



HAL
open science

Rôle des macrophages pulmonaires dans les pathologies respiratoires : une approche translationnelle

Hélène Salvator

► **To cite this version:**

Hélène Salvator. Rôle des macrophages pulmonaires dans les pathologies respiratoires : une approche translationnelle. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Paris saclay, 2022. tel-04558486

HAL Id: tel-04558486

<https://hal.science/tel-04558486>

Submitted on 24 Apr 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.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Rôle des macrophages pulmonaires
dans les pathologies respiratoires :
une approche translationnelle

Habilitation à diriger des recherches
de l'Université Paris-Saclay

présentée et soutenue à Suresnes, le 06/12/2022, par

Hélène SALVATOR

Composition du jury

Claire ANDREJAK

Professeure
Service de Pneumologie Centre Hospitalier Universitaire,
AMIENS

Rapporteur ou Rapportrice

Dominique ISRAEL-BIET

Professeure
Service de Pneumologie Hopital Européen Georges
Pompidou, PARIS

Rapporteur ou Rapportrice

Raphael BORIE

Professeur
Service de Pneumologie Hopital Bichat Claude Bernard,
PARIS

Rapporteur ou Rapportrice

Marc HUMBERT

Professeur
Service de Pneumologie Hopital Bicetre, LE KREMLIN-
BICETRE

Examineur ou Examinatrice

Anne BERGERON

Professeure
Service de pneumologie Hopitaux Universitaires de
Genève, SUISSE

Examineur ou Examinatrice

Stephanie NGUYEN-QUOC

Professeure
Service Hématologie Hopital Pitié-Salpêtrière, PARIS

Examineur ou Examinatrice

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury

Mme la Pre Dominique ISRAEL-BIET

Vous me faites l'honneur de juger mon travail.

Veillez recevoir mes remerciements les plus chaleureux pour avoir accepté le rôle de rapportrice (ainsi que pour votre bienveillance auprès de notre connaissance commune)

Mme la Pre Claire Andrejak

Votre bienveillance tout au long de mon cursus universitaire me touche

Je suis très honorée de vous compter parmi les membres de mon jury

Veillez recevoir mon estime et ma reconnaissance sincères

M. le Pr Raphael Borie

Je suis très heureuse et honorée de te compter parmi les membres de ce jury.

Très heureuse également de nos futures collaborations

Sois assuré de ma reconnaissance

M. le Pr Marc Humbert

Vous me faites un grand honneur en acceptant de juger mon travail

Veillez recevoir ma plus grande estime et mes remerciements sincères

Mme la Pre Anne Bergeron

J'ai beaucoup d'admiration pour votre travail et votre parcours en général

Je suis très heureuse que vous ayez pu participer à ce jury, le contraire aurait laissé un vide

Mes très sincères remerciements

Mme la Pre Stephanie Nguyen

Notre collaboration, nos interactions cliniques sont facilitées par ta gentillesse et ta compétence

Un très grand merci d'accepter de participer à ce jury

A M. le Pr Louis-Jean Couderc et M. le Pr Philippe Devillier, mes «maitres » s'il en est. Parce que je vous dois tellement, tout simplement.

A M. le Pr Magnan pour votre soutien, votre émulation scientifique et votre accompagnement bienveillant. Un très grand Merci !

A mes idoles de la médecine : Dr Marc Stern, Pr Dominique Valeyre, Pr Benjamin Terrier

A mes collègues du service de pneumologie de l'Hôpital Foch que j'aime retrouver chaque jour de l'année

Emilie Catherinot : je travaille dur pour te ressembler, je n'y suis pas encore.

Jérémy Taverne, Claire Givel, Céline Goyard, Anne-Cécile Métivier, Sylvie Friard, Alexandre Chabrol, Elisabeth Rivaud, Hélène Doubre, Colas Tchérakian, Clément Picard, Antoine Roux, Laurence Beaumont, Séverine Fraboulet, Perrine Créquit, Geneviève Lebourdelles, Sandra Demiranda, Dominique Grenet, Sylvie Coline-de-verdière, Emmanuella Caradec, Pompilia Lazureau, Caroline Diou, Abdul Al-hamid, Jad choucair, Mathilde Zrounba, Marie Mayenga,

A mes collègues de l'hôpital qui nous rendent la vie plus facile : Dr AL Brun, un must, Dr M Glorion, le plus médecin des chirurgiens, Clémence Bain

Aux secrétaires, infirmières, aides-soignantes. Françoise, Aminata

A toute l'équipe de recherche clinique. Flavie, Laura, Bedra, Linda, Béatrice...

A mes collègues du laboratoire VIM Suresnes :

Marion Brollo, ton aide technique et ton amitié précieuse

Emmanuel Naline, le laboratoire ne sera plus le même sans toi. Quelle chance de l'avoir connu à tes côtés

Stanislas Grassin-Delyle : une admiration infinie pour tes qualités scientifiques et de management

Quentin Marquant : le dernier venu mais pas des moindres. Bravo et merci

Mes étudiants, les petites mains, milles mercis : Nikola, Mathilde, Mélanie

A mes collègues du laboratoire V2I que j'ai (beaucoup) gagné à connaître : Isabelle Schwartz, Delphine Descamps, Sabine Riffault

A mes amis du bout du monde : la très précieuse Aris Cheng, Ho Namkoong, Steve Holland, Lindsey Rosen

Aux amis qui me supportent encore

A ma famille qui est bien obligée

A Lucie, Marc et Julia qui ne sont pour rien dans l'écriture de ce mémoire mais qui méritent bien une petite ligne. A Jean qui le lira, qui le connaît déjà.

Table des matières

INTRODUCTION	4
CURRICULUM VITAE	6
EXPOSE DES TRAVAUX DE RECHERCHE	9
1. THEMES DE RECHERCHE	9
1.1 <i>Macrophages</i>	9
1.2 <i>Macrophages pulmonaires (MPs)</i>	10
1.3 <i>Rôle des MPs dans les pathologies respiratoires</i>	11
a. <i>Proteinose alvéolaire pulmonaire</i>	11
b. <i>Déficit immunitaire : exemple de la Granulomatose septique chronique</i>	14
c. <i>Dynamique de repeuplement immunitaire pulmonaire après une transplantation</i>	15
2. PRINCIPAUX RESULTATS ACQUIS	17
2.1 <i>Présentation de l'unité de recherche : UMR0892 et VIM-Suresnes</i>	17
2.2 <i>Obésité et poumon : modulation des MPs par les adipokines</i>	18
2.3 <i>Etude de la voie du GM-CSF dans les monocytes et macrophages pulmonaires</i>	21
a. <i>Caractérisation biologiques des auto-anticorps anti GM-CSF en lien avec des manifestations respiratoires et des infections disséminées</i>	21
b. <i>Impact des traitements ciblant la voie du GM-CSF sur la fonction des monocytes et macrophages pulmonaire</i>	23
c. <i>Etude de la signalisation du GM-CSF dans les monocytes et macrophages pulmonaires</i>	26
PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	28
ACTIVITÉS D'ENCADREMENT	36
CAPACITÉ À CONCEVOIR, DIRIGER, ANIMER ET COORDONNER DES ACTIVITÉS DE RECHERCHE	39
1. COORDINATION D'ESSAIS CLINIQUES	39
1.1 <i>Référente recherche clinique</i>	39
1.2 <i>Coordination des essais cliniques de la plateforme Exhalomics®</i>	39
1.3 <i>Autres essais cliniques</i>	41
2. OBTENTION DES CONTRATS DE RECHERCHE	43
3. COLLABORATION AVEC DES EQUIPES DE RECHERCHE	44
PERSPECTIVES DE RECHERCHE	46
1. ETUDE DE LA VOIE DU GM-CSF DANS LE FONCTIONNEMENT DES MACROPHAGES PULMONAIRES	46
1.1 <i>Hétérogénéité des macrophages pulmonaires humains : étude ex-vivo des sous-populations de macrophages pulmonaires et de leur réponse au GM-CSF</i>	46
1.2 <i>Prospec GM : étude prospective d'une cohorte de patients porteurs d'anticorps anti GM-CSF</i>	47
2. <i>Immunomodulation des MPs en transplantation pulmonaire</i>	48
3. INTERACTIONS MPs ET CELLULES EPITHELIALES	49
3.1 <i>Vulnérabilité muqueuse respiratoire</i>	49
3.2 <i>Mutation de STAT3 et atteinte de l'épithélium respiratoire</i>	50
4. RECHERCHE EN PEDAGOGIE : LA QUESTION DU GENRE DANS L'ENSEIGNEMENT	51
REFERENCES	52

INTRODUCTION

Au cours de mon internat de pneumologie, j'ai eu la chance de découvrir l'équipe de pneumologie et de recherche de l'Hôpital Foch où je développe désormais mon activité clinique et mes projets de recherche expérimentaux. Le service regroupe des pôles d'activité variés et complémentaires ; je me suis impliquée dans la prise en charge des manifestations pulmonaires en lien avec un désordre immuno-hématologique : déficit immunitaire héréditaire, maladie hématologique, allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, immunodépression péri-transplantation.

Nous avons des liens forts avec le CEREDIH, Centre de Référence des Déficits Immunitaires Héréditaires, dont nous sommes centre de compétence pour la prise en charge des complications respiratoires de l'adulte. Nous travaillons également en collaboration étroite avec plusieurs services d'hématologie clinique et de greffe de moelle, pour la prise en charge des manifestations pulmonaires de leurs patients. L'hôpital Foch est un important centre de transplantation pulmonaire et rénal, le panorama des complications respiratoires liées à l'immunodépression induite est varié.

Le système respiratoire est constamment exposé aux agressions extérieures : pathogènes infectieux, allergènes, poussières ou autres irritants. L'homéostasie pulmonaire dépend d'un système immunitaire hautement régulé et adaptatif. Le tissu pulmonaire est le siège d'un dialogue étroit entre cellules de l'immunité et cellules structurales (cellules épithéliales bronchiques, pneumocytes, fibroblastes et tissu de soutien). Un dérèglement des systèmes d'immunorégulation, qu'il soit dû à un déficit immunitaire, une répression chimio induite, l'acquisition d'anticorps bloquants ou un trouble de l'hématopoïèse, impactera le fonctionnement du système respiratoire. Les poumons sont en effet l'organe le plus fréquemment atteint par des complications en lien avec l'immunodépression héréditaire ou acquise. Les complications infectieuses (bactériennes, fongiques, virales) sont parmi les plus fréquentes mais le tissu pulmonaire peut également être concerné par des manifestations inflammatoires chroniques en lien avec la perte des systèmes de rétrocontrôles immunitaires ou être le siège de l'expression de conflits immunologiques dans le cas de la greffe d'organe (Graft Versus Host Disease, GVH).

La prise en charge clinique, la description et l'analyse de ces cohortes de patients bien particuliers m'a ainsi permis de développer une expertise singulière en immunopathologie pulmonaire. J'ai pu également développer cette expertise sur le plan fondamental au sein du laboratoire initialement dénommé UPRES EA220, dirigé par Pr Philippe Devillier, désormais VIM-Suresnes depuis le rattachement à l'UMR0892 VIM INRAe Paris-Saclay. En particulier, j'ai développé des projets autour de l'étude des fonctions et de la régulation d'une cellule clé de l'immunité innée pulmonaire : les macrophages pulmonaires. Mon approche s'inscrit dans un cadre translationnel. Les expérimentations menées au laboratoire ont toujours pour point de départ une observation ou problématique clinique et l'utilisation d'échantillons humains comme matériel biologique rend les résultats *in vitro* plus facilement transposables en clinique. Mon intérêt dans la recherche translationnelle se traduit également par la recherche de biomarqueurs associés au diagnostic et pronostic des maladies respiratoires, facilitant le dialogue entre recherche expérimentale et clinique. Le développement de la plateforme Exhalomics© pour la recherche de biomarqueurs dans l'exhalât des patients en est un exemple.

Dans ce mémoire, je souhaite exposer mon parcours de recherche centré sur l'étude des systèmes régulant l'activation des macrophages pulmonaires et des conséquences des anomalies de ces systèmes de régulation en pathologie respiratoire ainsi que sur les moyens développés pour la mise en œuvre de mes recherches dans ma pratique clinique.

CURRICULUM VITAE

SALVATOR Hélène

N  e le 20 Septembre 1982, 3 enfants

Service Pneumologie

Hôpital Foch

40 rue Worth

92150 Suresnes

Tel : 01 46 25 29 55

Courriel : h.salvator@hopital-foch.com

UMR INRAE/0892 - UVSQ

Equipe V2I

Antenne VIM Suresnes

11 rue Guillaume Lenoir

92150 Suresnes

DIPLOMES UNIVERSITAIRES

- **Diplôme Interuniversitaire de Pédagogie Médicale (2019)** Paris VI « La question du genre dans l'enseignement médical »
- **Doctorat d'Université (2018)** Ecole doctorale SDSV, UVSQ Paris Saclay
Sous la direction du Pr P. Devillier – UPRES EA220
« Rôle des adipokines dans la régulation de l'activation des macrophages pulmonaires humains»
- **Diplôme d'Etat de Docteur en médecine (2013)** Paris V
« Manifestations pulmonaires chez les sujets adultes atteints de Granulomatose Septique Chronique »
- **Diplôme d'Etudes spécialisées en pneumologie (2013)** Paris V
- **Diplôme de Master 2 Biologie (2011) B2PCR**
- **Diplôme Interuniversitaire de Stratégies thérapeutiques en Pathologies Infectieuses, Paris V**

TITRES HOSPITALIERS

- Cheffe de clinique assistante des Hôpitaux de Paris 2014-2017
- Interne des Hôpitaux de Paris 2007-2011

FONCTIONS HOSPITALIÈRES et UNIVERSITAIRES

ACTUELLES :

Pneumologue, Médecin-chercheur depuis 2020

- Activité clinique 50% Service de pneumologie à l'Hôpital FOCH (Pr A Magnan)
Coordination de la Filière Hématologie-déficit immunitaire
Coordination de la Filière Recherche Clinique
- Activité recherche 50% UMR0892 VIM Virologie et Immunologie Moléculaire (Dr Sabine Riffault),   quipe V2I Vaccins Immunopathologie Immunomodulation (Dr Isabelle Schwartz), antenne VIM-Suresnes (Pr P Devillier)

ANTERIEURES :

Internat de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris - Paris V – DES pneumologie

- 1^{er} semestre: Pneumologie Hôpital Saint Antoine, Pr Lebeau
- 2^{ème} semestre: Maladies infectieuses Hôpital Tenon, Pr Pialoux
- 3^{ème} semestre: Pneumologie Hôpital Cochin, Pr Dusser
- 4^{ème} semestre: Réanimation polyvalente CHSF Evry, Dr Caen
- 5^{ème} semestre: Pneumologie Hôpital Foch, Dr Stern
- 6^{ème} semestre: Inter CHU Service Endoscopie Respiratoire CHRU de Lille, Dr Ramon
- 7^{ème} semestre: Pneumologie Hôpital Avicenne, Pr Valeyre
- Surnombre : Pneumologie Hôpital Tenon, Pr Cadranel
- 8^{ème} semestre: Médecine Interne Hôpital Cochin, Pr Lejeune

Cheffe de clinique-assistante des hôpitaux 2014-2017

Service de pneumologie de l'Hôpital FOCH, Pr Couderc. Faculté de Médecine Simone Veil, UVSQ

Mobilité post doctorale 2019-2020

Laboratory of Clinical immunology and Microbiology- Pr Steven Holland

National Institute of Health, Bethesda, USA

“Characteristics of anti GM-CSF autoantibodies in patients with pulmonary alveolar proteinosis, cryptococcal meningitis and severe Nocardiosis”

ACTIVITÉS D'ENSEIGNEMENT

- **Coordination et organisation de l'enseignement au sein du service**
 - Enseignement pratique pour les étudiants DFGSM et DFASM: 1 demi-journée par semaine
- **Enseignement facultaire second cycle UVSQ**
 - Sémiologie DFGSM
 - Séminaire de Pneumologie DFASM1 4h/an
- **Master :**
 - Master B2PCR, UE Pharmacologie 2h/an depuis 2018
- **Autres activités enseignement**
 - Enseignement dirigé de propédeutique 10h en 2015
 - Examens cliniques objectifs et structurés (ECOS) 2h en 2022
 - Evaluation anglais 2022
 - Ecole maïeutique Foch UVSQ 27h depuis 2015
 - Formation continue médecins généralistes

ACTIVITÉS D'INTÉRÊT GÉNÉRAL

- Membre du BIPE (Bureau interface Professeur Etudiants), cellule d'écoute, d'aide et d'orientation des étudiants en médecine en difficulté. Depuis 2021
- Secrétaire nationale de l'Association des Internes de Pneumologie AjpO2 2011-2014
- Relectrice pour
 - Lancet respiratory Medicine
 - American Journal of Respiratory Critical Care Medicine
 - Journal of Thoracic disease
 - Journal of Infectious Disease
 - Frontiers in Allergology
 - British Medical Journal
 - Pediatric Allergy and Immunology

- Respiratory Medicine and Research

SOCIÉTÉS SAVANTES

Membre de la Société de Pneumologie de Langue Française depuis 2011

Membre de l'European Society of Respiratory Disease depuis 2014

Membre de l'European Society for Immunodeficiency depuis 2018

EXPOSE DES TRAVAUX DE RECHERCHE

1. Thèmes de recherche

1.1 Macrophages

Les macrophages ont été décrits pour la première fois à la fin du XIX^e siècle par le biologiste russe Metchnikoff comme des cellules mobiles capables de phagocyter des bactéries et de jouer un rôle important dans l'homéostasie tissulaire (1).

Cellule clé de l'immunité innée, les macrophages sont les premiers acteurs de la défense antimicrobienne et les garants de l'homéostasie tissulaire. Leur double fonction (protection de l'hôte et lutte contre les lésions tissulaires) est maintenue par de fins systèmes de régulation. La phagocytose, la clairance et la sécrétion de médiateurs par les macrophages contribuent aux défenses innées et adaptatives contre l'infection et soutiennent le processus d'inflammation ; les mêmes processus, mais avec des signaux sécrétés distincts, rétablissent l'homéostasie et favorisent la réparation tissulaire (2). Les macrophages sont présents dans tous les tissus de l'organisme. Leur morphologie et leur fonction varient selon le tissu dans lequel ils se trouvent, sous l'influence de nombreux facteurs de leur micro-environnement (2).

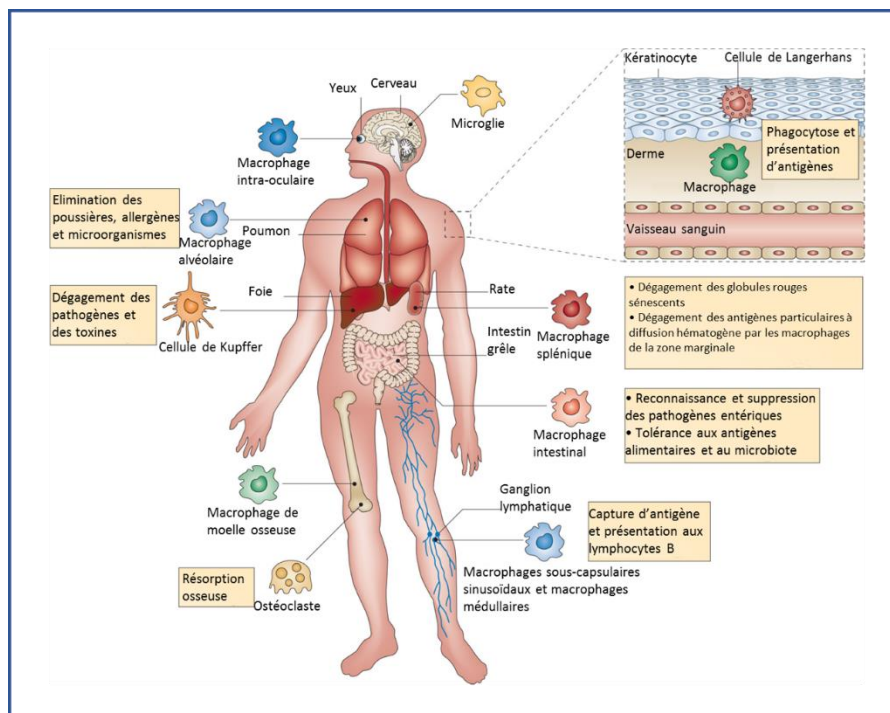


Figure 1. Sous-populations de macrophages en fonction de leur localisation anatomique.

D'après Murray et al., nature reviews immunology, 2011.

Ces cellules ont été initialement décrites comme l'étape finale de différenciation de progéniteurs sanguins issus de la moelle osseuse, CFU-ML (Cloning Forming Unit of Myeloid and Lymphoid cells), sous l'influence de facteurs de croissance (GM-CSF, M-CSF), de molécules chemoattractantes et de médiateurs tissulaires locaux. Cependant, des travaux plus récents ont prouvé que la moelle osseuse n'était pas la seule source de macrophages tissulaires mais qu'il existait un contingent de progéniteurs au sein de chaque tissu (3). L'avènement des techniques de fate-mapping puis de séquençage à l'échelle cellulaire ont permis de montrer qu'un certain nombre de macrophages tissulaires dérivait de progéniteurs embryonnaires, déterminés avant la naissance et qui se maintiennent au cours de la vie (4–6). Ainsi, il est désormais admis que la plupart des « macrophages résidents » tissulaires sont des cellules à longue durée de vie dérivées d'une vague hématopoïétique transitoire de progéniteurs érythro-myéloïdes émergeant dans le sac vitellin, qu'elles sont capables de s'auto-renouveler par prolifération sans perte de fonction, ce qui les rend indépendants des progéniteurs hématopoïétiques (7,8).

1.2 Macrophages pulmonaires (MPs)

Le système respiratoire étant la plus grande surface d'échange du corps humain avec le monde extérieur, les macrophages pulmonaires (MPs) sont constamment exposés aux agents exogènes. Ils jouent à ce titre un rôle clé dans la défense contre les agressions extérieures tout en préservant l'intégrité du tissu. Les macrophages pulmonaires sont une population hétérogène, tant sur le plan de leur origine, de leur localisation, de leur fonction que de leur état d'activation. Il existe au moins deux catégories principales de MP : les macrophages alvéolaires (AMs) et les macrophages interstitiels (IMs) auxquels s'ajoute un état intermédiaire sous la forme de macrophages intravasculaires.

Classiquement, la fonction de ces sous-groupes de MPs est reliée à leur localisation dans le poumon et leurs interactions au sein du microenvironnement. Les AMs catabolisent le surfactant pulmonaire, phagocytent les agents exogènes et orchestrent les réponses immunitaires contre les pathogènes inhalés. Les IMs, situés dans l'espace entre l'épithélium pulmonaire et le système vasculaire sont impliqués dans le remodelage tissulaire et contribuent à l'immunité barrière par leur fonction de présentation d'antigène (9). Ces sous populations se distinguent par leur localisation et leurs marqueurs de surface (10–13). Les principaux marqueurs extra cellulaires pour les distinguer en cytométrie sont :

- Monocytes CD45+ CD14+ CD206- CD169 –
- Macrophages intravasculaires : CD45+ CD14lo CD16+ CD206- CD169 –
- IMs : CD45+ HLA DR+ CD206+ CD169-
- AMs : CD45+ HLA DR+ CD206+ CD169+

Nos connaissances sur l'ontogénie des MPs dérivent en grande partie des observations faites sur modèle murin. Tan et Krasnow ont récemment montré que la colonisation du poumon par les macrophages se produit par trois vagues séquentielles, chaque population se localisant dans une niche anatomique distincte (14). La première vague proviendrait des précurseurs du sac vitellin et se répandrait uniformément dans l'interstitium pulmonaire au cours du développement embryonnaire ; au cours de la première semaine de vie, ces macrophages pulmonaires interstitiels dits " primitifs " se relocalisent en périphérie, dans les zones sous-mésothéliales et périvasculaires. La deuxième vague

proviendrait du foie fœtal. Les cellules issues de cette vague se distribuent dans tout l'interstitium pulmonaire pendant le développement embryonnaire, mais au cours de la première semaine de vie postnatale, largement sous l'influence du facteur de croissance GM-CSF, elles pénètrent dans les alvéoles, se différencient et se maintiennent en tant que macrophages alvéolaires. Au cours de cette même période, une troisième vague de macrophages, appelés macrophages interstitiels " définitifs ", arrive et peuple de manière diffuse l'interstitium pulmonaire.

Chez l'homme, l'absence de modèle *in vivo* adéquat rend plus spéculatives les données sur l'origine des macrophages pulmonaires. Toutefois, des données récentes suggèrent une trajectoire de développement similaire basée sur le même principe de compartimentalisation spacio-temporelle (6,15). Une des illustrations en est que le poumon des enfants morts-nés ne contient pas de macrophages alvéolaires alors que cette sous population apparaît dans les prélèvements pulmonaires réalisés chez des enfants après la naissance (10). A l'état basal, les macrophages alvéolaires sont des cellules à longue durée de vie qui maintiennent leur pool par auto-renouvellement indépendamment des monocytes issus de la moelle osseuse alors que les macrophages interstitiels qui présentent un turnover plus rapide sont supposés dépendre, au moins en partie, de progéniteurs circulants (16,17). Lors d'un processus inflammatoire, d'un déficit des pools de macrophages alvéolaires et/ou interstitiels en lien avec le vieillissement ou une agression tissulaire, des monocytes dérivés de la moelle sont susceptibles d'être recrutés dans le poumon. Il a été montré que ces monocytes issus de la moelle sont capables, sous l'influence du micro-environnement pulmonaire, de repeupler la niche pulmonaire et se différencier en AMs/IMs résidents (15,18,19).

Un degré de complexité supplémentaire dans la spécialisation des MPs est introduit par la notion de polarisation. Les macrophages sont des cellules plastiques oscillant entre plusieurs états d'activation en fonction des stimuli de leur microenvironnement (20). Les états de polarisation M1/M2 ont été définis selon le type de stimulus inducteur, le profil de médiateurs produits par les macrophages en réponse et la nature des récepteurs exprimés à leur surface (2,21). De fins systèmes de régulation permettent à la cellule macrophagique de moduler son état d'activation sur une large palette et d'alterner entre sa fonction de réponse aux agents exogènes associée à la polarisation M1 pro-inflammatoire et sa fonction de réparation/remodelage tissulaire associée à la polarisation M2 anti-inflammatoire et immunorégulatrice (22). Cette adaptabilité des macrophages à différents signaux environnementaux est sous-tendue par des processus de modification épigénétique, transcriptionnelle et des réseaux de microARN, tout en tenant compte de l'empreinte immunitaire et des phénomènes de trained immunity (23).

1.3 Rôle des MPs dans les pathologies respiratoires

a. Protéinoase alvéolaire pulmonaire

La protéinoase alvéolaire pulmonaire (PAP) est le modèle caractéristique de pathologie respiratoire en lien avec une dysfonction des macrophages alvéolaires. Caractérisée par une accumulation de surfactant comblant les alvéoles, elle est responsable d'une pneumopathie interstitielle progressivement fibrosante (24). Chez les patients atteints de PAP, tout comme chez les souris

déficientes en signalisation GM-CSF, les macrophages alvéolaires sont anormalement grands et spumeux, ont une viabilité réduite et présentent des fonctions altérées, notamment une réduction de l'expression de plusieurs récepteurs, des réponses cytokines pro-inflammatoires, de la phagocytose et de l'élimination du surfactant et des débris à la surface des alvéoles.

La PAP auto-immune, liée à l'acquisition d'auto anticorps anti GM-CSF, compte pour 90% des cas, avec une prévalence rapportée de 7 à 10 par million d'habitants (24,25)

En 1999, le groupe de Nakata a identifié pour la première fois des auto-anticorps spécifiques du GM-CSF chez des patients atteints d'une PAP acquise (idiopathique). Il s'agissait d'auto-anticorps polyclonaux, principalement d'IgG1 et d'IgG2, hautement spécifiques pour le GM-CSF, à forte affinité (KD =20 pM) et neutralisant le GM-CSF à des concentrations des milliers de fois supérieures que les concentrations physiologiques de GM-CSF (26,27). Ils reproduisent les caractéristiques principales de la PAP après injection dans des primates non humains en bonne santé (28), prouvant que ces auto anticorps étaient bien le moteur pathogène de la PAP idiopathique, désormais maintenant reconnue comme une "PAP auto-immune"

Les concentrations d'autoanticorps anti-GM-CSF dans le sang ne sont pas en corrélation avec la gravité de la maladie et il est à noter que des autoanticorps GM-CSF ont aussi été mis en évidence chez des sujets sains, bien qu'à plus faible concentration et même dans des préparations d'immunoglobulines pharmaceutiques préparées à partir d'échantillons de sang de donneurs sains. Toutefois, il est désormais retenu un seuil critique d'auto-anticorps GM-CSF (5 µg/ml de sérum) associé à un risque accru de PAP auto-immune (29,30)

Les autres causes de PAP peuvent être i) une PAP héréditaire en lien avec des mutations des gènes codant pour des sous-unités du récepteur du GM-CSF, pour les protéines du surfactant ou pour l'enzyme methionine ARNT synthétase (31,32) ii) ou encore une PAP secondaire survenant dans le cadre de maladies hématologiques principalement myéloïdes (tumeurs malignes myéloïdes aiguës ou chroniques, syndromes myélodysplasiques y compris ceux liés à une mutation GATA2), ou d'une exposition environnementale ou médicamenteuse altérant les fonctions des macrophages alvéolaires (33,34).

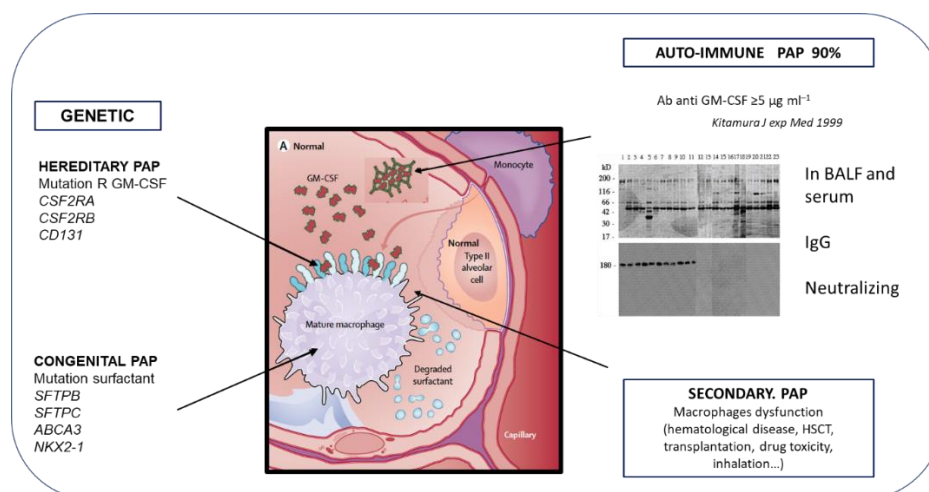


Figure 2. Principales causes de protéinose alvéolaire pulmonaire

La PAP auto-immune est associée à un risque accru d'infections pulmonaires, notamment par des

pathogènes opportunistes tels que *Nocardia* spp, mycobacteries et *Aspergillus*, ce qui est cohérent avec l'altération observée des fonctions immunitaires innées des cellules myéloïdes (35). Ces infections peuvent être sévères, et représentent 18 à 20 % des décès attribuables à la PAP

Aucun médicament n'a encore été approuvé comme traitement de la PAP auto-immune. La prise en charge peut faire appel au lavage thérapeutique (whole lung lavage), une procédure au cours de laquelle l'excès de surfactant est éliminé mécaniquement. Des essais cliniques récents ont montré que l'administration de GM-CSF recombinant par voie inhalée améliorait, sur une courte période, les paramètres d'oxygénation et radiologiques en lien avec les manifestations cliniques de la PAP (36,37) La prescription de rituximab chez un petit nombre de patients atteints de PAP auto-immune a montré des résultats cliniques décevants (38). Des thérapeutiques visant le métabolisme du cholestérol, telle la pioglitazone, sont encore à l'étude (39,40).

De nombreuses questions concernant la physiopathologie et la prise en charge de la PAP sont encore non résolues. Les mécanismes menant à l'apparition des auto-anticorps anti GM-CSF et les facteurs déterminant leur pathogénicité restent à déterminer.

Au cours de mon exercice clinique, j'ai été confrontée à des cas de PAP secondaires dans un contexte de maladie hématologique. J'ai décrit notamment des cas de PAP chez des patients allogreffés de moelle pour lesquels je discutais de l'imputabilité du médicament ruxolitinib dans la survenue de la pathologie pulmonaire (41,42). Ce médicament, inhibiteur de JAK1/2 prescrit pour le traitement d'une GVH cutanée, n'était pas alors répertorié comme pneumotoxique induisant des PAP. Pourtant, le mécanisme d'action inhibant JAK2, étape précoce de la signalisation du GM-CSF dans les macrophages, fait sens. D'autres équipes ont par la suite décrit des cas similaires de PAP chez des patients traités par ruxolitinib (43). J'ai également mené une étude sur données interrogant les centres greffeurs de moelle osseuse français sur les cas déclarés de PAP survenant après une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) (42). Cette étude, réalisée en collaboration avec la Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), a permis d'identifier et décrire les tableaux cliniques rencontrés en cas de PAP post allogreffe.

L'étude des caractéristiques biologiques des auto-anticorps anti GM-CSF a donné lieu à mon projet de recherche pendant mon stage de mobilité post doctorale, que je détaillerai dans la section « résultats ».

Salvator H., Berti E., Catherinot E., Rivaud E., Chabrol A., Nguyen S., Zemoura L., Cardot E., Tcherakian C., Couderc LJ.
Pulmonary alveolar proteinosis and Mycobacterium abscessus lung infection related to ruxolitinib after allogeneic stem cell transplantation
Eur Respir J. 2018 May 30;51(5):1701960

Salvator H., Tcherakian C, Maillard N, Milin S, Bergeron A, Bondeelle L, Meignin V, Nguyen S, Souchet L, Guenounou S, Evrard SM, Rubio MT, Robin M, Sestili S, Brissot E, Fajac A, Catherinot E, Givel C, Chabrol A, Goyard C, Longchamp E, Chabi-Charvillat ML, Bernaudin JF, Couderc LJ. Pulmonary Alveolar Proteinosis After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation in Adults: A French Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire Survey.
Chest. 2021 Nov;160(5):1783-1788

b. Déficit immunitaire : exemple de la Granulomatose Septique Chronique

En contact étroit avec l'environnement, les macrophages alvéolaires sont les garants de la phagocytose des pathogènes inhalés.

Les anomalies des cellules phagocytaires représentent 10 à 15% des déficits immunitaires primitifs. Parmi les déficits de la phagocytose, la Granulomatose Septique Chronique (Chronic Granulomatous Disease, CGD) est la maladie la plus fréquemment rencontrée, représentant 4% des déficits immunitaires héréditaires (DIH) identifiés et colligés par le Centre de Référence des Déficit Immunitaires Héréditaires (CEREDIH), soit 246 cas identifiés en 2018 (44)

Elle est causée par une mutation dans les gènes codant pour les sous-unités de l'enzyme Nicotinamine Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH) oxydase, rendant les cellules de l'immunité innée incapables d'éliminer les pathogènes phagocytés et de contrôler l'inflammation induite. Elle se caractérise par la récurrence d'infections bactériennes et fongiques sévères et par une inflammation tissulaire granulomateuse. La dichotomie de cette présentation clinique rend bien compte des fonctions complémentaires assurées par le macrophage : détruire efficacement les pathogènes internalisés, notamment par la production de produit réactifs de l'oxygène (ROS) au fort pouvoir bactéricide, mais également réguler et limiter l'inflammation tissulaire induite par l'infection (45).

Les manifestations pulmonaires sont parmi les plus fréquentes au cours de la CGD, source d'une morbi-mortalité importante. Mon travail de thèse d'exercice a porté sur la description et la caractérisation des manifestations pulmonaires des sujets adultes atteints de CGD de la cohorte française du CEREDIH (n=64) (46). Ce travail a montré que les événements infectieux respiratoires restaient un problème fréquent, malgré la prescription d'une prophylaxie anti-infectieuse. Parmi ceux-ci, les infections fongiques présentaient comme caractéristiques d'être souvent pauci-symptomatiques, ce qui pose la question d'un dépistage organisé. Les manifestations inflammatoires regroupaient les masses granulomateuses et les pneumopathies interstitielles, les premières étant plus sensibles aux immunosuppresseurs que les secondes. Ces manifestations pulmonaires, plus fréquentes encore à l'âge adulte que dans l'enfance sont à l'origine de séquelles pulmonaires et impactent le devenir fonctionnel des patients sur le long terme. Un suivi spécialisé est nécessaire, tant pour dépister les nouvelles complications que pour évaluer les séquelles au long cours. La préservation du pronostic fonctionnel respiratoire fait partie des arguments à prendre en compte lors de la discussion de l'indication d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans ce contexte (46,47).

Salvator H, Mahlaoui N, Catherinot E, Rivaud E, Pilmis B, Borie R, Crestani B, Tcherakian C, Suarez F, Dunogue B, Gougerot-Pocidal MA, Hurtado-Nedelec M, Dreyfus JF, Durieu I, Fouyssac F, Hermine O, Lortholary O, Fischer A, Couderc LJ.
Pulmonary manifestations in adult patients with chronic granulomatous disease.
Eur Respir J. 2015 Jun;45(6):1613-23.

c. Dynamique de repeuplement immunitaire pulmonaire après une transplantation

La question de la dynamique des macrophages pulmonaires est une question passionnante qui a des implications majeures en pathologie et qui n'est pas encore résolue en ce qui concerne le système respiratoire humain.

Les études sur modèle murin ont permis d'établir que la colonisation du poumon par les macrophages se faisait par vagues successives, que les monocytes ne contribuaient pas de façon significative au pool de macrophages pulmonaires en période stable (7) mais que, au contraire, ils semblaient être fortement activés au cours de la maladie pulmonaire fibrosante et participeraient à la fibrogénèse (48). Chez l'homme, les expériences de déplétion cellulaire ou de parabiose ne sont pas envisageables mais les constatations faites chez les sujets receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques ou de poumon sont particulièrement informatives.

Plusieurs études en transplantation pulmonaire ont trouvé des nombres relativement limités (~20%) de macrophages alvéolaires du donneur dans les poumons après la transplantation, et cette proportion diminuait avec le temps (49–53). Les résultats pouvaient varier en fonction du type de technique utilisé pour déterminer l'origine des macrophages (hybridation in situ des chromosomes sexuels en cas de miss match de sexe ou utilisation des mismatch HLA ; échantillonnage dans le tissu ou dans le LBA). Récemment, Byrne et al., en se basant sur l'étude des macrophages alvéolaires du LBA et la non concordance de sexe couplés à du séquençage unicellulaire, ont montré que la grande majorité des macrophages alvéolaires dérivait de précurseurs monocytaires du receveur et colonisaient le poumon du donneur assez rapidement après la greffe (<1an) (54). Collectivement, ces données remettent en question le modèle, établi chez la souris, dans lequel les AMs dérivés d'un progéniteur prénatal persistent dans le poumon humain pendant toute une vie. Ces différences entre espèces pourraient s'expliquer d'abord par le fait que le poumon humain est soumis à plus d'agressions environnementales et de déclencheurs antigéniques sur une période bien plus longue que ne le permettent les études murines, où les souris sont hébergées dans un environnement stérile.

Dans le cas des greffes de cellules souches hématopoïétiques, la reconstitution immunitaire en général et pulmonaire en particulier est un processus complexe et prolongé qui dépend du type de greffe (autologue ou allogénique), du conditionnement (myéloablatif ou non myéloablatif), de la source de la greffe (cellules souches du sang périphérique, moelle osseuse) et enfin de la présence d'une maladie du greffon contre l'hôte (GVH) (55,56). La déplétion du pool de macrophages alvéolaires du receveur est plus intense en cas de conditionnement comprenant une irradiation corporelle totale (Total Body irradiation, TBI) en comparaison aux conditionnements associant cyclophosphamide et busulfan, la proportion de AMs d'origine du donneur atteignant respectivement 80% vs 56% à 5 semaines (57,58). Chez les humains, les analyses du liquide de LBA après une allogreffe ont montré une augmentation significative du nombre d'AMs dès le 50ème jour, qui présentaient une expression accrue des marqueurs de prolifération et semblaient être principalement d'origine du donneur (59). Une autre étude sur le liquide de LBA après une allogreffe de CSH a montré une reconstitution du pool d'AMs par des cellules d'origine du donneur au bout de 90 jours (53).

Comment les particularités de cette dynamique de repeuplement des macrophages pulmonaires à partir

de précurseurs embryonnaires ou hématopoïétiques peut-elle avoir des implications en pathologie respiratoire ? Nous avons approché cette question en clinique dans deux études.

La première visait à étudier le chimérisme présent dans le poumon après une allogreffe de CSH (60). Il s'agissait d'une étude histologique de biopsies pulmonaires réalisées chez trois sujets receveurs d'une allogreffe de CSH en mismatch de sexe. Elle mettait en évidence, grâce à la technique d'hybridation in situ des chromosomes sexuels, un chimerisme dans les macrophages et les cellules épithéliales pulmonaires. Les prélèvements étaient réalisés à moins d'un an de la greffe chez 2/3 patients.

J'ai également coordonné l'enquête nationale sur les cas de PAP survenant chez des receveurs de CSH allogéniques (42). Les cas rapportés se scindaient en deux situations cliniques : les PAP précoces et aiguës pendant la période d'aplasie en lien avec la déplétion immunitaire générale et des macrophages alvéolaires en particulier alors que les cas tardifs, plus progressifs, étaient suspectés d'être induits par un traitement pneumotoxique. L'induction d'un défaut qualitatif des macrophages alvéolaires par un médicament peut varier en fonction des interactions médicamenteuses en jeu mais également de facteurs liés à l'hôte. Parmi ceux-ci, l'origine des macrophages (donneur vs receveur, progéniteur vs monocytes circulants) pourrait influencer sur leur sensibilité à tel traitement. Par ailleurs, Philippot et al. ont rapporté cinq cas de PAP survenant dans les suites d'une transplantation pulmonaire. Chez deux patients, receveurs d'une transplantation unipulmonaire, la PAP concernait exclusivement le poumon transplanté. Ces cas illustrent dans quelles mesures l'origine et le type de macrophages peuvent influencer leurs fonctions et avoir une traduction clinique.

Judet A, C Copie-Bergman , L Zemoura , E Catherinot, N Martin , E Rivaud, S Nguyen , M T Rubio , C Belleguic, E Longchamp, C Tcherakian , L J Couderc, Salvator H; Lung Study Foch Hospital Group for Immunosuppressed Patients. Epithelial chimerism in lung tissue after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Bone Marrow Transplant. 2018 Apr;53(4):474-477

Salvator H, Tcherakian C, Maillard N, Milin S, Bergeron A, Bondeelle L, Meignin V, Nguyen S, Souchet L, Guenounou S, Evrard SM, Rubio MT, Robin M, Sestili S, Brissot E, Fajac A, Catherinot E, Givel C, Chabrol A, Goyard C, Longchamp E, Chabi-Charvillat ML, Bernaudin JF, Couderc LJ. Pulmonary Alveolar Proteinosis After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation in Adults: A French Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire Survey.

Chest. 2021 Nov;160(5):1783-1788

2. Principaux résultats acquis

2.1 Présentation de l'unité de recherche : UMR0892 et VIM-Suresnes

J'ai intégré en 2011 le laboratoire UPRES EA 220 dirigé par le Pr Philippe Devillier pour la réalisation de mon stage de Master2. Ce laboratoire a été rattaché en 2021 à l'unité de recherche expérimentale UMR 0892 INRAe UVSQ qui regroupe des chercheurs de l'INRAe de l'unité Virologie et Immunologie Moléculaire (VIM) dirigée par le Dr Sabine Riffault et plus spécifiquement de l'équipe Vaccin immunopathologie et immunomodulation (V2I) dirigée par le Dr Isabelle Schwartz, ainsi que des enseignants-chercheurs de l'UVSQ spécialisés en Pneumologie (Pr A. Magnan, Pr A. Roux, Dr H Salvator), en pharmacologie respiratoire (Pr P ; Devillier) et en transplantation pulmonaire (Anesthésie (Dr M. Le Guen), chirurgie thoracique (Pr E. Sage)). Le laboratoire UPRES EA220, devenu une antenne de l'équipe V2I, a alors été renommé VIM-Suresnes.

Sur le site VIM de Jouy en Josas l'équipe V2I a une expertise rare, de niveau international, en immunologie pulmonaire chez l'animal et travaille en étroite collaboration avec les médecins et chirurgien de la Chaire Universitaire de Transplantation (Pr Sage, Dr Glorion, Pr Roux, Pr Leguen) développant des projets de recherche sur une plateforme de chirurgie expérimentale animale.

Sur le site de Foch, l'antenne VIM-Suresnes a développé une expertise unique sur les cultures primaires de cellules épithéliales, musculaires lisses bronchiques et de macrophages pulmonaires humains, réalisées à partir de pièces opératoires de patients pris en charge en chirurgie thoracique. L'unité de lieu avec l'hôpital Foch permet une interaction forte entre les équipes de recherche et les cliniciens, un accès direct au centre de ressources biologiques et des échanges avec l'unité de recherche clinique dédiée à l'analyse de biomarqueurs dans l'exhalat (Plateforme Exhalomics).

Les interactions privilégiées entre équipes de recherche des deux sites permettent d'envisager des projets collaboratifs translationnels, de l'échelle cellulaire à l'humain en passant par l'animal, répondant parfaitement aux préoccupations actuelles d'une médecine « One Health ».

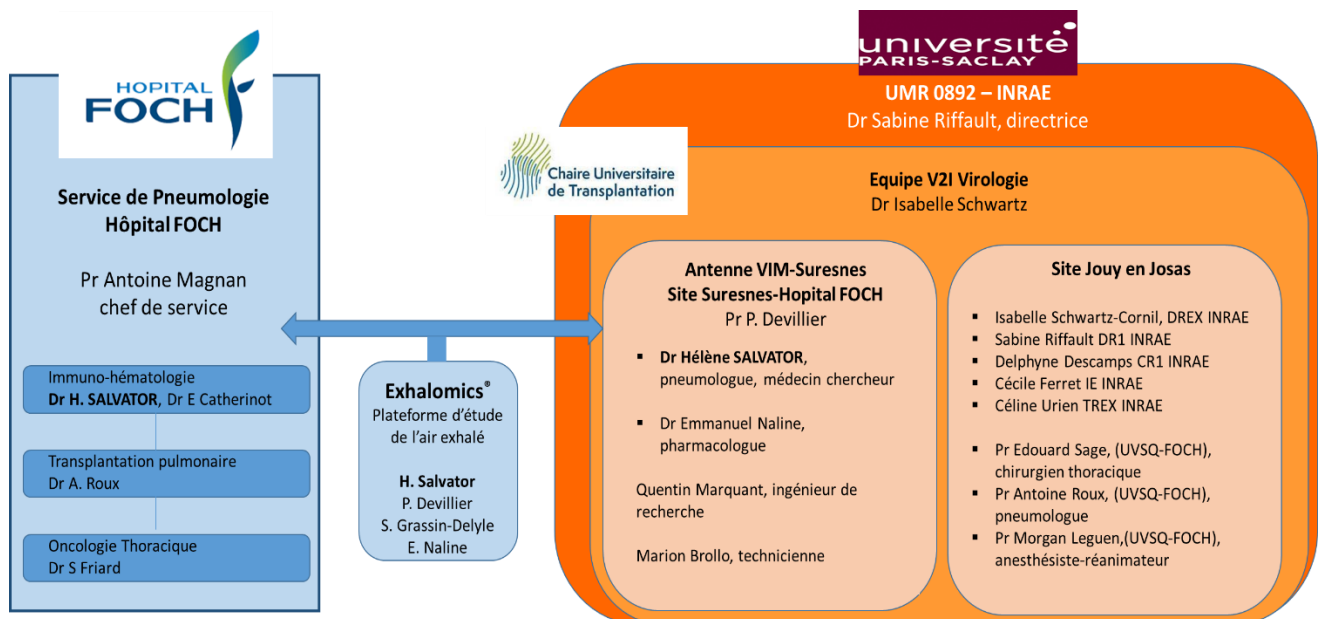


Figure 3. Organigramme et interactions cliniques de l'unité de recherche UMR0892

2.2 Obésité et poumon : modulation des MPs par les adipokines

Contexte : Juin 2009, comme une répétition... Un nouveau virus respiratoire ultra-transmissible et potentiellement mortel se répand dans l'hémisphère Sud et sème la panique. Devant l'ampleur de l'épidémie liée au nouveau virus grippal H1N1, l'OMS qualifie la situation de pandémie. En France, la fin de l'épidémie est annoncée le 13 janvier 2010. Au cours de l'hiver 2009, la grippe aura été responsable de 3.5 millions de consultations pour syndrome grippaux, 1334 hospitalisations pour cas graves et 312 décès (InVs). Le taux de complications sévères était finalement comparable aux épidémies de grippe saisonnières antérieures mais les catégories de personnes touchées ont été très différentes. L'épidémie de grippe s'est en effet répandue plus particulièrement parmi les sujets jeunes et deux catégories de patients étaient particulièrement représentées parmi les cas sévères : les femmes enceintes et les sujets obèses. L'InVs estimait que 6% des personnes décédées de la grippe en France étaient obèses et cette sur-représentation des sujets obèses parmi les cas graves de grippe (hospitalisation en réanimation, décès) était remarquée dans tous les pays touchés et tout à fait inhabituelle par rapport aux épidémies antérieures. Ces constatations seront d'ailleurs à l'origine d'une modification de la politique vaccinale du Haut Conseil de la Santé Publique, recommandant dès Avril 2010 la vaccination antigrippale saisonnière chez les femmes enceintes quel que soit le terme de la grossesse et chez les sujets obèses avec un IMC > 30.

Alors interne dans le service de pneumologie de l'hôpital Foch, ces observations ont initié mes réflexions sur les mécanismes liant surpoids et immunité respiratoire. Dans une revue publiée dans La Revue de Pneumologie Clinique, j'ai relevé les principales données épidémiologiques mondiales concernant les infections grippales sévères chez les sujets obèses et discuté l'impact de l'obésité sur le fonctionnement

du système respiratoire, sur le plan mécanique, immunologique et thrombotique (61). Le rôle des adipokines, cytokines produites par le tissu adipeux, comme potentiels agents immunorégulateurs au sein du système respiratoire y est suggéré. La leptine et l'adiponectine sont parmi les adipokines les mieux caractérisées. Les taux circulants de la première augmentent en cas d'obésité alors que la concentration de l'adiponectine, au contraire, est inversement corrélée à la masse adipeuse. Les variations observées dans les taux de ces adipokines ont été mises en relation avec certaines complications de l'obésité (maladies cardiovasculaires, ostéoporose...)

Objectif : J'ai souhaité aller plus loin dans l'exploration de la susceptibilité infectieuse des sujets obèses. Il s'agit du sujet de recherche que j'ai développé au cours de mon Master2 et de ma thèse au sein du laboratoire UPRES EA220 sous la direction du Pr Philippe Devillier. Le laboratoire maîtrisait un modèle de cultures primaires de macrophages pulmonaires et de cellules épithéliales bronchiques issus d'explants de parenchyme et de bronches pulmonaires humains. Il y était développé des techniques d'étude des états de polarisation des MPs humain par la caractérisation du spectre de cytokines/chimiokines produites en réponse à des stimuli infectieux. J'ai étudié le rôle de certaines adipokines comme agents immunomodulateurs dans ce modèle et en particulier leur impact sur l'état de polarisation des MPs.

Méthodologie : Des fragments de tissu pulmonaire sont récupérés à partir de pièces opératoires de patients opérés pour cancer pulmonaire à l'hôpital Foch. Ils sont découpés en fragments pour réaliser des cultures d'explants. Les macrophages pulmonaires sont isolés après fragmentation fine du tissu, lavage, récupération du culot cellulaire et par adhérence au support de culture. Les bronches segmentaires proximales sont disséquées, décontaminées ; les cellules épithéliales sont détachées, expandues en flasque avant d'être placées dans des plaques de culture en immersion.

Ces cultures cellulaires sont réalisées en présence d'adipokines (leptine, adiponectine, chemérine, visfatine) à concentrations variables et exposées à des stimuli pro inflammatoires/agent polarisant M1 (agonistes des récepteurs TLR (LPS, Poly I:C)) ou agents polarisant M2 (IL-4, IL-13).

L'étude du tonus bronchique a été réalisée sur des anneaux bronchiques en cuve à organe isolé.

Principaux résultats :

- ✓ Le parenchyme pulmonaire est source de production d'adipokines (leptine, adiponectine), l'adiponectine étant la plus abondante d'entre elles. Comme pour l'adiponectine circulante, les taux produits par le tissu pulmonaire sont inversement proportionnels à l'IMC. Les récepteurs à la leptine et à l'adiponectine (AdipoR1 et R2) sont exprimés à la surface des macrophages pulmonaires.
- ✓ La leptine, à forte concentration (1000 ng/ml) induit une augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL6, CCL3, CCL5, CXCL8) mais n'a pas d'effet sur la production de cytokines induites par un polarisant M1 (LPS, Poly I:C) ou M2 (IL4, IL13)
- ✓ L'adiponectine, à l'inverse, ne module pas la production de cytokines par des MPs non stimulés. Par contre, elle inhibe, de façon concentration dépendante la production de cytokines M1 induites par le LPS et le Poly I:C (TNF α , IL6, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL1, CXCL8, CXCL10) et M2 induite par l'IL-4 (CCL13, CCL18, CCL23).
- ✓ Pour être active, l'adiponectine doit comprendre l'isoforme de bas poids moléculaire de 30kDa.

- ✓ L'adipoRon, molécule synthétique agoniste des AdipoR1 et R2 présente un effet similaire à l'adiponectine sur la modulation de la production de cytokines par des MPs
- ✓ Les récepteurs à l'adiponectine sont également exprimés par des cellules épithéliales bronchiques et des cellules musculaires lisses bronchiques. L'adiponectine module de façon différentielle la production de cytokines par des cellules épithéliales bronchiques en immersion : diminution de la production de CCL2 et CXCL1 en basal mais induction de la production de IL6, CXCL8, CCL20. Après stimulation par du TNF, seules les productions de CXCL1 et CCL2 sont régulées négativement par l'adiponectine.
- ✓ Enfin, l'adiponectine et l'adipoRon exercent un effet bronchorelaxant. J'ai montré que l'adiponectine recombinante produite par *E.Coli* induisait une relaxation puissante des bronches pré-contractées à l'histamine, avec un EC50 mesuré à 2,26 +/- 0,27 mg/l ou 85 +/- 9 nM, et une efficacité maximale de bronchodilatation mesurée à 89% de la relaxation max induite par la théophylline. L'AdipoRon et le peptide 112254 (peptide mimant la forme longue d'APN) induisaient également une bronchodilatation, même si leur effet était moins puissant (EC50 mesuré à 5,2 +/- 0,8 µM pour l'AdipoRon).

Résumé du projet Adipokines-Poumon

Ce projet de recherche est le premier à explorer le rôle des adipokines sur le fonctionnement des cellules structurelles et immunitaires pulmonaires humaines.

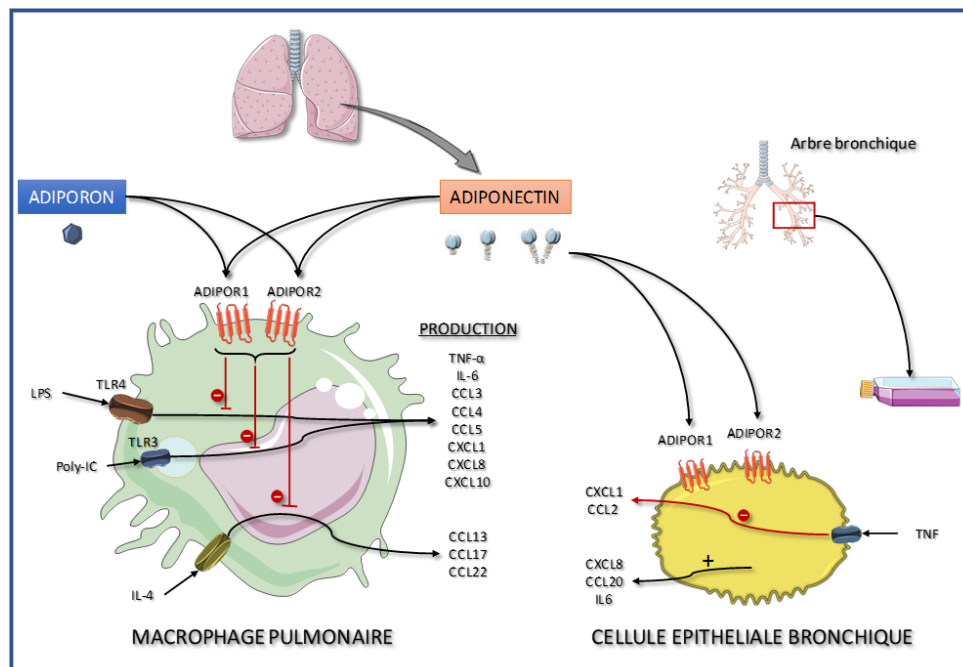


Figure 4. Graphical Abstract. Adipokines et poumon

Il a permis de montrer que le poumon est source de production d'adipokines. Parmi celles-ci, l'adiponectine est l'adipokine d'intérêt pour le système respiratoire. Elle exerce un effet anti-

inflammatoire puissant sur des MPs et un effet broncho relaxant sur des bronches humaines, et ce à des concentrations physiologiques. Le défaut d'adiponectine observé avec le surpoids pourrait être associé à la levée d'un frein anti inflammatoire et expliquer en partie la susceptibilité infectieuse et aux maladies bronchiques chroniques que présentent les sujets obèses. Les agonistes des AdipoR seraient des molécules d'intérêt pour le développement d'une nouvelle classe d'anti- inflammatoires et bronchodilatateurs dans le traitement des pathologies obstructives bronchiques.

Au cours de ce projet, j'ai encadré le travail d'une étudiante en BTS Caroline Fournier, 2013.

Les résultats ont donné lieu à un rapport de Master 2 soutenu en 2011, un rapport de thèse de science soutenue en décembre 2018 ainsi que deux publications scientifiques (62,63)

Salvator H, Grassin-Delyle S, Brollo M, Couderc LJ, Abrial C, Victoni T, et al. Adiponectin Inhibits the Production of TNF- α , IL-6 and Chemokines by Human Lung Macrophages. *Front Pharmacol.* 2021;12:718929.

Salvator H, Grassin-Delyle S, Naline E, Brollo M, Fournier C, Couderc LJ, et al Contrasting Effects of Adipokines on the Cytokine Production by Primary Human Bronchial Epithelial Cells: Inhibitory Effects of Adiponectin.. *Front Pharmacol.* 2020;11:56.

2.3 Etude de la voie du GM-CSF dans les monocytes et macrophages pulmonaires

Après cette première (et longue) incursion dans le domaine de la recherche, j'ai voulu poursuivre l'étude des mécanismes d'activation des macrophages en lien avec les maladies respiratoires.

a. Caractérisation biologiques des auto-anticorps anti GM-CSF en lien avec des manifestations respiratoires et des infections disséminées

Contexte : J'ai eu la chance de pouvoir réaliser mon stage de mobilité post doctorale dans le laboratoire du Dr Steven Holland, NIAID, National Institute of Health, Bethesda, USA. L'équipe est reconnue pour l'exploration des mécanismes bio cellulaires sous-tendant les déficits immunitaires et a été la première à décrire le lien entre acquisition d'autoanticorps anti GM-CSF et immunodéficiência (64,65). Les auto-anticorps anti-cytokines sont des entités récemment reconnues qui pourraient expliquer la survenue d'infections sévères chez des sujets apparemment en bonne santé (66). L'exemple le plus récent est celui des auto-anticorps anti-interféron de type I identifiés chez des patients atteints de forme sévère de COVID-19 (67). Les anticorps anti-GM-CSF ont été décrits pour la première fois en 1999 et sont désormais reconnus comme la principale cause de protéinose alvéolaire pulmonaire (PAP) acquise (26). Dans les macrophages pulmonaires, l'interaction récepteur-ligand du GM-CSF induit la phosphorylation du signal transducer and activator of transcription (STAT)-5 et l'induction du facteur de transcription PU.1, facteur essentiel du catabolisme du surfactant et de l'immunité pulmonaire

locale. La perturbation de la signalisation du GM-CSF entraîne un dysfonctionnement des macrophages alvéolaires, une accumulation intra-alvéolaire de matériel lipoprotéique et l'apparition insidieuse d'une pneumopathie interstitielle (24).

L'équipe du Dr Holland a identifié la présence d'auto-anticorps neutralisants anti-GM-CSF chez des patients atteints de méningite cryptococcique ou nocardiose disséminée (64,65). Les explorations immunologiques exhaustives n'avaient pas permis d'identifier de trouble immunologique préexistant à l'exception des auto-anticorps anti-GM-CSF, reliant de fait ces anticorps à un certain état d'immunodéficience. Dans la plupart des cas d'infection médiée par des autoanticorps anti-GM-CSF, la normalité des explorations pulmonaires excluait une PAP concomitante. Dans certains cas, cependant, la PAP est apparue des années après la première manifestation infectieuse (65). De plus, les infections compliquant l'histoire naturelle des PAP auto-immunes sont généralement limitées au système respiratoire (35). Ainsi, les phénotypes induits par les auto-anticorps anti-GM-CSF sont variables et ne se recoupent pas nécessairement.

Ces observations questionnent : quels sont les mécanismes qui conduisent à des phénotypes cliniques distincts à partir d'un même auto-anticorps anti-GM-CSF.

Méthodologie : J'ai pu travailler à partir de plasmas de patients atteints de pathologies distinctes reliées à des auto-anticorps anti GM-CSF et stockés au NIH: protéinose alvéolaire pulmonaire (n=15), infections sévères à cryptococoque (n=5) ou Nocardia disséminée (n=5). J'ai mené des expériences visant à explorer les caractéristiques biologiques de ces auto-anticorps, à la recherche de corrélation clinico-biologique. J'ai déterminé le titre d'auto anticorps chez chaque patient en utilisant une technique de billes magnétiques marquées couplées au GM-CSF. J'ai mesuré l'activité neutralisante contre le GM-CSF de chacun des plasmas en évaluant par cytométrie de flux la phosphorylation de STAT5 dans des PBMC de sujets sains stimulés par du GM-CSF, en présence de plasma de patients ou de témoins. J'ai pu déterminer l'IC50 (concentration d'anticorps responsable de 50% d'inhibition de la phosphorylation STAT5 induite par le GM-CSF) en faisant varier la dilution de plasma utilisée (0,01% à 30%). Ainsi que l'EC50 (concentration de GM-CSF responsable de 50% de la phosphorylation de STAT5), en faisant varier cette fois la concentration de GM-CSF utilisée pour stimuler les cellules. J'ai comparé les résultats obtenus entre les 3 groupes de patients (PAP, cryptococcose, Nocardiose)

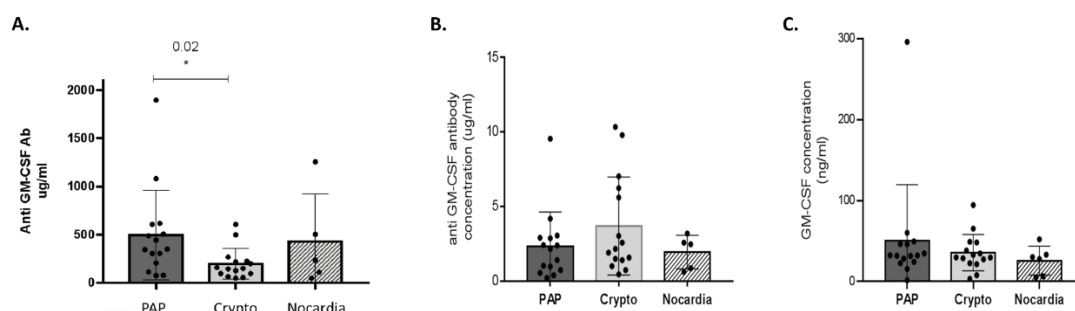


Figure 5. Titre des auto-anticorps anti GM-CSF (µg/ml) (A), effet neutralisant du plasma de patient sur la phosphorylation de STAT5 induite par le GM-CSF : IC50 (B) et EC50 (C)

Principaux résultats : Je n'ai pas mis en évidence de différence significative concernant le titre des autoanticorps ou les capacités de neutralisation des plasmas entre ces trois cohortes cliniques. De façon intéressante, je disposais de quelques prélèvements sériés réalisés chez certains patients. Le cas d'un patient qui a présenté une Nocardiose disséminée puis a développé 5 ans plus tard une atteinte pulmonaire en lien avec une PAP, était particulièrement illustratif. La présence d'auto anticorps anti GM-CSF précédait d'une dizaine d'années toute manifestation clinique ; le pouvoir neutralisant des anticorps restait relativement constant alors que le taux des anticorps était variable, sans relation directe avec la survenue des manifestations cliniques.

Dans cette première étape sur la caractérisation biologique des anticorps anti GM-CSF, je n'ai pas pu mettre en évidence de corrélation clinico-biologiques. La différence entre les anticorps anti-GM-CSF conduisant à chacun de ces phénotypes, si elle existe, reste à identifier. L'analyse du background génétique de l'hôte et des analyses fonctionnelles complémentaires pourraient aider à préciser les mécanismes biologiques en jeu.

Ce travail a donné lieu à un article qui a été accepté dans la revue *Respiratory Research*, en cours d'édition.

H. Salvator, A. Cheng, LB Rosen, PR. Williamson, JE. Bennett, A. Kashyap, L. Ding, KJ Kwon-Chung, H Namkoong, CS. Zerbe, SM. Holland. Neutralizing GM-CSF autoantibodies in pulmonary alveolar proteinosis, cryptococcal meningitis and severe nocardiosis. *Respiratory research*, *In press*

b. Impact des traitements ciblant la voie du GM-CSF sur la fonction des monocytes et des macrophages pulmonaires

Contexte : Après mon retour en France, j'ai poursuivi l'étude du rôle du GM-CSF et de son antagonisme dans le fonctionnement des cellules monocytaires en intégrant cette fois dans mon projet le modèle des cultures de macrophages pulmonaires humains, maîtrisé par le laboratoire VIM Suresnes. Alors que les taux circulants de GM-CSF sont quasi indétectables en situation stable et que son rôle se limite principalement à l'homéostasie pulmonaire et au catabolisme du surfactant, la production de GM-CSF augmente considérablement en cas d'inflammation, notamment dans les tissus atteints et serait responsable en grande partie de l'infiltration tissulaire par les cellules monocytaires/macrophagiques (68). Ce rôle pathologique du GM-CSF a été identifié dans le cadre d'un événement inflammatoire à la fois aigu (infection COVID-19, neurotoxicité des CAR-T cells) et chronique (polyarthrite rhumatoïde, sclérose en plaque), justifiant le développement de thérapeutiques anti GM-CSF dans ces indications (69). Les traitements anti GM-CSF en cours de développement sont principalement des anticorps monoclonaux : anticorps neutralisant (ex namilumab) ou antagoniste (anti récepteur, ex mavrilimumab). Par ailleurs, les inhibiteurs de JAK2, avec leur chef de file le ruxolitinib, indiqué pour le traitement de la myélodysplasie ou de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) cutanée, pourraient également être considérés comme des traitements anti-GM-CSF puisqu'ils interfèrent avec une des voies principales de transduction cellulaire du facteur de croissance (JAK2-STAT5).

Compte tenu du rôle du GM-CSF dans la maturation des macrophages et dans l'homéostasie pulmonaire, on pourrait craindre que la neutralisation de ce facteur de croissance ait des conséquences sur le fonctionnement des macrophages pulmonaires. Les données de tolérance des essais cliniques sur les traitements anti GM-CSF sont jusqu'à présent rassurantes avec très peu de toxicité pulmonaire rapportée même si les données sont encore précoces (70,71). Cependant, quelques cas de PAP de présentation très inhabituelle chez des patients traités par ruxolitinib commencent à être décrits. Notre équipe a notamment décrit deux cas de PAP survenant chez des patients sous ruxolitinib pour lesquels l'imputabilité de ce traitement est très probable (72–74). *In vitro*, l'évaluation des thérapeutiques anti-GM-CSF s'est restreinte jusqu'à présent à des modèles murins ou à des monocytes circulants et macrophages dérivés de monocytes (MDMs) chez l'homme mais des études expérimentales sur des cellules tissulaires pulmonaires humaines font toujours défaut (75).

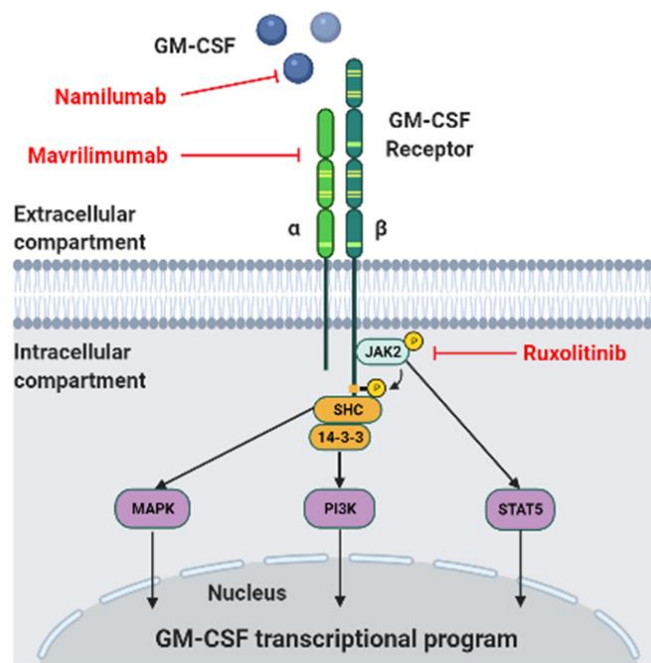


Figure 6. Voies de signalisation du GM-CSF et exemples de cibles des traitements anti GM-CSF : anticorps monoclonal anti-GM-CSF (namilumab), antagoniste du récepteur GM-CSFR (mavrilimumab), inhibiteur de JAK2 (ruxolitinib).

Objectifs : Dans ce contexte, j'ai conduit un projet expérimental visant à évaluer et comparer les effets de thérapeutiques anti GM-CSF sur des monocytes circulants et des macrophages pulmonaires. Nous avons sélectionné des traitements interférant en amont et en aval du récepteur au GM-CSF, respectivement anticorps monoclonal anti GM-CSF (mAb) et ruxolitinib.

Méthodologie : Nous avons traité des macrophages pulmonaires obtenus à partir de pièces de lobectomie avec des concentrations variables de mAb et ruxolitinib, en présence ou non de LPS et Poly I:C. En réponse, nous avons mesuré la production de cytokines-chimiokines dans le milieu de culture et analysé, par cytométrie de flux, la phagocytose de particules bactériennes marquées.

Principaux résultats : Les résultats obtenus ont montré

- i) qu'il existe une production de GM-CSF par du tissu pulmonaire humain et que celle-ci augmente en situation inflammatoire aigue
- ii) que le ruxolitinib exerce un effet anti-inflammatoire important sur les MP sans modifier leur capacité de phagocytose
- ii) alors que les mAb anti GM-CSF modulent à la marge les fonctions des MP.

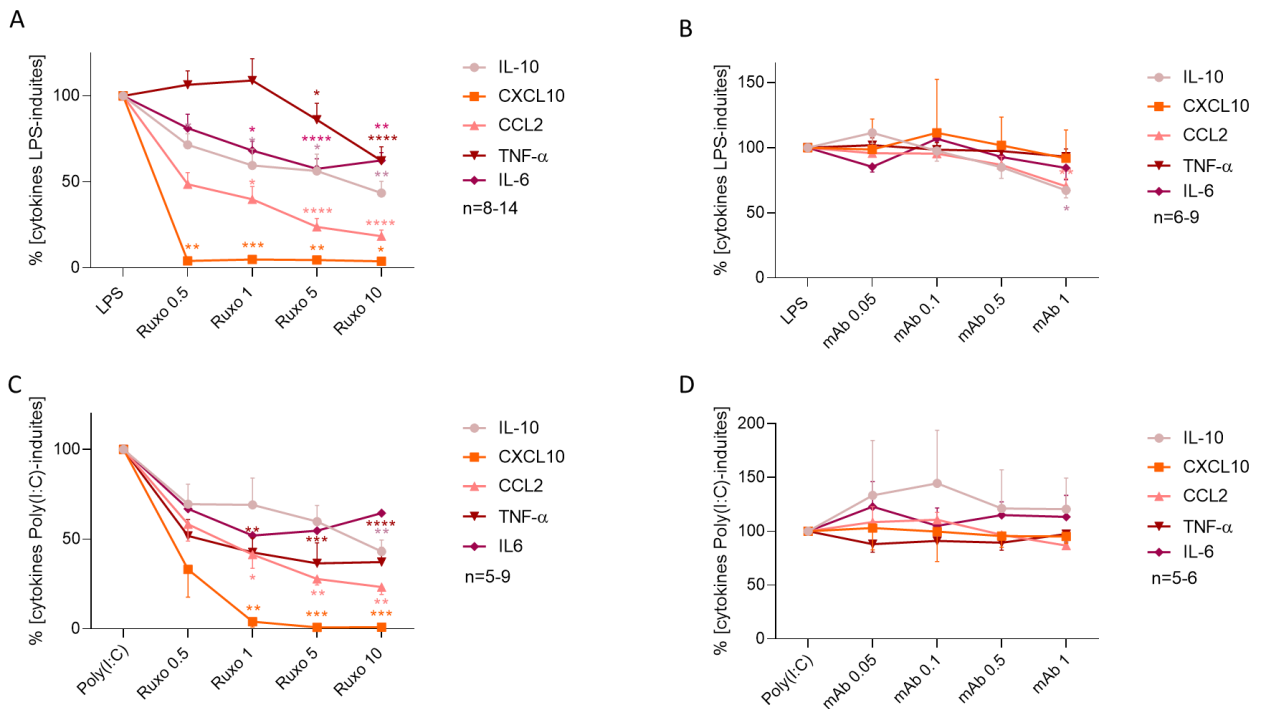


Figure 7. Effets du ruxolitinib et du mAb sur la production de cytokines-chimiokines par des MPs en réponse à du LPS 10 ng/ml (A, B) ou du POLY I:C 10 µg/ml (C,D).

Le Ruxolitinib inhibait de façon concentration-dépendante la production LPS et POLY(I:C)-induite de TNF- α , IL1 β , IL6, IL10, IL23, CCL2 et CXCL10. Les mAb diminuaient la production LPS et POLY(I:C)-induite de IL6, IL10 et CCL2 mais seulement à la plus forte concentration et ne modifiaient pas celle de TNF- α ni de CXCL10, IL1 β , IL23.

L'activité phagocytaire des MPs n'était pas modulée par le ruxolitinib ni les mAb.

En conclusion, ce projet a permis de montrer que Le ruxolitinib exerce une action anti-inflammatoire puissante sur les MPs humains sans modifier leur capacité de phagocytose. Celle-ci est reproduite seulement en partie par les anticorps anti GM-CSF, suggérant notamment l'implication d'autres voies de régulation dans l'effet du ruxolitinib sur les MPs.

Ces résultats ont été obtenus au cours de deux projets de Master 2 que j'ai encadrés (N. Mantov et M. Zrounba). Une partie de ses résultats a donné lieu à une publication scientifique (76).

Mantov N, Zrounba M, Brollo M, Grassin-Delyle S, Glorion M, David M, Naline E, Devillier P, Salvator H. Ruxolitinib inhibits cytokine production by human lung macrophages without impairing phagocytic ability.

Front Pharmacol. 2022 Aug 19;13:896167

c. Etude de la signalisation du GM-CSF dans les monocytes et les macrophages pulmonaires

Contexte : Afin d'évaluer la spécificité de l'effet du ruxolitinib et des mAb sur les monocytes et MPs vis-à-vis de la voie de signalisation du GM-CSF, je me suis intéressée à l'étude de la transduction précoce du signal induit par le GM-CSF après fixation sur son récepteur, à savoir la phosphorylation intracellulaire de STAT5.

J'ai encadré le projet de recherche d'une étudiante en Master 2 (M David) en 2021-2022 sur l'étude de la modulation de la signalisation induite par GM-CSF (pSTAT5) par le ruxolitinib et les mAb dans des monocytes, macrophages dérivés de monocytes et macrophages pulmonaires.

Méthodologie : Des PBMC circulants de témoins sains étaient isolés par gradient de densité et les monocytes étaient marqués par leur récepteur de surface CD14+. Des macrophages dérivés de monocytes étaient obtenus par isolement des cellules adhérentes au support et cultivées en présence de GM-CSF pendant 6 jours. Des MPs étaient isolés selon la technique précédemment décrite à partir de pièces de lobectomie. Les monocytes et les MPs étaient traités par du ruxolitinib ou du mAb à concentration variable puis stimulés par du GM-CSF (10 et 50 ng/ml) pendant 30 minutes. Après perméabilisation et marquage des cellules, la proportion de cellules pSTAT5+ était mesurée en cytométrie de flux.

Principaux résultats : Nous avons montré que le ruxolitinib et les mAb inhibaient significativement la phosphorylation de pSTAT5 induite par le GM-CSF dans des monocytes circulants. La construction de courbes dose-réponse a permis de déterminer l'IC50 (concentration du traitement à l'étude induisant 50% d'inhibition de pSTAT5 induite par le GM-CSF) : 0,6µM pour le ruxolitinib et 1,3 µg/ml pour les mAb anti-GM-CSF.

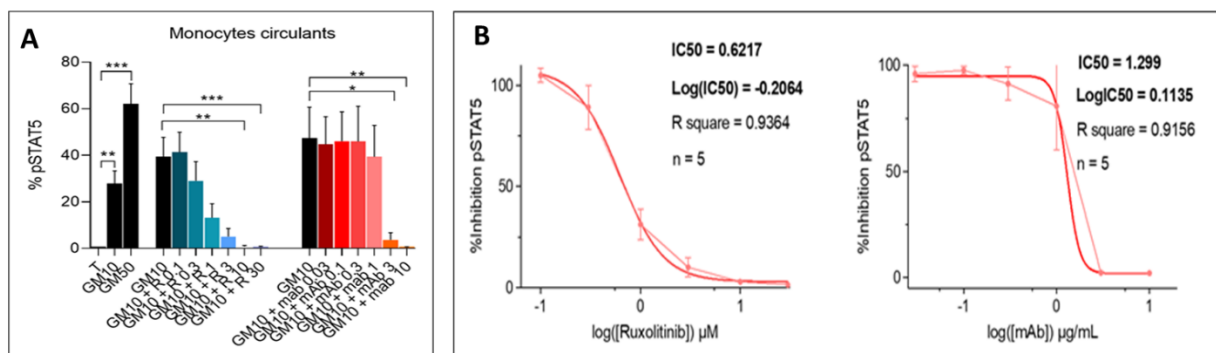


Figure 8. A- Pourcentage de monocytes exprimant pSTAT5 en réponse à une stimulation par du GM-CSF (10 et 50 ng/ml) en présence de ruxolitinib (0.1-30 µM) et de mAb (0.03-10 µg/ml). B- Courbes doses-réponse de pSTAT5 induit par du GM-CSF en présence de ruxolitinib et de mAb

Par contre, nous avons observé une absence d'induction de pSTAT5 par le GM-CSF dans des macrophages pulmonaires humains et des MDM bien différenciés. L'absence d'effet du GM-CSF et des traitements anti-GM-CSF sur pSTAT5 dans les MDM et les MP suggère une perte de sensibilité au GM-CSF au cours de la différenciation monocytes/macrophages.

Les résultats de ce projet seront présentés sous la forme d'une communication affichée au prochain congrès J2R 2022 à Reims.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

▪ Publications internationales avec comité de lecture référencées dans Pub-Med (P)

2022

Neutralizing GM-CSF autoantibodies in pulmonary alveolar proteinosis, cryptococcal meningitis and severe nocardiosis

H. Salvator, A. Cheng, LB Rosen, PR. Williamson, JE. Bennett, A. Kashyap, L. Ding, KJ Kwon-Chung, H Namkoong, CS. Zerbe, SM. Holland
Respiratory research, *In press*

Ruxolitinib inhibits cytokine production by human lung macrophages without impairing phagocytic ability.
Mantov N, Zrounba M, Brollo M, Grassin-Delyle S, Glorion M, David M, Naline E, Devillier P, Salvator H. Front Pharmacol. 2022 Aug 19;13:896167

Curative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation following reduced toxicity conditioning in adults with primary immunodeficiency.

Marçais A, Mahlaoui N, Neven B, Lanternier F, Catherinot É, Salvator H. Cheminant M, Jeljeli M, Asnafi V, van Ender P, Couderc LJ, Lortholary O, Picard C, Moshous D, Hermine O, Fischer A, Suarez F. Bone Marrow Transplant. 2022 Jul 6:1-11

Biomedical detection dogs for the identification of SARS-CoV-2 infections from axillary sweat and breath samples.

Devillier P, Gallet C, Salvator H. Lecoq-Julien C, Naline E, Roisse D, Levert C, Breton E, Galtat A, Decourtray S, Prevel L, Grassin-Delyle S, Grandjean D. J Breath Res. 2022 Apr 28;16(3)

2021

Cryptococcus gattii Species Complex as an Opportunistic Pathogen: Underlying Medical Conditions Associated with the Infection.

Yang DH, England MR, Salvator H. Anjum S, Park YD, Marr KA, Chu LA, Govender NP, Lockhart SR, Desnos-Ollivier M, Chen S, Halliday C, Kan A, Chen J, Wollenberg KR, Zelazny A, Perfect JR, Chang YC, Bennett JE, Holland SM, Meyer W, Williamson PR, Kwon-Chung KJ. mBio. 2021 Oct 26;12(5):e0270821.

Adiponectin Inhibits the Production of TNF- α , IL-6 and Chemokines by Human Lung Macrophages.

Salvator H. Grassin-Delyle S, Brollo M, Couderc LJ, Abrial C, Victoni T, Naline E, Devillier P. Front Pharmacol. 2021 Aug 23;12:718929

High incidence of hyperventilation syndrome after COVID-19.

Taverne J, Salvator H. Leboulch C, Barizien N, Ballester M, Imhaus E, Chabi-Charvillat ML, Boulin A, Goyard C, Chabrol A, Catherinot E, Givel C, Couderc LJ, Tcherakian C. J Thorac Dis. 2021 Jun;13(6):3918-3922.

Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis: Evidence of the pathogenicity of GM-CSF antibodies.

Le Gal A, Chabrol A, Brun AL, Fraboulet S, Couderc LJ, Salvator H. Am J Respir Crit Care Med. 2021 Dec 15;204(12):e134-e135.

Pulmonary Alveolar Proteinosis After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation in Adults: A French Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire Survey.

Salvator H. Tcherakian C, Maillard N, Milin S, Bergeron A, Bondeelle L, Meignin V, Nguyen S, Souchet L, Guenounou S, Evrard SM, Rubio MT, Robin M, Sestili S, Brissot E, Fajac A, Catherinot E, Givel C, Chabrol A, Goyard C, Longchamp E, Chabi-Charvillat ML, Bernaudin JF, Couderc LJ. Chest. 2021 Nov;160(5):1783-1788

Automated AI-Driven CT Quantification of Lung Disease Predicts Adverse Outcomes in Patients Hospitalized for COVID-19 Pneumonia.

Chabi ML, Dana O, Kennel T, Gence-Breney A, Salvator H, Ballester MC, Vasse M, Brun AL, Mellot F, Grenier PA. *Diagnostics (Basel)*. 2021 May 14;11(5):878.

COVID-19 and *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: Back to the basics.

Mouren D, Goyard C, Catherinot E, Givel C, Chabrol A, Tcherakian C, Longchamp E, Vargaftig J, Farfour E, Legal A, Couderc LJ, Salvator H. *Respir Med Res*. 2021 May;79:100814

Risk factors for a severe form of COVID-19 after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: a Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie cellulaire (SFGM-TC) multicentre cohort study. Xhaard A, Xhaard C, D'Aveni M, Salvator H, Chabi ML, Berceanu A, Coman T, Beguin Y, Chalandon Y, Poiré X, Loschi M, Paillard C, Bruno B, Ceballos P, Dalle JH, Bilger K, Bay JO, Robin M, N'Guyen-Quoc S, Rubio MT. *Br J Haematol*. 2021 Mar;192(5):e121-e124

Tocilizumab for Severe Worsening COVID-19 Pneumonia: a Propensity Score Analysis.

Roumier M, Paule R, Vallée A, Rohmer J, Ballester M, Brun AL, Cerf C, Chabi ML, Chinnet T, Colombier MA, Farfour E, Fourn E, Géri G, Khau D, Marroun I, Ponsoye M, Roux A, Salvator H, Schoindre Y, Si Larbi AG, Tchérakian C, Vasse M, Verrat A, Zuber B, Couderc LJ, Kahn JE, Groh M, Ackermann F; Foch COVID-19 Study Group. *J Clin Immunol*. 2021 Feb;41(2):303-314.

2020

Clinical relevance of the anti-inflammatory effects of roflumilast on human bronchus : potentiation by a longacting-beta-2 agonist

Salvator H, Buenestado A, Brollo M, Naline E, Victoni T, Longchamp E, Tenor H, Grassin-Delyle S, Devillier P. *Front Pharmacol*. 2020 8;11:598702.

Metabolomics of exhaled breath in critically ill COVID-19 patients: A pilot study.

Grassin-Delyle S, Roquencourt C, Moine P, Saffroy G, Carn S, Heming N, Fleuriet J, Salvator H, Naline E, Couderc LJ, Devillier P, Thévenot EA, Annane D; Garches COVID-19 Collaborative Group RECORDS Collaborators and Exhalomics® Collaborators. *EBioMedicine*. 2020 3;63:103154.

Clinical relevance of the relaxant effects of roflumilast on human bronchus: potentiation by a long-acting beta-2-agonist.

Salvator H, Naline E, Brollo M, Tenor H, Grassin-Delyle S, Devillier P. *Fundam Clin Pharmacol*. 2020

Chloroquine Inhibits the Release of Inflammatory Cytokines by Human Lung Explants.

Grassin-Delyle S, Salvator H, Brollo M, Catherinot E, Sage E, Couderc LJ, Naline E, Devillier P. *Clin Infect Dis*. 2020 19;71(16):2265-2268.

Liquid chromatography-mass spectrometry method for the quantification of corticosteroids, β 2-adrenoreceptor agonists and anticholinergics in human hair.

Lamy E, Mahjoubi A, Salvator H, Lambinet F, Devillier P, Grassin-Delyle S. *J Pharm Biomed Anal*. 2020 25;190:113530.

Contrasting Effects of Adipokines on the Cytokine Production by Primary Human Bronchial Epithelial Cells: Inhibitory Effects of Adiponectin.

Salvator H, Grassin-Delyle S, Naline E, Brollo M, Fournier C, Couderc LJ, Devillier P. *Front Pharmacol*. 2020 18;11:56.

Efficacy of immunoglobulin replacement therapy and azithromycin in severe asthma with antibody deficiency.

Tiotiu A, Salvator H, Jaussaud R, Jankowski R, Couderc LJ, Catherinot E, Devillier P. *Allergol Int*. 2020 69(2):215-222.

The Role of Toll-Like Receptors in the Production of Cytokines by Human Lung Macrophages.
Grassin-Delyle S, Abrial C, Salvator H, Brollo M, Naline E, Devillier P.
J Innate Immun. 2020;12(1):63-73.

2019

Primary immunodeficiency-related bronchiectasis in adults: comparison with bronchiectasis of other etiologies in a French reference center.

Goussault H, Salvator H, Catherinot E, Chabi ML, Tcherakian C, Chabrol A, Didier M, Rivaud E, Fischer A, Suarez F, Hermine O, Lanternier F, Lortholary O, Mahlaoui N, Devillier P, Couderc LJ.
Respir Res. 2019 Dec 4;20(1):275.

Bitter Taste Receptors (TAS2Rs) in Human Lung Macrophages: Receptor Expression and Inhibitory Effects of TAS2R Agonists.

Grassin-Delyle S, Salvator H, Mantov N, Abrial C, Brollo M, Faisy C, Naline E, Couderc LJ, Devillier P. Front Physiol. 2019 Oct 2;10:1267.

Chronic foot pain, an atypical tuberculosis presentation.

Maignant AF, Salvator H, Montigny JP, Gonin F, Mellot F, Couderc LJ, Catherinot E.
Med Mal Infect. 2019 Sep;49(6):471-473.

A marine-sourced fucoidan solution inhibits Toll-like-receptor-3-induced cytokine release by human bronchial epithelial cells.

Dutot M, Grassin-Delyle S, Salvator H, Brollo M, Rat P, Fagon R, Naline E, Devillier P.
Int J Biol Macromol. 2019 Jun 1;130:429-436.

2018

Home spirometry in bronchiolitis obliterans after allogeneic haematopoietic cell transplant.

Loiseau C, Lemonnier F, Randrianarivelo O, Itzykson R, Nguyen S, Becquemin MH, Tcherakian C, Uzunov M, Catherinot E, Rivaud E, Salvator H, Devillier P, Sutton L, Vernant JP, Couderc LJ, Dhédin N.
Eur Respir J. 2018 Jul 19;52(1):1702328.

Lorlatinib - Induced pulmonary arterial hypertension.

Chabrol A, Mayenga M, Hamid AM, Friard S, Salvator H, Doubre H, Fraboulet S, Metivier AC, Catherinot E, Rivaud E, Chaumais MC, Montani D, Couderc LJ, Tcherakian C.
Lung Cancer. 2018 Jun;120:60-61.

Pulmonary alveolar proteinosis and Mycobacterium abscessus lung infection related to ruxolitinib after allogeneic stem cell transplantation

Salvator H, Berti E., Catherinot E., Rivaud E., Chabrol A., Nguyen S., Zemoura L., Cardot E., Tcherakian C., Couderc LJ.
Eur Respir J. 2018 May 30;51(5):1701960

Comparison of the in vitro pharmacological profiles of long-acting muscarinic antagonists in human bronchus

Emmanuel Naline, Stanislas Grassin Delyle, Hélène Salvator, Marion Brollo, Christophe Faisy, Tatiana Victoni, Charlotte Abrial, Philippe Devillier
Pulm Pharmacol Ther. 2018 Apr;49:46-53

Epithelial chimerism in lung tissue after allogeneic stem cell transplantation

Judet A, Copie-Bergman C, Zemoura L, Catherinot E, Martin N, Rivaud E, Nguyen S, Guyot MT, Belleguic C, Longchamp E, Tcherakian C, Couderc LJ, Salvator H.
Bone Marrow Transplant. 2018 Apr;53(4):474-477

2017

Human lung and monocyte-derived macrophages differ with regard to the effects of β 2-adrenoceptor agonists on cytokine release.

Victoni T, [Salvator H](#), Abrial C, Brollo M, Porto LC, Lagente V, Naline E, Grassin-Delyle S, Devillier P. *Respir Res*. 2017 Jun 21;18(1):126.

Chronic Granulomatous Disease in Patients Reaching Adulthood: A Nationwide Study in France

Dunogué B, Pilmis B, Mahlaoui N, Elie C, Coignard-Biehler H, Amazzough K, Noël N, [Salvator H](#), Catherinot E, Couderc LJ, Sokol H, Lanternier F, Fouyssac F, Bardet J, Bustamante J, Gougerot-Pocidal MA, Barlogis V, Masseur A, Durieu I, Lecuit M, Suarez F, Fischer A, Blanche S, Hermine O, Lortholary O

Clin Infect Dis. 2017 Mar 15; 64(6):767-775

Metabolomics in the Diagnosis and Pharmacotherapy of Lung Diseases

Devillier P, [Salvator H](#), Naline E, Couderc LJ, Grassin-Delyle S

Curr Pharm Des. 2017;23(14):2050-2059

Respiratory Complications Lead to the Diagnosis of Chronic Granulomatous Disease in Two Adult Patients

Colin de Verdière S, Noel E, Lozano C, Catherinot E, Martin M, Rivaud E, Couderc LJ, [Salvator H](#), Bustamante J, Martin T

J Clin Immunol. 2017 Feb;37(2):113-116

2016

In allergic rhinitis, work, classroom and activity impairments are weakly related to other outcome measures

Devillier P, Bousquet J, [Salvator H](#), Naline E, Grassin-Delyle S, de Beaumont O

Clin Exp Allergy. 2016 Nov;46(11):1456-1464

Comparison of outcome measures in allergic rhinitis in children, adolescents and adults.

Devillier P, Bousquet PJ, Grassin-Delyle S, [Salvator H](#), Demoly P, Bousquet J, de Beaumont O

Pediatr Allergy Immunol, 2016 Jun;27(4):375-81

2015

15-Lipoxygenases regulate the production of chemokines in human lung macrophages.

Abrial C, Grassin-Delyle S, [Salvator H](#), Brollo M, Naline E, Devillier P.

Br J Pharmacol. 2015 Sep;172(17):4319-30.

Pulmonary manifestations in adult patients with chronic granulomatous disease.

[Salvator H](#), Mahlaoui N, Catherinot E, Rivaud E, Pilmis B, Borie R, Crestani B, Tcherakian C, Suarez F, Dunogue B, Gougerot-Pocidal MA, Hurtado-Nedelec M, Dreyfus JF, Durieu I, Fouyssac F, Hermine O, Lortholary O, Fischer A, Couderc LJ.

Eur Respir J. 2015 Jun;45(6):1613-23.

The choice of inhalation device: A medical act.

Devillier P, [Salvator H](#), Roche N.

Rev Mal Respir. 2015 Jun;32(6):599-607

2014

Cannabinoids inhibit cholinergic contraction in human airways through prejunctional CB1 receptors.
Grassin-Delyle S, Naline E, Buenestado A, Faisy C, Alvarez JC, Salvator H, Abrial C, Advenier C, Zemoura L, Devillier P.
Br J Pharmacol. 2014 Jun;171(11):2767-77

Long-term treatment strategy in chronic obstructive pulmonary disease: how to change the course of the disease.
Devillier P, Salvator H, Roche N, Grassin-Delyle S, Naline E, Dorocant S, Neveu H.
Presse Med. 2014 Dec;43(12 Pt 1):1368-80.

A new fixed dose combination of fluticasone and formoterol in a pressurised metered-dose inhaler for the treatment of asthma.
Devillier P, Salvator H, Grassin-Delyle S, Naline E, Advenier C, Roche N.
Rev Mal Respir. 2014 Oct;31(8):700-13.

Residents in respiratory medicine: Assessment of the course and wishes regarding their career.
Patout M, Salvator H, Korzeniewski S, Briault A, Duruisseaux M, Vieira T, Beurton A, Olivier PY, Poron P, Didier A, Marquette CH.
Rev Mal Respir. 2014 Jan;31(1):21-8

2013

Chronic beryllium disease: azathioprine, possible alternative to corticosteroid treatment.
Salvator H, T. Gille, A. Hervé, C. Bron, C. Lamberto, D. Valeyre.
Eur Respir J. 2013 Jan;41(1):234-6

2011

Obesity, poor prognostic factor in pandemic influenza A (H1N1) 2009: The role of adipokines in the modulation of respiratory defenses.
Salvator H, P. Devillier, E. Rivaud, E. Catherinot, P. Honderlick, LJ Couderc
Rev Pneumol Clin 2011 sept; 67(4):244-249.

▪ **Conférences sur invitation (I)**

« Impact des biais de genre dans l'enseignement médical », Visioconférence SPLF/EFP-AUF-GRISOF 2022

« Analyses de composés organiques volatils dans l'air exhalé des patients », Journées de Pneumologie Pierre Bourgeois 2018

« Techniques d'analyse du volatolome », Journées du CEREDIH 2018

« Etude des composés organiques volatils dans l'air exhalé des patients », Journées de pneumologie Franco-Polonaises Septembre 2018

▪ **Communications orales personnelles à des congrès (O)**

2019 Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire

Protéïnose alvéolaire après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

H Salvator, C Tcherakian, N Maillard, A Bergeron, L. Bondeelle, S Guenounou, E Catherinot, E Rivaud, A Chabrol, S Nguyen, L Souchet, L Zemoura, LJ Couderc

2014 European Society of Immunodeficiencies, Prague, République Tcheque

Pulmonary manifestations in adult patients with Chronic Granulomatous disease

H Salvator, L.J Couderc, N Mahlaoui, E Rivaud, C Tcherakian, O Hermine, F Suarez, O Lortholary, E Catherinot

2014 Congrès Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique 2014

Adiponectin acts as an anti-inflammatory cytokine on human lung macrophages

H Salvator, S Grassin-Delye, E Naline, M Brollo, C Abrial, T Victoni, P Devillier

2013 European Respiratory Society, Barcelone, Espagne

Pulmonary manifestations in adult patients with Chronic Granulomatous Disease

H Salvator, L.J Couderc, N Mahlaoui, E Rivaud, C Tcherakian, O Hermine, F Suarez, O Lortholary, E Catherinot

▪ **Communications affichées à des congrès (A) et résumés publiés**

2022- Journées de Recherche Respiratoire, Reims

Traitements ciblant la voie du GM-CSF : comparaison de leurs effets sur la signalisation intra-cellulaire du GM-CSF dans des macrophages pulmonaires humains et des monocytes circulants

M. David, M.Brollo, S.Grassin-Delye, Q.Marquant, E.Naline, A.Magnan, P.Devillier, H.Salvator

2022- Lung Conference, Estoril, Portugal

Impact of treatments targeting the GM-CSF pathway on the functions of human pulmonary macrophages

M.Zrounba, M.Brollo, S.Grassin-Delye, N.Mantov, Q.Marquant, E.Naline, Q.Herail, LJ. Couderc, A.Magnan, P.Devillier, H.Salvator

2021- Journées de Recherche Respiratoire, Brest

Impact des traitements ciblant la voie du GM-CSF sur les fonctions des macrophages pulmonaires humains

M. Zrounba, M. Brollo, S Grassin-Delye, M. Glorion, E. Naline, P. Devillier, H. Salvator

2021- Congrès de Pneumologie de Langue Française

Protéïnose alvéolaire pulmonaire après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques chez l'adulte: une enquête nationale française

H Salvator, C. Tcherakian, N. Maillard, S. Milin, A. Bergeron, L. Bondeelle, V. Meignin, S. Nguyen-Quocq, L. Souchet, S. Guenounou, S. Evrard, MT. Rubio, M. Robin, S. Sestili, E. Brissot, A. Fajac, E. Catherinot, C. Givel, A. Chabrol, C. Goyard, E. Longchamp, ML. Chabi-Charvillat, JF. Bernaudin, LJ. Couderc

Rééducation du syndrome d'hyperventilation induit par la COVID-19

C. Le Boulch, L. Taleb, J. Jouffriault, N. Barizien, C. Xavier, C. Tcherakian, J. Taverne, H. Salvator.

2020- American Thoracic Society, Philadelphia, USA

Pulmonary alveolar proteinosis after allogeneic stem cell transplantation: a French national survey 2000-2018

H Salvator, N Maillard, A Bergeron, L. Bondeelle, S Guenounou, E Catherinot, E Rivaud, A Chabrol, S Nguyen, L Souchet, L Zemoura, C Tcherakian, LJ Couderc

Impulse Oscillometry for the Diagnosis of Bronchiolitis Obliterans Syndrome after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation

E. Blin, T. Perez, P. Ramon, H Neveu, P. Devillier, E. Rivaud, A. Chabrol, E. Catherinot, C. Tcherakian, C. Givel, F. Suarez, S. Nguyen, M. Mohty, LJ. Couderc, H. Salvator

Impulse Oscillometry for the Diagnosis of Bronchiolitis Obliterans Syndrome after Lung Transplantation

E. Blin, T. Perez, H Neveu, A. Roux, E. Rivaud, A. Chabrol, E. Catherinot, C. Tcherakian, C. Givel, P. Devillier, LJ. Couderc, H. Salvator

Granulomatous Lymphocytic Interstitial Lung Disease (GLILD) in Common Variable Immuno deficiency (CVID)

G Archer, E. Catherinot, H. Salvator, E. Longchamp, C. Tcherakian, J. Bruneau, A. Chabrol, ML. Chabot, C. Givel, F. Suarez, F. Lanternier, P. Devillier, N. Mahlaoui, LJ. Couderc

2019- American Thoracic Society, Dallas, USA

Bitter taste receptors (TAS2Rs) in human lung macrophages: receptor expression and inhibitory effects of TAS2R agonists.

S Grassin-Delyle, H Salvator, N Mantov, C Abrial, M Brollo, C Faisy, E Naline, LJ Couderc, P Devillier

Respiratory infection with non-tuberculous mycobacteria after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

H Salvator, H Vicaire, E cardot, E Farfour, E Rivaud, C Tcherakian, A Chabrol, S Nguyen, L Souchet, A Marçais, F Suarez, M Mohty, E Longchamp, L Zemoura, E sage, LJ Couderc, E catherinot

2019- Congrès Pneumologie Langue Francaise, Marseille

Le ruxolitinib inhibe la production de cytokines et altère la phagocytose des macrophages pulmonaires humains

H.Salvator, N.Mantov, M.Brollo, E.Naline, S.Grassin-Delyle, LJ.Couderc, P.Devillier

Caractérisation de l'expression et du rôle des récepteurs à l'amertume dans les macrophages pulmonaires humains

S. Grassin-Delyle, H. Salvator, C. Abrial , N. Mantov , M. Brollo , C. Faisy , L.J. Couderc , E. Naline, P. Devillier

2019- Congres Société Francaise de Pharmacologie et Thérapeutique

Dual effect of adiponectin on human bronchial epithelial cells

H Salvator, S Grassin-Delyle, E Naline, M Brollo, C Fournier, LJ Couderc, P Devillier

2018- American thoracic Society, San Diego, USA

Non-infectious interstitial lung disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

A. Belz, H. Salvator, E. Catherinot, E. Rivaud, A. Chabrol, S. Nguyen, F. Suarez, A. Marçais, F. Giannotti, M. Mohty, E. Longchamp, L. Zemoura, ML Chabi-Charvillat, C. Tcherakian, LJ. Couderc

2018- Congres de Pneumologie de Langue Francaise, Lyon

Proteinose alvéolaire et infection a Mycobacterium abscessus chez une patiente allogreffée de cellules souches hématopoietiques : role du ruxolitinib ?

H Salvator, E Berti, E Catherinot, E rivaud, A Chabrol, S Nguyen, E cardot, C tcherakian, LJ Couderc

2017- American Thoracic Society, Washington DC, USA

Lung epithelial chimerism after allogeneic stem cell transplantation

A Judet, C. Copie-Bergman, E. Longchamp, L. Zemoura, E.Catherinot, LJ. Couderc, H. Salvator

Impulse oscillometry: a useful tool for bronchiolitis obliterans diagnosis?

H Salvator, P Devillier, A Hamid, T Perez, C Picard, LJ Couderc A Roux

2013- European Respiratory Society, Barcelona, Espagne

Adiponectin acts as an anti-inflammatory cytokine on the release of M1- and M2-cytokines by lung macrophages

H Salvator, S Grassin-Delyle, E Naline, M Brollo, C Abrial, T Victoni, P Devillier

2013-American Thoracic Society, San Diego, USA
Pulmonary manifestations in adult patients with Chronic Granulomatous Disease
H Salvator , L.J Couderc , N Mahlaoui , E Rivaud , C Tcherakian , O Hermine , F Suarez , O Lortholary , E Catherinot

2011- Journées de recherche Respiratoire
« Obésité et immunité respiratoire: Effet des adipokines sur la polarisation des macrophages pulmonaires humains »
H Salvator, S Grassin-Delye, E Naline, M Brollo, C Abrial, T Victoni, P Devillier

2010- Société Reanimation Langue Française
« Caractéristiques des patients ventilés de façon prolongés en reanimation »
« Poids et réanimation »
H Salvator ; S Carreira ; C Londner ; S Hours ; A Van de Louw ; R Boiteau

▪ **Communications sur autres supports**

2022- La lettre du Souffle
Déficit Immunitaire et maladies respiratoires

2019- Interview filmée pour Medscape
Le nez électronique: quel potentiel diagnostic

2015- Interview téléphonique pour Fréquence M Pneumo
Manifestations pulmonaires au cours de la Granulomatose Septique Chronique

▪ **Participations à des travaux présentés oralement (AO)**

2022- Congrès de pneumologie de Langue Française, Lille
Impact des traitements ciblant la voie du GM-CSF sur les fonctions des macrophages pulmonaires humains
M. Zrouba, M. Brollo, S Grassin-Delye, M. Glorion, E. Naline, P. Devillier, H. Salvator

2018- Congrès de Pneumologie de Langue Française, Lyon
Pneumopathies interstitielles non infectieuses après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : prise en charge thérapeutique et profils évolutifs
A. Belz, H. Salvator, E. Catherinot, E. Rivaud, A. Chabrol, S. Nguyen, F. Suarez, A. Marçais, F. Giannotti, M. Mohty, E. Longchamp, L. Zemoura, ML Chabi-Charvillat, C. Tcherakian, L.J. Couderc

ACTIVITÉS D'ENCADREMENT

- Dans le cadre de mes activités hospitalières, j'ai été amenée à encadrer plusieurs travaux d'internes en pneumologie. Il s'agit d'études cliniques sur données visant à analyser et préciser les caractéristiques des manifestations respiratoires survenant chez des patients atteints de déficit immunitaire primitif ou de maladies hématologiques/allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Encadrement de Thèse d'exercice : M^{elle} Aurelie Legall

Co-directrice de thèse

« Etude rétrospective de l'impact de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques sur les complications pulmonaires chez les patients adultes atteints de déficit immunitaire primitif »

Soutenance prévue le 19/10/2022

Encadrement de travaux ayant donné lieu à une publication ou une présentation orale en congrès

- **Aurelie Legall**

Vignette clinique sur un cas radiologique de PAP associée à un cancer bronchopulmonaire

Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis: Evidence of the pathogenicity of GM-CSF antibodies.
Le Gal A, Chabrol A, Brun AL, Fraboulet S, Couderc LJ, Salvator H. Am J Respir Crit Care Med. 2021
doi: 10.1164/rccm.202101-0073IM (IF 21.4)

- **Hélène Goussault**

Description des particularités des dilatations des bronches chez les sujets porteurs de déficit immunitaire primitif (n=20) et comparaison avec des patients atteints de dilatations des bronches post infectieuses, idiopathiques ou d'autre cause (n=78)

Primary immunodeficiency-related bronchiectasis in adults: comparison with bronchiectasis of other etiologies in a French reference center. Goussault H, Salvator H,, Couderc LJ. Respir Res. 2019 Dec 4;20(1):275. (IF 4.9)

- **Enora Berti**

Description d'un cas de PAP survenant après allogreffe de moelle et discussion de l'imputabilité du ruxolitinib dans la survenue de la PAP

Pulmonary alveolar proteinosis and Mycobacterium abscessus lung infection related to ruxolitinib after allogeneic stem cell transplantation. Salvator H, Berti E et col. Eur Respir J. 2018 30;51(5):1701960 (IF 16.6)

- **Alexandra Belz** (interne polonaise Erasmus)

Description des caractéristiques cliniques et radiologiques d'une cohorte de 43 patients atteints de pneumopathie interstitielle non infectieuse après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

Communication orale, Congrès de Pneumologie de Langue Française 2018

- **Alexandra Judet**

Etude histologique de biopsies pulmonaires réalisées chez des sujets receveurs d'une allogreffe de CSH en mismatch de sexe (n=3). Mise en évidence, grâce à la technique d'hybridation in situ des chromosomes sexuels, d'un chimérisme dans les cellules épithéliales pulmonaires. Ceci démontre que les cellules souches hématopoïétiques participent à la régénération et à la réparation de l'épithélium pulmonaire.

Travail réalisé en collaboration avec le Pr Copie-Bergman, département de Pathologie, AP-HP, Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, INSERM, Unité U955.

Epithelial chimerism in lung tissue after allogeneic stem cell transplantation

Judet A, Copie-Bergman C, Zemoura L, Catherinot E, Martin N, Rivaud E, Nguyen S, Guyot MT, Belleguic C, Longchamp E, Tcherakian C, Couderc LJ, Salvator H.

Bone Marrow Transplant. 2018 Apr;53(4):474-477

➤ Dans le cadre de mes activités scientifiques, j'ai encadré plusieurs étudiants sur des projets de recherche fondamentaux au sein du laboratoire VIM Suresnes

Encadrement d'étudiants en Master 2

- De Novembre 2017 à Novembre 2018 : **M Nikola Mantov**
Master Biologie Physiologie Pharmacologie Cardio Respiratoire
Laboratoire UPRES EA 220. Co encadrant : Pr Philippe Devillier (25%)

Sujet : « Effet du ruxolitinib sur les macrophages pulmonaires humains »

- De Novembre 2020 à Novembre 2021 : **Mme Mathilde Zrounba**
Master Biologie Physiologie Pharmacologie Cardio Respiratoire
Laboratoire VIM Suresnes. Encadrement 100%

Sujet : « Effet des thérapies anti GM-CSF sur les macrophages pulmonaires humains »

Publication associée: Ruxolitinib inhibits cytokine production by human lung macrophages without impairing phagocytic ability.

Mantov N, Zrounba M, Brollo M, Grassin-Delyle S, Glorion M, David M, Naline E, Devillier P, Salvator H. Front Pharmacol. 2022 Aug 19;13:896167

- De Novembre 2021 à Novembre 2022 : **Mme Mélanie David**
Master Immunologie Paris XIII
Laboratoire VIM Suresnes. Encadrement 100%

Sujet : « Impact du GM-CSF et des traitements ciblant la voie du GM-CSF sur les fonctions des monocytes circulants et des sous populations de macrophages pulmonaires humains »

Encadrement d'étudiants en BTS

- 2013 : **Melle Caroline Fournier**
Durée 13 semaines
BTS Bioanalyse et Contrôle, lycée Poquelin de Saint Germain en Laye
Laboratoire UPRES EA220. Co encadrant : Pr P Devillier (25 %)

Publication associée: *Contrasting Effects of Adipokines on the Cytokine Production by Primary Human Bronchial Epithelial Cells: Inhibitory Effects of Adiponectin.* Salvator H, Grassin-Delyle S, Naline E, Brollo M, Fournier C, Couderc LJ, Devillier P. *Front Pharmacol.* 2020 18;11:56. (IF 5.3)

CAPACITÉ À CONCEVOIR, DIRIGER, ANIMER ET COORDONNER DES ACTIVITÉS DE RECHERCHE

En sus des travaux ayant donné lieu à des publications en premier ou dernier auteur, les capacités à concevoir, diriger et animer des activités de recherche peuvent être évaluées grâce à la coordination d'essais cliniques, à l'obtention de contrats de recherche et à la mise en œuvre des collaborations avec d'autres équipes

1. Coordination d'essais cliniques

1.1 Référente recherche clinique

Depuis Novembre 2020, le Pr Antoine Magnan m'a confiée la charge de **référente de la filière Recherche Clinique du service de pneumologie**.

A ce titre, je coordonne les activités de recherche clinique du service en interaction avec le service de la Direction pour la Recherche Clinique et Innovation de l'hôpital.

J'organise et anime une réunion de recherche clinique mensuelle, rassemblant les acteurs de la recherche : médecins investigateurs, équipe promotion (ARC, chef de projets), équipe investigations (TEC, IRC). J'aide à la formation et supervision des équipes d'investigation.

1.2 Coordination des essais cliniques de la plateforme Exhalomics©

J'ai participé à la mise en place de de la plateforme Exhalomics©, plateforme dédiée à l'étude des composés organiques volatils (COV), métabolites de petite taille, dans l'air exhalé des patients. Elle est implantée au sein même du service de pneumologie à l'hôpital Foch et réunit plusieurs dispositifs de technologie différente (nez électronique, spectrométrie de masse) permettant de détecter ces COV et d'en évaluer l'intérêt pour le suivi des maladies respiratoires. La plateforme Exhalomics© bénéficie d'une collaboration étroite avec la plateforme de spectrométrie de masse (UVSQ, Pr Grassin-Delyle) et avec l'équipe de recherche du Dr Etienne Thevenot, CEA Paris-Saclay pour le traitement bioinformatique des données. L'intérêt de ces techniques est leur caractère non invasif et leur grande sensibilité. Par une approche « sans a priori », elles permettent un meilleur phénotypage des pathologies respiratoires et une connaissance des mécanismes physiopathologiques mis en jeu. L'un des objectifs principaux est d'identifier des biomarqueurs associés au diagnostic, pronostic et à la réponse thérapeutique des maladies respiratoires. L'identification de ces biomarqueurs exhalés permettra d'améliorer la caractérisation clinique de ces maladies et d'en faciliter le suivi. C'est également un outil de recherche translationnelle par l'identification de nouvelles voies métaboliques et qui permet d'envisager plus aisément l'implémentation en clinique des résultats expérimentaux.

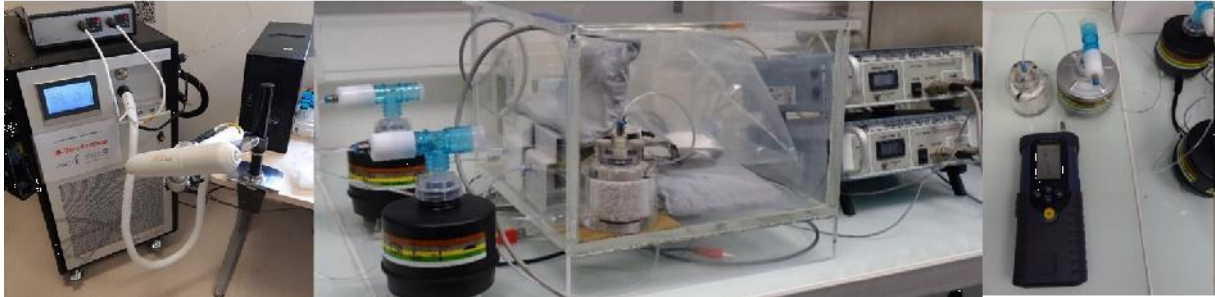


Figure 9. Présentation de la plateforme Exhalomics. Dispositifs d'études des VOC exhalés: spectrométrie de masse PTR-MS Ionicon® (image de gauche), nez électronique Libranose Université de Rome (image centrale), nez électronique Cyranose® (image de droite)

Depuis 2017, je coordonne les essais cliniques qui sont développés sur cette plateforme autour des complications respiratoires des patients immunodéprimés et des pathologies prises en charges dans les autres secteurs d'hospitalisation du service, à savoir :

- **Oncologie thoracique :**

Onco-VOC : évaluation de la modification des VOC après chirurgie pour cancer pulmonaire, prédiction du risque de rechute

Immuno-VOC : prédiction de réponse à l'immunothérapie dans le cancer pulmonaire

- **Maladies bronchiques chroniques :**

VOC BPCO : reproductibilité de la mesure des VOC chez le patient BPCO sévère (VEMS < 65%)

VOC BPCO exa : prédiction des exacerbations chez le sujet BPCO sévère

ZINA VOC : prédiction de réponse aux biothérapies chez le sujet asthmatique sévère

- **Maladies respiratoires infectieuses :**

VOC-COVID : performances diagnostiques et pronostiques des VOC dans l'infection aigue COVID-19 / comparaison aux performances diagnostiques du flair canin en collaboration avec l'équipe de l'école vétérinaire de Maison Alfort

- **Transplantation pulmonaire :**

VOC-TP, diagnostic du rejet aigu post transplantation pulmonaire

- **Mucoviscidose :**

Pheal-VOC : recherche de biomarqueurs exhalés associés à la réponse précoce au Kaftryo®

- **Physiologie respiratoire :**

Volatopnée : exploration du volatolome lors d'une dyspnée expérimentale induite chez le sujet sain, par une charge à seuil ou lors d'une apnée. Collaboraton avec Laboratoire de Neurophysiologie Respiratoire Expérimentale et Clinique, INSERM-SORBONNE UNIVERSITÉ UMR_S 1158

Par ailleurs, je suis l'investigateur du partenaire Foch de plusieurs ANR sur cette thématique:

- ANR Softwair (2018) Traitement haut-débit des données de spectrométrie de masse en temps réel et haute-résolution pour l'analyse de l'air expiré : caractérisation du volatolome en pathologie et dans la réponse aux traitements pharmacologiques
- ANR CoviNose (RA-COVID 2020) Development and characterization of electronic noses for the rapid detection of COVID-19 in exhaled breath

Publications associées:

Grassin-Delyle S, Roquencourt C, Moine P, Saffroy G, Carn S, Heming N, Fleuriet J, Salvator H, Naline E, Couderc LJ, Devillier P, Thévenot EA, Annane D; Garches COVID-19 Collaborative Group RECORDS Collaborators and Exhalomics® Collaborators Metabolomics of exhaled breath in critically ill COVID-19 patients: A pilot study.. EBioMedicine. 2020 3;63:103154.

Devillier P, Gallet C, Salvator H, Lecoq-Julien C, Naline E, Roisse D, Levert C, Breton E, Galtat A, Decourtray S, Prevel L, Grassin-Delyle S, Grandjean D Biomedical detection dogs for the identification of SARS-CoV-2 infections from axillary sweat and breath samples. . J Breath Res. 2022 Apr 28;16(3)

1.3 Autres essais cliniques

- **Essai Clinique "IRM versus scanner"**

Je suis l'investigatrice principale de l'essai "IRM vs Scanner".

Cette étude monocentrique prospective de promotion Foch (NCT05476653) a pour objectif d'évaluer les capacités de l'IRM faite selon un prototype de séquence 3D-UTE SPIRALVIBE pour analyser l'étendue et la sévérité des lésions bronchiques et parenchymateuses pulmonaires au cours du suivi des patients atteints de déficit immunitaire primitif, en les comparant à celles du scanner thoracique.

Il n'existe pas actuellement de recommandations concernant les modalités de surveillance respiratoire des malades atteints de déficit immunitaire héréditaire mais uniquement des recommandations d'experts. Les modalités de la surveillance obéissent à 2 impératifs contradictoires : i) surveiller assez fréquemment pour ne pas diagnostiquer avec retard une aggravation de bronchectasies ou de pneumopathie interstitielle, une complication infectieuse par un pathogène à croissance lente telle une mycobactérie non tuberculeuse, ou une prolifération lymphoïde, ii) ne pas exposer ces malades souvent jeunes à une irradiation importante par un nombre considérable de scanner durant leur vie. Il est donc logique d'étudier si les scanners thoraciques peuvent être remplacés par des IRM. Des travaux de ce type ont été réalisés avec des résultats encourageants chez des malades atteints de mucoviscidose, de BPCO, de dilatations des bronches. Dans le cadre des déficits immunitaires héréditaires, peu

d'études ont porté sur les performances de l'IRM thoracique, avec des technologies et méthodologies hétérogènes.

Nous avons à l'heure actuelle inclus 24/ 50 patients prévus dans l'étude. Les patients inclus bénéficient de la réalisation le même jour d'un scanner thoracique 64 barrettes avec coupes en inspiration profonde et expiration et d'une IRM sur une machine à 1,5 T (MAGNETOM Sola, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) sans utilisation de produit de contraste, selon un protocole basé sur un prototype de séquence 3D-UTE SPIRALVIBE (respiration libre + système de synchronisation respiratoire prospectif automatisé).

Les analyses radiologiques seront faites par deux radiologues thoraciques indépendants. Elles seront réalisées en aveugle de toute donnée clinique ou fonctionnelle. L'analyse consistera en la comparaison des critères de jugement recueillis sur l'IRM avec ceux notés lors de la lecture du scanner.

- **Essais cliniques Endoth**

J'ai coordonné le déroulement des essais « Endoth » dont l'objectif est d'étudier le lien entre pathologie respiratoire chronique et fonction endothéliale systémique. De nombreuses pathologies respiratoires sont associées à une dysfonction endothéliale pulmonaire mais la fonction endothéliale périphérique (systémique) a été moins étudiée et avec des résultats contradictoires.

Les essais « Endoth » déclinent l'évaluation de la fonction endothéliale systémique dans la BPCO (n=120), l'asthme (n=120), la fibrose pulmonaire idiopathique (n=45) et la mucoviscidose (n=60).

La fonction endothéliale systémique est évaluée par la mesure d'un index de tonus artériel au moyen d'un appareil de pléthysmographie digitale (EndoPAT, Itamar Medical) après levée d'occlusion de l'artère brachiale.

Les résultats d'index de tonus artériel sont corrélés à la fonction respiratoire, au pronostic et à la présence d'une atteinte vasculaire (hypertension portale dans la mucoviscidose).

Les essais Endoth-asthme et Endoth-BPCO sont fermés, la période d'inclusion est terminée pour l'essai Endoth-FPI et les données sont en cours d'analyse, le recrutement est en cours pour Endoth-Muco.

➤ **Essais cliniques pour lesquels je suis investigatrice principale**

	Objectif	Promotion	Etat d'avancement
IRM versus scanner	Evaluation des performances de l'IRM thoracique pour le suivi des patients atteints de déficit immunitaire héréditaire	FOCH	Recrutement en cours (24/50)
Immuno-VOC	Prédiction de réponse à l'immunothérapie dans le cancer pulmonaire	FOCH	Inclusions terminées (n=50) Analyses en cours
ZINA-VOC	Prédiction de réponse aux biothérapies chez le sujet asthmatique sévère	FOCH	Recrutement en cours (55/75)
OncoVOC	Evaluation de la modification des VOC après chirurgie pour cancer pulmonaire, prédiction du risque de rechute	FOCH	Recrutement en cours (24/50)
VOC-COVID	Performances diagnostiques et pronostiques des VOC dans l'infection aigue COVID-19	FOCH	Inclusions terminées (n=200) Analyses en cours
Oscillogrefe moelle	Détection précoce de la bronchiolite oblitérante par la technique des Oscillations forcées	FOCH	Inclusions terminées (n=80). Essai fermé
Cortic'hair	Suivi thérapeutique pharmacologique des corticostéroïdes par mesure des métabolites dans les prélèvements capillaires	FOCH	Inclusions terminées (n=24). Analyses en cours

2. Obtention des contrats de recherche

- **2022 Bourse Legs Poix (15 k€)** pour le financement du projet de recherche expérimentale « Etude de l'impact des traitements ciblant la voie du GM-CSF sur les fonctions de macrophages pulmonaires humains »
- **2022 AO Vaincre la Mucoviscidose 50 k€** Essai clinique Pheal-VOC « Recherche de biomarqueurs exhalés associés à la réponse précoce au Kaftryo®
- **2020 : Bourse de Master de la Fondation du Souffle (34,2 k€)** « Effet des thérapies anti GM-CSF sur les macrophages pulmonaires humains »

- **2019 : Bourses de mobilité post doctorale de la Fondation du Souffle (25 k€)**
- **2019 : Bourse de recherche Fondation Philippe (10 k€)**
- **2019 : Bourse de mobilité Fondation Foch (50k€)**
- **2015 : AO Vaincre La Mucoviscidose 35 k€** Essai clinique « Endoth-Muco : évaluation de la fonction endothéliale systémique chez les sujets atteints de mucoviscidose compliquée d'hypertension portale »
- **2011 : Bourse de Master Cardif-Assistance (15 k€)** « Rôle des adipokines dans la modulation de la polarisation des macrophages pulmonaires humains »
- **Financement de la plateforme Exhalomics©** : Fondation Foch 180 k€, Région IdF SESAME 250 k€, LVL médical 70 k€, ANR SoftwAir : 161.5 k€, ANR COVINose : 91 k€, Vitalaire 200 k€

3. Collaboration avec des équipes de recherche

Les différents projets de recherches achevés ou en cours ont été l'occasion de plusieurs collaborations avec des équipes de recherche institutionnelles.

- La plateforme de spectrométrie MasSpecLab de la Faculté de médecine (UFR Simone Veil - Santé) de l'UVSQ. Pr Stanislas Grassin-Delyle. Expertise en spectrométrie de masse sur la plateforme Exhalomics©.

- Laboratory for Data Sciences and Decision, MetaboHUB, Commissariat pour l'Energie Atomique (CEA). Etienne Thevenot. Traitement des données issues des spectromètres de masse dans les essais de la plateforme Exhalomics©.

- Département d'Electronique et Ingénierie, Université de Rome Tor Vergata, Rome, Italy. Dr Corrado DiNatale, pour l'analyse des données issues des nez électroniques Libranose dans les essais cliniques de la plateforme Exhalomics©.

- Ecole vétérinaire de Maison-Alfort (Pr Grandjean) pour l'étude évaluant l'intérêt des VOC dans le diagnostic du COVID-19. Comparaison des performances des techniques analytiques des VOC exhalés (nez électroniques, spectrométrie de masse) et du flair de chien dressés.

- Laboratoire de Neurophysiologie Respiratoire Expérimentale et Clinique, INSERM-SORBONNE UNIVERSITÉ UMR_S 1158, Dr Rolland-Debord, pour l'essai clinique Volatopnée (étude du volatolome lors d'une dyspnée induite)

- Service de pneumologie et explorations fonctionnelles de l'Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris (Dr Israel Biet, Dr Henno, Dr Gunther) pour les inclusions bicentriques dans l'essai Endoth-FPI

Une collaboration est en cours de mise en place en vue d'un projet de recherche sur une cohorte prospective de patients porteurs d'anticorps anti GM-CSF : Dr David Lebeaux (HEGP, Paris), Pr Raphael Borie (Hopital Bichat, Paris), Pr S Jouneau et Dr C Menard (CHU Rennes), plateforme PP2I (Plateau protéomique imagerie et intégration moléculaire) LabImprove LabEx, Montpellier.

Enfin, dans le cadre de mon activité clinique et de recherche, je suis amenée à travailler avec la Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), le Centre de Référence des Déficit Immunitaires Héritaires (CEREDIH) et le Centre d'Étude des Déficit Immunitaires CEDI (Institut Imagine, Paris).

PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Mes perspectives de recherche auront pour but de poursuivre l'étude des mécanismes régulant l'activation des macrophages pulmonaires. Ces recherches menées dans un but translationnel, évalueront l'impact de stratégies thérapeutiques ciblant les macrophages pour i) mieux comprendre la physiopathologie de certaines maladies respiratoire (protéinose alvéolaire et anti GM-CSF), ii) optimiser l'immunomodulation pulmonaire dans le contexte de greffe.

Je souhaite également élargir l'étude des macrophages dans leurs interactions avec les cellules structurelles pulmonaires, notamment cellules épithéliales bronchiques.

1. Etude de la voie du GM-CSF dans le fonctionnement des macrophages pulmonaires

1.1 Hétérogénéité des macrophages pulmonaires humains : étude *ex-vivo* des sous-populations de macrophages pulmonaires et de leur réponse au GM-CSF

Les macrophages sont une population hétérogène dont la réponse cellulaire est régulée finement par le micro-environnement. Au sein même du tissu pulmonaire humain, il existe des sous-groupes phénotypiques de MPs. En isolant des MPs de différents compartiments tissulaires pulmonaires, Hoopstadter et al. ont montré que les cellules considérées comme AMs et IMs présentaient une expression différentielle du récepteur membranaire HLA-DR et une réponse différente en terme de production de cytokines suite à une stimulation des TLR4 ou 9 (77). Ainsi, on peut supposer que l'importance de la voie du GM-CSF et en conséquence l'effet des thérapeutiques anti GM-CSF seront différents en fonction du niveau de différenciation de la cellule et même du sous type de MPs. Les résultats préliminaires obtenus par l'étudiante de Master Mélanie David vont en ce sens, montrant l'absence de phosphorylation de STAT5 après stimulation par du GM-CSF dans des MDM et les MPs au contraire de ce qui est observé dans des monocytes circulants.

Je souhaite poursuivre ce travail en analysant la réponse au GM-CSF spécifique de chaque sous population de monocytes/macrophages présente dans le tissu pulmonaire humain.

Le parenchyme pulmonaire humain obtenu à partir de pièces de lobectomie sera découpé en petits fragments et soumis à une digestion mécanique et enzymatique. La suspension cellulaire obtenue sera filtrée et stimulée par du GM-CSF (10 ng/ml) pendant 30 minutes à 37 ° C en présence ou non des différents traitements testés (GM-CSF antagoniste, anticorps bloquant ou ruxolitinib) à concentration variable. Les cellules seront ensuite incubées avec un panel d'anticorps couplés à des fluorochromes (notamment CD45, CD11b, HLA DR, CD14, CD206, CD169) pour analyse en cytométrie de flux afin de déterminer les marqueurs de surface différenciant les sous populations de macrophages. Elles seront ensuite fixées et perméabilisées pour marquage intracellulaire avec un fluorochrome p-STAT5. Les

données seront collectées à l'aide d'un cymomètre SRT Beckman Coulter®. Ces sous populations pourront également être triées grâce au cytomètre trieur disponible au laboratoire VIM Suresnes. Des analyses complémentaires viseront à préciser et comparer la réponse cellulaire au GM-CSF dans chacun de ces types cellulaires et les facteurs la déterminant : expression du récepteur au GM-CSF, expression du facteur de transcription PU.1, production de cytokines.

Les résultats attendus permettront (i) de renseigner précisément sur les sous populations de MPs au sein du parenchyme pulmonaire humain, (ii) de déterminer l'importance relative de la voie du GM-CSF dans ces sous populations et (iii) de mieux évaluer l'impact de thérapeutiques anti GM-CSF dans le système pulmonaire humain. L'hypothèse est notamment que si les MPs perdent leur sensibilité au GM-CSF au cours de leur processus de différenciation, alors le pouvoir pathogénique des traitements anti-GM-CSF devrait se limiter aux macrophages alvéolaires dérivés de monocytes, recrutés à partir du compartiment sanguin pour compléter le pool de MP notamment en cas d'agression aigüe. Le pouvoir pathogénique des traitements/anticorps anti GM-CSF nécessiterait en quelque sorte un double signal : déplétion du pool de macrophages résidents (en lien avec une procédure cytotoxique, une exposition à des aérocontaminants...) et donc recrutement de monocytes circulants + blocage de la voie de signalisation du GM-CSF empêchant la maturation complète des cellules recrutées. L'absence de pouvoir pathogénique dans le cas d'un pool suffisant de MPs résidents fonctionnels expliquerait le faible taux de complications pulmonaires observé dans les études sur les anticorps monoclonaux bloquant le GM-CSF ainsi que certaines disparités dans la présentation clinique de la protéinose alvéolaire pulmonaire.

1.2 *Prospec GM* : étude prospective d'une cohorte de patients porteurs d'anticorps anti GM-CSF

Les patients porteurs d'anticorps anti GM-CSF sont susceptibles de présenter des manifestations cliniques différentes : certains d'entre eux développeront une protéinose alvéolaire pulmonaire, d'autres des pathologies infectieuses (Nocardiose, méningite à cryptocoque) et d'autres encore un overlap entre PAP et infection. Afin de faire suite à mes travaux initiés pendant ma mobilité post doctorale, je souhaite construire une cohorte prospective française de patients porteurs d'anticorps anti GM-CSF et analyser les caractéristiques de ces anticorps pour dégager des corrélations clinico-biologiques. Cette étude sera menée en collaboration avec Le Dr David Lebeaux (Hopital Européen George Pompidou, Paris) et Pr R. Borie (Hopital Bichat, Paris), également en charge d'une cohorte retrospective de patients atteints de Nocardia + anti GM-CSF, avec les Pr S. Jouneau et Dr C Ménard (CHU Rennes) et avec Mme Pugnère (Inserm U1194 - Université de Montpellier).

Les patients seront identifiés à partir du listing du laboratoire de biologie du CHU de Rennes qui réalise la recherche d'anticorps anti GM-CSF. Les patients bénéficieront d'un prélèvement sanguin une fois par an pendant 5 ans. Une biobanque (Plasma, PBMC, éventuellement LBA) sera assurée au Centre de Ressources Biologiques de l'Hôpital Foch.

Des études fonctionnelles sur le pouvoir neutralisant des plasmas seront conduites au

laboratoire VIM Suresnes: blocage de la phosphorylation de STAT5 induite par le GM-CSF, effet sur les capacités de phagocytose de monocytes circulants et/ou macrophages pulmonaires humains. L'étude de l'affinité globale et du pouvoir bloquant compétitif des anticorps sera assurée par la plateforme PP2I (Plateau protéomique imagerie et intégration moléculaire) LabImprove LabEx, Montpellier. Des études génétiques complémentaires pourront être envisagées dans un deuxième temps.

Les objectifs seront i) la comparaison des caractéristiques des GMAb entre sous-groupes phénotypiques (Nocardia vs crypto vs PAP), ii) l'étude de l'évolution des caractéristiques des mAb au cours du temps et iii) la corrélation entre caractéristiques des auto-anticorps et le pronostic de la maladie.

Les collaborations pour la mise en place de ce projet sont en cours d'élaboration. Je prévois de le proposer pour financement à l'appel d'offre générique ANR 2023.

2. Immunomodulation des MPs en transplantation pulmonaire

La disponibilité du pool de greffons limite encore l'accès à la transplantation pulmonaire en France. La technique de perfusion pulmonaire *ex vivo* (EVLP), dans laquelle des poumons isolés sont perfusés et ventilés en normothermie avant la transplantation, a permis d'augmenter le nombre de greffons utilisables. L'équipe de chirurgie thoracique et anesthésie de Foch (Pr Sage, Pr Leguen) a grandement contribué à la mise en place de cette technique en France. Elle conduit à des résultats à long terme similaires à ceux de la technique standard froide et réduit l'occurrence de la dysfonction primaire du greffon. Par ailleurs, l'EVLP offre une fenêtre d'opportunité de prétraitement du greffon non encore exploitée en clinique. Au cours de l'EVLP, au moment de la mise sous perfusion, il survient une forte réponse inflammatoire correspondant à la réponse du tissu à l'ischémie-reperfusion (IR). Cette réponse inflammatoire intense s'accompagne d'une activation des cellules présentatrices d'antigènes, favorisant l'alloréaction et les événements de rejets ultérieurs. Des stratégies pour réduire cette inflammation liée à l'EVLP ont été étudiées par plusieurs équipes mais l'hétérogénéité des modèles utilisés, l'absence d'étude dose-réponse et l'absence d'évaluation chez des animaux transplantés en limitent leur application en clinique.

Nous souhaitons proposer un projet de recherche collaboratif sous la direction de l'équipe V2I INRAe de Jouy en Josas (Isabelle Schwartz) et la collaboration de la Chaire de transplantation (Pr Sage, Dr Glorion), dont les objectifs seront :

1) Site VIM Suresnes : développer un criblage *in vitro* pertinent de régimes anti-inflammatoires corrélés à l'efficacité de l'EVLP en utilisant des cultures de cellules pulmonaires primaires humaines et porcines en parallèle (macrophages, cellules épithéliales), 2) Site VIM Jouy en Josas : évaluer l'impact des traitements anti inflammatoires lors de l'EVLP chez les porcs transplantés. Le modèle préclinique d'EVLP le plus approprié est le porc en raison de ses similitudes anatomiques, métaboliques, physiologiques et immunologiques avec le poumon humain. Les régimes anti-inflammatoires sélectionnés sont basés sur nos résultats préliminaires prometteurs chez l'homme démontrant

notamment des propriétés de modulation de l'activation des macrophages (métabolite du tryptophane, inhibiteur de Jak1/2, agoniste du récepteur de l'adiponectine).

Une présélection de régimes anti-inflammatoires sera effectuée à différentes doses en utilisant des cellules pulmonaires primaires humaines (macrophages, cellules épithéliales) et porcines stimulées avec du LPS, un ligand de TLR4 et RAGE, et avec des chambres d'hypoxie-réoxygénation, pour simuler l'ischémie-reperfusion. Les réponses cellulaires seront mesurées à l'aide d'outils analytiques multiplex (cytokines, ROS, test de cytotoxicité). Les régimes sélectionnés au cours de cette première étape seront ensuite testés dans l'EVLP de porc. Des prélèvements tissulaires du poumon de porc seront réalisés à différents temps de l'EVLP et des analyses seront menées sur ces échantillons par RNA-seq, cytométrie de flux multiparamétrique ainsi que des dosages de cytokines sur le liquide de perfusion. Enfin, Le régime le plus efficace sera testé chez des porcs transplantés après EVLP

Dans ce projet de recherche translationnel, nous cherchons à profiter du temps offert par la technique d'EVLP pour rendre le greffon plus tolérogène. Ce projet illustre parfaitement l'intérêt clinique des stratégies d'immunomodulation cellulaire.

3. Interactions MPs et cellules épithéliales

3.1 Vulnérabilité muqueuse respiratoire

L'hôpital Foch est partenaire du projet d'Institut Hospitalier Universitaire INSPIRE porté par le Pr Marc Humbert et soumis au prochain appel d'offre IHU de l'ANR en Novembre 2022.

Le laboratoire V2I INRAe, tout comme l'antenne VIM Suresnes, sont parties prenantes des projets de recherche fondateurs de l'IHU. Le laboratoire est notamment impliqué dans un projet, sous la coordination de Delphine Descamps, qui vise à décrire la vulnérabilité de la muqueuse pulmonaire aux polluants atmosphériques et aux agents pathogènes viraux, dans le but d'établir des stratégies de prévention par la nutrition et la modulation du microbiote.

Il existe à ce jour peu d'évaluation de l'impact de l'exposition chronique des enfants ou des adultes asthmatiques aux contaminants atmosphériques sur la muqueuse. L'exposome ou exposition aux polluants des voies respiratoires pourrait être un co-facteur aggravant les maladies infectieuses et respiratoires chroniques en affectant la maturation des poumons, leur sensibilité à l'infection par le VRS et le développement ultérieur de l'asthme.

Nous étudierons *in vitro* les interactions entre les principaux constituants de la muqueuse pulmonaire, à savoir l'épithélium et les macrophages alvéolaires plus ou moins en présence des souches bactériennes du microbiote. Nous utiliserons des cellules de patients asthmatiques (cellules nasales) différenciées à l'interface air-liquide, après exposition à des polluants atmosphériques. La sélection des polluants atmosphériques sera basée sur les résultats de cohortes antérieures (CONSTANCES) et sur les relevés réguliers de l'organisme AIRPARIF. Un essai d'escalade de dose sera réalisé pour

déterminer la dose des polluants de l'air intérieur et extérieur sélectionnés. L'impact des polluants atmosphériques sélectionnés sur les fonctions et les réponses cellulaires sera évalué à différentes doses et combinaisons, et abordé dans le contexte d'une co-exposition au VRS.

Les étapes ultérieures du projet, prévues sur le site de Jouy en Josas, seront de déterminer plus précisément le rôle du microbiote dans la réponse de la muqueuse pulmonaire à ces agressions, par l'identification d'un microbiote associé aux maladies respiratoires chroniques et par l'étude du devenir pulmonaire d'animaux (souris, macaque) après modulation de leur microbiote.

3.2 Mutation de STAT3 et atteinte de l'épithélium respiratoire

Je mets au point actuellement un projet de recherche visant à étudier l'atteinte de l'épithélium respiratoire en lien avec un défaut de signalisation STAT3. Le syndrome de Job-Buckley ou syndrome hyperIgE fait partie des déficits immunitaire primitifs ; il est dû à une mutation dans le gène codant pour le facteur de transcription STAT3 (78). Les patients atteints de ce syndrome présentent des infections respiratoires particulièrement fréquentes, bactériennes et fongiques. Une des particularités de ces manifestations pulmonaires est la fréquence élevée d'anomalies bronchiques et de dystrophies bronchiques voire de pneumatocèles survenant dans les suites d'une infection, faisant suspecter un défaut de la réparation épithéliale. En effet, le déficit en STAT 3 entraîne un défaut de cicatrisation (79,80). Dans les poumons, il a été montré que la voie IL-6 / STAT 3 était impliquée dans la cicatrisation de l'épithélium respiratoire et permettait de maintenir un équilibre entre les cellules ciliées et les cellules de gobelet (81).

Au cours de ce projet de recherche, des cellules épithéliales nasales seront récupérées par frottis nasal et cultivées en interface air-liquide. Nous cultiverons des cellules de volontaires sains en présence d'inhibiteurs pharmacologiques de STAT3 ainsi que des cellules prélevées chez des patients atteints du syndrome hyperIgE et donc porteuses d'une mutation inhibitrice de STAT3. Elles seront comparées à des cellules épithéliales nasales de volontaires sains sans traitements. Ce modèle sera également comparé à celui de cellules épithéliales bronchiques isolées à partir de pièces de lobectomie de patients opérés à l'hôpital Foch, sans et en présence présence d'inhibiteurs pharmacologiques de STAT3.

Les analyses porteront sur l'intégrité de l'épithélium (mesure de résistance électrique transépithéliale), réponse cytokinique à une stimulation par IFN, marqueurs de transition épithélio-mesenchymateuse. Des travaux récents ont montré une hyperactivation de la voie JAK-STAT1 dans des monocytes de patients porteurs d'une mutation inhibitrice de STAT3 ; le traitement des monocytes par ruxolitinib permettait de réduire cette hyperactivation JAK-STAT1, notamment après stimulation par de l'IFN. Nous essaierons de mettre au point des co-cultures de monocytes-cellules épithéliales afin d'évaluer l'effet du ruxolitinib dans ce modèle.

4. Recherche en pédagogie : la question du genre dans l'enseignement

Je suis impliquée dans l'enseignement de la pneumologie au sein de la faculté de médecine-UVSQ et les questions de pédagogie m'intéressent particulièrement. Je souhaite développer un axe de recherche en pédagogie autour de la question du genre. Les représentations sociales liées au genre sont susceptibles de modifier le raisonnement et l'attitude du corps médical et par là d'induire des erreurs et des inégalités de prise en charge. Prendre conscience de ces stéréotypes et biais de genre permet d'en contrôler et limiter l'impact. Cette prise de conscience, phénomène assez récent en médecine, a débouché sur des modifications de pratiques et sur des campagnes de sensibilisation spécifiques. C'est par exemple le cas de la communauté cardiologique qui a tenu à communiquer autour du risque de minimiser les pathologies cardiovasculaires chez les sujets féminins.

Au cours de mon DIU de pédagogie, j'ai travaillé sur ce sujet pour la rédaction de mon mémoire. Je me suis demandé dans quelle mesure l'enseignement de la médecine était un vecteur de stéréotypes de genre. Ainsi, j'ai analysé tous les sujets d'examen de fin de deuxième cycle d'études médicales, relevé les associations genre/pathologie ou genre/habitudes de vie, étudié l'évolution de ces associations au cours des 30 dernières années et je les ai comparées aux données objectives de santé en France. Cette étude a montré que, malgré une amélioration sur les 30 dernières années, notre enseignement de la médecine comporte bien des stéréotypes de genre. Identifier ces biais de genre est une première étape mais d'autres questions restent à soulever :

- l'évaluation de l'impact de ces biais sur le raisonnement médical. Sont-ils toujours délétères ou peuvent-ils être des outils efficaces de pédagogie qu'il ne faudrait pas sous-estimer ?
- mettre au point des stratégies d'éviction pour une médecine plus inclusive et égalitaire

Je souhaite poursuivre l'exploration de la problématique du genre, en complétant et finalisant l'étude sur les biais de genre dans les sujets d'examen, en effectuant des enquêtes auprès des élèves et des enseignants, en élaborant des dossiers progressifs non genrés, en proposant des séminaires de sensibilisation au genre à l'attention des étudiants et des professeurs.

REFERENCES

1. Teti G, Biondo C, Beninati C. The Phagocyte, Metchnikoff, and the Foundation of Immunology. *Microbiol Spectr.* avr 2016;4(2).
2. Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol.* 14 oct 2011;11(11):723-37.
3. Sieweke MH, Allen JE. Beyond stem cells: self-renewal of differentiated macrophages. *Science.* 22 nov 2013;342(6161):1242974.
4. Yona S, Kim KW, Wolf Y, Mildner A, Varol D, Breker M, et al. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. *Immunity.* 24 janv 2013;38(1):79-91.
5. Gomez Perdiguero E, Klapproth K, Schulz C, Busch K, Azzoni E, Crozet L, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature.* 26 févr 2015;518(7540):547-51.
6. Bian Z, Gong Y, Huang T, Lee CZW, Bian L, Bai Z, et al. Deciphering human macrophage development at single-cell resolution. *Nature.* juin 2020;582(7813):571-6.
7. Hashimoto D, Chow A, Noizat C, Teo P, Beasley MB, Leboeuf M, et al. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. *Immunity.* 18 avr 2013;38(4):792-804.
8. Hoeffel G, Ginhoux F. Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages. *Cell Immunol.* août 2018;330:5-15.
9. Byrne AJ, Mathie SA, Gregory LG, Lloyd CM. Pulmonary macrophages: key players in the innate defence of the airways. *Thorax.* déc 2015;70(12):1189-96.
10. Bharat A, Borhade SM, Morales-Nebreda L, McQuattie-Pimentel AC, Soberanes S, Ridge K, et al. Flow Cytometry Reveals Similarities Between Lung Macrophages in Humans and Mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* janv 2016;54(1):147-9.
11. Yu YRA, Hotten DF, Malakhau Y, Volker E, Ghio AJ, Noble PW, et al. Flow Cytometric Analysis of Myeloid Cells in Human Blood, Bronchoalveolar Lavage, and Lung Tissues. *Am J Respir Cell Mol Biol.* janv 2016;54(1):13-24.
12. Tighe RM, Redente EF, Yu YR, Herold S, Sperling AI, Curtis JL, et al. Improving the Quality and Reproducibility of Flow Cytometry in the Lung. An Official American Thoracic Society Workshop Report. *Am J Respir Cell Mol Biol.* août 2019;61(2):150-61.
13. Evren E, Ringqvist E, Tripathi KP, Sleiers N, Rives IC, Alisjahbana A, et al. Distinct developmental pathways from blood monocytes generate human lung macrophage diversity. *Immunity.* 9 févr 2021;54(2):259-275.e7.
14. Tan SYS, Krasnow MA. Developmental origin of lung macrophage diversity. *Development.* 15 avr 2016;143(8):1318-27.
15. Evren E, Ringqvist E, Willinger T. Origin and ontogeny of lung macrophages: from mice to humans. *Immunology.* juin 2020;160(2):126-38.
16. Bittmann I, Dose T, Baretton GB, Müller C, Schwaiblmair M, Kur F, et al. Cellular chimerism of the lung after transplantation. An interphase cytogenetic study. *Am J Clin Pathol.* avr 2001;115(4):525-33.
17. Tan SYS, Krasnow MA. Developmental origin of lung macrophage diversity. *Development.* 15 avr 2016;143(8):1318-27.
18. van de Laar L, Saelens W, De Prijck S, Martens L, Scott CL, Van Isterdael G, et al. Yolk Sac Macrophages, Fetal Liver, and Adult Monocytes Can Colonize an Empty Niche and Develop into Functional Tissue-Resident Macrophages. *Immunity.* 19 avr 2016;44(4):755-68.
19. Gibbings SL, Thomas SM, Atif SM, McCubbrey AL, Desch AN, Danhorn T, et al.

- Three Unique Interstitial Macrophages in the Murine Lung at Steady State. *Am J Respir Cell Mol Biol.* juill 2017;57(1):66-76.
20. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity.* 17 juill 2014;41(1):14-20.
 21. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* déc 2004;25(12):677-86.
 22. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol.* déc 2008;8(12):958-69.
 23. Locati M, Curtale G, Mantovani A. Diversity, Mechanisms, and Significance of Macrophage Plasticity. *Annu Rev Pathol.* 24 janv 2020;15:123-47.
 24. Trapnell BC, Nakata K, Bonella F, Campo I, Griese M, Hamilton J, et al. Pulmonary alveolar proteinosis. *Nat Rev Dis Primers.* 7 mars 2019;5(1):16.
 25. Borie R, Danel C, Debray MP, Taille C, Dombret MC, Aubier M, et al. Pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir Rev.* juin 2011;20(120):98-107.
 26. Kitamura T, Tanaka N, Watanabe J, Uchida null, Kanegasaki S, Yamada Y, et al. Idiopathic pulmonary alveolar proteinosis as an autoimmune disease with neutralizing antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med.* 20 sept 1999;190(6):875-80.
 27. Uchida K, Nakata K, Trapnell BC, Terakawa T, Hamano E, Mikami A, et al. High-affinity autoantibodies specifically eliminate granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activity in the lungs of patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. *Blood.* 1 févr 2004;103(3):1089-98.
 28. Kitamura T, Tanaka N, Watanabe J, Uchida null, Kanegasaki S, Yamada Y, et al. Idiopathic pulmonary alveolar proteinosis as an autoimmune disease with neutralizing antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med.* 20 sept 1999;190(6):875-80.
 29. Uchida K, Nakata K, Suzuki T, Luisetti M, Watanabe M, Koch DE, et al. Granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor autoantibodies and myeloid cell immune functions in healthy subjects. *Blood.* 12 mars 2009;113(11):2547-56.
 30. Seymour JF, Doyle IR, Nakata K, Presneill JJ, Schoch OD, Hamano E, et al. Relationship of anti-GM-CSF antibody concentration, surfactant protein A and B levels, and serum LDH to pulmonary parameters and response to GM-CSF therapy in patients with idiopathic alveolar proteinosis. *Thorax.* mars 2003;58(3):252-7.
 31. Suzuki T, Sakagami T, Young LR, Carey BC, Wood RE, Luisetti M, et al. Hereditary pulmonary alveolar proteinosis: pathogenesis, presentation, diagnosis, and therapy. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 nov 2010;182(10):1292-304.
 32. Hadchouel A, Drummond D, Pontoizeau C, Aoust L, Hurtado Nedelec MM, El Benna J, et al. Methionine supplementation for multi-organ dysfunction in MetRS-related pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir J.* avr 2022;59(4):2101554.
 33. Chaulagain CP, Pilichowska M, Brinckerhoff L, Tappa M, Erban JK. Secondary pulmonary alveolar proteinosis in hematologic malignancies. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* déc 2014;7(4):127-35.
 34. Ishii H, Tazawa R, Kaneko C, Saraya T, Inoue Y, Hamano E, et al. Clinical features of secondary pulmonary alveolar proteinosis: pre-mortem cases in Japan. *Eur Respir J.* févr 2011;37(2):465-8.
 35. Punatar AD, Kusne S, Blair JE, Seville MT, Vikram HR. Opportunistic infections in

- patients with pulmonary alveolar proteinosis. *J Infect.* août 2012;65(2):173-9.
36. Sheng G, Chen P, Wei Y, Chu J, Cao X, Zhang HL. Better approach for autoimmune pulmonary alveolar proteinosis treatment: inhaled or subcutaneous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: a meta-analysis. *Respir Res.* 31 août 2018;19(1):163.
 37. Trapnell BC, Inoue Y, Bonella F, Morgan C, Jouneau S, Bendstrup E, et al. Inhaled Molgramostim Therapy in Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis. *N Engl J Med.* 22 oct 2020;383(17):1635-44.
 38. Soyez B, Borie R, Menard C, Cadranet J, Chavez L, Cottin V, et al. Rituximab for auto-immune alveolar proteinosis, a real life cohort study. *Respir Res.* 25 avr 2018;19(1):74.
 39. Sallèse A, Suzuki T, McCarthy C, Bridges J, Filuta A, Arumugam P, et al. Targeting cholesterol homeostasis in lung diseases. *Sci Rep.* 31 août 2017;7(1):10211.
 40. Dupin C, Hurtado M, Cazes A, Taille C, Debray MP, Guenée C, et al. Pioglitazone in pulmonary alveolar proteinosis: promising first clinical experience. *Respir Med Res.* nov 2020;78:100756.
 41. Salvator H, Berti E, Catherinot E, Rivaud E, Chabrol A, Nguyen S, et al. Pulmonary alveolar proteinosis and Mycobacterium abscessus lung infection related to ruxolitinib after allogeneic stem cell transplantation. *Eur Respir J.* mai 2018;51(5):1701960.
 42. Salvator H, Tcherakian C, Maillard N, Milin S, Bergeron A, Bondeulle L, et al. Pulmonary Alveolar Proteinosis After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation in Adults: A French Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire Survey. *Chest.* nov 2021;160(5):1783-8.
 43. Sugiura H, Nishimori H, Nishii K, Toji T, Fujii K, Fujii N, et al. Secondary Pulmonary Alveolar Proteinosis Associated with Primary Myelofibrosis and Ruxolitinib Treatment: An Autopsy Case. *Intern Med.* 15 août 2020;59(16):2023-8.
 44. Mahlaoui N, Picard C, Bach P, Costes L, Courteille V, Ranohavimparany A, et al. Genetic diagnosis of primary immunodeficiencies: A survey of the French national registry. *J Allergy Clin Immunol.* avr 2019;143(4):1646-1649.e10.
 45. Trevelin SC, Shah AM, Lombardi G. Beyond bacterial killing: NADPH oxidase 2 is an immunomodulator. *Immunol Lett.* mai 2020;221:39-48.
 46. Salvator H, Mahlaoui N, Catherinot E, Rivaud E, Pilmis B, Borie R, et al. Pulmonary manifestations in adult patients with chronic granulomatous disease. *Eur Respir J.* juin 2015;45(6):1613-23.
 47. Dunogué B, Pilmis B, Mahlaoui N, Elie C, Coignard-Biehler H, Amazzough K, et al. Chronic Granulomatous Disease in Patients Reaching Adulthood: A Nationwide Study in France. *Clin Infect Dis.* 15 mars 2017;64(6):767-75.
 48. Misharin AV, Morales-Nebreda L, Reyfman PA, Cuda CM, Walter JM, McQuattie-Pimentel AC, et al. Monocyte-derived alveolar macrophages drive lung fibrosis and persist in the lung over the life span. *J Exp Med.* 7 août 2017;214(8):2387-404.
 49. Bittmann I, Dose T, Baretton GB, Müller C, Schwaiblmair M, Kur F, et al. Cellular chimerism of the lung after transplantation. An interphase cytogenetic study. *Am J Clin Pathol.* avr 2001;115(4):525-33.
 50. Eguíluz-Gracia I, Schultz HHL, Sikkeland LIB, Danilova E, Holm AM, Pronk CJH, et al. Long-term persistence of human donor alveolar macrophages in lung transplant recipients. *Thorax.* nov 2016;71(11):1006-11.
 51. Nayak DK, Zhou F, Xu M, Huang J, Tsuji M, Hachem R, et al. Long-Term Persistence of Donor Alveolar Macrophages in Human Lung Transplant Recipients That Influences Donor-Specific Immune Responses. *Am J Transplant.* août 2016;16(8):2300-11.
 52. Hunninghake GW, Gadek JE, Szapiel SV, Strumpf IJ, Kawanami O, Ferrans VJ, et al. The human alveolar macrophage. *Methods Cell Biol.* 1980;21A:95-105.

53. Thomas ED, Ramberg RE, Sale GE, Sparkes RS, Golde DW. Direct evidence for a bone marrow origin of the alveolar macrophage in man. *Science*. 4 juin 1976;192(4243):1016-8.
54. Byrne AJ, Powell JE, O'Sullivan BJ, Ogger PP, Hoffland A, Cook J, et al. Dynamics of human monocytes and airway macrophages during healthy aging and after transplant. *J Exp Med*. 2 mars 2020;217(3):e20191236.
55. de Koning C, Plantinga M, Besseling P, Boelens JJ, Nierkens S. Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Children. *Biol Blood Marrow Transplant*. févr 2016;22(2):195-206.
56. Mehta RS, Rezvani K. Immune reconstitution post allogeneic transplant and the impact of immune recovery on the risk of infection. *Virulence*. 16 nov 2016;7(8):901-16.
57. Matute-Bello G, Lee JS, Frevert CW, Liles WC, Sutlief S, Ballman K, et al. Optimal timing to repopulation of resident alveolar macrophages with donor cells following total body irradiation and bone marrow transplantation in mice. *J Immunol Methods*. sept 2004;292(1-2):25-34.
58. Hubbard LLN, Ballinger MN, Wilke CA, Moore BB. Comparison of conditioning regimens for alveolar macrophage reconstitution and innate immune function post bone marrow transplant. *Exp Lung Res*. juin 2008;34(5):263-75.
59. Nakata K, Gotoh H, Watanabe J, Uetake T, Komuro I, Yuasa K, et al. Augmented proliferation of human alveolar macrophages after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 15 janv 1999;93(2):667-73.
60. Judet A, Copie-Bergman C, Zemoura L, Catherinot E, Martin N, Rivaud E, et al. Epithelial chimerism in lung tissue after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. avr 2018;53(4):474-7.
61. Salvator H, Devillier P, Rivaud E, Catherinot E, Honderlick P, Couderc LJ. [Obesity, poor prognostic factor in pandemic influenza A (H1N1) 2009: the role of adipokines in the modulation of respiratory defenses]. *Rev Pneumol Clin*. sept 2011;67(4):244-9.
62. Salvator H, Grassin-Delyle S, Brollo M, Couderc LJ, Abrial C, Victoni T, et al. Adiponectin Inhibits the Production of TNF- α , IL-6 and Chemokines by Human Lung Macrophages. *Front Pharmacol*. 2021;12:718929.
63. Salvator H, Grassin-Delyle S, Naline E, Brollo M, Fournier C, Couderc LJ, et al. Contrasting Effects of Adipokines on the Cytokine Production by Primary Human Bronchial Epithelial Cells: Inhibitory Effects of Adiponectin. *Front Pharmacol*. 2020;11:56.
64. Rosen LB, Freeman AF, Yang LM, Jutivorakool K, Olivier KN, Angkasekwinai N, et al. Anti-GM-CSF autoantibodies in patients with cryptococcal meningitis. *J Immunol*. 15 avr 2013;190(8):3959-66.
65. Rosen LB, Rocha Pereira N, Figueiredo C, Fiske LC, Ressler RA, Hong JC, et al. Nocardia-induced granulocyte macrophage colony-stimulating factor is neutralized by autoantibodies in disseminated/extrapulmonary nocardiosis. *Clin Infect Dis*. 1 avr 2015;60(7):1017-25.
66. Browne SK. Anticytokine autoantibody-associated immunodeficiency. *Annu Rev Immunol*. 2014;32:635-57.
67. Bastard P, Rosen LB, Zhang Q, Michailidis E, Hoffmann HH, Zhang Y, et al. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science*. 23 oct 2020;370(6515):eabd4585.
68. Hamilton JA. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Immunol*. juill 2008;8(7):533-44.
69. Lee KMC, Achuthan AA, Hamilton JA. GM-CSF: A Promising Target in Inflammation and Autoimmunity. *Immunotargets Ther*. 2020;9:225-40.

70. Burmester GR, Weinblatt ME, McInnes IB, Porter D, Barbarash O, Vatutin M, et al. Efficacy and safety of mavrilimumab in subjects with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1 sept 2013;72(9):1445-52.
71. Taylor PC, Saurigny D, Vencovsky J, Takeuchi T, Nakamura T, Matsievskaia G, et al. Efficacy and safety of namilumab, a human monoclonal antibody against granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) ligand in patients with rheumatoid arthritis (RA) with either an inadequate response to background methotrexate therapy or an inadequate response or intolerance to an anti-TNF (tumour necrosis factor) biologic therapy: a randomized, controlled trial. *Arthritis Res Ther.* 18 avr 2019;21(1):101.
72. Salvator H, Berti E, Catherinot E, Rivaud E, Chabrol A, Nguyen S, et al. Pulmonary alveolar proteinosis and Mycobacterium abscessus lung infection related to ruxolitinib after allogeneic stem cell transplantation. *Eur Respir J.* mai 2018;51(5):1701960.
73. Salvator H, Tcherakian C, Maillard N, Milin S, Bergeron A, Bondeelle L, et al. Pulmonary Alveolar Proteinosis After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation in Adults: A French Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire Survey. *Chest.* nov 2021;160(5):1783-8.
74. Sugiura H, Nishimori H, Nishii K, Toji T, Fujii K, Fujii N, et al. Secondary Pulmonary Alveolar Proteinosis Associated with Primary Myelofibrosis and Ruxolitinib Treatment: An Autopsy Case. *Intern Med.* 15 août 2020;59(16):2023-8.
75. Lescoat A, Lelong M, Jeljeli M, Piquet-Pellorce C, Morzadec C, Ballerie A, et al. Combined anti-fibrotic and anti-inflammatory properties of JAK-inhibitors on macrophages in vitro and in vivo: Perspectives for scleroderma-associated interstitial lung disease. *Biochem Pharmacol.* août 2020;178:114103.
76. Mantov N, Zrounba M, Brollo M, Grassin-Delyle S, Glorion M, David M, et al. Ruxolitinib inhibits cytokine production by human lung macrophages without impairing phagocytic ability. *Front Pharmacol.* 2022;13:896167.
77. Hoppstädter J, Diesel B, Zarbock R, Breinig T, Monz D, Koch M, et al. Differential cell reaction upon Toll-like receptor 4 and 9 activation in human alveolar and lung interstitial macrophages. *Respir Res.* 15 sept 2010;11:124.
78. Tsilifis C, Freeman AF, Gennery AR. STAT3 Hyper-IgE Syndrome-an Update and Unanswered Questions. *J Clin Immunol.* juill 2021;41(5):864-80.
79. McCann KJ, Yadav M, Alishahedani ME, Freeman AF, Myles IA. Differential responses to folic acid in an established keloid fibroblast cell line are mediated by JAK1/2 and STAT3. *PLoS One.* 2021;16(3):e0248011.
80. Myles IA, Anderson ED, Earland NJ, Zarembek KA, Sastalla I, Williams KW, et al. TNF overproduction impairs epithelial staphylococcal response in hyper IgE syndrome. *J Clin Invest.* 1 août 2018;128(8):3595-604.
81. Tadokoro T, Wang Y, Barak LS, Bai Y, Randell SH, Hogan BLM. IL-6/STAT3 promotes regeneration of airway ciliated cells from basal stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2 sept 2014;111(35):E3641-3649.

Titre: Rôle des macrophages pulmonaires dans les pathologies respiratoires : une approche translationnelle

Mots clés : Macrophages ; Maladies respiratoires ; déficit immunitaire primitif ; allogreffe ; cellules souches hématopoïétiques

Résumé : Le système respiratoire est constamment exposé aux agressions extérieures. L'homéostasie pulmonaire dépend d'un système immunitaire finement régulé dont les macrophages sont la sentinelle. Au cours de mon exercice clinique dans le service de pneumologie de l'Hôpital Foch, j'ai pu constater les conséquences pulmonaires d'un défaut des défenses immunitaires innées : protéinose alvéolaire pulmonaire (PAP), infections, inflammation chronique. Mes recherches fondamentales sont centrées sur l'étude des voies d'activation et les possibilités d'immunomodulation des macrophages pulmonaires (MPs). Au cours de ma thèse dans le laboratoire VIM Suresnes, j'ai mis en évidence une voie de régulation des MPs par les adipokines, cytokines de l'obésité, expliquant la susceptibilité infectieuse des sujets obèses. Pendant ma mobilité au National Institute of Health (USA), j'ai étudié les caractéristiques biologiques des auto-anticorps anti GM-CSF associés à la PAP ou à des infections sévères. Je développe actuellement des projets sur la signalisation du GM-CSF dans les monocytes et MPs. Ces recherches s'inscrivent dans un cadre translationnel, motivées par une question clinique et tournées vers l'implémentation thérapeutique

Cet aspect translationnel s'exprime également dans mon activité de recherche clinique au sein de la plateforme Exhalomics©. Il s'agit d'une plateforme d'étude des composés organiques volatils à la recherche de biomarqueurs dans l'air exhalé pour le suivi des maladies respiratoires. Je suis par ailleurs référente de la filière de recherche clinique du service de pneumologie et suis à ce titre en interaction avec tous les acteurs de la recherche du service, dans des domaines variés de la pneumologie. J'ai participé aux recherches de financement pour l'équipement de la plateforme, ai obtenu plusieurs bourses d'étude pour mes projets fondamentaux.

Je souhaite approfondir l'étude des macrophages pulmonaires, notamment la caractérisation de leurs sous-types et leurs spécificités. Je mets au point une cohorte française clinico-biologique de patients porteurs d'anticorps anti GM-CSF. Je souhaite également étudier les MPs dans leurs interactions avec les cellules épithéliales bronchiques.

Enfin, je développe un axe de recherche en pédagogie sur les questions du genre dans l'enseignement médical.

Title: Role of pulmonary macrophages in respiratory diseases a translational approach

Keywords : Macrophages ; Respiratory diseases ; Primary immunodeficiencies, allogeneic transplantation; hematopoietic stem cells

Abstract : The respiratory system is constantly exposed to external aggressions. Lung homeostasis depends on a finely regulated immune system of which macrophages are the sentinel. During my clinical practice in the respiratory diseases department of the Foch Hospital, I have observed the pulmonary consequences of a defect in innate immune system: pulmonary alveolar proteinosis (PAP), infections, chronic inflammation. My basic research is focused on the study of the activation pathways and the immunomodulation of pulmonary macrophages (PMs). During my thesis in the VIM-Suresnes laboratory, I have highlighted a regulatory pathway of PMs by adipokines, cytokines of obesity, explaining the infectious susceptibility of obese subjects. During my mobility at the National Institute of Health (USA), I studied the biological characteristics of anti GM-CSF autoantibodies associated with PAP or severe infections. I am currently developing projects on GM-CSF signaling in monocytes and MPs. These researches are translational, clinically motivated and focused on therapeutic implementation

This translational aspect is also expressed in my clinical research activity within the Exhalomics© platform. This is a platform for the study of volatile organic compounds in search of biomarkers in exhaled air for the monitoring of respiratory diseases. I am also the referent of the clinical research department of the pneumology service and as such I am in interaction with all the research actors of the service, in various fields of pneumology.

I have participated in the search for funding for the equipment of the platform, and have obtained several study grants for my basic projects.

I wish to deepen the study of pulmonary macrophages, especially the characterization of their subtypes and their specificities. I am developing a French clinico-biological cohort of patients with anti GM-CSF antibodies. I also want to study MPs in their interactions with bronchial epithelial cells.

Finally, I am developing a research axis in pedagogy on gender issues in medical education.