



**HAL**  
open science

# Les lymphocytes T régulateurs, biomarqueurs du contrôle de l'asthme chez l'enfant atteint d'asthme sévère allergique traité par omalizumab

Pauline Benier-Tallon

► **To cite this version:**

Pauline Benier-Tallon. Les lymphocytes T régulateurs, biomarqueurs du contrôle de l'asthme chez l'enfant atteint d'asthme sévère allergique traité par omalizumab. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01306266

**HAL Id: dumas-01306266**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01306266v1>**

Submitted on 22 Apr 2016

**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.

## AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES  
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2015

N° 134

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE  
DOCTEUR EN MÉDECINE

Les lymphocytes T régulateurs, biomarqueurs du contrôle de  
l'asthme chez l'enfant atteint d'asthme sévère allergique  
traité par omalizumab

Présentée et soutenue publiquement  
le 6 octobre 2015

Par

***Pauline BENIER-TALLON***

Née le 27 octobre 1985 à Paris (75)

Dirigée par Mme Le Professeur Jocelyne Just, PU-PH

Jury :

M. Le Professeur Philippe Labrune, PU-PH ..... Président

M. Le Professeur André Denjean, PU-PH

Mme Le Docteur Nathalie Lambert, PH



Except where otherwise noted, this work is licensed under  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

## Remerciements

*Au Pr Just.*

*Merci de m'avoir encadrée pour ce travail, de vos précieux conseils et de votre patience lorsque je me dispersais. Merci pour tout ce que vous m'avez enseigné sur la pneumologie pédiatrique. Merci d'avoir accepté que je revienne faire mon clinicat à vos côtés.*

*Au Pr Labrune.*

*Merci d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse de médecine. Merci de m'avoir fait confiance lors de mes premiers pas d'interne. Merci d'avoir accepté que je revienne faire mon clinicat à vos cotés.*

*Au Pr Denjean.*

*Merci de m'avoir donné le goût d'interpréter des EFR. Merci d'avoir accepté de venir juger mon travail aujourd'hui.*

*Au Dr Nathalie Lambert.*

*Merci de m'avoir fait réaliser que la pneumologie pédiatrique était une super spécialité pendant les mardi après-midi lors de mon passage au centre de l'asthme. Merci d'avoir accepté de venir juger mon travail aujourd'hui.*

*Un grand merci à tous ceux, famille et amis, qui ont été à mes côtés pendant toutes ces années, avec une pensée particulière pour :*

- *Papa qui, avec maman, m'avait poussé à faire médecine. Tu as été mon ange gardien pendant toutes ces années de travail.*
- *Maman, pour ton soutien, ton aide, ton dévouement depuis la première année de médecine jusqu'à aujourd'hui.*
- *Bertrand, toi qui a toujours été là pour me soutenir et m'encourager, et qui m'a toujours aidé à mener à bien mes projets professionnels. Merci aussi d'avoir accepté et supporté, toujours avec le sourire, mon rythme de gardes et d'astreintes.*
- *Caro, Constance et Fafou, vous qui m'avez supportée pendant toutes ces années d'études, de révisions, de sous-colles, de confs, de gardes...*
- *Gaspard, qui accepte avec le sourire de partager un peu sa maman avec les enfants malades et Margaux qui a su arriver au bon moment.*
- *Les copains d'internat et top chefs de cliniques : Aurore, Paul, Guillaume, Colombe, Anaïs, Sophie, Mylène, Virginie, Joseph, Sophie et Flore qui ont partagé mes rires, mes pleurs et mes orgies de chocolat, et sans qui ces années auraient été beaucoup moins gaies.*
- *Les copains de toujours (jet 15) qui m'ont toujours soutenue et changé les idées pendant toutes ces années d'études.*

## **Abréviations**

GRAPP : Groupe de Recherche sur les Avancées en Pneumo-Pédiatrie

GINA : Global Initiative for Asthma

IL-\* : Interleukine-\*

PNE : PolyNucléaire Eosinophile

IFN $\gamma$  : InterFeroN  $\gamma$

TNF : Facteur de Nécrose Tumorale

Lymphocytes Treg : lymphocytes T régulateurs

FoxP3 : Forkhead transcription factor 3

HAS : Haute Autorité de Santé

ACT : Asthma Control Test

EFR : Exploration Fonctionnelle Respiratoire

VEMS : Volume Expiratoire Maximum en une seconde

DEM : Débit Expiratoire Maximal

SFAR : Score For Allergic Rhinitis

# Table des matières

REMERCIEMENTS .....	2
ABREVIATIONS .....	3
1. INTRODUCTION .....	5
1.1 PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ASTHME .....	7
1.1.1 INFLAMMATION BRONCHIQUE ET LES CELLULES ET CYTOKINES IMPLIQUEES.....	7
1.1.2 LES LYMPHOCYTES T REGULATEURS .....	8
1.2 LYMPHOCYTES TREG ET CONTROLE PAR LA CORTICOTHERAPIE INHALEE DANS L'ASTHME .....	10
1.3 L'OMALIZUMAB (XOLAIR®) .....	11
1.4 RECHERCHE DE BIOMARQUEURS POUR EVALUER L'EFFICACITE DE L'OMALIZUMAB .....	12
1.5 OBJECTIFS .....	13
2. MATERIEL ET METHODES .....	14
2.1 TYPE D'ETUDE .....	14
2.2 POPULATION .....	14
2.3 METHODES .....	14
2.4 STATISTIQUES .....	16
3. RESULTATS.....	17
3.1 DESCRIPTION DE LA POPULATION .....	17
3.2 EVOLUTION DES PARAMETRES CLINIQUES A J0 (INCLUSION) ET J1 (16-24 SEMAINES) .....	18
3.3 EVOLUTION DES VARIABLES PARACLIQUES QUALITATIVES ET QUANTITATIVES A L'INCLUSION ET APRES 16-24 SEMAINES DE TRAITEMENT PAR OMALIZUMAB .....	19
3.4 EXPLICATION DE LA VARIABLE "CONTROLE DE L'ASTHME" APRES 16 SEMAINES DE TRAITEMENT PAR OMALIZUMAB.....	20
3.5 EXPLICATION DE LA VARIABLE "CONTROLE DE L'ASTHME" SOUS TRAITEMENT.....	21
4. DISCUSSION.....	23
4.1 LE CONTROLE DE L'ASTHME S'AMELIORE SOUS TRAITEMENT PAR OMALIZUMAB .....	23
4.2 L'EOSINOPHILIE DIMINUE SOUS TRAITEMENT PAR OMALIZUMAB .....	23
4.3 LE TAUX DE LYMPHOCYTES TREG AUGMENTE SOUS TRAITEMENT PAR OMALIZUMAB .....	25
4.4 LE TAUX DE LYMPHOCYTES TREG EST ASSOCIE AU CONTROLE DE L'ASTHME .....	25
4.5 FORCES ET LIMITES DE L'ETUDE .....	26
5. CONCLUSION .....	27
BIBLIOGRAPHIE.....	28

## 1. INTRODUCTION

L'asthme se définit par des symptômes récidivants de sifflements, d'essoufflement et de toux, particulièrement la nuit et au petit matin. Ces symptômes sont généralement associés à une obstruction diffuse, mais variable, des voies aériennes, qui est au moins partiellement réversible soit spontanément, soit sous traitement.

Il s'agit d'une maladie inflammatoire chronique des bronches fréquente, aux phénotypes multiples, dont l'histoire naturelle est encore mal connue. C'est la maladie chronique la plus fréquente de l'enfance en particulier l'asthme allergique.

L'asthme peut être considéré comme la résultante de l'environnement sur un terrain prédisposé.

On estime chez l'enfant que la plupart des asthmes (70% environ) surviennent chez le sujet atopique, tandis que 30% environ surviennent chez le non atopique (1). L'atopie intéresse 20 à 30% de la population générale. Elle est définie comme la prédisposition pour un individu à développer une allergie vis à vis des allergènes de l'environnement. Ces manifestations allergiques sont la dermatite atopique, surtout présente chez le jeune enfant, la rhinite allergique et l'asthme allergique. L'atopie est déterminée par la positivité des tests cutanés vis-à-vis des allergènes de l'environnement, qui prouve l'existence d'IgE spécifiques des allergènes testés à la surface des mastocytes dermiques (1).

### L'asthme sévère

Les recommandations publiées par le GRAPP reprennent la notion de contrôle de l'asthme. Cette notion traduit la maîtrise de la maladie et reflète donc l'activité de l'asthme sur une période récente, son caractère dynamique. Elle est à la fois plus réaliste et plus proche des objectifs cliniques et fonctionnels et est indépendante du niveau de sévérité de l'asthme.

L'objectif pour l'enfant est un contrôle total de l'asthme c'est-à-dire l'absence de symptôme diurne et nocturne et une fonction respiratoire normale.

Chez un enfant présentant un asthme non contrôlé, il convient d'envisager systématiquement la possibilité d'un diagnostic différentiel. De plus, la recherche de facteurs associés à une perte de contrôle de la maladie est impérative avant d'envisager toute modification thérapeutique. Certains facteurs non évitables sont associés à une plus grande difficulté de contrôle de l'asthme : bas niveau socio-économique, ethnicité. D'autres facteurs peuvent faire l'objet d'une intervention : l'application du traitement, certains facteurs intrinsèques et certains facteurs environnementaux. Ainsi rentrent en ligne de compte et doivent régulièrement être évalués : l'observance, la présence d'allergie et de polysensibilisation, un tabagisme qu'il soit actif ou passif, la présence de facteurs psychologiques tels que l'anxiété ou la dépression, une obésité, un reflux gastro-oesophagien, une infection (*chlamydiae pneumoniae* ou *mycoplasma pneumoniae*) (2).

Selon les critères du GINA revus en 2015, la sévérité d'un asthme est définie rétrospectivement selon le niveau de traitement requis pour contrôler les symptômes et les exacerbations (3,4). Un asthme sévère se définit par un non contrôle malgré des niveaux 4 ou 5 de traitement, soit de hautes doses de corticoïdes inhalés plus ou moins associées à des béta-2 de longue durée d'action inhalés.

L'European Respiratory Society et l'American Thoracic Society considèrent que la définition d'un asthme sévère doit être réservée aux patients ayant un asthme réfractaire et ceux chez lesquels la réponse au traitement de maladies concomitantes est incomplète (4).



## 1.1 Physiopathologie de l'asthme

### 1.1.1 L'inflammation bronchique et les cellules et cytokines impliquées

L'asthme est « une maladie inflammatoire chronique des voies aériennes dans laquelle de nombreuses cellules jouent un rôle, notamment les mastocytes, les éosinophiles et les lymphocytes T. L'inflammation entraîne également une augmentation de la réactivité des voies aériennes à une multitude de stimuli » (4). Cette maladie inflammatoire résulte d'une réponse immune inappropriée secondaire à des facteurs environnementaux (virus, allergènes, tabac..) chez des individus génétiquement susceptibles.

Dans l'asthme allergique, l'inflammation bronchique aiguë est secondaire à un contact avec un allergène. Il se déroule ainsi une réponse en deux temps :

- en premier lieu, une réponse précoce après activation des cellules portant le récepteur FcεRI (mastocytes, macrophages, basophiles..) par les IgE spécifiques dirigés contre des pneumallergènes. En découle une libération de médiateurs inflammatoires (prostaglandines, histamine, leucotriènes..) responsables d'une fuite du secteur vasculaire, d'un œdème du mur bronchique, de lésions de l'intégrité de l'épithélium, d'une altération de la clearance du mucus, d'agrégats intra-bronchiques, le tout aboutissant à une obstruction bronchique.
- Dans un second temps, une réponse plus tardive (6-9h) comprenant :
  - Une stimulation médullaire
  - Une différenciation cellulaire Th2 et activation cellulaire
  - Une infiltration cellulaire par des éosinophiles, lymphocytes T, basophiles, mastocytes...
  - Une production de cytokines, de chimiokines et de molécules d'adhésion.

Les lymphocytes T semblent particulièrement importants dans la physiopathologie de l'asthme. Plus particulièrement les lymphocytes Th2 qui sont sécréteurs d'interleukine 4 (IL-4), d'interleukine 5 (IL-5), responsables de la communication isotypique des plasmocytes vers la synthèse d'IgE et de l'attraction et l'activation des polynucléaires éosinophiles (PNE). D'autre part, il existe un déficit de réponse des lymphocytes Th1 (sécréteurs d'interleukine 2 (IL-2), d'interféron  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) et de facteur de nécrose tumorale (TNF) qui vont orienter les lymphocytes B vers la production d'IgG par l'intermédiaire de l'IFN $\gamma$ ). C'est le déficit en lymphocytes T régulateurs (ou Treg) qui pourrait être responsable de cette anomalie de balance Th1 et Th2 (5). En effet, plusieurs études ont montré une diminution du taux de lymphocytes Treg chez certaines populations de patients tels que les patients asthmatiques (6).

De plus, l'augmentation parallèle des maladies allergiques associées au mécanisme Th2 et des maladies auto-immunes associées au mécanisme Th1 suggère l'hypothèse que ces deux types de maladies peuvent résulter d'une déficience quantitative ou qualitative des lymphocytes Treg qui contrôlent les réponses immunes Th1 ou Th2 (7).

### 1.1.2 Les lymphocytes T régulateurs

Les lymphocytes Treg appartiennent à une sous population naturelle de lymphocytes T CD4+ capables d'induire les mécanismes de tolérance. L'identification des cellules Treg repose sur l'expression d'antigènes de surface (CD4+ CD25+), sur leur production d'interleukine 10 (IL-10) et/ou de TGF- $\beta$ , et sur l'expression de « forkhead transcription factor 3 » (FoxP3) (6).

Les lymphocytes Treg contrôlent le développement de maladies auto-immunes, rejet de greffons et maladies allergiques et jouent ainsi un rôle clef dans la tolérance périphérique.

Alors que deux sous-populations distinctes de lymphocytes Treg ont été décrites, les mieux connus sont les CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Tregs qui émergent du thymus : les lymphocytes T régulateurs naturels. Ils constituent 5-10% des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> périphériques. Ces cellules expriment un nombre variable de marqueurs à leur surface tels que GITR, CTLA-4, CD152, neurophiline et CD45 RO. Cependant, la molécule qui définit le mieux le phénotype et la fonction des nTreg est le facteur de transcription FoxP3 (8).

Des études réalisées ces 20 dernières années ont permis de montrer que les lymphocytes Treg sont les cellules parmi les plus importantes de l'immunité acquise. La transcription du facteur FoxP3 est essentielle pour leur fonction. Les lymphocytes Treg jouent un rôle majeur dans la régulation des réactions allergiques en induisant puis maintenant une tolérance aux allergènes.

Les lymphocytes Treg inhibent directement l'activation des cellules Th2 (suppriment la production d'IL-4, IL-5, IL-9 et IL-13), bloquent la migration des cellules T effectrices dans les tissus inflammatoires comme démontré récemment chez la souris. Il a été démontré que chez les individus allergiques, le nombre de lymphocytes Treg est souvent plus bas et que leur fonction est altérée (5).

Le premier indice suggérant que les lymphocytes Treg pouvaient jouer un rôle dans les troubles allergiques chez les sujets humains provenait de l'observation que les patients FoxP3-déficients (avec immuno-dysrégulation, polyendocrinopathie, entéropathie, syndrome lié à l'X) avaient très souvent des maladies allergiques. Des études ultérieures ont analysé les Tregs chez des patients atteints de maladies allergiques. Les Tregs provenant du sang périphérique de sujets non atopiques et de sujets avec rhinite allergique suppriment la production des cytokines venant des voies Th1 et Th2. D'autres études ont montré une altération de cette capacité suppressive des lymphocytes Treg chez les patients atopiques, surtout pendant la saison des pollens. Le nombre de lymphocytes Treg circulants chez les enfants ayant guéri

d'une allergie aux protéines de lait de vache est plus élevé par rapport aux enfants toujours allergiques (7).

### 1.2 Lymphocytes Treg et contrôle par la corticothérapie inhalée dans l'asthme

Il y a peu mais d'importantes études concernant l'effet des glucocorticoïdes sur les lymphocytes Treg chez les patients asthmatiques.

Provoost et al ont rapporté que l'expression de la protéine FoxP3 dans les cellules T CD4+CD25+ était significativement plus faible chez les patients adultes asthmatiques stables par rapport à des contrôles sains. Ils ont également observé une tendance à une expression accrue de la protéine FoxP3 dans les cellules T CD4+CD25+ chez les patients traités par glucocorticoïdes. En conclusion, ils ont suggéré que le traitement par glucocorticoïdes inhalés chez les patients asthmatiques pouvait augmenter l'expression de la protéine FoxP3 (9). Karagiannidis et al ont rapporté que les glucocorticoïdes systémiques augmentaient de manière significative l'expression de FoxP3 chez les patients adultes souffrant d'asthme modéré et sévère (10).

Yukseket al ont montré que les traitements par glucocorticoïdes inhalés chez les enfants asthmatiques allergiques entraînaient une augmentation des cellules CD4+CD25+FoxP3+ confirmant que ces lymphocytes Treg jouent un rôle important dans la pathogénèse de l'asthme et la réponse au traitement (8).

Hartl et al ont montré pour la première fois chez des sujets humains en 2007 que les lymphocytes Treg sont enrichis dans l'espace broncho-alvéolaire par rapport au sang périphérique et sont parfaitement capables de supprimer les réponses des cellules T. Cependant, chez les enfants asthmatiques ces mêmes cellules pulmonaires diminuent en nombre et ne parviennent pas à supprimer les réponses Th2. La prise d'une corticothérapie

inhalée chez des sujets asthmatiques augmente le nombre de lymphocytes Treg pulmonaires et restaure leur fonction suppressive (7).

### 1.3 L'omalizumab (Xolair®)

L'omalizumab est un anticorps monoclonal humanisé produit par la technique de l'ADN recombinant sur une lignée cellulaire ovarienne de hamsters chinois.

Les indications reconnues sont chez l'adulte, l'adolescent et l'enfant (à partir de 6 ans) présentant un asthme dont la dépendance aux IgE a été établie sur des critères probants. Chez l'enfant, l'omalizumab est indiqué en traitement additionnel, pour améliorer le contrôle de l'asthme chez les patients atteints d'asthme allergique persistant sévère, ayant un test cutané positif ou une réactivité in vitro à un pneumallergène per annuel et qui, malgré un traitement quotidien par un corticoïde inhalé à fortes doses et un bêta-2-agoniste inhalé à longue durée d'action, présentent des symptômes diurnes ou des réveils nocturnes fréquents, et des exacerbations sévères et documentées de l'asthme.

La dose et la fréquence adaptées de l'omalizumab sont déterminées en fonction du taux initial d'IgE (UI/ml), mesuré avant le début du traitement, et le poids corporel (kg).

L'omalizumab est destiné à un traitement au long cours. Les études cliniques ont démontré qu'un délai d'au moins 12 à 16 semaines peut être nécessaire pour bénéficier de l'efficacité du traitement par l'omalizumab (11). Après 16 semaines de traitement, l'efficacité du traitement doit être réévaluée par le médecin avant de poursuivre les injections. La décision de poursuivre l'omalizumab après ces 16 semaines, ou par la suite, se base sur l'observation d'une amélioration significative du contrôle de l'asthme.

Il n'existe pas de contre-indication à l'omalizumab, sauf en cas d'apparition de réaction d'hypersensibilité au composant ou excipient.

L'omalizumab se fixe de manière sélective aux IgE humaines. L'anticorps est une IgG1 kappa obtenue par la fusion d'une région d'origine humaine avec des régions de complémentarité se fixant aux IgE et provenant d'un anticorps murin. L'omalizumab se fixe aux IgE et empêche la fixation des IgE aux FcεRI (récepteur de haute affinité des IgE) réduisant ainsi la quantité d'IgE circulantes pouvant déclencher la chaîne de réaction allergique. Le traitement des sujets atopiques par l'omalizumab a entraîné un phénomène de rétrocontrôle à l'origine de la diminution des récepteurs FcεRI présents à la surface des basophiles. Par ailleurs, la libération d'histamine in vitro, à partir de basophiles isolés traités par l'omalizumab a diminué d'environ 90% après stimulation par un allergène par rapport aux valeurs pré-thérapeutiques.

Le prix des seringues de 0,5ml et 1ml est respectivement de 226,14€ et 441,85€ (12).

#### 1.4 Recherche de biomarqueurs pour évaluer l'efficacité de l'omalizumab

Un biomarqueur correspond à une mesure biologique qui sert d'indicateur d'un processus physiopathologique ou d'une réponse à une intervention pharmacologique.

Les recommandations américaines et européennes préconisent l'utilisation de l'omalizumab dans les asthmes allergiques sévères à composante Th2. Pour éviter les traitements inutiles et coûteux, le rôle des biomarqueurs susceptibles de prédire l'efficacité de l'omalizumab sont utiles.

En 2013, Hanania et al. ont mis en évidence, dans une étude multicentrique randomisée américaine, trois potentiels biomarqueurs d'efficacité de l'omalizumab : la fraction exhalée du monoxyde d'azote (FeNO), l'éosinophilie sanguine et la Periostine (13).

L'étude des récepteurs aux IgE (FcεRI) comme biomarqueurs a montré une réduction significative de l'expression des FcεRI sur les basophiles circulants chez les patients traités

par omalizumab. Cependant, cette réduction d'expression des FcεRI semble être répandue chez tous les patients exposés quel que soit leur réponse clinique au traitement (14).

L'expression des FcεRI ne semble donc pas être un biomarqueur prédictif d'efficacité du traitement par omalizumab.

### 1.5 Objectif

L'objectif de notre étude est de proposer le taux de lymphocytes Treg circulants dans le sang périphérique (mesuré par marquage FoxP3) comme un nouveau marqueur de l'efficacité de l'omalizumab en relation avec le contrôle de l'asthme d'enfants atteints d'asthme allergique sévère.

## 2. MATERIELS & METHODES

### 2.1 Type d'étude

Nous avons mené une étude longitudinale prospective monocentrique.

### 2.2 Population

Les critères d'inclusion comprenaient les enfants et adolescents âgés d'au moins 6 ans présentant un asthme persistant sévère allergique, non contrôlé sous traitement maximal, chez qui un traitement par omalizumab était indiqué selon les critères de l'HAS.

Tous les enfants inclus étaient traités par des doses stables de corticoïdes inhalés depuis au moins 3 mois. Le seuil correspondant à une forte dose de corticoïdes inhalés était défini par une dose supérieure ou égale à 500µg par jour de fluticasone (ou équivalent) (15).

Étaient exclus les enfants ayant une autre immunothérapie associée, une mauvaise compréhension de l'étude, l'absence de consentement ou refus, l'absence de couverture sociale.

### 2.3 Méthodes

#### 2.3.1 A l'inclusion (J0), les paramètres évalués étaient :

- Le sexe et l'âge de l'enfant
- La sévérité de l'asthme
- Le contrôle de l'asthme (contrôlé, partiellement contrôlé ou non contrôlé) en accord avec les recommandations du GINA (4) par la prise en compte de la présence, ou non, de symptômes diurnes ou nocturnes, d'une limitation dans les activités quotidiennes, de la nécessité de



recours aux béta-2 de courte durée d'action, d'exacerbations, la mesure de l'ACT et la fonction respiratoire.

- Les explorations fonctionnelles respiratoires (EFR) comportaient la mesure du VEMS de base, le VEMS après bronchodilatateur, le DEM 25-75 de base et le DEM 25-75 après bronchodilatateur. La fonction respiratoire était mesurée par des méthodes de spirométrie (SpiroDyn'R®, Dyn'R, Muret, France) en accord avec les recommandations de l'American Thoracic Society/European Respiratory Society (16) et exprimée en pourcentage de la valeur théorique prédite en tenant compte du sexe, de la taille et du poids.

- La présence d'une atopie, recherchée par l'intermédiaire d'un interrogatoire médicalisé provenant de l'International Study of Asthma and Allergy in Childhood (17) et à l'aide de scores diagnostiques et de sévérité validés et d'une exploration allergologique standardisée :

- ❖ la présence d'eczéma actif ou ancien, d'allergie alimentaire, de symptômes de rhinite allergique (questionnaire SFAR (18)).
- ❖ La recherche de sensibilisation aux pneumallergènes et trophallergènes était également réalisée par des tests cutanés allergologiques positifs (définis par une papule > 3mm et l'absence de réactivité du témoin négatif) confirmée par des IgE spécifiques positifs (soit > 0,35 kU/L) (ImmunoCAP1; Phadia, Uppsala, Sweden).

- Les biomarqueurs :

- ❖ Le dosage du taux de PNE dans le sang périphérique exprimé en valeur absolue/mm<sup>3</sup> (compte cellulaire par automatique Sysmex1; Roche Diagnostics, Roissy, France).

- ❖ Le dosage de lymphocytes Treg par l'expression de FoxP3 par une méthode de cytométrie de flux sur des cellules mononuclées fraîches isolées de sang périphérique.

### 2.3.2 Entre la 16<sup>ème</sup> et la 24<sup>ème</sup> semaine de traitement (J1), étaient réévalués :

- Le contrôle par la prise en compte de la présence, ou non, de symptômes diurnes ou nocturnes, d'une limitation dans les activités quotidiennes, de la nécessité aux recours aux béta-2 de courte durée d'action, d'exacerbations et la mesure de l'ACT en accord avec les recommandations du GINA 2015 (3) et par la mesure des EFR.
- Les EFR comme précédemment décrit
- Un nouveau prélèvement sanguin afin d'analyser à nouveau le taux de lymphocytes Treg et le taux de PNE.

## 2.4 Statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne, en médiane ou en pourcentage avec dérivation standard. Les associations statistiques ont été effectuées avec le logiciel R version 3.0.2 (<http://www.r-project.org>). Nous avons utilisé les tests de student et Wilcoxon pour les comparaisons de variables en J0 et J1 ; et le test de Wald et le modèle modèle GEE (generalized estimating equations) pour les régressions logistiques. Nous avons considéré un  $p < 0.05$  comme statistiquement significatif.

### 3. RESULTATS

#### 3.1 Description de la population

21 patients ont été inclus pour un asthme sévère allergique ayant une indication à introduire un traitement par omalizumab entre novembre 2011 et janvier 2015.

Le sexe ratio était de 2 (14 garçons pour 7 filles). L'âge moyen était de 11,2 ans (6 à 17 ans, sd = 3,51). On note que l'âge moyen chez les filles était plus élevé que chez les garçons (13,4 ans versus 10,2 ans respectivement).

Sur le plan de l'atopie, 47,6% des patients présentaient un eczéma actif, 76,2% présentaient des symptômes de rhinite allergique, 19% présentaient des allergies alimentaires (Tableau I).

Le VEMS moyen à l'inclusion était à 75,89%, le DEM 25-75 à 58,11% témoignant d'une atteinte fonctionnelle importante.

Le taux moyen de lymphocytes Treg à l'inclusion était de 4,57% et le taux moyen de PNE de 441,54/mm<sup>3</sup> (Tableau I).

Tableau I : caractéristiques de la population

	<b>Population N = 21</b>
<b>Données cliniques</b>	
<b>Sexe</b>	
Masculin	14 (66,6%)
Féminin	7 (33,3%)
<b>Age (années)</b>	11,2 (sd = 3,51)
Age filles	13,4
Age garçons	10,2
<b>Eczéma actif</b>	10 (47,6%)
<b>Rhino conjonctivite allergique</b>	16 (76,2%)
<b>Allergie alimentaire</b>	4 (19%)
<b>Données paracliniques</b>	
<b>VEMS (% de valeur attendue)</b>	75,89 (sd = 11,32)
<b>DEM 25-75 (% de valeur attendue)</b>	58,11 (sd = 25,46)
<b>Treg (%)</b>	4,57 (sd = 1,51)
<b>PNE (/mm<sup>3</sup>)</b>	441,54 (sd = 284,63)

### 3.2 Evolution des paramètres cliniques à J0 (inclusion) et J1 (16-24 semaines)

Le contrôle de l'asthme à J0 et J1 était qualifié de « contrôlé », « partiellement contrôlé » ou « non contrôlé ».

Ainsi à J0, 20 patients (soit 95,2%) étaient non contrôlés et 1 patient (soit 4,8%) partiellement contrôlé (Tableau II).

A J1 (16-24<sup>ème</sup> semaine de traitement), 9 patients (soit 42,8%) étaient contrôlés, 11 patients (52,4%) étaient partiellement contrôlés et 1 patient (4,8%) restait non contrôlé (Tableau II).

En regroupant les patients « partiellement contrôlés » et « non contrôlés », le test statistique de Mac Nemar permettait de montrer qu'à J1 le « statut contrôlé » était statistiquement significatif ( $p=0,0076$ ).

A J0 et J1, 100% des patients prenaient des moyennes ou fortes doses de corticoïdes inhalés sans changement significatif entre les deux périodes. Ainsi, à J0, 16 patients (soit 76,2%) des patients bénéficiaient de fortes doses de corticoïdes inhalés et 5 patients (soit 23,8%) bénéficiaient de dose moyenne de corticoïdes inhalés contre 15 versus 6 à J1 (Tableau II).

<b>Tableau II : Evolution des paramètres cliniques à J0 et J1</b>		
	<b>J0 (inclusion)</b>	<b>J1 (16-24 semaines)</b>
<b>Population N = 21</b>		
<b>Contrôle :</b>		
Contrôlé	0 (0%)	9 (42,8%)
Partiellement contrôlé	1 (4,8%)	11 (52,4%)
Non contrôlé	20 (95,2%)	1 (4,8%)
<b>Niveau de traitement :</b>		
Faible dose	0 (0%)	0 (0%)
Moyenne dose	5 (23,8)	6 (28,5%)
Forte dose	16 (76,2)	14 (66,6%)
Forte dose et corticothérapie orale	0 (0%)	1 (4,8%)

Contrôle définit selon les critères du GINA (3) ; niveau de traitement définit selon l'EPR (13)

### 3.3 Evolution des variables paracliniques qualitatives et quantitatives à l'inclusion et après 16-24 semaines de traitement par omalizumab

Le pourcentage de lymphocytes Treg dans le sang périphérique des patients augmentait de manière significative entre J0 et J1 : 4,57% à J0 contre 5,65% à J1 (t-test p-value = 0,026/ wilcoxon p-value = 0,026) (Tableau III) (Figure I).

Le taux moyen de polynucléaires éosinophiles diminuait de manière significative : 441,54/mm<sup>3</sup> à J0 versus 320/mm<sup>3</sup> à J1 (t-test p-value = 0,013/ wilcoxon p-value = 0,024) (Tableau III) (Figure I).

Le VEMS moyen n'était pas significativement différent : 75,89% à J0 versus 79,42% à J1 (t-test p-value = 0,387/ wilcoxon p-value = 0,468) (Tableau III).

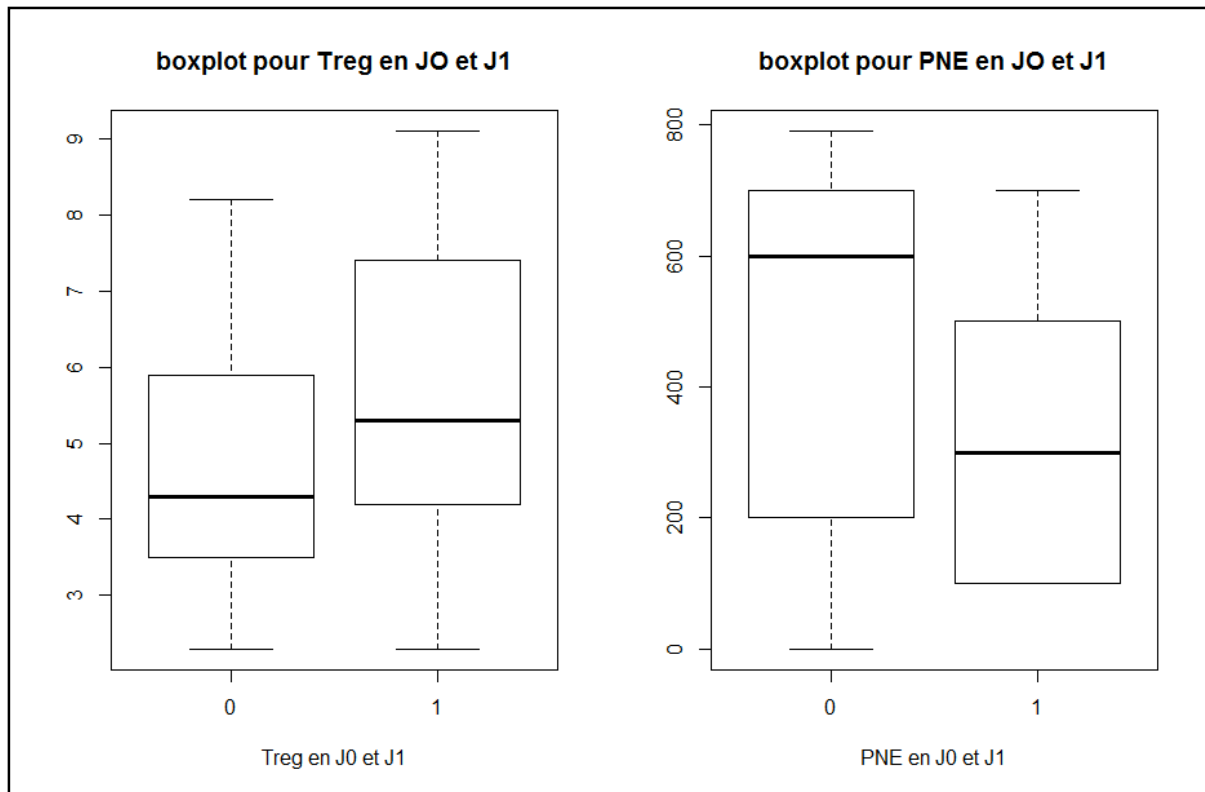
Le DEM 25-75 n'était pas significativement différent : 58,11 % à J0 versus 61,37% à J1 (t-test p-value = 0,794/ wilcoxon p-value = 0,522) (Tableau III).

<b>Tableau III : Evolution des paramètres paracliniques à J0 et J1</b>			
	<b>J0 (inclusion)</b>	<b>J1 (16-24 semaines)</b>	<b>p</b>
<b>Population N = 21</b>			
<b>EFR :</b>			
VEMS	75,89	79,42	0,387
VEMS post-BD	83,39	87,47	0,537
DEM 25-75	58,11	61,37	0,794
DEM 25-75 post BD	79,78	85,95	0,352
<b>Reversibilité du VEMS :</b>			
Reversible avec normalisation	6 (28,5%)	5 (23,8%)	
Reversible sans normalisation	0 (0%)	0 (0%)	
Non reversible	12 (57,1%)	14 (66,6%)	
Donnée manquante	3 (14,2%)	2 (9,5%)	
<b>Treg</b>	<b>4,57</b>	<b>5,65</b>	<b>0,026</b>
<b>PNE</b>	<b>441,54</b>	<b>320</b>	<b>0,013</b>

EFR : explorations fonctionnelles respiratoires ; Treg : lymphocytes T régulateurs ; PNE : polynucléaires éosinophiles.

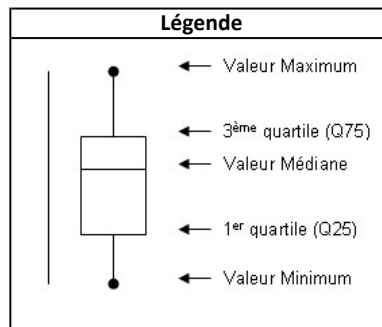
Résultats exprimés selon le test de Student.

Figure 1 : Evolution des Treg et PNE en J0 (inclusion) et J1 (16-24 semaines de traitement)



J0 : inclusion; J1 : 16-24 semaines de traitement par omalizumab

Treg : lymphocytes T regulateurs (en %) ; PNE : polynucléaires éosinophiles (/mm3)



### 3.4 Explication de la variable « contrôle de l'asthme » après 16 semaines de traitement par omalizumab

- En analyse univariée, le contrôle de l'asthme après 16 semaines de traitement par omalizumab s'expliquait de façon statistiquement significative uniquement par l'augmentation du taux de lymphocytes Treg ( $p = 0,027$ ) (Tableau IV).

**Tableau IV : Analyse de la variable contrôle par regression logistique univariée**

	<b>OR</b>	<b>p</b>
Sexe	8	0,085
Age au début du traitement	0,99	0,91
Eczéma	1,25	0,8
Rhino conjonctivite allergique	0,86	0,88
Allergie alimentaire	2,67	0,43
Sensibilisation aux pneumallergènes	1,05	0,83
Sensibilisation aux trophallergènes	0,79	0,28
Corticoïdes inhalés à J1	0,15	0,12
Treg à J1	0,47	<b>0,027</b>
PNE à J1	1	0,57

J1 : 16-24 semaines de traitement ; Treg : lymphocytes T régulateurs ; PNE : polynucléaires éosinophiles.

- En analyse multivariée, le contrôle de l'asthme après 16-24 semaines de traitement par omalizumab s'expliquait de façon significative uniquement par le taux de lymphocytes Treg à J1 ( $p = 0,044$ ) (Tableau V).

(Rq : pour l'analyse multivariée, seules les variables ayant un  $p < 0,2$  dans l'analyse univariée ont été utilisées.)

**Tableau V : Analyse de la variable contrôle par regression logistique multivariée**

	<b>OR</b>	<b>p</b>
Sexe	22,9	0,148
Treg à J1	0,21	0,044
Corticoïdes inhalés à J1	0,01	0,077

### 3.5 Explication de l'évolution de la variable « contrôle de l'asthme » sous traitement

L'évolution du contrôle du statut « non contrôlé » ou « partiellement contrôlé » au statut « contrôlé » après 16 semaines de traitement était expliquée par la seule variable Treg (modèle GEE (generalized estimating equations) –  $p=0,002$ ) (Tableau VI).

(Rq : le modèle GEE comprend une analyse multivariée avec régression linéaire. Etant donné la petite taille de la base de données, seules 3 variables sont gardées afin d'obtenir un modèle fiable. Ainsi, les variables ayant un  $p > 0,2$  ou apportant les mêmes informations, ou celles n'étant pas informatives ont été identifiées et retirées du modèle.)

<b>Tableau VI : etude de l'évolution du contrôle entre J0 et J1</b>			
	<b>beta</b>	<b>écart-type</b>	<b>p</b>
Treg à J1	-0,741	0,244	0,002
Sexe	1,649	1,048	0,115
Sensibilisation aux trophallergènes	-0,132	0,0816	0,105

J0 inclusion ; J1 : 16-24 semaines de traitement; Treg : lymphocytes T régulateurs



#### 4. DISCUSSION

Les résultats principaux de notre étude montrent que l'éosinophilie diminue tandis que le taux de lymphocytes Treg augmente sous traitement par omalizumab à partir de 16 semaines de traitement. D'autre part, notre étude confirme que le contrôle de l'asthme s'améliore sous traitement par omalizumab. Notre étude permet de confirmer l'hypothèse que le taux de lymphocytes Treg est associé au contrôle de l'asthme et pourrait constituer un biomarqueur d'efficacité de l'omalizumab.

##### 4.1 Le contrôle de l'asthme s'améliore sous traitement par omalizumab

Dans notre étude, dès 16 à 24 semaines de traitement par omalizumab, 9 patients (soit 42,8%) passent à un statut contrôlé de leur asthme de manière significative ( $p=0,0076$ ). Ce résultat est en accord avec les données de la littérature. L'omalizumab est une biothérapie dont le but est d'obtenir le contrôle de l'asthme. L'efficacité de l'omalizumab a été démontrée dans une étude en double aveugle, contrôlée contre placebo. L'omalizumab entraînait de manière significative une réduction de la fréquence des exacerbations sévères et non sévères, une réduction des consultations d'urgence dues à l'asthme et une amélioration de la qualité de vie, des symptômes d'asthme et de la fonction respiratoire (12). Plusieurs études ayant étudié l'effet de l'omalizumab chez des patients asthmatiques sévères allergiques ont montré que le contrôle de l'asthme s'améliore sous omalizumab (19–22).

##### 4.2 L'éosinophilie diminue sous traitement par omalizumab

Le taux de PNE dans le sang périphérique est un marqueur d'inflammation reconnu dans l'asthme. Busse et al ont montré dans une étude multicentrique, randomisée, contrôlée, en double aveugle que le taux d'éosinophiles dans le sang périphérique à l'initiation d'un traitement par omalizumab pouvait avoir une valeur de biomarqueur prédictif d'efficacité de

l'omalizumab chez des patients asthmatiques sévères avec fonction respiratoire normale. En effet, dans leur étude, la réponse à l'omalizumab versus placebo était significative dans le groupe ayant un taux d'éosinophile  $>300/\mu\text{L}$  à l'initiation du traitement, tandis qu'il n'y avait pas de différence entre omalizumab/placebo dans le groupe ayant un taux d'éosinophiles  $<300\mu\text{L}$  (23).

Djukanovic et al ont montré que le taux d'éosinophiles diminue de manière significative dans les sécrétions bronchiques et les crachats de patients asthmatiques sévères traités par omalizumab (24).

Notre étude étudie l'évolution du taux d'éosinophiles au cours du traitement par omalizumab et montre que le taux moyen de PNE diminue de manière significative chez les enfants traités par omalizumab. Nous avons montré que ce résultat est en accord avec les données de la littérature. Ainsi, Massanari et al ont fait une analyse regroupant les résultats de cinq études et ont montré une diminution significative des éosinophiles au cours du traitement par omalizumab entre les groupes omalizumab et placebo (25).

Un effet direct de l'omalizumab sur les éosinophiles est possible via les récepteurs  $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$  qui ont été détectés sur les éosinophiles mais ce mécanisme reste à être établi.

Il existe d'autres biomarqueurs utilisés pour évaluer l'efficacité des nouveaux traitements de l'asthme tels que l'omalizumab. Ainsi la periostine, qui appartient à la famille des protéines de la matrice cellulaire, est considérée comme un biomarqueur de l'inflammation via la voie Th2. Son taux est prédictif du taux d'éosinophiles dans les voies aériennes et un taux supérieur à  $95\text{ng/ml}$  est associé à une diminution du VEMS et une dégradation plus rapide de la fonction respiratoire (26).

#### 4.3 Le taux de lymphocytes Treg augmente sous traitement par omalizumab

Notre étude retrouve effectivement des taux moyens de lymphocytes Treg bas dans la population étudiée. Les lymphocytes Treg ont été montrés comme déficitaires chez les patients atteints d'asthme sévère allergique (5,6). De plus, dans notre étude, à 16 semaines de traitement par omalizumab, ce taux augmente de manière significative ( $p = 0,026$ ). Il a déjà été démontré que les lymphocytes Treg peuvent augmenter de manière significative dans le sang périphérique sous l'action des glucocorticoïdes (7–10). Dans notre étude, l'augmentation des lymphocytes Treg ne peut pas être liée au rôle des corticoïdes inhalés car sur cette période donnée, il n'y a pas de changement de dose significative de ces derniers.

#### 4.4 Le taux de lymphocytes Treg est associé au contrôle de l'asthme

Nous avons émis l'hypothèse que le taux de lymphocytes Treg dans le sang périphérique était associé au contrôle de l'asthme. En effet, si les lymphocytes Treg, déficitaires chez les enfants asthmatiques sévères non contrôlés, contrôlent les réponses immunes Th1 ou Th2 (7), il paraît licite d'imaginer que leur augmentation dans le sang périphérique sera directement associée au contrôle de l'asthme. Une étude ultérieure analysant le taux de Treg chez deux groupes de patients asthmatiques allergiques (contrôlés et non contrôlés) nous avait déjà permis de démontrer que le nombre circulant de lymphocytes Treg semblait être corrélé au contrôle de l'asthme et au DEM 25-75 (observation non publiée). Notre étude montre que sous omalizumab, non seulement les patients améliorent le contrôle de leur asthme, mais aussi le taux de lymphocytes Treg augmente de manière significative dans le sang périphérique. L'explication statistique de l'évolution vers un meilleur contrôle de l'asthme s'explique uniquement par l'augmentation du taux de lymphocytes Treg (modèle GEE (generalized estimating equations) –  $p=0,002$ ). Ainsi, nous pouvons confirmer notre hypothèse et affirmer que le taux de lymphocytes Treg est associé au contrôle de l'asthme. Ces résultats suggèrent

qu'il existe un rôle des lymphocytes Treg dans le contrôle du processus inflammatoire de l'asthme (27).

#### 4.5 Forces et limites de l'étude

Notre étude est la première à étudier l'association entre contrôle de l'asthme et lymphocytes Treg, notamment dans le cadre d'un traitement par Omalizumab.

Elle montre un lien entre contrôle de l'asthme et augmentation du taux de lymphocytes Treg. Ainsi, les lymphocytes Treg pourraient être utilisés comme biomarqueurs d'efficacité d'un traitement par omalizumab. En effet, le dosage du taux de lymphocytes Treg est peu invasif puisqu'il est réalisable par une simple prise de sang lors de la surveillance courante d'un traitement par omalizumab.

Actuellement, le contrôle de l'asthme peut être évalué par des marqueurs fonctionnels. Ce biomarqueur apportera un argument plus objectif du contrôle de l'asthme.

Les résultats de cette étude sont limités par le faible nombre de patients inclus. Les difficultés d'inclusion dans l'étude sont liées au fait que malgré la forte prévalence de l'asthme allergique chez l'enfant, le nombre de patients éligibles à un traitement par omalizumab est limité (pas de traitement avant l'âge de 6 ans).

## 5. CONCLUSION

Les lymphocytes Treg sont déficitaires chez l'enfant ayant un asthme sévère allergique non contrôlé. Cependant, la mise en place d'un traitement par omalizumab chez ces patients améliore de manière significative le contrôle de l'asthme. L'amélioration du contrôle de l'asthme est associée à une augmentation significative du taux de lymphocytes Treg. Le taux de lymphocytes Treg est donc associé au contrôle de l'asthme et représente donc un bon candidat pour un biomarqueur d'efficacité de l'omalizumab.

Il serait intéressant de poursuivre l'étude du contrôle et du taux de lymphocytes Treg au plus long cours lors d'un traitement par omalizumab.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Mameessier E, Botturi K, Vervloet D, Magnan A. [T regulatory lymphocytes, atopy and asthma: a new concept in three dimensions]. *Rev Mal Respir.* 2005 Apr;22(2 Pt 1):305–11.
2. De Blic J, Deschildre A, Pin I, Dubus J-C, GRAPP. [When and how to modify the management of asthma in children over the age of 4]. *Rev Mal Respir.* 2009 Oct;26(8):827–35.
3. Pocket Guide for Asthma Management and Prevention | Documents / Resources | GINA [Internet]. [cited 2015 Jun 29]. Available from: <http://www.ginasthma.org/documents/1/Pocket-Guide-for-Asthma-Management-and-Prevention>
4. GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention | Documents / Resources | GINA [Internet]. [cited 2015 Feb 26]. Available from: <http://www.ginasthma.org/documents/4>
5. Stelmaszczyk-Emmel A. Regulatory T cells in children with allergy and asthma: It is time to act. *Respir Physiol Neurobiol.* 2014 Nov 18;
6. Donma M, Karasu E, Ozdilek B, Turgut B, Topcu B, Nalbantoglu B, et al. CD4(+), CD25(+), FOXP3 (+) T Regulatory Cell Levels in Obese, Asthmatic, Asthmatic Obese, and Healthy Children. *Inflammation.* 2015 Feb 6;
7. Hartl D, Koller B, Mehlhorn AT, Reinhardt D, Nicolai T, Schendel DJ, et al. Quantitative and functional impairment of pulmonary CD4+CD25hi regulatory T cells in pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2007 May;119(5):1258–66.
8. Yüksek M, Erol F, Güloğlu D, Doğu F, Elhan AH, Babacan E, et al. Regulatory T cell levels in children with asthma. *Turk J Pediatr.* 2011 Oct;53(5):532–6.
9. Provoost S, Maes T, van Durme YM, Gevaert P, Bachert C, Schmidt-Weber CB, et al. Decreased FOXP3 protein expression in patients with asthma. *Allergy.* 2009 Oct;64(10):1539–46.
10. Karagiannidis C, Akdis M, Holopainen P, Woolley NJ, Hense G, Rückert B, et al. Glucocorticoids upregulate FOXP3 expression and regulatory T cells in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Dec;114(6):1425–33.
11. Bousquet J, Rabe K, Humbert M, Chung KF, Berger W, Fox H, et al. Predicting and evaluating response to omalizumab in patients with severe allergic asthma. *Respir Med.* 2007 Jul;101(7):1483–92.
12. VIDAL 2013, Xolair® Omalizumab, fiche médicament. 2013.
13. Hanania NA, Wenzel S, Rosén K, Hsieh H-J, Mosesova S, Choy DF, et al. Exploring the effects of omalizumab in allergic asthma: an analysis of biomarkers in the EXTRA study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 Apr 15;187(8):804–11.

14. Chanez P, Contin-Bordes C, Garcia G, Verkindre C, Didier A, De Blay F, et al. Omalizumab-induced decrease of Fc $\epsilon$ RI expression in patients with severe allergic asthma. *Respir Med*. 2010 Nov;104(11):1608–17.
15. Urbano FL. Review of the NAEPP 2007 Expert Panel Report (EPR-3) on Asthma Diagnosis and Treatment Guidelines. *J Manag Care Pharm JMCP*. 2008 Feb;14(1):41–9.
16. Beydon N, Davis SD, Lombardi E, Allen JL, Arets HGM, Aurora P, et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: pulmonary function testing in preschool children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Jun 15;175(12):1304–45.
17. Asher MI, Keil U, Anderson HR, Beasley R, Crane J, Martinez F, et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J*. 1995 Mar;8(3):483–91.
18. Annesi-Maesano I, Didier A, Klossek M, Chanal I, Moreau D, Bousquet J. The score for allergic rhinitis (SFAR): a simple and valid assessment method in population studies. *Allergy*. 2002 Feb;57(2):107–14.
19. Maselli DJ, Singh H, Diaz J, Peters JI. Efficacy of omalizumab in asthmatic patients with IgE levels above 700 IU/mL: a retrospective study. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. 2013 Jun;110(6):457–61.
20. Grimaldi-Bensouda L, Zureik M, Aubier M, Humbert M, Levy J, Benichou J, et al. Does omalizumab make a difference to the real-life treatment of asthma exacerbations?: Results from a large cohort of patients with severe uncontrolled asthma. *Chest*. 2013 Feb 1;143(2):398–405.
21. Braunstahl G-J, Chen C-W, Maykut R, Georgiou P, Peachey G, Bruce J. The eXpeRience registry: the “real-world” effectiveness of omalizumab in allergic asthma. *Respir Med*. 2013 Aug;107(8):1141–51.
22. Barnes N, Menzies-Gow A, Mansur AH, Spencer D, Percival F, Radwan A, et al. Effectiveness of omalizumab in severe allergic asthma: a retrospective UK real-world study. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma*. 2013 Jun;50(5):529–36.
23. Busse W, Spector S, Rosén K, Wang Y, Alpan O. High eosinophil count: A potential biomarker for assessing successful omalizumab treatment effects. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 août;132(2):485–6.e11.
24. Djukanović R, Wilson SJ, Kraft M, Jarjour NN, Steel M, Chung KF, et al. Effects of treatment with anti-immunoglobulin E antibody omalizumab on airway inflammation in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Sep 15;170(6):583–93.
25. Massanari M, Holgate ST, Busse WW, Jimenez P, Kianifard F, Zeldin R. Effect of omalizumab on peripheral blood eosinophilia in allergic asthma. *Respir Med*. 2010 Feb;104(2):188–96.
26. Boulet L-P, Chanez P. Clinically relevant outcome measures for new therapies of asthma using pharmaceutical and biologic agents: Clinical outcomes to assess asthma therapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2015 Apr 16;

27. Ray A, Khare A, Krishnamoorthy N, Qi Z, Ray P. Regulatory T Cells in Many Flavors Control Asthma. *Mucosal Immunol.* 2010 May;3(3):216–29.



Titre en français :

Les lymphocytes T régulateurs, biomarqueurs du contrôle de l'asthme chez l'enfant atteint d'asthme sévère allergique traité par omalizumab.

Résumé (français) :

L'asthme allergique est une maladie inflammatoire des bronches. L'inflammation est liée à une anomalie de balance Th1/Th2 en faveur des lymphocytes Th2. Le déficit en lymphocytes T régulateurs (Treg) pourrait être responsable de cette anomalie. L'omalizumab est un anticorps monoclonal dirigé contre les IgE utilisé en traitement additionnel dans l'asthme sévère.

L'objectif de notre étude est d'évaluer le taux de Treg circulants (évalué par marquage FoxP3) comme marqueur d'efficacité de l'omalizumab en relation avec le contrôle de l'asthme.

Nous avons réalisé une étude longitudinale, prospective, monocentrique chez des enfants atteints d'asthme sévère allergique, non contrôlé sous traitement maximal. Nous avons relevé avant (J0) puis à 16 semaines (J1) d'un traitement par omalizumab : le contrôle de l'asthme, les EFR, un dosage des polynucléaires éosinophiles et des Treg évalués par FoxP3.

21 patients ont été inclus. Le taux de patients non contrôlés était de 95,2% à J0 et de 4,8% à J1 ( $p = 0,0076$ ). Le pourcentage de Treg augmentait significativement entre J0 et J1 ( $p=0,026$ ) et le taux de polynucléaires éosinophiles diminuait significativement ( $p=0,013$ ). L'évolution du contrôle de « non contrôlé » à « contrôlé » à J1 était expliquée par la seule variable Treg ( $p=0,002$ ) indépendamment des autres facteurs.

Dans notre population, le traitement par omalizumab améliore le contrôle de l'asthme. L'amélioration du contrôle est associée à une augmentation significative des Treg. Le taux de Treg est donc associé au contrôle de l'asthme et représente un nouveau biomarqueur d'efficacité de l'omalizumab.

Mots clés (français) : asthme, contrôle, biomarqueur, lymphocyte T régulateur, FoxP3

Titre en anglais :

T regulatory cells as biomarker of asthma control for children with severe allergic asthma.

Abstract (english) :

Allergic asthma is an inflammatory disease of the lungs. The inflammation is associated with an abnormality of the Th1 / Th2 balance towards Th2 lymphocytes. The deficit in regulatory T cells (Treg) could be responsible for this anomaly. Omalizumab is a monoclonal antibody directed against IgE used as additional treatment in severe asthma.

The objective of our study is to assess the level of circulating Treg (assessed by marking FoxP3) as a marker of efficacy of omalizumab in relation to asthma control.

We conducted a longitudinal study, prospective, single-center in children with allergic severe asthma, uncontrolled on maximum salary. We noted before (day 0) and at 16 weeks (day1) of treatment with omalizumab: the control of asthma, EFR, a dosing eosinophils and Treg evaluated by FoxP3.

21 patients were included. The rate of uncontrolled patients was 95.2% at D0 and 4.8% at D1 ( $p = 0.0076$ ). The percentage of Tregs increased significantly between D0 and D1 ( $p = 0.026$ ) and the rate of eosinophils decreased significantly ( $p = 0.013$ ). The evolution of the control of "uncontrolled" in "controlled" at D1 was explained by Treg single variable ( $p = 0.002$ ) independently of other factors.

In our population, treatment with omalizumab improves asthma control. The improvement of the control is associated with a significant increase in Treg. The rate of Treg cells is associated with the control of asthma and represents a novel biomarker of efficacy of omalizumab.

Keywords (english) : asthma, control, biomarker, T regulatory cell, FoxP3

**Université Paris Descartes**  
**Faculté de Médecine Paris Descartes**  
**15, rue de l'École de Médecine**  
**75270 Paris cedex 06**