



Année 2017

N°

## Thèse

Pour le

### DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

**Xavier-Alexandre DARDE**

Né le 01/12/1988 à RODEZ (12)

---

#### TITRE

**Évaluation de l'intérêt de la recherche des réarrangements clonaux des gènes des récepteurs T (TCR) dans l'asthme éosinophilique**

---

Présentée et soutenue publiquement le 7 avril 2017 devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Patrice DIOT, Pneumologie, Faculté de Médecine -Tours

Membres du Jury :

Professeur Sylvain MARCHAND-ADAM, Pneumologie, Faculté de Médecine - Tours

Professeur Emmanuel GYAN, Hématologie, Faculté de Médecine - Tours

Docteur Thomas FLAMENT, Pneumologie, PH, CHU - Tours

**Directeur de thèse : Professeur Sylvain MARCHAND-ADAM, Pneumologie, Faculté de Médecine - Tours**

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS  
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

**DOYEN**  
**Pr. Patrice DIOT**

**VICE-DOYEN**  
Pr. Henri MARRET

**ASSESEURS**  
Pr. Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*  
Pr. Mathias BUCHLER, *Relations internationales*  
Pr. Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*  
Pr. Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*  
Pr. François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*  
Pr. Patrick VOURC'H, *Recherche*

**SECRETAIRE GENERALE**  
Mme Fanny BOBLETER

\*\*\*\*\*

**DOYENS HONORAIRES**  
Pr. Emile ARON (†) – 1962-1966  
**Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962**  
Pr. Georges DESBUQUOIS (†)- 1966-1972  
Pr. André GOUAZE - 1972-1994  
Pr. Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004  
Pr. Dominique PERROTIN – 2004-2014

**PROFESSEURS EMERITES**

Pr. Catherine BARTHELEMY  
Pr. Philippe BOUGNOUX  
Pr. Etienne DANQUECHIN-DORVAL  
Pr. Loïc DE LA LANDE DE CALAN  
Pr. Noël HUTEN  
Pr. Olivier LE FLOCH  
Pr. Yvon LEBRANCHU  
Pr. Elisabeth LECA  
Pr. Gérard LORETTE  
Pr. Roland QUENTIN  
Pr. Alain ROBIER

**PROFESSEURS HONORAIRES**

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – G. BALLON – P. BARDOS – J.L. BAULIEU  
– C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L.  
CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P.  
GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE –  
J. LANSAC – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – G. LELORD – E. LEMARIE – G. LEROY – Y.  
LHUINTRE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH  
– J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – M. ROBERT –  
J.C. ROLLAND – A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – B. TOUMIEUX – J. WEILL

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

---

ALISON Daniel .....	Radiologie et imagerie médicale
ANDRES Christian .....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis .....	Cardiologie
ANGOULVANT Théodora .....	Pharmacologie clinique
ARBEILLE Philippe.....	Biophysique et médecine nucléaire
AUPART Michel .....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique .....	Cardiologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle .....	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe .....	Immunologie
BERNARD Louis .....	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BODY Gilles.....	Gynécologie et obstétrique
BONNARD Christian .....	Chirurgie infantile
BONNET-BRILHAULT Frédérique.....	Physiologie
BRILHAULT Jean .....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck .....	Urologie
BUCHLER Matthias .....	Néphrologie
CALAIS Gilles.....	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
CHANDENIER Jacques .....	Parasitologie, mycologie
CHANTEPIE Alain .....	Pédiatrie
COLOMBAT Philippe .....	Hématologie, transfusion
CONSTANS Thierry.....	Médecine interne, gériatrie
CORCIA Philippe .....	Neurologie
COSNAY Pierre .....	Cardiologie
COTTIER Jean-Philippe .....	Radiologie et imagerie médicale
COUET Charles.....	Nutrition
DE TOFFOL Bertrand .....	Neurologie
DEQUIN Pierre-François .....	Thérapeutique
DESTRIEUX Christophe.....	Anatomie
DIOT Patrice .....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague .....	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri .....	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal .....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam .....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan .....	Réanimation
FAUCHIER Laurent .....	Cardiologie
FAVARD Luc .....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUQUET Bernard .....	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick .....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle .....	Anatomie & cytologie pathologiques
GOGA Dominique.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
GOUDEAU Alain.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe.....	Rhumatologie
GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice .....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUYETANT Serge.....	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier.....	Urologie
HALIMI Jean-Michel .....	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier.....	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis.....	Radiologie et imagerie médicale
LABARTHE François.....	Pédiatrie
LAFFON Marc .....	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile

LARIBI Saïd .....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique .....	Bactériologie-virologie
LAURE Boris .....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry .....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel .....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude .....	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent .....	Dermato-vénérologie
MAILLOT François .....	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain .....	Pneumologie
MARRET Henri .....	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel .....	Dermatologie-vénérologie
MEREGHETTI Laurent .....	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MORINIÈRE Sylvain .....	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa .....	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis .....	Rhumatologie
ODENT Thierry .....	Chirurgie infantile
OUAÏSSI Mehdi .....	Chirurgie digestive
PAGES Jean-Christophe .....	Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles .....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric .....	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Dominique .....	Réanimation médicale, médecine d'urgence
PERROTIN Franck .....	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean .....	Ophthalmologie
QUENTIN Roland .....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
REMERAND Francis .....	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe .....	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe .....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
ROYERE Dominique .....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
RUSCH Emmanuel .....	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline .....	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem .....	Chirurgie digestive
SALIBA Elie .....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
SANTIAGO-RIBEIRO Maria .....	Biophysique et médecine nucléaire
SIRINELLI Dominique .....	Radiologie et imagerie médicale
THOMAS-CASTELNAU Pierre .....	Pédiatrie
TOUTAIN Annick .....	Génétique
VAILLANT Loïc .....	Dermato-vénérologie
VELUT Stéphane .....	Anatomie
VOURC'H Patrick .....	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé .....	Immunologie

## PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

---

LEBEAU Jean-Pierre  
LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie

## PROFESSEURS ASSOCIES

---

### **MALLET Donatien..... Soins palliatifs**

POTIER Alain ..... Médecine Générale  
ROBERT Jean ..... Médecine Générale

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

---

BAKHOS David .....	Physiologie
BARBIER Louise .....	Chirurgie digestive
BERNARD-BRUNET Anne.....	Cardiologie
BERTRAND Philippe .....	Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
BLANCHARD Emmanuelle .....	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
CAILLE Agnès .....	Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
DESOUBEAUX Guillaume .....	Parasitologie et mycologie
DOMELIER Anne-Sophie .....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane .....	Biophysique et médecine nucléaire
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie.....	Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe .....	Néphrologie
GAUDY-GRAFFIN Catherine .....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUILLEUX Valérie .....	Immunologie
GUILLON Antoine.....	Réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie.....	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
HOARAU Cyrille .....	Immunologie
HOURIOUX Christophe.....	Biologie cellulaire
IVANES Fabrice.....	Physiologie
LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine .....	Anatomie et cytologie pathologiques
PIVER Éric.....	Biochimie et biologie moléculaire
ROUMY Jérôme .....	Biophysique et médecine nucléaire
PLANTIER Laurent.....	Physiologie
SAMIMI Mahtab.....	Dermatologie-vénéréologie
TERNANT David.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
ZEMMOURA Ilyess.....	Neurochirurgie

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

---

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia .....	Neurosciences
DIBAO-DINA Clarisse.....	Médecine Générale
LEMOINE Maël.....	Philosophie
MONJAUZE Cécile.....	Sciences du langage - orthophonie
PATIENT Romuald.....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile .....	Médecine Générale

## CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

---

BOUAKAZ Ayache.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
CHALON Sylvie.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
COURTY Yves.....	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
ESCOFFRE Jean-Michel.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
GILOT Philippe .....	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice .....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
GOMOT Marie .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
HEUZE-VOURCH Nathalie .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric .....	Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 930
LE PAPE Alain .....	Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100

MAZURIER Frédéric..... Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292  
MEUNIER Jean-Christophe..... Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966  
PAGET Christophe ..... Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100  
RAOUL William..... Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292  
SI TAHAR Mustapha..... Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM  
1100  
WARDAK Claire..... Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT

---

### ***Pour l'Ecole d'Orthophonie***

DELORE Claire ..... Orthophoniste  
GOUIN Jean-Marie..... Praticien Hospitalier  
MONDON Karl..... Praticien Hospitalier  
PERRIER Danièle ..... Orthophoniste

### ***Pour l'Ecole d'Orthoptie***

LALA Emmanuelle ..... Praticien Hospitalier  
MAJZOUB Samuel ..... Praticien Hospitalier

### ***Pour l'Ethique Médicale***

BIRMELE Béatrice..... Praticien Hospitalier

## SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,  
de mes chers condisciples  
et selon la tradition d'Hippocrate,  
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et  
de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,  
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux  
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira  
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira  
pas  
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,  
je rendrai à leurs enfants  
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime  
si je suis fidèle à mes promesses.  
Que je sois couvert d'opprobre  
et méprisé de mes confrères  
si j'y manque.

## REMERCIEMENTS

Merci :

Au président du Jury,

**Monsieur le Professeur DIOT, doyen de la faculté de médecine de Tours,**

Pour avoir accepté de présider ce jury de thèse, pour votre disponibilité et votre soutien tout au long de ma formation, soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au directeur de thèse et juge,

**Monsieur le Professeur MARCHAND-ADAM, chef de service de Pneumologie,**

Je vous remercie infiniment pour votre aide constante lors de l'élaboration de ce travail, et pour m'avoir formé à la pneumologie tout au long de mon internat. Recevez toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Aux juges :

**Monsieur le Professeur Emmanuel GYAN,**

Pour me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse, recevez toute ma reconnaissance et mon profond respect.

**Docteur Thomas FLAMENT,**

Je te remercie infiniment d'avoir bien voulu juger ce travail. Merci pour ta grande disponibilité, tes encouragements, ton aide précieuse tout au long de mon internat, et ta bonne humeur. Reçois ici l'expression de ma sincère gratitude et de mes remerciements.

Au Docteur Laurent Guillemainault, pour m'avoir fait découvrir la Pneumologie, pour m'avoir guidé tout au long de mon internat même à des milliers de Kilomètres ! Merci pour tous tes précieux conseils, ton écoute attentive, et ta disponibilité. J'aurai la chance de te revoir bientôt.

A tous les médecins du service de Pneumologie, en particulier à Laurent Plantier, Eric Pichon, Pascal Magro, Julie Mankikian, Delphine Carmier pour m'avoir transmis votre savoir tout au long de mon internat.

Aux chefs de clinique que j'ai connu lors de mon internat : Bruno Diot, Thomas Flament, Mada Ghanem et Marion Campana.

Je reviens sur le bon vieux Docteur Flament : au-delà du docteur, je tenais à remercier l'homme que tu es : pour toutes ces blagues et toutes ces conneries que tu m'as transmises pendant ces quatre années. J'ai apprécié le chef de clinique et l'homme. Tu as essayé de me former et ce n'était pas chose facile !

A tous mes anciens et présents cointernes : je pense en particulier à Mada, Maud, Fanny, Marion C, Clairelyne, François, Anne Laure, Guillaume, Camille, Nafy, Charlotte, Tilia, Xing, Marion F, Marion T, Timothi, Nicolas. Merci pour toutes ces blagues et décompensations en stage, et pour toutes ces soirées !

A mon colocataire Ambroise, merci pour toutes ces soupes !

Merci à l'ensemble du service de pneumologie, à toutes ces belles rencontres, merci pour votre soutien, et merci pour m'avoir supporté pendant 4 ans !

A toute l'équipe de pneumologie de Poitiers pour votre accueil chaleureux. Je pense au Professeur Meurice, à Elise Antone, à Mylène Gilbert. Merci à tous mes cointernes poitevins : Laura, Adrien, Christophe, Gaspard pour ce semestre haut en couleur !

A mes parents, merci pour votre inconditionnel amour dont vous m'entourez, pour votre soutien sans faille tout au long de ces longues études de médecine.

A mes sœurs, Karine, Georgia, Rachel et à mon frère Arnaud, vous avez toujours été là dans les bons moments comme dans les moments plus difficiles, merci pour votre amour. Et pour être là aujourd'hui ! Je n'oublie pas les pièces rapportés qui font bien sûr partie de la famille : merci à Ludo le bof, Seb, et Jean-Charles.

A mes neveux et nièces, Lisa Marie, Charles, Clemence, Baptiste, Solène, Elise et Eva.

A mes grands-parents, Papi Paul, Henriette, Papi Jo, et Josette.

A mes beaux-parents, Michel et Cathy, merci pour votre accueil chaleureux, votre gentillesse, votre bienveillance, et votre soutien depuis 8 ans.

A ma tarée de belle-sœur Isabelle, mon beau-frère PJ qui est toujours là quand on a besoin d'aide, et Jean Baptiste.

A Christophe, pour toutes ces aventures depuis ces 14 années d'amitiés et ce n'est pas fini ! C'est quoi la prochaine étape ?

A tous mes anciens co externes et amis pendant ces années d'études et de rigolade: Julien, Arnaud, Thibault, Emilien, mais aussi Anne-Gaëlle, Clémence, j'espère que l'on va se retrouver sur Toulouse !

A Aliénor, la femme de ma vie. Merci d'avoir rempli de bonheur ces huit années passées ensemble.

# RESUME

**Introduction :** L'asthme éosinophilique est considéré comme un phénotype d'asthme à part entière. Il est probable que ce phénotype regroupe différentes pathologies. Le syndrome d'hyperéosinophilie essentiel lymphoïde (SHE-L) est associé à une clonalité des lymphocytes T mis en évidence par des réarrangements clonaux des gènes des récepteurs T (TCR). Le lien entre le SHE-L et l'asthme éosinophilique est inconnu.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'intérêt de la recherche d'un réarrangement clonal du TCR dans l'asthme éosinophilique.

**Matériels et méthodes :** Cette étude observationnelle, rétrospective, bicentrique a inclus des patients du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Tours et du CHU de la Réunion, de 2010 à 2016, qui présentaient un asthme éosinophilique sévère avec au moins une recherche sanguine du réarrangement du TCR. Ces patients étaient divisés en deux groupes TCR « positifs » (TCR+) et TCR « négatifs » (TCR-) selon la présence ou non du réarrangement. Les caractéristiques cliniques, biologiques et fonctionnelles des patients TCR+ ont été comparées aux caractéristiques des patients TCR-.

**Résultats :** Parmi les 44 patients identifiés, 19 étaient TCR+ et 25 TCR-. Les patients du groupe TCR+ présentaient plus d'exacerbations sévères par an ( $p < 0,001$ ) et nécessitaient une pression thérapeutique plus élevée au niveau des doses des corticoïdes oraux ( $p = 0,05$ ) et des corticostéroïdes inhalés ( $p = 0,005$ ). L'éosinophilie maximale était significativement plus élevée chez les patients TCR+ que chez les patients TCR- ( $p = 0,05$ ).

**Conclusion :** Même si nous ne pouvons pas affirmer que la recherche du réarrangement du TCR nous ait permis d'identifier un sous-groupe de patients atteints de SHE-L, notre étude suggère que les patients asthmatiques éosinophiliques semblent plus sévères en termes de nombre d'exacerbations sévères et/ou de charge thérapeutique cortisonique inhalée ou orale lorsqu'ils sont porteurs d'un réarrangement du TCR.

**Mots clés :** Réarrangement clonal des TCR, asthme éosinophilique, syndrome hyperéosinophilique (SHE).

# ABSTRACT

Evaluation of the importance on research for clonal rearrangements of T-cell receptor (TCR) genes in eosinophilic asthma.

**Introduction:** Eosinophilic asthma is considered as a fully asthma phenotype. This phenotype is likely to include different pathologies. The lymphoid hypereosinophilia syndrome (L-HES) is associated with clonality of T lymphocytes demonstrated by clonal rearrangements of T-cell receptor (TCR) genes. The link between L-HES and eosinophilic asthma has not yet been proved.

The objective of this work is to evaluate the importance of the search for a clonal rearrangement of the TCR in eosinophilic asthma.

**Materials and methods:** This observational, retrospective, bicentric study has included patients from the University Hospital Center of Tours and the Reunion Hospital, from 2010 to 2016, who had severe eosinophilic asthma with at least one blood research for TCR rearrangement. These patients had been divided into “positive” (TCR +) versus “negative” (TCR-) TCR groups according to the presence of the rearrangement or not. The clinical, biological and functional characteristics of the TCR + patients were compared to the characteristics of the TCR- patients.

**Results:** Out of the 44 patients identified, 19 were TCR + and 25 TCR-. Patients in the TCR + group had more severe exacerbations per year ( $p < 0.001$ ) and required higher therapeutic pressure concerning the doses of corticosteroids ( $p = 0.05$ ) and inhaled corticosteroids ( $p = 0.005$ ). Maximum eosinophilia was significantly higher in TCR + patients than in TCR - patients ( $p = 0.05$ )

**Conclusion:** Even if we cannot say that the research for TCR rearrangement allowed us to identify a subset of patients with L-HES, our study suggests that eosinophilic asthmatic patients appear to be more severe as regards the number of severe exacerbation and / or inhaled or oral cortisonic therapeutic load when they are carrying a TCR rearrangement.

**Keywords:** Eosinophilic asthma, clonal rearrangement TCR, hypereosinophilia syndrome (HES).

# ABREVIATIONS

TCR : T Cell Receptor

TCR+ = réarrangement clonal des régions variables des gènes des récepteurs des cellules T (TCR) positif

TCR- = réarrangement clonal des régions variables des gènes du TCR négatif

ATS = American Thoracic Society

ERS = European Respiratory Society

CHU = Centre Hospitalier Universitaire

VEMS = Volume Expiratoire Maximal Seconde

GINA = Global INitiative for Asthma

IL5 = Interleukine 5

IgE= Immunoglobuline E

Th2 = T-helper 2

vs = versus

SHE = Syndrome d'HyperEosinophilique

SHE-L = variant Lymphoïde du Syndrome d'HyperEosinophilique

PCR = Polymerase Chain Reaction

CEPRO = Comité d'Évaluation de Protocoles de Recherche Observationnelle

IMC= Indice de Masse Corporelle

RGO = Reflux Gastro-Œsophagien

ACOS = Asthma Copd Overlap Syndrome

## Table des matières

INTRODUCTION.....	14
MATERIELS ET METHODES .....	16
1. Population globale.....	16
1.1 Critères d'inclusions .....	16
1.2 Critères de non inclusions .....	17
2. Réarrangement clonal des TCR.....	17
3. Ethique .....	18
4. Données cliniques .....	18
5. Dosages biologiques.....	18
6. Explorations fonctionnelles respiratoires .....	19
7. Analyses statistiques.....	19
RESULTATS .....	20
1. Description des patients inclus (Figure 1).....	20
2. Caractéristiques cliniques de la population de l'étude (Tableau 1) .....	21
3. Critères biologiques (Tableau 2) .....	22
4. Critères fonctionnels (Tableau 2) .....	22
5. Prise en charge thérapeutique (Tableau 3) .....	23
DISCUSSION .....	24
1. Notre population initiale.....	24
2. Asthme éosinophilique avec TCR positif et anti IL5 .....	25
3. Le syndrome hypereosinophilique essentiel et asthme .....	26
4. Réarrangement TCR pour détecter le SHE-L.....	27
5. Les patients de l'étude étaient-ils des SHE-L ?.....	28
6. Notre étude présente plusieurs limites .....	29
CONCLUSION .....	31
ANNEXES .....	32
Figure 1 : Diagramme de flux .....	32
Tableau 1 : Comparaison des caractéristiques cliniques des patients TCR+ et TCR-.....	32
Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques biologiques et fonctionnelles des patients TCR + et TCR -.....	34
Tableau 3 : Comparaison des thérapeutiques entre les patients TCR+ et TCR- .....	35
BIBLIOGRAPHIE .....	36

# INTRODUCTION

L'asthme est une pathologie fréquente touchant 5 à 7 % de la population française adulte, soit 4 millions de personnes (1). C'est un problème de santé publique dont la prévalence est estimée par l'Organisation Mondiale de la Santé à 235 millions de personnes dans le monde en 2013 (2). L'asthme sévère touche environ 10% des patients asthmatiques, et est responsable d'une mortalité et d'une morbidité importantes (3). Un asthme sévère est un asthme qui requiert un traitement de stade 4 ou 5 avec des doses moyennes à fortes de corticostéroïdes inhalés de l'escalade thérapeutique du Global Initiative for Asthma (GINA) pour maintenir le contrôle des symptômes (4). De nombreux travaux ont démontré que l'asthme sévère est une maladie hétérogène incluant de nombreux phénotypes différents basés sur des paramètres cliniques, biologiques et fonctionnels communs (5). La caractérisation des phénotypes de l'asthme a pour objectif de proposer des stratégies thérapeutiques adaptées à chaque patient. Le phénotype éosinophilique représente plus de 5% de l'ensemble de la pathologie asthmatique (6). Il est caractérisé par un asthme sévère (7), d'apparition tardive entre 25 et 35 ans, avec une inflammation de type Th2. Ces patients asthmatiques sont souvent peu allergiques et cortico-sensibles avec des exacerbations fréquentes (8).

Le bilan effectué chez un asthmatique éosinophilique recherche les causes secondaires d'éosinophilie sanguine comme les médicaments, les parasitoses, les vascularites, une aspergillose bronchopulmonaire allergique. Une éosinophilie primitive, aussi appelée syndrome hyperéosinophilique (SHE) idiopathique, peut être également recherchée. Ce syndrome est soit de type myéloïde et habituellement caractérisé par la présence d'une mutation du FIP1L1, soit de type lymphoïde ou variant lymphoïde du syndrome hyperéosinophilique (SHE-L) lorsqu'une monoclonalité lymphocytaire T est identifiée. Les lymphocytes T monoclonaux dans SHE-L présentent un immunophénotype de surface cellulaire aberrant (CD3- CD4+) et produisent une quantité accrue de l'interleukine-5 (IL-5)

(9), qui a un rôle prédominant dans la différenciation, la maturation et la migration des éosinophiles sanguins. La clonalité des lymphocytes T dans le SHE-L est suggérée par la découverte de réarrangements clonaux des gènes des régions variables des récepteurs des cellules T (TCR) (10). Au cours des atteintes éosinophiliques avec une atteinte d'organe préférentielle, comme dans le cas de l'asthme éosinophilique, peu d'études se sont intéressées au rôle des cellules T clonales circulantes anormales.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'intérêt de la recherche d'un réarrangement clonal du TCR dans l'asthme sévère éosinophilique en comparant les caractéristiques cliniques, biologiques et fonctionnelles des patients ayant un réarrangement clonal des TCR positif (TCR+) à ceux n'ayant pas de réarrangement clonal des TCR (TCR-).

# MATERIELS ET METHODES

## 1. Population globale

Une étude observationnelle, rétrospective, bicentrique a été menée à partir des données de patients du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Tours et du CHU de la Réunion de 2010 à 2016. Tous les patients asthmatiques suivis en pneumologie dans ces deux centres ayant eu au moins un prélèvement sanguin à la recherche d'un réarrangement clonal des TCR ont été sélectionnés. La raison de la réalisation d'une recherche de réarrangement clonal des TCR chez ces patients était la présence d'une éosinophilie sanguine chez un patient présentant un asthme sévère. Le recueil de données a été réalisé à partir des dossiers médicaux papiers et informatiques de chaque patient.

### 1.1 Critères d'inclusion

-Le diagnostic d'asthme : le diagnostic d'asthme a été posé par un pneumologue sur la base de symptômes respiratoires compatibles et/ou sur le critère fonctionnel d'un trouble ventilatoire obstructif défini selon les recommandations de l'American Thoracic Society (ATS) et de l'European Respiratory Society (ERS) (3).

-Un phénotype éosinophile : l'inflammation éosinophilique de l'asthme est définie par la présence d'une éosinophilie dans l'expectoration de plus de 3%. Or l'éosinophilie dans l'expectoration n'est pas un examen réalisable en pratique courante, et nécessite des laboratoires avec du personnel qualifié (11). Une éosinophilie sanguine de plus de 0,41 G/L est associée à une éosinophilie dans l'expectoration de plus de 3% dans 95% des cas (12) (13) (14). Nous avons donc inclus les patients présentant une éosinophilie maximale supérieure ou égale à 0,5 G/L avec ou sans corticoïdes oraux.

## **1.2 Critères de non inclusion**

Les critères de non-inclusion étaient les causes évidentes d'éosinophilie secondaire comme une parasitose active, ou une prise médicamenteuse compatible et l'absence de données suffisantes dans le dossier médical.

Ces patients asthmatiques suivis en pneumologie ayant eu une recherche de réarrangement clonal sanguin du TCR ont été séparés en deux groupes selon la présence ou non du réarrangement. Le recueil des données de chaque patient a débuté à partir de l'année où a été effectuée la première recherche du réarrangement du TCR.

## **2. Réarrangement clonal des TCR**

L'ADN génomique était extrait à partir de sang total avec un automate d'extraction (Qiasymphony, qiagen). Les ADN obtenus étaient ensuite quantifiés par méthode spectrophotométrique (nanodrop) avant d'être amplifiés par Polymerase Chain Reaction (PCR). Les protocoles d'analyse ainsi que les amorces utilisés correspondaient à ceux mis au point par le Consortium Européen BIOMED-2 (15). La clonalité T était ainsi déterminée en utilisant des amorces spécifiques de l'amplification du TCR gamma. A la suite de la PCR, le profil poly / mono clonal était analysé par électrophorèse capillaire en utilisant des amorces fluorescentes et en ayant recours au séquenceur de type Applied Biosystems. La présence ou l'absence d'un pic majoritaire permettait de déterminer la présence ou non d'une population monoclonale de lymphocytes sur la base de l'évaluation globale du modèle électrophorétique (16).

### **3. Ethique**

En accord avec la législation française, un consentement éclairé et l'accord d'un comité d'éthique ne sont pas indispensables pour une étude rétrospective de recueil de données correspondant à la pratique courante. Cependant, l'accord du Comité d'Évaluation de Protocoles de Recherche Observationnelle (CEPRO) de la Société de Pneumologie de Langue Française a été obtenu : **Référence : CEPRO 2016-035**. Les données ont été rendues anonymes et compilées en accord avec les recommandations de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL).

### **4. Données cliniques**

Les critères cliniques recueillis étaient l'âge, le sexe, l'Indice de Masse Corporelle (IMC), la présence d'un Reflux Gastro-Œsophagien (RGO), le tabagisme (actif ou sevré), le nombre de paquets-années (PA), le nombre d'exacerbation sévère ayant conduit à une hospitalisation ou un passage aux urgences pour exacerbation d'asthme lors du suivi de ces patients. La présence d'une atopie était définie par au moins un test cutané positif à un pneumallergène autre que l'aspergillus. La pression thérapeutique était appréciée en fonction de la dose seuil quotidienne de corticostéroïdes inhalés en équivalent béclométhasone par jour nécessaire pour le contrôle de l'asthme. La présence d'une corticothérapie orale prolongée était définie comme une prise quotidienne de plus de 7,5 mg/ jour de corticoïdes pendant plus de 3 mois. En cas de corticothérapie orale prolongée, la dose seuil permettant le contrôle de l'asthme était recueillie.

### **5. Dosages biologiques**

Les critères biologiques recueillis étaient l'éosinophilie maximale sur l'ensemble du suivi, l'éosinophilie lors du dosage du TCR, l'éosinophilie maximale depuis la réalisation du TCR,

les Immunoglobulines E (IgE) totales maximales lors du suivi des patients.

Le dosage des IgE totales était réalisé par technique immuno-enzymatique (ImmunoCAP IgE totales) (Thermo Fisher Scientific. Phadia AB, Uppsala, Suède) et exprimé en kUI/L.

L'hémogramme était réalisé par un automate Coulter LH 780 analyzer Beckman.

## **6. Explorations fonctionnelles respiratoires**

La spirométrie était réalisée sur un des appareils Sensormedics Vmax Encore (CarefusionR ; San Diego, CA) et Masterscreen Body (Jaeger, Viasys, Allemagne), selon les recommandations de l'ERS pour la spirométrie forcée (17). Le volume expiratoire maximum en une seconde (VEMS) était exprimé en pourcentage de la valeur de référence. La valeur du VEMS au moment de la réalisation du TCR, ainsi que la meilleure valeur de VEMS enregistrée au cours du suivi, ont été retenues.

## **7. Analyses statistiques**

Les résultats ont été exprimés en médiane [minimale ; maximale]. Le test de Mann Whitney a été utilisé pour comparer le groupe des patients TCR + et le groupe TCR -, en analysant les données continues recueillies. Un test de Chi 2 ou un test exact de Fischer ont été utilisés pour l'analyse des données nominatives. Un p inférieur ou égal à 0,05 était considéré comme significatif.

# RESULTATS

## 1. Description des patients inclus (Figure 1)

Cinquante-quatre patients ayant eu un prélèvement à la recherche d'une clonalité sanguine des TCR ont été sélectionnés à partir des données du laboratoire de biologie moléculaire pendant la période de 2010 à 2016. Parmi ces 54 patients, 4 patients ne présentaient pas d'éosinophilie sanguine maximale supérieure à 0,5G/L, 3 patients n'avaient pas de diagnostic d'asthme, et 3 patients ne présentaient pas de données suffisantes dans leurs dossiers médicaux. Sur les 44 patients retenus, 19 avaient un prélèvement montrant un réarrangement du TCR « positif » (TCR+) et 25 avaient un prélèvement « négatif » (TCR-) comme représenté sur le diagramme de flux (Figure 1).

## 2. Caractéristiques cliniques de la population de l'étude (Tableau 1)

Les deux groupes étaient comparables sur les critères cliniques tels que le sexe, l'âge et l'IMC (Tableau 1). L'âge médian était de 66 ans [45;91] dans le groupe TCR+ et de 62 ans [24;88] dans le groupe TCR- ( $p=0,22$ ).

Les patients avaient un IMC identique entre les 2 groupes et étaient majoritairement en surpoids ( $p=0,47$ ).

Les patients des deux groupes présentaient un RGO à hauteur de 31% dans le groupe TCR+ contre 44% dans le groupe TCR- ( $p=0,46$ ).

Il n'y avait pas de différence entre les deux groupes sur le tabagisme avec 42 % de fumeurs chez les TCR+ et 40% chez les TCR- ( $p=1,00$ ). Le nombre de paquets années n'était pas différent entre les fumeurs des deux groupes ( $p= 0,77$ ).

La proportion de patients atopiques était semblable entre les deux groupes 31% versus 40% respectivement chez les TCR+ versus TCR- ( $p =1,00$ ).

Les patients du groupe TCR+ présentaient significativement plus d'exacerbations sévères (définies par un passage aux urgences ou une hospitalisation) avec un nombre médian d'exacerbations par patient et par année de suivi depuis le diagnostic moléculaire de 1 [0 ; 6] versus 0 [0 ; 0,5] dans le groupe TCR- ( $p<0,0001$ ).

Certains des patients des deux groupes avaient des manifestations extra-thoraciques d'hypereosinophilie essentiellement cutanées et neurologiques (7/19 soit 36% dans le groupe TCR+ et 6/25 soit 24% dans le groupe TCR-,  $p =0, 43$ ).

Enfin, la positivité de la recherche de réarrangement du TCR pouvait évoluer dans le temps chez nos patients. Des patients TCR+ avaient une négativation de la recherche du réarrangement ( $n= 8/19$  soit 42%). Il semble y avoir une amélioration du contrôle au décours de la négativation de la clonalité sanguine, cependant les effectifs sont trop faibles pour pouvoir l'analyser.

### **3. Critères biologiques (Tableau 2)**

L'éosinophilie lors de la recherche du TCR était similaire dans les deux groupes, de 0,84G/L [0 ; 8,89] chez les patients du groupe TCR+, et de 0,61 G/L [0 ; 3,37] chez les patients du groupe TCR- (p=0,55). Dans le groupe TCR+, les mesures de l'éosinophilie maximale réalisées après la recherche de TCR étaient significativement plus élevées que dans le groupe TCR- (1,8 G/L [0,33 ; 14,5] et 1,06 G/L [0,06 ; 3,37], respectivement, p=0,05).

Les IgE totales maximales n'étaient pas différentes entre les deux groupes (p=0,21).

Quatre patients TCR + ont bénéficié d'un dosage de l'IL5. Un patient sans corticothérapie orale avait un taux de 142 UI/ml alors que l'IL5 était non dosable chez les 3 autres patients sous corticothérapie orale (médiane à 25 mg/j). Il n'y a pas eu de dosage réalisé chez les TCR-.

### **4. Critères fonctionnels (Tableau 2)**

Sur le plan spirométrique, le meilleur VEMS obtenu au cours du suivi n'était pas significativement différent entre les deux groupes, (88% [53;109] de la théorique chez les TCR+ et de 91% [45;129] chez les TCR-, p= 0,30).

Soixante-trois pour cent (12/19) des patients du groupe TCR+ ont gardé un trouble ventilatoire obstructif après bronchodilatateurs versus 68% (17/25) chez les patients TCR- (p=0,8).

## 5. Prise en charge thérapeutique (Tableau 3)

Tous les patients inclus étaient des asthmatiques sévères avec des doses moyennes ou élevées de corticostéroïdes inhalés parfois associés à une corticothérapie orale et/ou un épargneur cortisonique (palier 4 ou 5 du GINA).

La dose médiane de corticostéroïdes inhalés prescrite était significativement plus élevée chez les patients du groupe TCR+ 2000 µg [800 ; 4000] d'équivalent beclométhasone par jour que chez les TCR- 1000 µg [200 ; 4000] /jour p= 0,005.

Les patients TCR+ qui ont eu une corticothérapie orale prolongée tendaient à être plus nombreux que les patients du groupe TCR- au cours de leur suivi, respectivement 63% versus 36% p= 0,13.

Les patients du groupe TCR+ avaient une dose seuil médiane de corticoïdes oraux prescrite pour maintenir un contrôle de l'asthme plus élevée 10 mg [0;40] par jour que les TCR- 0 mg [0;20] par jour p=0,05.

Le pourcentage de patients recevant des thérapeutiques à visée d'épargne cortisonique était identique entre les deux groupes. Onze pour cent des patients TCR+ (2/19) ont reçu de l'omalizumab versus 20% (5/25) chez les patients TCR- (p =0,6). Trente-deux pour cent (6/19) ont reçu des immunosuppresseurs (tels que la ciclosporine, le cyclophosphamide ou le méthotrexate) contre 16% (4/25) dans le groupe TCR- (p=0,3).

A noter que 2 de nos patients TCR+ ont bénéficié d'un traitement par mépolizumab. Ces 2 patients ont arrêté précocement le traitement pour intolérance ne permettant pas de juger de l'efficacité clinique mais leur éosinophilie sanguine (>0,5 G/L) persistante sous corticothérapie orale disparaissait sous mépolizumab.

# DISCUSSION

Dans notre population d'asthmatique éosinophilique sévère, les patients présentant un réarrangement clonal sanguin des TCR semblent avoir les particularités suivantes : avoir une éosinophilie sanguine plus importante, être plus sévères en terme de nombre d'exacerbations sévères (ayant conduit à une hospitalisation ou un passage aux urgences) et être plus sévères en termes de charge thérapeutique nécessaire au contrôle de leur asthme représentée par des doses journalières de corticothérapie plus importante, administrées aussi bien par voie inhalée que par voie orale.

## 1. Notre population initiale

Notre population initiale chez qui la recherche de réarrangement du TCR était réalisée est particulière. Il s'agissait d'une population d'asthmatique avec une éosinophilie (médiane à 1,1 G/L), avec un âge médian supérieur à 60 ans également répartie entre les hommes et les femmes.

Peu de ces patients présentaient une atopie comparativement au phénotype le plus répandu que sont les asthmatiques allergiques d'apparition précoce. Ils ne représentaient donc pas une population d'asthmatiques habituels mais répondaient bien aux critères d'asthme sévère éosinophilique décrit dans les études de cluster de Haldar et Moore (8) où la population est caractérisée par un âge moyen de 50 ans, un IMC autour de 27 kg/m<sup>2</sup>, des doses de corticoïdes inhalées autour de 914 µg par jour, 36,8% de corticothérapie orale, et une fréquence de 1,23 exacerbations sévères par an.

## **2. Asthme éosinophilique avec TCR positif et anti IL5**

Dans notre étude, la présence d'un réarrangement clonal sanguin des TCR semblait individualiser un sous-groupe au sein des patients avec un asthme éosinophilique qui serait plus sévère sur le plan clinique et qui nécessiterait une pression thérapeutique plus élevée pour un bon contrôle de l'asthme. Une meilleure caractérisation des sous-groupes d'asthme éosinophilique permettrait de mieux définir les patients pouvant bénéficier des nouvelles thérapeutiques ciblant les cytokines impliquées dans l'inflammation de type Th2. Le mepolizumab est un anticorps humanisé anti IL5 dont l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) est l'asthme sévère à éosinophiles. Le mepolizumab permet une épargne cortisonique pour arriver à une dose en dessous de 5 mg/jour chez 54% des patients (18) et permet d'éviter en moyenne une exacerbation cliniquement significative par patient et par an par rapport au patient sous placebo (19). Il n'a pas été encore défini de critères prédictifs de réponse ou de non réponse à cet anti-IL5. Nos patients avec réarrangement du TCR avaient une éosinophilie plus importante et une corticodépendance évoquant un rôle de l'IL5 dans leur inflammation susceptible de répondre à un traitement par mepolizumab. Sur 4 patients TCR+ ayant bénéficié d'un dosage de l'IL5, un seul présentait des taux d'IL5 sérique élevés mais c'était le seul à ne pas recevoir de corticothérapie orale au moment du dosage. Deux autres de nos patients TCR+ ont bénéficié d'un traitement par mepolizumab. Les deux ont montré une réponse positive biologique avec disparition de l'éosinophilie mais les deux ont arrêté précocement le traitement pour intolérance (céphalées) ne permettant pas de juger de l'efficacité clinique sur le contrôle de l'asthme.

### **3. Le syndrome hyperéosinophilique essentiel et asthme**

Une récente conférence de travail d'experts a défini le syndrome d'hyperéosinophilie (SHE) idiopathique par la présence d'une éosinophilie sanguine supérieure à 1,5 G/L à deux reprises pendant plus de 6 mois, des dysfonctionnements d'organes attribuables à l'infiltration éosinophilique, et l'exclusion des autres causes d'éosinophilie réactionnelles. Les variants lymphoïdes (SHE-L) représentent environ 20 % des SHE et touchent aussi bien les hommes que les femmes. L'atteinte cutanée, les adénopathies périphériques, et l'atteinte articulaire sont fréquentes. Le pronostic dépend de l'atteinte cardiaque. L'atteinte pulmonaire est présente dans moins de 20 % des cas. Elle est peu décrite et peut se présenter sous la forme d'une toux, d'un épanchement pleural, d'opacités alvéolaires ou sous la forme d'un asthme. Le SHE-L est une maladie du lymphocyte T résultant de la production de cytokines (principalement IL5) par des lymphocytes Th2 clonaux ayant un phénotype immunologique aberrant (CD3<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup>). L'évolution peut se faire vers un lymphome T ou un syndrome de Sézary (20). Le SHE-L est caractérisé par une corticosensibilité mais aussi une corticodépendance.

Des données récentes suggèrent que le mépilizumab est efficace pour limiter les doses de corticoïdes chez les patients atteints de SHE FIP1L1 négatifs (21) (22). L'existence de populations T sécrétrices d'IL5 a permis de justifier l'utilisation du mépilizumab dans ces syndromes (23).

#### **4. Réarrangement du TCR pour détecter le SHE-L**

Après diagnostic d'un SHE, la détermination de la variante lymphoïde (SHE-L) est difficile et repose sur la mise en évidence de cellules T de phénotype aberrant lors du phénotypage lymphocytaire et/ou sur une analyse du réarrangement du récepteur lymphocytaire T (clonalité T).

Lorsqu'on s'intéresse uniquement à la recherche d'un réarrangement du TCR pour détecter un SHE-L, sa sensibilité est élevée, supérieure à 95% (24) même si des faux négatifs sont possibles avec des réarrangements de gènes spécifiques de clones rares qui ne se lient à aucune des amorces dans le mélange multiplex BIOMED-2. La spécificité reste débattue. Sur une série de 21 patients atteints de SHE-L, Lefèvre et al ont retrouvé un réarrangement des TCR+ chez 21% des patients présentant un syndrome d'hyperéosinophilie myéloïde FIP1L1 positif, soit 21% de faux positifs.

Ainsi, la présence d'un réarrangement clonal des gènes de récepteur de lymphocyte T ne correspond pas toujours à la présence d'une population clonale lymphocytaire T. Les faux positifs pourraient résulter de l'échantillonnage par inadvertance d'un clone de cellules T prédominant à partir d'une population polyclonale (24).

Enfin, le statut TCR positif ou négatif semble évoluer avec le temps (20). En effet, des patients positifs peuvent devenir négatifs sur des prélèvements ultérieurs, peut-être en relation avec une diminution du contingent clonal T sous traitement (20). Une augmentation du contingent T peut se retrouver en cas d'évolution vers un lymphome T.

## **5. Les patients de l'étude étaient-ils des SHE-L ?**

Parmi nos patients, 31% (6/19) patients présentaient les critères cliniques de SHE. Certains avaient des manifestations extra-thoraciques d'éosinophilie (7/19 soit 36%). Aucun de nos patients testés (21/44 soit 47%) n'avait de réarrangement FIP1L1/PDGFRalpha.

Dans les SHE-L, les populations clonales T aberrantes les plus décrites dans la littérature sont CD3- CD4+. Il s'agit d'une population lymphocytaire représentant une médiane de 6% (0,5 à 96%) des lymphocytes T circulants et qui produisent une très grande quantité d'IL5 (20).

Dans notre étude, seulement cinq patients TCR+ avaient pu bénéficier d'un immunophénotypage lymphocytaire T à la recherche de cette population aberrante CD3-CD4+. Ils avaient des taux qui variaient entre 0,5% et 1,6% des lymphocytes T. Cependant, il n'y a pas de données sur la proportion nécessaire de clone CD3-CD4+ circulant pour poser le diagnostic de SHE-L. De plus, l'absence de clone CD3-CD4+ circulant sanguin n'est probablement pas représentative d'une éventuelle infiltration spécifique par cette population d'un organe comme le poumon. Aucun de nos patients n'avait eu de recherche de cette population dans des prélèvements histologiques ou cytologiques pulmonaires.

Nous ne pouvons pas affirmer que l'ensemble ou une partie de nos patients TCR+ étaient des SHE-L. Chez les patients atteints de maladies pulmonaires éosinophiles, il est suspecté que les cellules T avec réarrangements clonaux de TCR pourraient participer à la pathogenèse de l'éosinophilie (25).

## **6. Notre étude présente plusieurs limites**

Tout d'abord, il s'agit d'une étude rétrospective. Nous avons sélectionné des patients présentant un asthme éosinophilique pour lesquels une recherche de réarrangement du TCR a été demandée.

Il est nécessaire de mieux définir les patients qui pourraient bénéficier de ce prélèvement. Nos critères d'inclusion sont larges et la population sélectionnée est assez hétérogène: il s'agit de patients asthmatiques sévères malgré des fortes doses de corticostéroïdes inhalés et une éosinophilie non nulle sous corticothérapie.

Le suivi des patients lors de l'étude a débuté l'année du prélèvement du TCR jusqu'à fin 2016, date de la fin du recueil des données. En effet, les données avant cette mise en évidence sont trop incomplètes pour être exploitées. Nous n'avons donc analysé qu'une partie de l'histoire asthmatique des patients.

Les scores de contrôle de l'asthme n'ont pas pu être recueillis de manière rétrospective, ce qui ne permet pas de juger complètement du bon contrôle de l'asthme. Nous avons également peu de données sur l'observance aux traitements des patients.

Le statut TCR positif ou négatif semble évoluer avec le temps chez nos patients. Nous avons pu remarquer que le contrôle de l'asthme s'améliore avec la négativation de la clonalité sanguine sans toutefois pouvoir l'analyser.

Le meilleur moment pour la recherche du réarrangement du TCR dans le suivi du patient asthmatique reste à déterminer. En effet, lorsque le patient n'est pas contrôlé et avec une éosinophilie sanguine élevée, il est le plus susceptible d'avoir un réarrangement positif s'il existe une population CD3- CD4+. L'intérêt d'un immunophénotypage T de contrôle en cas de réarrangement positif doit être discuté.

Une faible partie de nos patients avait réalisé un immunophénotypage T (5/19 soit 26%) pour confirmer la présence d'une population lymphocytaire T aberrante productrice d'IL5 qui pourrait participer à la pathogenèse de l'éosinophilie.

Enfin, nos patients présentaient un tabagisme similaire dans les deux groupes. Il existe peu de données sur les patients asthmatiques fumeurs, les patients présentant un tabagisme supérieur à 10 PA étant souvent exclus des études. Nos patients étaient en majorité non-fumeurs, les fumeurs étaient en majorité des anciens fumeurs. Nous ne pouvons cependant pas exclure que certains de nos patients présentaient des asthmes et BPCO intriquées (Asthma COPD Overlap Syndrome (ACOS)).

# CONCLUSION

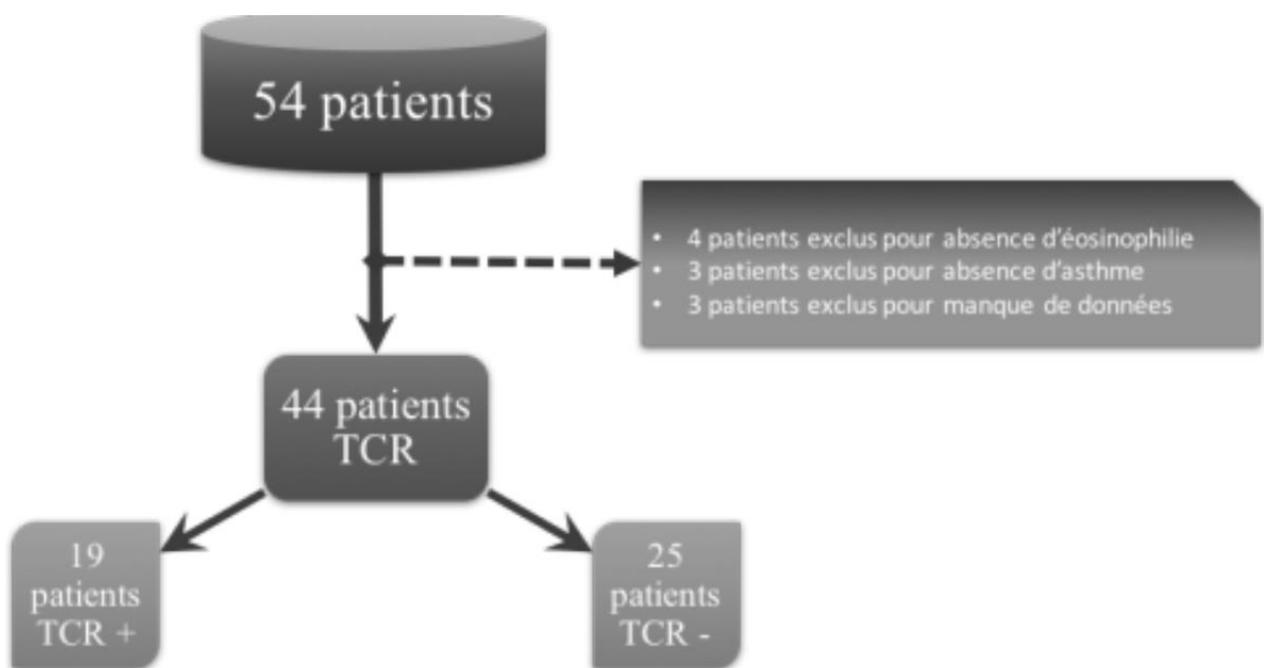
Même si nous ne pouvons pas affirmer que la recherche du réarrangement du TCR nous ait permis d'identifier des patients atteints de SHE-L, notre étude suggère que les patients asthmatiques éosinophiliques sont plus sévères en termes de nombre d'exacerbations sévères et/ou de charge thérapeutique cortisonique inhalée ou orale lorsqu'ils sont porteurs d'un réarrangement du TCR.

Il semble donc y avoir un intérêt à la recherche du réarrangement du TCR chez les patients asthmatiques éosinophiliques afin d'identifier les patients plus sévères et qui nécessiteront une pression thérapeutique plus élevée.

Des études prospectives ou des analyses post hoc des précédentes études portant sur le bénéfice des anti-IL5 dans l'asthme sont nécessaires pour savoir si la présence d'un réarrangement du TCR est un marqueur prédictif de réponse aux anti-IL5.

# ANNEXES

**Figure 1 : diagramme de flux**



TCR : T Cell Receptor

**Tableau 1 : Comparaison des caractéristiques cliniques des patients TCR+ et TCR-**

	Patients groupe « TCR + » (n=19)	Patients groupe « TCR - » (n=25)	p
<b>Critères cliniques</b>	<b>Médiane [min ; max]</b>	<b>Médiane [min ; max]</b>	
Age, années	66[45;91]	61,5[24;88]	0,22
Sexe masculin (%)	11/19 (57)	13/25 (52)	0,9
<b>Comorbidités</b>			
IMC, kg/m <sup>2</sup>	25[14;28]	26[18;34]	0,47
RGO (%)	6/19 (31)	11/25 (44)	0,46
Tabagisme (%)			1
Non fumeur	11/19 (57)	15/25 (60)	
Tabagisme actif	2/19 (10)	2/25 (8)	
Ancien fumeur	6/19 (31)	8/25 (32)	
Nombre PA	0[0;35]	0[0;40]	0,77
Présence d'une atopie (%)	6/19 (32)	10/25 (40)	1
<b>Sévérité clinique</b>			
Nombre d'exacerbations par patient et par an	1[0;6]	0[0;0,5]	<0,0001

TCR : T Cell Receptor ; RGO : Reflux Gastro-œsophagien, PA : Paquets-Années ; IMC : Indice Masse Corporelle.

**Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques biologiques et fonctionnelles des patients TCR+ et TCR-**

	Patients groupe « TCR + » (n=19)	Patients groupe « TCR - » (n=25)	p
Eosinophilie au TCR, G/L	0,84 [0;8,89]	0,61 [0;3,37]	0,55
Eosinophilie maximale depuis TCR, G/L	1,8 [0,33;14,5]	1,06 [0,06;3,37]	0,05
Eosinophilie maximale, G/L	1,85 [0,6;20]	1,35 [0,56;7,5]	0,16
IgE totales maximales, kUI/L	250 [5;2560]	315 [55;7330]	0,21
VEMS maximal, %	88% [53;109]	91% [45;129]	0,3

TCR : T Cell Receptor ; VEMS : Volume Expiratoire Maximal en une Seconde.

**Tableau 3 : Comparaison des thérapeutiques entre les patients TCR+ et TCR-**

	Patients groupe « TCR + » (n=19)	Patients groupe « TCR - » (n=25)	p
Corticothérapie orale prolongée (%)	12/19 (63%)	9/25 (36%)	0,13
Dose seuil corticoïdes oraux, mg/jour	10 [0;40]	0 [0;20]	0,05
Dose seuil corticostéroïdes inhalés, équivalent µg de beclométhasone / jour	2000 [800;4000]	1000 [200;4000]	0,005
Traitements épargneurs de corticoïdes (%)			
-Aucun	11/19 (57%)	16/25 (64%)	0,19
-Omalizumab	2/19 (11%)	5/25 (20%)	0,6
-Immunosuppresseurs	6/19 (32%)	4/25 (16%)	0,3

TCR : T Cell Receptor

# BIBLIOGRAPHIE

1. Delmas M-C, Fuhrman C, pour le groupe épidémiologie et recherche clinique de la SPLF. [Asthma in France: a review of descriptive epidemiological data]. *Rev Mal Respir.* févr 2010;27(2):151-9.
2. WHO | Asthma [Internet]. WHO. [cité 4 déc 2016]. Disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs307/en/>
3. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J.* févr 2014;43(2):343-73.
4. Global Initiative for Asthma [Internet]. Global Initiative for Asthma - GINA. [cité 19 févr 2017]. Disponible sur: <http://ginasthma.org/>
5. Hekking P-PW, Bel EH. Developing and emerging clinical asthma phenotypes. *J Allergy Clin Immunol Pract.* déc 2014;2(6):671-680; quiz 681.
6. de Groot JC, Ten Brinke A, Bel EHD. Management of the patient with eosinophilic asthma: a new era begins. *ERJ Open Res.* mai 2015;1(1).
7. Amelink M, de Groot JC, de Nijs SB, Lutter R, Zwinderman AH, Sterk PJ, et al. Severe adult-onset asthma: A distinct phenotype. *J Allergy Clin Immunol.* août 2013;132(2):336-41.
8. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, Berry MA, Thomas M, Brightling CE, et al. Cluster Analysis and Clinical Asthma Phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 août 2008;178(3):218-24.
9. Lefèvre G, Copin M-C, Roumier C, Aubert H, Avenel-Audran M, Gardel N, et al. CD3-CD4+ lymphoid variant of hypereosinophilic syndrome: nodal and extranodal histopathological and immunophenotypic features of a peripheral indolent clonal T-cell lymphoproliferative disorder. *Haematologica.* août 2015;100(8):1086-95.
10. Simon HU, Plötz SG, Dummer R, Blaser K. Abnormal clones of T cells producing interleukin-5 in idiopathic eosinophilia. *N Engl J Med.* 7 oct 1999;341(15):1112-20.
11. ten Brinke A, de Lange C, Zwinderman AH, Rabe KF, Sterk PJ, Bel EH. Sputum induction in severe asthma by a standardized protocol: predictors of excessive bronchoconstriction. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 sept 2001;164(5):749-53.
12. Westerhof GA, Korevaar DA, Amelink M, de Nijs SB, de Groot JC, Wang J, et al. Biomarkers to identify sputum eosinophilia in different adult asthma phenotypes. *Eur Respir J.* sept 2015;46(3):688-96.
13. Katz LE, Gleich GJ, Hartley BF, Yancey SW, Ortega HG. Blood eosinophil count is a useful biomarker to identify patients with severe eosinophilic asthma. *Ann Am Thorac Soc.* mai 2014;11(4):531-6.
14. Zhang X-Y, Simpson JL, Powell H, Yang IA, Upham JW, Reynolds PN, et al. Full blood count parameters for the detection of asthma inflammatory phenotypes. *Clin Exp Allergy*

J Br Soc Allergy Clin Immunol. sept 2014;44(9):1137-45.

15. Langerak AW, Groenen PJTA, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia*. oct 2012;26(10):2159-71.
16. Poopak B, Valeshabad AK, Elahi F, Rezvani H, Khosravipour G, Jahangirpour MA, et al. PCR Analysis of IgH and TCR- $\gamma$  Gene Rearrangements as a Confirmatory Diagnostic Tool for Lymphoproliferative Disorders. *Indian J Hematol Blood Transfus Off J Indian Soc Hematol Blood Transfus*. mars 2015;31(1):38-45.
17. Recommandations communes de l'ATS et de l'ERS sur les explorations fonctionnelles respiratoires - EM|consulte [Internet]. [cité 10 déc 2016]. Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/rmr/article/146428>
18. Bel EH, Wenzel SE, Thompson PJ, Prazma CM, Keene ON, Yancey SW, et al. Oral Glucocorticoid-Sparing Effect of Mepolizumab in Eosinophilic Asthma. *N Engl J Med*. 25 sept 2014;371(13):1189-97.
19. Pavord ID, Korn S, Howarth P, Bleecker ER, Buhl R, Keene ON, et al. Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 18 août 2012;380(9842):651-9.
20. Lefèvre G, Copin M-C, Staumont-Sallé D, Avenel-Audran M, Aubert H, Taieb A, et al. The lymphoid variant of hypereosinophilic syndrome: study of 21 patients with CD3-CD4+ aberrant T-cell phenotype. *Medicine (Baltimore)*. oct 2014;93(17):255-66.
21. Rothenberg ME, Klion AD, Roufosse FE, Kahn JE, Weller PF, Simon H-U, et al. Treatment of patients with the hypereosinophilic syndrome with mepolizumab. *N Engl J Med*. 20 mars 2008;358(12):1215-28.
22. Subran B, Ackermann F, Marroun I, Bletry O, Kahn JE. Efficacité et tolérance au long cours du mépolizumab chez 20 patients atteints d'un syndrome hyperéosinophilique. *Rev Médecine Interne*. juin 2016;37, Supplement 1:A30-1.
23. Roche-Lestienne C, Kahn J-E, Preudhomme C. Hyperéosinophilies et biologie moléculaire : un nouveau visage pour un syndrome hétérogène ? *Hématologie*. 1 nov 2008;14(6):442-51.
24. Hodges E, Krishna MT, Pickard C, Smith JL. Diagnostic role of tests for T cell receptor (TCR) genes. *J Clin Pathol*. janv 2003;56(1):1-11.
25. Freymond N, Kahn J-E, Legrand F, Renneville A, Cordier J-F, Cottin V. Clonal expansion of T cells in patients with eosinophilic lung disease. *Allergy*. nov 2011;66(11):1506-8.

**Vu, le Directeur de Thèse**

**Vu, le Doyen De la Faculté de Médecine de Tours  
Tours, le**

## ***Xavier-Alexandre DARDE***

***40 pages, 1 figure, 3 tableaux.***

### **Résumé :**

**Introduction :** L'asthme éosinophilique est considéré comme un phénotype d'asthme à part entière. Il est probable que ce phénotype regroupe différentes pathologies. Le syndrome d'hyperéosinophilie essentiel lymphoïde (SHE-L) est associé à une clonalité des lymphocytes T mis en évidence par des réarrangements clonaux des gènes des récepteurs T (TCR). Le lien entre le SHE-L et l'asthme éosinophilique est inconnu.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'intérêt de la recherche d'un réarrangement clonal du TCR dans l'asthme éosinophilique.

**Matériels et méthodes :** Cette étude observationnelle, rétrospective, bicentrique a inclus des patients du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Tours et du CHU de la Réunion, de 2010 à 2016, qui présentaient un asthme éosinophilique sévère avec au moins une recherche sanguine du réarrangement du TCR. Ces patients étaient divisés en deux groupes TCR « positifs » (TCR+) et TCR « négatifs » (TCR-) selon la présence ou non du réarrangement. Les caractéristiques cliniques, biologiques et fonctionnelles des patients TCR+ ont été comparées aux caractéristiques des patients TCR-.

**Résultats :** Parmi les 44 patients identifiés, 19 étaient TCR+ et 25 TCR-. Les patients du groupe TCR+ présentaient plus d'exacerbations sévères par an ( $p < 0,001$ ) et nécessitaient une pression thérapeutique plus élevée au niveau des doses des corticoïdes oraux ( $p = 0,05$ ) et des corticostéroïdes inhalés ( $p = 0,005$ ). L'éosinophilie maximale était significativement plus élevée chez les patients TCR+ que chez les patients TCR- ( $p = 0,05$ ).

**Conclusion :** Même si nous ne pouvons pas affirmer que la recherche du réarrangement du TCR nous ait permis d'identifier un sous-groupe de patients atteints de SHE-L, notre étude suggère que les patients asthmatiques éosinophiliques semblent plus sévères en termes de nombre d'exacerbations sévères et/ou de charge thérapeutique cortisonique inhalée ou orale lorsqu'ils sont porteurs d'un réarrangement du TCR.

**Mots clés : Réarrangement clonal des TCR, asthme éosinophilique, syndrome hyperéosinophilique (SHE).**

### **Jury :**

Président du Jury : Professeur Patrice DIOT

Directeur de thèse : Professeur Sylvain MARCHAND-ADAM

Membres du Jury : Professeur Emmanuel GYAN  
Docteur Thomas FLAMENT

Date de soutenance : 7 avril 2017