lymphocytes and gene localization on chromosome 2. *J. Biol. Chem.* 1997 Feb 28;272(9):5846–53.
72. Power CA, Church DJ, Meyer A, Alouani S, Proudfoot AE, Clark-Lewis I, et al. Cloning and characterization of a specific receptor for the novel CC chemokine MIP-3alpha from lung dendritic cells. *J. Exp. Med.* 1997 Sep 15;186(6):825–35.
73. Pérez-Cañadillas JM, Zaballos A, Gutiérrez J, Varona R, Roncal F, Albar JP, et al. NMR solution structure of murine CCL20/MIP-3alpha, a chemokine that specifically chemoattracts immature dendritic cells and lymphocytes through its highly specific interaction with the beta-chemokine receptor CCR6. *J. Biol. Chem.* 2001 Jul 27;276(30):28372–9.
74. Lonsdorf AS, Hwang ST, Enk AH. Chemokine receptors in T-cell-mediated diseases of the skin. *J. Invest. Dermatol.* 2009 Nov;129(11):2552–66.
75. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature.* 2006 May 11;441(7090):231–4.
76. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* 2006 May 11;441(7090):235–8.
77. Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, Jarrossay D, Gattorno M, Lanzavecchia A, et al. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat. Immunol.* 2007 Jun;8(6):639–46.
78. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2009;27:485–517.
79. Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Stevens S, Flavell RA. Innate and adaptive interleukin-22 protects mice from inflammatory bowel disease. *Immunity.* 2008 Dec 19;29(6):947–57.

80. Zheng Y, Danilenko DM, Valdez P, Kasman I, Eastham-Anderson J, Wu J, et al. Interleukin-22, a T(H)17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature*. 2007 Feb 8;445(7128):648–51.
81. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine*. 2014 Oct 30;
82. Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity*. 2006 Feb;24(2):179–89.
83. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*. 2006 May 11;441(7090):235–8.
84. Littman DR, Rudensky AY. Th17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation. *Cell*. 2010 Mar 19;140(6):845–58.
85. Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, et al. The orphan nuclear receptor RORgamma directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell*. 2006 Sep 22;126(6):1121–33.
86. Honda K, Littman DR. The microbiome in infectious disease and inflammation. *Annu. Rev. Immunol*. 2012;30:759–95.
87. Zhou L, Lopes JE, Chong MMW, Ivanov II, Min R, Victora GD, et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function. *Nature*. 2008 May 8;453(7192):236–40.
88. Kumar P, Subramaniam G. Molecular underpinnings of Th17 immune-regulation and their implications in autoimmune diabetes. *Cytokine*. 2015 Feb;71(2):366–76.
89. Korn T, Bettelli E, Gao W, Awasthi A, Jäger A, Strom TB, et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells. *Nature*. 2007 Jul 26;448(7152):484–7.
90. Parrish-Novak J, Dillon SR, Nelson A, Hammond A, Sprecher C, Gross JA, et al. Interleukin 21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function. *Nature*. 2000 Nov 2;408(6808):57–63.
91. Wurster AL, Rodgers VL, Satoskar AR, Whitters MJ, Young DA, Collins M, et al. Interleukin 21 is a T helper (Th) cell 2 cytokine that specifically inhibits the differentiation of naive Th cells into interferon gamma-producing Th1 cells. *J. Exp. Med*. 2002 Oct 7;196(7):969–77.
92. Nurieva R, Yang XO, Martinez G, Zhang Y, Panopoulos AD, Ma L, et al. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature*. 2007 Jul 26;448(7152):480–3.
93. Manel N, Unutmaz D, Littman DR. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor RORgamma. *Nat. Immunol*. 2008 Jun;9(6):641–9.

94. Wei L, Laurence A, Elias KM, O'Shea JJ. IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 2007 Nov 30;282(48):34605–10.
95. Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, Murphy CA, Joyce B, Seymour B, et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature.* 2003 Feb 13;421(6924):744–8.
96. Huh JR, Leung MWL, Huang P, Ryan DA, Krout MR, Malapaka RRV, et al. Digoxin and its derivatives suppress TH17 cell differentiation by antagonizing ROR $\gamma$ t activity. *Nature.* 2011 Apr 28;472(7344):486–90.
97. Goriely S, Neurath MF, Goldman M. How microorganisms tip the balance between interleukin-12 family members. *Nat. Rev. Immunol.* 2008 Jan;8(1):81–6.
98. Hwang ES. Transcriptional Regulation of T Helper 17 Cell Differentiation. *Yonsei Med J.* 2010 Jul 1;51(4):484–91.
99. Milner JD, Brenchley JM, Laurence A, Freeman AF, Hill BJ, Elias KM, et al. Impaired T(H)17 cell differentiation in subjects with autosomal dominant hyper-IgE syndrome. *Nature.* 2008 Apr 10;452(7188):773–6.
100. Puel A, Döffinger R, Natividad A, Chrabieh M, Barcenas-Morales G, Picard C, et al. Autoantibodies against IL-17A, IL-17F, and IL-22 in patients with chronic mucocutaneous candidiasis and autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J. Exp. Med.* 2010 Feb 15;207(2):291–7.
101. Puel A, Cypowyj S, Bustamante J, Wright JF, Liu L, Lim HK, et al. Chronic mucocutaneous candidiasis in humans with inborn errors of interleukin-17 immunity. *Science.* 2011 Apr 1;332(6025):65–8.
102. Puel A, Picard C, Cypowyj S, Lilic D, Abel L, Casanova J-L. Inborn errors of mucocutaneous immunity to *Candida albicans* in humans: a role for IL-17 cytokines? *Curr. Opin. Immunol.* 2010 Aug;22(4):467–74.
103. Van de Veerdonk FL, Plantinga TS, Hoischen A, Smeekens SP, Joosten LAB, Gilissen C, et al. STAT1 mutations in autosomal dominant chronic mucocutaneous candidiasis. *N. Engl. J. Med.* 2011 Jul 7;365(1):54–61.
104. Zhang L, Li J-M, Liu X-G, Ma D-X, Hu N-W, Li Y-G, et al. Elevated Th22 cells correlated with Th17 cells in patients with rheumatoid arthritis. *J. Clin. Immunol.* 2011 Aug;31(4):606–14.
105. Schmechel S, Konrad A, Diegelmann J, Glas J, Wetzke M, Paschos E, et al. Linking genetic susceptibility to Crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. *Inflamm. Bowel Dis.* 2008 Feb;14(2):204–12.
106. Garrett-Sinha LA, John S, Gaffen SL. IL-17 and the Th17 lineage in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2008 Sep;20(5):519–25.

107. Mieliauskaite D, Dumalakiene I, Ruginiene R, Mackiewicz Z. Expression of IL-17, IL-23 and their receptors in minor salivary glands of patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin. Dev. Immunol.* 2012;2012:187258.
108. Pan H-F, Li X-P, Zheng SG, Ye D-Q. Emerging role of interleukin-22 in autoimmune diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.* [Internet]. 2012 Aug 17 [cited 2012 Sep 11]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22906768>
109. Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei K-J, Li L, Marinos N, et al. Conversion of peripheral CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> naive T cells to CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J. Exp. Med.* 2003 Dec 15;198(12):1875–86.
110. Laurence A, Tato CM, Davidson TS, Kanno Y, Chen Z, Yao Z, et al. Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation. *Immunity.* 2007 Mar;26(3):371–81.
111. Mucida D, Park Y, Kim G, Turovskaya O, Scott I, Kronenberg M, et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science.* 2007 Jul 13;317(5835):256–60.
112. Kang SG, Lim HW, Andrisani OM, Broxmeyer HE, Kim CH. Vitamin A metabolites induce gut-homing FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells. *J. Immunol.* 2007 Sep 15;179(6):3724–33.
113. Basu R, Hatton RD, Weaver CT. The Th17 family: flexibility follows function. *Immunol. Rev.* 2013 Mar;252(1):89–103.
114. Kleinewietfeld M, Hafler DA. The plasticity of human Treg and Th17 cells and its role in autoimmunity. *Semin. Immunol.* 2013 Nov 15;25(4):305–12.
115. Peters JH, Tjabringa GS, Fasse E, De Oliveira VL, Schalkwijk J, Koenen HJPM, et al. Co-culture of healthy human keratinocytes and T-cells promotes keratinocyte chemokine production and RORγt-positive IL-17 producing T-cell populations. *J. Dermatol. Sci.* 2013 Jan;69(1):44–53.
116. Weaver CT, Elson CO, Fouser LA, Kolls JK. The Th17 pathway and inflammatory diseases of the intestines, lungs, and skin. *Annu Rev Pathol.* 2013 Jan 24;8:477–512.
117. Aggarwal S, Gurney AL. IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. *J. Leukoc. Biol.* 2002 Jan;71(1):1–8.
118. Fort MM, Cheung J, Yen D, Li J, Zurawski SM, Lo S, et al. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity.* 2001 Dec;15(6):985–95.
119. Ferretti S, Bonneau O, Dubois GR, Jones CE, Trifilieff A. IL-17, produced by lymphocytes and neutrophils, is necessary for lipopolysaccharide-induced airway neutrophilia: IL-15 as a possible trigger. *J. Immunol.* 2003 Feb 15;170(4):2106–12.
120. Lockhart E, Green AM, Flynn JL. IL-17 production is dominated by gamma delta T cells rather than CD4 T cells during Mycobacterium tuberculosis infection. *J. Immunol.* 2006 Oct 1;177(7):4662–9.

121. Toy D, Kugler D, Wolfson M, Vanden Bos T, Gurgel J, Derry J, et al. Cutting edge: interleukin 17 signals through a heteromeric receptor complex. *J. Immunol.* 2006 Jul 1;177(1):36–9.
122. Fossiez F, Djossou O, Chomarat P, Flores-Romo L, Ait-Yahia S, Maat C, et al. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J. Exp. Med.* 1996 Jun 1;183(6):2593–603.
123. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang Y-H, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat. Immunol.* 2005 Nov;6(11):1133–41.
124. Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH. Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003 Apr;14(2):155–74.
125. Hsu H-C, Yang P, Wang J, Wu Q, Myers R, Chen J, et al. Interleukin 17-producing T helper cells and interleukin 17 orchestrate autoreactive germinal center development in autoimmune BXD2 mice. *Nat. Immunol.* 2008 Feb;9(2):166–75.
126. Ye P, Rodriguez FH, Kanaly S, Stocking KL, Schurr J, Schwarzenberger P, et al. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J. Exp. Med.* 2001 Aug 20;194(4):519–27.
127. Huang W, Na L, Fidel PL, Schwarzenberger P. Requirement of interleukin-17A for systemic anti-*Candida albicans* host defense in mice. *J. Infect. Dis.* 2004 Aug 1;190(3):624–31.
128. Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells. *Nat. Immunol.* 2009 Aug;10(8):864–71.
129. Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat. Immunol.* 2009 Aug;10(8):857–63.
130. Eyerich S, Eyerich K, Pennino D, Carbone T, Nasorri F, Pallotta S, et al. Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. *J. Clin. Invest.* 2009 Dec;119(12):3573–85.
131. Rutz S, Noubade R, Eidenschenk C, Ota N, Zeng W, Zheng Y, et al. Transcription factor c-Maf mediates the TGF- $\beta$ -dependent suppression of IL-22 production in T(H)17 cells. *Nat. Immunol.* 2011 Dec;12(12):1238–45.
132. Sallusto F, Zielinski CE, Lanzavecchia A. Human Th17 subsets. *Eur. J. Immunol.* 2012 Sep;42(9):2215–20.
133. Stockinger B, Di Meglio P, Gialitakis M, Duarte JH. The aryl hydrocarbon receptor: multitasking in the immune system. *Annu. Rev. Immunol.* 2014;32:403–32.

134. Veldhoen M, Hirota K, Westendorf AM, Buer J, Dumoutier L, Renaud J-C, et al. The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins. *Nature*. 2008 May 1;453(7191):106–9.
135. Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, Korn T, Farez MF, Bettelli E, et al. Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor. *Nature*. 2008 May 1;453(7191):65–71.
136. Dumoutier L, Van Roost E, Colau D, Renaud JC. Human interleukin-10-related T cell-derived inducible factor: molecular cloning and functional characterization as an hepatocyte-stimulating factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000 Aug 29;97(18):10144–9.
137. Nagem RAP, Colau D, Dumoutier L, Renaud J-C, Ogata C, Polikarpov I. Crystal structure of recombinant human interleukin-22. *Structure*. 2002 Aug;10(8):1051–62.
138. De Oliveira Neto M, Ferreira JR, Colau D, Fischer H, Nascimento AS, Craievich AF, et al. Interleukin-22 forms dimers that are recognized by two interleukin-22R1 receptor chains. *Biophys. J.* 2008 Mar 1;94(5):1754–65.
139. Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D. Border patrol: regulation of immunity, inflammation and tissue homeostasis at barrier surfaces by IL-22. *Nat. Immunol.* 2011 May;12(5):383–90.
140. Boniface K, Bernard F-X, Garcia M, Gurney AL, Lecron J-C, Morel F. IL-22 inhibits epidermal differentiation and induces proinflammatory gene expression and migration of human keratinocytes. *J. Immunol.* 2005 Mar 15;174(6):3695–702.
141. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annu. Rev. Immunol.* 2011;29:71–109.
142. Wolk K, Kunz S, Witte E, Friedrich M, Asadullah K, Sabat R. IL-22 increases the innate immunity of tissues. *Immunity*. 2004 Aug;21(2):241–54.
143. Wolk K, Kunz S, Asadullah K, Sabat R. Cutting edge: immune cells as sources and targets of the IL-10 family members? *J. Immunol.* 2002 Jun 1;168(11):5397–402.
144. Wolk K, Haugen HS, Xu W, Witte E, Waggie K, Anderson M, et al. IL-22 and IL-20 are key mediators of the epidermal alterations in psoriasis while IL-17 and IFN-gamma are not. *J. Mol. Med.* 2009 May;87(5):523–36.
145. Logsdon NJ, Jones BC, Josephson K, Cook J, Walter MR. Comparison of interleukin-22 and interleukin-10 soluble receptor complexes. *J. Interferon Cytokine Res.* 2002 Nov;22(11):1099–112.
146. Huber S, Gagliani N, Zenewicz LA, Huber FJ, Bosurgi L, Hu B, et al. IL-22BP is regulated by the inflammasome and modulates tumorigenesis in the intestine. *Nature*. 2012 Nov 8;491(7423):259–63.
147. Sabat R, Ouyang W, Wolk K. Therapeutic opportunities of the IL-22-IL-22R1 system. *Nat Rev Drug Discov.* 2014 Jan;13(1):21–38.

148. Lejeune D, Dumoutier L, Constantinescu S, Kruijer W, Schuringa JJ, Renauld J-C. Interleukin-22 (IL-22) activates the JAK/STAT, ERK, JNK, and p38 MAP kinase pathways in a rat hepatoma cell line. Pathways that are shared with and distinct from IL-10. *J. Biol. Chem.* 2002 Sep 13;277(37):33676–82.
149. Mitra A, Raychaudhuri SK, Raychaudhuri SP. IL-22 induced cell proliferation is regulated by PI3K/Akt/mTOR signaling cascade. *Cytokine.* 2012 Oct;60(1):38–42.
150. Aujla SJ, Chan YR, Zheng M, Fei M, Askew DJ, Pociask DA, et al. IL-22 mediates mucosal host defense against Gram-negative bacterial pneumonia. *Nat. Med.* 2008 Mar;14(3):275–81.
151. Zheng Y, Valdez PA, Danilenko DM, Hu Y, Sa SM, Gong Q, et al. Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nat. Med.* 2008 Mar;14(3):282–9.
152. Liang SC, Nickerson-Nutter C, Pittman DD, Carrier Y, Goodwin DG, Shields KM, et al. IL-22 induces an acute-phase response. *J. Immunol.* 2010 Nov 1;185(9):5531–8.
153. Basu R, O’Quinn DB, Silberger DJ, Schoeb TR, Fouser L, Ouyang W, et al. Th22 cells are an important source of IL-22 for host protection against enteropathogenic bacteria. *Immunity.* 2012 Dec 14;37(6):1061–75.
154. Wolk K, Witte K, Witte E, Proesch S, Schulze-Tanzil G, Nasilowska K, et al. Maturing dendritic cells are an important source of IL-29 and IL-20 that may cooperatively increase the innate immunity of keratinocytes. *J. Leukoc. Biol.* 2008 May;83(5):1181–93.
155. Sonnenberg GF, Nair MG, Kirn TJ, Zaph C, Fouser LA, Artis D. Pathological versus protective functions of IL-22 in airway inflammation are regulated by IL-17A. *J. Exp. Med.* 2010 Jun 7;207(6):1293–305.
156. Spits H, Cupedo T. Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annu. Rev. Immunol.* 2012;30:647–75.
157. Spits H, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate lymphoid cells--a proposal for uniform nomenclature. *Nat. Rev. Immunol.* 2013 Feb;13(2):145–9.
158. Hazenberg MD, Spits H. Human innate lymphoid cells. *Blood.* 2014 Jul 31;124(5):700–9.
159. Cella M, Fuchs A, Vermi W, Facchetti F, Otero K, Lennerz JKM, et al. A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity. *Nature.* 2009 Feb 5;457(7230):722–5.
160. Satoh-Takayama N, Vosshenrich CAJ, Lesjean-Pottier S, Sawa S, Lochner M, Rattis F, et al. Microbial flora drives interleukin 22 production in intestinal NKp46+ cells that provide innate mucosal immune defense. *Immunity.* 2008 Dec 19;29(6):958–70.

161. Sonnenberg GF, Monticelli LA, Elloso MM, Fouser LA, Artis D. CD4(+) lymphoid tissue-inducer cells promote innate immunity in the gut. *Immunity*. 2011 Jan 28;34(1):122–34.
162. Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, Ivanov II, Littman DR, Maloy KJ, et al. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature*. 2010 Apr 29;464(7293):1371–5.
163. Dyring-Andersen B, Geisler C, Agerbeck C, Lauritsen JPH, Gúdjonsdóttir SD, Skov L, et al. Increased number and frequency of group 3 innate lymphoid cells in nonlesional psoriatic skin. *Br. J. Dermatol.* 2014 Mar;170(3):609–16.
164. Teunissen MBM, Munneke JM, Bernink JH, Spuls PI, Res PCM, Te Velde A, et al. Composition of innate lymphoid cell subsets in the human skin: enrichment of NCR(+) ILC3 in lesional skin and blood of psoriasis patients. *J. Invest. Dermatol.* 2014 Sep;134(9):2351–60.
165. Salimi M, Barlow JL, Saunders SP, Xue L, Gutowska-Owsiak D, Wang X, et al. A role for IL-25 and IL-33-driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. *J. Exp. Med.* 2013 Dec 16;210(13):2939–50.
166. Pantelyushin S, Haak S, Ingold B, Kulig P, Heppner FL, Navarini AA, et al. Ror $\gamma$ t+ innate lymphocytes and  $\gamma\delta$  T cells initiate psoriasiform plaque formation in mice. *J. Clin. Invest.* 2012 Jun 1;122(6):2252–6.
167. Villanova F, Flutter B, Tosi I, Gryk K, Sreeneebus H, Perera GK, et al. Characterization of innate lymphoid cells in human skin and blood demonstrates increase of NKp44+ ILC3 in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.* 2014 Apr;134(4):984–91.
168. Sa SM, Valdez PA, Wu J, Jung K, Zhong F, Hall L, et al. The effects of IL-20 subfamily cytokines on reconstituted human epidermis suggest potential roles in cutaneous innate defense and pathogenic adaptive immunity in psoriasis. *J. Immunol.* 2007 Feb 15;178(4):2229–40.
169. Chan JR, Blumenschein W, Murphy E, Diveu C, Wiekowski M, Abbondanzo S, et al. IL-23 stimulates epidermal hyperplasia via TNF and IL-20R2-dependent mechanisms with implications for psoriasis pathogenesis. *J. Exp. Med.* 2006 Nov 27;203(12):2577–87.
170. Di Cesare A, Di Meglio P, Nestle FO. The IL-23/Th17 axis in the immunopathogenesis of psoriasis. *J. Invest. Dermatol.* 2009 Jun;129(6):1339–50.
171. Kagami S, Rizzo HL, Lee JJ, Koguchi Y, Blauvelt A. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.* 2010 May;130(5):1373–83.
172. Wolk K, Witte E, Wallace E, Döcke W-D, Kunz S, Asadullah K, et al. IL-22 regulates the expression of genes responsible for antimicrobial defense, cellular differentiation, and mobility in keratinocytes: a potential role in psoriasis. *Eur. J. Immunol.* 2006 May;36(5):1309–23.

173. Stenderup K, Rosada C, Worsaae A, Dagnaes-Hansen F, Steiniche T, Hasselager E, et al. Interleukin-20 plays a critical role in maintenance and development of psoriasis in the human xenograft transplantation model. *Br. J. Dermatol.* 2009 Feb;160(2):284–96.
174. Fu M, Wang G. Keratin 17 as a therapeutic target for the treatment of psoriasis. *J. Dermatol. Sci.* 2012 Sep;67(3):161–5.
175. Genovese MC, Durez P, Richards HB, Supronik J, Dokoupilova E, Mazurov V, et al. Efficacy and safety of secukinumab in patients with rheumatoid arthritis: a phase II, dose-finding, double-blind, randomised, placebo controlled study. *Annals of the rheumatic diseases* [Internet]. 2012 Jun 23 [cited 2012 Sep 11]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22730366>
176. Hueber W, Sands BE, Lewitzky S, Vandemeulebroecke M, Reinisch W, Higgins PDR, et al. Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *Gut* [Internet]. 2012 May 17 [cited 2012 Sep 11]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22595313>
177. Leonardi C, Matheson R, Zachariae C, Cameron G, Li L, Edson-Heredia E, et al. Anti-interleukin-17 monoclonal antibody ixekizumab in chronic plaque psoriasis. *N. Engl. J. Med.* 2012 Mar 29;366(13):1190–9.
178. Papp KA, Leonardi C, Menter A, Ortonne J-P, Krueger JG, Kricorian G, et al. Brodalumab, an anti-interleukin-17-receptor antibody for psoriasis. *N. Engl. J. Med.* 2012 Mar 29;366(13):1181–9.
179. Tsai T-F, Song M, Shen Y-K, Schenkel B, Choe Y-B, Kim N-I, et al. Ustekinumab Improves Health-Related Quality of Life in Korean and Taiwanese Patients With Moderate to Severe Psoriasis: Results from the PEARL Trial. *J Drugs Dermatol.* 2012 Aug 1;11(8):943–9.
180. Reich K, Papp KA, Griffiths CEM, Szapary PO, Yeilding N, Wasfi Y, et al. An update on the long-term safety experience of ustekinumab: results from the psoriasis clinical development program with up to four years of follow-up. *J Drugs Dermatol.* 2012 Mar;11(3):300–12.
181. Mannon PJ, Fuss IJ, Mayer L, Elson CO, Sandborn WJ, Present D, et al. Anti-interleukin-12 antibody for active Crohn's disease. *N. Engl. J. Med.* 2004 Nov 11;351(20):2069–79.
182. Pasparakis M, Haase I, Nestle FO. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2014 May;14(5):289–301.
183. Leeming JP, Holland KT, Cunliffe WJ. The microbial ecology of pilosebaceous units isolated from human skin. *J. Gen. Microbiol.* 1984 Apr;130(4):803–7.
184. Gribbon EM, Cunliffe WJ, Holland KT. Interaction of *Propionibacterium acnes* with skin lipids in vitro. *J. Gen. Microbiol.* 1993 Aug;139(8):1745–51.
185. Leyden JJ, McGinley KJ, Mills OH, Kligman AM. Age-related changes in the resident bacterial flora of the human face. *J. Invest. Dermatol.* 1975 Oct;65(4):379–81.

186. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010 Jun 29;107(26):11971–5.
187. Grice EA, Kong HH, Conlan S, Deming CB, Davis J, Young AC, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science*. 2009 May 29;324(5931):1190–2.
188. Naik S, Bouladoux N, Wilhelm C, Molloy MJ, Salcedo R, Kastenmuller W, et al. Compartmentalized control of skin immunity by resident commensals. *Science*. 2012 Aug 31;337(6098):1115–9.
189. Nakamura Y, Oscherwitz J, Cease KB, Chan SM, Muñoz-Planillo R, Hasegawa M, et al. *Staphylococcus*  $\delta$ -toxin induces allergic skin disease by activating mast cells. *Nature*. 2013 Nov 21;503(7476):397–401.
190. Revuz J. Hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009 Sep;23(9):985–98.
191. Velpeau A. Dictionnaire de médecine, un Répertoire Général des Sciences Médicales Sous La Rapport Théorique et Pratique. 1839;
192. Verneuil A. Etudes sur les tumeurs de la peau; de quelques maladies des glandes sudoripares. *Archives générales de médecine*. 1854;4:447–68.
193. Hidradenitis suppurativa foundation 7895 via Belfiore#, San Diego, California 92129 [Internet]. Available from: [www.hs.foundation.org](http://www.hs.foundation.org)
194. Von der Werth JM, Williams HC. The natural history of hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2000 Sep;14(5):389–92.
195. Canoui-Poitrine F, Revuz JE, Wolkenstein P, Viallette C, Gabison G, Pouget F, et al. Clinical characteristics of a series of 302 French patients with hidradenitis suppurativa, with an analysis of factors associated with disease severity. *J. Am. Acad. Dermatol*. 2009 Jul;61(1):51–7.
196. Vinding GR, Miller IM, Zarchi K, Ibler KS, Ellervik C, Jemec GBE. The prevalence of inverse recurrent suppuration: a population-based study of possible hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol*. 2014 Apr;170(4):884–9.
197. Revuz JE, Canoui-Poitrine F, Wolkenstein P, Viallette C, Gabison G, Pouget F, et al. Prevalence and factors associated with hidradenitis suppurativa: results from two case-control studies. *J. Am. Acad. Dermatol*. 2008 Oct;59(4):596–601.
198. Vazquez BG, Alikhan A, Weaver AL, Wetter DA, Davis MD. Incidence of hidradenitis suppurativa and associated factors: a population-based study of Olmsted County, Minnesota. *J. Invest. Dermatol*. 2013 Jan;133(1):97–103.
199. Kromann CB, Ibler KS, Kristiansen VB, Jemec GBE. The influence of body weight on the prevalence and severity of hidradenitis suppurativa. *Acta Derm. Venereol*. 2014 Sep;94(5):553–7.

200. Miller IM, Ellervik C, Vinding GR, Zarchi K, Ibler KS, Knudsen KM, et al. Association of Metabolic Syndrome and Hidradenitis Suppurativa. *JAMA Dermatol.* 2014 Dec 1;150(12):1273–80.
201. Jemec GBE. Clinical practice. Hidradenitis suppurativa. *N. Engl. J. Med.* 2012 Jan 12;366(2):158–64.
202. Jain S, Sardana K, Garg VK, Sinha S. Hidradenitis suppurativa involving the preauricular region: an unusual location. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2012 Apr;78(2):229.
203. Poli F, Wolkenstein P, Revuz J. Back and face involvement in hidradenitis suppurativa. *Dermatology (Basel).* 2010;221(2):137–41.
204. Jemec GBE, Revuz J, Leyden JJ. . Springer. 2006.
205. Canoui-Poitrine F. Identification of 3 phenotypes of hidradenitis suppurativa: a latent class analysis of a cross sectionnal study of 618 patients. the 41st Annual ESDR Meeting Barcelona; 2011.
206. Hurley H. Axillary hyperhidrosis, apocrine bromhidrosis, hidradentis suppurativa, and familial benign pemphigus: surgical approach. *Dermatologic Surgery.* 1989;
207. Sartorius K, Lapins J, Emtestam L, Jemec GBE. Suggestions for uniform outcome variables when reporting treatment effects in hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol.* 2003 Jul;149(1):211–3.
208. Sartorius K, Emtestam L, Jemec GBE, Lapins J. Objective scoring of hidradenitis suppurativa reflecting the role of tobacco smoking and obesity. *Br. J. Dermatol.* 2009 Oct;161(4):831–9.
209. Finlay AY, Khan GK. Dermatology Life Quality Index (DLQI)--a simple practical measure for routine clinical use. *Clin. Exp. Dermatol.* 1994 May;19(3):210–6.
210. Maalouf E, Faye O, Poli F, Cosnes A, Revuz J. [Fatal epidermoid carcinoma in hidradenitis suppurativa following treatment with infliximab]. *Ann Dermatol Venereol.* 2006 May;133(5 Pt 1):473–4.
211. Li M, Hunt MJ, Commens CA. Hidradenitis suppurativa, Dowling Degos disease and perianal squamous cell carcinoma. *Australas. J. Dermatol.* 1997 Nov;38(4):209–11.
212. Lavogiez C, Delaporte E, Darras-Vercambre S, Martin De Lassalle E, Castillo C, Mirabel X, et al. Clinicopathological study of 13 cases of squamous cell carcinoma complicating hidradenitis suppurativa. *Dermatology (Basel).* 2010;220(2):147–53.
213. Faye O, Petit F, Poli F, Petit T, Wechsler J, Gabison G, et al. [Lymphedema as a complication of hidradenitis suppurativa in three patients]. *Ann Dermatol Venereol.* 2007 Jul;134(6-7):567–9.
214. Onderdijk AJ, Van der Zee HH, Esmann S, Lophaven S, Dufour DN, Jemec GBE, et al. Depression in patients with hidradenitis suppurativa. *Journal of the European Academy*

of Dermatology and Venereology: JEADV [Internet]. 2012 Feb 20 [cited 2012 Aug 6]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22339940>

215. Esmann S, Jemec GBE. Psychosocial impact of hidradenitis suppurativa: a qualitative study. *Acta Derm. Venereol.* 2011 May;91(3):328–32.
216. Wolkenstein P, Loundou A, Barrau K, Auquier P, Revuz J. Quality of life impairment in hidradenitis suppurativa: a study of 61 cases. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2007 Apr;56(4):621–3.
217. Chicarilli ZN. Follicular occlusion triad: hidradenitis suppurativa, acne conglobata, and dissecting cellulitis of the scalp. *Ann Plast Surg.* 1987 Mar;18(3):230–7.
218. Scheinfeld NS. A case of dissecting cellulitis and a review of the literature. *Dermatol. Online J.* 2003 Feb;9(1):8.
219. Jemec GB, Gniadecka M. Sebum excretion in hidradenitis suppurativa. *Dermatology (Basel).* 1997;194(4):325–8.
220. Kamp S, Fiehn AM, Stenderup K, Rosada C, Pakkenberg B, Kemp K, et al. Hidradenitis suppurativa: a disease of the absent sebaceous gland? Sebaceous gland number and volume are significantly reduced in uninvolved hair follicles from patients with hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol.* 2011 May;164(5):1017–22.
221. Revuz J. *Revue de rhumatisme monographies.* 2011;78:152–7.
222. Church JM, Fazio VW, Lavery IC, Oakley JR, Milsom JW. The differential diagnosis and comorbidity of hidradenitis suppurativa and perianal Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis.* 1993 Sep;8(3):117–9.
223. Tsianos EV, Dalekos GN, Tzermias C, Merkouropoulos M, Hatzis J. Hidradenitis suppurativa in Crohn's disease. A further support to this association. *J. Clin. Gastroenterol.* 1995 Mar;20(2):151–3.
224. Roy MK, Appleton MA, Delicata RJ, Sharma AK, Williams GT, Carey PD. Probable association between hidradenitis suppurativa and Crohn's disease: significance of epithelioid granuloma. *Br J Surg.* 1997 Mar;84(3):375–6.
225. Yazdanyar S, Miller IM, Jemec GBE. Hidradenitis suppurativa and Crohn's disease: two cases that support an association. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat.* 2010 Oct;19(3):23–5.
226. Van der Zee HH, Van der Woude CJ, Florencia EF, Prens EP. Hidradenitis suppurativa and inflammatory bowel disease: are they associated? Results of a pilot study. *Br. J. Dermatol.* 2010 Jan;162(1):195–7.
227. Hampe J, Grebe J, Nikolaus S, Solberg C, Croucher PJP, Mascheretti S, et al. Association of NOD2 (CARD 15) genotype with clinical course of Crohn's disease: a cohort study. *Lancet.* 2002 May 11;359(9318):1661–5.

228. Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Wakatsuki Y, Fuss IJ, Strober W. Nucleotide binding oligomerization domain 2 deficiency leads to dysregulated TLR2 signaling and induction of antigen-specific colitis. *Immunity*. 2006 Sep;25(3):473–85.
229. Nassar D, Hugot JP, Wolkenstein P, Revuz J. Lack of association between CARD15 gene polymorphisms and hidradenitis suppurativa: a pilot study. *Dermatology (Basel)*. 2007;215(4):359.
230. Martínez F, Nos P, Benlloch S, Ponce J. Hidradenitis suppurativa and Crohn's disease: response to treatment with infliximab. *Inflamm. Bowel Dis*. 2001 Nov;7(4):323–6.
231. Roussomoustakaki M, Dimoulios P, Chatzicostas C, Kritikos HD, Romanos J, Panayiotides JG, et al. Hidradenitis suppurativa associated with Crohn's disease and spondyloarthritis: response to anti-TNF therapy. *J. Gastroenterol*. 2003;38(10):1000–4.
232. Van der Zee HH, De Winter K, Van der Woude CJ, Prens EP. The prevalence of hidradenitis suppurativa in 1093 patients with inflammatory bowel disease. *Br. J. Dermatol*. 2014 Sep;171(3):673–5.
233. Rosner IA, Burg CG, Wisniewski JJ, Schacter BZ, Richter DE. The clinical spectrum of the arthropathy associated with hidradenitis suppurativa and acne conglobata. *J. Rheumatol*. 1993 Apr;20(4):684–7.
234. Leybishkis B, Fasseas P, Ryan KF, Roy R. Hidradenitis suppurativa and acne conglobata associated with spondyloarthritis. *Am. J. Med. Sci*. 2001 Mar;321(3):195–7.
235. Ellis BI, Shier CK, Leisen JJ, Kastan DJ, McGoey JW. Acne-associated spondylarthropathy: radiographic features. *Radiology*. 1987 Feb;162(2):541–5.
236. Bhalla R, Sequeira W. Arthritis associated with hidradenitis suppurativa. *Ann. Rheum. Dis*. 1994 Jan;53(1):64–6.
237. Richette P, Molto A, Viguier M, Dawidowicz K, Hayem G, Nassif A, et al. Hidradenitis suppurativa associated with spondyloarthritis -- results from a multicenter national prospective study. *J. Rheumatol*. 2014 Mar;41(3):490–4.
238. Hsiao JL, Antaya RJ, Berger T, Maurer T, Shinkai K, Leslie KS. Hidradenitis suppurativa and concomitant pyoderma gangrenosum: a case series and literature review. *Arch Dermatol*. 2010 Nov;146(11):1265–70.
239. Ah-Weng A, Langtry JAA, Velangi S, Evans CD, Douglas WS. Pyoderma gangrenosum associated with hidradenitis suppurativa. *Clin. Exp. Dermatol*. 2005 Nov;30(6):669–71.
240. Braun-Falco M, Kovnerystyy O, Lohse P, Ruzicka T. Pyoderma gangrenosum, acne, and suppurative hidradenitis (PASH)--a new autoinflammatory syndrome distinct from PAPA syndrome. *J. Am. Acad. Dermatol*. 2012 Mar;66(3):409–15.
241. Marzano AV, Trevisan V, Gattorno M, Ceccherini I, De Simone C, Crosti C. Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum, acne, and hidradenitis suppurativa (PAPASH): a new

- autoinflammatory syndrome associated with a novel mutation of the PSTPIP1 gene. *JAMA Dermatol.* 2013 Jun;149(6):762–4.
242. Garzorz N, Papanagiotou V, Atenhan A, Andres C, Eyerich S, Eyerich K, et al. Pyoderma gangrenosum, acne, psoriasis, arthritis and suppurative hidradenitis (PAPASH)-syndrome: a new entity within the spectrum of autoinflammatory syndromes? *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014 Jul 28;
243. Duchatelet S, Miskinyte S, Join-Lambert O, Ungeheuer M-N, Francès C, Nassif A, et al. First Nicastrin mutation in PASH syndrome. *Br. J. Dermatol.* 2015 Jan 20;
244. Yu CC, Cook MG. Hidradenitis suppurativa: a disease of follicular epithelium, rather than apocrine glands. *Br. J. Dermatol.* 1990 Jun;122(6):763–9.
245. Sellheyer K, Krahl D. ‘Hidradenitis suppurativa’ is acne inversa! An appeal to (finally) abandon a misnomer. *Int. J. Dermatol.* 2005 Jul;44(7):535–40.
246. Attanoos RL, Appleton MA, Douglas-Jones AG. The pathogenesis of hidradenitis suppurativa: a closer look at apocrine and apoeccrine glands. *Br. J. Dermatol.* 1995 Aug;133(2):254–8.
247. Jemec GB, Hansen U. Histology of hidradenitis suppurativa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1996 Jun;34(6):994–9.
248. Berná-Serna JD, Berná-Mestre JD. Follicular occlusion due to hyperkeratosis: a new hypothesis on the pathogenesis of mammillary fistula. *Med. Hypotheses.* 2010 Dec;75(6):553–4.
249. Revuz J. Les traitements antibiotiques dans l’hidradénite suppurée-maladie de Verneuil. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie.* 2012 Aug;139(8-9):532–41.
250. Lapins J, Jarstrand C, Emtestam L. Coagulase-negative staphylococci are the most common bacteria found in cultures from the deep portions of hidradenitis suppurativa lesions, as obtained by carbon dioxide laser surgery. *Br. J. Dermatol.* 1999 Jan;140(1):90–5.
251. Sartorius K, Killasli H, Oprica C, Sullivan A, Lapins J. Bacteriology of hidradenitis suppurativa exacerbations and deep tissue cultures obtained during carbon dioxide laser treatment. *Br. J. Dermatol.* 2012 Apr;166(4):879–83.
252. Guet-Revillet H, Coignard-Biehler H, Jais J-P, Quesne G, Frapy E, Poirée S, et al. Bacterial pathogens associated with hidradenitis suppurativa, France. *Emerging Infect. Dis.* 2014 Dec;20(12):1990–8.
253. Barth JH, Layton AM, Cunliffe WJ. Endocrine factors in pre- and postmenopausal women with hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol.* 1996 Jun;134(6):1057–9.
254. Mortimer PS, Dawber RP, Gales MA, Moore RA. A double-blind controlled cross-over trial of cyproterone acetate in females with hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol.* 1986 Sep;115(3):263–8.

255. Fitzsimmons JS, Guilbert PR. A family study of hidradenitis suppurativa. *J. Med. Genet.* 1985 Oct;22(5):367–73.
256. Danby FW, Margesson LJ. Hidradenitis suppurativa. *Dermatol Clin.* 2010 Oct;28(4):779–93.
257. Gao M, Wang P-G, Cui Y, Yang S, Zhang Y-H, Lin D, et al. Inversa Acne (Hidradenitis Suppurativa): A Case Report and Identification of the Locus at Chromosome 1p21.1–1q25.3. *Journal of Investigative Dermatology.* 2006;126(6):1302–6.
258. Wang B, Yang W, Wen W, Sun J, Su B, Liu B, et al.  $\gamma$ -Secretase Gene Mutations in Familial Acne Inversa. *Science.* 2010 Nov 19;330(6007):1065–1065.
259. Pink AE, Simpson MA, Desai N, Trembath RC, Barker JNW.  $\gamma$ -Secretase mutations in hidradenitis suppurativa: new insights into disease pathogenesis. *J. Invest. Dermatol.* 2013 Mar;133(3):601–7.
260. Li C-R, Jiang M-J, Shen D-B, Xu H-X, Wang H-S, Yao X, et al. Two novel mutations of the nicastrin gene in Chinese patients with acne inversa. *Br. J. Dermatol.* 2011 Aug;165(2):415–8.
261. Bergmans BA, De Strooper B. gamma-secretases: from cell biology to therapeutic strategies. *Lancet Neurol.* 2010 Feb;9(2):215–26.
262. Panza F, Frisardi V, Imbimbo BP, D’Onofrio G, Pietrarossa G, Seripa D, et al. Bapineuzumab: anti- $\beta$ -amyloid monoclonal antibodies for the treatment of Alzheimer’s disease. *Immunotherapy.* 2010 Nov;2(6):767–82.
263. Jorissen E, De Strooper B. Gamma-secretase and the intramembrane proteolysis of Notch. *Curr. Top. Dev. Biol.* 2010;92:201–30.
264. Liu Y, Gao M, Lv Y, Yang X, Ren Y, Jiang T, et al. Confirmation by exome sequencing of the pathogenic role of NCSTN mutations in acne inversa (hidradenitis suppurativa). *J. Invest. Dermatol.* 2011 Jul;131(7):1570–2.
265. Pink AE, Simpson MA, Brice GW, Smith CH, Desai N, Mortimer PS, et al. PSENEN and NCSTN mutations in familial hidradenitis suppurativa (Acne Inversa). *J. Invest. Dermatol.* 2011 Jul;131(7):1568–70.
266. Dréno B, Khammari A, Brocard A, Moyse D, Blouin E, Guillet G, et al. Hidradenitis suppurativa: the role of deficient cutaneous innate immunity. *Arch Dermatol.* 2012 Feb;148(2):182–6.
267. Melnik BC, Plewig G. Impaired Notch-MKP-1 signalling in hidradenitis suppurativa: an approach to pathogenesis by evidence from translational biology. *Exp. Dermatol.* 2013 Mar;22(3):172–7.
268. Pan Y, Lin M-H, Tian X, Cheng H-T, Gridley T, Shen J, et al. gamma-secretase functions through Notch signaling to maintain skin appendages but is not required for their patterning or initial morphogenesis. *Dev. Cell.* 2004 Nov;7(5):731–43.

269. Hunger RE, Surovy AM, Hassan AS, Braathen LR, Yawalkar N. Toll-like receptor 2 is highly expressed in lesions of acne inversa and colocalizes with C-type lectin receptor. *Br. J. Dermatol.* 2008 Apr;158(4):691–7.
270. Schlapbach C, Yawalkar N, Hunger RE. Human beta-defensin-2 and psoriasin are overexpressed in lesions of acne inversa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2009 Jul;61(1):58–65.
271. Hofmann SC, Saborowski V, Lange S, Kern WV, Bruckner-Tuderman L, Rieg S. Expression of innate defense antimicrobial peptides in hidradenitis suppurativa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2012 Jun;66(6):966–74.
272. Wolk K, Warszawska K, Hoeflich C, Witte E, Schneider-Burrus S, Witte K, et al. Deficiency of IL-22 contributes to a chronic inflammatory disease: pathogenetic mechanisms in acne inversa. *J. Immunol.* 2011 Jan 15;186(2):1228–39.
273. Van der Zee HH, De Ruyter L, Van den Broecke DG, Dik WA, Laman JD, Prens EP. Elevated levels of tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-10 in hidradenitis suppurativa skin: a rationale for targeting TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . *Br. J. Dermatol.* 2011 Jun;164(6):1292–8.
274. Giamarellos-Bourboulis EJ, Antonopoulou A, Petropoulou C, Mouktaroudi M, Spyridaki E, Baziaka F, et al. Altered innate and adaptive immune responses in patients with hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol.* 2007 Jan;156(1):51–6.
275. Borggrefe T, Oswald F. The Notch signaling pathway: transcriptional regulation at Notch target genes. *Cell. Mol. Life Sci.* 2009 May;66(10):1631–46.
276. Radtke F, MacDonald HR, Tacchini-Cottier F. Regulation of innate and adaptive immunity by Notch. *Nat. Rev. Immunol.* 2013 Jun;13(6):427–37.
277. Hu X, Chung AY, Wu I, Foldi J, Chen J, Ji JD, et al. Integrated regulation of Toll-like receptor responses by Notch and interferon-gamma pathways. *Immunity.* 2008 Nov 14;29(5):691–703.
278. Aubin-Houzelstein G. Notch signaling and the developing hair follicle. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012;727:142–60.
279. Melnik BC, Plewig G. Impaired Notch signalling: the unifying mechanism explaining the pathogenesis of hidradenitis suppurativa (acne inversa). *Br. J. Dermatol.* 2013 Apr;168(4):876–8.
280. Kelly G, Sweeney CM, Tobin A-M, Kirby B. Hidradenitis suppurativa: the role of immune dysregulation. *Int. J. Dermatol.* 2014 Jun 25;
281. Melnik BC, Plewig G. Impaired Notch-MKP-1 signalling in hidradenitis suppurativa: an approach to pathogenesis by evidence from translational biology. *Exp. Dermatol.* 2013 Mar;22(3):172–7.
282. Jemec GB, Wendelboe P. Topical clindamycin versus systemic tetracycline in the treatment of hidradenitis suppurativa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1998 Dec;39(6):971–4.

283. Gener G, Canoui-Poitrine F, Revuz JE, Faye O, Poli F, Gabison G, et al. Combination therapy with clindamycin and rifampicin for hidradenitis suppurativa: a series of 116 consecutive patients. *Dermatology (Basel)*. 2009;219(2):148–54.
284. Van der Zee HH, Boer J, Prens EP, Jemec GBE. The effect of combined treatment with oral clindamycin and oral rifampicin in patients with hidradenitis suppurativa. *Dermatology (Basel)*. 2009;219(2):143–7.
285. Join-Lambert O, Ribadeau-Dumas F, Jullien V, Kitzis M-D, Jais J-P, Coignard-Biehler H, et al. Dramatic reduction of clindamycin plasma concentration in hidradenitis suppurativa patients treated with the rifampin-clindamycin combination. *Eur J Dermatol*. 2014 Feb;24(1):94–5.
286. Zouboulis CC, Desai N, Emtestam L, Hunger RE, Ioannides D, Juhász I, et al. European S1 guideline for the treatment of hidradenitis suppurativa/acne inversa. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015 Jan 30;
287. Collier F, Smith RC, Morton CA. Diagnosis and management of hidradenitis suppurativa. *BMJ*. 2013;346:f2121.
288. Join-Lambert O, Coignard H, Jais J-P, Guet-Revillet H, Poirée S, Fraitag S, et al. Efficacy of rifampin-moxifloxacin-metronidazole combination therapy in hidradenitis suppurativa. *Dermatology (Basel)*. 2011 Feb;222(1):49–58.
289. Grant A, Gonzalez T, Montgomery MO, Cardenas V, Kerdel FA. Infliximab therapy for patients with moderate to severe hidradenitis suppurativa: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial. *J. Am. Acad. Dermatol*. 2010 Feb;62(2):205–17.
290. Adams DR, Yankura JA, Fogelberg AC, Anderson BE. Treatment of hidradenitis suppurativa with etanercept injection. *Arch Dermatol*. 2010 May;146(5):501–4.
291. Miller I, Lynggaard CD, Lophaven S, Zachariae C, Dufour DN, Jemec GBE. A double-blind placebo-controlled randomized trial of adalimumab in the treatment of hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol*. 2011 Aug;165(2):391–8.
292. Kimball AB, Kerdel F, Adams D, Mrowietz U, Gelfand JM, Gniadecki R, et al. Adalimumab for the treatment of moderate to severe Hidradenitis suppurativa: a parallel randomized trial. *Ann. Intern. Med*. 2012 Dec 18;157(12):846–55.
293. Gulliver WP, Jemec GBE, Baker KA. Experience with ustekinumab for the treatment of moderate to severe Hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012 Jul;26(7):911–4.
294. Sharon VR, Garcia MS, Bagheri S, Goodarzi H, Yang C, Ono Y, et al. Management of recalcitrant hidradenitis suppurativa with ustekinumab. *Acta Derm. Venereol*. 2012 May;92(3):320–1.
295. Boer J, Nazary M. Long-term results of acitretin therapy for hidradenitis suppurativa. Is acne inversa also a misnomer? *Br. J. Dermatol*. 2011 Jan;164(1):170–5.

296. Matusiak L, Bieniek A, Szepietowski JC. Acitretin treatment for hidradenitis suppurativa: a prospective series of 17 patients. *Br. J. Dermatol.* 2014 Jul;171(1):170–4.
297. Verdolini R, Simonacci F, Menon S, Pavlou P, Mannello B. Alitretinoin: A useful agent in the treatment of hidradenitis suppurativa, especially in women of child bearing age. *G Ital Dermatol Venereol.* 2014 Jun 13;
298. Brocard A, Knol A-C, Khammari A, Dréno B. Hidradenitis suppurativa and zinc: a new therapeutic approach. A pilot study. *Dermatology (Basel).* 2007;214(4):325–7.
299. Buckley DA, Rogers S. Cyclosporin-responsive hidradenitis suppurativa. *J R Soc Med.* 1995 May;88(5):289P–290P.
300. Rose RF, Goodfield MJD, Clark SM. Treatment of recalcitrant hidradenitis suppurativa with oral ciclosporin. *Clin. Exp. Dermatol.* 2006 Jan;31(1):154–5.
301. Soria A, Canoui-Poitrine F, Wolkenstein P, Poli F, Gabison G, Pouget F, et al. Absence of efficacy of oral isotretinoin in hidradenitis suppurativa: a retrospective study based on patients' outcome assessment. *Dermatology (Basel).* 2009;218(2):134–5.
302. Boer J, Van Gemert MJ. Long-term results of isotretinoin in the treatment of 68 patients with hidradenitis suppurativa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1999 Jan;40(1):73–6.
303. Dicken CH, Powell ST, Spear KL. Evaluation of isotretinoin treatment of hidradenitis suppurativa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1984 Sep;11(3):500–2.
304. Tierney E, Mahmoud BH, Hexsel C, Ozog D, Hamzavi I. Randomized control trial for the treatment of hidradenitis suppurativa with a neodymium-doped yttrium aluminium garnet laser. *Dermatol Surg.* 2009 Aug;35(8):1188–98.
305. Lapins J, Sartorius K, Emtestam L. Scanner-assisted carbon dioxide laser surgery: a retrospective follow-up study of patients with hidradenitis suppurativa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2002 Aug;47(2):280–5.
306. Valladares-Narganes LM, Rodríguez-Prieto MA, Blanco-Suárez MD, Rodríguez-Lage C, García-Doval I. Treatment Of Hidradenitis Suppurativa With Intralesional Photodynamic Therapy Using A Laser Diode Attached To An Optical Cable: A Promising New Approach. *Br. J. Dermatol.* 2014 Sep 5;
307. Pink AE, Simpson MA, Brice GW, Smith CH, Desai N, Mortimer PS, et al. PSENEN and NCSTN mutations in familial hidradenitis suppurativa (Acne Inversa). *J. Invest. Dermatol.* 2011 Jul;131(7):1568–70.
308. Feldmeyer L, Werner S, French LE, Beer H-D. Interleukin-1, inflammasomes and the skin. *Eur. J. Cell Biol.* 2010 Sep;89(9):638–44.
309. Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu. Rev. Immunol.* 2007;25:821–52.

310. Homey B, Alenius H, Müller A, Soto H, Bowman EP, Yuan W, et al. CCL27-CCR10 interactions regulate T cell-mediated skin inflammation. *Nat. Med.* 2002 Feb;8(2):157–65.
311. Mildner M, Prior M, Gschwandtner M, Schuster C, Tschachler E, Elbe-Bürger A. Epidermal CCL27 expression is regulated during skin development and keratinocyte differentiation. *J. Invest. Dermatol.* 2014 Mar;134(3):855–8.
312. Ivanov II, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T, Karaoz U, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell.* 2009 Oct 30;139(3):485–98.
313. Dréno B, Khammari A, Brocard A, Moyse D, Blouin E, Guillet G, et al. Hidradenitis suppurativa: the role of deficient cutaneous innate immunity. *Arch Dermatol.* 2012 Feb;148(2):182–6.
314. Hofmann SC, Saborowski V, Lange S, Kern WV, Bruckner-Tuderman L, Rieg S. Expression of innate defense antimicrobial peptides in hidradenitis suppurativa. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2012 Jun;66(6):966–74.
315. Murano T, Okamoto R, Ito G, Nakata T, Hibiya S, Shimizu H, et al. Hes1 promotes the IL-22-mediated antimicrobial response by enhancing STAT3-dependent transcription in human intestinal epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014 Jan 17;443(3):840–6.
316. Hong SP, Kim MJ, Jung M-Y, Jeon H, Goo J, Ahn SK, et al. Biopositive effects of low-dose UVB on epidermis: coordinate upregulation of antimicrobial peptides and permeability barrier reinforcement. *J. Invest. Dermatol.* 2008 Dec;128(12):2880–7.
317. Campanelli AP, Roselino AM, Cavassani KA, Pereira MSF, Mortara RA, Brodskyn CI, et al. CD4+CD25+ T cells in skin lesions of patients with cutaneous leishmaniasis exhibit phenotypic and functional characteristics of natural regulatory T cells. *J. Infect. Dis.* 2006 May 1;193(9):1313–22.
318. Kök A, Hocqueloux L, Hocini H, Carrière M, Lefrou L, Guguin A, et al. Early initiation of combined antiretroviral therapy preserves immune function in the gut of HIV-infected patients. *Mucosal Immunol.* 2014 Jul 2;
319. Aasen T, Izpisua Belmonte JC. Isolation and cultivation of human keratinocytes from skin or plucked hair for the generation of induced pluripotent stem cells. *Nat Protoc.* 2010 Feb;5(2):371–82.
320. Antonelli A, Ferrari SM, Giuggioli D, Ferrannini E, Ferri C, Fallahi P. Chemokine (C-X-C motif) ligand (CXCL)10 in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev.* 2014 Mar;13(3):272–80.
321. Marques RE, Guabiraba R, Russo RC, Teixeira MM. Targeting CCL5 in inflammation. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2013 Dec;17(12):1439–60.
322. Ingram JR, Piguet V. Phenotypic heterogeneity in hidradenitis suppurativa (acne inversa): classification is an essential step toward personalized therapy. *J. Invest. Dermatol.* 2013 Jun;133(6):1453–6.

323. Ingram JR, Wood M, John B, Butler R, Anstey AV. Absence of pathogenic  $\gamma$ -secretase mutations in a South Wales cohort of familial and sporadic hidradenitis suppurativa (acne inversa). *Br. J. Dermatol.* 2013 Apr;168(4):874–6.
324. Berezovska O, Jack C, Deng A, Gastineau N, Rebeck GW, Hyman BT. Notch1 and amyloid precursor protein are competitive substrates for presenilin1-dependent gamma-secretase cleavage. *J. Biol. Chem.* 2001 Aug 10;276(32):30018–23.
325. Blok J, Jonkman M, Horváth B. The possible association of hidradenitis suppurativa and Down syndrome: is increased amyloid precursor protein expression resulting in impaired Notch signalling the missing link? *Br. J. Dermatol.* 2014 Jun;170(6):1375–7.
326. Doody RS, Raman R, Farlow M, Iwatsubo T, Vellas B, Joffe S, et al. A phase 3 trial of semagacestat for treatment of Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 2013 Jul 25;369(4):341–50.
327. Lee JS, Cella M, McDonald KG, Garlanda C, Kennedy GD, Nukaya M, et al. AHR drives the development of gut ILC22 cells and postnatal lymphoid tissues via pathways dependent on and independent of Notch. *Nat. Immunol.* 2012 Feb;13(2):144–51.
328. Klechevsky E, Morita R, Liu M, Cao Y, Coquery S, Thompson-Snipes L, et al. Functional specializations of human epidermal Langerhans cells and CD14+ dermal dendritic cells. *Immunity.* 2008 Sep 19;29(3):497–510.
329. Valladeau J, Duvert-Frances V, Pin JJ, Kleijmeer MJ, Ait-Yahia S, Ravel O, et al. Immature human dendritic cells express asialoglycoprotein receptor isoforms for efficient receptor-mediated endocytosis. *J. Immunol.* 2001 Nov 15;167(10):5767–74.
330. Li D, Romain G, Flamar A-L, Duluc D, Dullaers M, Li X-H, et al. Targeting self- and foreign antigens to dendritic cells via DC-ASGPR generates IL-10-producing suppressive CD4+ T cells. *J. Exp. Med.* 2012 Jan 16;209(1):109–21.
331. Grouard G, Rissoan MC, Filgueira L, Durand I, Banchereau J, Liu YJ. The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL)-3 and CD40-ligand. *J. Exp. Med.* 1997 Mar 17;185(6):1101–11.
332. Cella M, Jarrossay D, Facchetti F, Alebardi O, Nakajima H, Lanzavecchia A, et al. Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon. *Nat. Med.* 1999 Aug;5(8):919–23.
333. Bendriss-Vermare N, Barthélémy C, Durand I, Bruand C, Dezutter-Dambuyant C, Mouliau N, et al. Human thymus contains IFN-alpha-producing CD11c(-), myeloid CD11c(+), and mature interdigitating dendritic cells. *J. Clin. Invest.* 2001 Apr;107(7):835–44.
334. Masten BJ, Olson GK, Tarleton CA, Rund C, Schuyler M, Mehran R, et al. Characterization of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in human lung. *J. Immunol.* 2006 Dec 1;177(11):7784–93.
335. Colonna M, Trinchieri G, Liu Y-J. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat. Immunol.* 2004 Dec;5(12):1219–26.

336. Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, Cremer S, Zysk M, Miltenyi S, et al. BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J. Immunol.* 2000 Dec 1;165(11):6037–46.
337. Moseman EA, Liang X, Dawson AJ, Panoskaltsis-Mortari A, Krieg AM, Liu Y-J, et al. Human plasmacytoid dendritic cells activated by CpG oligodeoxynucleotides induce the generation of CD4+CD25+ regulatory T cells. *J. Immunol.* 2004 Oct 1;173(7):4433–42.
338. Haeryfar SMM. The importance of being a pDC in antiviral immunity: the IFN mission versus Ag presentation? *Trends Immunol.* 2005 Jun;26(6):311–7.
339. Wollenberg A, Wagner M, Günther S, Towarowski A, Tuma E, Moderer M, et al. Plasmacytoid dendritic cells: a new cutaneous dendritic cell subset with distinct role in inflammatory skin diseases. *J. Invest. Dermatol.* 2002 Nov;119(5):1096–102.
340. Gilliet M, Conrad C, Geiges M, Cozzio A, Thürlimann W, Burg G, et al. Psoriasis triggered by toll-like receptor 7 agonist imiquimod in the presence of dermal plasmacytoid dendritic cell precursors. *Arch Dermatol.* 2004 Dec;140(12):1490–5.
341. Nestle FO, Conrad C, Tun-Kyi A, Homey B, Gombert M, Boyman O, et al. Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production. *J. Exp. Med.* 2005 Jul 4;202(1):135–43.
342. Guéry L, Dubrot J, Lippens C, Brighthouse D, Malinge P, Irla M, et al. Ag-presenting CpG-activated pDCs prime Th17 cells that induce tumor regression. *Cancer Res.* 2014 Nov 15;74(22):6430–40.
343. Sigmundsdottir H, Pan J, Debes GF, Alt C, Habtezion A, Soler D, et al. DCs metabolize sunlight-induced vitamin D3 to ‘program’ T cell attraction to the epidermal chemokine CCL27. *Nat. Immunol.* 2007 Mar;8(3):285–93.
344. Kimura A, Naka T, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T. Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008 Jul 15;105(28):9721–6.
345. Stockinger B, Hirota K, Duarte J, Veldhoen M. External influences on the immune system via activation of the aryl hydrocarbon receptor. *Semin. Immunol.* 2011 Apr;23(2):99–105.
346. Stevens EA, Bradfield CA. Immunology: T cells hang in the balance. *Nature.* 2008 May 1;453(7191):46–7.

## Résumé

L'hidradénite suppurée (HS) est une dermatose inflammatoire chronique récurrente de physiopathologie inconnue. L'efficacité inconstante des traitements antibiotiques ou immunosuppresseurs nous a fait poser l'hypothèse d'une réponse immunitaire anormale à la flore commensale cutanée dans l'HS. Le rôle majeur des lymphocytes Th17 et Th22 dans cette réponse vis-à-vis de la flore suggère l'implication de la voie inflammatoire IL-22/IL-17/peptides anti-microbiens (PAM) dans la physiopathologie de l'HS.

Dans cette étude, nous avons montré que les kératinocytes isolés à partir des prélèvements cutanés lésionnels de patients HS présentaient un défaut de production de PAM après une stimulation par des produits microbiens par rapport à des kératinocytes de témoins sains. Une diminution de l'expression des transcrits de PAM et de CCL27 a été observée sur des prélèvements de peaux totales HS par rapport à des témoins sains. De plus, les kératinocytes isolés à partir de la gaine externe des cheveux de patients HS ne permettaient pas de soutenir un phénotype Th17. Ainsi nos résultats suggèrent un cercle vicieux responsable de la perpétuation de l'inflammation chronique dans l'HS. En effet, le défaut de PAM permet la croissance d'une flore microbienne polymorphe. Au niveau du follicule pileux, cette surcharge microbienne serait à l'origine d'une inflammation. Les lymphocytes T exprimant CCR6+ sont recrutés au niveau du site inflammatoire. Cependant, in situ les kératinocytes HS ne permettent pas de maintenir la production d'IL-17 et IL-22 par les lymphocytes T cutanés. Ce défaut IL-17 et IL-22 contribuerait au défaut de production de PAM par les kératinocytes. Malgré des fréquences augmentées des cellules T productrices d'IL-17 et IL-22 dans le sang, ces lymphocytes T ne sont pas suffisamment recrutés dans la peau, probablement par manque de chémoattractant secondaire au défaut de PAM et d'expression de CCL27.

Un défaut de production des PAM et de chémokines par les kératinocytes serait à l'origine d'un cercle vicieux inflammatoire dans l'HS.

Mots clefs : Maladie de Verneuil ou hidradénite suppurée/ Lymphocytes Th17-22/ Peptides anti-microbiens/ Kératinocytes/ Chémokines