



[Genetics of asthma and atopy: how many genes?]

Emmanuelle Bouzigon, Francine Kauffmann, Florence Demenais

► To cite this version:

Emmanuelle Bouzigon, Francine Kauffmann, Florence Demenais. [Genetics of asthma and atopy: how many genes?]. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, 2005, 189 (7), pp.1435-48. inserm-00333427

HAL Id: inserm-00333427

<https://inserm.hal.science/inserm-00333427>

Submitted on 23 Oct 2008

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.

Génétique de l'asthme et de l'atopie : Combien de gènes identifiés ?

MOTS-CLES : ASTHME, ATOPIE, POLYMORPHISMES GENETIQUES, ETUDES D'ASSOCIATION, CRIBLAGES DU GENOME, INTERACTION GENE-ENVIRONNEMENT

Genetic of asthma and atopy: How many genes?

KEY-WORDS: ASTHMA, ATOPIY, GENETIC POLYMORPHISMS, ASSOCIATION STUDIES, GENOME SCREENS, POSITIONAL CLONING, GENE-ENVIRONMENT INTERACTION

Emmanuelle BOUZIGON^{*}, Francine KAUFFMANN⁺, Florence DEMENAI^{*}

RESUME

L'asthme est une maladie complexe et hétérogène résultant des effets et interactions de nombreux facteurs génétiques et environnementaux. De nombreuses études d'association de l'asthme, de l'atopie et de l'hyperréactivité bronchique avec des gènes candidats ont mis en évidence le rôle de quelques gènes pertinents, en particulier ceux impliqués dans la réponse immunitaire. Des études de criblage du génome dans diverses populations ont conduit, au cours des trois dernières années, à l'identification de six gènes potentiellement impliqués dans la susceptibilité à l'asthme et aux phénotypes associés à l'asthme. Cependant, la fonction de la plupart de ces gènes est encore mal connue et reste à être élucidée. Les avancées récentes dans les technologies moléculaires qui permettent le génotypage de milliers de polymorphismes génétiques dans des régions chromosomiques candidates et, bientôt, sur l'ensemble du génome couplées aux développements de méthodes statistiques pouvant considérer des systèmes biologiques complexes vont permettre de progresser rapidement dans la caractérisation de nouveaux gènes et d'interactions gène-gène et gène-environnement. Une meilleure connaissance des mécanismes physio-pathologiques à l'origine de l'asthme pourra se traduire par une amélioration des stratégies de diagnostic, de prévention et de traitement de cette pathologie chronique dont la prévalence ne cesse d'augmenter et qui pose un problème majeur en terme de Santé Publique.

SUMMARY

Asthma is a complex and heterogeneous disease involving many genes and environmental factors. Numerous association studies of asthma, atopy and bronchial hyper-responsiveness with candidate genes has shown evidence for the consistent effect of a few genes, mainly those involved in immune response. Genome-wide screens, conducted in various populations, have led successfully, in the past three years, to the identification of six asthma and/or atopy susceptibility genes by positional cloning. However, the function of these genes is still unclear and remains to be elucidated. Recent advances in molecular technologies which allow to genotype thousands of genetic polymorphisms in candidate chromosomal regions and, very soon, across the genome, together with the development of statistical methodologies which will make it possible to consider complex biological systems will permit to progress rapidly towards the identification of new genes as well as gene-gene and gene-environment interactions. A better knowledge of our understanding of asthma susceptibility will translate into improved diagnosis, prevention and therapeutic strategies for this chronic disease with increasing prevalence and which raises a major public health issue.

L'ASTHME : MALADIE FAMILIALE COMPLEXE

La prévalence de l'asthme a augmenté au cours des 20 dernières années dans les pays industrialisés, atteignant en France, 10 % chez les enfants et 5% chez les adultes [1]. Cette affection constitue un problème majeur de Santé Publique. C'est une maladie complexe et hétérogène présentant un large spectre de manifestations cliniques dont le diagnostic est parfois difficile à établir. L'asthme est associé à des phénotypes physiologiques et biologiques, objectivement mesurables, incluant les phénotypes liés à l'allergie, l'inflammation et la fonction ventilatoire (taux sérique d'immunoglobuline E (IgE), taux d'IgE spécifiques, tests cutanés à des aéro-allergènes, nombre d'éosinophiles circulants [EOS], hyperréactivité bronchique [HRB] et volume expiratoire maximum seconde [VEMS]). Du fait de la difficulté de définition de la maladie asthmatique, il est intéressant d'étudier ces phénotypes

^{*} INSERM-Université d'Evry EMI0006, Tour Evry2, 523 place des Terrasses de l'Agora, 91034 Evry Cedex

⁺ INSERM U472, 16 avenue Paul Vaillant Couturier, 94807 Villejuif cedex

Tirés à part : Emmanuelle BOUZIGON, INSERM-Université d'Evry EMI0006, Tour Evry2, 523 place des Terrasses de l'Agora, 91034 Evry Cedex

intermédiaires impliqués dans les différents mécanismes physiopathologiques à l'origine de l'asthme. Plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence des associations de ces phénotypes avec l'asthme mais aussi des corrélations entre ces phénotypes au niveau individuel [2]. Bien qu'un lien étroit entre l'asthme et l'atopie (mesurée par un taux élevé d'IgE sérique ou une réponse positive aux tests cutanés à des aéroallergènes) ou l'HRB ait été rapporté par plusieurs études, ces phénotypes ne sont pas spécifiques de l'asthme. En effet, la plupart des asthmatiques sont atopiques et/ou ont une hyperréactivité bronchique mais une partie seulement des sujets atopiques développent un asthme et l'HRB est présente chez des sujets non-asthmatiques [2].

L'asthme est une maladie multifactorielle, résultant des effets et interactions de nombreux facteurs génétiques et environnementaux. L'augmentation de la prévalence de l'asthme est probablement due en grande partie à la modification des facteurs environnementaux ([3] pour une revue). Plusieurs types de facteurs environnementaux ont été mis en cause : mode de vie, environnement domestique et extérieur (pollution atmosphérique), professionnel [3]. Le tabagisme maternel *in utero* et dans l'enfance est un facteur de risque de l'asthme [3]. La pollution atmosphérique, les irritants domestiques, certains allergènes sont des facteurs déclenchant des crises chez les malades ([3] pour une revue), et le tabagisme augmente la gravité clinique de l'asthme [4], mais leur rôle comme facteurs de risque de l'asthme est encore débattu. Le rôle de l'obésité et de la diminution de l'activité physique, des modifications des habitudes alimentaires [5], de facteurs hormonaux [6] sont actuellement discutés. En dehors de ces facteurs de risque délétères, la recherche s'est portée sur des facteurs protecteurs qui pourraient avoir diminué dans les dernières décennies comme les contacts avec les agents infectieux dans la petite enfance, ne permettant pas le développement normal de la réponse immunitaire, favorisant ainsi la persistance de la réponse Th2 pro-allergique du nouveau-né. Le rôle protecteur des grandes fratries ou des modes de vie traditionnels avec contacts avec des animaux de ferme ont étayé cette hypothèse hygiéniste [7].

Le caractère familial de l'asthme est connu depuis longtemps : le risque pour un germain d'un sujet asthmatique de présenter un asthme est multiplié par 2,5-3,0 par rapport à un sujet issu de la population générale ([8] pour une revue). Des corrélations familiales ont été observées pour les différents phénotypes intermédiaires associés à l'asthme, ces corrélations étant plus élevées pour les IgE totales et le VEMS (héritabilité (h^2) de 0,50) que pour les tests cutanés, les éosinophiles et l'HRB (h^2 d'environ 0,30) ([8] pour une revue, [9-11]). De plus, des études ont suggéré l'existence d'un effet maternel ou d'empreinte parentale pour la réponse spécifique aux allergènes ([12] pour une revue). Les études de jumeaux ont confirmé l'existence d'une composante génétique dans l'asthme et les phénotypes associés, avec des corrélations plus élevées chez les jumeaux monozygotes que chez les dizygotes [8]. Les analyses de transmission familiale de ces phénotypes ont suggéré que de nombreux gènes étaient vraisemblablement impliqués sans qu'aucun de ces gènes n'ait un effet assez important pour être clairement mis en évidence comme un facteur majeur de susceptibilité à la maladie [8]. De plus, des études des interrelations de ces phénotypes dans des familles australiennes et françaises (étude EGEA) ont suggéré l'existence de déterminants familiaux communs pour les IgE totales avec soit les IgE spécifiques [13], soit un score quantitatif des tests cutanés [11], soit les éosinophiles [11]. En revanche, le VEMS et l'HRB apparaissaient résulter de déterminants indépendants de ceux impliqués dans les autres phénotypes [11, 14].

GENES CANDIDATS DANS L'ASTHME ET L'ATOPIE

Pour caractériser les facteurs génétiques impliqués dans l'asthme, l'atopie et les mesures de la fonction ventilatoire, des études de liaison génétique et d'association de ces phénotypes avec

des marqueurs génétiques ont été réalisées. Ces études ont été dans un premier temps orientées vers des gènes candidats, c'est à dire des gènes dont la fonction suggère qu'ils peuvent jouer un rôle dans le processus physiopathologique.

Le nombre de gènes candidats possibles dans l'asthme est très important, étant donné les mécanismes physiopathologiques complexes impliqués dans cette maladie et à ce jour plus de 300 études d'association ont été publiées. Hoffjan et coll. ont réalisé en 2003 une compilation de toutes les études d'association publiées dans la littérature concernant l'asthme et des phénotypes associés à l'asthme (HRB, atopie, tests cutanés, IgE) ou d'autres pathologies allergiques (dermatite atopique), les éosinophiles et le VEMS ne faisant pas partie de leurs critères de recherche [15]. Au total, 199 études rapportant au moins une association significative ont été identifiées. Ainsi, 64 gènes ont été rapportés associés à l'asthme ou aux phénotypes intermédiaires. Parmi ces gènes, 33 ont été mis en évidence par au moins deux études indépendantes tandis que 22 n'ont fait l'objet que d'une seule publication [15]. Depuis cette revue, d'autres études d'association ont été publiées, portant à 70 le nombre de gènes associés à l'asthme ou à un phénotype intermédiaire [16].

Selon la compilation d'Hoffjan et coll. [15], quelques gènes sont apparus associés à l'asthme et aux phénotypes intermédiaires de manière constante selon les études et selon les populations. En particulier, des polymorphismes de huit gènes sont associés aux phénotypes de l'asthme dans au moins cinq études : les gènes des interleukine-4 (*IL4*) et interleukine-13 (*IL13*), le gène codant pour la chaîne α du récepteur de l'IL-4 (*IL4R*), le gène du récepteur $\beta 2$ adrénergique (*ADRB2*), le gène *HLA-DRB1*, les gènes du *Tumor Necrosis Factor* (*TNF*) et de la lymphotoxine-alpha (*LTA*) et le gène du récepteur à haute affinité pour les IgE (*FCER1B*). A noter que ces gènes sont ceux qui, historiquement, ont été rapportés par les premières études d'association.

Les gènes *IL4* et *IL13* font partie du cluster des gènes codant pour les interleukines situés dans la région 5q34. L'IL-4, une cytokine clef impliquée dans le développement de l'atopie, a un rôle majeur dans la production d'IgE par les lymphocytes B. Des polymorphismes de l'*IL4* ont été rapportés associés à l'asthme mais une association plus forte a été établie entre des variants de l'*IL13* et le taux d'IgE, l'atopie et l'asthme. Outre son rôle dans la production d'IgE, l'IL-13 est impliquée dans la régulation de l'inflammation au niveau des voies aériennes, la sécrétion de mucus et l'HRB [17]. Le gène *IL4R*, situé dans la région 16p21, code pour la chaîne α du récepteur de l'IL-4 qui sert aussi de chaîne α au récepteur de l'IL-13. Les polymorphismes décrits au niveau de l'*IL4R* apparaissent intervenir dans la transduction du signal de l'IL-4 et la production d'IgE par différents mécanismes ([18] pour une revue). Le récepteur $\beta 2$ adrénergique (*ADRB2*), situé dans la région 5q31-32, est une protéine trans-membranaire qui après liaison avec un agoniste active un signal de transduction aboutissant à la relaxation des muscles lisses bronchiques. Des polymorphismes de ce gène sont associés à l'asthme nocturne ou l'asthme sévère et d'autres variants ont un effet sur la modulation de la réponse au traitement par les $\beta 2$ -mimétiques chez les asthmatiques [15]. Bien que moins fréquemment rapportés par les études d'association, d'autres gènes d'intérêt sont situés dans la région 5q : *CD14* qui code pour un récepteur à haute affinité pour les endotoxines bactériennes et qui joue un rôle important dans l'immunité innée [19], la famille des gènes *TIM* récemment caractérisés qui codent pour des protéines transmembranaires exprimées sur les cellules Th2 (*TIM1*) ou Th1 (*TIM3*) [17].

Les gènes du complexe HLA, dans la région 6p21, codent pour des protéines transmembranaires qui jouent un rôle crucial dans la réponse immunitaire en se liant aux peptides dérivés des antigènes et en les présentant aux lymphocytes T via le récepteur des

cellules T. C'est le polymorphisme *HLA-DRB1* qui est apparu principalement associé à la réponse spécifique aux allergènes dans de très nombreuses populations. La région 6p21 contient aussi les gènes des cytokines pro-inflammatoires *TNF α* (*Tumor Necrosis Factor*) et *LTA* (*lymphotoxin-alpha*) qui ont fait l'objet de plusieurs études rapportant des associations avec l'asthme et l'HRB [15].

Le gène du récepteur à haute affinité des IgE (*FCER1B*) est situé dans la région 11q13, la première région trouvée liée à l'atopie. La molécule FC ϵ RI joue un rôle dans le processus allergique en initiant la libération par les mastocytes de médiateurs de l'inflammation et de cytokines qui augmentent en amont la production d'IgE. Des variants de ce gène sont apparus associés à la réponse spécifique aux allergènes, à l'HRB et à l'asthme atopique. Une transmission préférentielle d'allèles de ce gène par les mères a été observée. La région 11q contient d'autres gènes candidats d'intérêt dont le gène *GSTP1*, impliqué dans le stress oxydant et associé à l'asthme et à l'atopie et le gène *CC16* codant pour la protéine CC10 (*Clara cell-specific protein*) impliquée dans la réponse inflammatoire et associée à l'asthme [15].

Outre les régions et gènes candidats précédemment décrits, on peut citer d'autres gènes situés dans des régions fréquemment trouvées liés à l'asthme et aux phénotypes intermédiaires. Le gène *CTLA4* (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*), dans la région 2q33, code pour une molécule exprimée sur les cellules T activées qui se lie aux ligands CD80 et CD86 des cellules présentatrices d'antigènes et transmet un signal négatif aux cellules T. Des associations de polymorphismes de *CTLA4* ont été décrites avec l'atopie, les IgE totales et l'HRB [15]. Le gène du facteur de transcription *STAT6*, dans la région 12q13, joue un rôle central dans transduction du signal par IL-4/IL-13 et le développement des cellules Th2, et est associé à l'asthme atopique et au taux d'IgE [20]. La région 12q contient de nombreux autres gènes candidats dont le gène de l'interféron-gamma (*IFNG*) et le gène *NOS1* (*nitric oxide synthase 1*) associé à l'asthme et au taux d'IgE [21]. Le cluster des gènes, *CCL4*, *CCL5*, *CCL11* dans la région 17q11-17q12, codent pour des chimiokines qui sont impliquées dans l'inflammation allergique et interagissent avec leurs récepteurs (*CCR1*, *CCR3*, *CCR5*) dont les gènes sont situés dans la région 3p21-24; des polymorphismes de ces gènes sont associés à l'atopie ([18] pour une revue). D'autres gènes candidats ne sont pas situés dans des régions de liaison mais jouent un rôle clef dans l'immunité innée ou acquise et ont été récemment rapportés associés à l'asthme. C'est le cas du gène *TLR2* (Toll-like receptor2), un des gènes impliqués dans l'immunité innée, qui est apparu associé à l'asthme chez des enfants vivant dans des fermes [22] et du gène de l'*IL-10*, cytokine anti-inflammatoire régulant à la fois l'immunité humorale et cellulaire, qui est associé au taux d'IgE, au VEMS et à l'asthme [23]. Notons que la plupart des gènes candidats étudiés jusqu'à présent sont majoritairement impliqués dans la réponse immunitaire et que d'autres gènes pouvant jouer un rôle dans des mécanismes tels que l'inflammation, le stress oxydant ou le remodelage bronchique n'ont été encore que peu explorés.

DES CRIBLAGES DU GENOME A L'IDENTIFICATION DE NOUVEAUX GENES

A côté des très nombreuses études de gènes candidats, des efforts considérables ont été faits ces 10 dernières années pour localiser des régions chromosomiques pouvant contenir des gènes potentiellement impliqués dans le développement de l'asthme et des phénotypes intermédiaires par criblage systématique du génome avec des marqueurs anonymes de l'ADN. Actuellement, 14 criblages du génome ont été réalisés dans différents groupes ethniques (européens, australiens, nord-américains, hispaniques, afro-américains, chinois et japonais) mais majoritairement dans des populations européennes ou originaires d'Europe. Les familles étudiées ont été principalement recensées par au moins deux germains asthmatiques [24-27]

et/ou atopiques [28-30] et plus rarement à partir d'un seul sujet asthmatique [31-33] ou de deux apparentés asthmatiques [34] ou sont issues de la population générale [35-37]. Au sein d'une même étude, les proposants étaient le plus souvent à la fois des enfants et de jeunes adultes, plus rarement uniquement des enfants [25, 26, 28, 37] ou des adultes [31]. Les phénotypes principalement examinés par ces criblages incluaient : l'asthme (79% des études), et les IgE totales (64%), moins fréquemment la positivité à au moins un test cutané (définissant l'atopie dans la plus part des études), la présence d'IgE spécifiques, les éosinophiles circulants et la réactivité bronchique (50%), et seules trois études (21%) se sont intéressées aux phénotypes de la fonction ventilatoire.

Nous avons effectué une compilation systématique et exhaustive des résultats des criblages du génome publiés jusqu'en juin 2005, qui nous a permis d'identifier 12 régions plus fréquemment rapportées liées aux différents phénotypes étudiés (tableau 1). Il s'agit des régions : 12q21-24 (huit études indépendantes), 6p24-21 (sept études), 1p31-36 (six études), 5q23-31, 11p15-13 et 13q12-14 (cinq études), 3q21, 11q13-21 et 17q11-21 (quatre études), et 7p14, 16q21-23 et 20p13 (trois études). Comme on peut le voir dans le tableau 1, un phénotype donné apparaît lié à plusieurs régions comme, par exemple l'asthme, pour lequel sept régions principales de liaison ont été caractérisées. Alternativement, une région donnée est souvent liée à plusieurs phénotypes (tableau 1), suggérant l'existence possible de déterminants génétiques communs à ces phénotypes au sein de ces régions (gènes à effet pleiotrope). Pour tester cette hypothèse, nous avons effectué une analyse en composantes principales (ACP) de l'ensemble des résultats (Lod scores) des analyses de liaison génétique de l'étude française EGEA afin de déterminer l'existence possible de régions chromosomiques communes à plusieurs phénotypes. Cette ACP a suggéré l'existence de déterminants génétiques communs à l'asthme, l'atopie et le Phadiatop® d'une part, au VEMS, à la réactivité bronchique et à un score quantitatif des tests cutanés (somme des tests cutanés positifs) d'autre part [33]. Des analyses multivariées de ces phénotypes sont en cours pour caractériser les gènes à effet pleiotrope.

Globalement, les résultats des différents criblages du génome indiquent qu'au moins 12 gènes influenceraient l'asthme et/ou les phénotypes associés à l'asthme (si l'on suppose un gène pour chacune des régions les plus répliquées). Cependant, le fait que certaines régions soient relativement étendues comme par exemple au niveau du bras long du chromosome 2 (tableau 1) qui s'étend sur 100cM, suggère que ces régions pourraient contenir plus d'un gène.

Au cours des trois dernières années, ces criblages du génome ont abouti à l'identification de six gènes potentiellement impliqués dans la susceptibilité à l'asthme et aux phénotypes associés à l'asthme par clonage positionnel. Cependant, la fonction de la plupart de ces gènes est encore le plus souvent mal connue et reste à être élucidée.

Chromosome 20p13 : Le gène *ADAM33* (*A Desintegrin And Metalloprotease-33*) localisé dans la région 20p13 est le premier gène de susceptibilité à l'asthme identifié par clonage positionnel dans des familles britanniques et euro-américaines [27]. Ce gène code pour une protéine faisant partie du groupe des désintégrines et métalloprotéases, qui est exprimée préférentiellement dans les muscles lisses bronchiques et les fibroblastes pulmonaires. Depuis deux ans, 10 études d'association cherchant à répliquer les premiers résultats ont été réalisées dans différentes populations. Les études menées dans les populations caucasiennes retrouvent une association du gène *ADAM33* principalement avec l'asthme et les phénotypes de la fonction ventilatoire, tandis que des associations sont décrites avec la rhinite allergique ou l'HRB dans des populations asiatiques et avec l'asthme, les IgE et la réponse aux tests cutanés dans des populations hispaniques et afro-américaines ([38] pour une revue). Bien que la

fonction du gène *ADAM33* ne soit pas totalement élucidée, ce gène jouerait vraisemblablement un rôle dans le remodelage bronchique et la croissance pulmonaire [39].

Chromosome 13q14 : Le gène *PHF11* (*plant homeodomain finger protein-11*) situé dans la région 13q14, une des régions les plus fréquemment liées à l'asthme et à l'atopie dans différentes populations, est le second gène qui a été cloné. Ce gène a été trouvé initialement associé au taux d'IgE dans plusieurs panels de familles australiennes et britanniques et à l'asthme sévère dans un échantillon de cas/témoins [40]. Une étude récente a rapporté l'association du gène *PHF11* avec la dermatite atopique dans des familles australiennes [41]. Ce gène code pour la protéine NY-REN-34 identifiée initialement chez un sujet atteint d'un cancer du rein et exprimée dans l'estomac, les amygdales et les cellules B. La fonction précise du gène *PHF11* n'est pas connue, toutefois la présence de deux motifs «zinc finger» dans la protéine suggère un rôle de ce gène dans la régulation de la transcription [40].

Chromosome 2q14 : Le gène *DPP10* (*dipeptidyl peptidase-10*). De nombreux criblages du génome pour l'asthme ont suggéré une région de liaison sur le bras long du chromosome 2 (2q14-q35) ([17] pour une revue). Une association significative entre un marqueur situé dans la région 2q15 (D2S308) et l'asthme a été mise en évidence dans des familles australiennes et britanniques [42]. Une étude de criblage fin centrée sur ce marqueur a abouti à l'identification du gène *DPP10* dont des polymorphismes sont apparus associés à l'asthme dans l'échantillon familial initial et dans d'autres échantillons de populations européennes (association avec l'asthme et l'atopie chez des enfants allemands et association avec l'asthme sévère dans une étude cas-témoins britannique). Bien qu'aucun polymorphisme n'ait été détecté dans une partie codante du gène *DPP10*, l'un des variants associé à la maladie altère la séquence d'un élément promoteur et pourrait avoir un impact sur l'expression de *DPP10* [42]. Sur la base de l'homologie de ce gène avec les autres membres de la famille des *DPPs*, le gène *DPP10* pourrait réguler l'activité de différentes chimiokines et cytokines et moduler l'inflammation des voies aériennes du sujet asthmatique [42]. Il pourrait aussi jouer un rôle au niveau des ganglions parasympathiques dans la régulation de la tonicité des muscles lisses au niveau des voies aériennes [17].

Chromosome 7p15 : Le gène *GPRA* (*G protein-coupled receptor for asthma susceptibility*). La région 7p15 est apparue liée de manière significative avec l'asthme et le taux élevé d'IgE dans deux échantillons de familles finlandaises et québécoises [32], cette région ayant été précédemment rapportée par deux autres criblages du génome ([17] pour une revue). Une étude d'association fine au niveau de cette région a conduit à identifier un segment chromosomique associé au taux élevé d'IgE ou à l'asthme et contenant deux gènes : *GPRA* (*G protein-coupled receptor for asthma susceptibility*) et *AAAI* (*asthma-associated alternatively spliced 1*) [43]. La fonction du gène *AAAI* est inconnue. Le gène *GPRA* code pour un récepteur couplé à la protéine G dont l'isoforme B est augmentée dans les cellules épithéliales bronchiques et musculaires lisses des asthmatiques. Une augmentation de l'expression de *GPRA* dans les poumons a été observée dans un modèle murin après inflammation provoquée par sensibilisation à l'ovalbumine. Ces deux observations suggèrent l'implication de *GPRA* dans la physiopathologie de l'asthme [43]. Deux études récentes ont confirmé l'association de polymorphismes du gène *GPRA* avec l'asthme, le taux d'IgE et la sensibilisation allergénique [44, 45].

Chromosome 6p21 : le gène *HLA-G*. La région 6p21 avait montré de nombreux pics de liaison avec l'asthme et les phénotypes de l'atopie ([17] pour des revues) et était considérée comme un locus majeur influençant les maladies allergiques. Récemment, Nicolae et coll. ont mis en évidence l'association d'un polymorphisme du gène *HLA-G* avec l'asthme ou l'HRB

dans quatre échantillons de familles nord-américaines et européennes [46]. La susceptibilité à ce locus est apparue complexe et influencée par des facteurs maternels. Le gène *HLA-G* est exprimé dans les cellules placentaires à l'interface mère-enfant où il joue un rôle important dans l'immuno-régulation incluant la tolérance maternelle vis à vis du fœtus [46]. Ce gène est également exprimé chez les sujets adultes dans les macrophages, les cellules dendritiques et les myoblastes au cours de la réponse inflammatoire et dans les cellules épithéliales bronchiques [46], suggérant qu'il pourrait participer dans la réponse locale inflammatoire aux agents allergiques inhalés.

Chromosome 5q33 : le gène *CYFIP2* (*cytoplasmic FMR1 interacting protein 2*) a été récemment identifié dans des familles japonaises au sein de la région 5q33, région rapportée liée à l'asthme et aux phénotypes de l'atopie par de nombreux criblages du génome [47]. Le gène *CYFIP2* est associé à l'asthme atopique. Ce gène code pour une protéine exprimée dans de nombreux tissus dont les lymphocytes et pourrait être impliqué dans la différenciation des cellules T. D'autres gènes proches de *CYFIP2* pourraient aussi être impliqués, comme le gène *ITK* (un membre de la famille des *tec* kinases) qui joue un rôle dans le développement et l'activation des lymphocytes T. D'autres études sont nécessaires pour confirmer le rôle exact de ces gènes.

INTERACTIONS GENES-ENVIRONNEMENT

L'asthme est une maladie multifactorielle qui résulte à la fois de facteurs génétiques et de facteurs liés à l'environnement et c'est donc l'analyse conjointe des effets et des interactions de ces différents facteurs qui peut permettre de mieux comprendre les mécanismes à l'origine de cette pathologie complexe. Les études des interactions gène x environnement n'en sont encore qu'à leurs prémices, ceci est dû en partie au fait que le rôle de variants génétiques dans l'asthme et l'atopie n'a pu être que récemment conforté par l'accumulation d'études génétiques. Un premier exemple d'interactions gène-environnement (GxE) concerne le système HLA et les expositions professionnelles. Des antigènes HLA de classe II ont été trouvés associés à différents types d'asthme professionnel, impliquant les anhydrides d'acides organiques, les isocyanates, les sels de platine [48]. Un autre exemple d'interaction GxE se situe dans le cadre de l'immunité innée. La réponse aux endotoxines bactériennes est modulée par CD14, un récepteur à la surface des cellules interagissant avec le récepteur TLR4 (Toll-like receptor 4) qui intervient dans la cascade de l'immunité innée. L'association d'un polymorphisme situé dans la région promotrice du gène *CD14* avec l'asthme a été très discutée dans la littérature. L'effet de ce polymorphisme dépend du niveau d'exposition aux endotoxines, étant protecteur vis à vis de l'asthme chez des sujets peu exposés et étant un facteur de risque de l'asthme chez des sujets très exposés, suggérant une interaction gène-environnement [19]. Récemment, des interactions GxE ont été explorées avec un panel de gènes impliqués dans l'équilibre des profils lymphocytaires Th1/Th2 et la fréquentation de la crèche comme marqueur d'exposition à des agents infectieux. L'analyse des interactions entre fréquentation de la crèche au cours de la première année de la vie et 72 polymorphismes de 45 gènes dans l'expression de phénotypes cliniques et immunologiques a mis en évidence six interactions (quatre de ces interactions étant plus vraisemblables après prise en compte des tests multiples). Ces interactions impliquent préférentiellement trois gènes : *NOS3*, *FCER1B* et *IL4RA* [49]. Ces résultats prometteurs démontrent bien l'intérêt d'étendre ces études d'interaction gène-environnement à d'autres voies physio-pathologiques.

En conclusion, des progrès importants ont été réalisés au cours de ces dernières années qui ont permis de caractériser des gènes candidats pertinents et qui ont conduit à l'identification de nouveaux gènes. L'analyse conjointe des gènes et des facteurs d'exposition à l'environnement

(au sens général du terme) apparaît importante pour mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents. Cependant, de nombreux autres gènes restent à être identifiés. Les avancées récentes dans les technologies moléculaires qui permettent le génotypage de milliers de polymorphismes (SNPs, *single nucleotide polymorphisms*) dans des régions candidates et bientôt sur l'ensemble du génome couplées aux développements de méthodes statistiques permettant de considérer simultanément plusieurs gènes [50] vont considérablement faciliter la caractérisation de nouveaux gènes et d'interactions gène-gène et gène-environnement. Pour en garantir le succès, ces approches doivent être appliquées à des données de qualité et de taille importante et les résultats répliqués dans différents échantillons, comme peuvent le favoriser les consortiums européens et internationaux. L'exploration des régions du génome communes à plusieurs maladies allergiques (asthme, rhinite, eczéma) ou à des pathologies impliquant la réponse immunitaire (maladies allergiques et maladies auto-immunes) ou la fonction ventilatoire (asthme et broncho-pneumopathies obstructives) peut aussi s'avérer être une voie de recherche fructueuse. Bien entendu, des études de la fonction des gènes au niveau cellulaire et dans des modèles expérimentaux sont aussi nécessaires pour confirmer et comprendre le rôle des variants génétiques impliqués. Les avancées dans la connaissance des facteurs prédisposant à l'asthme, auxquelles on peut s'attendre dans un futur relativement proche, pourront se traduire par l'amélioration des stratégies de diagnostic, de prévention et de traitement de cette pathologie dont le poids en terme de santé publique est important.

Bibliographie

- [1] Sunyer J., Anto M.M., Tobias A., and Burney P., Generational increase of self-reported first attack of asthma in fifteen industrialized countries. *European Community Respiratory Health Survey (ECRHS)*. *Eur Respir J*. 1999, 14, 885-891.
- [2] Postma D.S., Koppelman G.H., and Meyers D.A., The genetics of atopy and airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000, 162, S118-S123.
- [3] Viegi G., Annesi I., and Matteelli G., Epidemiology of asthma. *European Respiratory Monograph*. 2003, 23, 1-25.
- [4] Siroux V., Pin I., Oryszczyn M.P., Le Moual N., and Kauffmann F., Relationships of active smoking to asthma and asthma severity in the EGEA study. *Epidemiological study on the Genetics and Environment of Asthma*. *Eur Respir J*. 2000, 15, 470-477.
- [5] Romieu I. and Trenga C., Diet and obstructive lung diseases. *Epidemiol Rev*. 2001, 23, 268-287.
- [6] Varraso R., Siroux V., Maccario J., Pin I., and Kauffmann F., Asthma severity is associated with body mass index and early menarche in women. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005, 171, 334-339.
- [7] Strachan D.P., Hay fever, hygiene, and household size. *Bmj*. 1989, 299, 1259-1260.
- [8] Los H., Koppelman G.H., and Postma D.S., The importance of genetic influences in asthma. *Eur Respir J*. 1999, 14, 1210-1227.
- [9] Palmer L.J., Burton P.R., James A.L., Musk A.W., and Cookson W.O., Familial aggregation and heritability of asthma-associated quantitative traits in a population-based sample of nuclear families. *Eur J Hum Genet*. 2000, 8, 853-860.
- [10] Palmer L.J., Knuiman M.W., Divitini M.L., Burton P.R., James A.L., et al., Familial aggregation and heritability of adult lung function: results from the Busselton Health Study. *Eur Respir J*. 2001, 17, 696-702.
- [11] Bouzigon E., Chaudru V., Carpentier A.S., Dizier M.H., Oryszczyn M.P., et al., Familial correlations and inter-relationships of four asthma-associated quantitative phenotypes in 320 French EGEA families ascertained through asthmatic probands. *Eur J Hum Genet*. 2004, 12, 955-963.
- [12] Moffatt M.F. and Cookson W.O., The genetics of asthma. Maternal effects in atopic disease. *Clin Exp Allergy*. 1998, 28 Suppl 1, 56-61; discussion 65-56.
- [13] Palmer L.J., Burton P.R., Faux J.A., James A.L., Musk A.W., and Cookson W.O., Independent inheritance of serum immunoglobulin E concentrations and airway responsiveness. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000, 161, 1836-1843.
- [14] Palmer L.J., Cookson W.O., James A.L., Musk A.W., and Burton P.R., Gibbs sampling-based segregation analysis of asthma-associated quantitative traits in a population-based sample of nuclear families. *Genet Epidemiol*. 2001, 20, 356-372.
- [15] Hoffjan S., Nicolae D., and Ober C., Association studies for asthma and atopic diseases: a comprehensive review of the literature. *Respir Res*. 2003, 4, 14.
- [16] Blumenthal M.N., The role of genetics in the development of asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2005, 5, 141-145.
- [17] Wills-Karp M. and Ewart S.L., Time to draw breath: asthma-susceptibility genes are identified. *Nat Rev Genet*. 2004, 5, 376-387.
- [18] Toda M. and Ono S.J., Genomics and proteomics of allergic disease. *Immunology*. 2002, 106, 1-10.
- [19] Vercelli D., Learning from discrepancies: CD14 polymorphisms, atopy and the endotoxin switch. *Clin Exp Allergy*. 2003, 33, 153-155.
- [20] Gao P.S. and Huang S.K., Genetic aspects of asthma. *Panminerva Med*. 2004, 46, 121-134.
- [21] Gao P.S., Kawada H., Kasamatsu T., Mao X.Q., Roberts M.H., et al., Variants of NOS1, NOS2, and NOS3 genes in asthmatics. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000, 267, 761-763.
- [22] Eder W., Klimecki W., Yu L., von Mutius E., Riedler J., et al., Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers. *J Allergy Clin Immunol*. 2004, 113, 482-488.
- [23] Lyon H., Lange C., Lake S., Silverman E.K., Randolph A.G., et al., IL10 gene polymorphisms are associated with asthma phenotypes in children. *Genet Epidemiol*. 2004, 26, 155-165.
- [24] A genome-wide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. The Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). *Nat Genet*. 1997, 15, 389-392.
- [25] Wjst M., Fischer G., Immervoll T., Jung M., Saar K., et al., A genome-wide search for linkage to asthma. German Asthma Genetics Group. *Genomics*. 1999, 58, 1-8.

- [26] Xu X., Fang Z., Wang B., Chen C., Guang W., et al., A genomewide search for quantitative-trait loci underlying asthma. *Am J Hum Genet.* 2001, 69, 1271-1277.
- [27] Van Eerdewegh P., Little R.D., Dupuis J., Del Mastro R.G., Falls K., et al., Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature.* 2002, 418, 426-430.
- [28] Yokouchi Y., Shibasaki M., Noguchi E., Nakayama J., Ohtsuki T., et al., A genome-wide linkage analysis of orchard grass-sensitive childhood seasonal allergic rhinitis in Japanese families. *Genes Immun.* 2002, 3, 9-13.
- [29] Haagerup A., Bjerke T., Schiotz P.O., Binderup H.G., Dahl R., and Kruse T.A., Asthma and atopy - a total genome scan for susceptibility genes. *Allergy.* 2002, 57, 680-686.
- [30] Kurz T., Altmueller J., Strauch K., Ruschendorf F., Heinzmann A., et al., A genome-wide screen on the genetics of atopy in a multiethnic European population reveals a major atopy locus on chromosome 3q21.3. *Allergy.* 2005, 60, 192-199.
- [31] Xu J., Postma D.S., Howard T.D., Koppelman G.H., Zheng S.L., et al., Major genes regulating total serum immunoglobulin E levels in families with asthma. *Am J Hum Genet.* 2000, 67, 1163-1173.
- [32] Laitinen T., Daly M.J., Rioux J.D., Kauppi P., Laprise C., et al., A susceptibility locus for asthma-related traits on chromosome 7 revealed by genome-wide scan in a founder population. *Nat Genet.* 2001, 28, 87-91.
- [33] Bouzigon E., Dizier M.H., Krähenbühl C., Lemainque A., Annesi-Maesano I., et al., Clustering patterns of LOD scores for asthma-related phenotypes revealed by a genome-wide screen in 295 French EGEA families. *Hum Mol Genet.* 2004, 13, 3103-3113.
- [34] Hakonarson H., Bjornsdottir U.S., Halapi E., Palsson S., Adalsteinsdottir E., et al., A Major Susceptibility Gene for Asthma Maps to Chromosome 14q24. *Am J Hum Genet.* 2002, 71.
- [35] Daniels S.E., Bhattacharrya S., James A., Leaves N.I., Young A., et al., A genome-wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature.* 1996, 383, 247-250.
- [36] Ober C., Cox N.J., Abney M., Di Rienzo A., Lander E.S., et al., Genome-wide search for asthma susceptibility loci in a founder population. *The Collaborative Study on the Genetics of Asthma. Hum Mol Genet.* 1998, 7, 1393-1398.
- [37] Evans D.M., Zhu G., Duffy D.L., Montgomery G.W., Frazer I.H., and Martin N.G., Major quantitative trait locus for eosinophil count is located on chromosome 2q. *J Allergy Clin Immunol.* 2004, 114, 826-830.
- [38] Kere J. and Laitinen T., Positionally cloned susceptibility genes in allergy and asthma. *Curr Opin Immunol.* 2004, 16, 689-694.
- [39] Holgate S.T., Davies D.E., Powell R.M., and Holloway J.W., ADAM33: a newly identified protease involved in airway remodelling. *Pulm Pharmacol Ther.* 2005.
- [40] Zhang Y., Leaves N.I., Anderson G.G., Ponting C.P., Broxholme J., et al., Positional cloning of a quantitative trait locus on chromosome 13q14 that influences immunoglobulin E levels and asthma. *Nat Genet.* 2003, 34, 181-186.
- [41] Jang N., Stewart G., and Jones G., Polymorphisms within the PHF11 gene at chromosome 13q14 are associated with childhood atopic dermatitis. *Genes Immun.* 2005, 6, 262-264.
- [42] Allen M., Heinzmann A., Noguchi E., Abecasis G., Broxholme J., et al., Positional cloning of a novel gene influencing asthma from chromosome 2q14. *Nat Genet.* 2003, 35, 258-263.
- [43] Laitinen T., Polvi A., Rydman P., Vendelin J., Pulkkinen V., et al., Characterization of a common susceptibility locus for asthma-related traits. *Science.* 2004, 304, 300-304.
- [44] Kormann M.S., Carr D., Klopp N., Illig T., Leupold W., et al., G-Protein Coupled Receptor Polymorphisms are Associated With Asthma in a Large German Population. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005.
- [45] Melen E., Bruce S., Doekes G., Kabesch M., Laitinen T., et al., Haplotypes of G Protein-coupled Receptor 154 Are Associated with Childhood Allergy and Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005, 171, 1089-1095.
- [46] Nicolae D., Cox N.J., Lester L.A., Schneider D., Tan Z., et al., Fine mapping and positional candidate studies identify HLA-G as an asthma susceptibility gene on chromosome 6p21. *Am J Hum Genet.* 2005, 76, 349-357.
- [47] Noguchi E., Yokouchi Y., Zhang J., Shibuya K., Shibuya A., et al., Positional Identification of an Asthma Susceptibility Gene on Human Chromosome 5q33. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005.

- [48] Mapp C.E., Boschetto P., Maestrelli P., and Fabbri L.M., *Occupational Asthma. Am J Respir Crit Care Med.* 2005.
- [49] Hoffjan S., Nicolae D., Ostrovnaya I., Roberg K., Evans M., et al., *Gene-environment interaction effects on the development of immune responses in the 1st year of life. Am J Hum Genet.* 2005, 76, 696-704.
- [50] Hoh J. and Ott J., *Mathematical multi-locus approaches to localizing complex human trait genes. Nat Rev Genet.* 2003, 4, 701-709.

Tableau 1 : Principales régions rapportées liées à l’asthme et aux phénotypes associés à l’asthme par quatorze criblages du génome

Phénotypes	1p	2q	3q	5q	6p	7p	11p	11q	12q	13q	16q	17q	20p
Asthme (n=11) ^a	p36-31 (5) ^b p22-12 (1)	q14 (1)	q21-22 (1)	q23-31 (4)	p24-21 (4)	p14-15 (1)		q25 (1) q12 (1)	q15-24 (1) q23 (1) q24 (1) q21-25 (1) q21 (1)	q12 (2) q33 (1)	p12-q21 (1)	p11-q11 (1) q25 (1) q12 (1)	p13 (2)
Positivité à au moins un test cutané (n=6)	p32 (1) p21 (1)	q34 (1)	q13-32 (1)		p21 (2)		p13 (1)	q23-25 (1) q13 (1)	q15 (1)	q14-31 (1) q14 (1) q33-34 (1)		q25 (1) q22-24 (1)	p13-12 (2)
Tests cutanés spécifiques (n=4)	p21 (1)	q34-35 (1)	q12 (1)	q23-33 (1)	p21 (1)		p15 (2)	q22 (1)	q12 (1) q22 (1)	q12 (1)	q24 (1) q21 (1)	q21 (1) q25 (1)	p13-12 (1) p11 (1)
IgE spécifiques (n=6)	p36 (1) p34 (1)	q21-23 (1)	q21-22 (2) q25-26 (1)	q31 (2) q23 (1)	p24-22 (1) p21 (2)	p15 (1)	p15 (1)	q22 (1) q12 (1)	q23-24 (1) q14-22 (1)	q33 (1)		q25 (1)	
IgE totales (n=9)	p36-31 (3)	q22 (1) q24-32 (1) q33 (1)	q21-22 (1) q29 (1)	q23-31 (2)	p21 (3) p24-22 (1)	p14-15 (3)	p15 (1) p13 (1)	q13 (3)	q23-24 (1) q22 (1)	q12-13 (1)	q23 (1)		
Eosinophiles (n=6)	p36 (1)	q33 (1) q24-32 (1)	q21 (1)		p24-21 (3)			q25 (1)	q24-23 (2)	q31 (1)		q23 (1)	p13 (1)
VEMS (n=2)		q22 (1)	q22-23 (1)	q31 (1)		p15 (1)	p13 (1)	q24 (1)					
Réactivité bronchique (n=7)			q26 (1)	q31 (1) q21 (1)		p14 (1)				q12 (1)			
Gènes identifiés par clonage positionnel		DPP10		CYFIP2	HLA-G	GPRA				PHF11			ADAM33

^a Le nombre de criblages du génome ayant analysé le phénotype considéré est indiqué entre parenthèses.

^b Le nombre d’études ayant montré une liaison génétique avec la région considérée pour un phénotype donné est indiqué entre parenthèses.