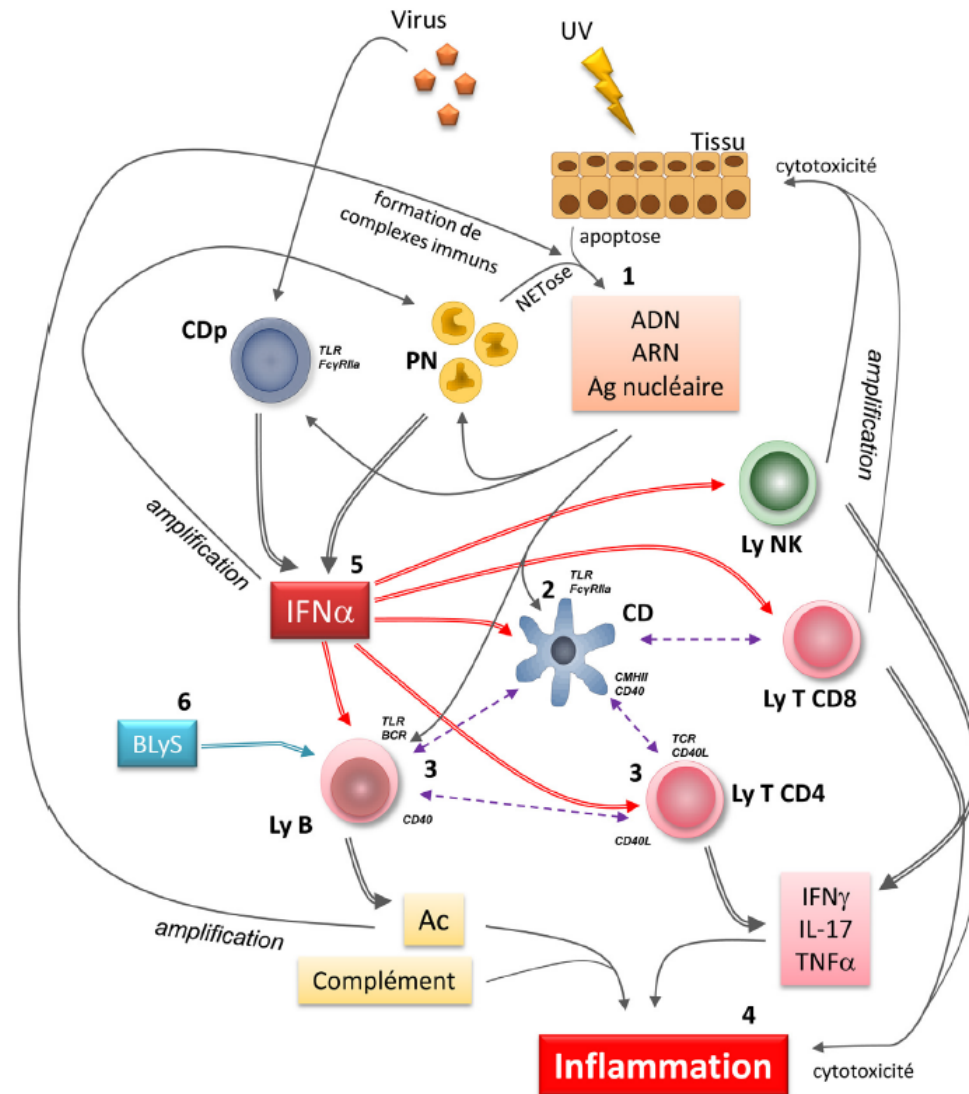


Implication de l'Unfolded Protein Response dans la physiopathologie du lupus : du fondamental à la recherche clinique

Giovanna CLAVARINO
Laboratoire d'Immunologie
CHU Grenoble Alpes

SNFMI, 12/12/2018

Lupus érythémateux systémique



Les acteurs:

- Les cellules apoptotiques
- Les cellules dendritiques
- Les lymphocytes B
- Les lymphocytes T
- Les polynucléaires neutrophiles
- Les cytokines
- Les complexes immuns
- Le complément
- Les auto-anticorps

- **Anticorps anti-ADNdb**

Isenberg DA. *et al.*, *Rheumatol Oxf Engl*, 2007
Haque SF. *et al.*, *Nov Sci Int J Med Sci*, 2012

Très spécifiques, mais retrouvés
seulement chez 50%-80% des patients

- **Anticorps anti-C1q**

Moura CG. *et al.*, *J Clin Lab Anal*, 2009
Katsumata Y, *Arthritis Rheum*, 2011
Thanei S. *et al.*, *Clinical Immunology*, 2015

Les Ac Anti-C1q ont une valeur prédictive négative
très élevée (87%) pour exclure une néphrite
lupique dans les 4 à 6 mois suivant l'analyse

- **Anticorps anti-nucléosomes**

Bizzaro N. *et al.*, *Autoimmun Rev.*, 2012
Li T. *et al.*, *Rheumatology.*, 2015

- **Anticorps anti-ADNdb and anti-C1q**

Matrat A. *et al.*, *Lupus*, 2011

- **IFN type I et type II signatures**

Chiche L. *et al.*, *Arthritis Rheumatol*, 2014

- **Anticorps anti-ficoline-3 et anti-ficoline-2**

Plawecki M.Dumestre-Pérard C, *Plos One*, 2016
Colliard S.....Dumestre-Pérard C, *Arthritis Care & Research*, 2017

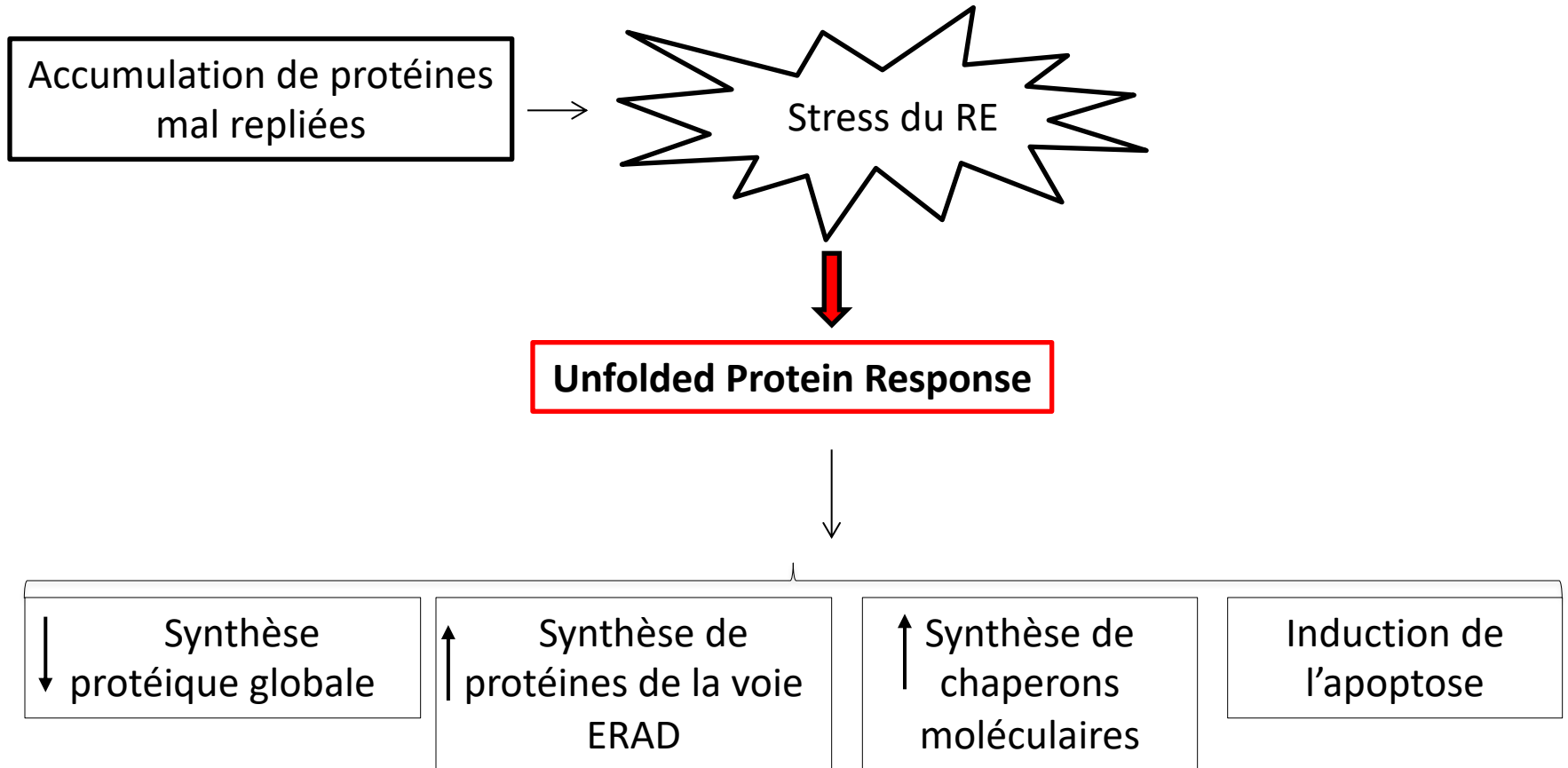
Spécificité de 98% pour le diagnostic de néphrite
lupique avec la combinaison de la positivité des
anticorps anti-C1q, anti-ficoline 2 et anti-ficoline 3

Nécessité de nouveaux biomarqueurs, surtout pronostiques

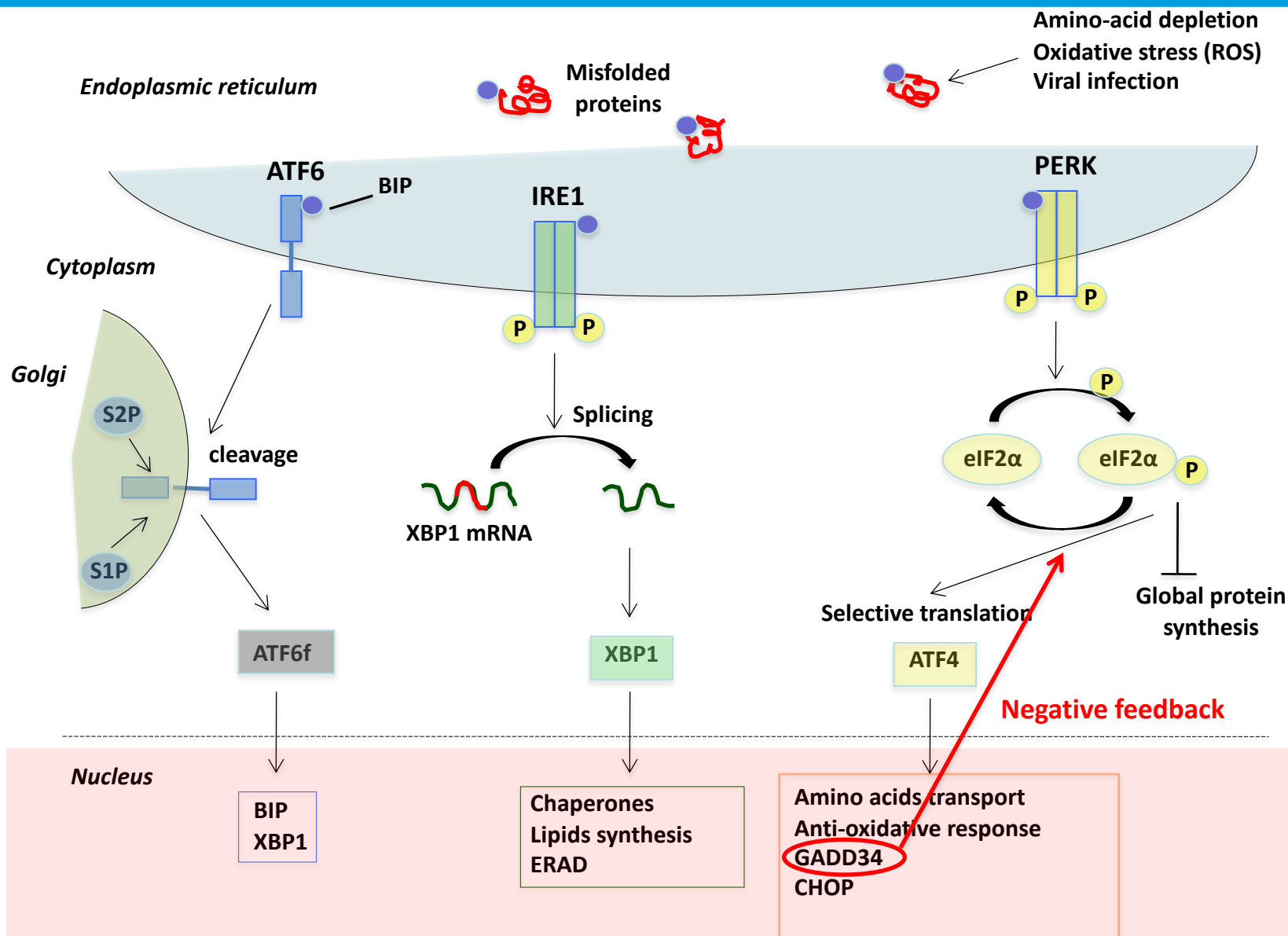
Close monitoring of patients with disease activity or biomarkers predictive of SLE flare may improve their care and long-term outcomes. Identification of flare predictors may also improve the efficiency of clinical trials by enabling researchers to balance distribution of predictors among subjects at baseline, adjust for predictors in statistical analysis, and recruit patients at higher or lower risk of flare as appropriate to the objective.

Petri MA. et al, *Arthritis and Rheumatism*, 2013

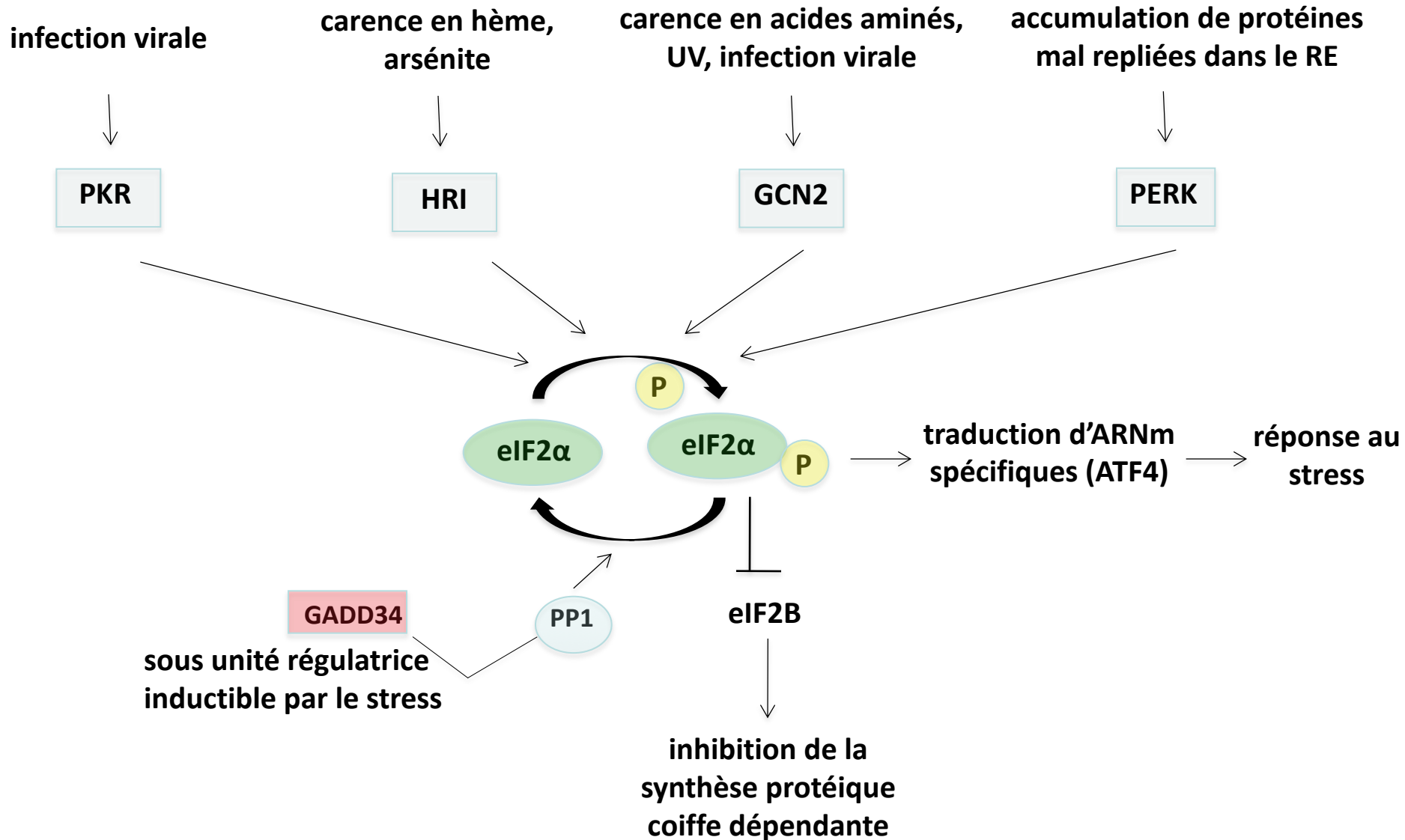
Unfolded Protein Response



Unfolded Protein Response



Les kinases de eIF2 α



Différentiation des cellules T

Scheu S. *et al.*, *Nat. Immunol.*, 2006

Développement des cellules B et production d'anticorps

Reimold N. *et al.*, *Nature*, 2001

Développement et survie des DCs

Iwakoshi N. *et al.*, *Nat. Immunol.*, 2003

Production d'IFN- β par les DCs

Smith J. *et al.*, *Eur. J., Immunol.*, 2008

Réarrangement du TCR et BCR

Brunsing R. *et al.*, *JBC.*, 2008

MICI

Kaser A. *et al.*, *Cell*, 2008

Polyarthrite rhumatoïde

Park Y-J *et al.*, *J Korean Med Sci*, 2014

Clavarino G. *et al.*, *Autoimmunity*, 2016

Lupus érythémateux systémique

Garaud JC. *et al.*, *PLoS ONE*, 2011

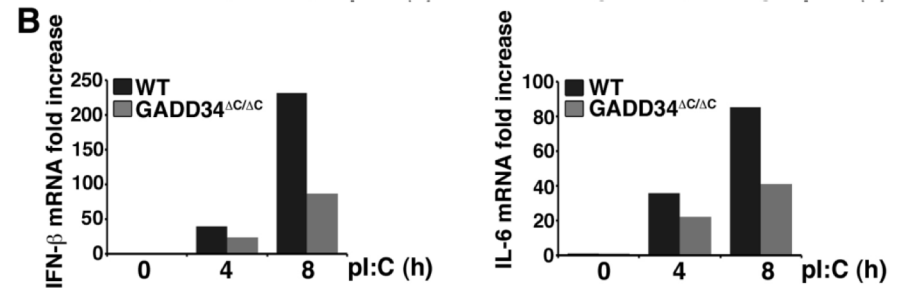
Lee WS. *et al.*, *J Leukoc Biol*, 2015

GADD34 et immunité innée

Relation entre réponse cellulaire au stress et immunité innée

GADD34 est nécessaire pour la production de cytokines pro-inflammatoires *in vitro* par les cellules dendritiques stimulées par l'ARN double-brin

Clavarino G. *et al.*, PNAS, 2012

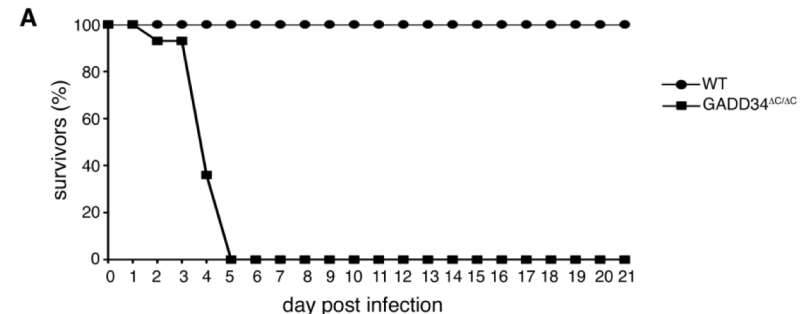


Mécanismes d'action de GADD34

...et *in vivo*

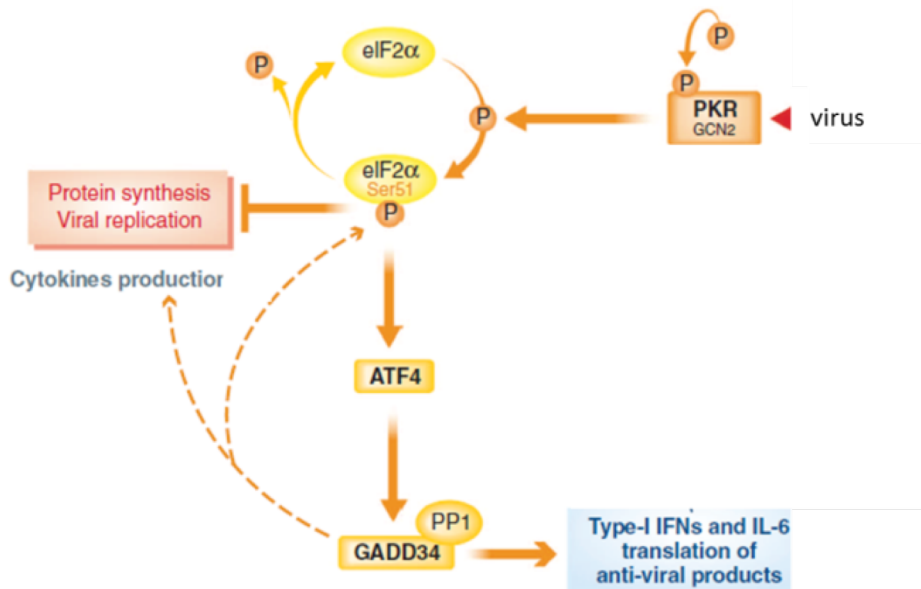
Rôle de GADD34 dans la production d'IFN-β en réponse à la détection d'ARN double-brin ou infection par le virus Chikungunya

Clavarino G. *et al.*, PLoS Pathogens, 2012

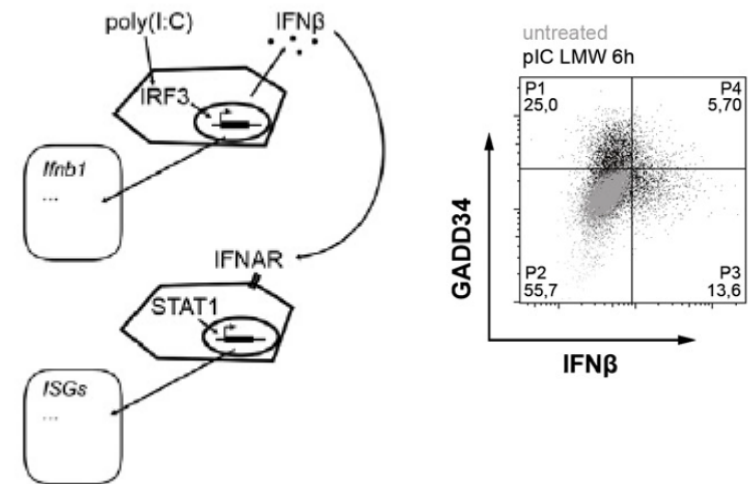


GADD34 et immunité innée

Lien direct entre la détection de pathogènes et la voie ATF4-dépendante de l'UPR

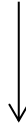


adapted from Claudio N. *et al.*, *EMBO J*, 2013



Dalet A. *et al.*, *EMBO J*, 2017

GADD34 est une molécule clé de l'inflammation dans
des modèles murins



Rôle dans la synthèse de cytokines aussi chez l'homme,
en particulier dans des pathologies
auto-immunes à composante inflammatoire?

Objectif principal

Évaluation de l'expression du gène codant pour GADD34 dans les PBMC de patients atteints de LES en comparaison avec l'expression de GADD34 dans une population de sujets sains

L'expression de GADD34 est mesurée par PCR quantitative

Objectif secondaire

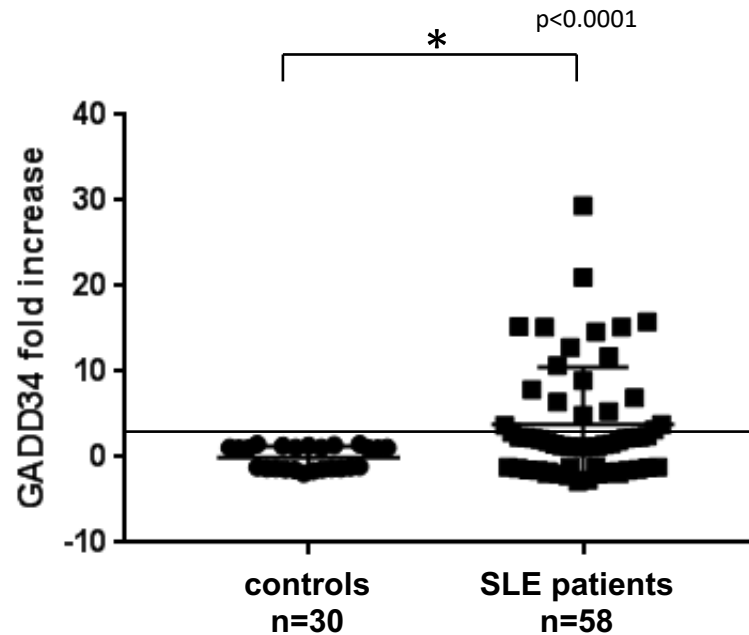
Évaluation de l'expression des gènes de l'IFN de type I (IFN- α et IFN- β), et des gènes de réponse à l'IFN dans les PBMC de patients atteints de LES, en relation avec l'expression de GADD34

Analyse descriptive de la population étudiée

	SLE patients (n=58)	Healthy subjects (n=30)
Age : median (range)	39.5 (32-54)	44 (20-68)
Gender	55 F, 3 M	27 F, 3 M

No activity	SLEDAI = 0
Low activity	SLEDAI between 1 and 5
Mild activity	SLEDAI between 6 and 10
High activity	SLEDAI ≥ 11

			Number of SLE patients (n=58)	
Disease activity	Low activity		28	
	Mild activity		9	
	High activity		1	
	No activity		17	
Clinical features	Cutaneous		46	
	Joint		49	
	Kidney		15	
	Haematological		17	
Other auto-immunes disease	Thyroiditis		10	
	Sjögren’s syndrome		6	
	Antiphospholipd syndrome (ALPS)		20	
Treatment	Hydroxychloroquine		36	
	Corticosteroids		17	
	Mycophenolate Mofetil		8	
	Methotrexate		5	
	No treatment		12	
Autoantibodies	Antinuclear antibodies		43	
	Anti-dsDNA antibodies		24	
	Anti-ENA antibodies	Anti-SSA 52 and 60		15
		Anti SSA 52		13
		Anti SSA 60		13
		Anti SSB		5
		Anti-RNP		11
Anti-Sm		6		



- Surexpression de GADD34 chez 30 patients atteints de LES (52%)
- La surexpression de GADD34 est liée à la surexpression de CHOP ($p < 0.001$), un autre gène de la voie ATF4-dépendante de l'UPR
- Pas de relation entre la surexpression de GADD34 et l'activité de la pathologie

	Gene expression Median [25 th ; 75 th]	Number of SLE patients overexpressing the gene
IFN- α	3.40 [0.83 ; 13]	33
IFN- β	2.1 [0.13 ; 8.61]	28
ISG15	3.33 [0.65 ; 7.68]	38
IFI27	7.5 [1.53 ; 64]	38
IFI44	1.94 [-1.23 ; 5.32]	26
IFIH1	1.85 [1.08 ; 2.88]	21
IFIT3	2.71 [0.22 ; 5.53]	31
IP10	1.20 [-1.68 ; 2.48]	3
OAS1	-1.18 [-1.78 ; 4.82]	6
MX1	0.03 [-1.86 ; 2.07]	13

La surexpression de GADD34 est liée à la surexpression des gènes de réponse à l'IFN chez les patients atteints de LES

		GADD34 non-overexpressing SLE patients	GADD34 overexpressing SLE patients	p value
IFN- α (n=42)	Overexpressed	7	23	= 0.001
	Non overexpressed	10	2	
IFN- β (n=41)	Overexpressed	6	19	0.0086
	Non overexpressed	11	5	
ISG15 (n=53)	Overexpressed	9	31	< 0.001 (1,14 10 ⁻⁵)
	Non overexpressed	12	1	
IFIH1 (n=42)	Overexpressed	3	22	< 0.001 (1,06 10 ⁻⁵)
	Non overexpressed	14	3	

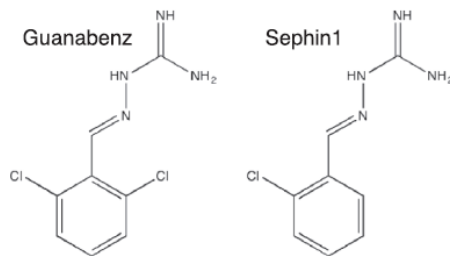
Fisher's exact test

Conclusions et perspectives

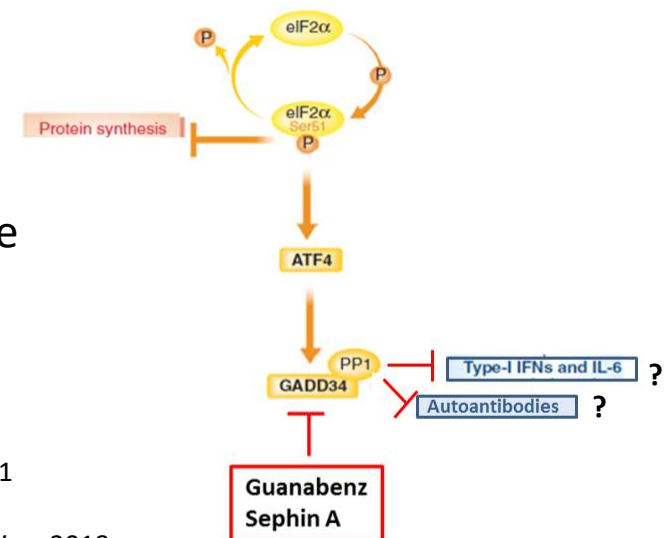
- GADD34 est surexprimé chez les patients atteints de LES
- La surexpression de GADD34 est liée à la surexpression de l'IFN de type I et de gènes de réponse à l'IFN
- Existence d'une Unfolded Protein Response chez les patients atteints de LES

En perspective :

- GADD34 : marqueur biologique pronostique poussées de LES? (PHRC GADD34_LES 38RC1)
- Explorer GADD34 comme cible thérapeutique potentielle d'intérêt dans pathologies auto-immune et inflammatoires



Boyce M. *et al.*, *Science*, 2005
 Tsaytler P. *et al.*, *Science*, 2011
 Das I. *et al.*, *Science*, 2015
 Perego J. *et al.*, *Science signaling*, 2018



Évaluation pronostique de l'augmentation de l'expression du gène codant pour GADD34 au cours du Lupus Erythémateux Systémique

Investigateur principal : Pr Jean-Yves CESBRON

Responsable scientifique : Dr Giovanna CLAVARINO

Les centres

Étude prospective, multicentrique

Nombre de sujets : 250 patients

CH d'Annecy

Dr. Chafika Morati-Hafsaoui
Dr. Antoine Baudet

CHU de Saint-Étienne

CHU de Saint Étienne

Pr. Pascal Cathebras
Dr. Martin Killian

CH d'Annecy

CHU Grenoble Alpes

CH de Chambéry

CH de Chambéry

Dr. Audrey Gorse

Laboratoire d'Immunologie du CHUGA

Pr. Jean-Yves Cesbron
Dr. Giovanna Clavarino
Dr. Chantal Dumestre-Pérard

CHU de Marseille

Hôpital européen de
Marseille

Hôpital Européen de Marseille

Dr. Laurent Chiche
Service de Néphrologie du
CHU de Marseille

PHRC LUMIER²

CIC plurithématique CHUGA

Pr. Jean-Luc Cracowski
Pr José Labarère
Nicolas Gonnet

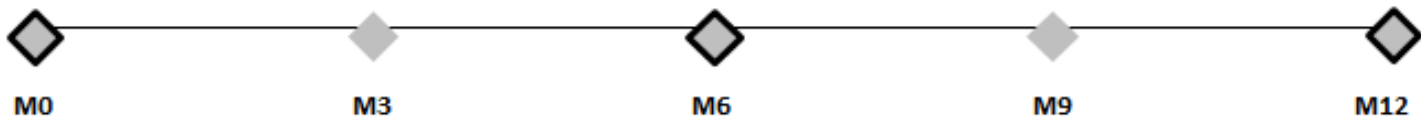
Dr. Noémie Jourde-Chiche

Service de Médecine Interne du CHUGA

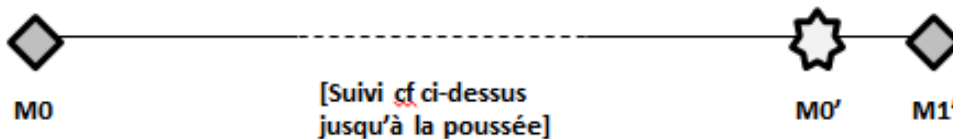
Pr. Laurence Bouillet
Dr. Françoise Sarrot-Reynauld
Dr. Alexis Bocquet

LES quiescents depuis au moins 3 mois (n=250)

LES quiescents au cours du suivi à 12 mois (environ : 70%, n=175)



LES qui présenteront une poussée au cours du suivi à 12 mois (environ : 30%, n=75)



Témoins (n=30)



Visites avec évaluation médicale selon suivi habituel (score SLEDAI, PGA) et prélèvements supplémentaires



Prélèvements supplémentaires



Poussée avec évaluation médicale (score SLEDAI, PGA) et prélèvements supplémentaires

Objectif principal

Évaluation de l'augmentation de l'expression du gène codant pour GADD34 dans les cellules mononucléées sanguines comme nouveau biomarqueur pronostique de poussée de lupus érythémateux systémique sur 12 mois de suivi

L'expression du gène codant pour GADD34 est mesurée par PCR quantitative

Objectifs secondaires

- Dosage des cytokines IL-6, IL-17, IFN- α et IFN- β dans le plasma
- Quantification de GADD34 dans les cellules du sang total

Objectif étude ancillaire

- Identification de la sous-population leucocytaire surexprimant GADD34 (tri magnétique des cellules B, T et monocytes)

Merci à...

Laboratoire d'Immunologie, CHUGA

Pr. Jean-Yves Cesbron
Dr. Chantal Dumestre-Pérard
Dr. Federica Defendi
Caroline Plazy
Séverine Béatrix
Frédérique Martinez

Pierre Audoin

Service de Médecine Interne CHUGA

Dr. Françoise Sarrot-Reynauld
Pr. Laurence Bouillet
Dr. Alexis Bocquet
Mélanie Arnaud

Centre d'Investigation Clinique CHUGA

Pr. Jean-Luc Cracowski
Pr. José Labarère
Nicolas Gonnet
Les infirmières

Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy (CIML)

Dr. Philippe Pierre



CH d'Annecy

Dr. Chafika Morati-Hafsaoui
Dr. Antoine Baudet

CHU de Saint Étienne

Pr. Pascal Cathebras
Dr. Martin Killian

CH de Chambéry

Dr. Audrey Gorse

Hôpital Européen de Marseille

Dr. Laurent Chiche
**Service de Néphrologie du
CHU de Marseille**
Dr. Noémie Jourde-Chiche

Les patient(e)s!!!

Merci pour votre attention!