



**HAL**  
open science

# Implication du CD95-Ligand/Fas-Ligand soluble dans les vascularites systémiques à ANCA

Gaël Galli

► **To cite this version:**

Gaël Galli. Implication du CD95-Ligand/Fas-Ligand soluble dans les vascularites systémiques à ANCA. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03108234

**HAL Id: dumas-03108234**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03108234v1>**

Submitted on 13 Jan 2021

**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.

**U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES**

Année 2020

Thèse n°3267

THESE POUR L'OBTENTION DU

**DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement

Par **GALLI Gaël**

Né le 25 Mars 1989 à Grenoble

Le 17 Décembre 2020

**Implication du CD95-Ligand/Fas-Ligand soluble dans les  
vascularites systémiques à ANCA**

Sous la direction de :

**Monsieur le Professeur Patrick BLANCO**

Membres du jury :

M. le Professeur Jean-Luc PELLEGRIN  
M. le Professeur Thierry SCHAEVERBEKE  
M. le Professeur Jean-François VIALLARD  
Mme le Professeur Estibaliz LAZARO  
Mme le Professeur Marie-Elise TRUCHETET  
M. le Professeur Patrick BLANCO

Président  
Rapporteur  
Examinateur  
Examinateur  
Examinateur  
Directeur de thèse

## Remerciements

### **A notre Maître et Président de Jury, M. le Professeur Jean-Luc PELLEGRIN,**

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Merci de votre soutien constant et évidemment merci pour ces visites passionnantes au lit du patient qui ont contribué à faire de moi « l'un de ceux qui sont passé au G2. » Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

### **A notre Maître et Rapporteur, M. le Professeur Thierry SCHAEVERBEKE,**

Merci de me faire l'honneur d'être le rapporteur de ce travail. Vous m'avez fait un des plus beaux compliments de ma vie professionnelle et j'espère en être digne chaque jour. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

### **A notre Maître et Juge, M. le Professeur Jean-François VIALARD,**

Merci d'avoir accepté de juger ce travail et merci de m'avoir accueilli au sein de l'école bordelaise de la Médecine Interne. Grâce à vous je n'oublierai jamais l'importance de vérifier la taille des rates et surtout l'importance de l'expérience et des « vieux trucs de maquignon » en médecine. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

### **A notre Maître et Juge, Mme le Professeur Estibaliz LAZARO,**

Merci d'avoir accepté de juger ce travail et surtout merci pour ta passion communicative de la médecine et ta connaissance sans bornes de la médecine interne. Merci aussi de ton soutien tout au long de mon parcours à Bordeaux. Sois assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

### **A notre Maître et Juge, Mme le Professeur Marie-Elise TRUCHETET,**

Merci d'avoir accepté de juger ce travail mais bien sûr merci pour tout ce que tu m'as apporté au fil de toutes ces années. Merci de m'avoir pris en master 2 et de m'avoir permis de concilier la médecine et la recherche dans mon parcours comme je l'avais toujours voulu. Merci pour ton enthousiasme communicatif, pour tout ce qui est passé et pour tout ce qui est encore à venir dans nos travaux communs. T'avoir au sein de ce jury était pour moi une évidence, sois assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

### **A notre Maître et Directeur de thèse, M. le Professeur Patrick BLANCO,**

Merci de m'avoir permis de réaliser ce travail, je suis heureux de l'avoir vu se développer depuis son origine jusqu'à ce qu'il est devenu maintenant. Et surtout merci pour tout ce que tu m'as apporté depuis ce jour de 2018 où tu m'a accueilli au laboratoire. Travailler à tes côtés sur le lupus est une chance, sois assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect pour tout ce que tu es.

## **A ceux qui m'ont formé à la médecine,**

Au Professeur Jean-José Bouquier. C'est en discutant avec vous que le jeune lycéen que j'étais a confirmé son choix de se lancer dans des études de médecine. Cette conversation a forgé l'homme que je suis aujourd'hui et je vous remercie de m'avoir convaincu de me lancer dans cette aventure. J'en ressors changé mais je ne voudrais rien avoir fait d'autre.

A tous les internistes du CHU de Limoges et au Professeur Kim Heang Ly en particulier. Vous avez allumé dans mon cœur d'étudiant de 3<sup>ème</sup> année de médecine la flamme de la médecine interne. Elle ne s'éteindra jamais.

Aux Professeurs Fabrice Bonnet, Philippe Morlat et aux Dr Marie-Anne Vandenhende, Florian Catros, Amandine Collin, Noëlle Bernard, Mojgan Hessamfar. Vous avez formé le jeune interne que j'étais à mon arrivée à Bordeaux et je vous dois d'avoir appris la rigueur, l'esprit systématique et l'affection pour les malades de tout horizon, si indispensable à l'exercice de la Médecine Interne.

Aux Dr Philippe Lataste, Dominique Jarnier et Nicolas Rouanes ainsi qu'à la merveilleuse équipe du service de médecine interne de Périgueux. Mon passage dans votre service a été un bonheur qui m'a permis d'oublier un moment difficile de ma vie. Sans vous je ne serai pas là où j'en suis aujourd'hui.

Aux Dermatologues du CHU, les Professeurs Marie Beylot-Barry, Alain Taieb, Julien Seneschal, Marie-Sylvie Doutre, Lien Pham-Ledard et les Dr Stéphanie Guillet, Anne-Sophie Darrigade, Brigitte Milpied, Caroline Dutriaux, Sorilla Prey, Emilie Gérard, Olivier Cogrel. Grace à vous, la dermatologie n'est plus cette discipline que je trouvais auparavant obscure.

Aux Rhumatologues du CHU, les Professeurs Christophe Richez, Bernard Bannwarth, les Dr Nadia Mehzen, Nicolas Poursac, Claire Barthe, Marion Reignac, Amandine Buisson. J'ai passé autant de temps dans vos murs que dans ceux de ma spécialité et ça a été et continue d'être un vrai bonheur !

Aux Neurologues du CHU, les Professeurs Gwendal Le-Masson, Igor Sibon et les Dr Fanny Duval, Guilhem Solé, Stéphane Mathis, Idoïa Lacoste, Amandine Moroso. J'ai découvert un monde médical insoupçonné à vos côtés et passé un des meilleurs semestres de ma vie.

Aux Professeurs Pierre Duffau, Patrick Mercié et aux Dr Anne Contis, Emmanuel Ribeiro et Pascal Biscay. Vous êtes de merveilleux médecins et travailler avec vous a été une chance mais vous savez déjà toute l'affection que je vous porte.

Aux Réanimateurs de Bayonne, les Dr Jérôme Pillot, William Marie, Severin Cabasson, Brice Guerpillon, Chloé Gisbert-Mora, Camille Vinclair, Emmanuel Muller, Sebastian Pease, Pascal Mathieu. Malgré mon manque de talent évident pour la pose de cathéters divers et variés, vous avez rendu ce semestre en réanimation riche d'enseignements et de bons moments.

Aux Dr Irène Machelart, Etienne Rivière, Carine Greib et Marieke Grenouillet. Vous savez toute l'estime et l'affection que j'ai pour vous. Chaque minute à vos côtés dans le service m'a rendu plus compétent. J'aurai voulu que ce semestre au G2/C1 ne se termine jamais.

A tous les médecins, IDE, aides-soignants et autres personnels paramédicaux qui ont contribué à ma formation d'externe et d'interne. Vous avez forgé le médecin que je deviens aujourd'hui.

## **A ceux qui m'ont formé à la recherche,**

A Gaëlle Bégau, Caroline Le Morvan et Fabrice Lalloué. Vous m'avez refilé le virus de la paillasse et du laboratoire pendant ce court stage de M1 de 2012, je n'en guérirai jamais.

A Isabelle Douchet, merci pour avoir guidé mes premiers pas de Master 2 au laboratoire. Un jour je te rembourserai les gâteaux d'usage lorsque l'on a bouché un pipette aid. Merci surtout pour tout ce que tu es et pour tout ce que tu m'as appris et continue à m'apprendre au quotidien.

A Audrey Hemadou, merci pour tout ce que tu as fait pour épauler et simplifier ma vie de jeune thésard. Tu sais tout ce que je te dois et à quel point j'aimais travailler avec toi. Je suis triste de te voir partir du laboratoire mais heureux que ce soit pour arpenter le nouveau chemin que tu t'es choisi. Je ne doute pas qu'il sera radieux.

A Andréa Boizard-Moracchini et Nathalie Merillon mais également Pierre Vacher et Patrick Legembre qui ont brillamment poursuivi et développé ce projet jusqu'à ce qu'il est devenu aujourd'hui. Mention spéciale à Andréa pour nos brainstormings acronymes de projets et à Patrick Legembre pour sa relecture de cette thèse.

A Cecile Contin-Bordes, merci pour tout ce que tu m'as apporté durant mon passage dans la team sclérodemie. Ton enthousiasme sans borne pour le macrophage est communicatif.

A Nathalie Schmitt, merci de toute l'aide et le soutien que tu m'as apporté lorsque j'avais l'impression que je ne pourrai pas commencer à déplacer la montagne que représente le PhD. Et surtout, merci d'être telle que tu es, je suis fier et heureux de te compter parmi mes amis.

A Maya Saleh. Je ne pensais pas que les quelques mois de manip à la fin de mon master 2 lors de ton arrivée au laboratoire nous mènerai aussi loin. Merci de me permettre de continuer à marcher sur les routes tortueuses de la science.

Aux membres de mon équipe : Sébastien, Eloïse, Pauline, Héloïse, Domitille, Julie et Marie. Je suis heureux de partager avec vous cette aventure scientifique qu'est le PhD et de construire en votre compagnie cette nouvelle équipe au sein du laboratoire. A nos futures nuits au cytomètre !

A mes compagnons de thèse, les plus anciens : Adrien, Corentin, Marc, Hannah, Paô, Gabriel, Nathalie, Mélanie, Charlotte, Elena, comme les plus récents : Florent Pauline, Amandine, Simon, et Céline qui trouve toujours les mots pour me remonter le moral. Merci de tout ce que vous m'avez apporté et merci de supporter tous les moments où je râle au milieu du labo.

A tous les chercheurs du labo : Julie Déchanet-Merville, Maria Mamani-Matsuda, Myriam .Capone, Lionel Couzi, Pierre Merville, Jonathan Visentin, Victor Appay, Edouard Forcade, Dorothee Duluc, Vanja Sisirak, Anne Garreau, Nicolas Larmonier, Thomas Pradeu, Maël Lemoine, Gregor Greslehner et Jean-François Moreau. Le dynamisme scientifique dont vous êtes responsables rend chaque jour passionnant.

A Thomas, Anna, Quentin, Steeve et toute la team des ARC du centre de référence. Vous êtes d'une aide constante et sans vous mes projets ne se seraient jamais développés aussi bien !

A tous les ingénieurs du laboratoire et personnels de la faculté qui m'ont tant appris et continuent à m'en apprendre tant : Atika, Emeline, Vincent, Severine, Xavier, Benoit, Léa, Julien et à tous les scientifiques merveilleux qui m'aident au quotidien.

## **A ma famille et à ceux qui m'ont vu grandir,**

A ma mère, Danuta, je pense que tu ne sais pas à quel point je tiens de toi et à quel point on se ressemble sur certains points. Quelques lignes ne suffisent pas pour exprimer tout ce que je te dois depuis toujours mais j'espère que tu sais à quel point je suis admiratif de la personne que tu es et du parcours que tu as eu depuis la Pologne jusqu'à aujourd'hui. Tu m'a toujours dit que je travaillais pour moi et pas pour les autres mais j'espère que tu es quand même fière de moi.

A mon père, Gérard. Je suis heureux de pouvoir te dire grâce à ces quelques lignes au détour de ma thèse à quel point je suis à chaque fois surpris de la bienveillance et de l'intelligence dont tu fais preuve au quotidien. Chacune des histoires de vie que tu m'as raconté depuis mon enfance me rappellent à quel point tu as eu mille existences, mille quotidiens et pourquoi peu importe ce que l'on fait dans la vie, ce qui compte c'est la perception de ce l'on fait. Tu étais le héros de l'enfant que j'étais, sache que ça n'a pas changé.

A Maria, ma sœur cousue apparue dans ma vie quand j'avais 25 ans. Je suis fier de celle que tu es et de la montagne que tu as déplacé avec brio en venant vivre en France. Rien ne pourra jamais t'arrêter, j'espère que tu le sais.

A mes grands-parents de Pologne, Aleksy et Helena, vous n'êtes pas là pour me voir aujourd'hui mais vous m'avez construit durant mon enfance et j'ai des milliers de souvenirs merveilleux à vos côtés, ce qui prouve bien que l'on peut s'aimer même lorsque l'on ne parle pas la même langue.

Une pensée pour mon grand-père que je ne n'ai pas connu mais surtout une mention spéciale à ma grand-mère française, Moune qui avait toujours rêvé de voir un médecin dans notre famille. La maladie t'avait déjà emportée trop loin et tu ne l'as jamais su mais c'est arrivé finalement. Tu as rendu chacun des séjours chez toi magique et merveilleux pour l'enfant que j'étais.

A mes oncles et tantes, Michel, Hervé, Jean-Claude, Muriel, Ewa, Bozenna, à mes cousines Marion et Laetitia et leurs conjoints respectifs, je sais que l'on ne se voit pas aussi souvent qu'on le voudrait mais j'espère que vous serez fiers du chemin parcouru et de cet accomplissement.

A Christophe, Marie-Laure, Alain Mornand, aux Weihoff, aux Marilleau, aux Menant, à Evelyne, à Jean Prot et à Dorota et Tomek. Vos passages réguliers dans ma vie d'enfant, d'adolescent et d'adulte à chacune de vos visites à mes parents (et réciproquement !) ont rendu la maison où j'ai grandi heureuse et dynamique. Nos pizzas party dans la vieille maison de Creuse avec son four à pain et les innombrables moments que nous avons partagés résonneront à jamais dans ma mémoire.

## **A mes amis, lointains comme récents,**

A Arnaud, merci d'être l'ami formidable que tu as toujours été depuis ce jour de Septembre en 3<sup>ème</sup> où nous nous sommes assis l'un à côté de l'autre en cours de Grec. Ton parcours est totalement dissemblable du mien et je suis tellement heureux de te voir l'accomplir chaque jour. J'espère que tu feras résonner toute ta vie tes créations dans le cœur des gens. Tu auras toujours une place sous mon toit comme nous nous l'étions promis il y a longtemps.

A Frédéric, merci d'être toujours resté le même homme que celui que j'ai rencontré au lycée, cet épicurien forcené qui brule la vie par les deux extrémités. Et merci de me surprendre régulièrement, et en général quand je ne m'y attends pas.

A Alexandra, Boris et Colin, je vous connais depuis aussi longtemps que ma mémoire puisse se rappeler. Je vous sais heureux et vous voir ainsi est un bonheur dont je ne me lasse pas.

A Alex et Charline, j'espère que votre enfant qui s'annonce nous rejoindra bien le 25 mars, c'est une bonne date. Mais surtout, merci d'être toujours les mêmes êtres merveilleux qu'à l'époque du lycée. Soyez heureux.

A Clémentine, chacun de mes séjours à Paris est plus beau parce que j'ai le privilège de te retrouver. J'espère que ton projet de vie hors de nos frontières aboutira vite et que le bonheur t'attendra à tous les tournants. Tu le mérites.

A Pierre, j'aime toujours autant constater à quel point tu es resté le même qu'à l'époque de nos parties endiablées d'échecs en cours de maths. J'ai hâte de découvrir ta maison de Niort.

A Chloé, Agathe et Djé, Flavie, Guillaume, Camille et Aude. L'eau a coulé sous les ponts mais le temps n'a pas emporté notre amitié. Je suis heureux de vous savoir toujours dans ma vie et chacun des moments avec vous me rappelle que certaines choses ne changent pas. Vivement la prochaine fois !

A Emmanuel et toute ta petite famille en Finlande. J'ai hâte d'arpenter à nouveau Helsinki avec vous.

A Oriane, malgré ton exil Nantais tu resteras toujours ma gastro-entérologue préféré mais surtout ma globe trotteuse préférée ! Vivement la prochaine fois où nous arpenterons ensemble le Japon ou un autre pays.

A Romain, l'un des derniers survivants de mes années facultés mais quel survivant ! Clermont-Ferrand t'a kidnappé mais je suis heureux de toujours te compter parmi mes amis. J'ai hâte de découvrir le nouveau lieu que tu t'es forgé récemment.

A Louise, nos chemins se sont un peu écartés depuis la faculté mais tu me manques chaque jour. J'espère que tu es heureuse.

A Elodie et Ludo, vous avez contribué à faire de mes années de faculté de belles années. J'espère que vous êtes heureux ensemble et avec votre petite fille.

A Amanda, le brillant esprit scientifique. Je n'ai jamais vu quelqu'un d'aussi amoureux de la recherche que toi. Je te souhaite plein de bonheur, de Nature, de Cell et d'Immunity !

A Damien. Le master et la thèse de sciences m'ont apporté beaucoup de choses. Mais je ne pensais pas qu'il y aurait un ami pareil dans le lot. Rien que pour ça je suis heureux de m'être lancé dans ce parcours. Toi et Delphine êtes des êtres merveilleux et j'espère que votre route sera pavée de bonheur.

A Cyril. Je ne connais pas d'esprit plus libre et iconoclaste que toi. Et j'espère boire du rhum et du whisky très longtemps en ta compagnie dans la pièce secrète du capitaine. J'ai hâte de retourner dans ton resplendissant moulin pour constater à quel point tu l'auras rendu encore plus beau qu'il ne l'est déjà.

A Ayoub. Je n'ai jamais vu quelqu'un d'aussi amoureux de son métier, de sa femme et de la vie en général. Merci de toujours croire en moi, plus que je ne le fais moi-même. Une mention spéciale à Justine qui, non contente de te supporter, est aussi un merveilleux complément à ton caractère.

A Léa, merci de partager ma passion sans bornes pour le whisky tourbé et surtout merci d'être l'être exceptionnel que tu es.

A Jean et à Aymeric, je suis heureux que Damien m'ai permis de vous rencontrer. Vous êtes au top, ne changez rien !

A Simon, merci pour toutes nos discussions politiques passionnantes et pour être l'humain engagé que tu resteras je pense toute ta vie.

A Maelig, Maelys, Camille, Ines. Vous avez fait à mes côtés vos premiers pas d'internistes. Aujourd'hui le dernier de la bande passe (enfin !) sa thèse. Que de chemin parcouru depuis le premier semestre ! Vous êtes des médecins merveilleux et compétents, vos patients et vos collègues ont de la chance. J'espère que vous êtes heureuses.

A Marthe, pour tout ce que tu es, et en premier lieu une amie aussi merveilleuse. J'aimerais te voir plus souvent depuis ton retour dans ce cher Périgord où nous nous sommes connus, mais je chéris dans mon cœur chaque moment passé à boire des verres en terrasse (ou sur la terrasse de la mat !) à refaire le monde ! Vivement la prochaine fois ! Et bien sûr à Alexandre qui te complète si bien et grâce à qui chaque pot de fromage « Madame Loïc » amènera toujours un sourire sur mes lèvres.

A Baptiste et Thibaut, j'espère que vous êtes heureux dans les Landes avec toute votre ménagerie ! Vivement que je puisse venir vous y embêter !

A Béatrice, cet être irradiant la joie de vivre et que je sais heureuse au fin fond de la Normandie. Vivement la prochaine rencontre, que l'on puisse fêter nos retrouvailles avec un des Calva arrangé dont tu sembles avoir le secret.

A Chips qui s'est exilé en Bretagne. Il fallait bien ça pour que ton chat arrête de détruire mes mollets. A Jeanne, la dynamique ORL, j'espère que tu auras plein de bonnes adresses réunionnaises pour notre prochaine rencontre.

A Laure, Corinne, Agathe, Mouna et toute la team de l'internat Périgourdin. On s'est un peu perdus de vue mais ce semestre était merveilleux et mon amitié vous est acquise à jamais.

A Vivien, Aurélien, Manon, Felix, Frédéric, Maxime, Blanca et toute la team de M2. Vous avez rendu cette année mémorable.



A Marie, j'espère que tu t'éclates depuis ton départ de Bordeaux, vivement que tu me fasses découvrir Tahiti !

A Quentin, j'espère que tout va bien pour toi et que je pourrai découvrir bientôt Strasbourg en ta compagnie.

A Floriane, mon externe préférée qui est devenue une superbe oncologue et surtout une amie qui me manque beaucoup depuis son exil à Lyon. Vivement le prochain bouchon en ta compagnie !

A Victor, chacun de mes séjours à Bergerac est mémorable grâce à toi et tes patients ont bien de la chance de t'avoir pour « gérer l'incertitude ». J'espère qu'on découvrira à nouveau par hasard que nos dates de voyage au Japon coïncident et que l'on profitera à nouveau des restaurants Tokyoïtes ensemble !

A Cyrielle, merci pour tout ce que tu m'as apporté au fil de ces années, tu es géniale et j'espère que ton horizon personnel et professionnel est pavé de tout ce que tu désireras. Soyez heureux avec Stéphane.

A Laura et Louis, pour les être extraordinaires que vous êtes et en l'honneur de de nos soirées mémorables devant Kaamelott dans le canapé détruit de l'internat.

Et bien sûr, comment ne pas citer Virginie, Ines et Ines, Helene, Sarah, Marie-Liesse et toute la team de Bayonne. J'aurai voulu que ce semestre ne s'achève jamais. Je résigne pour vivre dans ces locaux délabrés dès demain si vous les partagez à nouveau avec moi.

A la merveilleuse team d'internes du G2, Léa, Claire-So, Gonzy, Claire, Victor, Thylbert, Dorine, Antoine, ce semestre était mémorable parce que je l'ai partagé avec vous.

A tous les internistes en devenir ou déjà arrivés au terme de ce si long et passionnant internat et que j'ai pu côtoyé durant toutes ces années à Bordeaux : Renaud, Noémie, David, Kevin, Alys, Tiphaine, Guillaume, Henri, Laure, Thomas, Claire, Camille, Steven, Mathilde, Manon, Emilie, Joelle, Claire, Judith, Gildas, Félix, Cédric, Wendy, Jérémie, Pauline et tous les jeunes que mes pérégrinations récentes en laboratoire m'empêchent de connaître.

A toute la merveilleuse team Ville-Hop et Coverage, Camille, Léo, Mathilde, Harmony, Yaniss, Côme, Céline, Aurélie, Anne-Sophie et tous les autres. Je suis heureux de vous avoir rencontré dans ce moment si singulier de la vie de tous.

A tous les co-externes, co-internes et étudiants de master que je ne peux lister ici de façon exhaustive mais qui ont comptés.

Aux patients qui ont permis la réalisation de ce travail de recherche et qui rendent surtout chaque jour à l'hôpital unique et méritant d'être vécu.

A toutes les personnes qui ont contribué à m'amener à ce moment et qu'une insupportable distraction m'aura fait oublier ici.

Et bien sûr, à Manon. Chaque jour à tes côtés est un émerveillement que je n'aurai pas cru possible.

## Table des matières

1. Introduction .....	13
1.1 Vascularites systémiques .....	13
1.2 Vascularites systémiques à ANCA .....	14
1.3 Physiopathologie des vascularites à ANCA .....	19
1.4 Le CD95-Ligand ou Fas-Ligand soluble .....	21
2. Méthodes .....	23
2.1 Type d'étude .....	23
2.2 Critère de jugement principal .....	23
2.3 Critères de jugement secondaires .....	23
2.4 Population analysée .....	24
2.5 Dosage du CD95-L soluble .....	24
2.6 Recueil de données et corrélation du s-CD95L à l'activité de la vascularite .....	25
2.7 Critères d'inclusion et d'exclusion .....	26
2.8 Aspects statistiques .....	27
3. Résultats .....	28
3.1 Description de la population étudiée .....	28
3.2 Comparaison des populations de MPA et de GPA .....	32
3.3 Population témoin .....	33
3.4 CD95-Ligand soluble chez les vascularites à ANCA .....	34
3.5 CD95-Ligand soluble chez les GPA et les MPA .....	35
3.6 Corrélation CD95-L soluble et activité de la vascularite .....	37
4. Discussion .....	40
5. Conclusion .....	44
6. Perspectives .....	45
7. Revue de la littérature : les anti-protéases du HIV pour le traitement des maladies inflammatoires .....	46
7.1 Proteases and protease inhibitors .....	46
7.2 Immunological mechanisms of HIV protease inhibitors .....	48
7.3 Potential therapeutic applications in non-infectious diseases .....	55
7.4 Conclusion and perspectives for HIV Protease Inhibitors in inflammatory diseases .....	61
Références .....	62
Annexes .....	73
Serment d'Hippocrate .....	78
Résumé .....	79

## Table des illustrations

Figure 1. Répartition des différents sérums de la population étudiée.....	29
Figure 2. Taux de CD95-Ligand soluble chez les vascularites à ANCA .....	35
Figure 3. Taux de s-CD95L chez les GPA (gauche) et MPA (droite) actives et non actives.....	36
Figure 4. Taux de s-CD95L chez les GPA et MPA actives et non actives.....	37
Figure 5. Corrélation entre ANCA et Activité de la vascularite évaluée par le BVAS 3.0.....	38
Figure 6. Corrélation entre s-CD95L et Activité des MPA-GPA évaluée par BVAS 3.0.....	39
Figure 7. Corrélation entre ANCA ou s-CD95L et Activité de la MPA évaluée par BVAS 3.0.....	39
Figure 8. HIV Protease and HIV Protease Inhibitors mechanism of action .....	47
Figure 9. HIV Protease Inhibitors non-antiviral properties.....	54
Figure 10. HIV Protease Inhibitors potential applications for autoimmunity.....	60

## Table des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques cliniques et Statut ANCA des patients .....	29
Tableau 2. Caractéristiques biologiques des patients.....	30
Tableau 3. Catégories EUVAS et scores des patients.....	30
Tableau 4. Thérapeutiques utilisées au cours de l'histoire de la maladie.....	31
Tableau 5. Thérapeutiques utilisées au moment du dosage de s-CD95Ligand .....	31
Tableau 6. Réponse au traitement .....	31
Tableau 7. Caractéristiques des témoins.....	32

## Abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique	GNRP : glomérulonéphrite rapidement progressive	NFκB : Nuclear Factor Kappa B
ANCA : Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles	GPA : Granulomatose avec polyangéite	NK : Natural Killer
bFGF : basic Fibroblast Growth Factor	GWAS : genome-wide association studies	NTIC : Néphropathie tubulo-interstitielle chronique
BVAS 3.0 : Birmingham Vasculitis Activity Index 3.0	HAART : Highly Active Anti-Retroviral Therapy	NZB/W : New Zealand Black and White
CHU : Centre Hospitalier Universitaire	HIA : Hémorragie intra-alvéolaire	ORL : Oto-Rhino-Laryngologique
CID : Calcium-Inducing Domain	HIV : Human Immunodeficiency Virus	PARP : Poly(ADP-Ribose) Polymerase
CNS : Central Nervous System	HLA : Human Leukocyte Antigen	PCA : Protein-fragment Complementation Assay
CRP : C-Reactive Protein	HMGB-1 : High Mobility Group Box 1	PCR : Polymerase Chain Reaction
DAMP : Danger Associated Molecular Pattern	HRP : HorseRadish Peroxydase	PI3K : Phospholinoside 3-kinase
DD : Death Domain ;	ICAM : InterCellular Adhesion Molecule	PID : Pneumopathie interstitielle diffuse
DFG : Débit de Filtration Glomérulaire	IL : Interleukin	PBMC : Peripheral Blood Mononuclear Cells
DISC : Death-Inducing Signaling Complex	IFN : Interferon	PLCγ1 : Phospholipase Cγ1
DLCO : Capacité de diffusion du monoxyde de carbone	IGFR : Insulin-like growth factor 1 receptor	PMA : Phorbol Myristate Acetate
DNA : DeoxyriboNucleic Acid	JNK : c-Jun N-terminal Kinase	PNEo : Polynucléaire eosinophile
ds-DNA : double-stranded DeoxyriboNucleic Acid	LMP : Low molecular mass polypeptide	PNN : Polynucléaire neutrophile
EAE : Experimental Autoimmune Encephalomyelitis	MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase	PR3 : Protéinase 3
EBV : Epstein Barr Virus	MECL : Multicatalytic endopeptidase complex-like	RNA : RiboNucleic Acid
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor	MHC : Major Histocompatibility Complex	ROS : Reactive Oxygen Species
ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay	MISC : Motility-Inducing Signaling Complex	S1P : Sphingosine 1 Phosphate
ER : Endoplasmic Reticulum	MMP-2 : Matrix MetalloProteinase-2	S1PR : Sphingosine 1 Phosphate Receptor
ERK : Extracellular signal-regulated kinases	MPA : Polyangéite microscopique	s-CD95L : soluble CD95 Ligand
ET : Ecart type	MPO : Myéloperoxydase	SLE : Systemic Lupus Erythematosus / Lupus Erythémateux Systémique
EUVAS : European Vasculitis Society	MRL <sup>Lpr/+</sup> : Systemic Lupus Erythematosus mice model	SJL : Swiss/Jackson Laboratory
FADD : Fas Associated Death Domain	MS : Multiple Sclerosis	TGFβ : Transforming Growth Factor β
FDA : Food and Drug Administration	mTOR : mechanistic Target Of Rapamycin	Th2 ou Th17 : T helper 2 ou 17
FFS : Five Factor Score	MyD88 : Myeloid Differentiation primary response 88	TLR : Toll Like Receptor
GEPA : Granulomatose éosinophilique avec polyangéite	NET : Neutrophils Extracellular Traps	TMB : TetraMethylBenzidine
		TNFα : Tumor Necrosis Factor α
		VDI : Vasculitis Damage Index
		VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

# 1. Introduction

## 1.1 Vascularites systémiques

Les vascularites sont un groupe de maladies inflammatoires rares partageant comme caractéristique commune la présence d'un infiltrat inflammatoire avec nécrose fibrinoïde de toute la paroi vasculaire (endothélium, média et adventice) artérielle ou veineuse. Elles peuvent toucher des organes isolés ou au contraire présenter une atteinte systémique, c'est-à-dire de plusieurs organes (1).

Il s'agit d'un groupe hétérogène de maladies car elles peuvent être secondaires à une étiologie (infectieuse, hémopathie ou maladie de système par exemple) mais également être une atteinte inflammatoire primitive de la paroi vasculaire. Au fil du temps, il a été proposé plusieurs types de classifications de ces pathologies (2–6) et la plus récente d'entre-elles, la classification internationale de Chapel-Hill révisée en 2012, repose principalement sur la taille des vaisseaux atteints (1) :

- Vascularites des vaisseaux de taille variable : Maladie de Behcet, Syndrome de Cogan.
- Vascularite des vaisseaux de grande taille (aorte et ses branches) : Artérite à cellules géantes (ou Maladie de Horton), Maladie de Takayasu.
- Vascularite des vaisseaux de moyen calibre (principales artères viscérales et leurs branches) : Maladie de Kawasaki, Péri-artérite noueuse
- Vascularite des vaisseaux de petits calibres.

Ce dernier groupe, le plus diversifié, peut se subdiviser lui-même en vascularites à dépôts de complexes immuns (en raison de la présence de dépôts d'immuns complexes visibles en immunofluorescence au sein des biopsies des organes touchés) et les vascularites dites « pauci-immunes » c'est-à-dire sans dépôts visualisables en immunofluorescence à l'analyse en anatomopathologie.

Ces vascularites pauci-immunes sont également appelées vascularites à ANCA car la plupart sont caractérisées par la présence dans le sang des patients d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA).

## 1.2 Vascularites systémiques à ANCA

Les vascularites systémiques à ANCA comprennent, par ordre de fréquence décroissante :

- La polyangéite microscopique ou micropolyangéite (= MPA)
- La granulomatose avec polyangéite (=GPA) ou maladie de Wegener
- La granulomatose éosinophilique avec polyangéite (= EGPA) ou syndrome de Churg et Strauss

Ces maladies touchent les 2 sexes à tous les âges de la vie, bien qu'elles aient une prédominance chez les sujets de plus de 60 ans, et leur incidence confondue est en

moyenne de 20 patients par million d'habitants chaque année en Europe (7) pour une prévalence estimée entre 46 et 184 par million d'habitants (8).

Les vascularites à ANCA représentent un prototype de maladie de système avec une atteinte potentielle de tous les grands systèmes de l'organisme, et elles peuvent engager le pronostic vital ou d'organe. (1,9)

L'atteinte principale faisant toute la gravité de ces maladies est un syndrome pneumo-rénal associant :

- Une atteinte rénale avec une glomérulonéphrite rapidement progressive évoluant sans traitement vers l'insuffisance rénale terminale nécessitant la mise en épuration extra-rénale ou la transplantation.
- Une atteinte pulmonaire variable mais pouvant être responsable au maximum d'hémorragies intra-alvéolaires massives et de syndromes de détresse respiratoire aiguë amenant les patients à être pris en charge en réanimation.

A ces atteintes cardinales s'associent fréquemment des signes généraux (fièvre, asthénie, anorexie, amaigrissement), une atteinte ORL, cutanée, neurologique, cardiaque, digestive, articulaire, musculaire, toutes polymorphes et associés à des degrés et des intensités variables chez les patients.

Bien qu'hétérogènes, ces 3 maladies présentent donc comme caractéristiques communes :



- Une inflammation de la paroi vasculaire des vaisseaux de petits calibres, ce qui explique le caractère systémique de la clinique.
- La présence dans la plupart des cas d'auto-anticorps dirigés contre le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (PNN) et des monocytes (ANCA) et plus précisément contre la myéloperoxydase (MPO) ou la protéinase 3 (PR3), deux antigènes contenus dans les granulations primaires des PNN et des Monocytes. Bien que ces anticorps ne soient pas présents dans tous les cas et qu'ils puissent être retrouvés dans d'autres situations (Maladie de Crohn ou induits secondairement à la prise de certains médicaments par exemple), ils restent très spécifiques de ces pathologies, et en particulier de la MPA pour les anti-MPO et de la GPA pour les anti-PR3 (10).

En raison de l'hétérogénéité clinico-biologique de ces maladies, au fil des années, plusieurs méthodes d'évaluation de l'activité, du pronostic et des séquelles des vascularites à ANCA ont été développées.

Le score le plus couramment utilisé à l'heure actuelle sur le plan international pour déterminer l'activité des vascularites à ANCA est le Birmingham Vasculitis Activity Index 3.0 (BVAS 3.0) (11,12). Ce score présente également l'avantage de disposer d'une valeur pronostique (13).

Le BVAS permet d'évaluer l'activité de la maladie par une cotation de 0 à 63 portant sur 56 items, chacun de ces items étant pondéré en fonction de la gravité de l'atteinte, et regroupés en 9 grandes catégories d'atteintes d'organes :

- Signes généraux
- Atteinte cutanée
- Atteinte des muqueuses et ophtalmologique
- Atteinte ORL
- Atteinte pulmonaire
- Atteinte cardiaque
- Atteinte digestive
- Atteinte rénale
- Atteinte neurologique

Plusieurs autres évaluations sont également disponibles :

- La catégorie EUVAS, utilisée habituellement dans les essais cliniques consacrés aux vascularites à ANCA et permettant de classer les vascularites en groupes homogènes en fonction de l'étendue de l'atteinte clinique et de la réponse au traitement (14) :
  - o Localised pour les atteintes ORL et pulmonaire limitées
  - o Early systemic pour les atteintes générales modérées avec créatinine plasmatique < 120  $\mu\text{mol/l}$
  - o Generalized pour les atteintes générales étendues avec créatinine plasmatique < 500  $\mu\text{mol/l}$
  - o Severe pour les atteintes étendues avec créatinine plasmatique > 500  $\mu\text{mol/l}$
  - o Refractory pour les maladies réfractaires au traitement

- Le Five Factor Score (FFS), score pronostique de la maladie mis au point par le Groupe Français d'Etude des Vascularites (15,16) et permettant d'évaluer la gravité de la maladie et de décider de l'attitude thérapeutique sur 5 facteurs simples : Age > 65 ans, Créatinine plasmatique > 150 µmol/l, atteinte cardiaque, atteinte digestive sévère (perforation, hémorragie, pancréatite) et l'absence d'atteinte ORL. Plus le FFS est élevé, plus la pathologie est grave et nécessite une prise en charge intense, chaque item du FFS valant un point sauf l'absence d'atteinte ORL qui est un facteur protecteur retirant un point.
- Le Vasculitis Damage Index, seul score validé permettant d'évaluer les séquelles de la maladie ou du traitement et cotant les atteintes persistantes malgré une prise en charge thérapeutique adaptée. (17)

Ces scores présentent l'avantage de permettre d'obtenir des évaluations standardisées de pathologies hétérogènes et donc de comparer plus facilement les groupes de patients au sein des essais thérapeutiques ou des études de physiopathologie.

Du fait de la sévérité des atteintes cliniques, la prise en charge repose dans la majorité des cas sur l'association d'une corticothérapie systémique et d'immunosuppresseurs (au premier rang desquels Cyclophosphamide et Rituximab) avec un schéma d'attaque pour obtenir la rémission de la maladie et un schéma d'entretien en prévention des rechutes, fréquentes dans ces pathologies (9,18,19).

Malgré les traitements immunosuppresseurs actuellement utilisés, les vascularites à ANCA restent responsables d'une morbi-mortalité élevée puisqu'il persiste une morbidité élevée avec des défaillances d'organes parfois sévères, des complications infectieuses des traitements et surtout une mortalité 2.7 fois supérieure chez les patients atteints par rapport à la population générale (20).

Améliorer la qualité de vie et le pronostic des patients, toujours sévèrement impactés à l'heure actuelle par leur pathologie inflammatoire, reste donc une priorité, et il existe une nécessité de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques régissant ces maladies et une place pour la recherche de nouvelles voies thérapeutiques innovantes pour les patients.

### 1.3 Physiopathologie des vascularites à ANCA

Les vascularites à ANCA sont, comme la plupart des maladies inflammatoires ou auto-immunes, d'origine multifactorielle. Elles peuvent survenir sur un terrain génétique prédisposé, et les études d'association pangénomique (ou genome-wide association studies, GWAS) ont d'ailleurs démontré la présence de certains variants du complexe majeur d'histocompatibilité humain (système HLA) de classe 2 mais aussi d'autres gènes non impliqués dans le système HLA chez les patients atteints de vascularites à ANCA (21). A ce terrain génétique, ni nécessaire ni suffisant, peut s'ajouter certains facteurs environnementaux comme l'exposition à la silice cristalline (22) ou encore le portage chronique nasal du *Staphylococcus aureus* (23), un germe pouvant exprimer un super-antigène susceptible d'activer un grand nombre de lymphocytes T de manière

indépendante de la spécificité antigénique (24). Le rôle de ce super-antigène reste toutefois débattu dans les maladies inflammatoires à l'heure actuelle (25,26).

La physiopathologie des vascularites à ANCA est donc complexe et incomplètement comprise à l'heure actuelle. Il s'agit de pathologies inflammatoires médiées par l'immunité adaptative : les lymphocytes Th17, B, mais également l'immunité innée : notamment le système du complément et les PNN pour la MPA et la GPA d'une part et les lymphocytes Th2 et les polynucléaires éosinophiles pour l'EGPA d'autre part (27,28).

Plus spécifiquement, lors de l'activation du système immunitaire face à des pathogènes infectieux, les cellules dendritiques présentatrices d'antigènes interagissent avec les lymphocytes T naïfs qui se transforment en lymphocytes Th17 sécrétant de l'interleukine 17 (IL17). L'IL17 induit la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et ces cytokines sont responsables de l'activation des PNN (29). Ces PNN sont également stimulés par le C5a issu de l'activation de la voie alterne du complément en réponse au pathogène (30) et ces PNN activés représentent une des premières lignes de défense de l'organisme face au pathogène.

En dehors de la classique phagocytose du pathogène, les PNN sont également responsables de la formation de NET (pour Neutrophils Extracellular Traps) des réseaux de fibres extracellulaires composées essentiellement d'ADN de PNN qui en se liant aux pathogènes contribuent à leur destruction. Ces NET sont normalement dégradés par des enzymes, en particulier la DNase I (31). Hors, la dégradation de ces NET par la DNase I est diminuée chez les patients atteints de vascularites à ANCA (32) et il est possible que la persistance de l'exposition du système immunitaire à l'ADN des

neutrophiles soit responsable d'une rupture de tolérance contre la MPO ou la PR3 contenus dans les granulation des PNN, menant donc à la génération des ANCA (33).

Chez les patients, ces auto-anticorps pathogènes se fixent sur les PNN activés et entraînent leur hyperactivation, la production de cytokines pro-inflammatoires, la production de ROS (Reactive Oxygen Species) voire la formation de NET, responsables d'une activation inflammatoire chronique et ultimement des lésions vasculaires (34–37).

#### 1.4 Le CD95-Ligand ou Fas-Ligand soluble

Le CD95 (ou Fas) est un membre de la famille des récepteurs au Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), comportant un domaine transmembranaire impliqué dans l'apoptose. Son ligand, le CD95-L ou Fas-L, est impliqué dans la tolérance périphérique et la réaction immunitaire. (38)

Lorsque le CD95-L est clivé par des métalloprotéases, sa portion clivée est libérée dans la circulation. Cette portion clivée ou CD95 Ligand soluble (s-CD95L) également appelé Fas Ligand soluble (s-Fas-L) est capable d'induire des voies cellulaires non apoptotiques calcium-dépendantes. (39)

Il a été démontré que le CD95-L était exprimé par les cellules endothéliales des patients atteints de lupus érythémateux systémique (SLE) et, qu'une fois clivé, le s-CD95L était capable d'induire le recrutement, dans les organes atteints, de lymphocytes Th17 via l'interaction avec la Phospholipase C $\gamma$ 1 (PLC $\gamma$ 1) par un mécanisme

Sphingosine-1-phosphate (S1P) dépendant (40). Par ailleurs le s-CD95L est augmenté dans le sérum des patients lupiques et est corrélé à l'activité de la maladie. (39)

Il a également été démontré la présence en nombre important de lymphocytes Th17 au sein des reins des patients atteints de vascularites systémiques à ANCA et, sur un modèle murin de vascularite, que ces lymphocytes Th17 migraient de l'intestin vers les reins par un mécanisme lui-aussi S1P dépendant. (41)

Outre les Th17, le s-CD95L est également chemo-attractant pour les polynucléaires neutrophiles (PNN) (42), une cellule très impliquée dans la physiopathologie des vascularites systémiques à ANCA. (35–37)

Enfin, le s-CD95L a déjà été retrouvé augmenté chez un petit nombre de patients atteints de vascularites systémiques à ANCA. (43)

Etant donné le pouvoir chemo-attractant du s-CD95L sur les lymphocytes Th17 et les PNN, son élévation chez les patients atteints de vascularites systémiques à ANCA et le rôle qu'il joue dans le lupus érythémateux systémique (qui présente des atteintes rénales proches des vascularites), il semble légitime :

- D'estimer les taux de s-CD95L sur une population bien déterminée de patients atteints de vascularites systémiques à ANCA en comparaison à des témoins sains.
- De corrélérer ce taux aux scores d'évaluation de la maladie et aux paramètres biologiques des patients afin de déterminer si ce s-CD95L pourrait être un biomarqueur pertinent dans les vascularites à ANCA.

## 2. Méthodes

### 2.1 Type d'étude

Nous avons effectué un recueil rétrospectif de l'ensemble des sérums testés comme positifs pour les ANCA (c-ANCA anti-PR3 ou p-ANCA anti-MPO) au CHU de Bordeaux et mesuré la concentration en CD95-L soluble chez ces patients afin de la comparer à des témoins sains non atteints de vascularite à ANCA. Il s'agit donc d'une étude cas-témoins rétrospective monocentrique conçue comme une étude préliminaire à un projet de recherche fondamentale portant sur l'implication du CD95-L soluble dans la physiopathologie des vascularites à ANCA.

### 2.2 Critère de jugement principal

Le taux de CD95-Ligand soluble mesuré dans le sérum des patients ou des témoins et sa corrélation à l'activité de la vascularite estimée par le score BVAS 3.0.

### 2.3 Critères de jugement secondaires

La corrélation du taux de CD95-Ligand soluble aux autres scores d'évaluation et paramètres biologiques de la vascularite à ANCA.



## 2.4 Population analysée

Nous avons inclus tous les sérums prélevés au CHU de Bordeaux ou envoyés à celui-ci depuis les hôpitaux périphériques de Nouvelle Aquitaine entre le 01/09/2017 et le 22/01/2018 pour suspicion diagnostique ou suivi de vascularite à ANCA et testés positifs pour les anti-MPO ou les anti-PR3.

Les sérums témoins étaient issus de volontaires sains provenant de personnels du laboratoire de recherche.

## 2.5 Dosage du CD95-L soluble

Une fois ces sérums identifiés, nous avons évalué la concentration de CD95-L soluble dans le sérum des patients grâce à un kit ELISA commercial (Human CD178/Fas-L/CD95L ELISA Kit – Diaclone SAS).

L'ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est un test immunoenzymatique couramment utilisé en laboratoire de routine et en recherche pour estimer des concentrations de molécules d'intérêt par exemple dans un sérum ou un surnageant de cellules.

La méthode dite de l'ELISA « double-sandwich » que nous avons utilisé ici consiste à déposer dans une plaque 96 puits à fond plat préalablement recouverte d'un

anticorps de capture (anti-human CD95-L) les sérums des patients ou des témoins (ainsi qu'un standard de concentration connue pour permettre l'interprétation de l'ELISA).

Les sérums sont répartis en dupliqua dans les puits et incubés 2 h à température ambiante. Après 3 lavages, un anticorps de détection biotinylé anti-CD95-L est ajouté pendant 1h à température ambiante. La plaque est ensuite lavée 3 fois puis l'enzyme HRP (HorseRadish Peroxydase) couplée à l'avidine, est ajoutée pour se fixer de manière spécifique à la biotine.

Après une incubation de 20 minutes et 3 lavages, une solution de TMB (TetraMethylBenzidine) et d' $H_2O_2$  est ajoutée, entraînant une réaction enzymatique d'oxydoréduction visualisée par une réaction colorimétrique bleue. Après 20 minutes, l'ajout d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$  à 1 Molaire) permet de stopper la réaction enzymatique.

La densité optique est ensuite mesurée à 450 nm par spectrophotométrie et cette densité optique est directement proportionnelle à la concentration de s-CD95L présente dans les échantillons.

## 2.6 Recueil de données et corrélation du s-CD95L à l'activité de la vascularite

En parallèle de la réalisation des ELISA, nous avons recueilli les données cliniques et biologiques des différents patients dans leurs dossiers médicaux.

Outre ces données, afin de disposer d'une vision d'ensemble de la maladie, nous avons également décrit la population en termes de thérapeutiques utilisés au cours de la maladie et au moment du dosage de s-CD95L, de réponse au traitement ainsi que par les évaluations et scores précédemment décrits :

- Le Birmingham Vasculitis Activity Index 3.0 (BVAS 3.0)
- La catégorie EUVAS,
- Le Five Factor Score (FFS)
- Le Vasculitis Damage Index (VDI)

Une fois le taux de s-CD95L connu, nous avons corrélé ce paramètre à l'activité des vascularites évaluée par le score BVAS 3.0 afin d'obtenir l'évaluation du critère de jugement principal.

Enfin, les témoins ont été décrits en termes d'âge et de sexe afin de permettre une comparaison des données démographiques entre patients et témoins.

## 2.7 Critères d'inclusion et d'exclusion

Nous avons inclus dans l'analyse statistique tous les sérums issus de patients avec diagnostic de MPA ou de GPA confirmé selon les critères de la classification révisée de 2012 de Chapel Hill.

Nous avons exclus les sérums provenant des patients :

- Dont le diagnostic était incertain au moment de l'étude.
- Atteints d'une forme de chevauchement avec d'autres maladies inflammatoires empêchant de déterminer clairement l'imputabilité de la vascularite dans les différentes atteintes cliniques, ce qui ne permettait pas de calculer le BVAS.
- Avec des dossiers présentant un trop grand nombre de données cliniques et biologiques manquantes, ce qui ne permettait pas de calculer le BVAS.

## 2.8 Aspects statistiques

Les données recueillies ont été résumées par statistiques descriptives : moyennes, écart-types, pourcentages. Les variables catégorielles ont été analysées par le test exact de Fisher et les variables continues ont été analysées par le test de Mann-Whitney en raison de l'effectif faible et de la possibilité d'une distribution non paramétrique des données. Les corrélations étaient établies par le coefficient de Spearman.

Une valeur  $p$  ( $p$  value)  $< 0.05$  était considérée comme significative et les analyses statistiques et les graphiques de représentation des données ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 8.3.0 pour Windows, GraphPad Software, San Diego, California, USA.

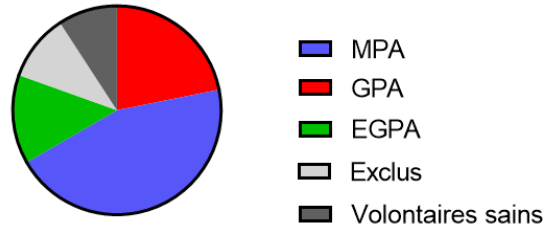
### 3. Résultats

#### 3.1 Description de la population étudiée

L'étude a inclus 79 sérums issus de 52 patients et 8 sérums témoins issus de volontaires sains provenant de personnels du laboratoire de recherche. 9 sérums ont été exclus des analyses conformément aux critères d'exclusion.

La répartition des différents sérums est représentée sur la figure 1 et comportait :

- 19 sérums issus de Granulomatoses avec Polyangéites provenant de 14 patients. Parmi ces prélèvements, 6 correspondaient à des patients avec vascularite active soit un total de 4 patients.
- Les granulomatoses éosinophiliques avec polyangéites étaient représentées par un total de 12 sérums issus de 6 patients.
- Comme attendu selon les données de la littérature, la plus grosse partie de la cohorte était composée des Polyangéites Microscopiques. Nous disposions de 39 sérums issus d'un total de 24 patients. Parmi ces 39 sérums, 21 correspondaient à des vascularites actives.
- 8 sérums de volontaires sains issus des personnels du laboratoire.
- 9 sérums exclus pour les raisons citées précédemment.



Total = 87

**Figure 1. Répartition des différents sérums de la population étudiée**

Les caractéristiques cliniques, paracliniques et thérapeutiques de la cohorte sont présentées dans les tableaux 1 à 7 avec les éventuelles données manquantes. Le détail des différentes atteintes cliniques des patients est disponible en annexe.

**Tableau 1. Caractéristiques cliniques et Statut ANCA des patients**

	GPA (N=19)		MPA (N=39)		P Value
	Moyenne	ET	Moyenne	ET	
<b>Age</b>	57,5	13,2	66,2	10,8	<b>0,0074 **</b>
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
<b>Homme</b>	14	73,7	29	74,4	>0,9999
<b>Femme</b>	5	26,3	10	25,6	>0,9999
<b>Signes généraux</b>	10	52,6	12	30,8	0,1508
<b>Rénal</b>	14	73,7	38	97,4	<b>0,0119 *</b>
<b>Pulmonaire</b>	16	84,2	25	64,1	0,1370
<b>Cutanéo-muqueux</b>	1	5,3	3	7,7	>0,9999
<b>Neurologique</b>	9	47,4	6	15,4	<b>0,0226 *</b>
<b>Musculaire</b>	1	5,3	5	12,8	0,6525
<b>Articulaire</b>	11	57,9	11	28,2	<b>0,0436 *</b>
<b>ORL</b>	13	68,4	13	33,3	<b>0,0231 *</b>
<b>Digestif</b>	0	0,0	4	10,3	0,2921
<b>Ophthalmologique</b>	4	21,1	0	0,0	<b>0,0091 **</b>
<b>Cardio-vasculaire</b>	2	10,5	3	7,7	>0,9999
<b>Cancer ou Hémopathie associé</b>	2	10,5	0	0,0	0,1034
<b>Autres conditions associées</b>	2	10,5	2	5,1	0,5907
<b>c-ANCA Anti-PR3</b>	17	89,5	4	10,3	<b>&lt; 0,0001 ****</b>
<b>p-ANCA Anti-MPO</b>	2	10,5	37	94,9	<b>&lt; 0,0001 ****</b>

**Tableau 2. Caractéristiques biologiques des patients**

	GPA (N=19)			MPA (N=39)			P Value
	Moyenne	ET	Manquantes	Moyenne	ET	Manquantes	
<b>CRP (mg/L)</b>	66,6	118,1	0	27,7	46,4	10	0,7107
<b>GB (G/L)</b>	9,0	3,0	0	7,9	2,5	11	0,3463
<b>Hb (g/dL)</b>	12,9	2,0	0	10,3	2,0	10	<b>&lt; 0,0001 ****</b>
<b>PNN (G/L)</b>	6,8	3,0	0	5,9	2,5	13	0,3831
<b>Lymphocytes (G/L)</b>	1,1	0,6	0	1,1	0,6	13	0,9864
<b>PNEo (G/L)</b>	0,4	0,4	0	0,2	0,3	16	0,1841
<b>Plaquettes (G/L)</b>	273,7	120,2	0	256,0	128,1	11	0,4814
<b>Créatinine (µmol/L)</b>	147,1	138,6	0	278,5	239,0	4	<b>0,0003 ***</b>
<b>MDRD (mL/min/1,73 m<sup>2</sup>)</b>	67,9	27,0	1	32,4	19,9	4	<b>&lt; 0,0001 ****</b>
<b>Protéinurie (g/24h)</b>	0,5	0,8	5	1,6	1,7	7	<b>0,0059 **</b>
<b>Hématurie</b>	Nombre	Pourcentage	Manquantes	Nombre	Pourcentage	Manquantes	0,5543
0	7	36,8	4	11	28,2	8	>0,9999
traces	1	5,3		1	2,6		
1+	2	10,5		3	7,7		
2+	2	10,5		6	15,4		
3+	3	15,8		10	25,6		
<b>Anatomopathologie disponible</b>	13	68,4		27	69,2		>0,9999

**Tableau 3. Catégories EUVAS et scores des patients**

Catégorie EUVAS	GPA (N=19)		MPA (N=39)		P Value
	Valeur absolue	Pourcentage	Valeur absolue	Pourcentage	
Localized	1	5,3	0	0,0	0,3276
Early systemic	4	21,1	5	12,8	0,4503
Generalized	12	63,2	18	46,2	0,2708
Severe	2	10,5	16	41,0	<b>0,0322 *</b>
Refractory	0	0,0	0	0,0	>0,9999
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	
<b>FFS</b>	0,5	0,8	1,3	0,7	<b>0,0009 ***</b>
<b>VDI</b>	1,5	1,9	1,2	1,1	0,9436
<b>BVAS 3.0</b>	6,3	12,2	9,0	12,7	0,1889

**Tableau 4. Thérapeutiques utilisées au cours de l'histoire de la maladie**

	GPA (N=19)		MPA (N=39)		P-Value
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
<b>Corticothérapie</b>	19	100,0	38	97,4	>0,9999
<b>Cotrimoxazole</b>	11	57,9	10	25,6	<b>0,0221 *</b>
<b>Cyclophosphamide</b>	15	78,9	33	84,6	0,7144
<b>Rituximab</b>	13	68,4	17	43,6	0,0973
<b>Méthotrexate</b>	4	21,1	1	2,6	<b>0,0355 *</b>
<b>Azathioprine</b>	10	52,6	21	53,8	>0,9999
<b>IgIV / Echanges plasmatiques</b>	4	21,1	14	35,9	0,3666
<b>Autres traitements</b>	6	31,6	15	38,5	0,7726

**Tableau 5. Thérapeutiques utilisées au moment du dosage de s-CD95Ligand**

	GPA (N=19)		MPA (N=39)		P-Value
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
<b>Corticothérapie</b>	12	63,2	16	41,0	0,1627
<b>Cotrimoxazole</b>	8	42,1	2	5,1	<b>0,0011 **</b>
<b>Cyclophosphamide</b>	4	21,1	3	7,7	0,2013
<b>Rituximab</b>	4	21,1	10	25,6	>0,9999
<b>Méthotrexate</b>	1	5,3	0	0,0	0,3276
<b>Azathioprine</b>	2	10,5	8	20,5	0,4720
<b>IgIV / Echanges plasmatiques</b>	0	0,0	3	7,7	0,5437
<b>Autres traitements</b>	3	15,8	11	28,2	0,3495

**Tableau 6. Réponse au traitement**

	GPA (N=19)		MPA (N=39)		P-Value
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
<b>Réponse partielle</b>	0	0,0	6	15,4	0,1634
<b>Rechute</b>	2	10,5	4	10,3	>0,9999
<b>Rémission</b>	15	78,9	18	46,2	<b>0,0244 *</b>
<b>Réfractaire</b>	1	5,3	11	28,2	0,0806
<b>Décès</b>	1	5,3	0	0,0	0,3276



**Tableau 7. Caractéristiques des témoins**

	Témoins (N = 8)		
	Moyenne	ET	P-Value (comparé aux vascularites)
<b>Age</b>	40.3	8.9	<b>&lt; 0.0001 ****</b>
	Nombre	Pourcentage	
<b>Homme</b>	5	62.5	0.6731
<b>Femme</b>	3	37.5	0.6731

### 3.2 Comparaison des populations de MPA et de GPA

Les MPA sont plus âgées (66.2 vs 57.5 ans –  $p = 0.0074$ ) que les GPA, avec plus d'atteintes rénales (97.4 vs 73.7% –  $p = 0.0119$ ). A contrario, les GPA présentent plus d'atteintes neurologiques (47.4 vs 15.4% –  $p = 0.0226$ ), articulaires (57.9 vs 28.2% –  $p = 0.0436$ ), ORL (68.4 vs 33.3% –  $p = 0.0231$ ) et ophtalmologiques (21.1 vs 0% –  $p = 0.0091$ ). Le reste des éléments cliniques sont comparables.

Il y a significativement plus de vascularites classées EUVAS sévère dans le groupe MPA que dans le groupe GPA (41 vs 10.5% –  $p = 0.0322$ ). Assez logiquement, le FFS est aussi significativement plus élevé dans le groupe MPA par rapport au groupe GPA (1.3 vs 0.5 –  $p = 0.0009$ ). Le reste de la répartition des différentes catégories EUVAS, les scores BVAS et VDI sont similaires.

Comme attendu, les statuts ANCA sont significativement différents entre les 2 populations ( $p < 0.0001$ ).

Par ailleurs, sur le plan biologique, le taux moyen d'hémoglobine est significativement plus bas dans le groupe MPA par rapport au groupe GPA (10.3 vs 12.9 g/dL –  $p < 0.0001$ ), le DFG évalué par la formule MDRD plus bas (32.4 vs 67.9 mL/min/1.73m<sup>2</sup> –  $p < 0.0001$ ), le taux de créatinine plasmatique plus élevé (278.5 vs

138.6  $\mu\text{mol/L}$  –  $p = 0.0003$ ) et la protéinurie plus élevée (1.6 g/24h vs 0.5 g/24h –  $p = 0.0059$ ). Le reste des caractéristiques paracliniques est comparable.

Comme attendu puisque le portage chronique de *Staphylococcus aureus* a été démontré comme impliqué dans les rechutes de cette vascularite, les GPA recevaient statistiquement plus de Cotrimoxazole, que ce soit au cours de toute l'évolution de la maladie (57.9 vs 25.6% –  $p = 0.0221$ ) ou au moment où le dosage de s-CD95L a été effectué (42.1 vs 5.1% –  $p = 0.0011$ ). Par ailleurs, les GPA avaient reçus statistiquement plus de Methotrexate (21.1 vs 2.6% –  $p = 0.0355$ ) au cours de l'histoire de leur maladie, possiblement en raison de la présence plus fréquente d'une atteinte articulaire. Le reste des thérapeutiques reçues était comparable que ce soit au cours de l'évolution de la vascularite ou au moment du dosage de CD95 Ligand soluble.

Enfin, les réponses au traitement étaient similaires en dehors du pourcentage de rémission après traitement qui était significativement plus élevé dans le groupe GPA (78.9 vs 46.2% –  $p = 0.0244$ ).

### 3.3 Population témoin

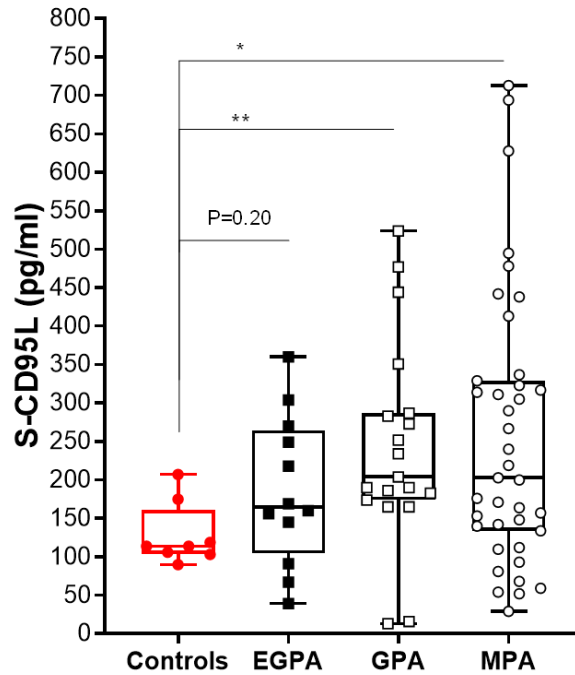
La population témoin consistait en 8 membres issus du labo de recherche : 5 hommes et 3 femmes, soit un sex-ratio comparable à celui des vascularites sans différence significative entre les vascularites et les témoins.

En revanche, en raison de la sélection d'une population témoin issu d'un laboratoire de recherche, celle-ci était significativement plus jeune (âge moyen 40.3 ans – ET 8.9) que celle des vascularites ( $p < 0.0001$ ).

### 3.4 CD95-Ligand soluble chez les vascularites à ANCA

Comme le montre la figure 2, le taux de CD95-Ligand soluble est significativement plus élevé chez les patients atteints de Polyangéite Microscopique (MPA) et de Granulomatose avec Polyangéite (GPA) par rapport aux témoins sains (respectivement,  $p = 0.0410$  pour les MPA et  $p = 0.0075$  pour les GPA).

En revanche, il n'existe pas de différence significative dans le taux de CD95-Ligand soluble chez les patients atteints d'EGPA, possiblement en raison d'une physiopathologie différente des MPA et des GPA et d'un trop faible nombre de prélèvements. Pour ces raisons, nous avons décidé de nous concentrer par la suite exclusivement sur les prélèvements de patients atteints de MPA ou de GPA.



**Figure 2. Taux de CD95-Ligand soluble chez les vascularites à ANCA**

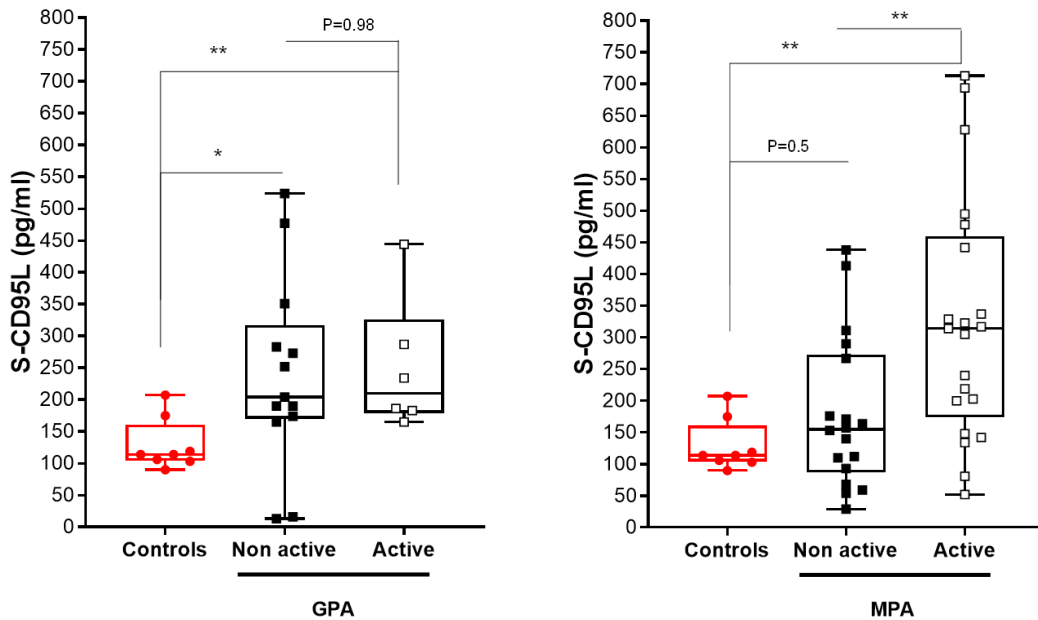
Analyse statistique : test de Mann-Whitney ; \* =  $p < 0.05$  ; \*\* =  $p < 0.01$

### 3.5 CD95-Ligand soluble chez les GPA et les MPA

Lorsque l'on divise les GPA et les MPA entre vascularite active et non active grâce au score d'activité BVAS 3.0, on constate, comme le montre la figure 3 :

- Une différence significative dans le taux de s-CD95L entre les GPA non actives et les témoins ( $p = 0.0349$ ) et entre les GPA active et les témoins ( $p = 0.0070$ ). Il n'y a en revanche pas de différence entre GPA active et non active.

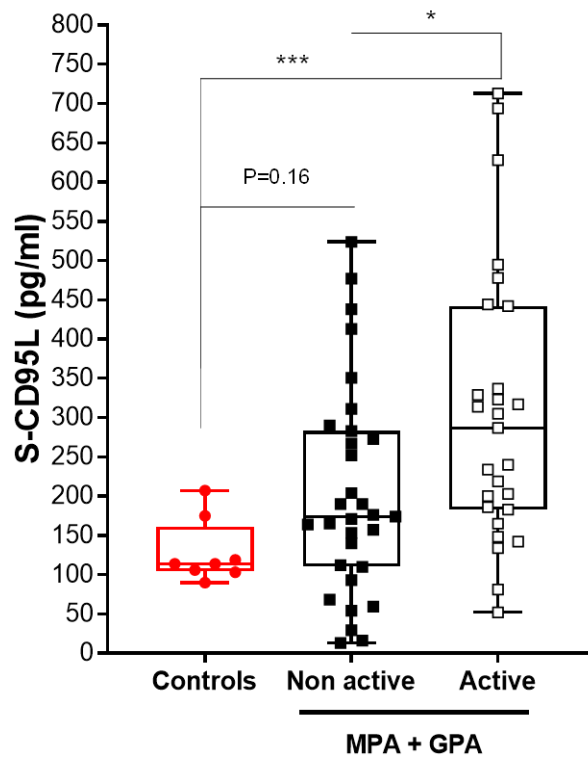
- Une différence significative dans le taux de s-CD95L entre les MPA non active et les active ( $p = 0.0074$ ) et entre les MPA active et les témoins ( $p = 0.0022$ ). Il n'y a en revanche pas de différence entre MPA non active et témoins.



**Figure 3. Taux de s-CD95L chez les GPA et MPA actives et non actives**

Analyse statistique : test de Mann-Whitney ; \* =  $p < 0.05$  ; \*\* =  $p < 0.01$

Lorsque l'on regroupe MPA et GPA, on constate une différence significative entre les vascularites actives et non actives ( $p = 0.0150$ ) et entre les vascularites actives et les témoins ( $p = 0.0009$ ). Il n'y a en revanche pas de différence entre vascularites non actives et témoins. Ces résultats sont représentés sur la figure 4.



**Figure 4. Taux de s-CD95L chez les GPA et MPA actives et non actives**

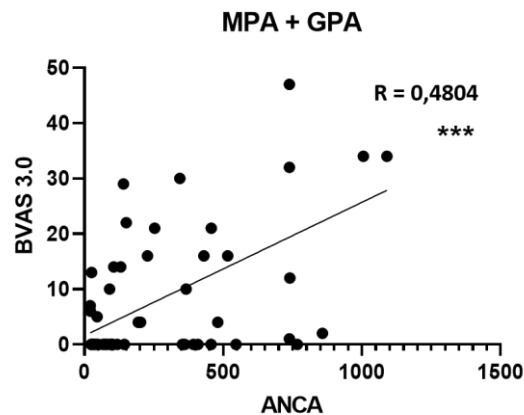
Analyse statistique : test de Mann-Whitney ; \* =  $p < 0.05$  ; \*\*\* =  $p < 0.001$

### 3.6 Corrélation CD95-L soluble et activité de la vascularite

Après avoir mis en évidence la présence d'un taux plus élevé de CD95-L soluble chez les MPA et les GPA et une différence entre les vascularites actives et non actives, nous avons voulu savoir si ce taux pouvait être prédictif de l'activité de la maladie et donc s'il existait une corrélation entre le taux de CD95-L soluble et l'activité de la vascularite évaluée par le score BVAS 3.0.

Nous avons commencé par vérifier si, à l'instar des données établies dans la littérature, l'activité des patients de notre population d'étude était bien corrélée au taux des ANCA.

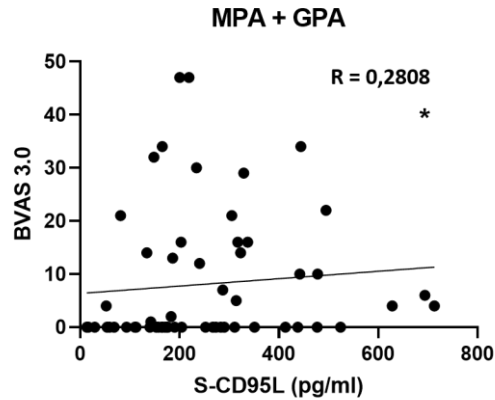
L'activité des GPA et MPA était corrélée positivement au taux d'ANCA de façon statistiquement significative ( $p = 0.0001$ ) comme représenté sur la figure 5.



**Figure 5. Corrélation entre ANCA et Activité de la vascularite (MPA et GPA) évaluée par le BVAS 3.0**

*Analyse statistique : Coefficient de corrélation de Spearman ; \*\*\* =  $p < 0.001$*

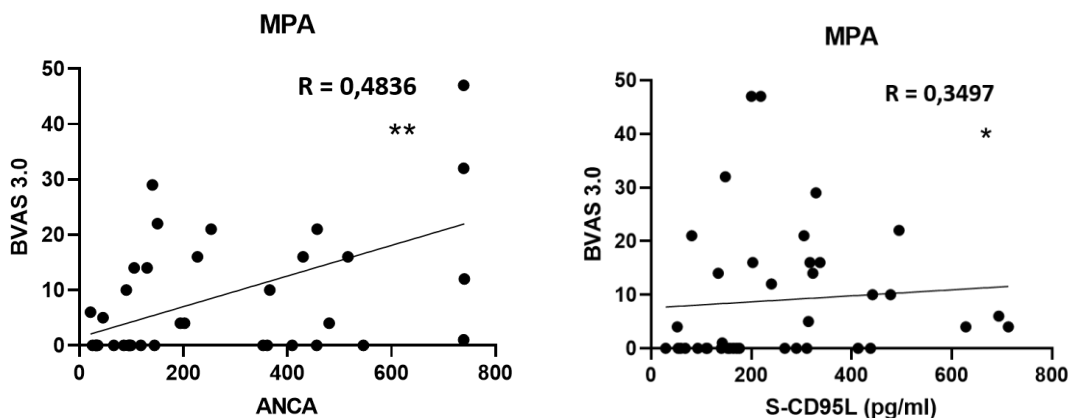
Concernant le critère de jugement principal, le taux de CD95-L soluble était corrélé positivement au BVAS de façon statistiquement significative ( $p = 0.0327$ ) comme représenté sur la figure 6.



**Figure 6. Corrélation entre S-CD95L et Activité de la vascularite (MPA et GPA) évaluée par le BVAS 3.0**

Analyse statistique : Coefficient de corrélation de Spearman ; \* =  $p < 0.05$

Lorsque l'on sépare les MPA et les GPA, la significativité n'est conservée que pour les MPA que ce soit pour le taux d'ANCA ( $p = 0.0018$ ) ou le taux de s-CD95L ( $p = 0.0291$ ), possiblement en raison d'un manque de puissance, résultat représenté sur la figure 7.



**Figure 7. Corrélation entre ANCA (gauche) ou S-CD95L (droite) et Activité de la MPA évaluée par le BVAS 3.0**

Analyse statistique : Coefficient de corrélation de Spearman ; \* =  $p < 0.05$  ; \*\* =  $p < 0.01$



## 4. Discussion

Le principal résultat de notre étude est de retrouver un taux de s-CD95L significativement plus élevé chez les MPA et les GPA par rapport aux témoins et une corrélation positive entre le taux de s-CD95L et l'activité de la vascularite évalué par le score BVAS 3.0.

Lorsque l'on sépare les populations entre MPA et GPA, on constate également pour les MPA une différence dans le taux de s-CD95L entre les MPA actives et non actives et une corrélation positive entre le s-CD95L et le BVAS 3.0. Cette différence entre vascularite active et non active n'est pas retrouvée chez les GPA, possiblement par manque de puissance.

La répartition entre les différentes vascularites était cohérente avec les données de la littérature avec une prédominance de MPA, suivi par les GPA et les EGPA. Les atteintes cliniques, caractéristiques biologiques, scores d'évaluation étaient conformes à celles retrouvées habituellement dans la littérature. La prise en charge thérapeutique des patients respectait le « standard of care » et était également conforme aux données et recommandations avec une majorité de patients traités par corticothérapie, Cyclophosphamide, Rituximab, Azathioprine, principales molécules actuellement proposés à ces patients.

Nous avons exclu peu de prélèvements de l'analyse (N = 9) et uniquement en raison de diagnostics incertains (N=3), d'un trop nombre de données manquantes (N=1) ou de la coexistence d'une autre pathologie inflammatoire avec des atteintes voisines

des vascularites (cryoglobulinémie associée pour 5 des prélèvements) qui n'aurait pas permis d'établir des scores d'évaluations fiables et représentatifs. Comme précisé précédemment, les EGPA étant peu représentées et cette pathologie étant plutôt médiée par les lymphocytes Th2 et les polynucléaires éosinophiles, ce qui n'est pas le cas des MPA et GPA, nous avons décidé de les exclure de la plupart des analyses.

Les MPA, les vascularites les plus proches d'un syndrome pneumo-rénal « pur », présentaient assez logiquement une prédominance d'atteintes rénales ce qui explique la différence statistiquement significative observée sur les paramètres biologiques rénaux : MDRD plus bas, créatinine plasmatique et protéinurie plus élevée. Il existait également une hémoglobine statistiquement plus basse dans le groupe MPA, probablement d'origine multifactorielle, secondaire à l'insuffisance rénale et/ou au syndrome inflammatoire biologique, sans qu'il soit possible de le déterminer précisément.

L'étude cas-témoins que nous avons réalisée, bien qu'elle dispose d'un certain nombre de biais inhérents à son design, est adaptée à l'étude des maladies rares, ce qui est le cas des vascularites à ANCA. Il s'agissait également d'une étude exploratoire préliminaire à un travail de recherche fondamentale, ce design était donc adapté à un premier travail consacré à la relation entre vascularite à ANCA et s-CD95L.

La principale limitation de notre étude est bien entendu son design rétrospectif monocentrique, ce qui inclut par essence un certain nombre de biais.

Il existe ainsi un biais de sélection en raison de l'inclusion uniquement des patients avec ANCA positifs dosés au CHU de Bordeaux, et qui ne sont donc que partiellement représentatifs de la population totale des vascularites à ANCA. En effet,

cela n'inclut pas les vascularites ANCA négatives ou dont les ANCA ont été négativés par la prise en charge thérapeutique. Ceci est à nuancer toutefois car les vascularites sont des pathologies rares, en général prises en charge en centre de référence, et on peut penser que la grande majorité de ces patients sont pris en charge en CHU, ce qui tend à être confirmé par le fait que seul 3 sérums provenaient d'hôpitaux périphériques de la région (Dax et Bayonne).

La présence d'un certain nombre de données manquantes dans les données biologiques a potentiellement pu impacter les scores d'activité et donc en partie les résultats de l'étude sur le critère de jugement principal mais probablement plutôt dans le sens d'une diminution du BVAS que d'une augmentation. Ceci est peu problématique car l'étude atteint la significativité statistique pour la corrélation entre BVAS et s-CD95L malgré une éventuelle sous-estimation de l'activité de la vascularite.

La population témoin était constituée de femmes et d'hommes issus du laboratoire de recherche. Ces témoins étaient comparables aux vascularites en terme de sexe mais significativement plus jeune que les patients, ce qui est peu surprenant compte tenu d'une prédominance des plus de 60 ans chez les patients et de témoins issus de la population active. Le choix des témoins était guidé par leur disponibilité au moment de l'étude et les résultats seront à valider sur une population strictement comparable aux patients en termes de caractéristiques démographiques.

Compte tenu du caractère exploratoire de l'étude, nous disposions d'un effectif réduit et certains sérums provenaient des mêmes patients à des moments différents de leur suivi. Il a été décidé d'analyser chaque prélèvement comme un patient indépendant afin de disposer de suffisamment de prélèvements et de puissance pour pouvoir réaliser

une inférence. Toutefois cette façon de procéder ne permet pas de s'affranchir d'une possible variabilité intra-individuelle. Nous avons envisagé d'utiliser un modèle mixte pour l'analyse statistique afin de prendre en compte cette variabilité mais cela a été impossible car nous ne disposions pas de plusieurs prélèvements pour chaque patient.

## 5. Conclusion

Au total, le s-CD95L est donc plus élevé chez les patients atteints de MPA et GPA et corrèle avec l'activité de la vascularite évaluée par le BVAS 3.0. Ces premiers éléments sont en faveur d'un rôle physiopathologique du s-CD95L dans les vascularites à ANCA et ce paramètre pourrait potentiellement être un biomarqueur utile dans ces pathologies.

## 6. Perspectives

De façon intéressante, notre équipe a démontré en collaboration avec une équipe de Rennes que le s-CD95L était impliqué dans la migration des lymphocytes Th17 via un mécanisme S1P dépendant dans le rein d'un modèle murin de lupus (40) et que ce s-CD95L pouvait être inhibé par un inhibiteur de protéases habituellement utilisé dans le HIV, le Ritonavir (44). Or la migration des Th17 semble également être soutenue par un mécanisme S1P dépendant dans un modèle murin de vascularites (41).

Ces éléments, combinés au résultat de ce travail, nous ont donc poussés à explorer le rôle du s-CD95L dans la physiopathologie des vascularites à ANCA, afin de valider ces résultats de façon prospective dans une plus grande cohorte de patients et d'étudier son rôle dans la genèse de la maladie, *in vitro* et *in vivo* sur modèle murin.

C'est la raison pour laquelle nous avons débuté un projet de recherche translationnelle prospectif, le projet VASC-FAS (Clinical Trials : NCT03698071) qui sera prochainement soumis pour publication.

Enfin, compte tenu de l'action démontrée par le Ritonavir sur le s-CD95L, il nous paraissait intéressant d'explorer les mécanismes immunologiques qui pourraient expliquer cette action anti-inflammatoire et les possibilités de repositionnement de ces thérapeutiques antivirales dans les maladies inflammatoires et auto-immunes.

Nous avons donc réalisé une revue de la littérature consacrée à ce sujet, revue qui a été publiée sous forme de lettre à l'éditeur dans *Autoimmunity Reviews* en 2019 (45) et dont la version longue en anglais se trouve à la suite de ce manuscrit.

## 7. Revue de la littérature : les anti-protéases du HIV pour le traitement des maladies inflammatoires

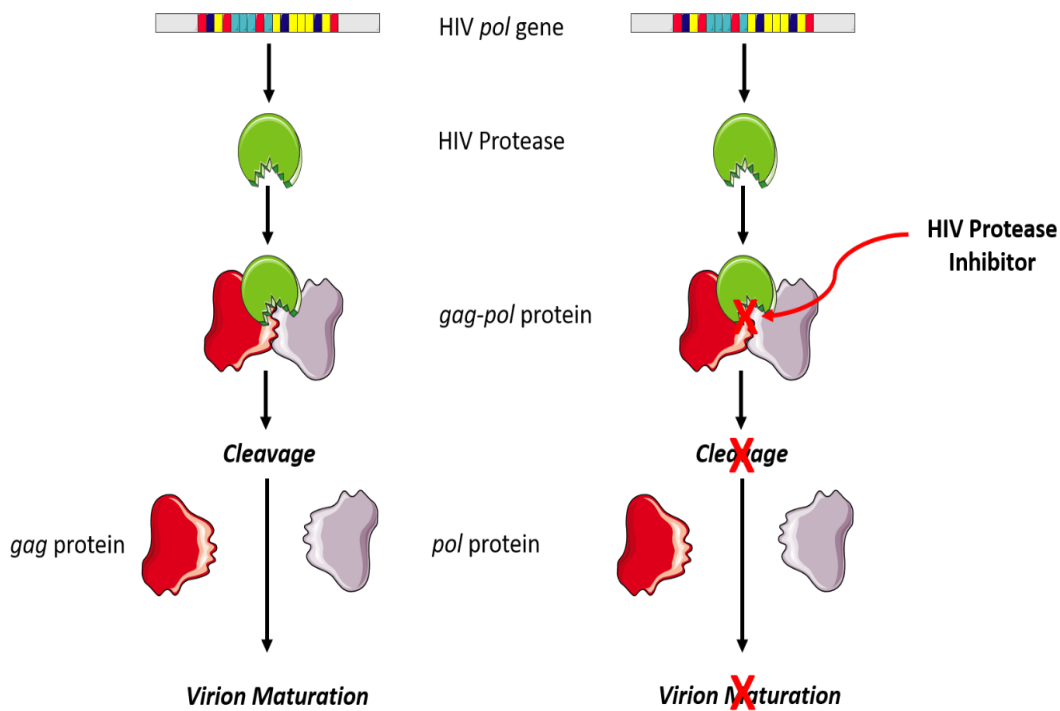
### 7.1 Proteases and protease inhibitors

Proteases are proteolytic enzymes widely expressed in the living world, from bacteria and viruses to humans, where they represent about 2% of the human genome (46,47). They play an essential role in the regulation of physiological functions through the activation, the destruction and the synthesis of proteins (48). Moreover, they have been involved in various pathological mechanisms such as infections, cancers, cardiovascular diseases, neurodegenerative or immunological disorders (49).

Protease inhibitors have been developed in a wide range of therapeutics, encountering a considerable success for the management of atrial fibrillation (dabigatran, thrombin inhibitor (50)), hypertension and chronic kidney disease (Benazepril, angiotensine convertase inhibitors (51)), or for the treatment of multiple myeloma (bortezomib, proteasome inhibitor (52)).

However, the most striking success was the FDA approval of Saquinavir in 1995, which was the first protease inhibitor for the management of HIV infection, quickly followed by Ritonavir in 1996. Associated with non-nucleoside and nucleoside reverse transcriptase inhibitors, it initiated the era of highly active antiretroviral therapy (HAART). This led to a massive reduction of the mortality of the pandemic, contributing to transform HIV infection into a chronic disease (53,54).

HIV protease is a 99 amino-acid protein expressed by the *pol* gene of the HIV virus. It is required to cleave the gag and pol polyproteins, which is a crucial step for the maturation of virions. HIV protease inhibitors prevent this cleavage and therefore impair the maturation of newly born virions (55,56) (Figure 8).



**Figure 8. HIV Protease and HIV Protease Inhibitors mechanism of action**

HIV protease inhibitors are divided into three generations of molecules, based on their date of approval, resistance, safety and efficacy profiles (47). Ritonavir, Saquinavir, Indinavir and Nelfinavir represent the first generation. The second includes Lopinavir, Fosamprenavir and Atazanavir. Finally, the third generation encompasses Tipranavir and Darunavir (57) (Annex 3).



After the initiation of HAART, unexpected side-effects have been noticed including the improvement of Kaposi's sarcoma, which is an angioproliferative disease often affecting HIV positive patients (58–60). These observations encourage many authors to investigate non-antiviral effects of HAART, including HIV protease inhibitors. Moreover, following studies highlighted additional properties of HIV protease inhibitors, such as preventing inflammation, angiogenesis and tumor growth (61,62). The present review focuses on HIV protease inhibitors in the regulation of immunological mechanisms (Figure 9) and their potential applications in the field of autoimmune and inflammatory diseases (Figure 10).

## 7.2 Immunological mechanisms of HIV protease inhibitors

### Impact on T lymphocytes

In HIV patients, HIV protease inhibitors are able to restore CD4+ and CD8+ T lymphocytes count (63), mainly by inhibiting the HIV-driven apoptotic process (64,65) but these drugs can also impair their proliferative response (66). Moreover, HAART containing a HIV Protease Inhibitor improve neutrophil and monocyte functions (67) and Indinavir has been shown to reduce transendothelial migration of dendritic cells in HIV patients (68).

Interestingly, Ritonavir improved survival of CD4+ T lymphocytes, even in HIV uninfected cells (64,69). This observation relies on the stabilization of the mitochondrial hyperpolarization state by HIV protease inhibitors. Indeed, the mitochondria is known to play a crucial role in CD4 T cells apoptosis: when those lymphocytes are activated, the

mitochondrial membrane is hyperpolarized and this hyperpolarization contributes to the extracellular membrane permeabilization releasing apoptotic factors such as cytochrome C, smac/diablo, required for the induction of apoptotic signaling pathways in the presence of stress inducers including FasL or oxidative stress. Matarrase *et al.* have shown that HIV protease inhibitors have the ability to prevent Fas-induced apoptosis in activated lymphocytes from healthy donor by stabilizing the mitochondria membrane potential and reduce the production of reactive oxygen intermediate. This apoptosis inhibition is caused by the downregulation of caspase-9 and -3 activity preventing the downstream cleavage of PARP (70).

#### Anti-inflammatory effects

Alongside with these specific effects on T cell survival, HIV protease inhibitors seem also able to reduce the pro-inflammatory cytokine environment. These treatments decrease the production of IL2, IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$  from PMA-Ionomycin activated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy subjects through a molecular mechanism that remains to be elucidated (71).

Saquinavir inhibits the production of proinflammatory cytokines (*i.e.*, IL6, IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ) and potentiate IL10 secretion in the serum and the lung in a mice model of lung injury, suggesting its immunoregulatory potential (72). Yu *et al.* demonstrated that TLR4 and HMGB1 were decreased in HIV protease inhibitor-treated mice engendering a reduction of the MAPK signaling pathway (followed by p38 and JNK phosphorylation) triggered by TLR4 (72). HMGB-1 is a nuclear DNA-binding protein that regulates

transcription and DNA organization. Released by apoptotic or necrotic dying cells, HMGB-1 acts as a Damage Associated Molecular Pattern (DAMP), or alarmin, by activating TLR2 and TLR4 signaling and thus triggering inflammatory cytokine production. HMGB-1 also allows self-DNA recognition by TLR9 (73,74). The accumulation of HMGB-1 has been involved in various autoimmune diseases including Systemic Sclerosis (SSc), Rheumatoid arthritis (RA), Polymyositis (PM), Dermatomyositis (DM) and Systemic Lupus Erythematosus (SLE) (74). In RA, serum, synovial liquid and tissue levels of HMGB-1 were shown to be significantly elevated in patients due to hypoxia or pro-inflammatory factors such as TNF $\alpha$  or IL1 $\beta$  and decreased after topical injection in joints of glucocorticoids (75–78). Interestingly, HMGB-1 is capable of inducing destructive arthritis after injection in the joint by promoting IL1 production by macrophages (79). HMGB-1 levels were also shown to be increased in dermis of SLE patients after photoinduced lesions (80) and SLE serum, probably after keratinocytes or T cells death (81,82), as well as in DM and PM muscles (83). Corticosteroid treatment of patients with these inflammatory myositis leads to clinical improvement in association with decreasing in HMGB-1 levels. More interestingly, in SLE patients, disease activity correlates to HMGB-1 levels and injection of HMGB-1 and nucleosome complexes into mice leads to the generation of anti-double stranded DNA autoantibodies, which greatly contributes to SLE pathogenesis. HMGB-1 is also increased in serums of SSc patients. High levels of this DAMP are associated with severe form of the disease meaning high modified Rodnan skin score, diffuse cutaneous forms, pulmonary, heart, kidney and articular involvement (84). Moreover, platelets microparticles, which have recently been implicated in the physiopathology of SSc (85), contain HMGB-1.

By inhibiting the HMGB-1 expression, Saquinavir could therefore represent an interesting inhibitor of the DAMP-mediated inflammation, which is of particular interest for management of inflammatory diseases. Nonetheless, it remains to decipher how this HIV-protease inhibitor modulate the mRNA expression level of this inflammatory factor.

Studies have also demonstrated that the HIV protease inhibitor-induced anti-inflammatory effect could be mediated through the interaction between HIV protease inhibitor and a cellular protease, Cathepsin V, which prevent the activation of the TLR4/MyD88 pathway by inhibiting the TLR4-MyD88 receptor complex (86,87).

#### Anti-angiogenic and anti-tumor effects

HIV protease inhibitors have been reported to block NF $\kappa$ B activation induced by TLR2 and TLR4 activation in human endothelial cells (88). Ritonavir impairs the proliferation of endothelial cells, favors the apoptosis of Kaposi's sarcoma cells, and reduces the production of pro-inflammatory cytokines, such as TNF $\alpha$ , IL6, IL8 through the inhibition of the NF $\kappa$ B pathway (89,90). Moreover, in Kaposi's Sarcoma, Saquinavir and Indinavir inhibit bFGF and VEGF-induced angiogenesis by impairing the migration of endothelial cells into the perivascular space. These drugs can also abrogate matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) proteolytic activation by blocking its conversion to its active form (60). The MMP-2 over-expression is triggered by endothelial cells in the presence of angiogenic factors such as FGF, and is known to degrade basement membrane of blood vessels, promoting the migration of endothelial cells and the formation of neo-vessels. By blocking endothelial cells migration and MMP-2 activation,

HIV protease inhibitors impair neo-angiogenesis but the molecular target involved in these processes remain to be elucidated.

In addition to these anti-angiogenic effects, HIV protease inhibitors are of particular interest in the field of cancer. Indeed, constitutive activation of the PI3K/Akt pathway is involved in carcinogenesis, particularly for metastatic dissemination of cancer cells (91) and Nelfinavir possesses the ability to inhibit growth factor receptor activation (IGFR and EGFR) leading to PI3K/Akt inhibition (92,93). It also induce ER stress which leads to global inhibition of protein synthesis (92,93). Interestingly, it also reduces the inflammation by inhibiting MAPK signaling in macrophages and by activating protein phosphatase 2 (94). These data suggest that HIV protease inhibitors could represent possible antitumor agents that could be combined with conventional therapies to prevent angiogenesis and/or limit metastasis occurrence.

The proteasome consists of the classic- and the immuno-proteasome with three different proteases in the classic proteasome coined  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 and  $\beta$ 5 replaced in the immunoproteasome LMP-2, MECL-1, and LMP-7, respectively when cells are stressed (95). The immunoproteasome is expressed in hematopoietic cells and *de novo* synthesized in the rest of cells upon various stresses, notably to stimulate antigen presentation. Indeed, the immunoproteasome has been involved in various phenomenon including antigen processing for presentation within class I MHC, production of inflammatory cytokines, NF $\kappa$ B activation (96). Consequently, proteasome inhibitors, such as Bortezomib, became among the leading molecules in the therapy of some hematological malignancies such as Multiple Myeloma (97). HIV protease inhibitors dampen the cytotoxic activity of T lymphocytes by modulating the

immunoproteasome chymotrypsin-like activity and impairing the epitope presentation by MHC I molecules, both in mice infected by lymphocytic choriomeningitis virus (98), and in human cells (99–101). These drugs also inhibit proliferation and induce apoptosis in several human cancer cell lines and in murine tumor model, through the inhibition of the proteasome activity but the exact mechanism is unknown (100).

The ability of HIV protease inhibitors to down-modulate the immuno-proteasome activity seems to be a very promising therapeutic option to treat patients affected by auto-immunity. Indeed, immunoproteasome have been involved in the progression of various autoimmune diseases, such as Systemic Lupus Erythematosus, Rheumatoid Arthritis, or Multiple Sclerosis where its blockage alleviates animal models symptoms (102).

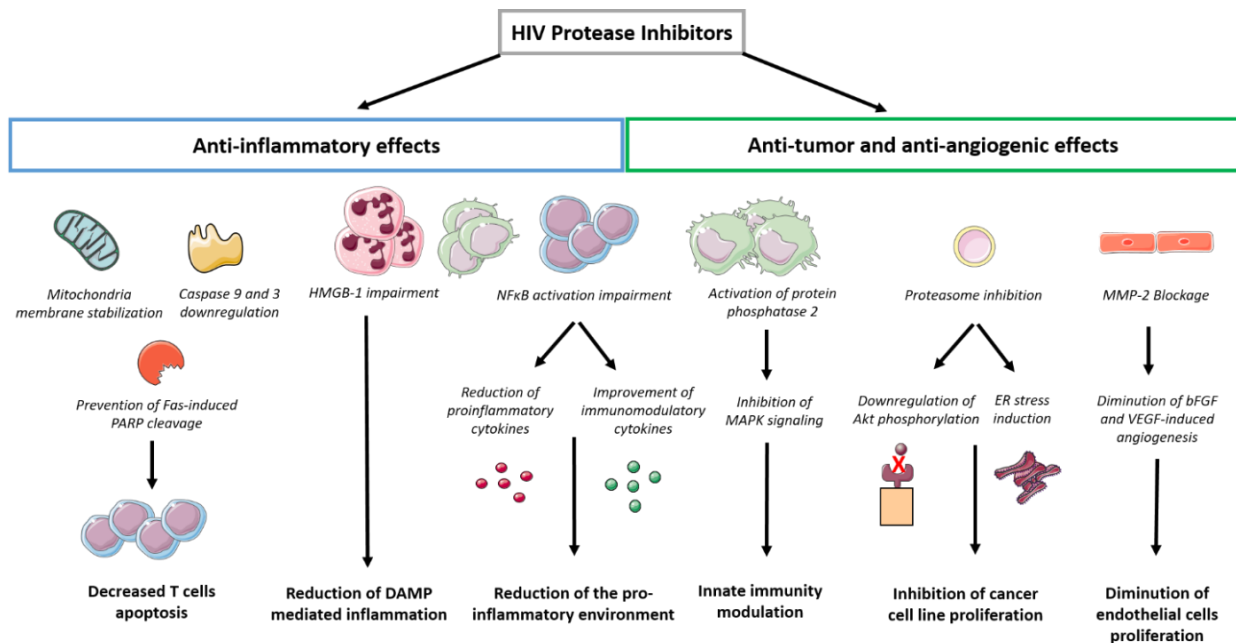
#### Adverse effects

Despite these interesting “off-target effects”, treatment with HIV protease inhibitors are associated with premature atherosclerosis (103,104). Macrophages are the most abundant cell type present in these lesions and have been shown to play major roles in the pathology progression. Treatment of macrophages with HIV protease inhibitors could trigger TNF $\alpha$  and IL6 production, favoring chronic inflammation. Mechanistically, HIV protease inhibitors can enhance the binding of the RNA binding protein HuR to the 3'-UTRs region of TNF $\alpha$  and IL6 mRNA and therefore stabilize them (105). HIV protease inhibitor can also induce endoplasmic reticulum stress in

macrophages and activate the unfolded protein response through the PERK signaling pathway, leading notably to proinflammatory chemokine secretion (106,107).

Moreover, Ritonavir, Atazanavir and Lopinavir stimulate ICAM-1 expression on human endothelial cells and the adhesion of monocytes to the vascular endothelium could also aggravate atherosclerosis (108). Finally, in mice, Ritonavir induce cardiac fibrosis partially through the synthesis of TGF $\beta$  by platelets (109).

These results implement the knowledge regarding tolerance and adverse effects of HIV protease inhibitors. Nevertheless, the safety and pharmacokinetic profiles of these FDA-approved molecules are already established, which position them as good candidate for other therapeutics applications.



**Figure 9. HIV Protease Inhibitors non-antiviral properties**

### 7.3 Potential therapeutic applications in non-infectious diseases

Autoimmunity, and more generally, chronic inflammatory diseases are becoming one of the major cause of death around the world. Because HIV protease inhibitors have known impact on the immune system, repositioning these drugs for new clinical indications including inflammatory diseases seems of particular interest.

#### Systemic Lupus Erythematosus (SLE)

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease characterized by loss of tolerance to nuclear components, production of autoantibodies, immune complex formation and deposition, ultimately leading to organ damages (110). It has been observed that HIV positive SLE patients under HAART exhibit lower disease activity as compared to untreated SLE patient cohorts (111). Of note, only one targeted therapy has been approved by FDA (*i.e.*, anti-BAFF mAbs such as Belimumab) for SLE patients in the last 50 years and this treatment shows limited therapeutic effect rendering the development of targeted therapy urgent for this pathology.

Our team has recently established that Ritonavir inhibit the inflammatory signaling pathway induced by FasL (also known as CD95L) (112). CD95 (Fas/APO-1/TNFRSF6) is a transmembrane receptor that belongs to the tumor necrosis factor receptor (TNF-R) family (113). Its cognate ligand, CD95L, is a transmembrane glycoprotein mainly expressed by activated T lymphocytes and NK cells or in chronic inflammatory disorders



such as SLE by endothelial cells covering the blood vessel in the inflamed organs (40). This membrane-bound ligand acts locally through cell-to-cell contact to kill infected and transformed cells (114). The extracellular domain of human CD95L can be cleaved by metalloproteases (115), releasing a soluble CD95L (s-CD95L) into the bloodstream. Unlike membrane-bound CD95L (m-CD95L), s-CD95L fails to trigger cell death but instead contributes to aggravating inflammation in chronic inflammatory disorders such as SLE (116,117) and cancers (118–121) by inducing non-apoptotic signaling pathways including MAPK (122), NFκB (123) and PI3K (117).

CD95 harbors an intracellular conserved amino-acid stretch called death domain (DD), which serves as a docking platform to trigger cell death. Upon binding of m-CD95L, CD95 leads to the recruitment of the adaptor protein Fas Associated Death Domain (FADD) through homotypic interactions via their respective DD. FADD in turn aggregates the initiator caspase-8 and caspase-10. The CD95/FADD/caspase complex is called death-inducing signaling complex (DISC) (124) and leads to the elimination of cancer cells through an apoptotic mechanism. Conversely, s-CD95L fails to induce cell death but triggers the formation of a non-apoptotic complex termed motility-inducing signaling complex (MISC) implementing a  $Ca^{2+}$  response, which inhibits DISC formation and promotes migration of cancer cells (117–119). To trigger the MISC, CD95 recruits PLCγ1 via an intracellular domain different from its DD that we designated CID for calcium-inducing domain. We observed that the inflammatory Th17 cells bathed with s-CD95L undergo an intracellular calcium signal promoting their trans-endothelial migration and their accumulation into the inflamed tissues of SLE patients through a sphingosine 1 Phosphate (S1P) dependent pathway (40). Modeling analyses revealed

that Ritonavir structure is similar to that of the CID peptide bound to PLC $\gamma$ 1 and its incubation with Th17 cells prevented the implementation of the s-CD95-mediated inflammatory signal by preventing recruitment of PLC $\gamma$ 1 by CD95. To reach this conclusion, we initially developed a protein-fragment complementation assay (PCA) monitoring the PLC $\gamma$ 1/CD95 interaction and performed a large-scale screen to identify drugs that disrupt this interaction. This approach identified the HIV protease inhibitor ritonavir as a potent disruptor of the CD95/PLC $\gamma$ 1 interaction exhibiting no effect on the CD95/FADD interaction responsible for the induction of the apoptotic pathway and which is instrumental in immune homeostasis, a cellular process that you do not want to disturb in auto-immune disorders. Interestingly, administration of Ritonavir in lupus-prone MRL<sup>Lpr/+</sup> mice dramatically improved the architecture (reduced mesangial proliferation, Bowman's capsule rupture and C3 deposition in kidney) and the filtration function of kidneys as compared to control-treated mice(44). Interestingly, HIV protease inhibitors are also able to prevent the binding of anti-DNA antibodies to their target antigen in NZB/W F1 mice (125) and could improve SLE pathogenesis *in vivo* through additional mechanisms rendering very attractive its clinical use for SLE patients. It remains to discuss if this treatment should be proposed to all SLE patients or to those exhibiting higher serum concentrations of s-CD95L.

### Systemic Sclerosis (SSc)

Systemic sclerosis is a rare autoimmune disease characterized by microangiopathy accompanied by fibrosis of the skin and internal organs (126).

Sanchez *et al.* showed that Nelfinavir prevents fibroblast differentiation into myofibroblasts in normal skin, lung and heart and in systemic sclerosis lung, through the inhibition of the canonical TGF- $\beta$  pathway (attenuation of Smad3 expression and Smad2/3 phosphorylation) in a dose-dependent manner. Moreover, it increases autophagic degradation of type I collagen in fibroblast by inhibiting the mTOR pathway and reduces lung fibrosis in an animal model of Systemic sclerosis (127).

Li and colleagues proposed a pilot study for the use of HIV protease inhibitors in Idiopathic Pulmonary Hypertension because of the implication of HMBG-1 in this pathology and the known impact of HIV protease inhibitors on this DAMP (128). Interestingly, pulmonary hypertension is one of the clinical hallmarks of SSc, responsible for the morbidity, and HMGB-1 is implicated in the physiopathology of the disease, as aforementioned.

This could be a new way towards anti-fibrotic drugs for a disease without any treatment capable to address the debilitating clinical outcomes, but the scarce data on the role of HIV protease inhibitors in SSc warrants further investigation to establish their potential therapeutic value in this pathology.

## Multiple Sclerosis

Multiple sclerosis is an inflammatory disease affecting the central nervous system (CNS) (129). It has been demonstrated that HIV positive patients have a significantly lower risk of suffering from Multiple Sclerosis compared to matched uninfected controls, which could be due either to HIV-driven immunosuppression or treatment-dependent

adverse effect (130). It has therefore been hypothesized that anti-retroviral treatment may contribute to this unusual low MS incidence in HIV positive patients.

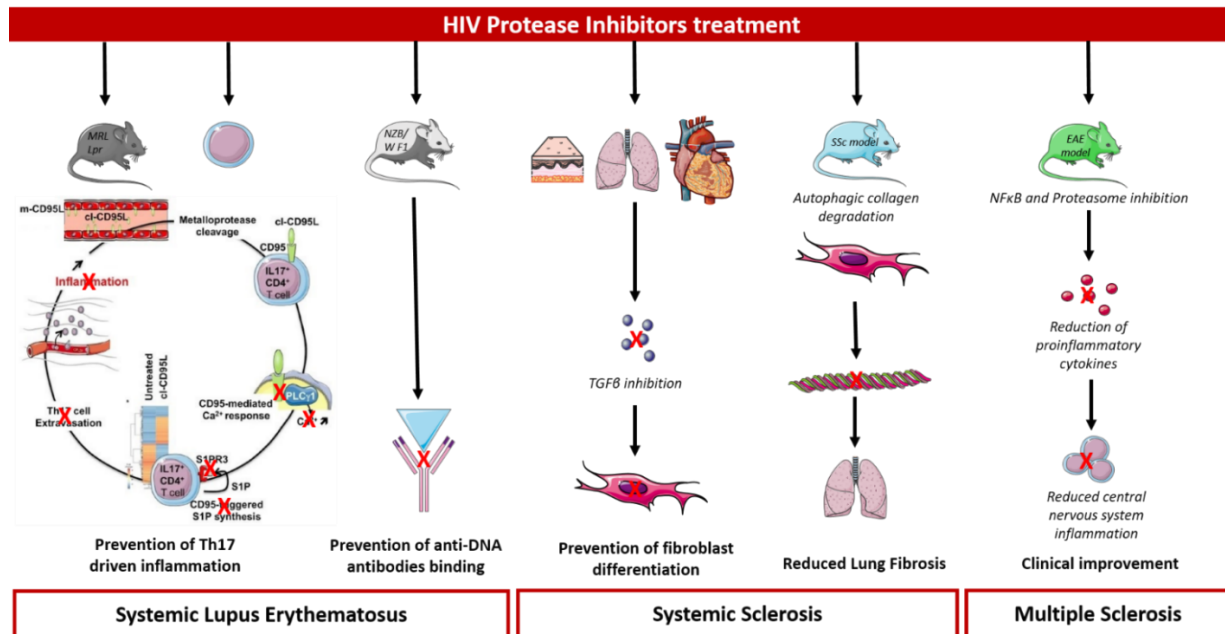
Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) is the commonly used mouse model for studying Multiple Sclerosis. Hosseini *et al.* demonstrated that daily administration of Ritonavir in different EAE mouse models prevents central nervous system infiltration of mononuclear cells and clinical symptoms (131). Central nervous system inflammation was reduced as reflected by the decreased expression in IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$  and TNF $\alpha$  mRNA levels in Ritonavir-treated mice as compared to vehicle-treated counterparts. Ritonavir also prevented adoptive EAE transfer in which T-lymphocytes of EAE mice were injected to EAE-free SJL mice suggesting that Ritonavir could prevent central nervous system invasion by pathogenic T cells.

However, the more important part of the Ritonavir-driven therapeutic effect on EAE is likely due to its inhibition of the NF $\kappa$ B pathway, leading to downregulation of pro-inflammatory cytokines such as IL1 $\alpha$  or IL1 $\beta$ . It is also possible that modulation of the proteasome activity prevents antigen presentation of some CNS epitopes.

Th17 cells are an important cellular subtype whose accumulation is implicated in MS pathophysiology (129) and Th17 cells and related cytokines are elevated in MS patients (132). Because, disrupting the CD95–PLC $\gamma$ 1 interaction with Ritonavir prevents Th17-driven inflammation in SLE, exploring the therapeutic effect of CD95L and HIV protease inhibitor in MS warrants further study.

## Psoriasis

Psoriasis is a chronic inflammatory disease of the skin affecting 2-3% of the worldwide population (133). Several case reports and one clinical trial showed improvement of psoriasis scores when patients newly infected with HIV where treated with antiviral regimen and several of this cases involved a HAART including protease inhibitors (134–142). Psoriasis is a Th17-driven disease, and as aforementioned, because Ritonavir blocks s-CD95L-driven Th17 migration to inflamed skin, this family of drugs might alleviate psoriasis development through this mechanism. This hypothesis has to be further explored in animal models of psoriasis.



**Figure 10. HIV Protease Inhibitors potential applications for autoimmunity**

## 7.4 Conclusion and perspectives for HIV Protease Inhibitors in inflammatory diseases

Repositioning FDA and EMA-approved drugs for new therapeutic indications seems a very promising way to address the constant need for better patient care and less expansive medications.

HIV protease inhibitors are able to interact with the immune system independently from their specific antiviral action by impairing apoptosis of T cells, reducing DAMP mediated inflammation, inhibiting the immunoproteasome and preventing neo-angiogenesis. These “off-target effects” are very attractive to envision this treatment for the management of various inflammatory diseases such as Systemic Lupus Erythematosus, Systemic Sclerosis, Multiple Sclerosis, or Psoriasis.

Because of this wide range of new therapeutic actions, it seems of particular interest to further investigate more deeply these treatments for inflammatory diseases and, perhaps, opening a new way towards effective therapies for these patients.

## Références

1. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013 Jan;65(1):1–11.
2. Zeek PM. Periarteritis Nodosa: A Critical Review. *Am J Clin Pathol.* 1952 Aug 1;22(8):777–90.
3. Leavitt RY, Fauci AS, Bloch DA, Michel BA, Hunder GG, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum.* 2010 Aug 17;33(8):1101–7.
4. Lightfoot RW, Michel BA, Bloch DA, Hunder GG, Zvaifler NJ, McShane DJ, et al. The American college of rheumatology 1990 criteria for the classification of polyarteritis nodosa. *Arthritis Rheum.* 2010 Aug 17;33(8):1088–93.
5. Masi AT, Hunder GG, Lie JT, Michel BA, Bloch DA, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Churg-Strauss syndrome (allergic granulomatosis and angiitis). *Arthritis Rheum.* 2010 Aug 17;33(8):1094–100.
6. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al. Nomenclature of Systemic Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 1994 Feb;37(2):187–92.
7. Watts RA, Robson J. Introduction, epidemiology and classification of vasculitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018 Feb;32(1):3–20.
8. Yates M, Watts R. ANCA-associated vasculitis. *Clin Med.* 2017 Feb;17(1):60–4.
9. Yates M, Watts RA, Bajema IM, Cid MC, Crestani B, Hauser T, et al. EULAR/ERA-EDTA recommendations for the management of ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2016 Sep;75(9):1583–94.
10. Cornec D, Gall EC-L, Fervenza FC, Specks U. ANCA-associated vasculitis — clinical utility of using ANCA specificity to classify patients. *Nat Rev Rheumatol.* 2016 Oct;12(10):570–9.
11. Mukhtyar C, Lee R, Brown D, Carruthers D, Dasgupta B, Dubey S, et al. Modification and validation of the Birmingham Vasculitis Activity Score (version 3). *Ann Rheum Dis.* 2009 Dec 1;68(12):1827–32.
12. Stone JH, Hoffman GS, Merkel PA, Min YI, Uhlfelder ML, Hellmann DB, et al. A disease-specific activity index for Wegener's granulomatosis: modification of the Birmingham Vasculitis Activity Score. International Network for the Study of the Systemic Vasculitides (INSSYS). *Arthritis Rheum.* 2001 Apr;44(4):912–20.
13. Gayraud M, Guillevin L, Le Toumelin P, Cohen P, Lhote F, Casassus P, et al. Long-term followup of polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, and Churg-Strauss syndrome:

- analysis of four prospective trials including 278 patients. *Arthritis Rheum.* 2001 Mar;44(3):666–75.
14. Hellmich B, Flossmann O, Gross WL, Bacon P, Willem Cohen-Tervaert J, Guillevin L, et al. EULAR recommendations for conducting clinical studies and/or clinical trials in systemic vasculitis: focus on anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2007 May 1;66(5):605–17.
  15. Guillevin L, Lhote F, Gayraud M, Cohen P, Jarrousse B, Lortholary O, et al. Prognostic Factors in Polyarteritis Nodosa and Churg-Strauss Syndrome A Prospective Study in 342 Patients: *Medicine (Baltimore).* 1996 Jan;75(1):17–28.
  16. Guillevin L, Pagnoux C, Seror R, Mahr A, Mouthon L, Toumelin PL. The Five-Factor Score Revisited: Assessment of Prognoses of Systemic Necrotizing Vasculitides Based on the French Vasculitis Study Group (FVSG) Cohort. *Medicine (Baltimore).* 2011 Jan;90(1):19–27.
  17. Exley AR, Bacon PA, Luqmani RA, Kitis GD, Gordon C, Savage COS, et al. Development and initial validation of the vasculitis damage index for the standardized clinical assessment of damage in the systemic vasculitides. *Arthritis Rheum.* 1997 Feb;40(2):371–80.
  18. Guillevin L, Pagnoux C, Karras A, Khouatra C, Aumaitre O, Cohen P, et al. Rituximab versus Azathioprine for Maintenance in ANCA-Associated Vasculitis. *N Engl J Med.* 2014 Nov 6;371(19):1771–80.
  19. Charles P, Terrier B, Perrodeau É, Cohen P, Faguer S, Huart A, et al. Comparison of individually tailored versus fixed-schedule rituximab regimen to maintain ANCA-associated vasculitis remission: results of a multicentre, randomised controlled, phase III trial (MAINRITSAN2). *Ann Rheum Dis.* 2018;77(8):1143–9.
  20. Tan JA, Dehghan N, Chen W, Xie H, Esdaile JM, Avina-Zubieta JA. Mortality in ANCA-associated vasculitis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis.* 2017 Sep;76(9):1566–74.
  21. Rahmattulla C, Mooyaart AL, van Hooven D, Schoones JW, Buijn JA, Dekkers OM, et al. Genetic variants in ANCA-associated vasculitis: a meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2016 Sep;75(9):1687–92.
  22. Gómez-Puerta JA, Gedmintas L, Costenbader KH. The association between silica exposure and development of ANCA-associated vasculitis: Systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2013 Oct;12(12):1129–35.
  23. Stegeman CA. Association of Chronic Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Higher Relapse Rates in Wegener Granulomatosis. *Ann Intern Med.* 1994 Jan 1;120(1):12.
  24. Abe J, Ito Y, Onimaru M, Kohsaka T, Takeda T. Characterization and Distribution of a New Enterotoxin-Related Superantigen Produced by *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Immunol.* 2000 Feb;44(2):79–88.
  25. Pakbaz Z, Sahraian MA, Noorbakhsh F, Salami SA, Pourmand MR. Staphylococcal enterotoxin B increased severity of experimental model of multiple sclerosis. *Microb Pathog.* 2020 May;142:104064.



26. Popa ER, Stegeman CA, Bos NA, Kallenberg CGM, Tervaert JWC. Staphylococcal superantigens and T cell expansions in Wegener's granulomatosis: Staphylococcal SAg and T cell expansions in WG. *Clin Exp Immunol*. 2003 Jun;132(3):496–504.
27. Kitching AR, Anders H-J, Basu N, Brouwer E, Gordon J, Jayne DR, et al. ANCA-associated vasculitis. *Nat Rev Dis Primer*. 2020 Dec;6(1):71.
28. Nakazawa D, Masuda S, Tomaru U, Ishizu A. Pathogenesis and therapeutic interventions for ANCA-associated vasculitis. *Nat Rev Rheumatol*. 2019 Feb;15(2):91–101.
29. Flint SM, McKinney EF, Smith KGC. Emerging concepts in the pathogenesis of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: *Curr Opin Rheumatol*. 2015 Mar;27(2):197–203.
30. Xiao H, Schreiber A, Heeringa P, Falk RJ, Jennette JC. Alternative Complement Pathway in the Pathogenesis of Disease Mediated by Anti-Neutrophil Cytoplasmic Autoantibodies. *Am J Pathol*. 2007 Jan;170(1):52–64.
31. Hakkim A, Furnrohr BG, Amann K, Laube B, Abed UA, Brinkmann V, et al. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc Natl Acad Sci*. 2010 May 25;107(21):9813–8.
32. Nakazawa D, Shida H, Tomaru U, Yoshida M, Nishio S, Atsumi T, et al. Enhanced Formation and Disordered Regulation of NETs in Myeloperoxidase-ANCA-Associated Microscopic Polyangiitis. *J Am Soc Nephrol*. 2014 May;25(5):990–7.
33. Nakazawa D, Tomaru U, Ishizu A. Possible implication of disordered neutrophil extracellular traps in the pathogenesis of MPO-ANCA-associated vasculitis. *Clin Exp Nephrol*. 2013 Oct;17(5):631–3.
34. Jennette JC, Falk RJ. Pathogenesis of antineutrophil cytoplasmic autoantibody-mediated disease. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 Aug;10(8):463–73.
35. Kumar SVR, Kulkarni OP, Mulay SR, Darisipudi MN, Romoli S, Thomasova D, et al. Neutrophil Extracellular Trap-Related Extracellular Histones Cause Vascular Necrosis in Severe GN. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Oct 1;26(10):2399–413.
36. Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönemarker U, Back W, Gross WL, Werb Z, et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med*. 2009 Jun;15(6):623–5.
37. Savage COS. Pathogenesis of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody (ANCA)-associated vasculitis: Pathogenesis of ANCA vasculitis. *Clin Exp Immunol*. 2011 May;164:23–6.
38. Strasser A, Jost PJ, Nagata S. The Many Roles of FAS Receptor Signaling in the Immune System. *Immunity*. 2009 Feb;30(2):180–92.
39. Tauzin S, Chaigne-Delalande B, Selva E, Khadra N, Daburon S, Contin-Bordes C, et al. The Naturally Processed CD95L Elicits a c-Yes/Calcium/PI3K-Driven Cell Migration Pathway. Green DR, editor. *PLoS Biol*. 2011 Jun 21;9(6):e1001090.

40. Poissonnier A, Sanséau D, Le Gallo M, Malleter M, Levoine N, Viel R, et al. CD95-Mediated Calcium Signaling Promotes T Helper 17 Trafficking to Inflamed Organs in Lupus-Prone Mice. *Immunity*. 2016 Jul;45(1):209–23.
41. Krebs CF, Paust H-J, Krohn S, Koyro T, Brix SR, Riedel J-H, et al. Autoimmune Renal Disease Is Exacerbated by S1P-Receptor-1-Dependent Intestinal Th17 Cell Migration to the Kidney. *Immunity*. 2016 Nov;45(5):1078–92.
42. Allison J, Georgiou HM, Strasser A, Vaux DL. Transgenic expression of CD95 ligand on islet  $\beta$  cells induces a granulocytic infiltration but does not confer immune privilege upon islet allografts. *Proc Natl Acad Sci*. 1997 Apr 15;94(8):3943–7.
43. Christensson M, Pettersson E, Eneslätt K, Christensson B, Bratt J, Rantapää-Dahlqvist S, et al. Serum sFAS levels are elevated in ANCA-positive vasculitis compared with other autoimmune diseases. *J Clin Immunol*. 2002 Jul;22(4):220–7.
44. Poissonnier A, Guégan J-P, Nguyen HT, Best D, Levoine N, Kozlov G, et al. Disrupting the CD95–PLC $\gamma$ 1 interaction prevents Th17-driven inflammation. *Nat Chem Biol*. 2018 Dec;14(12):1079–89.
45. Galli G, Poissonnier A, Guégan JP, Charrier M, Sisirak V, Lazaro E, et al. HIV protease inhibitors and autoimmunity: An odd, but promising idea. *Autoimmun Rev*. 2019 Oct;18(10):102370.
46. Puente XS, Sánchez LM, Overall CM, López-Otín C. Human and mouse proteases: a comparative genomic approach. *Nat Rev Genet*. 2003 Jul;4(7):544–58.
47. Agbowuro AA, Huston WM, Gamble AB, Tyndall JDA. Proteases and protease inhibitors in infectious diseases. *Med Res Rev*. 2018 Jul;38(4):1295–331.
48. Neurath H, Walsh KA. Role of proteolytic enzymes in biological regulation (a review). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976 Nov;73(11):3825–32.
49. Abbenante G, Fairlie DP. Protease inhibitors in the clinic. *Med Chem Shariqah United Arab Emir*. 2005 Jan;1(1):71–104.
50. Di Nisio M, Middeldorp S, Büller HR. Direct Thrombin Inhibitors. *N Engl J Med*. 2005 Sep 8;353(10):1028–40.
51. Turk B. Targeting proteases: successes, failures and future prospects. *Nat Rev Drug Discov*. 2006 Sep;5(9):785–99.
52. Adams J. The development of proteasome inhibitors as anticancer drugs. *Cancer Cell*. 2004 May;5(5):417–21.
53. Detels R, Tarwater P, Phair JP, Margolick J, Riddler SA, Muñoz A, et al. Effectiveness of potent antiretroviral therapies on the incidence of opportunistic infections before and after AIDS diagnosis. *AIDS Lond Engl*. 2001 Feb 16;15(3):347–55.
54. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining Morbidity and Mortality among Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. *N Engl J Med*. 1998 Mar 26;338(13):853–60.

55. Flexner C. HIV-Protease Inhibitors. Wood AJJ, editor. *N Engl J Med*. 1998 Apr 30;338(18):1281–93.
56. Debouck C. The HIV-1 Protease as a Therapeutic Target for AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1992 Feb;8(2):153–64.
57. Fernández-Montero JV, Barreiro P, Soriano V. HIV protease inhibitors: recent clinical trials and recommendations on use. *Expert Opin Pharmacother*. 2009 Jul;10(10):1615–29.
58. Bower M, Fox P, Fife K, Gill J, Nelson M, Gazzard B. Highly active anti-retroviral therapy (HAART) prolongs time to treatment failure in Kaposi's sarcoma. *AIDS Lond Engl*. 1999 Oct 22;13(15):2105–11.
59. Lebbé C, Blum L, Pellet C, Blanchard G, Vérola O, Morel P, et al. Clinical and biological impact of antiretroviral therapy with protease inhibitors on HIV-related Kaposi's sarcoma. *AIDS Lond Engl*. 1998 May 7;12(7):F45-49.
60. Sgadari C, Barillari G, Toschi E, Carlei D, Bacigalupo I, Baccarini S, et al. HIV protease inhibitors are potent anti-angiogenic molecules and promote regression of Kaposi sarcoma. *Nat Med*. 2002 Mar;8(3):225–32.
61. Monini P. HIV protease inhibitors: antiretroviral agents with anti-inflammatory, anti-angiogenic and anti-tumour activity. *J Antimicrob Chemother*. 2003 Feb 1;51(2):207–11.
62. Chavan S, Kodoth S, Pahwa R, Pahwa S. The HIV protease inhibitor Indinavir inhibits cell-cycle progression in vitro in lymphocytes of HIV-infected and uninfected individuals. *Blood*. 2001 Jul 15;98(2):383–9.
63. Lederman MM, Connick E, Landay A, Kuritzkes DR, Spritzler J, St Clair M, et al. Immunologic responses associated with 12 weeks of combination antiretroviral therapy consisting of zidovudine, lamivudine, and zalcitabine: results of AIDS Clinical Trials Group Protocol 315. *J Infect Dis*. 1998 Jul;178(1):70–9.
64. Sloand EM, Kumar PN, Kim S, Chaudhuri A, Weichold FF, Young NS. Human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor modulates activation of peripheral blood CD4(+) T cells and decreases their susceptibility to apoptosis in vitro and in vivo. *Blood*. 1999 Aug 1;94(3):1021–7.
65. Phenix BN, Cooper C, Owen C, Badley AD. Modulation of apoptosis by HIV protease inhibitors. *Apoptosis Int J Program Cell Death*. 2002 Aug;7(4):295–312.
66. Lu W, Andrieu JM. HIV protease inhibitors restore impaired T-cell proliferative response in vivo and in vitro: a viral-suppression-independent mechanism. *Blood*. 2000 Jul 1;96(1):250–8.
67. Mastroianni CM, Lichtner M, Mengoni F, D'Agostino C, Forcina G, d'Ettorre G, et al. Improvement in neutrophil and monocyte function during highly active antiretroviral treatment of HIV-1-infected patients. *AIDS Lond Engl*. 1999 May 28;13(8):883–90.
68. Whelan KT, Lin C-L, Cella M, McMichael AJ, Austyn JM, Rowland-Jones SL. The HIV protease inhibitor indinavir reduces immature dendritic cell transendothelial migration. *Eur J Immunol*. 2003 Sep;33(9):2520–30.

69. Weichold FF, Bryant JL, Pati S, Barabitskaya O, Gallo RC, Reitz MS. HIV-1 protease inhibitor ritonavir modulates susceptibility to apoptosis of uninfected T cells. *J Hum Virol.* 1999 Oct;2(5):261–9.
70. Matarrese P, Gambardella L, Cassone A, Vella S, Cauda R, Malorni W. Mitochondrial Membrane Hyperpolarization Hijacks Activated T Lymphocytes Toward the Apoptotic-Prone Phenotype: Homeostatic Mechanisms of HIV Protease Inhibitors. *J Immunol.* 2003 Jun 15;170(12):6006–15.
71. Delmonte OM, Bertolotto G, Ricotti E, Tovo P-A. Immunomodulatory effects of two HIV protease inhibitors, Saquinavir and Ritonavir, on lymphocytes from healthy seronegative individuals. *Immunol Lett.* 2007 Aug;111(2):111–5.
72. Yu Z, Tong Y, Zhang R, Ding X, Li Q. Saquinavir Ameliorates Liver Warm Ischemia-Reperfusion-Induced Lung Injury via HMGB-1- and P38/JNK-Mediated TLR-4-Dependent Signaling Pathways. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:1–11.
73. Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol.* 2005 Apr;5(4):331–42.
74. Andersson U, Tracey KJ. HMGB1 Is a Therapeutic Target for Sterile Inflammation and Infection. *Annu Rev Immunol.* 2011 Apr 23;29(1):139–62.
75. Hamada T, Torikai M, Kuwazuru A, Tanaka M, Horai N, Fukuda T, et al. Extracellular high mobility group box chromosomal protein 1 is a coupling factor for hypoxia and inflammation in arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008 Sep;58(9):2675–85.
76. Liu-Bryan R, Terkeltaub R. Chondrocyte innate immune myeloid differentiation factor 88-dependent signaling drives procatabolic effects of the endogenous Toll-like receptor 2/Toll-like receptor 4 ligands low molecular weight hyaluronan and high mobility group box chromosomal protein 1 in mice. *Arthritis Rheum.* 2010 Jul;62(7):2004–12.
77. Kokkola R, Sundberg E, Ulfgren A-K, Palmblad K, Li J, Wang H, et al. High mobility group box chromosomal protein 1: A novel proinflammatory mediator in synovitis. *Arthritis Rheum.* 2002 Oct;46(10):2598–603.
78. Goldstein RS, Bruchfeld A, Yang L, Qureshi AR, Gallowitsch-Puerta M, Patel NB, et al. Cholinergic anti-inflammatory pathway activity and High Mobility Group Box-1 (HMGB1) serum levels in patients with rheumatoid arthritis. *Mol Med Camb Mass.* 2007 Apr;13(3–4):210–5.
79. Pullerits R, Jonsson I-M, Verdrengh M, Bokarewa M, Andersson U, Erlandsson-Harris H, et al. High mobility group box chromosomal protein 1, a DNA binding cytokine, induces arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003 Jun;48(6):1693–700.
80. Barkauskaite V, Ek M, Popovic K, Harris HE, Wahren-Herlenius M, Nyberg F. Translocation of the novel cytokine HMGB1 to the cytoplasm and extracellular space coincides with the peak of clinical activity in experimentally UV-induced lesions of cutaneous lupus erythematosus. *Lupus.* 2007 Oct;16(10):794–802.
81. Jiang W, Pisetsky DS. Expression of high mobility group protein 1 in the sera of patients and mice with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2007 Aug 17;67(5):727–8.

82. Popovic K, Ek M, Espinosa A, Padyukov L, Harris HE, Wahren-Herlenius M, et al. Increased expression of the novel proinflammatory cytokine high mobility group box chromosomal protein 1 in skin lesions of patients with lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005 Nov;52(11):3639–45.
83. Ulfgren A-K, Grundtman C, Borg K, Alexanderson H, Andersson U, Harris HE, et al. Down-regulation of the aberrant expression of the inflammation mediator high mobility group box chromosomal protein 1 in muscle tissue of patients with polymyositis and dermatomyositis treated with corticosteroids. *Arthritis Rheum.* 2004 May;50(5):1586–94.
84. Yoshizaki A, Komura K, Iwata Y, Ogawa F, Hara T, Muroi E, et al. Clinical Significance of Serum HMGB-1 and sRAGE Levels in Systemic Sclerosis: Association with Disease Severity. *J Clin Immunol.* 2009 Mar;29(2):180–9.
85. Maugeri N, Capobianco A, Rovere-Querini P, Ramirez GA, Tombetti E, Valle PD, et al. Platelet microparticles sustain autophagy-associated activation of neutrophils in systemic sclerosis. *Sci Transl Med.* 2018 Jul 25;10(451):eaao3089.
86. Pribis JP, Al-Abed Y, Yang H, Gero D, Xu H, Montenegro MF, et al. The HIV protease inhibitor saquinavir inhibits HMGB1 driven inflammation by targeting the interaction of cathepsin V with TLR4/MyD88. *Mol Med Camb Mass.* 2015 Sep 2;
87. Cai J, Zhong H. Cathepsin L Promotes Vascular Intimal Hyperplasia after Arterial Injury. *Mol Med.* 2017;23(1):1.
88. Equils O, Shapiro A, Madak Z, Liu C, Lu D. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Inhibitors Block Toll-Like Receptor 2 (TLR2)- and TLR4-Induced NF- B Activation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Oct 1;48(10):3905–11.
89. Pati S, Pelsler CB, Dufraine J, Bryant JL, Reitz MS, Weichold FF. Antitumorigenic effects of HIV protease inhibitor ritonavir: inhibition of Kaposi sarcoma. *Blood.* 2002 May 15;99(10):3771–9.
90. Kelleher AD, Booth BL, Sewell AK, Oxenius A, Cerundolo V, McMichael AJ, et al. Effects of retroviral protease inhibitors on proteasome function and processing of HIV-derived MHC class I-restricted cytotoxic T lymphocyte epitopes. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2001 Jul 20;17(11):1063–6.
91. Faes S, Dormond O. PI3K and AKT: Unfaithful Partners in Cancer. *Int J Mol Sci.* 2015 Sep 3;16(9):21138–52.
92. Gills JJ, LoPiccolo J, Tsurutani J, Shoemaker RH, Best CJM, Abu-Asab MS, et al. Nelfinavir, A Lead HIV Protease Inhibitor, Is a Broad-Spectrum, Anticancer Agent that Induces Endoplasmic Reticulum Stress, Autophagy, and Apoptosis In vitro and In vivo. *Clin Cancer Res.* 2007 Sep 1;13(17):5183–94.
93. Gupta AK, Li B, Cerniglia GJ, Ahmed MS, Hahn SM, Maity A. The HIV protease inhibitor nelfinavir downregulates Akt phosphorylation by inhibiting proteasomal activity and inducing the unfolded protein response. *Neoplasia N Y N.* 2007 Apr;9(4):271–8.

94. Wallet MA, Reist CM, Williams JC, Appelberg S, Guiulfo GL, Gardner B, et al. The HIV-1 protease inhibitor nelfinavir activates PP2 and inhibits MAPK signaling in macrophages: a pathway to reduce inflammation. *J Leukoc Biol.* 2012 Oct;92(4):795–805.
95. Tanaka K. The proteasome: Overview of structure and functions. *Proc Jpn Acad Ser B.* 2009;85(1):12–36.
96. Kimura H, Caturegli P, Takahashi M, Suzuki K. New Insights into the Function of the Immunoproteasome in Immune and Nonimmune Cells. *J Immunol Res.* 2015;2015:1–8.
97. Dou QP, Zonder JA. Overview of proteasome inhibitor-based anti-cancer therapies: perspective on bortezomib and second generation proteasome inhibitors versus future generation inhibitors of ubiquitin-proteasome system. *Curr Cancer Drug Targets.* 2014;14(6):517–36.
98. André P, Groettrup M, Klenerman P, de Giuli R, Booth BL, Cerundolo V, et al. An inhibitor of HIV-1 protease modulates proteasome activity, antigen presentation, and T cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Oct 27;95(22):13120–4.
99. Kourjian G, Xu Y, Mondesire-Crump I, Shimada M, Gourdain P, Le Gall S. Sequence-Specific Alterations of Epitope Production by HIV Protease Inhibitors. *J Immunol.* 2014 Apr 15;192(8):3496–506.
100. Gaedicke S, Firat-Geier E, Constantiniu O, Lucchiari-Hartz M, Freudenberg M, Galanos C, et al. Antitumor effect of the human immunodeficiency virus protease inhibitor ritonavir: induction of tumor-cell apoptosis associated with perturbation of proteasomal proteolysis. *Cancer Res.* 2002 Dec 1;62(23):6901–8.
101. Kourjian G, Rucevic M, Berberich MJ, Dinter J, Wambua D, Boucau J, et al. HIV Protease Inhibitor-Induced Cathepsin Modulation Alters Antigen Processing and Cross-Presentation. *J Immunol.* 2016 May 1;196(9):3595–607.
102. Basler M, Mundt S, Bitzer A, Schmidt C, Groettrup M. The immunoproteasome: a novel drug target for autoimmune diseases. *Clin Exp Rheumatol.* 2015 Aug;33(4 Suppl 92):S74-79.
103. Freiberg MS, Chang C-CH, Skanderson M, Patterson OV, DuVall SL, Brandt CA, et al. Association Between HIV Infection and the Risk of Heart Failure With Reduced Ejection Fraction and Preserved Ejection Fraction in the Antiretroviral Therapy Era: Results From the Veterans Aging Cohort Study. *JAMA Cardiol.* 2017 May 1;2(5):536.
104. Jerico C, Knobel H, Calvo N, Sorli ML, Guelar A, Gimeno-Bayon JL, et al. Subclinical Carotid Atherosclerosis in HIV-Infected Patients: Role of Combination Antiretroviral Therapy. *Stroke.* 2006 Mar 1;37(3):812–7.
105. Zhou H, Jarujaron S, Gurley EC, Chen L, Ding H, Studer E, et al. HIV protease inhibitors increase TNF- $\alpha$  and IL-6 expression in macrophages: Involvement of the RNA-binding protein HuR. *Atherosclerosis.* 2007 Nov;195(1):e134–43.
106. Zhou H, Pandak WM, Lyall V, Natarajan R, Hylemon PB. HIV protease inhibitors activate the unfolded protein response in macrophages: implication for atherosclerosis and cardiovascular disease. *Mol Pharmacol.* 2005 Sep;68(3):690–700.

107. Zhou H, Gurley EC, Jarujaron S, Ding H, Fang Y, Xu Z, et al. HIV protease inhibitors activate the unfolded protein response and disrupt lipid metabolism in primary hepatocytes. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*. 2006 Dec;291(6):G1071–80.
108. Liu X-M, Durante ZE, Peyton KJ, Durante W. Heme oxygenase-1-derived bilirubin counteracts HIV protease inhibitor-mediated endothelial cell dysfunction. *Free Radic Biol Med*. 2016 May;94:218–29.
109. Laurence J, Elhadad S, Robison T, Terry H, Varshney R, Woolington S, et al. HIV protease inhibitor-induced cardiac dysfunction and fibrosis is mediated by platelet-derived TGF- $\beta$ 1 and can be suppressed by exogenous carbon monoxide. *Sen U*, editor. *PLOS ONE*. 2017 Oct 31;12(10):e0187185.
110. Mohan C, Putterman C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nat Rev Nephrol*. 2015 Jun;11(6):329–41.
111. Mody GM, Patel N, Budhoo A, Dubula T. Concomitant systemic lupus erythematosus and HIV: Case series and literature review. *Semin Arthritis Rheum*. 2014 Oct;44(2):186–94.
112. Le Gallo M, Poissonnier A, Blanco P, Legembre P. CD95/Fas, Non-Apoptotic Signaling Pathways, and Kinases. *Front Immunol* [Internet]. 2017 Sep 27 [cited 2018 Mar 29];8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.01216/full>
113. Peter ME, Hadji A, Murmann AE, Brockway S, Putzbach W, Pattanayak A, et al. The role of CD95 and CD95 ligand in cancer. *Cell Death Differ*. 2015 Apr;22(4):549–59.
114. Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell*. 1993 Dec;75(6):1169–78.
115. Fouqué A, Debure L, Legembre P. The CD95/CD95L signaling pathway: A role in carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer*. 2014 Aug;1846(1):130–41.
116. O' Reilly LA, Tai L, Lee L, Kruse EA, Grabow S, Fairlie WD, et al. Membrane-bound Fas ligand only is essential for Fas-induced apoptosis. *Nature*. 2009 Oct;461(7264):659–63.
117. Tauzin S, Chaigne-Delalande B, Selva E, Khadra N, Daburon S, Contin-Bordes C, et al. The Naturally Processed CD95L Elicits a c-Yes/Calcium/PI3K-Driven Cell Migration Pathway. *Green DR*, editor. *PLoS Biol*. 2011 Jun 21;9(6):e1001090.
118. Kleber S, Sancho-Martinez I, Wiestler B, Beisel A, Gieffers C, Hill O, et al. Yes and PI3K Bind CD95 to Signal Invasion of Glioblastoma. *Cancer Cell*. 2008 Mar;13(3):235–48.
119. Malleter M, Tauzin S, Bessede A, Castellano R, Goubard A, Godey F, et al. CD95L Cell Surface Cleavage Triggers a Prometastatic Signaling Pathway in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Res*. 2013 Nov 15;73(22):6711–21.
120. Barnhart BC, Legembre P, Pietras E, Bubici C, Franzoso G, Peter ME. CD95 ligand induces motility and invasiveness of apoptosis-resistant tumor cells. *EMBO J*. 2004 Aug 4;23(15):3175–85.

121. Hoogwater FJH, Nijkamp MW, Smakman N, Steller EJA, Emmink BL, Westendorp BF, et al. Oncogenic K-Ras Turns Death Receptors Into Metastasis-Promoting Receptors in Human and Mouse Colorectal Cancer Cells. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138(7):2357–67.
122. Chen L, Park S-M, Tumanov AV, Hau A, Sawada K, Feig C, et al. CD95 promotes tumour growth. *Nature*. 2010 May;465(7297):492–6.
123. O'Reilly KE, Rojo F, She Q-B, Solit D, Mills GB, Smith D, et al. mTOR Inhibition Induces Upstream Receptor Tyrosine Kinase Signaling and Activates Akt. *Cancer Res*. 2006 Feb 1;66(3):1500–8.
124. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, et al. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J*. 1995 Nov 15;14(22):5579–88.
125. VanPatten S, Sun S, He M, Cheng KF, Altiti A, Papatheodorou A, et al. Amending HIV Drugs: A Novel Small-Molecule Approach To Target Lupus Anti-DNA Antibodies. *J Med Chem*. 2016 Oct 13;59(19):8859–67.
126. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet Lond Engl*. 2017 Oct 7;390(10103):1685–99.
127. Sanchez CG, Molinski SV, Gongora R, Sosulski M, Fuselier T, MacKinnon SS, et al. The Antiretroviral Agent Nelfinavir Mesylate: A Potential Therapy for Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol*. 2018 Jan;70(1):115–26.
128. Li Y, Li X, Yu Z, Cai J, Billiar TR, Chen AF, et al. HIV Protease Inhibitors in Pulmonary Hypertension: Rationale and Design of a Pilot Trial in Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Pulm Circ*. 2015 Sep;5(3):538–46.
129. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol*. 2015 Sep;15(9):545–58.
130. Gold J, Goldacre R, Maruszak H, Giovannoni G, Yeates D, Goldacre M. HIV and lower risk of multiple sclerosis: beginning to unravel a mystery using a record-linked database study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015 Jan;86(1):9–12.
131. Hosseini H, André P, Lefevre N, Viala L, Walzer T, Peschanski M, et al. Protection against experimental autoimmune encephalomyelitis by a proteasome modulator. *J Neuroimmunol*. 2001 Aug 30;118(2):233–44.
132. Li Y-F, Zhang S-X, Ma X-W, Xue Y-L, Gao C, Li X-Y. Levels of peripheral Th17 cells and serum Th17-related cytokines in patients with multiple sclerosis: A meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord*. 2017 Nov;18:20–5.
133. Monteleone G, Pallone F, MacDonald TT, Chimenti S, Costanzo A. Psoriasis: from pathogenesis to novel therapeutic approaches. *Clin Sci*. 2011 Jan 1;120(1):1–11.
134. Berthelot P, Guglielminotti C, Frésard A, Lucht F, Perrot JL. Dramatic cutaneous psoriasis improvement in a patient with the human immunodeficiency virus treated with 2',3'-dideoxy,3'-thiacytidine [correction of 2',3'-dideoxycytidine] and ritonavir. *Arch Dermatol*. 1997 Apr;133(4):531.



135. Díez F, del Hoyo M, Serrano S. Zidovudine treatment of psoriasis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 1990 Jan;22(1):146–7.
136. Duvic M, Rios A, Brewton GW. Remission of AIDS-associated psoriasis with zidovudine. *Lancet Lond Engl*. 1987 Sep 12;2(8559):627.
137. Feeney GF, Frazer I. AIDS-associated psoriasis responds to azidothymidine. *Med J Aust*. 1988 Feb 1;148(3):155.
138. Fischer T, Schwörer H, Vente C, Reich K, Ramadori G. Clinical improvement of HIV-associated psoriasis parallels a reduction of HIV viral load induced by effective antiretroviral therapy. *AIDS Lond Engl*. 1999 Apr 1;13(5):628–9.
139. Kaplan MH, Sadick NS, Wieder J, Farber BF, Neidt GW. Antipsoriatic effects of zidovudine in human immunodeficiency virus-associated psoriasis. *J Am Acad Dermatol*. 1989 Jan;20(1):76–82.
140. Ruzicka T, Fröschl M, Hohenleutner U, Holzmann H, Braun-Falco O. TREATMENT OF HIV-INDUCED RETINOID-RESISTANT PSORIASIS WITH ZIDOVUDINE. *The Lancet*. 1987 Dec;330(8573):1469–70.
141. Chiricozzi A, Saraceno R, Cannizzaro MV, Nisticò SP, Chimenti S, Giunta A. Complete Resolution of Erythrodermic Psoriasis in an HIV and HCV Patient Unresponsive to Antipsoriatic Treatments after Highly Active Antiretroviral Therapy (Ritonavir, Atazanavir, Emtricitabine, Tenofovir). *Dermatology*. 2012;225(4):333–7.
142. Vano-Galvan S, Jaen P. Severe psoriasis due to cessation of antiretroviral therapy in a patient with human immunodeficiency virus. *Isr Med Assoc J IMAJ*. 2008 Jul;10(7):557–8.

## Annexes

### Annexe 1 : Atteintes cliniques détaillées de la population de MPA

Sur le plan clinique, sur 39 prélèvements de MPA:

- 12 (30.8%) présentaient des signes généraux (asthénie, anorexie, amaigrissement ou fièvre)
- 38 (97.4%) présentaient une atteinte rénale, dont :
  - o 33 glomérulonéphrites rapidement progressives (GNRP)
  - o 1, une néphropathie tubulo-interstitielle chronique (NTIC)
  - o 4, une insuffisance rénale chronique sans précision
- 25 (64.1%) présentaient une atteinte pulmonaire dont :
  - o 9, une hémorragie intra-alvéolaire (HIA, dont un associée à un asthme)
  - o 4 un asthme (dont un associé à une hémorragie intra-alvéolaire, 3 à une diminution de la DLCO)
  - o 11, une pneumopathie interstitielle diffuse ou une diminution de la DLCO (dont 3 associées à un asthme et 2 à des nodules pulmonaires)
  - o 3, des nodules pulmonaires
  - o 1, une masse pulmonaire
  - o 3, une atteinte pulmonaire sans précision
- 3 (7.7%) une atteinte cutanéomuqueuse, dont :
  - o 1 purpura vasculaire
  - o 2 éruptions érythémato-squameuse sans précision
- 6 (15.4%) une atteinte neurologique, dont :

- 5 neuropathies périphériques (polyneuropathie, polyradiculonévrite ou multinévrite)
  - 1 crise convulsive
- 5 (12.8%) une atteinte musculaire à type de myalgies
- 11 (28.2%) une atteinte articulaire, dont :
  - 3 polyarthrites
  - 6 polyarthralgies d'horaire inflammatoire
  - 2 polyarthralgies sans précision
- 13 (33.3%) une atteinte ORL, dont :
  - 9 sinusites cliniques (frontales, maxillaires, sphénoïdiennes ou ethmoïdales)
  - 2 hypoacusies
  - 1 épistaxis
  - 1 comblement d'un sinus ethmoïdal sans précision
- 4 (10.3%) une atteinte digestive, dont :
  - 2 atteintes hépatiques sans précision
  - 2 rectorragies sans précision
- 3 (7.7%) une atteinte cardiovasculaire à type de péricardite
- Il n'y avait pas d'atteinte ophtalmologique, de cancer ou d'hémopathie associée.
- 1 présentait un acrosyndrome et 1 était associée à une gammopathie monoclonale de signification indéterminée à IgG lambda.

## Annexe 2 : Atteintes cliniques détaillées de la population de GPA

Sur le plan clinique, sur 19 prélèvements de GPA :

- 10 (52.6%) présentaient des signes généraux (asthénie, anorexie, amaigrissement ou fièvre)
- 14 (73.7%) présentaient une atteinte rénale, dont :
  - o 11 glomérulonéphrites rapidement progressives (GNRP)
  - o 3 une protéinurie ou une hématurie isolés
- 16 (84.2%) présentaient une atteinte pulmonaire dont :
  - o 3, une hémorragie intra-alvéolaire (dont 2 associées à un asthme et 1 à des nodules pulmonaires)
  - o 2 un asthme (associé à des hémorragies intra-alvéolaire)
  - o 4, une pneumopathie interstitielle diffuse (PID, dont 2 associées des nodules pulmonaires)
  - o 10, des nodules pulmonaires (dont 1 associé à des masses, 1 à une HIA, 2 à des PID)
  - o 2, des masses pulmonaires (1 associée à une HIA, 1 à des nodules)
  - o 3, une atteinte pulmonaire sans précision
- 1 (5.3%) une atteinte cutanéomuqueuse à type d'hypertrophie gingivale
- 9 (47.4%) une atteinte neurologique, dont :
  - o 7 neuropathies périphériques (mononeuropathie, polyneuropathie, polyradiculonévrite ou multinévrite)
  - o 2 crises convulsives

- 1 (5.4%) une atteinte musculaire sans précision
- 11 (57.9%) une atteinte articulaire, dont :
  - o 8 polyarthrites
  - o 1 oligo-arthrite
  - o 1 polyarthralgie sans précision
  - o 1 atteinte articulaire sans précision
- 13 (68.4%) une atteinte ORL, dont :
  - o 5 Rhinosinusites crouteuses
  - o 4 sinusites-bronchites
  - o 2 otites récidivantes
  - o 1 surdité brusque
  - o 1 atteinte ORL sans précisions
- 4 (21.4%) une atteinte ophtalmologique, dont :
  - o 1 uvéite antérieure aigue
  - o 2 exophtalmies
  - o 1 atteinte ophtalmologique sans précision
- 2 (10.5%) une atteinte cardiovasculaire à type de p riaortite-médiastinite
- Il n'y avait pas d'atteinte digestive
- 2 (10.5%)  taient associées à un cancer (une tumeur fibreuse solitaire pleurale, un carcinome vésical in situ)
- 2 (10.5%)  taient associées à une autre pathologie : un syndrome catastrophique des anti-phospholipides et une recto-colite hémorragique.

Annexe 3 : HIV Protease Inhibitors currently available for HIV management

<b>Generation</b>	<b>Molecule</b>	<b>FDA date of approval</b>
First generation	Saquinavir	1995
	Ritonavir	1996
	Indinavir	1996
	Nelfinavir	1997
Second generation	Lopinavir	2001
	Fosamprenavir	2003
	Atazanavir	2003
Third generation	Tipranavir	2005
	Darunavir	2006

## Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

**Titre :** Implication du CD95-Ligand/Fas-Ligand soluble dans les vascularites systémiques à ANCA

**Résumé :** Les vascularites systémiques à ANCA sont un groupe de maladies inflammatoires touchant les vaisseaux de petits calibres et comprenant notamment la polyangéite microscopique et la granulomatose avec polyangéite. Malgré les traitements actuels, leur morbi-mortalité reste élevée et des poussées imprévisibles peuvent engager le pronostic vital ou d'organe. Il existe donc une place au développement de nouveaux biomarqueurs d'activité ainsi que dans la recherche de nouvelles voies thérapeutiques. Le CD95-L soluble est une partie clivée du CD95-L, ligand du récepteur de mort cellulaire CD95. Ce s-CD95L présente des propriétés pro-inflammatoires chémo-attractantes sur les lymphocytes Th17 et les polynucléaires neutrophiles, deux types cellulaires impliqués dans la physiopathologie des vascularites systémiques à ANCA. Cette étude rétrospective monocentrique, préliminaire à un travail de recherche translationnelle, avait pour but d'estimer les taux de s-CD95L sur les sérums ANCA positifs des patients du CHU de Bordeaux et de corrélés ce taux à l'activité de la maladie évaluée par le score BVAS 3.0.

Nous avons montré que le s-CD95L est plus élevé chez les patients atteints de vascularites et qu'il est corrélé avec l'activité de la vascularite évaluée par le BVAS 3.0. Ces premiers éléments sont en faveur d'un rôle du s-CD95L dans la physiopathologie des vascularites à ANCA. Par ailleurs, cette molécule pouvant être inhibée par le Ritonavir, un anti-protéase du HIV, nous avons donc effectué une revue de la littérature sur les mécanismes immunologiques qui pourraient expliquer cette action et les possibilités de repositionnement de ces thérapeutiques antivirales pour les maladies inflammatoires et auto-immunes.

**Mots clés :** Vascularites à ANCA ; Polyangéite microscopique ; Granulomatose avec Polyangéite ; CD95-Ligand soluble; Fas-Ligand soluble ; Physiopathologie ; Immunologie ; Médecine Interne

---

**Title:** Soluble CD95-Ligand/Fas-Ligand implication in ANCA associated vasculitis

**Abstract:** ANCA associated vasculitis are inflammatory diseases affecting small blood vessels, including microscopic polyangiitis and granulomatosis with polyangiitis. Despite current treatments, their morbi-mortality remains high and unpredictable pulses can be life-threatening or lead to irreversible organ damage. There is therefore a need for new activity biomarkers as well as research for new therapeutic pathways. Soluble CD95-L is a cleaved part of CD95-L, a ligand for the CD95 cell death receptor. This s-CD95L has chemo-attractive pro-inflammatory properties on Th17 lymphocytes and neutrophils, two cell types involved in the pathophysiology of ANCA associated vasculitis. The purpose of this retrospective monocentric study, preliminary to a translational research project, was to estimate s-CD95L levels on positive ANCA sera from Bordeaux University Hospital patients and to correlate this rate with disease activity assessed by the BVAS 3.0 score.

We have shown that s-CD95L is higher in patients with vasculitis and that it correlates with BVAS 3.0 score. These first elements are in favor of a role for s-CD95L in the pathophysiology of ANCA associated vasculitis. Moreover, this molecule is impaired by Ritonavir, an HIV anti-protease, and we carried out a review of the literature on the immunological mechanisms that could explain this action and the possibilities for repositioning these antiviral drugs for inflammatory and autoimmune diseases management.

**Keywords:** ANCA associated vasculitis; microscopic polyangiitis; granulomatosis with polyangiitis; soluble CD95-Ligand; soluble Fas-Ligand; Pathophysiology; Immunology; Internal Medicine

---

**Discipline :** Médecine Interne

---

**Intitulé et adresse du laboratoire – de l'UMR :**

UFR des Sciences Médicales

ImmunoConcEpt – Laboratoire CNRS UMR 5164 Site de Carreire, Zone Nord, Batiment 1B Cedex

146 Rue Léo Saignat 33000 Bordeaux, France

---